

მაია ვანიძე, ალექო კალანდია, ინდირა ჯაფარიძე

ღვინისა და თაფლის ანალიზის საერთაშორისო მეთოდები



გამომცემლობა
„ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტი“
ბათუმი – 2019

ისტორიულად საქართველო - მევენახეობისა და მეფუტკრეობის მხარეა და ბოლო წლებში მრავალი სახელმძღვანელო გამოიცა ვაზის ბიოლოგიის, ღვინის ტექნოლოგიისა და მეფუტკრეობის განვითარების მიმართულებით, მაგრამ მწირია ლიტერატურა ორი მნიშვნელოვანი პროდუქტის ღვინისა და თაფლის ქიმიური და ბიოქიმიური კვლევების მხრივ. ეს დამხმარე პრაქტიკული სახელმძღვანელო არის მცდელობა თავი მოგვეყარა სტანდარტული მეთოდებისათვის, რომელიც აპრობირებულია ამ მიმართულებით მსოფლიოს წამყვან ქვეყნებში. დამხმარე სახელმძღვანელო შედგება ორი ნაწილისაგან. პირველი ნაწილი ეთმობა ღვინის, ხოლო მეორე თაფლის ანალიზის საერთაშორისო მეთოდებს. იგი დახმარებას გაუწევს ქიმიური, ბიოლოგიური და აგრარული მიმართულების პროფესორ მასწავლებლებს, დოქტორანტებს, მაგისტრებს და იმ პირებს, რომელიც დაინტერესებული არიან კვების პროდუქტების ექსპერტიზის, უსაფრთხოებისა და სტანდარტიზაციის საკითხებით.

აღიარებულია სახელმძღვანელოდ ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტის საგამომცემლო საბჭოს მიერ (დადგენილება № 2018).

რედაქტორი:

არმაზ შალაშვილი - ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი,
საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტი.

რეცენზენტები:

ირინა ბეჟანიძე - ქიმიის აკადემიური დოქტორი.
ნატო დიდმანიძე - ქიმიის აკადემიური დოქტორი.

ISBN 978-9941-462-88-7

© „ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტი“ - 2018

თავი I. ღვინის კვლევის თანამედროვე სტანდარტული მეთოდები

1.1 ალკოჰოლის მოცულობითი შემცველობის განსაზღვრა Method OIV-MA-AS312-01A	5
1.2 ღვინის სიმკვრივის და ფარდობითი წონის განსაზღვრა Method OIV-MA-AS2-1A	7
1.3 ნაცრის განსაზღვრა Method OIV-MA-AS2 04	8
1.4 რედუცირებული შაქრების განსაზღვრა Method OIV-MA-AS311-01A	10
1.5 შაქრების განსაზღვრა ღვინოში მაღალი წნევის სითხური ქრომატოგრაფირების მეთოდით Method OIV-MA-AS311-03	16
1.6 ღვინის საერთო მჟავიანობის განსაზღვრა Method OIV-MA-AS313-01	19
1.7 ღვინოში L- ასკორბინის და D-იზო - ასკორბინის მჟავას (ერთობრივის მჟავა) ერთდროული განსაზღვრა	21
1.8 მქროლავი მჟავების განსაზღვრა OIV-MA-AS313-02	24
1.9 ექსტრაქტის განსაზღვრა Method OIV-MA-AS2-03B Total dry matter	26
1.10 სულფიტაცია-გოგირდის დიოქსიდის განსაზღვრა Method OIV-MA-AS32304A	29
1.11 ნეიტრალური ალკოჰოლის აბსორბციის (შთანთქმის) ტესტი ულტრაიისფერ არეში OIV-MA-BS-21	35
1.12 ფენოლური ნაერთების განსაზღვრა - Folin-Ciocalteu Index Method OIV-MA- AS2-10	35
1.13 ცხრა ძირითადი ანთოციანის განსაზღვრა წითელ და ვარდისფერ ღვინოში მაღალი წნევის სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდით Method OIV-MA-AS315-11	37
1.14 მალვიდინ დიგლუკოზიდის განსაზღვრა Method OIV-MA-AS315-03	42
1.15 ორგანული მჟავების თვისობრივი და რაოდენობრივი მაჩვენებლების განსაზღვრა	45
1.16 ორგანული მჟავების კვლევა მაღალი წნევის სითხური ქრომატოგრაფირების მეთოდით	47
თავი II. თავლის კვლევის თანამედროვე სტანდარტული მეთოდები	50
2.1 ტენიანობის განსაზღვრა რეფრაქტომეტრული მეთოდით	52
2.2 ნაცრის შემცველობის განსაზღვრა	55
2.3 pH-სა და თავისუფალი მჟავების განსაზღვრა ტიტრაციული მეთოდით(pH 8,3)	57
2.4 დიასტაზის განსაზღვრა	58

2.5 უხსნადი ნივთიერებების განსაზღვრა	62
2.6 ინვერტაზული აქტივობის განსაზღვრა	63
2.7 პროლინის განსაზღვრა	67
2.8 შაქრების განსაზღვრა	69
გამოყენებული ლიტერატურა	73

ღვინო არის პროდუქტი, რომელიც მიღებულია მხოლოდ ყურძნის ტკბილის ან ტკბილისა და დურდოს სრული ან ნაწილობრივი ალკოჰოლური დუდილის შედეგად. მას, როგორც ცოცხალ ორგანიზმს, თავისი განვითარების საფეხურები აქვს: იგი იზადება, ღვინდება, ვარგდება, ძლიერდება და ბოლოს კვდება. ღვინის წარმოშობა-დამწიფებისას, ძირითადად მიმდინარეობს ბიოქიმიური, ხოლო დავარგება-დაძველებისას დომინირებს შედარებით ნელა მიმდინარე ფიზიკურ-ქიმიური პროცესები.

თავი I. ღვინის კვლევის თანამედროვე სტანდარტული მეთოდები

1.1 ალკოჰოლის მოცულობითი შემცველობის განსაზღვრა Method OIV-MA-AS312-01A

ეთანოლი

ალკოჰოლური დუდილის დროს, ფერმენტები ყურძნის წვენი შაქრებს ეთანოლად გარდაქმნის. ეთანოლი კი განსაკუთრებით ორგანოლექტიკური თვალსაზრისით ღვინის ერთ-ერთი უმნიშვნელოვანესი კომპონენტია.

ეთანოლი (ანუ ეთილალკოჰოლი) წარმოადგენს ღვინის მოცულობის 8- 17 %-ს, დასპირტვით მიღებულ სპეციალურ ღვინოებში (ბუნებრივად ტკბილი ღვინოები, მისტელეები) კი აღწევს 23%-ს.

„საქართველოს კანონი ვაზისა და ღვინის შესახებ“ მიხედვით, საერთო სპირტშემცველობა წარმოადგენს ფაქტობრივი და პოტენციური სპირტშემცველობის ჯამს; ეთანოლის რაოდენობა ღვინოში გამოისახება მოცულობითი პროცენტით (მოც. %). ფაქტობრივი სპირტშემცველობა – ეთილის სპირტის მოცულობითი რაოდენობაა პროდუქტის 100 მოცულობით ერთეულში 20°C ტემპერატურაზე; პოტენციური სპირტშემცველობა – სუფთა სპირტის მოცულობითი რაოდენობაა პროდუქტის 100 მოცულობით ერთეულში 20°C ტემპერატურაზე, რომელიც შესაძლოა წარმოიქმნას პროდუქტში არსებული შაქრის მთლიანი დადუღებით. მასური სპირტშემცველობა შეესაბამება 100 კგ. პროდუქტში არსებულ ალკოჰოლის მასას (კგ).

მოცულობით სპირტშემცველობას დიდი მნიშვნელობა აქვს ღვინის ხარისხის შეფასებისას. ღვინო უნდა აკმაყოფილებდეს დადგენილ ზღვარს. ამ ზღვრების მნიშვნელობა დამოკიდებულია ღვინის ტიპზე, მეღვინეობის რაიონზე, მოსავლის წელსა და სხვა ფაქტორებზე. ეთანოლი ღვინოს ძალას (სიმაგრეს), სითბოსა და სირბილეს სძენს. დაბალ კონცენტრაციაზე მას მოტკბო გემო ახასიათებს, მაღალი შემცველობისას კი მწველი გემო. ტკბილი ღვინო მით უფრო ჰარმონიულია, რაც უფრო მაღალმჟავიანია და ალკოჰოლით მდიდარი. ალკოჰოლ-შაქარ-მჟავების ურთიერთშეფარდება კარგად იკვეთება ნახევრად მშრალი, ნახევრად ტკბილი და ტკბილი ღვინოების შედარებითი დეგუსტაციის დროს. ეთანოლი დიდ როლს ასრულებს ღვინის შენახვაში. დაბალალკოჰოლიანი ღვინოები უფრო ადვილად ავადდება საფუვრებითა და ბაქტერიებით.

1.1.1 განმარტება.

ეთილის სპირტის სიმაგრე მოცულობის მიხედვით - ეს არის ეთანოლის მოცულობა (ლიტრში) 100 ლიტრ ღვინოზე გადაანგარიშებით, განსაზღვრა მიმდინარეობს 20°C-ზე. მაჩვენებელი გამოისახება მოცულობითი წილით - მოც. %.

შენიშვნა: ეთილის სპირტის სიმაგრეში განიხილება, როგორც ეთანოლის, ასევე მისი ჰომოლოგებისა და ესთერების სიმაგრე, რადგანაც ისინი გადადის დისტილატში ეთანოლთან ერთად.

1.1.2.მეთოდის არსი.

მეთოდის არსი მდგომარეობს ღვინის ნიმუშის გამოხდა - დისტილაციაში. გამოხდამდე ხდება ღვინის საანალიზო ნიმუშის შეტუტიანება, ანუ განეიტრალება კალციუმის ჰიდროქსიდის სუსპენზიით, რათა დისტილატში არ გადავიდეს მქროლავი მჟავები (მმარმჟავა, გოგირდოვანი მჟავა და სხვა)

მიღებულ დისტილატში ალკოჰოლური სიმაგრის განსაზღვრა ხდება ეთილის სპირტის სიმკვრივის მიხედვით.

1.1.3 რეაქტივები და ხელსაწყო:

- კალციუმის ჰიდროქსიდის სუსპენზია - 2 M ხსნარი;
- მზომი კოლბა - 200 მლ მოცულობის;

- გადასადენი კოლბა - 1000 მლ მოცულობის;
- ცილინდრი - 250 მლ მოცულობის;
- გადასადენი მაცივარი;
- წვეთდამჭერი;
- თერმომეტრი(0-100°C)

1.1.4 ანალიზის მიმდინარეობა:

200 მლ. მოცულობის მზომი კოლბით აღებული საანალიზო ღვინის ნიმუში (20°C) გადააქვთ გადასადენ კოლბაში. საზომ კოლბას 4 ჯერ გამოავლებენ 5 -5 მლ. წყლით და ისიც გადააქვთ გადასადენ კოლბაში. შემდეგ კოლბას ასევე ამატებენ 2 M კალციუმის ჰიდროქსიდის 10 მლ -ს და თანაბარი დუდილისთვის ინერტული ფოროვანი მასალის რამდენიმე ნატეხს.

დისტილატის შეგროვება ხდება იმავე მზომ კოლბაში, რომლითაც მოხდა ღვინის ნიმუშის აღება. აგროვებენ დისტილატის $\frac{3}{4}$ ნაწილს, შემდეგ მიჰყავთ ნიშან ხაზამდე გამოხდილი წყლით (20°C). კოლბის შემცველობას წრიული მოძრაობით აურევენ კარგად, გადააქვთ ცილინდრში და სპირტომერით საზღვრავენ ეთილის სპირტის შემცველობას.

1.2 ღვინის სიმკვრივის და ფარდობითი წონის განსაზღვრა Method OIV- MA-AS2-01A

ღვინის ფარდობითი ხვედრითი წონა ეწოდება მისი გარკვეული მოცულობის მასის ფარდობას 20°C-ზე ამავე მოცულობისა და ტემპერატურის წყლის მასასთან. აღინიშნება $d_{20/20}$. მშრალი ღვინის ხვედრითი წონა ყოველთვის ნაკლებია 1-ზე. ერთი ლიტრი ღვინის მასა ტოლია წყლის მასას დამატებული ეთანოლისა და ექსტრაქტული ნივთიერებების მასა.

ალკოჰოლი წყალზე გაცილებით მსუბუქია, მაშინ, როცა ექსტრაქტი გაცილებით მძიმეა. ნარევის ხვედრითი წონა 0,992-სა და 0,996-ს შორისაა და მით ნაკლებია, რაც მეტია ალკოჰოლის მოცულობითი წილი.

1.2.1 განმარტება. სიმკვრივე (ρ) ეს არის რაიმე ნივთიერების/სხეულის თვისება, რომელიც განისაზღვრება, როგორც მასისა და მოცულობის ფარდობა. ღვინის სიმკვრივე - ერთეულ მოცულობაში მოცული ღვინის მასაა 20°C-ზე, და მისი ერთეულია - გ/მლ (გ/ლ). სიმკვრივე განისაზღვრება მეათედი რიცხვის სიზუსტით.

1.2.2. მეთოდის არსი : საანალიზო ღვინის ნიმუშის სიმკვრივე და კუთრი წონა 20°C -ზე განისაზღვრება პიკნომეტრის, ელექტროდენსიმეტრის ან არეომეტრის გამოყენებით.

შენიშვნა: SO₂-ის არსებობის შემთხვევაში, ზუსტი განსაზღვრისათვის ღვინის სიმკვრივე უნდა იყოს კორექტირებული SO₂-თან მიმართებაში:

$$\rho_{20} = \rho'_{20} - 0,0006 \times S$$

სადაც: ρ_{20} - კორექტირებული სიმკვრივე;

ρ'_{20} - არსებული (მოცემული) სიმკვრივე;

S –SO₂ –ის ჯამური რაოდენობა გ/ლ-ში.

1.2.3. ნიმუშის წინასწარი დამუშავება:

თუ ღვინო ან ტკბილი შეიცავს CO₂ -ის მნიშვნელოვან რაოდენობას, ის უნდა იქნეს მოცილებული 250 მლ. ღვინის 1 ლ მოცულობის კოლბაში შენჯღრევით.

1.3 ნაცრის განსაზღვრა Method OIV-MA-AS2-04

1.3.1. განმარტება : ნაცრის შემცველობა განისაზღვრება ყველა იმ ნაერთით, რომელიც მიიღება ღვინის აორთქლებისა და დანაცვრის შედეგად. დანაცვრა ხორციელდება ისე, რომ ყველა კათიონი (ამონიუმის კათიონის გარდა) გარდაიქმნება კარბონატად ან სხვა უწყლო არაორგანული მჟავას მარილებად.

1.3.2. მეთოდის არსი : ღვინის ექსტრაქტი ინაცრება 500°C - 550 ° C - დე, ორგანული ნაერთების სრული წვით.

1.3.3. ხელსაწყოები :

- წყლის აბაზანა - 100 ° C- ზე;

- ანალიზური სასწორი - 0.1 მგ. სიზუსტის;
- ცხელი ფირფიტა ან ინფრაწითელი ევაპორატორი;
- ელექტრომუფელის ღუმელი ტემპერატურული კონტროლით;
- ექსიკატორი;
- პლატინის ტიგელი 70 მმ. დიამეტრის და 25 მმ. სიმაღლის;

1.3.4. ანალიზის მიმდინარეობა - საანალიზო ღვინის ნიმუშის 20 მლ. პიპეტით გადააქვთ მუდმივ წონამდე მიყვანილ პლატინის ტიგელში. ტიგელს ღვინის ნიმუშით ათავსებენ მდულარე წყლის აბაზანაზე სითხის ასაორთქლებლად, შემდეგ კი გადააქვთ ელექტროქურაზე (200°C) გამოწვისათვის, მანამ, სანამ არ შეწყდება კვამლის წარმოქმნა. წვის დასრულების შემდეგ გადააქვთ მუფელის ღუმელში 525°C. ± 25°C-ზე . 15 წუთის გასვლის შემდეგ, გამოაქვთ მუფელის ღუმელიდან, ამატებენ 5მლ. გამოხდილ წყალს, კვლავ გადააქვთ წყლის აბაზანაზე სითხის ასაორთქლებლად და 10 წუთით ისევ ათავსებენ მუფელის ღუმელში 525°C -ზე. არასრული დანაცვრის შემთხვევაში კვლავ ხდება წყლის დამატება, აორთქლება და მორიგი დანაცვრა.

შაქრის მაღალი შემცველობის მქონე ღვინოებისთვის ექსტრაქტს ამატებენ რამდენიმე წვეთს სუფთა მცენარეულ ზეთს პირველი დანაცვრის დაწყებამდე, რათა თავიდან აცილებულ იქნეს ძლიერი აალება. დანაცვრის დასასრულს ტიგელი გადააქვთ ექსიკატორში და შემდეგ წონიან.

ნაცრის მასა ღვინის ნიმუშის 20 მლ-ში გამოითვლება შემდეგი ფორმულით:

$$p = (p_1 - p_0) \cdot g$$

სადაც : p_0 - ცარიელი ტიგელის მასა, გ.; p_1 - ნაცრიანი ტიგელის მასა,გ.

1.3.5. შედეგების გამოსახვა - ნაცრის შემცველობა გამოისახება გ/ლ. კერძოდ, მიღებული ნაცრის მასის (20 მლ ღვინოში) 50-ზე გამრავლებით $P = 50p$, მძიმედან ორი ციფრის სიზუსტით

1.4 რედუცირებული შაქრების განსაზღვრა Method OIV-MA-AS311-01A

მელვინობაში შაქრები ერთ-ერთ უმნიშვნელოვანეს როლს ასრულებს. იგი მრავალი ღვინის შემადგენლობაში შედის და განსაზღვრავს ღვინის ტიპს. ღვინოში ნარჩენი შაქრების შემცველობა რეგულირდება „საქართველოს კანონი ვაზისა და ღვინის შესახებ“ მიხედვით:

მშრალ ღვინოში - 0-4 გ/ლ შაქარი;

ნახევრად მშრალ ღვინოში - 4 – 12 გ/ლ შაქარი;

ნახევრად ტკბილ ღვინოში - 12 – 45 გ/ლ შაქარი;

ტკბილ ღვინოში - > 45 გ/ლ შაქარი,

მაღალ მჟავიანი ღვინოებისათვის ეს მაჩვენებელი შეიძლება შედარებით მაღალი იყოს.

შაქრების განსაზღვრისას გამოიყენება მათი აღმდგენელი თვისება და ნებისმიერი მეთოდით განსაზღვრისათვის საჭიროა:

განზავება: საანალიზო ხსნარში შაქრის შემცველობა არ უნდა აღემატებოდეს 5 გ/ლ ერთეულს;

გაუფერულება: სითხიდან უნდა მოსცილდეს ყველა აღმდგენელი ნაერთი: ტანინები, მღებავი ნივთიერებები.

ანალიზი ორ ეტაპად მიმდინარეობს: გაუფერულება - განზავება და ტიტრაცია.

1.4.1. განმარტება

რედუცირებულ ანუ აღდგენად ნაერთებს მიეკუთვნება ყველა შაქარი, რომელიც შეიცავს კეტონურ და ალდეჰიდურ ჯგუფებს და ახასიათებთ აღმდგენი მოქმედება სპილენძის მარილის ტუტიან ხსნართან.

1.4.2. მეთოდის არსი:

ღვინოს ამუშავებენ შემდეგი რეაგენტებით:

- ტყვიის აცეტატი;
- თუთიის (II) ფეროციანიდი.

საანალიზო ხსნარში შაქრის კონცენტრაცია უნდა იყოს 0,5 - 5 გ/ლ-ის ფარგლებში.

მშრალი ღვინის განზავება არ არის საჭირო საანალიზო ნიმუშის გაუფერულებისას. ტკბილი ღვინოები კი უნდა განზავდეს, რათა ხსნარის გაუფერულების შემდეგ მიღწეული იქნეს საანალიზო ნიმუშში შაქრების დასაშვები რაოდენობა. (ცხრილის მიხედვით).

აღწერა	შაქრის კონცენტრაცია (გ/ლ)	სიმკვრივე	განზავება (%)
ყურძნის ტკბილი და შემაგრებული ღვინო მასალა	> 125	> 1.038	1
ტკბილი ღვინო, შემაგრებული და არა შემაგრებული ღვინო	25 to 125	1.005 to 1.038	4
ნახევრად ტკბილი ღვინო	5 to 25	0.997 to 1.005	20
მშრალი ღვინო	< 5	< 0.997	განზავების გარეშე

1.4.3. რეაქტივები :

- $Pb(CH_3COO)_2$ -ით გაუფერულება;
- ტყვიის აცეტატის ხსნარი $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$
 ხსნარის მომზადება: ტყვიის აცეტატის 250გ გადააქვთ 500 მლ. მზომ კოლბაში, ხსნიან ცხელი წყლით სრულ გახსნამდე და მიჰყავთ ნიშან ხაზამდე;
- ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 1 M NaOH ხსნარი;
- კალციუმის კარბონატი ($CaCO_3$).

