

**DIE ONTSTAAN EN VOORKOMS VAN GLISERIEN
BY DIE GISTING VAN DRUIWEMOS.**

Deur P.J. Venter.



Verhandeling ingelewer ter verkryging
van die M.Sc. in Landbou Graad
aan die Universiteit van Stellenbosch.

Desember 1955.

DANKBETUIGING.

Ek bedank hiermee my Dosente

Professor C.J. Theron en

Mnr. C.T. de Waal

vir leiding, hulp en kritiek in verband
met hierdie verhandeling, asook die K.W.V.
vir die beskikbaarstelling van monsters.

**DIE ONTSTAAN EN VOORKOMS VAN GLISERIEN
BY DIE GISTING VAN DRUIWEMOS.**

INHOUDSOPGAAF.

Bladsy.

HOOFSTUK I.

1

Inleiding.

(a) Eienskappe van Gliserien.

(b) Die Ekstrakgehalte van Mos en Wyn.

HOOFSTUK II.

8

Literatuuroorsig.

(a) Algemene Giskunde.

(b) Die Ontstaan van Gliserien.

HOOFSTUK III.

21

Die Onderzoek.

A. Doel.

B. Ontledingsmetodes.

C. Materiaal en Tegniek.

**D. Proewe uitgevoer om die Invloed van
Verskillende Faktore op Gliserien-
vorming na te gaan.**

1. Die Invloed van Gisras.

2. Die Invloed van SO₂-konsentrasie en pH.

3. Die Invloed van Suikerkonsentrasie.

4. Die Invloed van Alkoholkonsentrasie.

5. Die Invloed van Gliserienkonsentrasie.

6. Die Invloed van Fosfaatgehalte.

7. Die Invloed van Gistingstemperatuur.

**E. Onderzoek na Verdere Aspekte van
Gliserienvoorkoms.**

1. Die Alkohol-Gliserien Verhouding.

2. Stokery-afval.

HOOFSTUK IV.

67

Samevatting en Gevolgtrekkings.

LITERATUURLYS.

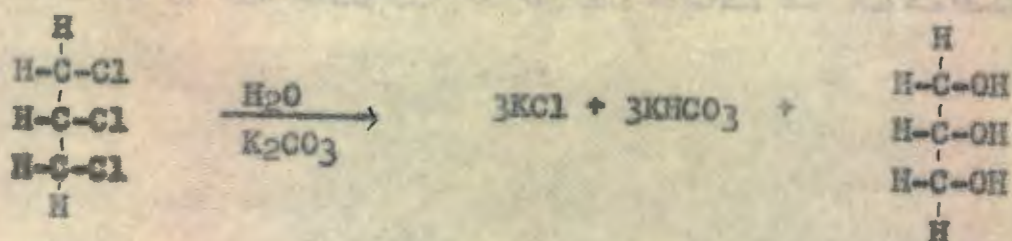
HOOFSTUK I.INLEIDING.A. Eienskappe van Gliserien.

Gliserien (gliserol, 1, 2, 3 propaandriol) is volgens Karrer (1946) en Wertheim (1951) 'n kleurlose stroopagtige vloeistof, die ontdekking en vroeëre ondersoek waarvan teruggevoer kan word tot Scheele (1742-1786), Berthelot (1748-1822) en Wurtz (1817-1884). Soos glikol en ander polihidroksi-alkohole besit dit 'n soet smaak. Die hoedanighede van gliserien is sodanig dat dit wye gebruik in die aptekerswese en ander industrieë geniet, b.v. as 'n versoetingsmiddel en in die bereiding van nitrogliserien, sekere plastiese stowwe, parfumes, ens. Dit is nie-toksies en het 'n kookpunt van 290°C . Absoluut rein gliserien kristalliseer uit by baie sterk afkoeling en smelt dan weer by 17°C .

Die kommersiële vervaardiging van hierdie stof berus op die hidrolise van vette (dit is esters van palmitien, stearien en ander sure en gliserol). Weens 'n kroniese gebrek aan vet het Duitsland gedurende Wêreldoorlog No. 1, groot hoeveelhede van genoemde verbinding biologies vervaardig deur die gisting van suiker. Onder normale omstandighede kan laasgenoemde proses nie kompiter met eersgenoemde nie.

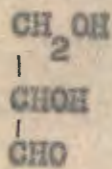
L. en B. glisero-fosfate kom ook voor in lesitien en ander fosfatiede.

Die struktuur van gliserol word bekragtigt deur verskeie sintetiese bereidingsmetodes soos b.v. die bereiding van uit trichloor propaan :-

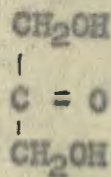


As 'n driewaardige alkohol is gliserien in-
staat om mono-, di- en tri-esters en eters te vorm waar-
van die mono- en di-asielderivate sowel as die ooreen-
stemmende eters in isomeriese vorms kan bestaan.

Daar word heelwat gewig verleen aan die stowe
wat heeleerste ontstaan wanneer gliserien onderwerp word
aan 'n milde oksideermiddel, b.v. atmosferiese suurstof.
Hierdie oksidasie kan so gereël word dat slegs een OH-
groep (primêr of sekondêr) aangetas word. Gliseriel-
aldehyede en dihidroksi-aseton word gevorm. Hierdie
twee verbindings is die eenvoudigste aldose en ketose
respektiewelik en is die voorloper_s van die koolhidrate.

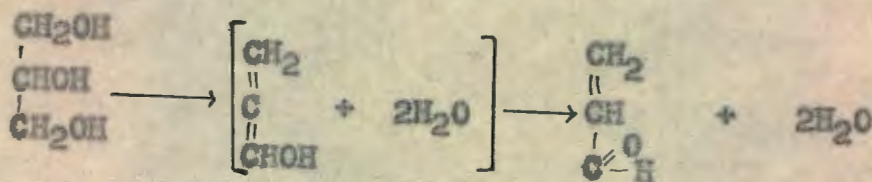


Gliserielaldehyede.



Dihidroksi-aseton.

Die eenvoudigste onversadigde aldehyede is
akroleiene en dit word geredelik berei deur die verhitting
van gliserien met 'n dehidreerende stof soos b.v. kalium-
bisulfaat.



Hierdie gevormde onversadigde aldehyede is 'n
helder vloeistof met 'n uiters onaangename reuk.

Volgens Karrer (1946) word 'n vet of gliseriede
gedefinieer as 'n ester van gliserol en die hoër of middel
vetsure.

Volgens MacLean (1936) word die sintese van
gliseriedes uit gliserien en vetsure bewerkstellig deur
'n groep ensieme bekend as die lipases wat baie wye ver-
spreiding in plant- en dierweefsel geniet. Laasgenoemde
ensieme is ook verantwoordelik vir die hidrolise van
gliseriedes.

B. Die Ekstrakgehalte van Mos en Wyn.

Van der Heide (1922) beskryf die totale ekstrakgehalte van 'n mos of wyn as daardie gedeelte van die mos of wyn wat by verhitting tot 100°C nie vlugtig is nie. By verhitting tot 100°C verdamp uit ongegiste mos hoofsaaklik water, terwyl uit wyn hoofsaaklik alkohol en water verdamp. Verder verdamp uit wyn ook stowwe met hoër kookpunte as die van water, b.v. asynsuur (kookpunt 118°C) en melksuur (kookpunt 119°C) alhoewel die verhittingstemperatuur baie streng op nie hoër nie as 100°C gekontroleer mag wees. Hieruit kan dus afgelei word dat dit moeilik sou wees om 'n konsekwente ekstrakbepaling te baseer op b.v. 'n metode waar eers verhit word tot 100°C vir 'n tyd en dan daarna geweeg word. Derhalwe word die indirekte metode (soortlike gewig) aangewend vir die meer akkurate bepaling van ekstrak by mos en wyn.

Amerine en Joslyn (1941) wys in hul teorie van distillasie daarop dat sodra 'n oplossing soos wyn wat bestaan uit 'n heel aantal vloeistowwe, vasste stowwe (indien hul vry sou bestaan) en gasse, verhit word, kan sekere stowwe soos b.v. gliserien en asynsuur begin verdamp lank voor hul onderskeie kookpunte bereik is. Die relatiewe vlugtigheid, stoomvlugtigheid, konsentrasie, mengbaarheid, kookpunt en moontlik ander faktore bepaal tot welke mate 'n komponent van 'n oplossing in laasgenoemde se damp sal te voorskyn tree tydens verhitting.

Die totale ekstrakgehalte van 'n wyn sal dus beter omskryf word deur te sê dat dit die gesamentlike gewig van daardie verbindings van 'n wyn is, wat indien hul afsonderlik suiwer sou bestaan, kookpunte sou toenemend 100°C by 760 m.m. Hg. druk.

Die totale ekstrakgehalte van 'n mos of wyn sluit in droë ekstrakgehalte en die suikergehalte.

By 'n absoluut droog gegiste wyn is die totale ekstrakgehalte en die droë ekstrakgehalte dieselfde. In wyne kan daar tot ongeveer een persent materiaal, uitgesonderd die gisbare suiker, te voorskyn tree wat Fehling se reagens reduseer en dus as invert suiker aangedui word - die sogenaamde "ongisbare suikers" wat hoofsaaklik pentoses, hoër suikers en kleurstowwe insluit. Laasgenoemde ekstrak gedeelte behoort dus streng genome van die droë ekstrakgehalte afgetrek te word om die werklike "suikervrye" of "droë" ekstrak aan te dui in die geval van 'n droë wyn. Die kleurstowwe is weliswaar nie suikers nie maar volgens Von der Heide (1922) is hul glukosiede wat gedeeltelik kan hidroliseer om onder andere glukose te lewer.

Hieronder volg 'n ontleding van 'n Pearl of Czaba soet mos voor gisting, asook die ontleding van die klaargegiste wyn afkomstig uit die mos en gegis in die laboratorium met:

1. K.W.V. "Wit gis",
2. Ras P.,
3. Ras 13 en
4. Flor.

TABEL I.

	Alkohol Vol. %	S.G.	Totale ekstrak- gehalte g./L.	Invert- suiker g./L.	Ekstrak gedeelte nie- Fehling reducer- ende g./L.	Vluchtige Suur g./L.	Glycerien g./L.
Oorspronk- like Mos	0.00	1.0666	175.6	154.7	18.9	0.08	0.0
Klaar- gegiste Wyn. 1.	9.28	0.9923	21.6	3.6	18.0	0.45	10.0
2.	9.55	0.9918	18.7	1.1	17.6	0.55	8.0
3.	9.55	0.9920	17.9	0.8	17.1	0.63	6.2
4.	9.58	0.9925	20.8	3.7	17.1	0.50	8.5

Die

Die nie-Fehling-reducerende of "suikervrye" ekstrak gedeelte van die klaargegiste wyn verskil wat die blote syfer betref nie veel van die "suikervrye" ekstrakgehalte van die oorspronklike ongegiste mos nie. Uit Tabel 1 blyk dit dat vir die eerste voorbeeld onder bespreking, die twee waardes 18.9 gm./liter en 18.0 gm. per liter onderskeidelik voor en na gisting bedra het. Hieruit mag miskien oppervlakkig afgelei word dat die nie Fehling-reducerende ekstrakstowe gedurende die gisting geen verandering ondergaan nie - sodanige aanname sou nie juis wees nie.

Daar tree geheel nuwe stowe in die wyn te voorskyn soos b.v. gliserien, barnsteensuur en hoër alkohole wat nou almal deel vorm van die droë ekstrak. Oorspronklike bestandele van die droë ekstrak wat uitgeskei of gedeeltelik uitgeskei raak gedurende gisting sluit in stowe soos wynsteen, kalsiumtartraat en ander mineraalverbindings wat geleidelik minder oplosbaar raak namate meer alkohol gevorm word gedurende die gistingsproses. Namate die temperatuur van die gistende massa teen die einde van die gisting weer tot normaal begin terugkeer sal sekere stowe ook minder oplosbaar word. Laasgenoemde argument geld nie soseer vir die klein hoeveelheid mos wat stadig in die laboratorium gegis word nie as vir die groter hoeveelhede van die praktyk nie.

Gedurende gisting, as gevolg van verdamping van alkohol, kooldsuurgas en water, vind daar ook 'n afname plaas in die totale absolute gewig van die gistende massa met 'n ooreenstemmende toename in konsentrasie van die ekstrakstowe.

Giste gebruik vir hul normale lewensverrigtinge ook sekere droë ekstrakbestandele soos sure, minerale en stikstofverbindings.

Von der Heide (1922) beweer ook dat sekere onbekende ekstrakstowwe op onbekende wyse minder gedurende die gisting raak.

Uit die ontledingsresultate in Tabel 1 sal opgemerk word dat die klaargegiste wyn No. 1. 0.45 gm. per liter vlugtige suur (bereken as asynsuur) bevat, teenoor die 0.08 gm. per liter van die oorspronklike mos. Die soet mos het volgens ontleding geen gliserien bevat nie. Volgens die werk van Hagen Smit, Hirosewa en Wang (1949) word daar ook ondubbelsinnig bewys dat daar geen gliserien voorkom in vars Zinfandel druiwe nie. Die klaargegiste wyn egter het 'n gliseriengehalte getoon van 10.8 gm. per liter. Dit wil sê uit 'n nie Fehling reduserende res van 18.9 gm. per liter het tenminste een helfte (die gliserien plus die toename in vlugtige suur bedra saam 11.17 gm.) uit die mos verdwyn terwyl dit gelyktydig weer aangevul is.

Wat die toename of afname van die ekstrakstowwe gedurende veroudering en kelderbehandeling betref, kan gemeld word dat ook hier die wynsteen, eiwit en ander uitskeidings wat gedurende veroudering plaasvind, 'n afname in ekstrakgehalte veroorsaak. Die toepassing van brei, filtrasie en stabilisasie, ens., dra ook hul deel by tot 'n daling in ekstrakgehalte. Die opname van stowwe vanuit die hout, (wanneer wyne in hout kleë is) die vermeerdering van vlugtige suur en die konsentrasie as gevolg van verdamping, veroorsaak 'n toename. Meentlik word ook deur die oksidasie van sekere ekstrakstowwe, tydens veroudering, 'n invloed uitgeoefen op die ekstrakgehalte. Die biologiese suur-afbou wat 'n inherente fase behels gedurende die uitbou van baie wyne, veral vanuit koue wynstreke afkomstig, veroorsaak 'n duidelike afname in ekstrakgehalte. Een gram appelsuur lewer teoreties 0.67 gram melksuur - in die praktyk is dit waarskynlik nog iets minder.

Welgevallen

Welgevallen Soet Wit en Rooi wyn gemaak in 1952 het geen waarneembare toename of afname in gliseriengehalte getoon na onderskeidelik een en twee jaar veroudering in stukvate nie. Dieselfde is ook gevind in monsters van gecoende wyn wat vir 'n periode van een jaar bottelverouder is. 1945 Welgevallen Droë Rooi wyn (1950 gebottel) wat in 1952 vir die eerste maal ontleed is vir gliserien het geen waarneembare verandering 'n jaar later in gliseriengehalte getoon nie.

Sover dit ontledings raak wat in die loop van hierdie ondersoek in dié opsig gemaak is, kan gesê word dat die nie-Fehling-reduserende ekstrakgehalte van die klaar wyn net na gisting altyd ietwat laer is as dié van die oorspronklike mos.

Dit blyk dat gliserien numeries die grootste enkele komponent van die "suikervrye" ekstrak van 'n normale Suid-Afrikaanse droë wit wyn uitmaak.

HOOFSTUK II.LITERATUURORSIG.A. Algemene Giskunde.

Hier word nie gepoog om uit die literatuur die ganse geskiedenis van die giskunde vanuit sy eie "gistende" toestand van eeue gelede tot op die hede te dek nie, maar intedeel, slegs om in breë trekke aan te dui welke verandering die uitkyk op die begin-, tussen- en eindprodukte van die alkoholiese gisting (en in seker opsigte meer bepaald die wyngisting), deur die jare heen, ondergaan het.

Volgens Schanderl (1950) het die beroemde lens-slyper van Leeuwenhoek (1687) ook wyn ondersoek en reeds die Botrytis-swam en sekere kristalle wat in wyn mag voorkom, beskrywe. Vroeëre ondersoekers het hul slegs bepaal by die begin- en belangrikste eindprodukte van die alkoholiese gisting.

Gedurende die sewentiende eeu het Willis en Stahl (aangehaal Schanderl 1950), gisting beskrywe as "in wese 'n vibrasie wat saamval met die afbou van sekere stowwe". Verder het hul verrotting en gisting as dieselfde proses bestempel. Spallanzani en Scheele (aangehaal Schanderl 1950) bewys met 'n reeks skerpsinnige eksperimente dat gekookte vleisekstrak nie bederf nie.

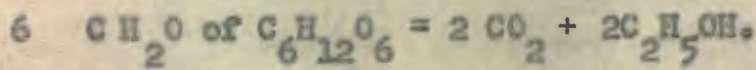
Black (aangehaal Schanderl 1950), gedurende die agtiende eeu, beweer dat alkohol en koolsuurgas die enigste produkte van alkoholiese gisting is.

Lavoisier (aangehaal Schanderl 1950) beaan aan die einde van die agtiende eeu in sy "Memoire sur la Fermentation Spiritieux" dat alkohol en koolsuurgas die belangrikste produkte van alkoholiese gisting is maar hy bewys ook die teenwoordigheid van 'n derde, naamlik asynsuur.

