

Tämä asiakirja on ainoastaan dokumentointitarkoituksiin. Toimielimet eivät vastaa sen sisällöstä.

► **B**

**KOMISSIO ASETUS (ETY) N:o 2676/90,
annettu 17 päivänä syyskuuta 1990,
yhteisön viinianalyysimenetelmistä**

(EYVL L 272, 3.10.1990, s. 1)

Muutettu:

		virallinen lehti		
		N:o	sivu	päivämäärä
► <u>M1</u>	Komission asetus (ETY) N:o 2348/91, annettu 29 päivänä heinäkuuta 1991	L 214	39	2.8.1991
► <u>M2</u>	muutettu komission asetuksella (EY) N:o 1932/97, annettu 3 päivänä lokakuuta 1997	L 272	10	4.10.1997
► <u>M3</u>	Komission asetus (ETY) N:o 2645/92, annettu 11 päivänä syyskuuta 1992	L 266	10	12.9.1992
► <u>M4</u>	Komission asetus (EY) N:o 60/95, annettu 16 päivänä tammikuuta 1995	L 11	19	17.1.1995
► <u>M5</u>	Komission asetus (EY) N:o 69/96, annettu 18 päivänä tammikuuta 1996	L 14	13	19.1.1996
► <u>M6</u>	Komission asetus (EY) N:o 822/97, annettu 6 päivänä toukokuuta 1997	L 117	10	7.5.1997
► <u>M7</u>	Komission asetus (EY) N:o 761/1999, annettu 12 päivänä huhtikuuta 1999	L 99	4	14.4.1999
► <u>M8</u>	Komission asetus (EY) N:o 1622/2000 annettu 24 heinäkuuta 2000	L 194	1	31.7.2000
► <u>M9</u>	muutettu komission asetuksella (EY) N:o 1609/2001, annettu 6 päivänä elokuuta 2001	L 212	9	7.8.2001
► <u>M10</u>	Komission asetus (EY) N:o 440/2003, annettu 10 päivänä maaliskuuta 2003	L 66	15	11.3.2003
► <u>M11</u>	Komission asetus (EY) N:o 128/2004, annettu 23 päivänä tammikuuta 2004	L 19	3	27.1.2004
► <u>M12</u>	Komission asetus (EY) N:o 355/2005, annettu 28 päivänä helmikuuta 2005	L 56	3	2.3.2005
► <u>M13</u>	Komission asetus (EY) N:o 1293/2005, annettu 5 päivänä elokuuta 2005	L 205	12	6.8.2005



**KOMISSION ASETUS (ETY) N:o 2676/90,
annettu 17 päivänä syyskuuta 1990,
yhteisön viinianalyysimenetelmistä**

EUROOPAN YHTEISÖJEN KOMISSIO, joka

ottaa huomioon Euroopan talousyhteisön perustamissopimuksen,

ottaa huomioon viinikaupan yhteisestä järjestämisestä 16 päivänä maaliskuuta 1987 annetun neuvoston asetuksen (ETY) N:o 822/87 ⁽¹⁾, sellaisena kuin se on muutettuna asetuksella (ETY) N:o 1325/90 ⁽²⁾, ja erityisesti sen 74 artiklan,

sekä katsoo, että

asetuksen (ETY) N:o 822/87 74 artiklan 1 kohdassa säädetään sellaisten määritysmenetelmien antamisesta, joiden avulla voidaan määrittää mainitun asetuksen 1 artiklassa tarkoitettujen tuotteiden koostumus, ja säännöistä, joiden avulla voidaan tarkastaa, onko näitä tuotteita käsitelty sallittujen enologisten käytäntöjen vastaisesti,

jos yhteisö ei ole vielä antanut tiettyjen enologisten käytäntöjen käyttöä luonnehtivien aineiden raja-arvoja ja taulukoita, joiden avulla voidaan verrata määritystuloksia, jäsenvaltiot voivat määrittää nämä rajat,

asetuksen (ETY) N:o 822/87 13 artiklan 1 kohdassa säädetään analyytisistä tutkimuksesta, jolla määritetään vähintään kyseisten tma-laatuviinien mainitun asetuksen liitteessä lueteltujen luonteenomaisten aineiden arvot,

kyseisiä tuotteita koskevissa asiakirjoissa olevien tietojen valvonta tekee tarpeelliseksi sellaisten yhdenmukaisten määritysmenetelmien laatimisen, joita käyttämällä varmistetaan tarkkojen ja verrattavissa olevien tulosten saaminen; tämän vuoksi näiden menetelmien on oltava pakollisia kaikissa liiketoimissa ja kaikessa valvonnassa; kaupan rajoitettujen mahdollisuuksien perusteella olisi hyväksyttävä rajoitettu määrä tavanomaisia menetelmiä, joilla voidaan tehdä nopea ja tarpeeksi varma tutkittavien aineiden määrittäminen,

mahdollisuuksien mukaan on hyödyllistä omaksua menetelmiä, jotka on hyväksytty yleisesti, kuten vuoden 1954 määritysmenetelmien yhtenäistämistä ja viinien arvioimista koskevan kansainvälisen sopimuksen perusteella kehitetyt menetelmät, jotka kansainvälinen viinivirasto julkaisee teoksessa *Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins* (kokoelma kansainvälisiä viinien määritysmenetelmiä),

komission asetuksella (ETY) N:o 1108/82 ⁽³⁾ on annettu viinialalla sovellettavia yhteisön määritysmenetelmiä; tieteen kehityksen vuoksi on osoittautunut tarpeelliseksi korvata tiettyjä menetelmiä sopivammilla menetelmillä, muuttaa menetelmiä ja esittää muita menetelmiä, erityisesti sellaisia, jotka kansainvälinen viinivirasto on jo hyväksynyt; näiden mukautusten suuren lukumäärän ja monimutkaisuuden vuoksi kaikki määritysmenetelmät olisi yhdistettävä uuteen asetukseen ja asetus (ETY) N:o 1108/82 olisi kumottava,

asetuksen (ETY) N:o 822/87 74 artiklassa tarkoitettuja määritysmenetelmiä käyttämällä saatujen tulosten vertailukelpoisuuden varmistamiseksi olisi viitattava toistettavuuden ja näiden tulosten uusittavuuden osalta kansainvälisen viiniviraston laatimiin määritelmiin,

tieteen kehityksen ja virallisten laboratorioden teknisen välineistön huomioon ottamiseksi ja näiden laboratorioden työn tehokkuuden ja kannattavuuden parantamiseksi olisi sallittava automatisoitujen määritysmenetelmien käyttö tietyin edellytyksin; on tärkeää täsmentää, että erimielisyyksien esiintyessä automatisoidut menetelmät eivät voi korvata vertailumenetelmiä ja tavanomaisia menetelmiä,

⁽¹⁾ EYVL N:o L 84, 27.3.1987, s. 1

⁽²⁾ EYVL N:o L 132, 23.5.1990, s. 19

⁽³⁾ EYVL N:o L 133, 14.5.1982, s. 1

▼B

taajuusvärähtelyn mittaamiseen perustuvalla automatisoidulla menetelmällä tiheysmittauksessa saatujen tulosten tarkkuus, toistettavuus ja uusittavuus on vähintään sama kuin tämän asetuksen liitteessä olevassa 1 kohdassa esitetyillä menetelmillä saadut tulokset tiheyden ja suhteellisen tiheyden mittauksen osalta; tämän vuoksi on suositeltavaa asetuksen (ETY) N:o 822/87 74 artiklan 3 kohdan mukaisesti pitää tätä automatisoitua menetelmää vastaavana kuin tämän asetuksen liitteessä esitettyjä edellä mainittuja menetelmiä,

tämän asetuksen liitteen 25 luvun 2.2.3.3.2 kohdassa kuvailtu menettely viinien ja rypälemehujen rikkidioksidin kokonaispitoisuuden määrittämiseksi, kun oletettu kokonaispitoisuus on vähemmän kuin 50 mg/l, johtaa tämän aineen parempaan saantiin kuin asetuksen (ETY) N:o 1108/82 liitteen 13 luvun 13.4 kohdassa kuvailtu menetelmä; tuloksena on määritettyjen tuotteiden korkeampi rikkidioksidin kokonaispitoisuus, joka voi olla erityisesti tiettyjen rypälemehujen osalta suurempi kuin säädetty enimmäisraja; jo valmiin rypälemehun myyntivaiketeiden välttämiseksi tämän asetuksen voimaan tullessa ja kunnes valmistuksessa siirrytään täydellisempään rikinpoistoon rypälemehusta, jonka käyminen on estetty tai keskeytetty alkoholia lisäämällä, on siirtymäkautena syytä sallia mainitussa asetuksessa kuvaillun menettelyn käyttö edelleen, ja

tässä asetuksessa säädetty toimenpiteet ovat viinin hallintokomitean lausunnon mukaiset,

ON ANTANUT TÄMÄN ASETUKSEN:

1 artikla

1 Tämän asetuksen liitteessä esitetään viinialalla sovellettavat yhteisön määritysmenetelmät, joilla liiketoimissa ja kaikessa valvonnassa

- voidaan määrittää asetuksen (ETY) N:o 822/87 1 artiklassa tarkoitettujen tuotteiden koostumus,
- voidaan määrittää, onko näitä tuotteita käsitelty sallittujen enologisten käytäntöjen vastaisesti.

2 Vertailumenetelmällä saadut tulokset ovat ensisijaisia sellaisten aineiden osalta, joille vahvistetaan vertailumenetelmät ja tavanomaiset menetelmät.

2 artikla

Tätä asetusta sovellettaessa:

- a) toistettavuus edustaa arvoa, jonka alapuolella on tietyllä todennäköisyydellä kahden yksittäisen, käytetyillä menetelmillä samoissa koeolosuhteissa (sama suorittaja, sama laite, sama laboratorio ja lyhyt aikaväli) saadun tuloksen välisen erotuksen itseisarvo,
- b) uusittavuus edustaa arvoa, jonka alapuolella on tietyllä todennäköisyydellä kahden yksittäisen eri koeolosuhteissa (eri suorittaja, eri välineistö ja/tai eri laboratorio ja/tai eri aika) saadun tuloksen välisen erotuksen itseisarvo.

’Yksittäisellä tuloksella’ tarkoitetaan arvoa, joka saadaan käyttämällä yhteen näytteeseen yhden kerran ja täydellisesti standardisoitua koemenetelmää.

Jos muuta ei todeta, todennäköisyys on 95 prosenttia.

3 artikla

1 Automatisoidut määritysmenetelmät hyväksytään käytettäväksi laboratorion johtajan vastuulla sillä edellytyksellä, että tulosten tarkkuus, toistettavuus ja uusittavuus vastaavat vähintään liitteessä kuvatuilla määritysmenetelmillä saatuja tuloksia.

Jos erimielisyyksiä esiintyy, liitteessä kuvattuja menetelmiä ei voi korvata automatisoiduilla menetelmillä.

▼M12**▼B***4 artikla*

Liukoisiin, laimentamiseen tai pesuun tarkoitettulla vedellä tarkoitetaan tislattua tai vähintään vastaavan puhtausasteen omaavaa demineralisoitua vettä. Kaikkien kemikaalien on oltava puhtausasteeltaan analyysilaatua, jollei toisin määrätä.

5 artikla

Kumotaan asetus (ETY) N:o 1108/82.

Mainitun asetuksen 1 artiklan 4 kohtaa sovelletaan kuitenkin 31 päivään joulukuuta 1990.

6 artikla

Tämä asetus tulee voimaan päivänä, jona se julkaistaan *Euroopan yhteisöjen virallisessa lehdessä*.

Sitä sovelletaan 1 päivästä lokakuuta 1990.

Tämä asetus on kaikilta osiltaan velvoittava, ja sitä sovelletaan sellaiseen kaikissa jäsenvaltioissa.



LIITE

1 TIHEYD JA SUHTEELLINEN TIHEYD 20 °C:SSA

1 MÄÄRITELMÄT

Tiheys on viinin tai rypälemehun tietyn tilavuusyksikön massa 20 °C:ssa. Se ilmoitetaan grammoina millilitrassa ja sen tunnus on $\rho_{20\text{ °C}}$.

Suhteellinen tiheys 20 °C:ssa tai tiheys 20 °C/20 °C on desimaalilukuna ilmoitettu tietyn viini- tai rypälemehutilavuuden massan suhde 20 °C:ssa saman vesitilavuuden massaansa samassa lämpötilassa. Sen tunnus on $d_{20\text{ °C}}^{20\text{ °C}}$.

2 PERIAATE

Tiheys ja suhteellinen tiheys 20 °C:ssa mitataan määritettävästä näytteestä:

— joko pyknometrillä: vertailumenetelmä,

— tai areometrillä tai densimetrillä käyttäen hydrostaattista vaakaa: tavanomaiset menetelmät.

Huomautus

Hyvin tarkoissa määrittämissä rikkidioksidin vaikutus tiheyteen on korjattava.

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

jossa $\rho_{20\text{ °C}}$ = korjattu tiheys

$\rho'_{20\text{ °C}}$ = havaittu tiheys

S = rikkidioksidin kokonaismäärä g/l

3 NÄYTTEEN VALMISTAMINEN

Jos viini tai rypälemehu sisältää huomattavia määriä hiilidioksidia, suurin osa siitä voidaan poistaa ravistelemalla 250 ml viiniä 1 000 ml mittapullossa, tai suodattamalla alipaineessa läpi putken, jossa on 2 g vanua.

4 VERTAILUMENETELMÄ

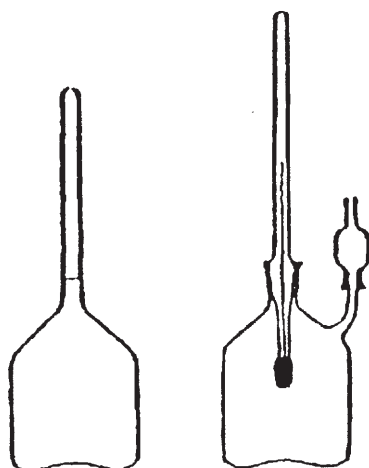
4.1 Välineistö

Tavalliset laboratoriovälineet, ja erityisesti

- 4.1.1 Vetoisuudeltaan noin 100 ml:n pyrex-lasinen pyknometri⁽¹⁾, jossa on irrallinen hioksellinen lämpömittari, jonka 1/10 asteen välein oleva asteikko on välillä 10-30 °C. Tämän lämpömittarin on oltava hyväksytty (kuviot 1).

⁽¹⁾ Voidaan käyttää kaikkia ominaisuuksiltaan vastaavia pyknometrejä.

▼B



Kuvio 1

Pyknometri ja sen taara

Pyknometrissä on 25 mm:n pituinen, sisähalkaisijaltaan enintään 1 mm oleva sivuputki, joka päättyy hiokseen. Tähän sivuputkeen voidaan liittää ”keräyspullo”, joka koostuu putkesta, jonka toisessa päässä on kartiohios ja toisessa päässä kapea poistoputki. Tätä käytetään paisuntasäiliönä.

Laitteen molempien hiosten on oltava hyvin huolellisesti tehtyjä.

- 4.1.2 Ulkotilavuudeltaan pyknometrin kokoinen taara (vähintään 1 ml:n tarkkuudella), jonka massa on sama kuin nesteellä, jonka tiheys on 1,01 (2,0 % natriumkloridiliuos (m/v)), täytetyn pyknometrin massa.

Lämpöeristetty säiliö, joka mukautuu täydellisesti pyknometrin muotoon.

- 4.1.3 Tasavarsivaaka, jonka vähimmäiskuormitus on 300 g ja tarkkuus 1/10 mg

tai

yksikuppivaaka, jonka vähimmäiskuormitus on 200 g ja tarkkuus 1/10 mg.

4.2 Pyknometrin kalibrointi

Pyknometrin kalibrointi käsittää seuraavien ominaisuuksien määrittämisen:

- tyhjän pyknometrin taara,
- pyknometrin tilavuus 20 °C:ssa,
- vedellä täytetyn pyknometrin massa 20 °C:ssa.

4.2.1 Menetelmä tasavarsivaakaa käytettäessä

Taara asetetaan tasavarsivaakan vasempaan vaakakuppiin ja puhdas kuiva pyknometri, joka on varustettu paisuntasäiliöllä, oikeaan vaakakuppiin. Lisätään punnuksia siihen vaakakuppiin, jossa pyknometri on, ja otetaan paino, kun tasapaino on saavutettu: se on p grammaa.

Pyknometri täytetään huolellisesti huoneenlämpöisellä tislatulla vedellä ja lämpömittari asetetaan paikoilleen: pyknometri kuivataan huolellisesti ja se asetetaan lämpöeristettyyn säiliöön. Sekoitetaan kääntelemällä säiliötä, kunnes lämpömittarin osoittama lämpötila ei muutu. Säädetään taso tarkalleen sivuputken reunaan. Kuivataan sivuputki ja asetetaan paisuntasäiliö paikoilleen: luetaan lämpötila t °C:ssa huolellisesti ja korjataan mahdollinen lämpöasteikon epätarkkuus. Punnitaan vedellä täytetty pyknometri ja luetaan paino p' grammoina, kun tasapaino saavutetaan.

▼B

Laskentakaavat ⁽¹⁾:

Tyhjän pyknometrin taaraus:

tyhjän pyknometrin taara = $p + m$,

jossa m = pyknometrin sisältämän ilman massa,

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

Tilavuus 20 °C:ssa:

$V_{20\text{ °C}} = (p + m - p') \times F_1$,

jossa F_1 = taulukossa 1 olevasta lämpötila t °C sarakkeesta otettu kerroin.

$V_{20\text{ °C}}$ on tunnettava $\pm 0,001$ ml:n tarkkuudella.

Veden massa 20 °C:ssa:

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

jossa 0,998203 on veden tiheys 20 °C:ssa.

4.2.2 *Menetelmä yksikuppivaakaa käytettäessä*

Määritetään:

— puhtaan ja kuivan pyknometrin massa: P .

— vedellä täytetyn pyknometrin massa P_1 lämpötilassa t °C 4.2.1 kohdassa kuvatulla tavalla.

— taaran massa: T_0 .

Laskentakaavat ⁽¹⁾

Tyhjän pyknometrin taaraus:

tyhjän pyknometrin taara: $P - m$, jossa

m = pyknometrin sisältämän ilman massa

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

Tilavuus 20 °C:ssa:

$V_{20\text{ °C}} = [P_1 - (P - m)] \times F_1$,

jossa F_1 = taulukossa 1 olevasta lämpötila t °C sarakkeesta otettu kerroin.

Tilavuus 20 °C:ssa on tunnettava $\pm 0,001$ ml:n tarkkuudella.

Veden massa 20 °C:ssa:

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

jossa 0,998203 on veden tiheys 20 °C:ssa.

4.3 **Mittausmenetelmä** ⁽¹⁾

4.3.1 *Menetelmä tasavarsivaakaa käytettäessä*

Täytetään pyknometri määritystä varten valmistetulla näytteellä (3) ja menetellään 4.2.1 kohdassa kuvatulla tavalla.

p'' on se paino grammoina, joka vaaditaan tasapainon saavuttamiseksi lämpötilassa t °C.

Pyknometrin sisältämän nesteen massa = $p + m - p''$.

Näennäinen tiheys t °C:ssa:

$$\rho_t\text{ °C} = \frac{p + m - p''}{V_{20\text{ °C}}}$$

Tiheys 20 °C:ssa lasketaan jäljempänä olevan korjaustaulukon avulla tutkitun nesteen tyyppi huomioon ottaen: kuiva viini (taulukko II), luonnollinen tai tiivistetty rypälemehu (taulukko III), makea viini (taulukko IV).

Viinin tiheys 20 °C/20 °C lasketaan jakamalla tiheys 20 °C:ssa luvulla 0,998203.

⁽¹⁾ Tämän luvun 6 kohdassa annetaan laskentaesimerkki.