1.4.4. ანალიზის მიმდინარეობა : მშრალი ღვინო : 100 მლ. მოცულობის საზომ კოლბაში ათავსებენ ღვინის 50 მლ-ს, უმატებენ 1 M NaOH ხსნარის 0,5 მლ (n - 0,5), (სადაც n - არის 0,1M NaOH-ის ხსნარის მოცულობა, რომელიც დაიხარჯა 10 მლ. ღვინის გატიტვისას, საერთო მჟავიანობის განსაზღვრისათვის). შემდეგ ემატება ტყვიის აცეტატის 2,5 მლ. და 0,5გ. კალციუმის კარბონატი, თანდათანობითი მორევით რამდენჯერმე და შემდეგ

აყოვნებენ მინიმუმ 15წთ. მოცულობა მიჰყავთ წყლით ნიჰან ხაზამდე. ხსნარი იფილტრება.

ფილტრატის 1მლ. შეესაბამება 0,5 მლ. ღვინოს.

ყურძნის ტკბილი, შემაგრებული ღვინო მასალა, ტკბილი და ნახევრადტკბილი ღვინო
100 მლ მოცულობის მზომ კოლბაში საანალიზო ნიმუშებს იღებენ შემდეგი თანაფარდობით:

- *შემთხვევა 1. ყურძნის ტკბილი და შემაგრებული ღვინო მასალა:* მზადდება 10% ხსნარი (V/V) და საანალიზოდ გამოიყენება ხსნარის 10 მლ.
- *შემთხვევა 2. ტკბილი ღვინოები, გამდიდრებული ან არაგამდიდრებული,* რომელთაც სიმკვრივე აქვთ 1,005-დან 1,038-მდე. მზადდება 20% (V/V) ხსნარი და საანალიზოდ გამოიყენება 20 მლ. განზავებული ხსნარისა.
- *შემთხვევა 3. ნახევრადტკბილი ღვინო,* რომლის სიმკვრივე არის 0,997-დან 1,005-მდე: იღებენ 20 მლ. ღვინოს (არაგანზავებული), უმატებენ 0,5 გ. კალციუმის კარბონატს, 60 მლ.-მდე წყალს და ტყვიის აცეტატის ნაჯერი ხსნარის 0,5, 1 ან 2 მლ-ს. კარგად აურევენ და ტოვებენ 15 წუთით, დროდადრო მორევით. მოცულობა წყლით მიჰყავთ ნიჰან ხაზამდე. შემდეგ ფილტრავენ.

შენიშვნა:

შემთხვევა 1. 1 მლ ფილტრატი შეიცავს 0,01 მლ ყურძნის ტკბილსა და შემაგრებულ ღვინო მასალას;

შემთხვევა 2. 1 მლ ფილტრატი შეიცავს 0,04 მლ ტკბილ ღვინოს.

შემთხვევა 3. 1მლ ფილტრატი შეიცავს 0,2 მლ ნახევრადტკბილ ღვინოს.

1.4.5. გაუფერულება თუთიის ფეროციანიდით: ეს მეთოდი გამოიყენება მხოლოდ თეთრი, სუსტად შეფერილი ტკბილი ღვინოებისა და ყურძნის ტკბილისათვის.

1.4.6. რეაქტივები:

- *ხსნარი I.* კალიუმის ფეროციანიდი $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ – 150 გ წყალი -1000 მლ.-მდე;
- *ხსნარი II.* თუთიის სულფატი $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ - 300 გ წყალი - 1000 მლ-მდე.

1.4.7. ანალიზის მიმდინარეობა:

100 მლ მოცულობის მზომ კოლბაში იღებენ ღვინოს შემდეგი თანაფარდობით:

შემთხვევა 1. ყურძნის ტკბილი და შემაგრებულ ღვინო მასალა. უნდა მომზადდეს 10% საანალიზო ხსნარი და საანალიზოდ გამოყენებულ უნდა იქნეს განზავებული ღვინის 10 მლ.

შემთხვევა 2. ტკბილი ღვინო (გამდიდრებული ან არა გამდიდრებული), რომლის სიმკვრივეა 1,005-დან 1,038-მდე, უნდა მომზადდეს 20% საანალიზო ხსნარი, რომელიც შემდგომ საანალიზოდ აღებულ უნდა იქნეს 20მლ;

შემთხვევა 3. ნახევრად ტკბილი ღვინო, რომლის სიმკვრივე 20°C -ზე არის 0,997-სა და 1,005-ს შორის, საანალიზოდ აღებულ უნდა იქნეს განუზავებელი ღვინის 20 მლ.

შემთხვევა 4. მშრალი ღვინო - იღებენ განუზავებელი ღვინის 50 მლ-ს ,ამატებენ 5 მლ ხსნარს I და 5 მლ ხსნარს II. კარგად აურევენ. წყლით მიჰყავთ ნიშან ხაზამდე და შემდეგ ფილტრავენ.

შენიშვნა:

შემთხვევა 1. ფილტრატის 1 მლ შეიცავს 0,01მლ ყურძნის ტკბილი და შემაგრებულ ღვინო მასალას.

შემთხვევა 2. 1მლ ფილტრატი შეიცავს 0,04 მლ ტკბილ ღვინოს.

შემთხვევა 3. 1მლ ფილტრატი შეიცავს 0,2 მლ ნახევრად ტკბილ ღვინოს.

შემთხვევა 4. 1მლ ფილტრატი შეიცავს 0,5 მლ მშრალ ღვინოს.

1.4.8. შაქრის განსაზღვრა

რეაქტივები:

- სპილენძის მარილის ტუტე ხსნარის მომზადება:

სპილენძის სულფატი $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 25 გ.

ლიმონმჟავას მონოჰიდრატი - 50 გ.

ნატრიუმის კარბონატის კრისტალჰიდრატი $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ - 388 გ

სპილენძის სულფატს ხსნიან 100 მლ წყალში, ლიმონმჟავას 300 მლ წყალში და ნატრიუმის კარბონატს 300 – 400 მლ ცხელ წყალში. ერთმანეთს შეურევენ ლიმონმჟავასა და ნატრიუმის კარბონატის ხსნარებს, შემდეგ უმატებენ სპილენძის სულფატის ხსნარს და მოცულობა მიჰყავთ 1 ლ-მდე.

- კალიუმის იოდიდის 30% -იანი ხსნარი (V/V);
- კალიუმის იოდიდი KI - 30 გ;
- წყალი - 100 მლ.

ინახება მუქ ჭურჭელში ზნელ ადგილას.

- H_2SO_4 25%-იანი ხსნარი (m/v);
- კონც. H_2SO_4 ($\rho = 1,84$ გ/მლ) -25 გ;
- წყალი - 100 მლ-მდე.

გოგირდმჟავას ამატებენ თანდათანობით წყალში და მიჰყავთ 100 მლ-მდე.

- სახამებლის ხსნარი 5გ/ლ.

5 გ სახამებელს ამატებენ 500 მლ წყალს, მიჰყავთ დუღილამდე, დრო და დრო მორევით და ადუღებენ 10 წუთის განმავლობაში. შემდეგ უმატებენ 200 გ NaCl-ს და აყოვნებენ გასაცივებლად, მოცულობა წყლით მიჰყავთ 1 ლ-მდე.

- ნატრიუმის თიოსულფატის 0,1 M ხსნარი;
- ინვერსიული შაქრის ხსნარი 5გ/ლ

200 მლ. მოცულობის მზომ კოლბაში ვიღებენ:

საქაროზას (გამშრალი) -4,75გ

წყალს, დაახლოებით -100 მლ

კონც. მარილმჟავას ($\rho = 1,16 - 1,19$ გ/მლ) - 5 მლ

კოლბის შემცველობას აცხელებენ წყლის აბაზანაზე $60^\circ C$ ტემპერატურის პირობებში მანამ, სანამ ხსნარის ტემპერატურა არ მიაღწევს $50^\circ C$, შემდეგ ხსნარს $50^\circ C$ -ის ტემპერატურის პირობებში აყოვნებენ 15 წთ განმავლობაში. შემდეგ კოლბას ტოვებენ გასაცივებლად 30 წთ-ის განმავლობაში, შემდეგ ათავსებენ ცივი წყლის აბაზანაში, კოლბის შემცველობა გადააქვთ 1 ლ. მოცულობის მზომ კოლბაში და წყლით მიჰყავთ ნიშან ხაზამდე.

ეს ხსნარი შეიძლება გამოყენებული იქნეს 1 თვის განმავლობაში.

!!! გამოყენების წინ აუცილებელია საანალიზო ნიმუშის განეიტრალება NaOH-ის ხსნარით (საანალიზო ხსნარი დაახლოებით შეიცავს 0,06 M H_2SO_4).

1.4.9. ანალიზის მიმდინარეობა : 300 მლ მოცულობის კონუსურ კოლბაში გადააქვთ 25 მლ სპილენძის მარილის ტუტიანი ხსნარი, 15 მლ წყალი და 10 მლ გაუფერულებული ხსნარი. შაქრის ხსნარის ეს მოცულობა არ უნდა შეიცავდეს 60 მგ-ზე მეტ ინვერტულ შაქარს. ამატებენ რამდენიმე ნატეხ პემზას. კოლბას უერთებენ უკუმაცივარს და ხსნარი მიჰყავთ დუღილამდე, ადუღებენ 10 წთ-ს. კოლბას აცივებენ გამდინარე წყლით და სრული გაცივების შემდეგ ამატებენ 10 მლ 30% KI, 25 მლ H₂SO₄ (25%) და 2მლ სახამებელის ხსნარს. ხსნარს ტიტრავენ 0,1 M ნატრიუმის თიოსულფატის ხსნარით.

n - გატიტვრაზე დახარჯული ხსნარის მოცულობაა.

n' - 25 მლ შაქრის ხსნარისა და 25მლ წყლის ნარევის გატიტვრაზე დახარჯული თიოსულფატის რაოდენობაა.

1.4.10. შედეგების გამოსახვა - გაანგარიშება

ცხრილში მოცემულია შაქრების რაოდენობის დამოკიდებულება (ინვერტული შაქარი) გატიტვრაზე დახარჯული თიოსულფატის რაოდენობაზე (n'-n).

ღვინოში შაქრის შემცველობა გამოსახული უნდა იყოს გ/ლ-ში მეთაედი სიზუსტით, ნიმუშის (ღვინის) გაუფერულებისათვის საჭირო განზავებისა და ასევე საანალიზოდ აღებული ხსნარის მოცულობის გათვალისწინებით.

შაქრების რაოდენობის დამოკიდებულება გატიტვრაზე დახარჯული თიოსულფატის რაოდენობაზე

თანაფარდობა ნატრიუმის თიოსულფატის ხსნარსა ($n'-n$) და აღდგენილი შაქრების რაოდენობას შორის, მგ					
$Na_2S_2O_3$ (მლ. 0,1 M)	რედუცირებული შაქრები (მგ.)	სხვაობა	$Na_2S_2O_3$ (მლ. 0,1 M)	რედუცირებული შაქრები (მგ.)	სხვაობა
1	2.4	2.4	13	33.0	2.7
2	4.8	2.4	14	35.7	2.8
3	7.2	2.5	15	38.5	2.8
4	9.7	2.5	16	41.3	2.9
5	12.2	2.5	17	44.2	2.9
6	14.7	2.6	18	47.2	2.9
7	17.2	2.6	19	50.0	3.0
8	19.8	2.6	20	53.0	3.0
9	22.4	2.6	21	56.0	3.1
10	25.0	2.6	22	59.1	3.1
11	27.6	2.7	23	62.2	✓
12	30.3	2.7			

1.5 შაქრების განსაზღვრა ღვინოში მაღალი წნევის სითხური

ქრომატოგრაფირების მეთოდით Method OIV-MA-AS311-03

1.5.1. გამოყენების სფერო : ეს მეთოდი განკუთვნილია შაქრების პირდაპირი განსაზღვრისათვის ყურძნის ტკბილსა და ღვინოში. განსაზღვრისას საანალიზო ხსნარში შაქრის კონცენტრაცია არ უნდა აღემატებოდეს 20გ/ლ, შაქრების მაღალი შემცველობის შემთხვევაში ხდება ნიმუშის განზავება. ამ მეთოდით ასევე ისაზღვრება გლიცეროლისა (0.5-დან და 15-მდე გ/ლ) და საქაროზას (1-დან და 40 - მდე გ/ლ) შემცველობა.

1.5.2. მეთოდის პრინციპი : შაქარებისა და გლიცეროლის დაყოფა ხდება მაღალი წნევის სითხურ ქრომატოგრაფზე alkylamin-ის სვეტზე (ან სხვა) რეფრაქტომეტრული დეტექტორის გამოყენებით.

1.5.3. რეაქტივები :

- ქრომატოგრაფიული ხარისხის სისუფთავის წყალი ;
- აცეტონიტრილი (სისუფთავე $\geq 99\%$);
- ფრუქტოზა [57-48-7] (სისუფთავე $\geq 99\%$);
- გლუკოზა [492-62-6] (სისუფთავე $\geq 99\%$);
- საქაროზა [57-50-1] (სისუფთავე $\geq 99\%$);
- გლიცეროლი [56-81-5] (სისუფთავე $\geq 99\%$).

1.5.4. რეაქტივების მომზადება :

- დეიონიზირებული წყალი : წყალი უნდა გაიფილტროს 0.45 μm ზომის ფორების ცელულოზურ მემბრანულ ფილტრში;
- ელუენტი: აცეტონიტრილი / წყალი - 80/20 თანაფარდობით.

1.5.5. ხელსაწყოები :

- 0.45 μm ზომის ფორების მქონე ცელულოზური მემბრანული ფილტრი.
- კარტრიჯი - Sep-Pak C18;
- მაღალი წნევის სითხური ქრომატოგრაფი;
- alkylamin-ის სვეტი (5 μm , 250 x 4.6 მმ);
- რეფრაქტომეტრული დეტექტორი.

1.5.6. ნიმუშის მომზადება

საჭიროების შემთხვევაში ხდება ნიმუშების დეაერაცია (მაგ. აზოტით ან ულტრაბგერით აბაზანაში).

განზავება : ღვინო, რომელიც შეიცავს 20 გ /ლ-ზე ნაკლებ შაქრებს (გლუკოზა და ფრუქტოზა) განზავებას არ საჭიროებს, ხოლო ყურძნის ტკბილისა და ღვინის შემთხვევაში, თუ კონცენტრაცია 20 გ/ლ-ზე მეტია უნდა განზავდეს.

გაფილტვრა : ანალიზის დაწყებამდე ნიმუშები უნდა გაიფილტროს 0.45 μm ზომის ფორების მქონე ცელულოზური მემბრანული ფილტრის გამოყენებით.

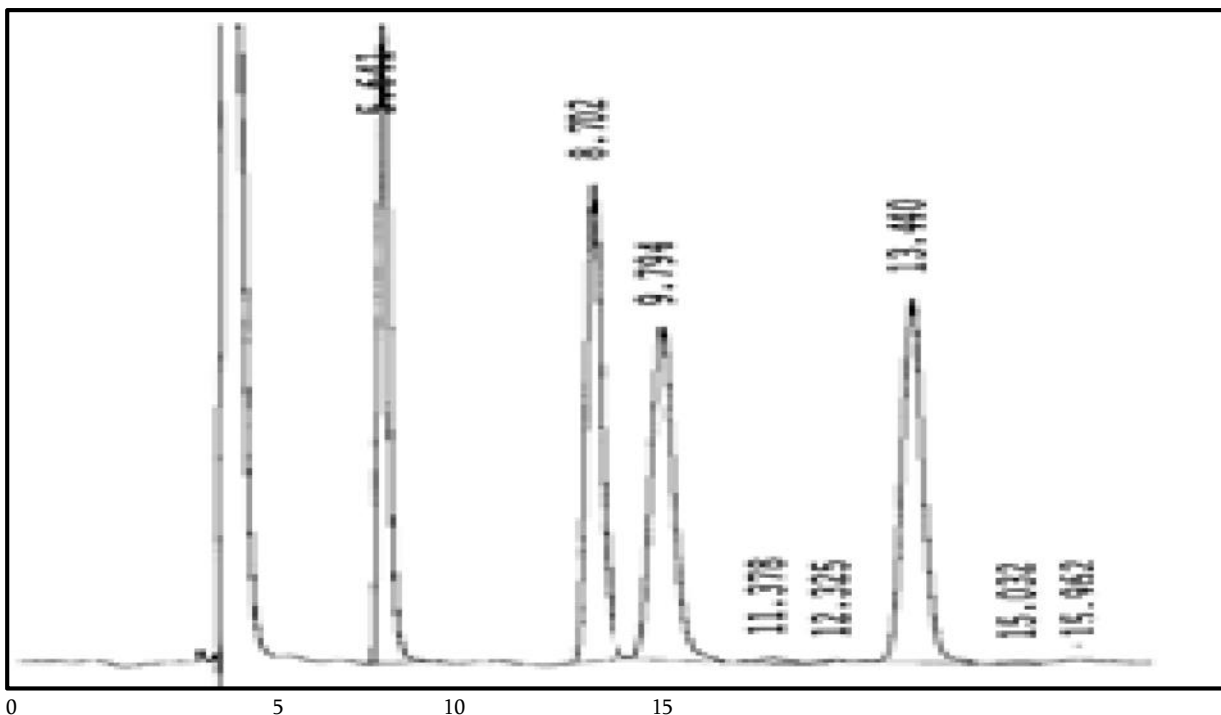
ყურძნის ტკბილისა და ფენოლური ნაერთებით მდიდარი ღვინის შემთხვევაში საჭიროა ნიმუშის გასუფთავება ფენოლური ნაერთებიდან, რომლის მოსაცილებლად გამოიყენება Sep-Pak C18 კარტრიჯი.

ანალიზის პირობები : HPLC სისტემა აღჭურვილია სვეტით (4.4) და RID (4.5).

- მობილური ფაზა: აცეტონიტი / წყალი (80/20);
- ნაკადის სიჩქარე : 1 მლ/წთ;
- ინჟექტირების მოცულობა: 10 - 50 მკლ.

საკალიბრო ხსნარი - ავთენტური ნაერთების (გლიცერინი, ფრუქტოზა, გლუკოზა, საქაროზა) კონცენტრაცია შეადგენს 10 ± 0.01 გ/ლ;

ქრომატოგრამების მაგალითები ნაჩვენებია (სურათი 1 და 2).



დრო (წთ)

სურათი 1. ავთენტურ ნაერთთა ქრომატოგრამა (შაქრები და გლიცეროლი 10 მგ/ლ) - გლიცეროლი (GY), ფრუქტოზა (FR), გლუკოზა (GL), საქაროზა (SA)

1.6 ღვინის საერთო მჟავიანობის განსაზღვრა Method OIV-MA-AS313-01

ღვინო მრავალ მჟავას შეიცავს თავისუფალი ან მათი მარილების სახით. ზოგიერთი მჟავა ღვინის დამზადებისას წარმოიქმნება. მაგალითად: რძემჟავა, ქარვამჟავა, ჭიანჭველმჟავა, მმარმჟავა, პიროყურძნის მჟავა, გლუტარმჟავა და ა.შ. ეს მჟავები წარმოიქმნება დუღილის პროცესის დროს, დანარჩენი კი - სხვადასხვა სახის გარდაქმნის შედეგად: გალაქტურონის, გლუკონის და სხვა. ეს მჟავები განაპირობენ ღვინის მჟავე გემოს, ქმნიან ღვინის საგემოვნო თვისებებსა და მდგრადობას. ხშირად ისინი იერთებენ ფუნქციონალურ ჯგუფებს (სპირტები, კეტონები, ალდეჰიდები და სხვა) და მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ღვინის დავარგებისას მიმდინარე ქიმიურ პროცესებში.

მეღვინეობაში იყენებენ მჟავიანობის სხვადასხვა მაჩვენებელს: ტიტრულ, აქტიურ (pH), მქროლავ და არამქროლავ მჟავიანობას.

1.6.1. ტიტრული (საერთო) მჟავიანობა

ღვინის საერთო მჟავიანობა წარმოადგენს ღვინოში არსებული მჟავების ჯამს, რომლებიც იტიტრება ტიტრული ტუტე ხსნარით (NaOH 0,1 N ხსნარი) pH = 7 -მდე.

ევროკავშირის ღვინის შესახებ რეგულაციების (European Union wine regulations) მიხედვით ტიტრული მჟავიანობა გამოისახება მილიეკვივალენტობით ლიტრზე ან ღვინომჟავაზე გადაანგარიშებით; საფრანგეთში H₂SO₄ - ზე გადაანგარიშებით ანუ გოგირდმჟავას იმ რაოდენობით (გრამებში), რომელიც საჭიროა დაემატოს წყალს, იმავე ტიტრული მჟავიანობის მისაღებად.

ტიტრული მჟავიანობა სხვადასხვა ღვინოში სხვადასხვაა. იგი დამოკიდებულია ყურძნის ადგილწარმოშობაზე, ჯიშზე, მევენახეობასა და მეღვინეობაში გამოყენებულ მეთოდებზე და მოსავლის წელზე.

ღვინოებში, რომლებშიც ვაშლ-რძემჟავური დუღილი არ განხორციელებულა, იგი მცირედ განსხვავდება ყურძნის მჟავიანობისაგან. ალკოჰოლური დუღილის დროს საფუვრების მიერ დაშლილი ვაშლმჟავა და გამოლექილი ღვინომჟავას მარილები უმრავლეს შემთხვევაში კომპენსირდება ახალი მჟავების წარმოქმნით.

