



Srednja šola za kemijo,
elektrotehniko in
računalništvo

MARASCHINO: KAKO PRIPRAVITI ŽGANJE IZ DOMAČIH VIŠENJ

Raziskovalna naloga

Avtor: Dominik Fendre, K-4.a

Mentor: Sebastian Klovar, dipl. ing. kem. teh.



Srednja šola za kemijo,
elektrotehniko in
računalništvo

MARASCHINO: KAKO PRIPRAVITI ŽGANJE IZ DOMAČIH VIŠENJ

Raziskovalna naloga

Avtor: Dominik Fendre, K-4.a

Mentor: Sebastian Klovar, dipl. ing. kem. teh.

Kazalo

Kazalo	3
Kazalo slik	5
Kazalo tabel in grafov	6
Zahvala	7
Povzetek	8
Abstract	9
1 Uvod	10
1.1 Namen naloge.....	10
1.2 Hipoteze.....	10
2 Teoretične osnove.....	11
2.1 Metode analiz.....	11
2.1.1 Gravimetrična analiza	11
2.1.2 Spektrofotometrija.....	13
2.1.3 Plinska kromatografija	14
2.2 Žganjekuhu	15
2.2.1 Zgodovina.....	15
2.2.2 Maraschino	16
2.2.3 Surovine za žganjekuhu	17
2.2.4 Pomožna sredstva	18
2.2.5 Alkoholno vrenje.....	21
2.2.6 Destilacija.....	24
2.2.7 Destilacijske naprave in posode	26
2.2.8 Higiena in varstvo pri delu žganjekuhu	28
3 Eksperimentalno delo	30
3.1 Priprava drozge	30
3.1.1 Inventar.....	30
3.1.2 Kemikalije in pomožna sredstva	30
3.1.3 Postopek	30
3.2 Kronološko vzorčenje in skladiščenje drozge	32
3.2.1 Inventar.....	32
3.2.2 Postopek	32
3.3 Sterilizacija in priprava vzorcev drozge.....	34

3.3.1 Inventar.....	34
3.3.2 Postopek	34
3.4 Kronološko vzorčenje in skladiščenje destilata	35
3.4.1 Inventar.....	35
3.4.2 Postopek	35
3.5 Gravimetrično določevanje sladkorjev.....	37
3.5.1 Priprava reagentov.....	37
3.5.2 Postopek določevanja sladkorjev	39
3.6 Spektrofotometrično določevanje bakrovih ionov.....	41
3.6.1 Inventar.....	42
3.6.2 Reagenti.....	42
3.6.3 Postopek	42
3.7 Določevanje hlapnih snovi z GC	43
3.8 Določevanje koncentracije etanola s piknometri	43
3.8.1 Inventar.....	43
3.8.2 Postopek	44
4 Rezultati	46
4.1 Sprememba koncentracije sladkorjev v drozgi skozi čas	46
4.2 Sprememba koncentracije etil acetata v destilatu skozi čas	49
4.3 Sprememba koncentracije metanola v destilatu skozi čas	53
4.4 Sprememba koncentracije etanola v destilatu skozi čas	55
4.5 Sprememba koncentracije bakrovih ionov v destilatu skozi čas.....	59
5 Diskusija.....	60
6 Viri in literatura.....	62
6.1 Vsebinski viri	62
6.2 Viri slik	63
Priloge	65

Kazalo slik

Slika 1: Shema nastanka bistartratkupratnega(II) kompleksa	12
Slika 2: Oborina bakrovega(I) oksida po končani reakciji Fehlingove raztopine	12
Slika 3: WinLab spektrofotometer	14
Slika 4: Shema plinskega kromatografa	15
Slika 5: Skica destilacijske aparature iz 8. stoletja.....	15
Slika 6: Srednjeveška proizvodnja destilatov.....	16
Slika 7: Višnje sorte maraska	18
Slika 8: Primer encima pektinaze	19
Slika 9: <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ali pivski kvas	20
Slika 10: Embalaža hrane za kvasovke.....	20
Slika 11: Hidroliza saharoze.....	21
Slika 12: 3D struktura etanola	23
Slika 13: 3D struktura metanola	23
Slika 14: 3D struktura etil acetata.....	24
Slika 15: Shema destilacijske aparature	26
Slika 16: Klobuk domačega kotla.....	27
Slika 17: Povezovalna cev domačega kotla.....	27
Slika 18: Destilacijski hladilnik domačega kotla	28
Slika 19: Plastični sod za drozganje	31
Slika 20: Fermentacija višenj	32
Slika 21: Vzorčenje drozge.....	33
Slika 22: Sterilizacija vzorcev drozge	34
Slika 23: Domači kotel za žganjekuhu	35
Slika 24: Pretok destilata iz hladilnika	36
Slika 25: Vakuumska filtracija oborin	41
Slika 26: Inventar za določevanje bakrovih ionov	43
Slika 27: Določevanje gostote s piknometri	44
Slika 28: Kromatogram vzorca.....	50
Slika 29: Tabela vrednosti mas oborin in sladkorjev	65

Kazalo tabel in grafov

Tabela 1: Inventar za pripravo drozge	30
Tabela 2: Kemikalije za pripravo drozge	30
Tabela 3: Inventar za vzorčenje in skladiščenje drozge	32
Tabela 4: Temperatura prostora šestih tednov.....	33
Tabela 5: Inventar za sterilizacijo vzorcev drozge	34
Tabela 6: Inventar za kronološko vzorčenje in skladiščenje destilata.....	35
Tabela 7: Inventar za pripravo reagentov	37
Tabela 8: Kemikalije za pripravo reagentov.....	37
Tabela 9: Inventar za določevanje sladkorja	39
Tabela 10: Raztopine za določevanje sladkorja	39
Tabela 11: Inventar za določevanje bakrovih ionov.....	42
Tabela 12: Reagent za določevanje bakrovih ionov	42
Tabela 13: Inventar za določevanje etanola	43
Tabela 14: Tabela masnih koncentracij glede na teden fermentacije	47
Tabela 15: Mase oborin in napake metode	49
Tabela 16: Tabela koncentracij etil acetata glede na čas destilacije.....	50
Tabela 17: Tabela masnih koncentracij etil acetata glede na prisoten alkohol	52
Tabela 18: Masne koncentracije metanola glede na čas destilacije.....	53
Tabela 19: Volumski delež metanola glede na čas destilacije.....	54
Tabela 20: Masne koncentracije etanola glede na čas destilacije.....	58
Tabela 21: Povprečna masna koncentracija bakrovih ionov glede na čas destilacije	59
Graf 1: Odvisnost mase sladkorja od mase oborine nižjih vrednosti	46
Graf 2: Odvisnost koncentracije invertnega sladkorja od časa fermentacije.....	47
Graf 3: Odvisnost mase sladkorja od mase oborine višjih vrednosti	48
Graf 4: Odvisnost masne koncentracije etil acetata od časa destilacije	50
Graf 5: Odvisnost masne koncentracije metanola od časa destilacije	53
Graf 6: Odvisnost masne koncentracije etanola od časa destilacije	58
Graf 7: Odvisnost masne koncentracije bakrovih ionov od časa destilacije	59

Zahvala

Zahvalil bi se rad Šolskemu centru Celje za možnost izvedbe eksperimentalnega dela v laboratoriju, še posebej mojemu razredniku in mentorju g. Sebastianu Klovarju za pomoč pri iskanju literature, izvajanju eksperimentov ter za nasvete, brez katerih ne bi zmogel narediti te raziskovalne naloge.

Zahvala gre tudi g. Kragolniku in g. Redku na Nacionalnemu laboratoriju za zdravje, okolje in hrano Novo mesto za pomoč pri opravljanju analize hlapnih snovi s plinskim kromatografom.

Zahvala ge. Sabini Litera in ge. Aleksandri Ferenc za pomoč in asistenco pri eksperimentalnem delu v laboratoriju ter ge. Valentini Hrastnik in ge. Klavdiji Špur Jereb za lektoriranje raziskovalne naloge.

Nazadnje bi se zahvalil še svoji družini za spodbudo in podporo in svoji teti Anici Švab za višnje in ustrezne pogoje za žganjekuho.

Povzetek

Leta 2018 je bilo po vsej Sloveniji obilo sadja in tudi pri nas je bilo tako, zato sem iz višenj pripravil žganje. Kot dijaka kemije so me zanimale spremembe koncentracij različnih snovi tako med fermentacijo kot med destilacijo.

V tej raziskovalni nalogi so predstavljene analize, ki sem jih izvajal za določevanje sladkorja v drozgi med fermentacijo in določevanje etanola, metanola, etil acetata ter bakrovih ionov med destilacijo.

Iz rezultatov sem ugotovil, da je končni produkt višnjevega žganja primeren za uživanje s stališča Pravilnika o kakovosti alkoholnih pijač.

Ključne besede: žganje, višnje, destilacija, sladkor, alkohol, metanol, etil acetat, bakrovi ioni, Fehlingov reagent, plinski kromatograf.

Abstract

There were plenty of fruit in the year 2018 in Slovenia, also in our area, thus I decided to prepare sour cherry spirit (liquor). Being a student of Chemistry I was interested in changes of concentrations of various substances both during fermentation as well as during distillations.

In the research paper I presented analyses that were performed in order to determine sugars during fermentation and determining ethanol methanol, ethyl acetate and copper ions during distillation.

The results showed that the final product of cherry liquor is appropriate for drinking. (Based on the Rule book of quality of alcoholic).

Key words: liquor, sour cherries, distillation, sugar, alcohol, methanol, ethyl acetate, copper ions, Fehling's reagent, gas chromatography.

1 Uvod

Žganjekuha v Sloveniji je del tradicije. Že od nekdaj so naši predniki pridelano sadje, ki ni bilo primerno za konzumiranje, uporabili tako, da so ga fermentirali in prekuhali v dragocene destilate različnih vrst. Nekatera žganja imajo pri nas dolgo tradicijo, kot je pleterska viljamovka z Dolenjske, po večini Slovenije je pa tudi zelo popularno slivovo žganje.

1.1 Namen naloge

Sam sem z žganjekuhom seznanjen že dolgo, saj je to v naši družini in v okolišu običajna dejavnost. Leta 2018 je bilo po vsej Sloveniji obilo sadja. Moja teta ima višnjevo drevo, ki je bogato obrodilo, in ker se višnje ne bi pojedle ali predelale v razne produkte, sem lahko višnje na vrhuncu dozorelosti obral in jih predelal v višnjevo žganje. Višnje so bile pobrane, oprane, predelane, fermentirane in na koncu destilirane v višnjevo žganje. Kot dijak kemije sem navdušen nad delovanja in mehanizmi med fermentacijo in destilacijo. Zanimajo me spremembe koncentracij raznih organskih snovi, kot so sladkorji, alkoholi in estri.

Med fermentacijo sem 6 tednov zbiral in skladiščil vzorce drozge ter jim analitično določil koncentracije sladkorje. Med destilacijo sem kronološko vzorčil in skladiščil vzorce destilata ter jim analitično določil hlapne snovi in bakrove ione. S to nalogo bom tudi preveril, kako natančno se da senzorično ločiti prvi tok pri destilaciji.

1.2 Hipoteze

Pred začetkom raziskovanja sem si postavil 4 znanstvene hipoteze.

Hipoteza št. 1: Koncentracija sladkorjev v drozgi med fermentacijo pada eksponentno.

Hipoteza št. 2: Senzorično je možno pravilno ločiti prvi tok od srednjega, tako da koncentracije lahkoklapnih snovi (etyl acetat, metanol) ne predstavljajo tveganja za zdravje.

Hipoteza št. 3: Etanol je na začetku srednjega toka primerne koncentracije za koščičasto sadje glede na knjigo *Žganja iz sadja in grozdja* [3].

Hipoteza št. 4: Koncentracija bakrovih ionov v destilatu z destilacijo narašča.

2 Teoretične osnove

2.1 Metode analiz

2.1.1 Gravimetrična analiza

Gravimetrična analiza je metoda kvantitativne analize, pri kateri se od raztopine vzorca loči substanco, to pa ločimo in stehtamo. Običajni postopek takšne analize je:

- 1 Priprava raztopine, ki vsebuje znano količino vzorca.
- 2 Separacija substance v raztopini.
- 3 Izolacija in tehtanje netopne substance.
- 4 Stehiometrični izračun mase/koncentracije želene komponente iz mase izolirane oborine.

Od mnogih metod za separacijo komponent je najpogostejsaobarjanje komponent, ki v raztopini vzorca niso topne. Reagent, ki obori raztopino, je specifičen zaobarjanje določene komponente. Netopno snov izoliramo s filtracijo, snov izpiramo za odstranitev neželenih snovi in nečistot ter jo posušimo za odstranitev vode in stehtamo.

Napake metode gravimetrične analize so po navadi povezane s čistoto izolirane oborine. Običajno so snovi, ki se oborijo, izredno netopne, kar zmanjša napako končnega rezultata. Pridobiti oborino, ki je 100 % čista in po sestavi točna, je dokaj težko. Vse takšne analize so podane napakam rezultatov zaradi komplikacij in težavnosti. [1]

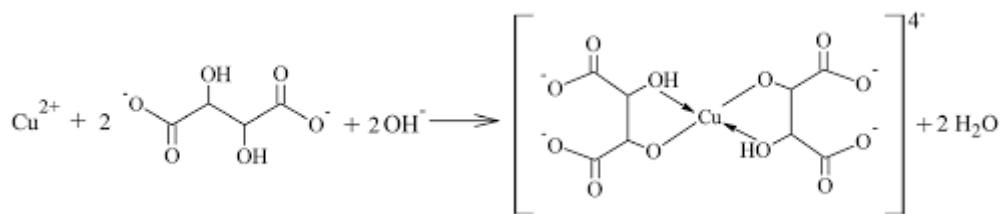
2.1.1.1 *Fehlingov reagent*

Fehlingov reagent je modra, bazična raztopina bistartratkupratnega(II) kompleksa, ki reagira z raztopino reducirajočih sladkorjev (glukoza, fruktoza), pri čemer nastane opečnato-rdeča oborina bakrovega(I) oksida. Raztopina ne reagira z raztopino saharoze.

Reagent je razvil nemški kemik Hermann von Fehling leta 1849 za testno ločevanje vodotopnih aldehidov in ketonov ter kot test za monosaharide.

Reagent se vedno pripravlja v laboratoriju pred uporabo. Sestavlja ga dve raztopini: Fehling A sestavlja modna vodna raztopina bakrovega(II) sulfata(VI) pentahidrata; Fehling B sestavlja brezbarvna vodna raztopina kalij natrijevega tartrata in močne baze.

