

Met de klas actief aan de slag!

Overzicht activiteiten

→ **Experimenteer en maak zelf wijn in de klas!!** Hieronder vind je de volledige leidraad voor het maken van wijn.

→ Proefjes voor in de klas

- Meten van het suikergehalte met een densimeter: zie verder
- Meten van de zuurtegraad via titratie: zie verder
- **Gistproefjes:** aantonen van de werking van gist, de temperatuursgevoeligheid en voedingsstoffen voor gist, enz. : zie verder
- **Microscopisch onderzoek** van levende gistcellen: zie verder

Wens je de hulp van een **educatieve medewerker?** Maak dan een afspraak:
etenschappen@howest.be

Metten van het suikergehalte

Inleiding: Suikers in vruchten

Fruit en vruchten zijn gekenmerkt door hun ingewikkelde chemische samenstelling. De twee hoofdbestanddelen die zowel de kwaliteit van de vruchten als de kwaliteit van de daaruit gewonnen wijn bepalen, zijn de zuren en de suikers.

- Sacharose wordt ook nog rietsuiker of bietsuiker genoemd. In vruchten komt hij ofwel helemaal niet, ofwel slechts in zeer kleine hoeveelheden voor.
- Invertsuiker is een suikermengsel van gelijke delen fructose en glucose.
- **Glucose** is één van de belangrijkste enkelvoudige suikers. Hij wordt ook nog druivensuiker, bloedsuiker of dextrose genoemd.
- Fructose wordt ook nog vruchtensuiker genoemd. Samen met glucose is hij de meest voorkomende suiker in alle vruchten.
- Maltose is een samengestelde suiker enkel opgebouwd uit glucose.

- Lactose is de suiker die in de melk aanwezig is. Het is een samengestelde suiker die opgebouwd is uit glucose en galactose.

Metten van het suikergehalte met de densimeter

→ Het is uiterst noodzakelijk om het suikergehalte van het sap te bepalen, want daarmee kan je berekenen hoeveel gram suiker je nog moet toevoegen om je gewenste **alcoholgehalte** in de wijn te bekomen.

→ Zo kan je van verschillende verse en/of commerciële vruchtensappen het suikergehalte meten en vergelijken. Bvb. appelsap en druivensap uit een doos van de winkel, en versgeperste sappen.

Principe van de densimeter:

→ Iedereen weet dat bepaalde vloeistoffen en oplossingen lichter of zwaarder zijn dan water. Een oplossing van suiker in water is zwaarder dan water. Meer wetenschappelijk wordt deze waarneming weergegeven door het begrip **densiteit** (andere namen: **dichtheid** en soortelijke massa).

Eenvoudig uitgedrukt is de densiteit van een vloeistof of van een oplossing de numerieke waarde of het getal dat weergeeft hoeveel maal die oplossing meer of minder weegt dan water. De densiteit van water is 1 000, dit betekent dat 1 liter water 1 000 gram weegt. De meeste densiteitsmeters zijn geijkt op een temperatuur van 20 ° C.

→ Om het aflezen van de densimeter bij verse vruchtensappen mogelijk te maken, wordt de pulp best zoveel mogelijk verwijderd, bvb. door het sap eerst door een fijne zeef te gieten.

Interpretatie van de densimeter:

→ We lezen de waarde af op de densimeter en zoeken de overeenkomstige waarde in gram suiker per liter sap in de onderstaande tabel. Suiker is hier glucose.