Gay Lussac (aangehaal C.N. Frey 1930) ondersoek Lavoisier se bevindinge en stel sy beroemde stochiometriese

formule

formule daar:-



Thenard (aangehaal C.N. Frey 1930) beskryf in 1803 "gis as die ware oorsaak van alkoholiese gisting", terwyl Berzelius en Justus von Liebig bly vaskleef aan die ou Willis-Stahl teorie van 150 jaar gelede, naamlik dat gis geen deelname in gisting het nie. Ongeveer hierdie tyd word die naam Saccharomyces wat beteken "suikerswam" aan giste gegee deur die Berlynse botanis Meyen (aangehaal Schanderl 1950).

Liebig en Wöhler as die toonaangewende skeikundiges van hul tyd, dryf selfs in hul hoogheid die spot met die nuwere opvattinge insake gisting. Dit was hier 'n geval van 'n ou gevestigde leer, die sogenaamde "vitalistiese teorie", gehuldig deur 'n baie sterk outokratiese skool, wat moes plek maak vir 'n baie deeglik bewese nuwere opvatting.

Nou volg Pasteur as die belangrike figuur op die toneel - sy geestelike gestalte is sekerlik niks kleiner as die van Liebig nie. In 1858 publiseer hy sy werk op melksuurgisting. In 1863 het die Franse Keiser hom ontbied om te help met die probleme van die wynbereiding en in hierdie verband publiseer hy sy "Etudes sur la Vin" in 1865. Verder verskyn van hom in 1876 sy "Etudes sur la Biere". Wat algemene wetenskaplike praktyk betref, byvoorbeeld sterilisasie en pasteurisasie, het Pasteur se werk groot omwenteling tot gevolg gehad wat sigself egter nie soseer op wynbougebied laat geld het nie (Schanderl 1950). Hy is egter die eerste man wat benewens alkohol en koolsuurgas ook gliserien en barnsteensuur as gistingsprodukte aangedui het.

Die Deense botanis, Emil Hansen (aangehaal Schanderl 1950), verdien die eer vir grondleggende werk in verband met gistingstegniek. Hy is die eerste man wat die

term "rein kultuur" gebruik het - selfs Pasteur het dit nie gedoen nie. Die term "ras" met betrekking tot giste is ook eerste deur hom daar gestel en die seleksie van gis, ter verkryging van 'n beter produk, is deur hom benadruk. Daar het weereens 'n vlaag skeptisisme vir hom, soos ook vir so baie baanbrekers op dié gebied voor hom, ontmoet.

Vanaf 1880 tot 1890 het Muller-Thurgau en Wortman (aangehaal Schanderl 1950), Hansen se werk aangepas by die Enologie. Hul het begin met 'n planmatige studie van wyngisting, wilde giste, rein gis en biologiese suurafbou. Hul word die pioniers op die gebied van die wyngis-sistematiek. As gevolg van veral Wortman se bewering vir "reiner" giste, word Geisenheim in 1894 gestig. Muller-Thurgau, Wortman, Aderhold en Meisner is saam verantwoordelik vir die wetenskaplike basis van die wyngiskunde.

Vanaf kort voor 1900 begin wat genoem mag word die moderne fase van die gistingswetenskap wat ingelui word in 1895 deur Emil Fischer met sy afskeiding van die ensiem invertase gevolg deur sy latere afskeiding van ook ander ensieme. Die epogmakende werk van Eduard Buchner (aangehaal Arthur Harden 1914, en Karrer 1945) in 1897 met gisvrye selsap en die simase-kompleks dui 'n belangrike mylpaal in die geskiedenis van die gistingswetenskap aan. Deur gisselle saam met fyn steriele sand te maal het Buchner daarin geslaag om van die gisselwande te breek en daarna van die selekstrak af te filtreer. Traube (aangehaal Schanderl 1950) het reeds in 1858 die moontlikheid van 'n ferment of fermentkompleks, soos dié aangedui deur Buchner, bespreek.

Die chemiese en "vitalistiese" teorieë van voorheen is dus uiteindelik tog met mekaar versoen.

Harden en Young (aangehaal Harden 1914) toon in 1905 die onontbeerlikheid aan van fosfate by alkoholiese gisting.

Muller-Thurgau en Koch (aangehaal Schanderl 1950) bewys dat bakterieë verantwoordelik is vir die biologiese suurafbou, terwyl Seifert (aangehaal Schanderl 1950) hierna publikasies die lig laat sien oor die mis van wyn asook oor die wynsteensuur-gliserol vernietiging.

Kroemer en Krumbholz (1922) aangehaal in 'n persoonlike kommunikasie van Schanderl, bespreek die invloed van SO_2 op gisting.

In 1933 tree Russiese onoloë vir die eerste maal op die voorgrond met hul werk op 'n Flor-tipe gis in Armenië.

Winge en Lautsen (1937) verwerf ^{roem} vir die Carlsberg laboratorium in Kopenhagen deur die gis-hibriedes wat hul voortgebring het nadat hul die eerste was om geslagtelike verskille by sekere giste aan te toon.

Vanaf omstreeks die tyd voor Wêreldoorlog No. 1, het verskeie werkers sisteme begin daar stel waarmee daar getrag is om die meganisme van alkoholiese gisting te verklaar. So bestaan daar alreeds sisteme opgestel deur Neuberg, Harden en Young, Warburg, Wieland, Christian, Meyerhof, Schulz, Kluyver en Stråyk, Lebedev, Bayer en Embden en ander. Dit sou onnodig wees om hierdie sisteme almal te probeer weergee.

B. Die Ontstaan van Gliserien.

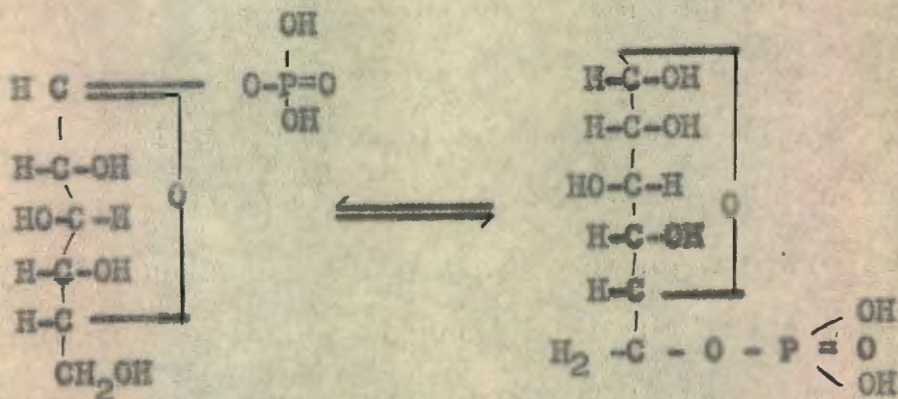
Hier word getrag om volgens die moderne werke van Prescott en Dunn (1949), Dutcher, Jensen en Althouse (1951) en Harrow (1950) kortliks weer te gee wat beskou kan word as die mees aanneemlike voorstelling van die alkoholiese gisting. Genoemde skema is tot 'n baie groot mate alreeds proefondervindelik gestaaf.

Glukose

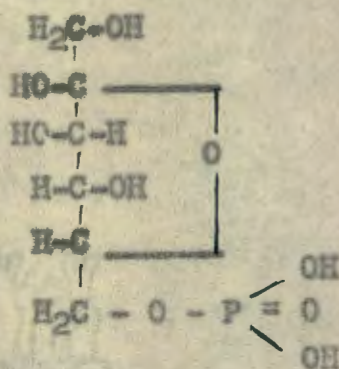
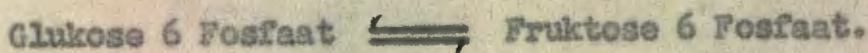


In bogenoemde reaksie is fosforilase die vernaamste ensiem en adenielsuur as ko-ensiem die katalisator.

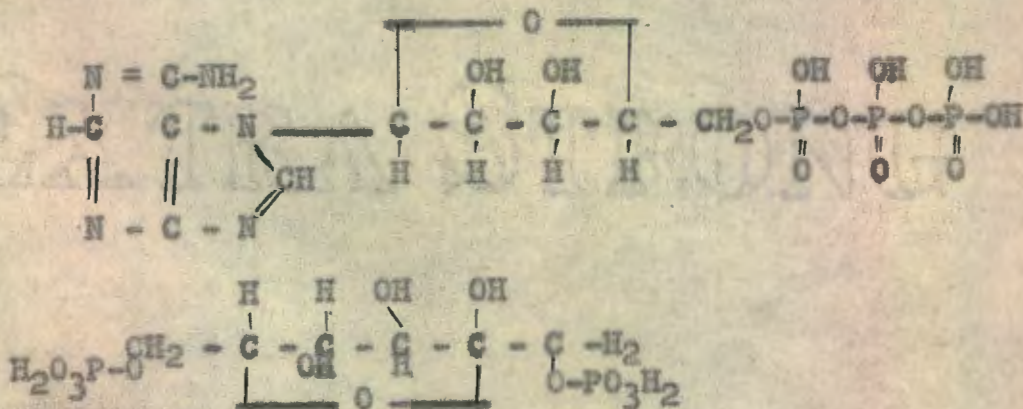
Fosfoglukomutase verander glukose 1 fosfaat na glukose 6 fosfaat.



Die ensiem isomerase kataliseer die reaksie



Laasgenoemde verbinding plus adenosinetrifosfaat wat ageer as fosfaatdonor, d.w.s. dit gee van sy fosfaat aan die fruktose-ester prys, vorm fruktose-difosfaat 1-6.



Fruktose-difosfaat 1-6.

Hier kan die feit beklemtoon word dat daar tydens die afbou van suiker na alkohol en koolsuurgas, stowwe bevattende drie koolstof-atome as tussenprodukte gevorm word. Dit blyk moontlik te wees dat sekere van genoemde stowwe deur reduksie in gliserol omgesit mag word.

Van die drie vernaamste neweprodukte van wyn-alkoholiese gisting, naamlik Fuselolie, Barnsteensuur en Gliserien, is laasgenoemde die enigste een wat moontlik geheel of gedeeltelik vanuit die suiker ontstaan.

Bersgenoemde twee word tans algemeen erken 'n eiwit-aminosuur oorsprong te besit (Harden 1914).

Volgens eksperimente van Buchner en Meisenheimer in 1906 (aangehaal Harden 1914) word gliserien gevorm deur die aktiwiteite van sowel die gissel as die gisvrye selsap. Die gevormde gliserien kan tot 3.8% van die gewig van die uitgegiste suiker bedra. Die feit dat by die gisting bewerkstellig deur gisselvrye selsap, gliserien kan ontstaan, bewys dat hierdie verbinding hoofsaaklik vanuit die suiker ontstaan en nie 'n belangrike afbouprodukt van die gissel self is nie. Dit is egter geensins onmoontlik dat die selekstrak, behalwe die vir gisting onontbeerlike simase-kompleks, ook nog ander selprodukte mag insluit wat tot gliserien omgesit kan word.

Daar bestaan die verdere moontlikheid dat gliserien mag ontstaan uit die lipiede stowwe aanwesig in die selsap of die selkern.

Volgens C.N. Frey (1930) is die gemiddelde samestelling van die gissel as volg:-

Droë materiaal 30% en water 70%.

Verder bestaan die droë materiaal uit:-

Eiwit	52.41%
Vet	1.72%
Glikogeen	30.25%
Sellulose	6.88%
As	<u>8.74%</u>
	<u>100.00%</u>

Alhoewel

Alhoewel dit bewys is dat sekere gisselle lesitiene bevat wat by hidroliese onder ander gliserien lewer, is die totale massa van die gisselle (alhoewel die getal geweldig groot is) vergeleke met die massa van die gegiste produk (wyn) so onbeduidend dat die gissel self as bron van gliserol in wyn maar veilig buite rekening gelaat kan word.

Pasteur (1857, aangehaal Prescott en Dunn 1949) het gevind dat 100 dele sukrose lewer:-

105.4	dele invert-suiker, wat weer
51.1	" etielalkohol
49.4	" Koolsuurgas
3.2	" gliserien
0.7	" barnsteensuur
1.0	" ander stowwe lewer.

Pasteur (aangehaal Windisch 1905) het aanvaar dat gliserol net soos alkohol en koolsuurgas 'n gistingsproduk is deurdad dit voorgekom het in baie van die alkoholiese produkte deur hom ondersoek.

Th. Peneau (1878, aangehaal Windisch 1905) beweer dat die gliserien-inhoud van 'n wyn bepaal word deur die gistingsverloop. Uit ondersoek van J. Boussingault (1881, volgens Windisch) het geblyk dat hoe meer gliserien ontstaan hoe vlotter verloop die gisting en des te gunstiger is omstandighede vir die gis.

Muller-Thurgau (1884, aangehaal Windisch 1905) beweer dat die gliserien gehalte van 'n bepaalde wyn in geen vasgestelde verhouding tot die alkoholgehalte staan nie, maar dat dit van die lewensenergie van die gisselle afhang. Volgens laasgenoemde sal alle omstandighede wat die gisselle gunstig beïnvloed, byvoorbeeld die nodige mineraalvoedingstowwe, maklik assimileerbare stikstofverbindinge, gunstige gistingstemperatuur, oorvloedige suurstof aan die begin van die gisting, ens., die ontstaan van groter hoeveelhede gliserien in die hand werk. Omgekeerd, word deur ongunstige omstandighede vir die gis, byvoorbeeld ongenoegsame voedsel, ongunstige temperatuur

baie hoë suiker- en suurgehaltes, dit wil sê vasste- sowel as vlugtigesuur, baie hoë swaweldioksiedgehaltes ens., die gliserienvorming geweldig gestuit. Hier moet baie duidelik onderskei word tussen faktore wat bloot gisting strem of bevoordeel en faktore wat gliserienvorming bevoordeel of benadeel, byvoorbeeld een en dieselfde mos absoluut droog gegis by twee totaal verskillende temperature of 'n mos absoluut droog gegis vergelyk met 'n monster van dieselfde mos wat vanweë hoë temperatuur bly steek het en gevolglik minder gegis het.

Die ongunstige invloed van mineraalsure en salisielsuur op gliserienvorming is onderskeidelik deur Barth (1885) en L. Weigert (1888) (albei aangehaal Windisch 1905), vasgestel. Dit is bekend dat albei stowwe stremend op die gisting werk.

Thylman en Hilger (1889, aangehaal Windisch 1905) het tydens ondersoekings vasgestel dat 'n langsame gisting bewerkstellig deur 'n baie hoë of baie lae temperatuur, 'n geringer gliserienvorming ten gevolg gehad het. Toevoer van suurstof het in genoemde ondersoek geen rol gespeel nie.

Windisch (1905) beaam die sienswyse van Wortmann (1892), sowel as die van Bernheimer (1895) en Laborde (1899), dat gliserienvorming baie grootliks gebonde is met die gisras. Nie alleen verskil wyn en biergiste grootliks in hierdie opsig nie maar by wyngiste alleen is daar groot onderlinge verskille. Die vermoë om gliserien te vorm is blykbaar 'n raseienskap. Dit wil egter nie sê dat dit gekoppel is met die giskrag van 'n swam nie - intendeel, Wortmann (aangehaal Windisch 1905) het gevind dat baie giskragtige en swak gistende giste in staat is om vrywel gelyke hoeveelhede gliserien te vorm.

Die.....

Die ongunstige invloed van temperatuur op gliserienvorming word volgens Windisch (1905) deur A. Rau (1892), P. Kulish (1896) en Laborde (1899) bewys, terwyl P. Kulish (1896) die stremende uitwerking van mineraal- en swawelligsuur aantoon. Latere werke het die teenoorgestelde hiervan bewys. Volgens Rau en Kulish veroorsaak 'n gunstige toevoer van stikstofvoeding, stowwe en 'n nie te lae suikerkonsentrasie, 'n vinnige vermeerdering van gliserien.

Die toevoeging van alkohol (daar word nie aangedui tot welke mate die toevoeging geskied nie) benadeel ook die vorming van gliserien volgens Kulish, Seifert en Reisch (1904, aangehaal Windisch 1905).

E. Mach en K. Portele (1892) en Kulish (1896) (aangehaal Windisch 1905), bemerk dat na luggee van gistende mos daar 'n toename in gliserolvorming intree, terwyl Thylmann, Hilger en Rau (1892, aangehaal Windisch 1905) geen invloed vanwee luggee kon agterkom nie.

Wat die invloed van fosfate op gisting betref, het Harden (1915) bewys dat slegs uitermate lae of hoë fosfaat konsentrasies die gisting onderskeidelik vertraag of verhaas. Wat die spesifieke uitwerking van fosfaat op gliserienvorming is, is nie sover bekend, alreeds oor gerapporteer nie. Lae fosfaat konsentrasies het geen noemenswaardige uitwerking op die gistingstempo nie maar fosfaat is absoluut onontbeerlik vir gisting.

Harden (1932) stel die funksie van fosfaat by gisting as volg: "The fact that yeast possesses a special mechanism for the fermentation of hexosediphosphoric ester, which has been proved by experiments of Meyerhof and confirmed by MacFarlane, leads to the supposition that in the yeast cell the product of phosphorylation is probably

hexosediphosphoric

hexosediphosphoric ester and that this is fermented as quickly as it is formed, the supply of inorganic phosphate being thus rapidly rendered again available for the esterification of fresh molecules of altered sugar".

