31990R2676

3.10.1990 *DZIENNIK URZĘDOWY WSPÓLNOT EUROPEJSKICH* L 272/1

ROZPORZĄDZENIE KOMISJI (EWG) NR 2676/90
z dnia 17 września 1990 r.
określające wspólnotowe metody analizy wina

KOMISJA WSPÓLNOT EUROPEJSKICH,

uwzględniając Traktat ustanawiający Europejską Wspólnotę Gospodarczą,

uwzględniając rozporządzenie Rady (EWG) nr 822/87 z dnia 16 marca 1987 r. w sprawie wspólnej organizacji rynku wina (1), ostatnio zmienione rozporządzeniem (EWG) nr 1325/90 (2), w szczególności jego art. 74,

a także mając na uwadze, co następuje:

artykuł 74 ust. 1 rozporządzenia (EWG) nr 822/87 określa przyjęcie metod analizy w celu ustalenia składu produktów wymienionych w art. 1 tego rozporządzenia i zasad przeprowadzania kontroli, czy produkty te zostały poddane obróbce sprzecznej z dozwolonymi zabiegami enologicznymi;

w zakresie, w którym Wspólnota nie ustaliła najwyższych dopuszczalnych poziomów dla substancji, których obecność wskazuje na stosowanie niektórych zabiegów enologicznych, i nie przyjęła jeszcze tabel umożliwiających porównanie danych analitycznych, istnieje potrzeba upoważnienia Państw Członkowskich do ustalenia takich najwyższych dopuszczalnych poziomów;

artykuł 13 ust. 1 rozporządzenia (EWG) nr 822/87 przewiduje badanie analityczne, obejmujące co najmniej ocenę cech wina o kontrolowanej jakości, posiadającego geograficzne oznaczenie miejsca pochodzenia, wymienionych w Załączniku do tego rozporządzenia;

sprawdzenie danych szczegółowych w dokumentach dotyczących danych produktów wymaga wprowadzenia ujednoliconych metod analizy w celu zapewnienia, że otrzymano informacje dokładne i porównywalne; w konsekwencji metody te powinny obowiązywać przy zawieraniu wszystkich transakcji handlowych i przy stosowaniu wszystkich procedur sprawdzających; jednakże ze względu na ograniczone możliwości handlu należy dopuścić zastrzeżoną liczbę zwykłych procedur umożliwiających szybkie i stosunkowo dokładne oznaczenie wymaganych wskaźników;

o ile to możliwe, ogólnie uznane metody, takie jak te opracowane w Międzynarodowej Konwencji w sprawie Ujednolicenia Metod Analizy i Oceny Wina z 1954 r., które opublikowano w *Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins* (Kompendium międzynarodowych metod analizy win) przez Międzynarodowy Urząd Winorośli i Wina, mogą być nadal stosowane;

wspólnotowe metody analizy stosowane do win zostały ustanowione w rozporządzeniu Komisji (EWG) nr 1108/82 (3); postęp naukowy uczynił koniecznym zastąpienie niektórych metod innymi, bardziej odpowiednimi, zmodyfikowanie innych metod i wprowadzenie nowych, w szczególności tych zatwierdzonych od czasu wydania powyższego rozporządzenia przez Międzynarodowy Urząd Winorośli i Wina; ze względu na wysoką liczbę i złożoność tych zmian wszystkie metody analizy powinny zostać ponownie zebrane w nowym rozporządzeniu, a rozporządzenie (EWG) nr 1108/82 powinno utracić moc;

w celu zapewnienia porównywalności wyników uzyskiwanych przy zastosowaniu metod analitycznych określonych w art. 74 rozporządzenia (EWG) nr 822/87 należy podjąć kroki w celu odniesienia tych wyników, pod względem dokładności, powtarzalności i odtwarzalności, do definicji ustanowionych przez Międzynarodowy Urząd Winorośli i Wina;

w celu uwzględnienia z jednej strony postępu naukowego i wyposażenia technicznego laboratoriów urzędowych z drugiej oraz w celu zwiększenia wydajności i rentowności tych laboratoriów istnieje dobry powód, aby dopuścić, pod pewnymi warunkami, zautomatyzowanie metod analitycznych; istotne jest zaznaczenie, że w przypadku powstania kwestii spornych metody zautomatyzowane nie mogą zastąpić metod referencyjnych i metod zwykłych;

wyniki pomiarów gęstości za pomocą metody zautomatyzowanej, opartej na zasadzie oscylatora częstotliwości są pod względem dokładności, powtarzalności i odtwarzalności co najmniej równie dobre, jak wyniki uzyskiwane za pomocą metod oznaczania gęstości i ciężaru właściwego, wymienionych w sekcji 1 Załącznika do niniejszego rozporządzenia; z tego względu na mocy art. 74 ust. 3 rozporządzenia (EWG) nr 822/87 stwierdza się, że takie zautomatyzowane metody powinny być uważane za równorzędnewstosunku do wspomnianych metod, wyszczególnionych w Załączniku do niniejszego rozporządzenia;

(1) Dz.U. L 84 z 27.3.1987, str. 1.
(2) Dz.U. L 132 z 23.5.1990, str. 19.
(3) Dz.U. L 133 z 14.5.1982, str. 1.

procedura opisana w rozdziale 25 ppkt 2.2.3.3.2 Załącznika do niniejszego rozporządzenia, dotycząca oznaczania zawartości ditlenku siarki ogółem w winach i moszczach winnych o oczekiwanej zawartości poniżej 50 mg/l powoduje lepszą ekstrakcję tej substancji w porównaniu z metodami opisanymi w rozdziale 13 ppkt 13.4 Załącznika do rozporządzenia (EWG) nr 1108/82; uzyskuje się wyższy wynik zawartości ditlenku siarki ogółem w badanym produkcie, który może przekraczać, szczególnie w przypadku niektórych soków winogronowych, ustanowiony najwyższy dopuszczalny limit; w celu uniknięcia trudności ze zbytem soku winogronowego już gotowego w momencie wejścia w życie niniejszego rozporządzenia a także do momentu wprowadzenia procesów produkcyjnych umożliwiających pełniejszą desulfitację moszczów gronowych z fermentacją hamowaną poprzez dodanie alkoholu procedura opisana w powyższym rozporządzeniu pozostaje dozwolona w okresie przejściowym;

środki przewidziane w niniejszym rozporządzeniu są zgodne z opinią Komitetu Zarządzającego ds. Wina,

PRZYJMUJE NINIEJSZE ROZPORZĄDZENIE:

Artykuł 1

1. Wspólnotowe metody analizy win, w związku z transakcjami handlowymi i wszystkimi działaniami kontrolnymi, które umożliwiają:

— ustalenie składu produktów wymienionych w art. 1 rozporządzenia (EWG) nr 822/87,

— sprawdzenie, czy produkty te zostały poddane obróbce sprzecznej z dozwolonymi zabiegami enologicznymi,

zostały wymienione w Załączniku do niniejszego rozporządzenia.

2. Dla substancji, dla których oznaczania zalecane są metody porównawcze i zwykłe, wyniki uzyskane metodą porównawczą są wiążące.

Artykuł 2

Do celów stosowania niniejszego rozporządzenia:

a) powtarzalność jest to wartość, poniżej której można się spodziewać, z określonym prawdopodobieństwem, że wartość bezwzględna różnicy między dwoma pojedynczymi wynikami badań uzyskanymi na identycznym badanym materiale i w tych samych warunkach (ta sama osoba wykonująca, ten sam aparat, to samo laboratorium i w krótkim odstępie czasu) może być zafałszowana;

b) odtwarzalność jest to wartość, poniżej której można się spodziewać, z określonym prawdopodobieństwem, że wartość bezwzględna różnicy między dwoma pojedynczymi wynikami badań uzyskanymi na identycznym badanym materiale i w różnych warunkach (różne osoby wykonujące, różne aparaty i/lub różne laboratoria i/lub w różnym czasie) będzie zafałszowana.

Pojęcie „wynik pojedynczego badania" oznacza wartość uzyskaną za pomocą znormalizowanej metody badawczej stosowanej w całości i jednorazowo w stosunku do pojedynczej próbki.

Prawdopodobieństwo wynosi 95 %, o ile nie stwierdzono inaczej.

Artykuł 3

1. Zautomatyzowane metody analityczne są dozwolone, na odpowiedzialność dyrektora laboratorium, pod warunkiem że dokładność, powtarzalność i odtwarzalność wyników są co najmniej równe dokładności, powtarzalności i odtwarzalności wyników uzyskiwanych za pomocą metod analitycznych wymienionych w Załączniku.

W przypadku sporów metody wymienione w Załączniku nie mogą być zastąpione metodami zautomatyzowanymi.

2. Zautomatyzowana metoda pomiaru gęstości, oparta na zasadzie oscylatora częstotliwości jest uważana za równorzędną metodom wymienionym w sekcji 1 Załącznika do niniejszego rozporządzenia.

Artykuł 4

Gdziekolwiek mowa jest o wodzie do przygotowania roztworów, rozcieńczania lub przemywania, oznacza to wodę destylowaną lub zdemineralizowaną o równorzędnej czystości. Wszystkie chemikalia cechują się czystością analityczną, o ile nie określono inaczej.

Artykuł 5

Rozporządzenie (EWG) nr 1108/82 traci moc.

Jednakże przepisy art. 1 ust. 4 powyższego rozporządzenia stosuje się do dnia 31 grudnia 1990 r.

Artykuł 6

Niniejsze rozporządzenie wchodzi w życie z dniem jego opublikowania w *Dzienniku Urzędowym Wspólnot Europejskich*.

Niniejsze rozporządzenie stosuje się z mocą od dnia 1 października 1990 r.

Niniejsze rozporządzenie wiąże w całości i jest bezpośrednio stosowane we wszystkich Państwach Członkowskich.

Sporządzono w Brukseli, dnia 17 września 1990 r.

W imieniu Komisji

Ray MAC SHARRY

Członek Komisji

ZAŁĄCZNIK

1. GĘSTOŚĆ I CIĘŻAR WŁAŚCIWY W TEMPERATURZE 20 °C

1. DEFINICJE

Gęstość jest to masa przypadająca na jednostkę objętości wina lub moszczu w temperaturze 20 °C. Wyrażana jest w gramach na mililitr i oznaczana symbolem ρ 20 °C.

Ciężar właściwy w temperaturze 20 °C (lub gęstość względna 20 °C/20 °C) jest to stosunek, wyrażony liczbą dziesiętną, gęstości określonej objętości wina lub moszczu w temperaturze 20 °C do gęstości tej samej objętości wody w tej samej temperaturze. Jest on oznaczany symbolem $d^{20°C}_{20°C}$

2. ZASADA METOD

Gęstość i ciężar właściwy w temperaturze 20 °C są oznaczane w badanej próbce metodą:

— albo piknometryczną: metoda porównawcza,

— albo hydrometryczną lub densymetryczną z wykorzystaniem wagi hydrostatycznej: metoda zwykła.

Uwaga:

Dla bardzo dokładnych oznaczeń wynik pomiaru gęstości musi zostać skorygowany poprzez uwzględnienie wpływu ditlenku siarki, zgodnie z wzorem:

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

gdzie $\rho_{20\,°C}$ = gęstość skorygowana

$\rho'_{20\,°C}$ = gęstość stwierdzona

S = całkowita ilość ditlenku siarki w gramach na litr

3. PRZYGOTOWANIE PRÓBKI DO ANALIZY

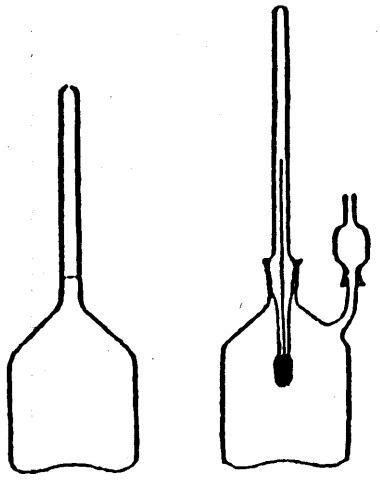
Jeżeli wino lub moszcz zawiera znaczne ilości ditlenku węgla, należy usunąć jego większość poprzez mieszanie 250 ml wina w jednolitrowej kolbie lub poprzez filtrację pod zmniejszonym ciśnieniem przez 2 g waty umieszczonej w rurce odprowadzającej.

4. METODA PORÓWNAWCZA

4.1. **Urządzenie:**

Zwykły sprzęt laboratoryjny, w szczególności:

4.1.1. Piknometr pyreksowy ([1]) o pojemności około 100 ml z wyjmowanym termometrem z doszlifowanym korkiem, ze skalą o działce elementarnej 1/10 stopnia w zakresie 10-30 °C (rysunek 1). Termometr musi być standaryzowany.



Rysunek 1

Piknometr i jego butelka tarująca

([1]) Można stosować każdy piknometr o równorzędnej charakterystyce.

Piknometr wyposażony jest w boczną rurkę o długości 25 mm i średnicy 1 mm (maksymalnie), zakończoną stożkowym szlifem. Rurka ta może być zamknięta „korkiem zbiornikowym", składającym się z rurki ze stożkowym szlifem i wydłużonej części na końcu. Korek ten służy jako komora rozprężeniowa.

Oba połączenia szlifowe aparatu powinny być wykonane bardzo starannie.

4.1.2. Butelka tarująca, stanowiąca naczynie o takiej samej objętości zewnętrznej (z dokładnością co najmniej do 1 ml), co piknometr i o masie równej masie piknometru napełnionego cieczą o ciężarze właściwym 1,01 (2,0 % m/v roztwór chlorku sodu).

Izolowany termicznie pojemnik, pasujący dokładnie do kształtu piknometru.

4.1.3. Waga dwuszalkowa o nośności co najmniej 300 g i czułości 0,1 mg

lub

waga jednoszalkowa o nośności co najmniej 200 g i czułości 0,1 mg.

4.2. **Kalibracja piknometru**

Kalibracja piknometru polega na oznaczeniu następujących wielkości:

— tara pustego piknometru,

— objętość piknometru w temperaturze 20 °C,

— masa piknometru napełnionego wodą w temperaturze 20 °C.

4.2.1. **Metoda z wykorzystaniem wagi dwuszalkowej**

Umieścić butelkę tarującą na lewej szalce wagi, a czysty i suchy piknometr, zamknięty „korkiem zbiornikowym" na prawej szalce. Dołożyć odważniki na szalkę z piknometrem i zapisać masę odważników wymaganą do uzyskania równowagi: jest to wartość p gramów.

Ostrożnie napełnić piknometr wodą destylowaną o temperaturze otoczenia i włożyć termometr: ostrożnie wytrzeć piknometr do sucha i umieścić w termicznie izolowanym pojemniku. Wymieszać zawartość piknometru poprzez odwracanie pojemnika aż do osiągnięcia stałej temperatury. Doprowadzić poziom cieczy w piknometrze dokładnie do poziomu górnej krawędzi bocznej rurki. Wytrzeć do sucha ścianki rurki i włożyć „korek zbiornikowy"; dokładnie odczytać wskazanie temperatury t °C, korygując je ewentualnie z uwzględnieniem niedokładności skali temperaturowej. Zważyć napełniony wodą piknometr w stosunku do butli tarującej i zapisać masę p' w gramach, wymaganą do uzyskania równowagi.

Obliczanie (1):

Tarowanie pustego piknometru:

tara pustego piknometru = $p + m$,

gdzie m = masa powietrza wypełniającego piknometr,

$m = 0{,}0012\,(p - p')$.

Objętość w temperaturze 20 °C:

$V_{20\,°C} = (p + m - p') \times F_t$,

gdzie F_t = współczynnik odczytany z tabeli I dla temperatury t °C.

$V_{20\,°C}$ powinna być obliczona z dokładnością ± 0, 001 ml.

Masa wody w temperaturze 20 °C:

$M_{20\,°C} = 0{,}998203\,V_{20\,°C}$,

gdzie 0,998203 jest gęstością wody w temperaturze 20 °C.

(1) Przykład liczbowy podany jest w pkt 6 niniejszego rozdziału.

4.2.2. *Metoda z wykorzystaniem wagi jednoszalkowej*

Ustalić:

— masę czystego i suchego piknometru: wartość ta oznaczana jest symbolem *P*,

— masę piknometru napełnionego wodą o temperaturze *t* °C, zgodnie ze sposobem postępowania opisanym w 4.2.1: wartość ta oznaczana jest symbolem P_1,

— masa butelki tarującej: T_0.

Obliczanie (1):

Tarowanie pustego piknometru:

tara pustego piknometru = $P - m$,

gdzie m = masa powietrza wypełniającego piknometr,

$m = 0{,}0012\ (P_1 - P)$.

Objętość w temperaturze 20 °C:

$V_{20\,°C} = [P_1 - (P - m)] \times F_t$

gdzie F_t = współczynnik wzięty z tabeli I dla temperatury *t* °C.

Objętość w temperaturze 20 °C powinna być obliczona z dokładnością ± 0, 001 ml.

Masa wody w temperaturze 20 °C:

$M_{20\,°C} = 0{,}998203\ V_{20\,°C}$,

gdzie 0,998203 jest gęstością wody w temperaturze 20 °C.

4.3. **Metoda pomiaru** (1)

4.3.1. *Metoda z wykorzystaniem wagi dwuszalkowej*

Napełnić piknometr przygotowaną próbką, zgodnie z procedurą opisaną w ppkt 4.2.1.

p" oznacza masę w gramach wymaganą do uzyskania równowagi w temperaturze *t* °C.

Masa cieczy zawartej w piknometrze = $p + m - p''$.

Pozorna gęstość w temperaturze *t* °C:

$$\rho_{t°C} = \frac{p + m - p''}{V_{20°C}}$$

Obliczyć gęstość w temperaturze 20 °C, wykorzystując jedną z tabel zamieszczonych w dalszej części dokumentu, zgodnie z rodzajem badanej cieczy: wino wytrawne (tabela II), naturalny lub zagęszczony moszcz (tabela III), wino słodkie (tabela IV).

Ciężar właściwy 20 °C/20 °C wina obliczany jest poprzez podzielenie jego gęstości w temperaturze 20 °C przez 0,998203.

4.3.2. *Metoda z wykorzystaniem wagi jednoszalkowej* (1)

Zważyć butelkę tarującą, jej masę oznaczyć jako *T*.

Obliczyć d $T = T_1 - T_0$.

Masa pustego piknometru w czasie pomiaru = $P - m + \mathrm{d}\,T$.

Zważyć piknometr napełniony przygotowaną próbką, zgodnie z procedurą opisaną w ppkt 4.2.1. P_2 oznacza jego masę w temperaturze *t* °C.

(1) Przykład liczbowy podany jest w pkt 6 niniejszego rozdziału.

Masa cieczy zawartej w piknometrze w temperaturze *t* °C = $P_2 - (P - m + d\,T)$

Gęstość pozorna w temperaturze *t* °C:

$$\rho_{t°C} = \frac{P_2 - (P - m + dT)}{V_{20°C}}$$

Obliczyć gęstość badanej cieczy (wino wytrawne, naturalny lub zagęszczony moszcz lub wino słodkie) w temperaturze 20 °C, tak jak opisano w ppkt 4.3.1.

Ciężar właściwy 20 °C/20 °C oblicza się, dzieląc gęstość w temperaturze 20 °C przez 0,998203.

4.3.3. Powtarzalność pomiarów gęstości

dla win wytrawnych i półsłodkich: *r* = 0,00010,

a dla win słodkich: *r* = 0,00018.

4.3.4. Odtwarzalność pomiarów gęstości:

dla win wytrawnych i półsłodkich *R*= 0,00037,

a dla win słodkich: *R* = 0,00045.

5. METODY ZWYKŁE

5.1. **Metoda hydrometryczna**

5.1.1. *Urządzenie*

5.1.1.1. Areometr

Areometry odpowiadają normom ISO w zakresie wymiarów i skalowania.

Posiadają cylindryczną bańkę oraz trzpień o przekroju kołowym i minimalnej średnicy 3 mm. Dla win wytrawnych powinny być skalowane od 0,983 do 1,003 z działką zaznaczoną co 0,0010 i 0,0002. Każda kreska skali co 0,0010 powinna być oddalona od następnej właściwej kreski o co najmniej 5 mm. Do pomiarów gęstości win bezalkoholowych, win słodkich i moszczów należy stosować zestaw pięciu areometrów o skalach 1,000—1,030, 1,030—1,060, 1,060—1,090, 1,090—1,120 i 1,120—1,150. Areometry te są skalowane w temperaturze 20 °C z podziałkami co 0,0010 i 0,0005, przy czym każda kreska skali co 0,0010 powinna być oddalona od następnej właściwej kreski o co najmniej 3 mm.

Areometry te są skalowane do odczytu według menisku górnego. Informacja o skalowaniu do pomiaru gęstości lub ciężaru właściwego w temperaturze 20 °C oraz o odczycie wskazań wg górnego menisku powinna być umieszczona na skali areometru lub na pasku papieru umieszczonym w bańce. Areometry te powinny być kalibrowane przez departament rządowy.

5.1.1.2. Kalibrowany termometr z podziałką elementarną 0,5 °C.

5.1.1.3. Cylinder pomiarowy o średnicy wewnętrznej 36 mm i wysokości 320 mm, utrzymywany w pozycji pionowej przez śruby poziomujące.

5.1.2. *Procedura*

5.1.2.1. Metoda pomiaru

Wlać 250 ml próbki, przygotowanej jak w ppkt 5.1.1.3, do cylindra miarowego i włożyć do niego termometr i areometr. Mieszać próbkę przez minutę w celu wyrównania temperatury i odczytać wskazanie termometru. Wyjąć termometr i po następnej minucie odczytać na areometrze pozorną gęstość w temperaturze *t* °C.

Pozorną gęstość w temperaturze *t* °C należy następnie sprowadzić do temperatury 20 °C, wykorzystując tabele odnoszące się do win wytrawnych (tabela V), moszczów (tabela VI) lub win zawierających cukry (tabela VII).

Ciężar właściwy 20 °C/20 °C oblicza się, dzieląc gęstość w temperaturze 20 °C przez 0,998203.

5.2. **Pomiar gęstości za pomocą wagi hydrostatycznej**

5.2.1. *Urządzenie*

5.2.1.1. Waga hydrostatyczna o maksymalnej nośności co najmniej 100 g i czułości 0,1 mg.

Identyczne pływaki ze szkła pyreksowego o objętości co najmniej 20 ml są przymocowane do obu szalek za pomocą nici o średnicy nieprzekraczającej 0,1 mm.

Pływak zawieszony pod prawą szalką wagi powinien mieścić się w cylindrze miarowym, na którym kreską zaznaczony jest poziom cieczy. Cylinder miarowy musi mieć średnicę co najmniej o 6 mm większą od średnicy pływaka. Pływak musi całkowicie mieścić się w części cylindra miarowego znajdującej się poniżej kreski; powierzchnia badanej cieczy powinna być przecięta jedynie przez nitkę utrzymującą nurnik. Temperatura cieczy w cylindrze miarowym jest mierzona za pomocą termometru o podstawowej podziałce 0,2 °C.

5.2.1.2. Można również użyć wagi hydrostatycznej jednoszalkowej.

5.2.2. *Procedura*

5.2.2.1. Normalizacja wagi hydrostatycznej

Zrównoważyć wagę z dwoma pływakami zawieszonymi w powietrzu, umieszczając odważniki na prawej szalce. Zapisać masę *p* nałożonych odważników.

Napełnić cylinder miarowy czystą wodą do kreski, wstrząsnąć, odczekać przez dwie lub trzy minuty i odczytać temperaturę *t* °C.

Ponownie zrównoważyć wagę, umieszczając odważniki na prawej szalce. *p′* oznacza masę nałożonych odważników.

Objętość nurnika w temperaturze 20 °C wynosi:

$V_{20°C} = (p' - p)\,(F + 0{,}0012)$

gdzie *F* jest współczynnikiem odczytanym z tabeli I dla temperatury *t* °C.

p i $V_{20\,°C}$ są wartościami charakterystycznymi dla pływaka.

5.2.2.2. Metoda pomiaru

Prawy pływak zanurzyć w cylindrze miarowym napełnionym winem (lub moszczem) do kreski. Odczytać temperaturę *t* °C wina (lub moszczu) i zapisać masę *p″* potrzebną do zrównoważenia wagi.

Pozorna gęstość ρ_t wynosi:

$$\rho_{t°C} = \frac{(p'' - p)}{V} + 0{,}0012$$

Gęstość tę sprowadza się do temperatury 20 °C, wykorzystując tabelę II, III lub IV, jeżeli pływak jest wykonany ze szkła pyreksowego.

6. PRZYKŁAD OBLICZANIA GĘSTOŚCI W TEMPERATURZE 20 °C I CIĘŻARU WŁAŚCIWEGO 20 °C/20 °C (METODA PORÓWNAWCZA)

6.1. **Metoda piknometryczna z użyciem wagi dwuszalkowej**

6.1.1. *Normalizacja piknometru*:

1. Ważenie czystego, suchego piknometru:

   Tara = masa piknometru + *p*
   p = 104,9454 g

2. Ważenie piknometru napełnionego wodą o temperaturze *t* °C:

   Tara = masa piknometru + masa wody + *p′*
   p′ = 1,2396 g w temperaturze *t* = 20,5 °C

3. Obliczanie masy powietrza wypełniającego piknometr:

   m = 0,0012 (*p* – *p′*)
   m = 0,0012 (104,9454 – 1,2396)
   m = 0,1244 g

4. Wartości charakterystyczne, które należy ustalić:

   Tara pustego piknometru, *p* + *m*:
   p + *m* = 104,9454 + 0,1244
   p + *m* = 105,0698 g

   Objętość w temperaturze 20 °C = $F(p + m - p')_{t\,°C}$
   $F_{20,5\,°C}$ = 1,001900
   $V_{20\,°C}$ = (105,0698 – 1,2396) × 1,001900
   $V_{20\,°C}$ = 104,0275 ml

   Masa wody w temperaturze 20 °C =

   $M_{20\,°C} = V_{20\,°C} \times 0{,}998203$
   $M_{20\,°C}$ = 103,8405 g

6.1.2. *Oznaczanie gęstości i ciężaru właściwego wina wytrawnego w temperaturze 20 °C/20 °C*

ρ" = 1,2622 w temperaturze 17,80 °C

$$\rho_{17,80\,°C} = \frac{105,0698 - 1,2622}{104,0275}$$

$\rho_{17,80\,°C}$ = 0,99788 g/ml

Tabela II umożliwia wyliczenie wartości $p_{20\,°C}$ z $\rho_{t\,°C}$ na podstawie następującej zależności:

$$\rho_{20°C} = \rho_{t\,°C} \pm \frac{c}{1000}$$

Dla *t* = 17,80 °C i dla zawartości alkoholu 11 % obj. *c* = 0,54.

$$\rho_{20\,°C} = 0{,}99788 - \frac{0{,}54}{1000}$$

$\rho_{20\,°C}$ = 0,99734 g/ml

$$d\,{}^{20\,°C}_{20\,°C} = \frac{0{,}99744}{0{,}998203} = 0{,}99913$$

6.2. **Metoda piknometryczna z użyciem wagi jednoszalkowej**

6.2.1. *Normalizacja piknometru*:

1. Waga czystego, suchego piknometru:

   P = 67,7913 g

2. Waga piknometru napełnionego wodą o temperaturze *t* °C:

   P_1 = 169,2715 w 21,65 °C

3. Masa powietrza wypełniającego piknometr:

   $m = 0{,}0012\ (P_1 - P)$

   $m = 0{,}0012 \times 101{,}4802$

   $m = 0{,}1218$ g

4. Charakterystyczne wartości, które należy ustalić:

   Tara pustego piknometru, $P - m$:

   P–m = 67,7913 — 0,1218

   $P - m$ = 67,6695 g

   Objętość w temperaturze 20 °C = $[P_1 - (P - m)]F_{t°C}$

   $F_{21{,}65\,°C}$ = 1,002140

   $V_{20\,°C}$ = 1,002140 (169,2715 – 67,6695)

   $V_{20\,°C}$ = 101,8194 ml

   Masa wody w temperaturze 20 °C:

   $M_{20\,°C} = V_{20\,°C} \times 0{,}998203$

   $M_{20\,°C}$ = 101,6364 g

   Masa butelki tarowej (tarującej), T_o:

   T_o = 171,9160 g

6.2.2. *Oznaczanie gęstości i ciężaru właściwego w temperaturze 20 °C wina wytrawnego*

T_1 = 171,9178 g

d *T*= 171,9178 – 171,9160 = 0,0018 g

$P - m$ + d *T* = 67,6695 + 0,0018 = 67,6713 g

P_2 = 169,2799 w temperaturze 18 °C

$$\rho_{18\,°C} = \frac{169{,}2799 - 67{,}6713}{101{,}8194}$$

$\rho_{18\,°C}$ = 0,99793 g/ml

Tabela II umożliwia obliczenie wartości $p_{20\,°C}$ na podstawie następującej zależności:

$$\rho_{20\,°C} = \rho_{t\,°C} \pm \frac{c}{1000}$$

Dla temp. *t* = 18 °C i dla zawartości alkoholu 11 % obj. *c* = 0,49.

$$\rho_{20\,°C} = 0{,}99793 - \frac{0{,}49}{1000}$$

$\rho_{20\,°C}$ = 0,99744 g/ml

$$d_{20\,°C}^{20\,°C} = \frac{0{,}99744}{0{,}998203} = 0{,}99923$$

TABELA I

Wartość współczynnika F, przez który należy pomnożyć masę wody o temperaturze t °C zawartej w piknometrze ze szkła pyreksowego w celu obliczenia objętości piknometru w temperaturze 20 °C

t °C	F	*t* °C	F	*t* °C	F	*t* °C	F	*t* °C	F	*t* °C	F	*t* °C	F
10,0	1,000398	13,0	1,000691	16,0	1,001097	19,0	1,001608	22,0	1,002215	25,0	1,002916	28,0	1,003704
,1	1,000406	,1	1,000703	,1	1,001113	,1	1,001627	,1	1,002238	,1	1,002941	,1	1,003731
,2	1,000414	,2	1,000714	,2	1,001128	,2	1,001646	,2	1,002260	,2	1,002966	,2	1,003759
,3	1,000422	,3	1,000726	,3	1,001144	,3	1,001665	,3	1,002282	,3	1,002990	,3	1,003787
,4	1,000430	,4	1,000738	,4	1,001159	,4	1,001684	,4	1,002304	,4	1,003015	,4	1,003815
10,5	1,000439	13,5	1,000752	16,5	1,001175	19,5	1,001703	22,5	1,002326	25,5	1,003041	28,5	1,003843
,6	1,000447	,6	1,000764	,6	1,001191	,6	1,001722	,6	1,002349	,6	1,003066	,6	1,003871
,7	1,000456	,7	1,000777	,7	1,001207	,7	1,001741	,7	1,002372	,7	1,003092	,7	1,003899
,8	1,000465	,8	1,000789	,8	1,001223	,8	1,001761	,8	1,002394	,8	1,003117	,8	1,003928
,9	1,000474	,9	1,000803	,9	1,001239	,9	1,001780	,9	1,002417	,9	1,003143	,9	1,003956
11,0	1,000483	14,0	1,000816	17,0	1,001257	20,0	1,001800	23,0	1,002439	26,0	1,003168	29,0	1,003984
,1	1,000492	,1	1,000829	,1	1,001273	,1	1,001819	,1	1,002462	,1	1,003194	,1	
,2	1,000501	,2	1,000842	,2	1,001290	,2	1,001839	,2	1,002485	,2	1,003222	,2	1,004042
,3	1,000511	,3	1,000855	,3	1,001306	,3	1,001859	,3	1,002508	,3	1,003247	,3	1,004071
,4	1,000520	,4	1,000868	,4	1,001323	,4	1,001880	,4	1,002531	,4	1,003273	,4	1,004099
11,5	1,000530	14,5	1,000882	17,5	1,001340	20,5	1,001900	23,5	1,002555	26,5	1,003299	29,5	1,004128
,6	1,000540	,6	1,000895	,6	1,001357	,6	1,001920	,6	1,002578	,6	1,003326	,6	1,004158
,7	1,000550	,7	1,000909	,7	1,001374	,7	1,001941	,7	1,002602	,7	1,003352	,7	1,004187
,8	1,000560	,8	1,000923	,8	1,001391	,8	1,001961	,8	1,002625	,8	1,003379	,8	1,004216
,9	1,000570	,9	1,000937	,9	1,001409	,9	1,001982	,9	1,002649	,9	1,003405	,9	1,004245
12,0	1,000580	15,0	1,000951	18,0	1,001427	21,0	1,002002	24,0	1,002672	27,0	1,003432	30,0	1,004275
,1	1,000591	,1	1,000965	,1	1,001445	,1	1,002023	,1	1,002696	,1	1,003458		
,2	1,000601	,2	1,000979	,2	1,001462	,2	1,002044	,2	1,002720	,2	1,003485		
,3	1,000612	,3	1,000993	,3	1,001480	,3	1,002065	,3	1,002745	,3	1,003513		
,4		,4	1,001008	,4	1,001498	,4	1,002086	,4	1,002769	,4	1,003540		
12,5	1,000634	15,5	1,001022	18,5	1,001516	21,5	1,002107	24,5	1,002793	27,5	1,003567		
,6	1,000645	,6	1,001037	,6	1,001534	,6	1,002129	,6	1,002817	,6	1,003594		
,7	1,000656	,7	1,001052	,7	1,001552	,7	1,002151	,7	1,002842	,7	1,003621		
,8	1,000668	,8	1,001067	,8	1,001570	,8	1,002172	,8	1,002866	,8	1,003649		
,9	1,000679	,9	1,001082	,9	1,001589	,9	1,002194	,9	1,002891	,9	1,003676		

TABELA II

Korekty temperatury *c* w stosunku do gęstości bezalkoholowych win wytrawnych, mierzonej przy użyciu piknometru ze szkła pyreksowego w temperaturze *t*°C w celu otrzymania wyników odpowiadających temperaturze 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \begin{cases} - \text{ jeżeli } t \text{ °C jest niższa niż 20 °C} \\ + \text{ jeżeli } t \text{ °C jest wyższa niż 20 °C} \end{cases}$$

		Zawartość alkoholu																							
		0	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
Temperatura (°C)	10	1,59	1,64	1,67	1,71	1,77	1,84	1,91	2,01	2,11	2,22	2,34	2,46	2,60	2,73	2,88	3,03	3,19	3,35	3,52	3,70	3,87	4,06	4,25	4,44
	11	1,48	1,53	1,56	1,60	1,64	1,70	1,77	1,86	1,95	2,05	2,16	2,27	2,38	2,51	2,63	2,77	2,91	3,06	3,21	3,36	3,53	3,69	3,86	4,03
	12	1,36	1,40	1,43	1,46	1,50	1,56	1,62	1,69	1,78	1,86	1,96	2,05	2,16	2,27	2,38	2,50	2,62	2,75	2,88	3,02	3,16	3,31	3,46	3,61
	13	1,22	1,26	1,28	1,32	1,35	1,40	1,45	1,52	1,59	1,67	1,75	1,83	1,92	2,01	2,11	2,22	2,32	2,44	2,55	2,67	2,79	2,92	3,05	3,18
	14	1,08	1,11	1,13	1,16	1,19	1,23	1,27	1,33	1,39	1,46	1,52	1,60	1,67	1,75	1,84	1,93	2,03	2,11	2,21	2,31	2,42	2,52	2,63	2,74
	15	0,92	0,96	0,97	0,99	1,02	1,05	1,09	1,13	1,19	1,24	1,30	1,36	1,42	1,48	1,55	1,63	1,70	1,78	1,86	1,95	2,03	2,12	2,21	2,30
	16	0,76	0,79	0,80	0,81	0,84	0,86	0,89	0,93	0,97	1,01	1,06	1,10	1,16	1,21	1,26	1,32	1,38	1,44	1,51	1,57	1,64	1,71	1,78	1,85
	17	0,59	0,61	0,62	0,63	0,65	0,67	0,69	0,72	0,75	0,78	0,81	0,85	0,88	0,95	0,96	1,01	1,05	1,11	1,15	1,20	1,25	1,30	1,35	1,40
	18	0,40	0,42	0,42	0,43	0,44	0,46	0,47	0,49	0,51	0,53	0,55	0,57	0,60	0,63	0,65	0,68	0,71	0,74	0,77	0,81	0,84	0,87	0,91	0,94
	19	0,21	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,24	0,25	0,26	0,27	0,28	0,29	0,30	0,32	0,33	0,34	0,36	0,37	0,39	0,41	0,42	0,44	0,46	0,47
	20																								
	21	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,24	0,25	0,26	0,27	0,28	0,29	0,30	0,31	0,32	0,34	0,36	0,37	0,38	0,40	0,41	0,43	0,44	0,46	0,48
	22	0,44	0,45	0,46	0,47	0,48	0,49	0,51	0,52	0,54	0,56	0,59	0,61	0,63	0,66	0,69	0,71	0,74	0,77	0,80	0,83	0,87	0,90	0,93	0,97
	23	0,68	0,70	0,71	0,72	0,74	0,76	0,78	0,80	0,83	0,86	0,90	0,93	0,96	1,00	1,03	1,08	1,13	1,17	1,22	1,26	1,31	1,37	1,41	1,46
	24	0,93	0,96	0,97	0,99	1,01	1,03	1,06	1,10	1,13	1,18	1,22	1,26	1,31	1,36	1,41	1,47	1,52	1,58	1,64	1,71	1,77	1,84	1,90	1,97
	25	1,19	1,23	1,25	1,27	1,29	1,32	1,36	1,40	1,45	1,50	1,55	1,61	1,67	1,73	1,80	1,86	1,93	2,00	2,08	2,16	2,24	2,32	2,40	2,48
	26	1,47	1,51	1,53	1,56	1,59	1,62	1,67	1,72	1,77	1,83	1,90	1,96	2,03	2,11	2,19	2,27	2,35	2,44	2,53	2,62	2,72	2,81	2,91	3,01
	27	1,75	1,80	1,82	1,85	1,89	1,93	1,98	2,04	2,11	2,18	2,25	2,33	2,41	2,50	2,59	2,68	2,78	2,88	2,98	3,09	3,20	3,31	3,42	3,53
	28	2,04	2,10	2,13	2,16	2,20	2,25	2,31	2,38	2,45	2,53	2,62	2,70	2,80	2,89	3,00	3,10	3,21	3,32	3,45	3,57	3,69	3,82	3,94	4,07
	29	2,34	2,41	2,44	2,48	2,53	2,58	2,65	2,72	2,81	2,89	2,99	3,09	3,19	3,30	3,42	3,53	3,65	3,78	3,92	4,05	4,19	4,33	4,47	4,61
	30	2,66	2,73	2,77	2,81	2,86	2,92	3,00	3,08	3,17	3,27	3,37	3,48	3,59	3,72	3,84	3,97	4,11	4,25	4,40	4,55	4,70	4,85	4,92	5,17

Uwaga: Tabela ta może być wykorzystana do przeliczania ciężaru właściwego d^t_{20} na ciężar właściwy d^{20}_{20}.

TABELA III

Korekty temperatury *c* w stosunku do gęstości naturalnych i zagęszczonych moszczów, mierzonej przy użyciu piknometru ze szkła pyreksowego w temperaturze *t* °C w celu otrzymania wyników odpowiadających temperaturze 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \begin{cases} - \text{ jeżeli } t \text{ °C jest niższa niż 20 °C} \\ + \text{ jeżeli } t \text{ °C jest wyższa niż 20 °C} \end{cases}$$

		Gęstość																							
		1,05	1,06	1,07	1,08	1,09	1,10	1,11	1,12	1,13	1,14	1,15	1,16	1,18	1,20	1,22	1,24	1,26	1,28	1,30	1,32	1,34	1,36
Temperatura (°C)	10°	2,31	2,48	2,66	2,82	2,99	3,13	3,30	3,44	3,59	3,73	3,88	4,01	4,28	4,52	4,76	4,98	5,18	5,42	5,56	5,73	5,90	6,05
	11°	2,12	2,28	2,42	2,57	2,72	2,86	2,99	3,12	3,25	3,37	3,50	3,62	3,85	4,08	4,29	4,48	4,67	4,84	5,00	5,16	5,31	5,45
	12°	1,92	2,06	2,19	2,32	2,45	2,58	2,70	2,82	2,94	3,04	3,15	3,26	3,47	3,67	3,85	4,03	4,20	4,36	4,51	4,65	4,78	4,91
	13°	1,72	1,84	1,95	2,06	2,17	2,27	2,38	2,48	2,58	2,69	2,78	2,88	3,05	3,22	3,39	3,55	3,65	3,84	3,98	4,11	4,24	4,36
	14°	1,52	1,62	1,72	1,81	1,90	2,00	2,09	2,17	2,26	2,34	2,43	2,51	2,66	2,82	2,96	3,09	3,22	3,34	3,45	3,56	3,67	3,76
	15°	1,28	1,36	1,44	1,52	1,60	1,67	1,75	1,82	1,89	1,96	2,04	2,11	2,24	2,36	2,48	2,59	2,69	2,79	2,88	2,97	3,03	3,10
	16°	1,05	1,12	1,18	1,25	1,31	1,37	1,43	1,49	1,55	1,60	1,66	1,71	1,81	1,90	2,00	2,08	2,16	2,24	2,30	2,37	2,43	2,49
	17°	0,80	0,86	0,90	0,95	1,00	1,04	1,09	1,13	1,18	1,22	1,26	1,30	1,37	1,44	1,51	1,57	1,62	1,68	1,72	1,76	1,80	1,84
	18°	0,56	0,59	0,62	0,66	0,68	0,72	0,75	0,77	0,80	0,83	0,85	0,88	0,93	0,98	1,02	1,05	1,09	1,12	1,16	1,19	1,21	1,24
	19°	0,29	0,31	0,32	0,34	0,36	0,37	0,39	0,40	0,42	0,43	0,44	0,45	0,48	0,50	0,52	0,54	0,56	0,57	0,59	0,60	0,61	0,62
	20°																						
	21°	0,29	0,30	0,32	0,34	0,35	0,37	0,38	0,40	0,41	0,42	0,44	0,46	0,48	0,50	0,53	0,56	0,58	0,59	0,60	0,61	0,62	0,62
	22°	0,58	0,61	0,64	0,67	0,70	0,73	0,76	0,79	0,81	0,84	0,87	0,90	0,96	1,00	1,05	1,09	1,12	1,15	1,18	1,20	1,22	1,23
	23°	0,89	0,94	0,99	1,03	1,08	1,12	1,16	1,20	1,25	1,29	1,33	1,37	1,44	1,51	1,57	1,63	1,67	1,73	1,77	1,80	1,82	1,84
	24°	1,20	1,25	1,31	1,37	1,43	1,49	1,54	1,60	1,66	1,71	1,77	1,82	1,92	2,01	2,10	2,17	2,24	2,30	2,36	2,40	2,42	2,44
	25°	1,51	1,59	1,66	1,74	1,81	1,88	1,95	2,02	2,09	2,16	2,23	2,30	2,42	2,53	2,63	2,72	2,82	2,89	2,95	2,99	3,01	3,05
	26°	1,84	1,92	2,01	2,10	2,18	2,26	2,34	2,42	2,50	2,58	2,65	2,73	2,87	3,00	3,13	3,25	3,36	3,47	3,57	3,65	3,72	3,79
	27°	2,17	2,26	2,36	2,46	2,56	2,66	2,75	2,84	2,93	3,01	3,10	3,18	3,35	3,50	3,66	3,80	3,93	4,06	4,16	4,26	4,35	4,42
	28°	2,50	2,62	2,74	2,85	2,96	3,07	3,18	3,28	3,40	3,50	3,60	3,69	3,87	4,04	4,21	4,36	4,50	4,64	4,75	4,86	4,94	5,00
	29°	2,86	2,98	3,10	3,22	3,35	3,47	3,59	3,70	3,82	3,93	4,03	4,14	4,34	4,53	4,72	4,89	5,05	5,20	5,34	5,46	5,56	5,64
	30°	3,20	3,35	3,49	3,64	3,77	3,91	4,05	4,17	4,30	4,43	4,55	4,67	4,90	5,12	5,39	5,51	5,68	5,84	5,96	6,08	6,16	6,22

Uwaga: Tabela ta może być wykorzystana do przeliczania ciężaru właściwego d^t_{20} na ciężar właściwy d^{20}_{20}.

TABELA IV

Korekty temperatury *c* w stosunku do gęstości win o zawartości alkoholu 13 % objętości i więcej, zawierających pozostałości cukrów, mierzonej przy użyciu piknometru ze szkła pyreksowego w temperaturze *t* °C w celu otrzymania wyników odpowiadających temperaturze 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000}$$

– jeżeli *t* °C jest niższa niż 20 °C

+ jeżeli temp. *t* °C jest wyższa od 20 °C

		Wina o zawartości alkoholu 13 % obj.							Wina o zawartości alkoholu 15 % obj.							Wina o zawartości alkoholu 17 % obj.						
		Gęstość							Gęstość							Gęstość						
		1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120
Temperatura (°C)	10°	2,36	2,71	3,06	3,42	3,72	3,96	4,32	2,64	2,99	3,36	3,68	3,99	4,30	4,59	2,94	3,29	3,64	3,98	4,29	4,60	4,89
	11°	2,17	2,49	2,80	2,99	3,39	3,65	3,90	2,42	2,73	3,05	3,34	3,63	3,89	4,15	2,69	3,00	3,32	3,61	3,90	4,16	4,41
	12°	1,97	2,25	2,53	2,79	3,05	3,29	3,52	2,19	2,47	2,75	3,01	3,27	3,51	3,73	2,42	2,70	2,98	3,24	3,50	3,74	3,96
	13°	1,78	2,02	2,25	2,47	2,69	2,89	3,09	1,97	2,21	2,44	2,66	2,87	3,08	3,29	2,18	2,42	2,64	2,87	3,08	3,29	3,49
	14°	1,57	1,78	1,98	2,16	2,35	2,53	2,70	1,74	1,94	2,14	2,32	2,52	2,69	2,86	1,91	2,11	2,31	2,50	2,69	2,86	3,03
	15°	1,32	1,49	1,66	1,82	1,97	2,12	2,26	1,46	1,63	1,79	1,95	2,10	2,25	2,39	1,60	1,77	1,93	2,09	2,24	2,39	2,53
	16°	1,08	1,22	1,36	1,48	1,61	1,73	1,84	1,18	1,32	1,46	1,59	1,71	1,83	1,94	1,30	1,44	1,58	1,71	1,83	1,95	2,06
	17°	0,83	0,94	1,04	1,13	1,22	1,31	1,40	0,91	1,02	1,12	1,21	1,30	1,39	1,48	1,00	1,10	1,20	1,30	1,39	1,48	1,56
	18°	0,58	0,64	0,71	0,78	0,84	0,89	0,95	0,63	0,69	0,76	0,83	0,89	0,94	1,00	0,69	0,75	0,82	0,89	0,95	1,00	1,06
	19°	0,30	0,34	0,37	0,40	0,43	0,46	0,49	0,33	0,37	0,40	0,43	0,46	0,49	0,52	0,36	0,39	0,42	0,46	0,49	0,52	0,54
	20°																					
	21°	0,30	0,33	0,36	0,40	0,43	0,46	0,49	0,33	0,36	0,39	0,43	0,46	0,49	0,51	0,33	0,39	0,42	0,45	0,48	0,51	0,54
	22°	0,60	0,67	0,73	0,80	0,85	0,91	0,98	0,65	0,72	0,78	0,84	0,90	0,96	1,01	0,71	0,78	0,84	0,90	0,96	1,01	1,07
	23°	0,93	1,02	1,12	1,22	1,30	1,39	1,49	1,01	1,10	1,20	1,29	1,38	1,46	1,55	1,10	1,19	1,29	1,38	1,46	1,55	1,63
	24°	1,27	1,39	1,50	1,61	1,74	1,84	1,95	1,37	1,49	1,59	1,72	1,84	1,95	2,06	1,48	1,60	1,71	1,83	1,95	2,06	2,17
	25°	1,61	1,75	1,90	2,05	2,19	2,33	2,47	1,73	1,87	2,02	2,17	2,31	2,45	2,59	1,87	2,01	2,16	2,31	2,45	2,59	2,73
	26°	1,94	2,12	2,29	2,47	2,63	2,79	2,95	2,09	2,27	2,44	2,62	2,78	2,94	3,10	2,26	2,44	2,61	2,79	2,95	3,11	3,26
	27°	2,30	2,51	2,70	2,90	3,09	3,27	3,44	2,48	2,68	2,87	3,07	3,27	3,45	3,62	2,67	2,88	3,07	3,27	3,46	3,64	3,81
	28°	2,66	2,90	3,13	3,35	3,57	3,86	4,00	2,86	3,10	3,23	3,55	3,77	3,99	4,20	3,08	3,31	3,55	3,76	3,99	4,21	4,41
	29°	3,05	3,31	3,56	3,79	4,04	4,27	4,49	3,28	3,53	3,77	4,02	4,26	4,49	4,71	3,52	3,77	4,01	4,26	4,50	4,73	4,95
	30°	3,44	3,70	3,99	4,28	4,54	4,80	5,06	3,68	3,94	4,23	4,52	4,79	5,05	5,30	3,95	4,22	4,51	4,79	5,07	5,32	5,57

		Wina o zawartości alkoholu 19 % obj.							Wina o zawartości alkoholu 19 % obj.						
		Gęstość							Gęstość						
		1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120
Temperatura (°C)	10°	3,27	3,62	3,97	4,30	4,62	4,92	5,21	3,62	3,97	4,32	4,66	4,97	5,27	5,56
	11°	2,99	3,30	3,61	3,90	4,19	4,45	4,70	3,28	3,61	3,92	4,22	4,50	4,76	5,01
	12°	2,68	2,96	3,24	3,50	3,76	4,00	4,21	2,96	3,24	3,52	3,78	4,03	4,27	4,49
	13°	2,40	2,64	2,87	3,09	3,30	3,51	3,71	2,64	2,88	3,11	3,33	3,54	3,74	3,95
	14°	2,11	2,31	2,51	2,69	2,88	3,05	3,22	2,31	2,51	2,71	2,89	3,08	3,25	3,43
	15°	1,76	1,93	2,09	2,25	2,40	2,55	2,69	1,93	2,10	2,26	2,42	2,57	2,72	2,86
	16°	1,43	1,57	1,70	1,83	1,95	2,08	2,18	1,56	1,70	1,84	1,97	2,09	2,21	2,32
	17°	1,09	1,20	1,30	1,39	1,48	1,57	1,65	1,20	1,31	1,41	1,50	1,59	1,68	1,77
	18°	0,76	0,82	0,88	0,95	1,01	1,06	1,12	0,82	0,88	0,95	1,01	1,08	1,13	1,18
	19°	0,39	0,42	0,45	0,49	0,52	0,55	0,57	0,42	0,46	0,49	0,52	0,55	0,58	0,61
	20°														
	21°	0,38	0,42	0,45	0,48	0,51	0,54	0,57	0,41	0,45	0,48	0,51	0,54	0,57	0,60
	22°	0,78	0,84	0,90	0,96	1,02	1,07	1,13	0,84	0,90	0,96	1,02	1,08	1,14	1,19
	23°	1,19	1,28	1,38	1,47	1,55	1,64	1,72	1,29	1,39	1,48	1,57	1,65	1,74	1,82
	24°	1,60	1,72	1,83	1,95	2,06	2,18	2,29	1,73	1,85	1,96	2,08	2,19	2,31	2,42
	25°	2,02	2,16	2,31	2,46	2,60	2,74	2,88	2,18	2,32	2,47	2,62	2,76	2,90	3,04
	26°	2,44	2,62	2,79	2,96	3,12	3,28	3,43	2,53	2,81	2,97	3,15	3,31	3,47	3,62
	27°	2,88	3,08	3,27	3,42	3,66	3,84	4,01	3,10	3,30	3,47	3,69	3,88	4,06	4,23
	28°	3,31	3,54	3,78	4,00	4,22	4,44	4,64	3,56	3,79	4,03	4,25	4,47	4,69	4,89
	29°	3,78	4,03	4,27	4,52	4,76	4,99	5,21	4,06	4,31	4,55	4,80	5,04	5,27	5,48
	30°	4,24	4,51	4,80	5,08	5,36	5,61	5,86	4,54	4,82	5,11	5,39	5,66	5,91	6,16

TABELA V

Korekty temperatury *c* w stosunku do gęstości win wytrawnych i win bezalkoholowych mierzonej przy użyciu piknometru lub areometru ze zwykłego szkła w temperaturze *t* °C w celu otrzymania wyników odpowiadających temperaturze 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{cases} - \text{ jeżeli } t \text{ °C jest niższa niż 20 °C} \\ + \text{ jeżeli } t \text{ °C jest wyższa niż 20 °C} \end{cases}$$

		Zawartość alkoholu																								
		0	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
Temperatura (°C)	10°	1,45	1,51	1,55	1,58	1,64	1,70	1,78	1,88	1,98	2,09	2,21	2,34	2,47	2,60	2,75	2,90	3,06	3,22	3,39	3,57	3,75	3,93	4,12	4,31
	11°	1,35	1,40	1,43	1,47	1,52	1,58	1,65	1,73	1,83	1,93	2,03	2,15	2,26	2,38	2,51	2,65	2,78	2,93	3,08	3,24	3,40	3,57	3,73	3,90
	12°	1,24	1,28	1,31	1,34	1,39	1,44	1,50	1,58	1,66	1,75	1,84	1,94	2,04	2,15	2,26	2,38	2,51	2,63	2,77	2,91	3,05	3,19	3,34	3,49
	13°	1,12	1,16	1,18	1,21	1,25	1,30	1,35	1,42	1,49	1,56	1,64	1,73	1,82	1,91	2,01	2,11	2,22	2,33	2,45	2,57	2,69	2,81	2,95	3,07
	14°	0,99	1,03	1,05	1,07	1,11	1,14	1,19	1,24	1,31	1,37	1,44	1,52	1,59	1,67	1,75	1,84	1,93	2,03	2,13	2,23	2,33	2,44	2,55	2,66
	15°	0,86	0,89	0,90	0,92	0,95	0,98	1,02	1,07	1,12	1,17	1,23	1,29	1,35	1,42	1,49	1,56	1,63	1,71	1,80	1,88	1,96	2,05	2,14	2,23
	16°	0,71	0,73	0,74	0,76	0,78	0,81	0,84	0,87	0,91	0,96	0,99	1,05	1,10	1,15	1,21	1,27	1,33	1,39	1,45	1,52	1,59	1,66	1,73	1,80
	17°	0,55	0,57	0,57	0,59	0,60	0,62	0,65	0,67	0,70	0,74	0,77	0,81	0,84	0,88	0,92	0,96	1,01	1,05	1,11	1,15	1,20	1,26	1,31	1,36
	18°	0,38	0,39	0,39	0,40	0,41	0,43	0,44	0,46	0,48	0,50	0,52	0,55	0,57	0,60	0,62	0,65	0,68	0,71	0,74	0,78	0,81	0,85	0,88	0,91
	19°	0,19	0,20	0,20	0,21	0,21	0,22	0,23	0,24	0,25	0,26	0,27	0,28	0,29	0,30	0,32	0,33	0,35	0,36	0,38	0,39	0,41	0,43	0,44	0,46
	20°																								
	21°	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,24	0,25	0,25	0,26	0,27	0,29	0,29	0,31	0,32	0,34	0,35	0,36	0,38	0,39	0,41	0,43	0,44	0,46	0,48
	22°	0,43	0,45	0,45	0,46	0,47	0,49	0,50	0,52	0,54	0,56	0,58	0,60	0,63	0,65	0,68	0,71	0,73	0,77	0,80	0,83	0,86	0,89	0,93	0,96
	23°	0,67	0,69	0,70	0,71	0,72	0,74	0,77	0,79	0,82	0,85	0,88	0,91	0,95	0,99	1,03	1,07	1,12	1,16	1,21	1,25	1,30	1,35	1,40	1,45
	24°	0,91	0,93	0,95	0,97	0,99	1,01	1,04	1,07	1,11	1,15	1,20	1,24	1,29	1,34	1,39	1,45	1,50	1,56	1,62	1,69	1,76	1,82	1,88	1,95
	25°	1,16	1,19	1,21	1,23	1,26	1,29	1,33	1,37	1,42	1,47	1,52	1,57	1,63	1,70	1,76	1,83	1,90	1,97	2,05	2,13	2,21	2,29	2,37	2,45
	26°	1,42	1,46	1,49	1,51	1,54	1,58	1,62	1,67	1,73	1,79	1,85	1,92	1,99	2,07	2,14	2,22	2,31	2,40	2,49	2,58	2,67	2,77	2,86	2,96
	27°	1,69	1,74	1,77	1,80	1,83	1,88	1,93	1,98	2,05	2,12	2,20	2,27	2,35	2,44	2,53	2,63	2,72	2,82	2,93	3,04	3,14	3,25	3,37	3,48
	28°	1,97	2,03	2,06	2,09	2,14	2,19	2,24	2,31	2,38	2,46	2,55	2,63	2,73	2,83	2,93	3,03	3,14	3,26	3,38	3,50	3,62	3,75	3,85	4,00
	29°	2,26	2,33	2,37	2,40	2,45	2,50	2,57	2,64	2,73	2,82	2,91	2,99	3,11	3,22	3,34	3,45	3,58	3,70	3,84	3,97	4,11	4,25	4,39	4,54
	30°	2,56	2,64	2,67	2,72	2,77	2,83	2,90	2,98	3,08	3,18	3,28	3,38	3,50	3,62	3,75	3,88	4,02	4,16	4,30	4,46	4,61	4,76	4,92	5,07

Uwaga: Tabela ta może być wykorzystana do przeliczania ciężaru właściwego d^t_{20} na ciężar właściwy d^{20}_{20}.

TABELA VI

Korekty temperatury *c* w stosunku do gęstości moszczów naturalnych i zagęszczonych, mierzonej przy użyciu piknometru lub areometru ze zwykłego szkła w temperaturze *t* °C w celu otrzymania wyników odpowiadających temperaturze 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{cases} - \text{ jeżeli } t \text{ °C jest niższa niż 20 °C} \\ + \text{ jeżeli } t \text{ °C jest wyższa niż 20 °C} \end{cases}$$

		Gęstość																					
		1,05	1,06	1,07	1,08	1,09	1,10	1,11	1,12	1,13	1,14	1,15	1,16	1,18	1,20	1,22	1,24	1,26	1,28	1,30	1,32	1,34	1,36
Temperatura (°C)	10°	2,17	2,34	2,52	2,68	2,85	2,99	3,16	3,29	3,44	3,58	3,73	3,86	4,13	4,36	4,60	4,82	5,02	5,25	5,39	5,56	5,73	5,87
	11°	2,00	2,16	2,29	2,44	2,59	2,73	2,86	2,99	3,12	3,24	3,37	3,48	3,71	3,94	4,15	4,33	4,52	4,69	4,85	5,01	5,15	5,29
	12°	1,81	1,95	2,08	2,21	2,34	2,47	2,58	2,70	2,82	2,92	3,03	3,14	3,35	3,55	3,72	3,90	4,07	4,23	4,37	4,52	4,64	4,77
	13°	1,62	1,74	1,85	l, 96	2,07	2,17	2,28	2,38	2,48	2,59	2,68	2,77	2,94	3,11	3,28	3,44	3,54	3,72	3,86	3,99	4,12	4,24
	14°	1,44	1,54	1,64	1,73	1,82	1,92	2,00	2,08	2,17	2,25	2,34	2,42	2,57	2,73	2,86	2,99	3,12	3,24	3,35	3,46	3,57	3,65
	15°	1,21	1,29	1,37	1,45	1,53	1,60	1,68	1,75	1,82	1,89	1,97	2,03	2,16	2,28	2,40	2,51	2,61	2,71	2,80	2,89	2,94	3,01
	16°	1,00	1,06	1,12	1,19	1,25	1,31	1,37	1,43	1,49	1,54	1,60	1,65	1,75	1,84	1,94	2,02	2,09	2,17	2,23	2,30	2,36	2,42
	17°	0,76	0,82	0,86	0,91	0,96	1,00	1,05	1,09	1,14	1,18	1,22	1,25	1,32	1,39	1,46	1,52	1,57	1,63	1,67	1,71	1,75	1,79
	18°	0,53	0,56	0,59	0,63	0,65	0,69	0,72	0,74	0,77	0,80	0,82	0,85	0,90	0,95	0,99	1,02	1,06	1,09	1,13	1,16	1,18	1,20
	19°	0,28	0,30	0,31	0,33	0,35	0,36	0,38	0,39	0,41	0,42	0,43	0,43	0,46	0,48	0,50	0,52	0,54	0,55	0,57	0,58	0,59	0,60
	20°																						
	21°	0,28	0,29	0,31	0,33	0,34	0,36	0,37	0,39	0,40	0,41	0,43	0,44	0,46	0,48	0,51	0,54	0,56	0,57	0,58	0,59	0,60	0,60
	22°	0,55	0,58	0,61	0,64	0,67	0,70	0,73	0,76	0,78	0,81	0,84	0,87	0,93	0,97	1,02	1,06	1,09	1,12	1,15	1,17	1,19	1,19
	23°	0,85	0,90	0,95	0,99	1,04	1,08	1,12	1,16	1,21	1,25	1,29	1,32	1,39	1,46	1,52	1,58	1,62	1,68	1,72	1,75	1,77	1,79
	24°	1,15	1,19	1,25	1,31	1,37	1,43	1,48	1,54	1,60	1,65	1,71	1,76	1,86	1,95	2,04	2,11	2,17	2,23	2,29	2,33	2,35	2,37
	25°	1,44	1,52	1,59	1,67	1,74	1,81	1,88	1,95	2,02	2,09	2,16	2,22	2,34	2,45	2,55	2,64	2,74	2,81	2,87	2,90	2,92	2,96
	26°	1,76	1,84	1,93	2,02	2,10	2,18	2,25	2,33	2,41	2,49	2,56	2,64	2,78	2,91	3,03	3,15	3,26	3,37	3,47	3,55	3,62	3,60
	27°	2,07	2,16	2,26	2,36	2,46	2,56	2,65	2,74	2,83	2,91	3,00	3,07	3,24	3,39	3,55	3,69	3,82	3,94	4,04	4,14	4,23	4,30
	28°	2,39	2,51	2,63	2,74	2,85	2,96	3,06	3,16	3,28	3,38	3,48	3,57	3,75	3,92	4,08	4,23	4,37	4,51	4,62	4,73	4,80	4,86
	29°	2,74	2,86	2,97	3,09	3,22	3,34	3,46	3,57	3,69	3,80	3,90	4,00	4,20	4,39	4,58	4,74	4,90	5,05	5,19	5,31	5,40	5,48
	30°	3,06	3,21	3,35	3,50	3,63	3,77	3,91	4,02	4,15	4,28	4,40	4,52	4,75	4,96	5,16	5,35	5,52	5,67	5,79	5,91	5,99	6,04

Uwaga: Tabela ta może być wykorzystana do przeliczania ciężaru właściwego d^t_{20} na ciężar właściwy d^{20}_{20}.

TABELA VII

Korekty temperatury *c* do obliczania gęstości win o zawartości alkoholu 13 % obj. i więcej, zawierających pozostałości cukrów, mierzonej przy użyciu areometru lub piknometru ze zwykłego szkła w temperaturze *t* °C w celu otrzymania wyników odpowiadających temperaturze 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{cases} - \text{ jeżeli } t \text{ °C jest niższa niż 20 °C} \\ + \text{ jeżeli } t \text{ °C jest wyższa niż 20 °C} \end{cases}$$

		Wina o zawartości alkoholu 13 % obj.							Wina o zawartości alkoholu 15 % obj							Wina o zawartości alkoholu 17 % obj.						
		Gęstość							Gęstość							Gęstość						
		1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120
Temperatura (°C)	10°	2,24	2,58	2,93	3,27	3,59	3,89	4,18	2,51	2,85	3,20	3,54	3,85	4,02	4,46	2,81	3,15	3,50	3,84	4,15	4,45	4,74
	11°	2,06	2,37	2,69	2,97	3,26	3,53	3,78	2,31	2,61	2,93	3,21	3,51	3,64	4,02	2,57	2,89	3,20	3,49	3,77	4,03	4,28
	12°	1,87	2,14	2,42	2,67	2,94	3,17	3,40	2,09	2,36	2,64	2,90	3,16	3,27	3,61	2,32	2,60	2,87	3,13	3,39	3,63	3,84
	13°	1,69	1,93	2,14	2,37	2,59	2,80	3,00	1,88	2,12	2,34	2,56	2,78	2,88	3,19	2,09	2,33	2,55	2,77	2,98	3,19	3,39
	14°	1,49	1,70	1,90	2,09	2,27	2,44	2,61	1,67	1,86	2,06	2,25	2,45	2,51	2,77	1,83	2,03	2,23	2,42	2,61	2,77	2,94
	15°	1,25	1,42	1,59	1,75	1,90	2,05	2,19	1,39	1,56	1,72	1,88	2,03	2,11	2,32	1,54	1,71	1,87	2,03	2,18	2,32	2,47
	16°	1,03	1,17	1,30	1,43	1,55	1,67	1,78	1,06	1,27	1,40	1,53	1,65	1,77	1,88	1,25	1,39	1,52	1,65	1,77	1,89	2,00
	17°	0,80	0,90	1,00	1,09	1,17	1,27	1,36	0,87	0,98	1,08	1,17	1,26	1,35	1,44	0,96	1,06	1,16	1,26	1,35	1,44	1,52
	18°	0,54	0,61	0,68	0,75	0,81	0,86	0,92	0,60	0,66	0,73	0,80	0,85	0,91	0,97	0,66	0,72	0,79	0,86	0,92	0,97	1,03
	19°	0,29	0,33	0,36	0,39	0,42	0,45	0,48	0,32	0,36	0,39	0,42	0,45	0,48	0,51	0,35	0,38	0,41	0,45	0,48	0,51	0,53
	20°																					
	21°	0,29	0,32	0,35	0,39	0,42	0,45	0,47	0,32	0,35	0,38	0,42	0,45	0,48	0,50	0,34	0,38	0,41	0,44	0,47	0,50	0,53
	22°	0,57	0,64	0,70	0,76	0,82	0,88	0,93	0,63	0,69	0,75	0,81	0,87	0,93	0,98	0,68	0,75	0,81	0,87	0,93	0,99	1,04
	23°	0,89	0,98	1,08	1,17	1,26	1,34	1,43	0,97	1,06	1,16	1,25	1,34	1,42	1,51	1,06	1,15	1,25	1,34	1,42	1,51	1,59
	24°	1,22	1,34	1,44	1,56	1,68	1,79	1,90	1,32	1,44	1,54	1,66	1,78	1,89	2,00	1,43	1,56	1,65	1,77	1,89	2,00	2,11
	25°	1,61	1,68	1,83	1,98	2,12	2,26	2,40	1,66	1,81	1,96	2,11	2,25	2,39	2,52	1,80	1,94	2,09	2,24	2,39	2,52	2,66
	26°	1,87	2,05	2,22	2,40	2,56	2,71	2,87	2,02	2,20	2,37	2,54	2,70	2,85	3,01	2,18	2,36	2,53	2,71	2,86	3,02	3,17
	27°	2,21	2,42	2,60	2,80	3,00	3,18	3,35	2,39	2,59	2,78	2,98	3,17	3,35	3,52	2,58	2,78	2,97	3,17	3,36	3,54	3,71
	28°	2,56	2,80	3,02	3,25	3,47	3,67	3,89	2,75	2,89	3,22	3,44	3,66	3,86	4,07	2,97	3,21	3,44	3,66	3,88	4,09	4,30
	29°	2,93	3,19	3,43	3,66	3,91	4,14	4,37	3,16	3,41	3,65	3,89	4,13	4,36	4,59	3,40	3,66	3,89	4,13	4,38	4,61	4,82
	30°	3,31	3,57	3,86	4,15	4,41	4,66	4,92	3,55	3,81	4,10	4,38	4,66	4,90	5,16	3,82	4,08	4,37	4,65	4,93	5,17	5,42

		Wina o zawartości alkoholu 19 % objętościowych							Wina o zawartości alkoholu 21 % objętościowych						
		Gęstość							Gęstość						
		1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120
Temperatura (°C)	10°	3,14	3,48	3,83	4,17	4,48	4,78	5,07	3,50	3,84	4,19	4,52	4,83	5,12	5,41
	11°	2,87	3,18	3,49	3,78	4,06	4,32	4,57	3,18	3,49	3,80	4,09	4,34	4,63	4,88
	12°	2,58	2,86	3,13	3,39	3,65	3,88	4,10	2,86	3,13	3,41	3,67	3,92	4,15	4,37
	13°	2,31	2,55	2,77	2,99	3,20	3,41	3,61	2,56	2,79	3,01	3,23	3,44	3,65	3,85
	14°	2,03	2,23	2,43	2,61	2,80	2,96	3,13	2,23	2,43	2,63	2,81	3,00	3,16	3,33
	15°	1,69	1,86	2,02	2,18	2,33	2,48	2,62	1,86	2,03	2,19	2,35	2,50	2,65	2,80
	16°	1,38	1,52	1,65	1,78	1,90	2,02	2,13	1,51	1,65	1,78	1,91	2,03	2,15	2,26
	17°	1,06	1,16	1,26	1,35	1,44	1,53	1,62	1,15	1,25	1,35	1,45	1,54	1,63	1,71
	18°	0,73	0,79	0,85	0,92	0,98	1,03	1,09	0,79	0,85	0,92	0,98	1,05	1,10	1,15
	19°	0,38	0,41	0,44	0,48	0,51	0,52	0,56	0,41	0,44	0,47	0,51	0,54	0,57	0,59
	20°														
	21°	0,37	0,41	0,44	0,47	0,50	0,53	0,56	0,41	0,44	0,47	0,51	0,54	0,57	0,59
	22°	0,75	0,81	0,87	0,93	0,99	1,04	1,10	0,81	0,88	0,94	1,00	1,06	1,10	1,17
	23°	1,15	1,30	1,34	1,43	1,51	1,60	1,68	1,25	1,34	1,44	1,63	1,61	1,70	1,78
	24°	1,55	1,67	1,77	1,89	2,00	2,11	2,23	1,68	1,80	1,90	2,02	2,13	2,25	2,36
	25°	1,95	2,09	2,24	2,39	2,53	2,67	2,71	2,11	2,25	2,40	2,55	2,69	2,83	2,97
	26°	2,36	2,54	2,71	2,89	3,04	3,20	3,35	2,55	2,73	2,90	3,07	3,22	3,38	3,54
	27°	2,79	2,99	3,18	3,38	3,57	3,75	3,92	3,01	3,20	3,40	3,59	3,78	3,96	4,13
	28°	3,20	3,44	3,66	3,89	4,11	4,32	4,53	3,46	3,69	3,93	4,15	4,36	4,58	4,77
	29°	3,66	3,92	4,15	4,40	4,64	4,87	5,08	3,95	4,20	4,43	4,68	4,92	5,15	5,36
	30°	4,11	4,37	4,66	4,94	5,22	5,46	5,71	4,42	4,68	4,97	5,25	5,53	5,77	6,02

2. REFRAKTOMETRYCZNE OZNACZANIE ZAWARTOŚCI CUKRÓW W MOSZCZACH GRONOWYCH, ZAGĘSZCZONYCH MOSZCZACH GRONOWYCH I REKTYFIKOWANYCH ZAGĘSZCZONYCH MOSZCZACH GRONOWYCH

1. ZASADA METODY

Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C, wyrażony jako wartość bezwzględna lub jako ułamek procentowy masy sacharozy wyrażony w procentach przedstawiony jest w odpowiednich tabelach w celu obliczenia zawartości cukru w gramach na litr i w gramach na kilogram moszczu gronowego, zagęszczonego moszczu gronowego i rektyfikowanego zagęszczonego moszczu gronowego.

2. URZĄDZENIE

2.1. **Refraktometr Abbego**

Refraktometr powinien być wyposażony w skalę podającą:

— procentowy ułamek masy sacharozy z dokładnością do 0,1 %,

— lub współczynniki załamania światła do czwartego miejsca dziesiętnego.

Refraktometr musi być wyposażony w termometr ze skalą o zakresie co najmniej od + 15 °C do + 25 °C oraz w urządzenie do cyrkulacji wody umożliwiające dokonywanie pomiarów w temperaturze 20 ± 5 °C.

Do urządzenia powinna być na stałe przymocowana instrukcja obsługi, ze szczególnym uwzględnieniem kalibracji i źródła światła.

3. PRZYGOTOWANIE PRÓBKI

3.1. **Moszcz i moszcz zagęszczony**

Jeżeli jest to konieczne, przesączyć moszcz przez suchą gazę złożoną czterokrotnie, odrzucając pierwsze krople przesączu i do oznaczenia wykorzystać przesączony moszcz.

3.2. **Rektyfikowany moszcz zagęszczony**

W zależności od stężenia użyć bezpośrednio rektyfikowany moszcz zagęszczony lub roztwór otrzymany przez uzupełnienie 200 g moszczu do 500 g za pomocą wody, dokładnie odważając podane ilości.

4. PROCEDURA

Sprowadzić temperaturę próbki do około 20 °C. Umieścić niewielką ilość próbki na dolnym pryzmacie refraktometru, zwracając uwagę (ponieważ pryzmaty są silnie przyciskane do siebie), aby próbka równomiernie pokrywała szklaną powierzchnię. Wykonać pomiar zgodnie z instrukcją obsługi urządzenia.

Odczytać procentowy ułamek masy sacharozy z dokładnością do 0,1 % lub współczynnik załamania światła z dokładnością do czwartego miejsca dziesiętnego.

Przeprowadzić co najmniej dwa określenia tej samej przygotowanej próbki.

Zapisać temperaturę t °C.

5. OBLICZANIE

5.1. **Poprawka na temperaturę**

5.1.1. Przyrządy wyskalowane w procentowych ułamkach masy sacharozy: wykorzystać tabelę I dla określenia poprawki na temperaturę.

5.1.2. Przyrządy wyskalowane we współczynniku załamania światła: w tabeli II znaleźć zmierzoną wartość współczynnika w *t*° C w celu określenia (w kolumnie 1) odpowiedniej wartości procentowego ułamka masy sacharozy w temperaturze *t* °C. Wartość ta jest poprawiana w związku z temperaturą i wyrażana jako stężenie w temperaturze 20 °C za pomocą tabeli I.

5.2. **Zawartość cukru w moszczu i moszczu zagęszczonym**

Odnaleźć procentowy ułamek masy sacharozy w temperaturze 20 °C w tabeli II i odczytać w tym samym wierszu zawartość sacharozy w gramach na litr i gramach na kilogram. Zawartość cukrów jest wyrażana w przeliczeniu na cukier inwertowany z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

5.3. **Zawartość cukru w rektyfikowanym moszczu zagęszczonym**

Odnaleźć procentowy ułamek masy sacharozy w temperaturze 20 °C w tabeli III i odczytać w tym samym wierszu zawartość sacharozy w gramach na litr i gramach na kilogram. Zawartość cukrów jest wyrażana w przeliczeniu na cukier inwertowany z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

Jeżeli pomiar był wykonany w rozcieńczonym rektyfikowanym moszczu zagęszczonym, wynik należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.

5.4. **Współczynnik załamania światła moszczu, moszczu zagęszczonego i rektyfikowanego moszczu zagęszczonego**

Odnaleźć procentowy ułamek masy sacharozy w temperaturze 20 °C w tabeli II i odczytać w tym samym wierszu współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C. Współczynnik ten podany jest z dokładnością do czwartego miejsca dziesiętnego.

TABELA I

Poprawka, jaką należy wprowadzić, jeżeli procentowy ułamek masy sacharozy wyrażony w procentach był oznaczany w temperaturze różnej od 20 °C

Temperatura °C	Sacharoza w gramach na 100 gramów produktu									
	5	10	15	20	30	40	50	60	70	75
	Odjąć									
15	0,25	0,27	0,31	0,31	0,34	0,35	0,36	0,37	0,36	0,36
16	0,21	0,23	0,27	0,27	0,29	0,31	0,31	0,32	0,31	0,23
17	0,16	0,18	0,20	0,20	0,22	0,23	0,23	0,23	0,20	0,17
18	0,11	0,12	0,14	0,15	0,16	0,16	0,15	0,12	0,12	0,09
19	0,06	0,07	0,08	0,08	0,08	0,09	0,09	0,08	0,07	0,05
	Dodać									
21	0,06	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
22	0,12	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14
23	0,18	0,20	0,20	0,21	0,21	0,21	0,21	0,22	0,22	0,22
24	0,24	0,26	0,26	0,27	0,28	0,28	0,28	0,28	0,29	0,29
25	0,30	0,32	0,32	0,34	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,37

Temperatura nie może odbiegać od 20 °C o więcej niż ± 5 °C.

TABELA II

Tabela przedstawiająca zawartość cukru (1) w moszczu i moszczu zagęszczonym w gramach na litr i gramach na kilogram, oznaczoną za pomocą refraktometru wyskalowanego w procentowych ułamkach masy sacharozy w temperaturze 20 °C lub przy wartości współczynnika załamania światła w temperaturze 20 °C. Przedstawiona jest również gęstość w temperaturze 20 °C

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukry w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
10.0	1.34 781	1.0 390	82.3	79.2	4,89
10.1	1.34 798	1.0 394	83.4	80.2	4,95
10.2	1.34 814	1.0 398	84.5	81.3	5,02
10.3	1.34 830	1.0 402	85.6	82.2	5,09
10.4	1.34 845	1.0 406	86.6	83.2	5,14
10.5	1.34 860	1.0 410	87.6	84.1	5,20
10.6	1.34 875	1.0 414	88.6	85.1	5,26
10.7	1.34 890	1.0 419	89.7	86.1	5,33
10.8	1.34 906	1.0 423	90.8	87.1	5,39
10.9	1.34 921	1.0 427	91.8	88.1	5,45
11.0	1.34 936	1.0 431	92.9	89.1	5,52
11.1	1.34 952	1.0 435	94.0	90.0	5,58
11.2	1.34 968	1.0 439	95.0	91.0	5,64
11.3	1.34 984	1.0 443	96.1	92.0	5,71
11.4	1.34 999	1.0 447	97.1	92.9	5,77
11.5	1.35 015	1.0 452	98.2	94.0	5,83
11.6	1.35 031	1.0 456	99.3	95.0	5,90
11.7	1.35 046	1.0 460	100.3	95.9	5,96
11.8	1.35 062	1.0 464	101.4	96.9	6,02
11.9	1.35 077	1.0 468	102.5	97.9	6,09
12.0	1.35 092	1.0 473	103.6	98.9	6,15
12.1	1.35 108	1.0 477	104.7	99.9	6,22
12.2	1.35 124	1.0 481	105.7	100.8	6,28
12.3	1.35 140	1.0 485	106.8	101.9	6,35
12.4	1.35 156	1.0 489	107.9	102.9	6,41
12.5	1.35 172	1.0 494	109.0	103.8	6,47
12.6	1.35 187	1.0 498	110.0	104.8	6,53
12.7	1.35 203	1.0 502	111.1	105.8	6,60
12.8	1.35 219	1.0 506	112.2	106.8	6,66
12.9	1.35 234	1.0 510	113.2	107.8	6,73
13.0	1.35 249	1.0 514	114.3	108.7	6,79
13.1	1.35 266	1.0 519	115.4	109.7	6,86
13.2	1.35 282	1.0 523	116.5	110.7	6,92
13.3	1.35 298	1.0 527	117.6	111.7	6,99
13.4	1.35 313	1.0 531	118.6	112.6	7,05
13.5	1.35 329	1.0 536	119.7	113.6	7,11
13.6	1.35 345	1.0 540	120.8	114.6	7,18
13.7	1.35 360	1.0 544	121.8	115.6	7,24
13.8	1.35 376	1.0 548	122.9	116.5	7,30
13.9	1.35 391	1.0 552	124.0	117.5	7,37
14.0	1.35 407	1.0 557	125.1	118.5	7,43
14.1	1.35 424	1.0 561	126.2	119.5	7,50
14.2	1.35 440	1.0 565	127.3	120.5	7,56
14.3	1.35 456	1.0 569	128.4	121.5	7,63
14.4	1.35 472	1.0 574	129.5	122.5	7,69
14.5	1.35 488	1.0 578	130.6	123.4	7,76
14.6	1.35 503	1.0 582	131.6	124.4	7,82
14.7	1.35 519	1.0 586	132.7	125.4	7,88
14.8	1.35 535	1.0 591	133.8	126.3	7,95
14.9	1.35 551	1.0 595	134.9	127.3	8,01

(1) Zawartość cukrów w przeliczeniu na cukier inwertowany.