▼B4.3.2 *Menetelmä yksikuppivaakaa käytettäessä* ⁽¹⁾

Taara punnitaan. Sen massa on T.

Lasketaan $dT = T_1 - T_0$.

Tyhjän pyknometrin massa mittaushetkellä = $P - m + dT$.

Täytetään pyknometri määrittystä varten valmistetulla näytteellä (3) ja menetellään 4.2.1 kohdassa kuvatulla tavalla. P_2 on sen massa t °C:ssa.

Pyknometrin sisältämän nesteen massa t °C:ssa = $P_2 - (P - m + dT)$.

Näennäinen tiheys t °C:ssa:

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

Lasketaan tutkitun nesteen tiheys 20 °C:ssa (kuiva viini, luonnollinen tai tiivistetty rypälemehu, makea viini) 4.3.1 kohdassa esitetyllä tavalla.

Tiheys 20 °C/20 °C lasketaan jakamalla tiheys 20 °C:ssa luvulla 0,998203.

4.3.3 Tiheysmittausten toistettavuus

kuivat ja puolimakeat viinit: $r = 0,00010$

makeat viinit: $r = 0,00018$.

4.3.4 Tiheysmittausten uusittavuus

kuivat ja puolimakeat viinit: $R = 0,00037$

makeat viinit: $R = 0,00045$.

▼M8**▼B**

6 ESIMERKKI TIHEYDEN 20 °C JA TIHEYDEN 20 °C/20 °C LASKEMISEKSI (VERTAILUMENETELMÄ)

6.1 **Pyknometria tasavarsivaakaa käytettäessä**6.1.1 *Pyknometrin parametrit*

1 Puhtaan ja kuivan pyknometrin punnitseminen:

Taara = pyknometri + p

p = 104,9454 g

2 Täynnä vettä olevan pyknometrin punnitseminen t °C:ssa:

Taara = pyknometri + vesi + p'

p' = 1,2396 g, kun t = 20,5 °C

3 Pyknometrin sisältämän ilman massan laskeminen:

m = 0,0012 (p - p')

m = 0,0012 (104,9454 - 1,2396)

m = 0,1244 g

4 Huomioon otettavat parametrit:

Tyhjän pyknometrin taara p + m:

p + m = 104,9454 + 0,1244

p + m = 105,0698 g

Tilavuus 20 °C:ssa = $(p + m - p') \times F_{t\text{ °C}}$

$F_{20,50\text{ °C}}$ = 1,001900

$V_{20\text{ °C}}$ = $(105,0698 - 1,2396) \times 1,001900$

$V_{20\text{ °C}}$ = 104,0275 ml

Veden massa 20 °C:ssa = $V_{20\text{ °C}} \times 0,998203$

$M_{20\text{ °C}}$ = 103,8405 g

⁽¹⁾ Tämän luvun 6 kohdassa annetaan laskentaesimerkki.

▼B6.1.2 *Kuivan viinin tiheyden 20 °C ja tiheyden 20 °C/20 °C laskeminen*

$$\rho'' = 1,2622 \text{ 17,80 °C:ssa}$$

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

$$\rho_{17,80^\circ\text{C}} = 0,99788 \text{ g/ml}$$

Taulukon II avulla voidaan laskea $\rho_{20^\circ\text{C}}$ $\rho_{t^\circ\text{C}}$:sta käyttäen suhdetta:

$$\rho_{20^\circ\text{C}} = \rho_{t^\circ\text{C}} \pm \frac{c}{1\,000}$$

Kun $t = 17,80^\circ\text{C}$ ja alkoholipitoisuus 11 til-%, $c = 0,54$.

$$\rho_{20^\circ\text{C}} = 0,99788 - \frac{0,54}{1\,000}$$

$$\rho_{20^\circ\text{C}} = 0,99734 \text{ g/ml}$$

$$d_{20^\circ\text{C}}^{20^\circ\text{C}} = \frac{0,99734}{0,998203} = 0,99913$$

6.2 **Pyknometria yksikuppivaakaa käytettäessä**6.2.1 *Pyknometrin parametrit*

1 Puhtaan ja kuivan pyknometrin punnitseminen:

$$P = 67,7913 \text{ g}$$

2 Vedellä täytetyn pyknometrin punnitseminen $t^\circ\text{C}$:ssa:

$$P_1 = 169,2715 \text{ g } 21,65^\circ\text{C:ssa}$$

3 Pyknometrin sisältämän ilman massan laskeminen:

$$m = 0,0012 (P_1 - P)$$

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

$$m = 0,1218 \text{ g}$$

4 Huomioon otettavat parametrit:

Tyhjän pyknometrin taara $P - m$:

$$P - m = 67,7913 - 0,1218$$

$$P - m = 67,6695 \text{ g}$$

$$\text{Tilavuus } 20^\circ\text{C:ssa} = [P_1 - (P - m)] F_{t^\circ\text{C}}$$

$$F_{21,65^\circ\text{C}} = 1,002140$$

$$V_{20^\circ\text{C}} = (169,2715 - 67,6695) \times 1,002140$$

$$V_{20^\circ\text{C}} = 101,8194 \text{ ml}$$

$$\text{Veden massa } 20^\circ\text{C:ssa} = V_{20^\circ\text{C}} \times 0,998203$$

$$M_{20^\circ\text{C}} = 101,6364 \text{ g}$$

Taaran massa: T_0

$$T_0 = 171,9160 \text{ g}$$

6.2.2 *Kuivan viinin tiheyden 20 °C ja tiheyden 20 °C/20 °C laskeminen*

$$T_1 = 171,9178 \text{ g}$$

$$dT = 171,9178 - 171,9160 = 0,0018 \text{ g}$$

$$P - m + dT = 67,6695 + 0,0018 = 67,6713 \text{ g}$$

$$P_2 = 169,2799 \text{ 18 °C:ssa}$$

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

$$\rho_{18^\circ\text{C}} = 0,99793 \text{ g/ml}$$

▼B

Taulukon II avulla voidaan laskea $\rho_{20\text{ °C}}$ $\rho_{t\text{ °C}}$:sta käyttäen suhdetta:

$$\rho_{20\text{ °C}} = \rho_{t\text{ °C}} \pm \frac{c}{1\,000}$$

Kun $t = 18\text{ °C}$ ja alkoholipitoisuus 11 til-%, $c = 0,49$.

$$\rho_{20\text{ °C}} = 0,99793 - \frac{0,49}{1\,000}$$

$$\rho_{20\text{ °C}} = 0,99744\text{ g/ml}$$

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



TAULUKKO I

F kertoimet,

joilla pyrex-lasisen pyknometrin t°C:ssa sisältämän veden massa 9 on kerrottava, pyknometrin tilavuuden laskemiseksi 20 °C:ssa

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	1,004013
,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	1,000623	,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		

▼B

2 RYPÄLEMEHUN, TIIVISTETYN RYPÄLEMEHUN JA PUHDISTETUN TIIVISTETYN RYPÄLEMEHUN SOKERIPITOISUUDEN ARVIOINTI REFRAKTOMETRILLÄ

1 PERIAATE

Taitekerroin 20 °C:ssa, esitettynä lukuarvona tai sakkaroosin massapro-sentteina, annetaan vastaavissa taulukoissa, joista saadaan rypälemehun, tiivistetyn rypälemehun ja puhdistetun tiivistetyn rypälemehun sokeripi-toisuus g/l ja g/kg.

2 VÄLINEISTÖ

2.1 Abbe-refraktometri

Käytetyssä refraktometrissä on oltava asteikko, josta näkyy:

— joko sakkaroosin massapro-sentti 0,1 %-n tarkkuudella,

— tai taitekertoimet neljällä desimaalilla.

Refraktometrissä on oltava lämpömittari, jonka asteikko ulottuu mittau-salueelle + 15 – 25 °C, ja kiertovesijärjestelmä, joka mahdollistaa mittausten tekemisen 20 °C ± 5 °C lämpötilassa.

Tämän laitteen käyttöohjeita on noudatettava tarkasti, erityisesti kali-broinnin ja valonlähteen osalta.

3 NÄYTTEEN VALMISTAMINEN

3.1 Rypälemehut ja tiivistetyt rypälemehut

Rypälemehu suodatetaan tarvittaessa kuivan, neljään osaan taitetun harson läpi, ensimmäiset suodostipat hylätään ja määrittys tehdään suodatetusta tuotteesta.

3.2 Puhdistetut tiivistetyt rypälemehut

Konsentraation mukaan käytetään joko puhdistettua tiivistettyä rypälemehua tai liuosta, joka saadaan laimentamalla 200 g puhdistettua tiivistettyä rypälemehua 500 g:ksi vedellä; punnitseminen on tehtävä tarkasti.

4 SUORITUS

Saatetaan näytteen lämpötila lähelle 20 °C:ta. Asetetaan pieni näyte refraktometrin alemmalle prismalle ja tarkastetaan, että prismojen ollessa tiukasti toisiaan vasten näyte peittää lasipinnan kokonaan. Mittaus tehdään käytetyn laitteen käyttöohjeiden mukaisesti.

Luetaan sakkaroosin massapro-sentti 0,1 %-n tarkkuudella tai taiteker-roin neljällä desimaalilla.

Samasta valmistetusta näytteestä tehdään vähintään 2 määrittystä. Kirjataan lämpötila t °C.

5 LASKEMINEN

5.1 Lämpötilan korjaus

5.1.1 Laitteet, joissa asteikko on sakkaroosin massapro-sentteja: lämpötilan korjaamisessa käytetään taulukkoa I.

5.1.2 Laitteet, joissa asteikko on taitekerroin: etsitään t °C:ssa mitattu taite-kerroin taulukosta II, josta saadaan (sarake 1) sakkaroosin massapro-sentti t °C:ssa. Tämä arvo korjataan lämpötilan suhteen ja ilmoitetaan 20 °C:ssa taulukon I avulla.

5.2 Rypälemehun ja tiivistetyn rypälemehun sokeripitoisuus

Etsitään taulukosta II sakkaroosin massapro-sentti 20 °C:ssa, josta saadaan sokeripitoisuus grammoina litrassa ja grammoina kilogram-massa. Sokeripitoisuus ilmoitetaan inverttisokerina yhdellä desimaalilla.

5.3 Puhdistetun tiivistetyn rypälemehun sokeripitoisuus

Etsitään taulukosta II sakkaroosin massapro-sentti 20 °C:ssa, josta saadaan sokeripitoisuus grammoina litrassa ja grammoina kilogram-massa. Sokeripitoisuus ilmoitetaan inverttisokerina yhdellä desimaalilla.

▼B

Jos mittaus tehdään laimennetusta puhdistetusta tiivistetystä rypälemehusta, tulos kerrotaan laimennuskertoimella.

5.4 Rypälemehun, tiivistetyn rypälemehun ja puhdistetun tiivistetyn rypälemehun taitekerroin

Etsitään taulukosta II sakkaroosin massaprocentti 20 °C:ssa, josta saadaan taitekerroin 20 °C:ssa. Tämä taitekerroin esitetään neljällä desimaalilla.

TAULUKKO I

Tehtävät korjaukset, jos sakkaroosin massaprocentti on määritetty muussa lämpötilassa kuin 20 °C

Lämpötila °C	Sakkaroosi grammoina 100 g:ssa tuotetta									
	5	10	15	20	30	40	50	60	70	75
	Vähennetään									
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
	Lisätään									
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

Lämpötila ei saa poiketa 20 °C:sta yli ± 5 °C:ta.



TAULUKKO II

Taulukossa esitetään rypälemehun ja tiivistetyn rypälemehun sokeripitoisuus⁽¹⁾ grammoina litrassa ja grammoina kilogrammassa, joka on määritetty refraktometrillä, jossa asteikko on joko sakkaroosin massaprosentti 20 °C:ssa tai taitekerroin 20 °C:ssa. Myös tiheys 20 °C:ssa on esitetty.

Sakkaroosi % (m/m)	Taitekerroin 20 °C:ssa	Tiheys 20 °C: ssa	Sokeria g/l	Sokeria g/kg	Alkoholipitoisu- us til-% 20 °C: ssa
10.0	1.34781	1.0390	82.3	79.2	4,89
10.1	1.34798	1.0394	83.4	80.2	4,95
10.2	1.34814	1.0398	84.5	81.3	5,02
10.3	1.34830	1.0402	85.6	82.2	5,09
10.4	1.34845	1.0406	86.6	83.2	5,14
10.5	1.34860	1.0410	87.6	84.1	5,20
10.6	1.34875	1.0414	88.6	85.1	5,26
10.7	1.34890	1.0419	89.7	86.1	5,33
10.8	1.34906	1.0423	90.8	87.1	5,39
10.9	1.34921	1.0427	91.8	88.1	5,45
11.0	1.34936	1.0431	92.9	89.1	5,52
11.1	1.34952	1.0435	94.0	90.0	5,58
11.2	1.34968	1.0439	95.0	91.0	5,64
11.3	1.34984	1.0443	96.1	92.0	5,71
11.4	1.34999	1.0447	97.1	92.9	5,77
11.5	1.35015	1.0452	98.2	94.0	5,83
11.6	1.35031	1.0456	99.3	95.0	5,90
11.7	1.35046	1.0460	100.3	95.9	5,96
11.8	1.35062	1.0464	101.4	96.9	6,02
11.9	1.35077	1.0468	102.5	97.9	6,09
12.0	1.35092	1.0473	103.6	98.9	6,15
12.1	1.35108	1.0477	104.7	99.9	6,22
12.2	1.35124	1.0481	105.7	100.8	6,28
12.3	1.35140	1.0485	106.8	101.9	6,35
12.4	1.35156	1.0489	107.9	102.9	6,41
12.5	1.35172	1.0494	109.0	103.8	6,47
12.6	1.35187	1.0498	110.0	104.8	6,53
12.7	1.35203	1.0502	111.1	105.8	6,60
12.8	1.35219	1.0506	112.2	106.8	6,66
12.9	1.35234	1.0510	113.2	107.8	6,73
13.0	1.35249	1.0514	114.3	108.7	6,79
13.1	1.35266	1.0519	115.4	109.7	6,86
13.2	1.35282	1.0523	116.5	110.7	6,92
13.3	1.35298	1.0527	117.6	111.7	6,99
13.4	1.35313	1.0531	118.6	112.6	7,05
13.5	1.35329	1.0536	119.7	113.6	7,11
13.6	1.35345	1.0540	120.8	114.6	7,18
13.7	1.35360	1.0544	121.8	115.6	7,24
13.8	1.35376	1.0548	122.9	116.5	7,30
13.9	1.35391	1.0552	124.0	117.5	7,37
14.0	1.35407	1.0557	125.1	118.5	7,43
14.1	1.35424	1.0561	126.2	119.5	7,50
14.2	1.35440	1.0565	127.3	120.5	7,56
14.3	1.35456	1.0569	128.4	121.5	7,63
14.4	1.35472	1.0574	129.5	122.5	7,69
14.5	1.35488	1.0578	130.6	123.4	7,76
14.6	1.35503	1.0582	131.6	124.4	7,82
14.7	1.35519	1.0586	132.7	125.4	7,88
14.8	1.35535	1.0591	133.8	126.3	7,95
14.9	1.35551	1.0595	134.9	127.3	8,01

⁽¹⁾ Sokeripitoisuus ilmoitetaan inverttisokerina.

▼B

Sakkaroosi % (m/m)	Taitekerroin 20 °C:ssa	Tiheys 20 °C: ssa	Sokeria g/l	Sokeria g/kg	Alkoholipitoisu- us til-% 20 °C: ssa
15.0	1.35567	1.0599	136.0	128.3	8,08
15.1	1.35583	1.0603	137.1	129.3	8,15
15.2	1.35599	1.0608	138.2	130.3	8,21
15.3	1.35615	1.0612	139.3	131.3	8,27
15.4	1.35631	1.0616	140.4	132.3	8,34
15.5	1.35648	1.0621	141.5	133.2	8,41
15.6	1.35664	1.0625	142.6	134.2	8,47
15.7	1.35680	1.0629	143.7	135.2	8,54
15.8	1.35696	1.0633	144.8	136.2	8,60
15.9	1.35712	1.0638	145.9	137.2	8,67
16.0	1.35728	1.0642	147.0	138.1	8,73
16.1	1.35744	1.0646	148.1	139.1	8,80
16.2	1.35760	1.0651	149.2	140.1	8,86
16.3	1.35776	1.0655	150.3	141.1	8,93
16.4	1.35793	1.0660	151.5	142.1	9,00
16.5	1.35809	1.0664	152.6	143.1	9,06
16.6	1.35825	1.0668	153.7	144.1	9,13
16.7	1.35842	1.0672	154.8	145.0	9,20
16.8	1.35858	1.0677	155.9	146.0	9,26
16.9	1.35874	1.0681	157.0	147.0	9,33
17.0	1.35890	1.0685	158.1	148.0	9,39
17.1	1.35907	1.0690	159.3	149.0	9,46
17.2	1.35923	1.0694	160.4	150.0	9,53
17.3	1.35939	1.0699	161.5	151.0	9,59
17.4	1.35955	1.0703	162.6	151.9	9,66
17.5	1.35972	1.0707	163.7	152.9	9,73
17.6	1.35988	1.0711	164.8	153.9	9,79
17.7	1.36004	1.0716	165.9	154.8	9,86
17.8	1.36020	1.0720	167.0	155.8	9,92
17.9	1.36036	1.0724	168.1	156.8	9,99
18.0	1.36053	1.0729	169.3	157.8	10,06
18.1	1.36070	1.0733	170.4	158.8	10,12
18.2	1.36086	1.0738	171.5	159.7	10,19
18.3	1.36102	1.0742	172.6	160.7	10,25
18.4	1.36119	1.0746	173.7	161.6	10,32
18.5	1.36136	1.0751	174.9	162.6	10,39
18.6	1.36152	1.0755	176.0	163.6	10,46
18.7	1.36169	1.0760	177.2	164.6	10,53
18.8	1.36185	1.0764	178.3	165.6	10,59
18.9	1.36201	1.0768	179.4	166.6	10,66
19.0	1.36217	1.0773	180.5	167.6	10,72
19.1	1.36234	1.0777	181.7	168.6	10,80
19.2	1.36251	1.0782	182.8	169.5	10,86
19.3	1.36267	1.0786	183.9	170.5	10,93
19.4	1.36284	1.0791	185.1	171.5	11,00
19.5	1.36301	1.0795	186.3	172.5	11,07
19.6	1.36318	1.0800	187.4	173.5	11,13
19.7	1.36335	1.0804	188.6	174.5	11,21
19.8	1.36351	1.0809	189.7	175.5	11,27
19.9	1.36367	1.0813	190.8	176.5	11,34

