Χημεία & Τεχνολογία Τροφίμων – Οινολογία Ι

Εργαστηριακές Ασκήσεις Οινολογίας

Ι. Μαντζουράνη – Α. Μπεκατώρου

ΠΑΤΡΑ, 2025

ΆΣΚΗΣΗ VIII – ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ

Α. Στερεή Καλλιέργεια Σακχαρομυκήτων

- Σε ογκομετρική φιάλη των 1000 mL παρασκευάζεται διάλυμα που περιέχει **0.1% KH_2PO_4, 0.1% $(NH_4)_2SO_4$, 0.5% $MgSO_4$, 2% γλυκόζη και 0.4% yeast extract**.

↓

- 100 mL σε κωνική φιάλη των 250 mL διαλύονται με θέρμανση 2 g άγαρ.

↓ ΑΠΟΣΤΕΙΡΩΣΗ

4 τριβλία

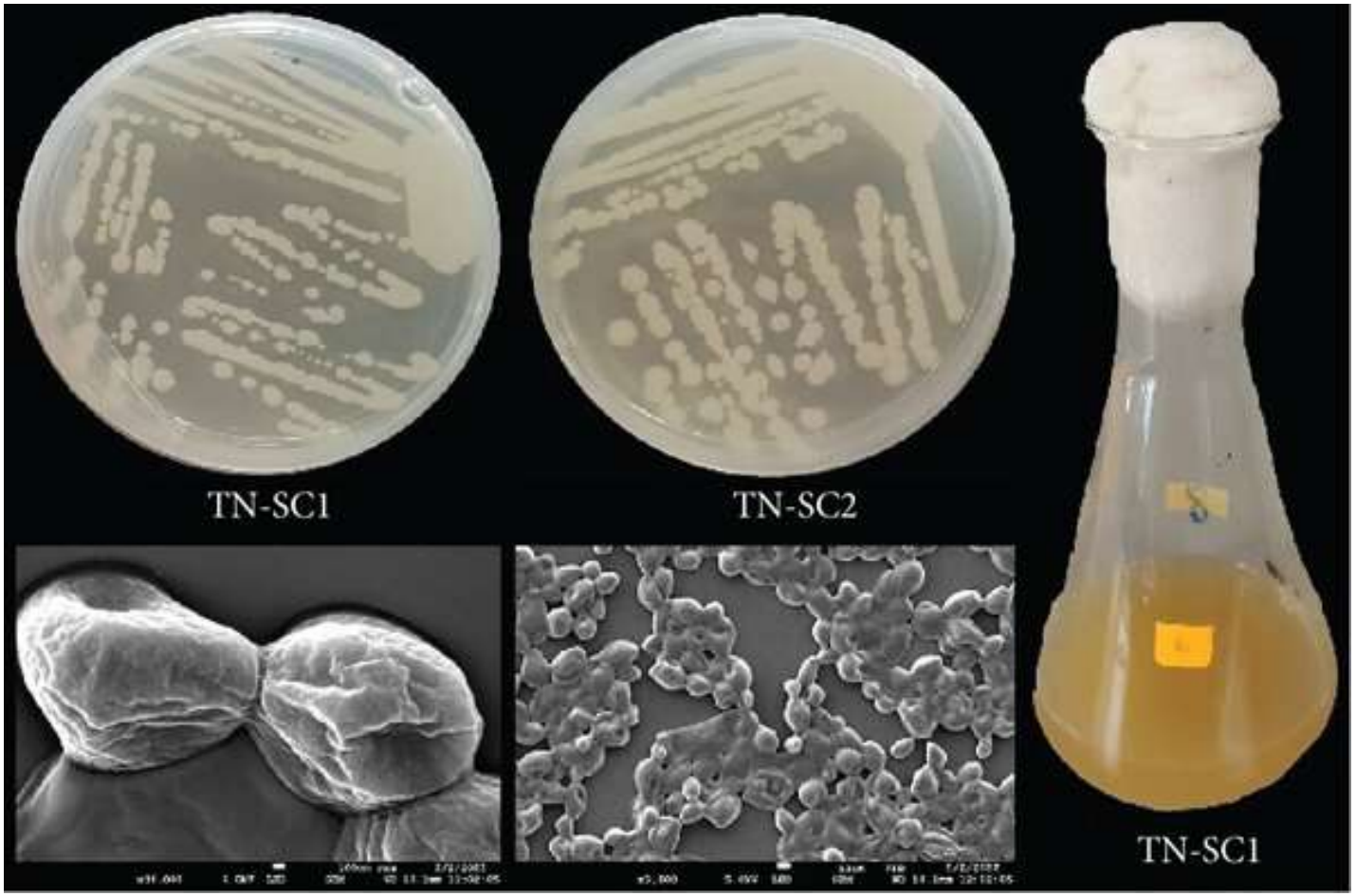
- σε αποστειρωμένο και καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα διασπείρουμε μικρή ποσότητα ζύμης αρτοποιίας σε 5 mL υγρού θρεπτικού

↓

- με ένα κρίκο αποστειρωμένο σε φλόγα λύχνου εμβολιάζεται η στερεή καλλιέργεια κοντά σε φλόγα λύχνου. Το τριβλίο τοποθετείται στον θερμοθάλαμο στους 30^oC και παρακολουθείται κάθε μέρα η ανάπτυξη της καλλιέργειας.

ΆΣΚΗΣΗ VIII – ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ

Α. Στερεή Καλλιέργεια Σακχαρομυκήτων



https://www.researchgate.net/publication/384084027/

VIDEO: τεχνική εμβολιασμού (agar streak technique):
https://www.youtube.com/shorts/Y4-fNS7WbdY?feature=share

ΆΣΚΗΣΗ VIII – ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ

Β. Υγρή Καλλιέργεια Σακχαρομυκήτων

Σε δοκιμαστικό σωλήνα αποστειρωμένο προσθέτουμε 5 mL υγρό θρεπτικό (χωρίς άγαρ)

↓

Από αναπτυγμένη στερεή καλλιέργεια σακχαρομυκητών λαμβάνεται με έναν αποστειρωμένο σε λύχνο κρίκο ποσότητα και διασπείρεται με τη βοήθεια Vortex. Το παρασκεύασμα φυλάσσεται στο θερμοθάλαμο (30^{o} C) για 15-20 h.

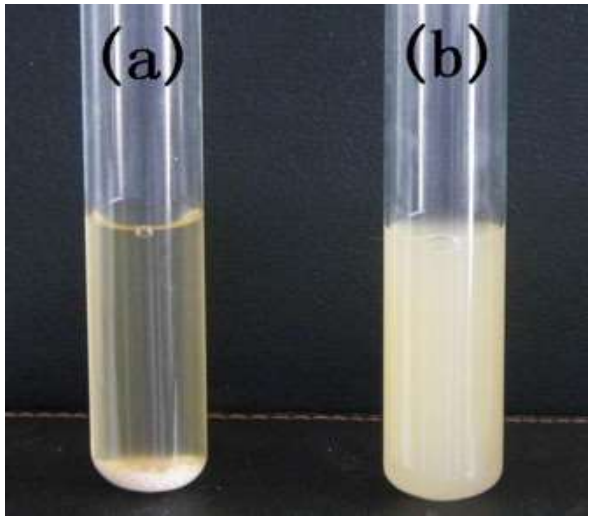
↓

Μετά μεταγγίζεται σε 50 mL αποστειρωμένου υγρού θρεπτικού και αφήνεται η καλλιέργεια να αναπτυχθεί για 15-20 h.

↓

Στο τέλος λαμβάνεται η οπτική πυκνότητα με το φασματοφωτόμετρο.