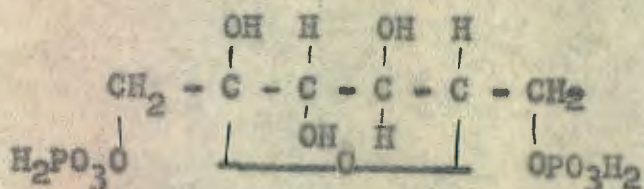
Volgens May en Herrick (1930) is die industriële produksie van gliserien deur die gisting van die koolhidrate, 'n nuweproduk van bio-chemiese navorsing van 'n suiwer akademiese aard. Daar is reeds aangedui hoe Pasteur in die loop van sy klassieke ondersoekinge op die gebied van alkoholiese gisting, gliserien as 'n gistingsproduk aangetoon het. Die voorkoms van hierdie verbinding kon vir 'n lang tyd nie bevredigend verklaar word nie vanwee 'n gebrek aan kennis aangaande die chemiese prosesse betrokke by die verandering van suiker na alkohol.

As gevolg van die werk van Neubauer, Neuberg, Schoen, Muller-Thurgau en Osterwalder en ander (almal aangehaal May en Herrick 1930), is dit onomwonde bewys dat pirodruivesuur (CH_3COCOOH) 'n intermediêre produk van die alkoholiese gisting is en dat laasgenoemde verbinding deur die ensiem karboksilase omgebou word tot asetaldehide, die onmiddellike voorloper van etiel-alkohol.

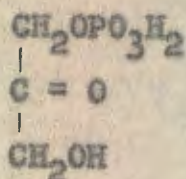
Dit is ook waargeneem dat wanneer die asetaldehide vasgelê word deur middel van toevoegings van natriumsulfiet (wat die aldehide bind as 'n aldehide bisulfiet) tot die gistende massa, daar groter hoeveelhede gliserien gevorm is. Hierdie ontdekking is gedurende Wêreldoorlog No. 1 op industriële skaal benut deur Duitsland en Oostenryk-Hongarye, as gevolg van 'n akkute tekort aan vet in geneemde lande. Die proses is eerste gerapporteer deur Connstein en Ludecke (aangehaal Prescott en Dunn 1949).

Volgens

Volgens die skema aangegee op bladsy 13, wat as voorstelling dien van die verskillende reaksies wat plaasvind tydens alkoholiese gisting, word glukose eers verander na glukose 6 fosfaat, fruktose 6 fosfaat en fruktose 1-6 difosfaat. Laasgenoemde raak deur die aktiwiteit van die ensiem aldolase opgebreek in 1 fosfohidroksi-aseton en 3 fosfogliserialaldehiede.

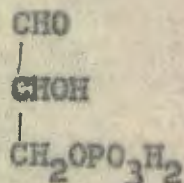


aldolase.



Fosfohidroksi-aseton.

+

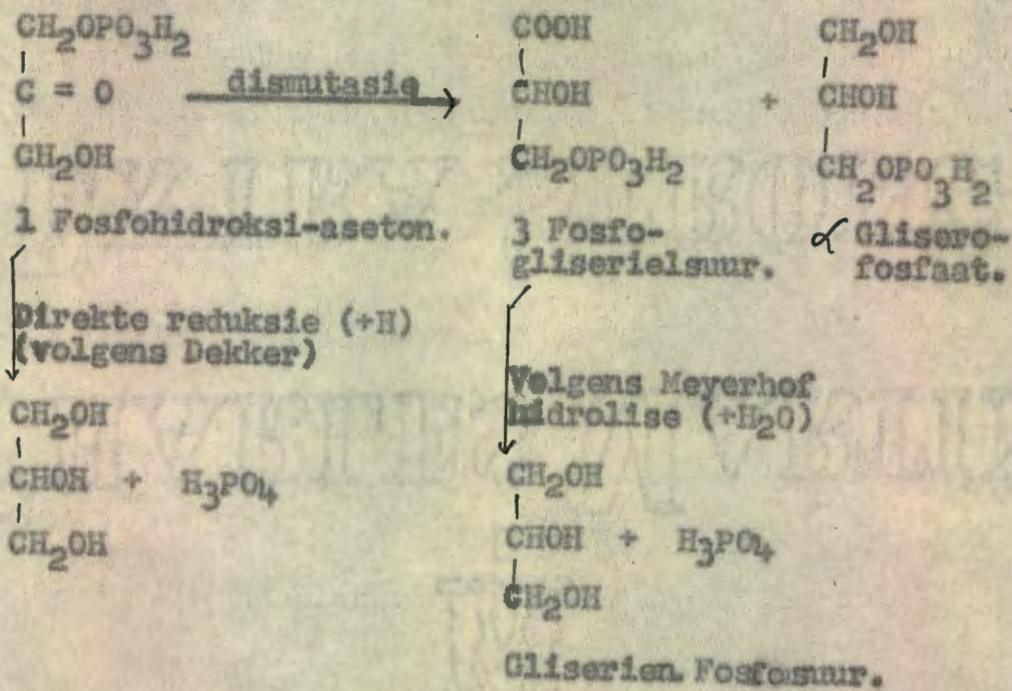


3 Fosfogliserialaldehiede.

Connstein en Ludecke beweer dat soos reeds genoem is die asetaldehiede (volgens skema op bladsy 13), die onmiddellike voorloper van etielalkohol, deur Na_2SO_3 vasgelê word. Nou ontstaan die vraag: indien bogenoemde reaksie 'n inherente fase van die alkoholiese gisting voorstel, kan die toegevoegde sulfiete nie ook die 3 fosfogliserialaldehiede bind nie en gevolglik die volgende reaksie, volgens Meyerhof se skema (aangehaal Prescott en Dunn 1949, Harrow 1950 en andere) van 1 fosfodihidroksi-aseton begunstig?

2 molekule

2 molekule:



Volgens Dekker (1953) kan hierdie reduksie bewerkstellig word deur dieselfde ensiem, naamlik kossimase, wat die asetaldehid reduseer na ethanol. Die teenwoordigheid van sulfiete bemoeilik laasgenoemde reaksie (d.w.s. die reduksie van asetaldehiede tot etielalkohol) en stel sodoende aktiewe waterstof beskikbaar vir die reduksie van die triose fosforsuurverbinding.

Indien die skema aangehaal op bladsy 13 ook die bewys bied vir die ontstaan van gliserien, dan behoort laasgenoemde werklik tot die neweprodukte van die alkoholiese gisting, afkomstig van die uitgegiste suiker.

HOOFSTUK III.

EIE ONDERSOEK.

A. DOEL.

I. Ontledingsmetode.

Eerstens was die doel van hierdie ondersoek om 'n ontledingsmetode te vind waarvolgens gliserien vinnig en sekuur in mos en wyn bepaal kon word.

II. Materiaal en Tegniek.

Nadat 'n bevredigende ontledingsmetode gevind is, was die volgende stap die keuse van materiaal en die uitwerk van 'n tegniek waarvolgens 'n beter insig in die ontstaan en voorkoms van gliserien by die gistings van druiwemos met verdere proefwerk verkry kon word.

Nadat laasgenoemde oogmerk bereik is, is gepoog om vir sekere probleme en vrae in die verband 'n oplossing te vind:-

1. Bevat ongegistete druiwesap enige gliserien?
2. Wanneer presies gedurende die alkoholiese gistingsproses tree gliserien vir die eerste maal in waarneembare hoeveelhede te voorskyn?
3. Tot welke mate bepaal sekere faktore soos b.v. temperatuur, gisras, alkoholkonsentrasie, gliserien, SO_2 - suikerkonsentrasies in die gistende mos die hoeveelheid gliserien wat gevorm word?
4. Wat is die invloed op gliserienvorm gedurende gisting van faktore soos temperatuur, pH en fosfaat?
5. Bestaan daar in Suid-Afrikaanse droë wyne 'n redelik konstante Alkohol-Gliserien verhouding? Tussen welke grense wissel dit?
6. Tot welke mate het wynbrandewyndistillasie 'n invloed op die gliserienkonsentrasie van die residu na verstoking?

Sover.....

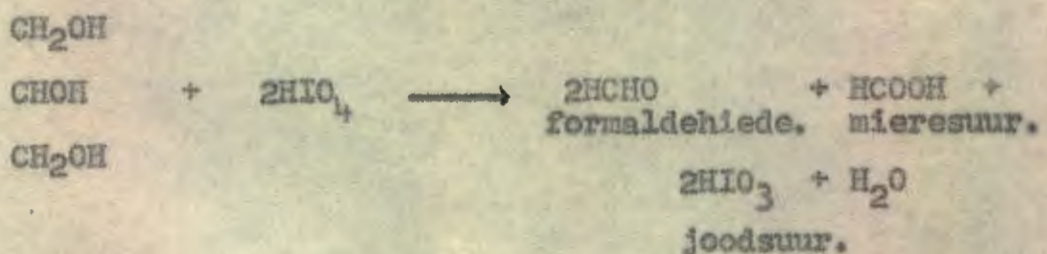
Sover dit op klein skaal moontlik is, word kelderomstandighede soos gisras, swaweldioksied-gehalte, ens., in die laboratorium nageboots. Die beginkonsentrasies van swaweldioksied, fosfate, suiker, alkohol, gliserien, ens., word kunsmatig gevarieer.

B. ONTLEDINGSMETODES.

Die roetine-bepaling van gliserien is iets wat gewoonlik vermy word deurdat dit baie tyd verg. Die huidige amptelik- AOAC metode is verouderd en gebasieer op prosedure uitgewerk deur Neubauer en Borgmann in 1878.

Die metode hieronder weergegee is in breek trekke gebasieer op die metode soos aangegee deur Amerine en Dietrich (1943) en op groot skaal in die praktyk gebruik deur Amerine (1947) in sy rapport oor die chemiese samestelling van Kaliforniese-skouwyne. Die basis van die metode bestaan in hoofsaak daarin dat die gliserien in waterige oplossing geïsoleer word en daarna onderwerp aan 'n oksidasie met perjoodsuur. Die beginsel waarop hierdie reaksie verloop is eerste aangedui deur Malaprade (1928).

Polihidroksie alkohole (soos gliserien) word in die teenwoordigheid van verdunde H_2SO_4 geoksideer deur perjoodsuur (HIO_4) tot formaldehiede en mieresuur.



Daar is ander stowwe in wyn aanwesig wat ook oksideerbaar is en/of oksideerbaar mag wees deur perjoodsuur, b.v. ander polihidroksi-alkohole, wynsteensuur, melksuur en moontlik ander organiese sure en die suikers levulose en dekstrose.

Die eenvoudige (eenwaardige) alkohole en die sure, appelsuur en sitroensuur, belemmer geensins die reaksie nie.

Die organiese sure word neergeslaan met basiese loodasetaat en die suikers word verwyder met bariumhidroksiede in alkoholiese oplossing. Butylene glykol sal ook reageer met HIO_4 , maar dit is veilig om te aanvaar dat dit nooit onder normale omstandighede in enige aansienlike hoeveelheid voorkom in wyn nie (Windisch 1905). Manniet word ook geoksideer deur HIO_4 , maar kan, wanneer dit voorkom, met 3:2 eter-alkohol verwyder word.

(Perchlorate is swakker oksideermiddels as chlorate, maar in die geval van jodate is dit net andersom, dit wil sê, die perjodate is sterker oksideermiddels as die jodate - Partington, 1949).

Reagensel-

1. $\frac{N}{10}$ Arseensuur: Los 4.946 gm. As_2O_3 in 4 gm. ystervry NaOH, opgelos in 40 ml. water, op. Vermeerder volume met gedistilleerde water tot +- 400 ml. en neutraliseer met N.HCl (lakmoes indikator). Voeg 4 gm. rein NaHCO_3 by. Maak op tot 1 liter.

(Amerine en Dietrich beveel aan dat die As_2O_3 opgelos word in Na_2CO_3 en om dan HCl by te voeg sodat die karbonaat slegs in effe oormaat verkeer. Dit sal later bespreek word waarom die prosedure hier gewysig moes word en die arseensuur opgemaak is volgens Vogel, 1944).

2. $\frac{N}{10}$ Perjoodsuur: Omdat hierdie suur moeilik bekombaar is en omdat sy natrium en kalium soute weer baie swak water-oplosbaar is (in 0.02 M oplossing kristalliseer hulle by kamertemperatuur uit) word 'n ekwivalent KIO_4 (ekwivalentgewig molekulêrgewig = 46 gm.)

opgelos

opgelos in gekonsentreerde swawelsuur, 20 ml. per liter oplossing. (Omdat later in H_2SO_4 -medium geoksideer word, maak die vergelyklike sterk H_2SO_4 -konsentrasie nie saak nie).

3. $2N.H_2SO_4$.
4. $N.KI$ -oplossing.
5. 1% Stysel indikator.
6. Basiese loodasetaat. } Albei so suiwer moontlik.
7. Bariumhidroksiede. }
8. $NaHCO_3$ versadigde oplossing.

L.W. Die KIO_4 -oplossing word "oud". Dit moet van tyd tot tyd, sê twee-weekliks, vars opgemaak word en teen 'n standaard oplossing van gliserien uitgetoets word. Vir hierdie ondersoek is slegs uit een en dieselfde oorspronklik verseelde bottel, dubbelgedistilleerde rein gliserol (S.G. 1.230) van die firma E. Merck, Darmstadt, gebruik, waarvan die reinheid aanvaar is. Moontlik verander die KIO_4 molekule met verloop van tyd, want party ondersoekers soos Allan, Charbonnier en Coleman (1940) gee die formule van die suur aan as beide HIO_4 en H_5IO_6 .

"Periodic acid may be considered as a mono- or dibasic acid, according to the pH at which it is titrated".

Metode:-

Die Ontkleuring van die Wyn of Mos.

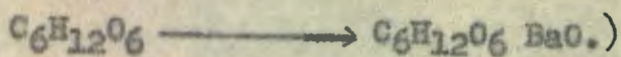
(a) Droë wyn (alle wyne met minder as 5% suiker word vir die doeleindes van hierdie ontledingsmetode as droog bestempel).

Pipetteer uit 20 ml. (in gevalle waar gliserien-konsentrasie laag is, 25 ml.) wyn (of mos) in 'n 100 ml. maatkolf en voeg by 5 ml. 20% basiese loodasetaat.

Vul op tot by die merk met gedistilleerde water en skud goed. Laat staan vir ongeveer een uur om af te sak. Filtreer of swaai in 'n sentrifugeer-apparaat. Pipetteer van die helder wyn nou weer 20 ml. in 'n 100 ml. maatkolf waarin eers 2.5 gm. droë en fyn $\text{Ba}(\text{OH})_2$ geplaas is. Vul op tot by die merk met 96% alkohol. Laat staan oornag by 6°C . Filtreer en behandel verder soos by soetwyn nadat die suiker verwyder is.

(b) Soetwyn: Ontkleur weer soos voorheen met basiese loodasetaat. Laat afsak en sentrifugeer of filtreer. Pipetteer dan 10 ml. wyn in 'n 40 ml. porseleinbak waarin +- 3.0 gm. fynverdeelde $\text{Ba}(\text{OH})_2$ geplaas is. (Laasgenoemde varieer tussen 2.5 - 3.75 gm. namate die suikergehalte van die mos of wyn varieer. Vir soetmos of mos wat nog maar effe gegis het word 3.75 gm. $\text{Ba}(\text{OH})_2$ gebruik.) Plaas op 'n waterbad vir halfuur by 50°C .

(Die suiker raak as volg verwyder



Die reaksie is kwantitatief maar die presiese meganisme is nog nie bekend nie. Dit is belangrik dat die suiker so volledig moontlik verwyder word, want volgens Whistler en McGilvray (1954) "all sugars tested, consumed large amounts of periodate and were broken down completely....").

Vryf enige kors wat mag vorm af en los op in 96% alkohol. Filtreer en maak op tot 100 ml. met 96% alkohol.

Bepaling van Gliserien.

Pipetteer 'n hoeveelheid van bogenoemde vloeistof wat van 5-20 mg. gliserien bevat in 'n 200 ml. Erlenmeyer. Voeg by 25 ml. gedistilleerde water

en

en 0.01 tot 0.1 gm. Na_2SO_4 . Voeg verder by een druppel fenolftaleiene en neutraliseer met $2\text{NH}_2\text{SO}_4$. Voeg by twee druppels oormaat H_2SO_4 . Kook stadig op waterbad om meeste van die alkohol af te drywe.

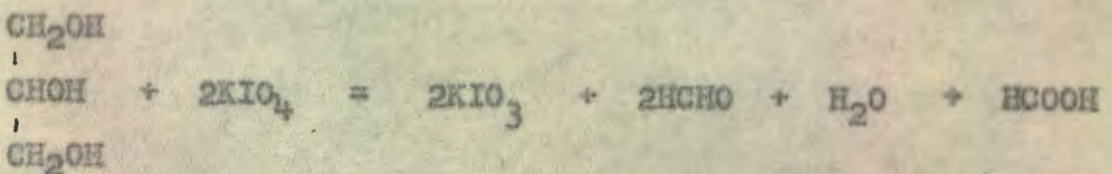
Voeg daarna sekuer 10 ml. $\frac{N}{10}$ KIO_4 -oplossing by. Laat vir vyftien minute sodat oksidasie volledig kan plaasvind. Neutraliseer presies met N. NaOH. Voeg 5 ml. versadigde vars NaHCO_3 by.