ღვინოში ტიტრულ მჟავიანობას დიდი მნიშვნელობა აქვს:

- აუმჯობესებს ღვინის შენახვის პროცესს, აჩერებს დაავადებების გამომწვევი მიკროორგანიზმების განვითარებას ;ტიტრული მჟავიანობა განაპირობებს pH-ს ანუ განსაზღვრავს სხვადასხვა ბაქტერიის მოქმედებას. კანონით დადგენილია - ტიტრული მჟავიანობის მინიმუმი, რომელიც სუფრის ღვინისათვის ტოლია: 46,6 მილიეკვივალენტისა ლიტრზე, ანუ 3,5 გრამი ღვინომჟავაზე და 2,29 გრამი გოგირდმჟავაზე გადაანგარიშებით;
- სიხალისეს მატებს ღვინოს. დაბალმჟავიანი ღვინო დუნეა, ხოლო ზედმეტად მაღალმჟავიანი - მწვანე და აგრესიული;
- ზრდის ტანინების სიძელგეს დეგუსტაციის დროს ;
- მოქმედებს ფერის ტონსა და სტაბილურობაზე.

1.6.2 საერთო მჟავიანობა. Method OIV-MA-AS313-01

1.6.2.1 განმარტება : ღვინის საერთო მჟავიანობა წარმოადგენს ტიტრული მჟავების ჯამს, რომლებიც იტიტრება pH – 7 -მდე ტუტის სტანდარტული ხსნარით (NaOH N/10). საერთო მჟავიანობაში არ შედის ნახშირორჟანგი.

1.6.2.2 მეთოდის არსი : პოტენციომეტრული გატიტვრა pH – 7 -მდე ან გატიტვრა ინდიკატორის - ბრომთიმოლის ლურჯის თანაობისას.

1.6.2.3 ხელსაწყო - პოტენციომეტრი.

1.6.2.4 რეაქტივები:

- **ბუფერული ხსნარი pH 7.0:** კალიუმის დიჰიდროფოსფატი, KH_2PO_4 - 107,3 გ, ნატრიუმის ჰიდროქსიდის ხსნარი - 1 მოლი/ლიტრში - 500 მლ და წყლით მიჰყავთ 1000 მლ-მდე.
- **ნატრიუმის ჰიდროქსიდის ხსნარი -** 0,1 მოლი/ლიტრში;
- **ბრომთიმოლის ლურჯის ხსნარი -** 4 გ/ლ: იღებენ 4 გ ბრომთიმოლის ლურჯს, ხსნიან 200 მლ 96 % სპირტში და უმატებენ 200 მლ წყალს (ნახშირორჟანგისაგან განთავისუფლებულს). შემდეგ ხსნარს უმატებენ 7,5 მლ ნატრიუმის ხსნარს (1 მოლი/ლიტრში) რათა მიღწეულ იქნეს მომწვანო - ლურჯი შეფერვა (pH 7.0) და შეავსებენ 1000 მლ - მდე.

1.6.2.5 ანალიზის მიმდინარეობა :

ნიმუშის მომზადება: გულისხმობს საანალიზო ღვინოში ნახშიროჟანგის მოცილებას;

პოტენციომეტრის კალიბრება: pH 7.0 , ბუფერული ხსნარით;

ანალიზის მიმდინარეობა : ჭიქაში იღებენ საანალიზო ღვინის 10 მლ-ს, უმატებენ 10 მლ. წყალს. შემდეგ ბიურეტის გამოყენებით უმატებენ 0,1 M ნატრიუმის ტუტის ხსნარს და გატიტვრას აგრძელებენ მანამ, სანამ ხსნარის pH 20 ° C - ზე არ მიაღწევს 7 ერთეულს . ნატრიუმის ტუტის ხსნარი ემატება ნელ-ნელა, გასატიტრი ხსნარის უწყვეტი მორევის პირობებში. n – ეს არის საანალიზო ღვინის გატიტვრაზე დახარჯული 0,1 M ნატრიუმის ტუტის (NaOH) ხსნარის მოცულობა.

შედეგების გამოსახვა: საერთო მჟავიანობა, გამოისახება, როგორც მილიექვივალენტი ლიტრზე - $A = 10n$; შედეგების ჩაწერა ხდება მეთაედი სიზუსტით; საერთო მჟავიანობა, გამოისახება, როგორც ღვინის მჟავას რაოდენობა გრამებში ლიტრზე - $A = 0,075 * A$; შედეგების ჩაწერა ხდება მეთაედი სიზუსტით; საერთო მჟავიანობა, გამოისახება, როგორც გოგირდმჟავას რაოდენობა გრამებში ლიტრზე - $A = 0,049 * A$; შედეგების ჩაწერა ხდება მეთაედი სიზუსტით.

1.7 ღვინოში L- ასკორბინის და D-იზო- ასკორბინის მჟავას (ერთობრბინის მჟავა) ერთდროული განსაზღვრა

ასკორბინის მჟავა წარმოადგენს ანტიოქსიდანტს, რომელიც გვხდება საკვებ პროდუქტებში. ღვინის წარმოებისას, ყურძნის ასკორბინის მჟავას შემცველობა მცირდება, მაგრამ, განსაზღვრული რაოდენობით, ის შეიძლება დაემატოს ყურძნის ტკბილსა და ღვინოს.

აღნიშნული მეთოდი გამოიყენება ღვინის ნიმუშებში L- ასკორბინის (30 მგ/ლ-დან 150 მგ/ლ-მდე) და D- იზოასკორბინის მჟავას (10 მგ/ლ-დან 100 მგ/ლ-მდე) ერთდროული კვლევისათვის ულტრაიისფერ არეში. თუ ნიმუში შეიცავს ასკორბინის მჟავას 150მგ/ლ მეტ რაოდენობას, საჭიროა ნიმუშის განზავება.

1.7.1 მეთოდის პრინციპი

ქრომატოგრაფირებისათვის ნიმუშის ინჟექტირება ხდება პირდაპირ, მემბრანულ ფილტრში გაფილტვრის შემდეგ. საკვლევი ნაერთების დაყოფა ხდება შექცევად ფაზიან სვეტზე, ულტრაიისფერ დეტექტორში (254, 210 ნმ-ზე) . L- ასკორბინის მჟავასა და D-იზოასკორბინის მჟავას რაოდენობის განსაზღვრა ხდება შიდა სტანდარტით.

1.7.2. რეაქტივები და მასალა

1.7.2.1 რეაქტივები :

- ჭიანჭველმჟავა N-ოქტილამინი, სისუფთავე $\geq 99.0\%$;
- ლიმონმჟავა, ნატრიუმის აცეტატი, სისუფთავე $\geq 99.0\%$;
- ვაშლმჟავა, ძმარმჟავა 100%;
- შიკიმის მჟავა, ფოსფორმჟავა;
- ღვინის მჟავა, ოქსალინის მჟავა, სისუფთავე $\geq 99.0\%$;
- ძმარმჟავა;
- L- ასკორბინის მჟავა, სისუფთავე $\geq 99.5\%$;
- D-იზო- ასკორბინის მჟავა, სისუფთავე $\geq 99.0\%$;
- დეიონიზირებული წყალი;
- კალიუმის დიჰიდროფოსფატი (შენიშვნა C – 18-ის სვეტის გამოყენების შემთხვევაში);
- ორთოფოსფორმჟავა (შენიშვნა: KC – 811 სვეტის გამოყენების შემთხვევაში).

1.7.2.2. მობილური ფაზის მომზადება სხვადასხვა სვეტის გამოყენების შემთხვევაში

მობილური ფაზა - სვეტი C 18-ის შემთხვევაში 25mM კონცენტრაციის კალიუმის დიჰიდროფოსფატის ხსნარი: წინასწარ გამშრალი კალიუმის დიჰიდროფოსფატი იხსნება 500 მლ-მდე გამოხდილ წყალში. pH მიიყვანება 2.4 - მდე ფოსფორმჟავას ხსნარით და ივსება 1 ლიტრიან მზომ კოლბაში გამოხდილი წყლით. გამოყენებამდე მობილური ფაზა უნდა გაიფილტროს მემბრანული ფილტრის მეშვეობით;

KC-811-ის სვეტის გამოყენების შემთხვევაში მობილურ ფაზას წარმოადგენს 0,1% ფოსფორმჟავას ხსნარი.

1.7.2.3. სტანდარტული ხსნარების მომზადება

შენიშვნა: ყველა სტანდარტული ხსნარი უნდა მომზადდეს ყოველდღიურად და სასურველია ინახებოდეს მაცივრის პირობებში.

საწყისი სტანდარტული ხსნარის მომზადება (1 მგ/მლ) : მზადდება 2% მჟაუნმჟავას ან ფოსფორმჟავას ხსნარი და ტარდება აზოტის არეში გახსნილი ჟანგბადის მოსაცილებლად. საწყისი სტანდარტული ხსნარის მოსამზადებლად 100 მლ მოცულობის მზომ კოლბაში უნდა აიწონოს თითოეული სტანდარტის 100 მგ: L-ასკორბინის მჟავა და D-იზოასკორბინის მჟავა, რომელიც 2% მჟაუნმჟავას (ფოსფორმჟავა) ხსნარით მიიყვანება ნიშანხაზამდე.

სამუშაო სტანდარტული ხსნარის მომზადება: სამუშაო ხსნარის მოსამზადებლად საჭიროა საწყისი ხსნარის განზავება 2% მჟაუნმჟავას (ფოსფორმჟავა) ხსნარით სხვადასხვა კონცენტრაციამდე. რეკომენდირებული (დასაშვები) კონცენტრაციაა 10 მგ/ლ - 120 მგ/ლ - 100 μ l, 200 μ l, 400 μ l, 800 μ l, 1200 μ l 10 მლ-მდე, რომელიც შეესაბამება 10, 20, 40, 80 და 120 მგ/ლ.

1.7.2.4 აპარატურა :

ლაბორატორიული აღჭურვილობა:

- ქრომატოგრაფიული ტუმბო;
- ინჟექტირება, 20 μ l.;
- UV- დეტექტორი

1.7.3. ნიმუშის მომზადება

ინჟექტირებამდე ღვინის ნიმუშები იფილტრება 0.2 μm ზომის მემბრანულ ფილტრში. საკვლევი ნივთიერებების 150 მგ/ლ-ზე მეტი კონცენტრაციის შემთხვევაში ნიმუში უნდა განზავდეს.

1.7.4. ანალიზის მიმდინარეობა

ქრომატოგრაფიის პირობები :

სვეტი: RS pak KC - 811 (8.0 mm ID x 300 mmL) ;

საინჟექციო მოცულობა: 5 μl ;

მობილური ფაზა: 0,1% $\text{H}_3\text{PO}_4/\text{H}_2\text{O}$;

სიჩქარე: 1.0 მლ / წთ;

UV და RI- დეტექტორი: 254 , 210 ნმ.

RS pak KC - 811 სვეტის გარეცხვა მიმდინარეობს 50 მლ 25 mM კონცენტრაციის H_2SO_4 ის ხსნარით, 50°C - ზე, სიჩქარით - 0,5მლ/წთ. აღდგენილი (გარეცხილი) სვეტის შემოწმება ხდება 3% ძმარმჟავას სტანდარტული ნიმუშით, მობილურ ფაზაში (0,1% $\text{H}_3\text{PO}_4/\text{H}_2\text{O}$) 40°C-ზე.

სვეტი: C-18 (10 mm x 250 mm) :

საინჟექციო მოცულობა: 5 μl ;

მობილური ფაზა: 25mM K_2HPO_4 ;

სიჩქარე: 1.0 მლ/ წთ;

UV და RI- დეტექტორი: 254 , 210 ნმ.

სვეტის გარეცხვის მიმდინარეობა: 50 მლ 25 mM კონცენტრაციის H_2SO_4 -ის ხსნარი 50°C - ზე, სიჩქარით - 0,5მლ/წთ.

1.8 მქროლავი მჟავების განსაზღვრა OIV-MA-AS313-02

მქროლავი მჟავები ღვინოში წარმოდგენილია ძმარმჟავას რიგის ცხიმოვანი მჟავების მცირე რაოდენობით . ისევე, როგორც ტიტრული მჟავიანობა, მქროლავი მჟავიანობაც ევროგაერთიანებაში განისაზღვრება მილიეკვივალენტობით ლიტრში ძმარმჟავაზე გადაანგარიშებით, ხოლო საფრანგეთში H_2SO_4 -ზე გადაანგარიშებით. დაუზიანებელი

ყურძნის წვენი მქროლავ მჟავებს არ შეიცავს. ღვინის წარმოების პროცესში წარმოიქმნება მეტ-ნაკლები რაოდენობით ძმარმჟავა. მისი რაოდენობა დამოკიდებულია საფუვრის კულტურასა და ვაშლ-რძე მჟავური დუდილის ჩატარების პირობებზე. ალკოჰოლური დუდილის დროს წარმოიქმნება მიახლოებით $0,1-0,2 \text{ გ.ლ}^{-1}$ რაოდენობის მქროლავი მჟავები, რომელთა რაოდენობა ორმაგდება ვაშლ-რძემჟავური დუდილის დროს. მქროლავი მჟავიანობა, განსაკუთრებით ღვინის შენახვის დროს, შეიძლება გაიზარდოს. იგი მცირედ მატულობს, თუმცა შეიძლება პათოგენური მიკროორგანიზმების (ძმარმჟავა და რძემჟავა ბაქტერიები, საფუვრები) მიერ ეთანოლისა და სხვა ნივთიერებების გარდაქმნის შედეგად საგრძნობლად გაიზარდოს. მქროლავი მჟავიანობა - ღვინის სისაღის თერმომეტრს წარმოადგენს. როდესაც იგი $0,8 \text{ გ.ლ}^{-1}$ -ს გადააჭარბებს, ღვინო დაავადებულად ითვლება. კანონით დაწესებულ ზღვრებს ზემოთ (18 მეკვ.ლ^{-1} ანუ $1,08 \text{ გ.ლ}^{-1}$ ძმარმჟავაზე გადაანგარიშებით თეთრი ღვინისათვის და 20 მეკვ.ლ^{-1} ანუ $1,20 \text{ გ.ლ}^{-1}$ წითელი ღვინისათვის) ღვინის სარეალიზაციოდ გაშვება დაუშვებელია. იგი ამმარებულად ითვლება და მისგან მხოლოდ ძმარი შეიძლება დამზადდეს. თუმცა ზოგიერთი სპეციალური ღვინის (რომლებიც შაქრებს შეიცავს) და ზოგიერთი მხარის ღვინის შემთხვევაში ეს ზღვრები შეიძლება შეიცვალოს.

საფუვრები მოიხმარენ ძმარმჟავას. ანუ შესაძლებელია დიდი რაოდენობით ძმარმჟავას შემცველი ღვინის გამოსწორება მისი ხელახალი დადუღებით ახალ დურდოსთან ერთად.

1.8.1. განმარტება : მქროლავი მჟავიანობა წარმოადგენს ძმარმჟავას რიგის ცხიმოვანი მჟავების ერთობლიობას. წარმოდგენილია თავისუფალი ან მარილების სახით. მისი ძირითადი შემადგენელია ძმარმჟავა, რომელსაც თან ახლავს მცირე რაოდენობით პროპიონისა და ბუტირის მჟავები. მქროლავ მჟავებში არ განიხილავენ ნახშირორჟანგს და თავისუფალი თუ ბმული გოგირდის დიოქსიდს.

1.8.2. მეთოდის არსი : საწყის ეტაპზე საანალიზო ღვინის ნიმუშს უნდა მოსცილდეს ნახშირორჟანგი. მქროლავი მჟავების მიღება ხდება გადადენით (გამოხდით) და შემდეგ იტიტრება $0,1 \text{ M}$ ნატრიუმის ტუტის ხსნარით. ასევე საჭიროა გოგირდის დიოქსიდთან დაკავშირებული შესწორების შეტანა. ასევე აუცილებელია სორბინის მჟავას დამატების შემთხვევაში კორექტირება.

1.9 ექსტრაქტის განსაზღვრა Method OIV-MA-AS2-03B Total dry matter

ღვინის ექსტრაქტი წარმოადგენს მისი არააქროლადი ნივთიერებების მასას, რომლებიც აქროლადი ნივთიერებების აორთქლების შემდეგ იზომება.

ექსტრაქტულ ნაერთებში შედის:

- თავისუფალი მჟავები და მათი მარილები;
- ტანინები და შემფერავი ნივთიერებები;
- პექტინები;
- შაქრები, თუ დუღილი ბოლომდე არ დასრულდა;
- მინერალური მარილები.

საშუალოდ, ერთი ლიტრი ღვინის ექსტრაქტი შეადგენს 17 - 30 გრ-მდე, მაგრამ ეს რიცხვი ძლიერ ცვალებადია:

- ყურძნის მიხედვით (დამპალი ყურძნიდან მიღებულ ღვინოში იგი უფრო მაღალია);
- ღვინის ფერის მიხედვით (წითელი ღვინის ექსტრაქტი უფრო მეტია, ვიდრე თეთრისა);
- ღვინის ასაკის მიხედვით: იგი იცვლება ფენოლური ნაერთების, ღვინის ქვის გამოლექვისა და ეთანოლისა და წყლის ნაწილობრივი აორთქლების შედეგად.

როდესაც ღვინოს ალკოჰოლი ან წყალი ემატება, იზრდება მისი მოცულობა, ხოლო ექსტრაქტი მცირდება. ექსტრაქტისა და ალკოჰოლის ფარდობის მიხედვით ზოგიერთ შემთხვევაში შეიძლება ფალსიფიკაციის (გაზავება, დასპირტვა, შაქრის მიმატება) დადგენა.

ღვინის ექსტრაქტულობასთან დაკავშირებული ტერმინებია: საერთო ექსტრაქტი, დაყვანილი და ნარჩენი ექსტრაქტი.

1.9.1 განმარტება :

საერთო ექსტრაქტი (გ/ლ) მოიცავს ყველა ნივთიერებას, რომლებიც არ არის აქროლადი. გაზომვისათვის საჭიროა ღვინის აორთქლება განსაზღვრულ

ფიზიკურ პირობებში, ისე, რომ ექსტრაქტულმა ნივთიერებებმა არ განიცადონ ცვლილებები ანალიზის მიმდინარეობისას.

დაყვანილი ექსტრაქტი (აღდგენილი (რედუცირებული) ექსტრაქტი) (გ/ლ) - წარმოადგენს ღვინის საერთო ექსტრაქტს გამოკლებული შაქრების, კალიუმის სულფატის, მანიტოლის (თუ ღვინო მას შეიცავს) და ღვინოში დამატებული სხვა ქიმიური ნაერთების მასა;

ნარჩენი ექსტრაქტი (გ/ლ) : სხვაობა დაყვანილი ექსტრაქტისა და ტიტრული მჟავების რაოდენობებს შორის.

1.9.2. მეთოდის არსი : საერთო ექსტრაქტი გამოითვლება ტკბილისა და ღვინის (ღვინი - სპირტის გარეშე) სიმკვრივის (კუთრი წონის) მიხედვით. საერთო ექსტრაქტი გამოისახება, როგორც საქაროზის რაოდენობა 1 ლ წყალში.

1.9.3. ანალიზის მიმდინარეობა : ტკბილისა და ღვინის კუთრი წონის განსაზღვრა (ღვინის შემთხვევაში ხდება „ღვინო - სპირტის გარეშე“), გულისხმობს ექსტრაქტის წყალხსნარის კუთრი წონის განსაზღვრას შემდეგი ფორმულის მიხედვით:

$$dr = dv - da + 1.000,$$

სადაც:

- dv - ღვინის კუთრი წონა $20^{\circ}C$ (შესწორებული მქროლავი მჟავების მიხედვით),
- da - ღვინის დისტილატის, სპირტ - წყალხსნარის კუთრი წონა $20^{\circ}C$ -ზე, რომელიც გამოითვლება შემდეგი ფორმულის მიხედვით:

$$dr = 1.00180 \cdot (rv - ra) + 1.000, \text{ სადაც : } rv - \text{ღვინის კუთრი წონა } 20^{\circ}C$$

(შესწორებული მქროლავი მჟავების მიხედვით), ra - სპირტ - წყალხსნარის კუთრი წონა $20^{\circ}C$ -ზე, რომელიც გამოითვლება შემდეგი ცხრილის #1 მიხედვით.

გამოთვლა - დაყვანილი ექსტრაქტის (გ/ლ) გამოითვლება „ღვინო - სპირტის გარეშე“ ხსნარის კუთრი წონის მიხედვით, ცხრილი 2.

შედეგების გამოსახვა - საერთო ექსტრაქტი გამოისახება გ/ლ, მეათედი სიზუსტით.

დაყვანილი ექსტრაქტის მასური კონცენტრაციის გ/ლ გამოთვლისას გათვალისწინებულ უნდა იქნეს რედუცირებული შაქრებისა (გლუკოზა და ფრუქტოზა) და საქაროზას კონცენტრაციაც, კერძოდ:

- დაყვანილი ექსტრაქტი ტოლია საერთო ექსტრაქტს გამოკლებული რედუცირებული შაქრები (გლუკოზა, ფრუქტოზა) და საქაროზა.

შენიშვნა: თუ მეთოდი ითვალისწინებს შაქრების ინვერსიას, გამოიყენა შემდეგი ფორმულა:

- დაყვანილი ექსტრაქტი = საერთო ექსტრაქტი - რედუცირებული შაქრები (გლუკოზა + ფრუქტოზა) - [(შაქრები ინვერსიამდე - შაქრები ინვერსიის შემდეგ)*0.95].

ინვერსია ეს არის პროცესი, რომელიც იწვევს საქაროზას დაშლას გლუკოზად და ფრუქტოზად შემჟავებულ არეში.