Vortex
(Εργαστηριακός ανακινητήρας)



ΆΣΚΗΣΗ VIII – ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ

Β. Υγρή Καλλιέργεια Σακχαρομυκήτων

Αυτόκαυστο ή αυτόκλειστο (χύτρα αποστείρωσης)

Κρίκοι εμβολιασμού

Υγρή καλλιέργεια

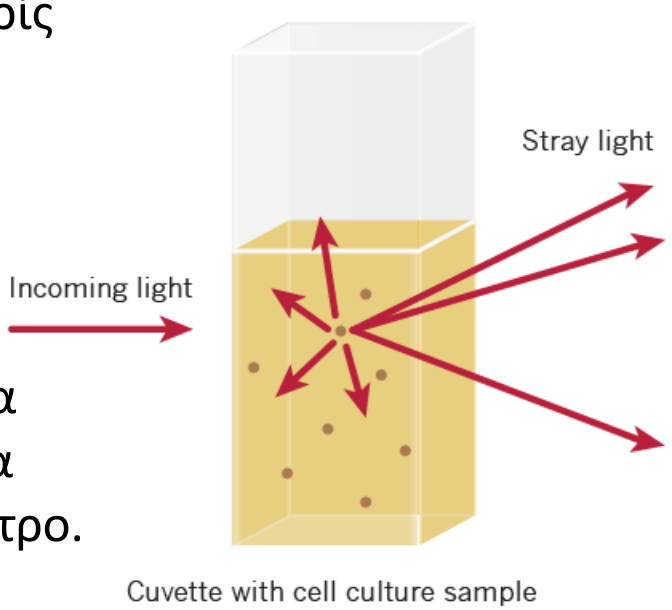
Θερμοθάλαμος

ΆΣΚΗΣΗ VIII – ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ

Γ. Προσδιορισμός περιεκτικότητας κυττάρων σε ζυμούμενο γλεύκος (πρότυπη καμπύλη)

Ζυγίζονται 0.5 g μαγιάς αρτοποιίας και χρησιμοποιείται υγρό θρεπτικό με την ίδια σύσταση που περιγράφτηκε στην προηγούμενη μέθοδο χωρίς άγαρ και αποστείρωση.

Από το αιώρημα αυτό παρασκευάζονται με αραίωση 10 δ/τα με διαφορετική περιεκτικότητα σε κύτταρα και λαμβάνεται για το κάθε αιώρημα στα **700 nm** οπτική πυκνότητα με φασματοφωτόμετρο.



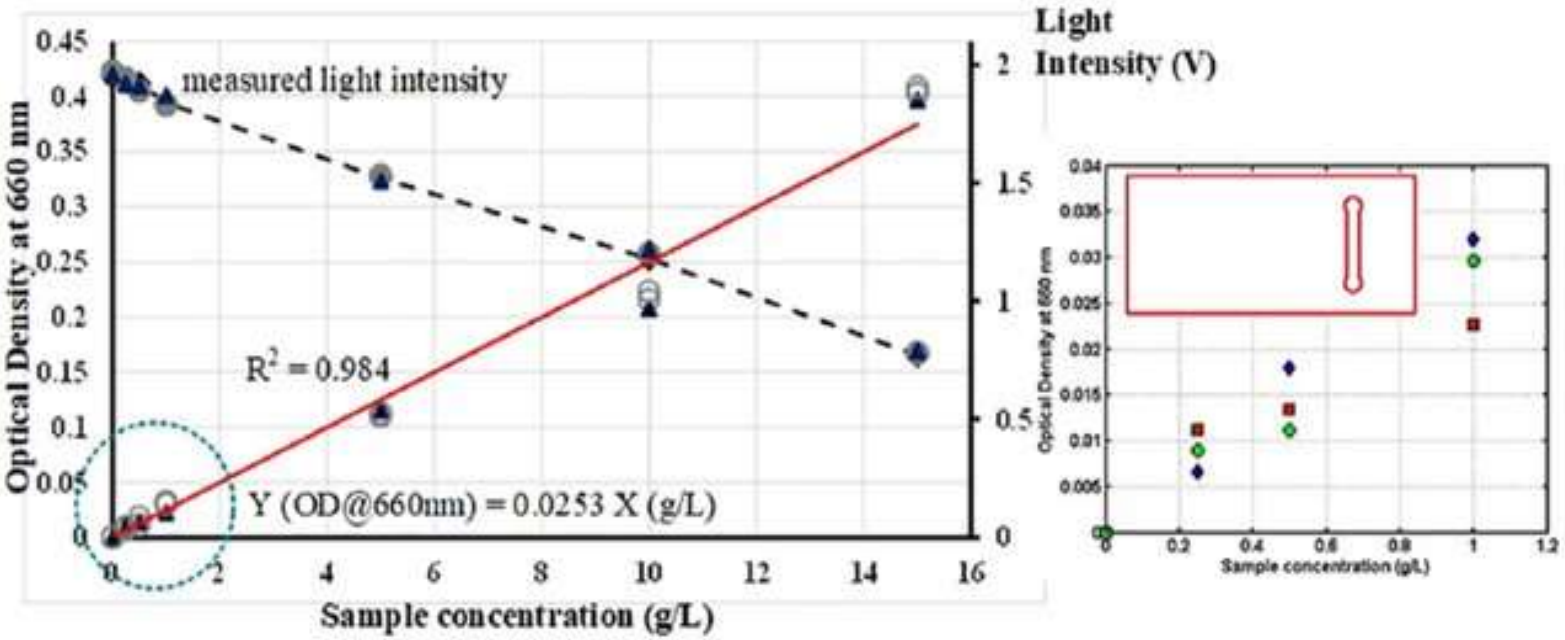
Κατασκευάζουμε σε ημιλογαριθμικό χαρτί την καμπύλη της οπτικής πυκνότητας σε συνάρτηση με την πυκνότητα σε κύτταρα.

ΆΣΚΗΣΗ VIII – ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ

Γ. Προσδιορισμός περιεκτικότητας κυττάρων σε ζυμούμενο γλεύκος (πρότυπη καμπύλη)

Παράδειγμα

https://www.researchgate.net/publication/326130574/



Καμπύλη βαθμονόμησης (κόκκινη γραμμή) για την οπτική πυκνότητα καλλιέργειας ζυμομύκητα στα 660 nm. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν για συγκεντρώσεις δειγμάτων 0,25 - 15 g L^{-1} . Στην ένθετη εικόνα παρουσιάζεται λεπτομερής γραφική παράσταση για συγκεντρώσεις δειγμάτων <1 g L^{-1}.

ΑΣΚΗΣΗ ΙΧ – ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ

Α. Μέτρηση & Διόρθωση της πυκνότητας γλεύκους

Σε ογκομετρικό κύλινδρο των 250 mL μεταφέρεται το προς μέτρηση γλεύκος. Σε αυτό βυθίζουμε το αραιόμετρο (Baumé) ενώ ταυτόχρονα μετράμε τη θερμοκρασία **(Τ)** του γλεύκους με θερμόμετρο.

Διορθωμένη πυκνότητα γλεύκους (°Be) =
μετρηθείσα πυκνότητα + [(μετρηθείσα Τ – Τ βαθμονόμησης αραιόμετρου) × 0,045]

Παράδειγμα:

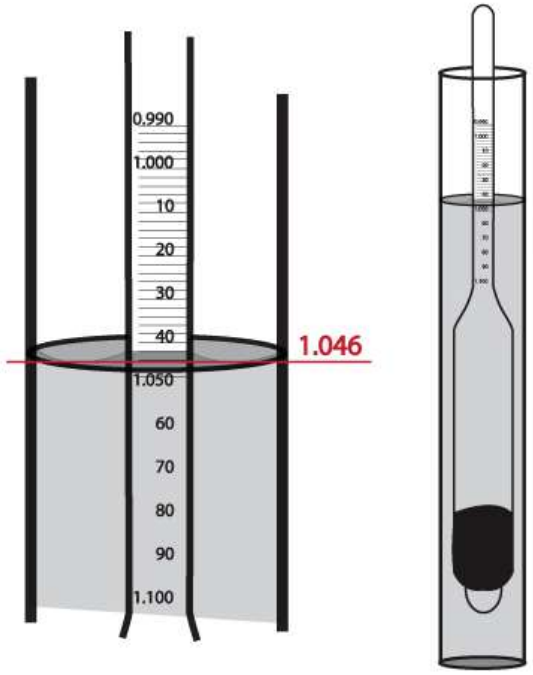
- Έστω ότι η ένδειξη του αραιομέτρου, **βαθμονομηνένου στους 15°C** είναι **11,7 °Be** και η θερμοκρασία του γλεύκους **21°C**.

Η αναγωγή της πυκνότητας στους **15°C** γίνεται ως εξής:

Διοθρ. Πυκν. = 11,7 °Be + [(21-15 °C) × 0.045] =
11,7 + (6 × 0.045) = 11.7 + 0,27 = **11.97** °Be

- Αν η μετρηθείσα θερμοκρασία είναι **9°C** τότε έχουμε:

Διοθρ. Πυκν. = 11,7 °Be + [(9-15 °C) × 0.045] =
11,7 + (-6 × 0.045) = 11.7 -0,27 = **11.43** °Be



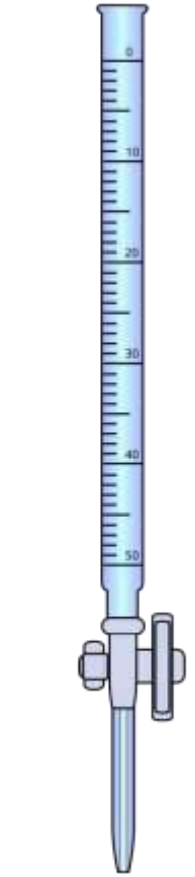
ΑΣΚΗΣΗ ΙΧ – ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ
Β. Προσδιορισμός οξύτητας γλεύκους

- 10 mL γλεύκους μετρημένα με σιφώνιο μεταφέρονται σε κωνική φιάλη αραιώνονται με απιονισμένο νερό και ογκομετρούνται με Ν/10 διάλυμα NaOH και δείκτη φαινολοφθαλεΐνη.