Enaka volumna raztopin A in B se premešata in končni produkt je reagent temno-modre barve. V končni mešanici se tartratni ioni povežejo s Cu^{2+} ioni bakrovega(II) sulfata(VI), pri čemer nastane bistartratkupratni(II) kompleks (slika 1).

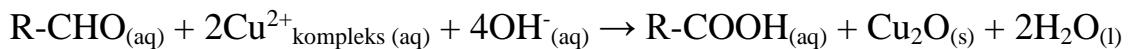


Slika 1: Shema nastanka bistartratkupratnega(II) kompleksa

Reagent dodamo vzorcu in mešanico segrevamo. Aldehidi se oksidirajo, kar se kaže v pozitivnem testu, ketoni ne reagirjo, razen če so α -hidroksiketoni. V procesu redoks reakcije se bakrovi(II) ioni v kompleksu reducirajo v bakrove(I) ione. Obori se rdeč bakrov(I) oksid (slika 2).

Fehlingova raztopina je splošni test za monosaharide, pozitivni test kaže aldoze zaradi proste aldehidne skupine, reagent je uporaben tudi za ketoze, saj se v prisotnosti bazičnega medija pretvorijo v aldoze. Reagent se uporablja za določevanje glukoze v urinu in posledično detekcijo diabetesa. [2]

Splošna kemijska enačba reakcije Fehlingove raztopine:



Slika 2: Oborina bakrovega(I) oksida po končani reakciji Fehlingove raztopine

2.1.2 Spektrofotometrija

Spektrofotometrija je področje molekulske absorpcijske spektrometrije, pri kateri skozi raztopino analiznega vzorca spuščamo svetlobo izbrane valovne dolžine. Merimo absorbanco in nato iz umeritvene krivulje odčitamo koncentracijo raztopine.

Bistveni del instrumenta je monokromator, ki lahko oddaja elektromagnetno valovanje različnih valovnih dolžin.

Ko monokromatska svetloba z intenziteto prodira skozi raztopino, se del svetlobe absorbira, večji del svetlobne energije pa raztopina prepusti. Prepustnost je delež prepuščene svetlobe, označimo jo s transmitanco. [11]

Enačba za transmitanco:

$$T = \frac{I_t}{I_0} \times 100 \%$$

- T prepustnost/transmitanca [%]
- I_t intenziteta prepuščene svetlobe [cd]
- I_0intenziteta vpadne svetlobe [cd]

Poleg prepustnosti merimo še absorbanco, med njima obstaja logaritemska zveza:

$$A = - \log T = - \log \frac{I_t}{I_0}$$

- A absorbanca []
- T prepustnost/transmitanca []
- I_t intenziteta prepuščene svetlobe [cd]
- I_0intenziteta vpadne svetlobe [cd]

Zvezo med množino absorbirane svetlobe in koncentracijo raztopine pri sobni temperaturi podaja **Beer-Lambertov zakon**:

$$A = a \times l \times \gamma \quad A = \varepsilon \times l \times c$$

- A absorbanca []
- a absorbtivnost [$L \text{ cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$]
- l dolžina kivete [cm]
- γ masna koncentracija [g/L]
- ϵ ekstinkcijski koeficient [$L \text{ cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$]
- c molska koncentracija [mol/L]



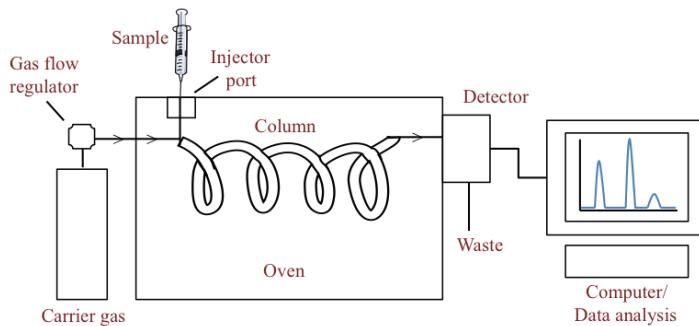
Slika 3: WinLab spektrofotometer

2.1.3 Plinska kromatografija

Plinska kromatografija je v analizni kemiji separacijska tehnika, pri kateri je vzorec plin par, ki poteka skozi izredno tanko cev obdano z adsorbacijskim materialom. Zaradi enostavnosti, občutljivosti in učinkovitosti je ta naprava ena najpomembnejših v kemiji. Uporablja se za kvalitativne in kvantitativne analize mešanic. Iz $0,1 \text{ cm}^3$ krvi lahko določijo delež raztopljenega kisika, dušika, ogljikovega dioksida in ogljikovega monoksida. GC je uporaben v analizah onesnaženega zraka, alkohola v krvi, eteričnih olj in živilskih izdelkov.

Metoda je sestavljena iz vnosa preskusne mešanice ali vzorca v tok inertnega plina, običajno helija ali argona, ki deluje kot nosilec. Tekoči vzorci se pred vbrizganjem v nosilni tok uparijo. Tok plina poteka skozi zapolnjeno kolono, skozi katero se komponente vzorca premikajo s hitrostmi, na katere vpliva stopnja interakcije vsake sestavine s stacionarno nehlapno fazo. Snovi, ki imajo večjo interakcijo s stacionarno fazo, se v večji meri zavirajo

in zato ločijo od tistih z manjšo interakcijo. Ko vsaka komponenta zapusti kolono z nosilcem, prehaja skozi detektor in nato bodisi gre v zbiralnik frakcij bodisi se zavrže.



Slika 4: Shema plinskega kromatografa

2.2 Žganjekuha

2.2.1 Zgodovina

Zgodovinski podatki nam kažejo, da so izvajali destilacijo najprej za pridobivanje izvlečkov iz aromatičnih rastlin, ki so jih potrebovali za dišavne vode in olja za balzamiranje. Postopek destilacije so opisovali grški zdravilci, kot sta Aristotel in Hipokrat, že pred našim štetjem. Težko je natančneje ugotoviti, kdaj so pričeli dobivati alkoholne destilate in žgane pijače. Najverjetneje so pričeli prve destilate pridobivati v 2. st. n. š. Arabci, ki so dali tudi ime tako pridobljeni opojni tekočini: *al-kohl*.



Slika 5: Skica destilacijske aparature iz 8. stoletja

Od 11. stoletja dalje poznamo latinski izraz *destillare* (destilirati), kar pomeni tudi izločanje, izganjanje. Tako leta 1160 poroča Salernus o destilaciji vina, prof. medicine Arnaud de

Villeneuve iz južne Francije pa pripisuje alkoholu čudodelne lastnosti, tudi daljše življenja, in uveljavi izraz »voda življenje« - *aqua vitae* (leta 1250).

Pričetek uporabe alkohola in pridobivanja žganja na našem območju ni znan, vendar so bila žganja znana v Srbiji sredi 14. stoletja. V 16. stoletju se je proizvodnja destilatov vin in sadja povečala, s tem pa tudi izboljšava naprav za destilacijo. Pomembno delo je leta 1507 izšlo v Braunschweigu z naslovom *De arte distillandi*, ki opisuje izpopolnjenje destilacijske naprave z boljšim hlajenjem.



Slika 6: Srednjeveška proizvodnja destilatov

Slovenija ni svetovno znana proizvajalka žganih pijač. Tradicija žganjekuhe je znana na našem območju od 2. polovice 19. stoletja, prva tovarna žganja in likerjev je bila ustanovljena leta 1873 na Ptiju, kasneje pa še v Šentilju pri Mariboru in Domžalah. Danes kuhajo žganje predvsem iz sadja na mnogih kmetijah, zlasti turističnih. [3]

2.2.2 Maraschino

Maraschino so prvi začeli izdelovati dominikanski menihi v 16. stoletju za medicinske namene. Kasneje je postal ena najbolj priljubljenih produktov na Hrvaškem. Do danes je ostal prepoznaven kot vrhunski liker narejen iz dalmatinskih višenj, tj. vrste maraska.

Leta 1840 je Francesco Drioli uveljavil edinstveno tehniko pletenja steklenic za likerje, ki je še vedno v uporabi.

Leta 1871 je angleška kraljica Viktorija poslala vojne ladje na Mediteran, da je lahko naročila Maraschino za sodišče Velike Britanije. [10]

2.2.3 Surovine za žganjekuhu

Šibke alkoholne pijače pridobimo iz alkoholno prevretih surovin, ki vsebujejo enostavne in kompleksne ogljikove hidrate. Močne alkoholne pijače moramo dodatno predestilirati, saj lahko kvasovke delujejo samo do 16% volumskega deleža alkohola.

Surovine, ki jih uporabljamo za žganjekuhu, morajo izpolnjevati kakovostne zahteve:

- čim višjo koncentracijo sladkorjev,
- izraženo in intenzivno aroma posamezne sorte,
- morajo biti zdrave in čiste, nikakor pa gnile ali plesnive.

Najprimernejši plodovi so tisti, ki so v polni zrelosti. Takšno sadje vsebuje največ sladkorja in arom ter so manj bogate z organskimi kislinami, ki lahko negativno vplivajo na kvaliteto končnega destilata. Primerna zrelost sadja odločilno vpliva na kakovost destilata. Pri zorenju sadja ločimo več faz zrelosti:

- nezrelost,
- obiralna zrelost,
- užitna zrelost,
- zrelost za drozganje,
- prezrelost.

Na kvaliteto plodov ne vpliva samo faza zrelosti, temveč tudi klima zorenja. Če je sadje zorelo v hladnih in deževnih poletjih, je pogosto šibko z aromo in sladkorjem ter bogato s kislinami. A če je pa klima bolj topla in sončna, je razmerje med sladkorjem in kislinami primernejše za žganje. [3]

2.2.3.1 *Višnje*

Višnje, nekateri jim pravijo »kisle češnje«, so za žganjekuhu dokaj neobičajno sadje v Sloveniji. Med njimi ločimo tiste, ki so slabo obarvane (sorta montmorency), in tiste, ki so bolje obarvane (sorta gorsemska). Plodovi imajo okoli 90 % mesa s sokom, v primerjavi s češnjami so dva- do trikrat bolj kisle (pH 3,1-3,3), vsebujejo pa enako sladkorja, ampak ga zaradi kislin ne čutimo tako intenzivno.

V Dalmaciji je znana sorta maraska (slika 5), ki daje znano fino aroma destilatom, iz katerih pripravljajo liker Maraskino oziroma Marashino. [3]



Slika 7: Višnje sorte maraska

2.2.4 Pomožna sredstva

V vinogradništvu in žganjekuhiji je pogosta uporaba različnih pomožnih sredstev za optimalizacijo končnega produkta.

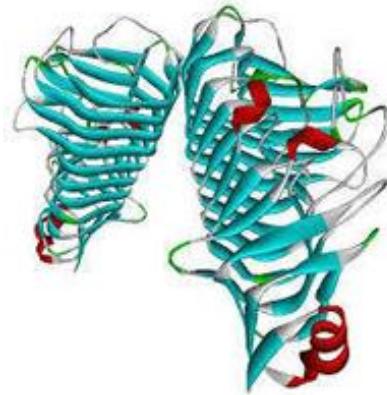
2.2.4.1 *Encimi*

Encimi so spojine, ki se delujejo kot biokatalizatorji v živih organizmih, regulirajo stopnje kemijskih reakcij brez spremnjanja njihove zgradbe. Večino bioloških procesov v organizmih nadzorujejo encimi, od metabolizma hrane do izgradnje novih molekul.

Pektolitični encimi – pektinaze (slika 6) so pomembne zlasti v predelavi pečkatega sadja. Omogočijo, da so drozge bolj tekoče in s tem je okolje primernejše za kvasovke ter njihovo delovanje. Ti encimi tudi pomagajo v drozgi zmanjšati nastajanje metanola, nastalega med fermentacijo pektina.

Amilolitični encimi – amilaze so pomembne za razgradnjo škroba, prisotne v nezrelem sadju.

Proteolitični encimi – proteaze so pomembne za razgradnjo beljakovin do aminokislin, kar omogoča hranilne snovi za kvasovke. [3][4]



Slika 8: Primer encima pektinaze

2.2.4.2 *Kvasovke*

Kvasovke so skupina enoceličnih gliv, ki zajema približno 1500 vrst. Lahko jih najdemo v večini prsti ter na površini rastlin, še posebej tistih z višjo vsebnostjo sladkorja v nektarju. Kot glive so kvasovke evkarionti. Običajno so velike 0,075 mm v premeru.

Obstaja več kot 100 ekonomsko pomembnih vrst, pomembnih v pridelavi kruha, piva in vina. V živilski industriji so kvasovke uporabljene za fermentacijo in vzhajanje. Glive metabolizirajo različne sladkorje, pri tem pa izdelujejo alkohol (etanol) in ogljikov dioksid, v žganjekuhi, pivovarstvu in vinogradništvu je zaželen prvi produkt, v pekarski industriji pa slednji. Med fermentacijo se populacija kvasovk veča eksponentno, saj se razmnožujejo nespolno in učinkovito. Ena celica kvasovke lahko fermentira maso glukozo enaki svoji teži v eni uri.

Včasih so drozge pustili, da prevrejo z avtohtono mikrofloro. Ker so pa na sadju tudi manj zaželene bakterije, se odločajo žganjekuhi za selekcionirane kvasovke, ki so za fermentacijo primernejše zaradi hitrosti metabolizma in odpornosti alkohola pri višjih koncentracijah. Kakovost destilata lahko znižajo tudi ocetne bakterije, ki so prisotne v sadju. [3][5][14]



Slika 9: *Saccharomyces cerevisiae* ali pivski kvas

2.2.4.3 Hranične (vrelne) soli

Hranične (vrelne) soli so mešanica amonijevih soli, kot so diamonijev fosfat, amonijev sulfat in različni vitamini. Drozgamo jih dodajamo za boljše in učinkovitejše delovanje kvasovk, dodajamo jih še posebej drozgamo, ki so beljakovinsko oziroma aminokislinsko skromne. Dodajamo jih po navodilih na embalaži. [3]



Slika 10: Embalaža hrane za kvasovke

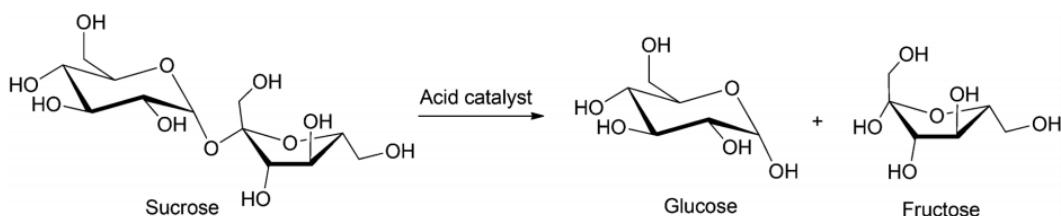
2.2.4.4 Saharoza

Kadar želimo povečati jakost alkohola v drozgi, še posebej pri sadju z manj alkohola, lahko izbirno dodamo v drozgo saharozo ali namizni sladkor.

