

3 WERKINSTRUCTIE TITREREN EN BEREKENINGEN

3.1 Inleiding

In dit derde artikel wordt uiteengezet hoe de bepaling van het totaalzuur in wijn wordt uitgevoerd. Tevens zijn er voorbeeldberekeningen gegeven om het totaalzuur uit te rekenen. De gebruikte begrippen worden hierin niet uitgelegd en zijn in deel 1 'Goed glaswerk in je wijnmakerij' en in deel 2 'Het bepalen van het omslagpunt van een titratie' uitgebreid aan bod gekomen.

3.2 Veiligheid

Werken met chemicaliën betekent voor de gebruiker de risico's en gevaren. Deze dienen vooraf aan gebruik bekend te zijn. Bij elke chemische stof waarmee wordt gewerkt dient het betreffende veiligheidsblad vooraf te zijn geraadpleegd.

Voor de bepaling van het gehalte wijnsteenzuur in wijn wordt getitreerd met 0,1 M natriumhydroxide. Dit is een basische oplossing met een pH van rond de 13.

Op internet zijn diverse veiligheidsbladen over 0,1 M natriumhydroxide te vinden. Hierin zijn aspecten beschreven wat men moet doen bij inslikken, huidcontact, in de ogen krijgen enzovoort.

Geadviseerd wordt om één van de onderstaande veiligheidsblad door te nemen.

https://www.carlroth.com/downloads/sdb/nl/C/SDB_CN56_BE_NL.pdf

https://nl.vwr.com/assetsvc/asset/nl_NL/id/7901850/contents

<http://www.vanheesecht.nl/WebRoot/Store/Shops/VanHees/MediaGallery/MSDS/10.102117.pdf>

3.3 Werkinstructie titreren om het zuurgehalte in wijn te bepalen

Hieronder is stapsgewijs aangegeven hoe de titratie wordt uitgevoerd.

1. Maak een buret gereed voor gebruik.
2. Vul de buret op de juiste manier met 0,1 M natriumhydroxide of met blauwloog. Als vooraf aan de titratie nog een druppeltje titrant aan de uitloop van het kraantje zit, tik deze dan met behulp van een bekersglasje af.
3. Pipetteer 10 of 15 ml wijn in een erlenmeyer.
4. Voeg 75 ml demiwater toe, zodanig dat alle wijn onderin de erlenmeyer spoelt.
5. Zet de erlenmeyer vervolgens op een kookplaatje en kook het mengsel wijn/water gedurende 1 minuut. Laat de erlenmeyer afkoelen tot circa 20 graden Celsius!
6. Voeg drie druppels indicator toe. Bij gebruik van blauwloog dient er geen indicator te worden toegevoegd aangezien blauwloog deze al bevat.
7. Zet de erlenmeyer met daarin de gepipetteerde wijn, op een wit papiertje onder de buretkraan.
8. Noteer de beginstand van de buret.
9. Titreer druppelsgewijs tot de eerste kleurwijziging naar roze (blauwloog heeft een kleuromslag van geel naar blauw).
10. Zwenk tijdens titreren de erlenmeyer rustig heen en weer zodat de vloeistoffen zich goed mengen.

11. Spuit tegen het einde van de titratie de binnenkant van de erlenmeyer af met een beetje water zodat alle reagens onderin de erlenmeyer spoelt.
12. Houdt rekening met een eventuele druppel aan het einde van de uitloop van het kraantje. Deze dient door middel van aftikken tegen de binnenkant van de erlenmeyer nog daarin te komen.
13. Zodra de verwachte kleuromslag optreedt, en deze 10 seconden blijft bestaan, wordt gestopt met de titratie. Het omslagpunt of equivalentiepunt van de titratie is dan bereikt.
14. Noteer de eindstand.
15. Het verschil tussen de begin- en eindstand is het getitreerde volume.