ცხრილი 2

საერთო ექსტრაქტის განსაზღვრისათვის (გ/ლ)

სიმკვრივე, მძიმედან 2 ციფრით	მძიმედან მე-3 ციფრი									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	ექსტრაქტი გ/ლ									
1.00	0	2.6	5.1	7.7	10.3	12.9	15.4	18.0	20.6	23.2
1.01	25.8	28.4	31.0	33.6	36.2	38.8	41.3	43.9	46.5	49.1
1.02	51.7	54.3	56.9	59.5	62.1	64.7	67.3	69.9	72.5	75.1
1.03	77.7	80.3	82.9	85.5	88.1	90.7	93.3	95.9	98.5	101.1
1.04	103.7	106.3	109.0	111.6	114.2	116.8	119.4	122.0	124.6	127.2
1.05	129.8	132.4	135.0	137.6	140.3	142.9	145.5	148.1	150.7	153.3
1.06	155.9	158.6	161.2	163.8	166.4	169.0	171.6	174.3	176.9	179.5
1.07	182.1	184.8	187.4	190.0	192.6	195.2	197.8	200.5	203.1	205.8
1.08	208.4	211.0	213.6	216.2	218.9	221.5	224.1	226.8	229.4	232.0
1.09	234.7	237.3	239.9	242.5	245.2	247.8	250.4	253.1	255.7	258.4
1.10	261.0	263.6	266.3	268.9	271.5	274.2	276.8	279.5	282.1	284.8
1.11	287.4	290.0	292.7	295.3	298.0	300.6	303.3	305.9	308.6	311.2
1.12	313.9	316.5	319.2	321.8	324.5	327.1	329.8	332.4	335.1	337.8

1.13	340.4	343.0	345.7	348.3	351.0	353.7	356.3	359.0	361.6	364.3
1.14	366.9	369.6	372.3	375.0	377.6	380.3	382.9	385.6	388.3	390.9
1.15	393.6	396.2	398.9	401.6	404.3	406.9	409.6	412.3	415.0	417.6
1.16	420.3	423.0	425.7	428.3	431.0	433.7	436.4	439.0	441.7	444.4
1.17	447.1	449.8	452.4	455.2	457.8	460.5	463.2	465.9	468.6	471.3
1.18	473.9	476.6	479.3	482.0	484.7	487.4	490.1	492.8	495.5	498.2
1.19	500.9	503.5	506.2	508.9	511.6	514.3	517.0	519.7	522.4	525.1
1.20	527.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-

მძიმედან მე-4 ციფრი	ექსტრაქტი გ/ლ	მძიმედან მე-4 ციფრი	ექსტრაქტი გ/ლ	მძიმედან მე-4 ციფრი	ექსტრაქტი გ/ლ
1	0.3	4	1.0	7	1.8
2	0.5	5	1.3	8	2.1
3	0.8	6	1.6	9	2.3

1.10 სულფიტაცია - გოგირდის დიოქსიდის განსაზღვრა

Method OIV-MA-AS323-04A

სულფიტაცია ეწოდება ყურძნის ტკბილში თუ ღვინოში გარკვეული რაოდენობით გოგირდის დიოქსიდის (SO₂) შეტანას. სულფიტაციის მიზანია - დაღვინების პროცესის კარგად წარმართვა და ღვინის სწორად შენახვა. სულფიტაცია ხორციელდება როგორც დაღვინებისას, ისე ღვინის შენახვისას.

SO₂ - ანტისეპტიკია, რომელიც მოქმედებს მიკროორგანიზმების სხვადასხვა ფუნქციაზე (გამრავლება, სუნთქვა, დუღილი). საკმარისად საჭირო მაღალი დოზით იგი მათ ანადგურებს. სხვადასხვა მიკროორგანიზმი სხვადასხვაგვარად რეაგირებს SO₂-ზე. თუ მის დოზას თანდათან გავზრდით, პირველ რიგში ყველაზე მგრძობიარე ბაქტერიები დაიხოცება, შემდეგ *loeckera apiculata*, ბოლოს კი *Saccharomyces cerevisiae*, რომელიც SO₂-ს ყველაზე კარგი ამტანია.

პრაქტიკულად, მსუბუქი სულფიტაციის დროს ხდება მხოლოდ მგრძობიარე მიკროორგანიზმების მოცილება. ალკოჰოლური დუღილის დასაწყისში შესაძლებელია

რძემჟავა ბაქტერიების ნაწილობრივი ან სრული მოცილება (იმის და მიხედვით, დაგეგმილია თუ არა ვაშლ-რძემჟავური დუღილი). ასევე სცილდება ტკბილს ველური საფუვრებიც და *Saccharomyces cerevisiae* ალკოჰოლურ დუღილს წარმართავს.

მაღალი დოზით სულფიტაცია მთლიანად სპობს მიკროორგანიზმებს. სწორედ ამიტომ, ტკბილ ღვინოებში, დუღილის შესაჩერებლად იყენებენ SO_2 -ს. ზოგიერთი ტიპის თეთრ ღვინოში SO_2 -ს იყენებენ ალკოჰოლური დუღილის და სხვა ღვინოების შემთხვევაში ვაშლ-რძემჟავური დუღილის დამთავრებისას.

1.10.1. დაწმენდა

SO_2 -ის დამატება ხელს უწყობს ტკბილის დაწმენდას, აჩერებს ალკოჰოლურ დუღილს, და ლექი ასწრებს გამოლექვას. ეს მეთოდი გამოიყენება ტკბილის დაწდომისას თეთრი ღვინის წარმოებაში.

1.10.2. დაცვა დაჟანგვისაგან

გოგირდის დიოქსიდი ხასიათდება ანტიოქსიდაზური და ანტიოქსიდანტური თვისებებით. ანტიოქსიდაზური თვისებები განაპირობებს ტკბილის დაცვას ოქსიდაზური ენზიმებისაგან (ტიროზინაზა - საღი ყურძნის და ლაკაზა - დამჟალი ყურძნის შემთხვევაში). ტკბილის დაჟანგვა უარყოფითად მოქმედებს მომავალი ღვინის ხარისხზე. ამიტომ, ყურძნის კრეფიდან ალკოჰოლური დუღილის დაწყებამდე, ყურძენს ან ტკბილს აუცილებლად უნდა დაემატოს SO_2 და ამგვარად შეჩერდეს ოქსიდაზების მოქმედება.

ანტიოქსიდანტური თვისებები ძირითადად ალკოჰოლური დუღილის შემდეგაა მნიშვნელოვანი, რადგან ის ღვინოს ქიმიური ჟანგვისაგან იცავს. ქიმიური რეაქცია ენზიმურზე გაცილებით ნელია და დაღვინებამდე იგი პრაქტიკულად ნულის ტოლია.

1.10.3. გამხსნელი თვისება

მაღალი დოზით თავისუფალი SO_2 ყურძნის მარცვლის კანის შემადგენელი ნივთიერებების კარგი გამხსნელია. ეს თვისება მნიშვნელოვანია წითელი ღვინის დაყენებისას ფენოლური ნაერთების გამოსაწვლილად. თუმცა პრაქტიკაში თავისუფალი

SO₂ მხოლოდ დუღილის დასაწყისში არსებობს. ანუ ღვინის ტრადიციულად დაყენებისას გოგირდის დიოქსიდი, როგორც გამხსნელი, არ

მოქმედებს. ეს თვისება გამოყენებულია სულფიტური მაცერაციის მეთოდში, სადაც გოგირდის დიოქსიდი მაღალი დოზით (200-300 მგ/ლ) დურდოს ემატება.

რაც შეეხება თეთრ ყურძენს, SO₂-ის გამხსნელი თვისება უარყოფითად მოქმედებს ღვინის ხარისხზე. ამიტომ უმრავლეს შემთხვევაში გოგირდის დიოქსიდის დამატება მხოლოდ გამოწნების შემდეგ ხდება.

1.10.4. გოგირდის დიოქსიდის სხვადასხვა ფორმა

გოგირდის დიოქსიდი თავისუფალი და ბმული გოგირდის დიოქსიდების ჯამია. თავისუფალი გოგირდის დიოქსიდი უერთდება სხვადასხვა, მათ შორის ყურძნიდან გადმოსულ, განსაკუთრებით დამპალ ყურძენში, არსებულ ნივთიერებებს. ბმული გოგირდის დიოქსიდი - ნაკლებ აქტიურია. ყურძნისა და ტკბილის გადაწყვეტილება სულფიტაციის საჭიროებაზე მიიღება pH-ის, სიმწიფისა და დაზიანების ხარისხის გათვალისწინებით.

1.10.5. სულფიტაციის მეთოდები

გოგირდის დიოქსიდის საჭირო დოზის განსაზღვრა

SO₂-ის დოზის დადგენა საკმაოდ რთული პროცესია. მნიშვნელოვანია მისი მინიმალური ოდენობით გამოყენება, რადგან :

- მაღალი დოზით SO₂ ტოქსიკურია;
- ევროკავშირის ღვინის შესახებ რეგულაციების (European Union wine regulations) მიხედვით SO₂-ის საერთო რაოდენობის მაქსიმალური შემცველობა რეგლამენტირებულია;
- დაზიანებულ ყურძენში ბმული SO₂-ის რაოდენობა შეიძლება საგრძნობლად გაიზარდოს.

არსებობს შემთხვევები, როდესაც მაქსიმალურად დაშვებული შემცველობის გადამეტების საფრთხით ტკბილს საერთოდ არ უტარებენ სულფიტაციას.

დასამატებელი SO₂-ის რაოდენობის დასადგენად გათვალისწინებული უნდა იყოს ყურძნის თუ ტკბილის თვისებები.

სულფიტაცია საჭიროა, როდესაც:

- ტემპერატურა მაღალია და მიკროორგანიზმები უფრო ადვილად ვითარდება, ხოლო SO₂ მეტად იბოჭება;
- ყურძნის მჟავიანობა დაბალია და მაღალია pH;
- მაღალია შაქრიანობა;
- მაღალია ყურძნის დაზიანების ხარისხი.

იგი დამოკიდებულია ღვინის დაყენების მეთოდზეც. თეთრ ღვინოებში გამოიყენება უფრო მაღალი დოზა, ვიდრე წითლებში, და შედარებით ნაკლები, როდესაც დაგეგმილია ვაშლ-რძემჟავური დუღილის ჩატარება.

პრაქტიკაში SO₂ უმთავრესად შემდეგი დოზებით გამოიყენება:

წითლი ღვინის დაყენება	თეთრი ღვინის დაყენება
დაუზიანებელი ყურძენი : 30-60 მგ.ლ ⁻¹	დაუზიანებელი ყურძენი : 30-70 მგ.ლ ⁻¹
პრეფერმენტული მაცერაცია : > 60 მგ.ლ ⁻¹	დაზიანებული ყურძენი : > 70 მგ.ლ ⁻¹
დაზიანებული ყურძენი : > 60 მგ.ლ ⁻¹	

გამოსახდელად განკუთვნილ ღვინოებში (კონიაკი) სულფიტაცია საერთოდ არ ტარდება. SO₂ აქროლადი ნივთიერებაა და იგი ალკოჰოლთან ერთად ხვდება ნახადში.

1.10.6 Method OIV-MA-AS323-04A

1.10.6.1 განმარტება

თავისუფალი გოგირდის დიოქსიდი განისაზღვრება, როგორც გოგირდის დიოქსიდი, რომელიც ყურძნის ტკბილსა და ღვინოში გვხვდება H₂SO₃, HSO₃⁻ ფორმით, ამ ფორმების თანაფარდობა დამოკიდებულია pH-სა და ტემპერატურაზე.

საერთო გოგირდი განისაზღვრება, როგორც ჯამი სხვადასხვა ფორმის გოგირდის დიოქსიდის, რომელიც ღვინოში გვხვდება თავისუფალი თუ შებოჭილი სახით.

1.10.6.2. თავისუფალი და საერთო გოგირდის დიოქსიდი

მეთოდის არსი : SO₂-ის განსაზღვრის მიზნით, მას ჟანგავენ იოდის ხსნარით, სახამებლის ინდიკატორის თანაობისას ლურჯ შეფერილობამდე. იოდის ერთი მილიექვივალენტი ჟანგავს SO₂-ს ერთ მილიექვივალენტ ანუ 32 მგ-ს. ტიტრაციას არ წყვეტენ მანამ, სანამ იოდის მიერ სახამებლის 10-15 წმ-ს არ გაგრძელდება. თავისუფალ SO₂-ს საზღვრავენ ნიმუშის მჟავიანობის გაზრდის შემდეგ.

საერთო SO₂-ი განისაზღვრება ისევე, როგორც თავისუფალი, მხოლოდ საჭიროა ბმული SO₂-ის წინასწარი ჰიდროლიზის ჩატარება ტუტე გარემოში.

სახამებლის შეფერვა წითელ ღვინოში ძნელი შესამჩნევია, ამიტომ ამ შემთხვევაში ან ნიმუში უნდა განზავდეს ან დამზადდეს საკონტროლო შეფერილი ხსნარი

თავისუფალი გოგირდის დიოქსიდი ისაზღვრება იოდომეტრული გატიტვრით, ხოლო შებოჭილი გოგირდის დიოქსიდი იგივე მეთოდით მხოლოდ ტუტით ჰიდროლიზის შემდეგ. თავისუფალი და შებოჭილი გოგირდის დიოქსიდის მნიშვნელობების შეჯამებით მიიღება საერთო გოგირდის რაოდენობა.

რეაქტივები :

- ეთილენდიაამინოტეტრამმარმჟავა ნატრიუმის მარილი (EDTA);
- ნატრიუმის ჰიდროქსიდი - 4M (160 გ/ლ);
- გოგირდმჟავა - 10 %-ანი ხსნარი;
- სახამებლის ხსნარი - 5 გ/ლ: 5 გ სახამებელს ემატება დაახლოებით 500 მლ წყალი, რომელიც მიჰყავთ ადუღებულად (ხშირი მორევით) და შემდეგ ადუღებენ 10 წუთის განმავლობაში. დუღილის დასრულების შემდეგ უმატებენ 200 გ ნატრიუმის ქლორიდს და აცივებენ. ხსნარის მოცულობა მიჰყავთ 1 ლიტრამდე.
- იოდის ხსნარი - 0,025 M

თავისუფალი გოგირდის დიოქსიდის განსაზღვრა

500 მლ მოცულობის ჭიქაში:

- 50 მლ ღვინო;
- 5 მლ სახამებლის ხსნარი;
- 30 მგ EDTA;
- 3 მლ H₂SO₄;

და უმაღლვე ტიტრავენ 0,025 M იოდის ხსნარით, მანამ სანამ არ მიიღება ლურჯი შეფერილობა, რომელიც არ გაქრება - 10 – 15 წმ განმავლობაში.

n - გატიტრავზე დახარჯული იოდის ხსნარის მოცულობა(მლ).

საერთო გოგირდის დიოქსიდის განსაზღვრა

გატიტრის დასრულების შემდეგ კოლბას ემატება 8 მლ 4M NaOH, ხსნარის შემცველობას აურევენ და აყოვნებენ 5 წუთით. შემდეგ, კოლბის შემცველობის ენერგიული შენჯღრევის პირობებში ემატება 10 მლ გოგირდმჟავა და უმაღ ტიტრავენ 0,025 M იოდის ხსნარით ლურჯი შეფერილობის მიღებამდე.

n' - გატიტრავზე დახარჯული იოდის ხსნარის მოცულობა, მლ.

მორიგი გატიტრის დასრულების შემდეგ უმატებენ 20 მლ ნატრიუმის ჰიდროქსიდს, მოცულობას აურევენ ერთი შენჯღრევით და და აყოვნებენ 5 წუთით. შემდეგ ემატება 200 მლ ცივი ყინულოვანი წყალი. შემდეგ კოლბის შემცველობის ენერგიული შენჯღრევის პირობებში უმატებენ 30 მლ გოგირდმჟავას და უმაღ ტიტრავენ 0,025 M იოდის ხსნარით, ლურჯი შეფერილობის მიღებამდე.

n'' - გატიტრავზე დახარჯული იოდის ხსნარის მოცულობა, მლ.

შედეგების გამოსახვა

გამოთვლა : თავისუფალი გოგირდის დიოქსიდი მგ/ლ. გამოითვლება : $32 \cdot n$

ჯამური გოგირდის დიოქსიდი მგ/ლ, გამოითვლება - $32 \cdot (n + n' + n'')$

შენიშვნა:

გოგირდის დიოქსიდის დაბალი შემცველობის მქონე წითელი ღვინისათვის საჭიროა 0,025 M იოდის ხსნარის განზავება (0,01 M-დე). ამ შემთხვევაში გამოსათვლელ ფორმულაში კოეფიციენტი 32 უნდა ჩანაცვლდეს 12,8-ით.

1.11 ნეიტრალური ალკოჰოლის აბსორბციის (შთანთქმის) ტესტი ულტრაიისფერ არეში OIV-MA-BS-21

მეთოდის გამოყენების სფერო : ეს მეთოდი შეიძლება გამოყენებულ იქნას, როგორც ტესტ მეთოდი სხვადასხვა ალკოჰოლურ სასმელების შემადგენლობაში არსებული ნეიტრალური სპირტების ოპტიკური გამტარებლობის დასადგენად.

მეთოდის არსი : საანალიზო ნიმუშის ოპტიკური გამტარებლობა ისაზღვრება სინათლის სხივის სიგრძის 220 ნმ - 270 ნმ-ის ფარგლებში, მაღალი ოპტიკური გამტარებლობის მქონე ნივთიერების მიმართ.

აპარატურა :

- სპექტროფოტომეტრი - ულტრაიისფერი და ხილული დიაპაზონით;
- კვარცის კიუვეტა - 10 მმ სისქის;

რეაქტივები : ჰექსანი სპექტროფოტომეტრისთვის.

ანალიზის მიმდინარეობა - კიუვეტაში ათავსებენ საანალიზო დისტილატს და აბსორბციას საზღვრავენ ჰექსანის მიმართ.

შედეგების გამოსახვა:

აბსორბცია ისაზღვრება 270, 240, 230 და 220 ნმ-ზე, მიღებული შედეგები არ უნდა აღემატებოდეს 0,02, 0,08, 0,18 და 0,3-ს ტალღის სიგრძის შესაბამისად.

1.12 ფენოლოური ნაერთების განსაზღვრა. Folin-Ciocalteu Index Method OIV- MA-AS2-10

ყურძნისა და ღვინის ფენოლოურ ნაერთებს მიეკუთვნება ფენოლოურ ნაერთთა დიდი ჯგუფი - ბუნებრივი ფენოლები და პოლიფენოლები. ღვინოში ისინი წარმოდგენილი არიან ასობით ნაერთის სახით, რომლებიც გავლენას ახდენენ ღვინის გემოს, ფერისა და სხეულის ჩამოყალიბებაზე. ამ ნაერთებს მიეკუთვნება ფენოლმჟავები, სტილბენები,

ფლავონოლები, დიჰიდროფლავონოლები, ანტოციანები, ფლავანოლების მონო (კატექინები) და პოლიმერები (პროანტოციანიდინები).

ღვინოში არსებული ყველა ფენოლური ნაერთი იჟანგება ფოლინ-სიოქალთეუს რეაქტივით. ეს რეაქტივი წარმოადგენს ფოსფოვოლფრამის მჟავასა და ფოსფომოლიბდენის მჟავას ნარევს, რომელიც ფენოლების დაჟანგვის შემდეგ აღდგება ვოლფრამატისა - W_8O_{23} და მოლიბდატის - Mo_8O_{23} ლურჯი ფერის ოქსიდებამდე. მიღებული ლურჯი შეფერილობა შთანთქმის მაქსიმუმს იძლევა 750 ნმ-ის ფარგლებში და პირდაპირპროპორციულია ფენოლების საერთო რაოდენობის.

ხელსაწყოები :

- სპექტროფოტომეტრი - ულტრაიისფერი და ხილული დიაპაზონით(750 ნმ);

რეაქტივები:

- *ფოლინ- სიოქალთეუს რეაქტივი:* რეაქტივი არსებობს მზა სახით ან შეიძლება მისი მომზადება შემდეგი თანმიმდევრობით: ნატრიუმის ვოლფრამატის ($Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$) 100გ და ნატრიუმის მოლიბდატის ($Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$) 25 გ, 700 მლ. გამოხდილი წყალი, 50 მლ 85% ფოსფორმჟავა ($\rho=1,71$ გ/მლ) და 100 მლ კონცენტრირებული მარილმჟავას ($\rho=1,19$ გ/ლ). ნარევი მიჰყავთ ადულებამდე და უკუმაცივრით ადულებენ 10 საათის განმავლობაში. შემდეგ ემატება 150 გ ლითიუმის სულფატი ($Li_2SO_4 \cdot H_2O$), და რამდენიმე წვეთი ბრომი და ნარევს ადულებენ 15 წუთის განმავლობაში. გაცივების შემდეგ მოცულობა გამოხდილი წყლით მიჰყავთ 1 ლიტრამდე.
- უწყლო ნატრიუმის კარბონატის (Na_2CO_3) 20 % ხსნარი;

ანალიზის მიმდინარეობა:

წითელი ღვინის შემთხვევაში : 100 მლ მოცულობის მზომ კოლბაში იღებენ საანალიზო ღვინის 1 მლ-ს, წინასწარ განზავებულს 1/5-თან თანაფარდობით, 50 მლ გამოხდილ წყალს, 5 მლ ფოლინ-სიოქალთეუს რეაქტივს, 20 მლ ნატრიუმის კარბონატის ხსნარს და მოცულობა გამოხდილი წყლით მიჰყავთ ნიშან ხაზამდე, კარგად აურევენ და რეაქციის სტაბილიზაციისათვის აყოვნებენ 30 წუთით.