Po kemijski sestavi je saharzoza ($C_{12}H_{22}O_{11}$) organska spojina sladkega okusa, kristali so brezbarvni. Spada med disaharide, ki po kislinsko katalizirani hidrolizi ali pa hidrolizi encima invertaza, razpade na tako imenovan »invertni sladkor«, ki je mešanica fruktoze in glukoze v razmerju 1:1.

Naravno se namizni sladkor nahaja v sladkornem trsu, sladkorni pesi in medu. V industriji se uporablja v živilih za ojačenje in izboljšanje okusa. [6]

Saharzoza lahko s hidrolizo razcepimo v glukozo in fruktozo. Hidroliza je kislinsko katalizirana:



Slika 11: Hidroliza saharoze

2.2.5 Alkoholno vrenje

2.2.5.1 Fermentacija

Fermentacija je kemijski proces, pri katerem molekule, kot so glukoza, anaerobno razpadejo. Proses je poznan v pridelavi vina in piva že vsaj 10 000 let. Francoski kemik Louis Pasteur je v 19. stoletju uporabil pojem fermentacija kot spremembe, ki se zgodijo zaradi kvasovk in drugih mikroorganizmov v pomanjkanju kisika, ugotovil je tudi, da pri alkoholnem vrenju ne nastaneta samo etanol in ogljikov dioksid.

Primerne temperature za vrenje so 15-20 °C. V začetku kvasovke še potrebujejo kisik za razmnoževanje, ko ga porabijo, se prične presnova sladkorjev ter tvorba alkohola in drugih proizvodov vrenja (CO_2 , glicerol, kisline, višji alkoholi, estri itd.). Takoj ob začetku vrenja

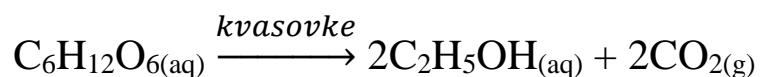
namestimo na vrh vrelnih posod vrelne vehe, ki morajo biti dobro zatesnjene. Tako omogočimo izhajanje CO₂ in preprečimo vstop kisika.

Vrenje se lahko prehitro prekine zaradi:

- prenizke temperature (12 °C ali manj),
- premajhnega dodatka kvasovk,
- premalo hranilnih snovi za kvasovke,
- prenizkega pH (pod 2,8) ...

V optimalnih razmerah traja vrenje iz pečkatega sadja 2-3 tedne, drozge koščičastega sadja, ki so pa gostejše in vsebujejo več sladkorja, vrejo 4-5 tednov. Po zaključnem alkoholnem vrenju so drozge občutljive na oksidacijo. Preprečimo jih z dodatkom encima glukoze oksidaze. Če drozge ne moremo takoj predestilirati, jo moramo shraniti pri temperaturi 15 °C (ali manj) v temnem prostoru. [3][7]

Splošna kemijska enačba fermentacije sladkorja:



2.2.5.2 *Etanol*

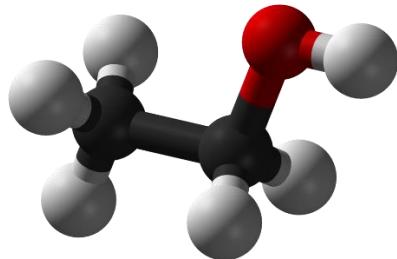
Etanol ali etilni alkohol (C₂H₅OH) (slika 9) je zelo pomembna sestavina alkoholnih pihač, zlasti žganih. Spada v širšo skupino organskih snovi, imenovanih alkoholi. V industriji se uporablja kot topilo, v sintezah, dodatek bencinu itd.

Za pridobivanje se uporablja v glavnem dva procesa: fermentacija saharidov za alkoholne pihače in hidracijo etilena, ki je kislinsko katalizirana.

Etanol vre pri 78,3 °C pri normalnem zračnem tlaku, kar pomeni, da ga je v destilatu največ na začetku destilacije, proti koncu ga je vedno manj. Ima značilen vonj, na zraku hlapi in je vnetljiv. Z zrakom lahko tvori eksplozivno zmes v koncentraciji 50 g/m³ zraka.

V žganih pihačah je količina odvisna od vrste pihače. Predpisi določajo, da je lahko jakost med 25 % vol do 50 % vol, največkrat so 36-44 % vol. Med fermentacijo in tudi v destilatu lahko etanol reagira z veliko organskih molekul, ki pozitivno vplivajo na kakovost in aroma:

s kislinami reagira in s tem tvori etilne estre, ki imajo značilne vonje po sadju, z aldehidi pa tvori acetate. Če ni drozga dobro zatesnjena in ima dostop kisik, se lahko alkohol oksidira v etanol in na koncu ocetno kislino, ki negativno vpliva na končni produkt. [3][8]

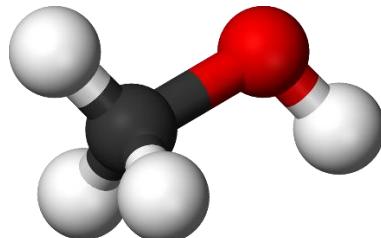


Slika 12: 3D struktura etanola

2.2.5.3 *Metanol*

Metanol ali metilni alkohol (CH_3OH) (slika 10) je najenostavnejši alkohol. Včasih so ga pridobivali z destruktivno destilacijo lesa, moderna metoda pridobivanja je katalizirana reakcija med ogljikovim monoksidom in vodikom. V industriji je pomemba snov za sinteze in topilo.

Nastaja pretežno pri encimski razgradnji pektinov v sadni drozgi, še posebej z encimom *pektinmetilesteraza* (PME), količina nastalega metanola pa se razlikuje od posameznih vrst sadja. Kljub znani toksičnosti, ki nastopi pri encimski oksidaciji od metanola do metanolske kisline, povzroča slepoto ter smrt. Raziskave so pokazale, da v kombinaciji z etanolom v žganih pijačah ni nevaren, saj deluje etanol kot protistrup. Vendar se lahko ob večjem uživanju žganih pijač količine metanola v organizmu akumulirajo in povzročajo težave. [3][9]

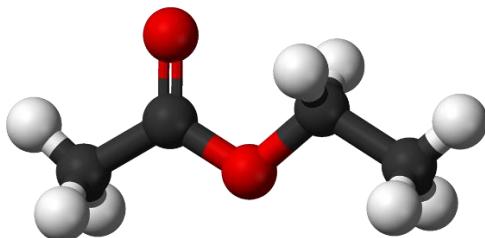


Slika 13: 3D struktura metanola

2.2.5.4 Etil acetat

Etil acetat ali etil etanoat ($\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) (slika 14) je ester alkohola etanola in ocetne kisline. V destilatih količina estra ni velika, a je vpliv na aroma velik. V čisti obliki ima sladkasti vonj ter vonj po lepilu, saj ga najpogosteje uporablja v industriji za lepila. Količine se v destilatu s časom povečujejo zaradi t.i. zorenja.

Etil acetat vre pri $77,1^\circ\text{C}$ pri normalnem zračnem tlaku. Nastaja v drozgi med fermentacijo, količina je odvisna od mikroflore v vrenju in razmer. Za tvorbo estrov je med vrenjem ugodna temperatura 21°C , tvorjenih je več divjih kot selekcioniranih kvasovk.



Slika 14: 3D struktura etil acetata

2.2.6 Destilacija

2.2.6.1 Značilnosti

Destilacija je tehnološki postopek, s katerim izločamo hlapljive sestavine iz tekočih zmesi z izparevanjem in naknadnim utekočinjenjem par. Z destilacijo lahko popolnoma ali delno odvajamo določene tekočine sestavin iz prevrele sadne drozge. Alkohol v obliki par hladimo in kondenziramo destilat.

Postopek lahko izvedemo prekinjeno (diskontinuirano) na enostavnih napravah (žganje-kuharski kotel) ali pa neprekinjeno (kontinuirano). Glede na princip obstajata v glavnem dve vrsti destilacij:

- istosmerna – njenostavnejša oblika destilacije,
- protitočna – razlikuje se po uporabi dodatnih naprav za pojačenje pare.

Za destilacijo sadja in grozdja imamo naprave, ki delujejo po obeh vrstah destilacije. Na klasičnih napravah, ki jih sestavlja kotel, klobuk in hladilnik, izvajamo dvojno destilacijo kot istosmerno. Na sodobnejših napravah z dodatno rektifikacijsko kolono pojačamo pare do brezhibnega destilata že z eno samo destilacijo. [3]

2.2.6.2 Dinamika prehajanja posameznih sestavin v destilat

V postopku destilacije različne snovi različno prehajajo v destilat:

- etanol – najvažnejša komponenta destilata, ki enakomerno upada ves čas destilacije,
- metanol – med destilacijo se obnaša podobno kot etanol, le da neenakomerno upada,
- aldehydi – najintenzivnejše prehajajo v začetku destilacije, imajo močan vonj in okus,
- ketoni – nastanejo z oksidacijo sekundarnih alkoholov, najpogostejši je aceton, ki ima neprijeten vonj po laku za nohte,
- estri – podobno prehajajo v destilat kot aldehydi v prvem toku, a se koncentracija močno zmanjšuje, imajo prijeten vonj po sadju,
- višji alkoholi – nastajajo kot posledica presnove kvasovk, najvišje koncentracije so v zadnjem toku zaradi visokih vrelišč,
- maščobne kisline – hlapne kisline prehajajo v destilat postopoma, najmanj jih je na začetku, največ pa na koncu destilacije, lahko koristno vplivajo na destilat, saj z alkoholi tvorijo aromatične estre. [3]

2.2.6.3 Prekinjena destilacija sadnih drozg

Pri tem postopku moremo iz drozge najprej pridobiti osnovni (surovi) destilat, ki ga nato ponovno destiliramo. Če je sadna drozga pregosta, obstaja nevarnost, da se prismodi, kar negativno vpliva na aromo in kvaliteto žganja – temu se izognemo tako, da izvajamo destilacijo v kotlu z vgrajenim mešalom ali pa dodamo nekaj vode. Boljše destiliranje se izvaja tudi v kotlih z dvojnim plaščem (vodna kopel).

Prva destilacija in dobivanje surovega destilata:

- kotel napolnimo od 2/3 do 3/4 volumna,
- goste drozge redčimo z vodo,
- po potrebi dodamo protipenilno sredstvo,
- destilacijo zaključimo, ko ima destilat približno 3 % vol alkohola.

Druga ali fina destilacija je potrebna večje pozornosti, saj moramo ločiti prvi in zadnji tok od srednjega, ki je najkakovostnejši.

Prvi tok »cvet destilata« vsebuje najbolj lahkozapne snovi, zlasti acetaldehid in etil acetat, ki spominjata na vonj po lepilu. Prvi tok ločimo, dokler izrazitega vonja in/ali okusa ne čutimo več.

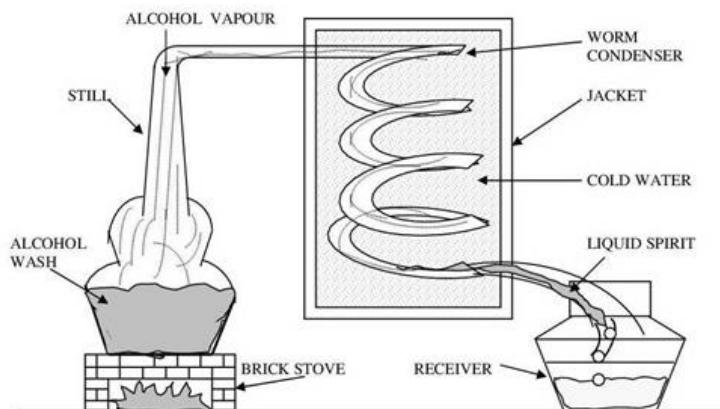
Srednji tok »srce destilata« kuhamo počasi, kakovost je najvišja v tem delu destilacije, saj vsebuje izredno aromatične sestavine. Najpogostejsa jakost alkohola koščičastega sadja je od 67 do 62 % vol.

Zadnji tok »rep destilata« pri koščičastem sadji se prične pri približno 55 % vol. alkohola in poteka do najmanj 3 % vol. alkohola, ta del zbiramo in še enkrat prekuhamo v kvalitetnejši destilat. [3]

2.2.7 Destilacijske naprave in posode

Destilacijo izvajamo z destilacijskimi aparati. Drugačne aparature se razlikujejo zaradi različnih drozg, ki jih destiliramo tako kot različnih kakovostnih razredov od enostavnih kotlov do rafinad čistega alkohola.

Najstarejši in najenostavnnejši so domači kotli za žganjekuh, ki segrevajo drozgo direktno. Razlikujejo se po mestu nastanka in so izdelani obrniško. Po navadi so bakreni z volumnom med 40 in 150 L.



Slika 15: Shema destilacijske aparature

Glavni elementi destilacijske aparature so:

- Kotel – del naprave, v kateri je surovina, po navadi so narejeni iz bakra zaradi dobre topotne prevodnosti. Ugoden je tudi kot kemijski material, saj med kuhanjem reagira z vodikovim sulfidom (H_2S), ki nastaja pri odmiranju kvasovk in negativno vpliva na

destilat. Med kuhanjem H_2S reagira z bakrom, pri tem pa nastane CuS, ki ostane v kotlu. V primerjavi z nerjavečim jeklom, ki te katalitične lastnosti nima, se lahko iz bakrenih pridelujejo kvalitetnejši produkti.

- Klobuk ali kapa – postavljamo na odprtino na vrhu kotla in ima naloge zbiranja par iz kotla in usmerjenja le-teh v povezovalno cev. Površina klobuka je odločilna za njegov deflegmacijski učinek, kar blago pojača vsebnost lahkoklapnih snovi v parah.



Slika 16: Klobuk domačega kotla

- Povezovalna cev – element, ki poteka od klobuka in vodi pare do hladilnika, pri višjih temperaturah lahko pare hlapnih organskih kislin reagirajo z bakrom in s tem tvorijo bakrove soli, ki obarvajo destilat rahle modro-zelene barve.



Slika 17: Povezovalna cev domačega kotla

- Hladilnik – največkrat spiralno zvita cev, ki poteka skozi posodo, v kateri je hladilna voda. S površino cevi lahko povečamo kondenzacijo in s tem zmanjšamo izgube alkohola v obliki par. Na strani ima največkrat tudi iztočni ventil za izhajanje vroče vode, nastale pri toplotni izmenjavi, na dnu je odtočna cev za destilat.