▼B

Sakkaroosi % (m/m)	Taitekerroin 20 °C:ssa	Tiheys 20 °C: ssa	Sokeria g/l	Sokeria g/kg	Alkoholipitoisu- us til-% 20 °C: ssa
20.0	1.36383	1.0817	191.9	177.4	11,40
20.1	1.36400	1.0822	193.1	178.4	11,47
20.2	1.36417	1.0826	194.2	179.4	11,54
20.3	1.36434	1.0831	195.3	180.4	11,60
20.4	1.36451	1.0835	196.5	181.4	11,67
20.5	1.36468	1.0840	197.7	182.3	11,75
20.6	1.36484	1.0844	198.8	183.3	11,81
20.7	1.36501	1.0849	200.0	184.3	11,88
20.8	1.36518	1.0853	201.1	185.3	11,96
20.9	1.36534	1.0857	202.2	186.2	12,01
21.0	1.36550	1.0862	203.3	187.2	12,08
21.1	1.36568	1.0866	204.5	188.2	12,15
21.2	1.36585	1.0871	205.7	189.2	12,22
21.3	1.36601	1.0875	206.8	190.2	12,29
21.4	1.36618	1.0880	207.9	191.1	12,35
21.5	1.36635	1.0884	209.1	192.1	12,42
21.6	1.36652	1.0889	210.3	193.1	12,49
21.7	1.36669	1.0893	211.4	194.1	12,56
21.8	1.36685	1.0897	212.5	195.0	12,63
21.9	1.36702	1.0902	213.6	196.0	12,69
22.0	1.36719	1.0906	214.8	196.9	12,76
22.1	1.36736	1.0911	216.0	198.0	12,83
22.2	1.36753	1.0916	217.2	199.0	12,90
22.3	1.36770	1.0920	218.3	199.9	12,97
22.4	1.36787	1.0925	219.5	200.9	13,04
22.5	1.36804	1.0929	220.6	201.8	13,11
22.6	1.36820	1.0933	221.7	202.8	13,17
22.7	1.36837	1.0938	222.9	203.8	13,24
22.8	1.36854	1.0943	224.1	204.8	13,31
22.9	1.36871	1.0947	225.2	205.8	13,38
23.0	1.36888	1.0952	226.4	206.7	13,45
23.1	1.36905	1.0956	227.6	207.7	13,52
23.2	1.36922	1.0961	228.7	208.7	13,59
23.3	1.36939	1.0965	229.9	209.7	13,66
23.4	1.36956	1.0970	231.1	210.7	13,73
23.5	1.36973	1.0975	232.3	211.6	13,80
23.6	1.36991	1.0979	233.4	212.6	13,87
23.7	1.37008	1.0984	234.6	213.6	13,94
23.8	1.37025	1.0988	235.8	214.6	14,01
23.9	1.37042	1.0993	237.0	215.6	14,08
24.0	1.37059	1.0998	238.2	216.6	14,15
24.1	1.37076	1.1007	239.3	217.4	14,22
24.2	1.37093	1.1011	240.3	218.2	14,28
24.3	1.37110	1.1016	241.6	219.4	14,35
24.4	1.37128	1.1022	243.0	220.5	14,44
24.5	1.37145	1.1026	244.0	221.3	14,50
24.6	1.37162	1.1030	245.0	222.1	14,56
24.7	1.37180	1.1035	246.4	223.2	14,64
24.8	1.37197	1.1041	247.7	224.4	14,72
24.9	1.37214	1.1045	248.7	225.2	14,78

▼B

Sakkaroosi % (m/m)	Taitekerroin 20 °C:ssa	Tiheys 20 °C: ssa	Sokeria g/l	Sokeria g/kg	Alkoholipitoisu- us til-% 20 °C: ssa
25.0	1.37232	1.1049	249.7	226.0	14,84
25.1	1.37249	1.1053	250.7	226.8	14,90
25.2	1.37266	1.1057	251.7	227.6	14,96
25.3	1.37283	1.1062	253.0	228.7	15,03
25.4	1.37300	1.1068	254.4	229.9	15,11
25.5	1.37317	1.1072	255.4	230.7	15,17
25.6	1.37335	1.1076	256.4	231.5	15,23
25.7	1.37353	1.1081	257.8	232.6	15,32
25.8	1.37370	1.1087	259.1	233.7	15,39
25.9	1.37387	1.1091	260.1	234.5	15,45
26.0	1.37405	1.1095	261.1	235.3	15,51
26.1	1.37423	1.1100	262.5	236.4	15,60
26.2	1.37440	1.1106	263.8	237.5	15,67
26.3	1.37457	1.1110	264.8	238.3	15,73
26.4	1.37475	1.1114	265.8	239.2	15,79
26.5	1.37493	1.1119	267.2	240.3	15,88
26.6	1.37510	1.1125	268.5	241.4	15,95
26.7	1.37528	1.1129	269.5	242.2	16,01
26.8	1.37545	1.1133	270.5	243.0	16,07
26.9	1.37562	1.1138	271.8	244.1	16,15
27.0	1.37580	1.1144	273.2	245.2	16,23
27.1	1.37598	1.1148	274.2	246.0	16,29
27.2	1.37615	1.1152	275.2	246.8	16,35
27.3	1.37632	1.1157	276.5	247.9	16,43
27.4	1.37650	1.1163	277.9	249.0	16,51
27.5	1.37667	1.1167	278.9	249.8	16,57
27.6	1.37685	1.1171	279.9	250.6	16,63
27.7	1.37703	1.1176	281.3	251.6	16,71
27.8	1.37721	1.1182	282.6	252.7	16,79
27.9	1.37739	1.1186	283.6	253.5	16,85
28.0	1.37757	1.1190	284.6	254.3	16,91
28.1	1.37775	1.1195	286.0	255.4	16,99
28.2	1.37793	1.1201	287.3	256.5	17,07
28.3	1.37810	1.1205	288.3	257.3	17,13
28.4	1.37828	1.1209	289.3	258.1	17,19
28.5	1.37846	1.1214	290.7	259.2	17,27
28.6	1.37863	1.1220	292.0	260.3	17,35
28.7	1.37881	1.1224	293.0	261.0	17,41
28.8	1.37899	1.1228	294.0	261.8	17,47
28.9	1.37917	1.1233	295.3	262.9	17,55
29.0	1.37935	1.1239	296.7	264.0	17,63
29.1	1.37953	1.1244	298.1	265.1	17,71
29.2	1.37971	1.1250	299.4	266.1	17,79
29.3	1.37988	1.1254	300.4	266.9	17,85
29.4	1.38006	1.1258	301.4	267.7	17,91
29.5	1.38024	1.1263	302.8	268.8	17,99
29.6	1.38042	1.1269	304.1	269.9	18,07
29.7	1.38060	1.1273	305.1	270.6	18,13
29.8	1.38078	1.1277	306.1	271.4	18,19
29.9	1.38096	1.1282	307.4	272.5	18,26

▼B

Sakkaroosi % (m/m)	Taitekerroin 20 °C:ssa	Tiheys 20 °C: ssa	Sokeria g/l	Sokeria g/kg	Alkoholipitoisu- us til-% 20 °C: ssa
30.0	1.38114	1.1288	308.8	273.6	18,35
30.1	1.38132	1.1293	310.0	274.5	18,42
30.2	1.38150	1.1298	311.2	275.5	18,49
30.3	1.38168	1.1302	312.4	276.4	18,56
30.4	1.38186	1.1307	313.6	277.3	18,63
30.5	1.38204	1.1312	314.8	278.3	18,70
30.6	1.38222	1.1317	316.0	279.2	18,77
30.7	1.38240	1.1322	317.2	280.2	18,85
30.8	1.38258	1.1327	318.4	281.1	18,92
30.9	1.38276	1.1332	319.6	282.0	18,99
31.0	1.38294	1.1336	320.8	283.0	19,06
31.1	1.38312	1.1341	322.0	283.9	19,13
31.2	1.38330	1.1346	323.2	284.9	19,20
31.3	1.38349	1.1351	324.4	285.8	19,27
31.4	1.38367	1.1356	325.6	286.8	19,35
31.5	1.38385	1.1361	326.8	287.7	19,42
31.6	1.38403	1.1366	328.1	288.6	19,49
31.7	1.38421	1.1371	329.3	289.6	19,56
31.8	1.38440	1.1376	330.5	290.5	19,64
31.9	1.38458	1.1380	331.7	291.5	19,71
32.0	1.38476	1.1385	332.9	292.4	19,78
32.1	1.38494	1.1391	334.2	293.4	19,86
32.2	1.38513	1.1396	335.5	294.4	19,93
32.3	1.38531	1.1401	336.7	295.4	20,00
32.4	1.38550	1.1406	338.0	296.4	20,08
32.5	1.38568	1.1411	339.3	297.3	20,16
32.6	1.38586	1.1416	340.6	298.3	20,24
32.7	1.38605	1.1422	341.9	299.3	20,31
32.8	1.38623	1.1427	343.1	300.3	20,38
32.9	1.38642	1.1432	344.4	301.3	20,46
33.0	1.38660	1.1437	345.7	302.3	20,54
33.1	1.38678	1.1442	346.9	303.2	20,61
33.2	1.38697	1.1447	348.1	304.1	20,68
33.3	1.38715	1.1452	349.3	305.0	20,75
33.4	1.38734	1.1457	350.5	305.9	20,82
33.5	1.38753	1.1461	351.7	306.9	20,90
33.6	1.38771	1.1466	352.9	307.8	20,97
33.7	1.38790	1.1471	354.1	308.7	21,04
33.8	1.38808	1.1476	355.3	309.6	21,11
33.9	1.38827	1.1481	356.5	310.5	21,18
34.0	1.38845	1.1486	357.7	311.4	21,25
34.1	1.38864	1.1491	359.0	312.4	21,33
34.2	1.38882	1.1496	360.3	313.4	21,41
34.3	1.38901	1.1501	361.5	314.3	21,48
34.4	1.38919	1.1506	362.8	315.3	21,55
34.5	1.38938	1.1512	364.1	316.3	21,63
34.6	1.38957	1.1517	365.4	317.3	21,71
34.7	1.38975	1.1522	366.7	318.2	21,79
34.8	1.38994	1.1527	367.9	319.2	21,86
34.9	1.39012	1.1532	369.2	320.2	21,94

▼B

Sakkaroosi % (m/m)	Taitekerroin 20 °C:ssa	Tiheys 20 °C: ssa	Sokeria g/l	Sokeria g/kg	Alkoholipitoisu- us til-% 20 °C: ssa
35.0	1.39031	1.1537	370.5	321.1	22,01
35.1	1.39050	1.1543	371.8	322.1	22,09
35.2	1.39069	1.1548	373.0	323.0	22,16
35.3	1.39087	1.1553	374.3	324.0	22,24
35.4	1.39106	1.1558	375.6	325.0	22,32
35.5	1.39125	1.1563	376.9	325.9	22,39
35.6	1.39144	1.1568	378.1	326.9	22,45
35.7	1.39163	1.1573	379.4	327.8	22,54
35.8	1.39181	1.1579	380.7	328.8	22,62
35.9	1.39200	1.1584	381.9	329.7	22,69
36.0	1.39219	1.1589	383.2	330.7	22,77
36.1	1.39238	1.1594	384.5	331.6	22,85
36.2	1.39257	1.1599	385.8	332.6	22,92
36.3	1.39276	1.1604	387.0	333.5	22,99
36.4	1.39295	1.1610	388.3	334.5	23,07
36.5	1.39314	1.1615	389.6	335.4	23,15
36.6	1.39332	1.1620	390.9	336.4	23,22
36.7	1.39351	1.1625	392.2	337.3	23,30
36.8	1.39370	1.1630	393.4	338.3	23,37
36.9	1.39389	1.1635	394.7	339.2	23,45
37.0	1.39408	1.1641	396.0	340.2	23,53
37.1	1.39427	1.1646	397.3	341.1	23,60
37.2	1.39446	1.1651	398.6	342.1	23,68
37.3	1.39465	1.1656	399.8	343.0	23,75
37.4	1.39484	1.1661	401.1	344.0	23,83
37.5	1.39504	1.1666	402.4	344.9	23,91
37.6	1.39523	1.1672	403.7	345.9	23,99
37.7	1.39542	1.1677	405.0	346.8	24,06
37.8	1.39561	1.1682	406.2	347.7	24,13
37.9	1.39580	1.1687	407.5	348.7	24,21
38.0	1.39599	1.1692	408.8	349.6	24,29
38.1	1.39618	1.1698	410.1	350.6	24,37
38.2	1.39637	1.1703	411.3	351.5	24,44
38.3	1.39657	1.1708	412.6	352.4	24,51
38.4	1.39676	1.1713	413.9	353.4	24,59
38.5	1.39695	1.1718	415.2	354.3	24,67
38.6	1.39714	1.1723	416.4	355.2	24,74
38.7	1.39733	1.1728	417.7	356.1	24,82
38.8	1.39753	1.1733	419.0	357.1	24,90
38.9	1.39772	1.1739	420.2	358.0	24,97
39.0	1.39791	1.1744	421.5	358.9	25,04
39.1	1.39810	1.1749	422.8	359.8	25,12
39.2	1.39830	1.1754	424.1	360.8	25,20
39.3	1.39849	1.1759	425.3	361.7	25,27
39.4	1.39869	1.1764	426.6	362.6	25,35
39.5	1.39888	1.1770	427.9	363.6	25,42
39.6	1.39907	1.1775	429.2	364.5	25,50
39.7	1.39927	1.1780	430.5	365.4	25,58
39.8	1.39946	1.1785	431.7	366.3	25,65
39.9	1.39966	1.1790	433.0	367.3	25,73

▼B

Sakkaroosi % (m/m)	Taitekerroin 20 °C:ssa	Tiheys 20 °C: ssa	Sokeria g/l	Sokeria g/kg	Alkoholipitoisu- us til-% 20 °C: ssa
40.0	1.39985	1.1796	434.3	368.2	25,80
40.1	1.40004	1.1801	435.6	369.2	25,88
40.2	1.40024	1.1806	437.0	370.1	25,96
40.3	1.40043	1.1812	438.3	371.1	26,04
40.4	1.40063	1.1817	439.7	372.1	26,12
40.5	1.40083	1.1823	441.0	373.0	26,20
40.6	1.40102	1.1828	442.3	374.0	26,28
40.7	1.40122	1.1833	443.7	374.9	26,36
40.8	1.40141	1.1839	445.0	375.9	26,44
40.9	1.40161	1.1844	446.4	376.9	26,52
41.0	1.40180	1.1850	447.7	377.8	26,60
41.1	1.40200	1.1855	449.0	378.7	26,68
41.2	1.40219	1.1860	450.2	379.6	26,75
41.3	1.40239	1.1865	451.5	380.5	26,83
41.4	1.40259	1.1870	452.8	381.4	26,90
41.5	1.40279	1.1875	454.1	382.3	26,98
41.6	1.40298	1.1881	455.3	383.2	27,05
41.7	1.40318	1.1886	456.6	384.2	27,13
41.8	1.40338	1.1891	457.9	385.1	27,21
41.9	1.40357	1.1896	459.1	386.0	27,28
42.0	1.40377	1.1901	460.4	386.9	27,35
42.1	1.40397	1.1907	461.7	387.8	27,43
42.2	1.40417	1.1912	463.1	388.8	27,52
42.3	1.40436	1.1917	464.4	389.7	27,59
42.4	1.40456	1.1923	465.8	390.7	27,68
42.5	1.40476	1.1928	467.2	391.6	27,76
42.6	1.40496	1.1934	468.5	392.6	27,84
42.7	1.40516	1.1939	469.9	393.5	27,92
42.8	1.40535	1.1945	471.2	394.5	28,00
42.9	1.40555	1.1950	472.6	395.4	28,08
43.0	1.40575	1.1956	473.9	396.4	28,16
43.1	1.40595	1.1961	475.2	397.3	28,23
43.2	1.40615	1.1967	476.6	398.3	28,32
43.3	1.40635	1.1972	477.9	399.2	28,40
43.4	1.40655	1.1977	479.3	400.1	28,48
43.5	1.40675	1.1983	480.6	401.1	28,56
43.6	1.40695	1.1988	481.9	402.0	28,63
43.7	1.40715	1.1994	483.3	402.9	28,72
43.8	1.40735	1.1999	484.6	403.9	28,79
43.9	1.40755	1.2005	486.0	404.8	28,88
44.0	1.40775	1.2010	487.3	405.7	28,95
44.1	1.40795	1.2015	488.6	406.7	29,03
44.2	1.40815	1.2021	490.0	407.6	29,11
44.3	1.40836	1.2026	491.3	408.5	29,19
44.4	1.40856	1.2032	492.7	409.5	29,27
44.5	1.40876	1.2037	494.0	410.4	29,35
44.6	1.40896	1.2042	495.3	411.3	29,43
44.7	1.40916	1.2048	496.7	412.3	29,51
44.8	1.40937	1.2053	498.0	413.2	29,59
44.9	1.40957	1.2059	499.4	414.1	29,67

▼B

Sakkaroosi % (m/m)	Taitekerroin 20 °C:ssa	Tiheys 20 °C: ssa	Sokeria g/l	Sokeria g/kg	Alkoholipitoisu- us til-% 20 °C: ssa
45.0	1.40977	1.2064	500.7	415.0	29,75
45.1	1.40997	1.2070	502.1	416.0	29,83
45.2	1.41018	1.2076	503.5	417.0	29,92
45.3	1.41038	1.2081	504.9	417.9	30,00
45.4	1.41058	1.2087	506.3	418.9	30,08
45.5	1.41079	1.2093	507.8	419.9	30,17
45.6	1.41099	1.2098	509.2	420.9	30,25
45.7	1.41119	1.2104	510.6	421.8	30,34
45.8	1.41139	1.2110	512.0	422.8	30,42
45.9	1.41160	1.2115	513.4	423.7	30,50
46.0	1.41180	1.2121	514.8	424.7	30,59
46.1	1.41200	1.2127	516.1	425.6	30,66
46.2	1.41221	1.2132	517.5	426.5	30,75
46.3	1.41241	1.2137	518.8	427.5	30,82
46.4	1.41262	1.2143	520.2	428.4	30,91
46.5	1.41282	1.2148	521.5	429.3	30,99
46.6	1.41302	1.2154	522.8	430.2	31,06
46.7	1.41323	1.2159	524.2	431.1	31,15
46.8	1.41343	1.2165	525.5	432.0	31,22
46.9	1.41364	1.2170	526.9	432.9	31,31
47.0	1.41384	1.2175	528.2	433.8	31,38
47.1	1.41405	1.2181	529.6	434.8	31,47
47.2	1.41425	1.2187	531.0	435.7	31,55
47.3	1.41446	1.2192	532.4	436.7	31,63
47.4	1.41466	1.2198	533.8	437.6	31,72
47.5	1.41487	1.2204	535.3	438.6	31,81
47.6	1.41508	1.2210	536.7	439.5	31,89
47.7	1.41528	1.2215	538.1	440.5	31,97
47.8	1.41549	1.2221	539.5	441.4	32,05
47.9	1.41569	1.2227	540.9	442.4	32,14
48.0	1.41590	1.2232	542.3	443.3	32,22
48.1	1.41611	1.2238	543.6	444.2	32,30
48.2	1.41632	1.2243	545.0	445.1	32,38
48.3	1.41652	1.2249	546.3	446.0	32,46
48.4	1.41673	1.2254	547.7	446.9	32,59
48.5	1.41694	1.2260	549.1	447.8	32,63
48.6	1.41715	1.2265	550.4	448.7	32,70
48.7	1.41736	1.2271	551.8	449.7	32,79
48.8	1.41756	1.2276	553.1	450.6	32,86
48.9	1.41777	1.2282	554.5	451.4	32,95
49.0	1.41798	1.2287	555.8	452.3	33,02
49.1	1.41819	1.2293	557.2	453.3	33,11
49.2	1.41840	1.2298	558.6	454.2	33,19
49.3	1.41861	1.2304	560.0	455.1	33,27
49.4	1.41882	1.2310	561.4	456.1	33,36
49.5	1.41903	1.2315	562.8	457.0	33,44
49.6	1.41924	1.2321	564.2	457.9	33,52
49.7	1.41945	1.2327	565.6	458.8	33,61
49.8	1.41966	1.2332	567.0	459.8	33,69
49.9	1.41987	1.2338	568.4	460.7	33,77

▼B

Sakkaroosi % (m/m)	Taitekerroin 20 °C:ssa	Tiheys 20 °C: ssa	Sokeria g/l	Sokeria g/kg	Alkoholipitoisu- us til-% 20 °C: ssa
50.0	1.42008	1.2344	569.8	461.6	33,86
50.1	1.42029	1.2349	571.2	462.5	33,94
50.2	1.42050	1.2355	572.6	463.5	34,02
50.3	1.42071	1.2361	574.0	464.4	34,10
50.4	1.42092	1.2366	575.4	465.3	34,19
50.5	1.42114	1.2372	576.9	466.2	34,28
50.6	1.42135	1.2378	578.3	467.2	34,36
50.7	1.42156	1.2384	579.7	468.1	34,44
50.8	1.42177	1.2389	581.1	469.0	34,53
50.9	1.42198	1.2395	582.5	469.9	34,61
51.0	1.42219	1.2401	583.9	470.9	34,69
51.1	1.42240	1.2407	585.4	471.8	34,78
51.2	1.42261	1.2413	586.9	472.8	34,87
51.3	1.42283	1.2419	588.3	473.8	34,95
51.4	1.42304	1.2425	589.8	474.7	35,04
51.5	1.42325	1.2431	591.3	475.7	35,13
51.6	1.42346	1.2437	592.8	476.6	35,22
51.7	1.42367	1.2443	594.3	477.6	35,31
51.8	1.42389	1.2449	595.7	478.6	35,39
51.9	1.42410	1.2455	597.2	479.5	35,48
52.0	1.42431	1.2461	598.7	480.5	35,57
52.1	1.42452	1.2466	600.1	481.4	35,65
52.2	1.42474	1.2472	601.5	482.3	35,74
52.3	1.42495	1.2478	602.9	483.2	35,82
52.4	1.42517	1.2483	604.3	484.1	35,91
52.5	1.42538	1.2489	605.8	485.0	35,99
52.6	1.42559	1.2495	607.2	485.9	36,08
52.7	1.42581	1.2500	608.6	486.8	36,16
52.8	1.42602	1.2506	610.0	487.7	36,24
52.9	1.42624	1.2512	611.4	488.6	36,33
53.0	1.42645	1.2518	612.8	489.6	36,41
53.1	1.42666	1.2524	614.3	490.5	36,50
53.2	1.42686	1.2530	615.8	491.4	36,59
53.3	1.42707	1.2536	617.2	492.4	36,67
53.4	1.42727	1.2542	618.7	493.3	36,76
53.5	1.42748	1.2548	620.2	494.3	36,85
53.6	1.42769	1.2554	621.7	495.2	36,94
53.7	1.42789	1.2560	623.2	496.2	37,03
53.8	1.42810	1.2566	624.6	497.1	37,11
53.9	1.42830	1.2571	626.1	498.0	37,20
54.0	1.42851	1.2577	627.6	499.0	37,29
54.1	1.42874	1.2583	629.0	499.9	37,37
54.2	1.42897	1.2589	630.4	500.8	37,45
54.3	1.42919	1.2595	631.8	501.7	37,54
54.4	1.42942	1.2600	633.2	502.6	37,62
54.5	1.42965	1.2606	634.7	503.5	37,71
54.6	1.42988	1.2612	636.1	504.3	37,79
54.7	1.43011	1.2617	637.5	505.2	37,88
54.8	1.43033	1.2623	638.9	506.1	37,96
54.9	1.43056	1.2629	640.3	507.0	38,04

▼B

Sakkaroosi % (m/m)	Taitekerroin 20 °C:ssa	Tiheys 20 °C: ssa	Sokeria g/l	Sokeria g/kg	Alkoholipitoisu- us til-% 20 °C: ssa
55.0	1.43079	1.2635	641.7	507.9	38,11
55.1	1.43101	1.2640	643.2	508.8	38,22
55.2	1.43123	1.2646	644.6	509.7	38,30
55.3	1.43145	1.2652	646.1	510.7	38,39
55.4	1.43167	1.2658	647.6	511.6	38,48
55.5	1.43189	1.2664	649.1	512.5	38,57
55.6	1.43210	1.2670	650.5	513.4	38,65
55.7	1.43232	1.2676	652.0	514.3	38,74
55.8	1.43254	1.2682	653.5	515.3	38,83
55.9	1.43276	1.2688	654.9	516.2	38,91
56.0	1.43298	1.2694	656.4	517.1	39,00
56.1	1.43320	1.2700	657.9	518.0	39,09
56.2	1.43342	1.2706	659.4	518.9	39,18
56.3	1.43364	1.2712	660.8	519.9	39,26
56.4	1.43386	1.2718	662.3	520.8	39,35
56.5	1.43409	1.2724	663.8	521.7	39,44
56.6	1.43431	1.2730	665.3	522.6	39,53
56.7	1.43453	1.2736	666.8	523.5	39,62
56.8	1.43475	1.2742	668.2	524.4	39,70
56.9	1.43497	1.2748	669.7	525.4	39,79
57.0	1.43519	1.2754	671.2	526.3	39,88
57.1	1.43541	1.2760	672.7	527.2	39,97
57.2	1.43563	1.2766	674.3	528.2	40,06
57.3	1.43586	1.2773	675.8	529.1	40,15
57.4	1.43608	1.2779	677.4	530.1	40,25
57.5	1.43630	1.2785	678.9	531.0	40,34
57.6	1.43652	1.2791	680.4	532.0	40,43
57.7	1.43674	1.2797	682.0	532.9	40,52
57.8	1.43697	1.2804	683.5	533.8	40,61
57.9	1.43719	1.2810	685.1	534.8	40,70
58.0	1.43741	1.2816	686.6	535.7	40,80
58.1	1.43763	1.2822	688.1	536.6	40,88
58.2	1.43786	1.2828	689.6	537.5	40,97
58.3	1.43808	1.2834	691.0	538.4	41,06
58.4	1.43831	1.2840	692.5	539.3	41,14
58.5	1.43854	1.2846	694.0	540.2	41,23
58.6	1.43876	1.2852	695.5	541.1	41,32
58.7	1.43899	1.2858	697.0	542.0	41,41
58.8	1.43921	1.2864	698.4	542.9	41,50
58.9	1.43944	1.2870	699.9	543.8	41,58
59.0	1.43966	1.2876	701.4	544.7	41,67
59.1	1.43989	1.2882	702.9	545.7	41,76
59.2	1.44011	1.2888	704.5	546.6	41,86
59.3	1.44034	1.2895	706.0	547.5	41,95
59.4	1.44056	1.2901	707.6	548.5	42,04
59.5	1.44079	1.2907	709.1	549.4	42,13
59.6	1.44102	1.2913	710.6	550.3	42,22
59.7	1.44124	1.2920	712.2	551.2	42,32
59.8	1.44147	1.2926	713.7	552.2	42,41
59.9	1.44169	1.2932	715.3	553.1	42,50

▼B

Sakkaroosi % (m/m)	Taitekerroin 20 °C:ssa	Tiheys 20 °C: ssa	Sokeria g/l	Sokeria g/kg	Alkoholipitoisu- us til-% 20 °C: ssa
60.0	1.44192	1.2938	716.8	554.0	42,59
60.1	1.44215	1.2944	718.3	554.9	42,68
60.2	1.44237	1.2950	719.8	555.8	42,77
60.3	1.44260	1.2956	721.2	556.7	42,85
60.4	1.44283	1.2962	722.7	557.6	42,94
60.5	1.44306	1.2968	724.2	558.4	43,03
60.6	1.44328	1.2974	725.7	559.3	43,12
60.7	1.44351	1.2980	727.2	560.2	43,21
60.8	1.44374	1.2986	728.6	561.1	43,29
60.9	1.44396	1.2992	730.1	562.0	43,38
61.0	1.44419	1.2998	731.6	562.8	43,47
61.1	1.44442	1.3004	733.1	563.8	43,56
61.2	1.44465	1.3011	734.7	564.7	43,65
61.3	1.44488	1.3017	736.2	565.6	43,74
61.4	1.44511	1.3023	737.8	566.5	43,84
61.5	1.44533	1.3030	739.4	567.4	43,93
61.6	1.44556	1.3036	740.9	568.4	44,02
61.7	1.44579	1.3042	742.5	569.3	44,12
61.8	1.44602	1.3048	744.0	570.2	44,21
61.9	1.44625	1.3055	745.6	571.1	44,30
62.0	1.44648	1.3061	747.1	572.0	44,39
62.1	1.44671	1.3067	748.6	572.9	44,48
62.2	1.44694	1.3073	750.2	573.8	44,57
62.3	1.44717	1.3080	751.7	574.7	44,66
62.4	1.44740	1.3086	753.3	575.6	44,76
62.5	1.44764	1.3092	754.8	576.5	44,85
62.6	1.44787	1.3098	756.3	577.4	44,94
62.7	1.44810	1.3104	757.9	578.3	45,03
62.8	1.44833	1.3111	759.4	579.2	45,12
62.9	1.44856	1.3117	761.0	580.1	45,21
63.0	1.44879	1.3123	762.5	581.0	45,31
63.1	1.44902	1.3130	764.1	582.0	45,40
63.2	1.44926	1.3136	765.7	582.9	45,49
63.3	1.44949	1.3143	767.3	583.8	45,59
63.4	1.44972	1.3149	768.9	584.8	45,69
63.5	1.44996	1.3156	770.6	585.7	45,79
63.6	1.45019	1.3162	772.2	586.6	45,88
63.7	1.45042	1.3169	773.8	587.6	45,98
63.8	1.45065	1.3175	775.4	588.5	46,07
63.9	1.45089	1.3182	777.0	589.4	46,17
64.0	1.45112	1.3188	778.6	590.4	46,26
64.1	1.45135	1.3195	780.1	591.3	46,35
64.2	1.45159	1.3201	781.7	592.1	46,45
64.3	1.45183	1.3207	783.2	593.0	46,53
64.4	1.45206	1.3213	784.8	593.9	46,63
64.5	1.45230	1.3219	786.3	594.8	46,72
64.6	1.45253	1.3226	787.8	595.7	46,81
64.7	1.45276	1.3232	789.4	596.6	46,90
64.8	1.45300	1.3238	790.9	597.5	46,99
64.9	1.45324	1.3244	792.5	598.3	47,09

▼B

Sakkaroosi % (m/m)	Taitekerroin 20 °C:ssa	Tiheys 20 °C: ssa	Sokeria g/l	Sokeria g/kg	Alkoholipitoisu- us til-% 20 °C: ssa
65.0	1.45347	1.3251	794.0	599.2	47,18
65.1	1.45371	1.3257	795.6	600.1	47,27
65.2	1.45394	1.3264	797.2	601.1	47,37
65.3	1.45418	1.3270	798.8	602.0	47,46
65.4	1.45441	1.3277	800.4	602.9	47,56
65.5	1.45465	1.3283	802.1	603.8	47,66
65.6	1.45489	1.3290	803.7	604.7	47,75
65.7	1.45512	1.3296	805.3	605.6	47,85
65.8	1.45536	1.3303	806.9	606.6	47,94
65.9	1.45559	1.3309	808.5	607.5	48,04
66.0	1.45583	1.3316	810.1	608.4	48,13
66.1	1.45607	1.3322	811.6	609.3	48,22
66.2	1.45630	1.3328	813.2	610.1	48,32
66.3	1.45654	1.3335	814.8	611.0	48,41
66.4	1.45678	1.3341	816.3	611.9	48,50
66.5	1.45702	1.3347	817.9	612.8	48,60
66.6	1.45725	1.3353	819.4	613.6	48,69
66.7	1.45749	1.3360	820.9	614.5	48,77
66.8	1.45773	1.3366	822.5	615.4	48,87
66.9	1.45796	1.3372	824.1	616.2	48,97
67.0	1.45820	1.3378	825.6	617.1	49,05
67.1	1.45844	1.3385	827.2	618.0	49,15
67.2	1.45868	1.3391	828.8	618.9	49,24
67.3	1.45892	1.3398	830.4	619.8	49,34
67.4	1.45916	1.3404	832.0	620.7	49,43
67.5	1.45940	1.3411	833.7	621.6	49,53
67.6	1.45964	1.3418	835.3	622.5	49,63
67.7	1.45988	1.3424	836.9	623.4	49,73
67.8	1.46012	1.3431	838.5	624.3	49,82
67.9	1.46036	1.3437	840.1	625.2	49,92
68.0	1.46060	1.3444	841.7	626.1	50,01
68.1	1.46084	1.3450	843.4	627.0	50,11
68.2	1.46108	1.3457	845.1	628.0	50,21
68.3	1.46132	1.3464	846.7	628.9	50,31
68.4	1.46156	1.3471	848.4	629.8	50,41
68.5	1.46181	1.3478	850.1	630.8	50,51
68.6	1.46205	1.3484	851.8	631.7	50,61
68.7	1.46229	1.3491	853.5	632.6	50,71
68.8	1.46253	1.3498	855.1	633.5	50,81
68.9	1.46277	1.3505	856.8	634.5	50,91
69.0	1.46301	1.3512	858.5	635.4	51,01
69.1	1.46325	1.3518	860.1	636.3	51,10
69.2	1.46350	1.3525	861.7	637.2	51,20
69.3	1.46374	1.3531	863.3	638.0	51,29
69.4	1.46398	1.3538	864.9	638.9	51,39
69.5	1.46423	1.3544	866.6	639.8	51,49
69.6	1.46447	1.3551	868.2	640.7	51,58
69.7	1.46471	1.3557	869.8	641.6	51,68
69.8	1.46495	1.3564	871.4	642.4	51,78
69.9	1.46520	1.3570	873.0	643.3	51,87

▼B

Sakkaroosi % (m/m)	Taitekerroin 20 °C:ssa	Tiheys 20 °C: ssa	Sokeria g/l	Sokeria g/kg	Alkoholipitoisu- us til-% 20 °C: ssa
70.0	1.46544	1.3577	874.6	644.2	51,97
70.1	1.46568	1.3583	876.2	645.1	52,06
70.2	1.46593	1.3590	877.8	645.9	52,15
70.3	1.46618	1.3596	879.4	646.8	52,25
70.4	1.46642	1.3603	881.0	647.7	52,35
70.5	1.46667	1.3609	882.7	648.6	52,45
70.6	1.46691	1.3616	884.3	649.4	52,54
70.7	1.46715	1.3622	885.9	650.3	52,64
70.8	1.46740	1.3629	887.5	651.2	52,73
70.9	1.46765	1.3635	889.1	652.1	52,83
71.0	1.46789	1.3642	890.7	652.9	52,92
71.1	1.46814	1.3649	892.4	653.8	53,02
71.2	1.46838	1.3655	894.1	654.7	53,12
71.3	1.46863	1.3662	895.7	655.6	53,22
71.4	1.46888	1.3669	897.4	656.5	53,32
71.5	1.46913	1.3676	899.1	657.4	53,42
71.6	1.46937	1.3683	900.8	658.3	53,52
71.7	1.46962	1.3689	902.5	659.2	53,62
71.8	1.46987	1.3696	904.1	660.1	53,72
71.9	1.47011	1.3703	905.8	661.0	53,82
72.0	1.47036	1.3710	907.5	661.9	53,92
72.1	1.47061	1.3717	909.2	662.8	54,02
72.2	1.47086	1.3723	910.8	663.7	54,12
72.3	1.47110	1.3730	912.5	664.6	54,22
72.4	1.47135	1.3737	914.2	665.5	54,32
72.5	1.47160	1.3744	915.9	666.4	54,42
72.6	1.47185	1.3750	917.5	667.3	54,51
72.7	1.47210	1.3757	919.2	668.2	54,62
72.8	1.47234	1.3764	920.9	669.0	54,72
72.9	1.47259	1.3771	922.5	669.9	54,81
73.0	1.47284	1.3777	924.2	670.8	54,91
73.1	1.47309	1.3784	925.9	671.7	55,01
73.2	1.47334	1.3791	927.6	672.6	55,11
73.3	1.47359	1.3798	929.2	673.5	55,21
73.4	1.47384	1.3804	930.9	674.4	55,31
73.5	1.47409	1.3811	932.6	675.2	55,41
73.6	1.47434	1.3818	934.3	676.1	55,51
73.7	1.47459	1.3825	936.0	677.0	55,61
73.8	1.47484	1.3832	937.6	677.9	55,71
73.9	1.47509	1.3838	939.3	678.8	55,81
74.0	1.47534	1.3845	941.0	679.7	55,91
74.1	1.47559	1.3852	942.7	680.5	56,01
74.2	1.47584	1.3859	944.4	681.4	56,11
74.3	1.47609	1.3866	946.0	682.3	56,21
74.4	1.47634	1.3872	947.7	683.2	56,31
74.5	1.47660	1.3879	949.4	684.0	56,41
74.6	1.47685	1.3886	951.1	684.9	56,51
74.7	1.47710	1.3893	952.8	685.8	56,61
74.8	1.47735	1.3900	954.4	686.7	56,71
74.9	1.47760	1.3906	956.1	687.5	56,81



TAULUKKO III

Taulukossa esitetään puhdistetun tiivistetyn rypälemehun sokeripitoisuus ⁽¹⁾ grammoina litrassa ja grammoina kilogrammassa, joka on määritetty refraktometrillä, jossa asteikko on joko sakkaroosin massaprosentti 20 °C:ssa tai taitekerroin 20 °C:ssa. Myös tiheys 20 °C:ssa on esitetty.

Sakkaroosi % (m/m)	Taitekerroin 20 °C:ssa	Tiheys 20 °C: ssa	Sokeria g/l	Sokeria g/kg	Alkoholipitoisu- us til-% 20 °C: ssa
50.0	1.42008	1.2342	627.6	508.5	37,28
50.1	1.42029	1.2348	629.3	509.6	37,38
50.2	1.42050	1.2355	630.9	510.6	37,48
50.3	1.42071	1.2362	632.4	511.6	37,56
50.4	1.42092	1.2367	634.1	512.7	37,66
50.5	1.42113	1.2374	635.7	513.7	37,76
50.6	1.42135	1.2381	637.3	514.7	37,85
50.7	1.42156	1.2386	638.7	515.7	37,94
50.8	1.42177	1.2391	640.4	516.8	38,04
50.9	1.42198	1.2396	641.9	517.8	38,13
51.0	1.42219	1.2401	643.4	518.8	38,22
51.1	1.42240	1.2406	645.0	519.9	38,31
51.2	1.42261	1.2411	646.5	520.9	38,40
51.3	1.42282	1.2416	648.1	522.0	38,50
51.4	1.42304	1.2421	649.6	523.0	38,59
51.5	1.42325	1.2427	651.2	524.0	38,68
51.6	1.42347	1.2434	652.9	525.1	38,78
51.7	1.42368	1.2441	654.5	526.1	38,88
51.8	1.42389	1.2447	656.1	527.1	38,97
51.9	1.42410	1.2454	657.8	528.2	39,07
52.0	1.42432	1.2461	659.4	529.2	39,17
52.1	1.42453	1.2466	661.0	530.2	39,26
52.2	1.42475	1.2470	662.5	531.3	39,35
52.3	1.42496	1.2475	664.1	532.3	39,45
52.4	1.42517	1.2480	665.6	533.3	39,54
52.5	1.42538	1.2486	667.2	534.4	39,63
52.6	1.42560	1.2493	668.9	535.4	39,73
52.7	1.42581	1.2500	670.5	536.4	39,83
52.8	1.42603	1.2506	672.2	537.5	39,93
52.9	1.42624	1.2513	673.8	538.5	40,02
53.0	1.42645	1.2520	675.5	539.5	40,12
53.1	1.42667	1.2525	677.1	540.6	40,22
53.2	1.42689	1.2530	678.5	541.5	40,30
53.3	1.42711	1.2535	680.2	542.6	40,40
53.4	1.42733	1.2540	681.8	543.7	40,50
53.5	1.42754	1.2546	683.4	544.7	40,59
53.6	1.42776	1.2553	685.1	545.8	40,69
53.7	1.42797	1.2560	686.7	546.7	40,79
53.8	1.42819	1.2566	688.4	547.8	40,89
53.9	1.42840	1.2573	690.1	548.9	40,99
54.0	1.42861	1.2580	691.7	549.8	41,09
54.1	1.42884	1.2585	693.3	550.9	41,18
54.2	1.42906	1.2590	694.9	551.9	41,28
54.3	1.42927	1.2595	696.5	553.0	41,37
54.4	1.42949	1.2600	698.1	554.0	41,47
54.5	1.42971	1.2606	699.7	555.1	41,56
54.6	1.42993	1.2613	701.4	556.1	41,66
54.7	1.43014	1.2620	703.1	557.1	41,76
54.8	1.43036	1.2625	704.7	558.2	41,86
54.9	1.43058	1.2630	706.2	559.1	41,95

⁽¹⁾ Sokeripitoisuus ilmoitetaan inverttisokerina.

▼B

Sakkaroosi % (m/m)	Taitekerroin 20 °C:ssa	Tiheys 20 °C: ssa	Sokeria g/l	Sokeria g/kg	Alkoholipitoisu- us til-% 20 °C: ssa
55.0	1.43079	1.2635	707.8	560.2	42,04
55.1	1.43102	1.2639	709.4	561.3	42,14
55.2	1.43124	1.2645	711.0	562.3	42,23
55.3	1.43146	1.2652	712.7	563.3	42,33
55.4	1.43168	1.2659	714.4	564.3	42,44
55.5	1.43189	1.2665	716.1	565.4	42,54
55.6	1.43211	1.2672	717.8	566.4	42,64
55.7	1.43233	1.2679	719.5	567.5	42,74
55.8	1.43255	1.2685	721.1	568.5	42,83
55.9	1.43277	1.2692	722.8	569.5	42,93
56.0	1.43298	1.2699	724.5	570.5	43,04
56.1	1.43321	1.2703	726.1	571.6	43,13
56.2	1.43343	1.2708	727.7	572.6	43,23
56.3	1.43365	1.2713	729.3	573.7	43,32
56.4	1.43387	1.2718	730.9	574.7	43,42
56.5	1.43409	1.2724	732.6	575.8	43,52
56.6	1.43431	1.2731	734.3	576.8	43,62
56.7	1.43454	1.2738	736.0	577.8	43,72
56.8	1.43476	1.2744	737.6	578.8	43,81
56.9	1.43498	1.2751	739.4	579.9	43,92
57.0	1.43519	1.2758	741.1	580.9	44,02
57.1	1.43542	1.2763	742.8	582.0	44,12
57.2	1.43564	1.2768	744.4	583.0	44,22
57.3	1.43586	1.2773	745.9	584.0	44,31
57.4	1.43609	1.2778	747.6	585.1	44,41
57.5	1.43631	1.2784	749.3	586.1	44,51
57.6	1.43653	1.2791	751.0	587.1	44,61
57.7	1.43675	1.2798	752.7	588.1	44,71
57.8	1.43698	1.2804	754.4	589.2	44,81
57.9	1.43720	1.2810	756.1	590.2	44,91
58.0	1.43741	1.2818	757.8	591.2	45,01
58.1	1.43764	1.2822	759.5	592.3	45,11
58.2	1.43784	1.2827	761.1	593.4	45,21
58.3	1.43809	1.2832	762.6	594.3	45,30
58.4	1.43832	1.2837	764.3	595.4	45,40
58.5	1.43854	1.2843	766.0	596.4	45,50
58.6	1.43877	1.2850	767.8	597.5	45,61
58.7	1.43899	1.2857	769.5	598.5	45,71
58.8	1.43922	1.2863	771.1	599.5	45,80
58.9	1.43944	1.2869	772.9	600.6	45,91
59.0	1.43966	1.2876	774.6	601.6	46,01
59.1	1.43988	1.2882	776.3	602.6	46,11
59.2	1.44011	1.2889	778.1	603.7	46,22
59.3	1.44034	1.2896	779.8	604.7	46,32
59.4	1.44057	1.2902	781.6	605.8	46,43
59.5	1.44079	1.2909	783.3	606.8	46,53
59.6	1.44102	1.2916	785.2	607.9	46,64
59.7	1.44124	1.2921	786.8	608.9	46,74
59.8	1.44147	1.2926	788.4	609.9	46,83
59.9	1.44169	1.2931	790.0	610.9	46,93

▼B

Sakkaroosi % (m/m)	Taitekerroin 20 °C:ssa	Tiheys 20 °C: ssa	Sokeria g/l	Sokeria g/kg	Alkoholipitoisu- us til-% 20 °C: ssa
60.0	1.44192	1.2936	791.7	612.0	47,03
60.1	1.44215	1.2942	793.3	613.0	47,12
60.2	1.44238	1.2949	795.2	614.1	47,23
60.3	1.44260	1.2956	796.9	615.1	47,34
60.4	1.44283	1.2962	798.6	616.1	47,44
60.5	1.44305	1.2969	800.5	617.2	47,55
60.6	1.44328	1.2976	802.2	618.2	47,65
60.7	1.44351	1.2981	803.9	619.3	47,75
60.8	1.44374	1.2986	805.5	620.3	47,85
60.9	1.44397	1.2991	807.1	621.3	47,94
61.0	1.44419	1.2996	808.7	622.3	48,04
61.1	1.44442	1.3002	810.5	623.4	48,14
61.2	1.44465	1.3009	812.3	624.4	48,25
61.3	1.44488	1.3016	814.2	625.5	48,36
61.4	1.44511	1.3022	815.8	626.5	48,46
61.5	1.44534	1.3029	817.7	627.6	48,57
61.6	1.44557	1.3036	819.4	628.6	48,67
61.7	1.44580	1.3042	821.3	629.7	48,79
61.8	1.44603	1.3049	823.0	630.7	48,89
61.9	1.44626	1.3056	824.8	631.7	48,99
62.0	1.44648	1.3062	826.6	632.8	49,10
62.1	1.44672	1.3068	828.3	633.8	49,20
62.2	1.44695	1.3075	830.0	634.8	49,30
62.3	1.44718	1.3080	831.8	635.9	49,40
62.4	1.44741	1.3085	833.4	636.9	49,50
62.5	1.44764	1.3090	835.1	638.0	49,60
62.6	1.44787	1.3095	836.8	639.0	49,71
62.7	1.44810	1.3101	838.5	640.0	49,81
62.8	1.44833	1.3108	840.2	641.0	49,91
62.9	1.44856	1.3115	842.1	642.1	50,02
63.0	1.44879	1.3121	843.8	643.1	50,12
63.1	1.44902	1.3128	845.7	644.2	50,23
63.2	1.44926	1.3135	847.5	645.2	50,34
63.3	1.44949	1.3141	849.3	646.3	50,45
63.4	1.44972	1.3148	851.1	647.3	50,56
63.5	1.44995	1.3155	853.0	648.4	50,67
63.6	1.45019	1.3161	854.7	649.4	50,77
63.7	1.45042	1.3168	856.5	650.4	50,88
63.8	1.45065	1.3175	858.4	651.5	50,99
63.9	1.45088	1.3180	860.0	652.5	51,08
64.0	1.45112	1.3185	861.6	653.5	51,18
64.1	1.45135	1.3190	863.4	654.6	51,29
64.2	1.45158	1.3195	865.1	655.6	51,39
64.3	1.45181	1.3201	866.9	656.7	51,49
64.4	1.45205	1.3208	868.7	657.7	51,60
64.5	1.45228	1.3215	870.6	658.8	51,71
64.6	1.45252	1.3221	872.3	659.8	51,81
64.7	1.45275	1.3228	874.1	660.8	51,92
64.8	1.45299	1.3235	876.0	661.9	52,03
64.9	1.45322	1.3241	877.8	662.9	52,14

▼B

Sakkaroosi % (m/m)	Taitekerroin 20 °C:ssa	Tiheys 20 °C: ssa	Sokeria g/l	Sokeria g/kg	Alkoholipitoisu- us til-% 20 °C: ssa
65.0	1.45347	1.3248	879.7	664.0	52,25
65.1	1.45369	1.3255	881.5	665.0	52,36
65.2	1.45393	1.3261	883.2	666.0	52,46
65.3	1.45416	1.3268	885.0	667.0	52,57
65.4	1.45440	1.3275	886.9	668.1	52,68
65.5	1.45463	1.3281	888.8	669.2	52,79
65.6	1.45487	1.3288	890.6	670.2	52,90
65.7	1.45510	1.3295	892.4	671.2	53,01
65.8	1.45534	1.3301	894.2	672.3	53,12
65.9	1.45557	1.3308	896.0	673.3	53,22
66.0	1.45583	1.3315	898.0	674.4	53,34
66.1	1.45605	1.3320	899.6	675.4	53,44
66.2	1.45629	1.3325	901.3	676.4	53,54
66.3	1.45652	1.3330	903.1	677.5	53,64
66.4	1.45676	1.3335	904.8	678.5	53,75
66.5	1.45700	1.3341	906.7	679.6	53,86
66.6	1.45724	1.3348	908.5	680.6	53,96
66.7	1.45747	1.3355	910.4	681.7	54,08
66.8	1.45771	1.3361	912.2	682.7	54,18
66.9	1.45795	1.3367	913.9	683.7	54,29
67.0	1.45820	1.3374	915.9	684.8	54,40
67.1	1.45843	1.3380	917.6	685.8	54,51
67.2	1.45867	1.3387	919.6	686.9	54,62
67.3	1.45890	1.3395	921.4	687.9	54,73
67.4	1.45914	1.3400	923.1	688.9	54,83
67.5	1.45938	1.3407	925.1	690.0	54,95
67.6	1.45962	1.3415	927.0	691.0	55,06
67.7	1.45986	1.3420	928.8	692.1	55,17
67.8	1.46010	1.3427	930.6	693.1	55,28
67.9	1.46034	1.3434	932.6	694.2	55,40
68.0	1.46060	1.3440	934.4	695.2	55,50
68.1	1.46082	1.3447	936.2	696.2	55,61
68.2	1.46106	1.3454	938.0	697.2	55,72
68.3	1.46130	1.3460	939.9	698.3	55,83
68.4	1.46154	1.3466	941.8	699.4	55,94
68.5	1.46178	1.3473	943.7	700.4	56,06
68.6	1.46202	1.3479	945.4	701.4	56,16
68.7	1.46226	1.3486	947.4	702.5	56,28
68.8	1.46251	1.3493	949.2	703.5	56,38
68.9	1.46275	1.3499	951.1	704.6	56,50
69.0	1.46301	1.3506	953.0	705.6	56,61
69.1	1.46323	1.3513	954.8	706.6	56,72
69.2	1.46347	1.3519	956.7	707.7	56,83
69.3	1.46371	1.3526	958.6	708.7	56,94
69.4	1.46396	1.3533	960.6	709.8	57,06
69.5	1.46420	1.3539	962.4	710.8	57,17
69.6	1.46444	1.3546	964.3	711.9	57,28
69.7	1.46468	1.3553	966.2	712.9	57,39
69.8	1.46493	1.3560	968.2	714.0	57,51
69.9	1.46517	1.3566	970.0	715.0	57,62

▼B

Sakkaroosi % (m/m)	Taitekerroin 20 °C:ssa	Tiheys 20 °C: ssa	Sokeria g/l	Sokeria g/kg	Alkoholipitoisu- us til-% 20 °C: ssa
70.0	1.46544	1.3573	971.8	716.0	57,72
70.1	1.46565	1.3579	973.8	717.1	57,84
70.2	1.46590	1.3586	975.6	718.1	57,95
70.3	1.46614	1.3593	977.6	719.2	58,07
70.4	1.46639	1.3599	979.4	720.2	58,18
70.5	1.46663	1.3606	981.3	721.2	58,29
70.6	1.46688	1.3613	983.3	722.3	58,41
70.7	1.46712	1.3619	985.2	723.4	58,52
70.8	1.46737	1.3626	987.1	724.4	58,63
70.9	1.46761	1.3633	988.9	725.4	58,74
71.0	1.46789	1.3639	990.9	726.5	58,86
71.1	1.46810	1.3646	992.8	727.5	58,97
71.2	1.46835	1.3653	994.8	728.6	59,09
71.3	1.46859	1.3659	996.6	729.6	59,20
71.4	1.46884	1.3665	998.5	730.7	59,31
71.5	1.46908	1.3672	1 000.4	731.7	59,42
71.6	1.46933	1.3678	1 002.2	732.7	59,53
71.7	1.46957	1.3685	1 004.2	733.8	59,65
71.8	1.46982	1.3692	1 006.1	734.8	59,76
71.9	1.47007	1.3698	1 008.0	735.9	59,88
72.0	1.47036	1.3705	1 009.9	736.9	59,99
72.1	1.47056	1.3712	1 012.0	738.0	60,11
72.2	1.47081	1.3718	1 013.8	739.0	60,22
72.3	1.47106	1.3725	1 015.7	740.0	60,33
72.4	1.47131	1.3732	1 017.7	741.1	60,45
72.5	1.47155	1.3738	1 019.5	742.1	60,56
72.6	1.47180	1.3745	1 021.5	743.2	60,68
72.7	1.47205	1.3752	1 023.4	744.2	60,79
72.8	1.47230	1.3758	1 025.4	745.3	60,91
72.9	1.47254	1.3765	1 027.3	746.3	61,02
73.0	1.47284	1.3772	1 029.3	747.4	61,14
73.1	1.47304	1.3778	1 031.2	748.4	61,25
73.2	1.47329	1.3785	1 033.2	749.5	61,37
73.3	1.47354	1.3792	1 035.1	750.5	61,48
73.4	1.47379	1.3798	1 037.1	751.6	61,60
73.5	1.47404	1.3805	1 039.0	752.6	61,72
73.6	1.47429	1.3812	1 040.9	753.6	61,83
73.7	1.47454	1.3818	1 042.8	754.7	61,94
73.8	1.47479	1.3825	1 044.8	755.7	62,06
73.9	1.47504	1.3832	1 046.8	756.8	62,18
74.0	1.47534	1.3838	1 048.6	757.8	62,28
74.1	1.47554	1.3845	1 050.7	758.9	62,41
74.2	1.47579	1.3852	1 052.6	759.9	62,52
74.3	1.47604	1.3858	1 054.6	761.0	62,64
74.4	1.47629	1.3865	1 056.5	762.0	62,76
74.5	1.47654	1.3871	1 058.5	763.1	62,87
74.6	1.47679	1.3878	1 060.4	764.1	62,99
74.7	1.47704	1.3885	1 062.3	765.1	63,10
74.8	1.47730	1.3892	1 064.4	766.2	63,23
74.9	1.47755	1.3898	1 066.3	767.2	63,33
75.0	1.47785	1.3905	1 068.3	768.3	63,46

▼B**3 ALKOHOLIPITOISUUS TILAVUUSPROSENTTEINA****1 MÄÄRITELMÄ**

Alkoholipitoisuus tilavuusprosentteina on samansuuruinen kuin etanolin määrä litroina 100 litrassa viiniä, kun molemmat mitataan 20 °C:ssa. Sen tunnus on ”til-%”.

Huomautus:

Etanolin homologit sekä estereihin sitoutunut etanoli ja etanolin homologit kuuluvat tisleen alkoholipitoisuuteen.

2 PERIAATE

2.1 Kalsiumhydroksidiliuoksella emäksiseksi tehdyn viinin tislauks. Alkoholipitoisuuden määrittäminen tisleestä.

▼M12**2.2 Vertailumenetelmä:**

- Tisleen alkoholipitoisuuden määrittäminen pyknometrillä.
- Viinien alkoholipitoisuuden määrittäminen hydrostaattisella vaa'alla.
- Viinien alkoholipitoisuuden määrittäminen mittaamalla sähköisesti liuoksen tiheyttä nesteen resonointitaajuuteen perustuen.

▼B**2.3 Tavanomaiset menetelmät**

2.3.1 *Tisleen alkoholipitoisuuden määrittäminen areometrisesti*

▼M11**▼B**

2.3.3 *Tisleen alkoholipitoisuuden määrittäminen refraktometrisesti*

Huomautus:

Alkoholipitoisuus saadaan tisleen tiheydestä käyttäen tämän luvun liitteessä II olevia taulukoita I, II ja III. Ne on laskettu Lakisääteisen mittaustoiminnan kansainvälisen järjestön vuonna 1972 julkaisemassa suosituksessa N:o 22 esitetyn kansainvälisen alkoholipitoisuustaulukon perusteella ja OIV (Yleiskokous 1974) on hyväksynyt taulukon.

Taulukossa I esitetään yleinen vesi-etanoliseosten tilavuusprosentteina annetun alkoholipitoisuuden ja tiheyden yhteys eri lämpötiloissa.

3 TISLEEN VALMISTAMINEN**3.1 Välineistö**

3.1.1 Tislauslaitteisto, johon kuuluu:

- pyöreäpohjainen, hioksellinen tislauskolvi, jonka vetoisuus on 1 litra,
- noin 20 cm korkea tislauskolonne tai muu laite roiskumisen estämiseksi,
- lämmönlähde: pyrolyysi on estettävä sopivalla laitteella,
- jäähdytin, joka päättyy ulosmenoputkeen, joka ohjaa tisleen muutaman millilitran vettä sisältävään mittapulloon.

3.1.2 Vesihöyrytislauslaitteisto, johon kuuluu:

- 1 vesihöyrykehitin,
- 2 tislauskolvi, jossa on putki vesihöyryn johtamiseksi,
- 3 tislauskolonne,
- 4 jäähdytin.

Voidaan käyttää mitä tahansa tislaus- tai vesihöyrytislauslaitteistoa sillä edellytyksellä, että se läpäisee seuraavan kokeen: tislataan 5 kertaa peräkkäin alkoholipitoisuudeltaan 10 til-% oleva vesi-etanoliseos. Viidennen tislauksen jälkeen tisleen alkoholipitoisuuden on oltava vähintään 9,9 til-%, toisin sanoen tislauksen aikana alkoholipitoisuus ei saa laskea yli 0,02 til-%:lla.

▼B**3.2 Reagenssit****3.2.1 2 M kalsiumhydroksidisuspensio**

Kaadetaan varovasti 1 l kuumaa vettä (60- 70 °C) 120 g:n sammuttamattoman kalkin (CaO) päälle.

3.3 Näytteen valmistaminen

Nuorista viineistä ja kuohuviineistä poistetaan aluksi suurin osa niiden sisältämästä hiilidioksidista ravistelemalla 250- 300 ml viiniä 500 ml mittapullossa.

3.4 Suoritus

Mittapulloon mitataan 200 ml viiniä. Viinin lämpötila kirjataan.

Näyte kaadetaan tislauks- tai vesihöyrytislaukslaitteiston kolviin. Mittapullo huuhdellaan neljä kertaa 5 ml vettä ja tämä vesi lisätään tislaukskolviin. Lisätään 10 ml kalsiumhydroksidia (3.2.1) ja muutama palanen inerttiä huokoista ainetta (hohkakiveä).

Tisle kerätään 200 ml:n mittapulloon, jota käytettiin viinin mittaamiseen.

Tavallisessa tislauksessa tisetä otetaan noin 3/4 alkuperäisestä tilavuudesta ja vesihöyrytislauksessa 198-199 ml. Täytetään 200 ml:ksi tislattulla vedellä lämpötilassa, joka ei poikkea alkuperäisestä lämpötilasta yli ± 2 °C.

Sekoitetaan varovasti pyöreällä liikkeellä.

Huomautus:

Jos viini sisältää erityisen paljon ammoniumioneja, tisle on mahdollisesti tislattava uudelleen edellä kuvatuissa koeolosuhteissa siten, että kalsiumhydroksidisuspensio korvataan 1 ml:lla 10 %:n (v/v) rikkihappoa.

▼M12**4. VERTAILUMENETELMÄT****4-A Tisleen alkoholipitoisuuden määrittäminen pyknometrillä****▼B****4.1 Välineistö****4.1.1 Käytetään ”Tiheys”-luvussa kuvattua kalibroitua pyknometriä.****4.2 Suoritus**

Määritetään tisleen (3.4) näennäinen tiheys t °C:ssa 1 luvussa ”Tiheys” olevan 4.3.1 ja 4.3.2 kohdan mukaisesti. Tämä tiheys on ρ_t .

4.3 Tulosten ilmoittaminen**4.3.1 Laskentamenetelmä**

Alkoholipitoisuus 20 °C:ssa löytyy taulukosta I. Taulukon vaakasuoralta riviltä, joka vastaa lämpötilaa T (ilmoitettu kokonaislukuna) välittömästi t °C:n alapuolella, etsitään pienin mahdollinen ρ_t :n ylittävä tiheys. Tämän tiheyden alapuolella taulukossa annettua erotusta käytetään tiheyden ρ laskemisessa lämpötilassa T .

Lämpötila T riviltä etsitään pienin mahdollinen ρ_t :n ylittävä tiheys ρ' ja lasketaan näiden kahden tiheyden ρ ja ρ' erotus. Tämä erotus jaetaan tiheyden ρ' oikealla puolella ilmoitetulla erotuksella. Osamäärästä saadaan alkoholipitoisuuden desimaaliosa ja tämän pitoisuuden kokonaislukuosa annetaan sen sarakkeen yläosassa, jossa tiheys ρ' on.

Alkoholipitoisuuden laskemisesta annetaan esimerkki tämän luvun liitteessä I.

Huomautus:

Tämä lämpötilakorjaus on sisällytetty tietokoneohjelmaan ja se voidaan mahdollisesti tehdä automaattisesti.

▼B

- 4.3.2 *Toistettavuus (r)*
 $r = 0,10$ til-%
- 4.3.3 *Uusittavuus (R)*
 $R = 0,19$ til-%

▼M12

- 4-B **Viinien alkoholipitoisuuden määrittäminen hydrostaattisella vaa'alla**

▼M11

1. MITTAUSMENETELMÄ

1.1 Johdanto

Viinien tilavuusprosentteina ilmaistu alkoholipitoisuus on mitattava ennen niiden kaupan pitämistä päällysmarkkinoita koskevien sääntöjen noudattamiseksi.

Alkoholipitoisuus tilavuusprosentteina on samansuuruinen kuin etanolin määrä litroina 100 litrassa viiniä, kun molemmat mitataan 20 °C:ssa. Sen tunnus on "til-%".

1.2 Tarkoitus ja soveltamisala

Kuvattu mittausmenetelmä on tiheysmittaus hydrostaattisella vaa'alla.

Koelämpötilaksi vahvistetaan voimassa olevan lainsäädännön mukaisesti 20 °C.

1.3 Periaate ja määritelmät

Ensimmäiseksi viini tislataan asteittain pienempään tilavuuteen. Tislausmenetelmä kuvataan tässä luvussa. Tislauksessa poistuvat haihtumattomat aineet. Tisleen alkoholipitoisuuteen kuuluvat etanolin homologit, etanoli ja estereihin sitoutuneet etanolin homologit.

Seuraavaksi mitataan tisleen tiheys. Nesteiden tiheys tietyssä lämpötilassa on sen tilavuusyksikön massa, $\rho_2 = m/V$, joka viineissä ilmaistaan grammoina millilitraa kohden (g/ml).

Viinien alkoholipitoisuus voidaan mitata mittaamalla tiheys hydrostaattisella vaa'alla. Määrittäminen perustuu Arkhimedeen lakiin, jonka mukaan nesteeseen upotettuun kappaleeseen kohdistuu nesteestä pystysuoraan ylöspäin vaikuttava noste, joka on kappaleen syrjäyttämän nestemäärän painon suuruinen.

1.4 Reagenssit

Ellei toisin mainita, analyysissä käytetään vain hyväksyttyä analyysilaitetta olevia reagensseja ja vähintään kolmannen laatuasteen vettä standardin ISO 3696:1987 määritelmän mukaisesti.

1.4.1 *Uppokappaleen puhdistusliuos (natriumhydroksidi, 30-prosenttinen, paino/tilavuus)*

Valmistettaessa 100 ml liuosta punnitaan 30 g natriumhydroksidia mittapulloon ja tilavuus täytetään 100 ml:ksi 96-prosenttisellä etanolilla.

1.5 Laitteet ja välineet

Tavanomaiset laboratoriolaitteet ja erityisesti seuraavat:

- 1.5.1 Hydrostaattinen yksikuppivaaka, jonka tarkkuus on 1 mg.
- 1.5.2 Erityisesti vaa'assa käytettäväksi sopiva uppokappale, jonka tilavuus on vähintään 20 ja joka on ripustettu halkaisijaltaan enintään 0,1 paksuisella langalla.
- 1.5.3 Mittalasi, jossa on mittaviiva. Uppokappaleen on mahdollista kokonaan mitalasissa olevan merkin alapuolelle; ainoastaan uppokappaleen ripustuslanka saa rikkoa mitattavan nesteen pinnan. Mittalasin sisähalkaisijan on oltava ainakin 6 uppokappaleen sisähalkaisijaa suurempi.
- 1.5.4 Lämpömittari (tai lämpötila-anturi), jonka asteikolle on merkitty asteet ja asteen kymmenesosat välillä 10–40 °C, kalibroituina $\pm 0,05$ °C:seen.

▼ **M11**

1.5.5 Tunnustetun sertifiointielimen hyväksymät punnukset.

1.6 Suoritus

Uppokappale ja mittalasi on puhdistettava aina mittausten välillä tislattulla vedellä, kuivattava pehmeällä laboratoriopaperilla, josta ei irtoa kuituja, ja huuhdeltava liuoksella, jonka tiheys on tarkoitus määrittää. Haihtumalla tapahtuvan alkoholi-häviön rajoittamiseksi mittaukset on tehtävä heti kun laite on saavuttanut stabiilin tilan.

1.6.1 Vaa'an kalibrointi

Vaikka vaa'illa on yleensä sisäinen kalibrointijärjestelmä, hydrostaattinen vaaka on voitava kalibroida punnuksilla, jotka ovat virallisen sertifiointielimen tarkastamia.

1.6.2 Uppokappaleen kalibrointi

1.6.2.1 Mittalasi täytetään merkkiin asti kahteen kertaan tislattulla vedellä (tai vastaavalla yhtä puhtaalla vedellä, esimerkiksi mikrosuodatetulla vedellä, jonka johtokyky on 18,2 MΩ/cm) 15—25 °C:n lämpötilassa, mieluiten lämpötilassa 20 °C.

1.6.2.2 Uppokappale ja lämpömittari upotetaan nesteeseen. Nestettä sekoitetaan, nesteen tiheys luetaan laitteen näytöstä ja saatua tiheyttä korjataan tarvittaessa siten, että tiheys vastaa veden tiheyttä mittaustilassa.

1.6.3 Tarkistus vesi-alkoholiliuoksella

1.6.3.1 Mittalasi täytetään merkkiin asti vesi-alkoholiseoksella, jonka alkoholipitoisuus tunnetaan. Mainitun vesi-alkoholiseoksen lämpötila on 15—25 °C, mieluiten 20 °C.

1.6.3.2 Uppokappale ja lämpömittari upotetaan nesteeseen. Nestettä sekoitetaan ja nesteen tiheys (tai alkoholipitoisuus, mikäli mahdollista) luetaan laitteen näytöstä. Näin todetun alkoholipitoisuuden tulee olla sama kuin nesteen aiemmin määritetty alkoholipitoisuus.

Huomautus: Tätä liuosta, jonka alkoholipitoisuus tunnetaan, voidaan käyttää myös uppokappaleen kalibroimiseksi sen sijaan, että käytettäisiin kahteen kertaan tislattua vettä.

1.6.4 Tisleen tiheyden mittaaminen (tai sen alkoholipitoisuuden mittaaminen, mikäli mahdollista)

1.6.4.1 Tutkittavaa näytettä kaadetaan mittalasiin asteikon merkkiin asti.

1.6.4.2 Uppokappale ja lämpömittari upotetaan nesteeseen. Nestettä sekoitetaan ja nesteen tiheys (tai alkoholipitoisuus, mikäli mahdollista) luetaan laitteen näytöstä. Lämpötila on kirjattava, jos tiheys mitataan lämpötilassa t °C (ρ_t).

1.6.4.3 Korjataan ρ_t vesi-alkoholiseosten tiheystaulukon (ρ_t) avulla (tämän luvun liitteessä II oleva taulukko II).

1.6.5 Uppokappaleen ja mittalasin puhdistaminen

1.6.5.1 Uppokappale upotetaan mittalasisissa olevaan puhdistusliuokseen.

1.6.5.2 Uppokappaleen annetaan liota yhden tunnin ajan pyörittäen sitä ajoittain.

1.6.5.3 Uppokappale huuhdellaan ensin runsaalla määrällä vesijohtovettä ja sen jälkeen tislattulla vedellä.

1.6.5.4 Uppokappale kuivataan pehmeällä laboratoriopaperilla, josta ei irtoa kuituja.

Näin on meneteltävä käytettäessä uppokappaletta ensimmäistä kertaa ja sen jälkeen säännöllisesti tarpeen mukaan.

1.6.6 Tulos

Todellinen alkoholipitoisuus tilavuusprosentteina lasketaan tiheyden ρ_{20} avulla käyttämällä taulukkoa, jossa tilavuusprosentteina (til-%) ilmaistun alkoholipitoisuuden lukuarvo 20 °C:ssä esitetään samassa lämpötilassa olevien vesi-alkoholiseosten tiheyden mukaan. Kyseessä on kansainvälinen alkoholipitoisuustaulukko, jonka International Legal Metrology

▼ **M11**

Organisation (lakisääteisen mittaustoiminnan kansainvälinen järjestö) on hyväksynyt suosituksellaan nro 22.

2. HYDROSTAATTISELLA VAA'ALLA TEHTYJEN MITTAUSTEN VERTAAMINEN SÄHKÖISELLÄ TIHEYSMITTARILLA TEHTYIHIN MITTAUKSIIN

Toistettavuus ja uusittavuus määritettiin alkoholipitoisuudeltaan 4—18 til-% olevien näytteiden perusteella laboratorioden välisen vertailun jälkeen. Kyseessä on hydrostaattisella vaa'alla ja sähköisellä tiheysmittarilla tehtyjen eri näytteiden alkoholipitoisuuden mittausten vertailu, joka sisältää laajoissa monivuotisissa vertailututkimuksissa saadut toistettavuus- ja uusittavuusarvot.

2.1 Näytteet

Näyte sisältää teollisesti kuukausittain valmistettuja viinejä, joiden tiheys ja alkoholipitoisuus ovat erilaiset. Viinit valitaan sellaisista pulloista, joita on säilytetty tavanomaisissa olosuhteissa, ja ne toimitetaan laboratorioihin nimettöminä.

2.2 Laboratoriot

Kyseessä olevat laboratoriot, jotka osallistuvat kokeisiin, joita Unione Italiana Vini (Verona, Italia) järjestää kuukausittain ISO 5725-sääntöjen (UNI 9225), AOAC:n, ISON ja IUPACin vahvistaman "International Protocol of Proficiency test for chemical analysis laboratories" -menetelmän ja ISO 43 — ja ILAC G13 -ohjeiden mukaisesti. Edellä mainittu yritys toimittaa kaikille osallistujille vuosikertomuksen.

2.3 Laitteet

2.3.1 Sähköinen hydrostaattinen vaaka (tarkkuus viisi desimaalia), jossa on mahdollisesti tietojenkäsittelylaite.

2.3.2 Sähköinen tiheysmittari, jossa on mahdollisesti automaattinen näytteenvaihtaja.

2.4 Määrittelykset

Määrittämenetelmien validointia koskevien sääntöjen mukaisesti kukin näyte on alkoholipitoisuuden määrittämiseksi analysoitava kaksi kertaa peräkkäin.

2.5 Tulokset

Taulukossa 1 esitetään laboratorioden hydrostaattisella vaa'alla saamat mittaustulokset.

Taulukossa 2 esitetään laboratorioden sähköisellä tiheysmittarilla saamat tulokset.

2.6 Tulosten arviointi

2.6.1 Kokeiden tulokset on tutkittu systemaattisen henkilökohtaisen virheen ($p < 0,025$) havaitsemiseksi soveltamalla peräkkäin Cochranin ja Grubbsin testejä noudattaen "Protocol international for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies" -menetelmässä kuvattuja menetelmiä.

2.6.2 Toistettavuus (r) ja uusittavuus (R)

Menetelmässä vahvistetut toistettavuutta (r) ja uusittavuutta (R) koskevat laskut on tehty sellaisten tulosten perusteella, joista on poistettu harha-arvot. Uutta menetelmää arvioitaessa useinkaan ei ole käytettävissä validoitua vertailumenetelmää tai lainsäädännössä vahvistettua menetelmää tarkkuuskriteerien vertaamiseksi. Monilaboratoriotesteissä saatujen tarkkuutta koskevien tietojen vertaamiseksi käytetään "arvioituja" tarkkuustasoja. Nämä "arvioidut" tasot lasketaan Horwitzin kaavalla. Koetulosten ja arvioitujen tasojen vertailu paljastaa, onko menetelmä riittävän tarkka mitattavan analyytin tasoa varten. Horwitzin arvioitu arvo lasketaan Horwitzin kaavalla:

$$RSDR = 2^{(1-0,5 \log C)}$$

jossa C = analyytin mitattu konsentraatio desimaalin tarkkuudella ilmaistuna (esim. 1 g/100 g = 0,01).

Horrat-arvo osoittaa, miten tosiasiallinen määritetty tarkkuus vertautuu Horwitzin kaavalla kyseiselle menetelmälle analyytin

▼ M11

tietyllä konsentraatiolla määritetyn arvioidun tarkkuuden kanssa. Se lasketaan seuraavasti:

$$\text{HoR} = \text{RSDr}(\text{mitattu})/\text{RSDr}(\text{Horwitz})$$

2.6.3 Laboratorioiden välinen tarkkuus

Horrat-arvo 1 tarkoittaa tavallisesti tyydyttävää laboratorioiden välistä tarkkuutta. Yli 2:n oleva arvo tarkoittaa tavallisesti epätyydyttävää tarkkuutta eli tarkkuuden osalta esiintyy liikaa vaihtelua analyysistä johtuen tai vaihtelu on suurempi kuin käytetylle menetelmälle arvioitu vaihtelu. Hor lasketaan ja sitä käytetään myös laboratorioiden välisen tarkkuuden määrittämiseksi seuraavan approksimaation mukaisesti:

$$\text{RSDr}(\text{Horwitz}) = 0,66 \text{ RSDr}(\text{Horwitz}) \text{ (mikä edellyttää seuraavaa approksimaatiota: } r = 0,66 R \text{)}$$

Taulukossa 3 esitetään sähköistä tiheysmittaria käyttävien ja hydrostaattista vaakaa käyttävien laboratorioiden saamien tulosten erot. Yhdenmukaisuus on hyvä kaikkien näytteiden osalta lukuun ottamatta näytettä 2000/3, jonka alkoholipitoisuus on hyvin vähäinen ja jonka osalta uusittavuus on molemmilla menetelmillä alhainen.

2.6.4 Toistettavuuden ja uusittavuuden parametrit

Taulukossa 4 esitetään toistettavuuden ja uusittavuuden parametrien keskiarvo, joka on laskettu kaikkien tammikuun 1999 ja toukokuun 2001 välisenä aikana tehtyjen kuukausittaisten kokeiden perusteella.

Siinä esitetään erityisesti:

Toistettavuus (r) = 0,074 (til-%) hydrostaattisella vaa'alla ja 0,061 (til-%) sähköisellä tiheysmittarilla.

Uusittavuus (R) = 0,229 (til-%) hydrostaattisella vaa'alla ja 0,174 (til-%) sähköisellä tiheysmittarilla.

2.7 Päätelmät

Eriilaisten viinien alkoholipitoisuuden määrittämisessä saadut tulokset osoittavat, että hydrostaattisella vaa'alla tehty määrittäykset ovat vastaavia kuin määrittäykset, jotka on tehty taajuusvärähtelyn mittaamiseen perustuvalla sähköisellä tiheysmittarilla, ja että molempien menetelmien validointiparametrien arvot ovat lähellä toisiaan.

Taulukoiden selitykset

— Keskiarvo	tilastoanalyyseissä käytetty tietojen keskiarvo
— N	huomioon otettujen tietoryhmien kokonaismäärä
— nc	sääntöjenvastaisuuden vuoksi tilastoanalyyseistä poissuljettujen tulosten lukumäärä
— Harha-arvot	tilastoanalyyseistä poissuljettujen tulosten lukumäärä sen jälkeen, kun Cochranin tai Grubbsin testeillä on määritetty harha-arvot
— n1	tilastoanalyyseissä käytettyjen tulosten lukumäärä
— r	toistettavuusraja
— Sr	toistettavuuden standardipoikkeama
— RSDr	toistettavuuden suhteellinen standardipoikkeama ($Sr \times 100/\text{keskiarvo}$)
— Hor	toistettavuuden Horrat-arvo on havaittu RSD jaettuna Horwitzin kaavalla arvioidulla RSDr:n arvolla approksimaatiolla $r = 0,66R$
— R	uusittavuusraja
— SR	uusittavuuden standardipoikkeama
— HoR	uusittavuuden Horrat-arvo on havaittu RSDr:n arvo jaettuna RSDr:llä, joka on laskettu kaavalla $\text{HoR} = \text{RSDr}(\text{mitattu}) / \text{RSDr}$

Taulukko 1: Hydrostaattinen vaaka (HB)

	Keskiarvo	n	Harha-arvot	nI	r	Sr	RSDr	Hor	R	sR	RSDR	HoR	Kaksois- määrittysten lukumäärä	Ero CrD95
1999/1	11,043	17	1	16	0,0571	0,0204	0,1846	0,1004	0,1579	0,0564	0,5107	0,18	2	0,1080
1999/2	11,247	14	1	13	0,0584	0,0208	0,1854	0,1011	0,1803	0,0644	0,5727	0,21	2	0,1241
1999/3	11,946	16	0	16	0,0405	0,0145	0,1211	0,0666	0,1593	0,0569	0,4764	0,17	2	0,1108
1999/4	7,653	17	1	16	0,0502	0,0179	0,2344	0,1206	0,1537	0,0549	0,7172	0,24	2	0,1057
1999/5	11,188	17	0	17	0,0871	0,0311	0,2780	0,1515	0,2701	0,0965	0,8622	0,31	2	0,1860
1999/6	11,276	19	0	19	0,0846	0,0302	0,2680	0,1462	0,2957	0,1056	0,9365	0,34	2	0,2047
1999/7	8,018	17	0	17	0,0890	0,0318	0,3964	0,2054	0,2573	0,0919	1,1462	0,39	2	0,1764
1999/9	11,226	17	0	17	0,0580	0,0207	0,1846	0,1423	0,2796	0,0999	0,8896	0,45	2	0,1956
1999/10	11,026	17	0	17	0,0606	0,0216	0,1961	0,1066	0,2651	0,0947	0,8588	0,31	2	0,1850
1999/11	7,701	16	1	15	0,0643	0,0229	0,2980	0,1535	0,2330	0,0832	1,0805	0,37	2	0,1616
1999/12	10,987	17	2	15	0,0655	0,0234	0,2128	0,1156	0,1258	0,0449	0,4089	0,15	2	0,0827
2000/1	11,313	16	0	16	0,0986	0,0352	0,3113	0,1699	0,2577	0,0920	0,8135	0,29	2	0,1754
2000/2	11,232	17	0	17	0,0859	0,0307	0,2731	0,1489	0,2535	0,0905	0,8060	0,29	2	0,1740
2000/3	0,679	10	0	10	0,0680	0,0243	3,5773	1,2783	0,6529	0,2332	34,3395	8,10	2	0,4604
2000/4	11,223	18	0	18	0,0709	0,0253	0,2257	0,1230	0,2184	0,0780	0,6951	0,25	2	0,1503
2000/5	7,439	19	1	18	0,0630	0,0225	0,3023	0,1549	0,1522	0,0544	0,7307	0,25	2	0,1029
2000/6	11,181	19	0	19	0,0536	0,0191	0,1710	0,0932	0,2783	0,0994	0,8890	0,32	2	0,1950
2000/7	10,858	16	0	16	0,0526	0,0188	0,1731	0,0939	0,1827	0,0653	0,6011	0,22	2	0,1265
2000/9	12,031	17	1	16	0,0602	0,0215	0,1787	0,0985	0,2447	0,0874	0,7263	0,26	2	0,1704
2000/10	11,374	18	0	18	0,0814	0,0291	0,2555	0,1395	0,2701	0,0965	0,8482	0,31	2	0,1866
2000/11	7,644	18	0	18	0,0827	0,0295	0,3863	0,1988	0,2289	0,0817	1,0694	0,36	2	0,1565
2000/12	11,314	19	1	18	0,0775	0,0277	0,2447	0,1336	0,2421	0,0864	0,7641	0,28	2	0,1667
2001/1	11,415	19	0	19	0,0950	0,0339	0,2971	0,1623	0,2410	0,0861	0,7539	0,27	2	0,1636
2001/2	11,347	19	0	19	0,0792	0,0283	0,2493	0,1361	0,1944	0,0694	0,6119	0,22	2	0,1316

▼ M11

	Keskiarvo	n	Harha-arvot	nl	r	Sr	RSDr	Hor	R	sR	RSDR	HoR	Kaksois- määrittysten lukumäärä	Ero CrD95
2001/3	11,818	16	0	16	0,0659	0,0235	0,1990	0,1093	0,2636	0,0941	0,7965	0,29	2	0,1834
2001/4	11,331	17	0	17	0,1067	0,0381	0,3364	0,1836	0,1895	0,0677	0,5971	0,22	2	0,1229
2001/5	8,063	19	1	18	0,0782	0,0279	0,3465	0,1797	0,1906	0,0681	0,8442	0,29	2	0,1290

Taulukko 2: Sähköinen tiheysmittari (ED)

	Keskiarvo n _I	n	Harha-arvot	n _I	r	sr	RSDr	Hor	R	sR	RSDR	HoR	Kaksois- määrittysten lukumäärä	Ero CrD95
D1999/1	11,019	18	1	17	0,0677	0,0242	0,2196	0,1193	0,1996	0,0713	0,6470	0,23	2	0,1370
D1999/2	11,245	19	2	17	0,0448	0,0160	0,1423	0,0776	0,1311	0,0468	0,4165	0,15	2	0,0900
D1999/3	11,967	21	0	21	0,0701	0,0250	0,2091	0,1151	0,1552	0,0554	0,4631	0,17	2	0,1040
D1999/4	7,643	19	1	18	0,0610	0,0218	0,2852	0,1467	0,1340	0,0479	0,6262	0,21	2	0,0897
D1999/5	11,188	21	3	18	0,0260	0,0093	0,0829	0,0452	0,2047	0,0731	0,6536	0,24	2	0,1442
D1999/6	11,303	21	0	21	0,0652	0,0233	0,2061	0,1125	0,1466	0,0523	0,4631	0,17	2	0,0984
D1999/7	8,026	21	0	21	0,0884	0,0316	0,3935	0,2039	0,1708	0,0610	0,7600	0,26	2	0,1124
D1999/9	11,225	17	0	17	0,0372	0,0133	0,1183	0,0645	0,1686	0,0602	0,5366	0,19	2	0,1178
D1999/10	11,011	19	0	19	0,0915	0,0327	0,2969	0,1613	0,1723	0,0615	0,5588	0,20	2	0,1129
D1999/11	7,648	21	1	20	0,0615	0,0220	0,2872	0,1478	0,1538	0,0549	0,7183	0,24	2	0,1043
D1999/12	10,999	16	1	15	0,0428	0,0153	0,1389	0,0755	0,2015	0,0720	0,6541	0,23	2	0,1408
D2000/1	11,248	22	1	21	0,0697	0,0249	0,2212	0,1206	0,1422	0,0508	0,4516	0,16	2	0,0944
D2000/2	11,240	19	3	16	0,0448	0,0160	0,1424	0,0776	0,1619	0,0578	0,5145	0,19	2	0,1123
D2000/3	0,526	12	1	11	0,0327	0,0117	2,2185	0,7630	0,9344	0,3337	63,4009	14,39	2	0,6605
D2000/4	11,225	19	1	18	0,0476	0,0170	0,1514	0,0825	0,1350	0,0482	0,4295	0,15	2	0,0924
D2000/5	7,423	21	0	21	0,0628	0,0224	0,3019	0,1547	0,2635	0,0941	1,2677	0,43	2	0,1836
D2000/6	11,175	23	2	21	0,0606	0,0217	0,1938	0,1056	0,1697	0,0606	0,5424	0,20	2	0,1161
D2000/7	10,845	21	5	16	0,0440	0,0157	0,1449	0,0786	0,1447	0,0517	0,4766	0,17	2	0,0999
D2000/9	11,983	22	1	21	0,0841	0,0300	0,2507	0,1380	0,2410	0,0861	0,7183	0,26	2	0,1651
D2000/10	11,356	22	1	21	0,0635	0,0227	0,1997	0,1090	0,1865	0,0666	0,5866	0,21	2	0,1280
D2000/11	7,601	27	0	27	0,0521	0,0186	0,2448	0,1258	0,1685	0,0602	0,7916	0,27	2	0,1162
D2000/12	11,322	25	1	24	0,0476	0,0170	0,1503	0,0820	0,1594	0,0569	0,5028	0,18	2	0,1102
D2001/1	11,427	29	0	29	0,0706	0,0252	0,2207	0,1206	0,1526	0,0545	0,4771	0,17	2	0,1020
D2001/2	11,320	29	1	28	0,0675	0,0241	0,2128	0,1161	0,1570	0,0561	0,4952	0,18	2	0,1057

▼ **M11**

	Keskiarvo n _l	n	Harha-arvot	n _l	r	sr	RSDr	Hor	R	sR	RSDR	HoR	Kaksois- määrittysten lukumäärä	Ero CrD95
D2001/3	11,826	34	1	33	0,0489	0,0175	0,1476	0,0811	0,1762	0,0629	0,5322	0,19	2	0,1222
D2001/4	11,339	31	2	29	0,0639	0,0228	0,2012	0,1099	0,1520	0,0543	0,4788	0,17	2	0,1026
D2001/5	8,058	28	0	28	0,0473	0,0169	0,2098	0,1088	0,2025	0,0723	0,8976	0,31	2	0,1412

Taulukko 3: Hydrostaattisella vaa'alla (HB) ja sähköisellä tiheysmittarilla (ED) saatujen tulosten vertailu

	Keskiarvo (HB)	n	Harha-arvot	n1		Keskiarvo (ED)	n	Harha-arvot	n1	$\Delta TAV(HB-ED)$
1999/1	11,043	17	1	16	D1999/1	11,019	18	1	17	0,024
1999/2	11,247	14	1	13	D1999/2	11,245	19	2	17	0,002
1999/3	11,946	16	0	16	D1999/3	11,967	21	0	21	-0,021
1999/4	7,653	17	1	16	D1999/4	7,643	19	1	18	0,010
1999/5	11,188	17	0	17	D1999/5	11,188	21	3	18	0,000
1999/6	11,276	19	0	19	D1999/6	11,303	21	0	21	-0,028
1999/7	8,018	17	0	17	D1999/7	8,026	21	0	21	-0,008
1999/9	11,226	17	0	17	D1999/9	11,225	17	0	17	0,002
1999/10	11,026	17	0	17	D1999/10	11,011	19	0	19	0,015
1999/11	7,701	16	1	15	D1999/11	7,648	21	1	20	0,052
1999/12	10,987	17	2	15	D1999/12	10,999	16	1	15	-0,013
2000/1	11,313	16	0	16	D2000/1	11,248	22	1	21	0,065
2000/2	11,232	17	0	17	D2000/2	11,240	19	3	16	-0,008
2000/3	0,679	10	0	10	D2000/3	0,526	12	1	11 (*)	0,153
2000/4	11,223	18	0	18	D2000/4	11,225	19	1	18	-0,002
2000/5	7,439	19	1	18	D2000/5	7,423	21	0	21	0,016
2000/6	11,181	19	0	19	D2000/6	11,175	23	2	21	0,006
2000/7	10,858	16	0	16	D2000/7	10,845	21	5	16	0,013
2000/9	12,031	17	1	16	D2000/9	11,983	22	1	21	0,049
2000/10	11,374	18	0	18	D2000/10	11,356	22	1	21	0,018
2000/11	7,644	18	0	18	D2000/11	7,601	27	0	27	0,043
2000/12	11,314	19	1	18	D2000/12	11,322	25	1	24	-0,008
2001/1	11,415	19	0	19	D2001/1	11,427	29	0	29	-0,012
2001/2	11,347	19	0	19	D2001/2	11,320	29	1	28	0,027
2001/3	11,818	16	0	16	D2001/3	11,826	34	1	33	-0,008

▼ **M11**

	Keskiarvo (HB)	n	Harha-arvot	n1		Keskiarvo (ED)	n	Harha-arvot	n1	$\Delta TAV(HB-ED)$
2001/4	11,331	17	0	17	D2001/4	11,339	31	2	29	- 0,008
2001/5	8,063	19	1	18	D2001/5	8,058	28	0	28	0,004

Yleinen ero / ΔTAV (HB-ED)										
Erotuksen standardipoikkeama										
0,014										
0,036										

(*) (testiä 2000/3 ei ole otettu huomioon)

▼ **M11****Taulukko 4: Toistettavuuden ja uusittavuuden parametrit**

	Hydrostaattinen vaaka	Sähköinen tiheys- mittari
N1	441	557
Toistettavuuden suhteellinen vaihtelu	0,309	0,267
R	0,074	0,061
Sr	0,026	0,022
Uusittavuuden suhteellinen vaihtelu	2,948	2,150
R	0,229	0,174
sR	0,082	0,062

▼ **M12**

4-C **Viinien tilavuusprosentteina ilmaistun alkoholipitoisuuden määrittäminen mittaamalla sähköisesti liuoksen tiheyttä nesteen resonointitaajuuteen perustuen**

1. Mittausmenetelmä

1.1 Johdanto

Viinien tilavuusprosentteina ilmaistu alkoholipitoisuus on mitattava ennen niiden kaupan pitämistä päällyserkintöjä koskevien sääntöjen noudattamiseksi.

Tilavuusprosentteina ilmaistu alkoholipitoisuus määritellään tämän luvun 1 kohdassa.

1.2 Tarkoitus ja soveltamisala

Tällä menetelmällä mitataan sähköisesti liuoksen tiheyttä nesteen värähtelytaajuuteen perustuen.

Koelämpötilaksi vahvistetaan voimassa olevan lainsäädännön mukaisesti 20 °C.

1.3 Periaate ja määritelmät

Ensimmäiseksi viini tislataan asteittain pienempään tilavuuteen. Tislausmenetelmä kuvataan tämän luvun 3 kohdassa. Tislauksessa näytteestä saadaan pois haihtumattomat aineet. Tisleen alkoholikoostumukseen kuuluvat etanolin homologit, etanoli ja estereihin sitoutuneet etanolin homologit.

Seuraavaksi mitataan tisleen tiheys. Nesteen tiheys tietyssä lämpötilassa on sen tilavuusyksikön massa jaettuna tilavuudella:

$\rho = m / V$, joka viineille ilmaistaan grammoina millilitraa kohden (g/ml).

Alkoholipitoisen nesteen, esimerkiksi tisleen, jonka lämpötila on tunnettu, tiheys voidaan taulukon avulla muuntaa sen alkoholipitoisuudeksi. Kyseinen pitoisuus vastaa viinin alkoholipitoisuutta (kun viininäyte on tislattu kokonaan).

Tässä menetelmässä tisleen tiheys mitataan sähköisesti nesteen resonointitaajuuteen perustuen. Näytteeseen kohdistetaan sähkömagneettinen ärsyke ja näytteen sisältävän putken värähtelytaajuus mitataan. Tämän jälkeen lasketaan tiheys, joka saadaan värähtelytaajuudesta seuraavan kaavan mukaan:

$$\rho = T^2 \times \left(\frac{C}{4\pi^2 V} \right) - \left(\frac{M}{V} \right) \quad (1)$$

ρ = näytteen tiheys

T = aikaansaatu värähtelytaajuus

M = tyhjän putken massa

C = vakio

V = värähtelevän näytteen tilavuus.

Suhde noudattaa kaavaa $\rho = A T^2 - B$ (2); tiheys on siis lineaarisessa suhteessa värähtelytaajuuden neliöön. Vakiot A ja B ovat kullekin oskillaattorille tyypillisiä ja arvioidaan mittaamalla tiheydeltään tunnettujen nesteiden värähtelytaajuus.

▼ **M12****1.4 Reagenssit ja tuotteet****1.4.1 Vertailunesteet**

Tiheysmittarin virittämisessä käytetään kahta vertailunestettä. Vertailunesteiden tiheyksien on sijoitettava mitattavien tisleiden tiheyksien molemmiin puolin. Vertailunesteiden tiheyksien eron olisi oltava vähintään 0,01000 grammaa millilitraa kohden. Niiden tiheyden 20,00 °C:n (+/- 0,05 °C) lämpötilassa on oltava tunnettu alle +/- 0,00005 g:n/ml epävarmuudella.

Mitattaessa viinien tilavuusprosentteina ilmoitettua alkoholipitoisuutta sähköisellä tiheysmittarilla vertailunesteitä ovat:

- kuiva ilma (saasteeton),
- vähintään kolmannen laatuluokan vesi standardin ISO 3696:1987 määritelmän mukaisesti,
- tiheydeltään viitearvoa vastaavat vesi-alkoholiseokset,
- kansallisten mittanormaalien mukaiset liuokset, joiden viskositeetti on alle 2 mm²/s.

1.4.2 Puhdistus- ja kuivausaineet

- pesuaineet, hapot,
- orgaaniset liuottimet: etanoli 96 til.-%, puhdas asetoni.

1.5 Laitteet**1.5.1 Resonointitaajuuden mittaamiseen perustuva sähköinen tiheysmittari**

Sähköisessä tiheysmittarissa on oltava seuraavat osat:

- mittakenno, joka sisältää mittaputken ja termostaattisäätoisen yksikön,
- järjestelmä, jolla saadaan aikaan putken värähtely ja joka mittaa värähtelytaajuuden,
- kello,
- numeronäyttö ja tarvittaessa laskin.

Tiheysmittari asetetaan täysin vakaalle alustalle ja eristetään kaikesta värähtelystä.

1.5.2 Mittakennon lämpötilan tarkistaminen

Mittaputken on oltava termostaattisäätoisessa yksikössä. Lämpötilan on oltava vakaampi kuin +/- 0,02 °C.

Tiheysmittarin salliessa mittakennon lämpötila on tarkistettava, koska se vaikuttaa merkittävästi mittaustuloksiin. Kun vesi-alkoholiseoksen tilavuusprosentteina ilmaistu alkoholipitoisuus on 10 %, sen tiheys on 0,98471 g/ml 20 °C:ssa ja 0,98447 g/ml 21 °C:ssa, eli ero on 0,00024 g/ml.

Testilämpötilaksi vahvistetaan 20 °C. Kennon lämpötila on mitattava lämpömittarilla, jonka tarkkuus on alle 0,01° C ja joka on kansallisten mittanormaalien mukainen. Sillä mitatun lämpötilan epävarmuuden on oltava alle +/- 0,07 °C.

1.5.3 Laitteen kalibrointi

Laite on kalibroitava ennen sen ensimmäistä käyttökertaa ja sen jälkeen kuuden kuukauden välein tai aina, kun tarkistuksen tulos ei ole tyydyttävä. Tavoitteena on käyttää kahta vertailunestettä vakioiden A ja B laskemisessa (vrt. suhde (2)). Kalibroinnin suorittaminen käytännössä esitetään laitteen käyttöohjeissa. Kalibrointiin tarvitaan periaatteessa kuivaa ilmaa (ilmanpaine otettava huomioon) ja puhdistettua vettä (kahdesti tislattua ja/tai mikro-suodatettua, jonka ominaisvastus on erittäin korkea > 18 MΩ).

1.5.4 Kalibroinnin tarkistaminen

Kalibroinnin tarkistamiseksi mitataan vertailunesteiden tiheys.

Ilman tiheyden tarkistusmittaus on tehtävä joka päivä. Jos teoreettisen tiheyden ja mitatun tiheyden välinen ero on yli 0,00008 g/ml, putki saattaa olla likainen. Tällöin se on puhdistettava. Puhdistuksen jälkeen ilman tiheys mitataan uudelleen. Jos tarkistus ei anna tyydyttävää tulosta, laite on viritettävä.

▼ **M12**

Myös veden tiheys on tarkistettava. Jos teoreettisen tiheyden ja mitatun tiheyden välinen ero on yli 0,00008 g/ml, laite on viritettävä.

Jos kennon lämpötilan tarkistaminen on vaikeaa, voidaan tarkistaa suoraan sellaisen vesi-alkoholiseoksen tiheys, jonka tilavuusprosentteina ilmaistu alkoholipitoisuus vastaa analysoitujen tisleiden alkoholipitoisuutta.

1.5.5 *Tarkistusmittaus*

Jos vertailunesteen teoreettisen tiheyden (joka tiedetään +/- 0,00005 g:n/ml tarkkuudella) ja mitatun tiheyden välinen ero on yli 0,00008 g/ml, kennon lämpötila on tarkistettava.

1.6 **Näytteenotto ja näytteiden valmistelu**

(vrt. tämän luvun 3 kohta ”Tisleen valmistaminen”)

1.7 **Suoritus**

Tisleen valmistamisen jälkeen mitataan sen tiheys tai sen tilavuusprosentteina ilmaistu alkoholipitoisuus tiheysmittarilla.

Toimijan on varmistettava mittakennon lämpötilan vakaus. Tiheysmittarin kennossa olevassa tisleessä ei saa olla ilmakuplia, ja sen on oltava homogeeninen. Jos käytössä on valaistus, jonka avulla voidaan tarkistaa, ettei ilmakuplia ole, se on sammutettava nopeasti tarkistamisen jälkeen, koska lampun tuottama lämpö vaikuttaa mittauslämpötilaan.

Jos laite ilmoittaa vain värähtelytaajuuden, tiheys lasketaan vakioiden A ja B avulla (vrt. 1.3). Jos laite ei ilmoita tilavuusprosentteina ilmaistua alkoholipitoisuutta suoraan, se voidaan laskea taulukoiden avulla tiheyden perusteella.

1.8 **Tulosten ilmoittaminen**

Viinin tilavuusprosentteina ilmaistu alkoholipitoisuus on tisleestä mitattu alkoholipitoisuus. Se ilmoitetaan tilavuusprosentteina, ”til.-%”.

Jos lämpötilavaatimuksia ei ole noudatettu, tulosta on korjattava sen ilmoittamiseksi 20 °C:n lämpötilassa. Tulos ilmoitetaan kahden desimaalin tarkkuudella.

1.9 **Huomautukset**

Kennossa on oltava riittävä määrä nestettä, jotta vältetään edellisen näytteen mahdollisesti aiheuttama kontaminaatio. Sen vuoksi määrityksiä on tehtävä vähintään kaksi. Jos niissä saadut tulokset eivät ole toistettavuuden rajoissa, on tehtävä kolmas määrittäminen. Yleensä kahden viimeisen määrittäksen tulokset ovat yhtenevät, ja ensimmäinen tulos jätetään pois.

1.10 **Toistettavuus ja uusittavuus**

Näytteet, joiden tilavuusprosentteina ilmaistu alkoholipitoisuus on 4–18 til.-%

Toistettavuus (r) = 0,067 (til.-%),

Uusittavuus (R) = $0,0454 + 0,0105 \times \text{alkoholipitoisuus til.-%}$

2. Laboratorioiden välinen koe. Toistettavuus, uusittavuus ja tarkkuus

Edellä 1.10 alakohdassa ilmoitetut menetelmän toistettavuus- ja uusittavuusominaisuudet perustuvat laboratorioiden väliseen kokeeseen, joka suoritettiin kansainvälisesti sovitettujen menettelyjen mukaisesti kuudesta näytteestä 11 eri laboratoriossa.