განსაზღვრას აწარმოებენ 750 ნმ.-ზე 1სმ. სისქის კიუვეტით. კონტროლად აღებულია გამოხდილი წყალი.

თუ აბსორბცია არ არის 0,3 მნიშვნელობის ფარგლებში, საანალიზი ნიმუში საჭიროებს შესაბამის განზავებას.

თეთრი ღვინის შემთხვევაში : იმეორებენ იგივე პროცედურას განზავების გარეშე (1 მლ).

შედეგების გამოსახვა:

- გამოთვლა - შედეგები გამოსახება ინდექსის სახით - წითელი ღვინის (1/5 განზავებული) შთანთქმის მნიშვნელობის 100-ზე გამრავლებით, თეთრი ღვინის შემთხვევაში 20 -ზე გამრავლებით.

სიზუსტე: ორი განსაზღვრის შედეგს შორის სხვაობა არ უნდა იყოს 1-ზე მეტი (ორივე განსაზღვრა უნდა განხორციელდეს ერთდროულად ან ერთი-მეორეს თანმიმდევრობით).

1.13. ცხრა ძირითადი ანტოციანის განსაზღვრა წითელ და ვარდისფერ ღვინოში მაღალი წნევის სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდით Method OIV-MA-AS315-11

გამოყენების სფერო : ანტოციანების განსაზღვრის ეს მეთოდი გამოიყენება წითელი და ვარდისფერი ღვინის ანტოციანების განსაზღვრისათვის. დაყოფა ხორციელდება მაღალი წნევის სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდით შექცევად ფაზიანი სვეტის გამოყენებით UV-VIS არეში.

პრინციპი : ხუთი ძირითადი არა აცილირებული ანტოციანებისა (იხ. სურათი 1, პიკი 1-5) და ოთხი ძირითადი აცილირებული ანტოციანების (იხ. სურათი 1, პიკი 6-9) გამოყოფა. წითელი და ვარდისფერი ღვინის ანალიზი მიმდინარეობს მაღალი წნევის სითხურ ქრომატოგრაფზე, შექცევად ფაზიანი სვეტის გამოყენებით. ელუირება ხორციელდება 518 ნმ.-ზე დეტექტირებით, გრადიენტულ რეჟიმში წყალი / ჭიანჭველმჟავა / აცეტონიტრილი.

რეაქტივები და მასალები:

- ჭიანჭველ მჟავა (98%);
- წყალი - ქრომატოგრაფიული ხარისხის;
- აცეტონიტრილი - ქრომატოგრაფიული ხარისხის;
- გამხსნელები ქრომატოგრაფირებისათვის:
 - გამხსნელი A: წყალი / ჭიანჭველმჟავა / აცეტონიტრილი 87:10:3 (v / v / v)
 - გამხსნელი B: წყალი / ჭიანჭველმჟავა / აცეტონიტრილი 40:10:50 (v / v / v);
- მემბრანული ფილტრი ქრომატოგრაფიული გამხსნელის დეაერაციისა და ნიმუშის საანალიზოდ მომზადებისთვის (გაფილტვრა).

პიკის იდენტიფიკაციისთვის საჭირო სტანდარტები (ავთენტური ნაერთები):

- ციანიდინ - 3 -გლუკოზიდი; M = 484.84 გ/მოლი;
- პეონიდინ - 3 -გლუკოზიდი; M = 498.84 გ/მოლი;
- მალვიდინ - 3 -გლუკოზიდი; M = 528.84 გ/მოლი;
- მალვიდინ - 3,5 - დიგლუკოზიდი; M = 691.04 გ/მოლი

ხელსაწყოები:

HPLC სისტემა შემდეგი მოწყობილობით:

- ბინარული გრადიენტული ტუმბო, ინჟექტირების სისტემით 10-დან 200 μ ლ-მდე მოცულობის ნიმუშის ინჟექტირებისათვის;
- დეტექტორი - ულტრაისფერი და ხილული არით, კომპიუტერი პროგრამული უზრუნველყოფით;
- ტექნიკური ღუმელი სვეტის გაცხელებისათვის 40 ° C- ზე;
- დეაერაციის სისტემა ქრომატოგრაფიული გამხსნელისათვის;
- საანალიზო სვეტი-შებრუნებულ-ფაზიანი C-18

ნიმუშების მომზადება

გამჭირვალე ღვინის შემთხვევაში საანალიზო ნიმუში არ საჭიროებს წინასწარ დამუშავებას, ის იფილტრება 0.45 μ m მემბრანულ ფილტრში და მზად არის ქრომატოგრაფიული ანალიზისათვის (ფილტრატის პირველი წვეთები უნდა გადაიღვაროს).

შთანთქმის ხაზოვანი დიაპაზონი დამოკიდებულია ანტოციანების კონცენტრაციაზე. შესაძლებელია საანალიზო ხსნარის მოცულობის შერჩევა (10 - 200 μ ლ), რაც დამოკიდებულია ღვინის ფერის ინტენსივობაზე.

ანალიზის მიმდინარეობა

ქრომატოგრაფიული ანალიზის პირობები:

- საანალიზო ხსნარის მოცულობა: 50 μ ლ- დან (წითელი ღვინო) 200 μ ლ-მდე (ვარდისფერი ღვინო).
- მიწოდების სიჩქარე: 0.8 მლ/წთ;
- ტემპერატურა: 40°C;
- ხანგრძლივობა: 45 წუთი;
- გამოსვლის დრო: 5 წუთი;
- დეტექტირება: 518 ნმ

<i>ელუირება გრადიენტში:</i>		
<i>დრო, წთ</i>	<i>გამხსნელი A, %(v/v)</i>	<i>გამხსნელი B, (v/v)</i>
0	94	6
15	70	30
30	50	50
35	40	60
41	94	6

ანტოციანების დაყოფის თანმიმდევრობა მოცემულია ცხრილში 3, ანტოციანების დაყოფა ხდება შემდეგი თანმიმდევრობით:

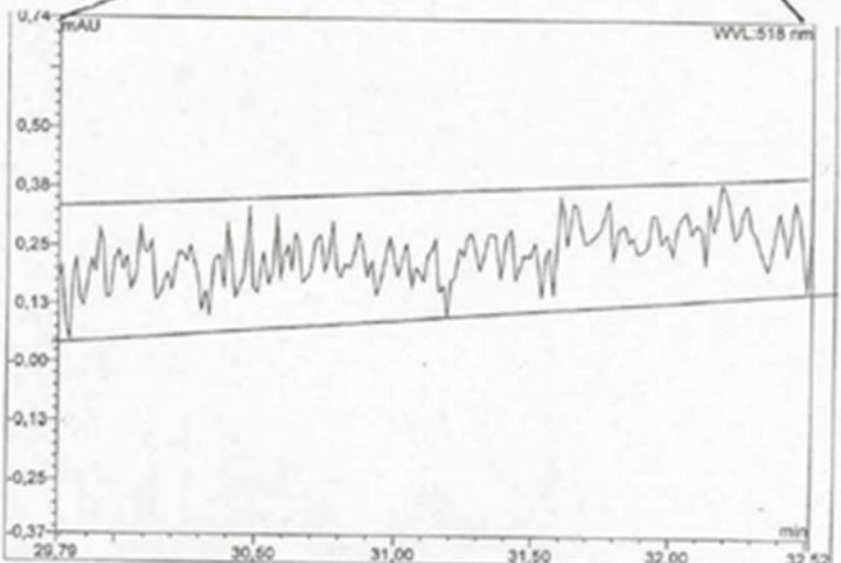
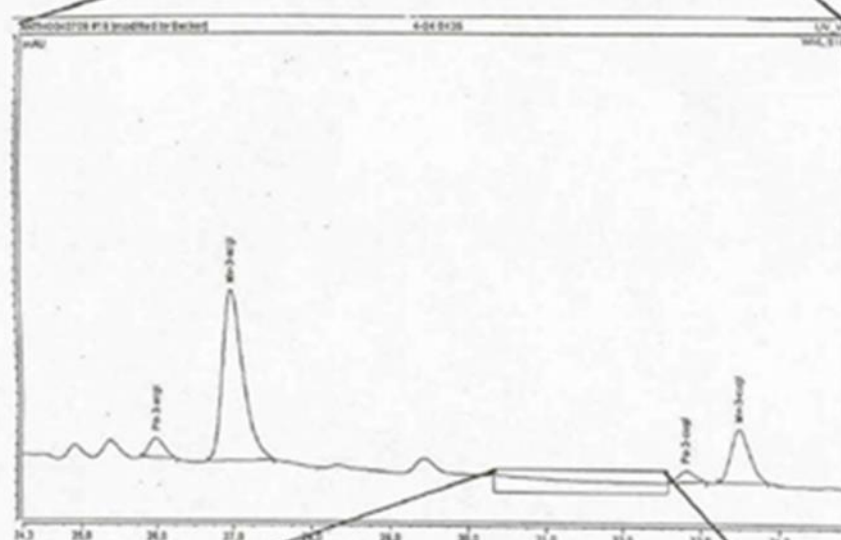
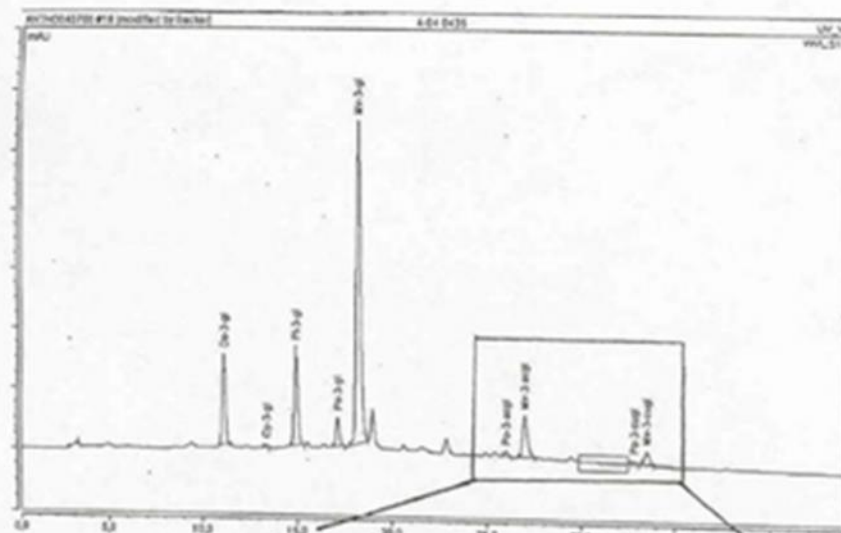
ანტოციანების დაყოფის თანმიმდევრობა

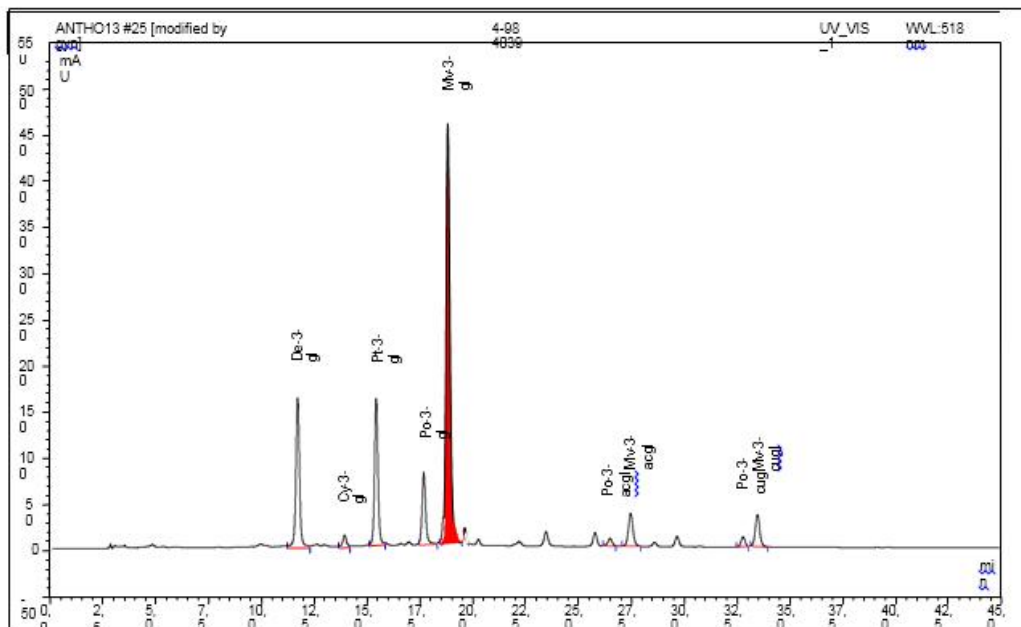
ცხრილში 3

ანტოციანების ჯგუფი	ანტოციანების დასახელება	პიკის - №
არა აცილირებული ანტოციანიდინ-3-გლუკოზიდები	დელფინიდინ -3-გლუკოზიდი	1
	ციანიდინ-3-გლუკოზიდი	2
	პეტუნიდინ -3-გლუკოზიდი	3
	პეონიდინ -3-გლუკოზიდი	4
	მალვიდინ-3-გლუკოზიდი	5
	პეონიდინ-3- -3-აცეტილგლუკოზიდი	6

აცეტირილირებული ანტოციანიდინ-3- გლუკოზიდები	მალვიდინ-3- -3-აცეტილგლუკოზიდი	7
კუმარილირებული ანტოციანიდინ-3- გლუკოზიდები	პეონიდოლი -3--კუმაროპილ გლუკოზიდი	8
	მალვიდინ-3-კუმაროპილ გლუკოზიდი	9

ანტოციანების რაოდენობა გამოთვლილია ღვინის ცხრა ძირითადი ანტოციანის მიხედვით.





სურათი 1. წითელი ღვინის 9 ანტოციანის დაყოფა

1.14. მალვიდინ დიგლუკოზიდის განსაზღვრა

Method OIV-MA-AS315- 03

პრინციპი

მალვიდინ-დიგლუკოზიდი აზოტმჟავას არეში იჟანგება და გარდაიქმნება ულტრაიისფერ არეში ამიაკის თანაობისას კაშკაშა მწვანე ფლუორესცენციის მქონე ნივთიერებად.

წარმოქმნილი ნაერთის ფლუორესცენციის ინტენსივობა იზომება სტანდარტული ხსნარის - ქინონის სულფატის ფლუორესცენციასთან მიმართებაში, რომლის ფლუორესცენციაც დაკალიბრებულია ეტალონთან - მალვიდინ დიგლუკოზიდთან მიმართებაში.

თავისუფალი გოგირდის დიოქსიდი, რომელიც ასუსტებს ფლუორესცენციას, წინასწარ უნდა იყოს შეკავშირებული აცეტალდეჰიდთან.

1.14.1 თვისობრივი განსაზღვრა

ხელსაწყო :

- ულტრაიისფერი ნათურა, რომელიც იძლევა გაზომვის საშუალებას 365 ნმ-ზე.

რეაქტივები და მასალა:

- აცეტალდეჰიდის ხსნარი
- კრისტალური პარალდეჰიდი - 10 გ;
- ეთანოლი 96% - 100 მლ;
- მარილმჟავა - 1.0 M
- ნატრიუმის ნიტრატის ხსნარი 10გ /ლ;
- 5% ამონიუმის სპირტიანი ხსნარი (ეთანოლი, 96 % (v/v), ($p^{20} = 0.92$ გ / მლ).);
- საკონტროლო ღვინის ნიმუში, რომელიც შეიცავს 15 მგ მალვიდინ დიგლუკოზიდს ლიტრზე;
- ღვინო, რომელიც არ შეიცავს მალვიდინ დიგლუკოზიდს.

ანალიზის მიმდინარეობა :

სინჯარაში ვიღებთ - 10 მლ ღვინოს და 1.5 მლ აცეტალდეჰიდის ხსნარს; ვაყოვნებთ 20 წუთს; შემდეგ ვიღებთ ნარევის 1 მლ-ს და გადაგვაქვს 20 მლ-იან ცენტრიფუგის სინჯარაში. ვამატებთ 1 წვეთ მარილმჟავას და 1 მლ ნატრიუმის ნიტრატს, ნარევს კარგად ავურევთ და ვაყოვნებთ 2 წთ (მაქსიმუმ 5 წუთი), შემდეგ ვამატებთ 10 მლ 5 % ამონიუმის ეთანოლიან ხსნარს.

ანალოგიურად უნდა დამუშავდეს საკონტროლო ღვინის ნიმუში, რომელიც შეიცავს 15 მგ მალვიდინ დიგლუკოზიდს ლიტრზე;

საანალიზო ნიმუშებს აურევთ, ვაყოვნებთ 10 წუთი და ვაცენტრიფუგირებთ. ცენტრიფუგირების შემდეგ ისაზღვრება გამჭირვალე სითხის ფლუორესცენცია.

დააკვირდით მწვანე ფლუორესცენციულ განსხვავებას საკვლევი და საკონტროლო ღვინის ნიმუშებს შორის ულტრაიისფერ არეში 365 ნმ-ზე.

ვარდისფერი ღვინოებისთვის შესაძლებელია მგრძნობელობის გაზრდა, შემდეგი რეაქტივების გამოყენებით:

- აცეტალდეჰიდი,

- 0.2 მლ მარილმჟავას 1 M ხსნარი,
- 1 მლ ნატრიუმის ნიტრატის ხსნარი-10 გ/ლ,
- 5.8 მლ 5% ამონიუმის სპირტიანი ხსნარი;

მსგავსად უნდა დამუშავდეს ღვინის საკონტროლო ნიმუშიც.

შედეგების განხილვა: ღვინო, რომელსაც არ აქვს, ან ნაკლებად აქვს გამოხატული ფლუორესცენციური ნათება, ვიდრე საკონტროლო ღვინოს, შეიძლება ჩაითვალოს, რომ არ შეიცავს მალვიდინ- დიგლუკოზიდს. თუ ფლუორესცენცია ოდნავ ნაკლებია, ან ტოლია, ან მეტია ვიდრე კონტროლი, აუცილებელია მალვიდინ დიგლუკოზიდის რაოდენობრივი განსაზღვრა.

1.14.2 რაოდენობრივი განსაზღვრა.

ხელსაწყო :

- ფლუორესცენციის საზომი ხელსაწყო, აღჭურვილი 365 ნმ და 490 ნმ ტალღის სიგრძით;
- კვარცის კიუვეტა (1 სმ სისქის)

რეაქტივები და მასალა :

- პირველ რიგში უნდა მოხდეს თვისობრივი განსაზღვრა;
- 2 მგ/ლ ქინონის სულფატის ხსნარი - ხსნარის მოსამზადებლად იღებენ 10 მგ სუფთა ქინონის სულფატს, რომელსაც ხსნიან 100 მლ 0.1 მოლარობის გოგირდმჟავას ხსნარში. მიღებული ხსნარის 20 მლ გადააქვთ 1 ლიტრი მოცულობის მზომ კოლბაში და 0.1 მოლარობის გოგირდმჟავას ხსნარით ავსებენ ნიშანხაზამდე.

ანალიზის მიმდინარეობა:

პირველ რიგში ახდენენ ღვინის მალვიდინ დიგლუკოზიდის თვისობრივ კვლევას, თვისობრივი განსაზღვრის მეთოდის შესაბამისად. წითელი და ვარდისფერი ღვინის შემთხვევაში ნიმუში უნ და დამუშავდეს აცეტილალდეჰიდით.

კიუვეტაში მოათავსეთ 2 მგ/ლ ქინონის სულფატის ხსნარი, ფლუორომეტრი დაარეგულირეთ ისე, რომ გამტარებლობა T იყოს ტოლი 100%-ისა, ამის შემდეგ იღებენ საანალიზო ღვინის ხსნარს და საზღვრავენ მგრძნობელობას, ეს იქნება T₁ - ის მნიშვნელობა.

თუ T₁ პროცენტული მაჩვენებელი 35-ზე მეტია უნდა მოხდეს საკვლევი ხსნარის განზავება, იმ ღვინის ნიმუშით, რომელიც არ შეიცავს მალვიდინ დიგლუკოზიდს (ფლორესცენცია უნდა იყოს 6%-ზე ნაკლები).

შენიშვნა:

ანალიზის დაწყებამდე, ღვინოს სტაბილიზაციისათვის დამატებული სალიცილის მჟავას ან ნატრიუმის სალიცილატის მოსაცილებლად საჭიროა საანალიზო ნიმუშის ეთერით დამუშავება, რადგანაც სალიცილის მჟავას ან ნატრიუმის სალიცილატსაც ახასიათებთ ფლორესცენცია; ყალბ ფლორესცენციას იწვევს ასევე ღვინოში დამატებული "კარამელი"

განგარიშება: ფლორესცენციის ინტენსივობა, ღვინისათვის SO₂-ის გარეშე, შეადგენს 0.426 მგ მალვიდინ -დიგლუკოზიდს ლიტრ ღვინოში, ხოლო წითელი და ვარდისფერი ღვინის შემთხვევაში 6%-ის ფარგლებში.

მალვიდინ დიგლუკოზის შემცველობა ღვინოში გამოისახება მილიგრამი ლიტრში ერთეულით:

$$(T_1-6) 0,426 \times 11,5 / 10 = (T_1-6) \times 0,49$$

თუ ღვინო განზავებულია, შედეგები მრავლდება განზავების ფაქტორზე.