Slika 18: Destilacijski hladilnik domačega kotla

2.2.8 Higiena in varstvo pri delu žganjekuhe

Veliko ljudi danes misli, da higiena ni tako pomembna, saj alkohol deluje kot razkužilo. Vendar se lahko zaradi pomanjkanja znanja in drugih pomanjkljivosti kvaliteta žganja izredno poslabša, celo do neuporabnosti.

Pri proizvodni žganja je potrebno, da se držimo naslednjih točk:

- sortiranje in pranje sadja,
- drobljenje, pravilno drozganje, odstranjevanje koščic in pečk,
- kontrola temperature in pH-vrednosti med alkoholnim vrenjem,
- čistota destilacijskih naprav in pravilno odvajanje frakcij (prvi in zadnji tok),
- čistota posod za shranjevanje destilatov, ustrezna temperatura,
- pravilna dodelava destilatov itd.

Zaradi varnosti moramo poznati naslednje nevarnosti:

- alkohol je vnetljiva tekočina, ki je z zrakom eksplozivna,
- kisline in baze lahko jedko delujejo na kožo,
- encimi lahko povzročajo alergične reakcije na določene beljakovine,
- previsok pritisk vodne pare v vodni kopeli lahko privede do eksplozije,
- vroča drozga lahko povzroča hude opekline pri kontaktu s kožo,
- ogljikov dioksid lahko privede do zadušitve.

Poleg zgoraj navedenih lahko nesreče povzročijo tudi nepravilno delo z sadnimi mlini in stiskalnicami ter morebitna električna napeljava, če je vgrajena v destilacijski kotel. [3]

3 Eksperimentalno delo

Eksperimentalni del raziskovalne naloge je sestavljen iz dveh delov: priprava višnjeve drozge in destilata ter analiza vzorcev.

3.1 Priprava drozge

Pripravo drozge smo opravili tako, da smo obrane in oprane višnje zmečkali in jim v fermentacijskem sodu dodali pomožna sredstva.

3.1.1 Inventar

Tabela 1: Inventar za pripravo drozge

Inventar	Količina
Vedro, 10 L	1
Plastična posoda	1
HDPE sod, 60 L	1
Vrelna veba	1
Merilna skodelica, 500 mL	1
Tehtnica; d = 0,1 g	1

3.1.2 Kemikalije in pomožna sredstva

Tabela 2: Kemikalije za pripravo drozge

Kemikalije in sredstva	H-stavki	P-stavki	Količina [g]
Dehidrirane kvasovke za destilate	/	/	12
Encimski pripravek	334-335	284+340	1,6
Hranilne snovi	/	/	10
Saharoza, C ₁₂ H ₂₂ O _{11(s)}	/	/	5000

3.1.3 Postopek

Višnje na vrhuncu zrelosti oberemo s višnjevega drevesa v vedra, pazimo, da ne pobiramo listov, vejic, nezrelih in/ali gnilih sadežev, ker lahko takšno sadje negativno vpliva na kvaliteto končnega žganja.

Obrane višnje večkrat speremo z vodo, da očistimo morebitne nečistote, kot so suho listje, prašni delci, smola ...

Oprane višnje presujemo v plastično posodo, kjer jih premečkamo z opranimi rokami vsaj toliko, da se večina sadežev prepolovi, se izpostavi celični sok in sredica. Premečkane višnje

presujemo v 60 L HDPE (high-density polyethylene) sod, na katerega namestimo vrelno vaho za enosmerno izpuščanje plinov, kot so ogljikov dioksid, ki nastajajo med fermentacijo.



Slika 19: Plastični sod za drozganje

Merilno skodelico napolnimo s 100 mL tople vode (20-30 °C) in 100 mL soka iz drozge. Na tehtnici natehtamo 12 g dehidriranih kvasovk za destilate in vmešamo v merilno skodelico. Po 10-ih minutah in pojavu penastega klobuka na gladini, vsebino dodamo v drozgo in v sodu vse temeljito premešamo.

Merilno skodelico napolnimo z 100 mL tople vode (20-30 °C). Na tehtnici natehtamo 10 g hraničnih soli za kvasovke in jih raztopimo v vodi v merilni skodelici. Ko se soli raztopijo, raztopino dodamo v drozgo in v sodu vse temeljito premešamo.

Merilno skodelico napolnimo s 100 mL tople vode (20-30 °C). Na tehtnici natehtamo 1,6 g encimskega pripravka in ga raztopimo v vodi v merilni skodelici. Ko se encimski pripravek raztopi, raztopino dodamo v drozgo in v sodu vse temeljito premešamo.

5 kg namiznega sladkorja (saharoza) raztopimo v manjši količini drozge in v sodu vse temeljito premešamo.



Slika 20: Fermentacija višenj

3.2 Kronološko vzorčenje in skladiščenje drozge

Med fermentacijo smo vsakih 7 dni vzorčili višnjev sok drozge, ker pa lahko fermentacijo ustavimo samo z zamrzovanjem, smo vzorce skladiščil v hladilni skrinji. Vsak teden smo med vzorčenjem preveril tudi temperaturo prostora, saj ima ta vpliv na delovanje kvasovk.

3.2.1 Inventar

Tabela 3: Inventar za vzorčenje in skladiščenje drozge

Inventar	Količina
Kozarci za vlaganje, 300 mL	6
Alkoholni termometer, 50 °C	1
Kovinsko cedilo	1
Hladilna skrinja	1

3.2.2 Postopek

Kozarce za vlaganje z vodo speremo. Drozgo v sodu temeljito premešamo, da se vsebina homogenizira. Kozarce in pokrov za vzorce speremo z drozgo in preko kovinskega cedula napolnimo kozarec s približno 200 mL soka drozge.



Slika 21: Vzorčenje drozge

Kozarce za vlaganje zapremo, pod vodo speremo sok s površine kozarca in kozarec osušimo.

Po vzorčenju odčitamo temperaturo prostora na alkoholnem termometru in na pokrov zapišemo podatke (teden, temperatura).

Tabela 4: Temperatura prostora šestih tednov

Teden vzorčenja	Temperatura prostora [°C]
1	23,0
2	22,5
3	24,0
4	24,0
5	25,0
6	26,0

Označene kozarce shranimo v hladilni skrinji na temperaturi -15 °C do postopka priprave na analizo.

3.3 Sterilizacija in priprava vzorcev drozge

Ker zamrznjeni vzorci drozg vsebujejo kvasovke, ki začno postopek fermentacije izvajati tudi po tem, ko so odmrznjene, smo vzorce moral sterilizirati, da smo ustavili razgrajevanje sladkorjev.

3.3.1 Inventar

Tabela 5: Inventar za sterilizacijo vzorcev drozge

Inventar	Količina
Kovinski lonec	1
Električni grelnik	1
Alkoholni termometer, 150 °C	1
Vodna črpalka	1
Büchnerjev lij	1
Erlenmajerica za vakuumsko filtracijo	1
Filter papir, Macherey-Nagel 640 m	18
Kvantitativni lij	1
Plastične posode, 300 mL	6
Hladilna skrinja	1

3.3.2 Postopek

Iz zmrzovalnika vzamemo kozarec za vlaganje z vzorcem drozge. Kozarec postavimo v kovinski lonec, napolnjen z deionizirano vodo. Vklopimo električni grelnik, nanj postavimo lonec in počasi segrevamo vodo do vretja. Ko doseže voda temperaturo 100 °C, vremo vsebino točno 10 minut. Po končanem vrenju zavijemo kozarec v bombažno krpo in počasi ohlajamo do sobne temperature.



Slika 22: Sterilizacija vzorcev drozge

Sestavimo aparaturo za vakuumsko filtracijo. Vzorec prefiltriramo skozi MN 640 m filter papir; ker je drozga dokaj gosta, se na filter papirju pojavi gosta filtrna pogača, ki onemogoči filtriranje, zato lahko dvakrat menjamo filter papirje.

Filtrat prelijemo v označeno plastično posodo in jo postavimo v hladilno skrinjo na -15 °C do analize.

3.4 Kronološko vzorčenje in skladiščenje destilata

Ko smo kuhal žganje iz višenj, smo istočasno kronološko vzorčili destilat v 30 mL kozarčke za vlaganje.

3.4.1 Inventar

Tabela 6: Inventar za kronološko vzorčenje in skladiščenje destilata

Inventar	Količina
Kotel za žganjekuhu	1
Klobuk za kotel	1
Povezovala cev	1
Hladilnik za žganjekuhu	1
Kozarčki za vlaganje, 30 mL	16

3.4.2 Postopek

Kozarčke za vlaganje temeljito operemo in speremo z destilirano vodo ter jih posušimo.

Operemo posamezne elemente za kuhanje žganja in sestavimo aparaturo.



Slika 23: Domači kotel za žganjekuhu

V kotel prenesemo fermentirane višnje iz 60 L soda in pokrijemo kotel s klobukom. V kotličku zakurimo ogenj, ohranjamо temperaturo z lesenimi briketi, saj počasi in učinkovito izgorevajo (lahko segrevamo tudi s plinskim gorilnikom) in počasi dvigujemo temperaturo do točke, ko je na otip vroča povezovalna cev. Kotel ohranjamо na takšni temperaturi, da destilat teče iz hladilnika v najožjem možnem curku.



Slika 24: Pretok destilata iz hladilnika

Ko začne destilat teči, počakamo, da ga odteče približno 10 mL, saj je ta mešan z vodo, ki je ostala v ceveh od pranja. S štoparico merimo čas, vzorčimo takoj na začetku in potem po 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 60, 90, 120, 150, 180 minutah destilacije. V vsak 30 mL kozarček vzorčimo približno 25-30 mL vzorca in na pokrov zapišemo čas destilacije.

Kozarčke z vzorci shranimo v temnem in hladnjem prostoru do analize.

3.5 Gravimetrično določevanje sladkorjev

Za določevanje sladkorjev sem na internetu našel navodila za delo na principu Fehlingovega reagenta. [13]

3.5.1 Priprava reagentov

3.5.1.1 Inventar

Tabela 7: Inventar za pripravo reagentov

Inventar	Količina
Merilna bučka, 500 mL	3
Merilna bučka, 100 mL	2
Čaša, 250 mL	1
Čaša, 150 mL	1
Steklena palčka	1
Kvantitativni lij	1
Precizna tehtnica	1

3.5.1.2 Kemikalije

Tabela 8: Kemikalije za pripravo reagentov

Kemikalije	H-stavki	P-stavki	Količina [g]
Natrijev hidroksid, NaOH _(s)	290-314	234-260-264-280-P301+P330+P331-P303+P361+P353-P304+P340-P305+P351+P338	71,6
Kalijev heksacianoferat(II) trihidrat, K ₄ Fe(CN) ₆ · 3H ₂ O _(s)	412	220-273	15,0
Cinkov sulfat(VI) heptahidrat, ZnSO ₄ · 7H ₂ O _(s)	302-318-410	270-273-280-305+351+338-310	43,2
Bakrov sulfat(VI) pentahidrat, CuSO ₄ · 5H ₂ O _(s)	302-318-410	273-280-301+312-305+351+338-330	35,0
Kalij natrijev tartrat tetrahidrat, KNaC ₄ H ₄ O ₆ · 4H ₂ O _(s)	-	-	173,0

3.5.1.3 Postopek

Pripravimo raztopino NaOH. Na precizni tehnnici natehtamo v čašo 150 mL 20,0 g natrijevega hidroksida. Dodamo približno 100 mL deionizirane vode in bazo raztopimo. Raztopino prenesemo v 500 mL merilno bučko s kvantitativnim lijem. Čašo in lij trikrat temeljito speremo z deionizirano vodo. Merilno bučko napolnimo do oznake in temeljito premešamo.

Pripravimo raztopino Carrez I. Na precizni tehnnici natehtamo v čašo 150 mL 15,0 g kalijevega heksacianoferata(II) trihidrata. Dodamo približno 50 mL deionizirane vode in vsebino raztopimo. Raztopino prenesemo v 100 mL merilno bučko s kvantitativnim lijem. Čašo in lij trikrat temeljito speremo z deionizirano vodo. Merilno bučko napolnimo do oznake in temeljito premešamo.

Pripravimo raztopino Carrez II. Na precizni tehnnici natehtamo v čašo 150 mL 43,2 g cinkovega sulfata heptahidrata. Dodamo približno 50 mL deionizirane vode in vsebino raztopimo. Raztopino prenesemo v 100 mL merilno bučko s kvantitativnim lijem. Čašo in lij trikrat temeljito speremo z deionizirano vodo. Merilno bučko napolnimo do oznake in temeljito premešamo.

Pripravimo raztopino Fehling A. Na precizni tehnnici natehtamo v čašo 250 mL 35,0 g bakrovega sulfata pentahidrata. Dodamo približno 150 mL deionizirane vode in vsebino raztopimo. Raztopino prenesemo v 500 mL merilno bučko s kvantitativnim lijem. Čašo in lij trikrat temeljito speremo z deionizirano vodo. Merilno bučko napolnimo do oznake in temeljito premešamo.

Pripravimo raztopino Fehling B. Na precizni tehnnici natehtamo v čašo 250 mL 173,0 g kalij natrijevega tartrata. Dodamo približno 100 mL deionizirane vode in vsebino raztopimo. Raztopino prenesemo v 500 mL merilno bučko s kvantitativnim lijem. Čašo in lij trikrat temeljito speremo z deionizirano vodo. Na precizni tehnnici v 250 mL čašo natehtamo 51,6 g natrijevega hidroksida. Dodamo približno 100 mL deionizirane vode in bazo raztopimo. Raztopino prenesemo v 500 mL merilno bučko s kvantitativnim lijem. Čašo in lij trikrat temeljito speremo z deionizirano vodo. Merilno bučko napolnimo do oznake in temeljito premešamo.