(Amerine en Dietrich voeg direk - sonder om eers die suur te neutraliseer - 5 ml. versadigde Na_2CO_3 by. Dit besorg hul die gewenste pH. Aangesien hier in 'n groter oormaat suur geoksideer word, word eers met NaOH geneutraliseer en dan NaHCO_3 bygevoeg om die gewenste pH te verkry).

Voeg by 5 ml. NKI-oplossing en titreer die vrygesette I_2 met As_2O_3 met stysel as indikator.

Stel die aantal ml. As_2O_3 gebruik in titrasie = B. Stel die aantal ml. As_2O_3 = 10 ml. $\frac{N}{10}$ KIO_4 = A. Laasgenoemde titrasie word tenminste eenmaal per week uitgevoer op 'n blanko monster wat dieselfde proses as die verdunde, ontkleurde, suikervrye wynmonster deurgegaan het.

$$\text{Mg. gliserien (x)} = (A-B) \times 2.3.$$

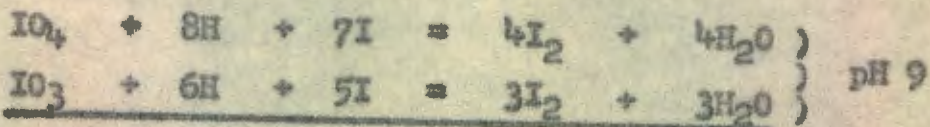
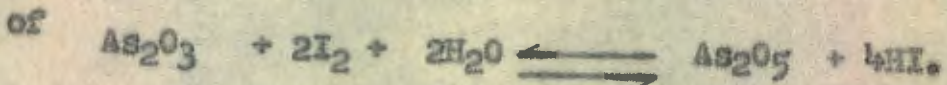
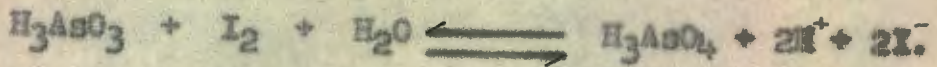


$$\begin{array}{l} 1,000 \text{ ml. } \frac{N}{10} \text{ gliserien bevat } 2.3 \text{ gm. gliserien.} \\ \therefore x \text{ ml. } \frac{N}{10} \quad \quad \quad \text{" \quad \quad \quad } \underline{2.3 \times x} \text{ mg. Gliserien.} \end{array}$$

Die

Die IO_4^- wat nie deur die oksidasie van gliserien gereduseer raak nie, sit I_2 uit KI vry in neutrale tot baie effe alkaliese medium.

(IO_3^- sit in alkaliese medium I_2 vry).



Resultate behaal met bogenoemde metode:-

Vier waterige oplossings van gliserien is gemaak en het die volgende ontledings getoon:-

<u>Werklike konsentrasie in mg. per 100 ml.</u>	<u>Ontleding volgens bogenoemde metode mg. per 100 ml.</u>	
	<u>Ontledingsresultaat (1).</u>	<u>Ontledingsresultaat (2).</u>
500	500	490
1000	980	990
1500	1490	1470
2000	1970	1960

Aan twee soet moste is bygevoeg en teruggevind.

<u>Bygevoeg mg. per 100ml.</u>	<u>Teruggevind mg. per 100 ml.</u>	
	<u>Ontleding (1)</u>	<u>Ontleding (2).</u>
500	460	490
750	730	740

Twee

Twee Wit soetwyne is ontleed vir gliserien en het die volgende duplikaat resultate gelever:-

	<u>Gliserien gm./Liter.</u>		<u>Gem. gm./Liter.</u>
	(1.)	(2.)	
Wyn No.1	4.7	4.5	4.6
Wyn No.2	5.9	6.0	5.95

Aan hierdie twee wyne is elk 0.5 mg. per 100 ml. gliserien bygevoeg en weer ontleed.

	<u>Verwagte resultaat gm./Liter.</u>	<u>Werklike resultate gm./Liter.</u>		<u>Gem. gm./Liter.</u>	<u>Gem. % van verwagte.</u>
		(1)	(2)		
No. 1.	9.6	9.2	10.1	9.7	101
No. 2.	11.0	10.6	11.1	10.9	99

Aan hierdie twee wyne is ook 1.0 gm. per 100 ml. gliserien bygevoeg en weer ontleed.

	<u>Verwagte resultaat gm./Liter.</u>	<u>Werklike resultate gm./Liter.</u>		<u>Gem. gm./Liter.</u>	<u>Gem. % van verwagte.</u>
		(1)	(2)		
No. 1.	14.6	15.0	14.4	14.7	101
No. 2.	16.0	15.6	-	15.6	98

Uit bogenoemde sal dus opgemerk word dat die persentasie herwinning baie bevredigend was.

oOo--oOo

Suikerontledings is gedoen volgens die metode van Bruhms. Aangesien die wyne tog met basiese lood-asetaat vir die gliserien ontleding ontkleur moes word, is suikerontledings waar nodig, ook op dieselfde monsters gedoen.

Alkohol- en ekstrakgehaltes is piknometries bepaal.

Vluchtige suur is bepaal met die Amerikaanse Hortvet fles.

Die

Die pH is bepaal met 'n Beckman pH-meter met glas elektrode. Die instrument is gereeld getoets teen 'n standaard buffer.

Verdere ontledings soos die vir SO_2 - gehalte en totale suur is volgens die gebruikelike metodes soos in die wynbou laboratorium toegepas, uitgevoer.

Alle ontledings is in duplikaat gedoen en die gemiddelde waarde aangedui terwyl mos en wyne met suikergehaltes bokant 15%, in triplikaat vir gliserien ontleed is.

C. MATERIAAL EN TEGNIEK.

Oorspronklik is 'n paar kiste Stein-druive geoes en nadat die trosse een vir een onder die kraan afgewas is, is hul in die sementaflaasbak van die Welgevallen kelder met die skoon kaalvoet getrap. Die so verkreeë mos is deur 'n growwe gaasdoek filtreer in 'n gesteriliseerde 1 $\frac{1}{2}$ liter fles, goed geskud, die Balling graad genoteer en dadelik in skoon gesteriliseerde skuimwyn bottels gegooi en toegekurk met groot wynproppe wat vir 'n paar uur in 80% alkohol gelê het. Die bottels mos is toe vir sowat drie maande in 'n koelkamer by 30-32°F. gebêre.

Voor gebruik is die Balling van elke bottel weer noukeurig (met temperatuur-korreksie) gelees. Party bottels mos het bo in die nek 'n swam ontwikkel. Waar hierdie swam voorgekom het is dit eers afgegiet en daarna is vasgestel of die mos nog die oorspronklike Balling-lesing getoon het. Geen bottel mos is gebruik waarvan die grade waarskynlike Balling nie binne een-vyfde van 'n graad dieselfde was as die oorspronklike nie.

Voordat

Voordat daar wel met die proef met vier verskillende gisrasse in aanvang geneem is, is die benodigde volume mos eers met meer en al in 'n tien liter bottel gegooi en aangesien die hoeveelheid mos beperk was, is 'n gerieflike hoeveelheid gedistilleerde water bygevoeg om die Balling op ongeveer 15° te staan te bring. Intussen is tien een-liter bottels met watteproppe onder stoomdruk gesteriliseer en na afkoeling geweeg. Terwyl mos in die tien liter bottel gereeld geskud is, is mos +- 600 ml. op 'n slag in elk van die tien een-liter bottels getap. 'n Monster is ook uitgehou vir ontleding. Die mos in ag van die een-liter bottels is in duplikaat met vier verskillende gisrasse ingeënt, onafhanklik van die volgorde waarin hul volgetap is, terwyl die orige twee oningeënt vir kontrole gelaat is.

Die giste is eers vier dae voor inenting op 'n gerieflike hoeveelheid (50 ml.) van dieselfde gesteriliseerde mos in reinkultuur vermeerder. Hierdie vermeerderde gis is gebruik vir inenting, vyf ml. op 'n slag. Vir elke inenting is 'n skoon gesteriliseerde pipet gebruik.

Daar is getrag om met genoemde tegniek, naamlik deur die gebruik van natuurlike ongesteeri-seerde troebel mos so na moontlik aan 'n "normale" gisting te kom as wat laboratorium-toestande dit toelaat.

J.C.M. Fornachon (1952) het in sy studies op Australiese Sherry Flor in wese dieselfde tegniek gebruik. "A most rapid and regular growth has been obtained when young vigorous growth from a single wine has been used as inoculum and portions of it floated in the wine to be seeded".

Die

Die bottels is na inenting geweeg en daarna daaglik, totdat gisting voltooi is, geskud, geweeg, monsters geneem, en weer geweeg. Die persentasie gewigsverlies is daaglik op die vorige dag se gewig mos na monstername bepaal. 'n Gistingskurwe is opgestel om vas te stel of hierdie mos 'n normale gisting ondergaan. Die hoeveelheid gliserien in iedere dag se monster is bepaal.

Daar-die totale volume mos waarmee ingeënt is, minder as 1.0% van die totale beginvolume van die ongegiste mos bedra, kan die invloed van die 5 ml. reingis op die ontleding van die oorspronklike soetmos met veiligheid as onbenuilig beskou word.

Die totale volume-verlies as gevolg van monstername het nooit 40% van die oorspronklike monster voor gisting bedra nie.

Hierdie materiaal, naamlik die verkoelde Stein-mos, is gebruik om die vier gisrasse te vergelyk ten opsigte van hul vermoë om gliserien te vorm, asook vir die voorlopige proewe om die invloed van SO_2 - konsentrasie op gliserienvorming vas te stel.

Hierna is besluit om die allervroegste variëteit, n.l. Pearl of Czaba, te gebruik in die Welgevallen kolleksie. Verder is Pearl of Czaba- en Barlinka-druive met SO_2 in 'n koelkamer bewaar. Op hierdie wyse het eersgenoemde variëteit materiaal gelewer vanaf omstreeks die middel van Desember tot net voor parstyd, terwyl laasgenoemde weer daarna gebruik kon word.

Nadat vrot, rosyntjie en gebarste korrels met 'n skêr uitgeknip is, is die druive, ongeveer 15 lbs. per kis, gepak in standaard appelkiste wat vooraf met houtwol en papier uitgevoer is. Die laag houtwol onder die los deksel van die kis is met die wegsit en drie-weeklik daarna, met 20 ml. 40% kalium-metabisulfiët-oplossing bespuit.

Voordat daar gepars is van die druiwe, is die enkele vrot en gebarste korrel eers weer verwyder en die trosse baie deeglik afgewas.

Origens was die ondersoektegniek dieselfde, behalwe net dat slegs in die eerste proef, naamlik dié met vier verskillende gisrasse, monsters daaglik vir gliserien ontleed is, terwyl by die ander proewe die ontleding van gliserien saam met die ander ontledings aan die einde van die proef gedoen is.

Die wynmonsters gebruik om ondersoek in te stel na 'n alkohol-gliserienverhouding is verkry van K.W.V., asook die monsters van die wyne vir wynbrandewyn-distillasie en monsters van die ooreenstemmende residu.

**D. PROEWE UITGEVOER OM DIE INVLOED VAN
VERSKILLENDE FAKTORE OP GLISERIEN-
VORMING NA TE GAAN.**

1. Die Invloed van Gisras.

Vir hierdie doel word vier verskillende reingiste gebruik, naamlik, K.W.V. witgis, Ras P, Ras 13 en 'n Flor gis (van die Elsenburg-kolleksie). Hier was die oogmerk nie slegs om te probeer vasstel of die hoedanigheid om min of baie gliserien te vorm, 'n rasieskap is nie, maar ook om vas te stel wanneer hierdie stof vir die eerste maal in waarneembare hoeveelheid in die gistende mos te voorskyn tree en welke verandering die gliseriengehalte van dag tot dag ondergaan, namate die gistingproses verloop.

Hieronder volg 'n tabel wat die ontleding aantoon van 'n soetmos voor gisting, asook die ontleding van vier wynmonsters van die vier verskillende reingiste (in duplikaat) na afloop van hul gisting in genoemde mos. Die wynontleding is onmiddellik na gisting deurgevoer, terwyl daar terselfdertyd 'n

ontleding van die kontrole (oningeënte) mos gedoen is om die invloed vas te stel van die mikro-organismes wat in die mos teenwoordig was ten tye van hierdie proef.

Die gisting word in die geval van die wyn as voltooid beskou sodra daar drie dae agtereenvolgend, geen gewigsverlies geregistreer word nie.

TABEL 2.

Ontleding van soet en kontrole mos en van vier wyne gegis deur vier verskillende reingiste.

Monster.	Alkohol Vol. %	S.G.	Tot. Eks. gm./L.	Invert suiker gm./L.	V.S. gm./L. as HAc.	Glycerien gm./L.
Soetmos	0.00	1.0666	173.6	154.2	0.08	-
I. K.W.V. Witgis						
No. 1	9.28	0.9925	21.6	3.6	0.45	10.8
No. 2	9.58	0.9920	20.5	3.2	0.38	9.5
II. Ras P						
No. 1	9.55	0.9918	18.7	1.1	0.55	8.0
No. 2	9.45	0.9920	19.5	2.0	0.36	6.3
III. Ras 13						
No. 1	9.55	0.9920	17.9	0.8	0.63	6.2
No. 2	9.58	0.9920	18.2	1.1	0.50	6.4
IV. Fler						
No. 1	9.58	0.9925	20.8	3.7	0.50	8.5
No. 2	9.28	0.9921	21.5	4.1	0.63	9.0
V. Kontrole						
No. 1	0.16	1.0636	170.5	152.0	0.25	-
No. 2	0.23	1.0629	169.2	149.0	0.13	-

TABEL 3.....

TABEL 3.

Wat die daaglikse persentasie gewigsverlies, die gemiddelde daaglikse persentasie gewigsverlies, die daaglikse-berekende persentasie totale gewigsverlies sedert inenting, die gliseriengehalte en die gemiddelde gliseriengehalte vir die vier wyne sanderi.

Monster No. I (gisras K.V.V. witgis) duplikate (a) en (b).

Dag sedert inenting.	Daaglikse % gewigsverlies.		Gem. Daaglikse % gewigsverlies.	Totale gem. % gewigsverlies sedert inenting.	Gliserien gm./L.		Gem. Gliserien gehalte gm./L.
	I(a)	I(b)			I(a)	I(b)	
1	0.09	0.12	0.11	0.11			
2	0.70	0.76	0.73	0.84			
3	2.41	2.45	2.43	3.27	1.8	1.3	1.6
4	2.10	2.22	2.16	5.43	5.6	3.1	4.3
5	0.61	0.50	0.55	5.98	8.7	7.3	8.0
6	0.51	0.09	0.20	6.18	10.0	8.8	9.4
7	0.04	0.00	0.02	6.20	10.8	9.3	10.0

Monster No. II (gisras Ras P.) duplikate (a) en (b).

Dag sedert inenting.	Daaglikse % gewigsverlies.		Gem. Daaglikse % gewigsverlies.	Totale gem. % gewigsverlies sedert inenting.	Gliserien gm./L.		Gem. Gliserien gehalte gm./L.
	II(a)	II(b)			II(a)	II(b)	
1	0.09	0.11	0.10	0.10			
2	0.43	0.43	0.43	0.53			
3	1.80	1.67	1.74	2.27	2.1	1.9	2.0
4	2.10	2.28	2.19	4.46	5.4	4.4	4.9
5	1.62	1.78	1.70	6.16	8.1	6.3	7.3
6	0.75	0.62	0.68	6.84	8.2	6.8	7.5
7	0.10	0.10	0.10	6.94	8.0	6.3	7.2

Monster No. III.....

Monster No. III (gisras Ras 13) duplikate (a) en (b).

Dae sedert inenting.	Daaglikse % gewigverlies.		Gem. Daaglikse % gewigverlies.	Totale gem. % gewigverlies sedert inenting.	Gliserien gehalte gm./L.		Gem. Gliserien gehalte gm./L.
	III(a)	III(b)			III(a)	III(b)	
1	0.12	0.18	0.15	0.15			
2	0.68	0.64	0.66	0.81			
3	1.92	1.97	1.95	2.76	2.4	1.9	2.1
4	1.90	1.84	1.84	4.63	4.6	3.0	3.8
5	1.50	1.50	1.50	6.13	5.7	5.6	5.7
6	0.54	0.55	0.55	6.67	6.1	6.5	6.3
7	0.12	0.10	0.10	6.78	6.2	6.4	6.3

Monster No. IV (gisras Flor) duplikate (a) en (b).