Tabel: Suikergehalte in het sap

densiteit	gram suiker per liter	densiteit	gram suiker per liter
1000	0,0	1011	28,6
1001	2,6	1012	31,2
1002	5,2	1013	33,8
1003	7,8	1014	36,4
1004	10,4	1015	39,0
1005	13,0	1016	41,6
1006	15,6	1017	44,2

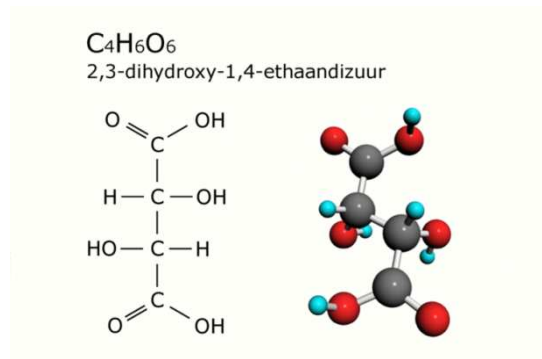
1007	18,2	1018	46,8
1008	20,8	1019	49,4
1009	23,4	1020	52,0
1010	26,0		

Metten van de zuurtegraad

→ De zuurtegraad is van zeer groot belang. Chemisch gezien is de bepaling van de zuurtegraad een **zuur-base titratie**. Er wordt natriumhydroxide (NaOH) toegevoegd tot alle zuur is geneutraliseerd. Uit de hoeveelheid toegevoegde base en de concentratie kan de hoeveelheid zuur worden berekend. Dit wordt dan uitgedrukt in **aantal gram wijnsteenzuur per liter**.

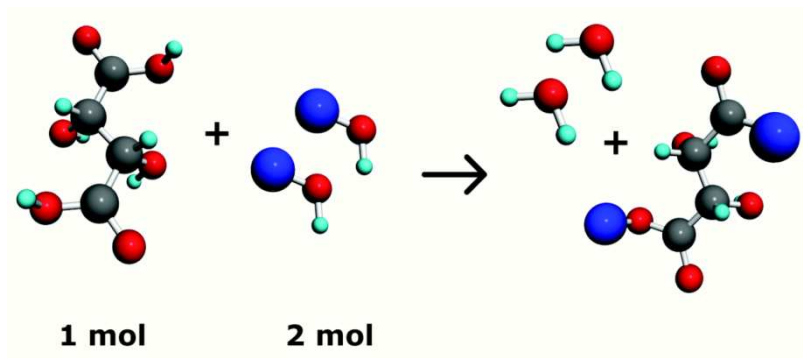
→ Zo kunnen we de zuurtegraad bepalen van een ongekende wijn of van verschillende vruchtensappen. Om verse sappen te titreren is het gemakkelijker als de pulp zoveel mogelijk wordt verwijderd, bvb. door het sap eerst te filteren met een fijne zeef.

Structuur van wijnsteenzuur:



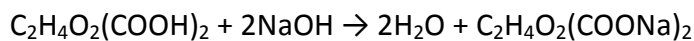
In zuurvorm: $C_2H_4O_2(COOH)_2$

Reactievergelijking:



1 mol wijnsteenzuur reageert met 2 mol NaOH

→We kunnen nu de reactievergelijking uitschrijven. We zien dat 1 mol wijnsteenzuur reageert met 2 mol NaOH. Bij deze reactie bekommen we 'natriumzout' en water:



Indicator en omslaggebied:

Indicator: fenolftaleïne (0,1% in ethanol)

Omslaggebied: kleurloos → paars

Andere mogelijkheid: broomthymolblauw, met omslaggebied van geel naar blauw

Opstelling van de titratie:

→We maken de opstelling en spoelen de buret 1x door met NaOH. We vullen nu de pipet met 0,1 M NaOH en controleren het vloeistofvolume goed op luchtballen. We noteren het beginvolume.

→Met een pipet brengen we 10 ml vruchtensap of wijn over in een erlenmeyer, we voegen 10 ml water en 3 druppels indicator toe.

→We starten met de titratie. We titreren druppelsgewijs tot de oplossing in het bekeerglas paars (met een grijze schijn) verkleurt. Om de kleuromslag duidelijker te zien kan het handig zijn een wit blaadje onder het bekeerglas te leggen. We lezen af hoeveel ml 0,1M NaOH nodig was om de oplossing te neutraliseren.

