

STUDIU ASUPRA HIDROXIACIZILOR DIN UNELE BAUTURI NEALCOOLICE*

V. Bota, I. Máthé, L. Roșca

Valoarea băuturilor nealcoolice este determinată de compoziția lor complexă, un rol important avînd hidroxiacizii.

Cunoașterea compoziției în hidroxiacizi poate indica într-o anumită măsură dacă băutura respectivă provine dintr-un singur fel de fructe sau este un amestec precum și dacă conține un hidroxiacid străin adăugat sau format în timpul păstrării ca urmare a unor procese biochimice.

* Lucrare susținută la cea de a VIII-a Sesiune de comunicări științifice a Acad. R.S.R. București, 21 mai 1977

Din aceste motive ne-am propus găsirea unor metode adecvate pentru separarea și determinarea hidroxiacizilor din diferite băuturi nealcoolice ca: Bem-bem, Fructo, Turist, Citro și Corso, produse ale Întreprinderii „Prodcomplex” Tîrgu-Mureș și utilizarea acestor metode la urmărirea transformărilor fermentative suferite în urma păstrării la temperatura ambiantă timp mai îndelungat.

Partea experimentală

a) Separarea cromatografică a hidroxiacizilor

1. S-a utilizat cromatografia pe hirtie (3) tehnica ascendentă, monodimensională, hirtie Whatman nr. 3 cu dimensiunea de 20×25 cm la 20° C, cantitatea aplicată 10—15 μl din soluția 1%. Detectarea spoturilor s-a făcut cu reactiv Schwappe modificat.

Valorile R_f ale hidroxiacizilor sintetici în diferite sisteme de solvenți sînt redade în tabelul nr. 1.

Tabelul nr. 1

Nr. crt.	Hidroxiacizi	Sistemul de solvent				
		I	II	III	IV	V
1.	Acid tartric	0,38	0,43	0,39	0,49	0,38
2.	Acid citric	0,47	0,63	0,55	0,61	0,46
3.	Acid malic	0,54	0,78	0,56	0,66	0,52
4.	Acid lactic	0,78	0,10	0,83	0,85	0,72

Agendă:

I: Acetat de etil-acid formic-apă (3:1:1)

II: Butanol (cu 0,04% albastru de bromfenol)-acid acetic-apă (4:1:5)

III: Butanol-acid formic-apă (4:1:1)

IV: Fenol-acid formic-apă (3:1:1)

V: Butanol-acid acetic-apă (5:1:1)

Cele mai bune separări s-au realizat cu sistemele de solvenți I (acetat de etil-acid formic-apă) (3:1:1) și V (butanol-acid acetic-apă) (5:1:1).

2. S-a urmărit separarea hidroxiacizilor din băuturile nealcoolice studiate și prin cromatografie pe strat subțire.

S-au încercat ca suporturi oxidul de aluminiu, silicagelul și celuloza. Straturile au fost obținute după Stahl (5). Revelarea spoturilor s-a făcut cu reactiv Schwappe modificat. Valorile R_f ale hidroxiacizilor obținute cu diferite suporturi și sisteme de solvenți III (butanol-acid formic-apă) (4:1:1) sînt cuprinse în tabelul nr. 2.

Tabelul nr. 2

Nr. crt.	Hidroxiacizi	Suportul		
		Oxid de aluminiu	Silicagel	Celuloză
1.	Acid tartric	0,29	0,31	0,35
2.	Acid malic	0,38	0,42	0,58
3.	Acid citric	0,39	0,40	0,51
4.	Acid lactic	0,52	0,56	0,73

Stratul subțire cel mai indicat s-a dovedit celuloza irigată cu amestecul de butanol-acid formic-apă.

3. Purificarea hidroxiacizilor.

Prezența în băuturile nealcoolice a zaharurilor, pectinelor și pigmen-

ților deranjează separarea cromatografică a hidroxiacizilor și de aceea este nevoie de o purificare prealabilă a materialului de analizat.

Anionizii puternic bazici pot fi folosiți pentru purificare (6) sub formă de HO⁻ sau HCOO⁻ și în special rășinile în ciclul CO₃²⁻ care rețin cantitativ toți oxiacizii, nu rețin aldehide și zaharuri.

În scopul purificării hidroxiacizilor din băuturile studiate s-au făcut încercări pentru a stabili condițiile unei separări eficace. S-au construit două coloane cu Ø de 2 cm. Una umplută cu cationit acid (Ionenaustascher I Merck), înălțimea încărcăturii fiind de 15 cm, a doua coloană umplută cu anionit puternic bazic (Ionenaustascher III Merck) în ciclul CO₃²⁻, cu înălțimea încărcăturii de 20 cm (1).

După spălarea coloanei de anionit cu 100 ml Na₂CO₃ 0,1 N și apoi cu apă distilată pînă la pH neutru, s-a percolat prin coloană 100 ml din băutura de analizat. Viteza de percolare a fost de 1 ml/sec. Coloana a fost spălată cu 30 ml apă distilată pentru îndepărtarea zaharurilor. Eluarea acizilor reținuți s-a făcut cu 130 ml (NH₄)₂CO₃ 0,1 N. Eluatul care conținea sărurile de amoniu ale hidroxiacizilor a fost trecut apoi peste coloana de cationit tratată în prealabil cu 100 ml HCl 0,1 N și spălată pînă la reacție neutră. Soluția obținută a conținut acizii organici sub formă liberă. Eluatul a fost evaporat la sec pe baia de apă. Reziduul dizolvat în 4 ml apă a fost folosit pentru separarea cromatografică a hidroxiacizilor.

4. Separarea hidroxiacizilor din băuturi după purificare.

Din soluția pregătită mai sus s-au aplicat de 4 ori câte 10 μl pe hîrtie Whatman nr. 3 și pe strat de celuloză. Dezvoltarea și detectarea hidroxiacizilor s-au făcut ca și în cazul substanțelor pure comparînd valorile R_f obținute cu cele ale hidroxiacizilor folosiți drept martori.

Rezultatele experimentale sînt prezentate în cromatogramele din figurile nr. 1 și 2.

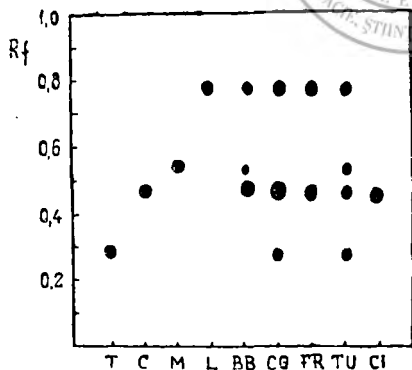


Fig. nr. 1: Cromatograma pe hîrtie a hidroxiacizilor din băuturi nealcoolice
 Legendă: T=acid tartric; C=acid citric; M=acid malic; L=acid lactic; BB=Bem-bem; CO=Corso; FR=Fructo; TU=Turist; CI=Citro

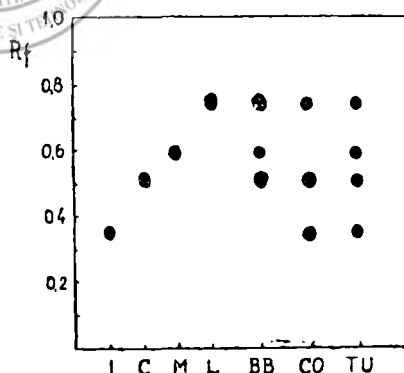


Fig. nr. 2: Cromatograma pe celuloză a hidroxiacizilor din băuturi nealcoolice
 Legendă: T=acid tartric; C=acid citric; M=acid malic; L=acid lactic; BB=Bem-bem; CO=Corso; TU=Turist

Aşa cum reiese din figurile de mai sus numărul hidroxiacizilor prezenți în diferite băuturi nealcoolice variază de la un sortiment la altul. Dintre toți hidroxiacizii prezenți, cel mai răspândit este acidul citric, care se găsește în toate băuturile nealcoolice studiate. De asemenea s-a pus în evidență acidul tartric în băuturile „Corso“ și „Turist“ a cărui prezență se datorește vinului roșu care intră în compoziția acestor băuturi. Un alt hidroxiacid care a fost identificat în unele băuturi ca „Bem-bem“ și „Turist“ este acidul malic. În afară de hidroxiacizii menționați a mai fost pus în evidență și acidul lactic, care, în majoritatea băuturilor, s-a identificat numai după un timp mai îndelungat de păstrare.

b) *Urmărirea transformărilor suferite în urma păstrării băuturilor nealcoolice.*

După *Jorrysch* și colab. (4) sucurile de fructe pot fi caracterizate în funcție de aciditatea lor. De aceea ne-am propus să determinăm în continuare creșterea acidității totale în timp a băuturilor studiate. Creșterea acidității totale a fost determinată prin metoda volumetrică (7), iar variația acidului citric prezent în toate băuturile studiate și a acidului lactic format în urma biodeteriorărilor prin metoda cromatografiei pe hirtie, iar după eluare prin metoda fotometrică. Datele variației acidității totale (în g%) în timp sînt cuprinse în tabelul nr. 3.

Tabelul nr. 3

Nr. crt.	Băutura	Timp (săptămâni)				
		Proaspăt	2	4	8	14
1.	Bem-bem	2,62	2,62	2,74	2,92	3,20
2.	Corso	2,02	2,03	2,13	2,28	2,82
3.	Fructo	1,81	1,81	2,12	2,44	2,82
4.	Citro (suc de lămție)	2,92	2,92	3,23	3,43	3,94
5.	Turist	2,83	2,83	3,13	3,43	4,04

Determinarea acidității totale arată că aceasta se menține practic constantă timp de 2 săptămâni. În acest timp proprietățile organoleptice, gustul și culoarea rămîn practic neschimbate. Creșteri sensibile se constată după 4 săptămâni.

Variația acizilor citric și lactic în timp este redată în tabelul nr. 4.

Din tabelul nr. 4 se observă că în prima lună de păstrare nu s-a sesizat nici o variație în conținutul acidului citric. La sfîrșitul lunii a doua se constată o mică scădere care devine mai evidentă în luna a patra. În cazul acidului lactic, la început cantitatea era sub limita sensibilității metodei, neputînd fi determinată. După o perioadă de timp, odată cu fermentația glucidelor și scăderea pH-ului, au loc și biodegradări ale hidroxiacizilor cînd concentrația acidului lactic crește simțitor.

Aceste date concordă cu observațiile lui *Eskin* și colab. (2), după care lactobaciliile convertesc pe lingă zaharurile simple și hidroxiacizi într-un amestec de acid lactic și acid acetic.

Tabelul nr. 4

Nr. crt.	Băutura	Timp în săptămîni									
		Proaspăt (g ^o /o)		2 (g ^o /o)		4 (g ^o /o)		8 (g ^o /o)		14 (g ^o /o)	
		Citric	Lactic	Citric	Lactic	Citric	Lactic	Citric	Lactic	Citric	Lactic
1.	Bem-bem	0,168	—	0,168	—	0,164	—	0,158	0,076	0,125	0,114
2.	Corso	0,121	—	0,120	—	0,120	—	0,116	0,067	0,104	0,084
3.	Fructo	0,120	—	0,120	—	0,116	0,048	0,104	0,069	0,050	0,098
4.	Citro (suc de lămîie)	0,228	—	0,228	—	0,220	—	0,220	0,048	0,190	0,062
5.	Turist	0,216	—	0,216	—	0,204	0,084	0,182	0,096	0,142	0,102

Concluzii

Hidroxiacizii din băuturile nealcoolice pot fi separați și identificați prin cromatografie pe hîrtie Whatman nr. 3 sau strat subțire de celuloză după o prealabilă purificare pe anionit bazic (ciclul CO_3^{2-}) urmată de o decationizare pe un cationit acid.

În urma cercetărilor s-a ajuns la concluzia că acidul citric se găsește în cantitate apreciabilă în toate băuturile studiate. În fiecare băutură a fost identificat și acidul lactic. Cantitatea acestuia crește în timp, probabil ca urmare a fermentației glucidelor sau chiar a fermentației unor hidroxiacizi. Deci, odată cu fermentația glucidelor și scăderea pH-ului au loc și biodegradări ale hidroxiacizilor.

Separarea cromatografică a hidroxiacizilor citric și lactic și determinarea lor cantitativă de pe cromatogramă este o metodă care poate fi folosită la urmărirea biotransformărilor care au loc în timpul păstrării și la determinarea calității lor.

Sosit la redacție: 2 martie 1978.

Bibliografie

1. Bota V., Máthé I., Roșca L.: Lucrare comunicată la U.S.S.M. Tg.-Mureș, 28 XI 1974;
2. Eskin N.A.M., Henderson H. M., Townsend R. J.: Biochemistry of Foods Acad. Press. New York, London, 1973, 160;
3. Hais J. M., Macek K.: Cromatografie pe hîrtie. Ed. tehnică, București, 1960, 254;
4. Jorrrysch D., Sarris P., Marcus S.: Food Technology (1962), 3, 90,
5. Stahl E.: Dünnschicht Chromatographie. Springer, Berlin, 1962, 61;
6. Stănculescu C., Sbircea C., Săndulescu C.: Lucrările Institutului de cercetări alimentare, (1970), Vol. VIII, 340;
7. * * * Culegere de Standarde Industria Alim. Edit. de stat pentru imprimare și publicații. București, 1963, 499.

STUDY UPON HYDROXY ACIDS FROM SOFT DRINKS

The chromatographic separation of hydroxy acids from some soft drinks have been investigated. Good separations were obtained on filter-paper and cellulose after purifying on ion exchange resin. The method was used for the separation of citric and lactic acids in order to follow the biotransformations occurring during storage of certain soft drinks.