Dae sedert inenting.	Daaglikse % gewigverlies.		Gem. Daaglikse % gewigverlies.	Totale gem. % gewigverlies sedert inenting.	Gliserien gehalte gm./L.		Gem. Gliserien gehalte gm./L.
	IV(a)	IV(b)			IV(a)	IV(b)	
1	-	-	-	-			
2	0.09	0.09	0.09	0.09			
3	0.14	0.16	0.15	0.24			
4	0.72	1.10	0.91	1.15	1.4	1.5	1.4
5	0.95	1.80	1.38	2.53	4.8	4.2	4.5
6	2.56	3.23	2.89	5.42	8.0	9.3	8.7
7	2.15	0.43	1.29	6.71	8.5	8.9	8.7
8	0.08	0.06	0.07	6.78	-	8.5	-

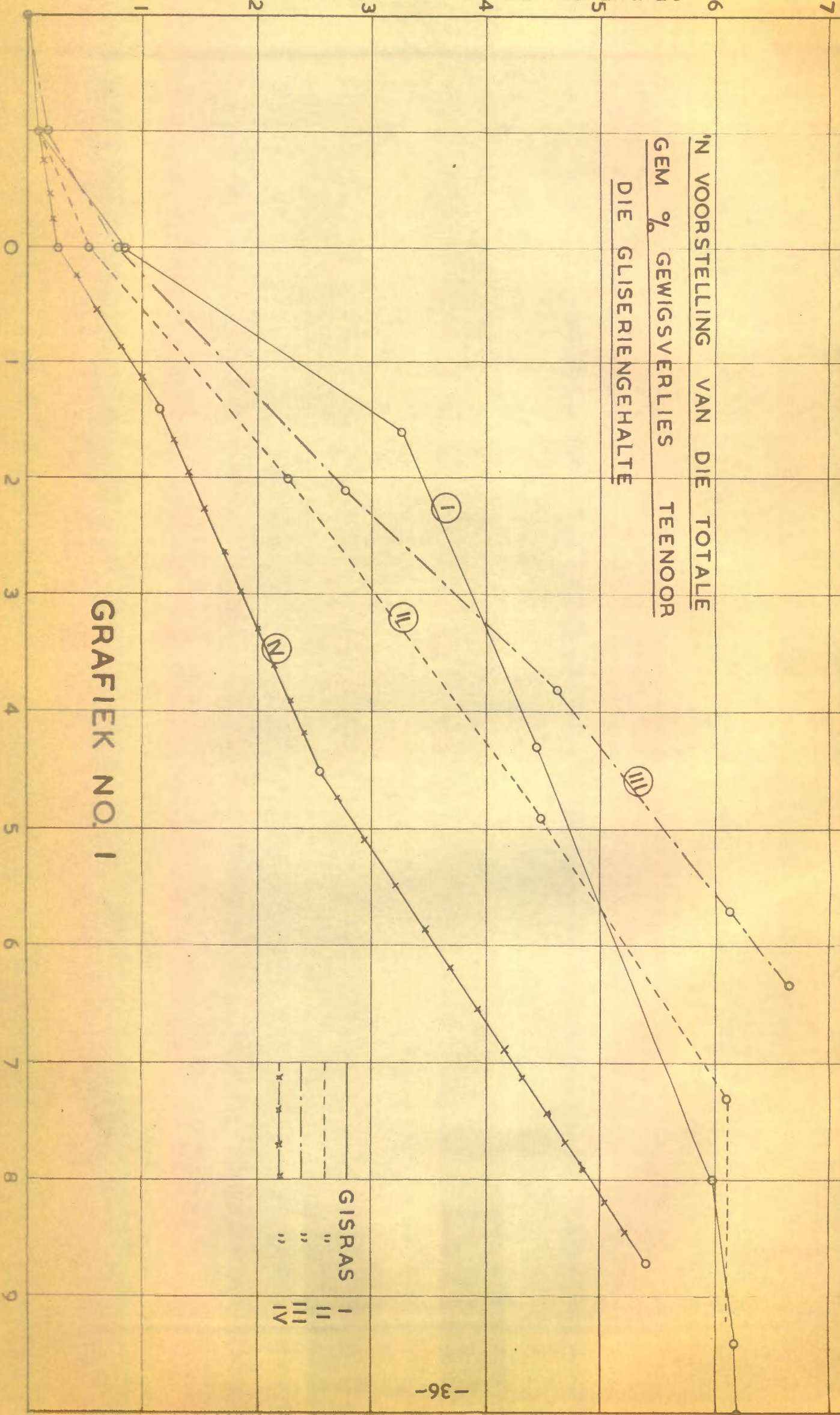
(Grafiek No. 1).....

TOTALE GEM. % GEWIGSVERRIES

IN VOORSTELLING VAN DIE TOTALE
GEM. % GEWIGSVERRIES
TEENOOR
DIE GLISERIENGEHALTE

GRAFIEK NO. 1

GLISERIEN GM. PER LITER



GISRAS I
" II
" III
" IV

Op die vraag of sekere gisrasse hoër gliserienvormers is as ander, kan uit die pas aangehaalde resultate bevestigend geantwoord word. Daar sal egter nog heelwat meer werk in hierdie opsig gedoen moet word alvorens met juistheid gesê sal kan word in hoeverre dit 'n "raseienskap" is.

By Ras III het die duplikate die grootste mate van ooreenstemming getoon, beide wat die daaglikse persentasie gewigsverlies en gliserienvorming betref. Hierdie ras is dus gekies vir verdere werk in hierdie ondersoek.

Die beginkonsentrasie van die Invert suiker het volgens Tabel 2, 15⁴.2 gm. per liter bedra, dit wil sê, ongeveer 15%. As dus aanvaar word dat vir praktiese doeleindes ongeveer die helfte van die suiker as koolsuurgas verlore gaan, dan behoort die verwagte totale gewigsverlies vir die mos onder bespreking, ongeveer 7.5% te bedra (die gewigsverlies as gevolg van die gisting van suiker, water- en alkoholverdamping, ens., buite rekening gelaat). 3.75% Gewigsverlies volgens hierdie redenasie behoort dus 'n stadium aan te dui waar ongeveer die helfte van die suiker verteer is.

Volgens Grafiek No. 1 het twee gisrasse, naamlik Nos. II en IV op hierdie stadium (+- 3.75% gewigsverlies) alreeds ongeveer helfte en driekwart, onderskeidelik, van hul uiteindelijke hoeveelhede gliserien gevorm. Die ander twee het gewissel van ongeveer 40% (No. III) tot 'n geringe hoeveelheid by No. I. (Alle ontledings vir gliserien onderkant een gram per liter is buite rekening gelaat, aangesien dit gevind is dat lae gliseriengehalte, tesame met baie hoë suikergehaltes, nie baie reproduceerbare resultate lewer nie).

Die

Die gisvermoë van 'n gisras is volgens aangehaalde resultate nie sondermeer 'n indikasie van sy vermoë om gliserien te vorm nie. Die vier reingiste het baie naan dieselfde hoeveelheid alkohol gelewer. Indien die totale gewigsverlies as maatstaf van giskrag gebruik word dan sal opgemerk word dat Rasse II, III en IV, omtrent dieselfde persentasie gewigsverlies ondervind het en dat dit nogal heelwat meer was as by Ras I, maar laasgenoemde het die hoogste gliseriengehalte getoon na gisting, terwyl eersgenoemde drie aansienlik verskil het in genoemde opsig.

2. Die Invloed van SO₂-Konsentrasie en pH.

Met voorlopige ondersoek om die invloed van SO₂-konsentrasie en pH op die vorming van gliserien vas te stel, het dit heel gou geblyk dat die twee faktore so na verwant is dat hul eintlik saam behandel behoort te word.

Wanneer SO₂ aan 'n mos of wyn toegevoeg word, dan vorm 'n gedeelte daarvan kompleksverbindings met sekere bestanddele van 'n wyn soos byvoorbeeld, aldehyde, suikers, tanniene en kleurstowwe. Laasgenoemde is duidelik waarneembaar met die tydelike kleurafname, veral van rooi mos, onmiddellik na SO₂ toevoeging.

Geeneen van genoemde kompleksverbindings is baie stabiel nie. Hul neem 'n paar uur of dae om te vorm, maar breek onmiddellik op na die toevoeging van oormaat alkali. Hul bestaan in 'n ewewigstoestand met die vry SO₂ en namate SO₂ verdamp, raak meer SO₂ uit die kompleksverbindings vrygelaat. Ten alle tye is daar beide vry en gebonde SO₂ in 'n normale wyn waaraan SO₂ toegedien is, aanwesig. Die ewewig tussen die twee vorms van SO₂ is nie eenvoudig nie en ook nog geensins in die geheel te verklaar nie.

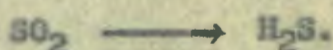
In

In die eerste plaas sal dié gedeelte van die totale SO_2 -gehalte wat as "vry" bestempel kan word, bepaal word deur die konsentrasie en aard van bestanddele teenwoordig in die wyn waaraan dit toegevoeg is en waarmee dit moontlik kan komplekse vorm. Die "vry" SO_2 (vir 'n bepaalde toediening van SO_2 aan 'n ongeswavelde wyn) behoort heelwat hoër te wees by 'n droë wit wyn as by 'n soet rooi wyn. Die suiker en hoër kleurstofgehalte van laasgenoemde veroorsaak dat meer SO_2 gebonde raak.

Die verhouding van vrye SO_2 tot totale SO_2 bly egter nooit konstant nie. Dit wil voorkom asof dit wel naasteby die geval is tot op 'n sekere perk, afhange van die samestelling van die wyn waaraan dit toegevoeg is. Bekant genoemde perk sal die verhouding vry SO_2 gedurig toeneem, met ander woorde, die eerste 100 mg. per liter toevoeging mag 10 mg. per liter "vry" laat, terwyl 'n verdere toevoeging van 100 mg. per liter 'n toename van 70-80 mg. per liter vry SO_2 mag bewerkstellig.

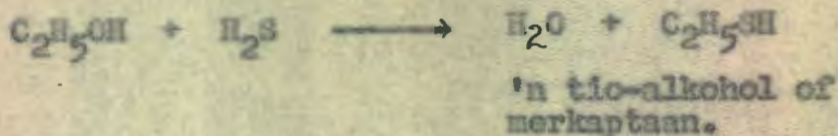
'n Ander belangrike faktor wat die SO_2 -gehalte van 'n wyn bepaal, is temperatuur. Hoe hoër die temperatuur, des te makliker breek die kompleksverbindinge op waaraan die SO_2 gekoppel is. Baie SO_2 raak uit 'n wyn verlore deur verdamping en oksidasie van sulfiete na sulfate.

Wanneer 'n jong wyn 'n groot toediening van SO_2 gedurende sy gisting ontvang en bowendien nog lank met sy gismoor in kontak bly, kan dit sterk na H_2S ruik. Wanneer gisselle autolise ondergaan, skep dit 'n sterk reduserende milieu, en van die teenwoordige SO_2 raak gereduseer na H_2S .

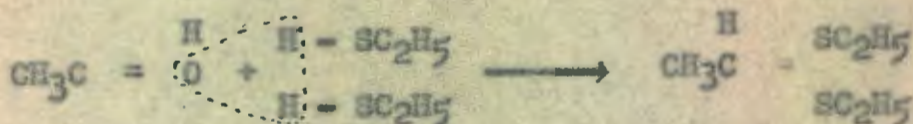


Hierdie

Hierdie gevormde H₂S kan alkohol as volg reduseer:-



Die tio-alkohol kan verder as volg reageer in 'n reaksie soortgelyk aan die aldolkondensasie maar met minder welriekende gevolge:-

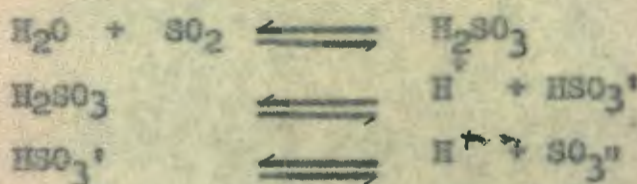


Die gevormde produk in bogenoemde reaksie is stabiel en vertoon 'n baie onaangename reuk. (Wertheim, 1951).

Aangesien jong gismoer die meeste van die tyd 'n onaangename reuk het, is dit veilig om te redeneer dat 'n gedeelte van die SO₂ voor gisting toegedien, altyd in gebonde vorm deur die gismoer verwyder raak.

'n Gedeelte van die SO₂ mag ook sy weg vind na die swavelbevattende aminosure. 'n Verdere gedeelte mag verbind met metale soos b.v. koper en yster.

Wanneer SO₂ aan 'n mos of wyn toegevoeg word dan geld die volgende ewewigte:-



Die sogenaamde vry SO₂ is daardie gedeelte SO₂ wat nie as kompleks gebonde is nie, maar dit is geensins alles "vry" in die sin dat dit as SO₂-gas aanwesig is nie. Die werklike vry SO₂ neem toe namate die pH daal (vergelyk bogenoemde vergelykings). Hoe hoër die pH (hoe laer die H-ion konsentrasie) hoe meer HSO₃' en SO₃''-ione sal daar aanwesig wees en omgekeerd hoe laer die pH des te groter sal die verhouding vry SO₂ wees.

Gesmelte ("fused") Kalium-meta bisulfiet ("meta") van die firma E. Merck Darmstadt, en B.D.H. SO_2 oplossing (H_2SO_3) van ongeveer 6½% is gebruik as bronne van SO_2 , terwyl rein NaOH van oorsienende firma in 40% oplossing gebruik is om die pH te verhoog. Ook is rein wynsteensaar gebruik om pH mee af te bring.

Die gemiddelde waardes van die duplikaat ontleding van die soetsos waarmee hierdie proef uitgevoer is, was as volg:-

S.G.	1.0714	
Totale Ekstrak	204.4	gm./L.
Droë Ekstrak	22.4	gm./L.
Invert Suiker	182.0	gm./L.
Vlugtige Suur	0.10	gm./L.
Alkohol	0.0	

Begenoemde soetsos is ingeënt en weer soos voorheen in 10 monsters van ongeveer 600 ml. elk verdeel. Twee is as kontrole gehou, terwyl aan vier SO_2 in die vorm van "meta" toegedien is en die orige vier SO_2 as H_2SO_3 -oplossing ontvang het. Onderstaande tabel is 'n weergawe van die SO_2 -gehaltes (totaal en vry) en pH voor en na gisting, asook van die gevormde alkohol en gliserien. Monsters is in duplikaat ontleed.

TABEL 4.

TABEL 4.

Wat die SO_2 -gehaltes en pH (voor en na gisting) en gevormde alkohol en gliserien aantoon.

No.	<u>Voor Gisting.</u>			<u>Na Gisting.</u>			Alkohol Vol. %	Gliserien gm./l.
	Tot. SO_2 mg./l.	Vry SO_2 mg./l.	pH.	Tot. SO_2 mg./l.	Vry SO_2 mg./l.	pH.		
Kontrole								
1.			3.65			3.60	11.31	7.5
2.			3.65			3.60	11.23	7.6
"meta"								
3.	24.6	6.5	3.60	20.2	5.8	3.60	11.23	7.0
4.	47.1	11.1	3.55	41.6	10.5	3.50	11.39	6.5
5.	104.0	16.0	3.50	86.3	15.6	3.45	11.14	6.3
6.	194.5	22.5	3.50	162.7	20.5	3.40	11.23	5.9
H_2SO_3 - opl.								
7.	23.6	5.8	3.60	21.5	5.6	3.50	11.05	7.0
8.	49.6	12.3	3.50	39.3	10.4	3.45	10.97	6.7
9.	98.5	17.6	3.50	79.7	14.2	3.45	11.5	6.7
10.	207.2	26.8	3.40	156.5	36.0	3.50	11.14	6.1

Uit Tabel 4 kan duidelik waargeneem word dat toevoeging van H_2SO_3 of "meta" tot 'n mos, laer gliserien-gehaltes in die wyn ten gevolge het as by die kontrole monsters waartoe geen SO_2 gevoeg is nie. Aangesien hier sterk aanduidings bestaan dat die saak grootliks om pH draai, is besluit om dieselfde mos by verskillende pH's met en sonder SO_2 te gis.

TABEL 5.

TABEL 5.

Wat die pH en SO_2 -konsentrasies voor gisting en die gliserien- en alkoholgehaltes na gisting aantoon.

No.	Plus NaOH of W.S.S.	SO_2 -gehalte mg./L.	pH Voor begin van gisting.	Gliserien gm./L.	Alkohol Vol. %
1	Kontrole		5.65	7.4	11.25
2	NaOH		4.25	7.6	11.39
3	"		4.80	8.7	10.97
4	"		5.90	9.3	11.05
5	"	geen SO_2	6.75	11.4	10.88
6	"		7.95	12.2	10.80
7	W.S.S.		5.40	6.5	11.05
8	W.S.S.		5.25	4.7	10.58
9	W.S.S.		2.50	2.6	5.36
10	NaOH		4.0	7.5	11.25
11	"		4.65	8.8	11.14
12	"	105 mg./L. SO_2	7.05	12.9	10.80
13	"		8.25	16.6	10.21
14	"		9.0	18.2	9.71
15	"		5.4	9.8	10.97
16	"	214.5 mg./L. SO_2	6.85	12.5	10.05
17	"		9.05	17.6	9.65
18	"		5.50	10.4	10.50
19	"	588 mg./L. SO_2	7.45	19.5	9.55
20	"		9.05	22.8	9.22

Volgens statistiese verwerking van gegevens in Tabel 5, kan bewys word dat hier 'n geval van liniêre regressie bestaan. Die ontledingsmetode is 'n samevatting van statistiese behandeling volgens Love (1943), Snedecor (1938) en Goulden (1947).