3.5.2 Postopek določevanja sladkorjev

3.5.2.1 Inventar

Tabela 9: Inventar za določevanje sladkorja

Inventar	Količina
Merilna bučka, 100 mL	1
Bučka z okroglim dnom, 100 mL	1
Merilni valj, 5 mL	1
Merilni valj, 10 mL	1
Polnilna pipeta, 25 mL	1
Polnilna pipeta, 10 mL	1
Merilna pipeta, 1 mL	1
Erlenmajerica, 300 mL	3
Erlenmajerica za vakuumsko filtriranje, 500 mL	1
Lij ločnik, 500 mL	1
Laboratorijsko stojalo	1
Obroč za lij	1
Urno steklo, 100 mm	3
Urno steklo, 60 mm	1
Alkoholni termometer, 150 °C	1
Plastična kapalka	3
Vodna kopel	1
Büchnerjev lij	1
Filter papir, Macherey-Nagel 640 m	4
Pinceta	1
Lakmusov papir, rdeča barva	1
Vodna črpalka	1
Analizna tehtnica	1
Sušilnik	1
Električni grelnik	1
Eksikator + silikagel	1
Kvantitativni lij	1

3.5.2.2 Kemikalije

Tabela 10: Raztopine za določevanje sladkorja

Raztopine	H-stavki	P-stavki	Količina [mL]
Natrijev hidroksid, 1 mol/L	290-314	234-260-264-280-P301+P330+P331-P303+P361+P353-P304+P340-P305+P351+P338	-
Carrez I	412	220-273	1,0
Carrez II	302-318-410	270-273-280-305+351+338-310	1,0
Fehling A	302-318-410	273-280-301+312-305+351+338-330	25,0

Fehling B	290-314	234-260-264-280-P301+P330+P331- P303+P361+P353- P304+P340- P305+P351+P338	25,0
Klorovodikova kislina, konc., HCl _(aq)	290-314-335	280-303+361+353-304+340-305+351+338-310	0,5

3.5.2.3 Postopek

Iz zmrzovalnika predčasno vzamemo vzorec drozge fermentacije in počakamo, da se vsebina stali. Vklopimo vodno kopel na temperaturi 68-70 °C.

Na treh urnih steklih posušimo filter papirje MN 640 m, jih ohladimo v eksikatorju in stehtamo na analizni tehtnici.

Z 10 mL polnilno pipeto odpipetiramo vzorec v 100 mL bučko z okroglim dnom, z 1 mL meritno pipeto odpipetiramo 0,5 mL koncentrirane klorovodikove kisline in 5 mL deionizirane vode. Bučko postavimo nad vodno kopel in jo pokrijemo z urnim stekлом premera 60 mm. Inverzija poteka 30 min.

Po inverziji v bučko s kapalko dodajamo raztopino natrijevega hidroksida 1 mol/L, do alkalne reakcije z rdečim lakmusovim papirjem; enaka barvna reakcija poteče med bazo in naravnim barvilom višenj iz rdeče v modro barvo. Nevratalizirano vsebino kvantitativno prenesemo v 100 mL meritno bučko, dodamo 1 mL raztopine Carrez I in 1 mL raztopine Carrez II ter dopolnimo bučko do oznake z deionizirano vodo. Obarjanje beljakovin traja eno uro.

Sestavimo Büchnerjev lij z 500 mL erlenmajerico za vakuumsko filtracijo in vodno črpalko, na lij postavimo filter papir, ga omočimo z raztopino vzorca in prefiltriramo oborino.

V tri 300 mL erlenmajerice odpipetiramo po 25 mL filtrata oborine beljakovin, 25 mL Fehling A raztopine, 25 mL Fehling B raztopine in 25 mL deionizirane vode. Erlenmajerice postavimo na električni grelnik in temperaturo raztopin merimo z alkoholnim termometrom. Ko temperatura doseže 100 °C, raztopine vremo točno 2 minuti, vzamemo jih z grelnika in vsaki dodamo 100 mL deionizirane vode.

Sestavimo laboratorijsko stojalo, filtrirni obroč za lij, 500 mL lij ločnik, kvantitativni lij in sistem za vakuumsko filtracijo. Na Büchnerjev lij postavimo stehtan filter papir, v lij ločnik pretočimo prekuhanzo raztopino in speremo erlenmajerico z deionizirano vodo. Delamo v treh paralelkah.



Slika 25: Vakuumska filtracija oborin

Vklopimo vodno črpalko in raztopino po kapljicah filtriramo skozi filter papir. Na njem se prične zbirati rdeča oborina Cu₂O. Lij ločnik večkrat speremo z deionizirano vodo. Tako opravimo z vsemi prekuhanimi raztopinami.

Filter papirje z oborinami sušimo v sušilniku 1 uro na 105 °C, jih ohladimo v eksikatorju in stehtamo.

Zaradi morebitne napake metode gravimetrije, sem hotel preveriti, kakšna je napaka določevanja sladkorjev s Fehlingovim reagentom.

To sem opravil tako, da sem na analizni tehnicici v 50 mL čašo natehtal 1,0054 g anhidridne glukoze, jo kvantitativno prenesel v 100 mL meritno bučko in dopolnil do oznake z deionizirano vodo. Pripravil sem tudi po 100 mL Fehlingove A in 100 mL Fehlingove B raztopine. Ponovil sem enak postopek določevanja sladkorjev, a brez inverzije inobarjanja beljakovin. Na koncu sem dobil oborine, ki sem jih posušil in stehtal.

3.6 Spektrofotometrično določevanje bakrovih ionov

Ker je kotel za žganjekuhu, vključno s prenosno cevjo in hladilnikom, narejen iz bakra, ki reagira z določenimi snovmi iz drozge, sem si zastavil cilj, da ugotovim, kako se spreminja koncentracija bakrovih ionov v destilatu med destilacijo.

3.6.1 Inventar

Tabela 11: Inventar za določevanje bakrovih ionov

Inventar	Količina
Kivete s plastičnim zamaškom	4
Indekcija, 5 mL	1
Spektrofotometer WINLAB	1
Stojalo za epruvete	1
Štoparica	1

3.6.2 Reagenti

Tabela 12: Reagent za določevanje bakrovih ionov

Reagent	H-stavki	P-stavki
WINLAB reagent I	*	*
WINLAB reagent II	225, 301, 311, 331, 370	210, 260, 233, 302+352, 309+310

* H in P-stavki ter vsebina reagenta niso znani

3.6.3 Postopek

Prižgemo spektrofotometer in pritisnemo tipko »Menu«. Poščemo metodo za določevanje bakrovih ionov »Copper WinLab Cu²⁺«.

V vsako od štirih kivet z injekcijo odmerimo 5 mL vzorca destilata. V tri kivete dodamo po 10 kapljic reagenta I, jih temeljito premešamo, dodamo 10 kapljic reagenta II in ponovno temeljito premešamo.

S štoparico merimo čas 10 minut. V spektrofotometer vstavimo kiveto, ki vsebuje samo vzorec destilata, jo pokrijemo s plastičnim in napravo kalibriramo. Vsaki epruveti z vzorcem in reagenti izmerimo koncentracijo Cu²⁺ ionov. Tako opravimo z vsemi izbranimi vzorci destilata.



Slika 26: Inventar za določevanje bakrovih ionov

3.7 Določevanje hlapnih snovi z GC

V začetnem delu destilacije so v destilatu prisotne številne hlapne snovi poleg etanola, kot so metanol, etil acetat ... Moj cilj je bil analizirati časovno različne destilate za te snovi in spreminjanje njihovih koncentracij.

To sem nameraval narediti s šolskim plinskim kromatografom. Naredil sem nekaj analiz standardnih raztopin metanola in etanola ter vzorcev destilata. A dokaj kmalu sem ugotovil, da ta GC ni zmožen separacije etanola in metanola dovolj učinkovito za analizo.

Zato sva se z mentorjem odločila, da bova štiri vzorce destilata poslala v Novo mesto v Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano za analize metanola in etil acetata.

3.8 Določevanje koncentracije etanola s piknometri

Koncentracije etanola v vzorcih destilata sem določil s gostoto določeno s piknometri pri $20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.8.1 Inventar

Tabela 13: Inventar za določevanje etanola

Inventar	Količina
Piknometer, 5 mL	3
Kristalizirka, 115 mm	1
Čaša, 150 mL	1
Laboratorijsko stojalo	1
Filtrirni obroč	1
Kapalka, 5 mL	1

Kapalka, 10 mL	1
Alkoholni termometer, 50 °C	1
Gumijasta elastika	3
Analizna tehtnica; d = 0,1 mg	1
Staničevina	-
Sušilnik	1
Eksikator + silikagel	1

3.8.2 Postopek

Piknometre z deionizirano vodo in alkoholom temeljito operemo, posušimo v sušilniku na temperaturi 105 °C do konstantne mase (60 min) in ohladimo v eksikatorju.

Med rokovanjem s piknometri nosimo rokavice, da na steklu ne puščamo sledi prstov.

Ohlajene piknometre na analizni tehtnici stehtamo. Sestavimo laboratorijsko stojalo s filtrirnim obročem, na katerega privežemo alkoholni termometer. Stehtane piknometre napolnimo z vzorcem s 5 mL kapalko, jih postavimo v kristalizirko, otrdimo z gumijastimi elastikami, kristalizirko napolnimo z vodo in termometer potopimo v vodo.

150 mL čašo napolnimo z vročo vodo. Z 10 mL kapalko vročo vodo dodajamo v vodno kopel in reguliramo temperaturo vode na 20 °C. Vzorce termostatiramo vsaj 20 min. Če se nivo vzorca v kapilari spusti, s 5 mL kapalko dodamo vzorec in zapremo s kapilaro, da se na vrhu naredi kapljica.



Slika 27: Določevanje gostote s piknometri

Po 20 minutah termostatiranja prestavimo kristalizirko v tehtalni prostor. S staničevino vsak piknometer temeljito obrišemo, osušimo in kapljico na vrhu kapilare odstranimo. Piknometre stehtamo dokaj hitro, da temperatura ne odstopa preveč od 20 °C.

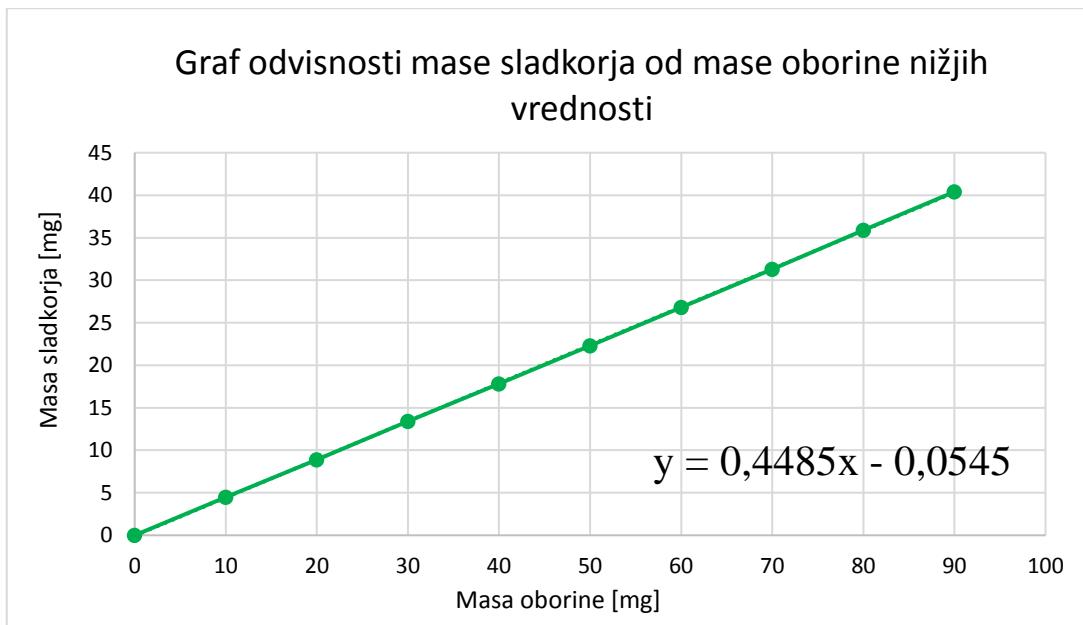
Zaradi izredno majhne količine vzorca destilata sem vzorce iz piknometrov shranil za nadaljnje analize.

Piknometre speremo z deionizirano vodo in ponovimo enak postopek termostatiranja in tehtanja.

4 Rezultati

4.1 Sprememba koncentracije sladkorjev v drozgi skozi čas

Pri praktičnem delu sem dobil mase rdečih oborin Cu₂O. Pretvorimo jo lahko v invertni sladkor s pomočjo tabele, ki predstavlja mase oborin in mase sladkorjev; tabela je priložena. [15]



Graf 1: Odvisnost mase sladkorja od mase oborine nižjih vrednosti

Iz grafa lahko iz enačbe trendne črte ugotovimo povezavo med maso sladkorjev in maso oborin:

$$m(\text{sladkor}) = 0,4485 \times m(\text{Cu}_2\text{O}) - 0,0545$$

S to enačbo lahko izračunamo maso sladkorja v 25 mL odpipetirane raztopine, v kateri je 10 mL vzorca razredčenega v 100 mL bučki, kar pomeni, da je 10-krat razredčen in lahko pomnožimo enačbo z 10:

$$\gamma(\text{vzorec}) = \frac{m(\text{sladkor})}{25 \text{ mL}} \times 10$$

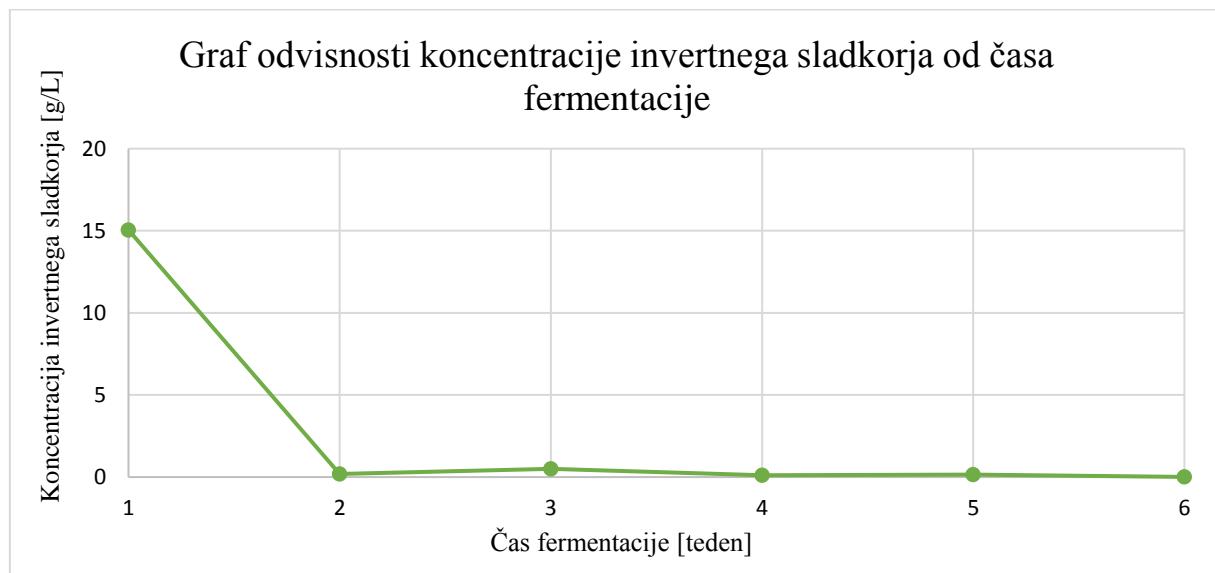
Za maso sladkorja vzamemo enačbo iz grafa:

$$\gamma(\text{vzorec}) = \frac{0,4485 \times m(Cu_2O) - 0,0545}{25 mL} \times 10$$

- $\gamma(\text{vzorec})$ masna koncentracija sladkorja v vzorcu [g/L]
- $m(Cu_2O)$ masa oborine [mg]

Tabela 14: Tabela masnih koncentracij glede na teden fermentacije

Teden fermentacije	Povprečna masa oborine Cu ₂ O [mg]	Masna koncentracija invertnega sladkorja [g/L]
1	84,03	15,05
2	1,20	0,19
3	2,90	0,50
4	0,73	0,11
5	1,00	0,16
6	0,20	0,01



Graf 2: Odvisnost koncentracije invertnega sladkorja od časa fermentacije

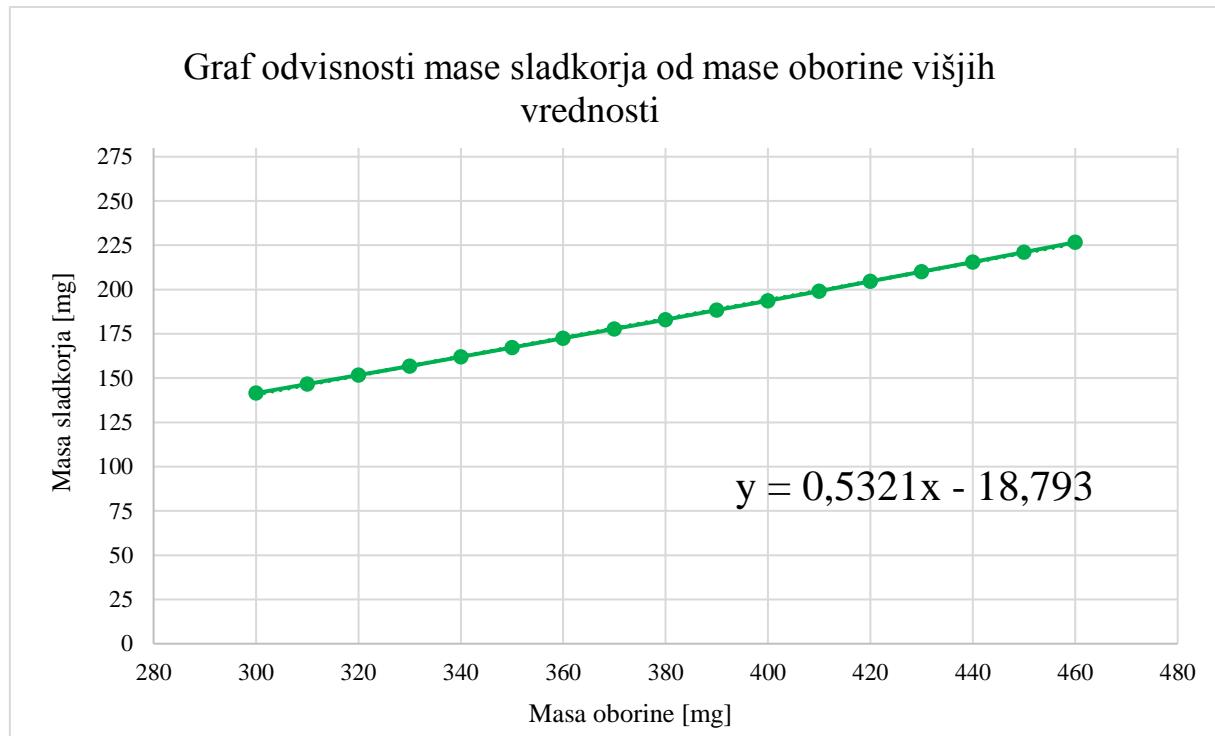
Ker imajo gravimetrične analize velikokrat napako metode, sem hotel preveriti, kakšna je le-ta za določevanje invertnih sladkorjev s Fehlingovim reagentom. Napako metode lahko izračunamo kot razmerje med razliko mas Cu₂O in teoretično maso Cu₂O:

$$E_r = \frac{\Delta m(Cu_2O)}{m(Cu_2O)_{teor.}} \times 100 \%$$

Razliko mas lahko napišemo kot razliko med teoretično in praktično maso Cu₂O:

$$E_r = \frac{m(Cu_2O)_{teor.} - m(Cu_2O)_{prak.}}{m(Cu_2O)_{teor.}} \times 100 \%$$

Teoretično maso Cu₂O lahko izračunamo iz praktične mase glukoze s pomočjo enačbe grafa odvisnosti mase sladkorja od oborine:



Graf 3: Odvisnost mase sladkorja od mase oborine višjih vrednosti

$$m(sladkorja) = 0,5321 \times m(oborine) - 18,793$$

Iz enačbe izpostavimo maso oborine:

$$m(oborine)_{teor.} = \frac{m(sladkor)_{prak.} + 18,793}{0,5321}$$

Teoretično maso oborine vstavimo v prvotno enačbo in enačbo poenostavimo:

$$E_r = \left(1 - \frac{m(\text{oborina})_{\text{prak.}} \times 0,5321}{\gamma(\text{sladkor}) \times V(\text{sladkor}) + 18,793} \right) \times 100 \%$$

- E_r napaka metode [%]
- $m(\text{oborina})_{\text{prak.}}$ stehtana masa bakrovega(I) oksida [mg]
- $\gamma(\text{sladkor})$ masna koncentracija sladkorja [mg/mL]
- $V(\text{sladkor})$ odpipetiran volumen raztopine sladkorja [mL]

Primer izračuna napake metode:

$$E_r = \left(1 - \frac{484,7 \text{ mg} \times 0,5321}{10,054 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \times 25 \text{ mL} + 18,793} \right) \times 100 \% \\ E_r = 4,53 \%$$

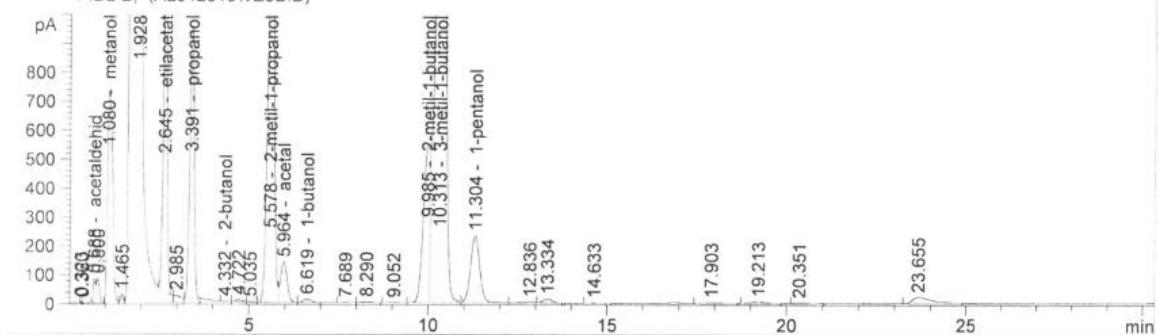
Tabela 15: Mase oborin in napake metode

Masa oborine [mg]	E_r [%]	Povprečje E_r [%]
484,7	4,53	
490,7	3,35	
489,7	3,54	3,81

4.2 Sprememba koncentracije etil acetata v destilatu skozi čas

Analizo hlapnih snovi so opravili na Nacionalnem laboratoriju za zdravje, okolje in hrano v Novem mestu. Analizo so opravili s plinskim kromatografom. Po elektronski pošti so bili poslani rezultati in kromatogrami posameznih vzorcev.

Določevanje hlapnih snovi v alkoholnih pijacah
FID2 B, (AL012519VZ5B.D)

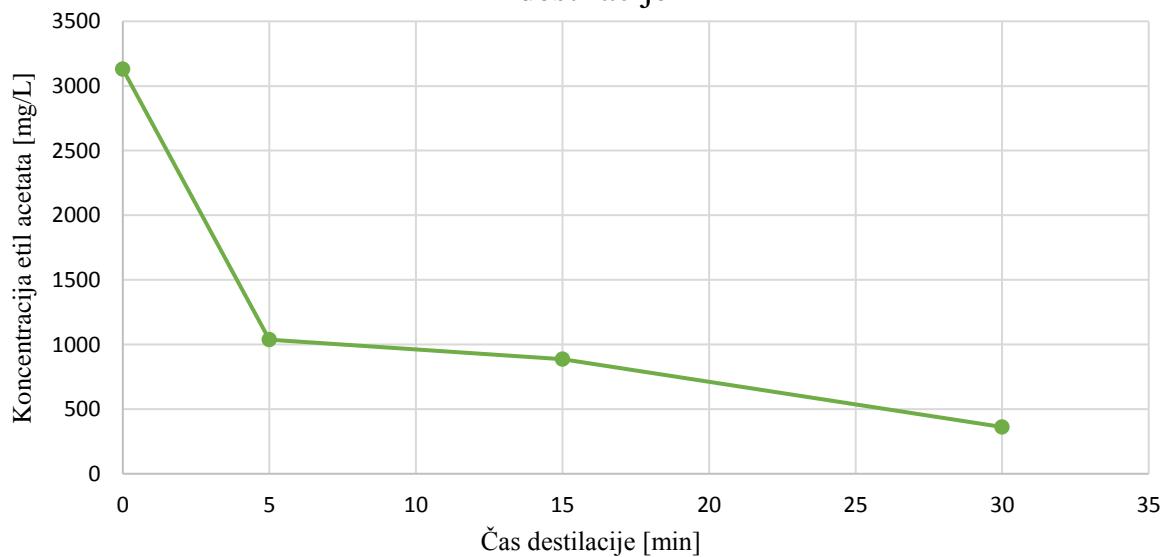


Slika 28: Kromatogram vzorca

Tabela 16: Tabela koncentracij etil acetata glede na čas destilacije

Čas destilacije [min]	Area A	Area B	γ EtOAc A [mg/L]	γ EtOAc B [mg/L]	SD [%]	Povp. konc. [mg/L]
0	27405,00	27515,40	3152,99	3106,94	1,30	3129,97
5	9153,35	9174,44	1040,93	1034,57	0,54	1037,76
15	7858,58	7841,87	887,89	887,03	0,09	887,46
30	3219,03	3223,39	362,24	361,44	0,20	361,84

Graf odvisnosti masne koncentracije etil acetata od časa destilacije



Graf 4: Odvisnost masne koncentracije etil acetata od časa destilacije

Po Pravilniku o kakovosti alkoholnih pijač (Ur. l. RS št. 71/2000 in št. 75/2008) so predpisani pogoji za proizvodnjo in promet teh pijač. V sadnih žganjih je predpisan pogoj za vsebnost etil acetata 500-5000 mg/L absolutnega alkohola (a. a.).

Tako lahko izračunamo vsebnost etil acetata na 1 L absolutnega alkohola v vzorcih destilata s formulo:

$$\gamma'(\text{EtOAc}) = \frac{m(\text{EtOAc})}{V(\text{absolut. EtOH})}$$

Volumen absolutnega alkohola lahko izpostavimo kot razmerje mase in gostote etanola:

$$\gamma'(\text{EtOAc}) = \frac{m(\text{EtOAc})}{\frac{m(\text{EtOH})}{\rho(\text{EtOH})}}$$

Znebimo se dvojnega ulomka:

$$\gamma'(\text{EtOAc}) = \frac{m(\text{EtOAc}) \times \rho(\text{EtOH})}{m(\text{EtOH})}$$

Maso etil acetata in maso etanola lahko izrazimo kot produkt masne koncentracije in volumna (masne koncentracije etanola izračunamo v podpoglavlju 4.4):

$$\gamma'(\text{EtOAc}) = \frac{\gamma(\text{EtOAc}) \times V(\text{destilat}) \times \rho(\text{EtOH})}{\gamma(\text{EtOH}) \times V(\text{destilat})}$$

Volumna destilata lahko krajšamo; končni zapis enačbe vsebnosti etil acetata na 1 L absolutnega alkohola:

$$\gamma'(\text{EtOAc}) = \frac{\gamma(\text{EtOAc}) \times \rho(\text{EtOH})}{\gamma(\text{EtOH})}$$

- $\gamma'(\text{EtOAc})$ masna konc. etil acetata na 1 L a. a. [mg/L]
- $\gamma(\text{EtOAc})$ masna konc. etil acetata v destilatu [mg/L]
- $\rho(\text{EtOH})$ gostota etanola pri 20 °C [g/L]
- $\gamma(\text{EtOH})$ masna konc. etanola v destilatu [g/L]

Primer izračuna mase etil acetata na 1 L absolutnega alkohola v vzorcu destilata v začetku destilacije (0 minut):

$$\gamma'(\text{EtOAc}, 0 \text{ min}) = \frac{3129,97 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 789 \frac{\text{g}}{\text{L}}}{616,63 \frac{\text{g}}{\text{L}}}$$

$$\gamma'(\text{EtOAc}, 0 \text{ min}) = 4004,91 \text{ mg/L a. a.}$$

Tabela 17: Tabela masnih koncentracij etil acetata glede na prisoten alkohol

Čas destilacije [min]	Masna koncentracija EtOAc v destilatu [mg/L]	Masna koncentracija EtOH v destilatu [mg/L]	Masna koncentracija EtOAc na 1 L a. a. [mg/L]
0	3129,97	616,63	4004,91
5	1037,76	520,46	1573,21
15	887,46	514,07	1362,08
30	361,84	481,78	592,58

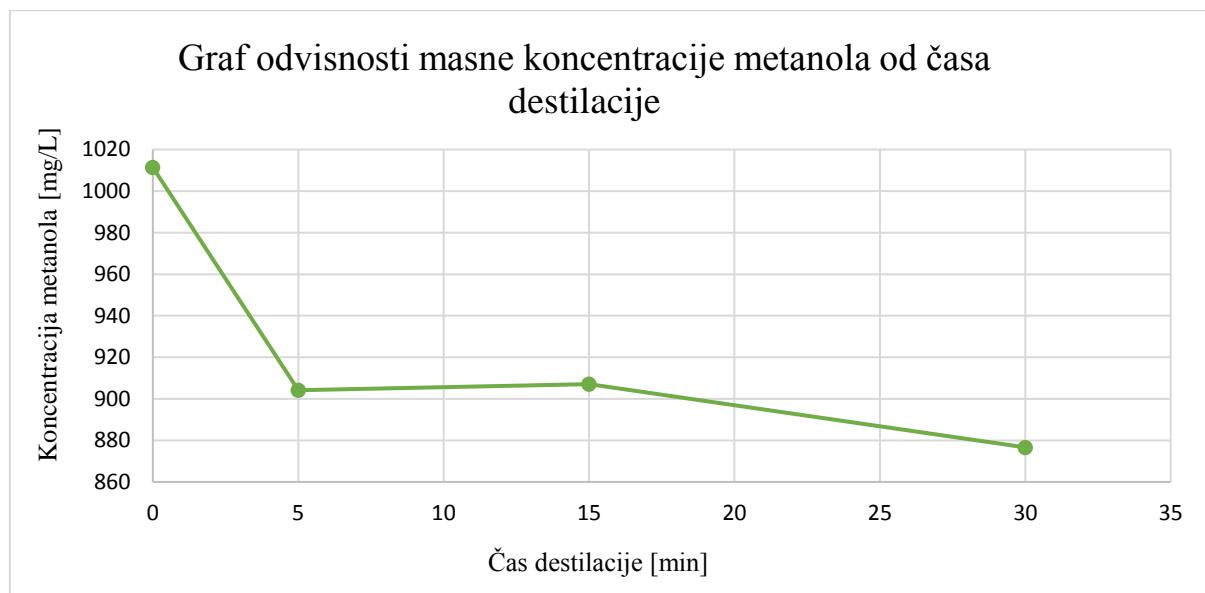
Srednji tok ali »srce destilata« sem začel zbirati pri 15 minutah, masna koncentracija etil acetata v razmerju z a. a. se ustreznno ujema z zakonodajo, kar pomeni, da je končni izdelek primeren za uživanje.