- Αν το γλεύκος ζυμώνεται τότε θερμαίνουμε τα 10 mL του γλεύκους επί 15 min στους 80^{o} C για να εκλυθεί το CO_2 και μετά ογκομετρούμε το διάλυμα.

  ✓ οξύτητα σε g/L τρυγικού οξέος:
  mL του δ/τος Ν/10 NaOH × 0.75

  ✓ οξύτητα σε g/L θειικού οξέος:
  mL του διαλύματος Ν/10 NaOH × 0.49



ΑΣΚΗΣΗ ΙΧ – ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ

Γ. Αλκοολική ζύμωση για λευκό ξηρό κρασί

- Σε καθαρή πλαστική λεκάνη γίνεται σύνθλιψη 2 Kg **λευκών σταφυλιών** (ροδίτης). Το γλεύκος (αφού απομακρυνθούν τα στέμφυλα με σουρωτήρι), **διορθώνεται ως προς** την **πυκνότητα ^{o}Be (11.5-12)** και την **οξύτητα (6-8 g/L τρυγικού οξέος).**

- Ακολούθως μεταφέρεται σε καθαρό και απολυμασμένο με οινόπνευμα δοχείο με στρόφιγγα και γίνεται μικροσκοπική εξέταση των σακχαρομυκήτων και επώαση σε θερμοκρασία 25^{o}C, αφού γίνει απολύμανση του πάνω μέρους του δοχείου με οινόπνευμα και κάλυψή του με αλουμινόχαρτο.

- Στη συνέχεια η ζύμωση παρακολουθείται τουλάχιστον κάθε 48ωρο (μέτρηση ^{o}Be) σε ότι αφορά το ρυθμό της, μακροσκοπικά παρακολουθώντας την έκλυση του CO_2 αλλά και μικροσκοπικά με παρακολούθηση των κυττάρων των σακχαρομυκήτων.

ΑΣΚΗΣΗ ΙΧ – ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ

Γ. Αλκοολική ζύμωση για λευκό ξηρό κρασί

- Το τέλος της ζύμωσης διαπιστώνεται από τη μη έκλυση φυσσαλίδων και πιστοποιείται οριστικά από τη μέτρηση του ^{o}Be που για πλήρη ζύμωση είναι μηδέν (με τη διόρθωση της θερμοκρασίας).
- Όταν διαπιστωθεί το τέλος της ζύμωσης το κρασί απομακρύνεται από την υποστάθμη με μετάγγιση εφόσον είναι δυνατό αυτό ή με διήθηση του υπερκείμενου.
- Ακολουθεί θείωση με προσθήκη $K_2S_2O_2$ (πυροθειώδους Κ) ώστε η τελική ποσότητα SO_2 που μεταφέρεται στο κρασί να είναι **130 mg/L.**
- Ακολουθεί ψύξη στις συνθήκες και τη διάρκεια που έχει αναφερθεί για το μιστέλι, μετάγγιση, κολλάρισμα και στη συνέχεια μετάγγιση ή διήθηση.
- Το προϊόν αφήνεται για μια εβδομάδα σε κλειστό γυάλινο μπουκάλι που φέρνει ο φοιτητής και στη συνέχεια παραδίδεται στον επιβλέποντα όπου από κοινού εξετάζεται το χρώμα, η διαύγεια, η οσμή και η γεύση του.

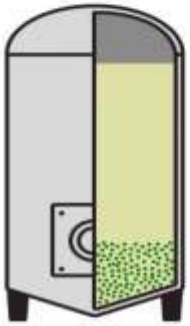
HOW WHITE WINE IS MADE

GROW

HARVEST

PRESSURE

Getting the most out of every grape, remove skins



FERMENTATION

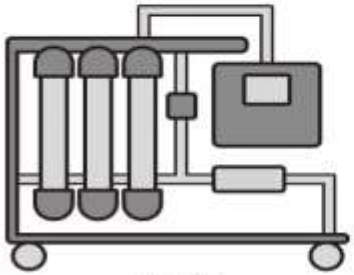
2ND FERMENTATION

Optional 2nd fermentation occurs in oak to reduce tartness, often resulting in a more buttery tasting wine.

AGE

Wine can be aged in oak barrels, stainless steel tanks, concrete eggs, or amphora (clay jars)

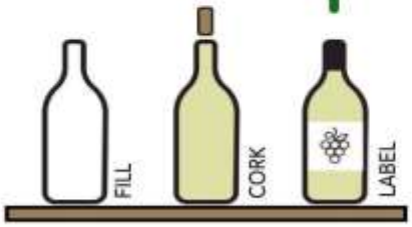
AGE



FILTER

Remove sediment & particles

**can also be racking or fining*



BOTTLE

ENJOY!

@offlinewine

ΑΣΚΗΣΗ ΙΧ – ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ

Δ. Αλκοολική ζύμωση για ερυθρό γλυκό κρασί

- Σε μια καθαρή πλαστική λεκάνη γίνεται σύνθλιψη **2 kg κόκκινων σταφυλιών**. Το γλεύκος μεταφέρεται μαζί με τα στέμφυλα σε καθαρό και απολυμασμένο με οινόπνευμα ειδικό δοχείο με στρόφιγγα και διορθώνεται ως προς την περιεκτικότητα σε σάκχαρο έτσι ώστε η πυκνότητα σε βαθμούς ºBe να είναι **12.0.**

- Ακολουθεί μικροσκοπική εξέταση των σακχαρομυκήτων και επώαση στους 25^{o}C, αφού γίνει απολύμανση του επάνω μέρους του δοχείου με οινόπνευμα και κάλυψή του με αλουμινόχαρτο.

- Μετά από 3 ημέρες ελέγχουμε τη ζύμωση με τη μέτρηση του ^{o}Be, και όταν αυτό μειωθεί στο 6 τότε διακόπτουμε τη ζύμωση με προσθήκη οινοπνεύματος, τόσο ώστε το κρασί που θα προκύψει να έχει τελικά **17** αλκοολικούς βαθμούς.

ΑΣΚΗΣΗ ΙΧ – ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ

Δ. Αλκοολική ζύμωση για ερυθρό γλυκό κρασί

- Το κρασί αφήνεται επί ένα 24ωρο σε θερμοκρασία δωματίου και απομακρύνεται από την υποστάθμη με μετάγγιση εφόσον είναι δυνατό ή με διήθηση του υπερκείμενου.

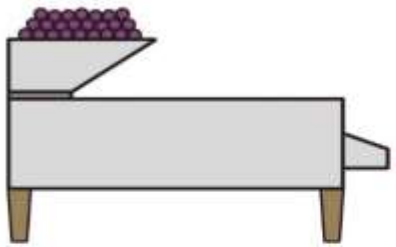
- Ακολουθεί ψύξη στις συνθήκες και τη διάρκεια που αναφέρονται για το μιστέλι, κολλάρισμα και στη συνέχεια μετάγγιση ή διήθηση.

- Το προϊόν αφήνεται για μια εβδομάδα σε κλειστό γυάλινο μπουκάλι που φέρνει ο φοιτητής και στη συνέχεια παραδίδεται στον επιβλέποντα όπου από κοινού εξετάζεται το χρώμα, η διαύγεια, η οσμή και η γεύση του.

