

ΣΥΣΤΑΣΗ & ΑΝΑΛΥΣΗ ΟΙΝΩΝ

Oc1ccc2c(c1)oc(OC3=CC=CC=C3)c2

ΒΑΣΙΛΗΣ ΝΙΚΟΛΟΥ
ΧΗΜΙΚΟΣ ΟΙΝΟΛΟΓΟΣ

4.ΘΕΙΩΔΕΣ

4.1 ΓΕΝΙΚΑ

Η χρήση του διοξειδίου του θείου (SO_2) στην οινοποίηση είναι γνωστή πριν τα τέλη του 18^{ου} αιώνα. Από τότε θεωρείται σχεδόν αναντικατάστατη προσθήκη στα σταφύλια, στο γλεύκος και στον οίνο. Είναι επίσης γνωστό ότι μικρές ποσότητες θειώδους παράγονται (10mg/l έως και 30mg/l) από τις ζύμες κατά την αλκοολική ζύμωση των γλευκών.

Ο ρόλος του θειώδους οξέος στην οινοποίηση συνοψίζεται στις πάρα κάτω ιδιότητες:

1.Αντισηπτική ιδιότητα: εμποδίζει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Έχει μεγαλύτερη επίδραση στα βακτήρια από τις ζύμες. Μικρές συγκεντρώσεις θειώδους στο γλεύκος έχουν παροδικό ανασταλτικό ρόλο στην ανάπτυξη των βακτηριδίων, ενώ μεγαλύτερες συγκεντρώσεις καταστρέφουν μεγάλο ποσοστό του μικροβιακού πληθυσμού του γλεύκους. Το θειώδες συνεργατικά με τεχνικές όπως απολάσπωση –διαύγαση – διήθηση, συμβάλει στη μικροβιολογική σταθεροποίηση του οίνου, και ιδιαίτερα στη περίπτωση των γλυκών οίνων.

2.Αντιοξειδωτική ιδιότητα: αντιδρά με το διαλυμένο οξυγόνο και προστατεύει τους οίνους από χημικές οξειδώσεις ($SO_2 + \frac{1}{2} O_2 \rightarrow SO_3^{-2}$). Αυτή η αντίδραση είναι αργή και δεν έχει σχέση με τις ενζυματικές οξειδώσεις οι οποίες είναι ταχύτερες. Συμβάλει ωστόσο στη διαμόρφωση χαμηλού δυναμικού οξειδοαναγωγής και στη προστασία του αρώματος και της γευστικής ισορροπίας που διαμορφώνονται κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης των οίνων.

3. Αντιοξειδασική ιδιότητα: Παρεμποδίζει τη δράση των οξειδωτικών ενζύμων (τυροσινάση , λακάση), πριν την έναρξη της αλκοολικής ζύμωσης. Η οξειδωτική δράση των ενζύμων αυτών, απουσία θειώδους είναι ταχύτερη.

4. Δεσμευτική ικανότητα: δεσμεύει την ακεταλδεύδη και άλλες καρβονυλικές ενώσεις και με αυτό τον τρόπο προστατεύει το άρωμα των οίνων.

Η προσθήκη θειώδους οξέος στο γλεύκος σε συνδυασμό με τη ψύξη (10 °C) διευκολύνει τη διαύγαση του κυρίως με τη καθυστέρηση της έναρξης της αλκοολικής ζύμωσης.

Η συνιστώμενη και η μέγιστη επιτρεπόμενη δοσολογία ολικού θειώδους (mg/l) στους οίνους από τη Ε.Ε και τον ΟΙV , δίνεται παρακάτω:

ΤΥΠΟΣ ΟΙΝΟΥ	ΣΥΝΙΣΤΩΜΕΝΑ ΟΡΙΑ Ε.Ε mg/l	ΜΕΓΙΣΤΟ ΕΠΙΤΡΕΠΤΟ ΟΡΙΟ ΟΙV
ΟΙΝΟΣ ΕΡΥΘΡΟΣ ($\Sigma < 5$ g/l)	160	175
ΟΙΝΟΣ ΛΕΥΚΟΣ ($\Sigma < 5$ g/l)	210	225
ΟΙΝΟΣ ΕΡΥΘΡΟΣ ($\Sigma > 5$ g/l)	210	300
ΟΙΝΟΣ ΛΕΥΚΟΣ ($\Sigma > 5$ g/l)	260	360

Η χρήση του θειώδους ανυδρίτη στην οινοποίηση εγείρει παράλληλα προβληματισμούς που σχετίζονται με την πιθανή τοξικότητα για τον ανθρώπινο οργανισμό. Η ιστορία όμως χρήσης του θειώδους ανυδρίτη είναι μακρά και πολλές μελέτες έχουν γίνει σε σχέση με τη οξεία τοξικότητα.

Η πρόσληψη δόσεων θειώδους οξέος είναι ελαφρώς τοξική και εξαρτάται από το είδος του ζώου. Η θανατηφόρος ημερήσια δόση για το 50 % των οργανισμών **LD50** (Lethal dose for 50 % of individuals) είναι μεταξύ 0,7 και 2,5 g /Kg σωματικού βάρους.

Η χρόνια τοξικότητα του θειώδους έχει επίσης μελετηθεί: για πρόσληψη 1.5 g SO₂/Kg σωματικού βάρους, τρεις επιπλοκές έχουν αναφερθεί:

- α) Μείωση της θειαμίνης (βιταμίνη Β) λόγω της καταστροφής της από το θειώδες.
- β) Ιστοπαθολογικές επιπλοκές στομάχου.
- γ) Επιβράδυνση της ανάπτυξης.