1.15. ორგანული მჟავების თვისობრივი და რაოდენობრივი მაჩვენებლების განსაზღვრა

ორგანული მჟავები - ორგანულ ნაერთთა დიდი ჯგუფია, რომელიც ფართოდაა გავრცელებული ბუნებაში. ისინი მცენარეებში წარმოიქმნება ნივთიერებათა ცვლის სხვადასხვა ეტაპზე და წარმოადგენენ შაქრების არასრული დაჟანგვის პროდუქტებს. ამასთან, ისინი ასევე წარმოადგენენ ძირითად სამშენებლო მასალას ნახშირწყლების, ამინომჟავების, ლიპიდების და სხვა ნაერთების სინთეზისათვის. ორგანული მჟავები გვხდება უჯრედულ წვენში, როგორც თავისუფალი, ასევე მარილებისა და ეთერების (სპირტებთან ერთად) სახით. ყველაზე ფართოდ გავრცელებულია ვაშლისა და ლიმონის მჟავა.

მცენარეებში ორგანული მჟავების თვისობრივი და რაოდენობრივი შემცველობის განსაზღვრას დიდი მნიშვნელობა აქვს, რადგანაც მჟავიანობა გავლენას ახდენს არა მარტო გემოს ჩამოყალიბებაზე, არამედ განსაზღვრავს ბიოქიმიური და მიკრობიოლოგიური პროცესების მიმართულებასა და მიმდინარეობის სიჩქარეს ნედლეულის შენახვისა და გადამუშავების პროცესში.

ორგანული მჟავების კვლევისას საზღვრავენ: საერთო ანუ ტიტრულ და აქტიურ მჟავიანობას ანუ წყალბად იონების კონცენტრაციას, ასევე ზოგიერთ პროდუქტში მქროლავი მჟავების შემცველობას.

მჟავათა ანალიზისათვის აუცილებელია ნედლი, სწრაფად გაყინული ან გამშრალი ნიმუშის ექსტრაქცია. თუმცა, ოთახის ტემპერატურაზე ნიმუშის გაშრობისას ადგილი აქვს მჟავების რაოდენობრივ შემცირებას ნედლეულის სუნთქვის ხარჯზე, ასევეა დანაკარგი მაღალი ტემპერატურის პირობებში შრობისას, რადგანაც ადგილი აქვს მქროლავი მჟავების ან მათი ეთერების აორთქლებასა და მჟავების ურთიერთ გარდაქმნას. ყოველი აღნიშნულის გათვალისწინებით აუცილებელია ნედლეულის სწრაფი ფიქსაცია $120^{\circ} - 150^{\circ} \text{C}$ - ზე საშრობ კარადაში 15 – 20 წუთის განმავლობაში და შემდგომი შრობა $50-60^{\circ} \text{C}$ -ზე. ორგანული მჟავების უფრო ნატიფი და ღრმა კვლევისათვის აუცილებელია საკვლევი ნიმუშის თხევადი აზოტით ფიქსაცია და შემდგომ ლიოფილურად შრობა.

1.15.1 საერთო მჟავიანობის განსაზღვრა ვიზუალური მეთოდით

მეთოდი დაფუძნებულია საანალიზო ხსნარის ნატრიუმის ტუტით გატიტვრაზე ინდიკატორის - ფენოფტალეინის თანაობისას.

საწყის ეტაპზე ვახდენთ საანალიზოდ აღებული ნიმუშის დაქუცმაცებას უჟანგავი ფოლადისაგან დამზადებული დანით ან ფაიფურის როდინში სრესენ 1-2 გ კვარცის ქვიშასთან ერთად ერთგვაროვანი მასის მისაღებად. შემდეგ წონიან დაქუცმაცებული ნიმუშის 10–20 გ-ს (0,01 გ სიზუსტით) და აწონილი ნიმუში რაოდენობრივად გადააქვთ 250 მლ მოცულობის კონუსურ კოლბაში, შემდეგ ამატებენ 100 მლ ცხელ (80°C) წყალს და წყლის აბაზანაზე აცხელებენ 30–60 წთ-ის განმავლობაში 80°C ტემპერატურის პირობებში, პერიოდული შენჯღრევით. შემდეგ კოლბის შემცველობას აცივებენ წყლის

ჭავლის ქვეშ და წყლით ავსებენ ნიშან ხაზამდე (200 - 250 მლ-მდე). შემდეგ კოლბას ანჯღრევენ და ხსნარს ფილტრავენ ფილტრის ქაღალდით ან ბამბით.

გატიტრისათვის განკუთვნილ 250 მლ მოცულობის კონუსური კოლბიდან პიპეტით იღებენ ფილტრატს 25- დან 50 მლ-მდე, უმატებენ ფენოფტალეინის 2-3 წვეთს და ტიტრავენ (განუწყვეტელი მორევით) 0,1ნ ტუტის ხსნარით ღია ვარდისფერი შეფერილობის მიღებამდე, რომელიც მედეგი უნდა იყოს 30 წმ-ის განმავლობაში.

ძლიერ შეფერილი ფილტრატების შემთხვევაში, განეიტრალეების მომენტის დასაფიქსირებლად იყენებენ წითელი ლაკმუსის ქაღალდს, როცა ფილტრატის სარეაქციო არე ნეიტრალდება, ლაკმუსის ქაღალდი იძენს ლურჯ შეფერილობას. პროცესი გაცილებით გაიოლებულია როდესაც, ტიტრაციის დროს გამოყენებულია პოტენციომეტრული გატიტრვა, მაგალითად ლიმონმჟავასათვის pH-8.1.

თხევადი პროდუქტების (წვენი, ნაყენი) შემთხვევაში ნიმუში იფილტრება ბამბაში, იღებენ ფილტრატის 20 - 25 მლ-ს და ტიტრავენ ზემოთ აღწერილი მეთოდის შესაბამისად. ამ შემთხვევაში გამოსათვლელ ფორმულაში არ შეაქვთ საანალიზოდ აღებული ნიმუშის მასა და შესაბამისად ფილტრატის საერთო მოცულობა.

1.16 ორგანული მჟავების კვლევა მაღალი წნევის სითხური

ქრომატოგრაფირების მეთოდით

ხელსაწყოები და რეაქტივები:

- ხელსაწყო - Waters - ისფირმის მაღალი წნევის სითხური ქრომატოგრაფი
- დეტექტორი - ულტრაიისფერი სხივის (UV-VIS 2484),
- სვეტი - Shodex RSpak KC 811, სვეტის მუშაობის მექანიზმი - იონმიმოცვლითი მოძრავი ფაზა - 0,1 %-იანი ფოსფორმჟავა.
- KC-811 - სვეტის გასუფთავება - 25 mM H₂SO₄ ხსნარით, გამხსნელის მოცულობა 50 მლ, სიჩქარე 0,5 მლ/წთ 50° C.

ქრომატოგრაფიულ დაყოფამდე აუცილებელია ნიმუშის მომზადება ქრომატოგრაფირებისათვის. ნიმუშის სელექტიურობა და სპეციფიკური მომზადება განაპირობებს ანალიზის რაციონალურობას, ეკონომიურობასა და ეფექტურობას.

ნიმუშის მომზადების უპირატესობაა:

- ნიმუშის კომპონენტების სელექტიური გამდიდრება;
- საანალიზო კომპონენტების აღმოჩენის ზღვარის გაზრდა;
- ანალიზისათვის ხელშემშლელი კომპონენტების მოცილება ქრომატოგრაფიული

სვეტების დაბინძურების თავიდან ასაცილებლად, რაც გულისხმობს ცილების, ლიპიდების, არა იონური და სხვა ნაერთების მოცილებას ცენტრიფუგირება/გაფილტვრით ან მყარ ფაზოვანი ექსტრაქციით (SPE – Solid -PhaseExtraction).

მყარ ფაზოვანი ექსტრაქცია წარმოადგენს საანალიზო ნიმუშის მომზადების ძალზე ეფექტურ მეთოდს. ეს მეთოდი ხასიათდება შესაძლებლობების ფართო დიაპაზონით.

მყარფაზოვანი ექსტრაქცია მოიცავს 4 ეტაპს:

სორბენტის კონდიცირება: ქიმიურად მოდიფიცირებულ სორბენტთან მუშაობისას აუცილებელია მისი წინასწარი აქტივაცია ორგანული გამხსნელით (აცეტონიტრილი ან მეთანოლი). აქტივაციას მოსდევს (ნიმუშის მეტად ეფექტური დატანისათვის) გააქტიურებული სორბენტის გაწონასწორება წყლით ან ბუფერული ხსნარით. ეს ეტაპი კრიტიკულია საანალიზო კომპონენტების განმეორებადი დაყოფისათვის.

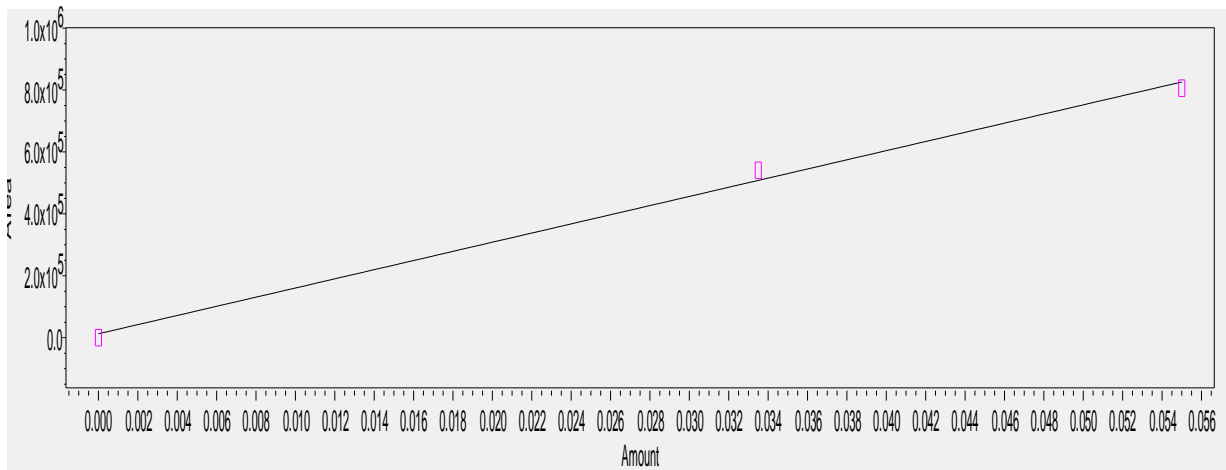
ნიმუშის დატანა: წინასწარ გააქტიურებულ და გაწონასწორებულ კატრიჯზე ნიმუშის დატანა ხდება ვაკუუმის ან წნევის მეშვეობით. ამ პროცესში საანალიზო კომპონენტი კონცენტრირდება ვიწრო ზოლის სახით სორბენტზე. იდეალურ შემთხვევაში მატრიცის ყველა გვერდითი კომპონენტი არ ჩერდება სორბენტზე და გაივლის სორბენტის მთელ ფენას.

რეცხვა: ამ ეტაპზე ხდება სორბენტზე დარჩენილი არასასურველი კომპონენტების მოცილება წყლით ან ბუფერული ხსნარით. უძრავი ფაზიდან კომპონენტებისმოცილებისათვის ასევე დასაშვებია მცირე რაოდენობით წყლიანი ბუფერული ნარევის გამოყენება.

საკვლევი კომპონენტების ელუირება: მყარ ფაზოვანი ექსტრაქციის ფინალურ სტადიაზე საანალიზო ნივთიერება დესორბირდება და შესაბამისი გამხსნელით ჩამოირეცხება ვიწრო ზოლის სახით. შემდეგ ხდება მიღებული ექსტრაქტის კონცენტრირება ან განზავება და ანალიზი.

საკვლევი კომპონენტების ელუირებისას აუცილებელია ისეთი გამხსნელის შერჩევა, რომელიც ეფექტურად დახლეს საკვლევი ნიმუშისა და სორბენტის ურთიერთქმედებას.

ორგანულ მჟავათა საკალიბრო მრუდები და მათი დახასიათება წარმოდგენილია ნახ. 5-ზე და ცხრ.3-ში.



ნახ.5. ორგანულ მჟავათა საკალიბრო მრუდი

საკალიბრო მრუდების დახასიათება

ცხრილი 4

	Name	Time	R	R ²	Standard Error	Equation	X-axis	Y-axis	Units
1	Oxalic Acid	2.337	0.997572	0.995150	4.046815e+004	Y = 1.48e+007 X + 1.28e+004	Amount	Area	g/L
2	Tartaric Acid	2.635	0.999497	0.998994	2.405589e+004	Y = 3.46e+006 X + 9.82e+003	Amount	Area	g/L
3	Malic Acid	3.108	1.000000	1.000000	0.000000e+000	Y = 3.97e+006 X + 5.82e-011	Amount	Area	g/L
4	L-Ascorbic Acid	3.446	0.999994	0.999987	4.102706e+003	Y = 2.86e+007 X + 1.67e+003	Amount	Area	g/L
5	Citric Acid	5.130	0.999894	0.999789	6.100186e+003	Y = 2.02e+006 X + 2.49e+003	Amount	Area	g/L

თავი II. თავლის კვლევის თანამედროვე სტანდარტული მეთოდები

ტენიანობა - თაფლის ტენიანობა წარმოადგენს ხარისხის ერთ-ერთ მახასიათებელს, რომელიც განსაზღვრავს თაფლის სტაბილურობასა და მედეგობას დუდილის გამომწვევი ფერმენტების მიერ გამოწვეული ფუჭებადი პროდუქტის მიმართ. რაც უფრო მეტია ტენიანობა, მით უფრო მეტია ალბათობა თაფლში წარიმართოს დუდილის პროცესი, შენახვის პერიოდში.

ტენიანობის განსაზღვრა რეფრაქტომეტრით მართალია არ იძლევა მეტად ზუსტ მაჩვენებელს წყლის შემცველობის შესახებ და აჩვენებს წყლის უფრო ნაკლებ რაოდენობას, ვიდრე კარლ ფიშერის მეთოდით განსაზღვრისას, მაგრამ მიუხედავად ამისა, ეს მეთოდი არის მარტივი და ზუსტი, იგი წარმატებით გამოიყენება დღემდე და შესაბამისად არ არის საჭირო ალტერნატიული მეთოდის ძებნა. (RSD-მაჩვენებელი მერყეობს 0,8-დან 2%-მდე).

ელექტროგამტარობა - ეს მახასიათებელი დამოკიდებულია თაფლში ტუტისა და მჟავის შემცველობაზე. კერძოდ, რაც მეტია მათი მნიშვნელობა, მით უფრო მეტია გამტარობა. ეს არის მარტივი და სწრაფი მეთოდი, რომელიც ისაზღვრება არც თუ ისე ძვირადღირებული ხელსაწყოს გამოყენებით. (RSD-მაჩვენებელი მერყეობს 3-დან 4%-მდე).

ელექტროგამტარობით განისაზღვრება თაფლის ბოტანიკური წარმომავლობას და ფართოდ გამოიყენება თაფლის კონტროლისას.

ნაცრიანობა- არის ხარისხის მახასიათებელი, რომელიც განსაზღვრავს თაფლის წარმომავლობას. მაგ.: პოლიფლორულ თაფლში ნაცრიანობა დაბალია, ვიდრე სხვა თაფლში.

pH და მისი მნიშვნელობა : თაფლში მჟავიანობის განსაზღვრისას გატიტრის ექვივალენტურ წერტილად მიჩნეულია pH=8,3.

ოქსიმეთილფურფუროლი (HMF) : არსებობს HMF-ის განსაზღვრის სამი მეთოდი, რომელიც გამოტანილი იქნა თაფლის საერთაშორისო კოლაბორატორიაში. მცირე რაოდენობით HMF-ის შემცველი თაფლის ნიმუშებში კვლევის შედეგებს შორის იყო უმნიშვნელო სხვაობა, ხოლო უფრო მეტი რაოდენობის შემთხვევაში სამივე მეთოდით მიღებული შედეგები ერთმანეთს ემთხვევა.

დიასტაზა. თაფლში დიასტაზას განსაზღვრის ორი მეთოდი არსებობს: შადეს მეთოდი, რომელსაც სუბსტრატის სახით იყენებენ სახამებელს და საზღვრავს დიასტაზურ აქტივობას და რომელიც გამოისახება შადეს ერთეულში. პადებას (Phadebas) მეთოდში გამოიყენება ხელოვნური სუბსტრატი. არსებობს ძალიან კარგი კოლერაცია შადეს ერთეულში გამოსახულ დიასტაზურ აქტივობასა და პადებას ტესტის გამოყენებით განსაზღვრული ოპტიკურ სიმკვრივეს შორის, აქედან გამომდინარე კოეფიციენტის საშუალებით დიასტაზური აქტივობა შეიძლება გამოისახოს შადეს ერთეულში.

ინვერტაზის განსაზღვრა ფართოდ გამოიყენება მრავალ ქვეყანაში: გერმანია, იტალია, შვეიცარია, როგორც სიახლის ინდიკატორი, რადგანაც ეს ფერმენტი მეტად მგრძნობიარეა სითბოსა და შენახვის პირობების მიმართ.

შაქრები : საერთო შაქრების თუ აღდგენილი განსაზღვრას ძირითადად აწარმოებენ ძველი მეთოდით - ფელინგის რეაქტივის გამოყენებით. ეს მეთოდი შეიძლება გამოყენებული იქნეს არარედუქცირებული შაქრებისათვისაც და გამოითვლება, როგორც სხვაობა საერთო და აღდგენილ შაქრებს შორის.

ფრუქტოზის, გლუკოზის, საქაროზისა და სხვა შაქრების განსაზღვრა შესაძლებელია მაღალეფექტური სითხური, აირ-სითხური და იონმიმოცვლითი ქრომატოგრაფიის გამოყენებით.

უხსნადი ნივთიერების განსაზღვრა მეტად მნიშვნელოვანია, რადგანაც განისაზღვრება წყალში უხსნადი მინარევები.

პროლინი : პროლინის განსაზღვრა გამოიყენება თაფლის სიმწიფის და შაქრით ფალსიფიცირების დასადგენად. პროლინის შემცველობა დამოკიდებულია თაფლის წარმოშობაზე.

ნიმუშის აღება

საანალიზოდ წარმოდგენილი თაფლის ნიმუში უნდა იყოს ერთგვაროვანი და ანალიზის დაწყებამდე უნდა მომზადდეს შემდეგი წესით: ნიმუში უნდა გატარდეს უჟანგავი ფოლადისაგან დამზადებულ ცხაურში, რომლის დიამეტრი 0,5მმ-ია.

თხევადი ან დაკრისტალებული თაფლი გარე მინარევების გარეშე :

1. საანალიზო ნიმუში ჰომოგენიზირდება, მორევით (მინიმუმ 3 წთ.);
2. იყავით ფრთხილად, თაფლის ნიმუშის მომზადებისას, მას ნაკლებად უნდა ჰქონდეს შეხება ჰაერთან, მით უფრო თუ ნიმუშში ისაზღვრება ჰიდროქსიმეთილფურფუროლი;
3. თუ თაფლი არის დაკრისტალებული მკვრივი ან კომპაქტური მასის სახით, ის შეიძლება წინასწარ იქნეს შერბილებული, გაცხელებით თერმოსტატში ან წყლის აბაზანაში (ტემპერატურა არა უმეტეს 40 °C-ს) .

თხევადი ან დაკრისტალებული თაფლი, რომელიც შეიცავს მინარევებს : აცილებენ ყველა უხეშ მინარევს, შემდეგ მოურევინ თაფლს კარგად ოთახის ტემპერატურის პირობებში და შპატელის დახმარებით ფრთხილი ზეწოლით ატარებენ ცხაურში (d=0,5მმ).

2.1 ტენიანობის განსაზღვრა რეფრაქტომეტრული მეთოდით

გამოყენების სფერო: ამ სტანდარტით განისაზღვრება წყლის შემცველობა თაფლში

განსაზღვრა : წყლის რაოდენობა ეს არის ის მახასიათებელი, რომლითაც ისაზღვრება რეფრაქციის ინდექსით.

მეთოდის არსი : გარდატეხის (რეფრაქციის) მაჩვენებელი იზრდება მშრალი ნივთიერების შემცველობის მიხედვით.

ხელსაწყოები:

- ჭიქა - 50 მლ;
- წყლის აბაზანა;
- რეფრაქტომეტრი ციფრული ან აბზეს, რომელიც უზრუნველყოფს 20°C -ს ტემპერატურას და შესაძლებელია მისი რეგულირება გამოხდილი წყლის მაჩვენებლით, რომელიც ტოლია - 1,3330-ის.

ანალიზის მსვლელობა :

ნიმუშის მომზადება: საანალიზოდ აღებული თაფლის ნიმუშს ურევინ კარგად, რომ მიიღონ ჰომოგენიზირებული მასა, თავდახურული ჭურჭელს ათავსებენ

წყლის აბაზანაში 50°C-ზე ($\pm 0,2$), მანამ, სანამ თაფლში არსებული კრისტალები არ გაიხსნება. შემდეგ ნიმუშს აცივებენ ოთახის ტემპერატურამდე და კვლავ აურევენ.