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukry w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
15.0	1.35 567	1.0 599	136.0	128.3	8,08
15.1	1.35 583	1.0 603	137.1	129.3	8,15
15.2	1.35 599	1.0 608	138.2	130.3	8,21
15.3	1.35 615	1.0 612	139.3	131.3	8,27
15.4	1.35 631	1.0 616	140.4	132.3	8,34
15.5	1.35 648	1.0 621	141.5	133.2	8,41
15.6	1.35 664	1.0 625	142.6	134.2	8,47
15.7	1.35 680	1.0 629	143.7	135.2	8,54
15.8	1.35 696	1.0 633	144.8	136.2	8,60
15.9	1.35 712	1.0 638	145.9	137.2	8,67
16.0	1.35 728	1.0 642	147.0	138.1	8,73
16.1	1.35 744	1.0 646	148.1	139.1	8,80
16.2	1.35 760	1.0 651	149.2	140.1	8,86
16.3	1.35 776	1.0 655	150.3	141.1	8,93
16.4	1.35 793	1.0 660	151.5	142.1	9,00
16.5	1.35 809	1.0 664	152.6	143.1	9,06
16.6	1.35 825	1.0 668	153.7	144.1	9,13
16.7	1.35 842	1.0 672	154.8	145.0	9,20
16.8	1.35 858	1.0 677	155.9	146.0	9,26
16.9	1.35 874	1.0 681	157.0	147.0	9,33
17.0	1.35 890	1.0 685	158.1	148.0	9,39
17.1	1.35 907	1.0 690	159.3	149.0	9,46
17.2	1.35 923	1.0 694	160.4	150.0	9,53
17.3	1.35 939	1.0 699	161.5	151.0	9,59
17.4	1.35 955	1.0 703	162.6	151.9	9,66
17.5	1.35 972	1.0 707	163.7	152.9	9,73
17.6	1.35 988	1.0 711	164.8	153.9	9,79
17.7	1.36 004	1.0 716	165.9	154.8	9,86
17.8	1.36 020	1.0 720	167.0	155.8	9,92
17.9	1.36 036	1.0 724	168.1	156.8	9,99
18.0	1.36 053	1.0 729	169.3	157.8	10,06
18.1	1.36 070	1.0 733	170.4	158.8	10,12
18.2	1.36 086	1.0 738	171.5	159.7	10,19
18.3	1.36 102	1.0 742	172.6	160.7	10,25
18.4	1.36 119	1.0 746	173.7	161.6	10,32
18.5	1.36 136	1.0 751	174.9	162.6	10,39
18.6	1.36 152	1.0 755	176.0	163.6	10,46
18.7	1.36 169	1.0 760	177.2	164.6	10,53
18.8	1.36 185	1.0 764	178.3	165.6	10,59
18.9	1.36 201	1.0 768	179.4	166.6	10,66
19.0	1.36 217	1.0 773	180.5	167.6	10,72
19.1	1.36 234	1.0 777	181.7	168.6	10,80
19.2	1.36 251	1.0 782	182.8	169.5	10,86
19.3	1.36 267	1.0 786	183.9	170.5	10,93
19.4	1.36 284	1.0 791	185.1	171.5	11,00
19.5	1.36 301	1.0 795	186.3	172.5	11,07
19.6	1.36 318	1.0 800	187.4	173.5	11,13
19.7	1.36 335	1.0 804	188.6	174.5	11,21
19.8	1.36 351	1.0 809	189.7	175.5	11,27
19.9	1.36 367	1.0 813	190.8	176.5	11,34

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukry w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
20.0	1.36 383	1.0 817	191.9	177.4	11,40
20.1	1.36 400	1.0 822	193.1	178.4	11,47
20.2	1.36 417	1.0 826	194.2	179.4	11,54
20.3	1.36 434	1.0 831	195.3	180.4	11,60
20.4	1.36 451	1.0 835	196.5	181.4	11,67
20.5	1.36 468	1.0 840	197.7	182.3	11,75
20.6	1.36 484	1.0 844	198.8	183.3	11,81
20.7	1.36 501	1.0 849	200.0	184.3	11,88
20.8	1.36 518	1.0 853	201.1	185.3	11,96
20.9	1.36 534	1.0 857	202.2	186.2	12,01
21.0	1.36 550	1.0 862	203.3	187.2	12,08
21.1	1.36 568	1.0 866	204.5	188.2	12,15
21.2	1.36 585	1.0 871	205.7	189.2	12,22
21.3	1.36 601	1.0 875	206.8	190.2	12,29
21.4	1.36 618	1.0 880	207.9	191.1	12,35
21.5	1.36 635	1,0884	209.1	192.1	12,42
21.6	1.36 652	1.0 889	210.3	193.1	12,49
21.7	1.36 669	1.0 893	211.4	194.1	12,56
21.8	1.36 685	1.0 897	212.5	195.0	12,63
21.9	1.36 702	1.0 902	213.6	196.0	12,69
22.0	1.36 719	1.0 906	214.8	196.9	12,76
22.1	1.36 736	1.0 911	216.0	198.0	12,83
22.2	1.36 753	1.0 916	217.2	199.0	12,90
22.3	1.36 770	1.0 920	218.3	199.9	12,97
22.4	1.36 787	1.0 925	219.5	200.9	13,04
22.5	1.36 804	1.0 929	220.6	201.8	13,11
22.6	1.36 820	1.0 933	221.7	202.8	13,17
22.7	1.36 837	1.0 938	222.9	203.8	13,24
22.8	1.36 854	1.0 943	224.1	204.8	13,31
22.9	1.36 871	1.0 947	225.2	205.8	13,38
23.0	1.36 888	1.0 952	226.4	206.7	13,45
23.1	1.36 905	1.0 956	227.6	207.7	13,52
23.2	1.36 922	1.0 961	228.7	208.7	13,59
23.3	1.36 939	1.0 965	229.9	209.7	13,66
23.4	1.36 956	1.0 970	231.1	210.7	13,73
23.5	1.36 973	1.0 975	232.3	211.6	13,80
23.6	1.36 991	1.0 979	233.4	212.6	13,87
23.7	1.37 008	1.0 984	234.6	213.6	13,94
23.8	1.37 025	1.0 988	235.8	214.6	14,01
23.9	1.37 042	1.0 993	237.0	215.6	14,08
24.0	1.37 059	1.0 998	238.2	216.6	14,15
24.1	1.37 076	1.1 007	239.3	217.4	14,22
24.2	1.37 093	1.1 011	240.3	218.2	14,28
24.3	1.37 110	1.1 016	241.6	219.4	14,35
24.4	1.37 128	1.1 022	243.0	220.5	14,44
24.5	1.37 145	1.1 026	244.0	221.3	14,50
24.6	1.37 162	1.1 030	245.0	222.1	14,56
24.7	1.37 180	1.1 035	246.4	223.2	14,64
24.8	1.37 197	1.1 041	247.7	224.4	14,72
24.9	1.37 214	1.1 045	248.7	225.2	14,78

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukry w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
25.0	1.37 232	1.1 049	249.7	226.0	14,84
25.1	1.37 249	1.1 053	250.7	226.8	14,90
25.2	1.37 266	1.1 057	251.7	227.6	14,96
25.3	1.37 283	1.1 062	253.0	228.7	15,03
25.4	1.37 300	1.1 068	254.4	229.9	15,11
25.5	1.37 317	1.1 072	255.4	230.7	15,17
25.6	1.37 335	1.1 076	256.4	231.5	15,23
25.7	1.37 353	1.1 081	257.8	232.6	15,32
25.8	1.37 370	1.1 087	259.1	233.7	15,39
25.9	1.37 387	1.1 091	260.1	234.5	15,45
26.0	1.37 405	1.1 095	261.1	235.3	15,51
26.1	1.37 423	1.1 100	262.5	236.4	15,60
26.2	1.37 440	1.1 106	263.8	237.5	15,67
26.3	1.37 457	1.1 110	264.8	238.3	15,73
26.4	1.37 475	1.1 114	265.8	239.2	15,79
26.5	1.37 493	1.1 119	267.2	240.3	15,88
26.6	1.37 510	1.1 125	268.5	241.4	15,95
26.7	1.37 528	1.1 129	269.5	242.2	16,01
26.8	1.37 545	1.1 133	270.5	243.0	16,07
26.9	1.37 562	1.1 138	271.8	244.1	16,15
27.0	1.37 580	1.1 144	273.2	245.2	16,23
27.1	1.37 598	1.1 148	274.2	246.0	16,29
27.2	1.37 615	1.1 152	275.2	246.8	16,35
27.3	1.37 632	1.1 157	276.5	247.9	16,43
27.4	1.37 650	1.1 163	277.9	249.0	16,51
27.5	1.37 667	1.1 167	278.9	249.8	16,57
27.6	1.37 685	1.1 171	279.9	250.6	16,63
27.7	1.37 703	1.1 176	281.3	251.6	16,71
27.8	1.37 721	1.1 182	282.6	252.7	16,79
27.9	1.37 739	1.1 186	283.6	253.5	16,85
28.0	1.37 757	1.1 190	284.6	254.3	16,91
28.1	1.37 775	1.1 195	286.0	255.4	16,99
28.2	1.37 793	1.1 201	287.3	256.5	17,07
28.3	1.37 810	1.1 205	288.3	257.3	17,13
28.4	1.37 828	1.1 209	289.3	258.1	17,19
28.5	1.37 846	1.1 214	290.7	259.2	17,27
28.6	1.37 863	1.1 220	292.0	260.3	17,35
28.7	1.37 881	1.1 224	293.0	261.0	17,41
28.8	1.37 899	1.1 228	294.0	261.8	17,47
28.9	1.37 917	1.1 233	295.3	262.9	17,55
29.0	1.37 935	1.1 239	296.7	264.0	17,63
29.1	1.37 953	1.1 244	298.1	265.1	17,71
29.2	1.37 971	1.1 250	299.4	266.1	17,79
29.3	1.37 988	1.1 254	300.4	266.9	17,85
29.4	1.38 006	1.1 258	301.4	267.7	17,91
29.5	1.38 024	1.1 263	302.8	268.8	17,99
29.6	1.38 042	1.1 269	304.1	269.9	18,07
29.7	1.38 060	1.1 273	305.1	270.6	18,13
29.8	1.38 078	1.1 277	306.1	271.4	18,19
29.9	1.38 096	1.1 282	307.4	272.5	18,26

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukry w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
30.0	1.38 114	1.1 288	308.8	273.6	18,35
30.1	1.38 132	1.1 293	310.0	274.5	18,42
30.2	1.28 150	1.1 298	311.2	275.5	18,49
30.3	1.38 168	1.1 302	312.4	276.4	18,56
30.4	1.38 186	1.1 307	313.6	277.3	18,63
30.5	1.38 204	1.1 312	314.8	278.3	18,70
30.6	1.38 222	1.1 317	316.0	279.2	18,77
30.7	1.38 240	1.1 322	317.2	280.2	18,85
30.8	1.38 258	1.1 327	318.4	281.1	18,92
30.9	1.38 276	1.1 332	319.6	282.0	18,99
31.0	1.38 294	1.1 336	320.8	283.0	19,06
31.1	1.38 312	1.1 341	322.0	283.9	19,13
31.2	1.38 330	1.1 346	323.2	284.9	19,20
31.3	1.38 349	1.1 351	324.4	285.8	19,27
31.4	1.38 367	1.1 356	325.6	286.8	19,35
31.5	1.38 385	1.1 361	326.8	287.7	19,42
31.6	1.38 403	1.1 366	328.1	288.6	19,49
31.7	1.38 421	1.1 371	329.3	289.6	19,56
31.8	1.38 440	1.1 376	330.5	290.5	19,64
31.9	1.38 458	1.1 380	331.7	291.5	19,71
32.0	1.38 476	1.1 385	332.9	292.4	19,78
32.1	1.38 494	1.1 391	334.2	293.4	19,86
32.2	1.38 513	1.1 396	335.5	294.4	19,93
32.3	1.38 531	1.1 401	336.7	295.4	20,00
32.4	1.38 550	1.1 406	338.0	296.4	20,08
32.5	1.38 568	1.1 411	339.3	297.3	20,16
32.6	1.38 586	1.1 416	340.6	298.3	20,24
32.7	1.38 605	1.1 422	341.9	299.3	20,31
32.8	1.38 623	1.1 427	343.1	300.3	20,38
32.9	1.38 642	1.1 432	344.4	301.3	20,46
33.0	1.38 660	1.1 437	345.7	302.3	20,54
33.1	1.38 678	1.1 442	346.9	303.2	20,61
33.2	1.38 697	1.1 447	348.1	304.1	20,68
33.3	1.38 715	1.1 452	349.3	305.0	20,75
33.4	1.38 734	1.1 457	350.5	305.9	20,82
33.5	1.38 753	1.1 461	351.7	306.9	20,90
33.6	1.38 771	1.1 466	352.9	307.8	20,97
33.7	1.38 790	1.1 471	354.1	308.7	21,04
33.8	1.38 808	1.1 476	355.3	309.6	21,11
33.9	1.38 827	1.1 481	356.5	310.5	21,18
34.0	1.38 845	1.1 486	357.7	311.4	21,25
34.1	1.38 864	1.1 491	359.0	312.4	21,33
34.2	1.38 882	1.1 496	360.3	313.4	21,41
34.3	1.38 901	1.1 501	361.5	314.3	21,48
34.4	1.38 919	1.1 506	362.8	315.3	21,55
34.5	1.38 938	1.1 512	364.1	316.3	21,63
34.6	1.38 957	1.1 517	365.4	317.3	21,71
34.7	1.38 975	1.1 522	366.7	318.2	21,79
34.8	1.38 994	1.1 527	367.9	319.2	21,86
34.9	1.39 012	1.1 532	369.2	320.2	21,94

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukry w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
35.0	1.39 031	1.1 537	370.5	321.1	22,01
35.1	1.39 050	1.1 543	371.8	322.1	22,09
35.2	1.39 069	1.1 548	373.0	323.0	22,16
35.3	1.39 087	1.1 553	374.3	324.0	22,24
35.4	1.39 106	1.1 558	375.6	325.0	22,32
35.5	1.39 125	1.1 563	376.9	325.9	22,39
35.6	1.39 144	1.1 568	378.1	326.9	22,45
35.7	1.39 163	1.1 573	379.4	327.8	22,54
35.8	1.39 181	1.1 579	380.7	328.8	22,62
35.9	1.39 200	1.1 584	381.9	329.7	22,69
36.0	1.39 219	1.1 589	383.2	330.7	22,77
36.1	1.39 238	1.1 594	384.5	331.6	22,85
36.2	1.39 257	1.1 599	385.8	332.6	22,92
36.3	1.39 276	1.1 604	387.0	333.5	22,99
36.4	1.39 295	1.1 610	388.3	334.5	23,07
36.5	1.39 314	1.1 615	389.6	335.4	23,15
36.6	1.39 332	1.1 620	390.9	336.4	23,22
36.7	1.39 351	1.1 625	392.2	337.3	23,30
36.8	1.39 370	1.1 630	393.4	338.3	23,37
36.9	1.39 389	1.1 635	394.7	339.2	23,45
37.0	1.39 408	1.1 641	396.0	340.2	23,53
37.1	1.39 427	1.1 646	397.3	341.1	23,60
37.2	1.39 446	1.1 651	398.6	342.1	23,68
37.3	1.39 465	1.1 656	399.8	343.0	23,75
37.4	1.39 484	1.1 661	401.1	344.0	23,83
37.5	1.39 504	1.1 666	402.4	344.9	23,91
37.6	1.39 523	1.1 672	403.7	345.9	23,99
37.7	1.39 542	1.1 677	405.0	346.8	24,06
37.8	1.39 561	1.1 682	406.2	347.7	24,13
37.9	1.39 580	1.1 687	407.5	348.7	24,21
38.0	1.39 599	1.1 692	408.8	349.6	24,29
38.1	1.39 618	1.1 698	410.1	350.6	24,37
38.2	1.39 637	1.1 703	411.3	351.5	24,44
38.3	1.39 657	1.1 708	412.6	352.4	24,51
38.4	1.39 676	1.1 713	413.9	353.4	24,59
38.5	1.39 695	1.1 718	415.2	354.3	24,67
38.6	1.39 714	1.1 723	416.4	355.2	24,74
38.7	1.39 733	1.1 728	417.7	356.1	24,82
38.8	1.39 753	1.1 733	419.0	357.1	24,90
38.9	1.39 772	1.1 739	420.2	358.0	24,97
39.0	1.39 791	1.1 744	421.5	358.9	25,04
39.1	1.39 810	1.1 749	422.8	359.8	25,12
39.2	1.39 830	1.1 754	424.1	360.8	25,20
39.3	1.39 849	1.1 759	425.3	361.7	25,27
39.4	1.39 869	1.1 764	426.6	362.6	25,35
39.5	1.39 888	1.1 770	427.9	363.6	25,42
39.6	1.39 907	1.1 775	429.2	364.5	25,50
39.7	1.39 927	1.1 780	430.5	365.4	25,58
39.8	1.39 946	1.1 785	431.7	366.3	25,65
39.9	1.39 966	1.1 790	433.0	367.3	25,73

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukry w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
40.0	1.39 985	1.1 796	434.3	368.2	25,80
40.1	1.40 004	1.1 801	435.6	369.2	25,88
40.2	1.40 024	1.1 806	437.0	370.1	25,96
40.3	1.40 043	1.1 812	438.3	371.1	26,04
40.4	1.40 063	1.1 817	439.7	372.1	26,12
40.5	1.40 083	1.1 823	441.0	373.0	26,20
40.6	1.40 102	1.1 828	442.3	374.0	26,28
40.7	1.40 122	1.1 833	443.7	374.9	26,36
40.8	1.40 141	1.1 839	445.0	375.9	26,44
40.9	1.40 161	1.1 844	446.4	376.9	26,52
41.0	1.40 180	1.1 850	447.7	377.8	26,60
41.1	1.40 200	1.1 855	449.0	378.7	26,68
41.2	1.40 219	1.1 860	450.2	379.6	26,75
41.3	1.40 239	1.1 865	451.5	380.5	26,83
41.4	1.40 259	1.1 870	452.8	381.4	26,90
41.5	1.40 279	1.1 875	454.1	382.3	26,98
41.6	1.40 298	1.1 881	455.3	383.2	27,05
41.7	1.40 318	1.1 886	456.6	384.2	27,13
41.8	1.40 338	1.1 891	457.9	385.1	27,21
41.9	1.40 357	1.1 896	459.1	386.0	27,28
42.0	1.40 377	1.1 901	460.4	386.9	27,35
42.1	1.40 397	1.1 907	461.7	387.8	27,43
42.2	1.40 417	1.1 912	463.1	388.8	27,52
42.3	1.40 436	1.1 917	464.4	389.7	27,59
42.4	1.40 456	1.1 923	465.8	390.7	27,68
42.5	1.40 476	1.1 928	467.2	391.6	27,76
42.6	1.40 496	1.1 934	468.5	392.6	27,84
42.7	1.40 516	1.1 939	469.9	393.5	27,92
42.8	1.40 535	1.1 945	471.2	394.5	28,00
42.9	1.40 555	1.1 950	472.6	395.4	28,08
43.0	1.40 575	1.1 956	473.9	396.4	28,16
43.1	1.40 595	1.1 961	475.2	397.3	28,23
43.2	1.40 615	1.1 967	476.6	398.3	28,32
43.3	1.40 635	1.1 972	477.9	399.2	28,40
43.4	1.40 655	1.1 977	479.3	400.1	28,48
43.5	1.40 675	1.1 983	480.6	401.1	28,56
43.6	1.40 695	1.1 988	481.9	402.0	28,63
43.7	1.40 715	1.1 994	483.3	402.9	28,72
43.8	1.40 735	1.1 999	484.6	403.9	28,79
43.9	1.40 755	1.2 005	486.0	404.8	28,88
44.0	1.40 775	1.2 010	487.3	405.7	28,95
44.1	1.40 795	1.2 015	488.6	406.7	29,03
44.2	1.40 815	1.2 021	490.0	407.6	29,11
44.3	1.40 836	1.2 026	491.3	408.5	29,19
44.4	1.40 856	1.2 032	492.7	409.5	29,27
44.5	1.40 876	1.2 037	494.0	410.4	29,35
44.6	1.40 896	1.2 042	495.3	411.3	29,43
44.7	1.40 916	1.2 048	496.7	412.3	29,51
44.8	1.40 937	1.2 053	498.0	413.2	29,59
44.9	1.40 957	1.2 059	499.4	414.1	29,67

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukry w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
45.0	1.40 977	1.2 064	500.7	415.0	29,75
45.1	1.40 997	1.2 070	502.1	416.0	29,83
45.2	1.41 018	1.2 076	503.5	417.0	29,92
45.3	1.41 038	1.2 081	504.9	417.9	30,00
45.4	1.41 058	1.2 087	506.3	418.9	30,08
45.5	1.41 079	1.2 093	507.8	419.9	30,17
45.6	1.41 099	1.2 098	509.2	420.9	30,25
45.7	1.41 119	1.2 104	510.6	421.8	30,34
45.8	1.41 139	1.2 110	512.0	422.8	30,42
45.9	1.41 160	1.2 115	513.4	423.7	30,50
46.0	1.41 180	1.2 121	514.8	424.7	30,59
46.1	1.41 200	1.2 127	516.1	425.6	30,66
46.2	1.41 221	1.2 132	517.5	426.5	30,75
46.3	1.41 241	1.2 137	518.8	427.5	30,82
46.4	1.41 262	1.2 143	520.2	428.4	30,91
46.5	1.41 282	1.2 148	521.5	429.3	30,99
46.6	1.41 302	1.2 154	522.8	430.2	31,06
46.7	1.41 323	1.2 159	524.2	431.1	31,15
46.8	1.41 343	1.2 165	525.5	432.0	31,22
46.9	1.41 364	1.2 170	526.9	432.9	31,31
47.0	1.41 384	1.2 175	528.2	433.8	31,38
47.1	1.41 405	1.2 181	529.6	434.8	31,47
47.2	1.41 425	1.2 187	531.0	435.7	31,55
47.3	1.41 446	1.2 192	532.4	436.7	31,63
47.4	1.41 466	1.2 198	533.8	437.6	31,72
47.5	1.41 487	1.2 204	535.3	438.6	31,81
47.6	1.41 508	1.2 210	536.7	439.5	31,89
47.7	1.41 528	1.2 215	538.1	440.5	31,97
47.8	1.41 549	1.2 221	539.5	441.4	32,05
47.9	1.41 569	1.2 227	540.9	442.4	32,14
48.0	1.41 590	1.2 232	542.3	443.3	32,22
48.1	1.41 611	1.2 238	543.6	444.2	32,30
48.2	1.41 632	1.2 243	545.0	445.1	32,38
48.3	1.41 652	1.2 249	546.3	446.0	32,46
48.4	1.41 673	1.2 254	547.7	446.9	32,59
48.5	1.41 694	1.2 260	549.1	447.8	32,63
48.6	1.41 715	1.2 265	550.4	448.7	32,70
48.7	1.41 736	1.2 271	551.8	449.7	32,79
48.8	1.41 756	1.2 276	553.1	450.6	32,86
48.9	1.41 777	1.2 282	554.5	451.4	32,95
49.0	1.41 798	1.2 287	555.8	452.3	33,02
49.1	1.41 819	1.2 293	557.2	453.3	33,11
49.2	1.41 840	1.2 298	558.6	454.2	33,19
49.3	1.41 861	1.2 304	560.0	455.1	33,27
49.4	1.41 882	1.2 310	561.4	456.1	33,36
49.5	1.41 903	1.2 315	562.8	457.0	33,44
49.6	1.41 924	1.2 321	564.2	457.9	33,52
49.7	1.41 945	1.2 327	565.6	458.8	33,61
49.8	1.41 966	1.2 332	567.0	459.8	33,69
49.9	1.41 987	1.2 338	568.4	460.7	33,77

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukry w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
50.0	1.42 008	1.2 344	569.8	461.6	33,86
50.1	1.42 029	1.2 349	571.2	462.5	33,94
50.2	1.42 050	1.2 355	572.6	463.5	34,02
50.3	1.42 071	1.2 361	574.0	464.4	34,10
50.4	1.42 092	1.2 366	575.4	465.3	34,19
50.5	1,42114	1.2 372	576.9	466.2	34,28
50.6	1.42 135	1.2 378	578.3	467.2	34,36
50.7	1.42 156	1.2 384	579.7	468.1	34,44
50.8	1.42 177	1.2 389	581.1	469.0	34,53
50.9	1.42 198	1.2 395	582.5	469.9	34,61
51.0	1.42 219	1.2 401	583.9	470.9	34,69
51.1	1.42 240	1.2 407	585.4	471.8	34,78
51.2	1.42 261	1.2 413	586.9	472.8	34,87
51.3	1.42 283	1.2 419	588.3	473.8	34,95
51.4	1.42 304	1.2 425	589.8	474.7	35,04
51.5	1.42 325	1.2 431	591.3	475.7	35,13
51.6	1.42 346	1.2 437	592.8	476.6	35,22
51.7	1.47 367	1.2 443	594.3	477.6	35,31
51.8	1.42 389	1.2 449	595.7	478.6	35,39
51.9	1.42 410	1.2 455	597.2	479.5	35,48
52.0	1.42 431	1.2 461	598.7	480.5	35,57
52.1	1.42 452	1.2 466	600.1	481.4	35,65
52.2	1.42 474	1.2 472	601.5	482.3	35,74
52.3	1.42 495	1.2 478	602.9	483.2	35,82
52.4	1.42 517	1.2 483	604.3	484.1	35,91
52.5	1.42 538	1.2 489	605.8	485.0	35,99
52.6	1.42 559	1.2 495	607.2	485.9	36,08
52.7	1.42 581	1.2 500	608.6	486.8	36,16
52.8	1.42 602	1.2 506	610.0	487.7	36,24
52.9	1.42 624	1.2 512	611.4	488.6	36,33
53.0	1.42 645	1.2 518	612.8	489.6	36,41
53.1	1.42 666	1.2 524	614.3	490.5	36,50
53.2	1.42 686	1.2 530	615.8	491.4	36,59
53.3	1.42 707	1.2 536	617.2	492.4	36,67
53.4	1.42 727	1.2 542	618.7	493.3	36,76
53.5	1.42 748	1.2 548	620.2	494.3	36,85
53.6	1.42 769	1.2 554	621.7	495.2	36,94
53.7	1.42 789	1.2 560	623.2	496.2	37,03
53.8	1.42 810	1.2 566	624.6	497.1	37,11
53.9	1.42 830	1.2 571	626.1	498.0	37,20
54.0	1.42 851	1.2 577	627.6	499.0	37,29
54.1	1.42 874	1.2 583	629.0	499.9	37,37
54.2	1.42 897	1.2 589	630.4	500.8	37,45
54.3	1.42 919	1.2 595	631.8	501.7	37,54
54.4	1.42 942	1.2 600	633.2	502.6	37,62
54.5	1.42 965	1.2 606	634.7	503.5	37,71
54.6	1.42 988	1.2 612	636.1	504.3	37,79
54.7	1.43 011	1.2 617	637.5	505.2	37,88
54.8	1.43 033	1.2 623	638.9	506.1	37,96
54.9	1.43 056	1.2 629	640.3	507.0	38,04

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukry w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
55.0	1.43 079	1.2 635	641.7	507.9	38,11
55.1	1.43 101	1.2 640	643.2	508.8	38,22
55.2	1.43 123	1.2 646	644.6	509.7	38,30
55.3	1.43 145	1.2 652	646.1	510.7	38,39
55.4	1.43 167	1.2 658	647.6	511.6	38,48
55.5	1.43 189	1.2 664	649.1	512.5	38,57
55.6	1.43 210	1.2 670	650.5	513.4	38,65
55.7	1.43 232	1.2 676	652.0	514.3	38,74
55.8	1.43 254	1.2 682	653.5	515.3	38,83
55.9	1.43 276	1.2 688	654.9	516.2	38,91
56.0	1.43 298	1.2 694	656.4	517.1	39,00
56.1	1.43 320	1.2 700	657.9	518.0	39,09
56.2	1.43 342	1.2 706	659.4	518.9	39,18
56.3	1.43 364	1.2 712	660.8	519.9	39,26
56.4	1.43 386	1.2 718	662.3	520.8	39,35
56.5	1.43 409	1.2 724	663.8	521.7	39,44
56.6	1.43 431	1.2 730	665.3	522.6	39,53
56.7	1.43 453	1.2 736	666.8	523.5	39,62
56.8	1.43 475	1.2 742	668.2	524.4	39,70
56.9	1.43 497	1.2 748	669.7	525.4	39,79
57.0	1.43 519	1.2 754	671.2	526.3	39,88
57.1	1.43 541	1.2 760	672.7	527.2	39,97
57.2	1.43 563	1.2 766	674.3	528.2	40,06
57.3	1.43 586	1.2 773	675.8	529.1	40,15
57.4	1.43 608	1.2 779	677.4	530.1	40,25
57.5	1.43 630	1.2 785	678.9	531.0	40,34
57.6	1.43 652	1.2 791	680.4	532.0	40,43
57.7	1.43 674	1.2 797	682.0	532.9	40,52
57.8	1.43 697	1.2 804	683.5	533.8	40,61
57.9	1.43 719	1.2 810	685.1	534.8	40,70
58.0	1,43741	1.2 816	686.6	535.7	40,80
58.1	1.43 763	1.2 822	688.1	536.6	40,88
58.2	1.43 786	1.2 828	689.6	537.5	40,97
58.3	1.43 808	1.2 834	691.0	538.4	41,06
58.4	1.43 831	1.2 840	692.5	539.3	41,14
58.5	1.43 854	1.2 846	694.0	540.2	41,23
58.6	1.43 876	1.2 852	695.5	541.1	41,32
58.7	1.43 899	1.2 858	697.0	542.0	41,41
58.8	1.43 921	1.2 864	698.4	542.9	41,50
58.9	1.43 944	1.2 870	699.9	543.8	41,58
59.0	1.43 966	1.2 876	701.4	544.7	41,67
59.1	1.43 989	1.2 882	702.9	545.7	41,76
59.2	1.44 011	1.2 888	704.5	546.6	41,86
59.3	1.44 034	1.2 895	706.0	547.5	41,95
59.4	1.44 056	1.2 901	707.6	548.5	42,04
59.5	1.44 079	1,2907	709.1	549.4	42,13
59.6	1.44 102	1.2 913	710.6	550.3	42,22
59.7	1.44 124	1.2 920	712.2	551.2	42,32
59.8	1.44 147	1.2 926	713.7	552.2	42,41
59.9	1.44 169	1.2 932	715.3	553.1	42,50

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukry w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
60.0	1.44 192	1.2 938	716.8	554.0	42,59
60.1	1.44 215	1.2 944	718.3	554.9	42,68
60.2	1.44 237	1.2 950	719.8	555.8	42,77
60.3	1.44 260	1.2 956	721.2	556.7	42,85
60.4	1.44 283	1.2 962	722.7	557.6	42,94
60.5	1.44 306	1.2 968	724.2	558.4	43,03
60.6	1.44 328	1.2 974	725.7	559.3	43,12
60.7	1.44 351	1.2 980	727.2	560.2	43,21
60.8	1.44 374	1.2 986	728.6	561.1	43,29
60.9	1.44 396	1.2 992	730.1	562.0	43,38
61.0	1.44 419	1.2 998	731.6	562.8	43,47
61.1	1.44 442	1.3 004	733.1	563.8	43,56
61.2	1.44 465	1.3 011	734.7	564.7	43,65
61.3	1.44 488	1.3 017	736.2	565.6	43,74
61.4	1.44 511	1.3 023	737.8	566.5	43,84
61.5	1.44 533	1.3 030	739.4	567.4	43,93
61.6	1.44 556	1.3 036	740.9	568.4	44,02
61.7	1.44 579	1.3 042	742.5	569.3	44,12
61.8	1.44 602	1.3 048	744.0	570.2	44,21
61.9	1.44 625	1.3 055	745.6	571.1	44,30
62.0	1.44 648	1.3 061	747.1	572.0	44,39
62.1	1.44 671	1.3 067	748.6	572.9	44,48
62.2	1.44 694	1.3 073	750.2	573.8	44,57
62.3	1.44 717	1.3 080	751.7	574.7	44,66
62.4	1.44 740	1.3 086	753.3	575.6	44,76
62.5	1.44 764	1.3 092	754.8	576.5	44,85
62.6	1.44 787	1.3 098	756.3	577.4	44,94
62.7	1.44 810	1.3 104	757.9	578.3	45,03
62.8	1.44 833	1.3 111	759.4	579.2	45,12
62.9	1.44 856	1.3 117	761.0	580.1	45,21
63.0	1.44 879	1.3 123	762.5	581.0	45,31
63.1	1,44902	1.3 130	764.1	582.0	45,40
63.2	1.44 926	1.3 136	765.7	582.9	45,49
63.3	1.44 949	1.3 143	767.3	583.8	45,59
63.4	1.44 972	1.3 149	768.9	584.8	45,69
63.5	1.44 996	1.3 156	770.6	585.7	45,79
63.6	1.45 019	1.3 162	772.2	586.6	45,88
63.7	1.45 042	1.3 169	773.8	587.6	45,98
63.8	1.45 065	1.3 175	775.4	588.5	46,07
63.9	1.45 089	1.3 182	777.0	589.4	46,17
64.0	1.45 112	1.3 188	778.6	590.4	46,26
64.1	1.45 135	1.3 195	780.1	591.3	46,35
64.2	1.45 159	1.3 201	781.7	592.1	46,45
64.3	1.45 183	1.3 207	783.2	593.0	46,53
64.4	1.45 206	1.3 213	784.8	593.9	46,63
64.5	1.45 230	1.3 219	786.3	594.8	46,72
64.6	1.45 253	1.3 226	787.8	595.7	46,81
64.7	1.45 276	1.3 232	789.4	596.6	46,90
64.8	1.45 300	1.3 238	790.9	597.5	46,99
64.9	1.45 324	1.3 244	792.5	598.3	47,09

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukry w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
65.0	1.45 347	1.3 251	794.0	599.2	47,18
65.1	1.45 371	1.3 257	795.6	600.1	47,27
65.2	1.45 394	1.3 264	797.2	601.1	47,37
65.3	1.45 418	1.3 270	798.8	602.0	47,46
65.4	1.45 441	1.3 277	800.4	602.9	47,56
65.5	1.45 465	1.3 283	802.1	603.8	47,66
65.6	1.45 489	1.3 290	803.7	604.7	47,75
65.7	1.45 512	1.3 296	805.3	605.6	47,85
65.8	1.45 536	1.3 303	806.9	606.6	47,94
65.9	1.45 559	1.3 309	808.5	607.5	48,04
66.0	1.45 583	1.3 316	810.1	608.4	48,13
66.1	1.45 607	1.3 322	811.6	609.3	48,22
66.2	1.45 630	1.3 328	813.2	610.1	48,32
66.3	1.45 654	1.3 335	814.8	611.0	48,41
66.4	1.45 678	1.3 341	816.3	611.9	48,50
66.5	1.45 702	1.3 347	817.9	612.8	48,60
66.6	1.45 725	1.3 353	819.4	613.6	48,69
66.7	1.45 749	1.3 360	820.9	614.5	48,77
66.8	1.45 773	1.3 366	822.5	615.4	48,87
66.9	1.45 796	1.3 372	824.1	616.2	48,97
67.0	1.45 820	1.3 378	825.6	617.1	49,05
67.1	1.45 844	1,3385	827.2	618.0	49,15
67.2	1.45 868	1.3 391	828.8	618.9	49,24
67.3	1.45 892	1.3 398	830.4	619.8	49,34
67.4	1.45 916	1.3 404	832.0	620.7	49,43
67.5	1.45 940	1.3 411	833.7	621.6	49,53
67.6	1.45 964	1.3 418	835.3	622.5	49,63
67.7	1.45 988	1.3 424	836.9	623.4	49,73
67.8	1.46 012	1.3 431	838.5	624.3	49,82
67.9	1.46 036	1.3 437	840.1	625.2	49,92
68.0	1.46 060	1.3 444	841.7	626.1	50,01
68.1	1.46 084	1.3 450	843.4	627.0	50,11
68.2	1.46 108	1.3 457	845.1	628.0	50,21
68.3	1,46132	1.3 464	846.7	628.9	50,31
68.4	1.46 156	1.3 471	848.4	629.8	50,41
68.5	1.46 181	1.3 478	850.1	630.8	50,51
68.6	1.46 205	1.3 484	851.8	631.7	50,61
68.7	1.46 229	1.3 491	853.5	632.6	50,71
68.8	1.46 253	1.3 498	855.1	633.5	50,81
68.9	1.46 277	1.3 505	856.8	634.5	50,91
69.0	1.46 301	1.3 512	858.5	635.4	51,01
69.1	1.46 325	1.3 518	860.1	636.3	51,10
69.2	1.46 350	1.3 525	861.7	637.2	51,20
69.3	1.46 374	1.3 531	863.3	638.0	51,29
69.4	1.46 398	1.3 538	864.9	638.9	51,39
69.5	1.46 423	1.3 544	866.6	639.8	51,49
69.6	1.46 447	1.3 551	868.2	640.7	51,58
69.7	1.46 471	1.3 557	869.8	641.6	51,68
69.8	1.46 495	1.3 564	871.4	642.4	51,78
69.9	1.46 520	1.3 570	873.0	643.3	51,87

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukry w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
70.0	1.46 544	1.3 577	874.6	644.2	51,97
70.1	1.46 568	1.3 583	876.2	645.1	52,06
70.2	1.46 593	1.3 590	877.8	645.9	52,15
70.3	1.46 618	1.3 596	879.4	646.8	52,25
70.4	1.46 642	1.3 603	881.0	647.7	52,35
70.5	1.46 667	1.3 609	882.7	648.6	52,45
70.6	1.46 691	1.3 616	884.3	649.4	52,54
70.7	1.46 715	1.2 622	885.9	650.3	52,64
70.8	1.46 740	1.3 629	887.5	651.2	52,73
70.9	1.46 765	1.3 635	889.1	652.1	52,83
71.0	1.46 789	1.3 642	890.7	652.9	52,92
71.1	1.46 814	1.3 649	892.4	653.8	53,02
71.2	1.46 838	1.3 655	894.1	654.7	53,12
71.3	1.46 863	1.3 662	895.7	655.6	53,22
71.4	1.46 888	1.3 669	897.4	656.5	53,32
71.5	1.46 913	1.3 676	899.1	657.4	53,42
71.6	1.46 937	1.3 683	900.8	658.3	53,52
71.7	1.46 962	1.3 689	902.5	659.2	53,62
71.8	1.46 987	1.3 696	904.1	660.1	53,72
71.9	1.47 011	1.3 703	905.8	661.0	53,82
72.0	1.47 036	1.3 710	907.5	661.9	53,92
72.1	1.47 061	1.3 717	909.2	662.8	54,02
72.2	1.47 086	1.3 723	910.8	663.7	54,12
72.3	1.47 110	1.3 730	912.5	664.6	54,22
72.4	1.47 135	1.3 737	914.2	665.5	54,32
72.5	1.47 160	1.3 744	915.9	666.4	54,42
72.6	1.47 185	1.3 750	917.5	667.3	54,51
72.7	1.47 210	1.3 757	919.2	668.2	54,62
72.8	1.47 234	1.3 764	920.9	669.0	54,72
72.9	1.47 259	1.3 771	922.5	669.9	54,81
73.0	1.47 284	1.3 777	924.2	670.8	54,91
73.1	1.47 309	1.3 784	925.9	671.7	55,01
73.2	1.47 334	1.3 791	927.6	672.6	55,11
73.3	1.47 359	1.3 798	929.2	673.5	55,21
73.4	1.47 384	1.3 804	930.9	674.4	55,31
73.5	1.47 409	1.3 811	932.6	675.2	55,41
73.6	1,47434	1.3 818	934.3	676.1	55,51
73.7	1.47 459	1.3 825	936.0	677.0	55,61
73.8	1.47 484	1.3 832	937.6	677.9	55,71
73.9	1.47 509	1.3 838	939.3	678.8	55,81
74.0	1.47 534	1.3 845	941.0	679.7	55,91
74.1	1.47 559	1.3 852	942.7	680.5	56,01
74.2	1.47 584	1.3 859	944.4	681.4	56,11
74.3	1.47 609	1.3 866	946.0	682.3	56,21
74.4	1.47 634	1.3 872	947.7	683.2	56,31
74.5	1.47 660	1.3 879	949.4	684.0	56,41
74.6	1.47 685	1.3 886	951.1	684.9	56,51
74.7	1.47 710	1.3 893	952.8	685.8	56,61
74.8	1.47 735	1.3 900	954.4	686.7	56,71
74.9	1.47 760	1.3 906	956.1	687.5	56,81

TABELA III

Tabela przedstawiająca zawartość cukru (1) w rektyfikowanym moszczu zagęszczonym w gramach na litr i gramach na kilogram, ustaloną za pomocą refraktometru wyskalowanego w procentowych ułamkach masy sacharozy w temperaturze 20 °C lub przy wartości współczynnika załamania światła w temperaturze 20 °C. Przedstawiona jest również gęstość w 20 °C

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukier w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
50.0	1.42 008	1.2 342	627.6	508.5	37,28
50.1	1.42 029	1.2 348	629.3	509.6	37,38
50.2	1.42 050	1.2 355	630.9	510.6	37,48
50.3	1.42 071	1.2 362	632.4	511.6	37,56
50.4	1.42 092	1.2 367	634.1	512.7	37,66
50.5	1.42 113	1.2 374	635.7	513.7	37,76
50.6	1.42 135	1.2 381	637.3	514.7	37,85
50.7	1.42 156	1.2 386	638.7	515.7	37,94
50.8	1.42 177	1.2 391	640.4	516.8	38,04
50.9	1.42 198	1.2 396	641.9	517.8	38,13
51.0	1.42 219	1.2 401	643.4	518.8	38,22
51.1	1.42 240	1.2 406	645.0	519.9	38,31
51.2	1.42 261	1.2 411	646.5	520.9	38,40
51.3	1.42 282	1.2 416	648.1	522.0	38,50
51.4	1.42 304	1.2 421	649.6	523.0	38,59
51.5	1.42 325	1.2 427	651.2	524.0	38,68
51.6	1.42 347	1.2 434	652.9	525.1	38,78
51.7	1.42 368	1.2 441	654.5	526.1	38,88
51.8	1.42 389	1.2 447	656.1	527.1	38,97
51.9	1.42 410	1.2 454	657.8	528.2	39,07
52.0	1.42 432	1.2 461	659.4	529.2	39,17
52.1	1.42 453	1.2 466	661.0	530.2	39,26
52.2	1.42 475	1.2 470	662.5	531.3	39,35
52.3	1,42496	1.2 475	664.1	532.3	39,45
52.4	1.42 517	1.2 480	665.6	533.3	39,54
52.5	1.42 538	1.2 486	667.2	534.4	39,63
52.6	1.42 560	1.2 493	668.9	535.4	39,73
52.7	1.42 581	1.2 500	670.5	536.4	39,83
52.8	1.42 603	1.2 506	672.2	537.5	39,93
52.9	1.42 624	1.2 513	673.8	538.5	40,02
53.0	1.42 645	1.2 520	675.5	539.5	40,12
53.1	1.42 667	1.2 525	677.1	540.6	40,22
53.2	1.42 689	1.2 530	678.5	541.5	40,30
53.3	1.42 711	1.2 535	680.2	542.6	40,40
53.4	1.42 733	1.2 540	681.8	543.7	40,50
53.5	1.42 754	1.2 546	683.4	544.7	40,59
53.6	1.42 776	1.2 553	685.1	545.8	40,69
53.7	1.42 797	1.2 560	686.7	546.7	40,79
53.8	1.42 819	1.2 566	688.4	547.8	40,89
53.9	1.42 840	1.2 573	690.1	548.9	40,99
54.0	1.42 861	1.2 580	691.7	549.8	41,09
54.1	1.42 884	1.2 585	693.3	550.9	41,18
54.2	1.42 906	1.2 590	694.9	551.9	41,28
54.3	1.42 927	1.2 595	696.5	553.0	41,37
54.4	1.42 949	1.2 600	698.1	554.0	41,47
54.5	1.42 971	1.2 606	699.7	555.1	41,56
54.6	1.42 993	1.2 613	701.4	556.1	41,66
54.7	1.43 014	1.2 620	703.1	557.1	41,76
54.8	1.43 036	1.2 625	704.7	558.2	41,86
54.9	1.43 058	1.2 630	706.2	559.1	41,95

(1) Zawartość cukrów w przeliczeniu na cukier inwertowany.

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukier w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
55.0	1.43 079	1.2 635	707.8	560.2	42,04
55.1	1.43 102	1.2 639	709.4	561.3	42,14
55.2	1.43 124	1.2 645	711.0	562.3	42,23
55.3	1.43 146	1.2 652	712.7	563.3	42,33
55.4	1.43 168	1.2 659	714.4	564.3	42,44
55.5	1.43 189	1,2665	716.1	565.4	42,54
55.6	1.43 211	1.2 672	717.8	566.4	42,64
55.7	1.43 233	1.2 679	719.5	567.5	42,74
55.8	1.43 255	1.2 685	721.1	568.5	42,83
55.9	1.43 277	1.2 692	722.8	569.5	42,93
56.0	1.43 298	1.2 699	724.5	570.5	43,04
56.1	1.43 321	1.2 703	726.1	571.6	43,13
56.2	1.43 343	1.2 708	727.7	572.6	43,23
56.3	1.43 365	1.2 713	729.3	573.7	43,32
56.4	1.43 387	1.2 718	730.9	574.7	43,42
56.5	1.43 409	1.2 724	732.6	575.8	43,52
56.6	1.43 431	1.2 731	734.3	576.8	43,62
56.7	1.43 454	1.2 738	736.0	577.8	43,72
56.8	1.43 476	1.2 744	737.6	578.8	43,81
56.9	1.43 498	1.2 751	739.4	579.9	43,92
57.0	1.43 519	1.2 758	741.1	580.9	44,02
57.1	1.43 542	1.2 763	742.8	582.0	44,12
57.2	1.43 564	1.2 768	744.4	583.0	44,22
57.3	1.43 586	1.2 773	745.9	584.0	44,31
57.4	1.43 609	1.2 778	747.6	585.1	44,41
57.5	1.43 631	1.2 784	749.3	586.1	44,51
57.6	1.43 653	1.2 791	751.0	587.1	44,61
57.7	1.43 675	1.2 798	752.7	588.1	44,71
57.8	1.43 698	1.2 804	754.4	589.2	44,81
57.9	1.43 720	1.2 810	756.1	590.2	44,91
58.0	1.43 741	1.2 818	757.8	591.2	45,01
58.1	1.43 764	1.2 822	759.5	592.3	45,11
58.2	1.43 784	1.2 827	761.1	593.4	45,21
58.3	1.43 809	1.2 832	762.6	594.3	45,30
58.4	1.43 832	1.2 837	764.3	595.4	45,40
58.5	1.43 854	1.2 843	766.0	596.4	45,50
58.6	1.43 877	1.2 850	767.8	597.5	45,61
58.7	1.43 899	1.2 857	769.5	598.5	45,71
58.8	1.43 922	1.2 863	771.1	599.5	45,80
58.9	1.43 944	1.2 869	772.9	600.6	45,91
59.0	1.43 966	1.2 876	774.6	601.6	46,01
59.1	1.43 988	1.2 882	776.3	602.6	46,11
59.2	1.44 011	1.2 889	778.1	603.7	46,22
59.3	1.44 034	1.2 896	779.8	604.7	46,32
59.4	1.44 057	1.2 902	781.6	605.8	46,43
59.5	1.44 079	1.2 909	783.3	606.8	46,53
59.6	1.44 102	1.2 916	785.2	607.9	46,64
59.7	1.44 124	1.2 921	786.8	608.9	46,74
59.8	1.44 147	1.2 926	788.4	609.9	46,83
59.9	1.44 169	1.2 931	790.0	610.9	46,93

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukier w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
60.0	1.44 192	1,2936	791.7	612.0	47,03
60.1	1.44 215	1.2 942	793.3	613.0	47,12
60.2	1.44 238	1.2 949	795.2	614.1	47,23
60.3	1.44 260	1.2 956	796.9	615.1	47,34
60.4	1.44 283	1.2 962	798.6	616.1	47,44
60.5	1.44 305	1.2 969	800.5	617.2	47,55
60.6	1.44 328	1.2 976	802.2	618.2	47,65
60.7	1.44 351	1.2 981	803.9	619.3	47,75
60.8	1.44 374	1.2 986	805.5	620.3	47,85
60.9	1.44 397	1.2 991	807.1	621.3	47,94
61.0	1.44 419	1.2 996	808.7	622.3	48,04
61.1	1.44 442	1.3 002	810.5	623.4	48,14
61.2	1.44 465	1.3 009	812.3	624.4	48,25
61.3	1.44 488	1.3 016	814.2	625.5	48,36
61.4	1.44 511	1.3 022	815.8	626.5	48,46
61.5	1.44 534	1.3 029	817.7	627.6	48,57
61.6	1.44 557	1.3 036	819.4	628.6	48,67
61.7	1.44 580	1.3 042	821.3	629.7	48,79
61.8	1.44 603	1.3 049	823.0	630.7	48,89
61.9	1.44 626	1.3 056	824.8	631.7	48,99
62.0	1.44 648	1.3 062	826.6	632.8	49,10
62.1	1.44 672	1.3 068	828.3	633.8	49,20
62.2	1.44 695	1.3 075	830.0	634.8	49,30
62.3	1.44 718	1.3 080	831.8	635.9	49,40
62.4	1.44 741	1.3 085	833.4	636.9	49,50
62.5	1.44 764	1.3 090	835.1	638.0	49,60
62.6	1.44 787	1.3 095	836.8	639.0	49,71
62.7	1.44 810	1.3 101	838.5	640.0	49,81
62.8	1.44 833	1.3 108	840.2	641.0	49,91
62.9	1.44 856	1.3 115	842.1	642.1	50,02
63.0	1.44 879	1.3 121	843.8	643.1	50,12
63.1	1.44 902	1.3 128	845.7	644.2	50,23
63.2	1.44 926	1.3 135	847.5	645.2	50,34
63.3	1.44 949	1.3 141	849.3	646.3	50,45
63.4	1.44 972	1.3 148	851.1	647.3	50,56
63.5	1.44 995	1.3 155	853.0	648.4	50,67
63.6	1.45 019	1.3 161	854.7	649.4	50,77
63.7	1,45042	1.3 168	856.5	650.4	50,88
63.8	1.45 065	1.3 175	858.4	651.5	50,99
63.9	1.45 088	1.3 180	860.0	652.5	51,08
64.0	1.45 112	1.3 185	861.6	653.5	51,18
64.1	1.45 135	1.3 190	863.4	654.6	51,29
64.2	1.45 158	1.3 195	865.1	655.6	51,39
64.3	1.45 181	1.3 201	866.9	656.7	51,49
64.4	1.45 205	1.3 208	868.7	657.7	51,60
64.5	1.45 228	1.3 215	870.6	658.8	51,71
64.6	1.45 252	1.3 221	872.3	659.8	51,81
64.7	1.45 275	1.3 228	874.1	660.8	51,92
64.8	1.45 299	1.3 235	876.0	661.9	52,03
64.9	1.45 322	1.3 241	877.8	662.9	52,14

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukier w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
65.0	1.45 347	1.3 248	879.7	664.0	52,25
65.1	1.45 369	1.3 255	881.5	665.0	52,36
65.2	1.45 393	1.3 261	883.2	666.0	52,46
65.3	1.45 416	1.3 268	885.0	667.0	52,57
65.4	1.45 440	1.3 275	886.9	668.1	52,68
65.5	1.45 463	1.3 281	888.8	669.2	52,79
65.6	1.45 487	1.3 288	890.6	670.2	52,90
65.7	1.45 510	1.3 295	892.4	671.2	53,01
65.8	1.45 534	1.3 301	894.2	672.3	53,12
65.9	1.45 557	1.3 308	896.0	673.3	53,22
66.0	1.45 583	1.3 315	898.0	674.4	53,34
66.1	1.45 605	1.3 320	899.6	675.4	53,44
66.2	1.45 629	1.3 325	901.3	676.4	53,54
66.3	1.45 652	1.3 330	903.1	677.5	53,64
66.4	1.45 676	1.3 335	904.8	678.5	53,75
66.5	1.45 700	1.3 341	906.7	679.6	53,86
66.6	1.45 724	1.3 348	908.5	680.6	53,96
66.7	1.45 747	1.3 355	910.4	681.7	54,08
66.8	1.45 771	1.3 361	912.2	682.7	54,18
66.9	1.45 795	1.3 367	913.9	683.7	54,29
67.0	1.45 820	1.3 374	915.9	684.8	54,40
67.1	1.45 843	1.3 380	917.6	685.8	54,51
67.2	1.45 867	1.3 387	919.6	686.9	54,62
67.3	1.45 890	1.3 395	921.4	687.9	54,73
67.4	1.45 914	1.3 400	923.1	688.9	54,83
67.5	1.45 938	1.3 407	925.1	690.0	54,95
67.6	1.45 962	1.3 415	927.0	691.0	55,06
67.7	1.45 986	1.3 420	928.8	692.1	55,17
67.8	1.46 010	1.3 427	930.6	693.1	55,28
67.9	1.46 034	1.3 434	932.6	694.2	55,40
68.0	1.46 060	1.3 440	934.4	695.2	55,50
68.1	1.46 082	1.3 447	936.2	696.2	55,61
68.2	1.46 106	1.3 454	938.0	697.2	55,72
68.3	1.46 130	1.3 460	939.9	698.3	55,83
68.4	1.46 154	1.3 466	941.8	699.4	55,94
68.5	1.46 178	1.3 473	943.7	700.4	56,06
68.6	1.46 202	1.3 479	945.4	701.4	56,16
68.7	1.46 226	1.3 486	947.4	702.5	56,28
68.8	1.46 251	1.3 493	949.2	703.5	56,38
68.9	1.46 275	1.3 499	951.1	704.6	56,50
69.0	1.46 301	1.3 506	953.0	705.6	56,61
69.1	1.46 323	1.3 513	954.8	706.6	56,72
69.2	1.46 347	1.3 519	956.7	707.7	56,83
69.3	1.46 371	1.3 526	958.6	708.7	56,94
69.4	1.46 396	1.3 533	960.6	709.8	57,06
69.5	1.46 420	1.3 539	962.4	710.8	57,17
69.6	1.46 444	1.3 546	964.3	711.9	57,28
69.7	1.46 468	1.3 553	966.2	712.9	57,39
69.8	1.46 493	1.3 560	968.2	714.0	57,51
69.9	1.46 517	1.3 566	970.0	715.0	57,62

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukier w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
70.0	1.46 544	1.3 573	971.8	716.0	57,72
70.1	1.46 565	1.3 579	973.8	717.1	57,84
70.2	1.46 590	1.3 586	975.6	718.1	57,95
70.3	1.46 614	1.3 593	977.6	719.2	58,07
70.4	1.46 639	1.3 599	979.4	720.2	58,18
70.5	1.46 663	1.3 606	981.3	721.2	58,29
70.6	1.46 688	1.3 613	983.3	722.3	58,41
70.7	1.46 712	1.3 619	985.2	723.4	58,52
70.8	1.46 737	1.3 626	987.1	724.4	58,63
70.9	1.46 761	1.3 633	988.9	725.4	58,74
71.0	1.46 789	1.3 639	990.9	726.5	58,86
71.1	1.46 810	1.3 646	992.8	727.5	58,97
71.2	1.46 835	1.3 653	994.8	728.6	59,09
71.3	1.46 859	1.3 659	996.6	729.6	59,20
71.4	1.46 884	1.3 665	998.5	730.7	59,31
71.5	1.46 908	1.3 672	1 000.4	731.7	59,42
71.6	1.46 933	1.3 678	1 002.2	732.7	59,53
71.7	1.46 957	1.3 685	1 004.2	733.8	59,65
71.8	1.46 982	1.3 692	1 006.1	734.8	59,76
71.9	1.47 007	1.3 698	1 008.0	735.9	59,88
72.0	1.47 036	1.3 705	1 009.9	736.9	59,99
72.1	1.47 056	1.3 712	1 012.0	738.0	60,11
72.2	1.47 081	1.3 718	1 013.8	739.0	60,22
72.3	1.47 106	1.3 725	1 015.7	740.0	60,33
72.4	1.47 131	1.3 732	1 017.7	741.1	60,45
72.5	1.47 155	1.3 738	1 019.5	742.1	60,56
72.6	1.47 180	1.3 745	1 021.5	743.2	60,68
72.7	1.47 205	1.3 752	1 023.4	744.2	60,79
72.8	1,47230	1.3 758	1 025.4	745.3	60,91
72.9	1.47 254	1.3 765	1 027.3	746.3	61,02
73.0	1.47 284	1.3 772	1 029.3	747.4	61,14
73.1	1.47 304	1.3 778	1 031.2	748.4	61,25
73.2	1.47 329	1.3 785	1 033.2	749.5	61,37
73.3	1.47 354	1.3 792	1 035.1	750.5	61,48
73.4	1.47 379	1.3 798	1 037.1	751.6	61,60
73.5	1.47 404	1.3 805	1 039.0	752.6	61,72
73.6	1.47 429	1.3 812	1 040.9	753.6	61,83
73.7	1.47 454	1.3 818	1 042.8	754.7	61,94
73.8	1.47 479	1.3 825	1 044.8	755.7	62,06
73.9	1.47 504	1.3 832	1 046.8	756.8	62,18
74.0	1.47 534	1.3 838	1 048.6	757.8	62,28
74.1	1.47 554	1.3 845	1 050.7	758.9	62,41
74.2	1.47 579	1.3 852	1 052.6	759.9	62,52
74.3	1.47 604	1.3 858	1 054.6	761.0	62,64
74.4	1.47 629	1.3 865	1 056.5	762.0	62,76
74.5	1.47 654	1.3 871	1 058.5	763.1	62,87
74.6	1.47 679	1.3 878	1 060.4	764.1	62,99
74.7	1.47 704	1.3 885	1 062.3	765.1	63,10
74.8	1.47 730	1.3 892	1 064.4	766.2	63,23
74.9	1.47 755	1.3 898	1 066.3	767.2	63,33
75.0	1.47 785	1.3 905	1 068.3	768.3	63,46

3. OBJĘTOŚCIOWA ZAWARTOŚĆ ALKOHOLU

1. DEFINICJE

Objętościowa zawartość alkoholu jest to ilość litrów alkoholu etylowego zawartych w 100 litrach wina, przy czym obie objętości mierzy się w temperaturze 20 °C. Oznacza się ją symbolem „% obj.".

Uwaga:

Zawartość alkoholu obejmuje również homologi alkoholu etylowego, wraz z alkoholem etylowym oraz homologi alkoholu etylowego w estrach etylowych, ponieważ związki te są obecne w destylacie.

2. ZASADA METOD

2.1. Destylacja wina zalkalizowanego za pomocą zawiesiny wodorotlenku wapnia. Pomiar zawartości alkoholu w destylacie.

2.2. **Metoda porównawcza:** pomiar gęstości destylatu za pomocą piknometru.

2.3. **Metody zwykłe:**

2.3.1. Pomiar zawartości alkoholu w destylacie za pomocą areometru.

2.3.2. Pomiar zawartości alkoholu w destylacie metodą densymetryczną z użyciem wagi hydrostatycznej.

2.3.3. Pomiar zawartości alkoholu w destylacie za pomocą refraktometru.

Uwaga:

W celu oznaczenia zawartości alkoholu na podstawie gęstości destylatu należy skorzystać z tabel I, II i III w dodatku II do niniejszej sekcji Załącznika. Tabele opracowane zostały na podstawie *Międzynarodowych tabel zawartości alkoholu* opublikowanych w 1972 r. przez Międzynarodową Organizację Metrologii Prawnej w zaleceniu 22 i przyjętych przez OIV (Zgromadzenie Ogólne, 1974).

Tabela I przedstawia ogólny wzór dotyczący zależności objętościowej zawartości alkoholu i gęstości mieszanin alkohol–woda od temperatury.

3. METODA UZYSKIWANIA DESTYLATU

3.1. **Urządzenie**

3.1.1. Urządzenie do destylacji składające się z:

— jednolitrowej kolby okrągłodennej ze szlifem szklanym,

— kolumny rektyfikacyjnej o wysokości około 20 cm lub innego urządzenia zapobiegającego rozpryskiwaniu,

— źródła ciepła; należy zapewnić zabezpieczenie odciągniętej substancji przed pirolizą w drodze odpowiednich ustaleń,

— skraplacza zakończonego przedłużaczem, doprowadzającym destylat na dno kolby miarowej, zawierającej kilka mililitrów wody.

3.1.2. Zestaw do destylacji parowej składający się z:

1. generatora pary;
2. przewodu pary;
3. kolumny rektyfikacyjnej;
4. skraplacza.

Można wykorzystać dowolny typ aparatu do destylacji lub destylacji parowej, o ile spełni wymagania następującego badania:

Przeprowadzić pięć kolejnych destylacji mieszaniny alkohol—woda o zawartości alkoholu 10 % obj. Zawartość alkoholu w destylacie po pięciu destylacjach powinna wynosić co najmniej 9,9 % obj., czyli straty alkoholu podczas każdej destylacji nie powinny przekraczać 0,02 % obj.

3.2. **Odczynniki**

3.2.1. A 2 M zawiesina wodorotlenku wapnia, otrzymana w drodze ostrożnego zalewania 120 g wapna niegaszonego (CaO) jednym litrem wody o temperaturze 60–70 °C.

3.3. **Przygotowanie próbki**

Usunąć większość ditlenku węgla z młodego lub musującego wina poprzez mieszanie 250–300 ml wina w kolbie o pojemności 500 ml.

3.4. **Procedura**

Odmierzyć 200 ml wina przy użyciu kolby pomiarowej.

Zapisać temperaturę wina.

Przelać wino do kolby destylacyjnej i wprowadzić do niej przewód parowy urządzenia do destylacji parowej. Przemyć kolbę miarową czterokrotnie 5 ml wody, wprowadzając ją do kolby lub do przewodu parowego. Dodać 10 ml zawiesiny wodorotlenku wapnia (3.2.1) i kilka kawałków obojętnego materiału porowatego (pumeks itp.).

Zebrać destylat w 200-mililitrowej kolbie miarowej używanej do odmierzania wina.

Zebrać ilość około trzech czwartych wyjściowej objętości wina w przypadku destylacji i 198–199 ml destylatu w przypadku destylacji parowej. Uzupełnić destylat do 200 ml wodą destylowaną, przy czym temperatura destylatu nie powinna odbiegać od temperatury początkowej o więcej niż 2 °C.

Bardzo ostrożnie wymieszać destylat kolistymi ruchami.

Uwaga:

W przypadku win zawierających szczególnie duże ilości jonów amonowych destylat można poddać powtórnej destylacji w sposób opisany powyżej, zastępując zawiesinę wodorotlenku wapnia 1 M roztworem kwasu siarkowego, rozcieńczonego w stosunku 10 do 100 (obj./obj.).

4. METODA PORÓWNAWCZA

Pomiar zawartości alkoholu w destylacie przy użyciu piknometru.

4.1. **Urządzenie**

4.1.1. Użyć znormalizowanego piknometru opisanego w rozdziale „Gęstość i ciężar właściwy” (rozdział I Załącznika).

4.2. **Procedura**

Zmierzyć pozorną gęstość destylatu (3.4) w temperaturze *t* °C w sposób opisany w rozdziale „Gęstość i ciężar właściwy” (rozdział I ppkt 4.3.1 i 4.3.2 Załącznika).ρ_t oznacza zmierzoną gęstość.

4.3. **Przedstawienie wyników**

4.3.1. *Metoda obliczania*

Znaleźć zawartość alkoholu w temperaturze 20 °C przy użyciu tabeli I. W poziomych wierszach tabeli odpowiadających temperaturze *T* (wyrażonej w liczbach całkowitych), bezpośrednio pod wartością temperatury *t* °C, znaleź najmniejszą wartość gęstości większą od ρ_t. Wykorzystać stabelaryzowaną różnicę bezpośrednio pod tą gęstością do obliczenia gęstości ρ w temperaturze *T*.

W wierszu, w którym przedstawiona jest wartość temperatury *T*, znaleźć gęstość ρ bezpośrednio nad ρ' i obliczyć różnicę między gęstością ρ i ρ'. Podzielić tę różnicę przez stabelaryzowaną różnicę podaną z prawej strony gęstości ρ'. Uzyskany iloraz jest częścią dziesiętną zawartości alkoholu, natomiast część całkowitą zawartości alkoholu odczytuje się z nagłówka kolumny, w której znajduje się wartość gęstości ρ'.

Przykład obliczania zawartości alkoholu podany jest w dodatku I do niniejszego rozdziału Załącznika.

Uwaga:

Powyższa poprawka na temperaturę jest opracowana w postaci programu komputerowego i może być przeprowadzana automatycznie.

4.3.2. Powtarzalność *r*: *r* = 0,10 % obj.

4.3.3. Odtwarzalność *R*: *R* = 0,19 % obj.

5. METODY ZWYKŁE

5.1. **Metoda hydrometryczna**

5.1.1. *Urządzenie*

5.1.1.1. Alkoholomierz.

Alkoholomierz powinien odpowiadać wymaganiom dla sprzętu klasy I lub II określonym w zaleceniu międzynarodowym nr 44, *Alkoholomierze i areometry alkoholowe* Międzynarodowej Organizacji Metrologii Prawnej.

5.1.1.2. Termometr skalowany w stopniach o podziałce podstawowej 0,1 °C i zakresie 0—40 °C, certyfikowany do 1/20 stopnia.

5.1.1.3. Cylinder miarowy o średnicy 36 mm i wysokości 320 mm utrzymywany w pozycji pionowej przez śruby poziomujące.

5.1.2. *Procedura*

Nalać destylat (3.4) do cylindra miarowego. Upewnić się, że cylinder znajduje się w pozycji pionowej. Umieścić w cylindrze termometr i alkoholomierz. Wymieszać w celu wyrównania temperatury cylindra miarowego, termometru, alkoholomierza i destylatu i po minucie odczytać temperaturę na termometrze. Wyjąć termometr i po minucie odczytać wskazaną zawartość alkoholu. Przeprowadzić co najmniej trzy odczyty przy użyciu szkła powiększającego. Skorygować za pomocą tabeli II odczytaną zawartość alkoholu w temperaturze *t* °C, uwzględniając wpływ temperatury.

Temperatura cieczy musi bardzo nieznacznie różnić się od temperatury pokojowej (najwyżej o 5 °C).

5.2. **Metoda densymetryczna z użyciem wagi hydrostatycznej**

5.2.1. *Urządzenie*

5.2.1.1. Waga hydrostatyczna opisana w rozdziale „Gęstość i ciężar właściwy".

5.2.2. *Procedura*

Gęstość pozorna destylatu w temperaturze *t* °C mierzona jest w sposób opisany w rozdziale „Gęstość i ciężar właściwy" ppkt 5.2.2.

5.2.3. *Przedstawienie wyników*

Znaleźć zawartość alkoholu w temperaturze 20 °C według metody opisanej w ppkt 4.3.1, przy użyciu tabeli I, jeżeli pływak wykonany jest ze szkła pyreksowego, i tabeli III, jeżeli wykonany jest ze szkła zwykłego.

5.3. **Refraktometria**

5.3.1. *Urządzenie*

5.3.1.1. Refraktometr umożliwiający odczyt współczynnika załamania światła w zakresie 1,330–1,346. Zależnie od rodzaju sprzętu pomiaru można dokonywać:

— w temperaturze 20 °C za pomocą odpowiedniego urządzenia,

— lub w temperaturze pokojowej *t* °C za pomocą urządzenia wyposażonego w termometr umożliwiający odczyt temperatury z dokładnością co najmniej do 0,05 °C. Do urządzenia powinna być dołączona tabela zawierająca korektę temperaturową.

5.3.2. *Procedura*

Współczynnik załamania światła destylatu wina otrzymanego w sposób opisany w ppkt 3.3 mierzy się według metody przewidzianej dla danego typu urządzenia.

5.3.3. *Przedstawienie wyników*

Użyć tabeli IV do znalezienia zawartości alkoholu odpowiadającej współczynnikowi załamania światła w temperaturze 20 °C.

Uwaga:

Tabela IV przedstawia zawartość alkoholu odpowiadającą współczynnikowi załamania światła zarówno dla czystych mieszanin alkohol–woda, jak i dla destylatów win. W przypadku destylatów win uwzględniono zanieczyszczenia obecne w destylacie (głównie alkohole wyższe). Metanol zaniża współczynnik załamania światła, a przez to zawartość alkoholu.

6. PRZYKŁAD OBLICZANIA ZAWARTOŚCI ALKOHOLU W WINIE

6.1. **Pomiar piknometryczny z użyciem wagi dwuszalkowej**

6.1.1. Stałe piknometru są ustalane i obliczane w sposób opisany w rozdziale 1 „Gęstość i ciężar właściwy”, ppkt 6.1.1.

6.1.2. *Ważenie piknometru napełnionego destylatem*

Tara = piknometr + destylat o temperaturze *t* °C + *p”*

t °C	= 18,90 °C
t °C skorygowana	= 18,70 °C
p”	= 2,8074 g

p + *m* – *p”* = masa destylatu o temperaturze *t* °C 105,0698 – 2,8074 = 102,2624 g

Gęstość pozorna w temperaturze *t* °C

$$\rho_t = \frac{p + m - p''}{\text{objębjęt piknometru w } 20\,^\circ C} \qquad \rho_{18,70\,^\circ C} = \frac{102,2624}{104,0229} = 0,983076$$

6.1.3. *Obliczanie zawartości alkoholu*

Dotyczy tabeli gęstości pozornych mieszanin alkohol—woda w różnych temperaturach, jak określono powyżej

W wierszu odpowiadającym temp. 18 °C w tabeli pozornych gęstości najmniejsza wartość gęstości większa od wartości zmierzonej 0,983076 wynosi 0,98398 w kolumnie odpowiadającej 11 % obj.

Gęstość w temperaturze 18 °C wynosi $(98307{,}6 + 0{,}7 \times 22)\ 10^{-5} = 0{,}98323$

$0{,}98398 - 0{,}98323 = 0{,}00075$

Dziesiętna część wartości % zawartości alkoholu obj. wynosi $75/114 = 0{,}65$

Zawartość alkoholu wynosi 11,65 % obj.

6.2. **Pomiar piknometryczny z użyciem wagi jednoszalkowej**

6.2.1. Stałe piknometru są ustalane i obliczane w sposób opisany w rozdziale 1, „Gęstość i ciężar właściwy", ppkt 6.2.1.

6.2.2. *Ważenie piknometru napełnionego destylatem*

Waga butelki tarującej w czasie pomiaru w gramach:	$T_1 = 171{,}9178$
Piknometr napełniony destylatem o temperaturze 20,50 °C w gramach	$P_2 = 167{,}8438$
Poprawka na wyporność powietrza:	$dT = 171{,}9178 - 171{,}9160$
	$= + 0{,}0018$
Masa destylatu o temperaturze 20,50 °C:	$L_t = 167{,}8438 - (67{,}6695 + 0{,}0018)$
	$= 100{,}1725$
Gęstość pozorna destylatu	$\rho_{20{,}50\,°C} = \frac{100{,}1725}{100{,}8194} = 0{,}983825$

6.2.3. *Obliczanie zawartości alkoholu*

Dotyczy tabeli gęstości pozornych mieszanin alkohol—woda w różnych temperaturach, jak opisano powyżej

W wierszu odpowiadającym temperaturze 20 °C w tabeli gęstości pozornych najmniejsza gęstość większa od gęstości zmierzonej 0,983825 wynosi 0,98471 w kolumnie odpowiadającej 10 % obj.

Gęstość w temperaturze 20 °C wynosi $(98382{,}5 + 0{,}5 \times 24)\ 10^{-5} = 0{,}983945$

$0{,}98471 - 0{,}983945 = 0{,}000765$

Dziesiętna część wartości % zawartości alkoholu obj. wynosi $76{,}5/119 = 0{,}64$

Zawartość alkoholu wynosi 10,64 %.

WZÓR, NA PODSTAWIE KTÓREGO OPRACOWANO TABELE ZAWARTOŚCI ALKOHOLU W MIESZANINACH ALKOHOL ETYLOWY—WODA

Gęstość r w kilogramach na metr sześcienny (kg/m^3) mieszanin alkohol etylowy–woda w temperaturze *t* stopni Celsjusza przedstawiona jest podanym poniżej wzorem jako funkcja:

— wagowej zawartości alkoholu w *p*, wyrażonej jako liczba dziesiętna (1),

— temperatury *t* w C (EIPT 68),

— poniższych współczynników liczbowych.

Wzór jest ważny dla temperatur od –20 do + 40 °C.

$$\varrho = A_1 + \sum_{k=2}^{12} A_k\, p^{k-1} + \sum_{k=1}^{6} B_k (t - 20\,^{\circ}\mathrm{C})^k + \sum_{i=1}^{n} \sum_{k=1}^{m} C_{i,k}\, p^k (t - 20\,^{\circ}\mathrm{C})^i$$

$n = 5 \quad m_3 = 9$
$m_1 = 11 \quad m_4 = 4$
$m_2 = 10 \quad m_5 = 2$

Wartość współczynników liczbowych w równaniu

k	A_k kg/m^3	B_k
1	9,982012 300·10^2	– 2,0618513·10^{-1} kg/(m^3.°C)
2	– 1,929769495· 10^2	– 5,2682542· 10^{-3} kg/(m^3.°C^2)
3	3,891238958· 10^2	3,6130013· 10^{-5} kg/(m^3.°C^3)
4	– 1,668103923· 10^3	– 3,8957702· 10^{-7} kg/(m^3.°C^4)
5	1,352215441· 10^4	7,1693540· 10^{-9} kg/(m^3.°C^5)
6	– 8,829278388· 10^4	– 9,9739231· 10^{-11} kg/(m^3.°C^6)
7	3,062874042· 10^5	
8	– 6,138381234· 10^5	
9	7,470172998· 10^5	
10	– 5,478461354· 10^5	
11	2,234460334· 10^5	
12	– 3,903285426· 10^4	

k	$C_{1,k}$ kg/(m^3.°C)	$C_{2,k}$ kg/(m^3.°C^2)
1	1,693443461530087· 10^{-1}	– 1,193013005057010· 10^{-2}
2	– 1,046914743455 169· 10^1	2,517399633803461· 10^{-1}
3	7,196353469546523· 10^1	– 2,170575700536993
4	– 7,047478054272792· 10^2	1,353034988843029· 10^1
5	3,924090430035045· 10^3	– 5,029988758547014· 10^1
6	– 1,210164659068747· 10^4	1,096355666577570· 10^2
7	2,248646550400788· 10^4	– 1,422753946421155· 10^2
8	– 2,605562982188164· 10^4	1,080435942856230· 10^2
9	1,852373922069467· 10^4	– 4,414153236817392· 10^1
10	– 7,420201433430137· 10^3	7,442971530188783
11	1,285617841998974· 10^3	

k	$C_{3,k}$ kg/(m^3.°C^3)	$C_{4,k}$ kg/(m^3.°C^4)	$C_{5,k}$ kg/(m^3.°C^5)
1	– 6,802995733503803· 10^{-4}	4,075376675622027· 10^{-6}	– 2,788074354782409· 10-8
2	1,876837790289664· 10-2	– 8,763058573471110· 10^{-6}	1,345612883493354· 10^{-8}
3	– 2,002561813734156· 10^{-1}	6,515031360099368· 10^{-6}	
4	1,022992966719220	– 1,515784836987210· 10^{-6}	
5	– 2,895696483903638		
6	4,810060584300675		
7	– 4,672147440794683		
8	2,458043105903461		
9	– 5,411227621436812· 10^{-1}		

(1) Na przykład dla wagowej zawartości alkoholu 12 % *p* = 0,12.