Opmerking: Het is niet gemakkelijk om rode wijn of blauw druivensap, vanwege de reeds blauw-paarse kleur, te titreren. In dit geval is de kleuromslag waar te nemen als een grijze schijn die in de vloeistof ontstaat. Vandaar dat we de vloeistof met water aanlengen en een wit blad onder het bekeerglas leggen, om de kleuromslag iets duidelijker te maken.

Waarnemingen en berekeningen:

Door meermaals (minimum 3x) dezelfde titratie uit te voeren bekomen we een nauwkeurig gemiddelde.

Voorbeeld:

nr. meting	volume 0,1M NaOH (ml)
1	5,9
2	6,0
3	6,0
4	6,0

→ In deze proef bekomen we een gemiddelde van 6,0 ml 0,1M NaOH. Een concentratie van 1M betekent 1 mol per liter.

Berekening:

→ De molaire massa (n) van natriumhydroxide bekomen we door de concentratie en het volume te vermenigvuldigen:

$$\begin{aligned}n_{\text{NaOH}} &= c \cdot V = 0,1 \text{ mol/l} \cdot 0,006 \text{ l} \\ &= 0,0006 \text{ mol} = 0,6 \text{ mmol}\end{aligned}$$

6,0 ml 0,1M NaOH komt overeen met 0,00060 mol NaOH.

→ Uit de reactievergelijking kunnen we afleiden dat 2 mol NaOH overeen komt met 1 mol wijnsteenzuur, 0,00060 mol NaOH komt dus overeen met 0,00030 mol wijnsteenzuur.

$$n_{\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6} = 0,00030 \text{ mol}$$

OF: 10 ml wijn bevat 0,00030 mol wijnsteenzuur.

→ De **concentratie van wijnsteenzuur** in het sap of in de wijn:

$$c = n/V = 0,00030 \text{ mol} / 0,01 \text{ l} = 0,030 \text{ mol/l}$$

OF: 1 liter wijn bevat 0,030 mol wijnsteenzuur.

Het moleculair gewicht (MG) van wijnsteenzuur is 150 gram per mol.

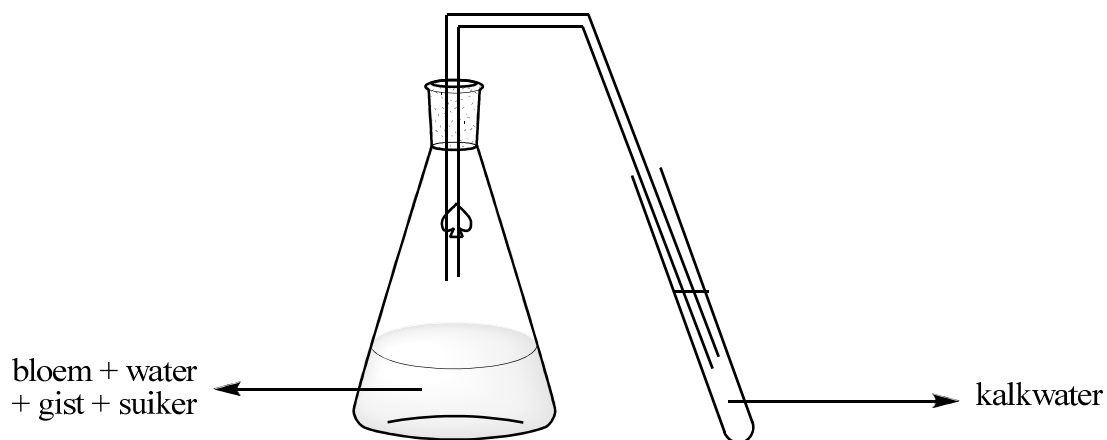
$0,030 \text{ mol} \times 150 \text{ g/mol} = 4,5 \text{ gram}$.

→De **zuurtegraad** van de wijn bedraagt 4,5 gram wijnsteenzuur per liter.

Gist Proefjes

1) Gist produceert gas: Welk gas?

- Maak volgende opstelling



erlenmeyer + kurk en gas afleiden doorheen kalkwater

Wat gebeurt er?