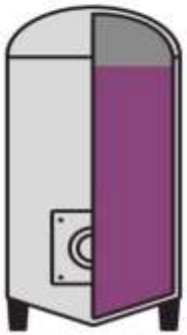
HOW RED WINE IS MADE

GROW

HARVEST



CRUSH



FERMENTATION

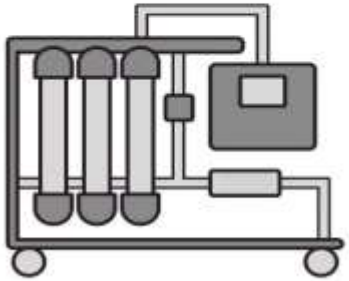
PRESSURE

Getting the most out of every grape, remove skins

AGE

Wine can be aged in oak barrels (most common), concrete eggs, amphora (clay jars), or Inox tanks

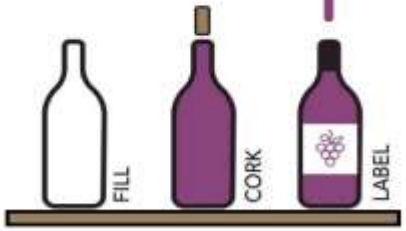
AGE



FILTER

Remove sediment & particles

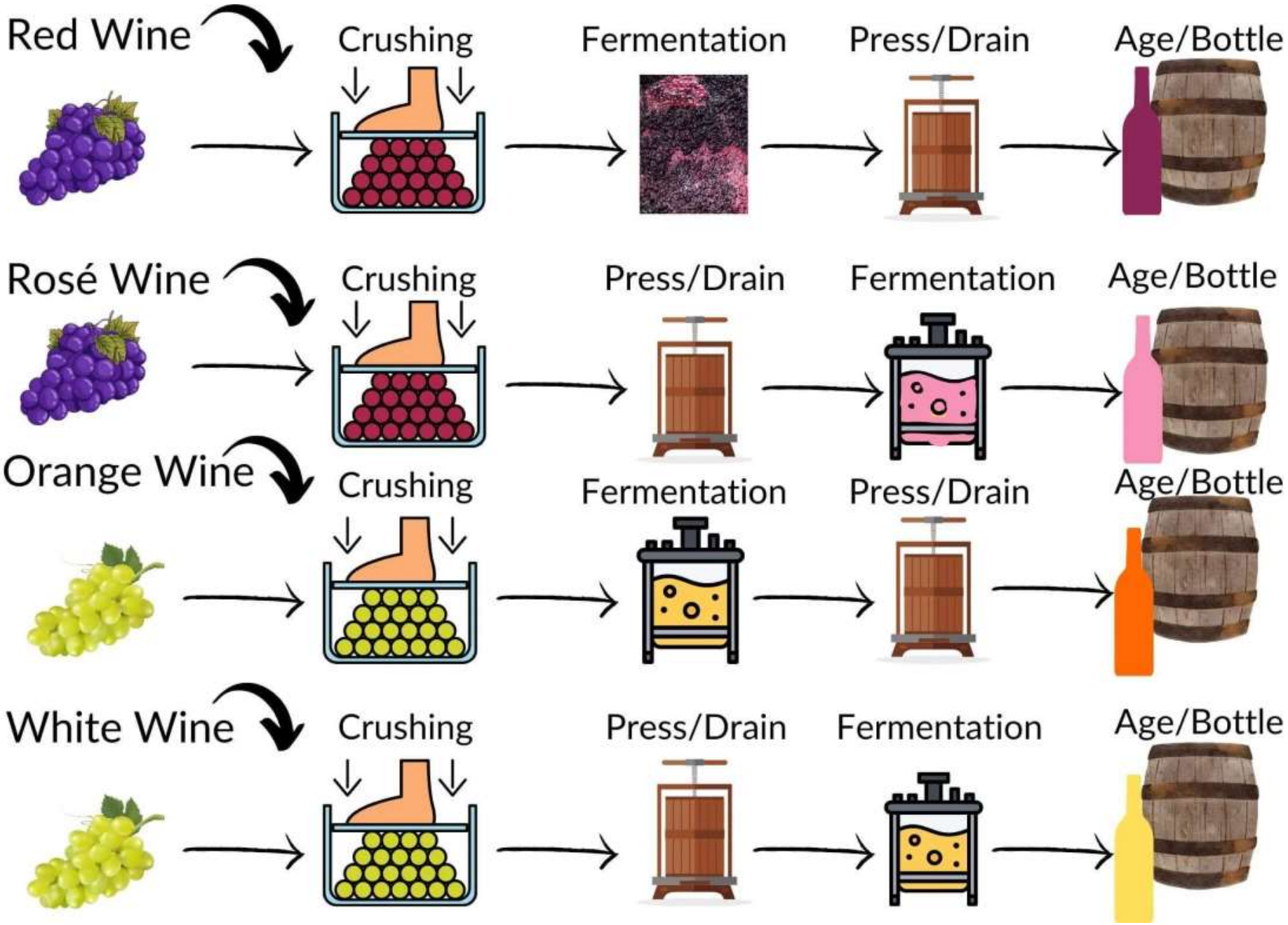
*can also be racking or fining



BOTTLE

ENJOY!

@offlinewine


Red Wine
Crushing
Fermentation
Press/Drain
Age/Bottle
Rosé Wine
Crushing
Press/Drain
Fermentation
Age/Bottle
Orange Wine
Crushing
Fermentation
Press/Drain
Age/Bottle
White Wine
Crushing
Press/Drain
Fermentation
Age/Bottle

ΑΣΚΗΣΗ ΙΧ – ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ

Ε. Αλκοολική ζύμωση γλεύκους με προσθήκη μαγιάς

- Σε κωνική φιάλη 500 mL μεταφέρουμε 200 mL γλεύκους 11.5- 12 ^{o}Be. Σε αυτό διασπείρουμε 2-4 g μαγιάς που έχεις παρασκευαστεί στο εργαστήριο, μετά από φυγοκέντρηση) ή **ειδικής οινολογικής μαγιάς**.

- Τοποθετούμε τη φιάλη στο θερμοθάλαμο στους 25-30 ^{o}C και μετράμε την πυκνότητα στο τέλος της εργαστηριακής περιόδου και την επόμενη ανά 2 h έως 0 ^{o}Be.

- Παράλληλα με τη μέτρηση της οπτικής πυκνότητας κάνουμε και προσδιορισμό της περιεχόμενης στο ζυμούμενο γλεύκος μαγιάς σύμφωνα με τη μέθοδο που δίνεται στις σημειώσεις αυτές.

- Αν η οπτική πυκνότητα είναι >1 τότε το γλεύκος αραιώνεται προκειμένου να μετρηθεί. Η αραίωση γίνεται σε αναλογία 1:10 και σε αυτό μετράται η οπτική πυκνότητα.

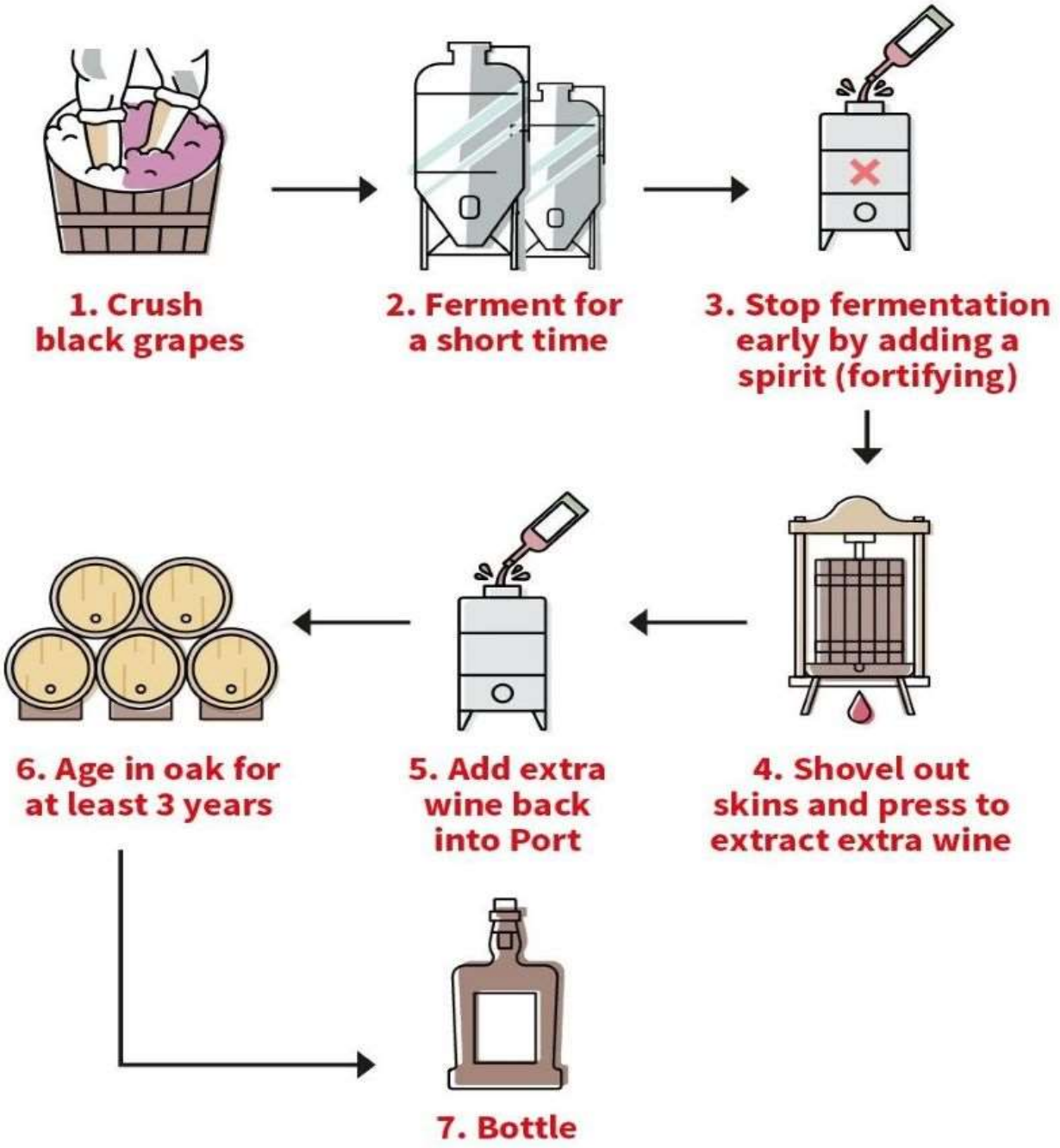
https://laffort.com/en/products/actiflore-cerevisiae/