Μελέτες έδειξαν ότι η μέγιστη μη τοξική δοσολογία για ποντικούς είναι 72 mg/kg σωματικού βάρους. Επίσης έχουν αναφερθεί αλλεργικές παρενέργειες κυρίως των θειικών αλάτων, καθώς επίσης πρέπει να αποφεύγουν τη κατανάλωση οίνων άνθρωποι που υποφέρουν από χρόνια άσθμα (αφορά το 4- 10 % του πληθυσμού).

Έτσι ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας καθόρισε τα ανώτατα επιτρεπτά όρια ημερήσιας πρόσληψης θειώδους ανά Kg σωματικού ανθρώπινου βάρους: RDA (recommended daily allowance) 0,7 mg SO₂/Kg σωματικού ανθρώπινου βάρους.

Αυτό αντιστοιχεί στη κατανάλωση κατά μέσο ημερήσιο όρο μισής φιάλης οίνου (0,375 ml).

Η δυνατότητα μείωσης της χρήσης του θειώδους στην οινοποίηση είναι εφικτή εφόσον υπάρχουν οι προϋποθέσεις : καλή γνώση της χημείας του θειώδους -υγιή σταφύλια - τεχνολογικές συνθήκες .

Η προσθήκη του θειώδους οξέος γίνεται αμέσως στον σταφυλοπολτό (ερυθρή οινοποίηση) ή στο γλεύκος.

Η ελάχιστη προσθήκη είναι 50 – 70 mg/l , εξαρτάται από την κατάσταση των σταφυλιών (καθαρά μη βοτρυτιομένα σταφύλια) και διασφαλίζει αρχικά την αντοξειδασική και αντισηπτική του προστασία.

Στην λευκή οινοποίηση η προσθήκη θειώδους στο γλεύκος μπορεί να ελαχιστοποιηθεί, σε συνδυασμό με την προζυμωτική απολάσπωση – τη ρύθμιση του pH (3,00 -3,45) – τον εμβολιασμό του γλεύκους και την ελεγχόμενη ζύμωση (15 -20 °C).

Η δέσμευσή του θειώδους οξέος από τα σάκχαρα του γλεύκους είναι αντιστρεπτή .Κατά τη ζύμωση όμως παράγονται ουσίες (ακεταλδευδη ,πυρροβικό οξύ α- κετογλουταρικό οξύ και) που δεσμεύουν περισσότερο ή λιγότερο μόνιμα το θειώδες.

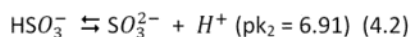
Η παραγωγή της ακεταλδεύδης εξαρτάται επίσης και από τη ποσότητα της αρχικής θείωσης του γλεύκους: αύξηση της αρχικής θείωσης αυξάνει και τη συγκέντρωση της ακεταλδεύδης.

Μετά το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης η επίτευξη ελάχιστου ελευθέρου θειώδους στον οίνο είναι το ζητούμενο για την αντιοξειδωτική προστασία του οίνου.

4.2 ΧΗΜΕΙΑ ΤΟΥ ΔΙΟΞΕΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΘΕΙΟΥ (SO₂)

4.2.1 Ελεύθερο SO₂ στον οίνο: αφορά το ποσοστό του θειώδους που παραμένει ελεύθερο στον οίνο, μετά τη προσθήκη συγκεκριμένης ποσότητας ολικού θειώδους.

Κατά την διάλυση του θειώδους διαμορφώνονται οι ισορροπίες :



Το ελεύθερο θειώδες στον οίνο διαμορφώνεται από τις εξής μορφές : SO₂ , HSO₃⁻. Η μοριακή μορφή (SO₂) είναι η πλέον δραστική (τουλάχιστον 10 φορές σε σχέση με τη ιονισμένη μορφή HSO₃⁻).

Η ποσοτική παρουσία της μοριακής μορφής , στο ελεύθερο θειώδες εξαρτάται από το pH του οίνου και είναι απαραίτητη λόγω της αποτελεσματικότητας της στην αντιοξειδωτική προστασία του.

Από την (4.1) με την εφαρμογή του νόμου δράσης μαζών προκύπτει :

$$\frac{[H^+][HSO_3^-]}{[SO_2][H_2O]} = K \quad (4.3) \quad \text{Η } [H_2O] = 1, \text{ έτσι προκύπτει : } \frac{[H^+][HSO_3^-]}{[SO_2]} = K \quad (4.4)$$

και

$$\frac{[H^+][HSO_3^-]}{[SO_2]} = K \Leftrightarrow \frac{[HSO_3^-]}{[SO_2]} = \frac{K}{[H^+]} \Leftrightarrow \log \frac{[HSO_3^-]}{[SO_2]} = \log \frac{K}{[H^+]}$$

$$\Leftrightarrow \log \frac{[HSO_3^-]}{[SO_2]} = \log K - \log[H^+] \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow \log \frac{[HSO_3^-]}{[SO_2]} = pH - pK \quad (4.5)$$

Με δεδομένη την $Pk_1 = 1.81$ ($20^\circ C$) από τη σχέση (4.1), η σχέση (4.5) εξηγεί την αναλογία των δύο μορφών του θειώδους (SO_2 και HSO_3^-) σε διαφορετικές τιμές Ph. Έτσι αν για τον οίνο που εξετάζουμε δώσουμε μια τιμή του pH μπορούμε να προσδιορίσουμε το ποσοστό του μοριακού θειώδους που συμμετέχει στη διαμόρφωση του ελευθέρου θειώδους του οίνου. (πίνακας 1).