- Neem een reageerbuisje met kalkwater en voeg er wat spuitwater bij. Wat zie je?
 - Neem een reageerbuisje met kalkwater, en blaas er langdurig in met een rietje/pipet. Wat zie je? Kalkwater is een indicator voor welk gas? Koolzuurgas of CO_2
- Wat kan je dan besluiten over gist?

Besluit:

Gist is een micro-organisme dat behoort tot het rijk van de schimmels. Gist wordt bij het bakken van brood gebruikt als rijsmiddel. Als gist zich voedt, bijvoorbeeld met de suiker in dit proefje, dan komt er koolzuurgas vrij. Als het warm is gaat dat proces beduidend sneller.

2) Werking van gist: Invloed van voedingsstoffen en temperatuur

Benodigheden:

- 5 erlenmeyers of maatcilinders (genummerd)
- actieve gist (bakkers-, wijn- of biergist)

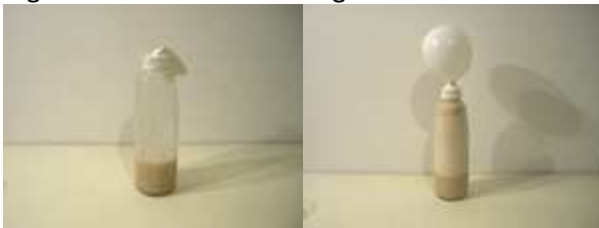
- lauw water
- 5 ballonnen
- suiker, zout

Proefje:

- Maak een mengsel van bloem en water en voeg er een snuifje zout aan toe.
Vul maatcilinder 1 voor 40ml met dit mengsel.
- Voeg gist toe aan het mengsel van bloem en water.
Vul maatcilinder 2 voor 40ml met dit mengsel.
- Voeg nu suiker toe aan het mengsel. Vul 2 maatcilinders voor 40 ml met dit mengsel.
Plaats maatcilinder 4 in een warme omgeving (emmertje met warm water), plaats nummer 5 in een emmer met koud water of in een koelkast.
- Voeg tenslotte een teveel aan zout toe aan het mengsel.
Vul maatcilinder 5 voor 40mL met dit mengsel.
- Sluit elke maatcilinder af met een witte ballon. (Het kan goed zijn de ballon vooraf eens op te blazen en terug leeg te laten lopen).
- Bekijk de resultaten na 20 à 30 minuten.

Reactie:

Algemeen: bloem +water + gist + suiker



reactie: de ballon loopt langzaam vol met koolzuurgas

Bevindingen:

We onderzochten dus:

- 1) water + meel + snuifje zout (smaak): mengen
- 2) + gist
- 3) + suiker
- 4) A: + warmte, B: + koude

5) + teveel zout

→Gist produceert dus gas in aanwezigheid van zetmeel (2), maar dit gebeurt veel sneller indien kristalsuiker (snelle suiker) wordt toegevoegd (3). Zetmeel daarentegen is een trage suiker. Dit gebeurt nog sneller indien de gist in een warme omgeving werkzaam is (4A). De koude (4B) en een teveel aan zout (5) belemmeren echter de gistwerking.

Besluit:

Gistcellen zijn levend maar in de verpakking zijn de cellen niet actief. Ze worden actief als we water toevoegen. Net zoals elk levend organisme heeft gist in actieve toestand voedsel en warmte nodig om te overleven en zich voort te planten.

3) Extreme temperaturen:

Je kan ook de temperatuur onderzoeken waarbij gist het beste zijn werk doet.

Benodigdheden:

- 3 maatcilinders of proefbuisjes
- water van verschillende temperatuur: koud (koelkast), warm (40°C) en heet (70°C)
- zakje gist
- suiker
- ballonnen

Proefje:

→Doe in elke maatcilinder dezelfde hoeveelheid gist (bvb. een mespuntje) en dezelfde hoeveelheid suiker (bvb. 2 theelepels).

→Voeg nu in elke cilinder eenzelfde hoeveelheid water, maar van een verschillende temperatuur: koud kraantjeswater, water van 40°C en water van 70°C.