Die

Die gliseriengehalte is beduidend ten opsigte van gereguleerde pH vir monsters 1-6 (dit is die monsters wat geen SO₂ ontvang het nie).

pH. x	x ²	Gliserien gm./L. y	y ²	xy	Berekenende waarde vir x x	(x-x)	(x-x) ²
3.65	13.32	7.4	54.76	27.01	3.85	- 0.20	0.04
4.25	18.06	7.6	57.76	32.90	4.10	+ 0.15	0.0225
4.80	23.04	8.7	75.69	41.76	5.00	- 0.20	0.04
5.90	34.81	9.3	86.49	54.87	5.45	+ 0.45	0.2025
6.75	45.56	11.4	129.96	76.95	7.15	- 0.40	0.16
7.95	63.20	12.2	148.84	96.99	7.80	+ 0.15	0.0225
33.30	197.99	56.6	553.50	329.88		- 0.05	0.4875
Σx	Σx^2	Σy	Σy^2	Σxy		$\Sigma (x-x)$	$\Sigma (x-x)^2$

$$\begin{aligned}
 s.s_x &= x^2 - \frac{(33.30)^2}{6} \\
 &= 197.99 - 183.15 \\
 &= 14.8 \longrightarrow
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 s.s_y &= y^2 - \frac{(56.6)^2}{6} \\
 &= 553.5 - 533.9 \\
 &= 19.6 \longrightarrow
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 s.P_{xy} &= \Sigma xy - \frac{\Sigma x \times \Sigma y}{n} \\
 &= 329.88 - \frac{33.3 \times 56.6}{6} \\
 &= 329.88 - 314.13 \\
 &= 15.75 \longrightarrow
 \end{aligned}$$

$$b_{xy} = \frac{s.P_{xy}}{s.s_y} = \frac{15.75}{19.6} = 0.803 \longrightarrow$$

Regressie

Regressie Vergelykings:-

$$\begin{aligned} X &= M_x + b_{xy} (y - M_y) \\ &= 5.55 + 0.803 (y - 9.4) \\ &= 5.55 - 7.55 + 0.803y \\ &= 0.803y - 2.0. \end{aligned}$$

Die standaard fout van b_{xy} :-

$$\begin{aligned} &= \sqrt{\frac{(x - \bar{x})^2}{(n - 2) \times S.Sy.}} \\ &= \sqrt{\frac{0.4875}{4 \times 19.6}} \\ &= 0.08. \end{aligned}$$

Ten einde te bepaal of b_{xy} beduidend is word t bepaal in die volgende vergelyking:-

$$t = \frac{b_{xy}}{\text{S.F. van } b_{xy}} = \frac{0.803}{0.08} = 10.04.$$

Hierdie waarde van t vir 4 vryheidsgrade is beduidend.

Deur die pH en gliseriengehaltes van Nos. 10 tot 14 (dit is die monsters met ongeveer 100 mg. SO_2 per liter voor gisting) en hul aan dieselfde behandeling as hierbo te onderwerp, kan bewys word dat liniêre regressie ook hier geld.

pl. x	x ²	Gliserien gm./l. y	y ²	xy	Berekende waarde vir x X	(x-X)	(x-X) ²
4.0	16.0	7.5	56.25	30.00	4.20	- 0.20	0.04
4.65	21.62	8.8	77.44	40.92	4.75	- 0.10	0.01
7.05	49.70	12.9	166.41	90.94	6.60	+ 0.45	0.2025
8.25	68.06	16.6	275.56	136.95	8.25	0.0	0.0
9.00	81.00	18.2	331.24	163.80	9.00	0.0	0.0
32.95	236.38	64.0	906.90	462.61		+ 0.15	0.2525
Σx	Σx^2	Σy	Σy^2	Σxy		$\Sigma (x-X)$	$\Sigma (x-X)^2$

$$\begin{aligned}
 S.S_y &= 906.90 - \frac{(64)^2}{5} \\
 &= 906.90 - 819.20 \\
 &= 88.70 \longrightarrow
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 S.P_{xy} &= \Sigma xy - \frac{\Sigma x \times \Sigma y}{n} \\
 &= 462.61 - 421.76 \\
 &= 40.85 \longrightarrow
 \end{aligned}$$

$$b_{xy} = \frac{40.85}{88.70} = 0.450 \longrightarrow$$

Regressie Vergelyking:-

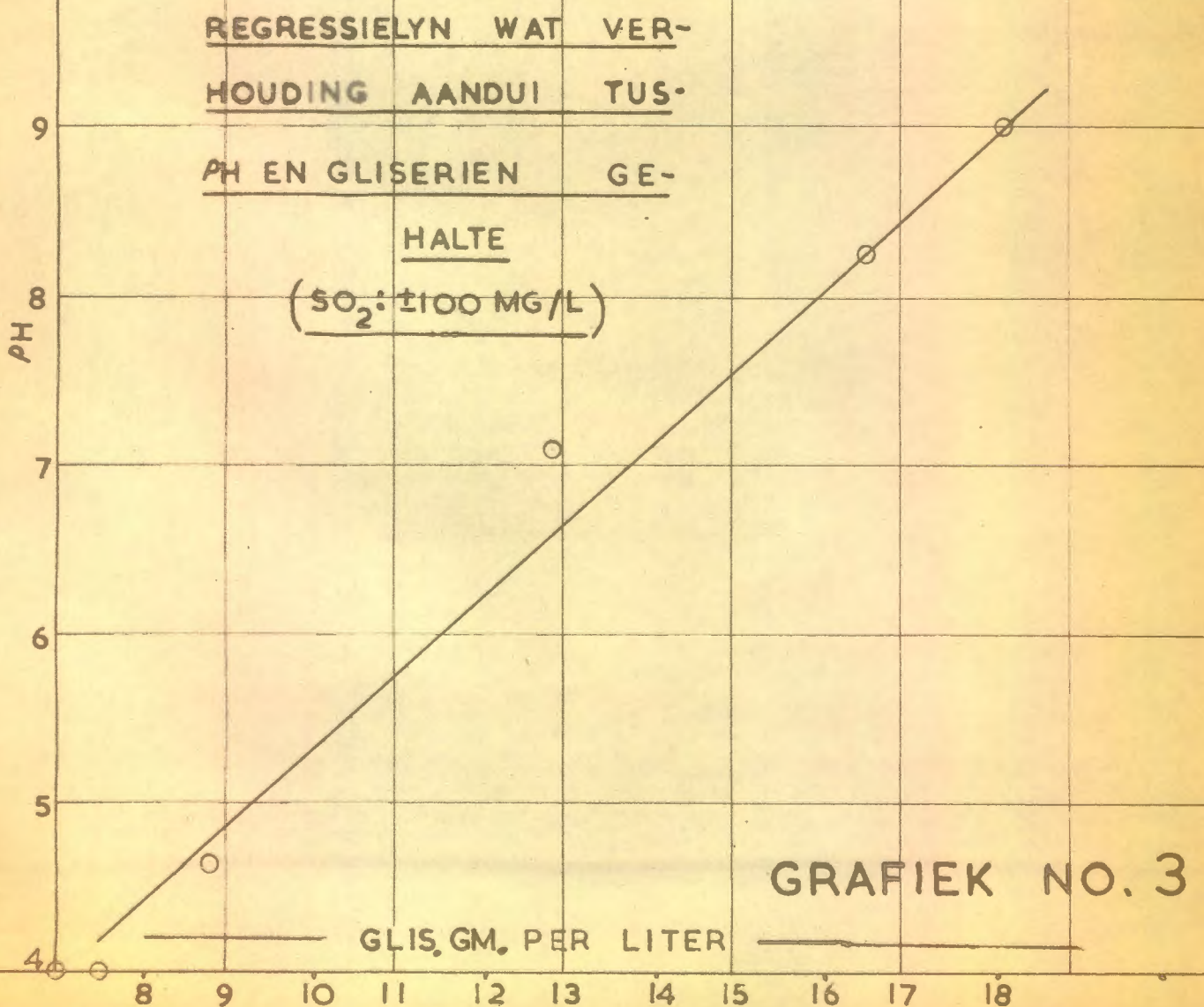
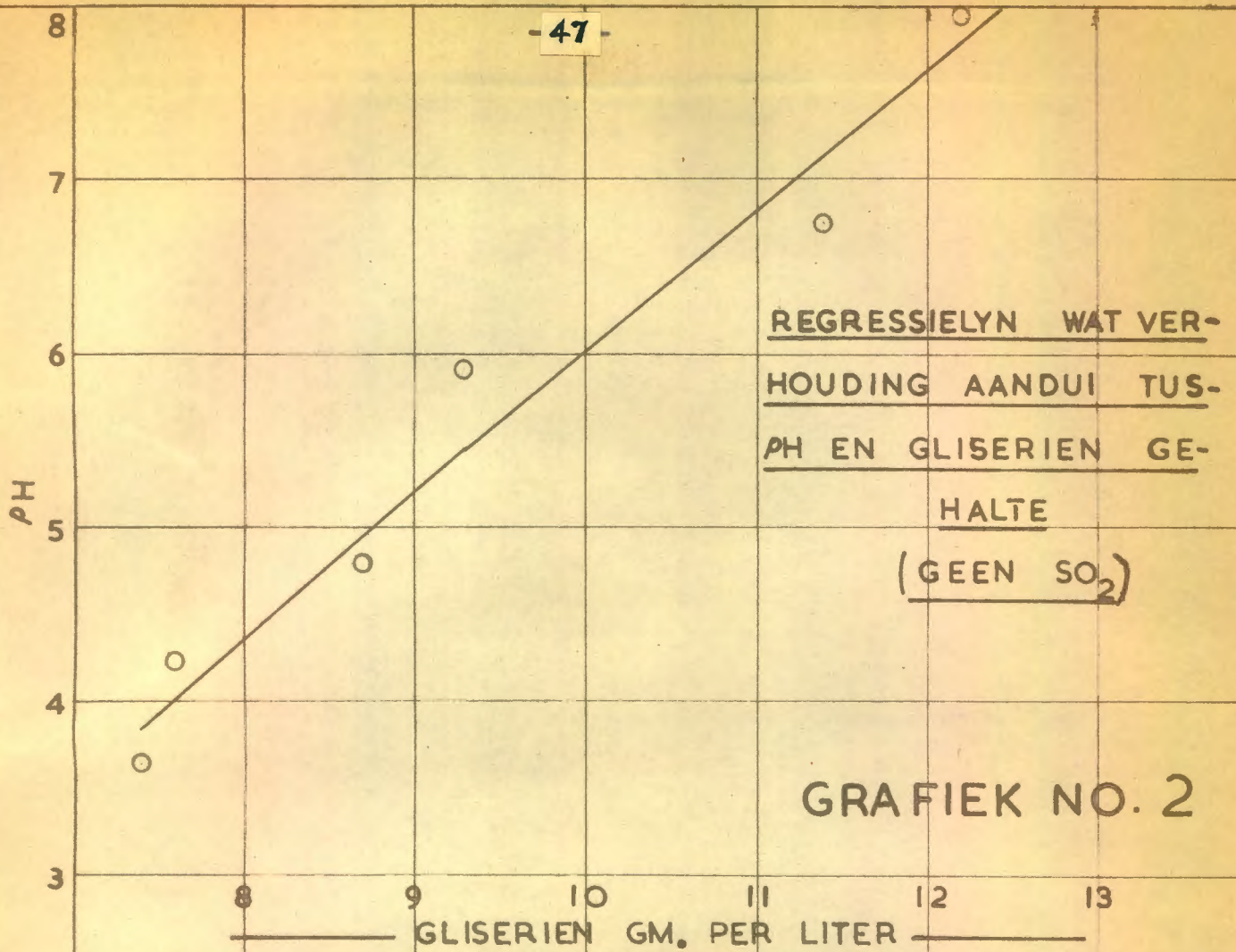
$$\begin{aligned}
 X &= M_x + b_{xy} (y - M_y) \\
 &= 6.6 + 0.45y - 5.80 \\
 &= 0.8 + 0.45y.
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 S.F. \text{ van } b_{xy} &= \sqrt{\frac{0.2525}{3 \times 88.70}} = \sqrt{\frac{0.2525}{266.1}} \\
 &= 0.031 \longrightarrow
 \end{aligned}$$

$$t = \frac{b_{xy}}{S.F. \text{ van } b_{xy}} = \frac{0.450}{0.031} = 14.44 \longrightarrow$$

Wat beduidend is vir 3 vryheidsgrade.

Grafieke Nos. 2 en 3 (bls. 47) stel die regressie-lyne voor van die twee groepe gegewens wat hierbo statisties verwerk is.



Die bevindinge van Connstein, Ludecke en ander werkers in verband met die produksie van gliserien volgens "die Biologiese proses" vanuit suikerbevattende media, is gevind ook waar te wees vir duiwenoste en wyngiste. Of dit by mos ook sou moontlik wees om die buitengewoon hoë gliserienkonsentrasies soos met bogenoemde proses te bereik, was nie in hierdie studie van belang nie.

Volgens Tabel 5, veroorsaak 'n toediening van SO_2 tussen die pH grense van normale duiwenoste nie 'n gliserien verhoging nie, maar intendeel 'n gliserien verlaging. Laasgenoemde moet waarskynlik gewyt word aan die feit dat SO_2 benevens sy antiseptiese werking ook die pH verlaag en hoe laer die pH, des te minder gliserien ontstaan daar in 'n duiwenos. (Vergelyk ontleding van monster No. 8 by pH 3.25 "droog" gegis).

Gaan 'n verhoging van gliserien egter gepaard met 'n verhoging van pH (as gevolg van $NaOH$ -toevoeging), dan word die posisie ingrypend verander en word aansienlik meer gliserien gevorm. Volgens Tabel 5 het beginkonsentrasies van ongeveer 100 en 200 mg. per Liter SO_2 respektiewelik, tesame met 'n pH van ± 9 , ongeveer dieselfde gliseriengehalte (± 18 gm. per Liter) bewerkstellig. Met 388 mg. per Liter SO_2 en pH 9.05, het die verkreeë hoeveelheid gliserien 22.8 gm. per Liter bedra, teenoor 'n kontrole-konsentrasie van 7.4 gm. per Liter.

Hierdie resultate is in ooreenstemming met die werk van Connstein, Ludecke en ander, aangehaal deur Haehn (1952). Laasgenoemde wys daarop dat namate die beginkonsentrasie Na_2SO_3 styg, tot selfs 40% van die beginkonsentrasie suiker (daar word met 'n $\pm 10\%$ suikeroplossing begin), styg die gliserol-konsentrasie geweldig. Die reaksie tyd word egter

ook verleng deur baie hoë sulfiet-konsentrasie.

In die praktyk moet 'n kompromie getref word tussen reaksie-tyd en produksie.

3. Die Invloed van Suikerkonsentrasie.

425 ml. Mos van ongeveer 23° Balling is in 'n 500 ml. maatkolf gepipetteer en 5 ml. gis bygevoeg en daarna met gedistilleerde water opgevul tot by die merk en goed geskud. Die Balling-lesing is geneem en die hele monster is oorgebring in 'n 1000 ml. gisfles. Die Balling-lesing was 19.0°.

425 ml. Van dieselfde mos is weer in 'n 500 ml. maatkolf gepipetteer en 5 ml. gis bygevoeg. 'n Hoeveelheid suiwer B.D.H. glukose is ook tot die maatkolf gevoeg en met gedistilleerde water opgevul tot by die merk en geskud. Die Balling-lesing (21.1°) geneem en oorgebring in 'n 1000 ml. gisfles.

Dieselfde proses met verskillende hoeveelhede glukose is herhaal in nog drie gevalle met ooreenstemmende Balling-lesings van 24.9, 26.6 en 33.0.

Sodra elkeen van die so-behandelde mos-monsters vir drie dae agtereenvolgend geen verdere gewigsverlies getoon het nie is dit ontloed vir alkohol en gliserien. (Monster No. 5 in onderstaande tabel wat klaarblyklik nie droog gegis het nie, is nie ontloed vir gliserien na gisting nie).

TABEL 6.

TABEL 6.

Wat die grade Balling voor gisting, gliserol- en alkoholgehalte (gm. per Liter) na gisting, asook die alkohol-gliserien verhouding, aantoon.

No.	°Balling.	Gliserien gm./L.	Alkohol gm./L.	Alkohol : Gliserien Verhouding.
1	19.0	6.6	8.90	13.6 : 1
2	21.1	6.9	9.73	14.1 : 1
3	24.9	7.9	11.71	14.8 : 1
4	26.6	8.4	12.62	15.0 : 1
5	33.0	8.8		

Die alkohol volumpersent is omgesit in alkohol gewigpersent en dit op sy beurt in gm. per Liter, deur gebruik te maak van tabelle vir hierdie doel volgens Van Nostrand (1934).

Hierdie proef naamlik om die invloed van verskillende suiker-konsentrasies op die vorming van gliserol vas te stel, is verder as volg uitgebrei.

'n Formule vir verdunning van die mos is uitgewerk sodat met die ontleding van die klaarverdunde mos dit 'n Invert suiker-gehalte van 10 gm. per 100 ml. toon. 'n Kontrole monster is as volg opgemaak - 5 ml. gis is in 'n 500 ml. kolf gepipetteer en mos en gedistilleerde water, in daardie verhouding, tot by die merk bygevoeg om 'n Invert suiker-konsentrasie van 10 gm. per 100 ml. te bewerkstellig. Dit is goed geskud en oorgegiet in 'n 1000 ml. gisfles.

Vyf hoeveelhede B.D.H. glukose van onderskeidelik 25, 50, 75, 100 en 125 gm. is seker uitgeweeg en elk in 'n 100 ml. maatfles in 'n gerieflike hoeveelheid gedistilleerde water opgelos en opgevol tot by die merk.

Hierdie

Hierdie glukose oplossings is elk saam met dieselfde hoeveelheid mos as in die kontrole monster in afsonderlike 500 ml. maatflesse oorgebring, 5 ml. gis bygevoeg en met gedistilleerde water opgevul tot by die merk - 'n gedeelte van die gedistilleerde water is elke slag gebruik om die 100 ml. maatfles, waarin die glukose-oplossing was, uit te spoel voordat dit by die hoofmassa gevoeg is. Nadat hierdie oplossings goed geskud is, is elk afsonderlik oorgebring in 'n 1000 ml. gisfles.