***VIDEO*:**
YEAST REHYDRATION PROTOCOL
https://youtu.be/ADzuNKfyjVM?t=31

ΑΣΚΗΣΗ ΙΧ – ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ
ΣΤ. Παρασκευή μιστελιού

- Σε ογκομετρικό κύλινδρο των 500 mL μεταφέρουμε 300 mL γλεύκος χωρίς στέμφυλα.
- Ακολουθεί η προσθήκη πόσιμου οινοπνεύματος έτσι ώστε να έχουμε **20 αλκοολικούς βαθμούς**.
- Το προϊόν τοποθετείται σε ψυγείο στους **-1** έως **-4 ºC** μέχρι να διαυγάσει.
- Μετά από αυτό το υπερκείμενο κρασί διαχωρίζεται από την οινολάσπη με μετάγγιση, υφίσταται κολλάρισμα με **λευκό αυγού ή ειδικό οινολογικό σκεύασμα.**
- Αφήνεται το ίζημα προς καθίζηση και στη συνέχεια το διαυγές προϊόν απομακρύνεται από το ίζημα με μετάγγιση ή διήθηση.
- Το προϊόν φυλάσσεται σε μπουκάλι ανάλογου μεγέθους αφήνεται επί δύο εβδομάδες σε θερμοκρασία δωματίου.

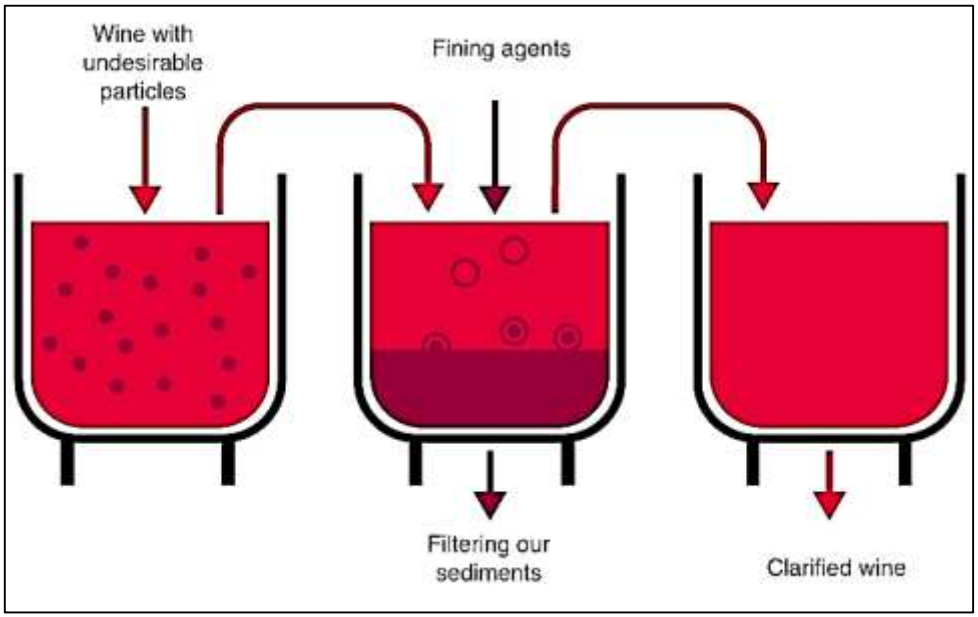
Παρασκευή ενισχυμένων κρασιών (π.χ. Port)

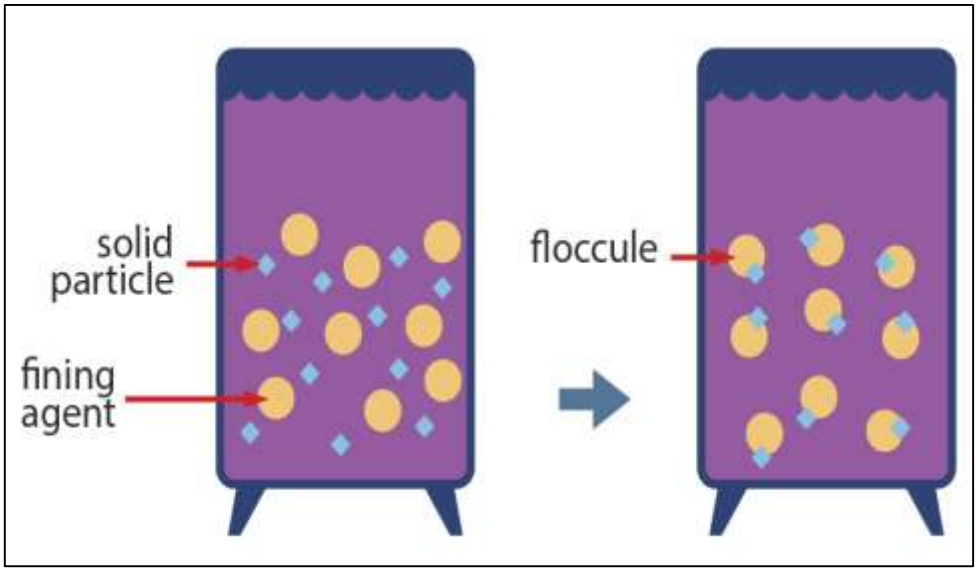


Τρόποι διαύγασης-σταθεροποίησης

- **Καθίζηση (Sedimentation):** Φυσική καθίζηση των στερεών με την πάροδο του χρόνου μέσω της βαρύτητας, ακολουθούμενη από μετάγγιση του καθαρού κρασιού από το ίζημα.
- **Καθαρισμός (Fining):** Προσθήκη καθαριστικών παραγόντων (όπως μπεντονίτης, ζελατίνη ή ασπράδια αυγών) που δεσμεύονται με ανεπιθύμητα σωματίδια, κάνοντάς τα μεγαλύτερα και ευκολότερα να αφαιρεθούν.
- **Διήθηση (Filtration):** Διέλευση του κρασιού μέσα από φίλτρο για απομάκρυνση αιωρούμενων στερεών.
- **Ψυχρή σταθεροποίηση (Cold Stabilization):** Ψύξη του κρασιού ώστε να καταβυθιστούν ασταθείς ενώσεις, όπως οι κρύσταλλοι τρυγικού οξέος — ένα κρίσιμο στάδιο για λευκά και ροζέ κρασιά.
- **Χρήση ενζύμων διαύγασης (Using clarifying enzymes):** Χρήση ενζύμων για διάσπαση συγκεκριμένων συστατικών και βελτίωση διαύγειας.