→Doe de ballonnen over de opening van de reageerbuizen of cilinders. Nummer de maatcilinders en laat 15 à 20 min staan.

Microscopisch onderzoek van levende gistcellen

➤ Gist

Je kan bakkergist, biergist of wijngist gebruiken; deze zijn allemaal rassen van dezelfde soort: ***Saccharomyces cerevisiae***. Wij gebruikten een zakje van het merk Fermivin – Supergist: Universele wijngist (*Saccharomyces cerevisiae*).

➤ Vorbereiding:

-De gistcellen van ***Saccharomyces cerevisiae*** moeten ongeveer een halfuur op voorhand aan een kleine hoeveelheid warm (35° - 38°C, NIET heet!) water toegevoegd worden. Aan 100 ml H₂O voegen we ongeveer 10 g gist toe. Dit maakt de gistcellen “actief” en vergroot de kans om (beginnende) knopvorming waar te nemen.

-Ook het op voorhand toevoegen van een kleine hoeveelheid glucose-oplossing (5%) aan de gist bevordert de rehydratatie en vermenigvuldiging (groei) van de gistcellen. In dit geval voegen we 5 g glucose (of kristalsuiker) en 10 g gist toe aan 100 ml H₂O. Laat dit staan en roer af en toe eens om. Het preparaat mag niet afgedekt worden, want de gistcellen hebben zuurstof nodig om zich te vermenigvuldigen.

-De glasplaatjes en andere materialen moeten ontvet worden met aceton.

➤ Benodigdheden:

-standaard lichtmicroscop (bvb. type Swift) met olie immersielens (om een sterkere vergroting van het object mogelijk te maken)

-immersie-olie

-voorwerpglasjes (of draagglasjes) en dekglasjes

-aceton (CH₃COCH₃): om de glasplaatjes vetvrij te maken

-gistpreparaten: eventueel in verschillende verdunningen, of één met en één zonder toegevoegde glucose

-gedestilleerd water of demi-water: om preparaten te verdunnen

-1 ml pipetten: om de vloeistoffen over te brengen in de proefbuisjes en op de voorwerpglasjes

-proefbuisjes: om preparaten te verdunnen

-glucose-oplossing

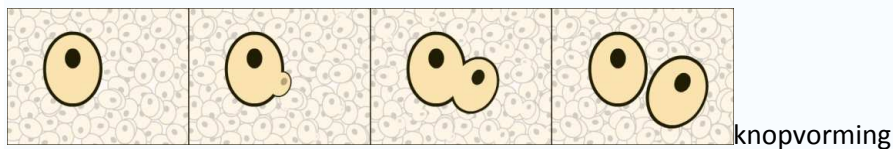
➤ **Werkwijze:**

1. Materiaal (voorwerpglasjes, dekglasjes) ontvetten.
2. Preparaat (gist + water + glucose)eventueel verdunnen: met pipet kleine hoeveelheid gistmengsel in proefbuisje overbrengen en verdunnen met gedestilleerd water bvb. 2x en 4x verdunnen.
3. 1 druppel van het verdunde preparaat overbrengen op een voorwerpglasje en een dekglasje aanbrengen. [Het dekglasje schuin houden onder een hoek van 45° en voorzichtig laten vallen, om geen luchtbelletjes in je preparaat te krijgen.]
4. Op het dekglasje een druppel immersie-olie aanbrengen.
5. Bekijk onder de olie immersielens van de microscoop.
6. Vergroting 1300 à 1500x: 100 (lens)x 10 (oculair)x 1,3 à 1,5 (door de olie)

➤ **Waarneming :**

→ Gist is een levend, ééncellig micro-organisme. De ovale cellen zijn klein (ongeveer 0,01 mm in diameter), maar onder de microscoop zijn ze heel goed zichtbaar. Ze onderscheiden zich van [bacteriën](#) (gemiddelde grootte van 0,001 mm) door het bezit van een [celkern](#) en zijn ook significant groter.