Sodra van hierdie monsters vir drie dae agtereenvolgend geen verdere gewigsverlies getoon het nie, is dit ontleed vir gliserien en alkohol.

TABEL 7.

Wat die invert suikergehalte voor gisting, gliserien- en alkoholgehalte (gm. per Liter) na gisting, asook die alkohol-gliserien verhouding, aantoon.

No.	Invert Suiker gm./100 ml.	Gliserien gm./L.	Alkohol gm./L.	Alkohol : Gliserien Verhouding.
1	10	4.8	5.12	10.66 : 1
2	15	6.6	7.62	11.54 : 1
3	20	8.1	10.16	12.44 : 1
4	25	8.9	12.63	14.19 : 1
5	30	9.6	14.47	15.07 : 1
6	35	9.8		

No. 6 was blykbaar nog nie droog gegis teen die tyd dat gisting hier opgehou het nie.

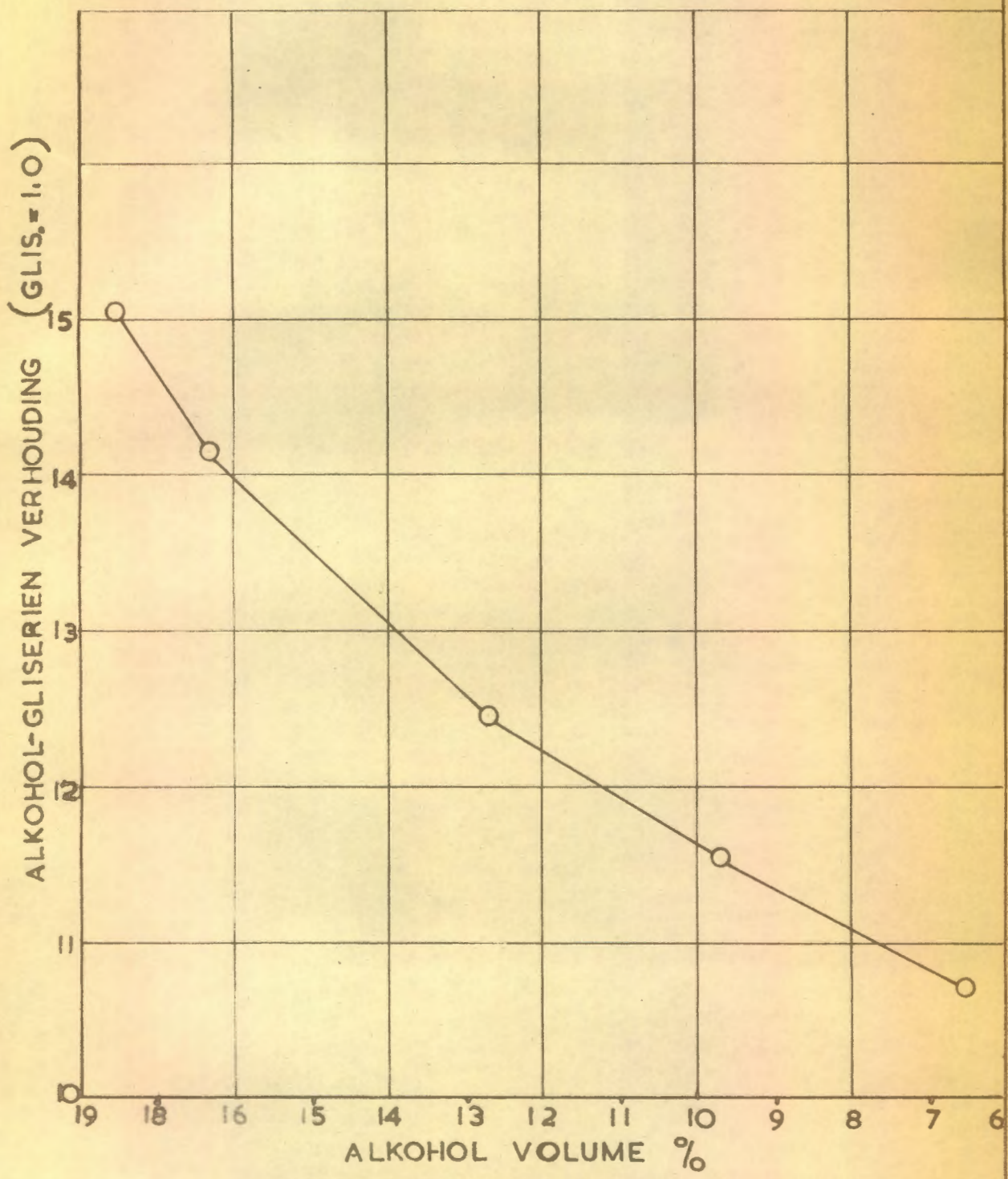
Uit resultate soos aangetoon in Tabelle Nos. 6 en 7, wil dit voorkom dat hoe laer die invert suikergehalte van die mos (binne perke) voor gisting, des te meer gliserien in verhouding tot die gevormde alkohol, ontstaan daar gedurende gisting.

Grafiek No. 4 is 'n grafiese voorstelling van die alkohol-gliserien verhouding (gliserien gelyk gestel aan een), teenoor die alkoholgehalte na voltooide gisting volgens resultate aangedui in Tabel No. 7.

CHARLES MARTIN

EXTRA SERING

VERWANTSKAP TUSSEN ALKOHOL - GLISERIEN
VERHOUDING (GLISERIEN = 1.0) EN ALKOHOLGE-
HALTE NA VOLTOOIDE GISTING VAN VER-
SKILLENDE BEGINKONSENTRASIES SUIKER.



GRAFIEK NO. 4

4. Die invloed van Alkoholkonsentrasie.

Aangesien daar gevoel is dat dit miskien goed sou wees om die invloed van verskillende alkohol-konsentrasies op die vorming van gliserien na te gaan, is 'n proef volgens onderstaande beskrywing uitgevoer.

350 ml. Pearl of Czaba-mos is in 'n 500 ml. maatfles gepipetteer, 5 ml. gis bygevoeg en tot by die merk opgevol met gedistilleerde water en geskud. Die Balling-lesing (15.2°) word geneem en die so verdunde, ingeënte mos in 'n 1000 ml. gisfles oorgebring. Hierdie suiker-konsentrasie (15.2° B.) word as gerieflik beskou om nog 'n aansienlike gisting te kan bewerkstellig en 'n geredelike hoeveelheid gliserien te vorm. Die Balling-lesing van die ander monsters (waartoe alkohol gevoeg is) is hier van minder belang. Die doel was om die persentasie gisbare suiker, op 'n volume basis bereken, in alle monsters eens te hê.

Tien verskillende hoeveelhede absoluut alkohol word met verskillende hoeveelhede gedistilleerde water in tien 100 ml. maatflesse gemeng en opgevol tot by die merk, ook met gedistilleerde water, om die tien alkoholgehaltes, soos in Tabel No. 8 aangedui, te verkry. Die tien alkoholoplossings word in volgorde van stygende konsentrasie gerangskik.

350 ml. Mos, 5 ml. gis en die eerste alkoholoplossing word in 'n 500 ml. maatfles oorgebring. Die alkohol word kwantitatief oorgespoel met gedistilleerde water en word verder tot by die 500 ml. merk opgevol met gedistilleerde water. Die fles word geskud, daar word 'n monster getrek vir alkoholontleding, en die res oorgebring in 'n 1000 ml. gisfles. Die proses word herhaal met die orige nege alkohol-oplossings.

Die ontledings vir alkohol word so spoedig moontlik deurgevoer.

TABEL 8.

Wat die alkoholgehaltes voor gisting en die alkohol- en gliseriengehaltes na gisting aantoon.

No.	Alkohol voor gisting. Vol. %.	Alkohol na gisting. Vol. %.	Gliserien gm./L.
1	0.0	8.49	6.2
2	3.01	11.39	6.3
3	4.10	12.42	6.6
4	5.51	14.12	6.1
5	6.82	15.23	6.4
6	8.40	16.82	6.4
7	9.55	17.56	6.3
8	10.13	17.29	4.9
9	12.08	17.74	3.8
10	12.88	17.29	2.6
11	13.94	17.91	-

Uit Tabel No. 8 sal opgemerk word dat die onvolledige gisting wat monsters Nos. 8, 9, 10 en 11 ondervind het, duidelik weerspieël word in die gliseriengehaltes van genoemde monsters vergeleke met die van die ander. By 'n konstante suiker-konsentrasie en onder origens dieselfde gistingskondisies is dit bewys dat die hoeveelheid gliserien wat gevorm word nie deur die alkoholgehalte van die gistende mos beïnvloed raak nie, mits laasgenoemde nie so hoog is dat dit gisting geheel en al strem nie.

Daar

Daar skyn, in die lig van hierdie bevindings, min grond te bestaan vir die beskouing dat namate die gisting verloop (met ander woorde, alkohol-konsentrasie styg) en die gis dit gevolglik al moeiliker vind om sy lewensfunksies te verrig, daar in verhouding al meer gliserien gevorm word.

5. Die Invloed van Gliserienkonsentrasie.

Ten einde vas te stel of die aanwesigheid van gliserien voor gisting enige invloed sal hê op die hoeveelheid gliserien wat tydens die gisting gevorm sal word, is hierdie proef uitgevoer.

350 ml. Mos (ongeveer 23^oB) word gepipetteer in 'n 500 ml. maatkolf, 5 ml. gis bygevoeg en opgeval tot by die merk met gedistilleerde water, geskud en oorgebring in 'n 1000 ml. gisfles.

350 ml. Mos en 5 ml. gis en ongeveer 2.5 gm. gliserien (die gliserien word in elke geval uitgepipetteer) word saam in 'n 500 ml. maatfles geplaas en opgeval tot by die merk met gedistilleerde water, geskud, en 'n monster getrek vir gliserienbepaling en oorgegiet in 'n 1000 ml. gisfles. Dieselfde procedure word herhaal met hoeveelhede van nagenoeg 5, 10, 15, 25 en 50 gm. gliserien.

Na gisting word die wyn afkomstig van die so-behandelde mosmonsters ontleed.

TABEL 9.

Wat die Gliseriengehaltes (voor gisting), die "verwagte" gliseriengehaltes en die gliserien-, alkohol- en Invert suikergehaltes (na gisting) aantoon.

No.	Gliserien gm./l. toegevoeg voor gisting.	Gliserien bygevoeg (gm./l.) + 5.8gm./l. "verwagte".	Gliserien gm./l. na gisting "bepaalde".	% Afwyking van die "verwagte".	Invert suiker gm./l.	Alkohol Vol. %.
1	0	5.8	5.8	0	4.6	9.22
2	5.2	11.0	10.7	- 2.7	6.5	9.15
3	10.1	15.9	14.8	- 6.9	5.1	9.22
4	18.8	24.6	25.5	+ 4.1	-	9.22
5	28.5	34.1	36.3	+ 6.5	11.6	8.88
6	51.7	57.5	54.2	- 5.7	14.5	8.64
7	106.2	112.0	104.0	- 5.6	25.2	8.55

Deur die gliseriengehalte (na gisting) van monster No. 1 (waaraan geen gliserien toegevoeg is nie) by te tel by die toegevoegde gliserien, word 'n syfer verkry wat die "verwagte" gliseriengehalte aandui, dit wil sê, ongeveer daardie hoeveelheid gliserien wat daar na gisting teenwoordig behoort te wees indien die toegevoegde gliserien geen rol gespeel het nie.

Uit Tabel No. 9 sal opgelet word dat hierdie syfer vir die "verwagte" hoeveelheid gliserien en die "bepaalde" hoeveelheid na gisting in die geval van al die monstare redelike goeie ooreenkoms toon.

Alhoewel die "bepaalde" en "verwagte" gliseriengehaltes by No. 5 nog redelik goed ooreenstem, het hierdie wyn by ontleding nog 'n invert suikergehalte van 11.6 gm. per Liter getoon, terwyl Nos. 6 en 7 nog onderskeidelik invert suikergehaltes van 14.5 en 25.2 gm. per liter getoon het.

Gliseriengehaltes

Gliseriengehaltes vanaf 3% opwaarts is nie bevordelik vir die vinnige algehele omsetting van suiker na alkohol nie.

6. Die Invloed van Fosfaatgehalte.

350 ml. Mos (ongeveer 23^oB.) word gepipetteer in 'n 500 ml. maatfles, 5 ml. gis bygevoeg, met gedistilleerde water opgevol tot by die merk, geskud en oorgebring in 'n 1000 ml. gisfles. 'n Duplikaat word presies op genoemde wyse voorberei en gebruik vir fosfaat analise.

350 ml. Mos, 5 ml. gis en 'n gewig chemies rein Kalsiumfosfaat $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, (56.32% P_2O_5) wat so bepaal is dat dit aan die 500 ml. verdunde wyn, 'n fosfaatgehalte (as P_2O_5) van 0.050 gm. per 100 ml. sal besorg (die natuurlike P_2O_5 gehalte van die mos ingereken), word in 'n 500 ml. maatfles oorgebring, gedistilleerde water bygevoeg tot by die merk, geskud, en oorgebring in 'n 1000 ml. gisfles.

Dieselfde prosedure word herhaal om P_2O_5 gehaltes te lewer van respektiewelik 0.075, 0.100, 0.200 gm. per 100 ml., dit wil sê, twee-, drie-, vier- en agmaal die natuurlike fosfaatgehalte van die oorspronklike mos word kunsmatig in die ongegiste mos bewerkstellig.

'n Soortgelyke reeks monsters is voorberei waarin die fosfaatgehaltes met ammoniumfosfaat

$[(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4, 53.75\% \text{P}_2\text{O}_5]$ aangevol is.

Na gisting word hierdie monsters ontleed vir gliserien.

TABEL 10.

Wat die Fosfaatgehaltes (P_2O_5) voor gisting en Gliseriengehaltes na gisting aantoon.

No.		P_2O_5 gm./100 ml.	Gliserien gm./L.
1	Kontrole	0.022	6.5
2	"	0.022	6.5
3	Ca Fosfaat	0.050	6.6
4	NH_4 "	0.050	6.6
5	Ca "	0.075	7.0
6	NH_4 "	0.075	6.5
7	Ca "	0.100	6.9
8	NH_4 "	0.100	6.4
9	Ca "	0.200	6.9
10	NH_4 "	0.200	6.8

Al tien bogenoemde monsters was binne 10-12 dae na inenting klaar gegis. Daar was geen verskil in die gistingstyd van die fosfaat-behandelde monsters en die onbehandelde kontrole monsters nie. Daar was ook geen verskil ten opsigte van Kalsium of Ammoniumfosfaat nie. Vir praktiese doeleindes is die gliserien ontledings dieselfde as wat verwag sou kon word indien al die monsters "kontroles" was.

7. Die Invloed van Gistingstemperatuur.

500 ml. Hoeveelhede word uitgemeet in elk van ag gisflesse. Elke uitgemete monster word ingeënt met 5 ml. gis geskad en twee-twee in vier verskillende broeikaste geplaas. Die broeikaste is onderskeidelik ingestel by 10° , 15° , 20° en $30^{\circ}C$.

Sodra 'n gisfles vir drie agtereenvolgende dae geen gewigsverlies toon nie, word die Ballinglesing geneem en ontleed vir gliserol.

TABEL 11.

Wat die gistingstemperatuur, die gliserien-gehalte en °Balling na gisting, asook die gistingsduurte aantoon.

No.	Tempera- tuur.	°Balling na gisting.	Gliserien gehalte gm./l.	Gistingsduurte (dae).
1	10°C.	- 1.5	7.0	17
2		- 1.5	6.7	19
3	15°C.	- 1.4	6.7	14
4		- 1.5	6.6	14
5	20°C.	- 1.5	6.8	11
6		- 1.3	6.6	12
7	30°C.	- 1.3	6.8	6
8		- 1.4	6.8	7

Die Balling is gelees met temperatuur korreksie en die monsters is voor ontleding toegelaat om eers kamertemperatuur aan te neem.

Die gegewens in Tabel No. 11 dui daarop dat temperatuur geen invloed op gliserienvorming het nie.

B. ONDERSOEK NA VERDERE ASPEKTE VAN GLISERIEN VOORKOMS.

1. Die Alkohol-Gliserien Verhouding.

Daar is gevoel dat geen ondersoek na die voorkoms van gliserien in mos en wyn enigsins volledig sou wees sonder om kortliks die bestaan te probeer nagaan van die eens op 'n tyd druk-besproke alkohol-gliserien verhouding nie.

Vir hierdie doel is 'n aantal droë wyn-monsters van K.W.V. verkry. Gecodeerde wyne is ontleed vir alkohol, totale ekstrakgehalte, invert suiker en gliserien.

Die

Die "suikervrye" of droë ekstrakgehalte is bepaal deur die Invert suikergehalte van die totale ekstrakgehalte af te trek. Volgens tabelle van Van Nostrand (1934) is die volume persent alkohol omgesit in gewigs persent, sodat die verhouding tussen gliserien en alkohol geredelik kon bepaal word. Verder is daar getrag om vas te stel of daar 'n korrelasie bestaan tussen die hoeveelheid gliserien en die droë (suikervrye) ekstrakgedeelte van bogenoemde monsters.

TABEL 12.

TABEL 12.

Wat die alkohol-, totale ekstrak-, invert suiker-, suikervry
 ekstrak- en gliseriengehalte, asook die alkohol-gliserien verhouding
 aantoon van droë wyne uit verskeie verkry van L.N.V.