Voer de titratie drie maal uit. Het verschil tussen de laagst en hoogste meetwaarde van de 3 metingen mag niet meer dan 2% ten opzichte van de hoogste waarde bedragen. Als dat het geval is dan vervalt de afwijkende waarde en dient een vierde bepaling te worden uitgevoerd. Bereken het gemiddelde waarbij een eventuele afwijkende waarde niet wordt meegenomen. Als door de tijd heen meer ervaring met het uitvoeren van de bepaling is opgedaan zal de spreiding van de meetwaarden onder de 1% komen te liggen.

In plaats van handmatig de erlenmeyer rond te zwenken is het ook mogelijk om de erlenmeyer op een magneetroerder onder de buret te plaatsen. In de erlenmeyer wordt een roervlo gedaan die door de magneetroerder zal gaan ronddraaien waardoor de vloeistoffen zich mengen. De roervlo is omhuld door teflon waardoor deze chemisch gezien inactief is.

3.4 Omslagpunt bepalen kan ook met een pH-meter

Als het omslagpunt door middel van een pH-meter wordt vastgesteld is het toevoegen van een indicator niet nodig. In plaats van de wijn in een erlenmeyer te pipetteren wordt deze in een bekersglas van 200 ml gepipetteerd. De pH-electrode wordt vervolgens in het bekersglas in de wijn-watermengsel gehangen. Het gebruik van een magneetroerder is dan wel noodzakelijk. Na elke toevoeging wordt de pH-waarde afgelezen. Rond het omslagpunt moet de stapgrootte kleiner of gelijk aan 0,2 ml zijn.

Verderop wordt de formule gegeven om door middel van de tweede afgeleide het omslagpunt te berekenen. Om het rekenwerk te vergemakkelijken is ook een excelbestand te downloaden (zie website, hyperlink "Berekening omslagpunt").

Als vooraf niet bekend is hoeveel ml titrant is benodigd, kan eerst 'ruw' worden getitreerd om een indicatie te krijgen. Daarna kan de bepaling worden uitgevoerd waarbij rond het equivalentiepunt langzaam druppelsgewijs wordt getitreerd.

3.5 Noteren meetresultaten

De afgelezen buretstanden worden in een logboek genoteerd. Als het omslagpunt van de titratie door middel van een pH-meter wordt bepaald dan dienen alle gemeten pH-waarden met bijbehorend volume te worden genoteerd.

Tabel 1. Logboekvoorbeeld titratie door middel van een indicator (kleuromslag)

Datum	01-01-2017	Referentie	Johanniter, 11102016		
Titrant	0,1 M NaOH	Meting 1	Meting 2	Meting 3	Meting 4
Eindstand		17,19	31,64	45,85	1,77
Beginstand		3,05	17,19	31,64	15,83
Getitreerd volume		14,14	14,45	14,21	14,06
Gemiddelde waarde		14,137 ml		Volume wijn	10 ml

De in de tabel ingevulde meetwaarden worden in het verderop staande voorbeeld gebruikt om het zuurgehalte van de wijn te berekenen. In de voorbeeldberekening is uitgegaan van een gepipetteerd volume van 10 ml wijn.

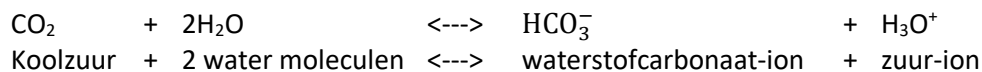
Uit tabel 1 blijkt dat meting nummer 2, waarbij het getitreerd volume 14,45 ml is, is afgekeurd aangezien deze meer dan 2% (om precies te zijn 2,15%) afwijkt ten opzichte van de hoogste waarde van de overige 3 metingen.

3.6 Reactie vergelijkingen behorend bij de titratie

3.6.1 Reactievergelijking van CO₂ en invloed van CO₂

Bij een titratie waarbij het omslagpunt in het basisch gebied ligt, kan de nauwkeurigheid van de bepaling negatief worden beïnvloed door aanwezigheid van koolzuur (CO₂) uit de lucht.