→De vermenigvuldiging van de gisten gebeurt meestal door **knopvorming** (zie onderstaande figuur). Op deze manier worden gistcellen met precies dezelfde genetische eigenschappen bekomen. Dit kan je misschien waarnemen met de microscoop.



Maak zelf wijn in de klas

Stappenplan:

1. Winnen van het sap
2. Meten van het suikergehalte en de zuurtegraad van het sap
3. Berekenen hoeveel suiker en water moet toegevoegd worden om een wijn met bepaald vol% alcohol te bekommen
4. Giststarter
5. Gistingsproces

Als voorbeeld: rabarberwijn

1) Winnen van het sap

- Voor de bereiding van de fruitwijn hebben we 15 kg rabarber nodig. Na de rabarberstokken zorgvuldig te hebben gewassen snijden we ze in stukken van ongeveer 10 cm lang. De gedeeltes het dichtst bij de stengel snijden we af, dit is omdat vooral deze gedeeltes zeer veel oxaalzuur bevatten.
- We steken de rabarber minstens een paar dagen in de diepvries en ongeveer 24 uur voor het persen halen we alles uit de diepvries om de rabarber te ontdooien.
- Voor het persen maken wij gebruik van een korfpers
- Na het persen hebben we 13 liter sap
- Er bestaan verschillende methodes om sap te winnen. De gemakkelijkste is wellicht de **sapcentrifuge**.

Sapwinning

De basisgrondstof voor de bereiding van wijn is het sap. Dit sap bepaalt uiteindelijk de smaak van de wijn. Met bijvoorbeeld appelsap dat je in de supermarkt kan kopen kan je ook wijn maken. Maar we starten liever met vruchten die we in de eigen tuin kunnen vinden. In principe kan je van alles wijn maken, dus niet enkel van sap uit fruit. Je kan immers ook het sap van bladeren en bloemen gebruiken zolang er suiker in aanwezig is. Er bestaan tal van technieken om het sap uit de vruchten te winnen. We zullen hieronder kort enkele technieken toelichten.

Persen

Het winnen van sap gebeurt op industriële wijze altijd door het persen van de vruchten. Bij het persen wordt het sap, in de cellen opgesloten, door mechanische druk uit de cellen verwijderd.

Diepvriezen

Men kan ook sap winnen door het diepvriezen en het ontdooien van de vruchten. Wanneer de vruchten voldoende diep gekoeld worden, gaat de celinhoud bevroren. De bevroren vloeistof neemt een groter volume in dan de oorspronkelijke vloeistof. Hierdoor gaat de celwand barsten en scheuren. Bij een daaropvolgend ontdooien loopt het sap vrij uit de cellen en het bekomen vruchtenmoes kan met behulp van een stramiendoek zo met de hand volledig van het sap ontdaan worden.

Sapketel

We verwarmen de vruchten in een sapketel. Door de ontwikkelde waterdamp wordt het sap uit de vruchten verdreven. Deze werkwijze is echter niet ideaal, ze brengt immers veel pectine in de most en dat geeft dan later ook weer moeilijkheden bij het klaren van de wijn.

Centrifugatie

Met een sapcentrifuge kan men ook gemakkelijk verse vruchtensappen bekomen. Na het centrifugeren is vaak nog een gedeelte pulp in het sap aanwezig. Dit kan het aflezen van bvb. de densimeter bemoeilijken. Door het sap een tijdje koel te zetten, gaat het sap verzinken en de pulp gaat bovendrijven. De pulp kan dan voorzichtig afgeschept worden of het sap kan voorzichtig uitgegoten worden. Het sap door een fijn zeef gieten kan ook een mogelijkheid zijn.

2) Metingen

Voorbeeld:

- We meten het **suikergehalte** met een densimeter en we bekomen 1016. 1016 is een te lage waarde en dus moeten we zeker suiker toevoegen.
- Via een titratie meten we de **zuurtegraad** en we bekomen 14 gram wijnsteenzuur per liter.