Wyn.	Alkohol gm./l.	Tot. Eko. gm./l.	Invert Suiker gm./l.	Suiker- vrye Ekstrak gm./l.	Gliserien gm./l.	Alk. : Glie. Verhouding.
1. Riesling Kengeel	98.1	24.5	8.2	16.1	7.6	12.9 : 1
2. Droë Rooi Wes-Afrika	92.2	24.8	5.0	21.8	7.0	11.9 : 1
3. Claret	107.3	27.6	4.4	23.2	7.2	14.9 : 1
4. Burgundy	108.3	28.4	8.6	19.8	7.1	15.2 : 1
5. 1946 Dr. Rooi	106.1	26.6	6.5	20.1	8.6	12.3 : 1
6. 1947 " "	107.3	26.9	3.8	23.1	9.4	11.4 : 1
7. 1948 " "	105.3	25.6	4.6	21.0	6.3	16.7 : 1
8. 1952 Riesling	100.5	22.6	-	22.6	6.9	14.5 : 1
9. " "	95.0	21.2	1.4	19.8	9.4	9.9 : 1
10. " "	99.5	24.7	3.4	21.3	7.5	13.6 : 1
11. 1952 Stein	93.5	22.7	-	22.7	7.7	12.1 : 1
12. " "	95.5	23.4	-	23.4	8.4	11.1 : 1
13. 1952 Riesling	97.0	30.8	8.2	22.6	8.2	11.8 : 1
14. " "	95.5	25.2	1.4	21.8	6.6	14.1 : 1
15. 1952 Schiraz	104.8	30.0	3.2	26.8	7.5	14.0 : 1
16. " "	112.8	29.4	8.2	21.2	8.6	13.1 : 1
17. 1950 Portak	92.2	33.1	4.3	28.7	7.8	11.8 : 1
18. " "	89.5	29.2	2.0	27.2	7.4	12.1 : 1
19. " "	98.8	32.3	3.6	28.7	7.9	12.5 : 1

Volgens

Volgens Tabel No. 12 bestaan daar vir bogenoemde 19 monsters hoegenaamd geen korrelasie tussen die gliseriengehalte en die suikervrye, nie-Fehling-reducerende ekstrakgehalte (korrelasie koëffisient -0.14).

In geeneen van hierdie monsters het die gliseriengehalte meer as 50% van die "suikervrye" ekstrak bedra nie, terwyl dit gemiddeld ongeveer 30% van die nie-Fehling-reducerende ekstrak bedra het.

Verder is ook nagegaan hoe die alkohol-gliserienverhouding gedurende die gistingsproses varieer. Twee monsters wyn van dieselfde mos en met dieselfde gis gegis is elke keer tydens gliserienontleding ook vir alkohol ontleed en die alkohol-gliserienverhouding bepaal.

TABEL 11.

Wat die aantal dae na inenting, persentasie gewigsverlies, alkohol- en gliseriengehaltes, asook die alkohol-gliserienverhouding aandui gedurende die gistingsproses.

Dae in- ent- ing.	(a)			(b)			Gemiddeld.		
	% Ge- wigs ver- lies.	Glise- rien gm./L.	Alko- hol Vol.-%	% Ge- wigs ver- lies.	Glise- rien gm./L.	Alko- hol Vol.-%	Glise- rien gm./L.	Alko- hol gm./L.	Alk:Glis. Ver- houding.
4	4.62	2.4	5.66	4.63	1.9	5.74	2.15	44.3	20.6 : 1
5	6.12	4.6	7.60	6.13	3.0	7.77	3.80	60.0	16.2 : 1
6	6.66	5.7	9.14	6.68	5.6	9.14	5.65	71.6	12.7 : 1
7	6.78	6.1	-	6.78	6.5	-	6.30		
8	-	6.2	9.53	-	6.4	9.38	6.30	74.0	11.7 : 1

Hieruit

Hieruit sal opgeserk word dat die alkohol-gliserienverhouding al nouer word namate die alkoholiese gisting verloop wat ooreenstem met die vorige waarneming, naamlik dat die grootste gedeelte van die gliserien wat uiteindelik in 'n wyn aangetref word, gedurende die laaste gedeelte van die gisting gevorm word.

Amerine en Joslyn (1951) gee die grense aan waartussen gliserolgehaltes gewoonlik in Kaliforniese droë wyne varieer, as 0.7% en 1.1%, met 0.9% en 1.0% as onderskeidelik die gemiddelde waardes vir droë wit en droë rooi wyne. Die gemiddelde waardes vir die 19 monsters in Tabel No. 12 (wit sowel as rooi droë wyne) bedra 0.77%. Dit wil dus, met genoemde tabel as aanduiding, voorkom asof die gemiddelde waardes vir Suid-Afrikaanse droë wyne effens laer is as in Kalifornië, terwyl die onderskeie minimum grense nie aanmerklik verskil nie.

2. Stokery-Afval.

Vier monsters wyn vir die distillasie van wynbrandewyn is uit die "charger" tenks getrek net voordat laasgenoemde deur die Aksynsbeampte versëël is. Na die stookproses is monsters getrek van die "Low wine" en die ooreenstemmende residu in die rabatketel.

Die wynmonsters is ontleed vir alkohol en gliserien, die residu van die brandewynketel is ontleed vir gliserien en die alkoholgehalte van die rooi brandewyn met 'n Syke's Hidrometer bepaal.

TABEL 14.

TABEL 14.

Wat die alkohol en gliseriengehaltes van die Rabatwynmonsters en die gliseriengehaltes van die ooreenstemmende residu aantoon.

No.	Alkohol van Rabatwyn op .S.	Gliserien van Rabatwyn gm./L.	Gliserien in residu gm./L.
1	20.6	7.4	8.4
2	21.2	7.6	7.2
3	20.2	6.9	7.0
4	21.0	<u>6.8</u>	<u>8.2</u>
		<u>Gem. 7.2</u>	<u>Gem. 7.7</u>

Die "Low wine" monsters het alvier 'n "sterkte" getoon van ongeveer 42° onder proef, met ander woorde, die wyn verminder met die eerste stookproses tot ongeveer twee-derdes van sy oorspronklike volume.

Daar het geen gliserien in die distillaat voorgekom nie. Dit kan maklik kwantitief bewys word deur 'n paar ml. oormaat alkoholiese NaOH-oplossing by 'n gerieflike volume, sê 10 ml. "Low wine" te voeg, en dan daar 'n paar druppels 10% CuCl_2 -oplossing by te voeg. Die afwesigheid van die helder blou kleur van die kupri-gliserolkompleks, dui die afwesigheid van gliserol aan.

('n Kolorimetriese metode vir die bepaling van gliserien volgens Colgate Palmolive Peet Co. (1951), lewer uitstekende resultate vir lae konsentrasies gliserien in waterige oplossings, maar weens kolloidale verstoringe, kon dit nie met sukses op wyn toegepas word nie).

Omdat

Omdat 'n sekere volume "Low wine" ongeveer een-derde van die oorspronklike ooreenstemmende volume rabatwyn verteenwoordig, kan teoreties verwag word dat die gliseriengehalte met ongeveer 50% behoort te styg gedurende die eerste stookproses. Dit is egter nie die geval nie - die gemiddelde ontledings vir gliserien voor en na die stookproses bedra 7.2 en 7.7 gm. per Liter respektiewelik. Dit wil sê, daar gaan ongeveer 33% van die gliserien, bevat in die Rabatwyn, verlore in die stookproses.

Aangesien die gliserien nie waarneembaar verdamp nie, moet hierdie verskynsel waarskynlik hoofsaaklik gewyt word aan verestering wat gedurende die stookproses plaasvind.

Indien die gegewens in Tabel No. 14 deurgaans sou geld, kan daar konserwatief bereken word dat met die produksie van elke miljoen proefgelling Rabat-brandewyn, 'n verlies van naasteby 200,000 lbs. gliserien gegaard gaan.

Tot tyd en wyl daar 'n goedkoper metode van konsentrasie as distillasie onder verminderde druk kan ontwikkel word, sal dit maar die posisie moet bly ten spyte van 'n nypende tekort aan gliserien vir industriële gebruik.

HOOFSTUK IV.SAMEVATTING EN GEVOLGTREKKINGS.

Gliserien is na water en alkohol, numeries die grootste komponent van 'n droë wyn, en aangesien hierdie bestandeel, volgens baie wykkenners, geassosieer word met die sogenaamde "volheid" van 'n wyn en hierdie wynverbinding tot dusver nog maar baie min bespreking in die enologiese literatuur geniet het, is daar besluit om die ontstaan en voorkoms van gliserien onder Suid-Afrikaanse kondisies te probeer nagaan.

Die ontleding vir gliserien het tot onlangs nog altyd met moeilikhede gepaard gegaan. 'n Goë ontledingsmetode was die eerste groot struikelblok. Verskillende ontledingsmetodes is nagegaan en uitgehoets. Daar is in geslaag om 'n metode te ontwikkel, in breë trekke gebaseer op die van Amerine en Dietrich, wat goed reproduseerbare resultate gelewer het.

Die volgende probleem was die van gisbare materiaal vir daardie tye van die jaar wanneer die vermindering in roetine verpligtinge hierdie laboratoriumonderzoek moontlik sou maak.

Koelopgebergde Steindruiwens, vars Pearl of Czaba druive en Barlinka druive onder SO_2 -gas koelopgeberg het gedien om die tydperk waarop gisbare materiaal beskikbaar sou wees, so lank moontlik uit te rek.

Daar is getrag om sover moontlik die gisting van die praktyk in miniatuur in die laboratorium na te boots. Aangesien helder gesteriliseerde mos nooit die ware toedrag van sake verteenwoordig nie, is daar gevoel dat natuurlike ongesteryliseerde mos resultate sou lever wat meer met die van die praktyk sou strook.

Hierdie

Hierdie ondersoek het, in kort, tot die volgende gevolgtrekkings gelei.

1. Wyingisrasse verskil in hul vermoë om gliserien te vorm. Vier verskillende gisrasse is vergelyk in hul vermoë om gliserien te vorm en aansienlike verskille is waargeneem.
2. Gliserien ontstaan altyd gedurende 'n wyn-alkoholiese gisting. In droë wyne bedra dit gemiddeld 30% van die droë ekstrakgehalte.
3. Die grootste persentasie gliserien word gedurende die laaste stadium van die gistingsproses gevorm.
4. SO_2 -Toedienings alleen veroorsaak nie 'n toename in gliserienvorming nie maar 'n afname. (Wanneer begenoemde toedienings geskied by die normale pH van wyn). 'n SO_2 -toevoeging van 400 mg. per Liter, tesame met 'n pH verhoging tot +-9 (met NaOH) kan gliseriengehaltes van meer as drie keer die normale ten gevolge hê.
5. Hoe hoër die suikergehalte van die mos, des te hoër die totale gliseriengehalte, maar moete met lae suikergehaltes onder dieselfde gistingskondisies, vorm in verhouding tot gevormde alkohol, meer gliserien.
6. Solank die alkoholgehalte sodanig is dat dit nie 'n volledige gisting belet nie, het dit geen invloed op die hoeveelheid gliserien wat gevorm word nie.
7. Temperatuur, fosfate en gliserien self het geen invloed op die vorming van gliserien tydens gisting nie. Die voorbehoud geld hier natuurlik ook - die temperatuur byvoorbeeld, moet nie so hoog of so laag wees dat dit gisting stopsit of ernstig vertraag nie.

8. 'n Alkohol-gliserienverhouding bestaan alleen tussen baie wye grense - vir droë wyn 9.9 : 1 - 16.7 : 1. Om vervalsing van wyn deur gliserien-toevoeging te bewys sal hierdie verhouding alleenlik kan aangewend word met 'n versigtigheid meegebring deur groot ervaring. Die gliserienghalte van 'n gefortifiseerde wyn sal ook, binne perke, kan dien om die stadium en mate van fortifikasie vas te stel.
9. Op die vraag of gliserien slegs uit die suiker ontstaan en geen gedeelte daarvan vanuit die afvalstowwe van die gisselle ontstaan nie, kan met hierdie ondersoek as bewys, taanlik seker beweer word dat gliserien gevorm gedurende gisting feitlik geheel en al vanuit die suiker ontstaan.

L I T E R A T U R E

1. ALLAN, N., H.Y. CHARBONNIER and R.M. COLEMAN. (1940)
Quantitative Determination of Certain Poly-
alcohols in Presence of each other.
Industrial and Engineering Chemistry (Anal Ed.)
Vol. 12. No. 7.
American Chemical Society.
2. AMERINE, M.A. (1947)
The Composition of California Wines at
Exhibitions.
Wines and Vines Vol. 28. Nos. 1, 2, 3.
3. AMERINE, M.A. and W.C. DIETRICH. (1943)
Glycerol in Wines.
A.O.A.C. Journal of 1943. Vol. XXVI. No. 3.
4. AMERINE, M.A. and M.A. JOSLYN. (1941)
Commercial Production of Brandies.
University of California College of Agriculture.
Agricultural Experiment Station, Berkeley,
California.
5. AMERINE, M.A. and M.A. JOSLYN. (1951)
Table Wines. The Technology of their
Production in California.
University of California, Press, Berkeley
and Los Angeles.
6. COLGATE-PALMOLIVE PHEET CO., KANSAS CITY, KANSAS. (1951)
Personal Communication on: The Analysis of
Glycerol in Soap.
7. DEKKER, K. DOUWES. (1953)
Personal Communication from the Director,
Sugar Milling Research Institute, Howard
College, Natal, on:
"Glycerol as a By-product of the Sugar Industry".
8. DUTCHER, R.A., C.O. JENSEN and P.M. ALTHOUSE. (1951)
Introduction to Agricultural Bio-chemistry.
John Wiley and Son Inc., New York.
9. FORNACHON, J.C.M. (1952)
Studies on Sherry Flor. Hassell Press Adelaide.
10. FREY, C.N. (1930)
History and Development of Modern Yeast Industry.
Industrial and Engineering Chemistry. Vol.22. No.11.
American Chemical Society.

11. GOULDEN

11. GOULDEN, C.H. (1947)
 Methods of Statistical Analysis.
 John Wiley and Sons Inc., New York.
12. HAEHN, HUGO. (1952)
 Bio-chemie der Gärungen.
 Walter De Gruyter & Co./Berlin.
13. HAGEN-SMIT, A.J., F.N. HIROSAWA and J.H. WANG. (1949)
 The Chemical Studies on Grapes and Wines
 I Volatile Constituents of Zinfandel Grapes.
 (Vitis Vinifera, Var. Zinfandel).
 Food Research. Vol. XIV.
14. HARDEN, A. (1932)
 Alcoholic Fermentation. The Early Stages
 of Fermentation. Fermentation in the Yeast Cell.
 Ergebnisse der Enzymforschung.
 Herausgabe von
 F.F. Nord und R. Weidenhagen.
 1 Band.
 Leipzig Akademische Verlagsgesellschaft M.B.H.
15. HARDEN, A. (1914)
 Alcoholic Fermentation.
 Longmans Green and Co., London.
16. HARROW (1950)
 Textbook of Biochemistry.
 W.B. Saunders Co., Philadelphia.
17. KARRER, P. (1945)
 Organic Chemistry.
 Elsevier Publishing Co. Inc., New York.
18. LOVE, H.H. (1943)
 Experimental Methods in Agricultural Research.
 The Agric. Exp. Sta. The University of Puerto Rico.
19. MALAPRADE. (1928)
 Bull. Soc. Chemie Serie 4, 43.
20. MAY, O.E. and H.T. HERRICK (1930)
 Some Minor Industrial Fermentations.
 Indus. and Eng. Chem. Vol. 22. No. 11.
 American Chemical Society.
21. OLSEN, JOHN, C. (1934)
 Van Nostrand's Chemical Annual.
 New York: D. van Nostrand Company Inc.

22. PARFINGTON

22. PARTINGTON, J.R. (1949)
General and Inorganic Chemistry.
MacMillan and Co., Ltd., London.
23. PRESCOTT, S.G. and C.G. DUNK. (1949)
Industrial Microbiology.
McGraw-Hill, New York.
24. SCHANDERL, H. (1950)
Die Mikrobiologie des Weines.
Eugen Ulmer, Stuttgart / z.Z. Ludwigsburg.
Verlag für Landwirtschaft, Gartenbau und
Naturwissenschaft.
25. SHEDLEY-MACLEAN, IDA. (1936)
The Bio-chemical Synthesis of Fat from
Carbohydrate.
Ergebnisse der Enzymforschung.
Herausgegeben von
F.F. Nord und R. Weidenhagen.
5. Band.
Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft.
26. SNEDECOR, G.W. (1938)
Statistical Methods.
Collegiate Press Inc. Ames, Iowa.
27. VOGEL, I.A. (1948)
Qualitative Chemical Analysis.
Longmans Green and Co. Ltd., London.
28. VON DER HEID, C. und F. SCHMITTHENNER. (1922)
Der Wein - Weinbau und Weinbereitung Chemie
und Untersuchung des Weines.
29. WHISTLER, R.L. and D.I. MCGILVRAY. (1954)
Chemistry of Carbohydrates.
Annual Review of Biochemistry. Vol. 23.
Annual Reviews Inc. Stanford, Calif.
30. WERTHEIM, E. (1951)
Textbook of Organic Chemistry.
31. WINDISCH, K. (1905)
Die Chemiese Vorgänge beim Werden des Weines.
Druck von Friedrich Find.