შენიშვნა:

- დარწმუნდით, რომ კოლბა ჰერმეტიკულად მოხუფულია;
- დარწმუნდით, რომ რეფრაქტომეტრის პრიზმა არის სუფთა;
- ჰომოგენიზაციის შემდეგ ნიმუში ეგრევე დაიტანეთ და 2 წუთის შემდეგ ჩაინიშნეთ გარდატეხის მაჩვენებელი;
- თითოეული ნიმუში განსაზღვრეთ ორჯერ და შემდეგ ჩაინიშნეთ საშუალო არითმეტიკული;

თაფლში წყლის შემცველობისა და რეფრაქციის ინდექსის შესაბამისობა

ცხრილი 5

წყლის შემცველობა, გ/100გ	რეფრაქციის ინდექსი, 20°C	წყლის შემცველობა, გ/100გ	რეფრაქციის ინდექსი, 20°C
1	2	3	4
13.0	1.5044	19.0	1.4890
13.2	1.5038	19.2	1.4885
13.4	1.5033	19.4	1.4880
13.6	1.5028	19.6	1.4875
13,8	1.5023	19.8	1.4870
14.0	1.5018	20.0	1.4865
14.2	1.5012	20.2	1.4860
1	2	3	4
14.4	1.5007	20.4	1.4855
14.6	1.5002	20.6	1.4850

14.8	1.4997	20.8	1.4845
15.0	1.4992	21.0	1.4840
15.2	1.4987	21.2	1.4835
15.4	1.4982	21.4	1.4830
15.6	1.4976	21.6	1.4825
15.8	1.4971	21.8	1.4820
16.0	1.4966	22.0	1.4815
16.2	1.4961	22.2	1.4810
16.4	1.4956	22.4	1.4805
16.6	1.4951	22.6	1.4800
16.8	1.4946	22.8	1.4795
17.0	1.4940	23.0	1.4790
17.2	1.4935	23.2	1.4785
17.4	1.4930	23.4	1.4780
17.6	1.4925	23.6	1.4775
17.8	1.4920	23.8	1.4770
18.0	1.4915	24.0	1.4765
18.2	1.4910	24.2	1.4760
18.4	1.4905	24.4	1.4755
18.6	1.4900	24.6	1.4750
18.8	1.4895	24.8	1.4745
		25.0	1.4740

1. თუ თავლის ტემპერატურა 20° C -ზე მეტია: რეფრაქციის ინდექსი ემატება 0,00023 თითოეული °C -ზე.

2. თუ თავლის ტემპერატურა 20° C -ზე ნაკლებია: რეფრაქციის ინდექსი აკლდება 0,00023 თითოეული °C -ზე.

წყლის შემცველობა თავლში განისაზღვრება ფორმულით :

$$W = \frac{1.73190 - \log(R.I. - 1)}{0.002243}$$

სადაც:

W - არის წყლის შემცველობა თავლში, გ/100გ;

R.I. - რეფრაქციის ინდექსი.

2.2 ნაცრის შემცველობის განსაზღვრა

გამოყენების სფერო: ნაცრის შემცველობის განსაზღვრა გამოიყენება თავლის ტიპის დასადგენად.

განსაზღვრა: თავლის ნაცარი წარმოადგენს ნარჩენს, რომელიც მიიღება განსაზღვრული პროცედურის შემდეგ და გამოითვლება %-ში მასის მიხედვით.

მოქმედების პრინციპი: თავლს ნაცრავენ არა უმეტეს 600°C -სა და ნარჩენს წონიან.

რეაქტივები: ზეითუნის ზეთი, თავისუფალი ნაცრისგან

ხელსაწყოები:

პლატინის ან კვარცის დასანაცრი შესაბამისი ზომის ჭურჭელი (ტიგელი);

წინასწარი აორთქლებისათვის მოწყობილობა: ინფრაწითელი გამაცხელებელი, გაზის გამაცხელებელი ან ელექტროქურა;

ელექტროლუმელი რეგულირებადი 600°C-მდე ($\pm 25^{\circ}\text{C}$);

ექსიკატორი;

ანალიზური სასწორი.

ანალიზის მსვლელობა :

დასანაცრი ჭურჭლის მომზადება: დასანაცრი ჭურჭელი მიჰყავთ მუდმივ წონამდე დანაცრის ტემპერატურაზე (აცივებენ ექსიკატორში და წონიან 0,001გ სიზუსტით).

ნიმუშის მომზადება: ნიმუშს ამზადებენ „ნიმუშის აღებასა და საერთო შენიშვნების მეთოდის მიმართ“ მიხედვით.

იღებენ ნიმუშის 5-10 გ-ს 0,001 გ-ის სიზუსტით, უმატებენ 2 წვეთ ზეითუნის ზეთს, შემდეგ ამორებენ წყალს და იწყებენ დანაცრას დანაკარგის გარეშე, ტემპერატურა იზრდება 300-400°C-ზე. დანაცრის პროცესი გრძელდება მანამ, სანამ მუდმივ წონამდე არ მივიყვანთ ნიმუშს.

განგარიშება და შედეგების გაფორმება :

ნაცრის შემცველობა, გ / 100 გ თაფლში, გამოითვლება შემდეგი ფორმულით:

$$W_A = \frac{(m_1 - m_2)}{m_0} 100$$

სადაც:

- W_A - თაფლში ნაცრის შემცველობა გ/100გ;
- m_0 -საანალიზოდ აღებული თაფლის მასა;
- m_1 – მუდმივ წონამდე მიყვანილი საანალიზო ჭურჭლისა და ნაცრის მასა;
- m_2 – საანალიზო ჭურჭლის მასა.

2.3 pH-სა და თავისუფალი მჟავების განსაზღვრა ტიტრული მეთოდით (pH 8,3)

გამოყენების სფერო: ეს მეთოდი შეიძლება გამოყენებულ იქნას თაფლის ნებისმიერი ნიმუშისათვის.

განსაზღვრა: თაფლის თავისუფალი მჟავიანობა განისაზღვრება მასში შემავალი ყველა თავისუფალი მჟავებით, მილი ექვივალენტი/კგ თაფლში.

მეთოდის არსი: ნიმუშს ხსნიან წყალში, საზღვრავენ pH-ს და ხსნარს ტიტრავენ 0.1M NaOH-ით pH=8,3-მდე.

რეაქტივები:

- ყველა რეაქტივი უნდა იყოს ანალიზური სისუფთავის;
- გამოხდილი წყალი CO₂-სგან გასუფთავებული;
- ბუფერული ხსნარები-pH მეტრის დაკალიბრებისათვის pH 3,7(ან 4,0) და 9,0;
- 0,1 M NaOH ზუსტი კონცენტრაციის.
- **ხელსაწყოები:**
 - pH მეტრი, 0,01 -ის სიზუსტით;
 - მაგნიტური მჯღრეველა; ბიურეტი - 10მლ, 25მლ, ან ავტომატური ტიტრატორი; ჭიქა- 250მლ. მოცულობის.

ანალიზის მიმდინარეობა:

pH მეტრის კალიბრება pH 3,0-დან pH 9,0 - ის ფარგლებში.

ნიმუშის მომზადება: 10გ თაფლის ნიმუშს ხსნიანთ 75მლ CO₂-გან თავისუფალ წყალში. დგამენ მაგნიტურ მჯღრეველაზე და საზღვრავენ pH. შემდეგ იწყებენ გატიტვრას 0,1 M NaOH- ით pH- 8,3- მდე. გატიტვრას ასრულებენ 2 წთ-ის განმავლობაში.

გამოთვლა და შედეგების გაანგარიშება:

pH-ის მაჩვენებელი იწერება მძიმედან ორი რიცხვით;

თავისუფალი მჟავები გამოითვლება შემდეგი ფორმულით:

$$C=V(\text{ml NaOH}) \times 10$$

2.4. დიასტაზის განსაზღვრა

დიასტაზური აქტივობის განსაზღვრა შადეს (Schade) მიხედვით.

გამოყენების სფერო: ეს მეთოდი გამოიყენება თაფლის ყველა ნიმუშისათვის

განსაზღვრა: დიასტაზური აქტივობის ერთეული - გოთეს (Gothe) ერთეულია, რომელიც განისაზღვრება, როგორც ფერმენტის რაოდენობა 1კგ. თაფლში და დაშლის 0,001გ.

სახამებელს 1სთ-ის განმავლობაში 40°C ტემპერატურის პირობებში (სატესტო პირობებში). მიღებული შედეგები გამოისახება გოთეს ან შადეს ერთეულში.

მოქმედების პრინციპი: მეთოდი დაფუძნებულია საკვლევ ნიმუშში ფერმენტული რეაქციის მიმდინარეობისას, ლურჯი ფერის ინტენსივობის ცვალებადობაზე განსაზღვრულ დიაპაზონში. ოპტიკური სიმკვრივის დროზე დამოკიდებულების გრაფიკის აგება ხდება იმ t_x დროის განსაზღვრისათვის, როცა ოპტიკური სიმკვრივის მნიშვნელობა არის 0,235°. დიასტაზური რიცხვი გამოითვლება $300 / t_x$ -ზე,

რეაქტივები:

ნატრიუმის ქლორიდის ხსნარი: 2,9გ. NaCl-ს ხსნიან წყალში და ავსებენ 100მლ-მდე; აცეტატური ბუფერის ხსნარი (pH 5,3): CH₃COONa-ის 43,5გ-ს ხსნიან წყალში, pH მიჰყავთ 5,3-მდე დაახლოებით 5მლ. ყინულოვანი ძმარმჟავათი და ანზავებენ 250მლ-მდე;

სახამებლის ხსნარის მომზადება:

- სახამებლის მშრალი მასის განსაზღვრა - 2გ. სახამებელს წონიან წინასწარ მუდმივ წონამდე მიყვანილ ბიუქსში (დიამეტრი 5სმ, სიმაღლე 3სმ). სახამებელს თანაბრად ანაწილებენ ბიუქსის ფსკერზე, ზუსტად წონიან ($\pm 0,1$ მგ) და აშრობენ 130°C-ზე 90 წუთის განმავლობაში. შემდეგ ბიუქსს ექსიკატორში აჩერებენ 1 საათით და წონიან განმეორებით;
- სახამებლის ხსნარის მომზადება : 250მლ. მოცულობის კონუსურ კოლბაში წონიან 2,000გ. უწყლო სახამებელს. უმატებენ 90მლ. წყალს და ურევენ მჯღრეველას საშუალებით. სუსპენზია სწრაფად მიჰყავთ ადულებამდე, მუდმივი მორევის პირობებში და ადულებენ 3წთ-ს განმავლობაში, სუსტი დუღილით. სწრაფად გადააქვთ ცხელი ხსნარი 100მლ. მოცულობის მზომ კოლბაში. სწრაფად აცივებენ გამდინარე წყლით ოთახის ტემპერატურამდე, ავსებენ მოცულობას წყლით და ფრთხილად აურევენ.

შენიშვნა: სახამებლის ხსნარი უნდა მომზადდეს გამოყენების დღეს. გამოიყენეთ მხოლოდ ხსნადი სახამებელი. ხსნარი უნდა იყოს ცისფერი შეფერილობის და გამჭვირვალე. (იხილეთ „სახამებლის ხსნარის კალიბრება“).

იოდის საწყისი ხსნარის მომზადება - 11,0გ. ორჯერ სუბლიმირებულ იოდსა და 22,0გ. კალიუმის იოდიდს ხსნიან 30-40მლ. წყალში და მიჰყავთ 500მლ-მდე. ხსნარის გამოყენება შესაძლებელია დაახლოებით ერთი წლის განმავლობაში. ის ინახება მუქ ჭურჭელში.

იოდის ხსნარის განზავება: იოდის სამუშაო ხსნარის მომზადება - 20,0გ. კალიუმის იოდიდს ხსნიან წყალში, უმატებენ 2მლ. იოდის საწყისი ხსნარის 2მლ-ს და ხსნიან 500მლ-მდე. იოდის ეს განზავებული ხსნარი უნდა დამზადდეს გამოყენების დღეს. ის დაცული უნდა იქნეს ჰაერის ზემოქმედებისაგან.

ხელსაწყობი: წყლის აბაზანა გაცხელებული $40^{\circ}\text{C}\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ -მდე. კიუვეტა - 1სმ. ტალღის სიგრძე - 660 ნმ.

ანალიზის მსვლელობა:

ნიმუშის მომზადება ანალიზისათვის ხდება ნიმუშის ალებისა და მეთოდის ზოგადი შენიშვნების მიხედვით;

განსაზღვრა: ჭიქაში წონიან თაფლის 10,0გ-ს (ნიმუშის ალების მიხედვით), და სრულად ხსნიან 15მლ წყალსა და 5მლ აცეტატურ ბუფერში, გაცხელების გარეშე. ხსნარი რაოდენობრივად გადააქვთ 50მლ. მოცულობის მზომ კოლბაში, რომელშიც ჩასხმულია 3მლ. NaCl ხსნარი და მოცულობა წყლით მიჰყავთ ნიშან-ხაზამდე (საანალიზო ხსნარი).

შენიშვნა: მეტად მნიშვნელოვანია, რომ თაფლი არ უნდა იყოს შეხებაში NaCl-ის ხსნართან ბუფერული ხსნარის დამატებამდე, რადგან თუ pH 4,0-ზე დაბალია, NaCl-ის თანაობა სწრაფად ამცირებს დიასტაზურ აქტივობას. სატესტო ნიმუში შეიძლება ინახებოდეს რამდენიმე საათის განმავლობაში, ამიტომ უნდა მომზადდეს გამოყენების წინ.

სახამებლის ხსნარის კალიბრება/ ლურჯი ფერის კორექტირება:

- დაკალიბრება ხდება გამოხდილი წყლის მოცულობის დადგენისათვის, რომლის დამატების შემდეგ იოდ-სახამებლის ხსნარს უნდა ჰქონდეს 0,745-დან 0,770-მდე ოპტიკური სიმკვრივე.

- 6 შესაბამის მინის ფლაკონში ან სინჯარაში შეაქვთ 20, 21, 22, 23, 24, და 25 მლ. წყალი და 5მლ. განზავებული იოდის ხსნარი. პირველი სინჯარიდან დაწყებული ამატებენ 0,5 მლ ნარევს, რომელიც შეიცავს 10მლ წყალს და 5მლ სახამებლის ხსნარს, კარგად აურევენ შენჯღრევით და უმაღვე საზღვრავენ ოპტიკურ სიმკვრივეს 660ნმ-ზე, 1სმ. სისქის კიუვეტაში, გამოხდით წყალთან მიმართებაში. ამავე პროცედურას აგრძელებან სხვა სინჯარებში, მანამ, სანამ შთანთქმის დიაპაზონი არ იქნება 0,770-სა და 0,745-ის ფარგლებში. წყლის შემცველობა, განსაზღვრული ასეთი სახით, წარმოადგენს სტანდარტულს ყველა დანარჩენი ანალიზისთვის, რომელიც ხორციელდება შესაბამისად მოცემული სახამებლის ხსნარით.

შენიშვნა: დრო სახამებლის სამუშაო ხსნარის დამატებასა და ოპტიკური სიმკვრივის განსაზღვრას შორის შეძლებისდაგვარად უნდა იყოს ერთნაირი, როგორც სახამებლის ხსნარის დაკალიბრებისას, ასევე თაფლის ანალიზისას.

თაფლის ხსნარის მომზადება:

პიპეტით იღებენ თაფლის ხსნარის 10 მლ-ს, გადააქვთ 50 მლ. მოცულობის კოლბაში და დგამენ წყლის აბაზანაზე 40°C. აქვე ათავსებენ მეორე კოლბას, რომელშიც მოთავსებულია 10 მლ. სახამებლის ხსნარი. 15 წუთის შემდეგ იღებენ სახამებლის 5 მლ და ამატებენ თაფლის ხსნარში, აურევენ და აითვლიან დროს. განსაზღვრული ინტერვალის შემდეგ, პირველ შემთხვევაში 5წთ-ის შემდეგ, თაფლიანი კოლბიდან იღებენ ალიკვოტის 0,5 მლ-ს და სწრაფად ამატებენ განზავებული იოდის ხსნარის 5 მლ-ს. შემდეგ ამატებენ წყლის მოცულობას (როგორც არის განსაზღვრული სახამებლის ხსნარის დაკალიბრებისას). კარგად აურევენ და უმაღვე საზღვრავენ თითოეული ხსნარის ოპტიკურ სიმკვრივეს 660 ნმ-ზე წყალთან მიმართებაში (1სმ სისქის კიუვეტა).

შენიშვნა: დროის პერიოდი შუალედი სარეაქციო კოლბიდან მორიგი ნიმუშის აღებისა, ისე უნდა განისაზღვროს, რომ 3-4 გაზომვის შედეგად მიღებული ხსნარის ოპტიკური სიმკვრივე უნდა მოექცეს 0,456-სა და 0,155-ის მნიშვნელობებში (ხაზოვანი დიაპაზონი).

<i>აბსორბცია</i> <i>t= 5წთ.</i>	<i>დროის ინტერვალი</i>
A > 0, 658	10 წუთი ან მეტი
0.658 > A > 0.523	5-დან 10 წუთამდე
0.523 > A > 0.456	2-დან 5 წუთამდე

ცხრილში მოცემულია მნიშვნელობები დროის ინტერვალსა და ნიმუშის აღებას შორის ოპტიკური სიმკვრივის მახასიათებლით.

თუ შთანთქმა 5 წუთი დროის ინტერვალში 0,350-ზე ნაკლებია, მაშინ საჭიროა სარეაქციო დროის შემცირება.

საკონტროლო ცდა: საანალიზო ხსნარის 10 მლ-ს უმატებენ 5 მლ წყალს და ფრთხილად აურევენ. შემდეგ იღებენ ხსნარის 0,5 მლ-ს და უმატებენ 5მლ განზავებულ იოდის ხსნარს. წყლის რაოდენობის დამატება განისაზღვრება „სახამებლის ხსნარის კალიბრების“ მიხედვით, კარგად აურევენ და საზღვრავენ ოპტიკურ სიმკვრივეს 660 ნმ -ზე წყლის მიმართ 1სმ სისქის კიუვეტით.

საკონტროლო ცდით მიღებული მაჩვენებელი (ოპტიკური სიმკვრივე) უნდა იყოს გამოკლებული იმ მაჩვენებელზე, რომელიც მიღებულია „საანალიზო ხსნარის განსაზღვრისას“.

განგარიშება და შედეგების აღწერა.

დიასტაზური აქტივობა განისაზღვრება, როგორც დიასტაზური რიცხვი (DN) შემდეგი წესით:

$$DN = \frac{60\text{minutes}}{t_x} \times \frac{0.10}{0.01} \times \frac{1.0}{2.0} = \frac{300}{t_x}$$

სადაც : t_x - რეაქციის დროის აღნიშვნას აკეთებენ შემდეგნაირად:

აგებენ საკალიბრო მრუდს, ორდინატთა ღერძზე აითვლიან ოპტიკურ სიმკვრივეს (A), ხოლო აბსცისათა ღერძზე (t) სიმკვრივის შესაბამის დროის მაჩვენებელს წუთებში. საკალიბრო მრუდი უნდა იყოს ხაზოვანი. რეგრესის ხაზი უნდა გადიოდეს მოცემულ დიაპაზონში $A=0,155$ -დან $0,456$ -მდე. იმისათვის, რომ განისაზღვროს t_x , როცა $A = 0.235$ მოცემულ დიაპაზონში $0,155$ -დან $0,456$ -მდე უნდა იყოს მინიმუმ სამი წერტილი.

შენიშვნა: გერმანული მეთოდით DN გამოთვლისას შთანთქმის კოეფიციენტის სახით გამოიყენება $0,301$.

2.5. უხსნადი ნივთიერებების განსაზღვრა

გამოყენების სფერო : ეს მეთოდი შეიძლება გამოიყენონ თაფლის ყველა ნიმუშისათვის.

განსაზღვრა: უხსნადი ნივთიერებები ისაზღვრება, როგორც წყალში უხსნადი ნაერთები, შესაბამისი პროცედურის შედეგად. შედეგები გამოისახება %-ში მასასთან მიმართებაში.

მოქმედების პრინციპი: უხსნადი ნივთიერებები გროვდება ტიგელში და გამომშრალ ნარჩენს წონიან ხსნადი ნაერთების მოცილების შემდეგ.

ხელსაწყოები:

ანალიზური ხსნარი $0,1$ მგ სიზუსტით.

ფოროვანი მინის ტიგელი, ფორის ზომა 15 -დან 40 მიკრონამდე.

საშრობი კარადა, ტემპერატურა $135 \pm 1^\circ\text{C}$.

ანალიზის მსვლელობა: ქიმიურ ჭიქაში წონიან 20 გ. თაფლს და ხსნიან 200 მლ. წყალში, ათბობენ 80°C ტემპერატურამდე მუდმივი მორევის პირობებში. ტიგელს აშრობენ საშრობ კარადაში $135 \pm 1^\circ\text{C}$ და შემდეგ ათავსებენ ექსიკატორში, რომელშიც მოთავსებულია ეფექტური ტენის მშთანთქმელი, მაგალითად სილიკაგელი. ტიგელს წონიან და შემდეგ ფილტრავენ საანალიზო თაფლის ხსნარს. ფილტრს რეცხავენ გულდასმით თბილი წყლით

ამოწმებენ ფილტრატს სინჯარაში 1% -იანი ფლოროგლუცინის (ეთანოლში) დამატებით. ფილტრატს ამატეთ და აურევენ რამდენიმე წვეთ კონცენტრირებულ H_2SO_4 -ს შაქრების

შემთხვევაში წარმოიქმნება ფერი გაყოფის ზღვარზე. ტიგელს აშრობენ 135°C-ზე ერთი საათის განმავლობაში, აცივებენ ექსიკატორში და წონიან. შრობას აგრძელებენ მუდმივ წონამდე მიყვანამდე (30 წთ)

განგარიშება და მონაცემების გამოსახვა:

% უხსნადი ნივთიერებები გ/100გ თაფლში = $m/m_1 \cdot 100$

სადაც:

- m - მშრალი ნაშთის მასა ;
- m₁ საანალიზოდ აღებული თაფლის მასა.