Η Pk_1 της σχέσης (4.1) εξαρτάται επίσης από την θερμοκρασία και τον αλκοολικό τίτλο του οίνου:

% vol	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ (C°)							
	19	22	25	28	31	34	37	40
0.0	1.78	1.85	2.00	2.14	2.25	2.31	2.37	2.48
5.0	1.88	1.96	2.11	2.24	2.34	2.40	2.47	2.56
10.0	1.98	2.06	2.21	2.34	2.44	2.50	2.57	2.66
15.0	2.08	2.16	2.31	2.45	2.54	2.61	2.67	2.76
20.0	2.18	2.26	2.41	2.55	2.64	2.72	2.78	2.86

Το ποσοστό (%) της μοριακής μορφής του θειώδους σε σχέση με τον αλκοολικό τίτλο και τη θερμοκρασία σε $Ph = 3,00$ (Usseglio – Tomasset, 1989) δίδεται στον πίνακα:

% vol	19°C	28°C	38°C
0	4.88		
10	7.36	15.40	25.75
20	10.95		

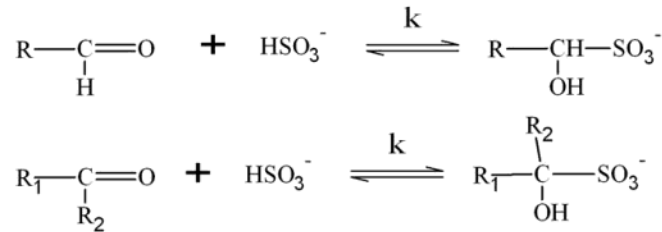
Όπως παρατηρούμε η παρουσία του μοριακού θειώδους ενισχύεται με την αύξηση της θερμοκρασίας, καθώς επίσης και η οργανοληπτική του παρουσία (οσμή αποπνικτική και ερεθιστική στην εισπνοή) η οποία αποτελεί οργανοληπτικό ελάττωμα του οίνου.

pH	ΜΟΡΙΑΚΟ SO2	ION HSO ₃ ⁻
3,00	6,06	94,94
3,10	4,88	95,12
3,20	3,91	96,09
3,30	3,13	96,87
3,40	2,51	97,49
3,50	2,00	98,00
3,60	1,60	98,40
3,70	1,27	98,73
3,80	1,01	98,99

4.2.2 ΔΕΣΜΕΥΜΕΝΟ ΘΕΙΩΔΕΣ

Αντίθετα με το ελεύθερο θειώδες το δεσμευμένο δεν έχει δράση αντισηπτική ή αντιοξειδωτική, αποτελεί ωστόσο προϋπόθεση για τη παρουσία του ελεύθερου θειώδους στον οίνο.

Οργανικά μόρια που περιέχουν καρβονυλικές ομάδες αντιδρούν με το θειώδες:



Αυτές οι αντιδράσεις προσθήκης αντιπροσωπεύουν τις μορφές του δεσμευμένου θειώδους στον οίνο, είναι αμφίδρομες αντιδράσεις και διέπονται από μια σταθερά ισορροπίας K, χαρακτηριστική της κάθε αντίδρασης προσθήκης.

Επίσης πρέπει να σημειωθεί ότι για να διαμορφωθεί δεδομένη συγκέντρωση ελεύθερου θειώδους στον οίνο, πρέπει να κορεσθεί η ανάγκη του για το δεσμευμένο.

Το ερώτημα που προκύπτει είναι κατά πόσο η δέσμευση αυτή του θειώδους είναι αντιστρεπτή ή όχι. Η απάντηση σχετίζεται με τη σταθερά K της πάρα πάνω ισορροπίας.

Έτσι ισχύει :

$$\frac{[\text{R-CHO}][\text{HSO}_3^-]}{[\text{R-CHOH-SO}_3^-]} = K$$

Η σχέση αυτή μπορεί να γραφεί: $\frac{[\text{R-CHOH-SO}_3^-]}{[\text{R-CHO}]} = \frac{[\text{HSO}_3^-]}{K}$ (α)

Για παράδειγμα συγκέντρωση 20 mg/l ελεύθερου SO₂ αντιστοιχεί σε 25 mg/l της ιονισμένης (HSO₃⁻) (μοριακά βάρη 64 και 81 αντίστοιχα).

Η μοριακή συγκέντρωση της ιονισμένης μορφής είναι :

$$[\text{HSO}_3^-] = \frac{25}{81} \times 10^{-3} = \frac{10^{-3}}{3,25}$$

τότε η (α) γίνεται :

$$\frac{[C]}{[A]} = \frac{[\text{R-CHOH-SO}_3^-]}{[\text{R-CHO}]} = \frac{10^{-3}}{3,25 \times K} \quad (\beta)$$

[C] : αντιπροσωπεύει το σουλφονικό παράγωγο της αλδεΐδης.

[A] : αντιπροσωπεύει την αδέσμευτη μορφή της αλδεΐδης.