3) Berekeningen

We wensen een fruitwijn te bekomen met een **alcoholgehalte** van 13 vol%

- **Hoeveel liter wijn kunnen we maken?**

(saphoeveelheid x zuurtegraad) / 7 = aantal liter wijn

We nemen 7 om een neutrale zuurtegraad te bekomen

(13l x 14gram wijnsteenzuur per liter) / 7 = 26 liter wijn

- **Suikercorrectie door de hoge zuurtegraad**

- * zuurtegraad > 20 → SG (suikergehalte) – 10
- * zuurtegraad 10 – 20 → SG – 8
- * zuurtegraad = 10 → SG – 5
- * zuurtegraad < 10 → geen suikercorrectie nodig

In ons voorbeeld: 14 gram wijnsteenzuur, dus: zuurtegraad 10 – 20 → SG – 8

Suikergehalte na correctie: $1016 - 8 = 1008$

- We willen een alcoholgehalte van 13 vol% bekomen. Dit betekent:

- * 13 ml alcohol in 100 ml wijn

Of: 130 ml in 1 liter wijn

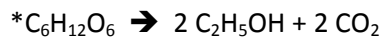
Dit komt overeen met: $0.130 \text{ l} \times 800 \text{ g/l} = 104 \text{ gram alcohol}$

(dichtheid alcohol = 0,8 of 800 g/l)

- * molmassa van $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (alcohol) = 46.069 g/mol

46.069 gram → 1 mol

104 gram → 2,257 mol $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$



1 mol 2 mol

2,257 mol $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ → 1,129 mol $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$

- * molmassa van $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ = 180,157 gram

1 mol $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ → 180,157 gram $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$

1,129 mol $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ → 203,397 gram $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$

- Hoeveel gram suiker is er in het sap aanwezig?

aantal gram suiker per liter x aantal liter wijn = aantal gram suiker (zie tabel)

20,8 g/l x 13 l = 270,4 gram suiker

De rabarber zelf levert dus 270,4 gram suiker.

* In een volume van 26 liter moet er dus $203,397 \text{ g} \times 26 \text{ l} = 5288,3$ gram suiker aanwezig zijn.

* We moeten nog $5288,3 \text{ g} - 270,4 \text{ g} = 5080,9$ gram suiker toevoegen.

- Hoeveelheid alcohol die wordt gevormd:

Er wordt 5080,9 gram suiker toegevoegd, daaruit ontstaat:

$(5080,9 \times 2) \times 46,069 / 180,175 = 2598,5$ gram alcohol.

- Welke is de te verwachten volumetoename op het einde van de gisting door deze toegevoegde suiker?

$2598,5 \text{ g alcohol} / 800 \text{ g per liter} = 3,25$ liter alcohol.

- Hoeveel liter water moeten we toevoegen?

aantal liter wijn - hoeveelheid sap - volume suiker = aantal liter water dat moet worden toegevoegd.

$26 \text{ l} - 13 \text{ l} - 3,25 \text{ l} = 9,75 \text{ l water}$ Er moet 9,75 liter water worden toegevoegd.

4) Giststarter

- We voegen 100 g suiker toe aan een $\frac{1}{2}$ l water in een fles van 1l en schudden goed.
- We voegen als laatste 5g gist toe. De hoeveelheid gist die moet worden toegevoegd staat op de verpakking van de gist in kwestie. De fles mag zeker niet afgesloten worden omdat er in de fles een te grote druk zou ontstaan.
- We laten de fles ongeveer 20 minuten staan. Na 20 minuten is de giststarter klaar om te gebruiken

5) Het gistingproces

- We brengen het sap, de suiker, het water en de giststarter in een voldoende grote mandfles, sluiten dit alles af met een waterslot en laten alles gisten.
→Temperatuur best tussen 18 en 25°C

- Na ruim 1 maand is de wijn uitgegist. Dit kan men controleren met de densimeter.
- Om de wijn te klaren wordt de wijn enkele weken koel geplaatst. Nadat de wijn voldoende geklaard is, wordt deze overgeheveld in flessen.

→De wijn is klaar om geproefd te worden.