TABELA I

MIĘDZYNARODOWA TABELA ZAWARTOŚCI ALKOHOLU W TEMPERATURZE 20 °C

Tabela pozornych gęstości mieszanin alkohol etylowy–woda — piknometr ze szkła pyreksowego

Gęstości w temperaturze *t* °C z uwzględnieniem wyporności powietrza

t °C	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	0		**1**		**2**		**3**		**4**		**5**		**6**		**7**		**8**		**9**		**10**		**11**	
0°	999,64	1,50	998,14	1,44	996,70	1,40	995,30	1,35	993,95	1,30	992,65	1,24	991,41	1,19	990,22	1,14	989,08	1,10	987,98	1,05	986,93	1,00	985,93	0,95
	− 0,07		− 0,06		− 0,06		− 0,06		− 0,06		− 0,06		− 0,06		− 0,05		− 0,04		− 0,03		− 0,02		− 0,01	
1°	999,71	1,51	998,20	1,44	996,76	1,40	995,36	1,35	994,01	1,30	992,71	1,24	991,47	1,20	990,27	1,15	989,12	1,11	988,01	1,06	986,95	1,01	985,94	0,97
	− 0,05		− 0,05		− 0,04		− 0,04		− 0,04		− 0,04		− 0,03		− 0,03		− 0,02		− 0,02		− 0,01		0,00	
2°	999,76	1,51	998,25	1,45	996,80	1,40	995,40	1,35	994,05	1,30	992,75	1,25	991,50	1,20	990,30	1,16	989,14	1,11	988,03	1,07	986,96	1,02	985,94	0,98
	− 0,03		− 0,03		− 0,03		− 0,02		− 0,02		− 0,02		− 0,02		− 0,01		− 0,01		0,00		0,01		0,02	
3°	999,79	1,51	998,28	1,45	996,83	1,41	995,42	1,35	994,07	1,30	992,77	1,25	991,52	1,21	990,31	1,16	989,15	1,12	988,03	1,08	986,95	1,03	985,92	1,00
	− 0,02		− 0,02		− 0,01		− 0,02		− 0,01		− 0,01		0,00		0,00		0,01		0,02		0,03		0,04	
4°	999,81	1,51	998,30	1,46	996,84	1,40	995,44	1,36	994,08	1,30	992,78	1,26	991,52	1,21	990,31	1,17	989,14	1,13	988,01	1,09	986,92	1,04	985,88	1,00
	0,00		0,00		0,00		0,00		0,01		0,02		0,02		0,02		0,02		0,03		0,04		0,05	
5°	999,81	1,51	998,30	1,46	996,84	1,40	995,44	1,37	994,07	1,31	992,76	1,26	991,50	1,21	990,29	1,17	989,12	1,14	987,98	1,10	986,88	1,05	985,83	1,01
	0,01		0,01		0,01		0,02		0,01		0,02		0,03		0,04		0,05		0,05		0,05		0,06	
6°	999,80	1,51	998,29	1,46	996,83	1,41	995,42	1,36	994,06	1,32	992,74	1,27	991,47	1,22	990,25	1,18	989,07	1,14	987,93	1,10	986,83	1,06	985,77	1,03
	0,03		0,03		0,03		0,03		0,04		0,04		0,04		0,05		0,06		0,07		0,08		0,09	
7°	999,77	1,51	998,26	1,46	996,80	1,41	995,39	1,37	994,02	1,32	992,70	1,27	991,43	1,23	990,20	1,19	989,01	1,15	987,86	1,11	986,75	1,07	985,68	1,03
	0,05		0,04		0,04		0,05		0,05		0,05		0,05		0,06		0,06		0,07		0,08		0,09	
8°	999,72	1,50	998,22	1,46	996,76	1,42	995,34	1,37	993,97	1,32	992,65	1,27	991,38	1,24	990,14	1,19	988,95	1,16	987,79	1,12	986,67	1,08	985,59	1,05
	0,05		0,06		0,06		0,06		0,06		0,06		0,07		0,07		0,08		0,09		0,10		0,11	
9°	999,67	1,51	998,16	1,46	996,70	1,42	995,28	1,37	993,91	1,32	992,59	1,28	991,31	1,24	990,07	1,20	988,87	1,17	987,70	1,13	986,57	1,09	985,48	1,06
	0,07		0,07		0,07		0,07		0,07		0,08		0,08		0,09		0,09		0,10		0,11		0,12	
10°	999,60	1,51	998,09	1,46	996,63	1,42	995,21	1,37	993,84	1,33	992,51	1,28	991,23	1,25	989,98	1,20	988,78	1,17	987,60	1,14	986,46	1,10	985,36	1,06
	0,09		0,09		0,09		0,08		0,09		0,09		0,10		0,10		0,11		0,11		0,12		0,13	
11°	999,51	1,51	998,00	1,46	996,54	1,41	995,13	1,38	993,75	1,33	992,42	1,29	991,13	1,25	989,88	1,21	988,67	1,18	987,49	1,15	986,34	1,11	985,23	1,07
	0,10		0,09		0,09		0,10		0,10		0,11		0,11		0,11		0,12		0,13		0,13		0,14	
12°	999,41	1,50	997,91	1,46	996,45	1,42	995,03	1,38	993,65	1,34	992,31	1,29	991,02	1,25	989,77	1,22	988,55	1,19	987,36	1,15	986,21	1,12	985,09	1,09
	0,11		0,11		0,11		0,11		0,11		0,11		0,12		0,12		0,13		0,14		0,15		0,16	
13°	999,30	1,50	997,80	1,46	996,34	1,42	994,92	1,38	993,54	1,34	992,20	1,30	990,90	1,25	989,65	1,23	988,42	1,20	987,22	1,16	986,06	1,13	984,93	1,09
	0,12		0,12		0,12		0,13		0,13		0,13		0,13		0,14		0,14		0,15		0,16		0,16	
14°	999,18	1,50	997,68	1,46	996,22	1,43	994,79	1,38	993,41	1,34	992,07	1,30	990,77	1,26	989,51	1,23	988,28	1,21	987,07	1,17	985,90	1,13	984,77	1,11
	0,13		0,14		0,14		0,13		0,13		0,14		0,14		0,15		0,16		0,16		0,17		0,18	
15°	999,05	1,51	997,54	1,46	996,08	1,42	994,66	1,38	993,28	1,35	991,93	1,30	990,63	1,27	989,36	1,24	988,12	1,21	986,91	1,18	985,73	1,14	984,59	1,12
	0,15		0,14		0,14		0,15		0,15		0,15		0,16		0,16		0,17		0,17		0,18		0,19	
16°	998,90	1,50	997,40	1,46	995,94	1,43	994,51	1,38	993,13	1,35	991,78	1,31	990,47	1,27	989,20	1,25	987,95	1,21	986,74	1,19	985,55	1,15	984,40	1,13
	0,16		0,16		0,16		0,16		0,16		0,17		0,17		0,18		0,18		0,19		0,19		0,20	
17°	998,74	1,50	997,24	1,46	995,78	1,43	994,35	1,38	992,97	1,36	991,61	1,31	990,30	1,28	989,02	1,25	987,77	1,22	986,55	1,19	985,36	1,16	984,20	1,14
	0,17		0,17		0,17		0,16		0,17		0,17		0,18		0,18		0,19		0,20		0,21		0,22	
18°	998,57	1,50	997,07	1,46	995,61	1,42	994,19	1,39	992,80	1,36	991,44	1,32	990,12	1,28	988,84	1,26	987,58	1,23	986,35	1,20	985,15	1,17	983,98	1,14
	0,18		0,18		0,18		0,19		0,19		0,19		0,19		0,20		0,20		0,20		0,21		0,22	
19°	998,39	1,50	996,89	1,46	995,43	1,43	994,00	1,39	992,61	1,36	991,25	1,32	989,93	1,29	988,64	1,26	987,38	1,23	986,15	1,21	984,94	1,10	983,76	1,16
	0,19		0,19		0,19		0,19		0,19		0,19		0,20		0,20		0,21		0,22		0,23		0,24	
20°	998,20	1,50	996,70	1,46	995,24	1,43	993,81	1,39	992,42	1,36	991,06	1,33	989,73	1,29	988,44	1,27	987,17	1,24	985,93	1,22	984,71	1,19	983,52	1,16

t °C	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	0		**1**		**2**		**3**		**4**		**5**		**6**		**7**		**8**		**9**		**10**		**11**	
20°	998,20	1,50	996,70	1,46	995,24	1,43	993,81	1,39	992,42	1,36	991,06	1,33	989,73	1,29	988,44	1,27	987,17	1,24	985,93	1,22	984,71	1,19	983,52	1,16
	0,20		0,20		0,20		0,20		0,21		0,21		0,21		0,22		0,22		0,23		0,24		0,24	
21°	998,00	1,50	996,50	1,46	995,04	1,43	993,61	1,40	992,21	1,36	990,85	1,33	989,52	1,30	988,22	1,27	986,95	1,25	985,70	1,23	984,47	1,19	983,28	1,18
	0,21		0,21		0,21		0,21		0,21		0,22		0,22		0,23		0,24		0,24		0,24		0,26	
22°	997,79	1,50	996,29	1,46	994,83	1,43	993,40	1,40	992,00	1,37	990,63	1,33	989,30	1,31	987,99	1,28	986,71	1,25	985,46	1,23	984,23	1,21	983,02	1,18
	0,22		0,22		0,23		0,23		0,23		0,23		0,24		0,24		0,24		0,25		0,26		0,25	
23°	995,57	1,50	996,07	1,47	994,60	1,43	993,17	1,40	991,77	1,37	990,40	1,34	989,06	1,31	987,75	1,28	986,47	1,26	985,21	1,24	983,97	1,20	982,77	1,20
	0,24		0,23		0,23		0,23		0,24		0,24		0,24		0,25		0,26		0,26		0,27		0,29	
24°	997,33	1,49	995,84	1,47	994,37	1,43	992,94	1,41	991,53	1,37	990,16	1,34	988,82	1,32	987,50	1,29	986,21	1,26	984,95	1,25	983,70	1,22	982,48	1,20
	0,24		0,25		0,24		0,25		0,24		0,25		0,26		0,26		0,26		0,27		0,28		0,28	
25°	997,09	1,50	995,59	1,46	994,13	1,44	992,69	1,40	991,29	1,38	989,91	1,35	988,56	1,32	987,24	1,29	985,95	1,27	984,68	1,26	983,42	1,22	982,20	1,21
	0,25		0,25		0,26		0,25		0,26		0,26		0,26		0,26		0,28		0,28		0,28		0,30	
26°	996,84	1,50	995,34	1,47	993,87	1,43	992,44	1,41	991,03	1,38	989,65	1,35	988,30	1,32	986,98	1,31	985,67	1,27	984,40	1,26	983,14	1,24	981,90	1,22
	0,26		0,26		0,26		0,27		0,27		0,27		0,27		0,28		0,28		0,29		0,30		0,30	
27°	996,58	1,50	995,08	1,47	993,61	1,44	992,17	1,41	990,76	1,38	989,38	1,35	988,03	1,33	986,70	1,31	985,39	1,28	984,11	1,27	982,84	1,24	981,60	1,23
	0,27		0,27		0,27		0,27		0,28		0,28		0,29		0,29		0,29		0,30		0,31		0,32	
28°	996,31	1,50	994,81	1,47	993,34	1,44	991,90	1,42	990,48	1,38	989,10	1,36	987,74	1,33	986,41	1,31	985,10	1,29	983,81	1,28	982,53	1,25	981,28	1,23
	0,28		0,28		0,28		0,29		0,28		0,29		0,29		0,30		0,31		0,31		0,31		0,32	
29°	996,03	1,50	994,53	1,47	993,06	1,45	991,61	1,41	990,20	1,39	988,81	1,36	987,45	1,34	986,11	1,32	984,79	1,29	983,50	1,28	982,22	1,26	980,96	1,24
	0,28		0,29		0,29		0,29		0,30		0,30		0,31		0,31		0,31		0,32		0,32		0,33	
30°	995,75	1,51	994,24	1,47	992,77	1,45	991,32	1,42	989,90	1,39	988,51	1,37	987,14	1,34	985,80	1,32	984,48	1,30	983,18	1,28	981,90	1,27	980,63	1,25
	0,30		0,30		0,30		0,30		0,31		0,31		0,31		0,31		0,32		0,33		0,34		0,34	
31°	995,45	1,51	993,94	1,47	992,47	1,45	991,02	1,43	989,59	1,39	988,20	1,37	986,83	1,34	985,49	1,33	984,16	1,31	982,85	1,29	981,56	1,27	980,29	1,26
	0,31		0,31		0,31		0,32		0,31		0,32		0,32		0,33		0,33		0,34		0,35		0,36	
32°	995,14	1,51	993,63	1,47	992,16	1,46	990,70	1,42	989,28	1,40	987,88	1,37	986,51	1,35	985,16	1,33	983,83	1,32	982,51	1,30	981,21	1,28	979,93	1,26
	0,31		0,31		0,32		0,32		0,32		0,33		0,33		0,34		0,35		0,35		0,35		0,35	
33°	994,83	1,51	993,32	1,48	991,84	1,46	990,38	1,42	988,96	1,41	987,55	1,37	986,18	1,36	984,82	1,34	983,48	1,32	982,16	1,30	980,86	1,28	979,58	1,28
	0,32		0,33		0,33		0,33		0,33		0,34		0,35		0,35		0,34		0,35		0,36		0,37	
34°	994,51	1,52	992,99	1,48	991,51	1,46	990,05	1,44	988,61	1,40	987,21	1,38	985,83	1,36	984,47	1,33	983,14	1,33	981,81	1,31	980,50	1,29	979,21	1,28
	0,33		0,33		0,34		0,35		0,34		0,35		0,35		0,35		0,36		0,36		0,36		0,37	
35°	994,18	1,52	992,66	1,49	991,17	1,47	989,70	1,43	988,27	1,41	986,86	1,38	985,48	1,36	984,12	1,34	982,78	1,33	981,45	1,31	980,14	1,30	978,84	1,29
	0,34		0,35		0,35		0,35		0,35		0,35		0,35		0,36		0,36		0,37		0,37		0,38	
36°	993,84	1,53	992,31	1,49	990,82	1,47	989,35	1,43	987,92	1,41	986,51	1,38	985,13	1,37	983,76	1,34	982,42	1,34	981,08	1,31	979,77	1,31	978,46	1,29
	0,35		0,35		0,36		0,35		0,36		0,36		0,37		0,37		0,38		0,37		0,39		0,39	
37°	993,49	1,53	991,96	1,50	990,46	1,46	989,00	1,44	987,56	1,41	986,15	1,39	984,76	1,37	983,39	1,35	982,04	1,33	980,71	1,33	979,38	1,31	978,07	1,30
	0,36		0,36		0,36		0,37		0,37		0,37		0,37		0,37		0,38		0,38		0,38		0,39	
38°	993,13	1,53	991,60	1,50	990,10	1,47	988,63	1,44	987,19	1,41	985,78	1,39	984,39	1,37	983,02	1,36	981,66	1,34	980,32	1,32	979,00	1,32	977,68	1,31
	0,36		0,37		0,37		0,37		0,38		0,38		0,38		0,39		0,38		0,39		0,40		0,40	
39°	992,77	1,54	991,23	1,50	989,73	1,47	988,26	1,45	986,81	1,41	985,40	1,39	984,01	1,38	982,63	1,35	981,28	1,35	979,93	1,33	978,60	1,32	977,28	1,32
	0,37		0,37		0,38		0,39		0,38		0,39		0,39		0,39		0,40		0,39		0,40		0,41	
40°	992,40	1,54	990,86	1,51	989,35	1,48	987,87	1,44	986,43	1,42	985,01	1,39	983,62	1,38	982,24	1,36	980,88	1,34	979,54	1,34	978,20	1,33	976,87	1,32

t °C	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	10		**11**		**12**		**13**		**14**		**15**		**16**		**17**		**18**		**19**		**20**		**21**	
0°	986,93	1,00	985,93	0,95	984,98	0,92	984,06	0,88	983,18	0,84	982,34	0,80	981,54	0,78	980,76	0,75	980,01	0,73	979,28	0,72	978,56	0,70	977,86	0,70
	– 0,02		– 0,01		0,01		0,01		0,03		0,04		0,07		0,08		0,10		0,12		0,14		0,17	
1°	986,95	1,01	985,94	0,97	984,97	0,92	984,05	0,90	983,15	0,85	982,30	0,83	981,47	0,79	980,68	0,77	979,91	0,75	979,16	0,74	978,42	0,73	977,69	0,72
	– 0,01		0,00		0,01		0,03		0,04		0,07		0,08		0,10		0,12		0,14		0,16		0,18	
2°	986,96	1,02	985,94	0,98	984,96	0,94	984,02	0,91	983,11	0,88	982,23	0,84	981,39	0,81	980,58	0,79	979,79	0,77	979,02	0,76	978,26	0,75	977,51	0,74
	0,01		0,02		0,04		0,05		0,06		0,07		0,09		0,11		0,13		0,15		0,17		0,19	
3°	986,95	1,03	985,92	1,00	984,92	0,95	983,97	0,92	983,05	0,89	982,16	0,86	981,30	0,83	980,47	0,81	979,66	0,79	978,87	0,78	978,09	0,77	977,32	0,77
	0,03		0,04		0,04		0,06		0,07		0,09		0,10		0,12		0,14		0,16		0,18		0,20	
4°	986,92	1,04	985,88	1,00	984,88	0,97	983,91	0,93	982,98	0,91	982,07	0,87	981,20	0,85	980,35	0,83	979,52	0,81	978,71	0,80	977,91	0,79	977,12	0,79
	0,04		0,05		0,06		0,07		0,09		0,10		0,12		0,14		0,15		0,17		0,19		0,22	
5°	986,88	1,05	985,83	1,01	984,82	0,98	983,84	0,95	982,89	0,92	981,97	0,89	981,08	0,87	980,21	0,84	979,37	0,83	978,54	0,82	977,72	0,82	976,90	0,80
	0,05		0,06		0,08		0,09		0,10		0,12		0,13		0,14		0,17		0,19		0,21		0,22	
6°	986,83	1,06	985,77	1,03	984,74	0,99	983,75	0,96	982,79	0,94	981,85	0,90	980,95	0,88	980,07	0,87	979,20	0,85	978,35	0,84	977,51	0,83	976,68	0,83
	0,08		0,09		0,09		0,10		0,12		0,13		0,15		0,16		0,18		0,19		0,21		0,23	
7°	986,75	1,07	985,68	1,03	984,65	1,00	983,65	0,98	982,67	0,95	981,72	0,92	980,80	0,89	979,91	0,89	979,02	0,86	978,16	0,86	977,30	0,85	976,45	0,85
	0,08		0,09		0,11		0,13		0,13		0,14		0,15		0,18		0,19		0,21		0,23		0,25	
8°	986,67	1,08	985,59	1,05	984,54	1,02	983,52	0,98	982,54	0,96	981,58	0,93	980,65	0,92	979,73	0,90	978,83	0,88	977,95	0,88	977,07	0,87	976,20	0,87
	0,10		0,11		0,12		0,12		0,14		0,16		0,18		0,19		0,21		0,22		0,24		0,26	
9°	986,57	1,09	985,48	1,06	984,42	1,02	983,40	1,00	982,40	0,98	981,42	0,95	980,47	0,93	979,54	0,92	978,62	0,89	977,73	0,90	976,83	0,89	975,94	0,89
	0,11		0,12		0,12		0,14		0,16		0,17		0,18		0,20		0,20		0,23		0,24		0,26	
10°	986,46	1,10	985,36	1,06	984,30	1,04	983,26	1,02	982,24	0,99	981,25	0,96	980,29	0,95	979,34	0,92	978,42	0,92	977,50	0,91	976,59	0,91	975,68	0,91
	0,12		0,13		0,14		0,16		0,16		0,17		0,19		0,20		0,23		0,25		0,27		0,29	
11°	986,34	1,11	985,23	1,07	984,16	1,06	983,10	1,02	982,08	1,00	981,08	0,98	980,10	0,96	979,14	0,95	978,19	0,94	977,25	0,93	976,32	0,93	975,39	0,92
	0,13		0,14		0,16		0,16		0,18		0,19		0,21		0,22		0,24		0,25		0,27		0,28	
12°	986,21	1,12	985,09	1,09	984,00	1,06	982,94	1,04	981,90	1,01	980,89	1,00	979,89	0,97	978,92	0,97	977,95	0,95	977,00	0,95	976,05	0,94	975,11	0,95
	0,15		0,16		0,16		0,18		0,19		0,20		0,21		0,23		0,24		0,26		0,28		0,30	
13°	986,06	1,13	984,93	1,09	983,84	1,08	982,76	1,05	981,71	1,02	980,69	1,01	979,68	0,99	978,69	0,98	977,71	0,97	976,74	0,97	975,77	0,96	974,81	0,96
	0,16		0,16		0,18		0,18		0,20		0,22		0,23		0,24		0,26		0,27		0,28		0,30	
14°	985,90	1,13	984,77	1,11	983,66	1,08	982,58	1,07	981,51	1,04	980,47	1,02	979,45	1,00	978,45	1,00	977,45	0,98	976,47	0,98	975,49	0,98	975,51	0,98
	0,17		0,18		0,19		0,20		0,21		0,22		0,24		0,25		0,26		0,28		0,30		0,32	
15°	985,73	1,14	984,59	1,12	983,47	1,09	982,38	1,08	981,30	1,05	960,25	1,04	979,21	1,01	978,20	1,01	977,19	1,00	976,19	1,00	975,19	1,00	974,19	1,00
	0,18		0,19		0,20		0,22		0,22		0,24		0,24		0,27		0,28		0,30		0,31		0,32	
16°	985,55	1,15	984,40	1,13	983,27	1,11	982,16	1,08	981,08	1,07	980,01	1,04	978,97	1,04	977,93	1,02	976,91	1,02	975,89	1,01	974,88	1,01	973,87	1,02
	0,19		0,20		0,21		0,22		0,23		0,24		0,26		0,27		0,29		0,30		0,32		0,33	
17°	985,36	1,16	984,20	1,14	983,06	1,12	981,94	1,09	980,85	1,08	979,77	1,06	978,71	1,05	977,66	1,04	976,62	1,03	975,59	1,03	974,56	1,02	973,54	1,04
	0,21		0,22		0,22		0,23		0,25		0,26		0,27		0,28		0,29		0,31		0,32		0,35	
18°	985,15	1,17	983,98	1,14	982,84	1,13	981,71	1,11	980,60	1,09	979,51	1,07	978,44	1,06	977,38	1,05	976,33	1,05	975,28	1,04	974,24	1,05	973,19	1,05
	0,21		0,22		0,24		0,24		0,25		0,26		0,28		0,29		0,31		0,32		0,34		0,35	
19°	984,94	1,18	983,76	1,16	982,60	1,13	981,47	1,12	980,35	1,10	979,25	1,09	978,16	1,07	977,09	1,07	976,02	1,06	974,96	1,06	973,90	1,06	972,84	1,06
	0,23		0,24		0,24		0,26		0,27		0,28		0,29		0,30		0,31		0,33		0,34		0,36	
20°	984,71	1,19	983,52	1,16	982,36	1,15	981,21	1,13	980,08	1,11	978,97	1,10	977,87	1,08	976,79	1,08	975,71	1,08	974,63	1,07	973,56	1,08	972,48	1,08

t °C	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	10		**11**		**12**		**13**		**14**		**15**		**16**		**17**		**18**		**19**		**20**		**21**	
20°	984,71	1,19	983,52	1,16	982,36	1,15	981,21	1,13	980,08	1,11	978,97	1,10	977,87	1,08	976,79	1,08	975,71	1,08	974,63	1,07	973,56	1,08	972,48	1,08
	0,24		0,24		0,26		0,26		0,27		0,28		0,29		0,31		0,33		0,34		0,36		0,37	
21°	984,47	1,19	983,28	1,18	982,10	1,15	980,95	1,14	978,81	1,12	978,69	1,11	977,58	1,10	976,48	1,10	975,38	1,09	974,29	1,09	973,20	1,09	972,11	1,09
	0,24		0,26		0,28		0,29		0,30		0,31		0,33		0,33		0,35		0,35		0,36		0,37	
22°	984,23	1,21	983,02	1,18	981,84	1,17	980,67	1,15	979,52	1,13	978,39	1,12	977,27	1,12	976,15	1,10	975,05	1,11	973,94	1,10	972,84	1,10	971,74	1,12
	0,26		0,26		0,27		0,28		0,29		0,31		0,32		0,33		0,35		0,35		0,37		0,39	
23°	983,97	1,20	982,77	1,20	981,57	1,18	980,39	1,16	979,23	1,15	978,08	1,13	976,95	1,13	975,82	1,12	974,70	1,11	973,59	1,12	972,47	1,12	972,47	1,12
	0,27		0,29		0,29		0,29		0,30		0,31		0,33		0,33		0,35		0,37		0,38		0,40	
24°	983,70	1,22	982,48	1,20	981,28	1,18	980,10	1,17	978,93	1,16	977,77	1,15	976,62	1,13	975,49	1,14	974,35	1,13	973,22	1,13	972,09	1,14	970,95	1,14
	0,28		0,28		0,29		0,31		0,32		0,33		0,33		0,35		0,36		0,37		0,39		0,40	
25°	983,42	1,22	982,20	1,21	980,99	1,20	979,79	1,18	978,61	1,17	977,44	1,15	976,29	1,15	975,14	1,15	973,99	1,14	972,85	1,15	971,70	1,15	970,55	1,16
	0,28		0,30		0,31		0,31		0,32		0,33		0,35		0,36		0,37		0,39		0,40		0,41	
26°	983,14	1,24	981,90	1,22	980,68	1,20	979,48	1,19	978,29	1,18	977,11	1,17	975,94	1,16	974,78	1,16	973,62	1,16	972,46	1,16	971,30	1,16	970,14	1,17
	0,30		0,30		0,31		0,32		0,33		0,34		0,35		0,36		0,38		0,39		0,40		0,42	
27°	982,84	1,24	981,60	1,23	980,37	1,21	979,16	1,20	977,96	1,19	976,77	1,18	975,59	1,17	974,42	1,18	973,24	1,17	972,07	1,17	970,90	1,18	969,72	1,18
	0,31		0,32		0,32		0,33		0,34		0,35		0,36		0,38		0,38		0,40		0,41		0,43	
28°	982,53	1,25	981,28	1,23	980,05	1,22	978,83	1,21	977,62	1,20	976,42	1,19	975,23	1,19	974,04	1,18	972,86	1,19	971,67	1,18	970,49	1,20	969,29	1,20
	0,31		0,32		0,33		0,34		0,35		0,36		0,37		0,38		0,40		0,40		0,42		0,43	
29°	982,22	1,26	980,96	1,24	979,72	1,23	978,49	1,22	977,27	1,21	976,06	1,20	974,86	1,20	973,66	1,20	972,46	1,19	971,27	1,20	970,07	1,21	968,86	1,22
	0,32		0,33		0,34		0,35		0,36		0,37		0,38		0,40		0,41		0,43		0,44		0,45	
30°	981,90	1,27	980,63	1,25	979,38	1,24	978,14	1,23	976,91	1,22	975,69	1,21	974,48	1,22	973,26	1,21	972,05	1,21	970,84	1,21	969,63	1,22	968,41	1,23
	0,34		0,34		0,35		0,36		0,37		0,38		0,40		0,40		0,41		0,42		0,44		0,45	
31°	981,56	1,27	980,29	1,26	979,03	1,25	977,78	1,24	976,54	1,23	975,31	1,23	974,08	1,22	972,86	1,22	971,64	1,22	970,42	1,23	969,19	1,23	967,96	1,24
	0,35		0,36		0,36		0,37		0,38		0,39		0,39		0,40		0,42		0,43		0,44		0,46	
32°	981,21	1,28	979,93	1,26	978,67	1,26	977,41	1,25	976,16	1,24	974,92	1,23	973,69	1,23	972,46	1,24	971,22	1,23	969,99	1,24	968,75	1,25	967,50	1,25
	0,35		0,35		0,37		0,37		0,38		0,39		0,40		0,42		0,42		0,44		0,45		0,46	
33°	980,86	1,28	979,58	1,28	978,30	1,26	977,04	1,26	975,78	1,25	974,53	1,24	973,29	1,25	972,04	1,24	970,80	1,25	969,55	1,25	968,30	1,26	967,04	1,27
	0,36		0,37		0,37		0,38		0,39		0,40		0,41		0,42		0,43		0,44		0,46		0,47	
34°	980,50	1,29	979,21	1,28	977,93	1,27	976,66	1,27	975,39	1,26	974,13	1,25	972,88	1,26	971,62	1,25	970,37	1,26	969,11	1,27	967,84	1,27	966,57	1,29
	0,36		0,37		0,38		0,39		0,39		0,40		0,42		0,42		0,44		0,46		0,46		0,48	
35°	980,14	1,30	978,84	1,29	977,55	1,28	976,27	1,27	975,00	1,27	973,73	1,27	972,46	1,26	971,20	1,27	969,93	1,28	968,65	1,27	967,38	1,29	966,09	1,30
	0,37		0,38		0,38		0,39		0,40		0,41		0,42		0,44		0,45		0,45		0,47		0,48	
36°	979,77	1,31	978,46	1,29	977,17	1,29	975,88	1,28	974,60	1,28	973,32	1,28	972,04	1,28	970,76	1,28	969,48	1,28	968,20	1,29	966,91	1,30	965,61	1,32
	0,39		0,39		0,40		0,40		0,41		0,42		0,43		0,44		0,45		0,47		0,48		0,49	
37°	978,38	1,31	978,07	1,30	976,77	1,29	975,48	1,29	974,19	1,29	972,90	1,29	971,61	1,29	970,32	1,29	969,03	1,30	967,73	1,30	966,43	1,31	965,12	1,33
	0,38		0,39		0,40		0,41		0,42		0,43		0,44		0,45		0,46		0,47		0,49		0,50	
38°	979,00	1,32	977,68	1,31	976,37	1,30	975,07	1,30	973,77	1,30	972,47	1,30	971,17	1,30	969,87	1,30	968,57	1,31	967,26	1,32	965,94	1,32	964,62	1,34
	0,40		0,40		0,41		0,42		0,42		0,43		0,44		0,45		0,47		0,48		0,49		0,50	
39°	978,60	1,32	977,28	1,32	975,96	1,31	974,65	1,30	973,35	1,31	972,04	1,31	970,73	1,31	969,42	1,32	968,10	1,32	966,78	1,33	965,45	1,33	964,12	1,36
	0,40		0,41		0,41		0,42		0,43		0,44		0,45		0,46		0,47		0,48		0,49		0,51	
40°	978,20	1,33	976,87	1,32	975,55	1,32	974,23	1,31	972,92	1,32	971,60	1,32	970,28	1,32	968,96	1,33	967,63	1,33	966,30	1,34	964,96	1,35	963,61	1,37

t °C	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	20		**21**		**22**		**23**		**24**		**25**		**26**		**27**		**28**		**29**		**30**		**31**	
0°	978,56	0,70	977,86	0,70	977,16	0,69	976,47	0,71	975,76	0,71	975,05	0,72	974,33	0,75	973,58	0,77	972,81	0,80	972,01	0,83	971,18	0,87	970,31	0,90
	0,14		0,17		0,19		0,22		0,24		0,26		0,29		0,31		0,34		0,36		0,39		0,41	
1°	978,42	0,73	977,69	0,72	976,97	0,72	976,25	0,73	975,52	0,73	974,79	0,75	974,04	0,77	973,27	0,80	972,47	0,82	971,65	0,86	970,79	0,89	969,90	0,92
	0,16		0,18		0,20		0,23		0,25		0,28		0,30		0,32		0,34		0,37		0,39		0,41	
2°	978,26	0,75	977,51	0,74	976,77	0,75	976,02	0,75	975,27	0,76	974,51	0,77	973,74	0,79	972,95	0,82	972,13	0,85	971,28	0,88	970,40	0,91	969,49	0,95
	0,17		0,19		0,22		0,23		0,26		0,28		0,31		0,33		0,36		0,38		0,40		0,42	
3°	978,09	0,77	977,32	0,77	976,55	0,76	975,79	0,78	975,01	0,78	974,23	0,80	973,43	0,81	972,62	0,85	971,77	0,87	970,90	0,90	970,00	0,93	969,07	0,98
	0,18		0,20		0,22		0,25		0,27		0,29		0,31		0,34		0,36		0,38		0,40		0,43	
4°	977,91	0,79	977,12	0,79	976,33	0,79	975,54	0,80	974,94	0,80	973,94	0,82	973,12	0,84	972,28	0,87	971,41	0,89	970,52	0,92	969,60	0,96	968,64	1,00
	0,19		0,22		0,23		0,26		0,27		0,30		0,33		0,35		0,37		0,39		0,42		0,44	
5°	977,72	0,82	976,90	0,80	976,10	0,82	975,28	0,81	974,47	0,83	973,64	0,85	972,79	0,86	971,93	0,89	971,04	0,91	970,13	0,95	969,18	0,98	968,20	1,01
	0,21		0,22		0,25		0,26		0,29		0,31		0,33		0,35		0,37		0,40		0,42		0,44	
6°	977,51	0,83	976,68	0,83	975,85	0,83	975,02	0,84	974,18	0,85	973,33	0,87	972,46	0,86	971,58	0,91	970,67	0,94	969,73	0,97	968,76	1,00	967,76	1,03
	0,21		0,23		0,25		0,28		0,30		0,32		0,34		0,36		0,38		0,40		0,42		0,44	
7°	977,30	0,85	976,45	0,85	975,60	0,86	974,74	0,86	973,88	0,87	973,01	0,89	972,12	0,90	971,22	0,93	970,29	0,96	969,33	0,99	968,34	1,02	967,32	1,06
	0,23		0,25		0,27		0,28		0,31		0,33		0,35		0,37		0,40		0,42		0,43		0,46	
8°	977,07	0,87	976,20	0,87	975,33	0,87	974,46	0,89	973,57	0,89	972,68	0,91	971,77	0,92	970,85	0,96	969,89	0,98	968,91	1,00	967,91	1,05	966,86	1,07
	0,24		0,26		0,28		0,30		0,31		0,34		0,35		0,38		0,39		0,41		0,44		0,46	
9°	976,83	0,89	975,94	0,89	975,05	0,89	974,16	0,90	973,26	0,92	972,34	0,92	971,42	0,95	970,47	0,97	969,50	1,00	968,50	1,03	967,47	1,07	966,40	1,09
	0,24		0,26		0,28		0,30		0,33		0,34		0,37		0,39		0,41		0,43		0,45		0,46	
10°	976,59	0,91	975,68	0,91	974,77	0,91	973,86	0,93	972,93	0,93	972,00	0,95	971,05	0,97	970,08	0,99	969,09	1,02	968,07	1,05	967,02	1,08	965,94	1,12
	0,27		0,29		0,30		0,33		0,34		0,36		0,38		0,40		0,42		0,44		0,46		0,47	
11°	976,32	0,93	975,39	0,92	974,47	0,94	973,53	0,94	972,59	0,95	971,64	0,97	970,67	0,99	969,68	1,01	968,67	1,04	967,63	1,07	966,56	1,09	965,47	1,13
	0,27		0,28		0,31		0,32		0,34		0,36		0,38		0,40		0,42		0,44		0,45		0,48	
12°	976,05	0,94	975,11	0,95	974,16	0,95	973,21	0,96	972,25	0,97	971,28	0,99	970,29	1,01	969,28	1,03	968,25	1,06	967,19	1,08	966,11	1,12	964,99	1,15
	0,28		0,30		0,31		0,33		0,35		0,37		0,39		0,41		0,43		0,45		0,47		0,49	
13°	975,77	0,96	974,81	0,96	973,85	0,97	972,88	0,98	971,90	0,99	970,91	1,01	969,90	1,03	968,87	1,05	967,82	1,08	966,74	1,10	965,64	1,14	964,50	1,17
	0,28		0,30		0,32		0,34		0,36		0,38		0,40		0,41		0,43		0,45		0,47		0,49	
14°	975,49	0,98	974,51	0,98	973,53	0,99	972,54	1,00	971,54	1,01	970,53	1,03	969,50	1,04	968,46	1,07	967,39	1,10	966,29	1,12	965,17	1,16	964,01	1,19
	0,30		0,32		0,34		0,35		0,37		0,39		0,40		0,42		0,44		0,46		0,48		0,49	
15°	975,19	1,00	974,19	1,00	973,19	1,00	972,19	1,02	971,17	1,03	970,14	1,04	969,10	1,06	968,04	1,09	966,95	1,12	965,83	1,14	964,69	1,17	963,52	1,21
	0,31		0,32		0,34		0,36		0,37		0,39		0,41		0,43		0,45		0,46		0,48		0,51	
16°	974,88	1,01	973,87	1,02	972,85	1,02	971,83	1,03	970,80	1,05	969,75	1,06	968,69	1,08	967,61	1,11	966,50	1,13	965,37	1,16	964,21	1,20	963,01	1,22
	0,32		0,33		0,35		0,37		0,39		0,40		0,42		0,44		0,45		0,48		0,50		0,50	
17°	974,56	1,02	973,54	1,04	972,50	1,04	971,46	1,05	970,41	1,06	969,35	1,08	968,27	1,10	967,17	1,12	966,05	1,16	964,89	1,18	963,71	1,20	962,51	1,24
	0,32		0,35		0,36		0,37		0,39		0,41		0,43		0,45		0,47		0,48		0,49		0,52	
18°	974,24	1,05	973,19	1,05	972,14	1,05	971,09	1,07	970,02	1,08	968,94	1,10	967,84	1,12	966,72	1,14	965,58	1,17	964,41	1,19	963,22	1,23	961,99	1,25
	0,34		0,35		0,36		0,39		0,40		0,42		0,43		0,45		0,47		0,48		0,50		0,52	
19°	973,90	1,06	972,84	1,06	971,78	1,08	970,70	1,08	969,62	1,10	968,52	1,11	967,41	1,14	966,27	1,16	965,11	1,18	963,93	1,21	962,72	1,25	961,47	1,27
	0,34		0,36		0,38		0,39		0,41		0,42		0,45		0,46		0,47		0,49		0,51		0,52	
20	973,56	1,08	972,48	1,08	971,40	1,09	970,31	1,10	969,21	1,11	968,10	1,14	966,96	1,15	965,81	1,17	964,64	1,20	963,44	1,23	962,21	1,26	960,95	1,29

t °C	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	20		**21**		**22**		**23**		**24**		**25**		**26**		**27**		**28**		**29**		**30**		**31**	
20°	973,56	1,08	972,48	1,08	971,40	1,09	970,31	1,10	969,21	1,11	968,10	1,14	966,96	1,15	965,81	1,17	964,64	1,20	963,44	1,23	962,21	1,26	960,95	1,29
	0,36		0,37		0,38		0,40		0,42		0,44		0,45		0,46		0,49		0,50		0,52		0,53	
21°	973,20	1,09	972,11	1,09	971,02	1,11	969,91	1,12	968,79	1,13	967,66	1,15	966,51	1,16	965,35	1,20	964,15	1,21	962,94	1,25	961,69	1,27	960,42	1,31
	0,36		0,37		0,40		0,41		0,42		0,44		0,45		0,48		0,49		0,51		0,52		0,54	
22°	972,84	1,10	971,74	1,12	970,62	1,12	969,50	1,13	968,37	1,15	967,22	1,16	966,06	1,19	964,87	1,21	963,66	1,23	962,43	1,26	961,17	1,29	959,88	1,32
	0,37		0,39		0,40		0,42		0,43		0,45		0,47		0,48		0,49		0,51		0,53		0,55	
23°	972,47	1,12	971,35	1,13	970,22	1,14	969,08	1,14	967,94	1,17	966,77	1,18	965,59	1,20	964,39	1,22	963,17	1,25	961,92	1,28	960,64	1,31	959,33	1,33
	0,38		0,40		0,41		0,42		0,44		0,45		0,47		0,49		0,51		0,52		0,54		0,55	
24°	972,09	1,14	970,95	1,14	969,81	1,15	968,66	1,16	967,50	1,18	966,32	1,20	965,12	1,22	963,90	1,24	962,66	1,26	961,40	1,30	960,10	1,32	958,78	1,35
	0,39		0,40		0,42		0,43		0,45		0,47		0,48		0,49		0,51		0,53		0,54		0,55	
25°	971,70	1,15	970,55	1,16	969,39	1,16	968,23	1,18	967,05	1,20	965,85	1,21	964,64	1,23	963,41	1,26	962,15	1,28	960,87	1,31	959,56	1,33	958,23	1,37
	0,40		0,41		0,42		0,44		0,46		0,47		0,49		0,50		0,51		0,53		0,54		0,57	
26°	971,30	1,16	970,14	1,17	968,97	1,18	967,79	1,20	966,59	1,21	965,38	1,23	964,15	1,24	962,91	1,27	961,64	1,30	960,34	1,32	959,02	1,36	957,66	1,38
	0,40		0,42		0,43		0,45		0,46		0,48		0,49		0,51		0,53		0,54		0,56		0,56	
27°	970,90	1,18	969,72	1,18	968,54	1,20	967,34	1,21	966,13	1,23	964,90	1,24	963,66	1,26	962,40	1,29	961,11	1,31	959,80	1,34	958,46	1,36	957,10	1,40
	0,41		0,43		0,45		0,46		0,47		0,48		0,50		0,52		0,54		0,56		0,57		0,59	
28°	970,49	1,20	969,29	1,20	968,09	1,21	966,88	1,22	965,66	1,24	964,42	1,26	963,16	1,28	961,88	1,31	960,57	1,33	959,24	1,35	957,89	1,38	956,51	1,41
	0,42		0,43		0,45		0,47		0,49		0,50		0,52		0,53		0,53		0,55		0,56		0,58	
29°	970,07	1,21	968,86	1,22	967,64	1,23	966,41	1,24	965,17	1,25	963,92	1,28	962,64	1,29	961,35	1,31	960,04	1,35	958,69	1,36	957,33	1,40	955,93	1,42
	0,44		0,45		0,46		0,47		0,49		0,50		0,51		0,43		0,55		0,55		0,58		0,58	
30°	969,63	1,22	968,41	1,23	967,18	1,24	965,94	1,26	964,68	1,26	963,42	1,29	962,13	1,31	960,82	1,33	959,49	1,35	958,14	1,39	956,75	1,40	955,35	1,44
	0,44		0,45		0,46		0,48		0,49		0,51		0,52		0,53		0,55		0,57		0,58		0,60	
31°	969,19	1,23	967,96	1,24	966,72	1,26	965,46	1,27	964,19	1,28	962,91	1,30	961,61	1,32	960,29	1,35	958,94	1,37	957,57	1,40	956,17	1,42	954,75	1,44
	0,44		0,46		0,47		0,48		0,50		0,51		0,53		0,54		0,55		0,57		0,58		0,59	
32°	968,75	1,25	967,50	1,25	966,25	1,27	964,98	1,29	963,69	1,29	962,40	1,32	961,08	1,33	959,75	1,36	958,39	1,39	957,00	1,41	955,59	1,43	954,16	1,46
	0,45		0,46		0,48		0,49		0,50		0,52		0,53		0,55		0,57		0,57		0,59		0,61	
33°	968,30	1,26	967,04	1,27	965,77	1,28	964,49	1,30	963,19	1,31	961,88	1,33	960,55	1,35	959,20	1,38	957,82	1,39	956,43	1,43	955,00	1,45	953,55	1,47
	0,46		0,47		0,49		0,50		0,51		0,53		0,54		0,56		0,56		0,59		0,59		0,60	
34°	967,84	1,27	966,57	1,29	965,28	1,29	963,99	1,31	962,68	1,33	961,35	1,34	960,01	1,37	958,64	1,38	957,26	1,42	955,84	1,43	954,41	1,46	952,95	1,49
	0,46		0,48		0,49		0,51		0,52		0,53		0,55		0,56		0,58		0,58		0,60		0,62	
35°	967,38	1,29	966,09	1,30	964,79	1,31	963,48	1,32	962,16	1,34	960,82	1,36	959,46	1,38	958,08	1,40	956,68	1,42	955,26	1,45	953,81	1,48	952,33	1,50
	0,47		0,48		0,50		0,51		0,53		0,54		0,55		0,57		0,58		0,60		0,61		0,62	
36°	966,91	1,30	965,61	1,32	964,29	1,32	962,97	1,34	961,63	1,35	960,28	1,37	958,91	1,40	957,51	1,41	956,10	1,44	954,66	1,46	953,20	1,49	951,71	1,51
	0,48		0,49		0,50		0,52		0,53		0,55		0,56		0,57		0,59		0,60		0,61		0,62	
37°	966,43	1,31	965,12	1,33	963,79	1,34	962,45	1,35	961,10	1,37	959,73	1,38	958,35	1,41	956,94	1,43	955,51	1,45	954,06	1,47	952,59	1,50	951,09	1,53
	0,49		0,50		0,51		0,52		0,54		0,55		0,57		0,58		0,59		0,60		0,62		0,63	
38°	965,94	1,32	964,62	1,34	963,28	1,35	961,93	1,37	960,56	1,38	959,18	1,40	957,78	1,42	956,36	1,44	954,92	1,46	953,46	1,49	951,97	1,51	950,46	1,54
	0,49		0,50		0,52		0,53		0,54		0,56		0,57		0,58		0,60		0,61		0,62		0,64	
39°	965,45	1,33	964,12	1,36	962,76	1,36	961,40	1,38	960,02	1,40	958,62	1,41	957,21	1,43	955,78	1,46	954,32	1,47	952,85	1,50	951,35	1,53	949,82	1,55
	0,49		0,51		0,52		0,54		0,55		0,56		0,58		0,59		0,60		0,62		0,63		0,64	
40°	964,96	1,35	963,61	1,37	962,24	1,38	960,86	1,39	959,47	1,41	958,06	1,43	956,63	1,44	955,19	1,47	953,72	1,49	952,23	1,51	950,72	1,54	949,18	1,57

TABELA II

MIĘDZYNARODOWA TABELA ZAWARTOŚCI ALKOHOLU W TEMPERATURZE 20 °C

Tabela poprawek, które należy zastosować wobec widocznej wartości zawartości alkoholu w celu uzyskania wyniku zgodnego z temperaturą

Podaną poniżej wartość poprawki dodać lub odjąć od widocznej zawartości alkoholu w temperaturze *t* °C (piknometr ze zwykłego szkła)

			Pozorna zawartość alkoholu w t °C																
			0	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	***7***	**8**	**9**	**10**	***11***	**12**	**13**	**14**	**15**	***16***
Temperatura (°C)	0°	Dodać	0,76	0,77	0,82	0,87	0,95	1,04	1,16	1,31	1,49	1,70	1,95	2,26	2,62	3,03	3,49	4,02	4,56
	1°		0,81	0,83	0,87	0,92	1,00	1,09	1,20	1,35	1,52	1,73	1,97	2,26	2,59	2,97	3,40	3,87	4,36
	2°		0,85	0,87	0,92	0,97	1,04	1,13	1,24	1,38	1,54	1,74	1,97	2,24	2,54	2,89	3,29	3,72	4,17
	3°		0,88	0,91	0,95	1,00	1,07	1,15	1,26	1,39	1,55	1,73	1,95	2,20	2,48	2,80	3,16	3,55	3,95
	4°		0,90	0,92	0,97	1,02	1,09	1,17	1,27	1,40	1,55	1,72	1,92	2,15	2,41	2,71	3,03	3,38	3,75
	5°		0,91	0,93	0,98	1,03	1,10	1,17	1,27	1,39	1,53	1,69	1,87	2,08	2,33	2,60	2,89	3,21	3,54
	6°		0,92	0,94	0,98	1,02	1,09	1,16	1,25	1,37	1,50	1,65	1,82	2,01	2,23	2,47	2,74	3,02	3,32
	7°		0,91	0,93	0,97	1,01	1,07	1,14	1,23	1,33	1,45	1,59	1,75	1,92	2,12	2,34	2,58	2,83	3,10
	8°		0,89	0,91	0,94	0,98	1,04	1,11	1,19	1,28	1,39	1,52	1,66	1,82	2,00	2,20	2,42	2,65	2,88
	9°		0,86	0,88	0,91	0,95	1,01	1,07	1,14	1,23	1,33	1,44	1,57	1,71	1,87	2,05	2,24	2,44	2,65
	10°		0,82	0,84	0,87	0,91	0,96	1,01	1,08	1,16	1,25	1,35	1,47	1,60	1,74	1,89	2,06	2,24	2,43
	11°		0,78	0,79	0,82	0,86	0,90	0,95	1,01	1,08	1,16	1,25	1,36	1,47	1,60	1,73	1,88	2,03	2,20
	12°		0,72	0,74	0,76	0,79	0,83	0,88	0,93	0,99	1,07	1,15	1,24	1,34	1,44	1,56	1,69	1,82	1,96
	13°		0,66	0,67	0,69	0,72	0,76	0,80	0,84	0,90	0,96	1,03	1,11	1,19	1,28	1,38	1,49	1,61	1,73
	14°		0,59	0,60	0,62	0,64	0,67	0,71	0,74	0,79	0,85	0,91	0,97	1,04	1,12	1,20	1,29	1,39	1,49
	15°		0,51	0,52	0,53	0,55	0,58	0,61	0,64	0,68	0,73	0,77	0,83	0,89	0,95	1,02	1,09	1,16	1,24
	16°		0,42	0,43	0,44	0,46	0,48	0,50	0,53	0,56	0,60	0,63	0,67	0,72	0,77	0,82	0,88	0,94	1,00
	17°		0,33	0,33	0,34	0,35	0,37	0,39	0,41	0,43	0,46	0,48	0,51	0,55	0,59	0,62	0,67	0,71	0,75
	18°		0,23	0,23	0,23	0,24	0,25	0,26	0,27	0,29	0,31	0,33	0,35	0,37	0,40	0,42	0,45	0,48	0,51
	19°		0,12	0,12	0,12	0,12	0,13	0,13	0,14	0,15	0,16	0,17	0,18	0,19	0,20	0,21	0,23	0,24	0,25

			Pozorna zawartość alkoholu w t °C																
			0	**1**	**2**	**3**	**4**	***5***	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	***15***	**16**
Temperatura (°C)	21°	Odjąć		0,13	0,13	0,13	0,14	0,14	0,15	0,16	0,17	0,18	0,19	0,19	0,20	0,22	0,23	0,25	0,26
	22°			0,26	0,27	0,28	0,29	0,30	0,31	0,32	0,34	0,36	0,37	0,39	0,41	0,44	0,47	0,49	0,52
	23°			0,40	0,41	0,42	0,44	0,45	0,47	0,49	0,51	0,54	0,57	0,60	0,63	0,66	0,70	0,74	0,78
	24°			0,55	0,56	0,58	0,60	0,62	0,64	0,67	0,70	0,73	0,77	0,81	0,85	0,89	0,94	0,99	1,04
	25°			0,69	0,71	0,73	0,76	0,79	0,82	0,85	0,89	0,93	0,97	1,02	1,07	1,13	1,19	1,25	1,31
	26°			0,85	0,87	0,90	0,93	0,96	1,00	1,04	1,08	1,13	1,18	1,24	1,30	1,36	1,43	1,50	1,57
	27°				1,03	1,07	1,11	1,15	1,19	1,23	1,28	1,34	1,40	1,46	1,53	1,60	1,68	1,76	1,84
	28°				1,21	1,25	1,29	1,33	1,38	1,43	1,49	1,55	1,62	1,69	1,77	1,85	1,93	2,02	2,11
	29°				1,39	1,43	1,47	1,52	1,58	1,63	1,70	1,76	1,84	1,92	2,01	2,10	2,19	2,29	2,39
	30°				1,57	1,61	1,66	1,72	1,78	1,84	1,91	1,98	2,07	2,15	2,25	2,35	2,45	2,56	2,67
	31°				1,75	1,80	1,86	1,92	1,98	2,05	2,13	2,21	2,30	2,39	2,49	2,60	2,71	2,83	2,94
	32°				1,94	2,00	2,06	2,13	2,20	2,27	2,35	2,44	2,53	2,63	2,74	2,86	2,97	3,09	3,22
	33°					2,20	2,27	2,34	2,42	2,50	2,58	2,67	2,77	2,88	2,99	3,12	3,24	3,37	3,51
	34°					2,41	2,48	2,56	2,64	2,72	2,81	2,91	3,02	3,13	3,25	3,38	3,51	3,65	3,79
	35°					2,62	2,70	2,78	2,86	2,95	3,05	3,16	3,27	3,39	3,51	3,64	3,78	3,93	4,08
	36°					2,83	2,91	3,00	3,09	3,19	3,29	3,41	3,53	3,65	3,78	3,91	4,05	4,21	4,37
	37°						3,13	3,23	3,33	3,43	3,54	3,65	3,78	3,91	4,04	4,18	4,33	4,49	4,65
	38°						3,36	3,47	3,57	3,68	3,79	3,91	4,03	4,17	4,31	4,46	4,61	4,77	4,94
	39°						3,59	3,70	3,81	3,93	4,05	4,17	4,30	4,44	4,58	4,74	4,90	5,06	5,23
	40°						3,82	3,94	4,06	4,18	4,31	4,44	4,57	4,71	4,86	5,02	5,19	5,36	5,53

			Pozorna zawartość alkoholu w t °C																
			14	**15**	**16**	**17**	**18**	**19**	**20**	**21**	**22**	**23**	**24**	**25**	**26**	**27**	**28**	**29**	**30**
Temperatuura (°C)	0°	Dodać	3,49	4,02	4,56	5,11	5,65	6,16	6,63	7,05	7,39	7,67	7,91	8,07	8,20	8,30	8,36	8,39	8,40
	1°		3,40	3,87	4,36	4,86	5,35	5,82	6,26	6,64	6,96	7,23	7,45	7,62	7,75	7,85	7,91	7,95	7,96
	2°		3,29	3,72	4,17	4,61	5,05	5,49	5,89	6,25	6,55	6,81	7,02	7,18	7,31	7,40	7,47	7,51	7,53
	3°		3,16	3,55	3,95	4,36	4,77	5,17	5,53	5,85	6,14	6,39	6,59	6,74	6,86	6,97	7,03	7,07	7,09
	4°		3,03	3,38	3,75	4,11	4,48	4,84	5,17	5,48	5,74	5,97	6,16	6,31	6,43	6,53	6,59	6,63	6,66
	5°		2,89	3,21	3,54	3,86	4,20	4,52	4,83	5,11	5,35	5,56	5,74	5,89	6,00	6,10	6,16	6,20	6,23
	6°		2,74	3,02	3,32	3,61	3,91	4,21	4,49	4,74	4,96	5,16	5,33	5,47	5,58	5,67	5,73	5,77	5,80
	7°		2,58	2,83	3,10	3,36	3,63	3,90	4,15	4,38	4,58	4,77	4,92	5,05	5,15	5,24	5,30	5,34	5,37
	8°		2,42	2,65	2,88	3,11	3,35	3,59	3,81	4,02	4,21	4,38	4,52	4,64	4,74	4,81	4,87	4,92	4,95
	9°		2,24	2,44	2,65	2,86	3,07	3,28	3,48	3,67	3,84	3,99	4,12	4,23	4,32	4,39	4,45	4,50	4,53
	10°		2,06	2,24	2,43	2,61	2,80	2,98	3,16	3,33	3,48	3,61	3,73	3,83	3,91	3,98	4,03	4,08	4,11
	11°		1,88	2,03	2,20	2,36	2,52	2,68	2,83	2,98	3,12	3,24	3,34	3,43	3,50	3,57	3,62	3,66	3,69
	12°		1,69	1,82	1,96	2,10	2,24	2,38	2,51	2,64	2,76	2,87	2,96	3,04	3,10	3,16	3,21	3,25	3,27
	13°		1,49	1,61	1,73	1,84	1,96	2,08	2,20	2,31	2,41	2,50	2,58	2,65	2,71	2,76	2,80	2,83	2,85
	14°		1,29	1,39	1,49	1,58	1,68	1,78	1,88	1,97	2,06	2,13	2,20	2,26	2,31	2,36	2,39	2,42	2,44
	15°		1,09	1,16	1,24	1,32	1,40	1,48	1,56	1,64	1,71	1,77	1,83	1,88	1,92	1,96	1,98	2,01	2,03
	16°		0,88	0,94	1,00	1,06	1,12	1,19	1,25	1,31	1,36	1,41	1,46	1,50	1,53	1,56	1,58	1,60	1,62
	17°		0,67	0,71	0,75	0,80	0,84	0,89	0,94	0,98	1,02	1,05	1,09	1,12	1,14	1,17	1,18	1,20	1,21
	18°		0,45	0,48	0,51	0,53	0,56	0,59	0,62	0,65	0,68	0,70	0,72	0,74	0,76	0,78	0,79	0,80	0,81
	19°		0,23	0,24	0,25	0,27	0,28	0,30	0,31	0,33	0,34	0,35	0,36	0,37	0,38	0,39	0,40	0,40	0,41

			Pozorna zawartość alkoholu w t °C																
			14	**15**	**16**	**17**	**18**	**19**	**20**	**21**	**22**	**23**	**24**	**25**	**26**	**27**	*28*	**29**	**30**
Temperatuura (°C)	21°	Odjąć	0,23	0,25	0,26	0,28	0,29	0,30	0,31	0,33	0,34	0,35	0,35	0,37	0,38	0,38	0,39	0,39	0,40
	22°		0,47	0,49	0,52	0,55	0,57	0,60	0,62	0,65	0,67	0,70	0,72	0,74	0,75	0,76	0,78	0,79	0,80
	23°		0,70	0,74	0,78	0,82	0,86	0,90	0,93	0,97	1,01	1,04	1,07	1,10	1,12	1,15	1,17	1,18	1,19
	24°		0,94	0,99	1,04	1,10	1,15	1,20	1,25	1,29	1,34	1,39	1,43	1,46	1,50	1,53	1,55	1,57	1,59
	25°		1,19	1,25	1,31	1,37	1,43	1,49	1,56	1,62	1,68	1,73	1,78	1,83	1,87	1,90	1,94	1,97	1,99
	26°		1,43	1,50	1,57	1,65	1,73	1,80	1,87	1,94	2,01	2,07	2,13	2,19	2,24	2,28	2,32	2,35	2,38
	27°		1,68	1,76	1,84	1,93	2,01	2,10	2,18	2,26	2,34	2,41	2,48	2,55	2,61	2,66	2,70	2,74	2,77
	28°		1,93	2,02	2,11	2,21	2,31	2,40	2,49	2,58	2,67	2,76	2,83	2,90	2,98	3,03	3,08	3,13	3,17
	29°		2,19	2,29	2,39	2,50	2,60	2,70	2,81	2,91	3,00	3,09	3,18	3,26	3,34	3,40	3,46	3,51	3,55
	30°		2,45	2,56	2,67	2,78	2,90	3,01	3,12	3,23	3,34	3,44	3,53	3,62	3,70	3,77	3,84	3,90	3,95
	31°		2,71	2,83	2,94	3,07	3,19	3,31	3,43	3,55	3,67	3,78	3,88	3,98	4,07	4,15	4,22	4,28	4,33
	32°		2,97	3,09	3,22	3,36	3,49	3,62	3,74	3,87	4,00	4,11	4,22	4,33	4,43	4,51	4,59	4,66	4,72
	33°		3,24	3,37	3,51	3,65	3,79	3,92	4,06	4,20	4,33	4,45	4,57	4,68	4,79	4,88	4,97	5,04	5,10
	34°		3,51	3,65	3,79	3,94	4,09	4,23	4,37	4,52	4,66	4,79	4,91	5,03	5,15	5,25	5,34	5,42	5,49
	35°		3,78	3,93	4,08	4,23	4,38	4,53	4,69	4,84	4,98	5,12	5,26	5,38	5,50	5,61	5,71	5,80	5,87
	36°		4,05	4,21	4,37	4,52	4,68	4,84	5,00	5,16	5,31	5,46	5,60	5,73	5,86	5,97	6,08	6,17	6,25
	37°		4,33	4,49	4,65	4,82	4,98	5,15	5,31	5,48	5,64	5,80	5,95	6,09	6,22	6,33	6,44	6,54	6,63
	38°		4,61	4,77	4,94	5,12	5,29	5,46	5,63	5,80	5,97	6,13	6,29	6,43,	6,57	6,69	6,81	6,92	7,01
	39°		4,90	5,06	5,23	5,41	5,59	5,77	5,94	6,12	6,30	6,47	6,63	6,78	6,93	7,06	7,18	7,29	7,39
	40°		5,19	5,36	5,53	5,71	5,90	6,08	6,26	6,44	6,62	6,80	6,97	7,13	7,28	7,41	7,54	7,66	7,76

TABELA III

MIĘDZYNARODOWA TABELA ZAWARTOŚCI ALKOHOLU W TEMPERATURZE 20 °C

Tabela gęstości pozornych mieszanin alkohol — woda — piknometr ze zwykłego szkła

Gęstości w temperaturze *t* °C z uwzględnieniem poprawki na wyporność powietrza

t °C	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	0		**1**		**2**		**3**		**4**		**5**		**6**		**7**		**8**		**9**		**10**		**11**	
0°	999,34	1,52	997,82	1,45	996,37	1,39	994,98	1,35	993,63	1,29	992,34	1,24	991,10	1,18	989,92	1,15	988,77	1,09	987,68	1,05	986,63	1,00	985,63	0,96
	−0,09		−0,09		−0,09		−0,08		−0,08		−0,08		−0,07		−0,05		−0,05		−0,04		−0,03		−0,02	
1°	999,43	1,52	997,91	1,45	996,46	1,40	995,06	1,35	993,71	1,29	992,42	1,25	991,17	1,20	989,97	1,15	988,82	1,10	987,72	1,06	986,66	1,01	985,65	0,97
	−0,06		−0,06		−0,06		−0,06		−0,06		−0,05		−0,05		−0,04		−0,03		−0,02		−0,02		−0,01	
2°	999,49	1,52	997,97	1,40	996,52	1,40	995,12	1,35	993,77	1,30	992,47	1,25	991,22	1,21	990,01	1,16	988,85	1,11	987,74	1,06	986,68	1,02	985,66	0,98
	−0,05		−0,05		−0,04		−0,04		−0,04		−0,04		−0,03		−0,03		−0,03		−0,02		0,00		0,01	
3°	999,54	1,52	998,02	1,46	996,56	1,40	995,16	1,35	993,81	1,30	992,51	1,26	991,25	1,21	990,04	1,16	988,88	1,12	987,76	1,08	986,68	1,03	985,65	0,99
	−0,03		−0,03		−0,03		−0,03		−0,02		−0,02		−0,02		−0,01		0,00		0,01		0,01		0,02	
4°	999,57	1,52	998,05	1,46	996,59	1,40	995,19	1,36	993,83	1,30	992,53	1,26	991,27	1,22	990,05	1,17	988,88	1,13	987,75	1,08	986,67	1,04	985,63	1,00
	−0,02		−0,02		−0,02		−0,02		−0,02		−0,01		0,00		0,00		0,00		0,01		0,02		0,03	
5°	999,59	1,52	998,07	1,46	996,61	1,40	995,21	1,36	993,85	1,31	992,54	1,27	991,27	1,22	990,05	1,17	988,88	1,14	987,74	1,09	986,65	1,05	985,60	1,02
	0,00		0,00		0,00		0,01		0,01		0,01		0,01		0,02		0,03		0,03		0,04		0,06	
6°	999,59	1,52	998,07	1,46	996,61	1,41	995,20	1,36	993,84	1,31	992,53	1,27	991,26	1,23	990,03	1,18	988,85	1,14	987,71	1,10	986,61	1,07	985,54	1,02
	0,01		0,01		0,01		0,01		0,01		0,02		0,02		0,02		0,03		0,04		0,05		0,06	
7°	999,58	1,52	998,06	1,46	996,60	1,41	995,19	1,36	993,83	1,32	992,51	1,27	991,24	1,23	990,01	1,19	988,82	1,15	987,67	1,11	986,56	1,08	985,48	1,04
	0,03		0,03		0,03		0,03		0,04		0,04		0,05		0,05		0,06		0,07		0,07		0,08	
8°	999,55	1,52	998,03	1,46	996,57	1,41	995,16	1,37	993,79	1,32	992,47	1,28	991,19	1,23	989,96	1,20	988,76	1,16	987,60	1,11	986,49	1,09	985,40	1,05
	0,04		0,04		0,04		0,04		0,04		0,04		0,05		0,06		0,06		0,06		0,08		0,08	
9°	999,51	1,52	997,99	1,46	996,53	1,41	995,12	1,37	993,75	1,32	992,43	1,29	991,14	1,24	989,90	1,20	988,70	1,16	987,54	1,13	986,41	1,09	985,32	1,06
	0,06		0,06		0,06		0,06		0,06		0,07		0,07		0,07		0,08		0,09		0,10		0,11	
10°	999,45	1,52	997,93	1,46	996,47	1,41	995,06	1,37	993,69	1,33	992,36	1,29	991,07	1,24	989,83	1,21	988,62	1,17	987,45	1,14	986,31	1,10	985,21	1,07
	0,07		0,06		0,06		0,07		0,07		0,07		0,07		0,08		0,09		0,10		0,10		0,11	
11°	999,38	1,51	997,87	1,46	996,41	1,42	994,99	1,37	993,62	1,33	992,29	1,29	991,00	1,25	989,75	1,22	988,53	1,18	987,35	1,14	986,21	1,11	985,10	1,08
	0,09		0,09		0,09		0,09		0,09		0,09		0,10		0,11		0,11		0,11		0,12		0,13	
12°	999,29	1,51	997,78	1,46	996,32	1,42	994,90	1,37	993,53	1,33	992,20	1,30	990,90	1,26	989,64	1,22	988,42	1,18	987,24	1,15	986,09	1,12	984,97	1,09
	0,09		0,09		0,09		0,09		0,10		0,10		0,10		0,10		0,11		0,12		0,13		0,14	
13°	999,20	1,51	997,69	1,46	996,23	1,42	994,81	1,38	993,43	1,33	992,10	1,30	990,80	1,26	989,54	1,23	988,31	1,19	987,12	1,16	985,96	1,13	984,83	1,10
	0,11		0,11		0,11		0,11		0,11		0,12		0,12		0,13		0,13		0,14		0,15		0,16	
14°	999,09	1,51	997,58	1,46	996,12	1,42	994,70	1,38	993,32	1,34	991,98	1,30	990,68	1,27	989,41	1,23	988,18	1,20	986,98	1,17	985,81	1,14	984,67	1,11
	0,12		0,12		0,12		0,12		0,12		0,12		0,13		0,13		0,14		0,14		0,15		0,16	
15°	998,97	1,51	997,46	1,46	996,00	1,42	994,58	1,38	993,20	1,34	991,86	1,31	990,55	1,27	989,28	1,24	988,04	1,20	986,84	1,18	985,66	1,15	984,51	1,12
	0,13		0,13		0,13		0,13		0,14		0,14		0,14		0,15		0,15		0,17		0,17		0,18	
16°	998,84	1,51	997,33	1,46	995,87	1,42	994,45	1,39	993,06	1,34	991,72	1,31	990,41	1,28	989,13	1,24	987,89	1,22	986,67	1,18	985,49	1,16	984,33	1,13
	0,14		0,14		0,14		0,14		0,14		0,15		0,15		0,16		0,16		0,17		0,17		0,18	
17°	998,70	1,51	997,19	1,46	995,73	1,42	994,31	1,39	992,92	1,35	991,57	1,31	990,26	1,28	988,98	1,25	987,73	1,22	986,50	1,18	985,32	1,17	984,15	1,14
	0,15		0,15		0,16		0,16		0,16		0,16		0,17		0,17		0,18		0,18		0,19		0,19	
18°	998,55	1,51	997,04	1,47	995,57	1,42	994,15	1,39	992,76	1,35	991,41	1,32	990,09	1,28	988,81	1,26	987,55	1,23	986,32	1,19	985,13	1,17	983,96	1,15
	0,17		0,16		0,16		0,16		0,16		0,16		0,17		0,18		0,18		0,19		0,20		0,21	
19°	998,38	1,50	996,88	1,47	995,41	1,42	993,99	1,39	992,60	1,35	991,25	1,33	989,92	1,29	988,63	1,26	987,37	1,24	986,13	1,20	984,93	1,18	983,75	1,16
	0,18		0,18		0,18		0,18		0,19		0,19		0,19		0,20		0,21		0,22		0,22		0,23	
20°	998,20	1,50	996,70	1,47	995,23	1,42	993,81	1,40	992,41	1,35	991,06	1,33	989,73	1,30	988,43	1,27	987,16	1,24	985,92	1,21	984,71	1,19	983,52	1,17

t °C	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	0		**1**		**2**		**3**		**4**		**5**		**6**		**7**		**8**		**9**		**10**		**11**	
20°	998,20	1,50	996,70	1,47	995,23	1,42	993,81	1,40	992,41	1,35	991,06	1,33	989,73	1,30	988,43	1,27	987,16	1,24	985,92	1,21	984,71	1,19	983,52	1,17
	0,19		0,19		0,19		0,19		0,19		0,20		0,20		0,21		0,21		0,22		0,23		0,23	
21°	998,01	1,50	996,51	1,47	995,04	1,42	993,62	1,40	992,22	1,36	990,86	1,33	989,53	1,31	988,22	1,27	986,95	1,25	985,70	1,22	984,48	1,19	983,29	1,17
	0,20		0,20		0,19		0,20		0,20		0,20		0,21		0,21		0,22		0,22		0,23		0,24	
22°	997,81	1,50	996,31	1,46	994,85	1,43	993,42	1,40	992,02	1,36	990,66	1,34	989,32	1,31	988,01	1,28	986,73	1,25	985,48	1,23	984,25	1,20	983,05	1,18
	0,21		0,21		0,21		0,21		0,21		0,22		0,22		0,22		0,23		0,24		0,24		0,25	
23°	997,60	1,50	996,10	1,46	994,64	1,43	993,21	1,40	991,81	1,37	990,44	1,34	989,10	1,31	987,79	1,29	986,50	1,26	985,24	1,23	984,01	1,21	982,80	1,19
	0,21		0,21		0,22		0,22		0,22		0,22		0,23		0,23		0,23		0,24		0,25		0,26	
24°	997,39	1,50	995,89	1,47	994,42	1,43	992,99	1,40	991,59	1,37	990,22	1,35	988,87	1,31	987,56	1,29	986,27	1,27	985,00	1,24	983,76	1,22	982,54	1,20
	0,23		0,23		0,23		0,23		0,24		0,24		0,24		0,25		0,25		0,25		0,26		0,27	
25°	997,16	1,50	995,66	1,47	994,19	1,43	992,76	1,41	991,35	1,37	989,98	1,35	988,63	1,32	987,31	1,29	986,02	1,27	984,75	1,25	983,50	1,23	982,27	1,21
	0,23		0,23		0,23		0,24		0,24		0,24		0,24		0,25		0,26		0,27		0,27		0,28	
26°	996,93	1,50	995,43	1,47	993,96	1,44	992,52	1,41	991,11	1,37	989,74	1,35	988,39	1,33	987,06	1,30	985,76	1,28	984,48	1,25	983,23	1,24	981,99	1,22
	0,25		0,25		0,25		0,25		0,25		0,26		0,26		0,26		0,27		0,28		0,29		0,29	
27°	996,68	1,50	995,18	1,47	993,71	1,44	992,27	1,41	990,86	1,38	989,48	1,35	988,13	1,33	986,80	1,31	985,49	1,29	984,20	1,26	982,94	1,24	981,70	1,23
	0,25		0,25		0,26		0,26		0,26		0,26		0,27		0,28		0,28		0,28		0,29		0,30	
28°	996,43	1,50	994,93	1,48	993,45	1,44	992,01	1,41	990,60	1,38	989,22	1,36	987,86	1,34	986,52	1,31	985,21	1,29	983,92	1,27	982,65	1,25	981,40	1,23
	0,26		0,27		0,27		0,27		0,27		0,28		0,28		0,28		0,29		0,29		0,30		0,31	
29°	996,17	1,51	994,66	1,48	993,18	1,44	991,74	1,41	990,33	1,39	988,94	1,36	987,58	1,34	986,24	1,32	984,92	1,29	983,63	1,28	982,35	1,26	981,09	1,24
	0,27		0,27		0,27		0,28		0,28		0,28		0,28		0,29		0,29		0,30		0,31		0,32	
30°	995,90	1,51	994,39	1,48	992,91	1,45	991,46	1,41	990,05	1,39	988,66	1,37	987,29	1,34	985,95	1,32	984,63	1,30	983,33	1,29	982,04	1,27	980,77	1,25
	0,29		0,29		0,29		0,29		0,30		0,30		0,30		0,31		0,31		0,32		0,32		0,32	
31°	995,61	1,51	994,10	1,48	992,62	1,45	991,17	1,42	989,75	1,39	988,36	1,37	986,99	1,35	985,64	1,33	984,31	1,30	983,01	1,29	981,72	1,27	980,45	1,26
	0,29		0,29		0,29		0,29		0,30		0,31		0,31		0,31		0,31		0,32		0,33		0,34	
32°	995,32	1,51	993,81	1,48	992,33	1,45	990,88	1,42	989,45	1,40	988,05	1,37	986,68	1,35	985,33	1,33	984,00	1,31	982,69	1,30	981,39	1,28	980,11	1,26
	0,30		0,31		0,31		0,31		0,31		0,31		0,31		0,32		0,33		0,33		0,34		0,34	
33°	995,02	1,52	993,50	1,48	992,02	1,45	990,57	1,43	989,14	1,40	987,74	1,37	986,37	1,36	985,01	1,34	983,67	1,31	982,36	1,31	981,05	1,28	979,77	1,27
	0,30		0,31		0,31		0,31		0,31		0,32		0,33		0,33		0,33		0,34		0,34		0,35	
34°	994,72	1,53	993,19	1,48	991,71	1,45	990,26	1,43	988,83	1,41	987,42	1,38	986,04	1,36	984,68	1,34	983,34	1,32	982,02	1,31	980,71	1,29	979,42	1,28
	0,32		0,32		0,32		0,33		0,33		0,33		0,33		0,33		0,33		0,34		0,34		0,35	
35°	994,40	1,53	992,87	1,48	991,39	1,46	989,93	1,43	988,50	1,41	987,09	1,38	985,71	1,36	984,35	1,34	983,01	1,33	981,68	1,31	980,37	1,30	979,07	1,29
	0,32		0,32		0,33		0,33		0,33		0,33		0,34		0,34		0,35		0,35		0,36		0,37	
36°	994,08	1,53	992,55	1,49	991,06	1,46	989,60	1,43	988,17	1,41	986,76	1,39	985,37	1,36	984,01	1,35	982,66	1,33	981,33	1,32	980,01	1,31	978,70	1,29
	0,33		0,34		0,34		0,34		0,35		0,35		0,35		0,35		0,36		0,36		0,36		0,37	
37°	993,75	1,54	992,21	1,49	990,72	1,46	989,26	1,44	987,82	1,41	986,41	1,39	985,02	1,37	983,65	1,35	982,30	1,33	980,97	1,32	979,65	1,32	978,33	1,30
	0,34		0,34		0,35		0,36		0,36		0,36		0,36		0,36		0,37		0,38		0,38		0,38	
38°	993,41	1,54	991,87	1,50	990,37	1,47	988,90	1,44	987,46	1,41	986,05	1,39	984,66	1,37	983,29	1,36	981,93	1,34	980,59	1,32	979,27	1,32	977,95	1,31
	0,35		0,35		0,36		0,36		0,36		0,37		0,37		0,37		0,37		0,38		0,38		0,39	
39°	993,06	1,54	991,52	1,51	990,01	1,47	988,54	1,44	987,10	1,41	985,68	1,39	984,29	1,37	982,92	1,36	981,56	1,34	980,22	1,33	978,89	1,33	977,56	1,31
	0,35		0,36		0,36		0,37		0,38		0,38		0,38		0,38		0,38		0,39		0,39		0,39	
40°	992,71	1,55	991,16	1,51	989,65	1,48	988,17	1,45	986,72	1,42	985,30	1,39	983,91	1,37	982,54	1,36	981,18	1,35	979,83	1,33	978,50	1,33	977,17	1,32

t°	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	10		**11**		**12**		**13**		**14**		**15**		**16**		**17**		**18**		**19**		**20**		**21**	
0	986,63	1,00	985,63	0,96	984,67	0,92	983,75	0,87	982,88	0,84	982,04	0,81	981,23	0,77	980,46	0,75	979,71	0,73	978,98	0,72	978,26	0,70	977,56	0,70
	- 0,03		- 0,02		- 0,01		0,00		0,02		0,04		0,05		0,07		0,09		0,11		0,13		0,15	
1	986,66	1,01	985,65	0,97	984,68	0,93	983,75	0,89	982,86	0,86	982,00	0,82	981,18	0,79	980,39	0,77	979,62	0,75	978,87	0,74	978,13	0,72	977,41	0,72
	- 0,02		- 0,01		0,00		0,01		0,03		0,04		0,06		0,08		0,10		0,12		0,14		0,17	
2	986,68	1,02	985,66	0,98	984,68	0,94	983,74	0,91	982,83	0,87	981,96	0,84	981,12	0,81	980,31	0,79	979,52	0,77	978,75	0,76	977,99	0,75	977,24	0,74
	0,00		0,01		0,02		0,04		0,05		0,06		0,08		0,10		0,12		0,14		0,16		0,18	
3	986,68	1,03	985,65	0,99	984,66	0,96	983,70	0,92	982,78	0,88	981,90	0,86	981,04	0,83	980,21	0,81	979,40	0,79	978,61	0,78	977,83	0,77	977,06	0,76
	0,01		0,02		0,03		0,04		0,05		0,07		0,08		0,10		0,12		0,14		0,16		0,18	
4	986,67	1,04	985,63	1,00	984,63	0,97	983,66	0,93	982,73	0,90	981,83	0,87	980,96	0,85	980,11	0,83	979,28	0,81	978,47	0,80	977,67	0,79	976,88	0,79
	0,02		0,03		0,05		0,06		0,08		0,09		0,11		0,13		0,14		0,16		0,18		0,20	
5	986,65	1,05	985,60	1,02	984,58	0,98	983,60	0,95	982,65	0,91	981,74	0,89	980,85	0,87	979,98	0,84	979,14	0,83	978,31	0,82	977,49	0,81	976,68	0,81
	0,04		0,06		0,06		0,07		0,08		0,10		0,11		0,13		0,15		0,17		0,19		0,21	
6	986,61	1,07	985,54	1,02	984,52	0,99	983,53	0,96	982,57	0,93	981,64	0,90	980,74	0,89	979,85	0,86	978,99	0,85	978,14	0,84	977,30	0,83	976,47	0,83
	0,05		0,06		0,08		0,09		0,10		0,12		0,14		0,15		0,17		0,19		0,20		0,22	
7	986,56	1,08	985,48	1,04	984,44	1,00	983,44	0,97	982,47	0,95	981,52	0,92	980,60	0,90	979,70	0,88	978,82	0,87	977,95	0,85	977,10	0,85	976,25	0,85
	0,07		0,08		0,09		0,10		0,11		0,12		0,14		0,16		0,18		0,19		0,21		0,23	
8	986,49	1,09	985,40	1,05	984,35	1,01	983,34	0,98	982,36	0,96	981,40	0,94	980,46	0,92	979,54	0,90	978,64	0,88	977,76	0,87	976,89	0,87	976,02	0,87
	0,08		0,08		0,09		0,11		0,13		0,14		0,15		0,16		0,18		0,20		0,22		0,24	
9	986,41	1,09	985,32	1,06	984,26	1,03	983,23	1,00	982,23	0,97	981,26	0,95	980,31	0,93	979,38	0,92	978,48	0,90	977,56	0,89	976,67	0,89	975,78	0,89
	0,10		0,11		0,12		0,13		0,14		0,16		0,17		0,18		0,19		0,21		0,23		0,25	
10	986,31	1,10	985,21	1,07	984,14	1,04	983,10	1,01	982,09	0,99	981,10	0,96	980,14	0,94	979,20	0,93	978,27	0,92	977,35	0,91	976,44	0,91	975,53	0,91
	0,10		0,11		0,12		0,13		0,15		0,16		0,17		0,19		0,21		0,23		0,25		0,27	
11	986,21	1,11	985,10	1,08	984,02	1,05	982,97	1,03	981,94	1,00	980,94	0,97	979,97	0,96	979,01	0,95	978,06	0,94	977,12	0,93	976,19	0,93	975,26	0,92
	0,12		0,13		0,14		0,15		0,16		0,17		0,19		0,21		0,22		0,24		0,26		0,27	
12	986,09	1,12	984,97	1,09	983,88	1,06	982,82	1,04	981,78	1,01	980,77	0,99	979,78	0,98	978,80	0,96	977,84	0,96	976,88	0,95	975,93	0,94	974,99	0,94
	0,13		0,14		0,15		0,16		0,17		0,19		0,20		0,21		0,23		0,24		0,26		0,28	
13	985,96	1,13	984,83	1,10	983,73	1,07	982,66	1,05	981,61	1,03	980,58	1,00	979,58	0,99	978,59	0,98	977,61	0,97	976,64	0,97	975,67	0,96	974,71	0,96
	0,15		0,16		0,17		0,18		0,19		0,20		0,22		0,23		0,24		0,26		0,27		0,29	
14	985,81	1,14	984,67	1,11	983,56	1,08	982,48	1,06	981,42	1,04	980,38	1,02	979,36	1,00	978,36	0,99	977,37	0,99	976,38	0,98	975,40	0,98	974,42	0,98
	0,15		0,16		0,17		0,18		0,19		0,20		0,22		0,24		0,26		0,27		0,28		0,30	
15	985,66	1,15	984,51	1,12	983,39	1,09	982,30	1,07	981,23	1,05	980,18	1,04	979,14	1,02	978,12	1,01	977,11	1,00	976,11	0,99	975,12	1,00	974,12	1,00
	0,17		0,18		0,19		0,20		0,21		0,22		0,23		0,25		0,26		0,28		0,30		0,31	
16	985,49	1,16	984,33	1,13	983,20	1,10	982,10	1,08	981,02	1,06	979,96	1,05	978,91	1,04	977,87	1,02	976,85	1,02	975,83	1,01	974,82	1,01	973,81	1,02
	0,17		0,18		0,19		0,20		0,21		0,23		0,24		0,25		0,27		0,29		0,30		0,31	
17	985,32	1,17	984,15	1,14	983,01	1,11	981,90	1,09	980,81	1,08	979,73	1,06	978,67	1,05	977,62	1,04	976,58	1,04	975,54	1,02	974,52	1,02	973,50	1,04
	0,19		0,19		0,20		0,22		0,24		0,25		0,26		0,27		0,28		0,29		0,31		0,33	
18	985,13	1,17	983,96	1,15	982,81	1,13	981,68	1,11	980,57	1,09	979,48	1,07	978,41	1,06	977,35	1,05	976,30	1,05	975,25	1,04	974,21	1,04	973,17	1,05
	0,20		0,21		0,22		0,23		0,24		0,25		0,26		0,27		0,29		0,30		0,32		0,34	
19	984,93	1,18	983,75	1,16	982,59	1,14	981,45	1,12	980,33	1,10	979,23	1,08	978,15	1,07	977,08	1,07	976,01	1,06	974,94	1,05	973,89	1,06	972,83	1,06
	0,22		0,23		0,24		0,24		0,25		0,26		0,28		0,29		0,30		0,31		0,33		0,35	
20	984,71	1,19	983,52	1,17	982,35	1,14	981,21	1,13	980,08	1,11	978,97	1,10	977,87	1,08	976,79	1,08	975,71	1,08	974,63	1,07	973,56	1,08	972,48	1,08