CO₂ uit de lucht en opgelost CO₂ in het wijnmonster reageert namelijk met water volgens de volgende reactie vergelijking:



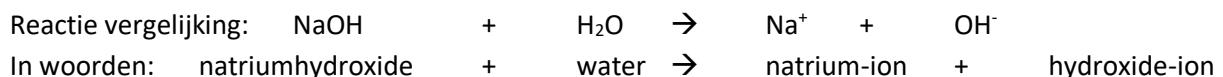
Een ion is een elektrisch geladen atoom of een molecuul. De lading kan positief of negatief zijn. De officiële naam van het zuur-ion is hydronium-ion. In het vervolg van de tekst zal gesproken worden van zuur-ion waarmee het H₃O⁺ ion wordt bedoeld.

Door de reactie van koolzuur met water zal de pH-waarde lager worden. Het ontstane zuur-ion zal vervolgens met de basische natriumhydroxide oplossing reageren waardoor er uiteindelijk meer titrant nodig is. Hierdoor wordt een extra fout in de analyse geïntroduceerd, want je meet nu meer zuur dan wanneer er geen CO₂ aanwezig was.

Het gebruikte demiwater kan vanwege de reactie met CO₂ koolzuurvrij worden gemaakt. Om demiwater koolzuurvrij te maken wordt deze ongeveer 5 minuten gekookt. Na afkoelen kan het koolzuurvrije demiwater in een spuitfles worden gedaan. In de gehele analyse wordt vervolgens van het koolzuurvrije water gebruik gemaakt.

Om het wijnmonster koolzuurvrij te maken kan deze ook een paar minuten worden gekookt.

3.6.2 Reactievergelijking oplossen van NaOH



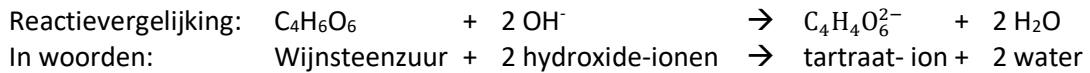
Natriumhydroxide (NaOH) is een sterke base en zal bij oplossen in water (H₂O) volledig splitsen in Na⁺ en een OH⁻ ionen.

3.6.3 Reactievergelijking tijdens titratie

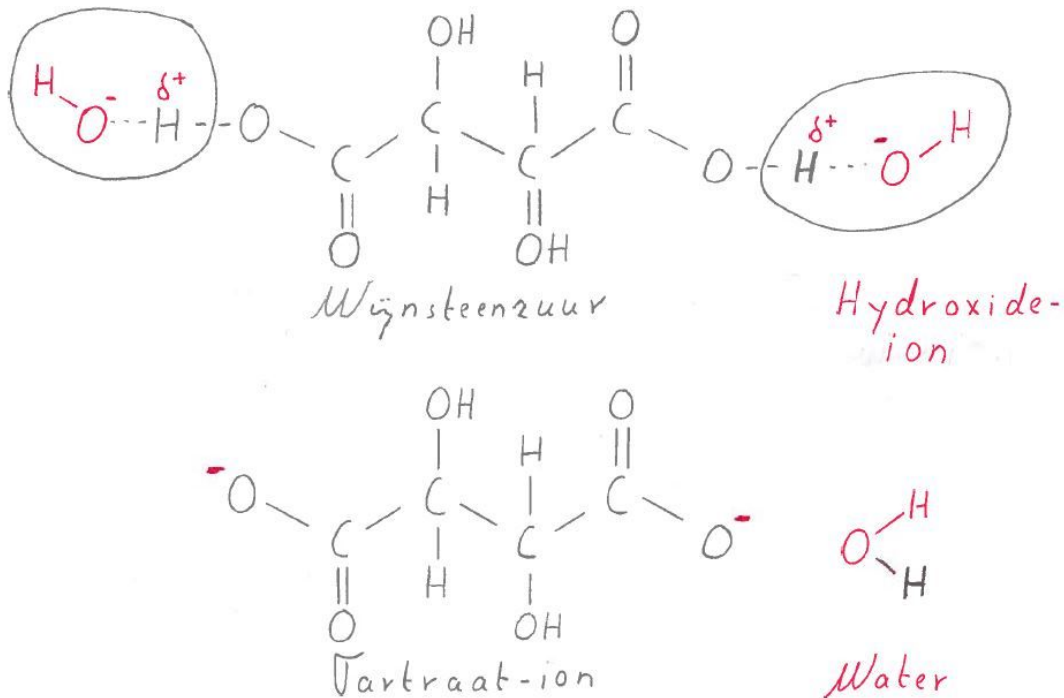
In het onderstaande is er voor gekozen om de reactievergelijking van wijnsteenzuur als voorbeeld voor alle andere organische zuren in wijn te kiezen. Dit omdat de reactievergelijking van de andere aanwezige zuren in wijn op dezelfde wijze als die van wijnsteenzuur verlopen.

Wijnsteenzuur is een zwak tweewaardig zuur. Tweewaardig wil zeggen dat wijnsteenzuur 2 zuurgroepen (carboxylgroepen) bezit die in staat zijn om elk een proton af te splitsen. Deze reageren vervolgens met de toegevoegde 0,1 M natriumhydroxide.

De reactie die tijdens de titratie optreedt, is de volgende:



Het hydroxide-ion is erg sterk en zal deze ervoor zorgen dat alle wijnsteen­zuur wordt omgezet in tartraat-ionen. Twee hydroxide-ionen (OH^-) pakken elk een proton (H^+) van het wijnsteen­zuur en vormen 2 watermoleculen (H_2O). Het wijnsteen­zuur mist nu 2 positieve ladingen en is dan een tartraat-ion met een negatieve lading van 2 geworden.



In de chemie wordt altijd gerekend met de aantallen moleculen, atomen of ionen, die met elkaar reageren. In een reactie vergelijking staan alleen de verhoudingen waarin stoffen reageren. Als we kijken naar de laatste reactie vergelijking dan reageert één molecuul wijnsteen­zuur met twee hydroxide-ionen die afkomstig zijn van 2 moleculen natriumhydroxide. Dat is ook logisch aangezien wijnsteen­zuur een tweewaardig zuur is waardoor elk molecuul 2 protonen kan afstaan.

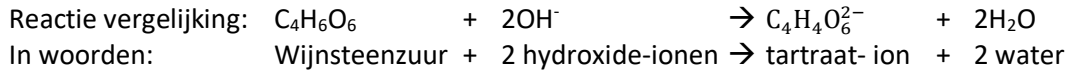
In de bovenstaande reactievergelijkingen komen 2 soorten pijlen voor:

- \rightarrow Dit type pijl betekent dat de reactie aflopend naar rechts is. Na de reactie zullen alleen de stoffen aan de rechter kant van de pijl aanwezig zijn.
- \rightleftharpoons Dit type pijl betekent dat er een evenwichtsreactie ontstaat waarbij de reactie zowel naar links als naar rechts verloopt waarbij op een gegeven moment een evenwicht ontstaat. Meestal is er van een stof óf links, óf rechts meer aanwezig dan aan de andere kant. Is er meer aan de linkerkant aanwezig, van "ligt het evenwicht links".

3.7 Berekening van het zuurgehalte in wijn

Vooraf: Om het rekenwerk te vergemakkelijken is ook een excelbestand te downloaden (zie website, hyperlink "Berekening omslagpunt").

Reactievergelijking tijdens titreren:



In het titreervoorbeeld (zie tabel 1 op pagina 2 van dit document) is het gemiddelde volume titrant 14,137 ml. De titer is 0,1 M. Dat wil zeggen dat de concentratie 0,1 mol OH⁻ per liter is. Dat is gelijk aan 0,1 millimol OH⁻ per milliliter. Aangezien het getitreerde volume in milliliters wordt uitgedrukt, vindt de berekening ook daarin plaats, namelijk millimol per milliliter, afgekort mmol/ml.

$$\text{Aantal ml titrant} \times \text{titer titrant} = \text{aantal mmol OH}^- \quad \text{(Formule 1)}$$

Ingevuld:

$$14,137 \text{ ml} \times 0,1 \text{ mmol/ml} = 1,4137 \text{ mmol OH}^-$$

Om het zuur in de 10 ml gepipetteerde wijn te neutraliseren is dus 1,4137 mmol OH⁻ nodig.

Uit de reactie vergelijking blijkt dat 2 moleculen OH⁻ reageert met 1 molecuul wijnsteenzuur. Anders gezegd: OH⁻ reageert met wijnsteenzuur in een verhouding van 2:1.

De 1,4137 mmol OH⁻ komt dus overeen met $\frac{1,4137}{2} = 0,7069$ mmol wijnsteenzuur per 10 ml wijn.

Om van mol naar grammen te rekenen is formule 2 van toepassing. Let daarbij op de factor 1000 aangezien gerekend wordt van mmol naar mol. De **m** in **mmol** staat voor milli en is dus $\frac{1}{1000}$ mol. De molmassa van wijnsteenzuur is een vaste waarde en bedraagt 150,09 gram per mol.

$$\text{Aantal mol} \times \text{molmassa wijnsteenzuur} = \text{aantal gram wijnsteenzuur} \quad \text{(Formule 2)}$$

Ingevuld:

$$\frac{1,4137}{2 \times 1000} \times 150,09 = 0,1061 \text{ gram wijnsteenzuur per 10 ml wijn}$$

Omrekenen naar grammen wijnsteenzuur per liter is vermenigvuldigen met de factor $\frac{1000}{10}$

$$\frac{1,4137}{2 \times 1000} \times 150,09 \times \frac{1000}{10} = 10,609 \text{ gram wijnsteenzuur per liter}$$

De wijn heeft een zuurgehalte van 10,6 gram wijnsteenzuur per liter.

3.7.1 Vereenvoudiging van de berekening

De bovenstaande berekening met behulp van twee formules kan ook in één formule worden samengevat.

$$\frac{\text{aantal ml titrant}}{2000} \times 150,09 \times \text{titer titrant} \times \frac{1000}{\text{aantal ml gepipetteerde wijn}} = \text{gram wijnsteenzuur per liter}$$

Vereenvoudigd:

$$\frac{\text{aantal ml titrant}}{2 \times \text{aantal ml gepipetterde wijn}} \times 150,09 \times \text{titer titrant} = \text{gram wijnsteen zuur per liter.} \quad (\text{Formule 3})$$

Met de 'titer titrant' wordt de molariteit van de gebruikte natriumhydroxide oplossing bedoeld.

Formule 3 is altijd van toepassing. Ook als een titrant met een andere molariteit wordt gebruikt. Bijvoorbeeld blauwloog. Bij blauwloog wordt bij 'titer titrant' de (berekende waarde) 0,13325 ingevuld.

De titer van blauwloog en de foutmarge daarin, is niet op de verpakking vermeld. Deze waarde is door middel van een berekening tot stand gekomen. Dit is mogelijk omdat namelijk gegeven is dat bij 10 ml wijn het volume titrant gelijk is aan de het aantal gram wijnsteen zuur equivalenten.

In de tussenberekeningen wordt gerekend met de onafgeronde getallen. Pas het eindantwoord wordt afgerond op één decimale achter de komma.

3.8 Voorbeeldberekening omslagpunt bij meten met een pH-meter

Voor de berekening van het omslagpunt is nodig om de zogenoemde tweede afgeleide te berekenen. Daarvan volgt hieronder een rekenvoorbeeld. Er wordt niet ingegaan op de wiskundige achtergrond van de tweede afgeleide.

Om het rekenwerk te vergemakkelijken is ook een excelbestand te downloaden (zie website, hyperlink "Berekening omslagpunt").

Voorbeeld

Een oplossing bevat organische zuren bevat en wordt getitreerd met 0,1 M natriumhydroxide. Het totaalzuur wordt door middel van een potentiometrische titratie (met pH-meter) bepaald. Daarvoor wordt 10 ml van de oplossing gepipetteerd. In tabel 6 staan de verkregen meetwaarden. Om een juiste berekening van de tweede afgeleide te verkrijgen is het van belang dat de stapgrootte rond het omslagpunt kleiner of gelijk is aan 0,2 ml zijn.

Tabel 2. Voorbeeld van gemeten waarden bij een potentiometrische titratie.

Volume [ml]	pH	Volume [ml]	pH
0,00	1,75	11,00	6,55
3,00	3,20	11,10	7,60
8,50	4,10	11,20	9,35
10,50	5,15	11,30	9,55
10,70	5,40	11,40	9,70
10,80	5,60	12,00	9,90
10,90	5,95	13,00	10,20

Bij 11,1 ml wijzigt de pH het meest. Rond dat punt worden ongeveer 8 meetwaarden genomen. Deze 8 meetpunten worden in een tabel overgenomen, zoals in tabel 3 hieronder.

Vervolgens wordt het verschil tussen 2 opeenvolgende pH-waarden bepaald en gedeeld door de stapgrootte van het Volume. Deze noemen we de eerste afgeleide.

Hierna wordt het verschil tussen 2 opeenvolgende (1^{ste} afgeleide) bepaald en gedeeld door de stapgrootte van het (Volume 1^{ste} afgeleide). Deze noemen we de tweede afgeleide. De tweede afgeleide zal bij een stijgende curve van positief naar negatief gaan.

Het omslagpunt van de titratie (dus waar de gezochte pH-waarde voor de omslag is) ligt tussen de 2 waarden waar deze van teken wisselt.

In het onderstaande voorbeeld (tabel 3) is dat dus de waarde 67 en -153.

Als er wordt getitreerd met een gelijke stapgrootte is het niet noodzakelijk om te delen door de berekende stapgrootte van het volume.

De 8 meetwaarden rond het volume waar de pH het meest wijzigt, worden in een tabel gezet. Dit zijn de geel gearceerde meetwaarden uit tabel 2. Vervolgens worden de afgeleiden berekend. Zie de onderstaande tabel 3 voor een rekenvoorbeeld.

Tabel 3. Getitreerd volume met bijbehorende pH-waarde rond het omslagpunt.

Gemeten waarden		Berekende waarden			
Volume [ml]	Gemeten pH	Volume 1 ^{ste} afgeleide	pH 1 ^{ste} afgeleide	Volume 2 ^{de} afgeleide	2 ^{de} afgeleide
10,70	5,42				
		10,75	1,80		
10,80	5,60			10,80	13,0
		10,85	3,10		
10,90	5,91			10,90	32
		10,95	6,30		
11,00	6,54			11,00	44
		11,05	10,7		
11,10	7,61			(V ₁) 11,10	(a) 67
		11,15	17,4		
11,20	9,35			(V ₂) 11,20	(b) -153
		11,25	2,10		
11,30	9,56			11,30	-5
		11,35	1,60		
11,40	9,72				

Drie uitgewerkte berekeningen:

$$11,05 = \frac{11,10 - 11,00}{2} + 11,00$$

$$1,60 = \frac{9,72 - 9,56}{11,40 - 11,30}$$

$$13,0 = \frac{3,10 - 1,80}{10,85 - 10,75}$$

Berekening omslagpunt met de onderstaande formule:

$$\text{Omslagpunt} = V_1 + \left(\frac{a}{a-b}\right) \times (V_2 - V_1) \quad \text{(Formule 4)}$$

$$\text{Omslagpunt} = 11,1 + \left(\frac{67}{67 - -153}\right) \times (11,2 - 11,1)$$

$$\text{Omslagpunt} = 11,1 + (0,305 \times 0,1)$$

$$\text{Omslagpunt} = 11,13 \text{ ml}$$

Vervolgens wordt met behulp van formule 3 het aantal gram wijnsteenzuur berekend.

$$\frac{\text{aantal ml titrant}}{2 \times \text{aantal ml gepipetterde wijn}} \times 150,09 \times \text{titer titrant} = \text{gram wijnsteenzuur per liter} \quad \text{Formule 3}$$

Ingevuld:

$$\frac{11,13 \text{ ml}}{2 \times 10 \text{ ml}} \times 150,09 \text{ gram/mol} \times 0,1 \text{ mol/liter} = 8,35 \text{ gram wijnsteenzuur per liter.}$$

Afgerond op het juiste aantal decimalen bevat de wijn 8,4 gram wijnsteenzuur per liter.

Curve: steil of vlak verlopend

Bij het titreren van een sterk zuur met een sterke base zal de curve stijl verlopen. Bij een zuurbepaling van wijn is er sprake van een zwak zuur dat getitreerd wordt met een sterke base. De titratiecurve zal hierbij minder stijl verlopen. Met behulp van de tweede afgeleide is van een dergelijke titratie het omslagpunt goed te berekenen aangezien de curve een duidelijk omslagpunt heeft.

Uit het voorgaande zal duidelijk zijn, dat het omslagpunt bij bepaling met een pH-meter niet altijd zal liggen bij dezelfde pH (vaak wordt gedacht dat dit altijd pH=8,2 is).

Bij een titratie, waarbij de curve geen duidelijk omslagpunt laat zien, is de methode van de tweede afgeleide minder goed te gebruiken. Vooral als de meetwaarden rond het omslagpunt niet betrouwbaar zijn zal dat in de berekening sterk doorwerken.

Excelbestand als hulpmiddel bij de berekeningen

Op de webpagina waar u de links aantreft voor onze artikelen over zuren en het meten daarvan, treft u ook een link aan voor het downloaden van een excelbestand .

In dit excelsheet hoeven alleen het getitreerde volume en de gemeten pH-waarde te worden ingevuld. De eerste en tweede afgeleide en het volume van de 1^{ste} en 2^{de} afgeleide worden door excel automatisch berekend.

Met behulp van formule 4 en vervolgens formule 3 kan het aantal gram wijnsteenzuur per liter worden berekend.

3.9 Tot slot

In deze reeks artikelen is beschreven hoe op een professionele manier een handmatige titratie wordt uitgevoerd. Benodigd glaswerk, foutmarges, berekeningen en achtergronden zijn in het kort besproken.

Voor de wijnboer die het gemeten zuurgehalte als een richtlijn voor aanzuren of ontzuren gebruikt, voldoet een laboratorium of meetpipet ruimschoots en is de behandelde kennis niet nodig.

De nieuwsgierige wijnboer, die het verloop van het zuurgehalte tijdens de vinificatie wil volgen om invloeden van gistrassen en/of vinificatieschema's te ontdekken, zal met dit drietal artikelen een extra stuk gereedschap in handen hebben.

Is het noodzakelijk dat elke wijnboer kennis heeft van de chemie achter wijn? Volgens ons niet. Om op een professionele manier te titreren zijn werkinstructies meegegeven, waardoor chemische achtergrondkennis niet strikt noodzakelijk is.

Wijn maken is tenslotte geen theoretische aangelegenheid. De theorie helpt ons wel om nieuwe wegen te bewandelen en ons handelen op een hoger niveau te tillen. Maar zonder de bezieling voor de wijn zal dit ons nergens brengen.

Geraadpleegde bronnen:

Binas (Natuurwetenschappen)

Handbook of Chemistry and Physics, 65th edition.