4.3 Sprememba koncentracije metanola v destilatu skozi čas

Tako kot etil acetat je bil tudi metanol analiziran na plinskem kromatografu na Nacionalnem laboratoriju za zdravje, okolje in hrano.

Tabela 18: Masne koncentracije metanola glede na čas destilacije

Čas destilacije [min]	Area A	Area B	γ MeOH A [mg/L]	γ MeOH B [mg/L]	SD [%]	Povp. konc. [mg/L]
0	8029,27	8035,19	1020,51	1002,31	1,30	1011,41
5	7217,51	7238,29	906,73	901,71	0,49	904,22
15	7285,29	7242,02	909,30	904,96	0,42	907,13
30	7059,81	7069,14	877,63	875,66	0,20	876,64



Graf 5: Odvisnost masne koncentracije metanola od časa destilacije

Po Pravilniku o kakovosti alkoholnih pijač (Ur. l. RS št. 71/2000 in št. 75/2008) so predpisani pogoji za proizvodnjo in promet teh pijač. V sadnih žganjih je predpisan pogoj za vsebnost metanola do 1,5 % vol.

Volumski delež lahko izračunamo kot razmerje med volumnom metanola v destilatu in volumna destilata:

$$\varphi(\text{MeOH}) = \frac{V(\text{MeOH})}{V(\text{destilat})} \times 100 \%$$

Volumen metanola lahko izrazimo kot razmerje med maso in gostoto metanola:

$$\varphi(\text{MeOH}) = \frac{m(\text{MeOH})}{\rho(\text{MeOH}) \times V(\text{destilat})} \times 100 \%$$

Razmerje med maso metanola in volumnom destilata lahko izrazimo kot masno koncentracijo metanola v destilatu:

$$\varphi(\text{MeOH}) = \frac{\gamma(\text{MeOH})}{\rho(\text{MeOH})} \times 100 \%$$

- $\varphi(\text{MeOH})$ volumski delež metanola [%]
- $\gamma(\text{MeOH})$masna konc. metanola v destilatu [mg/L]
- $\rho(\text{MeOH})$gostota metanola pri 20 °C [g/L]

Primer volumskega deleža metanola v vzorcu destilata v začetku destilacije (0 minut):

$$\varphi(\text{MeOH}, 0 \text{ min}) = \frac{1,01141 \frac{g}{L}}{792 \frac{g}{L}} \times 100 \%$$

$$\varphi(\text{MeOH}) = 0,128 \%$$

Tabela 19: Volumski delež metanola glede na čas destilacije

Čas destilacije [min]	Masna koncentracija MeOH v destilatu [mg/L]	Volumski delež metanola v destilatu [%]
0	1011,41	0,128
5	904,22	0,114
15	907,13	0,116
30	876,64	0,111

Srednji tok ali »srce destilata« sem začel zbirati pri 15-ih minutah, volumski delež metanola v destilatu se ustrezeno ujema z zakonodajo, kar pomeni, da je končni izdelek primeren za uživanje.

4.4 Sprememba koncentracije etanola v destilatu skozi čas

Pri analizi etanola moramo izračunati gostoto vzorcev destilata, iz katerih dobimo masne deleže, izračunati moramo masne koncentracije vzorcev za računanje etil acetat ter volumski delež etanola v destilatu kot podatek za hipotezo št. 3.

Iz podatkov mas vzorcev destilata in deionizirane vode lahko izračunamo gostoto destilatov in iz le-teh preko tabel razberemo volumske deleže in masne koncentracije etanola.

S piknometri je volumen deionizirane vode in vzorcev pri 20 °C enak:

$$V(\text{destilat}) = V(\text{H}_2\text{O})$$

Volumne lahko izrazimo kot razmerja mase in gostote pri 20 °C:

$$\frac{m(\text{destilat})}{\rho(\text{destilat}, \ 20^\circ\text{C})} = \frac{m(\text{H}_2\text{O})}{\rho(\text{H}_2\text{O}, \ 20^\circ\text{C})}$$

Izpostavimo lahko gostoto destilata pri 20 °C; masi destilata ter deionizirane vode napišemo kot razlici mas s piknometri in brez njih:

$$\rho(\text{destilat}, 20^\circ\text{C}) = \frac{\rho(\text{H}_2\text{O}, \ 20^\circ\text{C}) \times (m_2 - m_1)}{(m_3 - m_1)}$$

- $\rho(\text{destilat}, 20^\circ\text{C})$ gostota destilata pri 20 °C [g/mL]
- $\rho(\text{H}_2\text{O}, 20^\circ\text{C})$ gostota deionizirane vode pri 20 °C [g/mL]
- m_1 masa piknometra [g]
- m_2 masa piknometra + destilata [g]
- m_3 masa piknometra + deionizirana voda [g]

Primer izračuna gostote destilata v začetku destilacije (0 minut):

$$\rho(\text{destilat}, 20^\circ\text{C}, 0 \text{ min}) = \frac{0,9982 \frac{g}{mL} \times (19,1170 \text{ g} - 14,4628 \text{ g})}{(19,8332 \text{ g} - 14,4628 \text{ g})}$$

$$\rho(\text{destilat}, 20^\circ\text{C}, 0 \text{ min}) = 0,8651 \text{ g/mL}$$

Za vsako povprečno vrednost gostote destilata pri 20°C smo na spletni strani [12] izračunali masni delež etanola.

Iz podatkov masnih deležev je možno izračunati masne koncentracije etanola v destilatu. Masna koncentracija je razmerje med maso etanola in volumnom destilata:

$$\gamma(\text{EtOH}) = \frac{m(\text{EtOH})}{V(\text{destilat})}$$

Volumen destilata lahko napišemo kot razmerje med maso destilata in gostoto destilata:

$$\gamma(\text{EtOH}) = \frac{m(\text{EtOH})}{\frac{m(\text{destilat})}{\rho(\text{destilat})}}$$

Znebimo se dvojnega ulomka:

$$\gamma(\text{EtOH}) = \frac{m(\text{EtOH}) \times \rho(\text{destilat})}{m(\text{destilat})}$$

Razmerje med maso etanola in maso destilata lahko napišemo kot masni delež etanola (v tej enačbi masni delež ne pišemo kot procentni delež):

$$\gamma(\text{EtOH}) = w(\text{EtOH}) \times \rho(\text{destilat})$$

- $\gamma(\text{EtOH})$ masna konc. etanola v destilatu [g/L]
- $w(\text{EtOH})$ masni delež etanola v destilatu []
- $\rho(\text{destilat})$ gostota destilata pri 20°C [g/L]

Primer izračuna masne koncentracije etanola v začetku destilacije (0 minut):

$$\gamma(\text{EtOH}, 0 \text{ min}) = 0,7132 \times 864,5 \text{ g/L}$$

$$\gamma(\text{EtOH}, 0 \text{ min}) = 616,56 \text{ g/L}$$

Ker moramo za rezultat vedeti volumski delež etanola v destilatu, lahko to izračunamo kot razmerje med volumnom etanola in destilata:

$$\varphi(\text{EtOH}) = \frac{V(\text{EtOH})}{V(\text{destilat})} \times 100 \%$$

Volumen etanola lahko izrazimo kot razmerje med maso in gostoto etanola:

$$\varphi(\text{EtOH}) = \frac{m(\text{EtOH})}{\rho(\text{EtOH}) \times V(\text{destilat})} \times 100 \%$$

Razmerje med maso etanola in volumnom destilata lahko izrazimo kot masno koncentracijo etanola v destilatu:

$$\varphi(\text{EtOH}) = \frac{\gamma(\text{EtOH})}{\rho(\text{EtOH})} \times 100 \%$$

- $\varphi(\text{EtOH})$ volumski delež etanola [%]
- $\gamma(\text{EtOH})$ masna konc. etanola v destilatu [mg/L]
- $\rho(\text{EtOH})$ gostota etanola pri 20 °C [g/L]

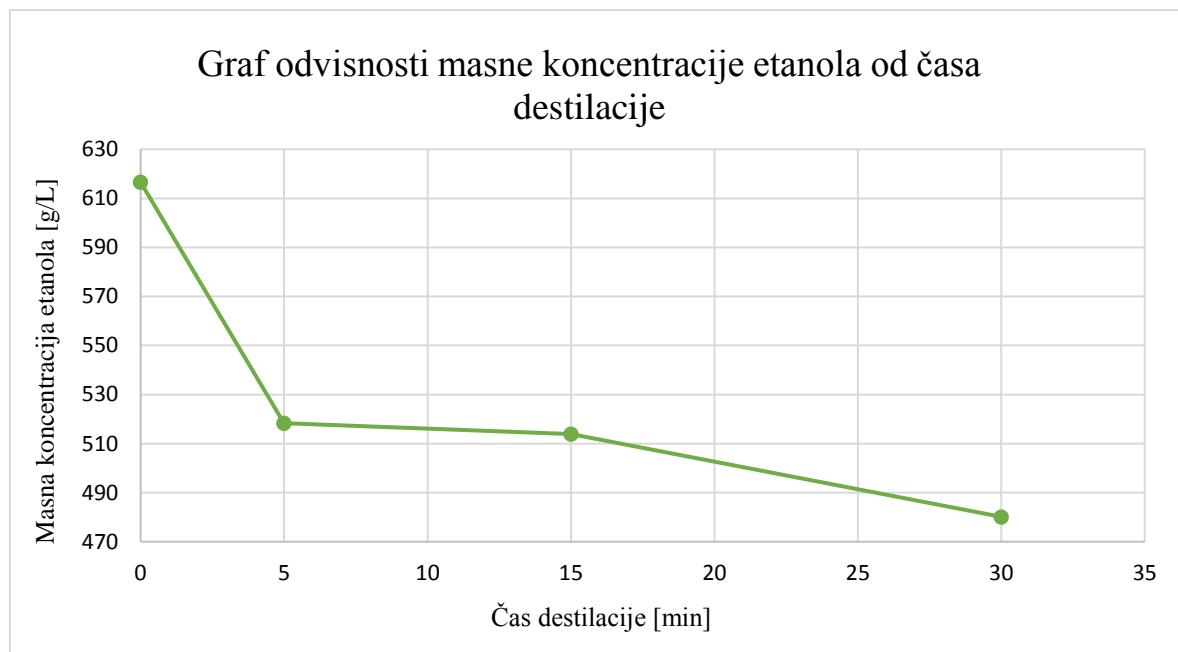
Primer volumskega deleža etanola v vzorcu destilata v začetku destilacije (0 minut):

$$\varphi(\text{EtOH}, 0 \text{ min}) = \frac{616,56 \frac{\text{g}}{\text{L}}}{789 \frac{\text{g}}{\text{L}}} \times 100 \%$$

$$\varphi(\text{EtOH}) = 78,14 \%$$

Tabela 20: Masne koncentracije etanola glede na čas destilacije

Čas destilacije [min]	Povprečna gostota destilata pri 20 °C [g/mL]	Masni delež etanola v destilatu [%]	Masna koncentracija etanola v destilatu [g/L]	Volumski delež etanola v destilatu [%]
0	0,8645	71,32	616,56	78,14
5	0,8961	57,84	518,30	65,69
15	0,8974	57,27	513,94	65,14
30	0,9073	52,92	480,14	60,85



Graf 6: Odvisnost masne koncentracije etanola od časa destilacije

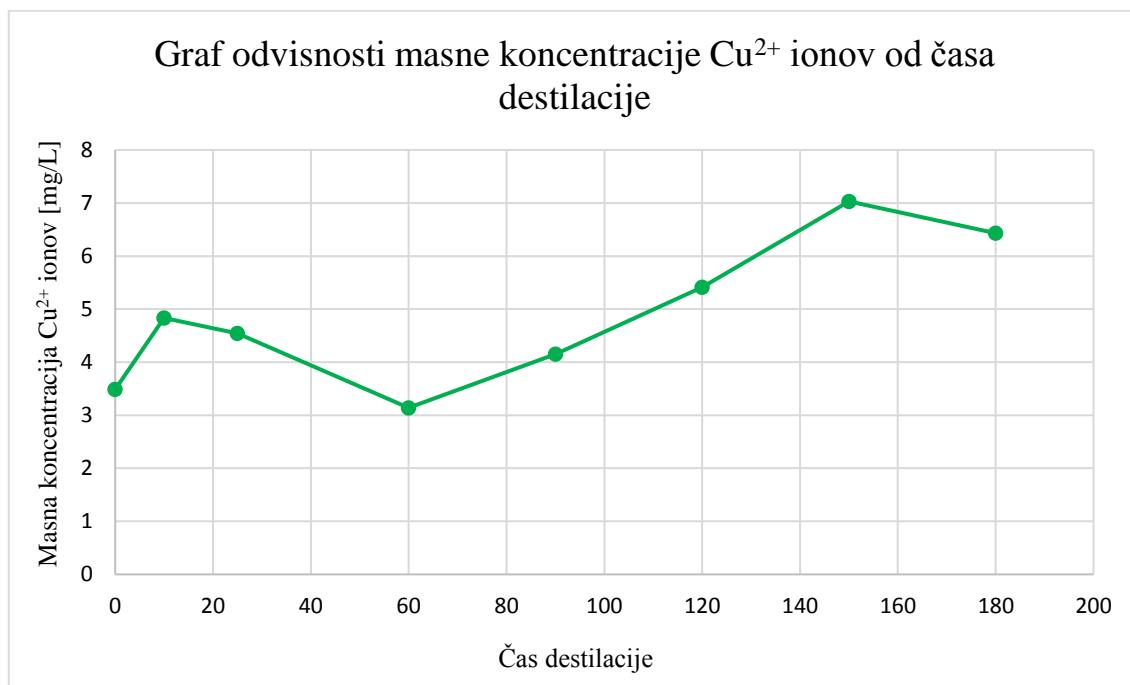
Srednji tok ali »srce destilata« smo začeli zbirati pri 15 minutah destilacije, v tem delu je imel etanol 65,14 % vol., kar ustreza priporočenim vrednostim iz knjige [3].