სიზუსტე: ერთეული გ/100გ.

მნიშვნელობა, (x)	0.021	0.009	0.031	0.011
სიხშირე, (r)	0.016	0.016	0.023	0.010
შედეგი, (R)	0.021	0.016	0.023	0.026

2.6. ინვერტაზული აქტივობის განსაზღვრა

გამოყენების სფერო: ეს მეთოდი შეიძლება გამოყენებულ იქნეს თაფლის ყველა ნიმუშთან მიმართებაში.

განსაზღვრა: ინვერტაზული აქტივობა გამოითვლება ერთეულში, სადაც ერთი ერთეული განისაზღვრება, როგორც 1 წუთში დაშლილი მიკრომოლი სუბსტრატის რაოდენობა 1კგ თაფლში.

მოქმედების პრინციპი: pNPG გამოიყენება სუბსტრატის სახით თაფლში საქაროზას რიცხვის განსაზღვრისათვის. pNPG იშლება გლუკოზად, p-ნიტროფენოლად და α-გლუკოზიდაზებად (ინვერტაზა, საქაროზა). pH-ის მაჩვენებლის რეგულირებით 9,5-მდე აჩერებენ ფერმენტულ რეაქციას, და ამ დროს ნიტროფენოლი გარდაიქმნება ნიტროფენოლატის ანიონად, რომელიც შეესაბამება გარდაქმნილი სუბსტრატის რაოდენობას და საზღვრავენ ფოტომეტრის 400 ნმ-ზე.

რეაქტივები:

- ბუფერული ხსნარი (0,1 M; pH=6,0): წყალში ხსნიან 11,66გ. კალიუმის ჰიდროფოსფატს და 2,56გ. ორჩანაცვლებული ნატრიუმის ფოსფატს $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ და ავსებენ 1 ლიტრამდე.
- სუბსტრატის ხსნარი p-ნიტროფენოლი - α - D-გლუკოპირანოზიდი (pNPG) (0,002M): 6,0252გ. pNPG-ს ხსნიან ბუფერულ ხსნარში და მოცულობა მიჰყავთ 1 ლიტრამდე. pNPG წყალში თანაბრად ხსნადია, მაგრამ არ არის სტაბილური. ამიტომ, ხსნიან ბუფერულ ხსნარში 60°C-მდე გაცხელებით, შემდეგ აცივებენ და მოცულობა მიჰყავთ 1 ლიტრამდე. ხსნარი შეიძლება შენახულ იქნეს მაცივარში 1 თვის განმავლობაში რუხი ფერის ქილაში.
- ფიქსირებადი ხსნარის მომზადება(3M; pH=9,5): 363,42გ. ტრის (ჰიდროქსიმეთილ ამინომეთანი) ხსნიან წყალში და მოცულობა მიჰყავთ 1 ლიტრამდე. ხსნარის pH მიჰყავთ 9,5-მდე 3M HCl-ის გამოყენებით.

ხელსაწყოები:

- ფოტომეტრი (400 ნმ);
- წყლის აბაზანა თერმოსტატირებული $40 \pm 0,5^\circ\text{C}$;
- ძლიერი შემრევი, ან მსგავსი;
- pH-მეტრი.

ანალიზის მსვლელობა:

თაფლის ხსნარი: 5გ. თაფლი ბუფერულ ხსნართან ერთად გადააქვთ 25მლ. მოცულობის მზომ კოლბაში და მოცულობა მიჰყავთ ნიშან-ხაზამდე. ეს ხსნარი შეიძლება შენახულ იქნეს მაცივარში 1 დღის განმავლობაში.

სუბსტრატის 5,0 მლ. ხსნარს ათავსებენ სინჯარაში, ან პლასტმასის ჭურჭელში, შემდეგ დგამენ აბაზანაში 40°C-ზე 5 წთ-ის განმავლობაში, თაფლის ხსნარის დამატებამდე. ამატებენ თაფლის ხსნარის 0,50 მლ-ს (დაწყების დრო). ურევენ და ინკუბაციისათვის ათავსებენ 40°C ტემპერატურის პირობებში 20წთ-ით. ამ დროის გავლის შემდეგ უმატებენ მაფიქსირებელი ხსნარის 0,50 მლ-ს და კვლავ აურევენ მჯღრეველათი (ნიმუშის ხსნარი).

შესადარებელი ხსნარის მოსამზადებლად, იღებენ სუბსტრატის ხსნარის 5,0 მლ-ს და ინკუბაციისათვის ათავსებენ 40°C ტემპერატურის პირობებში იმავე პერიოდით. 5წთ-ის გავლის შემდეგ უმატებენ 0,50მლ. ფიქსირებად ხსნარს, ახურავენ საცობს, კარგად აურევენ, ხოლო შემდეგ უმატებენ 0,50მლ. თაფლის ხსნარს. თაფლის ყოველი ნიმუშისათვის ხდება ცალკეული საკონტროლო ხსნარის მომზადება.

საანალიზო ხსნარებს სწრაფად აცივებენ ოთახის ტემპერატურამდე და საზღვრავენ ნიმუშების აბსორბციას 1სმ. სისქის კიუვეტაში 400 ნმ-ზე. მონაცემები დაფიქსირებულ უნდა იქნეს 15წთ-ის შემდეგ ან 1 საათის განმავლობაში, ოპტიკურ სიმკვრივეს საზღვრავენ საკონტროლო ხსნარის მიმართებაში. ($=\Delta A_{400}$).

განგარიშება და მონაცემების გამოსახვა:

ანალიზისას წარმოქმნილი p-ნიტროფენოლის რაოდენობა μM შეესაბამება სუბსტრატის რაოდენობას μM . აქედან გამომდინარე, თაფლის ინვერტაზული აქტივობა ოპტიკური სიმკვრივის განსაზღვრით 400ნმ-ზე და გამოისახება ერთეული კგ-ში.

$$1U / kg = \frac{1 \mu mol \text{ p - NPG}}{\text{minutes} \times \text{kg honey}}$$

$$\begin{aligned} \text{Invertase in U/kg} &= 6 \times 0.05 \times 0.05298 \times 10^4 \times \Delta A_{400} \\ &= 158.94 \times \Delta A_{400} \end{aligned}$$

სადაც:

- 1U - საერთაშორისო ერთეული, რომელიც გამოიყენება 1 μM სუბსტრატის დასაშლელად 1წთ-ში;
- 6 - კოეფიციენტი მლ საანალიზო ხსნარისათვის გამოიყენება (საერთო მოცულობით);
- 0,05 - გამოსახავს რეაქციის დროს 20წთ-დან 1წთ-მდე;
- 10⁴ - გამოსახავს თაფლის რაოდენობას, აღებული 1კგ-დან (0,1გ 0,5მლ-ში);
- 0,05298 - 7,37/139,11. მკგ-ის მიკრომოლი/მლ-ში გადაყვანის კოეფიციენტი, სადაც 7,37-კოეფიციენტია p-ნიტროფენოლისა ცხრილის შესაბამისად; 139,11 კი p-ნიტროფენოლის მოლეკულური მასაა.

ინვერტაზას აქტივობას გამოსახავენ, როგორც ინვერტაზულ რიცხვს. (IN).

IN მიუთითებს საქაროზის რაოდენობაზე, რომელიც იშლება 100 გ თაფლში არსებული ფერმენტებით 1 საათის განმავლობაში ანალიზით გათვალისწინებულ პირობებში (Hadorn 2).

თუ ინვერტაზული აქტივობა განისაზღვრება ერთდროულად ზემოთ აღწერილი მეთოდითა და პოლარიმეტრული მეთოდით Hadorn-ისა და სხვათა მიხედვით, მაშინ შედეგებს შორის IN და ΔA შემდეგი დამოკიდებულებაა:

$$IN = 21,64 \times \Delta A_{400}$$

21,64–კოეფიციენტია ინვერტაზული რიცხვის ხაზოვანი დამოკიდებულების ოპტიკური სიმკვრივის მიმართ.

სიზუსტე:

თაფლის საერთაშორისო კომისიის დასკვნა 19 ლაბორატორიის კვლევის საფუძველზე 4 სხვადასხვა თაფლზე (აკაციის, ყვავილოვანი წაბლის).

<i>ინვერტაზას რიცხვი (საშუალო)</i>	<i>r</i>	<i>R</i>
6.5	0.26	1.8
7	0.33	1.2
9.4	0.48	1.8
17.7	0.58	1.3

2.7. პროლინის განსაზღვრა

გამოყენების სფერო : ეს მეთოდი შეიძლება გამოყენებულ იქნეს თაფლის ყველა ნიმუშთან მიმართებაში. პროლინის შემცველობა წარმოადგენს თაფლის ხარისხის განმსაზღვრელს და ფალსიფიცირების მაჩვენებელს, როცა მაჩვენებელი განმსაზღვრელზე დაბალია.

განსაზღვრა : პროლინის შემცველობა განისაზღვრება, როგორც ნინჰიდრინით გამოწვეული შეფერილობა პროლინის სტანდარტთან მიმართებაში და გამოისახება მგ/კგ თაფლში.

მოქმედების პრინციპი : პროლინი და ნინჰიდრინი წარმოქმნის შეფერილ კომპლექსს. 2-პროპანოლის დამატების შემდეგ ნიმუშის ხსნარის შეფერილობა მცირდება და ისაზღვრება ეტალონ ხსნართან მიმართებაში შესაბამის ტალღაზე, მაქსიმუმი შთანთქმით. პროლინი შემცველობა გამოითვლება თანაფარდობით. მეთოდი დაფუძნებულია Ough ორიგინალურ მეთოდზე.

რეაქტივები:

- გამოყენებულ უნდა იქნეს ანალიზური სისუფთავის რეაქტივები.
- წყალი უნდა იყოს დისტილირებული.
- ჰიანჰველმჟავა (HCOOH) 98-დან 100%-მდე;
- ნინჰიდრინის ხსნარი ეთილენ გლიკოლის მონომეთილ ეთერში (Methylcellosolve) 3% მოცულობის მიხედვით;
- პროლინის ეტალონური ხსნარი: მზადდება პროლინის საწყისი წყლიანი ხსნარით 40მგ/50 მლ-ში კონცენტრაციით. განზავებულ ხსნარს ამზადებენ საწყისი ხსნარიდან - 1მლ-ს ათავსებენ 25მლ მოცულობის მზომ კოლბაში და ავსებენ წყლით, რომელიც შეიცავს 0,8 მგ/25მლ 2-პროპანოლს, 50 % მოცულობითი წილი წყალში.

ხელსაწყოები:

- სპექტროფოტომეტრი - 500-520 ნმ-ის დიაპაზონით;
- კიუვეტა - 1სმ სისქის;
- სინჯარები ხრახნიანი თავით, ან საცობით;
- 20მლ მოცულობის მზომი კოლბები;
- 100მლ მოცულობის წყლის აბაზანა.

ანალიზის მიმდინარეობა : ნიმუშის მომზადება - საჭიროებისამებრ ნიმუში უნდა მომზადდეს „ნიმუშის აღებასა და საერთო შენიშვნების მეთოდის მიმართ“ მიხედვით.

საანალიზო ნიმუშის ხსნარის მომზადება : 5გ. თაფლს ხსნიან 50მლ. წყალში, რომელიც რაოდენობრივად გადააქვთ 100მლ. მოცულობის მზომ კოლბაში. წყლით ავსებენ ნიშან-ხაზამდე (საჭირო მოცულობამდე) და კარგად აურევენ.

განსაზღვრა: ექსისტენციის კოეფიციენტი არ არის მუდმივი სიდიდე. აქედან გამომდინარე, ანალიზის ყოველ ჯერზე პროლინის სტანდარტული ხსნარისათვის ექსისტენციის კოეფიციენტის საშუალო მნიშვნელობა, განსაზღვრულ უნდა იყოს არა უმცირეს სამი მონაცემით

პიპეტით იღებენ საანალიზო ხსნარის 0,5მლ-ს პირველ სინჯარაში, წყლის 0,5მლ-ს მეორე სინჯარაში და პროლინის სტანდარტულ ხსნარის 0,5მლ-ს მესამე სინჯარაში. თითოეულ სინჯარას უმატებენ 1მლ. ჭიანჭველმჟავას და 1მლ. ნინჰიდრინის ხსნარს. სინჯარებს ახურავენ საცობს და ენერგიულად ანჯღრევენ 15 წთ-ის განმავლობაში. შემდეგ ათავსებენ მდულარე წყლის აბაზანაში 15 წთ-ით, ისე რომ, სრულად იყოს ჩაძირული ხსნარი წყალში. ამ დროის გავლის შემდეგ ისევ აჩერებენ წყალში 10 წთ-ით, ოღონდ 70°C-ზე. შემდეგ თითოეულ სინჯარას ამატებენ 5მლ. 2-პროპანოლის წყლიან ხსნარს, ახურავენ საცობს და ტოვებენ გასაცივებლად. აბაზანიდან (70°C) ამოღების შემდეგ, 45 წუთში საზღვრავენ ოპტიკურ სიმკვრივეს 510 ნმ-ზე, 1სმ. სისქის კიუვეტას გამოყენებით.

შენიშვნა: ზემოთ ჩამოთვლილ ყველა პროცედურის გათვალისწინებას გადამწყვეტი მნიშვნელობა აქვს.

გამოთვლა:

პროლინის შემცველობა მგ/კგ თაფლში მძიმეს შემდეგ ერთი ციფრის სიზუსტით

$$\text{პროლინი(მგ/კგ)} = E_s / E_a * E_1 / E_2 * 80$$

სადაც:

- E_s - საანალიზო ხსნარის აბსორბცია;
- E_a - პროლინის სტანდარტული ხსნარის აბსორბცია (ორი გაზომვის საშუალო);
- E_1 - მგ. პროლინის მასა აღებული სტანდარტული ხსნარისათვის;
- E_2 - თაფლის მასა გ-ში;
- 80 - განზავების ფაქტორი.

სიზუსტე:

R და r მნიშვნელობები, მიღებულ იქნა Din-ის კვლევის ფარგლებში.

<i>პროლინი (საშუალო) მგ/კგ</i>	<i>r</i>	<i>R</i>
171	6.6	16.3
289	12.7	18.4
762	24.4	58.4

2.8. შაქრების განსაზღვრა.

გამოყენების სფერო : მეთოდი განსაზღვრავს ფრუქტოზას, გლუკოზას, საქაროზას, ტურანოზას და მალტოზას თავლში, რომლისთვისაც მიღებული იქნება ზუსტი მნიშვნელობები. ის ისევე შეიძლება გამოყენებული იქნეს, სხვა შაქრების რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის, ისეთის როგორცაა: მელესტაზა, ერილაზა, იზომალტოზა, რიფინოზა და სხვა.

განსაზღვრა : თითოეული შაქრის წილი განისაზღვრება, როგორც წილი გაანგარიშებული მეთოდის მიხედვით.

მეთოდის არსი : ეს მეთოდი დაფუძნებულია ბოგდანოვისა და ბაუმანის მიერ მოწოდებული პირველად მეთოდზე თავლის ხარისხის განსაზღვრა, შემდეგ შაქრების შემცველობას განსაზღვრავენ HPLC-თი, რეფრაქტომეტრული დეტექტორით. პიკების იდენტიფიცირება ხორციელდება მათი შეკავების დროის მიხედვით. საანალიზო ნიმუშებში ნივთიერების რაოდენობრივი გაანალიზება ხორციელდება სტანდარტული პიკების მიხედვით.

რეაქტივები:

- აუცილებელია გამოყენებული იქნეს ანალიზური სისუფთავის რეაგენტები;
- წყალი უნდა იყოს გამოხდილი ან უნდა ჰქონდეს ექვივალენტური შემადგენლობა;
- მეთანოლი HPLC-ის;
- აცეტონიტრილი HPLC-ის.

გაფრთხილება: აცეტონიტრილი წარმოადგენს საშიშ ნივთიერებას.

ელუენტი სითხური ქრომატოგრაფირებისათვის: ელუენტის მომზადებისათვის 80 წილ აცეტონიტრილს უმატებენ 20 წილი წყალს. ხსნარს ფილტრავენ გამოყენებამდე.

სტანდარტული ნივთიერებები: ფრუქტოზა, გლუკოზა, საქაროზა, ტურინოზა, მელეციტოზა, რაფინოზა და იზომალტოზა.

სტანდარტის მომზადება: 100 მლ მოცულობის კოლბაში შეაქვთ 25 მლ მეთანოლი, შემდეგ ცხრილში მოცემული მონაცემების მიხედვით შაქრების რაოდენობა.

ფრუქტოზა - 2,000გ.

გლუკოზა - 1,500გ.

საქაროზა- 0,250გ.

ტურინოზა- 0,150გ.

მალტოზა- 0,150გ.

და მოცულობა კოლბაში წყლით მიჰყავთ ნიშან ხაზამდე.

ქრომატოგრაფირებისათვის ნიმუშებს ატარებენ მემბრანულ ფილტრში.

სტანდარტული ხსნარები სტაბილურები არიან 4 კვირის განმავლობაში 4°C-ზე და 6 თვის განმავლობაში - 18°C-ზე.

ხელსაწყოები:

საანალიზო სინჯარები;

ულტრაბგერითი აბაზანა;

100 მლ მოცულობის მზომი კოლბები;

მემბრანული ფილტრები, 0,45 მკმ ზომის;

მაღალი ეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი, რომელიც აღჭურვილია ტუმბოთი და თერმოსტატით, რეფრაქტომეტრული დეტექტორით 30°C-ზე 4,6 მმ დიამეტრის და 250 მმ სიგრძის ანალიზური სვეტით, რომელიც შეიცავს ამინომოდულიფიცირებულ სილიკაგელს, 5-7 მკმ ზომის ნაწილაკებით.

შენიშვნა: ქრომატოგრაფირება შეიძლება განხორციელდეს ოთახის ტემპერატურის პირობებში, მაგრამ ერლოზასა და მელიციტოზის დაყოფა ამ შემთხვევაში შეუძლებელია.

მიმდინარეობა:

ნიმუშის მომზადება: თაფლის ნიმუშის მომზადება ხდება ნიმუშის ალებისა და მეთოდის მიმართ საერთო შესწორების მიხედვით.

საანალიზო ნიმუშის მომზადება: 5 გ თაფლის ნიმუშს ხსნიან 40 მლ. წყალში, წყალხსნარი რაოდენობრივად გადააქვთ 100მლ. მზომ კოლბაში და უმატებენ 25 მლ. მეთანოლს და კოლბის მოცულობა გამოხდილი წყლით მიჰყავთ ნიშან ხაზამდე. საანალიზოდ მომზადებულ ნიმუშს ფილტრავენ მემბრანულ ფილტრში და შემდეგ აგრძელებენ ქრომატოგრაფირებას.

თუ ანალიზისათვის გამოიყენება ზემოთ მოცემული სვეტი, მაშინ მოძრავი ფაზის სიჩქარე უნდა იყოს 1,3მლ/წთ

მოძრავი ფაზა:

- აცეტონიტრილი: წყალი (80:20);
- სვეტისა და დეტექტორის ტემპერატურა 30°C-ზე;
- ნიმუშის მოცულობა: 10 მკლ

განგარიშება და შედეგების გამოთვლა.

თაფლის შაქრების იდენტიფიცირება და რაოდენობრივი განსაზღვრა ხორციელდება სტანდარტულ ნივთიერებათა შეკავების დროისა და პიკის ფართობის მიხედვით შაქრების მასური წილი W, განისაზღვრება ფრუქტოზის, გლუკოზის, მალტოზისა და ა.შ. გ/100გ შემდეგი ფორმულის მიხედვით.

(შიდა სტანდარტული

$$W = \frac{A_1 \cdot V_1 \cdot M_1 \cdot 100}{A_2 \cdot V_2 \cdot M_2}$$

სადაც:

- A₁- პიკის ფართობი;
- A -პიკის სიმაღლე;
- V₁- ნიმუშის საერთო მოცულობა;
- V₂- სტანდარტული ხსნარის საერთო მოცულობა მლგ.
- M₁- შაქრების მასური რაოდენობა გ-ში, სტანდარტულ საერთო მოცულობაში;
- M₂- ნიმუშის მასა

შედეგები მრგვალდება მძიმედან ერთი ნიშნით.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. OIV. COMPENDIUM OF INTERNATIONAL METHODS OF WINEAND MUST ANALYSIS. (2016) VOLUME 1. <http://www.oiv.int/public/medias/2624/compendium-2016-en-vol1.pdf>
2. OIV. COMPENDIUMOF INTERNATIONALMETHODS OF WINEAND MUST ANALYSIS.(2016) VOLUME 2 . http://www.gie.uchile.cl/pdf/GIE_legislacion/Metodos%20Analisis_Vol.2.pdf.
3. HARMONISED METHODS OF THE INTERNATIONAL HONEY COMMISSION. (2009). <http://ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf>