

Analysmetoder för cider

Detta faktablad beskriver analysmetoder som vanligen används vid cidertillverkning för att kunna följa och kontrollera tillverkningen så att önskad kvalitet nås.

VILKA ANALYSER ANVÄNDS VID CIDERTILLVERKNING?

Det finns flera viktiga analyser som ofta används vid cidertillverkning. Det är analys av specifik vikt; total syrahalt; pH; bunden, fri och total svaveldioxidhalt (SO₂) samt alkoholhalt. Ibland analyseras även mängd fermenterbart kväve i musten (eng. *yeast assimilable nitrogen*, YAN); totalhalt fenoler i must och cider; och, särskilt för päroncider, innehållet av flyktiga syror (eng. *volatile acidity*, VA). Analyser för att följa eventuell malolaktisk jäsning, jästpopulationens utveckling (räkning av jästceller) och ciderns jäsbarhet görs också när det är relevant. Tabell 1 ger en översikt över rekommenderade analyser för olika steg vid cidertillverkning. Information om analyserna och hur de utförs beskrivs där efter. För analys av YAN och totalhalt fenoler, se Fakta om cidertillverkning 2024: Analysmetoder för frukt- och must vid tillverkning av cider.

MÄTNING AV DENSITET OCH SPECIFIK VIKT

Definition och bakgrund

Densitet definieras som provets massa (vikt) delat med dess volym. Specifik vikt (eng. *specific gravity*, SG) är provets densitet i förhållande till vattnets densitet, mätt vid samma temperatur.

Must innehåller lösta ämnen, främst socker men även syror, som påverkar mustens densitet och därmed dess specifika vikt. Dessa ämnen gör att 1 liter must väger mer än 1 liter vatten, som i sin tur väger mer än 1 liter alkohol, vid samma temperatur. När jäsningen fortskrider minskar sockerhalten medan alkoholhalten ökar och densiteten sjunker. Om musten har en densitet på 1.053 g/cm³, så har 1 liter must (1000 cm³) en massa på 1053 g, vilket motsvarar en specifik vikt på 1.053. Temperaturen påverkar densiteten och därmed den specifika vikten. För att vara jämförbara måste uppmätta värden därför alltid justeras i förhållande till en referenstemperatur (20 °C). Analys av mustens specifika vikt gör det möjligt att enkelt uppskatta sockerhalten och därmed den

potentiella alkoholvivån som indikerar hur hög alkoholhalten kan bli om allt socker förbrukas genom fermentering. För att beräkna den potentiella alkoholhalten utgående ifrån den specifika vikten behövs tabeller med empiriska värden för must och cider. Genom att analysera den specifika vikten under jäsningen kan jäsningens hastighet också följas.

Utrustning och metod

För att mäta specifik vikt behövs:

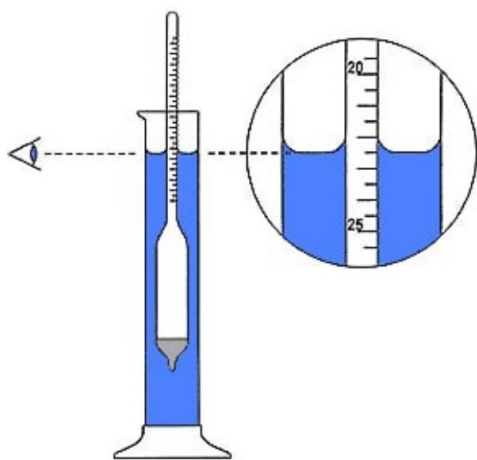
- En hydrometer (analog eller digital) som mäter den relativa densiteten hos ett mustprov. Hydrometern finns med olika skalor varav en är specifik vikt (SG).
- Ett graderat mätglas på 250 mL (i glas eller plast).
- En termometer.

För att mäta specifik vikt, tag ut ett prov av must eller cider och filtrera det genom en silduk eller ett kaffefilter. Detta avlägsnar eventuella rester av fruktkött i musten och avgasar de prover som tas under jäsning. Både fruktkött och bubblor kan annars påverka analysresultatet. Fruktköttet kan alternativt avskiljas genom att provet centrifugeras. Koldioxidbubblorna kan också avlägsnas genom att provet placeras i ett ultraljudsbad till dess att alla synliga bubblor försvunnit.

Fyll det filtrerade och vid behov avgasade provet i ett mätglas. Mät temperaturen och placera sedan hydrometern i mätglasets. Snurra hydrometern för att förhindra att den fastnar mot glasets väggar. Låt hydrometern stabilisera sig, och se till att den inte vidrör mätglasets väggar eller botten. Avläs värdet på hydrometern vid meniskens nedre del (Figur 1). Korrigera för temperatur genom att använda kalibreringsskalan på hydrometern, eller med hjälp av tabeller och beräkningshjälpmedel som finns tillgängliga online.

Tabell 1. Rekommenderade analyser vid olika steg av cidertillverkning.

Analyser	Fysikalisk-kemiska och sensoriska analyser				Mikrobiologiska analyser
	Tillverkningssteg och syfte	I tillverkningslokalen	På labbet	Övriga analyser	
Inför fermentering Syfte: Kartlägga juicens egenskaper, bedöma risker, kunna vidta åtgärder för att nå avsedd ciderkvalitet	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatur • Specifik vikt • Enkel provsmakning 	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatur • Specifik vikt • pH • Total syrahalt • Övervakning av mjölksyrajäsning • Fermenterbart kväve (YAN) • Provsmakning 	<ul style="list-style-type: none"> • Totalhalt fenoler (om blandning sker i detta steg) • SO₂ (om det tillsätts i detta steg) 	<ul style="list-style-type: none"> • Flyktiga syror 	<ul style="list-style-type: none"> • Inga
Under fermentering Syfte: Utvärdera hur jäsningsframskrider för att kunna nå avsedd ciderkvalitet	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatur • Specifik vikt • Enkel provsmakning 	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatur • Specifik vikt • pH • Total syrahalt • Övervakning av mjölksyrajäsning • Provsmakning 	<ul style="list-style-type: none"> • SO₂ (om redan tillsatt eller tillsätts i detta steg) 	<ul style="list-style-type: none"> • Flyktiga syror 	<ul style="list-style-type: none"> • Eventuell räkning av jästceller och verifiering av förekomst av bakterier
Efter fermentering Syfte: Kartlägga ciderns egenskaper för att kunna blanda olika omgångar till avsedd kvalitet	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatur • Specifik vikt • Enkel provsmakning 	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatur • Specifik vikt • pH • Total syrahalt • Övervakning av mjölksyrajäsning • Provsmakning 	<ul style="list-style-type: none"> • SO₂ (om redan tillsatt eller tillsätts i detta steg) • Test av jäskarbarhet (om det är relevant för cidertypen) 	<ul style="list-style-type: none"> • Flyktiga syror • Klarnings-test 	<ul style="list-style-type: none"> • Räkning av jästceller • Förekomst av bakterier • Räkning av Brettanomyces celler (om det är relevant för cidertypen)
Vid fyllning Syfte: Kartlägga ciderns egenskaper och bedöma behov av ytterligare åtgärder för att nå avsedd ciderkvalitet och stabilitet	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatur • Specifik vikt • Enkel provsmakning • Motståndskraft mot oxidation 	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatur • Specifik vikt • pH • Total syrahalt • Övervakning av mjölksyrajäsning • SO₂ • Alkoholhalt • Smakkaraktärisering • Verifiering av blandningskvalitet 	<ul style="list-style-type: none"> • Innehåll av järn vid risk för oxidation och behov av åtgärder för att minska järninnehållet 	<ul style="list-style-type: none"> • Alkohol • Verifierande klarnings-test 	<ul style="list-style-type: none"> • Räkning av jästceller • Förekomst av bakterier • Räkning av Brettanomyces celler om det är relevant för cidertypen



Figur 1. För korrekt avläsning av hydrometern ska avläsningen göras vid meniskens nedre del (Figur, Beerlab).

MÄTNING AV PH

Definition och bakgrund

pH definieras som den kemiska aktiviteten hos fria vätejoner (H^+). I vattenlösningar förekommer dessa joner i form av oxoniumjoner (H_3O^+). pH är en dimensionslös storhet som sträcker sig från 0 till 14, baserad på en omvänd logaritmisk skala av H^+ -jonernas aktivitet. pH används för att mäta surhetsgraden i en lösning. I en vattenlösning vid 25°C gäller följande:

- En lösning med $pH=7$ sägs vara neutral.
- En lösning med $pH<7$ sägs vara sur; ju lägre dess pH-värde är, desto surare är den.
- En lösning med $pH>7$ sägs vara basisk; ju högre dess pH-värde är, desto mer basisk är den.

pH påverkar de biokemiska reaktioner som äger rum vid fermenteringen. Praktiskt sett har pH stor betydelse för att skydda cider från tillväxt av skadliga mikroorganismer. Forskning vid Long Ashton Research Station (LARS) på 60- och 70-talen visade att:

- Om pH är <3.0 skyddar surheten naturligt musten/cidern från tillväxt av mikroorganismer som kan påverka ciderkvaliteten och ge upphov till oangenäma aromer.

Om pH är mellan 3.0 och 3.8 är surheten i sig otillräcklig för att skydda musten/cidern, och det rekommenderas att tillsätta sulfit som komplement.

- Om pH är >3.8 skulle mängden sulfit som behöver tillsättas för att säkerställa skyddet överstiga tillåtna halter. Sänk då pH antingen genom att blanda med surare must/cider eller genom att tillsätta äppelsyra, och komplettera även med sulfit baserat på blandningens pH-värde.

Utrustning och metod

pH kan mätas med en pH-mätare eller med särskilda indikatorremсор/-papper. Att använda indikatorremсор rekommenderas inte för must och cider, eftersom dessa inte är tillräckligt noggranna. Det är viktigt att använda en robust och noggrann pH-mätare. Den nödvändiga noggrannheten för pH-bestämning i must och cider ligger inom intervallet 0.01 till 0.05 pH-enheter; mindre precisa modeller rekommenderas inte för professionellt bruk. Innan man mäter pH måste instrumentet kalibreras. För detta används buffertlösningar. Buffertlösningarna bör bytas ut regelbundet (ungefär var tredje månad) för att bibehålla mät noggrannheten. pH-mätaren kalibreras vanligtvis vid 2 eller 3 punkter enligt tillverkarens kalibreringsprocedur.

Ciderprovet måste avgasas innan pH-mätning görs så att koldioxidbubblor i provet inte påverkar resultatet. När pH-mätaren är kalibrerad och provet är redo, doppas pH-elektroden i vätskan och värdet avläses. Även om moderna pH-mätare automatiskt kompenserar för temperatur rekommenderas att alla prov rumstempererats före mätning. Den mest exakta mätningen får man genom att placera provet i en bägare med kontinuerlig omrörning med en magnetomrörare.

ANALYS AV TOTAL SYRAHALT (TITRERBAR SYRA)

Definition och bakgrund

Total syrahalt, även kallad titrerbar syra (eng. *titratable acidity*, TA), mäter koncentrationen av samtliga syror i ett prov. Äppelmust och cider består vanligtvis av upp till 95% äppelsyra, upp till 4% kinasyra, upp till 1.5% citronsyra, och små mängder av andra organiska syror (Karl et al. 2022). Vid fermentering bildas mjölksyra, ibland i betydande mängder, och även lite ättiksyra (helst så lite som möjligt). Den totala syrahalten varierar kraftigt mellan olika sorter, från 1 g/L äppelsyra i de mildaste till 12 g/L eller mer i de mest sura sorterna.

Surt är en av de fem grundsmakerna som vi kan känna med tunga, gom och svalg. Syrainnehållet påverkar i hög grad de smakupplevelser vi får när vi

dricker cider. Syrorna som finns i must och cider har betydelse för, ingår i, eller är resultatet av olika biokemiska reaktioner som sker vid cidertillverkning och totalsyrahalten är därför viktig att analysera.

Utrustning och metod

För att bestämma innehållet av enskilda syror krävs avancerad utrustning. Därför analyseras i stället den totala syrahalten med en enkel titreringsmetod. För titrering behövs följande utrustning:

- 0.1 N eller 0.2 N natriumhydroxid (NaOH) (ibland noterat som N/10 respektive N/5).
- En pipett eller byrett för att mäta små mängder vätska exakt.
- En indikator eller pH-mätare. Som indikator används helst bromtymolblått (BTB), som är gul-orange under pH 7, blir grön vid pH 7 och sedan blå över pH 7.
- Ett provrör, bägare eller ett litet glas.
- En magnetomrörare.

I likhet med de flesta övriga analyser måste cidern först avgasas för att undvika att kolsyran inte påverkar resultatet. Total syrahalt analyseras sedan enligt nedan:

- Mät upp den exakta mängden (X mL) cider som ska analyseras i bägaren.
- Tillsätt några droppar indikatorlösning.
- Fyll byretten med NaOH med vald normalitet (N).
- Tillsätt droppvis NaOH till provet under omrörning. Så snart färgförändringar börjar synas (grönt med BTB) tillsätts NaOH sakta till stabilt färgomslag nås (blågrönt/blått med BTB).
- Notera den tillsatta volymen (Y mL) NaOH. Tillsätt ytterligare två droppar NaOH för att säkerställa att du har nått titreringslutpunkten (syrorna har neutraliserats). Provet ska då bli mörkblått.
- Om titrering sker med en pH-mätare, titrera till dess att pH når 8.1 och notera sedan den tillsatta volymen (Y mL).

Beräkning av resultat

Resultatet av titreringen kan uttryckas i olika enheter. För cider uttrycks det vanligtvis som g äppelsyraekvivalenter per liter prov. Formel för att beräkna total syrahalt blir då:

$$TA = (67 * N * Y) / X \text{ (g äppelsyraekvivalenter/L)}$$

Vid vintillverkning anges resultatet vanligtvis som svavelsyraekvivalenter eller som vinsyraekvivalenter. I vissa laboratorier anges det även i meq/L.

Tabell 2 kan användas för att omvandla dessa resultat till äppelsyraekvivalenter.

Tabell 2. Omvandlingsfaktorer för total syrahalt (TA).

Ursprunglig enhet	För att erhålla g/L äppelsyraekvivalenter
g/L svavelsyraekvivalenter	Multiplitera med 1.37
g/L vinsyraekvivalenter	Multiplitera med 0.89
meq/L	Multiplitera med 0.067

ÖVERVAKNING AV MALOLAKTISK FERMENTERING GENOM PAPPERSKROMATOGRAFI

Bakgrund

Äppelsyra är den huvudsakliga syran i äpple och därmed också i äppelmust och cider. Äppelsyran kan omvandlas till mjölksyra av mjölksyrabakterier, och i mindre utsträckning även av vissa jästsvampar, genom malolaktisk fermentering. Vid malolaktisk fermentering förlorar cidern en betydande del av sin surhet och det skydd som normalt ges av syran mot potentiella förskämningbakterier t. ex. *Zymomonas* som kan orsaka cidersjuka (eng. *cider-sickness*, fr. *framboisé*). Förutom att syrabalansen förändras upplevs mjölksyra mjukare i smaken än äppelsyra.

Genom att följa den malolaktiska fermenteringen kan förändringar orsakade av mjölksyrabakterier identifieras. Malolaktisk fermentering bör undvikas i cider med låg total syrahalt (=högt pH >3.70), åtminstone före buteljering. Å andra sidan kan malolaktisk fermentering användas för att reducera syra i cider med för hög syrahalt.

Utrustning och metod

Det finns tre huvudsakliga metoder för att påvisa och följa malolaktisk fermentering. Den första metoden är att analysera både äppelsyra och mjölksyra med hjälp av enzymatiska reaktioner. Den andra metoden är att separera och analysera de olika syrorna med en kolonn. Båda dessa metoder har fördelen av att vara exakta men kräver provfiltrering och särskild utrustning i form av spektrofotometer respektive HPLC. Den tredje metoden är papperskromatografi som är en enklare kvalitativ metod för att kunna följa malolaktisk jäsning.

För att kunna följa malolaktisk jäsning med papperskromatografi behövs följande utrustning:

- Kromatografipapper (Whatman No. 1 rekommenderas), 20 x 20 cm
- Tändstickor
- En graderad cylinder på 100 mL
- En 2- eller 3-liters behållare med tätslutande lock (föredragsvis en glasburk, se Figur 2)
- En migrationslösning (eluent) – en blandning av butanol med bromfenolblått (BFB, 1 g/L) och 50% ättiksyra (v/v i vattenlösning)
- En hårtork

Analysen genomförs enligt nedan:

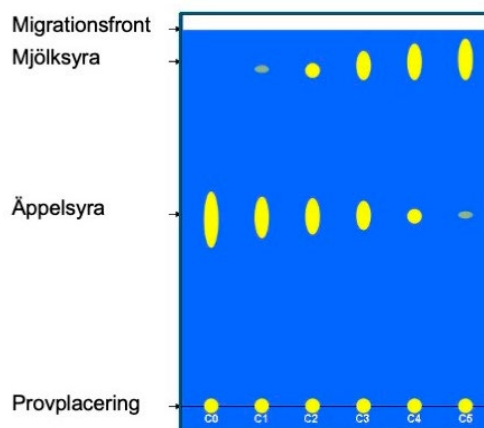
- Förbered eluenten genom att blanda 50 mL BFB-butanol med 20 mL 50% ättiksyra i den graderade cylindern.
- Häll eluent (ca 1 centimeters djup) i avsedd behållare minst 24 timmar före starten av kromatografin och sätt på locket
- Markera med blyertspenna en linje 2 cm från nedre kanten av kromatografipappret.
- Markera punkter för prover längs denna linje, med ett avstånd på 1.5–2 cm mellan varje punkt.
- Markera provets nummer under varje punkt.
- Droppa varje prov i 6–8 på varandra följande appliceringar på kromatografipappret, torka noggrant med en hårtork mellan varje applicering för att fokusera provet.
- När alla prover har applicerats, rulla ihop arket till en cylinder och häfta ihop det.

- Placera arket upprätt i behållaren och sätt på locket. Låt eluenten migrera genom kapillärvärdan under 5 till 6 timmar.

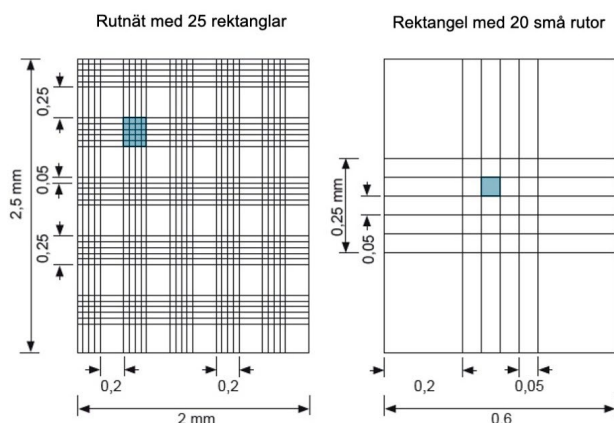
- När eluentens front når 2 cm från arkets överkant, tag ut arket och placera det på en torr, välventilerad plats.

Tolkning av resultat

När arket är torrt, jämför storleken på de gula prickarna mot den blå bakgrunden (Figur 2). Den övre gula prickerna representerar mjölksyra, medan den nedre representerar äppelsyra som migrerar långsammare.



Figur 2. Utrustning och exempel på ett papperskromatografiark för att följa malolaktisk jäsning. (Foto: FJ Raimbaud).



Figur 3. Malassez räknekammare med rektangulärt linjemönster (rutnät hämtat från <https://www.marienfeld-superior.com/counting-grids.html>) med 25 större rektanglar (volym 0.01 μL per rektangel) där varje rektangel innehåller 20 smårutor (volym 0.0005 μL per ruta). (Foto: FJ Raimbaud)

Bakgrund

För att kunna uppskatta den totala jästpopulationen i cider kan jästceller i en känd provvolym räknas under mikroskop. Mikroskopet kan också användas för att observera eventuell förekomst av bakterier och fällningar. Metoden ger värdefull information om jäsningsprocessen och kvaliteten på cidern. Räkningen av jästceller utförs vanligtvis med hjälp av en räknekammare, en hemocytometer, som har ett rutnät som underlättar räkningen och beräkningen av antalet jästceller i provet (Figur 3).

Utrustning och metod

För räkning av jästceller behövs följande utrustning:

- Ett mikroskop, 400x (helst med faskontrast för att jästcellerna ska synas bättre)
- En Malassez (eller Thoma) räknekammare med 0.2 mm djup och minsta rutstorlek på 0.0025 mm^2 .
- Täckglas

- En Pasteurpipett
- En flaska med destillerat vatten
- Mjukt papper eller handduk

Räkningen genomförs enligt nedan:

- Rengör kammare och täckglas noggrant före och mellan varje prov.
- Avgasa och blanda provet för att säkerställa en korrekt och representativ räkning.
- Använd en Pasteurpipett för att ta upp provet.
- Placera försiktigt en droppe av provet på vardera av de två större kamrarna i Malassez-räknekammaren.
- Varje kammare har ett rutnät med 25 större rektanglar. Varje rektangel är indelad i 20 mindre rutor som är 0.0025 mm^2 stora och används för räkning. Se rutnätsstruktur i Figur 3.
- Placera ett täckglas över provet. Positionera täckglaset så att luft drivs ut (placera först ena sidan nedåt, håll med ett finger och släpp sedan ned den andra sidan).
- Låt provet stabilisera sig i några minuter.
- Välj i förväg slumpmässigt ut de rektanglar som ska räknas och håll dig till dem för att undvika bias.
- Anpassa antalet rektanglar och smårutor som ska räknas till jästpopulationens storlek. Det är önskvärt att räkna ca 100 celler för tillräckligt noggrann räkning. Späd cidern om för många jästceller förhindrar noggrann räkning.
- Räkna antalet jästceller och bortse från eventuella bakterier eller skräp. Jästceller är runda eller något avlånga, 3–4 μm men kan vara större beroende på art.
- Bakterier ser ut som små svarta prickar där mjölksyrabakterier är 0.7–1.1 μm stora. Det är svårt att räkna enskilda bakterier med 400x förstoring, men antalet kan uppskattas som lågt, medel eller högt.
- Alla andra partiklar som observeras noteras som skräp (t. ex. polyfenolutfällningar, kristaller, mycel, fibrer etc.). Det är möjligt att uppskatta partiklarnas mängd som låg, medel eller hög.

Beräkning av resultat

För att beräkna koncentrationen av jästceller används formeln:

$$\frac{\text{Totalt antalet räknade jästceller} \times 2\,000\,000}{\text{Antalet smårutor som räknats}}$$

= jästceller per mL

Om exempelvis totalt 50 jästceller hittas vid räkning av 100 små rutor blir koncentrationen 1 miljoner jästceller/mL:

$$\frac{50 \times 2\,000\,000}{100}$$

= 1 000 000 jästceller per mL

ANALYS AV SULFIT MED RIPPER-METODEN**Bakgrund**

När svaveldioxid i pulverform (t. ex. kaliumdisulfat, $K_2S_2O_5$) eller gas (SO_2) löses i vatten eller i must bildas svavelsyrighet (H_2SO_3), som i sin tur mycket snabbt dissocierar och bildar olika sulfiter. Sulfiter (föreningar med SO_3^{2-} -joner) hjälper till att skydda cider från mikroorganismer som kan påverka produktkvaliteten negativt. Det är därför viktigt att kunna analysera sulfit i cider.

Det finns flera olika metoder för att analysera sulfiter. Enzymatiska metoder som kräver provberedning och en spektrofotometer; Franz-Paul-metoden, en destillationsmetod som kräver specifik destillationsutrustning; och Ripper-metoden som är en titreringsmetod som traditionellt har använts vid cidertillverkning.

Utrustning och metod

Ripper-metoden är relativt enkel att använda och tillräckligt noggrann för att analysera normalt förekommande mängder av SO_2 (mindre än 300 ppm).

Principen för Ripper-metoden bygger på att SO_2 förekommer i två former: fri och bunden. Den fria formen bestäms i en sur lösning genom jodometrisk titrering, och den bundna formen bestäms genom skillnaden mellan total svavelsyra-hydrid och bunden svavelsyra-hydrid.

Bunden SO_2 hydrolyseras i en alkalisk lösning.

För Ripper-metoden behövs följande utrustning och reagenser:

- En 250 mL Erlenmeyerkolv
- En 25 mL mätcylinder
- En 1 mL pipett
- 0.02 N jod (I_2) bisublimerad (hög renhet)
- 0.1 N natriumtiosulfat ($Na_2S_2O_3$) lösning
- 1 + 3 (volym per volym) svavelsyra-vattenlösning. Tänk på att värme utvecklas vid blandning av syra och vatten. Tillsätt därför alltid syra i vatten och inte tvärtom.
- Kaliumjodid (KI)
- N natriumhydroxid (NaOH)
- 1 % stärkelselösning som indikator. Bereds genom att koka upp 100 g potatismjöl i 1 L vatten.

Bestäm jodlösningens koncentration enligt nedan:

- Häll 25 mL 0.02 N jodlösning i en 250 mL Erlenmeyerkolv.
- Tillsätt Y mL 0.1 N natriumtiosulfatlösning droppvis tills avfärgning sker.

Analysera fri SO_2 enligt nedan:

- Häll 15 mL cider eller must i en 250 mL Erlenmeyerkolv
- Tillsätt 1 mL stärkelseindikator
- Tillsätt 3 mL utspädd svavelsyralösning
- Titra med X mL 0.02 N jod tills en blå-brun färg framträder och kvarstår i 5 till 10 sekunder.

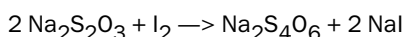
Analysera totalhalt SO_2 enligt nedan:

- Häll 15 mL cider och 6 mL 1 N NaOH i en 250 mL Erlenmeyerkolv. Förslut, rör om och vänta i 10 minuter.
- Tillsätt 1 mL stärkelseindikator och 2 mL utspädd svavelsyra.
- Titra med X1 mL 0.02 N jodlösning tills en blå-brun färg framträder och kvarstår i 5 till 10 sekunder.
- Tillsätt 24 mL 1 N NaOH. Förslut, rör om och vänta i 5 minuter.

- Tillsätt 1 mL stärkelseindikator och 3 mL utspädd svavelsyra.
- Titra med X2 mL 0.02 N jodlösning tills en bestående lila färg framträder (några droppar räcker).

Beräkning av jodlösningens koncentration

Formeln för beräkning av jod-koncentrationen är baserad på reaktionen:

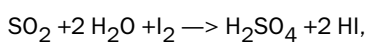


Således reagerar 2 mol natriumtiosulfat med 1 mol elementär jod. Jodkoncentrationen erhålls sedan genom formeln:

$$[\text{I}_2] = 0.5 (\text{molförhållande}) * Y \text{ mL } 0.1 \text{ N (natriumtiosulfat)} / 25 \text{ mL } 0.02 \text{ N (jodlösning)} = 0.02 * Y (\text{mol/L})$$

Beräkning av fri, total och bunden SO₂

Svaveldioxid (SO₂) reagerar i en vattenlösning med jod (I₂) i en redox-reaktion där svaveldioxid fungerar som ett reduktionsmedel och jod fungerar som ett oxidationsmedel:



Således reagerar 1 mol SO₂ med 1 mol I₂. Koncentrationen av fritt och bundet SO₂ kan därför beräknas med hjälp av formlerna:

$$\text{Fri SO}_2 \text{ mg/L (ppm)} = \frac{64.07 * [\text{I}_2] * X \text{ mL jodlösning}}{15 \text{ mL cider}}$$

$$\text{Total SO}_2 \text{ mg/L (ppm)} = \frac{64.07 * [\text{I}_2] * (X1 + X2) \text{ mL jodlösning}}{15 \text{ mL cider}}$$

$$\text{Bunden SO}_2 = \text{Total SO}_2 - \text{Fri SO}_2$$

Ibland är det nödvändigt att utföra analys av fri SO₂ med en N/100 jodlösning för att uppnå ett mer exakt resultat. Metoden är inte lämpad för att mäta totalt SO₂ i starkt färgad cider, eftersom färgförändringen hos indikatorn är svår att identifiera i denna matrix.

TEST AV JÄSBARHET

Bakgrund

Jäsbarhetstestet är en forcerad jäsning som syftar till att förutsäga hur cidern kommer att jäsa och producera koldioxid i flaskan, och därmed förutsäga risk för att övertryck ska uppstå. Metoden används för att bestämma hur mycket socker och jäst som ska

tillsättas för att skapa bubblor vid andrajäsning på flaska utan att det blir för högt tryck.

Utrustning och metod

Vid jäsbarhetstestet sterilfiltreras ciderprovet först med hjälp av ett sprutfilter för att avlägsna alla jästceller och praktiskt taget alla bakterier. Använd filter med porstorlek 0.45 µm eller mindre. Provet delas sedan upp i två delar. Det första delprovet fungerar som kontroll och placeras i kylskåp vid 4°C. Det andra delprovet inokuleras med jäst motsvarande 2 g torrjäst per hektoliter och placeras i en inkubator vid 25°C under 14 dagar. Skillnaden i specifik vikt mellan proverna efter den forcerade fermenteringen korrelerar med risken för övertryck i flaskan på grund av jäsning.

För att kunna filtreras med sprutfilter måste ciderprovet dessförinnan ha grovfilterats eller centrifugerats vid (8000 rpm i 20 minuter). Målet med sterilfiltreringen är att reducera jästpopulationen till under 100000 jästceller/mL.

För jäsbarhetstestet behövs följande utrustning:

- Vattenbad
- 250 mL eller 500 mL bägare
- 50 mL flaskor (andra volymer fungerar också, justera bara protokollet)
- Gummiproppar
- Kapsyler och kapsyltång för att sätta på och ta av kapsyler
- 50 mL sprutor (eller andra storlekar beroende på flaskstorlek)
- Sprutfilter från 1.2 till 0.45 µm
- Precisionsvåg (minsta noggrannhet: 1/100-del)
- Torrjäst (använd en jäststam som kan jäsa cidern helt torr)
- Strösocker
- Avjoniserat eller destillerat vatten
- 100–200 µL mikropipetter med mikropipettspetsar
- Hydrometer

Genomför jäskarhetstestet enligt nedan:

- Förbered en bägare med 100 mL sockerlösning (50 g socker/L).
- Placera bägaren i ett vattenbad vid 37°C.
- Tillsätt 0.75 g torrjäst.
- Låt stå i vattenbadet i 25–30 minuter för rehydrering.
- Sterilfiltrera ciderprovet (använd 0.45 µm filter) och tillsätt 50 mL cider till kontrollflaskan och 50 mL till testflaskan.
- Rör om den rehydrerade jästen väl.
- Använd en mikropipett och ta 133 µL av den rehydrerade jästen och tillsätt den i testflaskan (motsvarar en dos på 2 g/hektol).
- Placera testflaskan i ett värmeskåp vid 25°C.
- Placera kontrollflaskan i kylskåp vid 4°C.

- Tag ut kontrollflaskan från kylskåpet och testflaskan från värmeskåpet efter 14 dagar. Låt båda flaskorna stå i rumstemperatur i 3 till 4 timmar. Använd sedan en hydrometer för att mäta specifik vikt på cidern i båda flaskorna.

Beräkning och tolkning av resultat

Beräkna skillnaden i specifik vikt mellan kontrollflaskan och testflaskan. Resultaten tolkas sedan enligt Tabell 3.

Tabell 3. Tolkning av resultat från jäskarhetstestet som syftar till att undersöka risk för övertryck vid jäsning på flaska, samt rekommendationer för åtgärder beroende på skillnaden i specifik vikt mellan kontrollprovet (4°C) och testprovet (25°C). Detta test utvecklades för en specifik jäststam, men testet kan anpassas för andra stammar med god förmåga att jäsa cider till torrhet.

Skillnad i specifik vikt (SG)	Tolkning av resultat	Rekommendation
<0.0021	Låg risk för övertryck i flaskan (< 6 % av flaskorna).	Buteljera med vanlig jästmängd (anpassad efter rekommendation från tillverkare och ciderns specifika vikt) för att skapa bubblor vid andrajäsning på flaska.
0.0022–0.0049	Risken för överjäsning ökar snabbt i takt med att skillnaden i specifik vikt ökar. Till exempel motsvarar en skillnad på 0.0035 SG en 50 % risk för övertryck i flaskan.	Hög risk för överjäsning. Ändra tillverkningsplanen beroende på tidigare erfarenheter. Reducera jästdosen eller starta om jäsningen.
>0.005	Större än 96 % risk att cidern kommer att ge övertryck i flaskan.	Extremt hög risk för överjäsning. Starta om jäsningen eller ändra planen för batchen (tillverka i stället extra torr cider, vinäger, eller planera för destillering), alternativt byt metod för tillverkning (pastörisering, Charmat-metoden, degorgering).

ANALYS AV FLYKTIGA SYROR

Bakgrund

Ättiksyra är en flyktig organisk syra (eng. *volatile acidity*, VA) som kan bildas från alkohol i cider. Ättiksyra kan produceras av olika jäststammar, men främst av bakterier, särskilt *Acetobacter*. Dessa kan finnas naturligt i luften och på äpplets skal samt i fruktköttet. Bakterierna är ganska toleranta mot sulfid och kan överleva under fermenteringen, men de dör vid korrekt pastörisering. *Acetobacter* är aeroba, vilket innebär att syre krävs för deras tillväxt. Därutöver krävs också en relativt hög temperatur. För *A. aceti* är 25–30°C optimalt.

Små mängder flyktiga syror, mindre än 0.7 g/L, anses vara praktiskt taget omöjliga att upptäcka i cider vid provsmakning, och kan till och med förbättra smaken vid lagring. Om mängden överstiger 1.3 g/L blir de problematiska och ger en obehaglig smak (Jolicoeur 2013). Erfarenhet har visat att om också etylacetat finns i cidern så kan den öka den upplevda smaken av flyktiga syror från så låga nivåer som 0.3–0.4 g/L. Den nivå av flyktiga syror som får förekomma i cider är reglerad i vissa länder, vilket gör att innehållet måste analyseras. Traditionellt har analysen utförts genom ångdestillation följt av oxidation och titrering. Numera finns enkla och mycket exakta spektrofotometriska enzymatiska tester kommersiellt tillgängliga. I laboratorier mäts flyktiga syror vanligtvis med HPLC eller GC.

Utrustning och metod

Flyktiga syror kan analyseras genom titrering efter destillering. För analysen behövs följande utrustning:

- Ett ultraljudsbad
- En byrett
- 100 mL plastbägare
- En flaska med destillerat vatten
- En destillationsapparat (DE 2000)
- En 20 mL pipett
- En 500 mL Erlenmeyerkolv
- Vinsyra i kristaller
- Fenolftalein (indikator)
- 0.1 N natriumhydroxidlösning (NaOH)

Analys av flyktiga syror utförs enligt nedan:

- Fyll byretten med NaOH-lösning och justera nivån till 0-markeringen.
- Sätt på destillationsapparaten.
- Placera bägaren med provet som ska analyseras i ultraljudsbadet i 10 minuter för avgasning.
- Tillsätt 0.5 g vinsyra (ca 1/2 tesked) i destillationsapparaten.
- Tillsätt 20 mL avgasat prov i destillationsapparaten.
- Ställ in destillationstiden på cirka 6 minuter.
- Starta destillationen och samla upp cirka 250 mL destillat i en 500 mL Erlenmeyerkolv.
- Tillsätt några droppar fenolftalein till destillatet i Erlenmeyerkolven och titrera med 0.1 N NaOH.
- Börja titrera med NaOH och sluta när destillatet får en karamellrosa färg som varar i 10 sekunder.
- Notera volymen (X mL) av NaOH som användes.

Att tänka på vid analys:

- Arbeta rent och noggrant.
- Kontrollera datumet på fenolftaleinet.
- Innan analysen påbörjas, se till att destillationsapparaten är redo att användas samt att vattenkranen är något öppen.
- Analysera ett kontrollprov var tionde mätning.
- Om det finns en avvikelse, rengör apparaten noggrant och upprepa mätningen.
- Stäng av destillationsapparaten och vattentillförseln när mätningarna är slutförda.
- Bestäm koncentrationen på NaOH-lösningen en gång i månaden. Om det finns en avvikelse, byt lösning.

Beräkning av halten flyktiga syror

Koncentrationen flyktiga syror (VA) i provet beräknas med hjälp av formeln:

$$VA (\text{H}_2\text{SO}_4, \text{g/L}) = X \text{ mL NaOH} * 0.245$$

KLARNINGSTEST MED GELATIN

Bakgrund

Ett klarningstest kan göras för att bestämma behov, typ och mängd klarningsmedel som behövs för stabilisering av cider och päroncider. Klarningsmedel är ämnen som tillsätts cidern för att avlägsna oönskade partiklar, såsom proteiner, tanniner, jäst och andra uppslammade fasta ämnen som kan orsaka grumlighet eller instabilitet i slutprodukten. Ett vanligt använt klarningsmedel är gelatin. Andra vanliga klarningsmedel är t. ex. bentonit, kiselsol och kitosan.

Polyfenoler som ger upphov till bitterhet och strävhet i päroncider och i vissa äppelcidersorter är mycket instabila (kolloidal instabilitet), och med tiden bildar de fällningar och sediment. Sedimenten påverkar cidern estetiskt och ökar risken för att produkten inte kan lagras med bibehållen kvalitet. Målet med klarningstestet för cider är att fastställa vilken dos av fällningsmedel som behövs för att avlägsna de mest instabila polyfenolerna och därmed förebygga fällningar. För detta syfte bör gelatin med hög molekylvikt användas.

Utrustning och metod

För klarningstestet behövs följande utrustning:

- En precisionsvåg (1/100-del)
- Gelatinpulver med hög molekylvikt. Erbigel-märket rekommenderas (distributör: Erbslöh)
- En 250 eller 500 mL bägare
- En 100, 200 eller 500 mL mätkolv
- Destillerat vatten
- 100 mL provrör
- Flaskor
- Filterpapper
- Tratt
- Provrör och ställ
- 1 % tannin i vattenlösning
- Värmeplatta

Klarningstestet utförs i tre steg: 1) gelatinberedning, 2) klarning och 3) utvärdering av resultat.

Gelatinberedning utförs enligt nedan:

- Smaka på cidern / päroncidern för att skatta behovet av klarningsmedel och maximera chanserna att hitta rätt dosering. Ju kraftigare bitterhet desto mer klarningsmedel kan behövas.
- Väg upp mängden gelatin som krävs för testerna (1, 2 eller 5 g i en bägare).
- Använd en mätkolv för att mäta upp den volym destillerat vatten som krävs för varje test, 100 mL vatten krävs för 1 g gelatin.
- Tillsätt 10 mL kallt vatten i bägaren för varje 1 g gelatin.
- Vänta 45 minuter till en timme för att låta gelatinet ta upp vatten.
- Värm resten av vattnet till strax under kokpunkten och tillsätt det i bägaren, och rör om.

Klarningen förbereds enligt nedan:

- Håll upp 100 mL cider / päroncider i lämpligt antal flaskor.
- Tillsätt bestämd mängd gelatin (1, 2, 3, 4, 5 mL per 100 mL etc.) och skaka om väl.
- Eftersom gelatinets koncentration är 10 g/L, motsvarar 1 mL gelatin tillsatt till 100 mL päroncider en dosering på 10 g/HL i ciderbatchen.
- Låt proverna stå i rumstemperatur en timme och ställ dem sedan i kylskåp i 2 dagar.

Bedöm behovet av gelatin för klarning enligt nedan:

- Använd ett pappersfilter och håll försiktigt den klarnade produkten i provrör. Varje prov med olika gelatinhalter ska fördelas på två separata provrör.
- I det ena provröret, tillsätt några droppar gelatin, och i det andra, tillsätt några droppar 1 % tanninlösning.
- Den lämpliga dosen gelatin bestäms vara mellan det första provröret som inte blir grumligt när gelatin tillsätts (detta indikerar att inga tanniner finns kvar), och det provrör som blir grumligt vid tillsättning av tanniner (detta indikerar att onödigt mycket gelatin använts).

FÄLLNINGSTEST FÖR PEKTIN

Bakgrund

Att analysera äppelmustens innehåll av pektin är särskilt viktigt om keeving ska vara en del av cidertillverkningen. Om pektininnehållet är för lågt är keeving inte möjlig. Pektin bildar en gel-liknande struktur i en lösning med hög alkoholhalt, vilket är principen bakom fällningstestet.

Utrustning och metod

För fällningstestet behövs följande utrustning:

- Ett provrör
- Mätcylinder
- Metanol som surgjorts med 1 % saltsyra (HCl)
- Det är möjligt att byta ut metanollösningen mot 90 % surgjord etanol.

För genomförande av fällningstestet:

- Fyll provröret till 2/3 med must och 1/3 med surgjord metanollösning.
- Blanda väl.
- Låt stå i 5 minuter.
- Läs av resultatet.