4.5 Sprememba koncentracije bakrovih ionov v destilatu skozi čas

Vsakemu vzorcu smo izmerili masno koncentracija bakrovih ionov v treh paralelkah, za rezultate smo vzeli povprečje paralelk.

Tabela 21: Povprečna masna koncentracija bakrovih ionov glede na čas destilacije

Čas destilacije [min]	Povprečna masna koncentracija Cu ²⁺ ionov v destilatu [mg/L]
0	3,49
10	4,83
25	4,54
60	3,14
90	4,15
120	5,41
150	7,03
180	6,43



Graf 7: Odvisnost masne koncentracije bakrovih ionov od časa destilacije

Iz grafa in rezultatov je razvidno, da masna koncentracija bakrovih ionov s časom destilacije narašča.

5 Diskusija

Iz vseh rezultatov in ugotovitev analiz lahko ovrednotim hipoteze, ki sem si jih zadal v uvodu.

Hipoteza št. 1: *Koncentracija sladkorjev v drozgi med fermentacijo pada eksponentno.*

Hipotezo lahko delno potrdim, ker ni točno razvidno, kako pada koncentracija sladkorjev v drozgi med fermentacijo.

Hipoteza št. 2: *Senzorično je možno pravilno ločiti prvi tok od srednjega tako, da koncentracije lahkoklapnih snovi (etil acetat, metanol) ne predstavljajo tveganje za zdravje.*

Hipotezo lahko potrdim, saj je v začetku srednjega toka ali »srca destilata« volumski delež metanola 0,116 % in masna koncentracija etil acetata 1362,08 mg na 1 L a. a.; vrednosti obeh komponent sta v pod mejno vrednostjo glede na zakonodajo.

Hipoteza št. 3: *Etanol je na začetku srednjega toka primerne koncentracije za koščičasto sadje glede na knjigo Žganja iz sadja in grozdja [3].*

Hipotezo lahko potrdim, saj je v začetku srednjega toka ali »srca destilata« volumski delež etanola 65,14 %, kar je v mejah za koščičasto sadje.

Hipoteza št. 4: *Koncentracija bakrovih ionov v destilatu z destilacijo narašča.*

Tudi to hipotez lahko potrdim, saj je iz grafa odvisnosti koncentracije bakrovih ionov od časa destilacije vidno, da koncentracija narašča.

Komentiram lahko tudi posamezne dele eksperimentalnega dela in rezultatov. Pri določevanju sladkorjev sem ugotovil, da se je po prvih dveh tednih večina sladkorja pretvorila v etanol in ogljikov dioksid, bolje bi bilo, če bi vzorčil prvi teden fermentacije po dnevih in tako bi lažje določil, kako koncentracija sladkorjev pada. Pri hipotezi št. 1 sem zapisal, da pada koncentracija eksponentno – do tega sem prišel zaradi eksponentnega naraščanja populacije kvasovk v drozgi in posledično bi to sledilo do takšnega padanja sladkorjev. Pri določevanju sladkorjev je iz rezultatov vidno, da koncentracija ne pada konstanto, to lahko razložimo z reaktivnostjo Fehlingovega reagenta, ki reagira z vsemi aldehydi in α -hidroksiketonimi, ki so bili morebitno prisotni v drozgi, ne samo s sladkorji. Pri vakuumski filtraciji sem uporabil lij ločnik, da sem minimaliziral izgube. Opravil sem tudi

»blank test«, kar pomeni, da sem Fehlingov reagent segreval brez vzorca, da bi videl, če se bakrov(I) oksid izloča tudi brez prisotnosti vzorca; test je bil negativen.

Prvi tok sem od srednjega ločil senzorično, kar pomeni, da sem prvih 15 minut subjektivno ugotavljal, kakšne so približne koncentracije z vonjem in okušanjem. Etil acetat ima oster vonj po lepilu, metanol pa močno peče na konici jezika.

Pri analizi alkohola sem ugotovil, da je volumski delež v mejnih vrednostih, ki so navedene v knjigi žganjekuhe [3], čeprav je tam navedeno za koščičasto sadje na splošno in ni navedeno specifično za višnje idealnega deleža ter tudi nisem opravljal destilacije po tam navedenem postopku, ker sem imel majhno količino drozge.

Naraščanje koncentracije bakrovih ionov lahko pojasnim z večjo prisotnostjo kislin [3] v zadnjem delu destilacije, ki reagirajo z bakreno povezovalno cevjo. Tudi pretok, ki ni bil konstanten skozi celoten potek destilacije, ima vpliv. Če se osredotočim na vpliv bakrovih ionov na zdravje –destilat, ki je vseboval najvišjo koncentracijo bakra, bi 30 mL žganja za odraslo osebo vseboval približno 21 % priporočenega dnevnega vnosa bakra (PDV bakra je 1 mg [16]).

6 Viri in literatura

6.1 Vsebinski viri

- [1] Encyclopædia Britannica (1998). *Gravimetric analysis* . [Onilne] Dostopno na: <https://www.britannica.com/science/gravimetric-analysis> (Datum dostopa: 24. 2. 2019)
- [2] ChemDemos (2012). *Fehling's test.* [Online] Dostopno na: <https://chemdemos.uoregon.edu/demos/Fehling-Test> (Datum dostopa: 24. 2. 2019)
- [3] Rajher, Zdenko (2016). *Žganja iz sadja in grozdja.* Ljubljana. Cankarjeva založba.
- [4] Encyclopædia Britannica (leto objave ni znano). *Enzyme* . [Onilne] Dostopno na: <https://www.britannica.com/science/enzyme> (Datum dostopa: 24. 2. 2019)
- [5] Encyclopædia Britannica (1998). *Yeast* . [Onilne] Dostopno na: <https://www.britannica.com/science/yeast-fungus> (Datum dostopa: 24. 2. 2019)
- [6] Encyclopædia Britannica (2009). *Sucrose* . [Onilne] Dostopno na: <https://www.britannica.com/science/sucrose> (Datum dostopa: 24. 2. 2019)
- [7] Encyclopædia Britannica (1998). *Fermentation* . [Onilne] Dostopno na: <https://www.britannica.com/science/fermentation> (Datum dostopa: 24. 2. 2019)
- [8] Encyclopædia Britannica (1998). *Ethyl alcohol.* [Onilne] Dostopno na: <https://www.britannica.com/science/ethyl-alcohol> (Datum dostopa: 25. 2. 2019)
- [9] Encyclopædia Britannica (leto objave ni znano). *Methanol.* [Onilne] Dostopno na: <https://www.britannica.com/science/methanol> (Datum dostopa: 25. 2. 2019)
- [10] Maraska (leto objave ni znano). *Zadarski maraschino.* [Online] Dostopno na: <https://maraska.hr/en/maraschino-2/> (Datum dostopa: 27. 2. 2019)
- [11] Sodja-Božič, Jelka. (1998). *Vaje iz instrumentalne analize.* Trzin. Založba Izolit.
- [12] handymath.com (leto objave ni znano). *Density and Concentration Calculator for Mixtures of Ethanol and Water at 20°C.* [Online] Dostopno na: <http://www.handymath.com/cgi-bin/ethanolwater3.cgi?submit=Entry> (Datum dostopa: 28.2. 2019)
- [13] Metode vzorčenja ter fizikalno-kemijske analize alkoholnih pijač (leto objave ni znano). Dostopno na: <https://www.gzs.si/pripone/oei13199d4438.pdf> (Datum dostopa: 28. 2. 2019)
- [14] Wyeast (2018). *Yeast fundamentals.* [Online] Dostopno na: <http://www.wyeastlab.com/yeast-fundamentals> (Datum dostopa: 1.3. 2019)
- [15] Honig, Pieter (1953). *Principles of sugar technology.* [Online] Dostopno na: https://books.google.si/books?id=u7HfBAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=principles+of+sugar+technology&hl=sl&sa=X&ved=0ahUKEwiLh_T2o-HgAhXJcJoKHdpoAmIQ6AEIKDAA#v=onepage&q=cu2o&f=false (Datum dostopa: 1.3. 2019)

[16] Inštitut za varovanje zdravja Republike Slovenije (2013). *Priporočeni dnevni vnos vitaminov in mineralov za odrasle.* [Online] Dostopno na: http://www.nizj.si/sites/www.nizj.si/files/uploaded/referencne_vrednosti_za_vnos.pdf (Datum dostopa: 1.3. 2019)

6.2 Viri slik

Slika 1: <https://pubs.rsc.org/-/content/articlepdf/2017/ra/c7ra08513c> (Datum dostopa: 24. 2. 2019)

Slika 2: (osebni arhiv)

Slika 3: (osebni arhiv)

Slika 4: <https://bitesizebio.com/28687/carrying-gas-chromatography/> (Datum dostopa: 27. 2. 2019)

Slika 5: <http://montgomerydistillery.com/our-process/distilling/> (Datum dostopa: 24. 2. 2019)

Slika 6:

<https://www.sciencesource.com/CS.aspx?VP3=SearchResult&VBID=2OPESQYUSNZV3#/SearchResult&VBID=2OPESQYUSNZV3> (Datum dostopa: 24. 2. 2019)

Slika 7: <http://terra-marascae.hr/52088/why-the-marasca-cherry/#> (Datum dostopa: 24. 2. 2019)

Slika 8: <https://www.xtend-life.com/blogs/supplement-ingredients/pectinase> (Datum dostopa: 24. 2. 2019)

Slika 9: <https://fineartamerica.com/featured/7-saccharomyces-cerevisiae-scimat.html?product=art-print> (Datum dostopa: 24. 2. 2019)

Slika 10: (osebni arhiv)

Slika 11: <https://d2cax41o7ahm51.cloudfront.net/cs/speaker-pdfs/mecit-halil-oztop-middle-east-technical-universityturkey.pdf> (Datum dostopa: 24. 2. 2019)

Slika 12: <https://en.wikipedia.org/wiki/Ethanol#/media/File:Ethanol-3D-balls.png> (Datum dostopa: 25. 2. 2019)

Slika 13: <https://en.wikipedia.org/wiki/Methanol#/media/File:Methanol-3D-balls.png> (Datum dostopa: 25. 2. 2019)

Slika 14: https://en.wikipedia.org/wiki/Ethyl_acetate#/media/File:Ethyl-acetate-3D-balls.png (Datum dostopa: 25. 2. 2019)

Slika 15: <http://mojibfnb3.blogspot.com/2017/03/spirts-distillation-pot-still-and.html> (Datum dostopa: 28. 2. 2019)

Slika 16: (osebni arhiv)

Slika 17: (osebni arhiv)

Slika 18: (osebni arhiv)

Slika 19: (osebni arhiv)

Slika 20: (osebni arhiv)

Slika 21: (osebni arhiv)

Slika 22: (osebni arhiv)

Slika 23: (osebni arhiv)

Slika 24: (osebni arhiv)

Slika 25: (osebni arhiv)

Slika 26: (osebni arhiv)

Slika 27: (osebni arhiv)

Slika 28: (osebni arhiv)

Slika 29:

https://books.google.si/books?id=u7HfBAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=principles+of+sugar+technology&hl=sl&sa=X&ved=0ahUKEwiLh_T2o-HgAhXJcJoKHdpoAmIQ6AEIKDAA#v=onepage&q=cu2o&f=false (Datum dostopa: 1.3. 2019)

Priloge

114

PROPERTIES OF REDUCING SUGARS

CH. 3

TABLE 19

MUNSON AND WALKER'S TABLE FOR DETERMINING GLUCOSE, INVERT SUGAR AND INVERT SUGAR-SUCROSE MIXTURES, TO BE USED WHEN Cu_2O IS WEIGHED DIRECTLY
(expressed in milligrams)

Cu_2O	Dextrose	Invert sugar	Invert sugar and sucrose 0.4 grams of total sugar	Invert sugar and sucrose 2 grams of total sugar
10	4.0	4.5	1.6	
20	8.3	8.9	6.1	
30	12.6	13.4	10.7	4.3
40	16.9	17.8	15.2	8.8
50	21.3	22.3	19.7	13.4
60	25.6	26.8	24.3	18.0
70	30.0	31.3	28.9	22.6
80	34.4	35.9	33.5	27.3
90	38.9	40.4	38.2	31.9
100	43.3	45.0	42.8	36.6
110	47.8	49.6	47.5	41.3
120	52.3	54.3	52.2	46.0
130	56.8	58.9	56.9	50.7
140	61.3	63.6	61.6	55.5
150	65.9	68.3	66.4	60.2
160	70.4	73.0	71.2	65.0
170	75.1	77.7	76.0	69.8
180	79.7	82.5	80.8	74.6
190	84.3	87.2	85.6	79.5
200	89.0	92.0	90.5	84.4
210	93.7	96.9	95.4	89.2
220	98.4	101.7	100.3	94.2
230	103.2	106.6	105.2	99.1
240	108.0	111.5	110.1	104.0
250	112.8	116.4	115.1	109.0
260	117.6	121.4	120.1	114.0
270	122.5	126.4	125.1	119.0
280	127.3	131.4	130.2	124.1
290	132.3	136.4	135.3	129.2
300	137.2	141.5	140.4	134.2
310	142.2	146.6	145.5	139.4
320	147.2	151.7	150.7	144.5
330	152.2	156.8	155.8	149.7
340	157.3	162.0	161.0	154.8
350	162.4	167.2	166.3	160.1
360	167.5	172.5	171.5	165.3
370	172.7	177.7	176.8	170.6
380	177.9	183.0	182.1	175.9
390	183.1	188.4	187.5	181.2
400	188.4	193.7	192.9	186.5
410	193.7	199.1	198.3	191.9
420	199.0	204.6	203.7	197.3
430	204.4	210.0	209.2	202.7
440	209.8	215.5	214.7	208.2
450	215.2	221.1	220.2	213.7
460	220.7	226.7	225.8	219.2

Slika 29: Tabela vrednosti mas oborin in sladkorjev