t°	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	10		**11**		**12**		**13**		**14**		**15**		**16**		**17**		**18**		**19**		**20**		**21**	
20°	984,71	1,19	983,52	1,17	982,35	1,14	981,21	1,13	980,08	1,11	978,97	1,10	977,87	1,08	976,79	1,08	975,71	1,08	974,63	1,07	973,56	1,08	972,48	1,08
	0,23		0,23		0,23		0,25		0,26		0,28		0,29		0,31		0,32		0,33		0,35		0,36	
21°	984,48	1,19	983,29	1,17	982,12	1,16	980,96	1,14	979,82	1,13	978,69	1,11	977,58	1,10	976,48	1,09	975,39	1,09	974,30	1,09	973,21	1,09	972,12	1,09
	0,23		0,24		0,25		0,26		0,27		0,28		0,29		0,31		0,32		0,33		0,35		0,36	
22	984,25	1,20	983,05	1,18	981,97	1,17	980,70	1,15	979,55	1,14	978,41	1,12	977,29	1,12	976,17	1,10	975,07	1,10	973,97	1,10	972,86	1,10	971,76	1,11
	0,24		0,25		0,26		0,27		0,28		0,29		0,30		0,31		0,33		0,34		0,35		0,37	
23	984,01	1,21	982,80	1,19	981,61	1,18	980,43	1,16	979,27	1,15	978,12	1,13	976,99	1,13	975,86	1,12	974,74	1,11	973,63	1,12	972,51	1,12	971,39	1,13
	0,25		0,26		0,27		0,28		0,29		0,30		0,31		0,32		0,33		0,35		0,36		0,38	
24	983,76	1,22	982,54	1,20	981,34	1,19	980,15	1,17	978,98	1,16	977,82	1,14	976,68	1,14	975,54	1,13	974,41	1,13	973,28	1,13	972,15	1,14	971,01	1,14
	0,26		0,27		0,28		0,29		0,30		0,31		0,32		0,33		0,35		0,36		0,38		0,39	
25	983,50	1,23	982,27	1,21	981,06	1,20	979,86	1,18	978,68	1,17	977,51	1,16	976,36	1,15	975,21	1,15	974,06	1,14	972,92	1,15	971,77	1,15	970,62	1,15
	0,27		0,28		0,29		0,29		0,30		0,31		0,33		0,34		0,35		0,37		0,38		0,39	
26	983,23	1,24	981,99	1,22	980,77	1,20	979,57	1,19	978,38	1,18	977,20	1,17	976,03	1,16	974,87	1,16	973,71	1,16	972,55	1,16	971,39	1,16	970,23	1,17
	0,29		0,29		0,30		0,31		0,32		0,33		0,34		0,36		0,37		0,38		0,39		0,41	
27	982,94	1,24	981,70	1,23	980,47	1,21	979,26	1,20	978,06	1,19	976,87	1,18	975,69	1,18	974,51	1,17	973,34	1,17	972,17	1,17	921,00	1,18	969,82	1,18
	0,29		0,30		0,30		0,31		0,32		0,33		0,35		0,36		0,38		0,39		0,40		0,41	
28	982,65	1,25	981,40	1,23	980,17	1,22	978,95	1,21	977,74	1,20	976,54	1,20	975,34	1,19	974,15	1,19	972,96	1,18	971,78	1,18	970,60	1,19	969,41	1,20
	0,30		0,31		0,32		0,33		0,34		0,35		0,36		0,37		0,38		0,39		0,40		0,42	
29	982,35	1,26	981,09	1,24	979,85	1,23	978,62	1,22	977,40	1,21	976,19	1,21	974,98	1,20	973,78	1,20	972,58	1,19	971,39	1,19	970,20	1,21	968,99	1,21
	0,31		0,32		0,33		0,34		0,35		0,36		0,37		0,38		0,38		0,40		0,42		0,43	
30	982,04	1,27	980,77	1,25	979,52	1,24	978,28	1,23	977,05	1,22	975,83	1,21	974,62	1,21	973,41	1,21	972,20	1,21	970,99	1,21	969,78	1,22	968,56	1,23
	0,32		0,32		0,33		0,34		0,35		0,36		0,37		0,38		0,39		0,40		0,42		0,43	
31	981,72	1,27	980,45	1,26	979,19	1,25	977,94	1,24	976,70	1,23	975,47	1,22	974,25	1,22	973,03	1,22	971,81	1,22	970,59	1,23	969,36	1,23	968,13	1,24
	0,33		0,34		0,34		0,35		0,36		0,37		0,38		0,39		0,40		0,42		0,43		0,45	
32	981,39	1,28	980,11	1,26	978,85	1,26	977,59	1,25	976,34	1,24	975,10	1,23	973,87	1,23	972,64	1,23	971,41	1,24	970,17	1,24	968,93	1,25	967,68	1,26
	0,34		0,34		0,35		0,35		0,36		0,37		0,39		0,40		0,41		0,42		0,43		0,45	
33	981,05	1,28	979,77	1,27	978,50	1,26	977,24	1,26	975,78	1,25	974,73	1,25	973,48	1,24	972,24	1,24	971,00	1,25	969,75	1,25	968,50	1,27	967,23	1,27
	0,34		0,35		0,36		0,37		0,38		0,39		0,40		0,41		0,42		0,43		0,45		0,45	
34	980,71	1,29	979,42	1,28	978,14	1,27	976,87	1,27	975,60	1,26	974,34	1,26	973,08	1,25	971,83	1,25	970,58	1,26	969,32	1,27	968,05	1,27	966,78	1,29
	0,34		0,35		0,36		0,37		0,38		0,39		0,40		0,41		0,43		0,44		0,45		0,47	
35	980,37	1,30	979,07	1,29	977,78	1,28	976,50	1,28	975,22	1,27	973,95	1,27	972,68	1,26	971,42	1,27	970,15	1,27	968,88	1,28	967,60	1,29	966,31	1,30
	0,36		0,37		0,37		0,38		0,38		0,39		0,40		0,42		0,43		0,44		0,45		0,47	
36	980,01	1,31	978,70	1,29	977,41	1,29	976,12	1,28	974,84	1,28	973,56	1,28	972,28	1,28	971,00	1,28	969,72	1,28	968,44	1,29	967,15	1,31	965,84	1,31
	0,36		0,37		0,38		0,39		0,40		0,41		0,42		0,43		0,44		0,45		0,46		0,47	
37	979,65	1,32	978,33	1,30	977,03	1,30	975,73	1,29	974,44	1,29	973,15	1,29	971,86	1,29	970,57	1,29	969,28	1,29	967,99	1,30	966,69	1,32	965,37	1,32
	0,38		0,38		0,39		0,39		0,40		0,41		0,42		0,43		0,44		0,46		0,47		0,48	
38	979,27	1,32	977,95	1,31	976,64	1,30	975,34	1,30	974,04	1,30	972,74	1,30	971,44	1,30	970,14	1,30	968,84	1,31	967,53	1,31	966,22	1,33	964,89	1,34
	0,38		0,39		0,39		0,40		0,41		0,42		0,43		0,44		0,45		0,46		0,48		0,49	
39	978,89	1,33	977,56	1,31	976,25	1,31	974,94	1,31	973,63	1,31	972,32	1,31	971,01	1,31	969,70	1,31	968,39	1,32	967,07	1,33	965,74	1,34	964,40	1,36
	0,39		0,39		0,40		0,41		0,42		0,42		0,43		0,45		0,47		0,48		0,49		0,50	
40	978,50	1,33	977,17	1,32	975,85	1,32	974,53	1,32	973,21	1,31	971,90	1,32	970,58	1,33	969,25	1,33	967,92	1,33	966,59	1,34	965,25	1,35	963,90	1,37

t °C	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	20		**21**		**22**		**23**		**24**		**25**		**26**		**27**		**28**		**29**		**30**		**31**	
0	978,26	0,70	977,56	0,70	976,86	0,69	976,17	0,70	975,47	0,72	974,75	0,72	974,03	0,74	973,29	0,77	972,52	0,80	971,72	0,83	970,89	0,87	970,02	0,90
	0,13		0,15		0,17		0,20		0,22		0,24		0,27		0,30		0,32		0,35		0,37		0,39	
1	978,13	0,72	977,41	0,72	976,69	0,72	975,97	0,72	975,25	0,74	974,51	0,75	973,76	0,77	972,99	0,79	972,20	0,83	971,37	0,85	970,52	0,89	969,63	0,93
	0,14		0,17		0,19		0,21		0,24		0,26		0,29		0,31		0,34		0,36		0,38		0,41	
2	977,99	0,75	977,24	0,74	976,50	0,74	975,76	0,75	975,01	0,76	974,25	0,78	973,47	0,79	972,68	0,82	971,86	0,85	971,01	0,87	970,14	0,92	960,22	0,96
	0,16		0,18		0,20		0,23		0,25		0,27		0,29		0,32		0,34		0,36		0,38		0,40	
3	977,83	0,77	977,06	0,76	976,30	0,77	975,53	0,77	974,76	0,78	973,98	0,80	973,18	0,82	972,36	0,84	971,52	0,87	970,65	0,89	969,76	0,94	968,82	0,98
	0,16		0,18		0,21		0,23		0,25		0,28		0,30		0,32		0,34		0,36		0,39		0,42	
4	977,67	0,79	976,88	0,79	976,09	0,79	975,30	0,79	974,51	0,81	973,70	0,82	972,88	0,84	972,04	0,86	971,18	0,89	970,29	0,92	969,37	0,96	968,40	1,00
	0,18		0,20		0,22		0,24		0,26		0,28		0,30		0,33		0,35		0,38		0,40		0,41	
5	977,49	0,81	976,68	0,81	975,87	0,81	975,06	0,81	974,25	0,83	973,42	0,84	972,58	0,86	971,71	0,88	970,83	0,92	969,91	0,94	968,97	0,98	967,99	1,02
	0,19		0,21		0,23		0,25		0,27		0,30		0,33		0,34		0,37		0,39		0,41		0,43	
6	977,30	0,83	976,47	0,83	975,64	0,83	974,81	0,84	973,97	0,85	973,12	0,87	972,25	0,88	971,37	0,91	970,46	0,94	969,52	0,96	968,56	1,00	967,56	1,04
	0,20		0,22		0,24		0,26		0,28		0,30		0,32		0,35		0,37		0,39		0,41		0,43	
7	976,10	0,85	976,25	0,85	975,40	0,85	974,55	0,86	973,69	0,87	972,82	0,89	971,93	0,91	971,02	0,93	970,09	0,96	969,13	0,98	968,15	1,02	967,13	1,06
	0,21		0,23		0,25		0,27		0,29		0,31		0,33		0,35		0,37		0,39		0,42		0,44	
8	976,89	0,87	976,02	0,87	975,15	0,87	974,28	0,88	973,40	0,89	972,51	0,91	971,60	0,93	970,67	0,95	969,72	0,98	968,74	1,01	967,73	1,04	966,69	1,08
	0,22		0,24		0,26		0,28		0,30		0,32		0,34		0,36		0,39		0,41		0,43		0,45	
9	976,67	0,89	975,78	0,89	974,89	0,89	974,00	0,90	973,10	0,91	972,19	0,93	971,26	0,95	970,31	0,98	969,33	1,00	968,33	1,03	967,30	1,06	966,24	1,09
	0,23		0,25		0,27		0,29		0,31		0,33		0,35		0,37		0,39		0,41		0,43		0,45	
10	976,44	0,91	975,53	0,91	974,62	0,91	973,71	0,92	972,79	0,93	971,86	0,95	970,91	0,97	969,94	1,00	968,94	1,02	967,92	1,05	966,87	1,08	965,79	1,11
	0,25		0,27		0,28		0,30		0,32		0,34		0,36		0,38		0,40		0,42		0,44		0,45	
11	976,11	0,93	975,26	0,92	974,34	0,93	973,41	0,94	972,47	0,95	971,52	0,97	970,55	0,99	969,56	1,02	968,54	1,04	967,50	1,07	966,43	1,09	965,34	1,13
	0,26		0,27		0,29		0,31		0,33		0,35		0,37		0,39		0,40		0,42		0,44		0,46	
12	975,93	0,94	974,99	0,94	974,05	0,95	973,10	0,96	972,14	0,97	971,17	0,99	970,18	1,01	969,17	1,03	968,14	1,06	967,08	1,09	965,99	1,11	964,88	1,15
	0,26		0,28		0,30		0,32		0,34		0,36		0,38		0,39		0,41		0,43		0,45		0,47	
13	975,67	0,96	974,71	0,96	973,75	0,97	972,78	0,98	971,80	0,99	970,81	1,01	969,80	1,02	968,78	1,05	967,73	1,08	966,65	1,11	965,54	1,13	964,41	1,17
	0,27		0,29		0,31		0,33		0,35		0,37		0,38		0,40		0,42		0,44		0,45		0,47	
14	975,40	0,98	974,42	0,98	973,44	0,99	972,45	1,00	971,45	1,01	970,44	1,02	969,42	1,04	968,38	1,07	967,31	1,10	966,21	1,12	965,09	1,15	963,94	1,19
	0,28		0,30		0,32		0,33		0,35		0,37		0,39		0,41		0,43		0,45		0,47		0,49	
15	975,12	1,00	974,12	1,00	973,12	1,00	972,12	1,02	971,10	1,03	970,07	1,04	969,03	1,06	967,97	1,09	966,88	1,12	965,76	1,14	964,62	1,17	963,45	1,20
	0,30		0,31		0,33		0,35		0,36		0,38		0,40		0,42		0,44		0,45		0,47		0,49	
16	974,82	1,01	973,81	1,02	972,79	1,02	971,77	1,03	970,74	1,05	969,69	1,06	968,63	1,08	967,55	1,11	966,44	1,13	965,31	1,16	964,15	1,19	962,96	1,22
	0,30		0,31		0,33		0,35		0,37		0,38		0,40		0,42		0,43		0,45		0,47		0,49	
17	974,52	1,02	973,50	1,04	972,46	1,04	971,42	1,05	970,37	1,06	969,31	1,08	968,23	1,10	967,13	1,12	966,01	1,15	964,86	1,18	963,68	1,21	962,47	1,24
	0,31		0,33		0,34		0,36		0,38		0,40		0,42		0,43		0,45		0,47		0,48		0,50	
18	974,21	1,04	973,17	1,05	972,12	1,06	971,06	1,07	969,99	1,08	968,91	1,10	967,81	1,11	966,70	1,14	965,56	1,17	964,39	1,19	963,20	1,23	961,97	1,26
	0,32		0,34		0,35		0,36		0,38		0,40		0,42		0,44		0,46		0,47		0,49		0,50	
19	973,89	1,06	972,83	1,06	971,77	1,07	970,70	1,09	969,61	1,10	968,51	1,11	967,39	1,13	966,26	1,16	965,10	1,18	963,92	1,21	962,71	1,24	961,47	1,28
	0,33		0,35		0,37		0,39		0,40		0,41		0,42		0,45		0,46		0,48		0,50		0,52	
20	973,56	1,08	972,48	1,08	971,40	1,09	970,31	1,10	969,21	1,11	968,10	1,13	966,97	1,14	965,81	1,17	964,64	1,20	963,44	1,23	962,21	1,26	960,95	1,29

t °C	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	20		**21**		**22**		**23**		**24**		**25**		**26**		**27**		**28**		**29**		**30**		**31**	
20	973,56	1,08	972,48	1,08	971,40	1,09	970,31	1,10	969,21	1,11	968,10	1,13	966,97	1,16	965,81	1,17	964,64	1,20	963,44	1,23	962,21	1,26	960,95	1,29
	0,35		0,36		0,37		0,39		0,40		0,42		0,44		0,45		0,47		0,49		0,50		0,52	
21	973,21	1,09	972,12	1,09	971,03	1,11	969,92	1,11	968,81	1,13	967,68	1,15	966,53	1,17	965,36	1,19	964,17	1,22	962,95	1,24	961,71	1,28	960,43	1,31
	0,35		0,36		0,38		0,39		0,41		0,43		0,44		0,46		0,48		0,49		0,51		0,52	
22	972,86	1,10	971,76	1,11	970,65	1,12	969,53	1,13	968,40	1,15	967,25	1,16	966,09	1,19	964,90	1,21	963,69	1,23	962,46	1,26	961,20	1,29	959,91	1,32
	0,35		0,37		0,39		0,40		0,42		0,43		0,45		0,46		0,48		0,50		0,52		0,53	
23	972,51	1,12	971,39	1,13	970,26	1,13	969,13	1,15	967,98	1,16	966,82	1,18	965,64	1,20	964,44	1,23	963,21	1,25	961,96	1,28	960,68	1,30	959,38	1,33
	0,36		0,38		0,39		0,41		0,42		0,44		0,46		0,48		0,49		0,51		0,53		0,54	
24	972,15	1,14	971,01	1,14	969,87	1,15	968,72	1,16	967,56	1,18	966,38	1,20	965,18	1,22	963,96	1,24	962,72	1,27	961,45	1,29	960,16	1,32	958,84	1,34
	0,38		0,39		0,40		0,42		0,44		0,45		0,46		0,48		0,50		0,51		0,53		0,54	
25	971,77	1,15	970,62	1,15	969,47	1,17	968,30	1,18	967,12	1,19	965,93	1,21	964,72	1,24	963,48	1,26	962,22	1,28	960,94	1,31	959,63	1,33	958,30	1,36
	0,38		0,39		0,41		0,42		0,44		0,46		0,48		0,49		0,50		0,52		0,53		0,55	
26	971,39	1,16	970,23	1,17	969,06	1,18	967,88	1,20	966,68	1,21	965,47	1,23	964,24	1,25	962,99	1,27	961,72	1,30	960,42	1,32	959,10	1,35	957,75	1,38
	0,39		0,41		0,42		0,44		0,45		0,46		0,48		0,50		0,51		0,52		0,53		0,55	
27	971,00	1,18	969,82	1,18	968,64	1,20	967,44	1,21	966,23	1,22	965,01	1,25	963,76	1,27	962,49	1,28	961,21	1,31	959,90	1,33	958,57	1,37	957,20	1,40
	0,40		0,41		0,43		0,44		0,46		0,48		0,49		0,50		0,52		0,53		0,55		0,56	
28	970,60	1,19	969,41	1,20	968,21	1,21	967,00	1,23	965,77	1,24	964,53	1,26	963,27	1,28	961,99	1,30	960,69	1,32	959,37	1,35	958,02	1,38	956,64	1,41
	0,40		0,42		0,43		0,45		0,46		0,48		0,49		0,50		0,52		0,54		0,55		0,56	
29	970,20	1,21	968,99	1,21	967,78	1,23	966,55	1,24	965,31	1,26	964,05	1,27	962,78	1,29	961,49	1,32	960,17	1,34	958,83	1,36	957,47	1,39	956,08	1,43
	0,42		0,43		0,45		0,46		0,47		0,48		0,50		0,52		0,53		0,54		0,56		0,58	
30	969,78	1,22	968,56	1,23	967,33	1,24	966,09	1,25	964,84	1,27	963,57	1,29	962,28	1,31	960,97	1,33	959,64	1,35	958,29	1,38	956,91	1,41	955,50	1,44
	0,42		0,43		0,44		0,45		0,47		0,49		0,51		0,52		0,53		0,55		0,56		0,58	
31	969,36	1,23	968,13	1,24	966,89	1,25	965,64	1,27	964,37	1,29	963,08	1,31	961,77	1,32	960,45	1,34	959,11	1,37	957,74	1,39	956,35	1,43	954,92	1,45
	0,43		0,45		0,46		0,48		0,49		0,50		0,51		0,52		0,54		0,56		0,57		0,58	
32	968,93	1,25	967,68	1,25	966,43	1,27	965,16	1,28	963,88	1,30	962,58	1,32	961,26	1,33	959,93	1,36	958,57	1,39	957,18	1,40	955,78	1,44	954,34	1,47
	0,43		0,45		0,47		0,48		0,50		0,51		0,52		0,54		0,55		0,56		0,58		0,59	
33	968,50	1,27	967,23	1,27	965,96	1,28	964,68	1,30	963,38	1,31	962,07	1,33	960,74	1,35	959,39	1,37	958,02	1,40	956,62	1,42	955,20	1,45	953,75	1,48
	0,45		0,45		0,47		0,49		0,50		0,51		0,52		0,54		0,55		0,56		0,58		0,60	
34	968,05	1,27	966,78	1,29	965,49	1,30	964,19	1,31	962,88	1,32	961,56	1,34	960,22	1,37	958,85	1,38	957,47	1,41	956,06	1,44	954,62	1,47	953,15	1,49
	0,45		0,47		0,48		0,49		0,50		0,52		0,54		0,55		0,57		0,58		0,59		0,60	
35	967,60	1,29	996,31	1,30	965,01	1,31	963,70	1,32	962,38	1,34	961,04	1,36	959,68	1,38	958,30	1,40	956,90	1,42	955,48	1,45	954,03	1,48	952,55	1,50
	0,45		0,47		0,48		0,49		0,51		0,53		0,54		0,55		0,57		0,59		0,60		0,61	
36	967,15	1,31	965,84	1,31	964,53	1,32	963,21	1,34	961,87	1,36	960,51	1,37	959,14	1,39	957,75	1,42	956,33	1,44	954,89	1,46	953,43	1,49	951,94	1,51
	0,46		0,47		0,48		0,50		0,52		0,53		0,55		0,56		0,57		0,58		0,60		0,61	
37	966,69	1,32	965,37	1,32	964,05	1,34	962,71	1,36	961,35	1,37	959,98	1,39	958,59	1,40	957,19	1,43	955,76	1,45	954,31	1,48	952,83	1,50	951,33	1,52
	0,47		0,48		0,50		0,51		0,52		0,54		0,55		0,57		0,58		0,59		0,60		0,61	
38	966,22	1,33	964,89	1,34	963,55	1,35	962,20	1,37	960,83	1,39	959,44	1,40	958,04	1,42	956,62	1,44	955,18	1,46	953,72	1,49	952,23	1,51	950,72	1,54
	0,48		0,49		0,51		0,52		0,53		0,54		0,56		0,57		0,58		0,60		0,61		0,62	
39	965,74	1,34	964,40	1,36	963,04	1,36	961,68	1,38	960,30	1,40	958,90	1,42	957,48	1,43	956,05	1,45	954,60	1,48	953,12	1,50	951,62	1,52	950,10	1,55
	0,49		0,50		0,51		0,53		0,54		0,55		0,56		0,58		0,60		0,61		0,62		0,64	
40	965,25	1,35	963,90	1,37	962,53	1,38	961,15	1,39	959,76	1,41	958,35	1,43	956,92	1,45	955,47	1,47	954,00	1,49	952,51	1,51	951,00	1,54	949,49	1,56

TABELA IV

Tabela przedstawiająca współczynniki załamania światła czystych mieszanin alkohol etylowy–woda i destylatów w temperaturze 20 °C oraz odpowiadającą im zawartość alkoholu w temperaturze 20 °C

Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Zawartość alkoholu w temperaturze 20°C				Współczynnik załamania światła w temperaturze 20°C	Zawartość alkoholu w temperaturze 20 °C			
	Mieszaniny alkohol etylowy – woda		Destylaty			Mieszaniny alkohol etylowy – woda		Destylaty	
1,33628	6,54	0,25	6,48	0,26	1,34222	16,76	0,23	16,65	0,23
1,33642	6,79	0,26	6,74	0,26	1,34236	16,99	0,23	16,88	0,24
1,33656	7,05	0,25	7,00	0,27	1,34250	17,22	0,22	17,12	0,22
1,33670	7,30	0,28	7,27	0,27	1,34264	17,44	0,24	17,34	0,22
1,33685	7,58	0,25	7,54	0,25	1,34278	17,68	0,21	17,56	0,22
1,33699	7,83	0,26	7,79	0,26	1,34291	17,89	0,23	17,78	0,23
1,33713	8,09	0,25	8,05	0,25	1,34305	18,12	0,24	18,01	0,22
1,33727	8,34	0,28	8,30	0,26	1,34319	18,36	0,23	18,23	0,23
1,33742	8,62	0,25	8,56	0,25	1,34333	18,59	0,23	18,46	0,24
1,33756	8,87	0,25	8,81	0,25	1,34347	18,82	0,23	18,70	0,22
1,33770	9,12	0,24	9,06	0,24	1,34361	19,05	0,23	18,92	0,25
1,33784	9,36	0,27	9,30	0,25	1,34375	19,28	0,23	19,17	0,23
1,33799	9,63	0,24	9,55	0,26	1,34389	19,51	0,24	19,40	0,22
1,33813	9,87	0,25	9,81	0,24	1,34403	19,75	0,23	19,62	0,24
1,33827	10,12	0,23	10,05	0,24	1,34417	19,98	0,24	19,86	0,23
1,33841	10,35	0,26	10,29	0,25	1,34431	20,22	0,22	20,09	0,24
1,33856	10,61	0,25	10,54	0,24	1,34445	20,44	0,21	20,33	0,21
1,33870	10,86	0,24	10,78	0,24	1,34458	20,65	0,24	20,54	0,22
1,33884	11,10	0,23	11,02	0,24	1,34472	20,89	0,22	20,76	0,23
1,33898	11,33	0,24	11,26	0,24	1,34486	21,11	0,23	20,99	0,22
1,33912	11,47	0,24	11,50	0,24	1,34500	21,34	0,21	21,21	0,23
1,33926	11,81	0,24	11,74	0,24	1,34513	21,55	0,23	21,44	0,21
1,33940	12,05	0,25	11,98	0,24	1,34527	21,78	0,22	21,65	0,22
1,33955	12,30	0,23	12,22	0,24	1,34541	22,00	0,23	21,87	0,23
1,33969	12,53	0,23	12,46	0,23	1,34555	22,23	0,21	22,10	0,21
1,33983	12,76	0,24	12,69	0,23	1,34568	22,44	0,23	22,31	0,23
1,33997	13,00	0,23	12,92	0,23	1,34582	22,67	0,23	22,54	0,21
1,34011	13,23	0,24	13,15	0,25	1,34596	22,90	0,23	22,75	0,21
1,34025	13,47	0,23	13,40	0,22	1,34610	23,13	0,20	22,96	0,21
1,34039	13,70	0,23	13,62	0,24	1,34623	23,33	0,24	23,17	0,23
1,34053	13,93	0,23	13,86	0,23	1,34637	23,57	0,24	23,40	0,21
1,34067	14,16	0,25	14,09	0,23	1,34651	23,81	0,23	23,61	0,24
1,34081	14,41	0,25	14,32	0,25	1,34665	24,04	0,22	23,85	0,24
1,34096	14,66	0,23	14,57	0,24	1,34678	24,26	0,22	24,09	0,22
1,34110	14,89	0,24	14,81	0,25	1,34692	24,48	0,24	24,31	0,25
1,34124	15,13	0,23	15,06	0,22	1,34706	24,72	0,23	24,56	0,22
1,34138	15,36	0,23	15,28	0,22	1,34720	24,95	0,21	24,78	0,22
1,34152	15,59	0,24	15,50	0,24	1,34733	25,16	0,24	25,00	0,23
1,34166	15,83	0,23	15,74	0,22	1,34747	25,40	0,22	25,23	0,22
1,34180	16,06	0,23	15,96	0,23	1,34760	25,62	0,24	25,45	0,25
1,34194	16,29	0,23	16,19	0,22	1,34774	25,86	0,24	25,70	0,23
1,34208	16,52	0,24	16,41	0,24	1,34788	26,10	0,22	25,93	0,22

4. CAŁKOWITY SUCHY EKSTRAKT

Całkowita sucha masa

1. DEFINICJA

Całkowity suchy ekstrakt lub całkowita sucha masa obejmują wszystkie substancje nielotne w określonych warunkach fizycznych. Warunki fizyczne powinny być takie, aby substancje tworzące ekstrakt ulegały możliwie najmniejszym zmianom w trakcie przeprowadzania badania.

Ekstrakt bezcukrowy jest to różnica między całkowitym suchym ekstraktem całkowitym a całkowitą zawartością cukru.

Ekstrakt zredukowany jest to różnica między całkowitym suchym ekstraktem a całkowitą zawartością cukru w ilości powyżej 1g/l, zawartością siarczanu potasu w ilości powyżej 1g/l, zawartością mannitu i zawartością innych substancji chemicznych, które mogą być dodawane do wina.

Ekstrakt resztkowy jest to ekstrakt bezcukrowy pomniejszony o kwasowość wyrażoną jako kwas winowy.

Zawartość ekstraktu wyrażana jest w gramach na litr i powinna być oznaczana z dokładnością do 0,5 g.

2. ZASADA METODY

Metoda pojedyncza: pomiar densymetrem

Całkowity suchy ekstrakt obliczany jest pośrednio na podstawie ciężaru właściwego moszczu, a dla wina na podstawie ciężaru właściwego wina bezalkoholowego.

Niniejszy suchy ekstrakt wyrażany jest poprzez ilość sacharozy, która rozpuszczona w wodzie i sprowadzona do objętości jednego litra da roztwór o takim samym ciężarze właściwym jak moszcz lub wino bezalkoholowe. Ilości te przedstawione są w tabeli I.

3. METODA OBLICZANIA

Ciężar właściwy 20/20 *dr* „wina bezalkoholowego" oblicza się według wzoru:

$$d_r = d_v - d_a + 1{,}000$$

gdzie:

d_v = ciężar właściwy wina w temperaturze 20 °C (z poprawką na kwasowość lotną)(1)

d_a = ciężar właściwy w temperaturze 20 °C mieszaniny wodno-alkoholowej o tej samej zawartości alkoholu co wino.

d_r można również obliczyć na podstawie gęstości w temperaturze 20 °C pv wina i p_a mieszaniny wodno-alkoholowej o tej samej zawartości alkoholu na podstawie wzoru:

$$d_r = 1{,}0018\ (\rho_v - \rho_a) + 1{,}000$$

gdzie współczynnik 1,0018 zaokrągla się do 1, gdy wartość ρv jest mniejsza od 1,05, co ma miejsce w większości przypadków.

4. PRZEDSTAWIENIE WYNIKÓW

Należy skorzystać z tabeli I w celu obliczenia zawartości całkowitego suchego ekstraktu w g/l na podstawie ciężaru właściwego 20/20 dr wina bezalkoholowego lub na podstawie ciężaru właściwego $d^{20\ °C}_{20\ °C}$ moszczu.

Całkowity suchy ekstrakt wyrażany jest w g/l z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

(1) Przed przeprowadzeniem obliczeń do wartości oznaczonego według opisanej powyżej metody ciężaru właściwego (lub gęstości) wina należy wprowadzić poprawkę uwzględniającą wpływ kwasowości lotnej, według wzoru:
$d_v = d^{20\ °C}_{20\ °C} - 0{,}0000086\ a$ or $\rho_v = \rho_{20} - 0{,}0000086\ a$
gdzie *a* jest to kwasowość lotna wyrażona w miliekwiwalentach na litr.

TABELA I

do celów obliczania zawartości całkowitego suchego ekstraktu (g/l)

Ciężar właściwy z dokładnością do dwóch miejsc dziesiętnych	Trzecie miejsce dziesiętne ciężaru właściwego									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Gramy ekstraktu na litr									
1,00	0	2,6	5,1	7,7	10,3	12,9	15,4	18,0	20,6	23,2
1,01	25,8	28,4	31,0	33,6	36,2	38,8	41,3	43,9	46,5	49,1
1,02	51,7	54,3	56,9	59,5	62,1	64,7	67,3	69,9	72,5	75,1
1,03	77,7	80,3	82,9	85,5	88,1	90,7	93,3	95,9	98,5	101,1
1,04	103,7	106,3	109,0	111,6	114,2	116,8	119,4	122,0	124,6	127,2
1,05	129,8	132,4	135,0	137,6	140,3	142,9	145,5	148,1	150,7	153,3
1,06	155,9	158,6	161,2	163,8	166,4	169,0	171,6	174,3	176,9	179,5
1,07	182,1	184,8	187,4	190,0	192,6	195,2	197,8	200,5	203,1	205,8
1,08	208,4	211,0	213,6	216,2	218,9	221,5	224,1	226,8	229,4	232,0
1,09	234,7	237,3	239,9	242,5	245,2	247,8	250,4	253,1	255,7	258,4
1,10	261,0	263,6	266,3	268,9	271,5	274,2	276,8	279,5	282,1	284,8
1,11	287,4	290,0	292,7	295,3	298,0	300,6	303,3	305,9	308,6	311,2
1,12	313,9	316,5	319,2	321,8	324,5	327,1	329,8	332,4	335,1	337,8
1,13	340,4	343,0	345,7	348,3	351,0	353,7	356,3	359,0	361,6	364,3
1,14	366,9	369,6	372,3	375,0	377,6	380,3	382,9	385,6	388,3	390,9
1,15	393,6	396,2	398,9	401,6	404,3	406,9	409,6	412,3	415,0	417,6
1,16	420,3	423,0	425,7	428,3	431,0	433,7	436,4	439,0	441,7	444,4
1,17	447,1	449,8	452,4	455,2	457,8	460,5	463,2	465,9	468,6	471,3
1,18	473,9	476,6	479,3	482,0	484,7	487,4	490,1	492,8	495,5	498,2
1,19	500,9	503,5	506,2	508,9	511,6	514,3	517,0	519,7	522,4	525,1
1,20	527,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabela interpolacyjna

Czwarte miejsce dziesiętne ciężaru właściwego	Gramy ekstraktu na litr	Czwarte miejsce dziesiętne ciężaru właściwego	Gramy ekstraktu na litr	Czwarte miejsce dziesiętne ciężaru właściwego	Gramy ekstraktu na litr
1	0,3	4	1,0	7	1,8
2	0,5	5	1,3	8	2,1
3	0,8	6	1,6	9	2,3

5. **CUKRY REDUKUJĄCE**

1. DEFINICJA

Cukry redukujące obejmują wszystkie cukry wykazujące funkcje ketonowe lub aldehydowe i są oznaczane poprzez zdolność redukcji soli miedzi w roztworach alkalicznych.

2. ZASADA METOD

2.1. **Klarowanie**

2.1.1. *Metoda porównawcza:* po zobojętnieniu i usunięciu alkoholu wino przesączane jest przez kolumnę jonowymienną, w której aniony są wymieniane na jony octanowe, a następnie klarowane obojętnym octanem ołowiu.

2.1.2. *Metoda zwykła:* do wina dodaje się jeden z następujących odczynników:

2.1.2.1. Obojętny octan ołowiu;

2.1.2.2. 2-heksacyjanożelazian cynku.

2.2. Oznaczanie

2.2.1. *Metoda pojedyncza:* sklarowane wino lub moszcz reagują z określoną ilością alkalicznego roztworu soli miedzi, a pozostałe w roztworze jony miedzi są następnie oznaczane jodometrycznie.

3. KLAROWANIE

Zawartość cukru w analizowanej cieczy musi mieścić się w granicach 0,5 — 5 g/l. Win wytrawnych nie należy rozcieńczać podczas klarowania;

wina słodkie powinny być rozcieńczone w trakcie klarowania tak, aby zawartość cukru mieściła się w granicach określonych w poniższej tabeli:

Wyszczególnienie	Zawartość cukru (g/l)	Gęstość	Rozcieńczenie (%)
Moszcze i świeże	> 125	> 1,038	1
moszcze gronowe z fermentacją powstrzymaną przez dodanie alkoholu Wina słodkie, likierowe lub nie	25—125	1,005—1,038	4
Wina półsłodkie	5—25	0,997—1,005	20
Wina wytrawne	< 5	< 0,997	Nierozcieńczane

3.1 **Metoda porównawcza**

3.1.1. *Odczynniki*

3.1.1.1. 1 M roztwór kwasu wodorochlorowego (HCl);

3.1.1.2. 1 M roztwór wodorotlenku sodu (NaOH);

3.1.1.3. 4 M roztwór kwasu octowego (CH3COOH);

3.1.1.4. 2 M roztwór wodorotlenku sodu (NaOH);

3.1.1.5. Żywica anionowymienna (typ Dowex 3 (20—50 mesh) lub inna żywica o podobnych własnościach.

Przygotowanie kolumny z żywicą anionowymienną

Na dnie biurety umieścić niewielką zatyczkę z waty szklanej i 15 ml żywicy anionowymiennej (3.1.1.5). Przed użyciem żywicy należy przeprowadzić dwa pełne cykle jej regeneracji poprzez przemienne przepuszczanie 1 M roztworu kwasu solnego (3.1.1.1) i wodorotlenku sodu (3.1.1.2).

Po przepłukaniu za pomocą 50 ml wody destylowanej przelać żywicę do zlewki, dodać 50 ml 4 M roztworu kwasu octowego (3.1.1.3) i mieszać przez 5 minut. Napełnić powtórnie biuretę żywicą i przemyć 100 ml 4 M roztworu kwasu octowego (3.1.1.3). (Preferowane jest przygotowanie zapasu żywicy w butelce napełnionej 4 M roztworem kwasu octowego.) Przemywać kolumnę wodą destylowaną do uzyskania eluatu o odczynie obojętnym.

Regeneracja żywicy

Przemyć żywicę 150 ml 2 M roztworu wodorotlenku sodu w celu usunięcia kwasów i większości barwników zatrzymanych w żywicy. Przepłukać 100 ml wody, a następnie 100 ml 4 M roztworu kwasu octowego. Przemywać kolumnę do uzyskania eluatu o odczynie obojętnym.

3.1.1.6. Obojętny roztwór octanu ołowiu (w przybliżeniu nasycony)

Obojętny octan ołowiu [$Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3\,H_2O$)], 250 g;
bardzo gorąca woda do 500 ml;
mieszać do rozpuszczenia.

3.1.1.7. Węglan wapnia ($CaCO_3$)

3.1.2. *Procedura*

3.1.2.1. Wina wytrawne

Umieścić 50 ml wina w zlewce o średnicy około 10—12 cm, dodać 1/2 (n – 0,5) ml 1 M roztworu wodorotlenku sodu (3.1.1.2) (n jest to objętość 0,1 M roztworu wodorotlenku sodu zużytego do oznaczania kwasowości ogólnej w 10 ml wina) i odparowywać na wrzącej łaźni wodnej w strumieniu gorącego powietrza do redukcji cieczy do około 20 ml.

Przesączyć ciecz przez kolumnę z żywicą anionowymienną w postaci octanu (3.1.1.5) z szybkością 3 ml na dwie minuty. Zebrać eluat w kolbie miarowej na 100 ml. Przemyć naczynie i kolumnę sześciokrotnie 10-mililitrowymi porcjami wody za każdym razem. Mieszając cały czas, dodać do eluatu 2,5 ml nasyconego roztworu octanu ołowiawego (3.1.1.6) i 0,5 g węglanu wapnia (3.1.1.7); wstrząsnąć kilkakrotnie i pozostawić na co najmniej 15 minut. Uzupełnić wodą do kreski. Przefiltrować.

1 ml filtratu odpowiada 0,5 ml wina.

3.1.2.2. Moszcze, świeże moszcze gronowe z fermentacją powstrzymaną przez dodanie alkoholu, wina słodkie i półsłodkie:

Poniżej podane rozcieńczenia są podane jako wskazówka

1. *Moszcze oraz świeże moszcze gronowe z fermentacją powstrzymaną przez dodanie alkoholu*: przygotować 10-procentowy roztwór cieczy poddanej analizie i pobrać 10 ml rozcieńczonej próbki.

2. *Wina słodkie, likierowane lub nie*, o gęstości między 1,005 a 1,038: przygotować 20 % cieczy poddanej analizie i pobrać 20 ml rozcieńczonej próbki.

3. *Wina półsłodkie* o gęstości w temperaturze 20 °C między 0,997 a 1,005: pobrać 20 ml nierozcieńczonego wina.

   Przesączyć wyżej podane objętości wina lub moszczu przez kolumnę anionowymienną w postaci octanu z szybkością 3 ml na dwie minuty. Zebrać eluat w kolbie miarowej na 100 ml, przepłukiwać kolumnę wodą aż do uzyskania około 90 ml eluatu. Do eluatu dodać 0,5 g węglanu wapnia i 1 ml nasyconego roztworu octanu ołowiawego. Zamieszać i pozostawić na 15 minut, mieszając od czasu do czasu. Uzupełnić wodą do kreski. Przefiltrować.

   W przypadku:

   1. 1 ml filtratu odpowiada 0,01 ml moszczu lub świeżego moszczu gronowego z fermentacją powstrzymaną przez dodanie alkoholu.

   2. 1 ml filtratu odpowiada 0,04 ml wina słodkiego.

   3. 1 ml filtratu odpowiada 0,20 ml wina półsłodkiego.

3.2. **Metody zwykłe**

3.2.1. *Klarowanie obojętnym octanem ołowiu*

3.2.1.1. Odczynniki

Roztwór obojętnego octanu ołowiu (w przybliżeniu nasycony) (patrz ppkt 3.1.1.6).

Węglan wapnia.

3.2.1.2. Procedura

3.2.1.2.1. *Wina wytrawne*: umieścić 50 ml wina w kolbie miarowej o 100 ml objętości; dodać 1/2 (*n*—0,5) ml 1 M roztworu wodorotlenku sodu (3.1.1.2) (gdzie *n* oznacza objętość 0,1 M roztworu wodorotlenku sodu zużytego do ustalenia kwasowości ogólnej w 10 ml wina). Mieszając cały czas, dodać 2,5 ml nasyconego roztworu octanu ołowiawego (3.1.1.6) i 0,5 g węglanu wapnia (3.1.1.7). Wstrząsnąć kilkakrotnie i pozostawić co najmniej na 15 minut. Uzupełnić wodą do kreski. Przefiltrować.

1 ml filtratu odpowiada 0,5 ml wina.

3.2.1.2.2. *Moszcze, świeże moszcze gronowe z fermentacją powstrzymaną przez dodanie alkoholu, wina słodkie i półsłodkie*: do kolby miarowej o pojemności 100 ml nalać następujące ilości wina (moszczu lub świeżego moszczu gronowego z fermentacją powstrzymaną przez dodanie alkoholu), rozcieńczenia podane są jako wskazówka:

1. *Moszcze i świeże moszcze gronowe z fermentacją powstrzymaną przez dodanie alkoholu*: Przygotować 10-procentowy roztwór cieczy poddanej analizie i pobrać 10 ml rozcieńczonej próbki.

2. *Wina słodkie, likierowe lub nie*, o gęstości między 1,005 a 1,038: przygotować 20-procentowy roztwór cieczy poddanej analizie i pobrać 20 ml rozcieńczonej próbki.

3. *Wina półsłodkie* o gęstości między 0,997 a 1,005: pobrać 20 ml nierozcieńczonego wina.

   Dodać 0,5 g węglanu wapnia, około 60 ml wody i 0,5, 1 lub 2 ml nasyconego roztworu octanu ołowiawego. Zamieszać i odstawić na co najmniej 15 minut, mieszając od czasu do czasu. Dopełnić wodą do kreski. Przefiltrować.

   W przypadku:

   1. 1 ml filtratu odpowiada 0,01 ml moszczu lub świeżego moszczu gronowego z fermentacją powstrzymaną przez dodanie alkoholu.
   2. 1 ml filtratu odpowiada 0,04 ml wina słodkiego.
   3. 1 ml filtratu odpowiada 0,20 ml wina półsłodkiego.

3.2.2. *Klarowanie, 2-heksacyjanożelazian cynku*

Ta metoda klarowania powinna być stosowana tylko do win białych, lekko zabarwionych win słodkich i moszczów.

3.2.2.1. Odczynniki

3.2.2.1.1. Roztwór I, 2-heksacyjanożelazian potasu
Żelazocyjanek potasu ($K_4Fe(CN)_6 \cdot 3\ H_2O$), 150 g;
Woda do 1 000 ml.

3.2.2.1.2. Roztwór II, siarczan cynku:
Siarczan cynku ($ZnSO_4 \cdot 7\ H_2O$), 300 g;
Woda do 1 000 ml.

3.2.2.2. Procedura

Do kolby miarowej o pojemności 100 ml wlać następujące ilości wina (moszczu lub świeżego moszczu gronowego z fermentacją powstrzymaną przez dodanie alkoholu), rozcieńczenia podane są jako wskazówka:

1. *Moszcze i świeże moszcze gronowe z fermentacją powstrzymaną przez dodanie alkoholu*: przygotować 10-procentowy roztwór cieczy poddanej analizie i pobrać 10 ml rozcieńczonej próbki.

2. *Wina słodkie, likierowe lub nie*, o gęstości między 1,005 a 1,038: przygotować 20-procentowy roztwór cieczy poddanej analizie i pobrać 20 ml rozcieńczonej próbki.

3. *Wina półsłodkie* o gęstości między 0,997 a 1,005: pobrać 20 ml nierozcieńczonego wina.

4. *Wina wytrawne*: pobrać 50 ml nierozcieńczonej próbki.

   Dodać 5 ml roztworu I, 2-heksacyjanożelazianu potasu (3.2.2.1.1) i 5 ml roztworu II, siarczanu cynku (3.2.2.1.2). Wymieszać. Uzupełnić wodą do kreski. Odstawić na 10 minut. Przefiltrować.

   W przypadku:

   1. 1 ml filtratu odpowiada 0,01 ml moszczu lub świeżego moszczu gronowego z fermentacją powstrzymaną przez dodanie alkoholu.
   2. 1 ml filtratu odpowiada 0,04 ml wina słodkiego.
   3. 1 ml filtratu odpowiada 0,20 ml wina półsłodkiego.
   4. 1 ml filtratu odpowiada 0,50 ml wina wytrawnego.

4. OZNACZANIE CUKRÓW

4.1. **Odczynniki**

4.1.1. *Alkaliczny roztwór soli miedzi*:

siarczan miedzi, czysty, $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$	25	g
kwas cytrynowy ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$)	50	g
krystaliczny węglan sodowy, $Na_2CO_3 \cdot 10\ H_2O$	388	g
woda do	1 000	ml

Rozpuścić siarczan miedzi w 1000 ml wody, kwas cytrynowy w 300 ml wody, a węglan sodowy w 300—400 ml gorącej wody. Zmieszać roztwory kwasu cytrynowego i węglanu sodowego, dodać roztwór siarczanu miedzi i dopełnić do 1 litra.

4.1.2. *30-procenowy roztwór jodku potasu*:

jodek potasu (KI)	30	g
woda do	100	ml

Przechowywać w butelce z kolorowego szkła.

4.1.3. *25-procentowy kwas siarkowy*:

stężony kwas siarkowy, (H_2SO_4) ρ_{20} = 1,84 g/ml	25	g
woda do	100	ml

Wolno dodawać kwas do wody, schłodzić i uzupełnić wodą do 100 ml.

4.1.4. *Roztwór skrobi o stężeniu 5 g/l:*

Zmieszać 5 g skrobi z około 500 ml wody. Cały czas mieszając, doprowadzić do wrzenia, gotować przez 10 minut. Dodać 200 g chlorku sodowego (NaCl). Schłodzić i uzupełnić wodą do jednego litra.

Tiosiarczan sodu, roztwór 0,1 M.

Roztwór cukru inwertowanego o stężeniu 5 g/l, służący do kontroli metody oznaczania:

W kolbie miarowej o pojemności 200 ml umieścić:

czystą suchą sacharozę ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	4,75	g
wodę, około	100	ml
stężony kwas solny (HCl) (ρ_{20} = 1,16—1,19 g/ml)	5	ml

Ogrzewać kolbę w wodzie utrzymanej w temperaturze 60 °C do uzyskania temperatury roztworu 50 °C; następnie utrzymywać kolbę i roztwór w temperaturze 50 °C przez 15 minut. Pozostawić kolbę do ostygnięcia przez 30 minut i zanurzyć w zimnej wodzie. Przelać roztwór do kolby miarowej o pojemności 1 litra i dopełnić wodą do kreski. Roztwór ten jest trwały przez miesiąc. Przed użyciem należy zobojętnić badaną próbkę (roztwór jest około 0,06 M roztworem kwasu) roztworem wodorotlenku sodu.

4.2. **Procedura**

Zmieszać 25 ml alkalicznego roztworu soli miedziowej, 15 ml wody i 10 ml sklarowanego roztworu w kolbie stożkowej o pojemności 300 ml. Roztwór ten nie może zawierać więcej niż 60 mg cukru inwertowanego.

Wrzucić kilka małych odłamków pumeksu. Na kolbie umieścić chłodnicę zwrotną i doprowadzić roztwór do wrzenia w ciągu 2 minut. Gotować roztwór dokładnie przez 10 minut.

Niezwłocznie schłodzić kolbę pod zimną bieżącą wodą. Gdy roztwór jest zupełnie zimny, dodać 10 ml 30-procentowego roztworu jodku potasu (4.1.2), 25 ml 25-procentowego kwasu siarkowego (4.1.3) i 2 ml roztworu skrobi (4.1.4).

Miareczkować 0,1 M roztworem tiosiarczanu sodu (4.1.5). *n* oznacza ilość mililitrów zużytego tiosiarczanu sodu.

Przeprowadzić uzupełniające miareczkowanie, podczas którego 10 ml roztworu cukru należy zastąpić 10 ml wody destylowanej. *n′* oznacza ilość mililitrów użytego tiosiarczanu sodu.

4.3. **Przedstawienie wyników**

4.3.1. *Obliczenia*

Ilość cukru, wyrażonego jako cukier inwertowany, zawarta w próbce, podana jest w tabeli poniżej jako funkcja liczby (*n′* — *n*) ml użytego tiosiarczanu sodu.

Zawartość cukru w winie podaje się w gramach cukru inwertowanego na litr z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego, uwzględniając rozcieńczenie podczas klarowania oraz objętość badanej próbki.

4.3.2. *Powtarzalność*

$r = 0{,}015\, x_i$

x_i = zawartość cukru inwertowanego w g/l próbki

4.3.3. *Odtwarzalność*

$R = 0{,}058\, x_i$

x_i = zawartość cukru inwertowanego w g/l próbki

Zależność między objętością 0,1 M roztworu tiosiarczanu sodu, (n′ – n) a ilością cukrów redukujących w mg					
$Na_2S_2O_3$ (ml 0,1 M)	Cukry redukujące (mg)	Różnica	$Na_2S_2O_3$ (ml 0,1 M)	Cukry redukujące (mg)	Różnica
1	2,4	2,4	13	33,0	2,7
2	4,8	2,4	14	35,7	2,8
3	7,2	2,5	15	38,5	2,8
4	9,7	2,5	16	41,3	2,9
5	12,2	2,5	17	44,2	2,9
6	14,7	2,6	18	47,2	2,9
7	17,2	2,6	19	50,0	3,0
8	19,8	2,6	20	53,0	3,0
9	22,4	2,6	21	56,0	3,1
10	25,0	2,6	22	59,1	3,1
11	27,6	2,7	23	62,2	
12	30,3	2,7			

6. **SACHAROZA**

1. ZASADA METOD

I. Do celów badania jakościowego metodą chromatografii cienkowarstwowej: sacharoza oddzielana jest od innych cukrów przy użyciu chromatografii cienkowarstwowej na płytce pokrytej celulozą. Czynnikiem wywołującym jest kwas mocznikowo-solny w temperaturze 105 °C.

II. Do celów badania i oznaczania metodą wysoko sprawnej chromatografii cieczowej: sacharoza jest oddzielana w kolumnie wypełnionej krzemionką związaną z alkiloaminą i wykrywana refraktometrycznie. Wynik ilościowy zostaje określony w drodze odniesienia do normy zewnętrznej analizowanej w takich samych warunkach.

Uwaga:

Autentyczność moszczu lub wina można stwierdzić metodą NMR deuteru, opisaną do celów wykrywania wzbogacania moszczów, rektyfikowanych moszczów zagęszczonych i win.

W celu badania i oznaczania sacharozy można również zastosować metodę chromatografii gazowej, opisaną w rozdziale 42 lit. f).

2. BADANIE JAKOŚCIOWE METODĄ CHROMATOGRAFII CIENKOWARSTWOWEJ

2.1. **Wyposażenie**

2.1.1. Płytki chromatograficzne pokryte warstwą celulozy (np. MN 300) o pożądanej grubości (20 × 20).

2.1.2. Komora chromatograficzna.

2.1.3. Mikrostrzykawka lub mikropipeta.

2.1.4. Piec umożliwiający uzyskanie temperatury 105 ± 2 °C.

2.2. **Odczynniki**

2.2.1. Odbarwiający węgiel drzewny.

2.2.2. *Faza ruchoma*: Dichlorometan — kwas octowy lodowaty (p20 — 1,05 g/ml) — alkohol etylowy — metanol — woda (50:25:9:6:10).

2.2.3. *Roztwór wywołujący*

Mocznik	5	g
Kwas solny 2 M	20	ml
Alkohol etylowy	100	ml

2.2.4. *Roztwory porównawcze*

Glukoza	35	g
Fruktoza	35	g
Sacharoza	0,5	g
Woda destylowana	1 000	ml

2.3. **Procedura**

2.3.1. *Przygotowanie próbki*

W przypadku silnie zabarwionego moszczu lub wina próbkę należy odbarwić węglem aktywnym.

W przypadku rektyfikowanych moszczów zagęszczonych należy użyć roztworu o stężeniu cukru 25 % masy (25°Brix), przygotowanego wg rozdziału „pH wina i moszczu" ppkt 4.1.2.

i rozcieńczyć czterokrotnie, wprowadzając 25 ml roztworu do kolby miarowej na 100 ml i uzupeł- niając wodą do kreski.

2.3.2. *Otrzymywanie chromatogramu*

Na linii równoległej do dolnej krawędzi płytki i oddalonej od niej o 2,5 cm umieścić:

— 10 µl próbki,

— 10 µl wzorca.

Umieścić płytkę w komorze uprzednio nasyconej oparami z fazy ruchomej. Rozwijać chromatogram, aż faza ruchoma znajdzie się 1 cm od górnej krawędzi płytki. Wyjąć płytkę i wysuszyć w strumieniu ciepłego powietrza. Powtórzyć rozwijanie chromatogramu dwukrotnie, za każdym razem susząc płytkę. Spryskać płytkę równomiernie 15 ml odczynnika barwiącego i umieścić w piecu o temperaturze 105 °C na około pięć minut.

2.4. **Wyniki**

Sacharoza i fruktoza widoczne są jako ciemnoniebieskie plamy na białym tle: glukoza daje mniej intensywną zieloną plamę.

3. BADANIE I OZNACZANIE METODĄ WYSOKO SPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ

Warunki chromatograficzne podane są jako wskazówka

3.1. **Wyposażenie**

3.1.1. Wysoko sprawny chromatograf cieczowy wyposażony w:

1. wtryskiwacz „pętlowy" 10 µl,
2. czujnik: refraktometr różnicowy lub refraktometr interferometryczny,
3. kolumnę wypełnioną krzemionką związaną z alkiloaminą — (długość 25 cm, średnica wewnętrzna 4 mm),
4. kolumnę zabezpieczającą wypełnioną tą samą fazą,
5. izolację kolumny zabezpieczającej i kolumny analitycznej, umożliwiającą utrzymanie ich w odpowiedniej temperaturze (30 °C),
6. rejestrator i, jeżeli potrzebny, integrator,
7. prędkość przepływu fazy ruchomej: 1 ml/min.

3.1.2. Urządzenie do filtracji membranowej (0,45 µm).

3.2. **Odczynniki**

3.2.1. Woda podwójnie destylowana.

3.2.2. Acetonitryl (CH_3CN) o jakości HPLC.

3.2.3. *Faza ruchoma*: acetonitryl — woda, poddane uprzednio filtracji membranowej (0,45µm), (80:20 v/v). Fazę ruchomą należy odgazować przed użyciem.

3.2.4. *Roztwór mianowany*: wodny roztwór sacharozy o stężeniu 1,2 g/l. Przefiltrować, używając filtru membranowego 0,45 µm.

3.3. **Procedura**

3.3.1. *Przygotowanie próbki*:

— dla win i moszczów: przefiltrować, używając filtru membranowego 0,45 µm,

— dla rektyfikowanych moszczów zagęszczonych: użyć roztworu uzyskanego w drodze rozcieńczenia rektyfikowanego moszczu zagęszczonego do stężenia 40 % (m/v), zgodnie z rozdziałem „Kwasowość ogólna" ppkt 5.1.2, i przefiltrować, używając filtru membranowego 0,45 µm.

3.3.2. *Oznaczanie chromatograficzne*

Wstrzyknąć kolejno do chromatografu 10 µl roztworu mianowanego i 10 µl próbki, w sposób opisany w ppkt 3.3.1. Powtórzyć wstrzyknięcia w tej samej kolejności.

Zarejestrować chromatogram.

Czas retencji sacharozy wynosi około 10 minut.

3.4. **Obliczenia**

Do obliczeń przyjąć średnią z dwóch wyników dla roztworu mianowanego i próbki.

3.4.1. *Dla win i moszczów*: wyliczyć stężenie w g/l.

3.4.2. *Dla rektyfikowanych moszczów zagęszczonych*: C oznacza zawartość sacharozy w g/l 40-procentowego (m/v) roztworu rektyfikowanego moszczu zagęszczonego. Zawartość sacharozy w g/kg w rektyfikowanym moszczu zagęszczonym wynosi: 2,5 C.

3.5. **Przedstawianie wyników**

Zawartość sacharozy w winach, moszczach i rektyfikowanych moszczach zagęszczonych należy wyrażać w gramach na litr wina i moszczu i w gramach na kilogram rektyfikowanego moszczu zagęszczonego, w każdym przypadku z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

7. **GLUKOZA I FRUKTOZA**

1. DEFINICJA

Glukoza I fruktoza mogą być oznaczane indywidualnie metodą enzymatyczną, jedynie w celu obliczenia stosunku glukoza / fruktoza.

2. ZASADA METODY

Glukoza I fruktoza poddawane są fosforylacji za pomocą trójfosforanu adenozyny (ATP, ang. *adenosine triphosphate*) w wyniku reakcji enzymatycznej katalizowanej przez heksokinazę (HK), w wyniku czego powstają 6-fosforan glukozy (G6P) i 6-fosforan fruktozy (F6P):

$$\text{glukoza} + \text{ATP} \xrightleftharpoons{\text{HK}} \text{G6P} + \text{ADP}$$

$$\text{fruktoza} + \text{ATP} \xrightleftharpoons{\text{HK}} \text{F6P} + \text{ADP}$$

6-fosforan glukozy jest najpierw utleniany do 6-fosforanu glukonianu za pomocą zredukowanego fosforanu dinukleotydu nikotynamidoadeninowego w obecności enzymu dehydrogenazy 6-fosforanu glukozy (G6PDH). Ilość powstającego zredukowanego fosforanu dinukleotydu nikotynamidoadeninowego (NADPH) odpowiada ilości 6-fosforanu glukozy, a przez to ilości glukozy.

$$\text{G6P} + \text{NADP}^+ \xrightleftharpoons{\text{G6PDH}} \text{glukozo-6-fosforan} + \text{NADPH} + \text{H}^+$$

Zredukowany fosforan dinukleotydu nikotynamidoadeninowego oznaczany jest poprzez pomiar absorpcji przy 340 nm.

Na koniec tej reakcji 6-fosforan fruktozy przekształca się w 6-fosforan glukozy za pomocą izomerazy glukofosforanowej (PGI):

$$\text{F6P} \xrightleftharpoons{\text{PGI}} \text{G6P}$$

6-fosforan glukozy reaguje ponownie z fosforanem dinukleotydu nikotynamidoadeninowego, dając 6-fosforan glukonianu i zredukowany fosforan dinukleotydu nikotynamidoadeninowego, ostatni związek jest oznaczany ilościowo.

3. APARATURA

— Spektrofotometr umożliwiający pomiar przy długości fali 340 nm, w której NADPH wykazuje najwyższą absorpcję. Uwzględnia się bezwzględne pomiary (tzn. nie wykorzystuje się krzywej wzorcowej, natomiast przeprowadza się normalizację z wykorzystaniem współczynnika ekstynkcji NADPH), dlatego należy sprawdzić skale długości fali oraz wartości absorpcji uzyskiwane w urządzeniu.

  Jeżeli nie jest dostępny, można również wykorzystać spektrofotometr ze źródłem światła o widmie nieciągłym, umożliwiający pomiar przy długości fali 334 lub 365 nm.

— Celki szklane o drodze optycznej 1 cm lub celki jednorazowego użytku.

— Pipety o pojemności 0,02, 0,05, 0,1 i 0,2 ml do odmierzania roztworów do badań enzymatycznych.

4. ODCZYNNIKI

4.1. **Roztwór 1:** roztwór buforowy (0,3 M trietanoloamina, pH 7,6, 4×10^{-3} M w Mg^{2+}): rozpuścić 11,2 g chlorowodorku trietanoloaminy ($(C_2H_5)_3N$. HCl) i 0,2 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ w 150 ml wody podwójnie destylowanej, dodać około 4 ml 5 M roztworu wodorotlenku sodu (NaOH) do uzyskania wartości pH 7,6 i uzupełnić do 200 ml.

Ten roztwór buforowy może być przechowywany w temperaturze + 4 °C przez cztery tygodnie.

4.2. **Roztwór 2:** roztwór fosforanu dinukleotydu nikotynamidoadeninowego (około $11,5 \times 10^{-3}$ M): 50 mg fosforanu dinukleotydu nikotynamidoadeninowego rozpuścić w 5 ml wody podwójnie destylowanej.

Ten roztwór może być przechowywany w temperaturze + 4 °C przez cztery tygodnie.

4.3. **Roztwór 3:** roztwór 5 „— trifosforanu disodu adenozyny (około 81×10^{-3} M): rozpuścić 250 mg 5" — trifosforanu disodu adenozyny i 250 mg wodorowęglanu sodu ($NaHCO_3$) w 5 ml wody podwójnie destylowanej.

Roztwór ten może być przechowywany w temperaturze + 4 °C przez cztery tygodnie.

4.4. **Roztwór 4:** heksokinaza/dehydrogenaza 6-fosforanu glukozy: zmieszać 0,5 ml roztworu heksokinazy (2 mg białka/ml lub 280 U/ml) z 0,5 ml roztworu dehydrogenazy glukozo-6-fosforanu (1 mg białka /ml).

Ta mieszanina może być przechowywana w temperaturze około + 4 °C przez rok.

4.5. **Roztwór 5:** izomeraza fosfoglukozy (2 mg protein/ml lub 700 U/ml). Tę zawiesinę używa się nierozcieńczoną.

Może ona być przechowywana w temperaturze około + 4 °C przez rok.

Uwaga:

Wszystkie wyżej wymienione stosowane roztwory są dostępne w handlu.

5. PROCEDURA

5.1. **Przygotowanie próbki**

Zależnie od oczekiwanej ilości glukozy + fruktozy na litr rozcieńczyć próbkę w następujący sposób:

Pomiar przy 340 lub 334 nm	Pomiar przy 365 nm	Rozcieńczanie wodą	Współczynnik rozcieńczenia *F*
do 0,4 g/l	0,8 g/1	—	—
do 4,0 g/l	8,0 g/1	1 + 9	10
do 10,0 g/l	20,0 g/1	1 + 24	25
do 20,0 g/l	40,0 g/1	1 + 49	50
do 40,0 g/l	80,0 g/1	1 + 99	100
powyżej 40,0 g/l	80,0 g/1	1 + 999	1 000

5.2. **Oznaczanie**

Przy użyciu spektrofotometru ustawionego na 340 nm przeprowadzić pomiar w stosunku do powietrza (bez celki na drodze światła) lub w stosunku do wody jako odnośnika.

Temperatura między 20 i 25 °C.

Do dwóch celek o drodze optycznej 1 cm nalać:

	Celka porównawcza	Celka z próbką
Roztwór 1 (4.1) (sprowadzony do temperatury 20 °C)	2,50 ml	2,50 ml
Roztwór 2 (4.2)	0,10 ml	0,10 ml
Roztwór 3 (4.3)	0,10 ml	0,10 ml
Badana próbka		0,20 ml
Woda podwójnie destylowana	0,20 ml	

Wymieszać i po około 3 minutach odczytać chłonność roztworów (A_1). Zapoczątkować reakcję przez dodanie:

Roztwór 4 (4.4)	0,02 ml	0,02 ml

Wymieszać; odczekać 15 minut; odczytać chłonność i po następnych 2 minutach sprawdzić, czy reakcja ustała (A_2).

Dodać niezwłocznie:

Roztwór 5 (4.5)	0,02 ml	0,02 ml

Zamieszać; po 10 minutach odczytać chłonność i po następnych 2 minutach sprawdzić, czy reakcja ustała (A_3).

Obliczyć różnice w chłonności:

$A_2 - A_1$ dotyczącą glukozy,

$A_3 - A_2$ dotyczącą fruktozy,

dla celek porównawczych i celek z próbkami.

Obliczyć różnice chłonności dla celki porównawczej (A_R) i celki z próbką (A_S) otrzymując wartości:

dla glukozy: $\Delta A_G = \Delta A_S - \Delta A_R$

dla fruktozy: $\Delta A_F = \Delta A_S - \Delta A_R$

Uwaga:

Czas potrzebny do przeprowadzenia reakcji enzymatycznej może być różny dla poszczególnych serii oznaczeń. Podana powyżej wartość jest podana tylko jako wskazówka i powinna być oznaczana dla każdej serii.

5.3. **Przedstawienie wyników**

5.3.1. *Obliczanie*

Ogólny wzór na obliczanie stężenia:

$$C\ (g/l) = \frac{V \times M}{\varepsilon \times d \times v \times 1000} \Delta A$$

gdzie: V = objętość roztworu używanego do badań (ml)
v = objętość próbki (ml)
M = masa cząsteczkowa oznaczanej substancji
d = droga optyczna celki (cm)
e = współczynnik chłonności NADPH przy 340 nm (= 6,3 $mM^{-1} \times 1 \times cm^{-1}$)

oraz V = 2,92 dla określenia glukozy
V = 2,94 dla określenia fruktozy
v = 0,20 ml
M = 180
d = 1

a więc:

dla glukozy C (g/l) = 0,417 A_G

dla fruktozy C (g/l) = 0,420 A_F

Jeżeli próbka została rozcieńczona podczas przygotowywania, wynik należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia F.

Uwaga:

Jeżeli pomiary były wykonywane przy 334 lub 365 nm, uzyskuje się następujące wyrażenia:

— pomiar przy 334 nm: = 6,2 ($mmola^{-1} \times 1 \times cm^{-1}$)

dla glukozy C (g/l) = 0,425 ΔA_G

dla fruktozy C (g/l) = 0,428 ΔA_F

— pomiar przy 365 nm: = 3,4 ($mmola^{-1} \times 1 \times cm^{-1}$)

dla glukozy C (g/l) = 0,773 ΔA_G

dla fruktozy C (g/l) = 0,778 ΔA_F

5.3.2. *Powtarzalność (r)*

$r = 0{,}056\ x_i$

5.3.3. *Odtwarzalność (R)*

$R = 0{,}12 + 0{,}076\ x_i$

x_i = zawartość glukozy lub fruktozy w g/l.

8. WYKRYWANIE WZBOGACANIA MOSZCZÓW GRONOWYCH, ZAGĘSZCZONYCH MOSZCZÓW GRONOWYCH, REKTYFIKOWANYCH ZAGĘSZCZONYCH MOSZCZÓW GRONOWYCH I WIN METODĄ MAGNETYCZNEGO REZONANSU JĄDROWEGO DEUTERU (SNIF-NMR/RMN-FINS)

1. DEFINICJA

Deuter występujący w cukrach i w wodzie moszczów gronowych po fermentacji znajduje się w winie w cząsteczkach związków I, II, III i IV:

$CH_2D\ CH_2OH$	$CH_3\ CHD\ OH$
I	II
$CH_3\ CH_2\ OD$	HOD
III	IV

Dodatek egzogennego cukru (dosładzanie na sucho) przed fermentacją moszczu będzie miał wpływ na rozkład deuteru.

W porównaniu z wartością parametrów dla naturalnego wina kontrolnego z tego samego regionu wzbogacanie egzogennym cukrem będzie powodowało następujące zmiany:

Wino \ Parametry	$(D/H)_I$	$(D/H)_{II}$	$(D/H)^Q_W$	R
– Naturalne	→	→	→	→
– Wzbogacane:				
– cukrem buraczanym	↘	↗	↗	↗
– cukrem trzcinowym	↗	↗	↗	↘
– cukrem kukurydzianym	↗	↗	↗	↘

$(D/H)_I$: Stosunek izotopów w cząsteczkach związku I

$(D/H)_{II}$: Stosunek izotopów w cząsteczkach związku II

$(D/H)^Q_W$: Stosunek izotopów wody w winie

$R = 2(D/H)_{II}/(D/H)_I$ wyraża względny rozkład deuteru w cząsteczkach związku I i II; R jest bezpośrednio mierzony na podstawie natężenia h sygnału, stąd $R = 3h_{II}/h_I$.

$(D/H)_I$ głównie cechuje gatunki roślin, które syntetyzują cukier i, w mniejszym stopniu, położenie geograficzne miejsca zbiorów (rodzaj wody wykorzystywanej w fotosyntezie).

Parametr $(D/H)_{II}$ przedstawia klimatologię lokalizacji produkcji winogron (rodzaj wody deszczowej i warunki pogodowe) oraz, w mniejszym stopniu, zawartość cukru w pierwotnym moszczu.

Parametr $(D/H)^Q_W$ przedstawia klimatologię lokalizacji produkcji i zawartość cukru w pierwotnym moszczu.

2. ZASADA

Określone powyżej parametry (R, $(D/H)_I$, $(D/H)_{II}$) ustalane są metodą magnetycznego rezonansu jądrowego deuteru w alkoholu etylowym wydzielonym z wina lub z produktów fermentacji moszczu, moszczu zagęszczonego lub rektyfikowanego moszczu zagęszczonego, uzyskanego w określonych warunkach; parametry te mogą być uzupełnione przez oznaczanie stosunku izotopów w wodzie wydzielonej z wina, $(D/H)^Q_W$ oraz przez oznaczanie stosunku izotopów $^{13}C/^{12}C$ w alkoholu etylowym.

Proces tworzenia banku danych Wspólnoty przebiega następująco:

W przypadku win próbkom kontrolnym pobieranym w regionach muszą towarzyszyć naturalne próbki kontrolne (co najmniej trzy) o tym samym pochodzeniu (położenie geograficzne i winnica); należy pobrać trzy serie takich próbek.

W przypadku moszczów, moszczów zagęszczonych i rektyfikowanych moszczów zagęszczonych należy przygotować trzy serie próbek kontrolnych z naturalnych moszczów tego samego pochodzenia (położenie geograficzne i winnica).

W celu kontroli produktów otrzymanych na własnym terytorium i do czasu utworzenia banku danych Wspólnoty Państwa Członkowskie mogą przejściowo korzystać z krajowych banków danych.

3. PRZYGOTOWANIE PRÓBKI DO ANALIZY

3.1. **Wydzielanie alkoholu etylowego i wody z wina**

Uwaga:

Można zastosować dowolną metodę wydzielania alkoholu etylowego, o ile zapewni ona w destylacie zawierającym 92—93 % masy (95 % obj.) odzysk 98—98,5 % całkowitej zawartości alkoholu etylowego w winie.

3.1.1. *Aparatura i odczynniki*

Aparatura do wydzielania alkoholu etylowego (rysunek I) składająca się z:

— elektrycznego płaszcza grzejnego z regulatorem napięcia,

— kolby okrągłodennej o pojemności 1 litra z matową szyjką,

— kolumny Cadiota z obrotowym pierścieniem (części ruchome wykonane z teflonu),

— kolby stożkowej o pojemności 125 ml z matową szyjką,

— butelek o pojemności 125 i 60 ml z korkami z tworzywa sztucznego.

Odczynniki do oznaczania zawartości wody metodą Karla Fischera (np. zestaw Mercka 9241 i 9243).

3.1.2. Procedura

3.1.2.1. Określić zawartość alkoholu w winie (t^v) z dokładnością co najmniej do 0,05 % obj.

3.1.2.2. Wydzielanie alkoholu etylowego

500 ml jednorodnej próbki wina o zawartości alkoholu t^v wprowadzić do kolby aparatu destylacyjnego o stałym stopniu deflegmacji ok. 0,9. Umieścić uprzednio skalibrowaną kolbę stożkową o pojemności 125 ml do przyjmowania destylatu. Zbierać wrzącą ciecz między 78,0 a 78,2 °C, w ilości około 40—60 ml. Jeżeli temperatura przekroczy 78,5 °C, przerwać zbieranie na pięć minut.

Gdy temperatura powróci do 78 °C, ponownie zbierać destylat aż do osiągnięcia temperatury 78,5 °C i powtarzać tę czynność aż do chwili, gdy temperatura, po przerwaniu zbierania i pracy w obiegu zamkniętym, pozostanie stała. Całkowita destylacja trwa około 5 godzin. Metoda ta pozwala na odzyskanie w destylacie 98-98,5 % całości alkoholu zawartego w winie, zawartość alkoholu w destylacie wynosi 92—93 % masy (95 % obj.), jest to stężenie, dla którego ustalono warunki NMR opisane w pkt 4.

Zważyć zebrany alkohol etylowy.

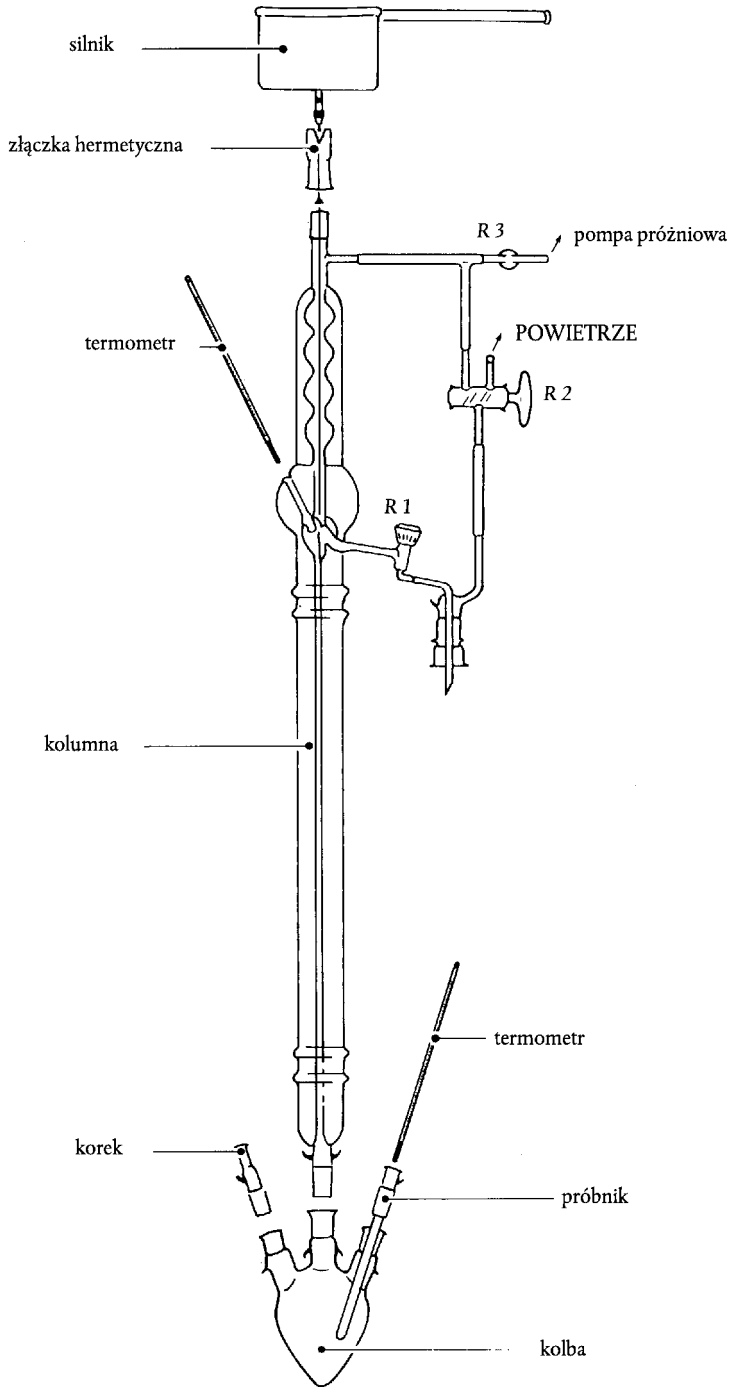
Jednolita 60-mililitrowa próbka pozostałości, odpowiadającej wodzie zawartej w winie, przechowywana jest w kolbie o pojemności 60 ml. Można oznaczyć jej stosunek izotopów, jeżeli jest to wymagane.

Uwaga:

Jeżeli dysponuje się spektrometrem wyposażonym w próbnik o średnicy 10 mm (porównaj pkt 4), do oznaczenia wystarczy jednorodna próbka wina o objętości 300 ml.

3.1.2.3. Oznaczanie zawartości alkoholu w alkoholu wyciągniętym

Zawartość wody (p' g) określa się metodą Karla Fischera, przy użyciu próbki o dokładnie oznaczonej masie p, zawierającej około 0,5 ml alkoholu.



Rysunek 1

Urządzenie destylacyjne do ekstrakcji alkoholu etylowego Zawartość masy alkoholu przedstawia:

Urządzenie destylacyjne do ekstrakcji alkoholu etylowego

$$t_m^D = \frac{p - p'}{p} \times 100$$

3.2. **Fermentacja moszczów, moszczów zagęszczonych i rektyfikowanych moszczów zagęszczonych**

3.2.1. *Aparatura i odczynniki*

Kwas winowy

DIFCO Bacto Yeast Nitrogen Base bez aminokwasów

Aktywne suszone drożdże (*Saccharomyces cerevisae*)

Jeżeli znany jest stosunek izotopów w moszczu, drożdże przed użyciem mogą być uaktywniane przez 15 min w minimalnej ilości letniej, niedestylowanej wody, aby stosunek izotopów był podobny do stosunku izotopów w moszczu.

Jeżeli stosunek izotopów w moszczu nie jest znany, lepiej jest użyć świeżych/bezpośrednich.

Naczynie fermentacyjne o pojemności 1,5 litra wyposażone w urządzenie zapewniające hermetyczne zamknięcie i skraplanie oparów alkoholu, ponieważ w trakcie fermentacji nie powinny następować żadne straty alkoholu etylowego. Wydajność przemiany cukrów fermentujących w alkohol etylowy powinna wynosić ponad 98 %.

3.2.2. *Procedura*

3.2.2.1. Moszcze

— Świeże moszcze

Umieścić 1 litr moszczu, w którym uprzednio ustalono zawartość cukrów fermentujących, w naczyniu fermentacyjnym. Dodać 1 g suchych drożdży, wcześniej uaktywnionych. Zamknąć szczelnie naczynie. Prowadzić fermentację w temperaturze około 20 °C do zużycia cukrów. Po oznaczeniu zawartości alkoholu w produkcie fermentacji i obliczeniu wydajności przemiany cukrów w alkohol odwirować przefermentowaną ciecz i oddestylować w celu wyciągnięcia alkoholu etylowego.

— Moszcze, w których fermentacja została zahamowana poprzez dodatek ditlenku siarki

Moszcz w ilości niewiele przekraczającej jeden litr (np. 1,2 litra) poddać desulfitacji poprzez przepuszczanie azotu przez moszcz umieszczony w wodzie o temperaturze 70 — 80 °C pod chłodnicą zwrotną, aż zawartość ditlenku siarki będzie wynosić poniżej 200 mg/l. Zwrócić uwagę, aby moszcz nie uległ zagęszczeniu w wyniku odparowania wody, w tym celu należy stosować wydajne chłodzenie. Umieścić 1 litr desulfitowanego moszczu w naczyniu fermentacyjnym i dalej postępować tak, jak w przypadku świeżego moszczu.

Uwaga:

Jeżeli do sulfitacji moszczu użyto pirosiarczynu potasu, przed desulfitacją do moszczu należy dodać 0,25 ml kwasu siarkowego (ρ_{20} = 1,84g/ml) na gram pirosiarczynu dodanego na litr moszczu.

3.2.2.2. Moszcze zagęszczone

Umieścić V ml moszczu zagęszczonego o znanej zawartości cukru (około 170 g) w naczyniu fermentacyjnym. Uzupełnić do 1 litra (1 000 — V) ml wody wodociągowej o tym samym stosunku izotopów co próbki naturalnego moszczu. Dodać suche drożdże (1 g) (3.2.1) i 3 g DIFCO Bacto Yeast Nitrogen Base bez aminokwasów. Dokładnie wymieszać i postępować jak uprzednio.

3.2.2.3. Rektyfikowane moszcze zagęszczone

Postępować, jak opisano w ppkt 3.2.2.2, uzupełniając moszcz do jednego litra (1 000 — V) ml wody wodociągowej o takim samym stosunku izotopów, zawierającej ponadto 3 g rozpuszczonego kwasu winowego.

Uwaga:

Pozostawić 50-mililitrową próbkę moszczu, moszczu utrwalanego ditlenkiem siarki, moszczu zagęszczonego, lub rektyfikowanego moszczu zagęszczonego w celu ewentualnego wydzielenia wody i oznaczenia w niej stosunku izotopów $(D/H)^{O}_{W}$. Ekstrakcję wody z moszczu można przeprowadzić w bardzo prosty sposób metodą destylacji azeotropowej, używając toluenu.

3.3. **Przygotowanie próbki alkoholu do pomiaru metodą NMR**

3.3.1. *Odczynniki*

N, N-tetrametylomocznik (TMU): użyć próbkę wzorcowego TMU o podanym, kontrolowanym stosunku izotopów D/H. Próbkę taką można uzyskać w:

Directorate-General for Science, Research and Development,
Community Bureau of References,
200 rue de la Loi, B-1049 Brussels.

3.3.2. *Procedura*

— próbnik do NMR o średnicy 15 mm:

do uprzednio zważonej butelki zebrać 7 ml alkoholu uzyskanego w sposób opisany w 3.1.2 i zważyć całość z dokładnością do 0,1 mg (m_A); następnie pobrać 3-mililitrową próbkę wzorca wewnętrznego (TMU) i zważyć z dokładnością do 0,1 mg (m_{st}). Wymieszać dokładnie, wstrząsając;

— próbnik do NMR o średnicy 10 mm:
wystarczy 3,2 ml alkoholu i 1,3 ml TMU.

Zależnie od rodzaju spektrometru i próbnika (por. pkt 4) dodać odpowiednie ilości heksafluorobenzenu jako substancji stabilizującej częstotliwość pola:

Spektrometr	Próbnik 10 mm	Próbnik 15 mm
7,05 T	150 µl	200 µl
9,4 T	35 µl	50 µl

3.4. **Przygotowanie próbki wody do pomiarów metodą NMR w celu ewentualnego oznaczania w niej stosunku izotopów**

3.4.1. *Odczynniki*

N, N-tetrametylomocznik (TMU): patrz ppkt 3.3.1.

3.4.2. *Procedura*

Umieścić 3 ml wody uzyskanej jak w ppkt 3.1.2. lub 3.2 (uwaga) w wytarowanej kolbie i zważyć z dokładnością do 0,1 mg (m'_E). Wprowadzić 4 ml wzorca wewnętrznego (TMU) i zważyć z dokładnością do 0,1 m (m'_{st}). Wymieszać dokładnie przez wstrząsanie.

Uwaga:

Jeżeli laboratorium posiada spektrometr masy do oznaczania stosunku izotopów, można go wykorzystać do pomiarów, aby zmniejszyć obciążenie spektrometru NMR. Konieczna jest normalizacja współczynnika Trv (5.2) dla każdej serii badanych win.

4. REJESTROWANIE WIDM ^{2}H NMR ALKOHOLU I WODY

Oznaczanie parametrów izotopowych.

4.1. **Aparatura**

— Spektrometr NMR wyposażony w specjalny próbnik „deuteru" dostrojony do charakterystycznej częstotliwości V_o pola B_o (np. dla B_o = 7,05 T, V_o = 46,05 MHz a dla B_o = 9,4 T, V_o = 61,4 MHz), posiadający kanał odsprzęgania protonów (B_2) i kanał stabilizacji częstotliwości pola (lock) na częstotliwości fluorowej.

Rozdzielczość mierzona w widmie, transformowana bez mnożenia wykładniczego (np. LB = 0) (rysunek 2b) i wyrażana przez szerokość połówkową sygnału metylowego i metylenowego alkoholu etylowego oraz sygnału metylowego TMU, powinna być mniejsza od 0,5 Hz. Czułość mierzona ze współczynnikiem mnożenia wykładniczego LB równym 2 (rysunek 2a) powinna być większa lub równa 150 dla sygnału metylowego etanolu w roztworze o zawartości alkoholu 95 % obj. /(93,5 % mas.).

W powyższych warunkach przedział wiarygodności dla pomiaru wysokości sygnału, obliczany z prawdopodobieństwem 97,5 % (test jednostronny) i dla 10 powtórzeń widma wynosi 0,35 %

— Urządzenie do automatycznej zmiany próbek (ewentualnie)

— Komputerowy program do przetwarzania danych

— Probówki na próbki o średnicy 15 lub 10 mm, zależnie od konstrukcji spektrometru.

4.2. **Normalizacja spektrofotometru i sprawdzanie**

4.2.1. *Normalizacja*

Przeprowadzić zwykłą normalizację jednorodności i czułości zgodnie z zaleceniami producenta.

4.2.2. *Sprawdzanie prawidłowości normalizacji*

Użyć wzorcowych alkoholi etylowych, oznaczonych literami C, V i B, o różnym stężeniu izotopów, ale dokładnie znormalizowanych. Znaczenie liter jest następujące:

— C: alkohol z cukru trzcinowego lub kukurydzy,

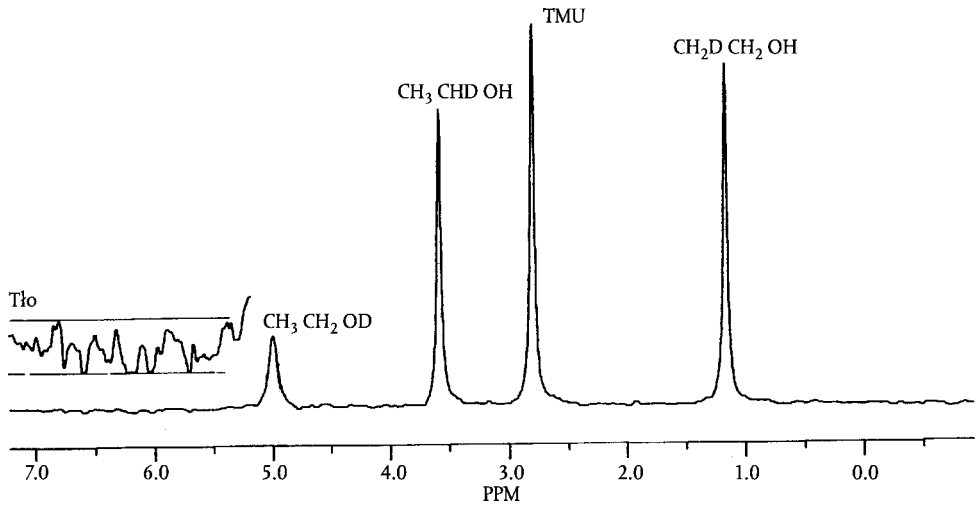
— V: spirytus winny,

— B: alkohol z buraków.

Próbki te są dostarczane przez Wspólnotowe Biuro Referencji.

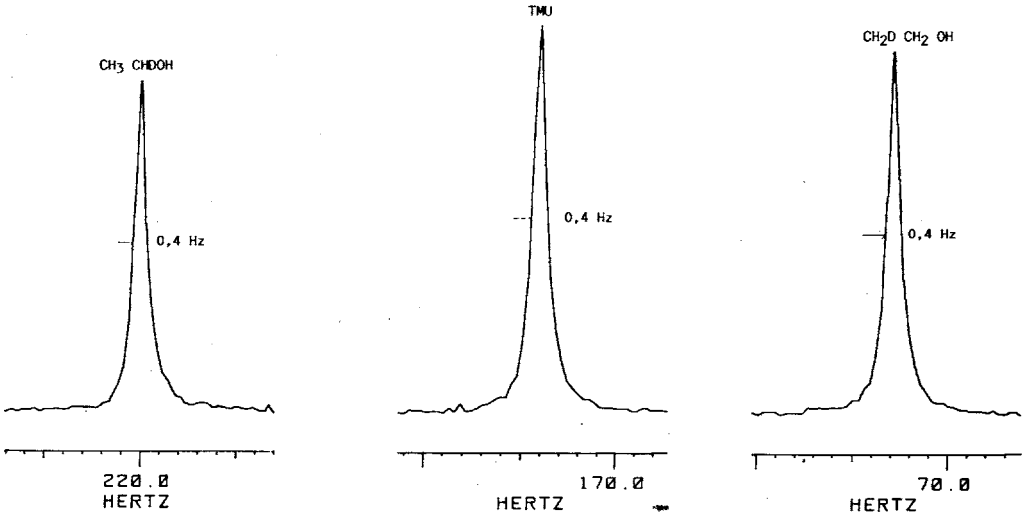
Postępując zgodnie z procedurą określoną w ppkt 4.3, ustalić stosunek izotopów w tych alkoholach, oznaczając je symbolami C_{meas}, V_{meas}, B_{meas} (patrz ppkt 5.3).

Porównać je z odpowiednimi wartościami standardowymi, oznaczonymi symbolami C_{st}, B_{st}, V_{st} (patrz ppkt 5.3).



Rysunek 2a

Widmo ^2H NMR alkoholu etylowego z wina z wzorcem wewnętrznym (TMU: N, N-tetrametylomocznik)



Rysunek 2b

Widmo ^2H NMR alkoholu etylowego uzyskane w tych samych warunkach co widmo na rysunku 2a, ale bez mnożenia wykładniczego (LB = 0)

Odchylenie standardowe powtarzalności uzyskanej na średniej z 10 powtórzeń każdego widma musi być niższe niż 0,01 dla współczynnika *R* i niższe niż 0,3 ppm dla stosunku $(D/H)_I$ i $(D/H)_{II}$.

Wartości średnie uzyskane dla różnych parametrów izotopowych (*R*, $(D/H)_I$, $(D/H)_{II}$) muszą odpowiadać odchyleniu standardowemu powtarzalności podanej dla tych parametrów dla wzorcowych alkoholi przez Wspólnotowe Biuro Referencji. Jeżeli nie, przeprowadzić ponowne kontrole.

4.3. **Warunki uzyskiwania widm NMR**

Próbkę alkoholu, przygotowaną jak w ppkt 3.3 (lub próbkę wody, przygotowaną jak w ppkt 3.4) umieścić w probówce o średnicy 15 lub 10 mm i wprowadzić do próbnika.

Warunki uzyskiwania widm NMR są następujące:

— stała temperatura próbnika (np. 302 K),

— czas wykrycia co najmniej 6,8 s dla szerokości widma 1200 Hz (16 K pamięci) (tzn. około 20 ppm przy 61,4 MHz lub 27 ppm przy 46,1 MHz),

— puls 90°,

— ustawienie czasu wykrycia: wartość ta powinna być tego samego rzędu co czas przerwy,

— wykrywanie paraboliczne: przesunięcie 01 ustawić między sygnałem odniesienia OD i CHD dla alkoholu etylowego i między wzorcowym sygnałem HOD i TMU dla wody,

— określić wartość przesunięcia odsprzęgania 02 na podstawie widma protonowego mierzonego za pomocą cewki odsprzęgającej w tej samej probówce. Dobre odsprzęganie osiąga się, gdy 02 znajduje się w środku przedziału częstotliwości występującego między grupami CH_3^- i CH_2^- Stosować szerokie pasmo odsprzęgania.

Dla każdego widma przeprowadzić liczbę nagromadzeń NS, wystarczającą do uzyskania stosunku sygnału do szumu podanego w ppkt 4.1 i powtórzyć te nagromadzenia NE = 10 razy. Wartości NS zależą od rodzaju spektrometru i używanego próbnika (porównaj pkt 4). Przykłady możliwych wyborów są następujące:

Spektrometr	Próbnik 10 mm	Próbnik 15 mm
7,05 T	NS = 304	NS = 200
9,4 T	NS = 200	NS = 128

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

5.1. **Alkohol etylowy**

Dla każdego z 10 widm (patrz widmo alkoholu etylowego, rysunek 2a) wyznaczyć:

— $R = \frac{3h_{II}}{h_I} = 3 \times \frac{\text{height of signal II } (CH_3\ CHD\ OH)}{\text{height of signal I } (CH_2D\ CH_2OH)}$

— $(D/H)_I = 1{,}5866 \times T_I \times \frac{m_{st}}{m_A} \times \frac{(D/H)_{st}}{t_m^D}$

— $(D/H)_H = 2{,}3799 \times T_{II} \times \frac{m_{st}}{m_A} \times \frac{(D/H)_{st}}{t_m^D}$

gdzie:

— $T_I = \frac{\text{height of signal I } (CH_2D\ CH_2\ OH)}{\text{height of signal of internal standard (TMU)}}$

— $T_{II} = \frac{\text{height of signal II } (CH_3CHD\ OH)}{\text{height of signal of internal standard (TMU)}}$

— m_{st} i m_A, patrz ppkt 3.3.2.

— t^D, patrz ppkt 3.1.2.3.

— $(D/H)_{st}$ = stosunek izotopów we wzorcu wewnętrznym (TMU) podany na butelce dostarczonej przez Wspólnotowe Biuro Referencji.

W miarę możliwości, wykorzystując do obliczeń wysokość piku, zamiast jego powierzchni, co jest metodą mniej dokładną, zakłada się, że szerokość piku w połowie jego wysokości jest identyczna i pozwala uzyskać możliwe do przyjęcia przybliżenie (rysunek 2b).

5.2. **Woda**

Jeżeli stosunek izotopów w wodzie jest określony NMR w mieszaninie woda–TMU, wykorzystuje się następującą zależność:

— $(D/H)_W^Q = 0{,}9306 \times T_{IV} \times \frac{m'_{st}}{m'_E} \times (D/H)_{st}$

gdzie:

— $T_{IV} = \frac{\text{Area of (HOD) signal of the water extracted from the wine}}{\text{Area of the signal from the internal standard (TMU)}}$

— m'_{st} i m'_E, patrz ppkt 3.4.2.

— $(D/H)_{st}$ = stosunek izotopów we wzorcu wewnętrznym (TMU) podany na butelce dostarczonej przez Wspólnotowe Biuro Referencji.

5.3. Dla każdego z parametrów izotopów obliczyć średnią z 10 określeń oraz przedział wiarygodności.
Odpowiednie oprogramowanie (np. SNIF-NMR) dostosowane do komputera współpracującego ze spektrometrem umożliwia bezpośrednie przeprowadzanie obliczeń.

Uwaga:

Jeżeli po normalizacji spektrometru występuje stała różnica między wartościami średnimi uzyskiwanymi dla charakterystycznych izotopów alkoholi wzorcowych (4.2.2) a wartościami podanymi przez Wspólnotowe Biuro Referencji, w granicach odchylenia standardowego można wprowadzić następujące poprawki w celu uzyskania prawdziwych wartości dla każdej próbki X.

Przeprowadzić, wykorzystując wartości próbki wzorcowej, między którymi znajduje się wartość odpowiadająca próbce X.

$(D/H)_i^{X_{meas}}$ oznacza wartość zmierzoną, a $(D/H)_i^{X_{corr}}$ oznacza wartość poprawioną. Otrzyma się następujące równanie:

$$(D/H)_i^{X_{corr}} = (D/H)_i^{B_{st}} + \alpha\,[(D/H)_i^{X_{meas}} - (D/H)_i^{B_{meas}}]$$

gdzie

$$\alpha = \frac{(D/H)_i^{V_{st}} - (D/H)_i^{B_{st}}}{(D/H)_i^{V_{meas}} - (D/H)_i^{B_{meas}}}$$

Przykład:

Próbki wzorcowe dostarczone i znormalizowane przez Wspólnotowe Biuro Referencji:

$(D/H)_I^{V_{st}} = 102{,}0$ ppm $(D/H)_I^{B_{st}} = 91{,}95$ ppm

Próbki wzorcowe mierzone w laboratorium:

$(D/H)_I^{V_{meas}} = 102{,}8$ ppm $(D/H)_I^{B_{meas}} = 93{,}0$ ppm

Kwestionowana próbka bez poprawki: = $(D/H)_I^{X_{meas}} = 100{,}2$ ppm

Obliczone wartości wynoszą: = $(D/H)_I^{X_{corr}} = 99{,}3$ ppm are calculated.

6. INTERPRETACJA WYNIKÓW

Porównać wartości R^x uzyskane dla współczynnika R kwestionowanej próbki z tym współczynnikiem uzyskanym w winach kontrolnych. Jeżeli R^x różni się od średniej wartości R^T uzyskanej dla wina kontrolnego o więcej niż dwukrotną wartość odchylenia standardowego, można przypuszczać, że próbka została zafałszowana.

6.1. **Dodatek cukru buraczanego, cukru trzcinowego lub glukozy kukurydzianej**

6.1.1. *Wina*

R^x wyższy niż R^T: przypuszczalny dodatek cukru buraczanego.
R^x mniejszy niż R^T: przypuszczalny dodatek cukru trzcinowego lub cukru kukurydzianego.
Zwrócić uwagę, że wartości $(D/H)_I^X$ and $(D/H)_W^{QX}$ wzrastają.
Znaczenie: $(D/H)_I^X$:

— Przypuszczalny dodatek cukru buraczanego: wartość $(D/H)_I^X$ kwestionowanej próbki jest niższa od wartości średniej $(D/H)_I^T$ oznaczonej w próbkach kontrolnych, o więcej niż wielkość odchylenia standardowego

— Przypuszczalny dodatek cukru kukurydzianego:

wartość $(D/H)_I^X$ jest większa od wartości $(D/H)_I^T$ o więcej niż wielkość odchylenia standardowego

— Oblicza wzbogacenia E, wyrazonej w % obj. alkoholu etylowego:

— Dodatek cukru buraczanego:

$$E\ \%\ obj = t^V \frac{(D/H)_I^T - (D/H)_I^X}{(D/H)_I^T - (D/H)_I^B}$$

gdzie:

$(D/H)_I^B$ = stosunek izotopów dla pozycji I alkoholu buraczanego;

$(D/H)_I^B = 92{,}5$(1)

t^V = zawartość alkoholu w badanym winie (X).

— Dodatek cukru trzcinowego lub cukru kukurydzianego:

$$E\ \%\ vol = t^V \frac{(D/H)_I^X - (D/H)_I^T}{(D/H)_I^C - (D/H)_I^T}$$

(1) Wartosci te sa podane do czasu utworzenia wspólnotowego banku danych takich wartosci.

gdzie:

$(D/H)_I^C$ = stosunek izotopów w cukrze trzcinowym dla pozycji I lub w cukrze kukurydzianym

$(D/H)_I^C$ = 110,5 (1)

t^v = zawartość alkoholu w analizowanym winie (X)

6.1.2. *Moszcze, moszcze zagęszczone i rektyfikowane moszcze zagęszczone*

Należy oznaczyć wartości parametrów izotopów w alkoholu wydzielonym, jak opisano w ppkt 3.1 z fermentowanego produktu otrzymanego (3.2) z moszczu, moszczu zagęszczonego i rektyfikowanego moszczu zagęszczonego, postępując zgodnie z instrukcją przedstawioną w pkt 6 pod „interpretacją wyników" (6.1.1) i porównać te wartości z alkoholem wydzielonym z produktu fermentacji moszczów.

Wzbogacenie E % obj. wyraża objętość alkoholu dodanego do przefermentowanego produktu. Znając rozcieńczenie, które mogło być dokonane przed fermentacją (w przypadku moszczów zagęszczonych i rektyfikowanych moszczów zagęszczonych) i zakładając, że z 16,83 g cukru otrzymuje się 1 % obj. alkoholu, należy obliczyć ilość (masę) cukru dodanego na litr moszczu, moszczu zagęszczonego lub rektyfikowanego moszczu zagęszczonego.

6.2. **Dodatek mieszaniny cukru buraczanego, cukru trzcinowego lub glukozy kukurydzianej**

Stosunek izotopów $(D/H)_I$ i *R* zmienia się w mniejszym stopniu, niż w przypadku dodania tylko jednego rodzaju cukru.

Wartość $(D/H)_{II}$ jest większa, jak również wartość $(D/H)_W^Q$.

Te dodatki można potwierdzić przez określenie stosunku $^{13}C/^{12}C$ w alkoholu etylowym metodą spektrometrii mas; w tym przypadku stosunek ten jest wyższy.

(1) Wartości te sa podane do czasu utworzenia wspólnotowego banku danych takich wartości.

9. **ZAWARTOŚĆ POPIOŁU**

1. DEFINICJA

Zawartość popiołu rozumiana jest jako wszelkie pozostałości produktów po spaleniu resztek z odparowania wina. Spalanie prowadzone jest w taki sposób, aby wszystkie kationy (z wyjątkiem kationów amonowych) przekształciły się w węglany lub inne bezwodne sole nieorganiczne.

2. ZASADA METODY

Ekstrakt wina jest spalany w temperaturze 500 — 550 °C aż do całkowitego spalenia (utlenienia) substancji organicznych.

3. APARATURA

3.1. wrząca łaźnia wodna;

3.2. waga o czułości do 0,1 mg;

3.3. płyta grzejna lub wyparka promiennikowa;

3.4. elektryczny piec muflowy o kontrolowanej temperaturze;

3.5. eksykator;

3.6. płaskodenne naczynie platynowe o średnicy 70 mm i wysokości 25 mm.

4. PROCEDURA

Do uprzednio zważonego naczynia platynowego (waga początkowa Po g) odmierzyć pipetą 20 ml wina. Odparować na wrzącej łaźni wodnej, a następnie ogrzewać pozostałość na płycie grzejnej o temperaturze 200 °C lub w wyparce promiennikowej aż do rozpoczęcia zwęglania. Kiedy przestanie wydzielać się dym, umieścić naczynie w elektrycznym piecu muflowym o temperaturze 525 ± 25 °C. Po 15 minutach zwęglania wyjąć tygiel z pieca, dodać 5 ml wody destylowanej, odparować wodę w łaźni wodnej lub w wyparce promiennikowej i ponownie ogrzewać próbkę w temperaturze 525 °C przez 10 minut.

Jeżeli nie nastąpiło całkowite spalenie (utlenienie) zwęglonych cząsteczek, powtórzyć czynności przemywania, odparowywania wody i spalania.

W przypadku win o wysokiej zawartości cukrów korzystnie jest dodać do ekstraktu przed pierwszym spopielaniem kilka kropli czystego oleju roślinnego w celu zapobieżenia nadmiernemu wytwarzaniu piany.

Po ochłodzeniu w eksykatorze zważyć tygiel (P_1 g).

Waga popiołu zawartego w próbce (20 ml) wynosi $P = (P_1 - P_0)\, g$.

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

5.1. Metoda obliczania

Wagę P popiołu w gramach na litr obliczyć z dokładnością do dwóch miejsc dziesiętnych poprzez wyrażenie: $P = 50\, p$

10. **ZASADOWOŚĆ POPIOŁU**

1. DEFINICJA

Zasadowość popiołu jest sumą kationów, z wyjątkiem jonów amonowych, połączonych z kwasami organicznymi w winie.

2. ZASADA METODY

Popiół rozpuszcza się w znanej (w nadmiarze) ilości gorącego standaryzowanego roztworu kwasu; nadmiar kwasu oznacza się metodą miareczkową z oranżem metylowym jako wskaźnikiem.

3. ODCZYNNIKI I APARATURA

3.1. 0,05 M roztwór kwasu siarkowego (H_2SO_4);

3.2. 0,1 M roztwór wodorotlenku sodu (NaOH);

3.3. oranż metylowy, 0,1-procentowy roztwór w wodzie destylowanej;

3.4. łaźnia z wrzącą wodą.

4. PROCEDURA

Do naczynia platynowego zawierającego popiół otrzymany z 20 ml wina odmierzyć 10 ml 0,05 M roztworu kwasu siarkowego (3.1). Umieścić naczynie we wrzącej wodzie na około 15 minut, rozbijając i mieszając zawartość tygla prętem szklanym w celu przyspieszenia rozpuszczania. Dodać dwie krople roztworu oranżu metylowego i odmiareczkować nadmiar kwasu siarkowego 0,1 M roztworem wodorotlenku sodu (3.2) do zmiany barwy wskaźnika na żółtą.

5. PRZEDSTAWIENIE WYNIKÓW

METODA OBLICZANIA

Zasadowość popiołu wyrażona w miligramorównoważnikach na litr, z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego wynosi

$A = 5\ (10 - n)$

gdzie n jest objętością 0,1 M zużytego wodorotlenku sodu.

11. **CHLORKI**

1. ZASADA

Zawartość chlorków oznacza się bezpośrednio w winie metodą potencjometryczną, używając elektrody Ag / AgCl.

2. APARATURA

2.1. Pehametr / miliwoltomierz o podziałce elementarnej co najmniej 2 mV.

2.2. Mieszadło magnetyczne.

2.3. Elektroda Ag / AcCl z nasyconym roztworem azotanu potasu jako elektrolitem.

2.4. Mikrobiureta o podziałce elementarnej 1/100 ml.

2.5. Chronometr.

3. ODCZYNNIKI

3.1. Wzorcowy roztwór chlorku: 2,1027 g chlorku potasu, KCl (maks. 0,005 % Br), suszony przed użyciem przez kilka dni w eksykatorze, rozpuścić w wodzie destylowanej i uzupełnić do jednego litra. 1 ml roztworu zawiera 1 mg Cl^-.

3.2. Roztwór azotanu srebra do miareczkowania: 4,7912 g azotanu srebra, $AgNO_3$ rozpuścić w 10-procentowym (v/v) roztworze alkoholu i uzupełnić do 1 litra. 1 ml roztworu odpowiada 1 mg Cl^-.

3.3. Kwas azotowy, co najmniej 65 % (ρ_{20} = 1,40 g/ml).

4. PROCEDURA

4.1. Do cylindrycznego naczynia na 150 ml umieszczonego na mieszadle magnetycznym odmierzyć 5,0 ml wzorcowego roztworu chlorku, rozcieńczyć wodą do około 100 ml i zakwasić za pomocą 1,0 ml kwasu azotowego (co najmniej 65 %). Po zanurzeniu elektrody miareczkować roztworem azotanu srebra dozowanym z mikrobiurety, przy umiarkowanym mieszaniu. Na początku dodać 4 ml azotanu w porcjach po 1,00 ml i odczytać odpowiednie wartości w miliwotach. Dodać następne 2 ml w porcjach po 0,20 ml. Na koniec dodawać porcje o objętości 1 ml aż do wprowadzenia całości 10 ml. Po każdym wkropleniu odczekać około 30 sekund i odczytać odpowiednie miliwolty. Odczytane wartości nanieść na wykres przedstawiający zależność potencjału od mililitrów miareczkowanego roztworu i na podstawie punktu osobliwego uzyskanej krzywej określić potencjał punktu równoważnikowego.

4.2. Do cylindrycznego naczynia na 150 ml odmierzyć 5 ml wzorcowego roztworu chlorku, dodać 95 ml wody destylowanej i 1 ml kwasu azotowego (co najmniej 65 %). Zanurzyć elektrodę i miareczkować, ciągle mieszając, do uzyskania potencjału punktu równoważnikowego. Oznaczenie powtarzać do uzyskania zbliżonych wyników. Test ten należy przeprowadzić przed każdą serią oznaczeń chlorków w próbkach.

4.3. Do cylindrycznego naczynia na 150 ml odmierzyć 50 ml wina do analizy. Dodać 50 ml wody destylowanej i 1 ml kwasu azotowego (co najmniej 65 %), zgodnie z procedurą opisaną w ppkt 4.2.

5. PRZEDSTAWIENIE WYNIKÓW

5.1. **Obliczenia**

Jeżeli *n* przedstawia liczbę mililitrów miareczkowanego roztworu azotanu srebra, to zawartość chlorków w badanej cieczy wynosi:

$20 \times n$	wyrażone jako miligramy Cl na litr,
$0{,}5633 \times n$	wyrażone jako miliekwiwalenty na litr,
$32{,}9 \times n$	wyrażone jako miligramy chlorku sodu na litr.

5.2. **Powtarzalność *(r)*:**

r = 1,2 mg Cl na litr

r = 0,03 mg na litr

r = 2,0 mg NaCl na litr

5.3. **Odtwarzalność *(R)***

R = 4,1 mg Cl na litr

R = 0,12 mg na litr

R = 6,8 mg NaCl na litr

6. *Uwaga:* Dla każdego dokładnego oznaczenia.

Dotyczy całej krzywej miareczkowania uzyskanej w wyniku miareczkowania badanego roztworu roztworem azotanu srebra.

a) Do cylindrycznego naczynia na 150 ml odmierzyć 50 ml wina poddanego analizie. Dodać 50 ml wody destylowanej i 1 ml kwasu azotowego (co najmniej 65 %). Miareczkować, używając roztworu azotanu srebra, dodając po 0,5 ml i rejestrując odpowiedni potencjał w miliwoltach. Na podstawie pierwszego miareczkowania określić przybliżoną objętość azotanu srebra potrzebną do zmiareczkowania próbki.

b) Powtórzyć miareczkowanie w tych samych warunkach. Na początku dodawać po 0,5 ml roztworu miareczkującego do momentu, w którym dodana ilość jest mniejsza od objętości wyznaczonej w lit. a) o 1,5 - 2 ml. Następnie dodawać po 0,2 ml. Kontynuować miareczkowanie poza przybliżony punkt równoważnikowy w sposób symetryczny, tzn. dodając po 0,2 ml, a następnie po 0,5 ml.

Punkt końcowy miareczkowania oraz dokładną objętość zużytego roztworu azotanu srebra osiąga się:

— poprzez wykreślenie krzywej i wyznaczenie punktu równoważnikowego,

— lub z następującego wyliczenia:

$$V = V' + \Delta V_i \frac{\Delta\Delta E_1}{\Delta\Delta E_1 + \Delta\Delta E_2}$$

gdzie:

V = objętość miareczkującego roztworu w punkcie równoważnikowym;

V' = objętość miareczkującego roztworu azotanu srebra przed największą zmianą potencjału;

ΔV_i = stała objętość, w jakiej wprowadzano roztwór azotanu srebra, tzn. 0,2 ml;

$\Delta\Delta E_1$ = druga różnica potencjału przed największą zmianą potencjału;

$\Delta\Delta E_2$ = druga różnica potencjału po największej zmianie potencjału.

Przykład:

Objętość $AgNO_3$	E potencjał w mV	Różnica ΔE	Druga różnica ΔΔE
0	204		
		4	
0,2	208		0
		4	
0,4	212		2
		6	
0,6	218		0
		6	
0,8	224		0
		6	
1,0	230		2
		8	
1,2	238		4
		12	
1,4	250		10
		22	
1,6	272		22
		44	
1,8	316		10
		34	
2,0	350		8
		26	
2,2	376		6
		20	
2,4	396		

W tym przykładzie punkt końcowy miareczkowania znajduje się między 1,6 a 1,8 ml; największa zmiana potencjału (ΔE = 44 mV) następuje w tym przedziale. Objętość roztworu azotanu srebra zużytego do zmiareczkowania chlorków w badanej próbce wynosi:

$$V = 1,6 + 0,2 \frac{22}{22 + 10} = 1,74 \text{ ml}$$

12. **SIARCZANY**

1. ZASADA

1.1. **Metoda porównawcza**

Wytrącanie siarczanu baru i ważenie. Fosforan baru wytrącający się w tych samych warunkach jest eliminowany przez przemywanie osadu kwasem solnym.

W przypadku moszczów i win bogatych w ditlenek siarki przed oznaczaniem zalecana jest desulfitacja poprzez gotowanie w szczelnie zamkniętym naczyniu.

1.2. **Szybka metoda badawcza**

Wina są klasyfikowane na kilka kategorii z zastosowaniem tzw. metody limitów, opartej na wytrącaniu siarczanu baru przez miarowany roztwór jonów baru.

2. METODA PORÓWNAWCZA

2.1. **Odczynniki**

2.1.1. 2 M roztwór kwasu solnego.

2.1.2. Roztwór chlorku baru o stężeniu 200 g/l $BaCl_2 \cdot 2H_2O$

2.2. **Procedura**

2.2.1. *Ogólna procedura*:

Do probówki wirującej o objętości 50 ml odmierzyć 40 ml analizowanej próbki; dodać 2 ml 2 M kwasu solnego i 2 ml roztworu chlorku baru o stężeniu 200 g/l. Mieszać mieszadłem szklanym; przepłukać mieszadło niewielką ilością wody destylowanej i odstawić na pięć minut. Wirować pięć minut, następnie ostrożnie zlać ciecz znad osadu.

Następnie przemyć osad siarczanu baru w następujący sposób: dodać 10 ml 2 M kwasu solnego, wytworzyć zawiesinę osadu i wirować przez pięć minut, następnie ostrożnie zlać ciecz znad osadu. Powtórzyć procedurę przemywania dwukrotnie w tych samych warunkach, za każdym razem używając 15 ml wody destylowanej.

Przenieść ilościowo osad, popłukując wodą destylowaną, do zważonej kapsułki platynowej i umieścić nad łaźnią wodną o temperaturze 100 °C aż do całkowitego odparowania. Wysuszony osad prażyć kilkakrotnie w płomieniu do uzyskania białej pozostałości. Ochłodzić w eksykatorze i zważyć.

m = masa otrzymanego siarczanu baru w miligramach.

2.2.2. *Specjalna procedura*: moszcz sulfitowany i wina o wysokiej zawartości ditlenku siarki.

Wcześniej usunąć ditlenek siarki.

Do kolby stożkowej na 500 ml wyposażonej we wkraplacz i rurkę odprowadzającą odmierzyć 25 ml wody i 1 ml czystego kwasu solnego (ρ_{20} = od 1,15 do 1,18 g/ml). Zagotować roztwór w celu usunięcia powietrza i przez wkraplacz wprowadzić 100 ml wina. Gotować próbkę do momentu, gdy objętość cieczy w kolbie zmniejszy się do około 75 ml i po schłodzeniu przenieść ilościowo do kolby miarowej na 100 ml. Uzupełnić wodą do kreski. Oznaczyć zawartość siarczanów w próbce o objętości 40 ml jak w ppkt 2.2.1.

2.3. **Prezentowanie wyników**

2.3.1. *Obliczenia*:

Zawartość siarczanów w przeliczeniu na miligramy siarczanu potasu, K_2SO_4, na litr wynosi:
$18{,}67 \times m$
Zawartość siarczanów w moszczach lub winie wyrażana jest w miligramach na litr siarczanu potasu, bez miejsca dziesiętnego.

2.3.2. *Powtarzalność*

do 1000 mg/l: $r = 27$ mg/l
około 1500 mg/l: $r = 41$ mg/l

2.3.3. *Odtwarzalność:*

do 1000 mg/l: $R = 51$ mg/l
około 1500 mg/l: $R = 81$ mg/l

3. SZYBKA METODA BADANIA

3.1. **Odczynniki**

3.1.1. Mianowany roztwór chlorku baru
2,804 g chlorku baru, $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ i 10 ml kwasu solnego (ρ_{20} = od 1,15 do 1,18 g/ml) rozpuścić w wystarczającej ilości wody i uzupełnić do 1 litra, 1 ml tego roztworu wytrąca jony siarczanowe w ilości odpowiadającej 2 mg siarczanu potasu.

3.1.2. Kwas siarkowy (ρ_{20} = 1,84 g/ml), rozcieńczony 1:10 (m/v).

3.2. **Wykonanie oznaczania**

Do trzech probówek odmierzyć po 10 ml moszczy lub wina; dodać do probówki nr 1: 3,5 ml, do probówki nr 2: 5 ml, a do probówki nr 3: 10 ml roztworu chlorku baru. Wstrząsnąć i doprowadzić do wrzenia; odstawić na jedną do dwóch godzin. Zlać ciecz znad osadu we wszystkich probówkach, przefiltrować i podzielić na dwie części. Do jednej części dodać kilka kropli rozcieńczonego roztworu kwasu siarkowego, do drugiej kilka kropli roztworu chlorku baru. Zaobserwować, czy ciecz w probówkach jest przejrzysta, czy mętna. Interpretacja obserwacji podana jest w tabeli poniżej.

<table>
<tr><td rowspan="2"></td><td rowspan="2">Wino</td><td rowspan="2">Chlorek baru</td><td colspan="2">Przesączone wino +</td></tr>
<tr><td>rozcieńczony kwas siarkowy</td><td>roztwór chlorku baru</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Pierwszy test</td><td>(ml)</td><td>(ml)</td><td>mętne</td><td>przejrzyste</td></tr>
<tr><td>10</td><td>3,5</td><td colspan="2">(mniej niż 0,7 g K_2SO_4/l)
przejrzysty | mętny
(więcej niż 0,7 g K_2SO_4/l)</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Drugi test</td><td rowspan="2">10</td><td rowspan="2">5</td><td>mętne</td><td>przejrzyste</td></tr>
<tr><td colspan="2">(mniej niż 1 g K_2SO_4/l)
mętne | przejrzyste
(więcej niż 1 g K_2SO_4/l)</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Trzeci test</td><td rowspan="2">10</td><td rowspan="2">10</td><td>mętne</td><td>przejrzyste</td></tr>
<tr><td colspan="2">(mniej niż 2 g K_2SO_4/l)
mętne | przejrzyste
(więcej niż 2 g K_2SO_4/l)</td></tr>
</table>

13. **KWASOWOŚĆ OGÓLNA**

1. DEFINICJA

Kwasowość ogólna wina jest sumą jego kwasowości miareczkowych, oznaczanych do pH 7 w odniesieniu do wzorcowego roztworu alkalicznego.

Ditlenek węgla nie wchodzi w skład kwasowości ogólnej.

2. ZASADA METODY

Miareczkowanie potencjometryczne lub miareczkowanie błękitem bromotymolowym jako wskaźnikiem i porównanie z wzorcem o barwie odpowiadającej punktowi końcowemu miareczkowania.

3. ODCZYNNIKI

3.1. Roztwór buforowy o pH 7,0:

— (orto) fosforan potasu (KH_2PO_4) ..... 107,3 g

— M roztwór wodorotlenku sodu (NaOH) ..... 500 ml

— woda do .....1 000 ml

Można użyć gotowych roztworów buforowych, dostępnych w handlu.

3.2. 0,1 M roztwór wodorotlenku sodu (NaOH).

3.3. Roztwór wskaźnika błękitu bromotymolowego o stężeniu 4g/l:

— błękit bromotymolowy ($C_{27}H_{28}Br_2O_5S$)..... 4 g

— obojętny alkohol etylowy, 96 % obj ..... 200 ml

Rozpuścić i dodać:

— wodę pozbawioną CO_2 ..... 200 ml

— 1 M roztwór wodorotlenku sodu w ilości potrzebnej do uzyskania barwy niebieskozielonej (pH 7)..... około 7,5 ml

— wody do ..... 1 000 ml

4. APARATURA

4.1. Pompka wodna.

4.2. Kolba próżniowa o pojemności 500 ml.

4.3. Potencjometr skalowany w wartościach pH i elektrody. Elektroda szklana musi być przechowywana w wodzie destylowanej. Elektroda kalomelowa nasycona musi być przechowywana w nasyconym roztworze chlorku potasu. Najczęściej używana jest elektroda kombinowana: powinna być przechowywana w wodzie destylowanej.

4.4. Cylindry miarowe na 50 ml (wino) i 100 ml (rektyfikowany moszcz zagęszczony).

5. PROCEDURA

5.1. **Przygotowanie próbki:**

5.1.1. *Wina*

Usunięcie ditlenku węgla. W kolbie próżniowej umieścić około 50 ml wina; podłączyć kolbę do pompki wodnej na jedną do dwóch minut, stale wstrząsając.

5.1.2. *Rektyfikowane moszcze zagęszczone*

Odważyć dokładnie 200 g rektyfikowanego moszczu zagęszczonego. Uzupełnić do kreski wodą w ilości 500 ml. Dokładnie wymieszać.

5.2. **Miareczkowanie potencjometryczne**

5.2.1. *Kalibracja pehametru*

Pehametr jest kalibrowany do użycia w temperaturze 20 °C, zgodnie z instrukcją producenta, za pomocą buforu o pH 7,00 w temperaturze 20 °C.

5.2.2. *Metoda pomiaru*

Do cylindra miarowego (4.4) wprowadzić próbkę, przygotowaną w sposób opisany w ppkt 5.1 o objętości 10 ml w przypadku wina i 50 ml w przypadku rektyfikowanego moszczu zagęszczonego. Dodać około 10 ml wody destylowanej, a następnie za pomocą biurety dodawać 0,1 M roztwór wodorotlenku sodu (3.2) do uzyskania pH 7 w temperaturze 20 °C. Wodorotlenek sodu należy dodawać powoli, stale mieszając. *n* ml oznacza objętość zużytego 0,1 M roztworu NaOH.

5.3. **Miareczkowanie ze wskaźnikiem** (błękit bromotymolowy)

5.3.1. *Próba wstępna*: oznaczanie barwy roztworu w końcowym punkcie miareczkowania.

W cylindrze miarowym (4.4) umieścić 25 ml przegotowanej wody destylowanej, 1 ml roztworu błękitu bromotymolowego (3.3) oraz próbkę przygotowaną w sposób opisany w ppkt 5.1 o objętości 10 ml w przypadku wina i 50 ml w przypadku rektyfikowanego moszczu zagęszczonego. Dodawać 0,1 M roztwór wodorotlenku sodu (3.2) do zmiany barwy na niebieskozieloną. Następnie dodać 5 ml roztworu buforowego o pH 7 (3.7).

5.3.2. *Pomiar*

W cylindrze miarowym (4.4) umieścić 30 ml przegotowanej wody destylowanej, 1 ml roztworu błękitu bromotymolowego (3.3) oraz próbkę przygotowaną w sposób opisany w ppkt 5.1 o objętości 10 ml w przypadku wina i 50 ml w przypadku rektyfikowanego moszczu zagęszczonego. Dodawać 0,1 M roztwór wodorotlenku sodu (3.2) do uzyskania barwy identycznej z barwą uzyskaną w badaniu wstępnym opisanym powyżej (5.3.1). *n* oznacza objętość zużytego 0,1 M roztworu wodorotlenku sodu.

6. PRZEDSTAWIENIE WYNIKU

6.1. **Metoda obliczania**

6.1.1. *Wina*

Kwasowość ogólna w miliekwiwalentach na litr wynosi:

$A = 10\,n$

Wartość tę podaje się z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

Kwasowość ogólna kwasu winowego w gramach na litr wynosi:

$A' = 0{,}075\ A$

Zapisuje się z dokładnością do jednego dziesiętnego.

6.1.2. *Rektyfikowane moszcze zagęszczone*

— Kwasowość ogólna w miliekwiwalentach na kilogram rektyfikowanego moszczu zagęszczonego wynosi $a = 5\,n$.

— Kwasowość ogólna w miliekwiwalentach na kilogram cukrów ogółem przedstawiana jest przez:

$$A = \frac{500 \times n}{P}$$

P = zawartość cukrów ogółem w % (m/m).

Wartość tę podaje się z dokładnością do jednego miejsca po przecinku.

6.2. **Powtarzalność** (*r*) dla miareczkowania ze wskaźnikiem:

r = 0,9 mg/litr

r = 0,07 g kwasu winowego / litr

dla win białych, różowych i czerwonych.

6.3. **Odtwarzalność** (*R*) dla miareczkowania ze wskaźnikiem (5.3):

Dla win białych i różowych:

R = 3,6 miliekwiwalentów / litr

R = 0,3 g kwasu winowego/litr

Dla win czerwonych:

R = 5,1 miliekwiwalentów / litr

R = 0,4 g kwasu winowego / litr

14. **KWASOWOŚĆ LOTNA**

1. DEFINICJE

Kwasowość lotna tworzona jest z kwasów z szeregu kwasu octowego, występujących w winie w formie wolnej i połączonych w sole.

2. ZASADA METODY

Miareczkowanie kwasów lotnych wydzielonych z wina metodą destylacji z parą wodną i miareczkowanie destylatu.

Z wina należy uprzednio usunąć ditlenek węgla.

Kwasowość tworzoną przez wolny i związany ditlenek siarki, oddestylowany w tych warunkach, należy odjąć od kwasowości destylatu.

Należy również odjąć kwasowość tworzoną przez kwas sorbinowy, który mógł zostać dodany do wina.

Uwaga:
W destylacie jest obecna część kwasu salicylowego, który w niektórych państwach jest używany do utrwalania wina. Zawartość kwasu salicylowego należy ustalić i odjąć od kwasowości. Metoda oznaczania podana jest w pkt 7 niniejszego rozdziału.

3. ODCZYNNIKI

3.1. Krystaliczny kwas winowy ($C_4H_6O_6$).

3.2. 0,1 M roztwór wodorotlenku sodu (NaOH).

3.3. 1-procentowy roztwór fenoloftaleiny w 96 % obojętnym alkoholu.

3.4. Kwas solny (ρ_{20} = od 1,18 do 1,19 g/ml) rozcieńczony w stosunku 1:4 (v/v).

3.5. 0,005 M roztwór jodu (I_2).

3.6. Krystaliczny jodek potasu (KI).

3.7. Roztwór skrobi o stężeniu 5 g/l.

Zmieszać 5 g skrobi z około 500 ml wody. Doprowadzić do wrzenia, ciągle mieszając, i gotować przez 10 minut. Dodać 200 g chlorku sodu. Ochłodzić i uzupełnić do 1 litra.

3.8. Nasycony roztwór boranu sodu ($Na_2B_4O_7 \cdot 10\ H_2O$, tzn. o stężeniu 55 g/l w temperaturze 20 °C.

4. APARATURA

4.1. Aparatura do destylacji parowej, składająca się z:

1. wytwornicy pary wodnej: para nie może zawierać ditlenku węgla;
2. kolby z przewodem pary;
3. kolumny destylacyjnej;
4. chłodnicy.

To wyposażenie musi zostać poddane trzem następującym badaniom:

a) Umieścić w kolbie 20 ml przegotowanej wody. Zebrać 250 ml destylatu i dodać do niego 0,1 ml 0,1 M roztworu wodorotlenku sodu (3.2) i dwie krople roztworu fenoloftaleiny (3.3). Barwa różowa musi utrzymywać się przez co najmniej 10 sekund (tzn. że para wodna nie zawiera ditlenku węgla).

b) Umieścić w kolbie 20 ml 0,1 M roztworu kwasu octowego. Zebrać 250 ml destylatu. Miareczkować 0,1 M roztworem wodorotlenku sodu (3.2): objętość roztworu zużytego do

miareczkowania musi wynosić co najmniej 19,9 ml (tzn. że co najmniej 99,5 % kwasu octowego zostało odde- stylowane z parą wodną).

c) Umieścić w kolbie miarowej 20 ml 1 M roztworu kwasu mlekowego. Zabrać 250 ml destylatu i miareczkować kwas 0,1 M roztworem wodorotlenku sodu (3.2).

Objętość roztworu wodorotlenku sodu zużytego do miareczkowania musi być mniejsza lub równa 1,0 ml (tzn. że nie więcej niż 0,5 % kwasu mlekowego zostało oddestylowane).

Każdy zestaw lub metoda, które spełniają wymagania powyższego testu, są zgodne z oficjalnymi międzynarodowymi wymogami dotyczącymi aparatury i metod.

4.2. Pompka wodna.

4.3. Kolba próżniowa.

5. PROCEDURA

5.1. **Przygotowanie próbki:** usunięcie ditlenku węgla. Umieścić około 50 ml wina w kolbie próżniowej; utworzyć w kolbie stan próżni, podłączając pompkę wodną na jedną do dwóch minut, stale wstrząsając kolbą.

5.2. **Destylacja parowa**

Umieścić 20 ml wina pozbawionego ditlenku węgla w kolbie w sposób opisany w ppkt 5.1. Dodać około 0,5 g kwasu winowego (3.1). Zebrać co najmniej 250 ml destylatu.

5.3. **Miareczkowanie**

Miareczkować 0,1 M roztworem wodorotlenku sodu (3.2), używając dwóch kropli fenoloftaleiny (3.3) jako wskaźnika. *n"* ml oznacza objętość zużytego wodorotlenku sodu.

Dodać cztery krople kwasu solnego rozcieńczonego w stosunku 1:4 (3.4), 2 ml roztworu skrobi (3.3) i kilka kryształów jodku potasu (3.6). Miareczkować wolny ditlenek siarki za pomocą 0,005 M roztworu jodu (3.5). *n"* ml oznacza zużytą objętość.

Dodawać nasycony roztwór boranu sodu (3.8) do pojawienia się barwy różowej. Miareczkować związany ditlenek siarki za pomocą 0,005 M roztworu jodu (3.5). *n"* ml oznacza zużytą objętość.

6. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

6.1. **Metoda obliczania**

Kwasowość lotna, wyrażana w miliekwiwalentach na litr z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego, wynosi:

$A = 5(n - 0{,}1\ n' - 0{,}05\ n")$.

Kwasowość lotna, wyrażana w gramach kwasu octowego na litr z dokładnością do dwóch miejsc dziesiętnych, wynosi:

$0{,}300\ (n - 0{,}1\ n' - 0{,}05\ n")$.

6.2. **Powtarzalność (*r*)**

$r = 0{,}7$ meq/litr

$r = 0{,}04$ g/litr kwasu octowego.

6.3. **Odtwarzalność (*R*)**

$R = 1{,}3$ meq/litr

$R = 0{,}08$ g/litr kwasu octowego.

6.4. **Wino zawierające kwas sorbinowy**

Ponieważ przy objętości destylatu wynoszącej 250 ml przechodzi do niego 96 % kwasu sorbinowego, kwasowość pochodzącą z kwasu sorbinowego należy odjąć od oznaczonej kwasowości lotnej, wiedząc, że 100 mg kwasu sorbinowego odpowiada kwasowości 0,89 miliekwiwalentów lub 0,053 g kwasu octowego i znając zawartość kwasu sorbinowego w mg/ml, ustaloną innymi metodami.

7. OZNACZANIE KWASU SALICYLOWEGO UMIESZCZONEGO W DESTYLACIE POCHODZĄCYM Z KWASOWOŚCI LOTNEJ

7.1. **Zasada**

Po określeniu kwasowości lotnej i wprowadzeniu poprawki na ditlenek siarki należy stwierdzić obecność kwasu salicylowego, po zakwaszeniu, poprzez fioletowe zabarwienie pojawiające się po dodaniu soli żelaza (III).

Określenie kwasu salicylowego przechodzącego do destylatu z kwasami lotnymi wykonuje się w drugim destylacie, o tej samej objętości, co destylat wykorzystany do oznaczania kwasowości lotnej. W destylacie tym oznacza się kwas salicylowy kolorymetryczną metodą porównawczą. Zawartość kwasu salicylowego odejmuje się od kwasowości lotnej destylatu oznaczonej w destylacie uzyskanym w pierwszej destylacji.

7.2. **Odczynniki**

7.2.1. Kwas solny (HCl) (ρ_{20} = od 1,18 do 1,19 g/l).

7.2.2. 0,1 M roztwór tiosiarczanu sodu ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$).

7.2.3. 10-procentowy (m/v) roztwór siarczanu żelazowo-amonowego ($Fe_2(SO_4)_3 \cdot (NH_4)_2SO_4 \cdot 24H_2O$).

7.2.4. 0,01 M roztwór salicylanu sodu.

Roztwór salicylanu sodu ($NaC_7H_5O_3$) o stężeniu 1,60 g/l).

7.3. **Procedura**

7.3.1. *Identyfikacja kwasu salicylowego w destylacie kwasowości lotnej*

Natychmiast po oznaczeniu kwasowości lotnej i wprowadzeniu poprawki na zawartość wolnego i związanego diditlenku siarki do kolby stożkowej odmierzyć 0,5 ml kwasu solnego (7.2.1), 3 ml 0,1 M roztworu tiosiarczanu sodu (7.2.2) i 1 ml roztworu siarczanu amonu żelaza (III) (7.2.3).

Barwa fioletowa świadczy o obecności kwasu salicylowego.

7.3.2. *Oznaczanie kwasu salicylowego*

Na kolbie stożkowej opisanej powyżej zaznaczyć kreską objętość destylatu. Kolbę opróżnić i przepłukać.

Przeprowadzić destylację parową następnej badanej próbki wina o objętości 20 ml i zebrać destylat do kolby stożkowej do kreski. Dodać 0,3 ml czystego kwasu solnego (7.2.1) i 1 ml roztworu siarczanu amonu żelaza (III) (7.2.3). Zawartość kolby stożkowej zabarwi się na fioletowo.

Do kolby stożkowej, identycznej jak kolba z zaznaczoną kreską, nalać wodę destylowaną w ilości równej ilości destylatu. Dodać 0,3 ml czystego kwasu solnego (7.2.1) i 1 ml roztworu siarczanu amonu żelaza (III) (7.2.3). Za pomocą biurety wprowadzać 0,01 M roztwór salicylanu sodu (7.2.4) do uzyskania barwy fioletowej o natężeniu odpowiadającym barwie roztworu w kolbie zawierającej destylat wina.

n" ml oznacza objętość roztworu dodanego z biurety.

7.3.3. **Poprawka do kwasowości lotnej**

Od objętości *n* ml 0,1 M roztworu wodorotlenku sodu, zużytego do miareczkowania kwasów w destylacie podczas oznaczania kwasowości lotnej, odjąć objętość 0,1 × *n*''' ml.

15. **KWASOWOŚĆ ZWIĄZANA**

1. ZASADA

Kwasowość związana obliczana jest z różnicy między kwasowością całkowitą a kwasowością lotną.

2. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

Kwasowość związana wyrażana jest w:

— miliekwiwalentach na litr,

— gramach kwasu winowego na litr.

16. **KWAS WINOWY**

1. ZASADA METODY

1.1. **Metoda porównawcza**

Kwas winowy wytrącany jest w postaci (±)winianu wapnia i ustalany grawimetrycznie. Ustalenie to można dla porównania uzupełnić ustaleniem metodą miareczkową. Warunki wytrącania (pH, całkowita objętość roztworu zużytego do wytrącania, stężenie jonów wytrącających) powinny być takie, aby nastąpiło całkowite wytrącenie (±)winianu wapnia, natomiast D(–)—winian wapnia pozostaje w roztworze.

Jeżeli do wina był dodany kwas mezowinowy, który powoduje, że wytrącanie (±) winianu wapnia jest niecałkowite, przed oznaczaniem należy przeprowadzić jego hydrolizę.

1.2. **Metoda zwykła**

Kwas winowy, wydzielony za pomocą kolumny jonowymiennej, oznaczany jest kolorymetrycznie w eluacie poprzez pomiar barwy czerwonej tworzącej się w reakcji z kwasem wanadowym. Eluat zawiera również kwas mlekowy i jabłkowy, które nie przeszkadzają.

2. METODA PORÓWNAWCZA

2.1. **Metoda grawimetryczna**

2.1.1. *Odczynniki*

2.1.1.1. Roztwór octanu wapnia o stężeniu 10 g wapnia w litrze:

węglan wapnia ($CaCO_3$)	25	g
lodowaty kwas octowy (CH_3COOH) (ρ_{20} = 1,05 g/ml)	40	ml
woda do	1	litra

2.1.1.2. (±)winian wapnia, krystaliczny: $CaC_4O_6H_4 . 4H_2O$:

Odmierzyć 20 ml roztworu kwasu L(+) — winowego (5g/l) w zlewce o pojemności 400 ml. Dodać 20 ml roztworu D(–) — winianu amonu (6,126 g/l) i 6 ml roztworu octanu wapnia zawierającego 10 g wapnia w litrze (2.1.1.1).

Pozostawić na dwie godziny w celu wytrącenia winianu wapnia. Osad zebrać w tyglu ze spiekanego szkła o porowatości nr 4 i przemyć trzy razy około 30 ml wody destylowanej. Wysuszyć do stałej wagi w piecu w temperaturze 70 °C. Używając wyżej wskazanych ilości odczynników, uzyskuje się około 340 mg krystalicznego (±)winianu wapnia.

Przechowywać w zakorkowanej butelce.

2.1.1.3. Roztwór wytrącający (pH 4,75):

— kwas D(–) — winowy ..... 122 mg

— 25-procentowy (v/v) roztwór wodorotlenku amonu (r_{20} = 0,97 g/ml) ... 0,3 ml

— roztwór octanu wapnia (10 g/litr wapnia) ..... 8,8 ml

— woda do ..... 1 000 ml

Rozpuścić kwas D(–) — winowy, dodać wodorotlenek amonu i uzupełnić do około 900 ml; dodać 8,8 ml roztworu octanu wapnia (2.1.1), uzupełnić do 1 litra i sprowadzić pH do 4,75 za pomocą kwasu octowego. Ponieważ (±)winian wapnia jest trudno rozpuszczalny w takim roztworze, dodać 5 mg (±)winianu wapnia na litr, mieszać przez 12 godzin i przesączyć.

2.1.2. *Procedura*

2.1.2.1. Wina bez dodatku kwasu mezowinowego

Umieścić 500 ml roztworu wytrącającego i 10 ml wina w zlewce na 600 ml. Wymieszać i zapoczątkować wytrącanie przez pocieranie ścianek naczynia końcem szklanej bagietki. Pozostawić do wytrącenia na 12 godzin (przez noc).

Przefiltrować ciecz i osad przez zważony tygiel z filtrem ze spiekanego szkła o porowatości nr 4, umieszczony na czystej kolbie próżniowej. Przepłukać naczynie filtratem, w którym zachodziło wytrącanie, aby przenieść całość osadu.

Wysuszyć do ciężaru stałego w piecu w temperaturze 70 °C. Zważyć. *p* oznacza wagę otrzymanego krystalicznego (±)winianu wapnia ($CaC_4O_6H_4$. $4H_2O$).

2.1.2.2. Wina, do których dodano kwas mezowinowy

W przypadku analizy win, do których dodano kwas mezowinowy lub istnieje przypuszczenie, że został on dodany, należy na wstępie przeprowadzić hydrolizę tego kwasu w następujący sposób:

Umieścić 10 ml wina i 0,4 ml lodowatego kwasu octowego (CH_3COOH, ρ_{20} = 1,05 g/ml) w kolbie stożkowej o pojemności 50 ml. Na kolbie zamocować chłodnicę zwrotną i gotować przez 30 minut. Pozostawić do ostygnięcia i przenieść roztwór z kolby stożkowej do zlewki na 600 ml. Przemyć kolbę dwukrotnie za pomocą 5 ml wody i dalej postępować, jak opisano powyżej.

Obliczona zawartość kwasu mezowinowego jest uwzględniana w końcowym wyniku oznaczenia jako kwas winowy.

2.1.3. *Przedstawianie wyników*

Jedna cząsteczka (±)winianu wapnia odpowiada połowie cząsteczki kwasu L(+)-winowego w winie.

Ilość kwasu winowego na litr wina, wyrażana w miliekwiwalentach kwasu winowego, wynosi 384,5 *p*.

Wartość ta podawana jest z dokładnością do jednego miejsca po przecinku.

Ilość kwasu winowego na litr wina, wyrażana w gramach kwasu winowego wynosi 28,84 *p*.

Wartość ta podawana jest z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

Ilość kwasu winowego na litr wina, wyrażana w gramach soli potasu kwasu winowego, wynosi 36,15 *p*.

Wartość ta podawana jest z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

2.2. **Porównawcza analiza miareczkowa**

2.2.1. *Odczynniki*

2.2.1.1. Kwas solny (HCl) (1:5 v/v) (ρ_{20} = od 1,18 do 1,19 g/ml)

2.2.1.2. 0,05 M roztwór EDTA:

EDTA (sól disodowa kwasu etylenodiaminotetraoctowego):

($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$) ..... 18,61 g

woda destylowana do..... 1 000 ml

2.2.1.3. 40-procentowy (m/v) roztwór wodorotlenku sodu:

wodorotlenek sodu (NaOH) ..... 40 g

woda destylowana do..... 100 ml

2.2.1.4. Wskaźnik kompleksometryczny: 1 % (m/m)

kwas 2-hydroksy-1-(2-hydroksy-4-sulfo-1-naftylazo)-3-naftoenowy ($C_{21}H_{14}N_2O_7S. 3H_2O$) ..... 1 g

bezwodny siarczan sodu (Na_2SO_4) ..... 100 g

2.2.2. *Procedura*

Po zważeniu umieścić tygiel ze spiekanego szkła zawierający osad (±)winianu wapnia na kolbie próżniowej i rozpuścić osad za pomocą 10 ml rozcieńczonego kwasu solnego (2.2.1.1). Przemyć tygiel ze spiekanego szkła w 50 ml wody destylowanej.
Dodać 5 ml 40-procentowego roztworu wodorotlenku sodu (2.2.1.3) i około 30 mg wskaźnika (2.2.1.4). Miareczkować 0,05 M roztworem EDTA (2.2.1.2). *n* oznacza ilość ml zużytych do miareczkowania.

2.2.3. *Przedstawianie wyników*

Ilość kwasu winowego na litr wina, wyrażana w miliekwiwalentach, jest równa 5 *n*.
Wartość ta jest podawana z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.
Ilość kwasu winowego na litr wina, wyrażana w gramach kwasu winowego jest równa 0,375 *n*.
Wartość ta jest podawana z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.
Ilość kwasu winowego na litr wina, wyrażana w gramach winianu potasu, równa się 0,470 *n*.
Wartość ta jest podawana z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

3. METODA ZWYKŁA

3.1. **Odczynniki**

3.1.1. *Do wstępnej obróbki wina*

3.1.1.1. Kwas octowy (CH_3COOH; ρ_{20} = 1,05 g/ml), rozcieńczony 30 % (v/v).

3.1.1.2. Silnie zasadowa żywica jonowymienna (np. żywica anionowymienna firmy Merck, 20—50 mesh, siła zasadowa III) w formie octanowej. Przygotować zawiesinę żywicy jonowymiennej (około 100 g) w 200 ml 30-procentowego roztworu kwasu octowego (3.1.1.1). Pozostawić w roztworze kwasu na co naj-

mniej 24 godziny przed użyciem. Do dalszych oznaczeń przechowywać żywicę jonowymienną w 30-procentowym roztworze kwasu octowego.

3.1.1.3. Kwas octowy (CH_3COOH; ρ_{20}= 1,05 g/ml), roztwór 0,5 % (v/v).

3.1.1.4. Roztwór siarczanu sodowego o stężeniu 7,1 g/100 ml (0,5 M):
Rozpuścić 71 g bezwodnego siarczanu sodowego (Na_2SO_4) w wodzie destylowanej i uzupełnić wodą destylowaną do 1000 ml.

3.1.2. *Do oznaczania kwasu winowego*

3.1.2.1. 27-procentowy (m/v) roztwór octanu sodu (CH_3CO Na):
Rozpuścić 270 g bezwodnego octanu sodu (CH_3COONa) w wodzie destylowanej i uzupełnić do 1000 ml.

3.1.2.2. Odczynnik wanadowy:
Rozpuścić 10 g metawanadanu amonowego (NH_4VO_3) w 150 ml 1 M roztworu wodorotlenku sodu (3.1.2.10). Przenieść roztwór do kolby miarowej o pojemności 500 ml i dodać 200 ml 27-procentowego roztworu octanu sodu (3.1.2.1). Uzupełnić wodą destylowaną do 500 ml.

3.1.2.3. 1 M roztwór H_2SO_4

3.1.2.4. 0,5 M roztwór H_2SO_4

3.1.2.5. 0,05 M roztwór H_2SO_4

3.1.2.6. 0,05 M roztwór kwasu nadjodowego:
Do kolby miarowej na 1000 ml wprowadzić 10,696 g nadjodanu sodu, $NaIO_4$ i 50 ml 0,5 M kwasu siarkowego (3.1.2.4) i uzupełnić do kreski wodą destylowaną.

3.1.2.7. 10-procentowy (m/v) roztwór gliceryny:
Do kolby miarowej na 100 ml wprowadzić 10 g gliceryny, $C_3H_8O_3$ i uzupełnić do kreski wodą destylowaną.

3.1.2.8. Roztwór siarczanu sodowego o stężeniu 7,1 g/100 ml (patrz 3.1.1.4).

3.1.2.9. Roztwór kwasu winowego, 1 g/l:
Do kolby miarowej na 500 ml wprowadzić 0,5 g kwasu winowego i 6,66 ml 1 M roztworu wodorotlenku sodu (3.1.2.10) i uzupełnić do kreski 7,1-procentowym roztworem siarczanu sodu (3.1.1.4).

3.1.2.10. 1 M roztwór wodorotlenku sodu, NaOH.

3.2. **Aparatura**

3.2.1. Kolumna szklana o średnicy wewnętrznej 10 — 11 mm i długości około 300 mm, wyposażona w zawór odwadniający.

3.2.2. Spektrofotometr umożliwiający pomiar chłonności przy długości fali 490 nm, wyposażony w celki o drodze optycznej 10 mm.

3.3. **Procedura**

3.3.1. *Przygotowanie kolumny jonowymiennej*

Umieścić zatyczkę z waty szklanej w szklanej kolumnie nad zaworem odwadniającym (3.2.1). Nasączyć zatyczkę wodą destylowaną. Do kolumny nalać 10 ml zawiesiny żywicy jonowymiennej w for-

mie octanowej (3.1 .1.2). Pozostawić do osadzenia. Umieścić warstwę waty szklanej na wierzchołku żywicy (w celu zabez-pieczenia przed naruszaniem wypełnienia w czasie kolejnych przemywań).

Kolumna jonowymienna może być użyta tylko jeden raz.

3.3.2. *Separacja kwasów organicznych*

Przy otwartym zaworze pozwolić spłynąć roztworowi kwasu octowego z kolumny, pozostawiając warstwę 2-3 mm roztworu nad górną warstwą waty szklanej.

Dodać 10 ml 0,5-procentowego roztworu kwasu octowego (3.1.1.3) i pozwolić cieczy spłynąć do tego samego poziomu co w poprzedniej operacji. Czterokrotnie powtórzyć przemywanie.

Po ostatnim przemyciu zamknąć zawór i na kolumnę nanieść 10 ml wina lub moszczu. Sączyć próbkę przez kolumnę z taką prędkością, aby eluat wypływał w postaci pojedynczych kropli (z przeciętną prędkością jednej kropli na sekundę) i zamknąć zawór, gdy górny poziom cieczy w kolumnie znajdzie się tuż nad warstwą żywicy jonowymiennej. Ponownie nanieść na kolumnę 10 ml 0,5-procentowego roztworu kwasu octowego (3.1.1.3), pozwolić spłynąć z szybkością taką jak poprzednio, a następnie przemyć siedem razy w ten sam sposób za pomocą 10-mililitrowych porcji wody. Podczas ostatniego przemywania zamknąć kran w momencie, gdy górny poziom cieczy znajdzie się bezpośrednio nad warstwą waty szklanej.

Kwasy wchłonięte na żywicy jonowymiennej eluować 7,1-procentowym roztworem siarczanu sodu (3.1.1.4). Eluat zbierać do kolby miarowej na 100 ml do kreski.

3.3.3. *Oznaczanie kwasu winowego*

3.3.3.1. Wina bez dodatku kwasu mezowinowego

Umieścić 20 ml eluatu w dwóch kolbach stożkowych *a* i *b*.

Kolbę *a* wykorzystać do oznaczenia, a kolbę *b*, w której kwas winowy został zniszczony kwasem nadjodowym, potraktować jako próbę ślepą.

Do kolby *a* wprowadzić:

— 2 ml 1 M H_2SO_4 (3.1.2.3),

— 5 ml 0,05 M H_2SO_4 (3.1.2.5),

— 1 ml 10-procentowej gliceryny (3.1.2.7).

Do kolby *b* wprowadzić:

— 2 ml 1 M H_2SO_4 (3.1.2.3),

— 5 ml 0,05 M roztworu kwasu nadjodowego (3.1.2.6).

Odczekać 15 minut; dodać

1 ml 10-procentowego glicerolu (3.1.2.7) w celu usunięciu nadmiaru kwasu nadjodowego.

Odczekać dwie minuty.

Następnie, ciągle mieszając, odmierzyć pipetą 5 ml odczynnika wanadowego (3.1.2.2), najpierw do kolby *b*, a niezwłocznie potem do kolby *a*. Niezwłocznie włączyć stoper i nalać roztwór z kolb *a* i *b* do celek spektrofotometru. Po 90 sekundach odczytać wartość chłonności przy 490 nm cieczy z kolby *a* (próbka) w stosunku do cieczy z kolby *b* (próba ślepa).

Roztwory zawierające wysokie stężenia kwasu winowego, które dają wyższą chłonność niż roztwór wzorcowy o największym stężeniu, należy rozcieńczyć 7,1-procentowym siarczanem sodu i zmierzyć ponownie.

3.3.3.2. Wina, do których dodano kwas mezowinowy

W przypadku analizy wina, do którego dodano lub przypuszcza się, że dodano, kwas mezowinowy, przed oznaczaniem powinno się przeprowadzić jego hydrolizę, tak jak opisano w metodzie porównawczej.

Po schłodzeniu zawartość kolby stożkowej nanieść na kolumnę jonowymienną, a następnie przemyć wodą (5 ml, dwukrotnie). Dalej postępować tak, jak opisano powyżej.

Zawartość kwasu mezowinowego jest uwzględniana w końcowym wyniku oznaczenia jako kwas winowy.

3.3.4. *Wykreślanie krzywej odwzorowania*

Do kolb miarowych o pojemności 100 ml odmierzyć pipetą 10, 20, 30, 40 i 50 ml roztworu kwasu winowego o stężeniu 1 g/l (3.1.2.9) i uzupełnić do kreski 7,1-procentowym roztworem siarczanu sodu (3.1.1.4). Stężenie tych roztworów odpowiada eluatom wina zawierającym 1, 2, 3, 4 i 5 g/l kwasu winowego.

Do dwóch kolb stożkowych *a* i *b* wprowadzić 20 ml powyższych roztworów i dalej postępować, jak opisano powyżej dla eluatu wina.

Wykres chłonności tych roztworów jako funkcji stężenia kwasu winowego jest linią prostą, zakrzywioną lekko do wewnątrz w kierunku początku wykresu. Jeżeli potrzeba, należy dokładniej wytyczyć tę część krzywej, oznaczając chłonność roztworów o dokładnie znanych stężeniach poniżej 1,0 g/l.

3.3.5. *Prezentowanie wyników*

Na krzywej odwzorowania znaleźć wartość chłonności odczytaną dla eluatu i odpowiadające jej stężenie kwasu winowego w gramach na litr.

Wyniki przedstawić z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

17. **KWAS CYTRYNOWY**

1. ZASADA METODY

Kwas cytrynowy przekształca się w szczawiooctan i octan w reakcji katalizowanej przez liazę cytrynianową (CL):

$$\text{cytrynian} \xrightleftharpoons{\text{CL}} \text{szczawiooctan + octan}$$

W obecności dehydrogenazy jabłczanowej (MDH) i dehydrogenazy mleczanowej (LDH) szczawiooctan i jego dekarboksylowana pochodna, pirogronian, są redukowane do L-jabłczanu i L-mleczanu przez zredukowany dinukleotyd nikotynamidoadeninowy (NADH):

$$\text{szczawiooctan + NADH + H}^+ \xrightleftharpoons{\text{MDH}} \text{L-jabłczan + NAD}^+$$

$$\text{pirogronian + NADH + H}^+ \xrightleftharpoons{\text{LDH}} \text{L-mleczan + NAD}^+$$

Ilość utlenionego dinukleotydu nikotynamido-adeninowego NAD^+ do NADH w powyższej reakcji jest proporcjonalna do ilości obecnego cytrynianu. Utlenienie NADH ustala się poprzez pomiar spadku chłonności przy długości fali 340 nm.

2. ODCZYNNIKI

2.1. Roztwór buforowy o pH 7,8,
(0,51 M glicyloglicyna; pH 7,8; Zn^{2+} ($0{,}6 \times 10^{-3}$ M):
rozpuścić 7,13 g glicyloglicyny w około 70 ml wody podwójnie destylowanej.
Dostosować pH do 7,8 za pomocą około 13 ml 5 M roztworu wodorotlenku sodu, dodać 10 ml roztworu chlorku cynkowego ($ZnCl_2$ 80 mg w 100 ml H_2O) i uzupełnić do 100 ml wodą podwójnie destylowaną.

2.2. Roztwór zredukowanego dinukleotydu nikotynamidoadeninowego (NADH) (około 6×10^{-3} M): rozpuścić 30 mg NADH i 60 mg $NaHCO_3$ w 6 ml wody podwójnie destylowanej.

2.3. Roztwór dehydrogenazy jabłczanowej i dehydrogenazy mleczanowej (MDH/LDH, 0,5 mg/ml MDH, 2,5 mg/ml LDH): zmieszać 0,1 ml roztworu MDH (5/ml mg MDH), 0,4 ml roztworu siarczanu amonowego (3,2 M i 0,5 ml LDH (5 mg/ml). Zawiesina ta jest trwała przez co najmniej rok w 4 °C.

2.4. Liaza cytrynianowa (CL, 5 mg/ml białka): rozpuścić 168 mg liofilizatu w 1 ml lodowato zimnej wody. Roztwór ten jest trwały przez co najmniej tydzień w 4 °C i przez co najmniej cztery tygodnie w stanie zamrożenia.
Zaleca się sprawdzić aktywność enzymów przed wykonaniem oznaczania.

2.5. Poliwinylopolipirolidon (PVPP)

Uwaga: Wszystkie wyżej wymienione odczynniki są dostępne w handlu.

3. APARATURA

3.1. Spektrofotometr umożliwiający pomiar przy długości fali 340 nm, przy której NADH wykazuje maksimum absorpcji.
Jeżeli spektrofotometr taki nie jest dostępny, można użyć spektrofotometru o źródle widma nieciągłego, umożliwiający pomiar przy 334 lub 365 nm.
Ponieważ w oznaczeniu mierzy się bezwzględną chłonność (tzn. nie wykorzystuje się krzywych odwzorowania, natomiast przeprowadza się standaryzację, uwzględniając współczynnik ekstynkcji NADH), należy sprawdzić skale długości fali i chłonność widmową aparatu.

3.2. Celki szklane o drodze optycznej 1 cm lub celki jednorazowego użytku.

3.3. Mikropipety do pipetowania wielkości w zakresie 0,02—2 ml.

4. PRZYGOTOWANIE PRÓBKI

Oznaczanie cytrynianu przeprowadza się zwykle bezpośrednio w winie, bez uprzedniego usuwania związków barwnych (zabarwienia) i bez rozcieńczania, o ile zawartość kwasu cytrynowego wynosi poniżej 400 mg/l. W przeciwnym przypadku wino należy rozcieńczyć do uzyskania zawartości cytrynianu od 20 do 400 mg/l (tzn. zawartość cytrynianu w badanej próbce wynosi 5-80 µg).

Jeżeli wina czerwone zawierają duże ilości składników fenolowych, zaleca się poddanie ich obróbce za pomocą PVPP:

Wytworzyć zawiesinę około 0,2 g PVPP w wodzie i odstawić na 15 minut. Przefiltrować przez filtr karbowany.

Umieścić 10 ml wina w kolbie stożkowej o pojemności 50 ml, dodać wilgotną PVPP usuniętą łopatką z filtra. Potrząsać przez dwie do trzech minut. Przefiltrować.

5. PROCEDURA

a pomocą spektrofotometru z długością fali ustawionej na 340 nm oznaczyć chłonność przy użyciu jednocentymetrowych celek i w stosunku do powietrza jako wzorca o zerowej chłonności (próbka odniesienia) (bez celki na drodze światła). W jednocentymetrowych celkach umieścić:

	Celka odniesienia (ml)	Celka z badaną próbką (ml)
Roztwór 2.1	1,00	1,00
Roztwór 2.2	0,10	0,10
Badana próbka	–	0,20
Woda podwójnie destylowana	2,00	1,80
Roztwór 2.3	0,02	0,02

Wymieszać i po około pięciu minutach odczytać chłonność roztworu w celce porównawczej w celce z próbką (A_1).

Dodać:

Roztwór 2.4	0,02 ml	0,02 ml

Wymieszać, pozostawić do zakończenia reakcji (około pięć minut) i odczytać chłonność w celce odniesienia i roztworu w celce z próbką (A_2).

Obliczyć różnicę chłonności ($A_2 - A_1$) dla celki odniesienia i celki z próbką, ΔA_R *i* ΔA_S.

Na koniec obliczyć różnicę między tymi różnicami:

$\Delta A = \Delta A_S — \Delta A_R$

Uwaga: Czas niezbędny do całkowitego przebiegu reakcji enzymatycznej może być różny dla kolejnych serii oznaczeń. Powyższa wartość jest podana tylko jako wskazówka i zaleca się, aby była oznaczana dla każdej serii.

6. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

Zawartość kwasu cytrynowego podaje się w miligramach na litr w zaokrągleniu do liczby całkowitej.

6.1. **Metoda obliczania**

Ogólny wzór obliczania zawartości kwasu cytrynowego w mg/l jest następujący:

$$C = \frac{V \times M}{\varepsilon \times d \times v} \times \Delta A$$

gdzie

V = objętość badanego roztworu w ml (w niniejszym przykładzie 3,14 ml)

v = objętość badanej próbki w ml (w niniejszym przykładzie 0,2 ml)

M = masa cząsteczkowa oznaczanej substancji

(w niniejszym przykładzie dla bezwodnego kwasu cytrynowego M = 192,1)

d = droga optyczna celki w cm (w niniejszym przykładzie 1 cm)

ε = współczynnik chłonności NADH (przy 340 nm ε = 6,3 $mmol^{-1} \times 1 \times cm^{-1}$),

a więc

$C = 479 \times \Delta A$

Jeżeli próbka została rozcieńczona w trakcie przygotowywania, wynik należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.

Uwaga:

Przy 334 nm: $C = 488 \times \Delta$ (= 6,2 $mmol^{-1} \times 1 \times cm^{-1}$).

Przy 365 nm: $C = 887 \times \Delta$ (= 3,4 $mmol^{-1} \times 1 \times cm^{-1}$).

6.2. **Powtarzalność (*r*)**

Stężenie kwasu cytrynowego poniżej 400 mg/l: r = 14 mg/l.

Stężenie kwasu cytrynowego powyżej 400 mg/l: r = 28 mg/l.

6.3. **Odtwarzalność (*R*)**

Stężenie kwasu cytrynowego poniżej 400 mg/l: R = 39 mg/l.

Stężenie kwasu cytrynowego powyżej 400 mg/l: R = 65 mg/l.

18. **KWAS MLEKOWY**

1. ZASADA METODY

Cała ilość kwasu mlekowego (L-mleczan i D-mleczan) jest utleniana przez dinukleotyd nikotynamidoadeninowy (NAD) do pirogronianu w reakcji katalizowanej przez dehydrogenazę L-mleczanową (L-LDH) i dehydrogenazę D-mleczanową (D-LDH).

Równowaga tej reakcji jest zwykle przesunięta w stronę mleczanu. Usuwanie pirogronianu z mieszaniny reakcyjnej przesuwa równowagę reakcji w stronę tworzenia pirogronianu.

W obecności L-glutaminianu pirogronian przechodzi w L-alaninę w reakcji katalizowanej przez transaminazę glutaminowo-pirogronianową (GPT).

1) L-mleczan + NAD^+ $\xrightleftharpoons{\text{L-LDH}}$ pirogronian + NADH + H^+

2) D-mleczan + NAD^+ $\xrightleftharpoons{\text{D-LDH}}$ pirogronian + NADH + H^+

3) Pirogronian + L-glutaminian $\xrightleftharpoons{\text{GPT}}$ L-alanina + -ketoglutaran

Ilość powstającego NADH, mierzona poprzez wzrost chłonności przy długości fali 340 nm, jest proporcjonalna do ilości mleczanu obecnego w próbce.

Uwaga:

Kwas L-mlekowy można niezależnie ustalić, wykorzystując reakcje 1) i 3), natomiast kwas D-mlekowy może być analogicznie ustalony za pomocą reakcji 2) i 3).

1.2. **Metoda rutynowa**

Kwas mlekowy, wydzielony metodą chromatografii na żywicy jonowymiennej, jest utleniany do etanalu i oznaczany kolorymetrycznie po przeprowadzeniu jego reakcji z nitroprusydkiem sodu i piperydyną.

2. METODA PORÓWNAWCZA

2.1. **Odczynniki**

2.1.1. Roztwór buforowy, pH 10 (0,6 mola/l glicyloglicyny; 0,1 mola/l L-glutaminianu):

Rozpuścić 4,75 g glicyloglicyny i 0,88 g kwasu L-glutaminowego w około 50 ml wody podwójnie destylowanej; dostosować pH do 10 za pomocą kilku mililitrów 10 M roztworu wodorotlenku sodu i uzupełnić do 60 ml wodą podwójnie destylowaną.

Roztwór ten jest trwały przez co najmniej 12 tygodni w temperaturze 4 °C.

2.1.2. Roztwór dinukleotydu nikotynamidoadeninowego (NAD), o stężeniu około 40×10^{-3} M: rozpuścić 900 mg NAD w 30 ml wody podwójnie destylowanej. Roztwór ten jest trwały przez co najmniej 4 tygodnie w temperaturze 4 °C.

2.1.3. Zawiesina transaminazy glutaminowo-pirogronianowej (GPT), 20 mg/ml. Zawiesina ta jest trwała przez co najmniej rok w temperaturze 4 °C.

2.1.4. Zawiesina dehydrogenazy L-mleczanowej (L-LDH), 5 mg/ml. Zawiesina ta jest trwała przez co najmniej rok w temperaturze 4 °C.

2.1.5. Zawiesina dehydrogenazy D-mleczanowej (D-LDH), 5 mg/ml. Zawiesina ta jest trwała przez co najmniej rok w temperaturze 4 °C.

Zaleca się sprawdzenie aktywności enzymów przed określeniem.

Uwaga: Wszystkie odczynniki są dostępne w handlu.

2.2. **Aparatura**

2.2.1. Spektrofotometr umożliwiający pomiar przy długości fali 340 nm, przy której NADH wykazuje maksimum absorpcji.

Jeżeli spektrofotometr taki nie jest dostępny, można użyć spektrofotometru o źródle widma nieciągłego, umożliwiający pomiar przy 334 lub 365 nm.

Ponieważ przy oznaczaniu uwzględnia się wartość bezwzględną chłonności (tzn. nie wykorzystuje się krzywych odwzorowania, natomiast przeprowadza się normalizację, uwzględniając współczynnik ekstynkcji NADH), należy sprawdzić skale długości fali i chłonność widmową aparatu.

2.2.2. Celki szklane o drodze optycznej 1 cm lub celki jednorazowego użytku.

2.2.3. Mikropipety do odmierzania objętości w zakresie 0,02-2 ml.

2.3. **Przygotowanie próbki**

Uwaga wstępna: Żadna część używanego szkła, która wchodzi w kontakt z mieszaniną reakcyjną, nie może być dotykana palcami, gdyż w ten sposób można wprowadzić kwas L-mlekowy i spowodować błąd w wyniku.

Ustalanie kwasu mlekowego przeprowadza się zwykle bezpośrednio w winie, bez uprzedniego usuwania związków barwnych i bez rozcieńczania, o ile zawartość kwasu mlekowego wynosi poniżej 100 mg/l. Jeżeli jednak zawartość kwasu mlekowego wynosi między:

— 100 mg/l i 1 g/l, rozcieńczyć 1:10 wodą podwójnie destylowaną,

— 1 g/l i 2,5 g/l, rozcieńczyć 1:25 wodą podwójnie destylowaną,

— 2,5 g/l i 5 g/l, rozcieńczyć 1:50 wodą podwójnie destylowaną.

2.4. **Procedura**

2.4.1. *Ustalanie kwasu mlekowego ogółem*

Temperatura roztworu buforowego przed przystąpieniem do ustalania powinna wynosić 20-25 °C.

Ustawić długość fali w spektrofotometrze na 340 nm i ustalić chłonność, stosując celki o drodze optycznej 1 cm i w stosunku do powietrza jako wzorca o zerowej chłonności (celka odniesienia) (bez celki na drodze światła) lub w stosunku do wody jako odnośnika.

W jednocentymetrowych celkach umieścić:

	Celka odniesienia (ml)	Celka z badaną próbką (ml)
Roztwór 2.1.1	1,00	1,00
Roztwór 2.1.2	0,20	0,20
Woda podwójnie destylowana	1,00	0,80
Zawiesina 2.1.3	0,02	0,02
Próbka poddawana badaniu	–	0,20

Wymieszać, używając mieszadła szklanego lub prętu z materiału syntetycznego ze spłaszczonym końcem: po około 5 minutach zmierzyć chłonność roztworów w celkach z odniesienia i celkach z próbką (A_1).

Dodać 0,02 ml roztworu 2.1.4 i 0,05 ml roztworu 2.1.5, dokładnie wymieszać, pozostawić do zakończenia reakcji (około 30 minut), następnie zmierzyć chłonność roztworów w celkach odniesienia i celkach z próbką (A_2).

Obliczyć różnicę chłonności (A_2 — A_1) dla celek odniesienia i celek z próbką, ΔA_R *i* ΔA_S.

Na koniec obliczyć różnicę między tymi różnicami:

$\Delta A = \Delta A_S - \Delta A_R$.

2.4.2. *Oznaczanie kwasu L-mlekowego i kwasu D-mlekowego*

Oznaczanie kwasu L-mlekowego i D-mlekowego można prowadzić niezależnie, stosując metodę oznaczania kwasu mlekowego ogółem do momentu wyznaczenia wartości A_1, a dalej postępując w następujący sposób:

Dodać 0,02 ml roztworu 2.1.4, dokładnie wymieszać, pozostawić do zakończenia reakcji (około 20 minut) i zmierzyć chłonność w celkach odniesienia i w celkach z próbką (A_2).

Dodać 0,05 ml roztworu 2.1.5, dokładnie wymieszać, pozostawić do zakończenia reakcji (około 30 minut) i zmierzyć chłonność w celkach odniesienia i w celkach z próbką (A_3).

Obliczyć różnice ($A_2 - A_1$) dla kwasu L-mlekowego i ($A_3 - A_2$) dla kwasu D-mlekowego między chłonnościami roztworów w celkach odniesienia i w celkach z próbką, ΔA_R *i* ΔA_S.

Na koniec obliczyć różnicę między tymi różnicami:

$\Delta A = \Delta A_S - \Delta A_R$.

Uwaga:

Czas potrzebny do zakończenia reakcji enzymatycznej może różnić się przy kolejnych oznaczeniach. Powyższe wartości są podane tylko jako wskazówka i zaleca się, aby były oznaczane dla każdej serii. Przy oznaczaniu wyłącznie kwasu L-mlekowego czas inkubacji można skrócić do 10 minut.

2.5. **Przedstawianie wyników**

Stężenie kwasu mlekowego należy podać w gramach na litr z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

2.5.1. *Metoda obliczania*

Ogólny wzór na obliczanie zawartości kwasu mlekowego w g/l jest następujący:

$$C = \frac{V \times M}{\varepsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A$$

gdzie:

V = objętość badanego roztworu w ml (V = 2,24 ml dla kwasu L-mlekowego, V = 2,29 dla kwasu D-mlekowego i kwasu mlekowego ogółem)

v = objętość badanej próbki w ml (w niniejszym przykładzie 0,2 ml)

M = masa cząsteczkowa oznaczanej substancji (w niniejszym przykładzie dla kwasu DL-mlekowego M = 90,08)

d = droga optyczna celki w cm (w niniejszym przykładzie 1 cm)

ε = współczynnik chłonności NADH, (w 340 nm ε = 6,3 $mmol^{-1} \times 1 \times cm^{-1}$).

2.5.1.1. Całkowita zawartość kwasu mlekowego i kwasu D-mlekowego

$C = 0{,}164 \times \Delta A$

Jeżeli próbka została rozcieńczona w trakcie przygotowania do ustalenia, wynik należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.

Uwaga:

Pomiar w 334 nm: $C = 0{,}167 \times \Delta A$, ($\varepsilon$ = 6,2 $mmol^{-1} \times 1 \times cm^{-1}$).

Pomiar w 365 nm: $C = 0{,}303 \times \Delta A$, ($\varepsilon$= 3,4 $mmol^{-1} \times 1 \times cm^{-1}$).

2.5.1.2. Kwas L-mlekowy

$C = 0{,}160 \times \Delta A$

Jeżeli próbka została rozcieńczona w trakcie przygotowania do ustalenia, wynik należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.

Uwaga:

Pomiar w 334 nm: $C = 0{,}163 \times \Delta A$ (= 6,2 $mmol^{-1} \times 1 \times cm^{-1}$).

Pomiar w 365 nm: $C = 0{,}297 \times \Delta A$ (= 3,4 $mmol^{-1} \times 1 \times cm^{-1}$).

2.5.2. *Powtarzalność (r)*

$r = 0{,}02 + 0{,}07\ x_i g/l$

x_i oznacza stężenie kwasu mlekowego w próbce w g/l.

2.5.3. *Odtwarzalność (R)*

$R = 0{,}05 + 0{,}125\ x_i$ g/l

x_i oznacza stężenie kwasu mlekowego w próbce w g/l.

3. METODA ZWYKŁA

3.1.1. *Dla wstępnej obróbki wina*

Patrz rozdział „Kwas winowy", metoda zwykła, ppkt 3.1.1.

3.1.2. *Oznaczanie kwasu mlekowego*

3.1.2.1 0,1 M roztwór siarczanu ceru (IV) w 0,35 M kwasie siarkowym:

Utrzymując niską temperaturę roztworu, rozpuścić 40,431 g siarczanu ceru (IV) $Ce(SO_4)_2 \cdot 4H_2O$ w 350 ml dokładnie odmierzonego 1 M roztworu kwasu siarkowego (3.1.2.4). Uzupełnić wodą destylowaną do 1000 ml.

3.1.2.2. 2,5 M roztwór wodorotlenku sodu (NaOH).

3.1.2.3. Roztwór octanu sodu, 270 g na litr (przygotowany z suchego octanu sodu, CH_3COONa).

3.1.2.4. 1 M kwas siarkowy, H_2SO_4.

3.1.2.5. 2-procentowy (m/v) roztwór nitroprusydku sodu ($Na_2FeNO(CN)_5 \cdot 2H_2O$)

Przechowywać w ciemnej, dobrze zamkniętej butelce.
Nie przechowywać roztworu dłużej niż 8 godzin.

3.1.2.6. 10-procentowy (v/v) roztwór piperydyny ($C_5H_{11}N$).

3.1.2.7. 1 M roztwór kwasu mlekowego:

100 ml kwasu mlekowego ($C_3H_6O_3$) rozpuścić w 400 ml wody. Roztwór ogrzewać w parownicy nad wrzącą łaźnią wodną przez 4 godziny, uzupełniając od czasu do czasu wodą destylowaną. Schłodzić i uzupełnić do 1 litra. Miareczkować kwas mlekowy zawarty w 10 ml otrzymanego roztworu za pomocą 1 M roztworu wodorotlenku sodu (3.1.2.8). Doprowadzić stężenie kwasu mlekowego w roztworze do 1 M (90 g).

3.1.2.8. 1 M roztwór wodorotlenku sodu (NaOH).

3.2. **Aparatura**

3.2.1. Kolumna szklana o średnicy wewnętrznej 10-11 mm i długości około 300 mm, wyposażona w zawór odwadniający do regulacji przepływu.

3.2.2. Łaźnia z wodą o stałej temperaturze 65 °C.

3.2.3. Spektrofotometr umożliwiający pomiar chłonności przy długości fali 570 nm, z celkami o drodze optycznej 1 cm.

3.3. **Procedura**

3.3.1. *Przygotowanie kolumny jonowymiennej*

Patrz rozdział „Kwas winowy", metoda zwykła, ppkt 3.3.1.

3.3.2. *Rozdział kwasów organicznych*

Patrz rozdział „Kwas winowy", metoda zwykła, ppkt 3.3.2.

3.3.3. *Oznaczanie kwasu mlekowego*

10 ml eluatu umieścić w szklanej probówce na 50 ml z doszlifowanym korkiem, dodać 10 ml roztworu siarczanu ceru (3.1.2.1). Wymieszać; umieścić probówkę w łaźni wodnej o stałej temperaturze 65 °C na 10 minut. W czasie gdy probówka jest umieszczona w łaźni, wyjąć korek szklany na kilka sekund w celu kompensacji wzrostu ciśnienia następującego na skutek ogrzewania, następnie zamknąć szczelnie probówkę korkiem, aby zapobiec stratom powstającego etanalu (aldehydu octowego). Wyjąć probówkę z łaźni i schłodzić w strumieniu zimnej wody do temperatury około 20 °C. Dodać 5 ml 2,5 M roztworu wodorotlenku sodu (3.1.2.2), wymieszać i przefiltrować.

Pobrać 15 ml filtratu i umieścić w zakorkowanej kolbie o pojemności 50 ml, zawierającej jednorodną mieszaninę 5 ml 27-procentowego roztworu octanu sodu (3.1.2.3) i 2 ml 1 M roztworu kwasu siarkowego (3.1.2.4). Dodać 5 ml roztworu nitroprusydku sodu (3.1.2.5), wymieszać, następnie dodać 5 ml roztworu piperydyny (3.1.2.6), błyskawicznie wymieszać i niezwłocznie wlać roztwór do celki spektrofotometru. Uzyskana barwa waha się między zieloną a fioletową i jest mierzona przy 570 nm w stosunku do powietrza (brak celki na drodze promienia); natężenie barwy wzrasta, a następnie gwałtownie spada.

Obserwować zmiany chłonności i wybrać wartość maksymalną jako wartość ostateczną.

Jeżeli eluat zawiera zbyt dużo kwasu mlekowego i wartość chłonności jest zbyt wysoka, należy rozcieńczyć eluat 7,1 % roztworem siarczanu sodu (3.1.1) i wykonać oznaczanie w rozcieńczonym roztworze.

3.3.4. *Wykreślanie krzywej odwzorowania*

Do kolby miarowej o pojemności 1000 ml odmierzyć pipetą 10 ml 1 M roztworu kwasu mlekowego (3.1.2.7) i 10 ml 1 M miarkowanego roztworu wodorotlenku sodu (3.1.2.8) i uzupełnić do kreski 7,1-procentowym roztworem siarczanu sodu. Pobrać 5, 10, 15, 20 i 25 ml tego roztworu i przenieść do kolb miarowych na 100 ml. Uzupełnić do kreski 7,1-procentowym roztworem (3.1.1) siarczanu sodu. Pobrać 10 ml z każdego otrzymanego roztworu i oznaczyć chłonność zgodnie z metodą określoną w ppkt 3.3.3 dla eluatu.

Stężenia tych roztworów odpowiadają eluatom wina zawierającym 0,45, 0,9, 1,35, 1,80 i 2,25 g kwasu mlekowego w litrze.

Wykres zależności chłonności tych roztworów od stężenia kwasu mlekowego jest linią prostą.

3.4. **Przedstawianie wyników**

Na krzywej odwzorowania znaleźć wartość chłonności eluatu i odczytać zawartość kwasu mlekowego w winie w gramach na litr.

Wyniki przedstawić z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

Uwaga:

Wina zawierające więcej niż 250 mg/l ditlenku siarki mogą zawierać kwas etanalosulfonowy, który jest oznaczany razem z kwasem mlekowym. W tym przypadku wynik należy skorygować o wielkość oznaczoną w następujący sposób: 15 ml eluatu zmieszać w zamkniętej korkiem probówce z 5 ml 27-procentowego octanu sodu (3.1.2.3) i z 2 ml 0,775 H_2SO_4 (755 ml 1 M H_2SO_4 uzupełnić do 100 ml wodą destylowaną). Następnie, tak jak w przypadku oznaczania kwasu mlekowego, dodać 5 ml 2-procentowego roztworu nitroprusydku sodu (3.1.2.5) i 5 ml 10-procentowej piperydyny (3.1.1.6). Po wymieszaniu zmierzyć chłonność w tych samych warunkach, jak opisano przy oznaczaniu kwasu mlekowego. Odszukać uzyskaną wartość chłonności na krzywej odwzorowania i znaleźć pozorną wartość *B* zawartości kwasu mlekowego w gramach na litr, wynikającą z zawartości kwasu etanasulfonowego. Jeżeli *L* oznacza przedstawione stężenie kwasu mlekowego w winie w gramach na litr, rzeczywista zawartość *L* kwasu mlekowego wynosi:

$L = L' - B \times 0{,}4$ (g/l)

19. **KWAS L-JABŁKOWY**

1. ZASADA METODY

Kwas L-jabłkowy (L-jabłczan) jest utleniany przez dinukleotyd nikotynamidoadeninowy (NAD) do szczawiooctanu w reakcji katalizowanej przez dehydrogenazę L-jabłczanową (L-MDH).
Równowaga tej reakcji jest zwykle wyraźnie przesunięta w stronę jabłczanu. Usuwanie szczawiooctanu z mieszaniny reakcyjnej przesuwa równowagę reakcji w stronę tworzenia szczawiooctanu. W obecności L-glutaminianu szczawiooctan przechodzi w L-asparaginian w reakcji katalizowanej przez transaminazę glutaminianowo-szczawiooctanową (GOT):

1) L-jabłczan + NAD^+ $\overset{\text{L-MDH}}{\rightleftharpoons}$ szczawiooctan + NADH + H^+

2) Szczawiooctan + L-glutaminian $\overset{\text{GOT}}{\rightleftharpoons}$ L-asparaginian + α ketoglutaran

Ilość powstającego NADH, mierzona poprzez wzrost chłonności przy długości fali 340 nm, jest proporcjonalna do ilości L-jabłczanu obecnego w próbce.

2. ODCZYNNIKI

2.1. Roztwór buforowy, pH 10

(glicylogilcyna 0,6 M; L-glutaminian 0,1 M):

Rozpuścić 4,75 g glicyloglicyny i 0,88 g kwasu L-glutaminowego w około 50 ml wody podwójnie destylowanej; sprowadzić pH do 10 za pomocą około 4,6 ml 10 M wodorotlenku sodu i uzupełnić do 60 ml wodą podwójnie destylowaną.

Roztwór ten jest trwały przez co najmniej 12 tygodni w temperaturze 4 °C.

2.2. Roztwór dinukleotydu nikotynamidoadeninowego (NAD), około 47×10^{-3} M:

Rozpuścić 420 mg NAD w 12 ml wody podwójnie destylowanej. Roztwór ten jest trwały przez co najmniej 4 tygodnie w temperaturze 4 °C.

2.3. Zawiesina transaminazy glutaminianowo-szczawiooctanowej (GOT), 2 mg/ml. Zawiesina jest trwała przez co najmniej rok w temperaturze 4 °C.

2.4. Roztwór dehydrogenazy L-jabłczanowej (L—MDH), 5 mg/ml. Roztwór ten jest trwały przez co najmniej rok w temperaturze 4 °C.

Uwaga: Wszystkie powyższe odczynniki są dostępne w handlu.

3. APARATURA

3.1. Spektrofotometr umożliwiający pomiar przy długości fali 340 nm, w której NADH wykazuje maksimum absorpcji.

Jeżeli spektrofotometr taki nie jest dostępny, można użyć spektrofotometru o źródle widma nieciągłego, umożliwiający pomiar przy 334 lub 365 nm.

Ponieważ w oznaczeniu wykorzystuje się bezwzględną chłonność (tzn. nie wykorzystuje się krzywych odwzorowania, natomiast przeprowadza się normalizację, uwzględniając współczynnik ekstynkcji NADH), należy sprawdzić zakres długości fali i chłonność widmową aparatu.

3.2. Celki szklane o drodze optycznej 1 cm lub celki jednorazowego użytku.

3.3. Mikropipety do odmierzania objętości w zakresie 0,01—2 ml.

4. PRZYGOTOWANIE PRÓBKI

Oznaczanie L-jabłczanu przeprowadza się zwykle bezpośrednio w winie, bez uprzedniego usuwania związków barwnych (koloryzujących) i bez rozcieńczania, o ile zawartość kwasu L-jabłkowego wynosi

poniżej 350 mg/l (oznaczana przy 365 nm). Jeżeli nie, wino należy rozcieńczyć wodą podwójnie destylowaną do uzyskania zawartości L-jabłczanu 30—350 mg/l (tzn. że zawartość L-jabłczanu w badanym roztworze wynosi 3—35 µg).
Jeżeli zawartość jabłczanu w winie wynosi mniej niż 30 mg/l, objętość badanej próbki można zwiększyć do 1 ml. W tym przypadku ilość dodawanej wody należy zmniejszyć w ten sposób, aby całkowita objętość roztworu w obu celkach była równa.

5. PROCEDURA

Za pomocą spektrofotometru z długością fali ustawioną na 340 nm oznaczyć chłonność przy użyciu celek o drodze optycznej 1 cm i w stosunku do powietrza jako wzorca o zerowej chłonności (odniesienie) (bez celki na drodze światła) lub w stosunku do wody jako wzoru.

W celkach o drodze optycznej 1 cm umieścić:

	Celka odniesienia (ml)	Celka z próbką (ml)
Roztwór 2.1	1,00	1,00
Roztwór 2.2	0,20	0,20
Woda podwójnie destylowana	1,00	0,90
Zawiesina 2.3	0,01	0,01
Badana próbka	–	0,10

Wymieszać; po około 3 minutach odczytać chłonność roztworów w celce odniesienia i w celce z próbką (A_1).

Dodać:

Roztwór 2.4	0,01 ml	0,01 ml

Wymieszać, pozostawić do zakończenia reakcji (około 5—10 minut) i odczytać chłonność roztworów w celce z próbką odniesienia i w celce z badaną próbką (A_2).

Obliczyć różnice chłonności ($\Delta A_2 - \Delta A_1$) dla celek z próbką odniesienia i celek z próbką, A_R i A_S.

Na koniec obliczyć różnicę między tymi różnicami: $\Delta A = \Delta A_2 - \Delta A_R$

Uwaga: Czas niezbędny do całkowitego przebiegu reakcji enzymatycznej może być różny dla różnych serii oznaczeń. Powyższa wartość jest podana tylko jako wskazówka i zaleca się, aby była oznaczana dla każdej serii.

6. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

Zawartość kwasu L-jabłkowego podaje się w gramach na litr z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

6.1. **Metoda obliczania**

Ogólny wzór obliczania zawartości kwasu cytrynowego w g/l jest następujący:

$$C = \frac{V \times M}{\varepsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A$$

gdzie

V = objętość badanego roztworu w ml (tu 2,22 ml)

v = objętość próbki w ml (w niniejszym przykładzie 0,1 ml)

M = masa cząsteczkowa oznaczanej substancji (w niniejszym przykładzie dla kwasu L-jabłkowego, M = 134,09)

d = droga optyczna celki w cm (w niniejszym przykładzie 1 cm)

ε = współczynnik chłonności NADH (przy 340 nm $\varepsilon = 6{,}3$ mmola$^{-1} \times 1 \times$ cm^{-1}),

a więc dla L-jabłczanu:

$C = 0{,}473 \times \Delta A$ g/l

Jeżeli próbka została rozcieńczona w trakcie przygotowywania, wynik należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.

Uwaga:

Przy pomiarze w 334 nm: $C = 0{,}482 \times \Delta A$
Przy pomiarze w 365 nm: $C = 0{,}876 \times \Delta A$

6.2. **Powtarzalność (*r*)**

$r = 0{,}03 + 0{,}034\ x_i$
x_i oznacza stężenie kwasu jabłkowego w próbce w g/l.

6.3. **Odtwarzalność (*R*)**

$R = 0{,}05 + 0{,}071\ x_i$
x_i oznacza stężenie kwasu jabłkowego w próbce w g/l.

20. **KWAS D-JABŁKOWY**

(METODA ENZYMATYCZNA)

Zestaw do badań na około 30 ustaleń

1. ZASADA METODY

W obecności dekarboksylującej dehydrogenazy D-jabłczanowej (D-MDH) kwas D-jabłkowy (D-jabłczan) jest utleniany przez dinukleotyd nikotynamidoadeninowy (NAD) do szczawiooctanu. Powstający w tej reakcji szczawiooctan ulega rozpadowi do pirogronianu i kwasu węglowego.

$$\text{D-jabłaczan} + \text{NAD} + \underset{}{\overset{\text{D-MDH}}{\rightleftharpoons}} + \text{pirogronian} + CO_2 + \text{NADH} + H^+$$

Ilość powstającego NADH jest proporcjonalna do ilości kwasu D-jabłkowego i jest mierzona przy długości fali 334, 340 lub 365 nm.

2. ZESTAW DO BADAŃ ZAWIERA:

a) butelkę 1 zawierającą około 30 ml roztworu, składającego się z buforu Hepesa, kwasu 4-(2-hydroksyetylo)- 1-piperazynoetanosulfonowego, pH = 9,0 i stabilizatorów;

b) butelkę 2 zawierającą około 210 mg zliofilizowanego NAD;

c) trzy butelki zawierające zliofilizowaną D-MDH, około 8 U każda.

2.1. **Przygotowanie roztworów**

2.1.1. Zawartość butelki 1 użyć bez rozcieńczania. Przed użyciem doprowadzić temperaturę roztworu do 20—25 °C.

2.1.2. Zawartość butelki 2 rozpuścić w 4 ml wody podwójnie destylowanej. Przed użyciem doprowadzić temperaturę roztworu do 20—25 °C.

2.1.3. Zawartość jednej z butelek 3 rozpuścić w 0,6 ml wody podwójnie destylowanej. Przed użyciem doprowadzić temperaturę roztworu do 20—25 °C.

2.2. **Trwałość roztworów**

Zawartość butelki 2.1.1 jest trwała przez rok, jeżeli jest przechowywana w temperaturze + 4 °C.

Roztwór 2.1.2 jest trwały przez 3 tygodnie, jeżeli jest przechowywany w temperaturze + 4 °C, i przez dwa miesiące, jeżeli jest przechowywany w temperaturze - 20 °C.

Roztwór 2.1.3 jest trwały przez pięć dni, jeżeli jest przechowywany w temperaturze + 4 °C.

3. APARATURA

3.1. Spektrofotometr umożliwiający pomiar przy długości fali 340 nm, przy której NADH i NADPH wykazują maksimum absorpcji.

Jeżeli spektrofotometr taki nie jest dostępny, można użyć spektrofotometru o źródle widma nieciągłego, umożliwiający pomiar przy 334 lub 365 nm.

3.2. Celki szklane o drodze optycznej 1 cm (można użyć również celki jednorazowe).

3.3. Mikropipety: dostosowane do odmierzania objętości 0,01 i 2 ml.

4. PRZYGOTOWANIE PRÓBKI

lość kwasu D-jabłkowego w celce powinna wynosić od 2 mg do 50 g. W tym celu badaną próbkę należy rozcieńczyć, uzyskując stężenie kwasu D-jabłkowego odpowiednio 0,02—0,5 g/l lub 0,02-0,3 g/l.

Jeżeli różnica chłonności A jest < 0,100, objętość próbki można zwiększyć do 1,80 ml. Ilość dodawanej wody należy w tym przypadku zmniejszyć w ten sposób, aby końcowa objętość roztworu w obu celkach (próbki badanej i próby ślepej) była jednakowa.

5. PROCEDURA:

Temperatura: 20—25 °C.

Końcowa objętość: 2,95 ml.

Pomiary wykonywać w stosunku do powietrza (bez celki na drodze światła), w stosunku do wody lub do próby ślepej.

Odmierzyć do kuwet	próba ślepa	próbka badana
Roztwór 2.1.1	1,00 ml	1,00 ml
Roztwór 2.1.2	0,10 ml	0,10 ml
Woda podwójnie destylowana	1,80 ml	1,70 ml
Roztwór próbki	—	0,10 ml
Wymieszać, odczytać chłonność roztworów (A_1) po około sześciu minutach. Zapoczątkować reakcję przez dodanie		
Roztwór 2.1.3	0,05 ml	0,05 ml
Wymieszać, po zakończeniu reakcji (około 20 minut) odczytać chłonność roztworów (A_2).		

Obliczyć różnice chłonności (A_2 — A_1) dla próby ślepej i próbki badanej. Odjąć różnicę chłonności dla próbki ślepej (ΔA_B) od różnicy chłonności dla badanej próbki (ΔA_S):

$$\Delta A = \Delta A_S - \Delta A_B$$

6. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

Zawartość kwasu D-jabłkowego podaje się w g/l z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

6.1. **Obliczanie**

Ogólny wzór obliczania zawartości kwasu D-jabłkowego jest następujący:

$$C = \frac{V \times M}{\varepsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A \ (g/l)$$

gdzie V = objętość końcowa (ml)

v = objętość badanej próbki (ml)

M = masa cząsteczkowa oznaczanej substancji

d = droga optyczna (cm)

ε = współczynnik chłonności NADH przy

340 nm = 6,3 ($mmol^{-13} \times 1 \times cm^{-1}$)

Hg 365 nm = 3,4 ($mmol^{-1} \times 1 \times cm^{-1}$)

Hg 334 nm = 6,18 ($mmol^{-1} \times 1 \times cm^{-1}$)

Dla kwasu D-jabłkowego C wynosi:

$$C = \frac{2,95 \times 134,09 \times \Delta A}{\varepsilon \times 1 \times 0,1 \times 1000} = \frac{3,956}{\varepsilon} \times \Delta A \ ((\text{g kwasu D} - \text{jabłkowego} / \text{próbka}))$$

Jeżeli próbka została rozcieńczona podczas przygotowywania, wynik należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia F.

6.2. **Powtarzalność (*r*)**

$r = 0{,}05\ x_i$

x_i = stężenie kwasu jabłkowego w g/l.

6.3. **Odtwarzalność (*R*)**

$R = 0{,}1\ x_i$

x_i = stężenie kwasu jabłkowego w g/l.

21. **CAŁKOWITY KWAS JABŁKOWY**

1. ZASADA

Kwas jabłkowy, rozdzielony za pomocą kolumny anionowymiennej, oznaczany jest kolorymetrycznie w eluacie, poprzez pomiar barwy żółtej, tworzącej się w reakcji z kwasem chromotropowym w obecności stężonego kwasu siarkowego. Poprawka na obecność substancji przeszkadzających dokonywana jest poprzez odjęcie chłonności uzyskanej w reakcji prowadzonej z 86-procentowym kwasem siarkowym i kwasem chromotropowym (kwas jabłkowy nie reaguje przy takim stężeniu kwasu) od chłonności uzyskanej przy użyciu kwasu siarkowego o stężeniu 96 %.

2. APARATURA

2.1. Kolumna szklana o długości około 250 mm i średnicy wewnętrznej 35 mm, wyposażona w zawór odwadniający.

2.2. Kolumna szklana o długości około 300 mm i średnicy wewnętrznej 10 — 11 mm, wyposażona w zawór odwadniający.

2.3. Łaźnia wodna kontrolowana termostatycznie, o temperaturze 100 °C.

2.4. Spektrofotometr ustawiony na wykonywanie pomiaru przy 420 nm, z celkami o drodze optycznej 10 mm.

3. ODCZYNNIKI

3.1. Silnie zasadowa żywica jonowymienna (np. Merck III).

3.2. Wodorotlenek sodu 5 % (m/v).

3.3. Kwas octowy 30 % (m/v).

3.4. Kwas octowy 0,5 % (m/v).

3.5. Siarczan sodu 10 % (m/v).

3.6. Stężony kwas siarkowy 95—97 % (m/m).

3.7. Kwas siarkowy 86 % (m/m).

3.8. Kwas chromotropowy 5 % (m/v).

Przed każdym określeniem przygotować świeży roztwór poprzez rozpuszczenie 500 mg chromotropianu sodu ($C_{10}H_6Na_2O_8S_2 \cdot 2H_20$) w 10 ml wody destylowanej.

3.9. Roztwór kwasu DL-jabłkowego, 0,5 g/l.

Rozpuścić 250 g kwasu jabłkowego ($C_4H_6O_5$) w roztworze (10 %) siarczanu sodu, uzupełnić do 500 ml roztworem (10 %) siarczanu sodu (3.5).

4. PROCEDURA

4.1. **Przygotowanie żywicy jonowymiennej**

Umieścić zatyczkę z waty nasączonej wodą destylowaną na dnie kolumny (35 × 250 mm), nad zaworem. Do szklanej kolumny wlać zawiesinę żywicy anionowymiennej. Poziom cieczy powinien

znajdoznajdować sie 50 mm ponad warstwą żywicy. Przepłukać 1000 ml wody destylowanej. Następnie przemyć roz- tworem (5 %) wodorotlenku sodu, sączyć roztwór przez kolumnę do chwili, gdy górny poziom cieczy w kolumnie znajdzie się 2-3 mm nad złożem żywicy i dwukrotnie powtórzyć przemywanie 5-procentowym wodorotlenkiem sodu, pozostawić na godzinę. Przemyć kolumnę za pomocą 1000 ml wody destylowanej. Napełnić kolumnę kwasem octowym (30 %), sączyć roztwór przez kolumnę do chwili, gdy górny poziom cieczy w kolumnie znajdzie się 2—3 mm nad złożem żywicy i dwukrotnie powtórzyć przemywanie kwasem octowym (30 %). Pozostawić na co najmniej 24 godziny przed użyciem. Do następnej analizy pozostawić kolumnę zalaną kwasem octowym (30 %).

4.2. **Przygotowanie kolumny jonowymiennej**

Na dnie kolumny (11 × 300 mm), nad zaworem umieścić zatyczkę z waty. Wlać zawiesinę żywicy jonowymiennej (przygotowanej jak w ppkt 4.1) do wysokości 10 cm. Otworzyć kran i pozwolić spływać roztworowi kwasu octowego (30 %) do chwili, gdy górny poziom cieczy w kolumnie znajdzie się 2—3 mm nad złożem żywicy. Przemywać 50-mililitrowymi porcjami kwasu octowego (0,5 %).

4.3. **Separacja kwasu DL-jabłkowego**

Nanieść na kolumnę (przygotowaną w ppkt 4.2) 10 ml wina lub moszczu. Sączyć próbkę przez kolumnę z taką prędkością, aby z kolumny wypływały pojedyncze krople (średnia prędkość jedna kropla na sekundę) i zamknąć kran w chwili, gdy górny poziom cieczy znajdzie się 2—3 mm nad złożem żywicy. Przemyć kolumnę za pomocą 50 ml kwasu octowego (0,5 %), a następnie 50 ml wody destylowanej i sączyć ciecz przez kolumnę z poprzednią prędkością, zatrzymując przepływ, gdy górny poziom cieczy znajdzie się 2—3 mm nad złożem żywicy.

Kwasy wchłonięte przez żywicę jonowymienną eluować 10-procentowym roztworem siarczanu sodu (3.5). Zbierać eluat w kolbie miarowej na 100 ml.

Kolumnę można zregenerować, stosując procedurę opisaną w ppkt 4.1.

4.4. **Oznaczanie kwasu jabłkowego**

Dwie probówki z szeroką szyjką na 30 ml (z doszlifowanym korkiem) oznaczyć jako A i B. Do każdej probówki wprowadzić 1,0 ml eluatu (4.3) i 1 ml kwasu chromotropowego (5 %). Dodać 10 ml kwasu siarkowego (86 %) (odniesienie) do probówki A i 10 ml kwasu siarkowego (96 %) do probówki B (próbka). Zamknąć korkiem i wymieszać przez wytrząsanie, uważając, aby nie zamoczyć korka. Zanurzyć probówki we wrzącej łaźni wodnej dokładnie na 10 minut. Probówki schłodzić w ciemności w temperaturze 20 °C dokładnie przez 90 minut. Niezwłocznie zmierzyć chłonność badanej próbki w stosunku do próbki odniesienia przy 420 nm w celkach o drodze optycznej 10 mm.

4.5. **Wykreślanie krzywej odwzorowania**

Do czterech kolb miarowych na 50 ml odmierzyć pipetą odpowiednio 5,0, 10,0, 15,0 i 20 ml części podwielokrotnych. Uzupełnić do kreski roztworem siarczanu sodu (10 %).

Uzyskane roztwory odpowiadają eluatom otrzymanym z wina zawierającego odpowiednio 0,5, 1, 0, 1,5 i 2,0 g/l kwasu jabłkowego.

Dalej postępować jak w ppkt 4.4.

Wykres chłonności tych roztworów jest funkcją zawartości w nich kwasu jabłkowego, w postaci linii prostej przechodzącej przez początek układu współrzędnych.

Intensywność powstającego zabarwienia w dużym stopniu zależy od mocy użytego kwasu siarkowego, konieczne jest sprawdzanie krzywej wzorcowej przynajmniej w jednym punkcie na serię odczytów, aby sprawdzić, czy stężenie kwasu siarkowego uległo zmianie.

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

Zawartość kwasu jabłkowego w eluacie w g/l odczytuje się, wykorzystując krzywą wzorcową poprzez ekstrapolację zmierzonej wartości chłonności. Wyniki podaje się z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

Powtarzalność:

Zawartość < 2 g/l: $r = 0{,}1$ g/l.

Zawartość > 2 g/l: $r = 0{,}2$ g/l.

Odtwarzalność:

$R = 0{,}3$ g/l.

22. **KWAS SORBINOWY**

1. ZASADA METOD

1.1. **Oznaczanie metodą spektrofotometrii absorpcji w ultrafiolecie**

Kwas sorbinowy (kwas *trans, trans,* 2,4-heksadienowy,), wydzielony metodą destylacji parowej jest oznaczany w destylacie wina metodą spektrofotometrii w ultrafiolecie. Substancje, które zakłócają pomiar w ultrafiolecie, usuwa się poprzez odparowanie do sucha z zastosowaniem lekko alkalicznego wodorotlenku wapnia. Do potwierdzenia wyniku przy zawartości kwasu sorbinowego w ilości poniżej 20 mg/l, (1 mg/l) stosuje się chromatografię cienkowarstwową.

1.2. **Oznaczanie metodą chromatografii gazowej**

Kwas sorbinowy, wyłączony w eterze etylowym, oznaczany jest metodą chromatografii gazowej z wzorcem wewnętrznym.

1.3. **Wykrywanie ilości śladowych metodą chromatografii cienkowarstwowej**

Kwas sorbinowy, wyłączony w eterze etylowym, jest separowany metodą chromatografii cienkowarstwowej, a jego zawartość jest oznaczana półilościowo.

2. OZNACZANIE METODĄ SPEKTROFOTOMETRII W ULTRAFIOLECIE

2.1. **odczynniki**

2.1.1. Krystaliczny kwas winowy, $C_4H_6O_6$.

2.1.2. Wodorotlenek wapnia, $Ca(OH)_2$, roztwór około 0,02 M.

2.1.3. Wzorcowy roztwór kwasu sorbinowego, 20 mg/l:

Rozpuścić 20 mg kwasu sorbinowego, $C_6H_8O_2$ w około 2 ml 0,1 M roztworu wodorotlenku sodu. Przenieść do kolby miarowej na 1000 ml i uzupełnić wodą do kreski. Można również rozpuścić 26,8 mg sorbinianu potasu, $C_6H_7KO_2$ w wodzie i uzupełnić wodą do 1000 ml.

2.2. **Aparatura**

2.2.1. Aparatura do destylacji parowej (patrz rozdział „Kwasowość lotna").

2.2.2. Łaźnia wodna o temperaturze 100 °C.

2.2.3. Spektrofotometr umożliwiający pomiar chłonności przy 256 nm, wyposażony w celki o drodze optycznej 1 cm.

2.3. **Procedura**

2.3.1. *Destylacja*

W kolbie aparatu do destylacji z parą wodną umieścić 10 ml wina i dodać 1—2 g kwasu winowego (2.1.1). Zebrać 250 ml destylatu.

2.3.2. *Przygotowanie krzywej odwzorowania*

Przygotować, rozcieńczając roztwór wzorcowy (2.1.3), cztery rozcieńczone roztwory wzorcowe, zawierające odpowiednio 0,5, 1, 0, 2,5 i 5 mg kwasu sorbinowego w litrze. Zmierzyć chłonność roz-

tworów za pomocą spektrofotometru przy 256 nm z wodą destylowaną jako próbą ślepą. Wykre- ślić krzywą obrazującą zróżnicowanie chłonności jako funkcję stężenia. Zależność ta jest liniowa.

2.3.3. *Oznaczanie*

W parownicy o średnicy 55 mm umieścić 5 ml destylatu, dodać 1 ml roztworu wodorotlenku wapnia (2.1.2). Odparować do sucha na łaźni wodnej.

Pozostałość rozpuścić w kilku mililitrach wody destylowanej, przenieść w całości do kolby miarowej o pojemności 20 ml i uzupełnić do kreski wodą do płukania. Zmierzyć chłonność przy 256 nm, używając spektrofotometru w stosunku do próby ślepej składającej się z roztworu otrzymanego przez rozcieńczenie wodą 1 ml roztworu wodorotlenku wapnia (2.1.2) do objętości 20 ml.

Znaleźć zmierzoną wartość chłonności na krzywej odwzorowania i odczytać zawartość *C* kwasu sorbinowego w roztworze.

Uwaga: W tej metodzie można pominąć straty następujące w wyniku odparowania i dokonać pomiaru chłonności w poddanym obróbce destylacie, rozcieńczonym o 1/4 wodą destylowaną.

2.4. **Przedstawianie wyników**

2.4.1. *Obliczanie*

Zawartość kwasu sorbinowego w winie, wyrażana w mg na litr, wynosi $100 \times C$

gdzie C = zawartość kwasu sorbinowego w roztworze, którego użyto do pomiaru spektrofotometrycznego, wyrażona w mg na litr.

3. OZNACZANIE METODĄ CHROMATOGRAFII GAZOWEJ

3.1. **Odczynniki**

3.1.1. Eter etylowy, $(C_2H_5)_2O$, destylowany przed użyciem.

3.1.2. Roztwór wzorca wewnętrznego: roztwór kwasu undekanowego, $C_{11}H_{22}O_2$ w 95 % obj. alkoholu etylowego o stężeniu 1 g/l.

3.1.3. Roztwór wodny kwasu siarkowego, H_2SO_4, (ρ_{20} = 1,84 g/ml), rozcieńczony w stosunku 1:3 (v/v).

3.2. **Aparatura**

3.2.1. Chromatograf gazowy wyposażony w detektor płomieniowo-jonizacyjny i kolumnę ze stali kwasoodpornej (4 m × 1/8 cala), poddaną uprzednio obróbce dimetylodichlorosilanem i z fazą stacjonarną składającą się z mieszaniny bursztynianu glikolu dietylenowego (5 %) i kwasu fosforowego (1 %) (DEGS — H_3PO_4) lub mieszaniny adypinianu glikolu dietylowego (7 %) i kwasu fosforowego (1 %) (DEGA — H_3PO_4) osadzoną na nośniku Gaschrom Q 80—100 mesh.

Obróbka kolumny za pomocą DMDCS — przepuścić przez kolumnę roztwór zawierający 2—3 g DMDCS w toluenie. Natychmiast przemyć metanolem i przepłukać azotem, następnie przemyć heksanem i ponownie przepłukać większą ilością azotu. Kolumna jest teraz gotowa do wypełniania.

Warunki działania:

Temperatura pieca: 175 °C.

Temperatura wtryskiwacza i czujnika: 230 °C.

Gaz nośny: azot (szybkość przepływu = 200 ml/min).

3.2.2. Mikrostrzykawka, pojemność 10 µl, skalowana co 0,1 µl.

Uwaga: Można wykorzystać inne rodzaje kolumn, dające dobrą separację, szczególnie kolumny kapilarne (np. FFAP). Metoda oznaczania podana jest jako przykład.

3.3. **Procedura**

3.3.1. *Przygotowanie próbki do analizy*

Do szklanej probówki o objętości około 40 ml i zamykanej korkiem szklanym ze szlifem odmierzyć 20 ml wina, dodać 2 ml roztworu wzorca wewnętrznego (3.1.2) i 1 ml rozcieńczonego kwasu siarkowego (3.1.3).

Po zmieszaniu roztworów poprzez kilkakrotne odwracanie probówki dnem do góry dodać 10 ml eteru etylowego (3.1.1). Wyłączyć kwas sorbinowy do fazy organicznej, wstrząsając próbówką przez 5 minut. Pozostawić do osadzenia.

3.3.2. *Przygotowanie roztworu wzorcowego*

Wybrać wino, którego chromatogram ekstraktu eterowego nie wykazuje piku odpowiadającego kwasowi sorbinowemu. Do tego wina dodać kwas sorbinowy w ilości 100 mg na litr. 20 ml tak przygotowanej próbki poddać obróbce zgodnie z procedurą określoną w ppkt 3.3.1.

3.3.3. *Chromatografia*

Za pomocą mikrostrzykawki wprowadzić do chromatografu kolejno 2 µl fazy ekstraktu eterowego otrzymanej w ppkt 3.3.2 i 2 µl fazy ekstraktu eterowego otrzymanej w ppkt 3.3.1.

Zapisać odpowiednie chromatogramy: sprawdzić zgodność czasów retencji kwasu sorbinowego i wzorca wewnętrznego. Zmierzyć wysokość (lub powierzchnię) każdego zarejestrowanego piku.

3.4. **Przedstawianie wyników**

3.4.1. *Obliczanie*

Zawartość kwasu sorbinowego w analizowanym winie, wyrażana w mg na litr, wynosi:

$$100 \times \frac{h}{H} \times \frac{I}{i}$$

gdzie:

H = wysokość piku kwasu sorbinowego w roztworze wzorcowym

h = wysokość piku kwasu sorbinowego w analizowanej próbce

I = wysokość piku wzorca wewnętrznego w roztworze wzorcowym

i = wysokość piku wzorca wewnętrznego w analizowanej próbce

Uwaga: Zawartość kwasu sorbinowego można obliczyć w podobny sposób, wykorzystując powierzchnie odpowiednich pików.

4. IDENTYFIKACJA ŚLADOWYCH ILOŚCI KWASU SORBINOWEGO METODĄ CHROMATOGRAFII CIENKOWARSTWOWEJ

4.1. **Odczynniki**

4.1.1. Eter etylowy $(C_2H_5)_2O$.

4.1.2. Roztwór wodny kwasu siarkowego, H_2SO_4 (ρ_{20} = 1,84 g/ml), rozcieńczony w stosunku 1:3 (v/v).

4.1.3. Roztwór wzorcowy kwasu sorbinowego w około 10-procentowym obj. roztworze etanolu w wodzie, zawierający 20 mg kwasu w litrze.

4.1.4. Faza ruchoma: heksan—pentan—kwas octowy (20:20:3) ($C_6H_{14}/C_5H_{12}/CH_3COOH$, ρ_{20} = 1,05 g/ml).

4.2. **Aparatura**

4.2.1. Gotowe płytki do chromatografii cienkowarstwowej 20 × 20 cm, pokryte żelem poliamidowym (grubość warstwy 0,15 mm) z dodatkiem wskaźnika fluorescencyjnego.

4.2.2. Celka do chromatografii cienkowarstwowej.

4.2.3. Mikropipety lub mikrostrzykawki do nanoszenia objętości 5 µl z dokładnością ± 0, 1 µl.

4.2.4. Lampa UV (254 nm).

4.3. **Procedura**

4.3.1. *Przygotowanie próbki do analizy*

Do szklanej probówki o pojemności około 25 ml, zaopatrzonej w doszlifowany korek odmierzyć 10 ml wina, dodać 1 ml rozcieńczonego kwasu siarkowego (4.1.2) i 5 ml eteru etylowego (4.1.2). Zmieszać poprzez kilkakrotne odwracanie probówki dnem do góry. Pozostawić do rozdzielenia faz.

4.3.2. *Przygotowanie rozcieńczonego roztworu wzorcowego*

Przygotować pięć rozcieńczonych roztworów wzorcowych z roztworu 4.1.3, zawierających 2, 4, 6, 8 i 10 mg kwasu sorbinowego w litrze.

4.3.3. *Chromatografia*

Używając mikropipety lub mikrostrzykawki, umieścić 5 µl fazy eterowej otrzymanej w ppkt 4.3.1. i 5 µl każdego z rozcieńczonych roztworów wzorcowych (4.3.2) w punkcie oddalonych o 2 cm od dolnej krawędzi płytki i 2 cm od siebie nawzajem.

Do komory chromatograficznej wlać fazę ruchomą (4.1.4) do wysokości około 0,5 cm i pozostawić do nasycenia celki parami rozpuszczalnika. Umieścić płytkę w komorze. Rozwijać chromatogram na drodze 12-15 cm (czas rozwijania około 30 minut). Wysuszyć płytkę w strumieniu chłodnego powietrza. Obejrzeć chromatogram pod promiennikiem nadfioletu przy 254 nm.

Plamy wskazujące na obecność kwasu sorbinowego będą miały barwę ciemnofioletową na żółtym fluorescencyjnym tle płytki.

4.4. **Przedstawianie wyników**

Półilościowe oznaczenie kwasu sorbinowego w stężeniu 2-10 mg na litr jest dokonywane poprzez porównanie natężenia barwy plam uzyskanych w wyniku rozdziału próbki z intensywnością plam roztworów wzorcowych. Stężenie 1 mg na litr można oznaczyć, nanosząc na płytkę 10 µl roztworu badanej próbki.

Kwas sorbinowy w stężeniu powyżej 10 mg na litr można oznaczyć, nanosząc na płytkę mniej niż 5 µl roztworu badanej próbki (odmierzonego mikrostrzykawką).

23. **KWAS L-ASKORBINOWY**

1. ZASADA METOD

Proponowane metody umożliwiają oznaczenie kwasu L-askorbinowego i kwasu dehydroaskorbinowego obecnego w winie lub moszczu.

1.1. **Metoda porównawcza (fluorymetryczna)**

Kwas L-askorbinowy jest utleniany na węglu aktywnym do kwasu dehydroaskorbinowego. Ten ostatni daje związek fluorescencyjny w reakcji z ortofenylenodiaminą. Badanie kontrolne w obecności kwasu borowego umożliwia oznaczenie fluorescencji zakłócającej (poprzez wytworzenie kompleksu kwasu borowego z kwasem dehydroaskorbinowym) i odjęcie wyniku uzyskanego w tej próbie od wyniku oznaczania.

1.2. **Metoda zwykła (kolorymetryczna)**

Kwas L-askorbinowy jest utleniany za pomocą jodu do kwasu dehydroaskorbinowego, który jest następnie wytrącany przy użyciu 2,4-dinitrofenylohydrazyny, tworząc bis (2,4-dinitrofenylohydrazon). Po rozdziale metodą chromatografii cienkowarstwowej i rozpuszczeniu w środowisku kwasu octowego pochodna o barwie czerwonej jest oznaczana spektrofotometrycznie przy 500 nm.

2. METODA PORÓWNAWCZA (metoda fluorymetryczna)

2.1. **Odczynniki**

2.1.1. Roztwór dichlorowodorku ortofenylenodiaminy, $C_6H_{10}Cl_2N_2$, 0,02 g w 100 ml, przygotowany bezpośrednio przed użyciem.

2.1.2. Roztwór trójwodnego octanu sodu, $CH_3COONa \cdot 3\ H_2O$, 500 g/litr.

2.1.3. Roztwór kwasu borowego i octanu sodu:

Rozpuścić 3 g kwasu borowego, H_3BO_3 w 100 ml roztworu octanu sodu (2.1.2). Roztwór ten przygotować bezpośrednio przed użyciem.

2.1.4. Roztwór lodowatego kwasu octowego, CH_3COOH (ρ_{20} = 1,05 g/ml), rozcieńczony do 56 % (v/v) o pH około 1,2.

2.1.5. Roztwór wzorcowy kwasu L-askorbinowego, 1 g/l:

Bezpośrednio przed użyciem rozpuścić 50 mg kwasu L-askorbinowego, $C_6H_8O_6$, osuszonego uprzednio w eksykatorze zabezpieczonym przed dostępem światła, w 50 ml roztworu kwasu octowego (2.1.4).

2.1.6. Bardzo czysty węgiel aktywny [1]

Do 2-litrowej kolby stożkowej odważyć 100 g węgla aktywnego i dodać 500 ml 10-procentowego (v/v) roztworu kwasu solnego (HCl) (ρ_{20} = 1,19 g/ml). Doprowadzić do wrzenia, przesączyć przez tygiel o porowatości 3. Tak przygotowany węgiel przenieść do kolby stożkowej o pojemności 2 litrów, dodać 1 litr wody, wstrząsnąć i przefiltrować, używając wypiekanego szkła o porowatości 3. Powtórzyć tę czynność dwukrotnie. Pozostałość umieścić w piecu o kontrolowanej temperaturze 115 ± 5 °C na 12 godzin (przez noc).

2.2. **Aparatura**

2.2.1. Fluorymetr. Użyć spektrofluorymetra wyposażonego w lampę o ciągłym widmie, nastawionego na minimalny pobór mocy. Na wstępie należy ustalić optymalną długość fali wzbudzania i emisji dla oznaczenia, są one zależne od używanego sprzętu. Jako wskazówkę należy przyjąć długość fali wzbudzania około 350 nm i długość fali emisji około 430 nm. Celki o drodze optycznej 1 cm.

[1] Jedną z nazw handlowych jest „Norite".

2.2.2. Filtr z wypiekanego szkła o porowatości 3.

2.2.3. Probówki (o średnicy około 10 mm).

2.2.4. Pręt do mieszania w probówkach.

2.3. **Procedura**

2.3.1. *Przygotowanie próbki wina lub moszczu*

Pobrać próbkę wina lub moszczu i rozcieńczyć do 100 ml w kolbie miarowej 56-procentowym roztworem kwasu octowego (2.1.4) w celu uzyskania roztworu o zawartości kwasu L-askorbinowego 0-60 mg/litr. Dokładnie wymieszać zawartość kolby. Dodać 2 g węgla aktywnego (2.1.6) i odstawić na 15 minut, mieszając od czasu do czasu. Przefiltrować przez zwykłą bibułę filtracyjną, odrzucając kilka pierwszych mililitrów filtratu.

Do dwóch kolb miarowych o pojemności 100 ml wprowadzić 5 ml filtratu, a następnie do pierwszej kolby 5 ml roztworu mieszaniny kwasu borowego i octanu sodu (2.1.3) (próba ślepa), a do drugiej 5 ml roztworu octanu sodu (2.1.2) (próbka). Odstawić na 15 minut, mieszając od czasu do czasu. Uzupełnić do 100 ml wodą destylowaną.

Z każdej kolby pobrać po 2 ml roztworu, dodać 5 ml roztworu ortofenylenodiaminy (2.1.1) i wymieszać; prowadzić reakcję przez około 30 minut do pociemnienia barwy roztworu i przeprowadzić pomiar spektrofluorometryczny.

2.3.2. *Przygotowanie krzywej odwzorowania*

Do trzech kolb miarowych na 100 ml odmierzyć odpowiednio 2, 4 i 6 ml roztworu wzorcowego kwasu L-askorbinowego (2.1.5), uzupełnić do 100 ml roztworem kwasu octowego (2.1.4) i dokładnie wymieszać. Przygotowane w ten sposób roztwory wzorcowe zawierają 2, 4 i 6 mg kwasu L-askorbinowego w 100 ml.

Do każdej kolby dodać 2 g węgla aktywnego (2.1.6) i odstawić na 15 minut, mieszając od czasu do czasu. Przefiltrować przez zwykłą bibułę filtracyjną, odrzucając pierwsze kilka mililitrów filtratu. Odmierzyć 5 ml każdego przesączu do trzech kolb miarowych na 100 ml (pierwsza seria). Powtórzyć czynności, otrzymując drugą serię trzech kolb miarowych. Do każdej z kolb pierwszej serii (odpowiadających próbie ślepej) dodać 5 ml roztworu kwasu borowego i kwasu octowego (2.1.5), a do każdej z kolb drugiej serii dodać 5 ml roztworu octanu sodu (2.1.2).

Odstawić na 15 minut, mieszając od czasu do czasu. Uzupełnić do 100 ml wodą destylowaną. Z każdej kolby pobrać 2 ml roztworu, dodać 5 ml roztworu ortofenylenodiaminy (2.1.1), wymieszać, prowadzić reakcję przez około 30 minut do pociemnienia barwy roztworu i przeprowadzić pomiar spektrofluorometryczny.

2.3.3. *Oznaczanie fluorymetryczne*

Dla każdego roztworu używanego do przygotowania krzywej odwzorowania i dla roztworu badanego ustawić zero na skali pomiarowej, wykorzystując odpowiednią próbkę wzorcową. Następnie zmierzyć natężenie fluorescencji każdego roztworu wzorcowego i badanej próbki.

Wykreślić krzywą odwzorowania, która powinna być linią prostą przechodzącą przez początek. Na tej linii znaleźć wartość odpowiadającą wynikowi pomiaru i na tej podstawie określić zawartość *C* kwasu L-askorbinowego + kwasu dehydroaskorbinowego w badanym roztworze.

2.3.4. *Przedstawianie wyników*

Zawartość kwasu L-askorbinowego i kwasu dehydroaskorbinowego w winie w mg na litr wynosi $C \times F$, gdzie *F* oznacza współczynnik rozcieńczenia.

3. METODA ZWYKŁA (metoda kolorymetryczna)

3.1. **Odczynniki**

3.1.1. Kwas metafosforowy, roztwór 30 % (m/v):

Pobrać 30 g kwasu metafosforowego $(HPO_3)_n$, uprzednio pokruszonego w moździerzu. Natychmiast przemyć przez szybkie zanurzenie w wodzie destylowanej i mieszanie. Rozpuścić przemyty kwas w wodzie destylowanej przez wytrząsanie w kolbie miarowej na 100 ml i uzupełnić do kreski. Zawartość kwasu metafosforowego w otrzymanym roztworze wynosi około 30 % (m/v).

3.1.2. 3-procentowy roztwór kwasu metafosforowego, przygotowany bezpośrednio przed użyciem przez rozcieńczenie roztworu 3.1.1 wodą destylowaną w stosunku 1:10.

3.1.3. 1-procentowy roztwór kwasu metafosforowego, przygotowany bezpośrednio przed użyciem przez rozcieńczenie roztworu 3.1.1 wodą destylowaną w stosunku 1:30.

3.1.4. Zawiesina poliamidu:

Sporządzić zawiesinę 10 g poliamidu do chromatografii w 60 ml wody destylowanej. Odstawić na dwie godziny. Przygotowana ilość wystarcza na cztery określenia.

3.1.5. Tiomocznik, $(NH_2)_2CS$.

3.1.6. Roztwór jodu, I_2, 0,05 M.

3.1.7. Roztwór 2,4-dinitrofenylohydrazyny, 6 % (m/v):

Sporządzić zawiesinę 6 g 2,4-dinitrofenylohydrazyny ($C_6H_6N_4O_4$) w 50 ml lodowatego kwasu octowego (ρ_{20} = 1,05 g/ml) i dodać 50 ml kwasu siarkowego (ρ_{20} = 1,84 g/ml). Mieszając, rozpuścić 2,4-dinitrofenylohydrazynę.

3.1.8. Octan etylu ($C_4H_8O_2$) z dodatkiem 2-procentowego (v/v) lodowatego kwasu octowego (3.1.12).

3.1.9. Chloroform, $CHCl_3$.

3.1.10. Wodny roztwór skrobi, 0,5 % (m/v).

3.1.11. Faza ruchoma:

octan etylu	50 obj.
chloroform	60 obj.
lodowaty kwas octowy	5 obj.

Pozostawić mieszaninę rozpuszczalników, nie mieszając, na 12 godzin przed użyciem.

3.1.12 Lodowaty kwas octowy, CH_3COOH (ρ_{20} = 1,05 g/ml).

3.1.13. Roztwór kwasu L-askorbinowego, 0,1 g w 100 ml 1-procentowego roztworu kwasu metafosforowego (3.1.3).

3.2. **Aparatura**

3.2.1. Wirówka laboratoryjna z probówkami na 50 ml z doszlifowanymi korkami.

3.2.2. Wanna z zimną wodą, o temperaturze kontrolowanej termostatycznie w zakresie 5—10 °C.

3.2.3. Wanna z zimną wodą, o temperaturze kontrolowanej termostatycznie 20 °C.

3.2.4. Gotowe płytki do chromatografii cienkowarstwowej 20 × 20 cm, pokryte żelem krzemionkowym G (grubość 0,25 lub 0,3 mm).

3.2.5. Komora chromatograficzna.

3.2.6. Mikropipeta do odmierzania objętości 0,2 ml.

3.2.7. Spektrofotometr umożliwiający pomiar chłonności przy 500 nm, wyposażony w celki o drodze optycznej 1 cm.

3.3. **Procedura**

3.3.1. *Utlenianie kwasu L-askorbinowego do kwasu dehydroaskorbinowego*

Umieścić 50 ml wina w kolbie miarowej o pojemności 100 ml, dodać 15 ml zawiesiny poliamidu (3.1.4) i uzupełnić do kreski 3-procentowym roztworem kwasu metafosforowego (3.1.2). Pozostawić na jedną godzinę, często wstrząsając. Przefiltrować przez filtr karbowany. Zebrać 20 ml filtratu w probówce obrotowej, dodać 1 ml 0,05 M roztworu jodu (3.1.6). Wymieszać dokładnie przez wstrząsanie zamkniętej korkiem probówki obrotowej i po 1 minucie zmniejszyć nadmiar jodu przez dodatek około 25 mg tiomocznika.

3.3.2. *Wytworzenie i wytrącanie pochodnej bis(2,4-dinitrofenylohydrazonowej) kwasu diketogulonowego*

Umieścić probówkę w łaźni z wodą o temperaturze utrzymywanej między 5 a 10 °C; dodać 4 ml roztworu 2,4-dinitrofenylohydrazyny (3.1.7). Ostrożnie wymieszać zawartość probówki, unikając zwilżenia korka. Szczelnie zamknąć probówkę i umieścić w łaźni wodnej o temperaturze 20 °C na około 16 godzin (przez noc).

Do probówki od wirowania odmierzyć 15 ml octanu etylu (3.1.8). Zamknąć probówkę korkiem na szlif i wytrząsać energicznie przez 30 sekund. Wirować przez pięć minut przy przyspieszeniu 350—400 g. Do kolby stożkowej z doszlifowanym korkiem odmierzyć pipetą 10 ml warstwy octanu etylu. Wyjąć korek z probówki do wirowania i dodać dalsze 5 ml octanu etylu (3.1.8), ponownie wstrząsać przez 30 sekund i wirować przez pięć minut przy tej samej prędkości. 5 ml uzyskanej warstwy octanu etylu odmierzyć pipetą do kolby stożkowej zawierającej 10 ml roztworu z pierwszego wytrącenia. Wymieszać.

3.3.3. *Separacja bis(2,4-dinitrofenylohydrazonu) metodą chromatograficzną: powinna być przeprowadzona w ciągu dwóch godzin od wytrącenia (3.3.2).*

Nanieść 0,2 ml octanu etylu na całą długość linii początkowej, wyznaczonej 2 cm od krawędzi płytki, pozostawiając margines 2 cm po obu stronach płytki. Na dno komory chromatograficznej nalać fazę ruchomą (3.1.11) do wysokości 1 cm i pozostawić w celu nasycenia komory oparami rozpuszczalnika. Włożyć płytkę i pozostawić w komorze do chwili, gdy rozpuszczalnik osiągnie górną krawędź płytki.

Płytkę suszyć przez godzinę pod wyciągiem z wentylatorem. Trzymając płytkę w pozycji pionowej nad kartką satynowanego papieru, zeskrobać łopatką (pod właściwym kątem w kierunku rozwijania chromatogramu) czerwone plamy (charakterystyczne dla 2,4-dinitrofenylohydrazonu). Uzyskany proszek przenieść bez strat do kolby stożkowej z doszlifowanym korkiem i dodać 4 ml kwasu octowego (3.1.12). Odstawić na 30 minut, często mieszając. Przefiltrować przez karbowaną bibułę filtracyjną bezpośrednio do celki spektrofotometru (3.2.7). Uzyskany filtrat musi być idealnie klarowny. Zmierzyć chłonność tego roztworu przy 500 nm względem kwasu octowego (3.1.12) jako próby odniesienia o zerowej chłonności.

3.3.4. *Przygotowanie krzywej odwzorowania*

Umieścić 5, 10 i 15 ml roztworu kwasu L-askorbinowego (3.1.13) w trzech kolbach miarowych na 100 ml i uzupełnić do kreski 1-procentowym roztworem kwasu metafosforowego (3.1.3). Zawartość kwasu askorbinowego w tak sporządzonych roztworach wynosi odpowiednio 50, 100 i 150 mg na litr.

Z każdym z tych roztworów postępować według metody opisanej w ppkt 3.3.1, 3.3.2 i 3.3.3. Wykreślić krzywą odwzorowania, która powinna być linią prostą przechodzącą przez początek.

3.3.5. *Przedstawianie wyników*

Stężenie kwasu askorbinowego + kwasu dehydroaskorbinowego w winie wyrażane jest w miligramach na litr.

3.3.5.1. Obliczanie

Na krzywej wzorcowej znaleźć wartość chłonności zmierzoną w ppkt 3.3.3 i na tej podstawie określić zawartość kwasu L-askorbinowego + kwasu dehydroaskorbinowego w analizowanym roztworze.

Uwaga: Jeżeli zawartość kwasu L-askorbinowego + kwasu dehydroaskorbinowego jest większa od 150 mg/l, należy zmniejszyć objętość badanej próbki do 25, 20 lub 10 ml wina i pomnożyć uzyskany wynik przez współczynnik rozcieńczenia *F*.

24. **pH**

1. ZASADA

Mierzona jest różnica potencjału między dwoma elektrodami zanurzonymi w badanej cieczy. Jedna z tych elektrod wykazuje potencjał, który jest funkcją wartości pH cieczy, natomiast druga wykazuje stały i znany potencjał i stanowi elektrodę odniesienia.

2. APARATURA

2.1. Pehametr, wyskalowany w jednostkach pH i umożliwiający pomiar z dokładnością co najmniej ± 0, 05 jednostki pH.

2.2. **Elektrody:**

2.2.1. Elektroda szklana, przechowywana w wodzie destylowanej.

2.2.2. Kalomelowa nasycona elektroda odniesienia, przechowywana w nasyconym roztworze chlorku potasu.

2.2.3. Lub elektroda kombinowana, przechowywana w wodzie destylowanej.

3. ODCZYNNIKI

3.1. **Roztwory buforowe**

3.1.1. Nasycony roztwór wodorowinianu potasu, zawierający co najmniej 5,7 g wodorowinianu potasu w litrze ($C_4H_5KO_6$) w temperaturze 20 °C. (Roztwór ten można przechowywać do 2 miesięcy, dodając 0,1 g tymolu na 200 ml.)

pH:
- 3,57 w temperaturze 20 °C
- 3,56 w temperaturze 25 °C
- 3,55 w temperaturze 30 °C

3.1.2. Roztwór wodoroftalanu potasu, 0,05 M, zawierający 10,211 g wodoroftalanu potasu ($C_8H_5KO_4$) w litrze w temperaturze 20 °C. (Maksymalny okres przechowywania dwa miesiące.)

pH:
- 3,999 w temperaturze 15 °C
- 4,003 w temperaturze 20 °C
- 4,008 w temperaturze 25 °C
- 4,015 w temperaturze 30 °C

3.1.3. Roztwór zawierający:

fosforan jednopotasowy, KH_2PO_4	3,402 g
fosforan dipotasowy, K_2HPO_4	4,354 g
woda do	1 000 ml

(Maksymalny okres przechowywania dwa miesiące.)

pH:
- 6,90 w temperaturze 15 °C
- 6,88 w temperaturze 20 °C
- 6,86 w temperaturze 25 °C
- 6,85 w temperaturze 30 °C

Uwaga: Można użyć buforowych roztworów wzorcowych dostępnych w handlu.

4. PROCEDURA

4.1. **Przygotowanie próbki do analizy**

4.1.1. W przypadku moszczów i win: bezpośrednio użyć moszczu lub wina.

4.1.2. W przypadku rektyfikowanych moszczów zagęszczonych: rozcieńczyć rektyfikowany moszcz zagęszczony wodą do zawartości 25 ± 0, 5 % (m/m) cukrów ogółem (25° Brixa).

Jeżeli *P* oznacza procentową zawartością (m/m) cukrów ogółem w rektyfikowanym moszczu zagęszczonym, odważyć masę

$$\frac{2500}{P}$$

i uzupełnić wodą do 100 g. Użyta woda musi mieć przewodność elektryczną poniżej 2 mikrosimensów na centymetr.

4.2. **Zerowanie aparatu**

Zerowanie należy przeprowadzić przed każdym pomiarem, zgodnie z instrukcją dołączoną do aparatu.

4.3. **Kalibracja pehametru**

Wyskalować pehametr w temperaturze 20 °C, stosując roztwory buforowe o pH 6,88 i 3,57 i o temperaturze 20 °C.

Do sprawdzenia kalibracji skali użyć roztworu buforowego o pH 4,00 i o temperaturze 20 °C.

4.4. **Wykonanie oznaczania**

Zanurzyć elektrodę w badanej próbce, której temperatura powinna wynosić 20—25 °C i możliwie jak najmniej odbiegać od 20 °C. Odczytać wartość pH bezpośrednio ze skali.

Przeprowadzić co najmniej dwa oznaczenia tej samej próbki.

Wynik końcowy stanowi średnią arytmetyczną z dwóch oznaczeń.

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

Wartość pH moszczów, wina lub roztworu rektyfikowanego moszczu zagęszczonego o stężeniu 25 % (m/m) (25° Brixa) podawać z dokładnością do dwóch miejsc dziesiętnych.

25. **DITLENEK SIARKI**

1. DEFINICJE

Wolny ditlenek siarki jest to ditlenek siarki obecny w moszczu lub winie pod następującymi postaciami: H_2SO_3, HSO_3^-.

Równowaga między tymi dwoma postaciami jest funkcją pH i temperatury:

$$H_2SO_3 \rightleftharpoons H^+ + HSO_3^-$$

H_2SO_3 stanowi cząsteczkowy ditlenek siarki.

Całkowity ditlenek siarki jest oznaczany jako wszystkie formy ditlenku siarki obecne w winie, zarówno w stanie wolnym, jak i związane ze składnikami wina.

2. WOLNY I CAŁKOWITY DITLENEK SIARKI

2.1. **Zasada Metod**

2.1.1. *Metoda porównawcza*

2.1.1.1. Dla win i moszczów

Ditlenek siarki jest wydzielany z próbki strumieniem powietrza lub azotu; następnie jest wiązany i utleniany poprzez przepuszczanie przez rozcieńczony i obojętny roztwór nadtlenku wodoru. Powstały kwas siarkowy jest oznaczany poprzez miareczkowanie mianowanym roztworem wodorotlenku sodu. Wolny ditlenek siarki jest wydzielany z próbki przez odparowanie w niskiej temperaturze (10 °C).

Całkowity ditlenek siarki jest wydzielany z wina przez odparowanie w wysokiej temperaturze (około 100 °C).

2.1.1.2. Dla rektyfikowanych moszczy zagęszczonych

Całkowity ditlenek siarki ogółem jest wydzielany z uprzednio rozcieńczonego rektyfikowanego moszczu zagęszczonego przez odparowanie w wysokiej temperaturze (około 100 °C).

2.1.2. *Szybka metoda oznaczania (dla win i moszczów)*

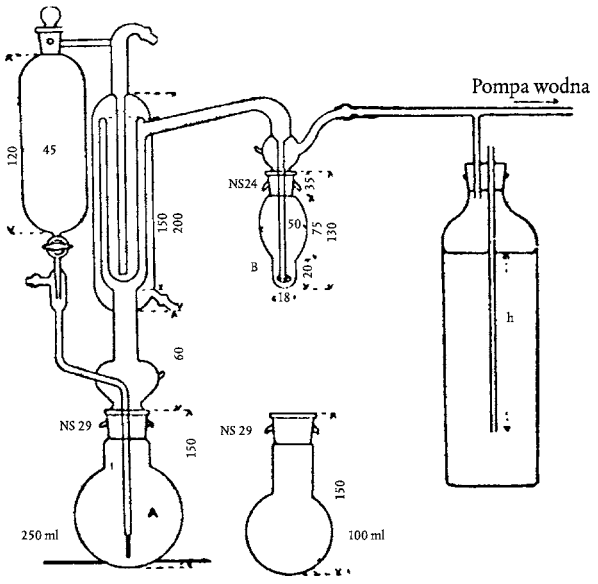
Wolny ditlenek siarki jest oznaczany poprzez bezpośrednie miareczkowanie jodometryczne.

Następnie oznacza się związany ditlenek siarki metodą miareczkowania jodometrycznego, po przeprowadzeniu hydrolizy alkalicznej. Suma zawartości wolnego i związanego ditlenku siarki stanowi zawartość całkowitego ditlenku siarki ogółem.

2.2. **Metoda porównawcza**

2.2.1. *Aparatura*

2.2.1.1. Używany aparat powinien odpowiadać poniżej zamieszczonemu schematowi, ze szczególnym uwzględnieniem skraplacza.



Wymiary podane są w milimetrach. Średnice wewnętrzne czterech koncentrycznych rurek tworzących skraplacz wynoszą 45, 34, 27 i 10 mm.

Rurka doprowadzająca gaz do barbotera B jest zakończona małą kulką o średnicy 1 cm, posiadającą na poziomym obwodzie 20 otworów o średnicy 0,2 mm. Rurka może być również zakończona płytką ze spieku szklanego, który powoduje tworzenie dużej ilości bardzo małych pęcherzyków gazu, przez co zapewnia dobry kontakt fazy ciekłej z gazową.

Przepływ gazu przez aparat powinien wynosić około 40 litrów na godzinę. Butelka umieszczona na schemacie po prawej stronie ma za zadanie ograniczać redukcję ciśnienia powodowaną przez pompkę wodną do 20—30 cm słupa wody. W celu utrzymania próżni na odpowiednim poziomie między barboterem a butelką należy zainstalować przepływomierz z rurkami półkapilarnymi.

2.2.1.2. Mikrobiureta.

2.2.2. *Odczynniki*

2.2.2.1. Kwas fosforowy, 85 %, (H_3PO_4, ρ20 = 1,71 g/ml).

2.2.2.2. Roztwór nadtlenku wodoru, 9,1 g H_2O_2/litr (trzy objętości).

2.2.2.3. Wskaźnik:

czerwień metylowa	100 mg
błękit metylenowy	50 mg
alkohol, 50 % obj.	100 ml

2.2.2.4. Roztwór wodorotlenku sodu, NaOH, 0,01 M.

2.2.3. *Procedura*

2.2.3.1. Oznaczanie wolnego ditlenku siarki

Wino przed określeniem powinno być przechowywane przez dwa dni w całkowicie napełnionej i zamkniętej butelce w temperaturze 20 °C.

Umieścić 2-3 ml roztworu nadtlenku wodoru (2.2.2.2) i dwie krople wskaźnika w barboterze B, po czym zobojętnić roztwór nadtlenku wodoru za pomocą 0,01 M roztworu wodorotlenku sodu (2.2.2.4). Przyłączyć barboter do aparatu.

Do kolby A aparatu wprowadzić 50 ml próbki i 15 ml kwasu fosforowego (2.2.2.1). Przyłączyć kolbę do aparatu.

Przepuszczać powietrze lub azot przez aparat przez 15 minut. Wolny ditlenek siarki wydzielony z próbki jest utleniany do kwasu siarkowego. Odłączyć barboter od aparatu i miareczkować powstały kwas siarkowy 0,01 M roztworem wodorotlenku sodu (2.2.2.4). *n′* oznacza ilość ml zużytych przy miareczkowaniu.

2.2.3.2. Przedstawianie wyników

Uwolniony ditlenek siarki wyrażać w mg/l, zaokrąglając wynik do najbliższej liczby całkowitej.

2.2.3.2.1. Obliczanie
Zawartość wolnego ditlenku siarki w miligramach na litr wynosi 6,4 *n*.

2.2.3.3. Oznaczanie całkowitego ditlenku siarki

2.2.3.3.1. Dla zagęszczonych moszczów rektyfikowanych należy użyć roztworu otrzymanego przez rozcieńczenie badanej próbki do stężenia 40 % (m/v), jak podano w rozdziale „Kwasowość ogólna", ppkt 5.1.2. Do kolby A aparatu na 250 ml wprowadzić 50 ml badanego roztworu i 5 ml kwasu fosforowego (2.2.2.1). Przyłączyć kolbę do aparatu.

2.2.3.3.2 Wina i moszcze

Jeżeli oczekiwana zawartość SO_2 ogółem w próbce nie jest większa niż 50 mg na litr, do kolby A na 250 ml aparatury odmierzyć 50 ml próbki i 15 ml kwasu fosforowego (2.2.2.1). Przyłączyć kolbę do aparatury.

Jednak najpóźniej do dnia 31 grudnia 1992 r. do analizy zawartości ditlenku siarki w soku gronowym należy używać 5 ml 25—procentowego roztworu (m/v) kwasu fosforowego (2.2.2.1).

Jeżeli szacunkowa zawartość SO_2 ogółem w próbce jest większa niż 50 mg na litr, do kolby A aparatu na 100 ml odmierzyć 20 ml próbki i 5 ml kwasu fosforowego (2.2.2.1). Przyłączyć kolbę do aparatu.

Do barbotera B odmierzyć 2—3 ml roztworu nadtlenku wodoru (2.2.2.2), zobojętnionego jak uprzednio, wino w kolbie A doprowadzić do wrzenia za pomocą niewielkiego płomienia o wysokości 4—5 cm, który powinien bezpośrednio dotykać dna kolby. Nie należy umieszczać kolby na płytce metalowej, lecz na krążku z otworem o średnicy około 30 mm. Zapobiega to przegrzaniu substancji wydzielanych z wina, które osadzają się na ściankach kolby.

Utrzymywać próbkę w stanie wrzenia, przepuszczając przez nią strumień powietrza (lub azotu). W ciągu 15 minut następuje wydzielenie z próbki i utlenienie całości ditlenku siarki (wolnego i związanego). Oznaczyć ilość wytworzonego kwasu siarkowego poprzez miareczkowanie 0,01 M roztworem wodorotlenku sodu (2.2.2.4).

n oznacza ilość ml roztworu zużytego do miareczkowania.

2.2.3.4. Przedstawianie wyników

Moszcze i wina: Zawartość ditlenku siarki ogółem wyrazić w mg/l.

Rektyfikowany moszcz zagęszczony: Zawartość ditlenku siarki ogółem wyrazić w mg/kg cukrów ogółem.

2.2.3.4.1. Obliczanie

Dla win:

Zawartość ditlenku siarki ogółem w miligramach na litr:

— próbki o niskiej zawartości ditlenku siarki (objętość badanej próbki 50 ml): 6,4 *n*

— pozostałe próbki (objętość badanej próbki 20 ml): 16 *n*

Dla zagęszczonych moszczów rektyfikowanych:

Całkowita zawartość ditlenku siarki w miligramach na kilogram cukrów ogółem (objętość badanej próbki 50 ml (2.2.3.3.1)) wynosi:

$$\frac{1600 \times n}{P}$$

gdzie P = procentowa zawartość (m/m) cukrów ogółem

2.2.3.4.2. Powtarzalność (*r*)
badana próbka 50 ml < 50 mg/l; r = 1 mg/l.
badana próbka 20 ml > 50 mg/l; r = 6 mg/l.

2.2.3.4.3. Odtwarzalność (*R*)
badana próbka 50 ml < 50 mg/l; R = 9 mg/l.
badana próbka 20 ml > 50 mg/l; R = 15 mg/l.

2.3. **Szybka metoda oznaczania**

2.3.1. *Odczynniki*

2.3.1.1. EDTA komplekson III: sól disodowa kwasu etylenodiaminotetraoctowego ($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 . 2H_2O$).

2.3.1.2. Roztwór wodorotlenku sodu, NaOH, 4 M (160 g/l).

2.3.1.3. Kwas siarkowy, H_2SO_4 (ρ20 = 1,84 g/ml) (rozcieńczony w stosunku 1:10 v/v).

2.3.1.4. Roztwór skrobi 5 g/l:

Zmieszać 5 g skrobi z około 500 ml wody. Doprowadzić do wrzenia, stale mieszając i gotować przez 10 minut. Dodać 200 g chlorku sodu (NaCl). Po schłodzeniu uzupełnić do jednego litra.

2.3.1.5. 0,025 M roztwór jodu, I_2.

2.3.2. *Aparatura*

2.3.2.1. Kolba stożkowa na 500 ml.

2.3.2.2. Biureta.

2.3.2.3. Pipety na 1, 2, 5 i 50 ml.

2.3.3. *Procedura*

2.3.3.1. Wolny ditlenek siarki

Odmierzyć i umieścić w kolbie stożkowej o pojemności 500 ml:

— 50 ml wina,

— 5 ml roztworu skrobi (2.3.1.4),

— 30 mg EDTA komplekson III (2.3.1.1.),

— 3 ml rozcieńczonego 1:10 (v/v) H_2SO_4 (2.3.1.3).

Miareczkować niezwłocznie 0,025 M roztworem jodu (2.3.1.5) do uzyskania niebieskiego zabarwienia utrzymującego się wyraźnie przez 10—15 sekund. Niech *n′* oznacza ilość ml zużytego roztworu jodu.

2.3.3.2. Ditlenek siarki

Dodać 8 ml 4 M roztworu wodorotlenku sodu (2.3.1.2), wstrząsnąć mieszaninę raz i odstawić na 5 minut. Dodać, intensywnie mieszając i w jednej porcji, zawartość małej zlewki, w której umieszczono 10 ml rozcieńczonego w stosunku 1:10 kwasu siarkowego (2.3.1.3). Miareczkować bezzwłocznie 0,025 M roztworem jodu (2.3.1.5); *n′* oznacza objętość ml zużytego roztworu jodu.

Dodać 20 ml 4 M roztworu wodorotlenku sodu (2.3.1.2) raz i odstawić na pięć minut. Rozcieńczyć za pomocą 200 ml lodowato zimnej wody.

Dodać, intensywnie mieszając i w jednej porcji, zawartość probówki testowej, w której umieszczono 30 ml kwasu siarkowego rozcieńczonego w stosunku 1:10 (2.3.1.3). Miareczkować niezwłocznie wolny ditlenek siarki 0,025 M roztworem jodu (2.3.1.5); niech *n'* oznacza ilość ml zużytego roztworu jodu.

2.3.4. *Przedstawianie wyników*

2.3.4.1. Obliczanie:

Zawartość wolnego ditlenku siarki w mg na litr wynosi: 32 *n*.

Całkowita zawartość ditlenku siarki w miligramach na litr wynosi: $32(n + n' + n'')$.

Uwagi:

1) Dla win czerwonych o niskiej zawartości SO_2 zaleca się użycie roztworu jodu o stężeniu mniejszym niż 0,025 M (np. 0,01 M. W tym przypadku współczynnik 32 w powyższym równaniu należy zastąpić współczynnikiem 12,8).

2) Dla win czerwonych korzystnie jest podświetlić próbkę od dołu strumieniem światła żółtego ze zwykłej żarówki elektrycznej, przechodzącego przez roztwór chromianu potasu lub światła z lampy sodowej. Oznaczanie należy przeprowadzić w ciemnym pomieszczeniu, obserwując przezroczystość wina: w końcowym punkcie miareczkowania wino staje się mętne.

3) Jeżeli zawartość ditlenku siarki (H_2SO_3) jest bliska lub przekracza dopuszczalną prawnie ilość, zawartość ditlenku siarki ogółem należy oznaczyć metodą porównawczą.

4) Jeżeli oznaczanie ditlenku siarki jest szczególnie istotne, oznaczanie należy przeprowadzić w próbce przechowywanej przed analizą w warunkach beztlenowych w temperaturze 20 °C przez 2 dni. Oznaczanie przeprowadzić w temperaturze 20 °C.

5) Ponieważ w środowisku kwasowym jod utlenia pewne inne substancje, w przypadku dokładniejszych oznaczeń należy oznaczyć ilość jodu zużytą w ten sposób. W tym celu wolny ditlenek siarki należy wymieszać z nadmiarem alkoholu etylowego lub propanalu przed wykonaniem miareczkowania roztworem jodu. Do 50 ml wina umieszczonego w kolbie stożkowej na 300 ml dodać 5 ml roztworu alkoholu etylowego (C_2H_4O) o stężeniu 7 g/l lub 5 ml roztworu propanalu (C_3H_6O) o stężeniu 10 g/l.

Zamknąć kolbę korkiem i odstawić na co najmniej 30 minut. Dodać 3 ml kwasu siarkowego rozcieńczonego w stosunku 1:10 (v/v) (2.3.1.3) i 0,025 M roztwór jodu (2.3.1.5) w ilości wystarczającej do wywołania zmiany barwy skrobi. n' oznacza ilość ml zużytego roztworu jodu. Wartość tę należy odjąć od wartości n''' (zawartość wolnego ditlenku siarki) i od $n' + n' + n'$ (całkowita zawartość ditlenku siarki).

n' jest zwykle niska, 0,2— 0,3 ml 0,025 M roztworu jodu. Jeżeli do wina był dodany kwas askorbinowy, wartość n''' będzie dużo wyższa i jest możliwe, przynajmniej w przybliżeniu, oznaczenie ilości tej substancji na podstawie wartości n', zakładając, że 1 ml 0,025 M roztworu jodu utlenia 4,4 mg kwasu askorbinowego. Oznaczając wartość n' można w dość łatwy sposób wykryć obecność pozostałości kwasu askorbinowego w ilości powyżej 20 mg/l w winach, do których był on dodany.

3. CZĄSTECZKOWY DITLENEK SIARKI

3.1. Zasada Metody

Procentowy udział cząsteczkowego ditlenku siarki, H_2SO_3 w wolnym ditlenku siarki oblicza się jako funkcję pH, zawartości alkoholu i temperatury.

Dla danej temperatury i zawartości alkoholu:

$$H_2SO_3 \rightleftharpoons H^+ + HSO_3^-,$$

1)

$$[H_2SO_3] = \frac{L}{10^{(pH - pK_M)+1}}$$

godzie:

$$pK_M = p\,K_T - \frac{A\sqrt{I}}{1+B\sqrt{I}}$$

$$L = [H_2SO_3] + [HSO_3^-]$$

gdzie:

I = siła jonowa,

A i B = współczynniki zależne od temperatury i zawartości alkoholu,

K_T = termodynamiczna stała dysocjacji: wartości KT dla różnej temperatury i różnej zawartości alkoholu podane są w tabeli 1.

K_M = mieszana stała dysocjacji.

Przyjmując średnią wartość siły jonowej I 0,038, tabela 2 podaje wartości pK_M dla różnej temperatury i zawartości alkoholu.

Zawartość cząsteczkowego ditlenku siarki obliczona na podstawie wzoru 1) podana jest w tabeli 3 dla różnej wartości pH, temperatury i zawartości alkoholu.

3.2. Obliczanie

W tabeli 3 podana jest procentowa zawartość cząsteczkowego ditlenku siarki X % dla temperatury T °C obliczona na podstawie znanej wartości pH wina i zawartości alkoholu.

Zawartość cząsteczkowego ditlenku siarki w mg/l wynosi:

$X \times C$

gdzie C = zawartość wolnego ditlenku siarki w mg/l.

TABELA 1

Wartości termodynamicznej stałej dysocjacji p K_T

Zawartość alkoholu (% obj.)	Temperatura (°C)				
	20	25	30	35	40
0	1,798	2,000	2,219	2,334	2,493
5	1,897	2,098	2,299	2,397	2,527
10	1,997	2,198	2,394	2,488	2,606
15	2,099	2,301	2,503	2,607	2,728
20	2,203	2,406	2,628	2,754	2,895

TABELA 2

Wartości mieszanej stałej dysocjacji p K_M (I = 0,038)

Zawartość alkoholu (% obj.)	Temperatura (°C)				
	20	25	30	35	40
0	1,723	1,925	2,143	2,257	2,416
5	1,819	2,020	2,220	2,317	2,446
10	1,916	2,116	2,311	2,405	2,522
15	2,014	2,216	2,417	2,520	2,640
20	2,114	2,317	2,538	2,663	2,803

TABELA 3

Procentowa zawartość cząsteczkowego ditlenku siarki w stosunku do wolnego ditlenku siarki

Cząsteczkowy SO_2/wolny SO_2(%)	*T* = 20 °C				*I*= 0,038
pH	Zawartość alkoholu (% obj.)				
	0	5	10	15	20
2,8	7,73	9,46	11,55	14,07	17,09
2,9	6,24	7,66	9,40	11,51	14,07
3,0	5,02	6,18	7,61	9,36	11,51
3,1	4,03	4,98	6,14	7,58	9,36
3,2	3,22	3,99	4,94	6,12	7,58
3,3	2,58	3,20	3,98	4,92	6,12
3,4	2,06	2,56	3,18	3,95	4,92
3,5	1,64	2,04	2,54	3,16	3,95
3,6	1,31	1,63	2,03	2,53	3,16
3,7	1,04	1,30	1,62	2,02	2,53
3,8	0,83	1,03	1,29	1,61	2,02
T = 25 °C					
2,8	11,47	14,23	17,15	20,67	24,75
2,9	9,58	11,65	14,12	17,15	22,71
3,0	7,76	9,48	11,55	14,12	17,18
3,1	6,27	7,68	9,40	11,55	14,15
3,2	5,04	6,20	7,61	9,40	11,58
3,3	4,05	4,99	6,14	7,61	9,42
3,4	3,24	4,00	4,94	6,14	7,63
3,5	2,60	3,20	3,97	4,94	6,16
3,6	2,07	2,56	3,18	3,97	4,55
3,7	1,65	2,05	2,54	3,18	3,98
3,8	1,32	1,63	2,03	2,54	3,18
T = 30 °C					
2,8	18,05	20,83	24,49	29,28	35,36
2,9	14,89	17,28	20,48	24,75	30,29
3,0	12,20	14,23	16,98	20,71	25,66
3,1	9,94	11,65	13,98	17,18	21,52
3,2	8,06	9,48	11,44	14,15	17,88
3,3	6,51	7,68	9,30	11,58	14,75
3,4	5,24	6,20	7,53	9,42	12,08
3,5	4,21	4,99	6,08	7,63	9,84
3,6	3,37	4,00	4,89	6,16	7,98
3,7	2,69	3,21	3,92	4,95	6,44
3,8	2,16	2,56	3,14	3,98	5,19

T = 35 °C					
2,8	22,27	24,75	28,71	34,42	42,18
2,9	18,53	20,71	24,24	29,42	36,69
3,0	15,31	17,18	20,26	24,88	31,52
3,1	12,55	14,15	16,79	20,83	26,77
3,2	10,24	11,58	13,82	17,28	22,51
3,3	8,31	9,42	11,30	14,23	18,74
3,4	6,71	7,63	9,19	11,65	15,49
3,5	5,44	6,16	7,44	9,48	12,71
3,6	4,34	4,95	6,00	7,68	10,36
3,7	3,48	3,98	4,88	6,20	8,41
3,8	2,78	3,18	3,87	4,99	6,80
T = 40 °C					
2,8	29,23	30,68	34,52	40,89	50,14
2,9	24,70	26,01	29,52	35,47	44,74
3,0	20,67	21,83	24,96	30,39	38,85
3,1	17,15	18,16	20,90	25,75	33,54
3,2	14,12	14,98	17,35	21,60	28,62
3,3	11,55	12,28	14,29	17,96	24,15
3,4	9,40	10,00	11,70	14,81	20,19
3,5	7,61	8,11	9,52	12,13	16,73
3,6	6,14	6,56	7,71	9,88	13,77
3,7	4,94	5,28	6,22	8,01	11,25
3,8	3,97	4,24	5,01	6,47	9,15

26. **SÓD**

1. ZASADA METODY

1.1. **Metoda porównawcza: spektrofotometria absorpcji atomowej**

Zawartość sodu oznaczana jest bezpośrednio w winie metodą spektrofotometrii absorpcji atomowej po dodaniu czynnika zmniejszającego jonizację (chlorek cezu) w celu przeciwdziałania jonizacji sodu.

1.2. **Metoda zwykła: fotometria płomieniowa**

Zawartość sodu oznaczana jest bezpośrednio w rozcieńczonym (co najmniej 1:10) winie metodą fotometrii płomieniowej.

2. METODA PORÓWNAWCZA

2.1. **Odczynniki**

2.1.1. *Roztwór zawierający 1 g sodu w litrze*:

Użyć wzorcowego handlowego roztworu, zawierającego 1 g sodu w litrze. Roztwór ten można sporządzić, rozpuszczając 2,542 g bezwodnego chlorku sodu, NaCl, w wodzie destylowanej i uzupełniając do objętości 1 litra.
Roztwór przechowywać w butelce z polietylenu.

2.1.2. *Matryca (roztwór wzorcowy)*:

kwas cytrynowy $C_6H_8O_7 . H_2O$	3,5 g
sacharoza $C_{12}H_{22}O_{11}$	1,5 g
glicerol $C_3H_8O_3$	5 g
bezwodny chlorek wapnia $CaCl_2$	50 mg
bezwodny chlorek magnezu $MgCl_2$	50 mg
alkohol bezwodny C_2H_5OH	50 ml
woda dejonizowana do	500 ml

2.1.3. *Roztwór chlorku cezu zawierający 5 % cezu*:

rozpuścić 6,330 g chlorku cezu, CsCl, w 100 ml wody destylowanej.

2.2. **Aparatura**

2.2.1. Spektrofotometr absorpcji atomowej wyposażony w palnik powietrzno—acetylenowy.

2.2.2. Lampa sodowa z katodą wnękową.

2.3. **Procedura**

2.3.1. *Przygotowanie próbki*

Przenieść pipetą 25 ml wina do kolby miarowej na 50 ml, dodać 1 ml roztworu chlorku cezu (2.1.3) i uzupełnić do kreski wodą destylowaną.

2.3.2. *Kalibracja*

Umieścić 5,0 ml roztworu wzorcowego w każdej z zestawu kolb miarowych o pojemności 100 ml i dodać odpowiednio 0, 2,5, 5,0, 7, 5 i 10 ml roztworu sodu o stężeniu 1 g/l (2.1.1), rozcieńczonego uprzednio w stosunku 1:100. Do każdej kolby dodać 2 ml roztworu chlorku cezu (2.1.3) i uzupełnić do 100 ml wodą destylowaną.

Przygotowane w ten sposób roztwory wzorcowe zawierają odpowiednio 0, 0,25, 0,50, 0,75 i 1,00 mg sodu na litr i każdy z nich zawiera 1 g chlorku cezu. Roztwory przechowywać w butelkach z polietylenu.

2.3.3. *Oznaczanie*

Ustawić długość fali na 589,0 nm. Ustawić zero na skali chłonności, stosując roztwór modelowy zawierający 1 g cezu w litrze (2.3.2). Do palnika spektrofotometru wprowadzić bezpośrednio rozcieńczone wino, a następnie roztwory wzorcowe (2.3.2). Odczytać chłonność. Powtórzyć każdy pomiar.

2.4. **Przedstawianie wyników**

2.4.1. *Metoda obliczania*

Sporządzić wykres przedstawiający chłonność jako funkcję zawartości sodu w roztworach wzorcowych.

Zapisać chłonność uzyskaną dla rozcieńczonego wina i oznaczyć stężenie sodu C w miligramach na litr.

Stężenie sodu w miligramach na litr wina wynosi 20 C i jest wyrażane w zaokrągleniu do liczby całkowitej.

2.4.2. *Powtarzalność (r)*

$r = 1 + 0{,}024\ x_i$ mg/l.

x_i = stężenie sodu w próbce w mg/l.

2.4.3. *Odtwarzalność (R)*

$R = 2{,}5 + 0{,}05\ x_i$ mg/l.

x_i = stężenie sodu w próbce w mg/l.

3. METODA ZWYKŁA

3.1. **Odczynniki**

3.1.1. *Roztwór wzorcowy zawierający 20 mg sodu w litrze*

Alkohol bezwodny (C_2H_5OH)	10	ml
Kwas cytrynowy ($C_6H_8O_7 . H_2O$)	700	mg
Sacharoza ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	300	mg
Glicerol ($C_3H_8O_3$)	1 000	mg
Wodorowinian potasu ($C_4H_5KO_6$)	481,3	mg
Bezwodny chlorek wapnia ($CaCl_2$)	10	mg
Bezwodny chlorek magnezu ($MgCl_2$)	10	mg
Suchy chlorek sodu (NaCl)	50,84	mg
Woda do	1	litra

3.1.2. *Roztwór do rozcieńczenia* Alkohol bezwodny (C_2H_5OH)

Kwas cytrynowy (C_2H_5OH) …	10	ml
Kwas cytrynowy ($C_6H_8O_7\ H_2O$)	700	mg
Sacharoza ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	300	mg
Glicerol ($C_3H_8O_3$)	1 000	mg
Wodorowinian potasu ($C_4H_5KO_6$)	481,3	mg
Bezwodny chlorek wapni ($CaCI_2$)	10	mg
Bezwodny chlorek magnezu ($MgCI_2$)	10	mg
Woda do	1	litra

W celu przygotowania roztworu 3.1.1 i 3.1.2 wodorowinian potasu należy rozpuścić w około 500 ml bardzo gorącej wody destylowanej, wymieszać uzyskany roztwór z 400 ml wody destylowanej, w której pozostałe chemikalia zostały już rozpuszczone, i uzupełnić do jednego litra.

Roztwory przechowywać w butelkach z polietylenu, dodając dwie krople izotiocyjanianu allilu jako substancji konserwującej.

3.2. **Aparatura**

3.2.1. Fotometr płomieniowy zasilany mieszaniną powietrzno—butanową.

3.3. **Procedura**

3.3.1. *Kalibracja*

Umieścić odpowiednio 5, 10, 15, 20 i 25 ml roztworu wzorcowego (3.1.1) w kolbach miarowych o pojemności 100 ml i uzupełnić do 100 ml roztworem do rozcieńczania (3.1.2). Otrzymane roztwory zawierają odpowiednio 1, 2, 3, 4 i 5 mg sodu w litrze.

3.3.2. *Oznaczanie*

Pomiary wykonywać przy 589,0 nm. Nastawić na 100 % transmisji, używając wody destylowanej. Do palnika fotometru kolejno wprowadzać roztwory wzorcowe, a następnie wino rozcieńczone wodą destylowaną w stosunku 1:10 i zapisywać odczytane wartości transmisji. Jeżeli potrzeba, wino rozcieńczone w stosunku 1:10 można jeszcze bardziej rozcieńczyć, stosując roztwór do rozcieńczania (3.1.2).

3.4. **Przedstawianie wyników**

3.4.1. *Metoda obliczania*

Sporządzić wykres przedstawiający zależność transmisji w procentach od zawartości sodu w roztworach wzorcowych. Na wykresie odnaleźć wartość transmisji uzyskaną dla próbki rozcieńczonego wina i odczytać odpowiadające jej stężenie sodu *C*.

Zawartość sodu w miligramach na litr wynosi $F \times C$, przy czym F jest współczynnikiem rozcieńczenia.

3.4.2. *Powtarzalność (r)*

r = 1,4 mg/l (z wyjątkiem win likierowych)

r = 2,0 mg/l (dla win likierowych).

3.4.3. *Odtwarzalność (R)*

$R = 4{,}7 + 0{,}08\ x_i$ mg/l.

x_i = stężenie sodu w próbce w mg/l.

27. **POTAS**

1. ZASADA METOD

1.1. **Metoda porównawcza**

Zawartość potasu jest oznaczana bezpośrednio w winie metodą spektrofotometrii absorpcji atomowej po dodaniu czynnika hamującego jonizację (chlorek cezu) w celu przeciwdziałania jonizacji potasu.

1.2. **Metoda zwykła**

Zawartość sodu oznacza się bezpośrednio w rozcieńczonym winie metodą fotometrii płomieniowej.

2. METODA PORÓWNAWCZA

2.1. **Odczynniki**

2.1.1. *Roztwór zawierający 1 g potasu w litrze:*

Użyć wzorcowego handlowego roztworu zawierającego 1 g potasu w litrze. Roztwór ten można sporządzić, rozpuszczając 4,813 g wodorowinianu potasu ($C_4H_5KO_6$) w wodzie destylowanej i uzupełniając do objętości 1 litra.

2.1.2. *Matryca (roztwór wzorcowy)*

kwas cytrynowy ($C_6H_8O_7 . H_2O$)	3,5 g
sacharoza ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	1,5 g
glicerol ($C_3H_8O_3$)	5,0 g
bezwodny chlorek wapnia ($CaCl_2$)	50 mg
bezwodny chlorek magnezowy ($MgCl_2$)	50 mg
alkohol bezwodny (C_2H_5OH)	50 ml
woda do	500 ml

2.1.3. *Roztwór chlorku cezu zawierający 5 % cezu*:

rozpuścić 6,33 g chlorku cezu, CsCl, w 100 ml wody destylowanej.

2.2. **Aparatura**

2.2.1. Spektrofotometr absorpcji atomowej wyposażony w palnik powietrzno—acetylenowy.

2.2.2. Lampa potasowa z katodą wnękową.

2.3. **Procedura**

2.3.1. *Przygotowanie próbki*

Przenieść pipetą 2,5 ml wina (rozcieńczonego uprzednio w stosunku 1:10) do kolby miarowej na 50 ml, dodać 1 ml roztworu chlorku cezu (2.1.3) i uzupełnić do kreski wodą destylowaną.

2.3.2. *Kalibracja*

Do każdej z pięciu kolb miarowych na 100 ml wprowadzić 5,0 ml roztworu wzorcowego i dodać odpowiednio 0, 2,0, 4,0, 6, 0 i 8,0 ml roztworu potasu o stężeniu 1 g/l (2.1.1) (rozcieńczonego

uprzednio w stosunku 1:10). Do każdej kolby dodać 2 ml roztworu chlorku cezu (2.1.3) i uzupełnić do 100 ml wodą destylowaną.

Przygotowane w ten sposób roztwory wzorcowe zawierają odpowiednio 0, 2, 4, 6 i 8 mg potasu na litr i każdy z nich zawiera 1 g chlorku cezu na litr. Roztwory przechowywać w butelkach z polietylenu.

2.3.3. *Oznaczanie*

Ustawić długość fali na 769,9 nm. Ustawić zero na skali chłonności, stosując roztwór wzorcowy zawierający 1 g cezu w litrze (2.3.2). Do palnika spektrofotometru wprowadzić bezpośrednio rozcieńczone wino (2.3.1), a następnie roztwory wzorcowe (2.3.2). Odczytać chłonność. Powtórzyć wszystkie pomiary.

2.4. **Przedstawianie wyników**

2.4.1. *Metoda obliczania*

Sporządzić wykres przedstawiający zróżnicowanie chłonności jako funkcję zawartości potasu w roztworach wzorcowych.

Zapisać oznaczoną wartość chłonności uzyskaną dla próbki rozcieńczonego wina i oznaczyć stężenie potasu C w miligramach na litr.

Stężenie potasu w miligramach na litr wina, wyrażane w zaokrągleniu do liczby całkowitej, wynosi $F \times C$, przy czym F jest współczynnikiem rozcieńczenia (w tym przypadku 200).

2.4.2. *Powtarzalność (r)*

$r = 35$ mg/l.

2.4.3. *Odtwarzalność (R)*

$R = 66$ mg/l.

2.4.4. *Inne sposoby przedstawiania wyników*

W miliekwiwalentach na litr: $0{,}0256 \times F \times C$.

W miligramach wodorowinianu potasu na litr: $4{,}813 \times F \times C$.

3. METODA RUTYNOWA

3.1. **Odczynniki**

3.1.1. *Roztwór wzorcowy zawierający 100 mg potasu w litrze*

Alkohol bezwodny (C_2H_5OH)	10 ml
Kwas cytrynowy ($C_6H_8O_7 . H_2O$)	700 mg
Sacharoza ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	300 mg
Glicerol ($C_3H_8O_3$)	1 000 mg
Chlorek sodu (NaCl)	50,8mg
Bezwodny chlorek wapnia ($CaCl_2$)	10 mg
Bezwodny chlorek magnezu ($MgCl_2$)	10 mg
Suchy wodorowinian potasu ($C_4H_5KO_6$)	481,3mg
Woda do	1 000 ml

Wodorowinian potasu rozpuścić w około 500 ml bardzo gorącej wody destylowanej, wymieszać uzyskany roztwór z 400 ml wody destylowanej, w której rozpuszczono pozostałe składniki, i uzupełnić do jednego litra.

3.1.2. *Roztwór do rozcieńczania*

Alkohol bezwodny (C_2H_5OH)…	10	ml
Kwas cytrynowy ($C_6H_8O_7 . H_2O$)	700	mg
Sacharoza ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	300	mg
Glicerol ($C_3H_8O_3$)	1 000	mg
Chlorek sodu (NaCl)	50,8	mg
Bezwodny chlorek wapnia ($CaCl_2$)	10	mg
Bezwodny chlorek magnezu ($MgCl_2$)	10	mg
Kwas winowy ($C_4H_6O_6$)	383	mg
Woda do	1 000	ml

Roztwory przechowywać w butelkach z polietylenu, dodając dwie krople izotiocyjanianu allilu jako substancji konserwującej.

3.2. **Aparatura**

3.2.1. Fotometr płomieniowy zasilany mieszaniną powietrzno—butanową.

3.3. **Procedura**

3.3.1. *Kalibracja*

Umieścić odpowiednio 25, 50, 75 i 100 ml roztworu wzorcowego (3.1.1) w kolbach miarowych o pojemności 100 ml i uzupełnić do 100 ml roztworem do rozcieńczania (3.1.2). Otrzymane roztwory zawierają odpowiednio 25, 50, 75 i 100 mg potasu w litrze.

3.3.2. *Oznaczanie*

Pomiary wykonywać przy 766 nm. Nastawić na 100 % transmisji, używając wody destylowanej. Do palnika fotometru wprowadzać kolejno roztwory wzorcowe (3.3.1), a następnie wino rozcieńczone wodą destylowaną w stosunku 1:10 i zapisywać odczytane wartości transmisji. Jeżeli potrzeba, wino rozcieńczone w stosunku 1:10 można jeszcze bardziej rozcieńczyć, stosując roztwór do rozcieńczania (3.1.2).

3.4. **Przedstawianie wyników**

3.4.1. *Metoda obliczania*

Sporządzić wykres przedstawiający procentowe zróżnicowanie transmisji w stosunku do stężenia sodu w roztworach wzorcowych. Zapisać transmisję uzyskaną dla próbki rozcieńczonego wina i odczytać odpowiadającą jej zawartość potasu C.

Zawartość potasu w miligramach na litr, podawana w zaokrągleniu do liczby całkowitej, wynosi $F \times C$, przy czym F jest współczynnikiem rozcieńczenia.

3.4.2. *Powtarzalność (r)*

r = 17 mg/l.

3.4.3. *Odtwarzalność (R)*

R = 66 mg/l.

3.4.4. *Inne sposoby przedstawiania wyników:*

W miliekwiwalentach na litr: $0{,}0256 \times F \times C$
W miligramach wodorowinianu potasu na litr: $4{,}813 \times F \times C$.

28. **MAGNEZ**

1. ZASADA METODY

Zawartość magnezu oznacza się bezpośrednio w odpowiednio rozcieńczonym winie, metodą spektrofotometrii absorpcji atomowej.

2. ODCZYNNIKI

2.1. **Stężony roztwór mianowany zawierający 1 g magnezu w litrze**

Użyć mianowanego handlowego roztworu magnezu (1 g/l). Roztwór ten można sporządzić, rozpuszczając 8,3646 g chlorku magnezu ($MgCl_2$. $6H_2O$) w wodzie destylowanej i uzupełniając do objętości 1 litra.

2.2. **Rozcieńczony roztwór mianowany zawierający 5 mg magnezu w litrze.**

Uwaga: Roztwory mianowane magnezu przechowywać w butelkach z polietylenu.

3. APARATURA

3.1. Spektrofotometr absorpcji atomowej wyposażony w palnik powietrzno—acetylenowy.

3.2. Lampa magnezowa z katodą wnękową.

4. PROCEDURA

4.1. **Przygotowanie Próbki**

Rozcieńczyć wino wodą destylowaną w stosunku 1:100.

4.2. **Kalibracja**

Umieścić odpowiednio 5, 10, 15 i 20 ml rozcieńczonego roztworu mianowanego magnezu (2.2) w każdej z czterech kolb miarowych na 100 ml i uzupełnić do 100 ml wodą destylowaną. Przygotowane w ten sposób roztwory mianowane zawierają odpowiednio 0,25, 0,50, 0,75 i 1,0 mg magnezu na litr. Roztwory przechowywać w butelkach z polietylenu.

4.3. **Oznaczanie**

Ustawić długość fali na 285 nm. Ustawić zero na skali chłonności, używając wody destylowanej. Do palnika spektrofotometru wprowadzić bezpośrednio rozcieńczone wino, a następnie roztwory mianowane (4.2).

Odczytać chłonność. Powtórzyć każdy pomiar.

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

5.1. **Metoda Obliczania**

Sporządzić wykres przedstawiający zróżnicowanie jako funkcję zawartości magnezu w roztworach mianowanych. Zapisać średnią wartość chłonności uzyskaną dla próbki rozcieńczonego wina i odczytać zawartość magnezu C w miligramach na litr.

Zawartość magnezu w miligramach na litr wina, wyrażana w zaokrągleniu do liczby całkowitej, wynosi 100 *C*.

5.2. **Powtarzalność (*r*)**

r = 3 mg/l.

5.3. **Odtwarzalność (*R*)**

R = 8 mg/l.

29. **WAPŃ**

1. ZASADA METODY

Zawartość wapnia oznaczana jest bezpośrednio w odpowiednio rozcieńczonym winie, metodą spektrofotometrii absorpcji atomowej, po dodaniu czynnika zmniejszającego jonizację.

2. ODCZYNNIKI

2.1. **Roztwór mianowany zawierający 1 g wapnia w litrze**

Użyć mianowanego handlowego roztworu wapnia o stężeniu 1 g/l. Roztwór ten można sporządzić, rozpuszczając 2,5 g węglanu wapnia, $CaCO_3$, w kwasie solnym rozcieńczonym w stosunku 1:10 (v/v), w ilości pozwalającej na całkowite rozpuszczenie węglanu i uzupełniając wodą destylowaną do objętości jednego litra.

2.2. **Rozcieńczony roztwór mianowany zawierający 50 mg wapnia w litrze**

Uwaga: Roztwory mianowane wapnia przechowywać w butelkach z polietylenu.

2.3. **Roztwór chlorku lantanu zawierający 50 g lantanu w litrze**

Rozpuścić 13,369 g chlorku lantanu, $LaCl_3 \cdot 7H_2O$, w wodzie destylowanej; dodać 1 ml HCl rozcieńczonego w stosunku 1:10 (v/v) i uzupełnić do 100 ml.

3. APARATURA

3.1. Spektrofotometr absorpcji atomowej wyposażony w palnik powietrzno—acetylenowy.

3.2. Lampa wapniowa z katodą wnękową.

4. WYKONANIE OZNACZANIA

4.1. **Przygotowanie próbki**

Umieścić 1 ml wina, 2 ml roztworu chlorku lantanu (2.3) w kolbie miarowej na 20 ml, przenieść i uzupełnić wodą do kreski. Próbka wina rozcieńczonego w stosunku 1:20 zawiera 5 g lantanu w litrze.

Uwaga: Dla win słodkich stężenie 5 g lantanu w litrze jest wystarczające, o ile w wyniku rozcieńczania zawartość cukrów nie spadnie poniżej 2,5 g na litr. W przypadku win o większym stężeniu cukrów należy zwiększyć stężenie lantanu do 10 g na litr.

4.2. **Kalibracja**

Umieścić odpowiednio 0, 5, 10, 15 i 20 ml rozcieńczonego modelowego roztworu wapnia (2.2) w każdej z pięciu kolb miarowych na 100 ml, dodać 10 ml roztworu lantanu (2.3) i uzupełnić do 100 ml wodą destylowaną. Przygotowane w ten sposób roztwory zawierają odpowiednio 0, 2,5, 5,0, 7, 5 i 10 mg wapnia na litr, każdy roztwór zawiera 5 g lantanu na litr. Roztwory przechowywać w butelkach z polietylenu.

4.3. **Oznaczanie**

Ustawić długość fali na 422,7 nm. Ustawić zero na skali chłonności, używając roztworu zawierającego 5 g lantanu na litr (4.2). Do palnika spektrofotometru wprowadzić bezpośrednio rozcieńczone wino, a następnie kolejno pięć roztworów mianowanych (4.2). Odczytać chłonność. Powtórzyć wszystkie pomiary.

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

5.1. **Metoda obliczania**

Sporządzić wykres przedstawiający zróżnicowanie chłonności jako funkcję zawartości wapnia w roztworach mianowanych.

Zapisać średnią wartość chłonności uzyskaną na tym wykresie dla próbki rozcieńczonego wina i odczytać zawartość wapnia *C* w miligramach na litr. Zawartość wapnia w miligramach na litr wina, wyrażana w zaokrągleniu do liczby całkowitej, wynosi 20 *C*.

5.2. **Powtarzalność (*r*)**

Stężenie < 60 mg/l: $r = 2{,}7$ mg/l.

Stężenie > 60 mg/l: $r = 4$ mg/l.

5.3. **Odtwarzalność (*R*)**

$R = 0{,}114\, x_i - 0{,}5$

x_i = zawartość wapnia w próbce w mg/l.

30. **ŻELAZO**

1. ZASADA METOD

Metoda porównawcza

Po odpowiednim rozcieńczeniu wina i usunięciu alkoholu zawartość żelaza oznaczana jest bezpośrednio metodą spektrofotometrii absorpcji atomowej.

Metoda zwykła

Po rozpuszczeniu próbki w 30—procentowym roztworze nadtlenku wodoru żelazo ogółem, występujące obecnie w formie Fe(III), zostaje zredukowane do postaci Fe(II) i oznaczone przy użyciu reakcji barwnej z ortofenantroliną.

2. METODA PORÓWNAWCZA

2.1. **Odczynniki**

2.1.1. Stężony roztwór mianowany żelaza zawierający 1 g Fe(III) w litrze.
Użyć mianowanego handlowego roztworu żelaza (1 g/l). Roztwór ten można sporządzić, rozpuszczając 8,6341g siarczanu amonu żelaza ($FeNH_4(SO_4)_2 . 12 H_2O$) w wodzie destylowanej lekko zakwaszonej 1 M kwasu solnego i uzupełnić do jednego litra.

2.1.2. Rozcieńczony roztwór modelowy żelaza zawierający 100 mg żelaza w litrze.

2.2. **Aparatura**

2.2.1. Obrotowy aparat wyparny z łaźnią wodną kontrolowaną termostatycznie.

2.2.2. Spektrofotometr absorpcji atomowej wyposażony w palnik powietrzno—acetylenowy.

2.2.3. Lampa żelazowa z katodą wnękową.

2.3. **Procedura**

2.3.1. *Przygotowanie próbki*

Usunąć alkohol z wina, zmniejszając objętość próbki o połowę za pomocą obrotowego aparatu wyparnego (temperatura 50—60 °C). Uzupełnić do początkowej objętości wodą destylowaną.
Jeżeli potrzeba, próbkę należy rozcieńczyć przed oznaczaniem.

2.3.2. *Kalibracja*

Umieścić odpowiednio 1, 2, 3, 4 i 5 ml roztworu zawierającego 100 mg żelaza na litr (2.1.2) w każdej z pięciu kolb miarowych na 100 ml i uzupełnić do 100 ml wodą destylowaną. Przygotowane w ten sposób roztwory zawierają odpowiednio 1, 2, 3, 4 i 5 mg żelaza w litrze.

Roztwory przechowywać w butelkach z polietylenu.

2.3.3. *Oznaczanie*

Ustawić długość fali na 248,3 nm. Ustawić zero na skali chłonności w stosunku do wody destylowanej. Do palnika spektrofotometru wprowadzić bezpośrednio rozcieńczoną próbkę , a następnie

kolejno pięć roztworów mianowanych (2.3.2). Odczytać chłonność. Powtórzyć wszystkie pomiary.

2.4. **Przedstawianie wyników**

2.4.1. *Metoda obliczenia*

Sporządzić wykres przedstawiający zróżnicowanie chłonności jako funkcję zawartości żelaza w roztworach wzorcowych. Zapisać średnią wartość chłonności uzyskaną na wykresie dla próbki rozcieńczonego wina i oznaczyć zawartość żelaza C.

Stężenie żelaza w miligramach na litr wina, z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego, wynosi F. C, gdzie F jest współczynnikiem rozcieńczenia.

3. METODA ZWYKŁA

3.1. **Odczynniki**

3.1.1. Nadtlenek wodoru, H_2O_2, roztwór 30 % (m/v), niezawierający żelaza.

3.1.2. 1 M kwas solny, niezawierający żelaza.

3.1.3. Wodorotlenek amonu, (ρ_{20} = 0,92 g/ml).

3.1.4. Pokruszony pumeks, poddany obróbce za pomocą wrzącego kwasu solnego rozcieńczonego w stosunku 1:2, przemywany następnie wodą destylowaną.

3.1.5. 2,5 — procentowy roztwór hydrochinonu, $C_6H_6O_2$, zakwaszony za pomocą 1 ml stężonego kwasu siarkowego (ρ_{20} = 1,84 g/ml) na 100 ml roztworu. Roztwór ten należy przechowywać w butelce z żółtego szkła w lodówce i odrzucać w chwili stwierdzenia najmniejszych oznak ciemnienia.

3.1.6. 20—procentowy roztwór siarczynu sodowego, Na_2SO_3, otrzymany z obojętnego bezwodnego siarczynu sodowego.

3.1.7. Roztwór ortofenantroliny, $C_{12}H_8N_2$, 0,5 % w 96—procentowym obj. alkoholu.

3.1.8. Roztwór octanu amonu, CH_3COONH_4, 20 % (m/v).

3.1.9. Roztwór Fe(III) o stężeniu 1 g żelaza w litrze. Najkorzystniej jest użyć roztworu handlowego. Można również przygotować roztwór zawierający 1000 mg Fe(III) w litrze, rozpuszczając 8,6341 g siarczanu amonu żelaza ($FeNH_4(SO_4)_2$. $12H_2O$) w 100 ml 1 M kwasu solnego (3.1.2) i uzupełniając do 1 litra 1 M kwasem solnym (3.1.2).

3.1.10. Rozcieńczony roztwór mianowany żelaza zawierający 100 miligramów żelaza w litrze.

3.2. **Aparatura**

3.2.1. Kolba Kjeldahla, 100 ml.

3.2.2. Spektrofotometr, umożliwiający pomiar przy długości fali 508 nm.

3.3. **Procedura**

3.3.1. *Roztwarzanie*

3.3.1.1. Dla win o zawartości cukru poniżej 50g/l:

Do kolby Kjeldahla na 100 ml wprowadzić 25 ml wina, 10 ml roztworu nadtlenku wodoru (3.1.1) i trochę ziaren pumeksu (3.1.4). Zagęścić roztwór do objętości 2—3 ml.

Odstawić do ochłodzenia i dodawać, uważając, aby nie zwilżyć ścian kolby, wodorotlenek amonu (3.1.3) w ilości wystarczającej do zalkalizowania roztworu i wytrącenia wszystkich wodorotlenków.

Po schłodzeniu do zasadowego roztworu dodać 1 M kwas solny (3.1.2) w ilości umożliwiającej rozpuszczenie wytrąconych wodorotlenków i przenieść roztwór do kolby miarowej na 100 ml. Przemyć kolbę Kjeldahla 1 M kwasem solnym (3.1.2), a ciecz uzyskaną po przemywaniu przenosić do kolby miarowej, uzupełniając w ten sposób roztwór do 100 ml.

3.3.1.2. Dla moszczów i win o zawartości cukru powyżej 50 g/l:

3.3.1.2.1. Jeżeli zawartość cukru wynosi 50—200 mg/l, do próbki wina o objętości 25 ml należy dodać 20 ml roztworu nadtlenku wodoru (3.1.1).

Postępować jak w ppkt 3.3.1.1.

3.3.1.2.2. Jeżeli zawartość cukru wynosi powyżej 200 mg/l, próbki wina należy rozcieńczyć w stosunku 1:2 lub 1:4, a następnie postępować jak w ppkt 3.3.1.2.1.

3.3.2. *Próba ślepa*

Próbę ślepą przeprowadzić przy użyciu wody destylowanej, stosując taką samą objętość roztworu nadtlenku wodoru (3.1.1), jaką użyto do mineralizacji, i postępując wg metody opisanej w ppkt 3.3.1.1.

3.3.3. *Oznaczanie*

Do dwóch kolb miarowych o pojemności 50 ml wprowadzić 20 ml roztworu kwasu solnego, otrzymanego zgodnie z procedurą roztwarzania (3.3.1.1.) i 20 ml roztworu kwasu solnego z próby ślepej (3.3.2). Do obu kolb dodać 2 ml roztworu hydrochinonu (3.1.5), 2 ml roztworu siarczynu (3.1.6) i 1 ml roztworu ortofenantroliny (3.1.7). Odstawić na 15 minut, w tym czasie Fe(III) ulega redukcji do Fe(II). Dodać 10 ml roztworu octanu amonu (3.1.8), uzupełnić do 50 ml wodą destylowaną i wstrząsnąć obie kolby. Roztwór otrzymany z próby ślepej wykorzystać do ustawienia zera na skali chłonności przy 508 nm i zmierzyć chłonność badanego roztworu przy tej samej długości fali.

3.3.4. *Kalibracja*

Umieścić odpowiednio 0,5, 1, 1,5 i 2 ml roztworu żelaza 100 mg na litr (3.1.10) w każdej z czterech kolb miarowych na 50 ml i dodać 20 ml wody destylowanej. Przeprowadzić procedurę określoną w ppkt 3.3.3 w celu zmierzenia chłonności każdego z przygotowanych roztworów mianowanych, zawierających odpowiednio 50, 100, 150 i 200 mg żelaza na litr.

3.4. **Przedstawianie wyników**

3.4.1. *Metoda obliczania*

Sporządzić wykres przedstawiający zróżnicowanie chłonności jako funkcję stężenia żelaza w roztworach mianowanych. Zapisać chłonność uzyskaną dla badanego roztworu i wyliczyć odpowiadającą jej zawartość żelaza *C* w 20—mililitrowej próbce kwasu solnego, otrzymanej w procesie roztworzenia, tzn. w 5 ml badanej próbki wina.

Stężenie żelaza w miligramach na litr wina, z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego, wynosi 200 *C*.

Jeżeli wino (lub moszcz) zostało rozcieńczone, stężenie żelaza w miligramach na litr wina, podawane z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego, wynosi $200 \times F \times C$, gdzie *F* jest współczynnikiem rozcieńczenia.

31. **MIEDŹ**

1. ZASADA METODY

Metoda jest oparta na wykorzystaniu spektrofotometrii absorpcji atomowej.

2. APARATURA

2.1. Naczynie Platynowe.

2.2. Spektrofotometr absorpcji atomowej.

2.3. Lampa miedziowa z katodą wnękową.

2.4. Doprowadzenia gazu: powietrze – acetylen lub podtlenek azotu/acetylen.

3. ODCZYNNIKI

3.1. Miedź Metaliczna.

3.2. Kwas azotowy, HNO_3, o stężeniu 65 %, ρ_{20} = 1,38 g/ml.

3.3. Kwas azotowy rozcieńczony, 1:2 (v/v).

3.4. Roztwór zawierający miedź w stężeniu 1 g/l.

Użyć handlowego roztworu mianowanego miedzi. Roztwór ten można sporządzić, odważając 1,000 g metalicznej miedzi i przenosząc ją bez ubytków do kolby miarowej o pojemności 1000 ml. Dodać kwasu azotowego rozcieńczonego w stosunku 1:2 (v/v) (3.3) w ilości wystarczającej do rozpuszczenia metalu, dodać 10 ml stężonego kwasu azotowego (3.2) i uzupełnić do kreski wodą destylowaną.

3.5. Roztwór zawierający miedź w stężeniu 100 mg/l.

Do kolby miarowej na 100 ml przenieść 10 ml roztworu przygotowanego jak w ppkt 3.4 i uzupełnić do kreski wodą podwójnie destylowaną.

4. WYKONANIE OZNACZANIA

4.1. **Przygotowanie próbki i oznaczanie zawartości miedzi**

Jeżeli potrzeba, sporządzić odpowiednio rozcieńczony roztwór, używając wody podwójnie destylowanej.

4.2. **Kalibracja**

Do kolb miarowych na 100 ml przenieść pipetą odpowiednio 0,5, 1, i 2 ml roztworu 3.5 (100 mg miedzi w litrze) i uzupełnić do kreski wodą podwójnie destylowaną: przygotowane w ten sposób roztwory zawierają odpowiednio 0,5, 1 i 2 mg miedzi w litrze.

4.3. Pomiary chłonności wykonywać przy 324,8 nm. Ustawić zera na skali chłonności w stosunku do wody podwójnie destylowanej. Wykonać kolejno bezpośrednie pomiary chłonności roztworów mianowanych przygotowanych w ppkt 4.2. Przeprowadzić dwa równoległe oznaczenia.

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

5.1. **Metoda obliczania**

Sporządzić wykres przedstawiający zróżnicowanie chłonności jako funkcję stężenia miedzi w roztworach mianowanych.

Wykorzystując zmierzoną chłonność badanej próbki, odczytać z krzywej odwzorowania zawartość miedzi *C* w mg/l.

Jeżeli *F* jest współczynnikiem rozcieńczenia, stężenie miedzi, podawane w miligramach na litr z dokładnością do dwóch miejsc dziesiętnych, wynosi $F \times C$.

Uwagi:

a) Stężenia roztworów do wyznaczania krzywej odwzorowania i rozcieńczenie próbki należy właściwie dobrać do czułości używanego aparatu i zawartości miedzi obecnej w próbce.

b) Jeżeli w badanej próbce oczekiwane stężenie miedzi jest bardzo niskie, należy postępować następująco: Umieścić 100 ml próbki w naczyniu platynowym i odparować na łaźni wodnej o temperaturze 100 °C do uzyskania syropu. Dodać 2,5 ml stężonego kwasu azotowego kropla po kropli (3.2), całkowicie pokrywając cieczą dno naczynia. Ostrożnie spopielić pozostałość na elektrycznej płytce grzejnej lub w niskim płomieniu palnika; następnie umieścić naczynie w piecu muflowym o temperaturze 500 ± 25 °C i pozostawić na około 1 godzinę. Po schłodzeniu zwilżyć popiół 1 ml stężonego kwasu azotowego (3.2), rozkruszając próbkę szklaną bagietką; pozostawić mieszaninę do odparowania i spopielić jak uprzednio. Umieścić naczynie ponownie w piecu muflowym na 15 minut; powtórzyć obróbkę kwasem azotowym co najmniej trzykrotnie. Rozpuścić popiół, dodając do naczynia 1 ml stężonego kwasu azotowego (3.2) i 2 ml wody podwójnie destylowanej i przenieść do kolby na 10 ml. Przemyć naczynie trzykrotnie, za każdym razem używając 2 ml wody podwójnie destylowanej. Na koniec uzupełnić do kreski wodą podwójnie destylowaną.

32. **KADM**

1. ZASADA

Zawartość kadmu oznaczana jest bezpośrednio w winie metodą bezpłomieniowej spektrofotometrii absorpcji atomowej.

2. APARATURA

Całe szkło laboratoryjne należy przed użyciem umyć w stężonym kwasie azotowym podgrzanym do temperatury 70 — 80 °C i spłukać wodą podwójnie destylowaną.

2.1. Sektrofotometr absorpcji atomowej wyposażony w piec grafitowy, korekcję tła i multipotencjometr.

2.2. Lampa kadmowa z katodą wnękową.

2.3. Mikropipety na 5 µl ze specjalnymi końcówkami do pomiarów metodą absorpcji atomowej.

3. ODCZYNNIKI

Używana woda musi być podwójnie destylowana w aparacie ze szkła borokrzemianowego, można użyć wody o podobnej czystości. Wszystkie odczynniki muszą posiadać uznany stopień czystości analitycznej i, w szczególności, nie zawierać kadmu.

3.1. 85—procentowy kwas fosforowy (ρ_{20} = 1,71 g/ml).

3.2. Roztwór kwasu fosforowego, otrzymany przez rozcieńczenie 8 ml kwasu fosforowego wodą do 100 ml.

3.3. A 0,02 M roztwór soli disodowej kwasu etylenodwuaminoczterooctowego (EDTA).

3.4. Roztwór buforowy o pH 9: w kolbie miarowej na 100 ml rozpuścić 5,4 g chlorku amonowego w kilku mililitrach wody, dodać 35 ml roztworu wodorotlenku amonowego (ρ_{20} = 0,92 g/ml), rozcieńczonego do 25 % (v/v) i uzupełnić wodą do 100 ml.

3.5. Czerń eriochromowa T: 1–procentowy (m/m) suchy roztwór w chlorku sodu.

3.6. Siarczan kadmu ($CdSO_4 . 8H_2O$).

Miano roztworu siarczanu kadmu należy sprawdzić w następujący sposób:

Do cylindrycznego naczynia z pewną ilością wody odważyć dokładnie 102,6 mg siarczanu kadmu i wstrząsać do rozpuszczenia; dodać 5 ml roztworu buforowego o pH 9 i około 20 mg czerni erichromowej T. Miareczkować roztworem EDTA do zmiany barwy wskaźnika na niebieską.

Objętość dodanego roztworu EDTA musi być równa 20 ml. Jeżeli zużyta objętość niewiele odbiega od 20 ml, należy odpowiednio skorygować ilość siarczanu kadmu odważanego do przygotowania roztworu wzorcowego.

3.7. Roztwór wzorcowy kadmu o stężeniu 1 g/l.

Użyć handlowego roztworu wzorcowego kadmu. Roztwór ten można sporządzić, rozpuszczając 2,2820 g siarczanu kadmu w wodzie i uzupełniając do 1 litra. Roztwór przechowywać w butelce ze szkła borokrzemianowego z doszlifowanym korkiem.

4. PROCEDURA

4.1. **PRZYGOTOWANIE PRÓBKI**

Rozcieńczyć wino w stosunku 1:2 (v/v) roztworem kwasu fosforowego.

4.2. **Przygotowanie skali kalibracji roztworów**

Wykorzystując roztwór wzorcowy kadmu, przygotować serię roztworów o mianach odpowiednio 2,5, 5, 10 i 15 µg kadmu w litrze.

4.3. **Oznaczanie**

4.3.1. *Programowanie temperatury pieca (wyłącznie jako wskazówka)*:

Suszenie w temperaturze 100 °C przez 30 sekund

Mineralizacja w temperaturze 900 °C przez 20 sekund

Atomizacja w temperaturze 2250 °C przez 2–3 sekundy

Przepływ azotu (gaz płuczący): 6 litrów/minutę

Uwaga: Na koniec procedury podnieść temperaturę do 2700 °C w celu oczyszczenia pieca.

4.3.2. *Pomiary metodą absorpcji atomowej*:

Długość fali ustawić na 228,8 nm. Ustawić zero na skali chłonności w stosunku do wody podwójnie destylowanej. Za pomocą mikropipety wprowadzić do pieca trzy porcje po 5 µl każdego z roztworów w skali kalibracji i roztworu badanej próbki. Zapisać zmierzone chłonności. Obliczyć średnią wartość chłonności na podstawie pomiarów trzech wprowadzonych porcji.

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

5.1. **Metoda obliczania**

Sporządzić wykres przedstawiający krzywą zróżnicowania chłonności jako funkcję stężenia kadmu w roztworach w skali kalibracji. Zróżnicowanie ma charakter liniowy. Znaleźć na krzywej odwzorowania średnią wartość chłonności roztworu badanej próbki i odczytać odpowiadającą jej zawartość kadmu C. Zawartość kadmu w mikrogramach na litr wina wynosi:

2 C.

33. **SREBRO**

1. ZASADA METODY

Metoda oparta jest na zastosowaniu spektrofotometrii absorpcji atomowej po spopieleniu próbki.

2. APARATURA

2.1. Naczynie Platynowe.

2.2. Łaźnia wodna, kontrolowana termostatycznie do 100 °C.

2.3. Piec o kontrolowanej temperaturze 500—525 °C.

2.4. Spektrofotometr absorpcji atomowej.

2.5. Lampa srebrowa z katodą wnękową.

2.6. Gazy zasilające: powietrze, acetylen.

3. ODCZYNNIKI

3.1. Azotan Srebra, $AgNO_3$.

3.2. Kwas azotowy, HNO_3, o stężeniu 65 %, ρ_{20} = 1,38 g/ml.

3.3. Kwas azotowy rozcieńczony w stosunku 1:10 (v/v).

3.4. Roztwór zawierający 1 g srebra w litrze.

Użyć handlowego roztworu mianowanego srebra.

Roztwór ten można sporządzić, rozpuszczając 1,575 g azotanu srebra w rozcieńczonym kwasie azotowym i uzupełniając do 1000 mililitrów rozcieńczonym kwasem azotowym (3.3).

3.5. Roztwór zawierający 10 mg srebra w litrze.
10 ml roztworu przygotowanego jak w ppkt 3.4 rozcieńczyć do 1000 ml rozcieńczonym roztworem kwasu azotowego.

4. PROCEDURA

4.1. **Przygotowanie próbki**

Umieścić 20 ml próbki w naczyniu platynowym i odparować do sucha na łaźni wodnej. Spopielić próbkę w piecu w temperaturze 500—525 °C. Zwilżyć biały popiół 1 ml stężonego kwasu azotowego (3.2). Odparować na wrzącej łaźni wodnej, powtórnie dodać 1 ml kwasu azotowego (3.2) i odparować po raz drugi. Dodać 5 ml rozcieńczonego kwasu azotowego (3.3) i lekko ogrzewać do rozpuszczenia.

4.2. **Kalibracja**

Do sześciu kolb miarowych na 100 ml odmierzyć pipetą odpowiednio 2, 4, 6, 8, 10 oraz 20 ml roztworu 3.5 (10 mg srebra w litrze) i uzupełnić do kreski rozcieńczonym kwasem azotowym (3.3): przygotowane w ten sposób roztwory zawierają odpowiednio 0,20, 0,40, 0,60, 0,80, 1,0 i 2,0 mg srebra w litrze.

4.3. Długość fali ustawić na 328,1 nm. Ustawić zero w stosunku do wody podwójnie destylowanej. Wykonać kolejno bezpośrednie pomiary chłonności roztworów mianowanych przygotowanych w ppkt 4.2. Przeprowadzić dwa równoległe oznaczenia.

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

5.1. **Metoda obliczania**

Sporządzić wykres przedstawiający zróżnicowanie chłonności jako funkcję zawartości srebra w roztworach mianowanych.

Używając zmierzonej chłonności próbki, odczytać z krzywej odwzorowania odpowiadające jej stężenie C w mg/l.

Stężenie srebra w winie w miligramach na litr wynosi 0,25 C. Wartość ta jest podawana z dokładnością do dwóch miejsc dziesiętnych.

Uwaga: Stężenia roztworów służących do przygotowania krzywej odwzorowania, objętość próbki pobranej do analizy oraz końcowa objętość cieczy powinny być dobrane do czułości używanego aparatu.

34. **CYNK**

1. ZASADA METODY

Metoda oparta jest na zastosowaniu spektrofotometrii absorpcji atomowej po spopieleniu próbki.

2. ODCZYNNIKI

Woda używana w aparacie ze szkła borokrzemianowego musi być Podwójnie destylowana, można użyć wody o podobnej czystości.

2.1. Roztwór mianowany cynku zawierający 1 g cynku w litrze:

użyć handlowego roztworu mianowanego cynku. Roztwór ten można przygotować, rozpuszczając 4,3975 g siarczanu cynku ($ZnSO_4 . 7H_2O$) w wodzie i uzupełniając objętość do jednego litra.

2.2. Rozcieńczony roztwór mianowany zawierający 100 mg cynku w litrze.

3. APARATURA

3.1. Obrotowy aparat wyparny z termostatycznie kontrolowaną łaźnią wodną.

3.2. Spektrofotometr absorpcji atomowej z palnikiem powietrzno—acetylenowym.

3.3. Lampa cynkowa z katodą wnękową.

4. PROCEDURA

4.1. **Przygotowanie Próbki**

Usunąć alkohol ze 100 ml wina, zmniejszając objętość próbki do połowy, używając obrotowego aparatu wyparnego (temperatura 50—60 °C). Uzupełnić do pierwotnej objętości 100 ml za pomocą wody podwójnie destylowanej.

4.2. **Kalibracja**

Umieścić odpowiednio 0,5, 1, 1,5 i 2 ml roztworu zawierającego 100 mg cynku w litrze (2.2) w czterech kolbach miarowych na 100 ml i uzupełnić do kreski wodą podwójnie destylowaną. Przygotowane w ten sposób roztwory zawierają odpowiednio 0,5, 1, 1,5 i 2 mg cynku w litrze.

4.3. **Oznaczanie**

Długość fali ustawić na 213,9 nm. Ustawić zero na skali chłonności w stosunku do wody podwójnie destylowanej. Do palnika spektrofotometru wprowadzić bezpośrednio wino, a następnie kolejno cztery roztwory mianowane. Odczytać chłonność. Powtórzyć każdy pomiar.

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

5.1. **Metoda Obliczania**

Sporządzić wykres przedstawiający zróżnicowanie chłonności jako funkcję zawartości cynku w roztworach mianowanych. Zapisać średnią wartość chłonności uzyskaną z próbki rozcieńczonego wina, odczytaną z wykresu i oznaczyć stężenie cynku z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

35. **OŁÓW**

1. ZASADA

Zawartość ołowiu oznaczana jest bezpośrednio w winie metodą bezpłomieniowej spektrofotometrii absorpcji atomowej.

2. APARATURA

Całe szkło laboratoryjne należy przed użyciem umyć w stężonym kwasie azotowym podgrzanym do temperatury 70—80 °C i spłukać wodą podwójnie destylowaną.

2.1. Spektrofotometr absorpcji atomowej wyposażony w piec grafitowy, niespecyficzną korektę chłonności i multipotencjometr.

2.2. Lampa ołowiowa z katodą wnękową.

2.3. Mikropipety na 5 µl ze specjalnymi końcówkami dla pomiarów metodą absorpcji atomowej.

3. ODCZYNNIKI

Wszystkie odczynniki powinny charakteryzować się uznaną czystością analityczną, w szczególności nie zawierać ołowiu. Woda do oznaczeń powinna być podwójnie destylowana w aparacie ze szkła borokrzemianowego, można użyć wody o podobnej czystości.

3.1. 85—procentowy kwas fosforowy (ρ_{20} = 1,71 g/ml).

3.2. Roztwór kwasu fosforowego otrzymany przez rozcieńczenie 8 ml kwasu fosforowego wodą do 100 ml.

3.3. Kwas azotowy (ρ_{20} = 1,38 g/ml).

3.4. Roztwór ołowiu o stężeniu 1 g w litrze.

Użyć handlowego roztworu mianowanego ołowiu. Roztwór ten można sporządzić, rozpuszczając 1,600 g azotanu ołowiu (II), $Pb(NO_3)_2$ w kwasie azotowym rozcieńczonym do 1 % (v/v) i uzupełniając do 1 litra. Roztwór przechowywać w butelce ze szkła borokrzemianowego z doszlifowanym korkiem.

4. PROCEDURA

4.1. **Przygotowanie Próbki**

Rozcieńczyć wino w stosunku 1:2 lub 1:3 roztworem kwasu fosforowego, zależnie od oczekiwanej zawartości ołowiu.

4.2. **Przygotowanie roztworów do kalibracji**

Używając roztworu wzorcowego ołowiu, przygotować serię roztworów o stężeniach odpowiednio 2,5, 5, 10 i 15 µg ołowiu w litrze, poprzez rozcieńczanie wodą podwójnie destylowaną.

4.3. **Oznaczanie**

4.3.1. *Programowanie pieca (wyłącznie jako wskazówka):*

Suszenie w temperaturze 100 °C przez 30 sekund

Mineralizacja w temperaturze 900 °C przez 20 sekund

Atomizacja w temperaturze 2250 °C przez 2—3 sekundy

Przepływ azotu (gaz płuczący): 6 litrów/minutę.

Uwaga: Po zakończeniu procedury podnieść temperaturę do 2700 °C w celu oczyszczenia pieca.

4.3.2. *Pomiary*

Długość fali ustawić na 217 nm. Ustawić zero na skali chłonności w stosunku do wody podwójnie destylowanej. Mikropipetą wprowadzić do pieca o zaprogramowanej temperaturze trzy porcje po 5 µl każdego z roztworów do kalibracji i roztworu badanej próbki. Odczytać wartości chłonności. Obliczyć średnią wartość chłonności na podstawie wyników pomiaru trzech porcji.

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

5.1. **Metoda Obliczania**

Sporządzić krzywą zróżnicowania chłonności jako funkcję stężenia ołowiu w skali kalibracji. Zróżnicowanie ma charakter liniowy. Na podstawie średniej wartości chłonności roztworu badanej próbki odczytać z krzywej odwzorowania odpowiadającą jej zawartość ołowiu C. Zawartość ołowiu w winie w miligramach na litr jest równa:

$C \times F$

gdzie F = współczynnik rozcieńczenia.

36. **FLUORKI**

1. ZASADA

Zawartość fluorków w winie, wprowadzonym do roztworu buforowego, jest oznaczana za pomocą elektrody selektywnej z membraną stałą. Zmierzony potencjał jest proporcjonalny do logarytmu aktywności jonów fluorkowych w badanym środowisku, zgodnie z równaniem:

$$E = E_o \pm S \log a_F \qquad 1)$$

gdzie

E = potencjał elektrody jonoselektywnej mierzony w stosunku do elektrody odniesienia w badanym środowisku;

E_o = standardowy potencjał czujnika;

S = nachylenie elektrody jonoselektywnej (współczynnik Nernsta). W temperaturze 25 °C teoretyczne nachylenie wynosi 59,2 mV;

a_F = aktywność jonów fluorkowych w badanym roztworze.

2. APARATURA

2.1. Elektroda z membraną krystaliczną selektywna w stosunku do jonów fluorkowych.

2.2. Elektroda odniesienia (kalomelowa lub Ag/AgCl).

2.3. Miliwoltomierz (pehametr z rozszerzoną skalą miliwoltową), o dokładności odczytu 0,1 mV.

2.4. Mieszadło magnetyczne z płytką izolacyjną, chroniącą badany roztwór przed ciepłem wytwarzanym przez silnik. Naczynie do mieszania roztworu zamykane pokrywką z tworzywa sztucznego (z polietylenu lub podobnego materiału).

2.5. Zlewki z tworzywa sztucznego o pojemności od 30 do 50 ml i butelki z tworzywa sztucznego (z polietylenu lub podobnego materiału).

2.6. Dokładne pipety (pipety skalowane w mikrolitrach lub inne podobne pipety).

3. ODCZYNNIKI

3.1. Roztwór podstawowy fluorku o stężeniu 1 g/l.

Użyć handlowego roztworu mianowanego o stężeniu 1 g/l. Roztwór ten można sporządzić, rozpuszczając 2,210 g fluorku sodu (suszonego od 3 do 4 godzin w temperaturze 105 °C) w wodzie destylowanej. Uzupełnić do 1 litra wodą destylowaną. Roztwór przechowywać w butelce z tworzywa sztucznego.

3.2. Roztwory mianowane fluorku o odpowiednim stężeniu przygotować poprzez rozcieńczanie roztworu podstawowego wodą destylowaną i przechowywać w butelce z tworzywa sztucznego. Roztwory o zawartości fluorku na poziomie mg/l powinny być przygotowywane na bieżąco.

3.3. Roztwór buforowy o pH 5,5:

10 g kwasu trans–1, 2–diaminocykloheksanotetraoctowego (CDTA) dodać do wody (około 50 ml); dodać roztwór zawierający 58 g chlorku sodu i 29,4 g cytrynianu trisodu w 700 ml wody destylowanej. CDTA rozpuszcza się po dodaniu około 6 ml 32–procentowego (m/v) roztworu wodorotlenku sodu.

Na koniec dodać 57 ml kwasu octowego (ρ_{20} = 1,05 g/ml) i sprowadzić pH do 5,5 za pomocą 32–procentowego roztworu wodorotlenku sodu (około 45 ml). Pozostawić do ostygnięcia i uzupełnić do jednego litra wodą destylowaną.

4. PROCEDURA

Uwaga wstępna:

Należy zwrócić uwagę, aby wszystkie roztwory w trakcie oznaczania wykazywały temperaturę 25 °C (± 1 °C). (Odchylenie o więcej niż 1 °C powoduje zmianę mierzonego potencjału o około 0,2 mV.)

4.1. **Metoda bezpośrednia**

Do zlewki z tworzywa sztucznego przenieść odmierzoną ilość wina i taką samą objętość roztworu buforowego.

Roztwór mieszać w sposób równomierny i łagodny. Gdy wskazówka ustabilizuje się (stabilność jest osiągana, gdy wahania potencjału nie przekraczają 0,2–0,3 mV w ciągu trzech minut), odczytać wartość potencjału w mV.

4.2. **Metoda dodawania znanych ilości**

Do roztworu badanej próbki dodać za pomocą mikropipety, przy ciągłym mieszaniu, znaną objętość roztworu mianowanego fluorku. Gdy wskazówka ustabilizuje się, odczytać wartość potencjału w mV.

Stężenie dodawanego roztworu mianowanego ustalić w następujący sposób:

a) należy dwukrotnie lub trzykrotnie zwiększyć stężenie fluorku w roztworze badanej próbki;

b) objętość roztworu badanej próbki powinna pozostać praktycznie niezmieniona (dopuszczalny przyrost objętości co najwyżej 1 %).

(Spełnienie warunku lit. b) upraszcza obliczanie wyniku, patrz pkt 5).

Przybliżone stężenie roztworu badanej próbki odczytać z krzywej odwzorowania wykreślonej na skali półlogarytmicznej za pomocą roztworów mianowanych fluorku o stężeniu 0,1, 0, 2, 0,5, 1,0 i 2,0 mg/l.

Uwaga: Jeżeli przybliżone stężenie roztworu badanej próbki znajduje się poza zakresem stężeń roztworów mianowanych, próbkę należy rozcieńczyć.

Przykład:

Jeżeli przybliżone stężenie fluorków w roztworze badanej próbki (o objętości 20 ml) wynosi 0,25 mg/l F^-, stężenie musi zostać zwiększone o 0,25 mg/l. W tym celu należy dodać, właściwą pipetą, np. 0,20 ml (= 1 %) roztworu mianowanego zawierającego 25 mg/l F^- lub 0,05 ml roztworu mianowanego o stężeniu 100 mg/l F^-.

5. OBLICZENIA

Zawartość fluorku w roztworze badanej próbki w mg/l obliczyć, stosując następujący wzór:

$$C_F = \frac{V_a \times C_a}{V_o} \times \frac{1}{(\text{antilog } \Delta E/S) - 1}$$

C_F = zawartość fluorków w roztworze badanej próbki (mg/l);

C_a = zawartość fluorków w roztworze dodanym (mg/l) do roztworu badanej próbki (V_a);

V_O = początkowa objętość roztworu badanej próbki przed dodaniem roztworu fluorku (ml);

V_a = objętość roztworu badanej próbki po dodaniu roztworu fluorku (ml);

ΔE = różnica potencjałów E_1 i E_2 otrzymana w ppkt 4.1 i 4.2 (mV);

S = nachylenie elektrody w badanym roztworze.

Jeżeli V_a jest bardzo zbliżone do V_O (patrz ppkt 4.2), należy zastosować następujący uproszczony wzór :

$$C_F = C_a \times \frac{1}{(\text{antilog } \Delta E/S) - 1}$$

Uzyskaną wartość należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia, wynikający z dodania do próbki roztworu buforowego.

37. **DITLENEK WĘGLA**

1. ZASADA METODY

1.1. **Metoda Porównawcza**

1.1.1. *Wina niemusujące* (nadciśnienie $CO_2 \leq 0{,}5 \times 10^5$ Pa) (1)

Objętość wina pobranego z próbki jest schładzana do temperatury około 0 °C i mieszana z wodorotlenkiem sodu w ilości wystarczającej do sprowadzenia pH do wartości 10-11. Miareczkowanie wykonuje się za pomocą roztworu kwasu w obecności anhydrazy węglanowej. Zawartość ditlenku węgla oblicza się na podstawie objętości kwasu potrzebnego do zmiany pH z 8,6 (postać wodorowęglanowa,) na 4,0 (kwas węglowy). Przeprowadza się próbę ślepą, miareczkując w tych samych warunkach wino pozbawione ditlenku węgla, w celu uwzględnienia ilości wodorotlenku sodu związanego przez kwasy obecne w winie.

1.1.2. *Wina musujące i półmusujące*

Próbka wina do analizy jest schładzana do temperatury bliskiej temperaturze krzepnięcia. Po pobraniu pewnej ilości wina do wykonania próby ślepej po usunięciu ditlenku węgla wino pozostałe w butelce alkalizuje się w celu związania całego ditlenku węgla w formie Na_2CO_3. Miareczkowanie wykonuje się za pomocą roztworu kwasu w obecności anhydrazy węglowej. Zawartość ditlenku węgla oblicza się na podstawie objętości kwasu potrzebnej do zmiany pH z 8,6 (postać wodorowęglanowa) na 4,0 (kwas węglowy). Przeprowadza się próbę ślepą, miareczkując w tych samych warunkach wino pozbawione ditlenku węgla, w celu uwzględnienia ilości wodorotlenku sodu związanego przez kwasy obecne w winie.

1.2. **Metoda zwykła:** wina musujące i półmusujące

Metoda manometryczna: bezpośredni pomiar nadciśnienia wywoływanego ditlenkiem węgla w butelce za pomocą afrometru.

2. METODA PORÓWNAWCZA

2.1. **Wina Niemusujące** (nadciśnienie wywoływane przez $CO_2 \leq 0{,}5 \times 10^5$ Pa)

2.1.1. *Aparatura*

2.1.1.1. Mieszadło magnetyczne.

2.1.1.2. Pehametr.

2.1.2. *Odczynniki*

2.1.2.1. Roztwór wodorotlenku sodu, NaOH, 0,1 M.

2.1.2.2. Roztwór kwasu siarkowego (VI), H_2SO_4, 0,05 M.

2.1.2.3. Roztwór anhydrazy węglanowej 1g/l.

2.1.3. *Procedura*

Schłodzić wino do temperatury około 0 °C, razem z pipetą na 10 ml, używaną do pobierania próbek.

Umieścić 25 ml roztworu wodorotlenku sodu (2.1.2.1) w zlewce o objętości 100 ml; dodać dwie krople wodnego roztworu anhydrazy węglowej (2.1.2.3). Pipetą schłodzoną do temperatury 0 °C wprowadzić 10 ml wina.

(1) 10^5 paskala (Pa) = 1 bar.

Zlewkę umieścić na mieszadle magnetycznym, włożyć elektrodę pehametru i mieszać z umiarkowaną prędkością.

Gdy roztwór osiągnie temperaturę pokojową, miareczkować powoli roztworem kwasu siarkowego (2.1.2.2) do uzyskania wartości pH 8,6. Zapisać ilość użytego kwasu.

Kontynuować miareczkowanie kwasem siarkowym (pkt 2.1.2.2) do uzyskania wartości pH 4,0, Niech *n* oznacza ilość ml kwasu zużytego na zmianę pH z 8,6 do 4,0.

Z próbki wina o objętości około 50 ml usunąć CO_2 poprzez wstrząsanie w warunkach próżniowych przez 3 minuty, ogrzewając kolbę na łaźni wodnej do temperatury 25 °C.

Powyższe postępowanie powtórzyć, używając 10 ml wina pozbawionego ditlenku węgla. Niech *n′* oznacza ilość ml kwasu zużytego w próbie ślepej.

2.1.4. *Przedstawianie wyników*

1 ml odmiareczkowanego 0,1 M roztworu wodorotlenku sodu odpowiada 4,4 mg CO_2.

Ilość CO_2 w gramach na litr wina wynosi:

$0{,}44\ (n - n')$

Wartość tę podawać z dokładnością do dwóch miejsc dziesiętnych.

Uwaga: W przypadku gdy wino zawiera niewiele CO_2 (CO_2 < 1 g/l), nie jest konieczne dodawanie anhydrazy węglowej w celu katalizowania reakcji hydratacji CO_2.

2.2. **Wina musujące i półmusujące**

2.2.1. *Aparatura*

2.2.1.1. Mieszadło magnetyczne.

2.2.1.2. Pehametr.

2.2.2. *Odczynniki*

2.2.2.1. Roztwór wodorotlenku sodu, NaOH, 50 % (m/m).

2.2.2.2. Roztwór kwasu siarkowego, H_2SO_4, 0,05 M.

2.2.2.3. Roztwór anhydrazy węglanowej, 1g/l.

2.2.3. *Procedura*

Zaznaczyć poziom wina w butelce, następnie schłodzić do rozpoczęcia zamarzania wina. Ogrzać lekko butelkę, stale wstrząsając, do zniknięcia kryształów lodu. Szybko wyjąć korek i odmierzyć 45—50 ml wina do cylindra miarowego w celu wykonania próby ślepej. Dokładną ilość odmierzonego wina, *v* ml, odczytać w cylindrze miarowym po sprowadzeniu próbki do temperatury pokojowej.

Niezwłocznie po pobraniu wina do próby ślepej do butelki o pojemności 750 ml dodać 20 ml roztworu wodorotlenku sodu (2.2.2.1).

Odczekać, aż wino osiągnie temperaturę pokojową.

Umieścić 30 ml przegotowanej wody destylowanej i dodać dwie krople roztworu anhydrazy węglowej (2.2.2.3) w zlewce o pojemności 100 ml. Dodać 10 ml zalkalizownego wina. Umieścić zlewkę na mieszadle magnetycznym, włożyć elektrodę i mieszadełko i mieszać z umiarkowaną prędkością.

Miareczkować powoli roztworem kwasu siarkowego (2.2.2.2) do osiągnięcia pH 8,6. Zapisać ilość zużytego roztworu kwasu.

Miareczkować dalej powoli kwasem siarkowym (2.2.2.2) do uzyskania wartości pH 4,0. Niech *n* oznacza ilość ml kwasu zużytego na zmianę pH z 8,6 do 4,0.

Z próbki wina o objętości *v* ml, pozostawionego do wykonania próby ślepej, usunąć CO_2 poprzez wstrząsanie w warunkach próżniowych przez 3 minuty, ogrzewając kolbę na łaźni wodnej do temperatury 25 °C. Pobrać 10 ml wina pozbawionego ditlenku węgla i dodać 30 ml przegotowanej wody destylowanej, dodać dwie do trzech kropli roztworu wodorotlenku sodu (2.2.2.1), aby sprowadzić pH do wartości 10 — 11. Dalej postępować jak wyżej. Niech *n* oznacza ilość ml zużytego 0,5 M roztworu kwasu siarkowego.

2.2.4. *Przedstawianie wyników*

1 ml 0,05 M kwasu siarkowego odpowiada 4,4 mg CO_2.

Opróżnić butelkę wina, które zostało zalkalizowane, i oznaczyć początkową objętość wina z dokładnością do 1 ml poprzez napełnienie butelki wodą do zaznaczonej wysokości, niech *V* oznacza zmierzoną objętość w ml.

Ilość CO_2 w gramach na litr wina wyliczyć według następującego wzoru:

$$0{,}44\left(n-n'\right)\times\frac{\left(V-v+20\right)}{V-v}$$

Wynik podawać z dokładnością do dwóch miejsc dziesiętnych.

2.3. **Przedstawianie wyników**

Nadciśnienie w temperaturze 20 °C ($Paph_{20}$), wyrażane w paskalach, oblicza się według wzoru:

$$Paph_{20} = \frac{Q}{1{,}951\times10^{-5}\left(0{,}86-0{,}01A\right)\left(1-0{,}00144S\right)} - Patm$$

gdzie:

Q: zawartość CO_2 w g/l wina,

A: zawartość alkoholu w winie w temperaturze 20 °C,

S: zawartość cukru w winie w g/l,

P atm: ciśnienie atmosferyczne, wyrażone w paskalach.

3. METODA ZWYKŁA: WINA MUSUJĄCE I PÓŁMUSUJĄCE

3.1. **Aparatura**

3.1.1. *Afrometr*

Aparat umożliwiający wzrost ciśnienia w butelce z musującym lub półmusującym winem nazywany jest afrometrem. Jego konstrukcja różni się w zależności od rodzaju zamknięcia butelki (zamknięcie metalowe, kapsel, korek z korka lub z tworzywa sztucznego, patrz rysunki 1 i 2).

Aparaty są skalowane w paskalach (Pa) ([1]), choć praktyczniejsze jest używanie jako jednostki 10^5 Pa lub kilopaskali (kPa).

([1]) 1 Pa = 1 N/m ^{2}= 10^{-5} bara.

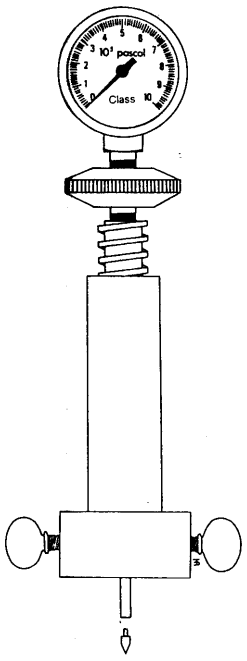
Aparaty dzielą się na różne klasy. Klasa manometru jest to stosunek dokładności odczytu do zakresu skali wyrażony w procentach (np. manometr 1 000 kPa klasy I oznacza, że maksymalne ciśnienie 1 000 kPa można odczytać z dokładnością ± 10 kPa). Do dokładnych pomiarów zaleca się stosować manometry klasy I.

Afrometr należy sprawdzać regularnie (co najmniej raz w roku).

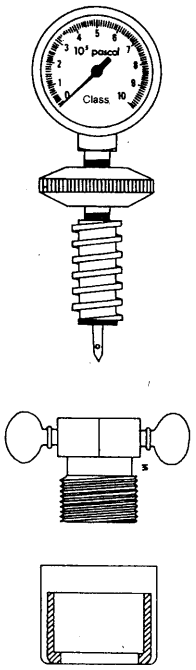
3.2. **Procedura**

Pomiary należy przeprowadzać w butelkach, których temperatura była stabilizowana co najmniej przez 24 godziny.

Po przebiciu kapsla, zamknięcia z korka lub z tworzywa sztucznego wstrząsać intensywnie butelką do uzyskania stałego ciśnienia i dokonać odczytu.



Rysunek 1.
Afrometr do kapsli



Rysunek 2.
Afrometr do zamknięć z korka i z tworzywa sztucznego

3.3. **Przedstawianie wyników**

Nadciśnienie w temperaturze 20 °C ($Paph_{20}$) wyrazić w paskalach (Pa) lub w kilopaskalach (kPa).

Wartość nadciśnienia należy podawać zgodnie z dokładnością manometru (np. $6,3 \times 10^5$ Pa lub 630 kPa, a nie $6,33 \times 10^5$ Pa lub 633 kPa dla manometru I klasy o zakresie skali 1 000 kPa).

Jeżeli temperatura pomiaru odbiega od 20 °C, należy dokonać korekcji, mnożąc zmierzoną wartość ciśnienia przez współczynnik

$$\frac{Paph_{20}}{Paph_t}$$

podany w tabeli I. W ten sposób sprowadza się wynik do temperatury 20 °C.

4. ZALEŻNOŚĆ MIĘDZY CIŚNIENIEM A ILOŚCIĄ DITLENKU WĘGLA W WINACH PÓŁMUSUJĄCYCH [1]

Na podstawie nadciśnienia w temperaturze 20 °C ($Paph_{20}$) obliczyć ciśnienie bezwzględne w temperaturze 20 °C ($Pabs_{20}$) z wzoru:

$Pabs_{20} = Patm + Paph_{20}$

[1] Nie uwzględnia się innych gazów obecnych w winie (O_2, N_2 itp.) w ilościach zbyt małych, aby miały wpływ na wartość nadciśnienia).

gdzie Patm oznacza ciśnienie atmosferyczne wyrażone w barach.

Zawartość ditlenku węgla w winie oblicza się następująco:

— w litrach CO_2 na litr wina:

$0{,}987 \times 10^{-5}\ Pabs_{20}\ (0{,}86\text{-}0{,}01\ A)(1 - 0{,}00144\ S)$,

— w gramach CO_2 na litr wina:

$1{,}951 \times 10^{-5}\ Pabs_{20}\ (0{,}86 - 0{,}01\ A)(1 - 0{,}00144\ S)$,

gdzie *A* oznacza zawartość alkoholu w winie w temperaturze 20 °C,

S oznacza zawartość cukrów w winie w gramach na litr.

Tabela I

Stosunek nadciśnienia $Paph_{20}$ w winach musujących i półmusujących w temperaturze 20 °C do nadciśnienia $Paph_t$ w temperaturze t

0	1,85	13	1,24
1	1,80	14	1,20
2	1,74	15	1,16
3	1,68	16	1,13
4	1,64	17	1,09
5	1,59	18	1,06
6	1,54	19	1,03
7	1,50	20	1,00
8	1,45	21	0,97
9	1,40	22	0,95
10	1,36	23	0,93
11	1,32	24	0,91
12	1,28	25	0,88

38. **POCHODNE CYJANKOWE**

1. ZASADA METOD

1.1. **Szybka Metoda Testowa**

Test dla win, do których dodano heksacyjanożelazian (II) potasu.

Test na brak heksacyjanożelazianu (II) żelaza (III) w zawiesinie osadu.

Test na brak powstawania heksacyjanożelazianu (II) żelaza (III) po dodaniu soli żelaza (III) do zakwaszonego wina.

Test na obecność żelaza strąconego przez dodanie do zakwaszonego wina mieszaniny alkalicznego heksacyjanożelazianu (II) i heksacyjanożelazianu (III).

1.2. **Metoda zwykła**

Oznaczanie argentometryczne kwasu cyjanowodorowego ogółem uwolnionego w wyniku hydrolizy kwasowej i wydzielonego metodą destylacji.

2. SZYBKA METODA TESTOWA

Wykrywanie win, do których dodano heksacyjanożelazian (II) potasu.

2.1. **Aparatura**

Należy dysponować jednym z poniższych przyrządów:

2.1.1. Wirówka wytwarzająca siłę odśrodkową 1200—1500 g.

2.1.2. Aparat do filtracji z filtrami membranowymi (średnica porów 0,45 µm).

2.2. **Odczynniki**

2.2.1. Kwas solny, rozcieńczony w stosunku 1:2 (v/v), otrzymany przez rozcieńczenie kwasu solnego niezawierającego żelaza, HCl (ρ_{20} = 1,18 – 1,19 g/ml).

2.2.2. Siarczan amonu żelaza (III), ($Fe_2(SO_4)_3$, $(NH_3)_2SO_4$, $24H_2O$), roztwór 15 % (m/v).

2.2.3. Heksacyjanożelazian (II) potasu ($K_4[Fe(CN)_6]$, $3H_2O$), roztwór 10 % (m/v).

2.2.4. Heksacyjanożelazian (III) potasu ($K_3[Fe(CN)_6]$), roztwór 10 % (m/v). Przygotować bezpośrednio przed użyciem.

2.3. **Procedura**

2.3.1. *Test na obecność śladów heksacyjanożelazianu (II) żelaza (III) w zawiesinie*

Po wstrząśnięciu pobrać 20 ml wina i przenieść do probówki do wirowania z dnem stożkowym na 30 ml. Dodać 1 ml rozcieńczonego kwasu solnego (2.2.1). Wirować przez 15 minut lub przefiltrować przez filtr membranowy o średnicy porów 0,45 µm. Osad otrzymany w wyniku wirowania lub filtracji nie powinien zawierać niebieskich cząstek.

2.3.2. *Test na obecność śladów jonów heksacyjanożelazianowych (II) w roztworze*

Do cieczy sklarowanej nad osadem lub do przesączu otrzymanego w teście 2.3.1 dodać jedną kroplę roztworu siarczanu amonu żelaza (III) (2.2.2). Zamieszać i odstawić na conajmniej 24 godziny. Wirować

przez 15 minut lub filtrować przez filtr membranowy o średnicy porów 0,45 µm. Osad po wirowaniu lub filtracji nie może zawierać niebieskich cząstek heksacyjanożelazianu (II) żelaza (III).

2.3.3. *Test na obecność jonów żelaza w winie*

Umieścić 20 ml wina, 1 ml kwasu solnego (2.2.1), jedną kroplę roztworu heksacyjanożelazianu (II) potasu (2.2.3) i jedną kroplę roztworu heksacyjanożelazianu (III) potasu (2.2.4) w probówce. W ciągu 30 minut powinno powstać niebieskie zabarwienie roztworu lub niebieski osad. Po odwirowaniu lub po filtracji przez filtr membranowy o średnicy porów 0,45 µm i dwukrotnym przemyciu 5 mililitrami wody, w probówce do wirowania lub na filtrze membranowym powinien być widoczny niebieski osad.

3. METODA ZWYKŁA

3.1. **Aparatura**

3.1.1. Aparat destylacyjny, składający się z kolby okrągłodennej na 500 ml połączonej za pomocą rurki ze szlifem z górnym końcem pionowo umieszczonej chłodnicy, o długości co najmniej 350 mm.

Do dolnego końca chłodnicy przymocowany jest przedłużacz umożliwiający przesyłanie destylatu na dno kolby na 50 ml zanurzonej całkowicie w lodowato zimnej wodzie.

3.1.2. Wrząca elektryczna łaźnia wodna (kontrolowana termostatycznie).

3.2. **Odczynniki**

3.2.1. Kwas siarkowy, rozcieńczony w stosunku 1:5 (v/v).

200 ml kwasu siarkowego, H_2SO_4 (ρ_{20} = 1,84 g/ml), dodać bardzo ostrożnie do wody w ilości pozwalającej na otrzymanie 1 litra roztworu.

3.2.2. Krystaliczny chlorek miedzi (II), $CuCl_2$. 2 H_2O.

3.2.3. Roztwór czerwieni fenolowej

Rozpuścić 0,05 g czerwieni fenolowej w 1,4 ml 0,1 M roztworu wodorotlenku sodu; uzupełnić do 1000 ml.