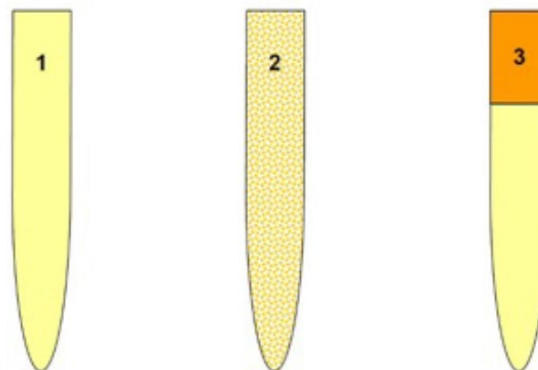
Tolkning av fällningstestet

För tolkning av fällningstestet, se Figur 4. Ett helt klart prov indikerar att inget pektin finns i provet och därmed finns ingen möjlighet för keeving. Om en tunn ej sammanhängande gel bildas är utsikterna att lyckas med keeving små. Om däremot en plugglik pektingel bildas är möjligheterna att lyckas med keeving goda.

TEST AV OXIDATIONS BENÄGENHET

Bakgrund

Oxidation kan i cider orsaka brunfärgning och fällningar, som gör cidern grumlig, samt bidra till en metallisk eller härsken smak. Att testa ciderns oxidationsbenägenhet är enkelt. Testet kan utföras före buteljering för att avgöra om det finns risk för att ciderns kvalitet kan komma att påverkas av järnoxidation eller oxidativ brunfärgning. I vissa länder, t. ex. i Frankrike, finns det en högsta tillåtna halt järn i cider och päroncider. Om ciderns färg förändras och om cidern grumlas p.g.a. järnoxida-



Figur 4. Schematisk illustration av olika utfall vid pektinfällningstest i alkohol.

- 1: Klar lösning => inget pektin => ingen möjlighet att använda keeving för klarning av juice.
- 2: Tunn ej sammanhängande gel => viss förekomst av pektin => små förutsättningar att lyckas med keeving.
- 3: Tydlig pektinklump => tillräcklig mängd pektin => goda förutsättningar att lyckas med keeving.

tion måste järninnehållet mätas för att säkerställa att produkten uppfyller lagstadgade krav och inte innehåller för höga halter järn.

Utrustning och metod

Oxidationsbenägenheten testas genom att man håller ciderprovet i ett glas som får stå exponerat för luftens syre i 24 timmar. Om färgen ej ändras under denna tid är oxidationsbenägenheten låg. Om färgen blir brun, tillsätt några droppar citronsaft. Om färgen efter 10–15 minuter återgår till nästan normal indikerar det att grumligheten/färgförändringen orsakats av järn i cidern (fr. *casse ferrique*). Om färgen inte återgår till normal, är cidern mer eller mindre känslig för oxidativ brunfärgning där enzymet polyfenoloxidas medverkar (fr. *casse oxydasique*).

Beroende på typ av oxidation kan nedanstående åtgärder vidtas:

- Vid järnoxidation, tillsätt citronsyra med en koncentration på 25 till 50 g/HL. Citronsyra (och askorbinsyra) hindrar järnet från att oxidera.
- Vid oxidativ brunfärgning, tillsätt sulfiter med en koncentration på 80 till 100 ppm. Detta inhiberar polyfenoloxidasenzymet.

DETEKTION AV BRETTANOMYCES JÄST

Förekomst och mängd av *Brettanomyces*-jästceller kan detekteras genom odling av prov på specifikt substrat (vilket är tidskrävande) eller genom semikvantitativ PCR-analys, som ger en ungefärlig uppskattning av antalet jästceller. Trots kostnaden rekommenderas dessa tester för ciderier som ofta upplever problem med den typ av oönskade animaliska aromer som *Brettanomyces* kan ge upphov till.

ANALYS AV ALKOHOLHALT

Att kunna analysera alkoholhalten i cider är nödvändigt men har historiskt sett inte varit så enkelt. När cidern är torr och inte innehåller restsocker har alkoholhalten bestämts med en ebulliometer, en kokpunktmätare. När cidern innehåller restsocker har alkoholhalten vanligtvis analyserats genom destillering och sedan med hydrometer vilket varit en standardmetod.

Idag kan alkoholhalten med stor noggrannhet bestämmas med hjälp av enzymatiska metoder och en spektrofotometer. Det finns även nyare digital utrustning som kombinerar densitets- och refraktionsindexanalyser och gör det möjligt att med tillräcklig noggrannhet bestämma alkoholhalten under jäsning. Ett exempel är EasyDens och SmartRef Combo, utvecklat av Anton Paar, som kan användas för att bestämma alkoholhalten i volymprocent (noggrannhet 0.5 % ABV) i cider.

LITTERATUR

Jolicoeur C. 2013. The new cider maker's handbook. Chelsea Green Publishing, Vermont, USA
Karl et al. 2022. The biochemical and physiological basis for hard cider apple fruit quality. <https://doi.org/10.1002/ppp3.10317>

Detta faktablad har utarbetats inom Leader-projektet "Östra Skåne – ett nav för svensk ciderproduktion".

© Författare: Francois-Jan Raimbaud, [fj.raimbaud@gmail.com], Saint-Pierre-En-Auge, Normandie, Frankrike; Brent Miles-Wagner, [brent@brownhatconsulting.com], Brown Hat Consulting, USA och Sverige; Kimmo Rumpunen, [kimmo.rumpunen@slu.se], Institutionen för Växtförädling, SLU, Alnarp, Sverige.

Översättning och bearbetning av engelsk förlaga: Kimmo Rumpunen, [kimmo.rumpunen@slu.se], Institutionen för Växtförädling, SLU Alnarp, Sweden.

Projektägare och utgivare: Svenska Must- och Ciderproducenter, Kivik.

Projektet har finansierats genom offentliga medel från Leader Skånes Ess (Nr. 2022-3404), Leader Sydöstra Skåne (Nr. 2022-3390) och SLU, samt medel från Europeiska jordbruksfonden för landsbygdsutveckling.