1^η περίπτωση : η K είναι μικρότερη ή ίση από $0,003 \times 10^{-3}$ M τότε η (β) γίνεται:

$$\frac{[C]}{[A]} = \frac{10^{-3}}{3.25 \times 0.003 \times 10^{-3}} = \frac{1}{0.01} = 100$$

Σε αυτή τη περίπτωση το δεσμευμένο παράγωγο του θειώδους με την αλδεΐδη είναι 100 φορές περισσότερο από την ελεύθερη μορφή της , επομένως η δέσμευση θεωρείται σταθερή και δεν μπορεί να υπάρξει ελεύθερο θειώδες στον οίνο, ενώ παράλληλα ελάχιστο έως καθόλου θειώδες αποδεσμεύεται.

2^η περίπτωση: η K είναι μεγαλύτερη ή ίση από 30×10^{-3} M

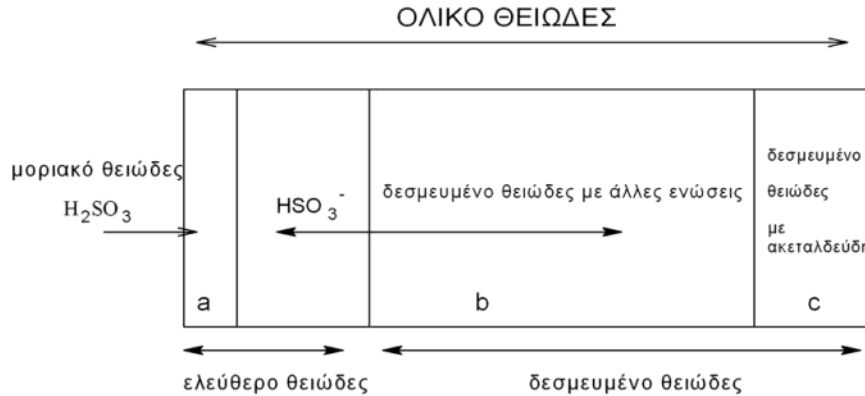
τότε η (b) γίνεται :

$$\frac{[C]}{[A]} = \frac{10^{-3}}{3.25 \times 30 \times 10^{-3}} = \frac{1}{100}$$

Σε αυτή τη περίπτωση το δεσμευμένο παράγωγο του θειώδους με την αλδεΐδη είναι 1/100, επομένως η όποια μείωση του ελευθέρου θειώδους του οίνου (λόγω οξειδώσεων) μπορεί εύκολα να αναπληρωθεί με την αποδέσμευση από τα σουλφονικά παράγωγα των καρβονυλικών ενώσεων.

Συμπερασματικά κατανοούμε ότι η σταθερότητα του κάθε σουλφονικού παραγώγου εξαρτάται από τη σταθερά K της αντίδρασης της ουσίας με το θειώδες:

Το παρακάτω γράφημα απεικονίζει τις διάφορες μορφές θειώδους στον οίνο για σταθερή τιμή Ph . (Ribereau-Gayon 1977):



Όπως βλέπουμε το τμήμα a αντιπροσωπεύει το ενεργά δραστικό μοριακό θειώδες, το τμήμα b αντιστοιχεί στη ισορροπία μεταξύ δεσμευμένου θειώδους με τιμές $K > 10^{-3}$ και της ιονισμένης μορφής HSO_3^- , ενώ το τμήμα c αντιπροσωπεύει το μόνιμα δεσμευμένο θειώδες (με την ακεταλδεύδη) με τιμές $K < 0,1 \times 10^{-3}$.

Η ακεταλδεύδη παράγεται από την αλκοολική ζύμωση και είναι η κύρια αιτία δέσμευσης του θειώδους: $CH_3-CHO + HSO_3^- \rightleftharpoons CH_3-CHOH-SO_3^-$

Η $K = 0,0024 \times 10^{-3}$ είναι πολύ μικρή, έτσι η ακεταλδεύδη είναι υπεύθυνη για τη δέσμευση περισσότερο από 99% του διαθέσιμου θειώδους στον οίνο (για συγκεντρώσεις ακεταλδεύδης μεταξύ 30 και 130 mg/l απαιτούνται 44 - 190 mg/l θειώδους).

Επίσης η παρουσία διαφόρων κετονικών οξέων (προϊόντων της αλκοολικής ζύμωσης), είναι σημαντική (από ίχνη μέχρι και 200 mg/l) και δεσμεύουν ποσοστό του διαθέσιμου θειώδους. Παράγονται στα αρχικά στάδια της ζύμωσης, ενώ η προσθήκη θειαμίνης (0,5 mg/l) στο γλεύκος προζυμωτικά, βοηθά στη αποκαρβοξυλίωση και καταστροφή αυτών των ενώσεων.

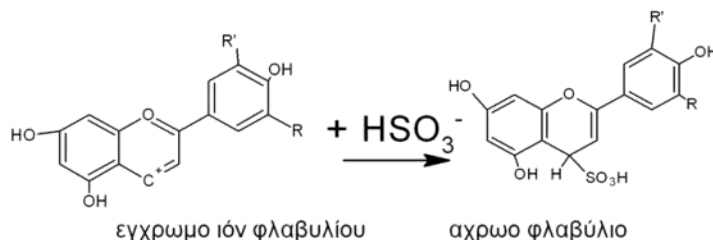
ΚΕΤΟΝΟΞΕΑ ΣΤΟ ΟΙΝΟ

Όνομα συγκεντρωση	Συντακτικός τύπος	K	
Πυρουβικό οξύ mg/l	$CH_3-CO-COOH$	$0.3 \times 10^{-3} M$	10 - 500
α-κετογλουταρικό οξύ 350 mg/l	$COOH-CO-CH_2-CH_2-COOH$	$0.5 \times 10^{-3} M$	2 -