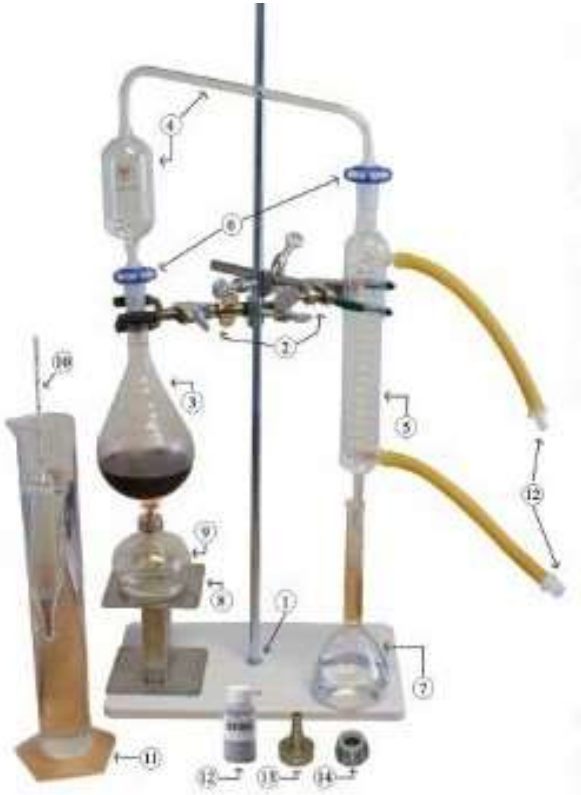
Τρόποι διαύγασης-σταθεροποίησης





ΑΣΚΗΣΗ Χ - ΑΝΑΛΥΣΗ ΟΙΝΟΥ

Α. Προσδιορισμός αλκοόλης με απόσταξη



- Υποβάλλονται σε απόσταξη 200 mL γλεύκους ή κρασιού μετρημένα σε ογκομετρική φιάλη (στη θερμοκρασία βαθμονόμησης της ογκομετρικής φιάλης) και μεταφέρονται στη σφαιρική φιάλη της αποστακτικής συσκευής.
- Γίνεται έκπλυση της ογκομετρικής φιάλης τρεις φορές με λίγα κάθε φορά mL νερού, και τα υγρά έκπλυσης μεταφέρονται και αυτά στη σφαιρική φιάλη.
- Το υγρό υποβάλλεται σε αργή απόσταξη με μικρή θέρμανση, καλή ψύξη του ψυκτήρα, ο οποίος θα πρέπει να είναι κατά προτίμηση κατακόρυφος και οφιοειδής.
- Ως υποδοχέας για το απόσταγμα χρησιμοποιείται η ίδια ογκομετρική φιάλη με την οποία μετρήθηκε το προς απόσταξη υγρό. Η απόσταξη συνεχίζεται μέχρι να μεταφερθεί όλη η αλκοόλη στο απόσταγμα, πράγμα που συμβαίνει όταν αποσταχθούν τα 2/3 τουλάχιστον του αρχικού υγρού.
- Τότε διακόπτεται η απόσταξη, συμπληρώνεται η ογκομετρική φιάλη που περιέχει το απόσταγμα με απεσταγμένο νερό μέχρι την χαραγή (στη θερμοκρασία βαθμονόμησης της ογκομετρικής φιάλης), ανακινείται καλά, και προσδιορίζεται η περιεκτικότητά του σε αλκοόλη με τη χρήση αλκοολόμετρου Gay-Lussac.
- Ταυτόχρονα μετριέται με θερμόμετρο και η θερμοκρασία του υγρού.

ΑΣΚΗΣΗ Χ
ΑΝΑΛΥΣΗ ΟΙΝΟΥ
Α. Προσδιορισμός αλκοόλης με απόσταξη

- Ο προσδιορισμός των αλκοολικών βαθμών στην θερμοκρασία βαθμονόμησης του αλκοολόμετρου γίνεται με τη χρήση ειδικών πινάκων.

Μετρούμενοι ^{o}C

Πραγματικός αλκοολικός βαθμός % v/v

Μέτρηση αλκοολόμετρου βαθμονομημένου στους 20^{o}C

Correction Table for an Alcoholometer Calibrated at 20°C

page 1 of 4 - Correction table for an alcoholometer calibrated at 20°C (under column corresponding to mixture temperature, find measured value of ethanol concentration in %abv and read the actual concentration in the left column of the same row)

Actual C (%abv) at T (°C)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
0																					0.0	0.2	0.3	0.5	0.7	0.8
1																	0.5	0.6	0.7	0.9	1.0	1.2	1.4	1.5	1.7	1.9
2	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.8	0.8	0.8	0.9	1.0	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7	1.9	2.0	2.2	2.4	2.5	2.7	2.9
3	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.7	1.7	1.8	1.8	1.9	2.0	2.1	2.2	2.3	2.5	2.6	2.7	2.9	3.0	3.2	3.4	3.6	3.8	3.9
4	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.6	2.6	2.7	2.7	2.8	2.9	3.0	3.1	3.2	3.3	3.5	3.6	3.7	3.9	4.0	4.2	4.4	4.6	4.8	5.0
5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.4	3.5	3.6	3.6	3.7	3.7	3.9	4.0	4.1	4.2	4.3	4.5	4.6	4.7	4.9	5.0	5.2	5.4	5.6	5.8	6.0
6	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4	4.5	4.6	4.6	4.7	4.8	5.0	5.1	5.2	5.3	5.5	5.6	5.7	5.9	6.0	6.2	6.4	6.6	6.8	7.0
7	5.2	5.2	5.2	5.2	5.2	5.3	5.3	5.4	5.5	5.5	5.6	5.8	5.9	6.0	6.2	6.3	6.4	6.6	6.7	6.9	7.0	7.2	7.4	7.6	7.8	8.0
8	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.2	6.3	6.4	6.4	6.5	6.7	[illegible]	6.9	7.1	7.2	7.4	7.5	7.7	7.8	8.0	8.2	8.4	8.6	8.9	9.1
9	6.9	6.9	6.9	6.9	6.9	6.9	7.0	7.1	7.2	7.3	7.4	7.6	[illegible]	7.9	8.0	8.1	8.3	8.5	8.7	8.8	9	9.2	9.5	9.7	9.9	[illegible]
10	7.7	7.7	7.7	7.7	7.8	7.8	7.9	8.0	8.1	8.2	8.3	8.5	[illegible]	8.8	8.9	9.1	9.2	9.4	9.6	9.8	10	10.2	10.5	10.7	10.9	[illegible]
11	8.5	8.5	8.6	8.6	8.6	8.6	8.8	8.9	9.0	9.1	9.2	9.4	[illegible]	9.7	9.8	10.0	10.2	10.4	10.6	10.8	11	11.2	11.5	11.7	12.0	[illegible]
12	9.3	9.4	9.4	9.4	9.5	9.5	9.6	9.7	9.9	10.0	10.1	10.3	[illegible]	10.6	10.8	10.9	11.1	11.3	11.6	11.8	[illegible]	12.3	12.5	12.8	13.0	[illegible]
13	10.1	10.2	10.2	10.2	10.3	10.3	10.5	10.6	10.8	10.9	11.0	11.2	11.4	11.5	11.7	11.8	12.1	12.3	12.5	12.8	13.0	13.3	13.5	13.8	14.1	14.3
14	[illegible]	10.9	11.0	11.1	11.1	11.[illegible]	[illegible]	[illegible]	11.6	11.8	11.9	12.[illegible]	12.3	12.4	12.6	12.8	13.0	13.3	13.5	13.8	14.0	14.3	14.6	14.8	15.[illegible]	15.4
15	11.6	11.7	11.8	11.9	11.9	12.0	12.2	12.3	12.5	12.7	12.8	13.0	13.2	13.4	13.6	13.7	14.0	14.2	14.5	14.7	15.0	15.3	15.6	15.9	16.2	16.5
16	12.4	12.5	12.6	12.7	12.8	12.9	13.0	13.2	13.4	13.5	13.7	13.9	14.1	14.3	14.5	14.7	14.9	15.2	15.5	15.7	16.0	16.3	16.6	16.9	17.2	17.5
17	13.2	13.3	13.4	13.5	13.6	13.7	13.9	14.1	14.3	14.4	14.6	14.8	15.0	15.2	15.4	15.6	15.9	16.2	16.5	16.7	17.0	17.3	17.6	18.0	18.3	18.6
18	13.9	14.1	14.2	14.3	14.4	14.6	14.8	14.9	15.1	15.3	15.5	15.7	15.9	16.1	16.4	16.6	16.9	17.2	17.4	17.7	18.0	18.3	18.7	19.0	19.3	19.7
19	14.7	14.8	15.0	15.1	15.3	15.4	15.6	15.8	16.0	16.2	16.4	16.6	16.8	17.1	17.3	17.5	17.8	18.1	18.4	18.7	19.0	19.3	19.7	20.0	20.4	20.7
20	15.4	15.5	15.7	15.9	16.0	16.2	16.4	16.6	16.8	17.0	17.3	17.5	17.7	18.0	18.2	18.5	18.8	19.1	19.4	19.7	20.0	20.3	20.7	21.0	21.4	21.7
21	16.1	16.2	16.4	16.6	16.8	17.0	17.2	17.4	17.7	17.9	18.1	18.4	18.6	18.9	19.1	19.4	19.7	20.0	20.4	20.7	21.0	21.4	21.7	22.1	22.4	22.8
22	16.7	17.0	17.2	17.4	17.6	17.8	18.0	18.3	18.5	18.8	19.0	19.3	19.5	19.8	20.1	20.3	20.7	21.0	21.3	21.7	22.0	22.4	22.7	23.1	23.4	23.8
23	17.4	17.7	17.9	18.1	18.3	18.6	18.8	19.1	19.4	19.6	19.9	20.2	20.4	20.7	21.0	21.3	21.6	22.0	22.3	22.7	23.0	23.4	23.7	24.1	24.5	24.8
24	18.2	18.4	18.6	18.9	19.1	19.4	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	24.4	24.7	25.1	25.5	25.8
25	18.9	19.1	19.4	19.7	19.9	20.2	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	25.4	25.8	26.1	26.5	26.9
26	19.6	19.9	20.2	20.4	20.7	21.0	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	26.4	26.8	27.2	27.6	28.0
27	20.3	20.6	20.9	21.2	21.5	21.8	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	27.4	27.8	28.2	28.6	29.1
28	21.1	21.4	21.7	22.0	22.4	22.7	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	28.4	28.9	29.3	29.7	30.1
29	21.8	22.2	22.5	22.9	23.2	23.5	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	29.4	29.9	30.3	30.8	31.2
30	22.6	23.0	23.3	23.7	24.0	24.4	24.7	25.1	25.4	25.7	26.1	26.5	26.9	27.3	27.7	28.1	28.5	28.9	29.2	29.6	30.0	30.5	30.9	31.4	31.8	32.3
31	23.4	23.7	24.1	24.5	24.8	25.2	25.6	25.9	26.3	26.6	27.0	27.4	27.8	28.2	28.6	29.0	29.4	29.8	30.2	30.6	31.0	31.5	31.9	32.4	32.8	33.3
32	24.1	24.5	24.9	25.3	25.6	26.0	26.4	26.8	27.1	27.5	27.9	28.3	28.7	29.2	29.6	30.0	30.4	30.8	31.2	31.6	32.0	32.5	32.9	33.4	33.8	34.3
33	24.9	25.3	25.7	26.1	26.5	26.9	27.2	27.6	28.0	28.4	28.8	29.2	29.7	30.1	30.5	31.0	31.4	31.8	32.2	32.6	33.0	33.5	33.9	34.4	34.8	35.3
34	25.7	26.1	26.5	26.9	27.3	27.7	28.1	28.5	28.9	29.3	29.7	30.2	30.6	31.0	31.5	31.9	32.3	32.8	33.2	33.6	34.0	34.5	34.9	35.4	35.8	36.3
35	26.5	26.9	27.3	27.7	28.1	28.5	29.0	29.4	29.8	30.2	30.6	31.1	31.5	32.0	32.4	32.9	33.3	33.7	34.2	34.6	35.0	35.5	35.9	36.4	36.8	37.3
36	27.3	27.7	28.1	28.6	29.0	29.4	29.8	30.3	30.7	31.1	31.6	32.0	32.5	32.9	33.4	33.8	34.3	34.7	35.1	35.6	36.0	36.5	36.9	37.4	37.8	38.3
37	28.2	28.6	29.1	29.5	29.9	30.3	30.8	31.2	31.7	32.1	32.6	33.0	33.5	33.9	34.4	34.8	35.3	35.7	36.1	36.6	37.0	37.5	37.9	38.4	38.8	39.3
38	29.1	29.6	30.0	30.4	30.9	31.3	31.7	32.2	32.7	33.1	33.5	34.0	34.5	34.9	35.4	35.8	36.3	36.7	37.1	37.6	38.0	38.5	38.9	39.3	39.8	40.2
39	30.1	30.5	31.0	31.4	31.8	32.3	32.7	33.2	33.6	34.1	34.5	35.0	35.5	35.9	36.4	36.8	37.3	37.7	38.1	38.6	39.0	39.4	39.9	40.3	40.8	41.2
40	31.1	31.5	31.9	32.4	32.8	33.2	33.7	34.2	34.6	35.1	35.5	36.0	36.5	36.9	37.4	37.8	38.3	38.7	39.1	39.6	40.0	40.4	40.9	41.3	41.7	42.2
41	32.0	32.5	32.9	33.4	33.8	34.2	34.7	35.2	35.6	36.1	36.6	37.0	37.5	37.9	38.4	38.8	39.3	39.7	40.1	40.6	41.0	41.4	41.9	42.3	42.7	43.1
42	33.0	33.5	33.9	34.4	34.8	35.2	35.7	36.2	36.6	37.1	37.6	38.0	38.5	38.9	39.4	39.8	40.3	40.7	41.1	41.6	42.0	42.4	42.9	43.3	43.7	44.1
43	34.0	34.4	34.9	35.3	35.8	36.2	36.7	37.2	37.6	38.1	38.5	39.0	39.5	39.9	40.4	40.8	41.3	41.7	42.1	42.6	43.0	43.4	43.8	44.3	44.7	45.1
44	35.0	35.5	35.9	36.4	36.8	37.2	37.7	38.2	38.6	39.1	39.5	40.0	40.5	40.9	41.4	41.8	42.3	42.7	43.1	43.6	44.0	44.4	44.8	45.2	45.7	46.1
45	36.0	36.5	36.9	37.4	37.8	38.2	38.7	39.2	39.6	40.1	40.5	41.0	41.5	41.9	42.4	42.8	43.3	43.7	44.1	44.6	45.0	45.4	45.8	46.2	46.6	47.0
46	37.0	37.5	37.9	38.4	38.8	39.3	39.7	40.2	40.6	41.1	41.5	42.0	42.5	42.9	43.4	43.8	44.3	44.7	45.1	45.6	46.0	46.4	46.8	47.2	47.6	48.0
47	38.1	38.5	39.0	39.4	39.8	40.3	40.7	41.2	41.6	42.1	42.5	43.0	43.5	43.9	44.4	44.8	45.3	45.7	46.1	46.6	47.0	47.4	47.8	48.2	48.6	49.0
48	39.2	39.6	40.1	40.5	41.0	41.4	41.8	42.3	42.7	43.2	43.6	44.0	44.5	45.0	45.4	45.8	46.3	46.7	47.2	47.6	48.0	48.4	48.8	49.2	49.6	50.0
49	40.3	40.8	41.2	41.7	42.1	42.5	43.0	43.4	43.8	44.3	44.7	45.1	45.6	46.0	46.5	46.9	47.3	47.7	48.2	48.6	49.0	49.4	49.8	50.2	50.6	50.9
50	41.5	41.9	42.4	42.8	43.2	43.7	44.1	44.5	44.9	45.4	45.8	46.2	46.7	47.1	47.5	47.9	48.4	48.8	49.2	49.6	50.0	50.4	50.8	51.2	51.5	51.9

ΑΣΚΗΣΗ Χ - ΑΝΑΛΥΣΗ ΟΙΝΟΥ
Β. Προσδιορισμός οξύτητας

1. Ογκομετρούμενη ή ολική οξύτητα

- Σε κωνική φιάλη 200 mL φέρονται με σιφώνι 10 mL κρασιού. Για την απομάκρυνση του CO_2 προτείνεται θέρμανση του κρασιού στους 80°C σε ατμόλουτρο ή με προσοχή πάνω από πλέγμα μέχρι να αρχίσει ο βρασμός, ο οποίος δεν πρέπει να παραταθεί για να μην απομακρυνθούν τα πτητικά οξέα.
- Μετά την ψύξη αραιώνονται τα 10 mL με λίγο νερό αν πρόκειται για λευκό κρασί και με περισσότερο αν πρόκειται για ερυθρό.
- Προστίθενται 2-3 σταγόνες αλκοολικού διαλύματος φαινολαφθαλεΐνης 1% και ογκομετρούνται με N/10 NaOH.

✓ **οξύτητα σε g/L τρυγικού οξέος: mL του διαλύματος N/10 NaOH × 0.75**

✓ **οξύτητα σε g/L θειικού οξέος: mL του διαλύματος N/10 NaOH × 0.49**

ΑΣΚΗΣΗ Χ - ΑΝΑΛΥΣΗ ΟΙΝΟΥ
Β. Προσδιορισμός οξύτητας

2. Πτητική οξύτητα

- Με ειδική συσκευή (θα σας δείξει την λειτουργία της ο επιβλέπων της άσκησης) διοχετεύεται υδρατμός σε 50 mL κρασιού και μέσω του ψυκτήρα συλλέγονται σε κωνική φιάλη των 250mL, περίπου 150 mL αποστάγματος.

- Προστίθεται 2-3 σταγόνες φαινολοφθαλεΐνης και γίνεται ογκομέτρηση με διάλυμα NaOH, N/10.

- Αν α είναι τα mL τα διαλύματος NaOH N/10 που καταναλώθηκαν, σε 1 L κρασιού περιέχονται 0.12α g πτητικών οξέων εκφρασμένα σε οξικό οξύ.

ΑΣΚΗΣΗ Χ - ΑΝΑΛΥΣΗ ΟΙΝΟΥ

Γ. Ανάλυση ελεύθερου, δεσμευμένου και ολικού θειώδους

Ως "***ελεύθερο***" χαρακτηρίζεται το θειώδες οξύ (H_2SO_3) ή το SO_2 ή τα όξινα θειώδη άλατα με κατιόντα του οίνου ή άλλου δείγματος.

Μέθοδος - Ελεύθερο θειώδες

Ο προσδιορισμός βασίζεται στην οξείδωση του θειώδους οξέος με ιώδιο

$$SO_2 + 2\,H_2O + I_2 \rightarrow H_2SO_4 + 2\,HI \quad \text{ή} \quad H_2SO_3 + H_2O + I_2 \rightarrow H_2SO_4 + 2\,HI$$

- Σε κωνική φιάλη 200 mL φέρονται 50 ml δείγματος, 5 ml δ/τος H_2SO_4 25% v/v και μικρή ποσότητα δ/τος αμύλου.
- Το μίγμα ογκομετρείται με δ/μα J_2 N/50 (προστίθεται με προχοΐδα).
- Το ελεύθερο θειώδες οξύ εκφράζεται σε mg ελεύθερου θειώδους οξέος/l δείγματος.
- Η προσθήκη του δ/τος J_2 διακόπτεται όταν η κυανή χρώση του σχηματιζόμενου συμπλόκου ιωδιαμύλου διατηρείται για κάποιες στιγμές κατά την ανατάραξη της φιάλης.
- Ο αριθμός των καταναλωθέντων ml I_2 πολλαπλασιαζόμενος επί τον συντελεστή **12,8** παρέχει την περιεκτικότητα του **ελεύθερου θειώδους οξέος σε mg/l οίνου** ή άλλου δείγματος.

ΑΣΚΗΣΗ Χ - ΑΝΑΛΥΣΗ ΟΙΝΟΥ

Γ. Ανάλυση ελεύθερου, δεσμευμένου και ολικού θειώδους

"***Δεσμευμένο***" θειώδες οξύ είναι αυτό που είναι δεσμευμένο με καρβονυλικές ενώσεις, όπως η ακεταλδεΰδη, σάκχαρα, κ.α. συστατικά του δείγματος.

Μέθοδος - Ολικό θειώδες

- Σε κωνική φιάλη 200 mL φέρονται 25 ml κανονικού δ/τος KOH (1 M) και 50 ml δείγματος με σιφώνι του οποίου το άκρο βρίσκεται εμβαπτισμένο στο δ/μα KOH.
- Το μίγμα αφήνεται σε ηρεμία για 15 min, ώστε να επιδράσει το KOH και να αποδεσμευτεί το ενωμένο θειώδες, που μετατρέπεται σε θειώδες Κ ($KHSO_3$).
- Στη συνέχεια προστίθενται 10 ml δ/τος H_2SO_4 25% v/v για διάσπαση του σχηματιζόμενου $KHSO_3$, και μικρή ποσότητα δ/τος αμύλου.
- Το μίγμα ογκομ/ται με δ/μα I_2 N/50.
- Το ολικό θειώδες οξύ εκφράζεται σε **mg ολικού θειώδους/l δείγματος**.
- Το ενωμένο SO_2 υπολογίζεται από τη διαφορά.

Αντιδράσεις:

$$R\text{-}CH(OH)\text{-}SO_3H + KOH \rightarrow R\text{-}CHO + KHSO_3 + H_2O$$

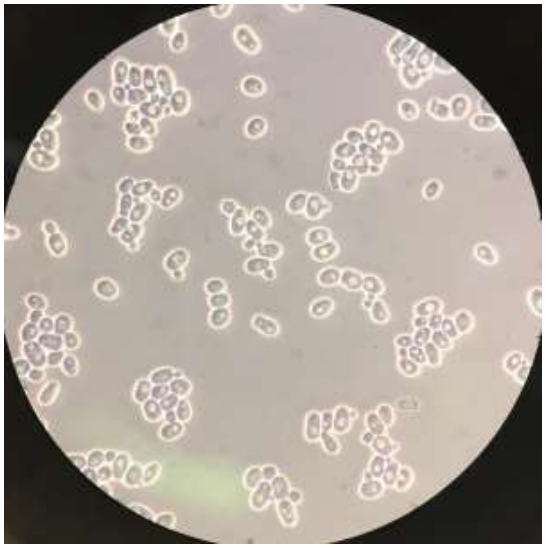
$$KHSO_3 + H_2SO_4 \rightarrow H_2SO_3 + KHSO_4$$

$$H_2SO_3 + H_2O + I_2 \rightarrow H_2SO_4 + 2\,HI$$

ΑΣΚΗΣΗ XI – ΜΕΤΑΖΥΜΩΤΙΚΕΣ ΚΑΤΕΡΓΑΣΙΕΣ

Α. Μικροσκοπική παρατήρηση σακχαρομυκήτων

- Σταγόνα από το ζυμούμενο γλεύκος τοποθετείται σε αντικειμενοφόρο πλάκα και καλύπτεται με καλυπτρίδα.
- Παρατηρούνται στο μικροσκόπιο τα υγιή κύτταρα σακχαρομυκητών, τα νεκρά και τυχόν μολύνσεις.
- Σε μια αντικειμενοφόρο πλάκα προστίθεται σταγόνα του προς εξέταση ζυμούμενου γλεύκους. Στη συνέχεια φέρεται η καλυπτρίδα πάνω από φλόγα, περνώντας την για μικρά χρονικά διαστήματα, μέχρι να εξατμιστεί το νερό και το στερεό υπόλειμμανα εμφανίζει ένα ανοιχτό καστανό χρώμα.
- Στη συνέχεια προσθέτουμε διάλυμα κυανούν του μεθυλενίου και μετά 2-3 min ξεπλένουμε με νερό. Τοποθετούμε πάνω στο παρασκεύασμα μια καλυπτρίδα και παρατηρούμε στο μικροσκόπιο. Τυχόν μόλυνση από βακτήρια φαίνεται σαν μπλε ευθείες λεπτές γραμμές.



ΑΣΚΗΣΗ XI – ΜΕΤΑΖΥΜΩΤΙΚΕΣ ΚΑΤΕΡΓΑΣΙΕΣ

Β. Μετάγγιση

Γ. Θείωση

Β. Μετάγγιση

- Όταν διαπιστωθεί το τέλος της ζύμωσης το κρασί απομακρύνεται από την υποστάθμη με μετάγγιση εφόσον είναι δυνατό αυτό ή με διήθηση του υπερκείμενου.

Γ. Θείωση

- Ακολουθεί θείωση με προσθήκη πυροθειώδους καλίου ($K_2S_2O_5$) έτσι ώστε η τελική ποσότητα SO_2 που μεταφέρεται στο κρασί να είναι **130 mg/L**.

Τρυγικό οξύ + $K_2S_2O_5$ → Τρυγικό Κ + 2 SO_2 + H_2O

ΑΣΚΗΣΗ XI – ΜΕΤΑΖΥΜΩΤΙΚΕΣ ΚΑΤΕΡΓΑΣΙΕΣ

Δ. Κολλάρισμα κρασιού

- Αποχωρίζουμε το λευκό ενός αυγού το οποίο και χτυπάμε σε ένα πιάτο με τη βοήθεια ενός πιρουνιού αφού προηγουμένως προσθέσουμε 1 g NaCl.
- Αυτό προστίθεται σε 1 L κρασί λευκό που ο φοιτητής είναι υποχρεωμένος να φέρει μαζί με το αυγό.
- Ακολουθεί ανάδευση και προσθήκη 10 mL από το παρασκεύασμα στο προς διαύγαση κρασί στην περίπτωση που αυτό είναι λευκό. Αν είναι ροζέ τότε προστίθενται 20 mL.
- Στη συνέχεια αφήνεται μέχρι πλήρη καθίζηση του ιζήματος και το κρασί μεταγγίζεται ή διηθείται. Η μετάγγιση γίνεται με μεγάλη προσοχή έτσι ώστε να μη παρασύρεται λάσπη από τον πυθμένα.

ΑΣΚΗΣΗ XI – ΜΕΤΑΖΥΜΩΤΙΚΕΣ ΚΑΤΕΡΓΑΣΙΕΣ

Ε. Μιστέλι

- Το ίζημα αφήνεται προς καθίζηση και απομακρύνεται από το διαυγές προϊόν με διήθηση με πτυχωτό ηθμό.
- Μεταφέρεται σε μπουκάλι (όχι σκουρόχρωμο) και παραμένει στο ψυγείο.