3.2.4. Roztwór jodku potasu.

Rozpuścić 250 g jodku potasu, KI, w wodzie w ilości pozwalającej na otrzymanie 1 litra roztworu.

3.2.5. Roztwór azotanu srebra, 0,001 M.

Do 10 ml 0,1 M roztworu azotanu srebra, $AgNO_3$, dodać 0,5 ml stężonego kwasu azotowego, HNO_3 (ρ_{20} = 1,40 g/ml) i uzupełnić wodą do 1 litra.

3.2.6. Roztwór wodorotlenku sodu, 1 M, niezawierający żelaza.

3.3. **Procedura**

Do 100 ml filtrowanego wina (lub niefiltrowanego, o ile wymagane jest również oznaczanie kwasu cyjanowodorowego obecnego w osadzie wykazującym barwę niebieską) wprowadzić około 5 mg chlorku miedzi (II) (3.2.2) i 10 ml rozcieńczonego kwasu siarkowego (3.2.1). W odbieralniku umieścić 5 ml roztworu wodorotlenku sodu (3.2.6). Destylować do napełnienia kolby na 50 ml.

Przenieść destylat do zlewki na 400 ml i umieścić na wrzącej łaźni wodnej; przyspieszyć odparowywanie poprzez skierowanie silnego strumienia zimnego powietrza wytwarzanegoprzez dmuchawę na

powierzchnię alkalicznego roztworu. Objętość należy zmniejszyć do 5-7 ml, co zajmuje około 30 minut (nie należy zmniejszać objętości do mniej niż 5 ml).

Jeżeli potrzeba, schłodzony roztwór przefiltrować, zbierając filtrat do cylindrycznej probówki o średnicy 20 mm i wysokości 180 mm lub bezpośrednio przenieść filtrat do takiej probówki. Przepłukać zlewkę i ewentualnie sączek kilkoma mililitrami wody, które następnie dodać do roztworu w probówce.

Szklaną probówkę umieścić na czarnym tle i oświetlić ją z boku strumieniem białego światła. Ciecz powinna być idealnie przejrzysta ([1]).

Dodać dwie krople roztworu czerwieni fenolowej (3.2.3) w celu ułatwienia uchwycenia punktu końcowego miareczkowania ([2]) i jedną kroplę roztworu jodku potasu (3.2.4). Miareczkować 0,001 M roztworem azotanu srebra (3.2.5) do powstania lekkiego, lecz utrzymującego się zmętnienia. Niech n' oznacza objętość roztworu mianowanego zużytego do uzyskania tego wyniku.

Dodatkowo przygotować podobną probówkę do próby ślepej, zawierającej 5 ml roztworu wodorotlenku sodu (3.2.6), dwie krople roztworu czerwieni fenolowej (3.2.3), jedną kroplę roztworu jodku potasu (3.2.4) i wodę w ilości pozwalającej na uzyskanie objętości roztworu jak w próbie właściwej. Dodać roztwór azotanu srebra (3.2.5) w ilości pozwalającej na uzyskanie takiego samego zmętnienia jak w próbie właściwej. Niech n' oznacza wykorzystaną objętość ([3]).

3.4. **Przedstawianie wyników**

1 ml 0,001 M roztworu azotanu srebra odpowiada 54 µg kwasu cyjanowodorowego, HCN.

Stąd zawartość kwasu cyjanowodorowego ogółem w litrze wina wynosi 0,54 (n — n') mg. Wynik podawać z dokładnością do dwóch miejsc dziesiętnych.

Za istotne uznawać tylko te wyniki, w których (n — n') jest większe od 0,5 ml.

Jeżeli n — n' jest większe od 10 ml, oznaczanie należy powtórzyć, stosując 0,01 M roztwór azotanu srebra.

([1]) Destylat uzyskiwany z określonych win, takich jak wina likierowe itd., nie jest przejrzysty nawet po przefiltrowaniu; w takich przypadkach destylat musi zostać umieszczony w kolbie destylacyjnej o pojemności 200 ml, do której dodaje się nie więcej niż 30 ml wody destylowanej, i poddaje się destylacji, gdy odczyn jest jeszcze zasadowy, przy czym pierwsze 15 ml destylatu podlega odrzuceniu. Należy schłodzić zawartość kolby, zakwasić ok. 5 ml rozwodnionego kwasu siarkowego i wznowić destylację, gromadząc destylat na 5 ml roztworu 1 M wodorotlenku sodu. Destylat będzie wówczas przejrzysty.

([2]) Dodatek tej substancji jest opcjonalny. Niektórzy analitycy uważają, że łatwiej jest zauważyć pojawienie się zmętnienia w różowym roztworze niż w roztworze bezbarwnym.

([3]) n' jest równe 0,05 lub 0,1 ml, jeśli objętość użytej wody jest mniejsza niż 10 ml. Aby uzyskać zauważalny punkt końcowy, użyta objętość powinna być jak najmniejsza. Należy w miarę możliwości unikać wszelkiego rozcieńczania podczas trwania analizy.

39. **IZOTIOCYJANIAN ALLILU**

1. ZASADA METODY

Każdy izotiocyjanian allilu obecny w winie jest oddestylowywany i identyfikowany metodą chromatografii gazowej.

2. ODCZYNNIKI

2.1. AlKOHOL ETYLOWY BEZWODNY.

2.2. Roztwór mianowany: roztwór izotiocyjanianu allilu w bezwodnym alkoholu, zawierający 15 mg izotiocyjanianu allilu w litrze.

2.3. Mieszanina zamrażająca, składająca się z alkoholu etylowego i suchego lodu (temperatura – 60 °C).

3. APARATURA

3.1. Aparat destylacyjny przedstawiony na rysunku. Przez aparat przepływa stale strumień azotu.

3.2. Płaszcz grzejny z termostatem.

3.3. Przepływomierz.

3.4. Chromatograf gazowy z czujnikiem płomieniowo-spektrofotometrycznym, wyposażony w filtr selektywny dla związków siarkowych (długość fali = 394 nm) lub inny odpowiedni detektor.

3.5. Kolumna chromatograficzna ze stali kwasoodpornej o średnicy wewnętrznej 3 mm i długości 3 m z fazą stacjonarną 10 % Carbowax 20 M osadzoną na nośniku Chromosorb WHP, 80—100 mesh.

3.6. Mikrostrzykawka, 10 µl.

4. PROCEDURA

Do kolby destylacyjnej odmierzyć 2 litry wina, do dwóch probówek odbierających dodać kilka mililitrów alkoholu etylowego (2.1), tak aby porowata część rurek dyspergujących gaz była całkowicie zakryta. Schłodzić obie probówki od zewnątrz mieszaniną zamrażającą. Połączyć kolbę z probówkami odbierającymi i rozpocząć przepłukiwanie aparatu azotem z prędkością 3 litrów na minutę. Wino podgrzać do temperatury 80 °C za pomocą płaszcza grzejnego, destylować, zbierając 45—50 ml destylatu.

Ustabilizować chromatograf. Zaleca się stosowanie następujących warunków:

— temperatura komory nastrzykowej: 200 °C,

— temperatura kolumny: 130 °C,

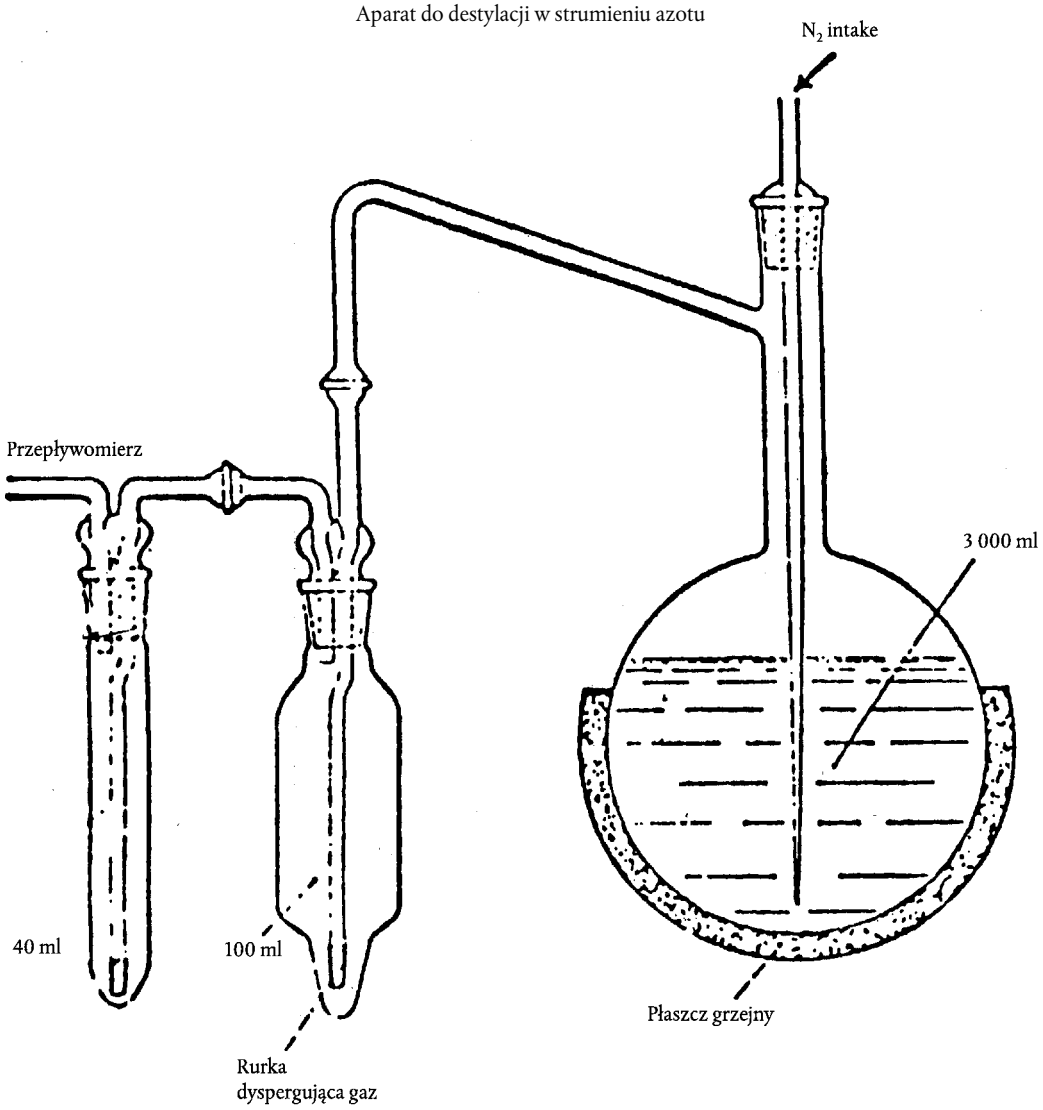
— przepływ gazu nośnego helu: 20 ml/min.

Wprowadzić mikrostrzykawką taką objętość roztworu mianowanego, aby pik odpowiadający izotiocyjanianowi allilu mógł być łatwo zidentyfikowany na chromatogramie.

W podobny sposób wprowadzić do chromatografu próbkę destylatu. Sprawdzić, czy czas retencji uzyskanego piku odpowiada czasowi retencji piku izotiocyjanianu allilu.

Zgodnie z warunkami opisanymi powyżej składniki występujące naturalnie w winie nie będą dawały zakłócających pików na chromatogramie bada nej próbki.

Aparat do destylacji w strumieniu azotu



40. **WŁAŚCIWOŚCI CHROMATYCZNE**

1. WINA I MOSZCZE

1.1. **Definicje**

Właściwości chromatyczne wina są to jego jasność i chromatyczność.

Jasność jest wyrażana przez transmitancję i jest odwrotnie proporcjonalna do natężenia barwy wina.

Chromatyczność jest wyrażana przez dominującą długość fali (która charakteryzuje odcień) i czystość barwy.

Zgodnie ze zwyczajem i dla wygody właściwości chromatyczne win czerwonych i różowych przedstawia się jako natężenie barwy i odcień, zgodnie z metodą przyjętą jako metoda rutynowa.

1.2. **Zasada metod**

1.2.1. *Metoda porównawcza*

Jest to metoda spektrofotometryczna, która umożliwia pomiar wartości współrzędnych trójbodźcowych i współrzędnych trójchromatycznych niezbędnych do określenia barwy zgodnie z Międzynarodową Komisją ds. Oświetlenia (CIE).

1.2.2. *Metoda zwykła* (stosowana do win czerwonych i różowych)

Jest to metoda spektrofotometryczna, w której właściwości chromatyczne wyrażane są zwyczajowo w następujący sposób:

Natężenie barwy jest to suma chłonności przy długości fali 420, 520 i 620 nm dla promieniowania przechodzącego przez warstwę próbki o grubości 1 cm.

Odcień jest wyrażany przez stosunek chłonności przy 420 nm i 520 nm.

1.3. **Metoda porównawcza**

1.3.1 *Aparatura*

1.3.1.1. Spektrofotometr umożliwiający pomiar w zakresie 300—700 nm.

1.3.1.2. Celki szklane po dwie sztuki, o drodze optycznej *b* równej 0,1, 0, 2, 0,5, 1,2 i 4 cm.

1.3.2. *Procedura*

1.3.2.1. Przygotowanie próbki

Mętne wino należy sklarować przez wirowanie. Większość ditlenku węgla w młodych i musujących winach należy usunąć przez wytrząsanie w warunkach próżniowych.

1.3.2.2. Pomiary

Droga optyczna szklanej celki *b* powinna zostać dobrana w taki sposób, aby mierzona chłonność znajdowała się między 0,3 a 0,7.

Przy wyborze właściwej celki należy kierować się następującymi wskazówkami: dla win białych użyć celkę o drodze optycznej 2 (lub 4) cm, dla win różowych o drodze optycznej 1 cm, a dla win czerwonych o drodze optycznej 0,1 (lub 0,2) cm.

Pomiar spektrofotometryczny należy wykonać, stosując jako próbkę odniesienia wodę destylowaną w kuwecie o takiej samej szerokości *b*, w stosunku do której reguluje się przyrząd na zero chłonności przy 445, 495, 550 i 625 nm.

Następnie należy zmierzyć cztery odpowiadające tym długościom fali chłonności dla próbki wina, z dokładnością do trzeciego miejsca dziesiętnego, dla celki o drodze optycznej *b*. Zmierzone wartości oznaczyć A_{445}, A_{495}, A_{550} i A_{625}.

1.3.3. *Obliczenia*

Na podstawie wartości chłonności dla celki o drodze optycznej *b* z tabeli I odczytać odpowiadające wartości transmitancji (*T* %). Odczytane wartości oznaczyć T_{445}, T_{495}, T_{550} i T_{625}.

— Obliczyć wartości współrzędnych trójbodźcowych *X*, *Y* i *Z* wyrażonych jako ułamki dziesiętne zgodnie z poniższymi równaniami:

$$X = 0{,}42\,T_{625} + 0{,}35\,T_{550} + 0{,}21\,T_{445}$$

$$Y = 0{,}20\,T_{625} + 0{,}63\,T_{550} + 0{,}17\,T_{495}$$

$$Z = 0{,}24\,T_{495} + 0{,}94\,T_{445}$$

— Obliczyć współrzędne trójchromatyczne *x* i *y* na podstawie równania:

$$x = \frac{X}{X+Y+Z} \qquad y = \frac{Y}{X+Y+Z}$$

1.3.4. **Przedstawianie wyników**

1.3.4.1. Za jasność względną przyjmuje się wartość Y wyrażoną w procentach. (Dla cieczy całkowicie ciemnych *Y* = 0 %, dla cieczy bezbarwnych *Y* = 100 %.)

1.3.4.2. Chromatyczność wyrażana jest przez dominującą długość fali i czystość.

W celu oznaczenia tych dwóch wielkości wykorzystuje się wykres chromatyczności wyznaczony przez linię barw widmowych, jak przedstawiono na rysunku 1. Pkt 0 zaznaczony na tym wykresie odpowiada źródłu światła białego użytemu do pomiaru i wykazuje współrzędne charakterystyczne dla standardowego źródła, C, x_o = 0,3101 i y_o = 0,3163, odpowiadającego światłu dziennemu o średniej jasności.

— Dominująca długość fali

Na wykres chromatyczności nanieść pkt C o współrzędnych *x*, *y*.

Jeżeli pkt C znajduje się na zewnątrz trójkąta AOB, narysować linię prostą łączącą O i C i przedłużyć ją do przecięcia z linią barw widmowych w punkcie S, który odpowiada dominującej długości fali.

Jeżeli C znajduje się wewnątrz trójkąta AOB, narysować linię prostą łączącą O i C i przedłużyć ją do przecięcia z linią barw widmowych w punkcie odpowiadającym długości fali barwy dopełniającej do barwy wina. Ta długość fali jest oznaczana przez jej wartość i pkt C.

— Czystość

Jeżeli punkt C znajduje się na zewnątrz trójkąta AOB, czystość oblicza się w procentach ze stosunku:

$$100 \times \frac{\text{odległość od C do O}}{\text{odległość od O do S}}$$

Jeżeli pkt C znajduje się wewnątrz trójkąta AOB, czystość oblicza się w procentach ze stosunku:[1]

$$100 \times \frac{\text{odległość od C do O (1)}}{\text{odległość od O do P}}$$

(1) Odleglosc należy określić w kierunku od O do C.

gdzie P jest punktem, w którym linia prosta OC przecina linię purpury (linię AB).

Czystość można odczytać również bezpośrednio z wykresu chromatyczności na podstawie znanych wartości *x* i *y* (rysunki 2, 3, 4, 5 i 6).

1.3.4.3. Wyniki

Barwa wina jest w pełni określona przez jej jasność, chromatyczność (wyrażaną jako dominująca długość fali) i czystość.

Wartości te powinny być podane w sprawozdaniu z analizy, z zaznaczeniem drogi optycznej celki, w której wykonywany był pomiar.

1.4. **Metoda zwykła**

1.4.1. *Aparatura*

1.4.1.1. Spektrofotometr umożliwiający pomiar w zakresie 300—700 nm.

1.4.1.2. Celki szklane po dwie sztuki, o drodze optycznej *b* równej 0,1, 0, 2, 0,5 i 1 cm.

1.4.2. *Wstępne przygotowanie próbki*

Mętne wino należy sklarować przez wirowanie.

Większość ditlenku węgla w młodych i musujących winach należy usunąć przez wytrząsanie w warunkach próżniowych.

1.4.3. *Procedura*

Droga optyczna szklanej celki *b* musi zostać dobrana w taki sposób, aby mierzona chłonność A znajdowała się między 0,3 i 0,7.

Pomiar spektrofotometryczny należy wykonać, stosując jako próbkę odniesienia wodę destylowaną w celce o takiej samej drodze optycznej *b*, w stosunku do której reguluje się przyrząd na zero chłonności przy 420, 520 i 620 nm.

1.4.4. *Przedstawianie wyników*

1.4.4.1. Obliczenia

Obliczyć chłonności przy trzech długościach fali dla drogi światła 1 cm, dzieląc zmierzoną chłonność przez *b* w cm. Otrzymane wartości oznaczyć A_{420}, A_{520} i A_{620}.

Natężenie barwy *I* zwyczajowo oblicza się wg następującego wzoru:

$$I = A_{420} + A_{520} + A_{620}$$

Wartość tę podaje się z dokładnością do trzech miejsc dziesiętnych.

Odcień *N* zwyczajowo oblicza się wg następującego wzoru:

$$N = \frac{A_{420}}{A_{520}}$$

Wartość tę podaje się z dokładnością do trzech miejsc dziesiętnych.

TABELA I

Przeliczanie chłonności na transmitancje (*T* %)

Metoda użycia

W pierwszej kolumnie znaleźć pierwszą cyfrę dziesiętną chłonności i dany rząd oznaczyć literą R. W górnym rzędzie znaleźć drugą cyfrę dziesiętną chłonności i daną kolumnę oznaczyć literą C. Odczytać liczbę w prostokącie na przecięciu rzędu R i kolumny C. W celu obliczenia transmitancji podzielić tę liczbę przez 10, jeżeli chłonność jest mniejsza niż 1, przez 100, jeżeli jest między 1 a 2, i przez 1000, jeżeli jest między 2 a 3.

Uwaga:

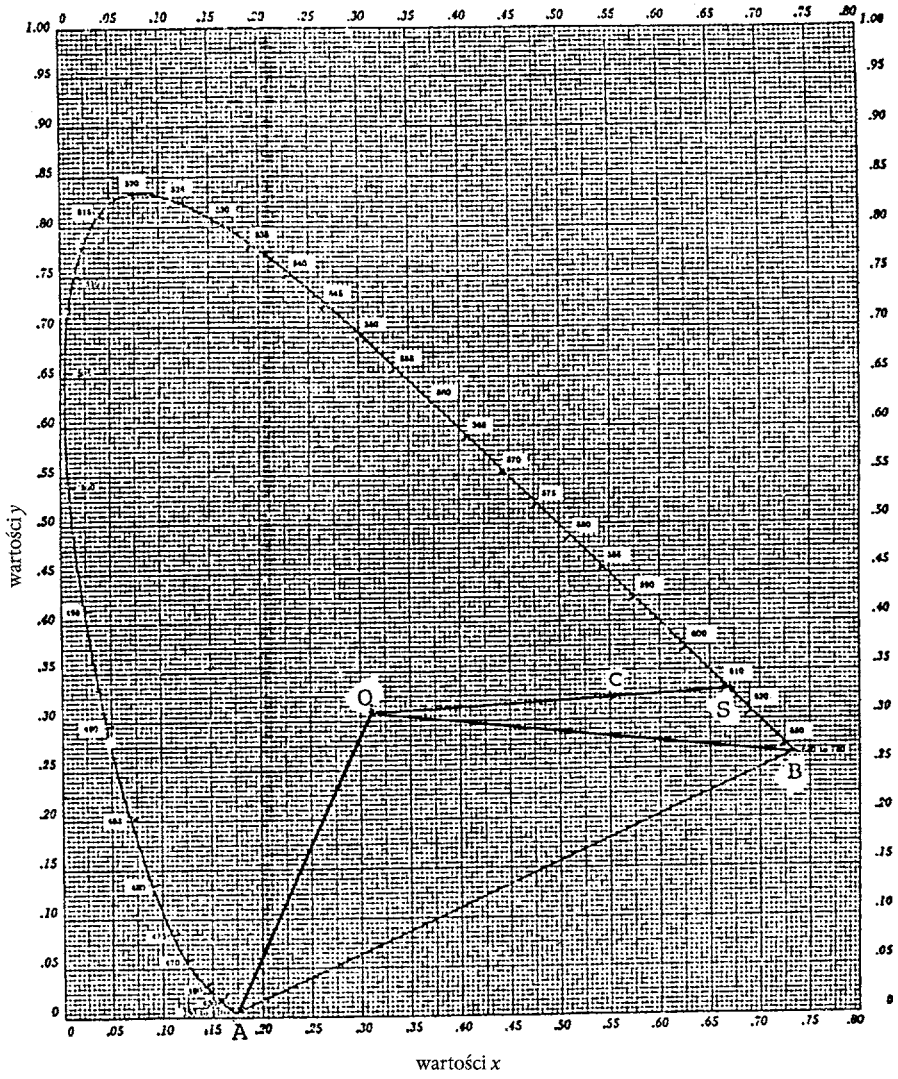
Pozycja w prawym górnym rogu każdego prostokąta umożliwia uwzględnienie poprzez interpolację trzeciej cyfry dziesiętnej chłonności.

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	1 000[23]	977[22]	955[22]	933[21]	912[21]	891[20]	871[20]	851[19]	832[19]	813[19]
1	794[18]	776[18]	759[17]	741[17]	724[16]	708[16]	692[16]	676[15]	661[15]	646[15]
2	631[14]	617[14]	603[14]	589[14]	575[13]	562[13]	549[13]	537[12]	525[12]	513[12]
3	501[11]	490[11]	479[11]	468[11]	457[10]	447[9]	436[9]	427[10]	417[10]	407[9]
4	398[9]	389[9]	380[9]	371[8]	363[8]	355[8]	347[8]	339[8]	331[7]	324[8]
5	316[7]	309[7]	302[7]	295[7]	288[6]	282[7]	275[6]	269[6]	263[6]	257[6]
6	251[6]	245[5]	240[6]	234[5]	229[5]	224[5]	219[5]	214[5]	209[5]	204[5]
7	199[4]	195[5]	190[4]	186[4]	182[4]	178[4]	174[4]	170[4]	166[4]	162[4]
8	158[3]	155[4]	151[3]	148[4]	144[4]	141[3]	138[3]	135[3]	132[3]	129[3]
9	126[3]	123[3]	120[3]	117[2]	115[3]	112[2]	110[3]	107[2]	105[3]	102[2]

Przykład:

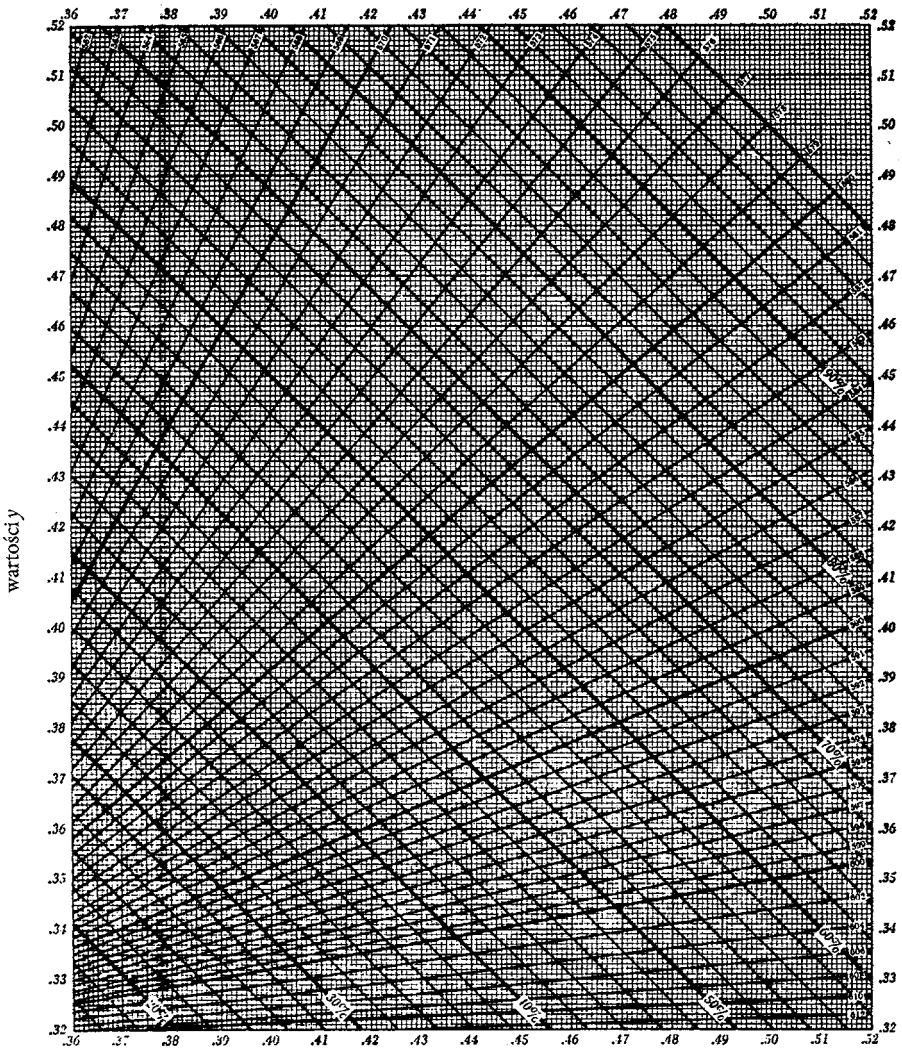
Chłonność	0,47	1,47	2,47	3,47
T %	33,9	3,4	0,3	0

Transmitancję *T* %podawać z dokładnością do 0,1 %.



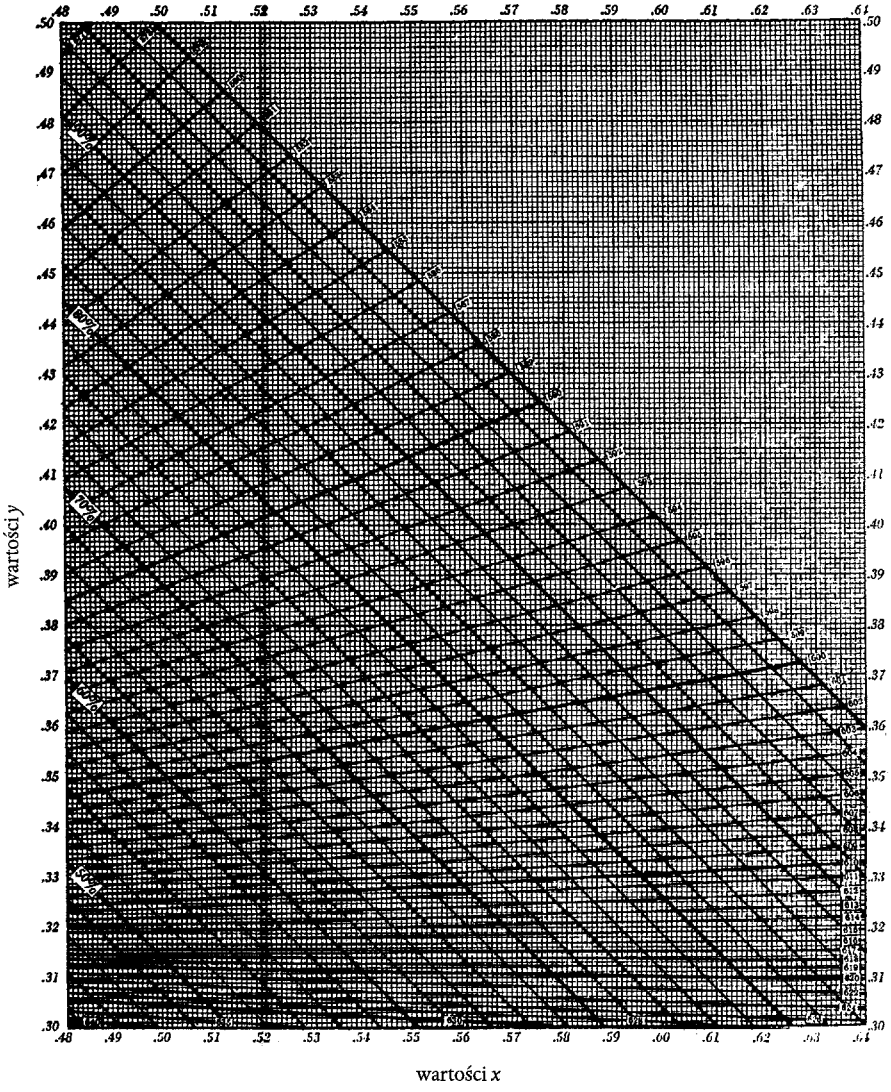
RYSUNEK 1

Wykres chromatyczności obejmujący wszystkie barwy widma



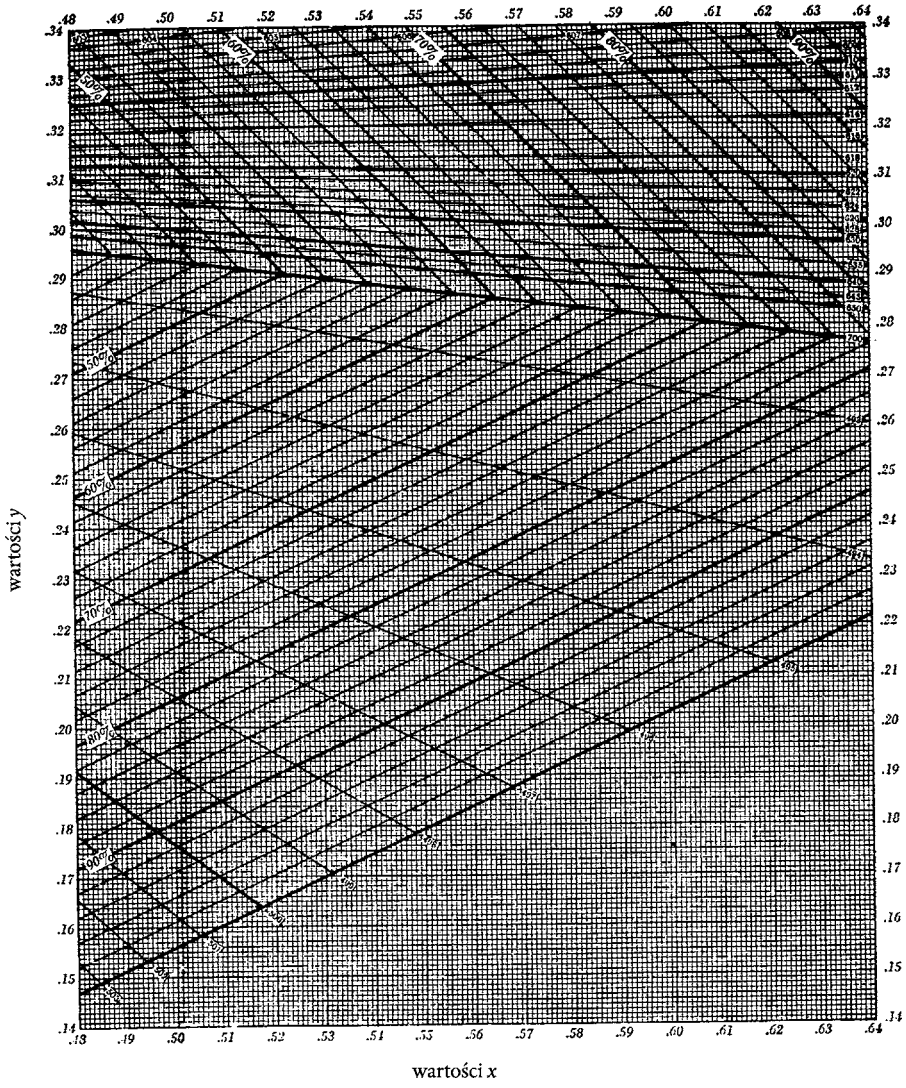
RYSUNEK 2

Wykres chromatyczności niezafałszowanych win czerwonych (jasnoczerwonych) i win czerwonobrązowych (czerwień ceglasta)



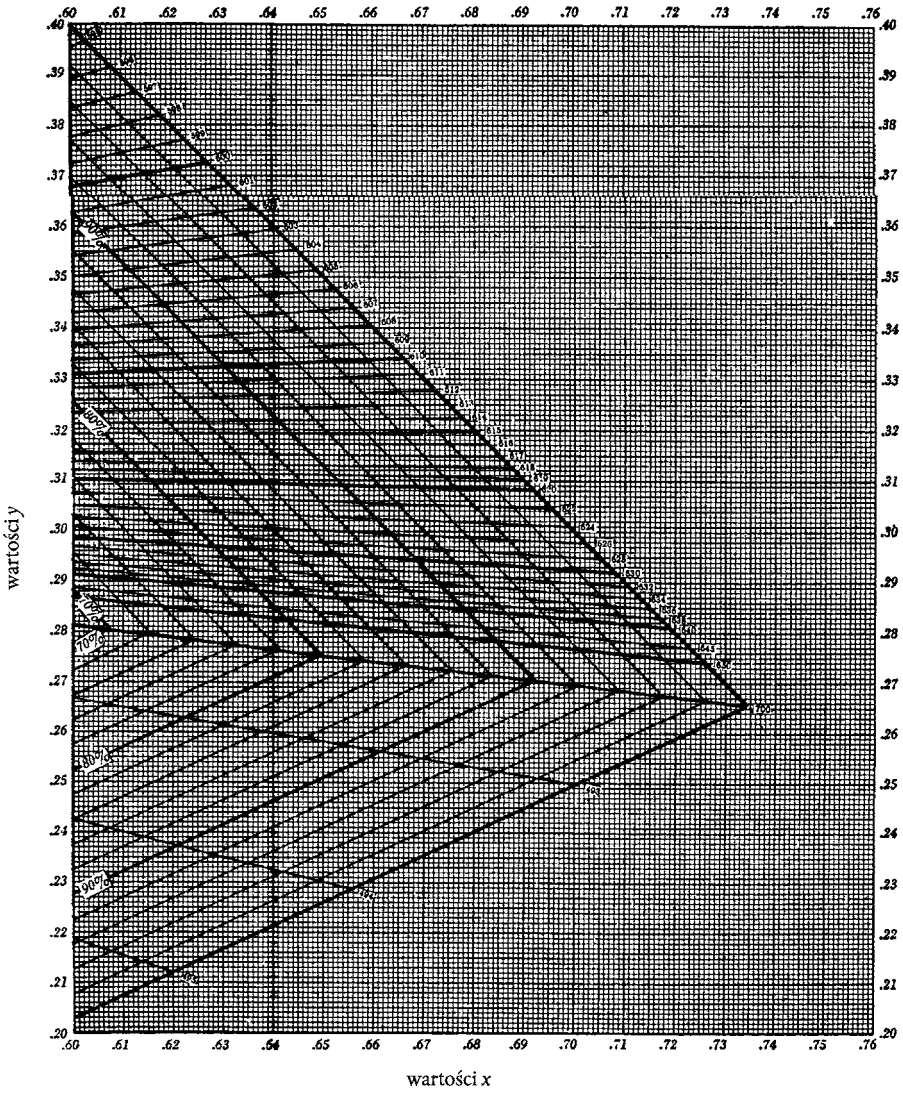
RYSUNEK 3

Wykres chromatyczności niezafałszowanych win czerwonych (jasnoczerwonych) i win czerwono-brązowych (czerwień ceglasta)



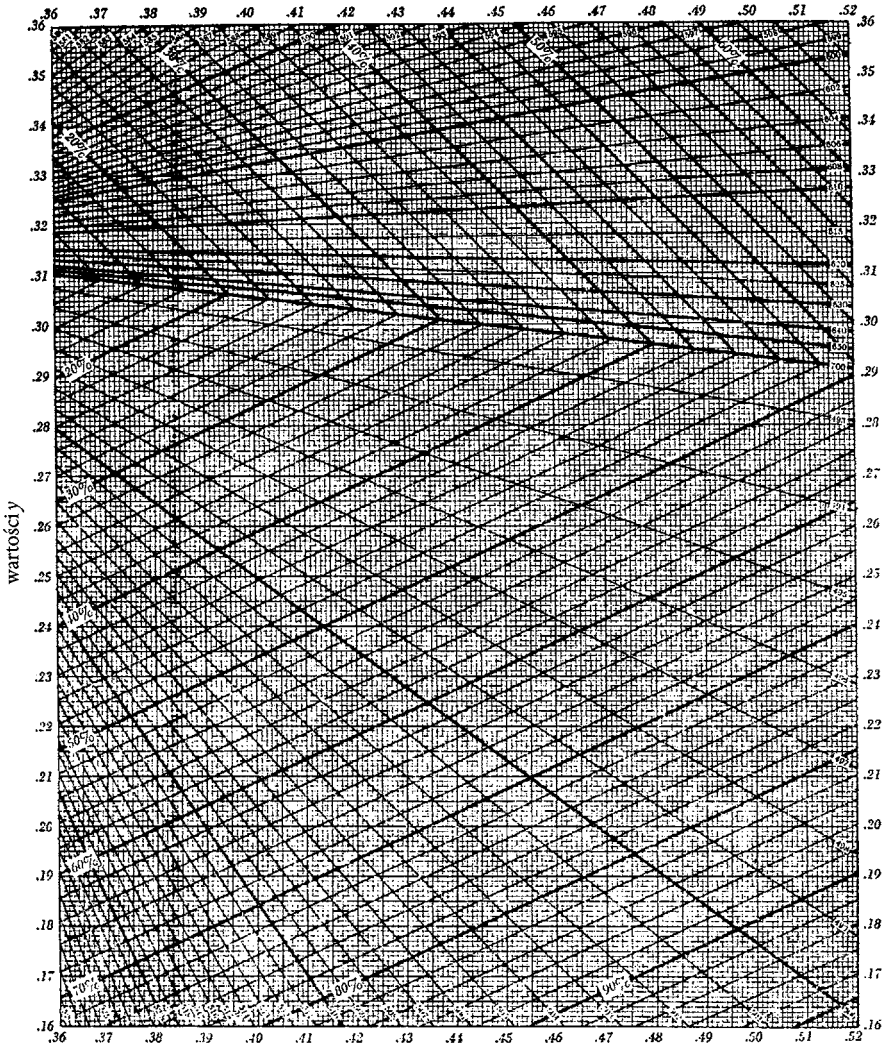
RYSUNEK 4

Wykres chromatyczności niezafałszowanych win czerwonych (jasnoczerwonych) i win purpurowych



RYSUNEK 5

Wykres chromatyczności niezafałszowanych win czerwonych (jasnoczerwonych) i win purpurowych



RYSUNEK 6

Wykres chromatyczności niezafałszowanych win czerwonobrązowych (czerwień ceglasta) i win purpurowych

2. REKTYFIKOWANE MOSZCZE ZAGĘSZCZONE

2.1. **Zasada metody**

Pomiar chłonności rektyfikowanych moszczów zagęszczonych przy 425 nm w warstwie o grubości 1 cm po rozcieńczeniu w celu uzyskania zawartości cukrów do 25 % (m/m) (25 °Brix).

2.2. **Aparatura i sprzęt**

2.2.1. Spektrofotometr umożliwiający pomiar w zakresie 300—700 nm.

2.2.2. Celki szklane o drodze optycznej 1 cm.

2.2.3. Filtr membranowy z porami o średnicy 0,45 µm.

2.3. **Procedura**

2.3.1. *Przygotowanie próbki*

Użyć roztworu o zawartości cukrów 25 % (m/m) (25 °Brix) przygotowanego jak w rozdziale „pH", ppkt 4.1.2. Przefiltrować roztwór przez filtr membranowy z porami o średnicy 0,45 µm.

2.3.2. *Oznaczanie chłonności*

Ustawić aparat na zero chłonności przy 425 nm w odniesieniu do celki o drodze optycznej 1 cm zawierającej wodę destylowaną.

Przy tej samej długości fali zmierzyć chłonność A roztworu zawierającego 25 % cukrów (25 °Brix), przygotowanego jak w ppkt 2.3.1 i umieszczonego w kuwecie o szerokości 1 cm.

2.4. **Przedstawianie wyników**

Chłonność przy 425 nm rektyfikowanego moszczu zagęszczonego w roztworze o stężeniu 25 % cukrów (25 °Brix) podawać z dokładnością do dwóch miejsc dziesiętnych.

41. **WSKAŹNIK FOLIN-CIOCALTEU**

1. DEFINICJA

Wskaźnik Folin-Ciocalteu jest to wynik oznaczania uzyskany wg metody opisanej poniżej.

2. ZASADA METODY

Wszystkie związki fenolowe występujące w winie są utleniane przez odczynnik Folin-Ciocalteu. Odczynnik ten stanowi mieszanina kwasu wolframianofosforowego ($H_3PW_{12}O_{40}$) i kwasu molibdenowofosforowy ($H_3PMo_{12}O_{40}$), które po utlenieniu fenoli ulegają redukcji do mieszaniny niebieskich tlenków wolframu (W_8O_{23}) i molibdenu (Mo_8O_{23}).

Powstała barwa niebieska wykazuje maksimum chłonności w pobliżu 750 nm, a jej natężenie jest proporcjonalne do całkowitej ilości związków fenolowych obecnych w winie.

3. ODCZYNNIKI

Odczynniki musi cechować czystość analityczna. Należy używać wody destylowanej lub wody o podobnej czystości.

3.1. **Odczynnik Folin-Ciocalteu**

Odczynnik ten jest dostępny na rynku w postaci gotowej do użycia. Można go otrzymać w następujący sposób: rozpuścić 100 g wolframianu (VI) sodu ($Na_2WO_4 . 2H_2O$) i 25 g molibdenianu (VI) sodu ($Na_2MoO_4 . 2H_2O$) w 700 ml wody destylowanej. Dodać 50 ml 85-procentowego kwasu fosforowego (ρ_{20} = 1,71 g/ml) i 100 ml stężonego kwasu solnego (ρ_{20} = 1,19 g/ml). Doprowadzić do wrzenia i gotować przez 10 godzin pod chłodnicą zwrotną. Następnie dodać 150 g siarczanu litowego ($Li_2SO_4 . H_2O$) i kilka kropli bromu i ponownie gotować przez 15 minut. Odstawić do ostygnięcia i uzupełnić wodą destylowaną do 1 litra.

3.2. Bezwodny węglan sodowy, Na_2CO_3, w 20-procentowym (m/v) roztworze.

4. APARATURA

Zwykła aparatura laboratoryjna, w tym w szczególności:

4.1. Kolby miarowe o pojemności 100 ml.

4.2. Spektrofotometr umożliwiający pomiar przy 750 nm.

5. PROCEDURA

5.1. **Wino Czerwonie**

Do kolby miarowej na 100 ml (4.1) odmierzyć ściśle w podanej kolejności:

1 ml wina, rozcieńczonego uprzednio w stosunku 1:5,

50 ml wody destylowanej,

5 ml odczynnika Folin-Ciocalteu (3.1),

20 ml roztworu węglanu sodowego (3.2).

Uzupełnić wodą destylowaną do 100 ml.

Dokładnie wymieszać. Odczekać 30 minut do ustabilizowania się reakcji. Oznaczyć chłonność przy 750 nm przy grubości warstwy 1 cm w stosunku do próby ślepej, w której zamiast wina użyto wodę.

Jeżeli chłonność nie wynosi około 0,3, próbkę należy odpowiednio rozcieńczyć.

5.2. **Wino białe**

Postępować jak wyżej, używając 1 ml nierozcieńczonego wina.

5.3. **Rektyfikowany moszcz zagęszczony**

5.3.1. *Przygotowanie próbki*

Użyć roztworu próbki o zawartości cukrów 25 % (m/m) (25° Brix), przygotowanego, jak opisano w rozdziale „pH", ppkt 4.1.2.

5.3.2. *Pomiar*

Postępować jak w przypadku wina czerwonego (5.1), używając 5 ml próbki przygotowanej jak w ppkt 5.3.1 i mierząc chłonność w stosunku do próbki kontrolnej otrzymanej z 5 ml 25-procentowego (m/m) roztworu cukru inwertowanego.

6. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

6.1. **Metoda obliczania**

Wynik jest przedstawiany w postaci wskaźnika otrzymywanego przez mnożenie chłonności przez 100 dla win czerwonych rozcieńczonych w stosunku 1:5 (lub przez odpowiedni współczynnik dla innych rozcieńczeń) i przez 20 dla win białych. Dla rektyfikowanych moszczów zagęszczonych mnożyć przez 16.

6.2. **Powtarzalność**

Różnica między wynikami dwóch prób wykonywanych równocześnie lub bardzo szybko jedna po drugiej przez tego samego analityka nie powinna być większa niż 1.

Dobrą powtarzalność wyników uzyskuje się, stosując bardzo czystą aparaturę i sprzęt (kolby miarowe i celki spektrofotometryczne).

42. SPECJALNE METODY ANALIZY REKTYFIKOWANYCH GRONOWYCH MOSZCZÓW ZAGĘSZCZONYCH

a) KATIONY OGÓŁEM

1. ZASADA METODY

Badana próbka jest poddawana chromatografii na silnie kwasowej żywicy kationowymiennej. Kationy są wymieniane na H^+. Zawartość kationów ogółem wyrażana jest przez różnicę między kwasowością ogólną eluatu i próbki.

2. APARATURA

2.1. Kolumna szklana o średnicy wewnętrznej 10–11 mm i długości około 300 mm, wyposażona w zawór odwadniający.

2.2. Pehametr o działce elementarnej 0,1 jednostki pH.

2.3. Elektrody:

— elektroda szklana, przechowywana w wodzie destylowanej,

— kalomelowa/nasycona chlorkiem potasu elektroda odniesienia, przechowywana w nasyconym roztworze chlorku potasu,

— lub elektroda kombinowana, przechowywana w wodzie destylowanej.

3. ODCZYNNIKI

3.1. Silnie kwasowa żywica kationowymienna w formie H+, wstępnie napęczniała przez namoczenie w wodzie przez noc.

3.2. Roztwór wodorotlenku sodu, 0,1 M.

3.3. Papierek wskaźnikowy pH.

4. PROCEDURA

4.1. **Przygotowanie Próbki**

Użyć roztworu otrzymanego przez rozcieńczenie rektyfikowanego moszczu zagęszczonego do 40 % (m/v) jak w rozdziale „Kwasowość ogólna", ppkt 5.1.2.

4.2. **Przygotowanie kolumny jonowymiennej**

Do kolumny wlać około 10 ml napęczniałej wstępnie żywicy jonowymiennej w formie H^+. Przemyć kolumnę wodą destylowaną do usunięcia całej kwasowości, stosując do kontroli papierek wskaźnikowy.

4.3. **Wymiana jonów**

Przesączyć przez kolumnę 100 ml roztworu rektyfikowanego moszczu zagęszczonego, otrzymanego jak w ppkt 4.1, z prędkością jednej kropli na sekundę. Zbierać wyciek w zlewce. Przemyć kolumnę 50 mililitrami wody destylowanej. Wyciek (łącznie z wodą użytą do przemywania) miareczkować 0,1 M roztworem wodorotlenku sodu do wartości pH 7 w temperaturze 20 °C. Roztwór zasady powinien być dodawany powoli, przy ciągłym wstrząsaniu próbki. Niech *n* oznacza ilość ml zużytego 0,01 M roztworu wodorotlenku sodu.

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

Zawartość kationów ogółem wyrazić w miliekwiwalentach na kilogram cukru ogółem z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

5.1. Obliczenia

— Kwasowość wycieku wyrażona w miliekwiwalentach na kilogram rektyfikowanego moszczu zagęszczonego:

$E = 2{,}5\ n$

— Kwasowość ogólna rektyfikowanego moszczu zagęszczonego w miliekwiwalentach na kilogram (patrz rozdział „Kwasowość ogólna", ppkt 6.1.2): a

— Zawartość kationów ogółem w miliekwiwalentach na kilogram cukrów ogółem:

$$\frac{2{,}5n - a}{P} \times 100$$

gdzie P = procentowa zawartość (m/m) cukrów ogółem.

b) PRZEWODNOŚĆ ELEKTRYCZNA

1. ZASADA METODY

Pomiar przewodności elektrycznej słupa cieczy znajdującego się między dwoma równoległymi elektrodami platynowymi jest wykonywany poprzez włączenie go do jednego ramienia mostka Wheatstone'a.

Przewodność elektryczna różni się w zależności od temperatury i dlatego jest wyrażana jako przewodność w temperaturze 20 °C.

2. APARATURA

2.1. Konduktometr umożliwiający pomiar przewodności elektrycznej w zakresie 1–1000 mikrosimensów na cm^{-1}).

2.2. Łaźnia wodna do sprowadzania temperatury badanych próbek do około 20 °C (20 ± 2 °C).

3. ODCZYNNIKI

3.1. Zdemineralizowana woda o przewodności elektrycznej mniejszej niż 2 µS cm^{-1} w temperaturze 20 °C.

3.2. Roztwór wzorcowy chlorku potasu.

Rozpuścić 0,581 g chlorku potasu, KCl, wysuszonego uprzednio do stałej masy w temperaturze 105 °C, w wodzie zdemineralizowanej (3.1). Uzupełnić do 1 litra wodą zdemineralizowaną (3.1). Roztwór ten wykazuje przewodność elektryczną 1000 µS cm^{-1} w temperaturze 20 °C. Roztwór nie powinien być przechowywany dłużej niż 3 miesiące.

4. PROCEDURA

4.1. **Przygotowanie próbki do analizy**

Przygotować roztwór o zawartości cukrów ogółem 25 % (m/m) (25 ° Brixa), jak opisano w rozdziale „pH" ppkt 4.1.2.

4.2. **Oznaczanie przewodności elektrycznej**

Sprowadzić temperaturę próbki do 20 °C, zanurzając ją w łaźni wodnej. Utrzymywać tę temperaturę w granicach ± 0,1 °C.

Komorę konduktometru przepłukać dwukrotnie badanym roztworem.

Wykonać pomiar przewodności właściwej i wyrazić wynik w µS cm^{-1}.

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

Wyniki wyrażać w mikrosimensach na cm (μS cm^{-1}) w temperaturze 20 °C, zaokrąglając do liczby całkowitej dla 25 % (m/m) (25° Brixa) roztworu rektyfikowanego moszczu zagęszczonego.

5.1. **Obliczenia**

Jeżeli aparat nie jest wyposażony w urządzenie do kontrolowania temperatury, zmierzoną przewodność właściwą należy skorygować, wykorzystując tabelę I. Jeżeli temperatura wynosi poniżej 20 °C, wartość poprawki należy dodać, jeżeli temperatura wynosi powyżej 20 °C, wartość poprawki należy odjąć.

TABELA I

Poprawka, jaką należy wprowadzić, jeżeli przewodność właściwa była oznaczana w temperaturze innej niż 20 °C (μS cm^{-1})

Przewodność właściwa	Temperatura (°C)									
	20,2 20,4	20,6 20,8	21,0 21,2	21,4 21,6	21,8 22,0	19,8 19,6	19,4 19,2	19,0 18,8	18,6 18,4	18,2 (1) 18,0 (2)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	1	1	1	1	1	2	2	2
100	0	1	1	2	2	3	3	3	4	4
150	1	1	2	3	3	4	5	5	6	7
200	1	2	3	3	4	5	6	7	8	9
250	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11
300	1	3	4	5	7	8	9	11	12	13
350	1	3	5	6	8	9	11	12	14	15
400	2	3	5	7	9	11	12	14	16	18
450	2	3	6	8	10	12	14	16	18	20
500	2	4	7	9	11	13	15	18	20	22
550	2	5	7	10	12	14	17	19	22	24
600	3	5	8	11	13	16	18	21	24	26

(1) Dodać wartość korekcji.
(2) Odjąć wartość korekcji.

c) HYDROKSYMETYLOFURFURAL (HMF)

1. ZASADA METODY

1.1. **Metoda kolorymetryczna**

Aldehydy pochodne furanu, z których głównym jest hydroksymetylofurfural, reagują z kwasem barbiturowym i paratoluidyną, dając czerwone produkty reakcji, które oznacza się kolorymetrycznie przy 550 nm.

1.2. **Wysoko sprawna chromatografia cieczowa (HPLC)**

Rozdział w kolumnie chromatograficznej z odwróconymi fazami i oznaczanie przy 280 nm.

2. METODA KOLORYMETRYCZNA

2.1. **Aparatura**

2.1.1. Spektrofotometr dostosowany do pomiarów w zakresie 300–700 nm.

2.1.2. Celki szklane o drodze optycznej 1 cm.

2.2. **Odczynniki**

2.2.1. *Kwas barbiturowy, roztwór 0,5 % (m/v).*

Rozpuścić 500 mg kwasu barbiturowego, $C_4O_3N_2H_4$ w wodzie destylowanej i ogrzać lekko w łaźni wodnej o temperaturze 100 °C. Uzupełnić do 100 ml wodą destylowaną. Roztwór jest trwały przez około tydzień.

2.2.2. *Roztwór paratoluidyny, 10 % (m/v).*

Przenieść 10 g paratoluidyny, $C_6H_4(CH_3)NH_2$ do kolby miarowej na 100 ml; dodać 50 ml izopropanolu, $CH_3CH(OH)CH_3$ i 10 ml lodowatego kwasu octowego, CH_3COOH, (ρ_{20} = 1,05 g/ml). Uzupełnić do 100 ml izopropanolem. Roztwór ten powinien być przygotowywany codziennie.

2.2.3. *Etanal (aldehyd octowy), CH_3CHO, 1-procentowy (m/v) roztwór wodny.*

Przygotować bezpośrednio przed użyciem.

2.2.4. *Hydroksymetylofurfural, $C_6O_3H_6$, roztwór wodny o stężeniu 1g/l.*

Przygotować serię roztworów o stężeniu 5, 10, 20, 30 i 40 mg/l. Roztwór o stężeniu 1g/l i roztwory rozcieńczone należy przygotowywać na bieżąco.

2.3. **Procedura**

2.3.1. *Przygotowanie próbki*

Użyć roztworu otrzymanego przez rozcieńczenie rektyfikowanego moszczu zagęszczonego do 40 % (m/v), jak opisano w rozdziale „Kwasowość ogólna", ppkt 5.1.2. Do oznaczania wziąć 2 ml tego roztworu.

2.3.2. *Oznaczanie kolorymetryczne*

Do każdej z dwóch kolb o pojemności 25 ml z doszlifowanym korkiem, oznaczonych *a* i *b*, odmierzyć 2 ml próbki, przygotowanej jak w ppkt 2.3.1. Do każdej kolby dodać 5 ml roztworu paratoluidyny (2.2.2); wymieszać. Do kolby *b* (próbka kontrolna) dodać 1 ml wody destylowanej, a do kolby *a* 1 ml kwasu barbiturowego (2.2.1). Wymieszać dokładnie. Zawartość kolb przenieść do celek spektrofotometru o drodze optycznej 1 cm. Ustawić zero na skali chłonności, używając zawartości kolby *b* przy długości fali 550 nm. Obserwować zmiany chłonności próbki *a*; zapisać najwyższą wartość chłonności *A*, osiąganą po czasie od dwóch do pięciu minut.

Próbki o zawartości hydroksymetylofurfuralu powyżej 30 mg/l należy rozcieńczyć przed analizą.

2.3.3. *Przygotowanie krzywej odwzorowania*

Umieścić 2 ml roztworów hydroksymetylofurfuralu o stężeniu 5, 10, 20, 30 i 40 mg/l (2.2.4) do dwóch zestawów *a* i *b* kolb miarowych na 25 ml i postępować dalej jak w ppkt 2.3.2.

Wykres przedstawiający zależność chłonności od stężenia hydroksymetylofurfuralu w mg/l jest linią prostą przechodzącą przez początek układu współrzędnych.

2.4. **Przedstawianie wyników**

Stężenie hydroksymetylofurfuralu w rektyfikowanych moszczach zagęszczonych wyrażać w miligramach na kilogram cukrów ogółem.

2.4.1. *Metoda obliczania*

Zawartość hydroksymetylofurfuralu *C* w mg/l w badanej próbce jest to stężenie odczytane na krzywej odwzorowania odpowiadające zmierzonej chłonności *A* próbki.

Zawartość hydroksymetylofurfuralu w miligramach na kilogram cukrów ogółem wynosi:

$$250 \times \frac{C}{P}$$

gdzie *P* = procentowa (m/m) zawartość cukrów ogółem w rektyfikowanym moszczu zagęszczonym.

3. WYSOKO SPRAWNA CHROMATOGRAFIA CIECZOWA

3.1. **Aparatura**

3.1.1. *Wysoko sprawny chromatograf cieczowy wyposażony w*:

— wtryskiwacz „pętlowy" o pojemności 5 lub 10 µl,

— czujnik spektrofotometryczny do wykonywania pomiarów przy 280 nm,

— kolumnę z fazą stacjonarną oktadecylosilanową (np. Bondapak C18 — Corasil, Waters Ass.),

— rejestrator, najkorzystniej integrator.

Szybkość przepływu fazy ruchomej: 1,5 ml/min.

3.1.2. Aparat do filtracji membranowej, średnica porów 0,45 µm.

3.2. **Odczynniki**

3.2.1. Woda podwójnie destylowana.

3.2.2. Metanol, CH_3OH, destylowany lub o czystości do HPLC.

3.2.3. Kwas octowy, CH_3COOH (ρ = 1,05 g/ml).

3.2.4. Faza ruchoma: woda–metanol (3.2.2)—kwas octowy (3.2.3), przefiltrowana uprzednio przez filtr membranowy (0,45 µm), (40:9:1 v/v).

Fazę ruchomą należy przygotowywać codziennie i odgazowywać przed użyciem.

3.2.5. Roztwór wzorcowy hydroksymetylofurfuralu, 25 mg/l (v/v).

Do kolby miarowej na 100 ml przenieść dokładnie odważone 25 mg hydroksymetylofurfuralu, $C_6H_3O_6$, i uzupełnić do kreski metanolem (3.2.2). Uzyskany roztwór rozcieńczyć metanolem (3.2.2) w stosunku 1:10 i przefiltrować przez filtr membranowy (0,45 µm).

Roztwór ten, przechowywany w butelce z brązowego szkła w lodówce, jest trwały przez dwa–trzy miesiące.

3.3. **Procedura**

3.3.1. *Przygotowanie próbki*

Użyć roztworu otrzymanego przez rozcieńczenie rektyfikowanego moszczu zagęszczonego do 40 % (m/v), jak opisano w rozdziale „Kwasowość ogólna" ppkt 5.1.2, i przefiltrowanego przez filtr membranowy o średnicy porów 0,45 µm.

3.3.2. *Oznaczanie chromatograficzne*

Do chromatografu wprowadzić 5 (lub 10) µl próbki przygotowanej, jak opisano w ppkt 3.3.1, i 5 (lub 10) µl roztworu wzorcowego hydroksymetylofurfuralu (3.2.5). Zarejestrować chromatogram.

Czas retencji hydroksymetylofurfuralu wynosi od około sześciu do siedmiu minut.

3.4. **Przedstawianie Wyników**

Zawartość hydroksymetylofurfuralu w rektyfikowanych moszczach zagęszczonych wyrażana jest w miligramach na kilogram cukrów ogółem.

3.4.1. *Obliczanie wyniku oznaczania*

C oznacza zawartość hydroksymetylofurfuralu w 40-procentowym (m/v) roztworze rektyfikowanego moszczu zagęszczonego w mg/l.

Zawartość hydroksymetylofurfuralu w miligramach na kilogram cukrów ogółem wynosi:

$$250 \times \frac{C}{P}$$

gdzie P = procentowa (m/m) zawartość cukrów ogółem w rektyfikowanym moszczu zagęszczonym.

d) METALE CIĘŻKIE

1. ZASADA METOD

I. **Szybka metoda szacowania zawartości metali ciężkich**

Metale ciężkie są wykrywane w odpowiednio rozcieńczonym moszczu rektyfikowanym za pomocą reakcji tworzenia ich barwnych siarczków. Ilość metali ciężkich jest szacowana na podstawie porównania z roztworem mianowanym ołowiu, o stężeniu odpowiadającym najwyższej dopuszczalnej ich zawartości.

II. **Oznaczanie zawartości ołowiu metodą spektrofotometrii absorpcji atomowej**

Związek chelatowy powstający w wyniku reakcji ołowiu z pirolidynoditiokarbaminianem wyłączany jest metyloizobutyloketonem, a chłonność mierzy się przy 283,3 nm. Zawartość ołowiu oznacza się przy użyciu szeregu roztworów wzorcowych o znanej zawartości ołowiu.

2. SZYBKA METODA SZACOWANIA ZAWARTOŚCI METALI CIĘŻKICH

2.1. **Odczynniki**

2.1.1. *Rozcieńczony kwas solny, 70 % (m/v).*

Pobrać 70 g kwasu solnego, HCl, (ρ_{20} = 1,16–1,19 g/ml) i uzupełnić wodą do 100 ml.

2.1.2. *Rozcieńczony kwas solny, 20 % (m/v).*

Pobrać 20 g kwasu solnego, HCl (ρ_{20} = 1,16–1,19 g/ml) i uzupełnić do 100 ml wodą.

2.1.3. Rozcieńczony amoniak. Pobrać 14 g amoniaku, NH_3 (ρ_{20} = 0,931-0,934 g/ml) i uzupełnić wodą do 100 ml.

2.1.4. *Roztwór buforowy o pH 3,5.*

Rozpuścić 25 g octanu amonowego, CH_3COONH_4, w 25 ml wody i dodać 38 ml rozcieńczonego kwasu solnego (2.1.1). Jeżeli potrzeba, nastawić pH za pomocą rozcieńczonego kwasu solnego (2.1.2) lub rozcieńczonego amoniaku (2.1.3) i uzupełnić wodą do 100 ml.

2.1.5. Roztwór tioacetamidu, C_2H_5SN, 4 % (m/v).

2.1.6. Roztwór glicerolu, $C_3H_8O_3$, 85 % (m/v) ($n_D^{20\,°}C$ = 1,449—1,455)

2.1.7. *Odczynnik tioacetamidowy*

Do 0,2 ml roztworu tioacetamidu (2.1.5) dodać 1 ml roztworu otrzymanego przez zmieszanie 5 ml wody, 15 ml 1 M roztworu wodorotlenku sodu i 20 ml glicerolu (2.1.6). Ogrzewać w łaźni wodnej w temperaturze 100°C przez 20 sekund. Przygotowywać bezpośrednio przed użyciem.

2.1.8. *Roztwór o zawartości ołowiu 0,002 g/l.*

Przygotować roztwór o zawartości ołowiu 1 g/l przez rozpuszczenie 0,400 g azotanu ołowiawego, $Pb(NO_3)_2$ w wodzie i uzupełnienie wodą do 250 ml. Przed użyciem rozcieńczyć roztwór wodą w stosunku dwóch części na 1000 (v/v), otrzymując roztwór o stężeniu 0,002 g/l.

2.2. **Procedura**

Rozpuścić badaną próbkę 10 g rektyfikowanego moszczu zagęszczonego w 10 ml wody. Dodać 2 ml roztworu buforowego o pH 3,5 (2.1.4); wymieszać. Dodać 1,2 ml odczynnika tioacetamidowego (2.1.7). Niezwłocznie wymieszać. Przygotować próbkę kontrolną w ten sam sposób, używając 10 ml roztworu ołowiu o stężeniu 0,002 g/l (2.1.8).

Barwa badanej próbki rektyfikowanego moszczu zagęszczonego po 2 minutach nie powinna być intensywniejsza od barwy próbki kontrolnej.

2.3. **Obliczenia**

W warunkach powyższego oznaczania próbka kontrolna odpowiada maksymalnej dopuszczalnej zawartości metali ciężkich, wyrażonej w przeliczeniu na ołów, w wysokości 2 mg/kg rektyfikowanego moszczu zagęszczonego.

3. OZNACZANIE ZAWARTOŚCI OŁOWIU METODĄ SPEKTROFOTOMETRII ABSORPCJI ATOMOWEJ

3.1. **Aparatura**

3.1.1. Spektrofotometr absorpcji atomowej wyposażony w palnik powietrzno-acetyleowy.

3.1.2. Lampa ołowiowa z katodą wnękową.

3.2. **Odczynniki**

3.2.1. *Rozcieńczony kwas octowy.*

Pobrać 12 g lodowego kwasu octowego (ρ_{20} = 1,05 g/ml) i uzupełnić do 100 ml wodą.

3.2.2. Roztwór pirolidynoditiokarbaminianu, $C_5H_{12}N_2S_2$, 1 % (m/v).

3.2.3. Metyloizobutyloketon, $(CH_3)_2CHCH_2COCH_3$.

3.2.4. Roztwór zawierający 0,010 g ołowiu w litrze.

Roztwór ołowiu o stężeniu 1 g/l (2.1.8) rozcieńczyć do 1 n% (v/v).

3.3. **Procedura**

3.3.1. *Przygotowanie roztworu do badania*

Rozpuścić 10 g rektyfikowanego moszczu zagęszczonego w mieszaninie składającej się z równych objętości rozcieńczonego kwasu octowego (3.2.1) i wody i uzupełnić do 100 ml tą mieszaniną.

Dodać 2 ml roztworu pirolidynoditiokarbaminianu amonowego (3.2.2) i 10 ml metyloizobutyloketonu (3.2.3) Wytrząsać przez 30 sekund, chroniąc przed dostępem światła. Pozostawić do rozdzielenia się dwóch warstw. Do analizy pobrać warstwę metyloizobutyloketonu.

3.3.2. *Przygotowanie roztworów wzorcowych*

Przygotować trzy roztwory wzorcowe zawierające, oprócz 10 g rektyfikowanego moszczu zagęszczonego, odpowiednio 1, 2 i 3 ml roztworu o stężeniu 0,010 g/l ołowiu (3.2.4). Postępować dalej tak jak z roztworem badanej próbki.

3.3.3. *Próba ślepa*

Przygotować próbę ślepą jak w ppkt 3.3.1, ale bez dodatku rektyfikowanego moszczu zagęszczonego.

3.3.4. *Oznaczanie*

Ustawić długość fali na 283,3 nm.

Rozpylić ekstrakt metyloizobutyloketonowy z próby ślepej w płomieniu i wyzerować skalę chłonności.

Zmierzyć chłonność ekstraktów uzyskanych z badanego roztworu i z roztworów wzorcowych.

3.4. **Przedstawianie wyników**

Zawartość ołowiu wyrażać w miligramach na kilogram rektyfikowanego moszczu zagęszczonego z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

3.4.1. *Obliczenia*

Wykreślić krzywą obrazującą zróżnicowanie chłonności w stosunku do zawartości ołowiu w roztworach wzorcowych, przy czy zerowa wartość chłonności odpowiada badanemu roztworowi.

Ekstrapolować linię prostą łączącą punkty do przecięcia się z ujemną częścią osi stężenia. Odległość punktu przecięcia od początku układu współrzędnych wyznacza zawartość ołowiu w badanym roztworze.

e) CHEMICZNE OZNACZANIE ALKOHOLU ETYLOWEGO

Metoda ta służy do oznaczania alkoholu w cieczach o niskiej zawartości alkoholu, takich jak moszcze, moszcze zagęszczone i rektyfikowane moszcze zagęszczone.

1. ZASADA METODY

Zwykła destylacja badanej cieczy. Utlenianie alkoholu etylowego w destylacie dichromianem potasu. Miareczkowanie nadmiaru dichromianu potasu roztworem żelaza (II).

2. APARATURA

2.1. Użyć aparatu destylacyjnego opisanego w rozdziale „Objętościowa zawartość alkoholu", ppkt 3.2.

3. ODCZYNNIKI

3.1. **Roztwór dichromianu potasu:**

Rozpuścić 33,600 g dichromianu potasu, $K_2Cr_2O_7$ w wodzie i uzupełnić do objętości 1 litra w temperaturze 20 °C.

1 mililitr tego roztworu utlenia 7,8924 mg alkoholu.

3.2. **Roztwór siarczanu amonu żelaza (II)**

Rozpuścić 135 g siarczanu amonu żelaza (II), $FeSO_4 . (NH_4)_2SO_4 . 6H_2O$ w wodzie, uzupełnić do 1 litra i dodać 20 ml stężonego kwasu siarkowego, H_2SO_4 (r_{20} = 1,84 g/ml). Pół objętości tego roztworu odpowiada mniej więcej objętości roztworu dichromianu potasu świeżo przygotowanego. Z tego względu powoli ulega utlenianiu.

3.3. **Roztwór nadmanganianu potasu.**

Rozpuścić 1,088 g nadmanganianu potasu, $KMnO_4$, w wodzie i uzupełnić do jednego litra.

3.4. **Kwas siarkowy rozcieńczony w stosunku 1:2 (v/v).**

Małymi porcjami, i stale mieszając, dodać 500 ml kwasu siarkowego, H_2SO_4, (ρ_{20} = 1,84 g/ml) do 500 ml wody.

3.5. **Odczynnik żelazawo-ortofenantrolinowy.**

Rozpuścić 0,695 g siarczanu żelaza, $FeSO_4 . 7H_2O$ w 100 ml wody, dodać 1,485 g jednowodnej ortofenantroliny, $C_{12}H_8N_2 . H_2O$. Podgrzać, aby ułatwić rozpuszczanie. Otrzymany jasnoczerwony roztwór jest trwały.

4. PROCEDURA

4.1. **Destylacja**

W kolbie destylacyjnej umieścić 100 g rektyfikowanego moszczu zagęszczonego i 100 ml wody. Zbierać destylat w kolbie miarowej na 100 ml i uzupełnić wodą do kreski.

4.2. **Utlenianie**

Wziąć kolbę z doszlifowanym korkiem i z rozszerzoną szyjką, umożliwiającą przepłukiwanie szyjki bez strat. W kolbie umieścić 20 ml roztworu dichromianu potasu (3.1) i 20 ml kwasu siarkowego rozcieńczonego w stosunku 1:2 (3.4) i wstrząsnąć. Dodać 20 ml destylatu. Zamknąć kolbę korkiem, wstrząsnąć i odczekać co najmniej 30 minut, wstrząsając od czasu do czasu. (Kolba ta nazywana jest kolbą „pomiarową".)

Odmiareczkować roztwór dichromianu potasu roztworem siarczanu amonu żelaza (II) (3.2), umieszczając w identycznej kolbie taką samą ilość odczynników, ale zastępując 20 ml destylatu 20 ml wody destylowanej. (Kolba ta nazywana jest kolbą „kontrolną".)

4.3. **Miareczkowanie**

Do kolby „pomiarowej" dodać cztery krople odczynnika ortofenantrolinowego (3.5). Odmiareczkować nadmiar dichromianu potasu za pomocą roztworu siarczanu amonu żelaza (II) (3.2). Miareczkowanie zakończyć w chwili zmiany barwy roztworu z zielononiebieskiej na brązową.

W celu dokładniejszego uchwycenia punktu końcowego miareczkowania należy zmienić barwę roztworu z powrotem z brązowej na zielononiebieską za pomocą roztworu nadmanganianu potasu (3.3). Jedną dziesiątą objętości zużytego roztworu nadmanganianu odjąć od objętości zużytego roztworu siarczanu amonu żelaza (II). Niech n oznacza uzyskaną różnicę w ml.

Postępować tak samo z roztworem w kolbie „kontrolnej". Niech n' oznacza różnicę uzyskaną w tym przypadku w ml.

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

Zawartość etanolu wyrażana jest w gramach na kilogram cukrów i jest podawana z dokładnością do jednego miejsca po przecinku.

5.1. **Metoda obliczania**

Niech n' ml roztworu soli żelaza (II) redukuje 20 ml roztworu dichromianu potasu, która to ilość utlenia 157,85 mg czystego alkoholu etylowego.

1 mililitr roztworu żelaza (II) wykazuje taką samą zdolność redukcyjną jak

$$\frac{157{,}85}{n'} \text{ mg etanolu}$$

mg etanolu $n - n'$ ml roztworu żelaza (II) wykazuje taką samą zdolność redukcyjną jak

$$\frac{157{,}85(n-n')}{n'} \text{ mg etanolu}$$

Zawartość etanolu w g/kg rektyfikowanego moszczu zagęszczonego wynosi:

$$7{,}892 \times \frac{(n'-n)}{n}$$

Zawartość etanolu w g/kg cukrów ogółem wynosi:

$$789{,}2 \times \frac{(n'-n')}{n'P}$$

gdzie P = procentowa (m/m) zawartość cukrów ogółem.

f) MEZOINOZYTOL, SCYLLOINOZYTOL I SACHAROZA

1. ZASADA

Chromatografia gazowa pochodnych sililowych.

2. ODCZYNNIKI

2.1. Wzorzec wewnętrzny: ksylitol (roztwór wodny o stężeniu około 10 g/l, do którego dodano na końcu łopatki azydku sodu)

2.2. Bis(trimetylosililo)trifluoroacetamid — BSTFA — ($C_8H_{18}F_3NOSi_2$)

2.3. Trimetylochlorosilan (C_3H_9ClSi)

2.4. Pirydyna (C_5H_5N)

2.5. Mezoinozytol ($C_6H_{12}O_6$)

3. APARATURA

3.1. Chromatograf gazowy wyposażony w:

3.2. Kolumnę kapilarną (np. ze stopionej krzemionki, pokryta fazą OV 1 o grubości 0,15 µm, o długości 25 m i średnicy wewnętrznej 0,3 mm)

Warunki rozdziału:

— gaz nośny: wodór lub hel,

— szybkość przepływu gazu nośnego: około 2 ml/min,

— temperatura komory nastrzykowej i detektora: 300 °C,

— program temperaturowy: 1 minuta w temperaturze 160 °C, wzrost temperatury 4 °C/min do temperatury 260 °C, stała temperatura 260 °C przez 15 minut,

— stosunek podziału próbki: około 1:20.

3.3. Integrator.

3.4. Mikrostrzykawka, 10 µl.

3.5. Mikropipety, 50, 100 i 200 µl.

3.6. Kolba na 2 ml z korkiem teflonowym.

3.7. Piec.

4. METODA DZIAŁANIA

Dokładnie odważoną próbkę rektyfikowanego moszczu zagęszczonego o masie około 5 g umieścić w kolbie na 50 ml. Dodać 1 µl roztworu mianowanego ksylitolu (2.1) i dopełnić wodą do kreski. Po wymieszaniu pobrać 100 µl roztworu i przenieść do kolby (3.6), w której jest on odparowywany delikatnym strumieniem powietrza. Jeśli potrzeba, w celu ułatwienia odparowywania można dodać 100 µl bezwodnego alkoholu etylowego.

Pozostałość ostrożnie rozpuścić w 100 µl pirydyny (2.4) i dodać 100 µl bis(trimetylosililo)tetrafluoroacetamidu (2.2) oraz 10 µl tetrametylochlorosilanu (2.3). Kolbę zamknąć korkiem teflonowym i ogrzewać w temperaturze 60 °C przez jedną godzinę.

Pobrać do strzykawki 0,5 µl klarownego płynu i wstrzyknąć do chromatografu, używając ogrzanej igły, zgodnie z podanym stosunkiem podziału dzielnika.

5. OBLICZANIE WYNIKÓW

5.1. Przygotowaó roztwór zawierający:

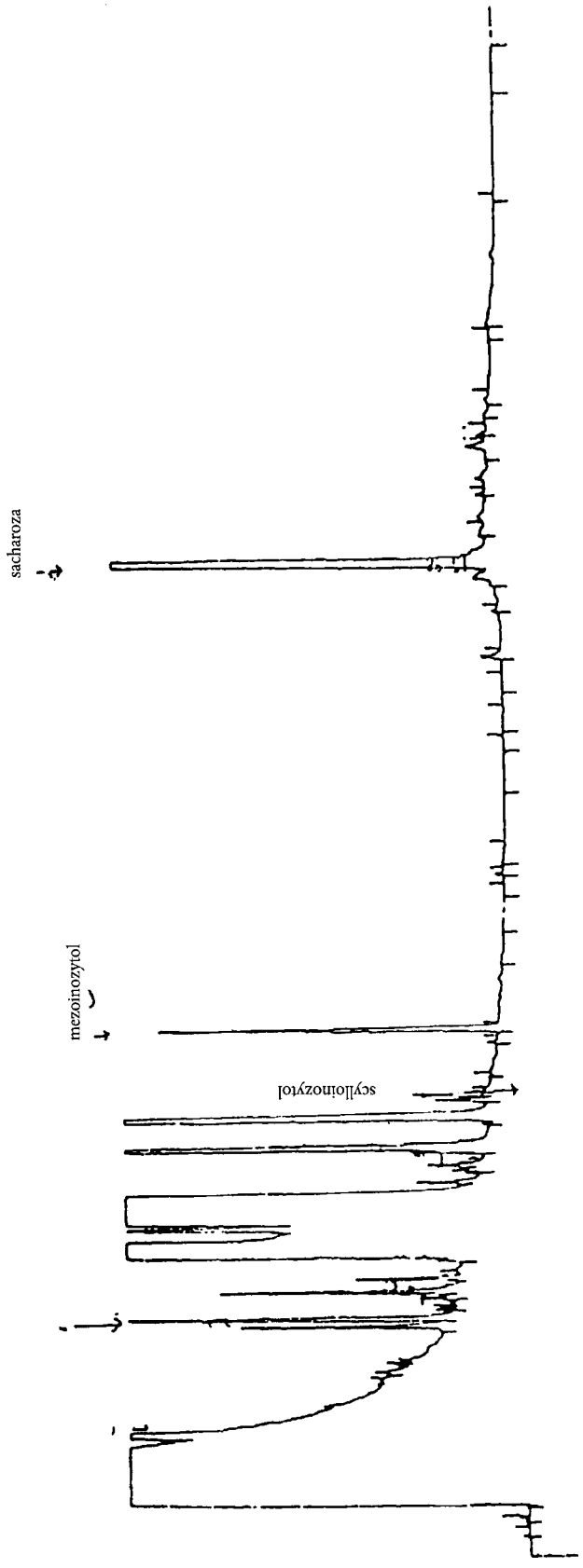
60 g/l glukozy, 60 g/l fruktozy, 1 g/l mezoinozytolu i 1 g/l sacharozy.

Odważyć 5 g roztworu i postępować jak w pkt 4. Wyniki dla mezoinozytolu i sacharozy w stosunku do ksylitolu obliczyć na podstawie chromatogramu.

W przypadku scylloinozytolu, który nie jest dostępny w handlu, a jego czas retencji znajduje się między ostatnim pikiem anomerycznej formy glukozy i pikiem mezoinozytolu (patrz chromatogram na stronie sąsiedniej), przyjmuje się taki sam wynik jak dla mezoinozytolu.

6. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

6.1. Zawartość mezoinozytolu i scylloinozytolu wyrażana jest w miligramach na kilogram cukrów. Zawartość sacharozy wyrażana jest w gramach na kilogram moszczu.



Chromatogram mezoinozytolu, scylloinozytolu i sacharozy w fazie gazowej