Άλλα συστατικά που δεσμεύουν το θειώδες σε μικρό ποσοστό αναφέρονται παρακάτω:

Σάκχαρα: παρά το γεγονός ότι τα σάκχαρα διαθέτουν αλδευδο- ή κετονο- ομάδες θα περίμενε κανείς να δεσμεύουν σημαντικά το θειώδες. Η αντίδραση των σακχάρων με το θειώδες είναι αντιστρεπτή και η ισορροπία ευνοεί τη μη δραστική μορφή ημιακετάλη. Αντίθετα η αντίδραση Fehling (διάλυμα δισθενούς χαλκού) δεν είναι αντιστρεπτή: η ισορροπία μετατοπίζεται για να αποκαταστήσει τη χαμηλή συγκέντρωση (0,02%) της μορφής της ανοικτής αλυσίδας αλδεΐδοσακχάρων, αμέσως μόλις γίνεται σε ένα μικρό ποσοστό η αντίδραση.

Φαινολικά συστατικά: οι ελεύθερες ανθοκυάνες (σαν ετεροζίτες) δεσμεύουν σημαντικό ποσοστό του διαθέσιμου θειώδους (1g/l ανθοκυανών δεσμεύει 20 mg/l διοξειδίου του



θείου), και το αποτέλεσμα γίνεται αντιληπτό από τον αποχρωματισμό των ερυθρών νέων

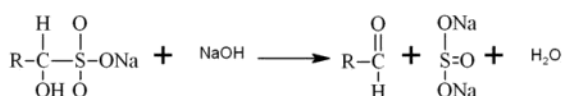
οίνων (λόγω καταστροφής της συζυγίας των απλών- διπλών δεσμών του μορίου τους). Η δέσμευση όμως εξαρτάται και από τη θερμοκρασία: είναι προσωρινή και αντιστρεπτή (επαναφορά ερυθρού χρώματος).

Τέλος μικρή δεσμευτική ικανότητα έχουν ενώσεις όπως: γλυκονικό και γαλακτουρονικό οξύ, γλυοξυλικό οξύ, οξαλοξικό οξύ, γλυκεριναλδεύδη, διυδροξυακετόνη, ακετοΐνη, 5-υδροξυμεθυλο-φουρφοϋράλη κλπ.

4.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΛΕΥΘΕΡΟΥ – ΔΕΣΜΕΥΜΕΝΟΥ – ΟΛΙΚΟΥ ΘΕΙΩΔΟΥΣ ΣΤΟΝ ΟΙΝΟ

4.3.1 Ιωδιομετρικός προσδιορισμός θειώδους(Ripper) :

Βασίζεται στην αντίδραση οξειδοαναγωγής :



Για τη μέτρηση του ελεύθερου θειώδους το δείγμα του οίνου πρέπει προηγουμένως να οξινοσθεί (10 % H_2SO_4), για την αποφυγή της οξειδωσης των πολυφαινόλων από το ιώδιο και μετά τιτλοδοτείται με δείκτη διαλ. αμύλου.

Παρόλα αυτά ένα ποσοστό της κατανάλωσης του ιωδίου δεσμεύεται από τις ανθοκυάνες και τις πολυφαινόλες του οίνου, έτσι απαιτείται λευκός προσδιορισμός (βλ. μέθοδο).

Όσον αφορά το δεσμευμένο θειώδες απαιτείται προηγουμένως αλκαλική υδρόλυση (δ. NaOH 4M) των σουλφονικών παραγώγων, απελευθέρωση του θειώδους και στη συνέχεια οξίνιση και τιτλοδότηση με διάλυμα ιωδίου παρουσία δείκτη αμύλου.

4.3.2 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΣΚΗΣΗ 7 (ΣΥΝΗΘΗΣ ΜΕΘΟΔΟΣ)

ΟΡΓΑΝΑ

1. Ογκομετρικές φιάλες των 250 ml (με εσφυρισμένο πώμα).
2. Σιφώνια: 2 -10 – 20 -50 ml).
3. Προχοΐδα 20 ή 50 ml (1/10 ml).

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

1. Διάλυμα H_2SO_4 αραιωμένο στο δεκαπλάσιο κατ όγκο (180 g/l).
2. Διάλυμα NaOH 4M.
3. Διάλυμα αμύλου 2,5 % που περιέχει NaCl 20%.
4. Διάλυμα ιωδίου (I_2) N/50 (N : 0,02).
5. Διάλυμα ακεταλδεύδης 7,0%.
6. EDTA .

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

1) Προσδιορισμός ελευθέρου θειώδους οξέος:

- 1.α) σε κωνική φιάλη των 250 ml, μεταφέρετε με σιφώνιο (μίας ροής) 50 ml , του προς εξέταση οίνου (αποφεύγετε την ανάδευση και αερισμό του οίνου πριν τον προσδιορισμό).
- 1.β) Προσθέσατε 3 ml διάλ. H_2SO_4 10% – 3 ml διάλ. αμύλου (πρόσφατο -συντήρηση σε ψυγείο) και 30 mg περίπου EDTA.
- 1.γ) Τιτλοδοτήστε άμεσα με διάλυμα ιωδίου N/50 μέχρι εμφάνισης κυανού χρώματος (10 sec): κατανάλωση: (n_0) ml.

2) Λευκός προσδιορισμός:

Επειδή κάποια συστατικά του οίνου οξειδώνονται από το ιώδιο απαιτείται να γίνει διόρθωση της κατανάλωσης του ιωδίου για τον κυρίως προσδιορισμό. Σε ογκομ. φιάλη των 250 ml (με εσφυρισμ. πώμα) μεταφέρετε με σιφώνιο 50 ml του ίδιου οίνου και προσθέστε 5 ml διαλ. ακεταλδεύδης 7% w/v, στη συνέχεια πωματίζετε τη φιάλη και αφήσατε σε ηρεμία για τουλάχιστον 30 min. Μετά το τέλος του χρόνου προσθέσατε 3 ml διάλ. H_2SO_4 10% – 3 ml διάλ. αμύλου. Τιτλοδοτήστε άμεσα με διάλυμα ιωδίου μέχρι εμφάνισης κυανού χρώματος (10 sec): (n'') ml.

Διορθώστε τη κατανάλωση ιωδίου για το ελεύθερο θειώδες: ($n_0 - n''$) = n_1 ml

3) Προσδιορισμός δεσμευμένου θειώδους:

Στο δείγμα από το στάδιο 1:

- (3.α) προσθέστε 8 ml διάλ. NaOH 4M – ανακινήστε μία φορά – και αφήσατε σε ηρεμία για 5 min.
- (3.β) Προσθέσατε 10 ml διάλ. H_2SO_4 10% και τιτλοδοτήστε άμεσα με διάλυμα ιωδίου μέχρι εμφάνισης κυανού χρώματος (10 sec): (n_2) ml.

(3.γ) Προσθέστε στο ίδιο δείγμα ξανά 20 ml διάλ. NaOH 4M – ανακινήστε μία φορά – και αφήσατε σε ηρεμία για 5 min.

(3.δ). Προσθέσατε 30 ml διάλ. H_2SO_4 10% και τιτλοδοτήστε άμεσα με διάλυμα ιωδίου μέχρι εμφάνισης κυανού χρώματος (10 sec): (n_3) ml.

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

Στο ισοδύναμο σημείο η χρωματική μεταβολή (μωβ – κυανό)οφείλεται στο σχηματισμό συμπλόκου μεταξύ της οξειδωμένης μορφής του ιωδίου (I_2) και του αμύλου. Το σύμπλοκο I^- - αμύλου είναι άχρωμο.

Για τους ερυθρούς οίνους: Η χρωματική μεταβολή είναι δύσκολα αντιληπτή (λόγω του ερυθρού χρώματος του οίνου), έτσι απαιτείται ευρύλαιμη κωνική φιάλη (μεγάλη διάμετρος), και υποβοήθηση με κίτρινο φωτισμό.

Σε περίπτωση που ξεπεραστεί το ισοδύναμο σημείο, μπορεί να χρησιμοποιηθεί διάλυμα θειοθειικού νατρίου ($Na_2 S_2O_3$) N/100 για επαναφορά ή διόρθωση.

Στη περίπτωση του λευκού προσδιορισμού , γενικά η κατανάλωση είναι μικρή (0,2 -0,3 ml Ιωδίου), όμως σε περίπτωση που στον οίνο έχει πρόσφατα προστεθεί ασκορβικό οξύ η κατανάλωση αυξάνεται σημαντικά (1 ml ιωδίου N/20 οξειδώνει 4,4 mg ασκορβικού οξέος.

Όταν η περιεκτικότητα στου θειώδους είναι παραπλήσια ή υπερβαίνει τα ανώτατα επιτρεπόμενα όρια, επιβάλλεται ο προσδιορισμός αυτού με τη μέθοδο αναφοράς καθώς επίσης και προσδιορισμός των θειικών αλάτων.

Η διατήρηση των δειγμάτων που πρόκειται να εξεταστούν για το ελεύθερο θειώδες δεν πρέπει να ξεπερνά τις 4 ημέρες και εφόσον έχει διατηρηθεί το δείγμα απουσία αέρα και στους 20 °C.

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

Γενικός τύπος : $\text{θειώδες οξύ (mg/l)} = \frac{(n) \times (N) \times (32) \times (1000)}{V}$

n : όγκος διαλύματος ιωδίου που καταναλώθηκε για τον προσδιορισμό (ml)

N: Η κανονικότητα του διαλύματος ιωδίου (N/50 ή N/20)

V: Ο όγκος του δείγματος τού οίνου που χρησιμοποιήθηκε στον προσδιορισμό.

Για το δείγμα μας ισχύει:

Ελεύθερο θειώδες mg/l: ($n_1 \times 12.8$)

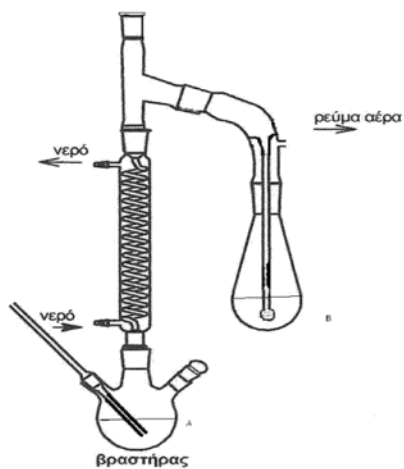
Δεσμευμένο θειώδες mg/l: ($n_1 - (n_2 + n_3) \times 12.8$)

Ολικό θειώδες mg/l: ($n_1 + n_2 + n_3 \times 12.8$)

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

- 1) Να προσδιορισθεί το ελεύθερο δεσμευμένο και ολικό θειώδες του δείγματος οίνου.
- 2) Να σχολιάσετε την αποτελεσματικότητα της θείωσης του οίνου.
- 3) Να αξιολογήσετε τον οίνο σύμφωνα με τα όρια του ολικού θειώδους που προβλέπονται από την νομοθεσία .

4.3.3 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΣΚΗΣΗ 8 (ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ)



Ο θειώδης ανυδρίτης παρασυσρόμενος από ρεύμα αέρα ή αζώτου, δεσμεύεται και οξειδώνεται από αραιό ουδέτερο διάλυμα, υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2). Το θειικό οξύ που σχηματίζεται προσδιορίζεται με τιτλοδοτημένο διάλυμα NaOH.

Εάν η διαβίβαση του αέρα ή του αζώτου γίνει εν ψυχρώ ($10^\circ C$), παρασύρεται και προσδιορίζεται μόνο το ελεύθερο θειώδες.

Εάν η διαβίβαση του αέρα ή του αζώτου γίνει εν θερμώ ($100^\circ C$), παρασύρεται και προσδιορίζεται το ολικό θειώδες.

ΟΡΓΑΝΑ

1. συσκευή παραλαβής και οξείδωσης του θειώδους οξέος.
2. σιφώνια των 50 , 20 , 10 , 5 , 2 , 1 ml.
3. θερμομέτρο 0 – 100 °C.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

1. διάλυμα φωσφορικού οξέος (H_3PO_4) 25 % w/v.
2. διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου H_2O_2 0,3 % v/v.
3. σύνθετος δείκτης που αποτελείται από : ερυθρό του μεθυλίου 100 mg – κυανό του μεθυλενίου 50 mg και αραιώση με αλκοόλη 50 % v/v στα 100 ml.
- 4) διάλυμα NaOH 0,01 M.

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

A) ελεύθερο θειώδες :

1. Στη σφαιρική φιάλη (A) φέρονται 10 ml οίνου – 5 ml διαλύματος H_3PO_4 25 % w/v .Όταν η περιεκτικότητα του οίνου σε ελεύθερο θειώδες προβλέπεται μικρή τότε εισάγουμε μεγαλύτερη ποσότητα οίνου (20 ή 50 ml).
2. Τοποθετούμε στο κάτω μέρος της σφαιρικής φιάλης (A) παγόλουτρο θερμοκρασίας έως 10 °C (μπορούμε να ψύξουμε τον οίνο πριν την εισαγωγή).
3. Στη φιάλη (B) εισάγονται 2-3 ml διαλύματος H_2O_2 0,3 % v/v -2- 3 σταγόνες σύνθετου δείκτη –και εξουδετερώνουμε με διάλυμα NaOH 0,01 M . (γαλάζιο χρώμα).
4. Η φιάλη (B) προσαρμόζεται στη συσκευή έτσι ώστε το σφαιρικό διάτρητο άκρο να εμβαπτίζεται στο διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου που περιέχεται.
5. εισάγουμε ρεύμα αέρα ή αζώτου (με χρήση υδραντλίας) για 10 – 15 min (ομαλή ροή). Στον ψυκτήρα της συσκευής κυκλοφορεί κρύο νερό κατ αντιροή .

Το ελεύθερο θειώδες οξύ παρασύρεται από το ρεύμα αέρα ή αζώτου από τη φιάλη (A) και εισερχόμενο στο διάλυμα του υπεροξειδίου του υδρογόνου στη φιάλη (B) οξειδώνεται άμεσα σε θειικό οξύ (εμφανίζεται πράσινη χρωματική χροιά) .

Μετά τη παρέλευση του χρόνου η φιάλη (B) αποσυνδέεται από τη συσκευή και τιτλοδοτείται άμεσα με διάλυμα NaOH 0,01 M (γαλάζιο χρώμα) .

Έστω (α): η κατανάλωση διαλύματος NaOH 0,01 M για το ελεύθερο θειώδες.

B) Προσδιορισμός ολικού θειώδους

Η μόνη διαφοροποίηση στον προσδιορισμό του ολικού θειώδους σε σχέση με το προσδιορισμό του ελευθέρου αφορά το στάδιο 2:

2. Ο οίνος στη φιάλη (A) φέρεται σε βρασμό (100°C): η φλόγα πρέπει να είναι ήπια (απαιτείται παρεμβολή μεταλλικού πλέγματος ή δίσκου) έτσι ώστε να αποφεύγεται η πυρόλυση των συστατικών του οίνου. Η αποδέσμευση του ενωμένου θειώδους γίνεται εν θερμώ και ο βρασμός διατηρείται σε όλη τη διάρκεια της παραλαβής του θειώδους με το ρεύμα αέρα.

Το θειικό οξύ που σχηματίζεται στη φιάλη (B) τιτλοδοτείται με διάλυμα καυστικού νατρίου.

Έστω (β): η κατανάλωση διαλύματος NaOH 0,01 M για το ολικό θειώδες.

Η διαφορά($\beta - \alpha$) αφορά τη κατανάλωση διαλύματος NaOH 0,01 M για το δεσμευμένο θειώδες.

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ

Ελεύθερος θειώδης ανυδρίτης	mg/l	$32 \times \alpha$
Δεσμευμένος θειώδης ανυδρίτης	mg/l	$32 \times (\beta - \alpha)$
Ολικός θειώδης ανυδρίτης	mg/l	$32 \times \beta$

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

- 1) Να προσδιορίσετε το ελεύθερο - δεσμευμένο – και ολικό θειώδες με τη μέθοδο αναφοράς.
- 2) Να συγκρίνετε τα αποτελέσματα με αυτά της συνήθους μεθόδου.

ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΟΥ ΟΛΙΚΟΥ ΘΕΙΩΔΟΥΣ ΜΕΤΑ ΤΟ ΤΕΛΟΣ ΤΗΣ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗΣ ΖΥΜΩΣΗΣ

Μετά το τέλος της αλκοολικής ζύμωσης απαιτείται η άμεση ρύθμιση του ολικού θειώδους στον νέο οίνο, προκειμένου να υπάρξει η επιθυμητή ποσότητα του ελεύθερου θειώδους για την αντιοξειδωτική προστασία του κατά την ωρίμανση του .

Επειδή τα προϊόντα δέσμευσης του θειώδους , σε κάθε περίπτωση είναι διαφορετικά, δεν μπορεί να προβλεφτεί η απαιτούμενη προσθήκη θειώδους για τη ρύθμιση του επιθυμητού ελεύθερου θειώδους σε κάθε δεξαμενή.

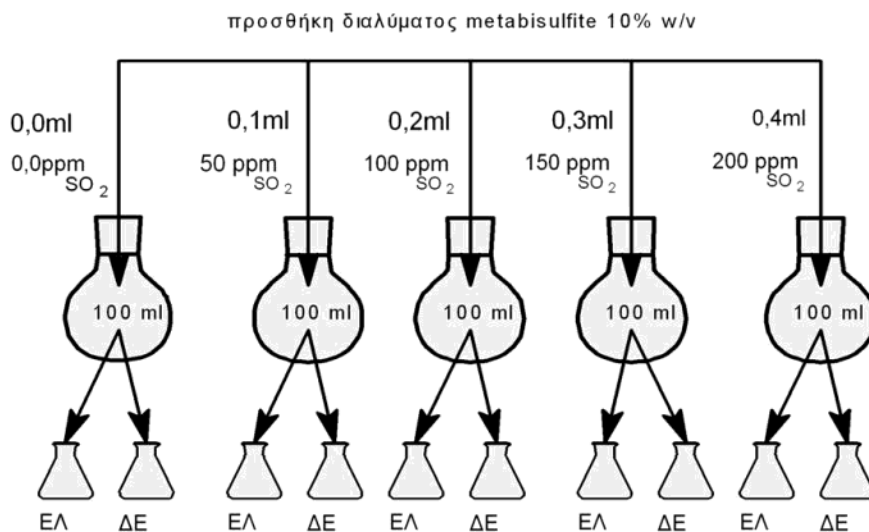
ΚΑΜΠΥΛΗ ΘΕΙΩΔΟΥΣ ΣΤΟΝ ΟΙΝΟ

Με την καμπύλη θείωσης εξασφαλίζουμε την αποτελεσματική θείωση του οίνου.

Για το σκοπό αυτό ακολουθούμε τη παρακάτω διαδικασία:

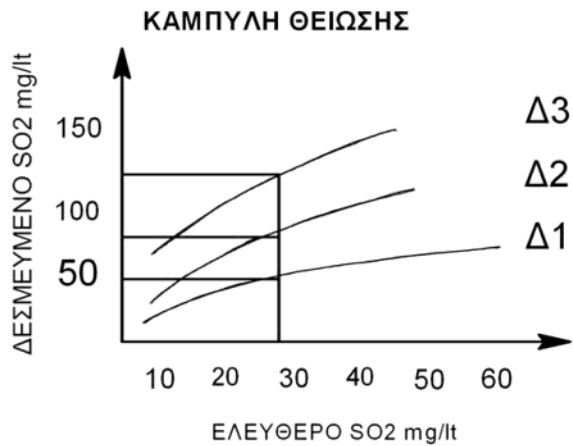
Προετοιμασία διαλύματος θειώδους: Ζυγίζουμε 10 gr metabisulfite και αραιώνουμε σε 100 ml. Κάθε 1 ml του διαλύματος αυτού μεταφέρει 5 mgr SO_2 (απόδοση του $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$ σε SO_2 :50%).

Από τη δεξαμενή παίρνουμε δείγμα οίνου. Προετοιμάζουμε 4 δείγματα (δοκιμή σε μικρό) σε φιάλη με πώμα: Με σιφώνιο ή ογκομ. φιάλη μεταφέρουμε 100 ml οίνου σε κάθε φιάλη και προσθέτουμε αυξανόμενες δόσεις διαλύματος $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$.



Τα δείγματα παραμένουν πωματισμένα για 24 ώρες στους 20 °C και στη συνέχεια προσδιορίζεται το ελεύθερο και δεσμευμένο θειώδες (μέθοδος Ripper).

Με τα δεδομένα αυτά κατασκευάζεται η καμπύλη θείωσης για κάθε δεξαμενή και αποτυπώνονται στο παρακάτω διάγραμμα:



ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

Από το παραπάνω διάγραμμα μπορεί να γίνει σύγκριση στη θείωση για τις τρεις δεξαμενές: Παρατηρούμε ότι στον ίδιο στόχο ελευθέρου θειώδους αντιστοιχούν διαφορετικές ποσότητες δεσμευμένου θειώδους, για κάθε δεξαμενή χωριστά. Η Δ1 απαιτεί τη μικρότερη θείωση ενώ η Δ3 μεγαλύτερη.

Η καμπύλη θείωσης αφορά κάθε δεξαμενή χωριστά.

Η αύξηση του βαθμού θείωσης στο γλεύκος οδηγεί στη παραγωγή ουσιών που δεσμεύουν το θειώδες.