Kaikki yksityiskohdat sekä kokeen toistettavuutta ja uusittavuutta koskevat laskelmat on kuvattu kansainvälisen viinijärjestön ”Recueil International des Méthodes d’Analyses” -teoksen (vuoden 2004 painos) luvussa ”TITRE ALCOOMETRIQUE VOLUMIQUE” (4.B.2 kohta).

▼ M8

▼ B

6 ESIMERKKI VIININ ALKOHOLIPITOISUUDEN LASKEMISESTA

6.1 Pyknometria tasavarsivaakaa käytettäessä

6.1.1 Pyknometrin parametrit on määritetty ja laskettu I luvussa ”Tiheys ja suhteellinen tiheys” (6.1.1 kohta) kuvatulla tavalla.

6.1.2 *Tisleellä täytetyn pyknometrin punnitseminen*

Numeroesimerkki

$$\text{Taara} = \text{pyknometri} + \text{tisle } t \text{ °C:ssa} + p'' \left\{ \begin{array}{l} t \text{ °C} = 18,90 \text{ °C} \\ t \text{ °C korjattu} = 18,70 \text{ °C} \\ p'' = 2,8074 \text{ g} \end{array} \right.$$

$$p + m - p'' = \text{tisleen massa } t \text{ °C:ssa} \quad 105,0698 - 2,8074 = 102,2624 \text{ g}$$

Näennäistiheys $t \text{ °C:ssa}$:

$$\rho_t = \frac{p + m - p''}{\text{pyknometrin tilavuus } 20 \text{ °C : ssa}} \left\{ \begin{array}{l} \rho_{18,70 \text{ °C}} = \frac{102,2624}{104,0229} = 0,983076 \end{array} \right.$$

6.1.3 *Alkoholipitoisuuden laskeminen*

Käytetään vesi-etanoliseosten näennäisille tiheyksille eri lämpötiloissa laadittua taulukkoa edellä kuvatulla tavalla

Näennäisten tiheyksien taulukon 18 °C -rivillä havaitun tiheyden 0,983076 pienin ylittävä tiheys on sarakkeessa 11 til-% oleva 0,98398

Tiheys 18 °C on:

$$(98\,307,6 + 0,7 \times 22) 10^{-5} = 0,98323$$

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

alkoholipitoisuuden desimaaliosa on 75/114 = 0,65

Alkoholipitoisuus on 11,65 til-%.

6.2 Pyknometria yksikuppista vaakaa käytettäessä

6.2.1 Pyknometrin parametrit on määritetty ja laskettu I luvun ”Tiheys ja suhteellinen tiheys” 6.2.1 kohdassa.

6.2.2 *Tisleellä täytetyn pyknometrin punnitseminen*

Taaran paino määrittäshetkellä

(grammoina):

$$T_1 = 171,9178$$

Tisleellä täytetyn pyknometrin paino 20,50 °C:ssa

(grammoina)

$$P_2 = 167,8438$$

Ilman nosteen vaihtelu:

$$dT = 171,9178 - 171,9160$$

$$= + 0,0018$$

Tisleen massa 20,50 °C:ssa:

$$L_t = 167,8438 - (67,6695 + 0,0018)$$

$$= 100,1725$$

Tisleen näennäinen tiheys:

$$\rho_{20,50 \text{ °C}} = \frac{100,1725}{101,8194} = 0,983825$$

6.2.3 *Alkoholipitoisuuden laskeminen*

Käytetään vesi-etanoliseosten näennäisille tiheyksille eri lämpötiloissa laadittua taulukkoa edellä kuvatulla tavalla

Näennäisten tiheyksien taulukon 20 °C -rivillä havaitun tiheyden 0,983825 pienin ylittävä tiheys on sarakkeessa 10 til-% oleva 0,98471

Tiheys 20 °C on:

$$(98\,382,5 + 0,50 \times 24) 10^{-5} = 0,983945$$

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

alkoholipitoisuuden desimaaliosa on 76,5/119 = 0,64

Alkoholipitoisuus on 10,64 til-%.

▼B

YHTÄLÖ ALKOHOLIPITOISUUSTAULUKOIDEN LASKEMISEKSI ETYY-LIALKOHOLI-VESISEOKSILLE

Etyylialkoholi-vesiseoksen tiheys ”ρ” kilogrammoina kuutiometrissä (kg/m³) lämpötilassa t °C saadaan lasketuksi seuraavasta yhtälöstä, joka on

— massaprosenttina annetun alkoholipitoisuuden ρ suhteellisen osuuden funktio, jolloin ρ on desimaaliluku (¹),

— Celsiusasteina (IPTS -68) ilmoitetun lämpötilan t funktio,

— ja jonka numeeriset kertoimet ilmoitetaan jäljempänä.

Yhtälö pätee lämpötila-alueella – 20 – + 40 °C.

$$\rho = A_1 + \sum_{k=2}^{12} A_k p^{k-1} + \sum_{k=1}^6 B_k (t - 20 \text{ °C})^k + \sum_{i=1}^n \sum_{k=1}^m C_{i,k} p^{k(t - 20 \text{ °C})^i} \quad \begin{matrix} n = 5 & m_3 = 9 \\ m_1 = 11 & m_4 = 4 \\ m_2 = 10 & m_5 = 2 \end{matrix}$$

Yhtälön numeeriset kertoimet

A_k
kg/m³

1	9,982 012 300 × 10 ²
2	– 1,929 769 495 × 10 ²
3	3,891 238 958 × 10 ²
4	– 1,668 103 923 × 10 ³
5	1,352 215 441 × 10 ⁴
6	– 8,829 278 388 × 10 ⁴
7	3,062 874 042 × 10 ⁵
8	– 6,138 381 234 × 10 ⁵
9	7,470 172 998 × 10 ⁵
10	– 5,478 461 354 × 10 ⁵
11	2,234 460 334 × 10 ⁵
12	– 3,903 285 426 × 10 ⁴

B_k

– 2,061 851 3 × 10 ^{–1} kg/(m ³ × °C)
– 5,268 254 2 × 10 ^{–3} kg/(m ³ × °C ²)
3,613 001 3 × 10 ^{–5} kg/(m ³ × °C ³)
– 3,895 770 2 × 10 ^{–7} kg/(m ³ × °C ⁴)
7,169 354 0 × 10 ^{–9} kg/(m ³ × °C ⁵)
– 9,973 923 1 × 10 ^{–11} kg/(m ³ × °C ⁶)

$C_{1,k}$
kg/(m³ × °C)

1	1,693 443 461 530 087 × 10 ^{–1}
2	– 1,046 914 743 455 169 × 10 ¹
3	7,196 353 469 546 523 × 10 ¹
4	– 7,047 478 054 272 792 × 10 ²
5	3,924 090 430 035 045 × 10 ³
6	– 1,210 164 659 068 747 × 10 ⁴
7	2,248 646 550 400 788 × 10 ⁴
8	– 2,605 562 982 188 164 × 10 ⁴
9	1,852 373 922 069 467 × 10 ⁴
10	– 7,420 201 433 430 137 × 10 ³
11	1,285 617 841 998 974 × 10 ³

$C_{2,k}$
kg/(m³ × °C²)

– 1,193 013 005 057 010 × 10 ^{–2}
2,517 399 633 803 461 × 10 ^{–1}
– 2,170 575 700 536 993
1,353 034 988 843 029 × 10 ¹
– 5,029 988 758 547 014 × 10 ¹
1,096 355 666 577 570 × 10 ²
– 1,422 753 946 421 155 × 10 ²
1,080 435 942 856 230 × 10 ²
– 4,414 153 236 817 392 × 10 ¹
7,442 971 530 188 783

$C_{3,k}$
kg/(m³ × °C³)

1	– 6,802 995 733 503 803 × 10 ^{–4}
2	1,876 837 790 289 664 × 10 ^{–2}
3	– 2,002 561 813 734 156 × 10 ^{–1}
4	1,022 992 966 719 220
5	– 2,895 696 483 903 638
6	4,810 060 584 300 675
7	– 4,672 147 440 794 683
8	2,458 043 105 903 461
9	– 5,411 227 621 436 812 × 10 ^{–1}

$C_{4,k}$
kg/(m³ × °C⁴)

4,075 376 675 622 027 × 10 ^{–6}
– 8,763 058 573 471 110 × 10 ^{–6}
6,515 031 360 099 368 × 10 ^{–6}
– 1,515 784 836 987 210 × 10 ^{–6}

$C_{5,k}$
kg/(m³ × °C⁵)

– 2,788 074 354 782 409 × 10 ^{–8}
1,345 612 883 493 354 × 10 ^{–8}

(¹) Esimerkki: alkoholipitoisuudelle 12 massa-%, ρ = 0,12.



TAULUKKO II

KANSAINVÄLINEN ALKOHOLIPITOISUUS 20 °C:ssa

Taulukko lämpötilan vaikutuksen näennäiseen alkolipitoisuuteen korjaamiseksi

Näennäiseen alkolipitoisuuteen t °C:ssa (tavallisesta lasista valmistettu alkololometri) lisätään tai siitä vähennetään annettu korjausluku

			Näennäinen alkoholipitoisuus t °C:ssa																
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Lämpötila	0°C	Lisätään	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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C	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°C	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°C	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		

			Näennäinen alkoholipitoisuus t °C:ssa																	
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
Lämpötila	21°C	Vähennetään		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°C			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°C			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°C			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°C			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°C			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°C				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°C				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°C				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°C					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°C					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°C				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°C					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°C					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°C						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°C						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°C						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°C						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°C						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°C						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		

▼B

			Näennäinen alkoholipitoisuus t °C:ssa																
			14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Lämpötila	0°C	Lisätään	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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C	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		

			Näennäinen alkoholipitoisuus t °C:ssa																
			14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Lämpötila	21°C	Vähennetään	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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C		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°C	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°C	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°C	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°C	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		

▼B

TAULUKKO IV

Taulukko puhtaiden vesi-alkoholiseosten ja tisleiden taitekerrointomille 20 °C:ssa ja vastaaville alkoholipitoisuuksille 20 °C:ssa

Taitekerroin 20 °C	Alkoholipitoisuus 20 °C				Taitekerroin 20 °C	Alkoholipitoisuus 20 °C			
	Vesi- alkoholiseos		Tisle			Vesi- alkoholiseos		Tisle	
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. KOKONAISUUTOS

Kokonaiskuiva-aine

1 MÄÄRITELMÄ

Kokonaisuutos tai kokonaiskuiva-aine sisältää kaikki aineet, jotka eivät haihdu määritellyissä fysikaalisissa olosuhteissa. Näiden fysikaalisten olosuhteiden on oltava sellaiset, että uutoksen muodostavat aineet muuttuvat mahdollisimman vähän.

Sokeriton uutos on kokonaisuutoksen ja kokonaissokeripitoisuuden välinen erotus.

Vähennetty uutos on kokonaisuutoksen ja 1 g/l ylittävän kokonaissokeripitoisuuden, 1 g/l ylittävän kaliumsulfaattipitoisuuden, mahdollisen mannitolin sekä muiden viiniin mahdollisesti lisättyjen kemikaalien välinen erotus.

Jäännösuutos on sokeriton uutos, josta on vähennetty kiinteät hapot, ilmoitettuna viinihappona.

Uutos ilmoitetaan grammoina litrassa ja se on määritettävä 0,5 g:n tarkkuudella.

2 PERIAATE

Ainoa menetelmä: densimetrillä mittaaminen.

Kokonaisuutos lasketaan epäsuorasti *rypälemehun* tiheydestä ja *alkoholittoman viinin* tiheydestä.

Uutos ilmoitetaan sakkaroosin määränä, joka veteen liuotettuna ja yhdeksi litraksi täytettynä antaa saman tiheyden kuin rypälemehu tai alkoholiton viini. Tämä määrä saadaan taulukosta I.

3 SUORITUS

”*Alkoholittoman viinin*” suhteellinen tiheys d_{20}^{20} (d_r) saadaan yhtälöstä:

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

jossa

d_v = viinin suhteellinen tiheys 20 °C:ssa (haihtuvien happojen vaikutus korjattu) ⁽¹⁾,

d_a = viinin alkoholipitoisuutta vastaavan vesi-etanoliseoksen suhteellinen tiheys 20 °C:ssa.

d_r voidaan myös laskea viinin tiheydestä ρ_v ja vesi-etanoliseoksen tiheydestä ρ_a 20 °C:ssa yhtälöllä:

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

jossa kerroin 1,0018 lähenee käytännössä 1:tä, kun ρ_v on alle 1,05, mikä on yleisin tapaus.

4 TULOISTEN ILMOITTAMINEN

Käytetään taulukossa I olevia alkoholittoman viinin tiheyttä d_{r20}^{20} ja rypälemehun tiheyttä d_{20}^{20} kokonaisuutoksen laskemiseksi grammoina litrassa.

Kokonaisuutos ilmoitetaan grammoina litrassa yhdellä desimaalilla.

⁽¹⁾ Ennen tämän laskutoimituksen tekemistä haihtuvien happojen vaikutus edellä kuvatulla tavalla mitattuun viinin suhteelliseen tiheyteen (tai tiheyteen) on korjattava seuraavan yhtälön mukaisesti:
 $d_v = d_{20}^{20} - 0,0000086$ a tai $\rho_v = \rho_{20} - 0,0000086$ a,
 jossa a on haihtuvien happojen pitoisuus milliekvivalentteina litrassa.



TAULUKKO I

Kokonaisuutoksen laskemiseksi (grammoina litrassa)

Suhteellinen tiheys kahdella desimaalilla	Suhteellisen tiheyden 3. desimaali									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Uutos g/l									
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	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Interpolointitaulukko

Suhteellisen tiheyden 4. desimaali	Uutos g/l	Suhteellisen tiheyden 4. desimaali	Uutos g/l	Suhteellisen tiheyden 4. desimaali	Uutos g/l
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

▼B

5 PELKISTÄVÄT SOKERIT

1 MÄÄRITELMÄ

Pelkistävillä sokereilla tarkoitetaan kaikkia sokereita, jotka osoittavat ketonista tai aldehydistä toimintaa ja joiden määrittäminen perustuu niiden kykyyn pelkistää kuparisuolaa emäksisessä liuoksessa.

2 PERIAATE

2.1 Kirkastaminen

2.1.1 Vertailumenetelmä: neutraloitu ja alkoholiton viini valutetaan asetaattimuodossa anioninvaihtokolonnin läpi, jossa anionit vaihtuvat asetaatti-ioneihin, ja tämän jälkeen se kirkastetaan neutraalilla lyijyasetaatilla.

2.1.2 Tavanomainen menetelmä: viini käsitellään toisella seuraavista reagensseistä:

2.1.2.1 Neutraali lyijyasetaatti

2.1.2.2 Sinkki(II)heksasyanoferraatti

2.2 Määrittäminen

2.2.1 Ainoa menetelmä: tietyn määrän emäksistä kuparisuolaliuosta annetaan reagoida kirkastetun viinin tai rypälemehun kanssa ja määritetään kupari-ionien ylijäämä jodometrisesti.

3 KIRKASTAMINEN

Määritettävän sokeripitoisuuden liuoksessa on oltava välillä 0,5-5 g/l.

Kuivaa viiniä ei saa laimentaa kirkastamisen aikana; makea viini on laimennettava kirkastamisen aikana sokeripitoisuuden saattamiseksi mainittujen raja-arvojen välille seuraavan taulukon mukaisesti.

Nimitys	Sokeripitoisuus (g/l)	Tiheys	Laimennus (%)
Rypälemehut ja mistellet	> 125	> 1,038	1
Makeat tislauksia varten väkevöidyt tai väkevöimättömät viinit	25-125	1,005-1,038	4
Puolimakeat viinit	5-25	0,997-1,005	20
Kuivat viinit	< 5	< 0,997	ei laimennusta

3.1 Vertailumenetelmä

3.1.1 Reagenssit

3.1.1.1 Kloorivetyhappoliuos (HCl), 1 M

3.1.1.2 Natriumhydroksidiliuos (NaOH), 1 M

3.1.1.3 Etikkahappoliuos (CH₃COOH), 4 M

3.1.1.4 Natriumhydroksidiliuos (NaOH), 2 M

3.1.1.5 Anioninvaihtohartsit [Dowex 3 (20-50 mesh) tai vastaava hartsi].

Anioninvaihtokolonnin valmistaminen. Asetetaan byretin pohjalle pieni lasivillatuppo ja 15 ml anioninvaihtohartsia (3.1.1.5).

Ennen käyttöönottoa hartsi on regeneroitava täydellisesti käsittelemällä se kaksi kertaa peräkkäin 1 M kloorivetyhappo- (3.1.1.1) ja natriumhydroksidiliuoksilla (3.1.1.2). Kun hartsi on huuhdottu 50 ml:lla tislattua vettä, se siirretään dekantterilasiin, lisätään 50 ml:1 M etikkahappoliuosta (3.1.1.3) ja sekoitetaan 5 minuutin ajan. Täytetään byretti uudelleen ja valutetaan 100 ml 4 M etikkahappoliuosta (3.1.1.3) kolonnin läpi. (On suositeltavaa pitää varastossa hartsia 4 M etikkahappoliuoksella täytetyssä pullossa.) Pestään kolonnia tislattulla vedellä, kunnes eluaatti on muuttunut neutraaliksi.

Hartsin regenerointi. Valutetaan 150 ml 2 M natriumhydroksidiliuosta hartsin läpi happojen ja useimpien hartsien tarttuneiden väriaineiden poistamiseksi. Huuhdotaan 100 ml:lla vettä, kaadetaan 100 ml 4 M

▼B

etikkahappoliuosta hartsin läpi. Pestään kolonnia, kunnes eluaatti on neutraali.

3.1.1.6 Neutraali lyijyasetaattiliuos (lähes kyllästetty):

Neutraali lyijyasetaatti $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ 250 g
Täytetään 500 ml:ksi hyvin kuumalla vedellä

Ravistellaan, kunnes lyijyasetaatti liukenee.

3.1.1.7 Kalsiumkarbonaatti CaCO_3 3.1.2 *Suoritus*

3.1.2.1 Kuivat viinit

Kaadetaan 50 ml viiniä dekanterilasiin, jonka halkaisija on noin 10-12 cm, ja lisätään 1/2 (n = 0,5) ml 0,1 M natriumhydroksidiliuosta (3.1.1.2) (n = 0,1 M natriumhydroksidiliuostilavuus, joka kuluu, kun kokonaishapot määritetään 10 lista viiniä.) Haihdutetaan kiehuvaassa vesihauteessa kuumassa ilmavirrassa, kunnes nestettä on jäljellä noin 20 ml.

Valutetaan 3 ml tätä nestettä asetaattimuodossa olevan anioninvaihtokolonnin (3.1.1.5) läpi joka toinen minuutti. Kerätään eluaatti 100 ml:n mittapulloon. Pestään dekanterilasi ja kolonni kuusi kertaa 10 ml:lla tislattua vettä, lisätään sekoittaen 2,5 ml kyllästettyä lyijyasetaattiliuosta (3.1.1.6) ja 0,5 g kalsiumkarbonaattia (3.1.1.7), ravistetaan useita kertoja ja annetaan seistä vähintään 15 minuuttia. Täytetään merkkiin vedellä. Suodatetaan.

1 ml tätä suodosta vastaa 0,5 ml:aa viiniä.

3.1.2.2 Rypälemehut, mistellet, makeat ja puolimakeat viinit

Seuraavat laimennokset ovat ohjeellisia.

1) *Rypälemehut ja mistellet*

Valmistetaan 10-prosenttinen liuos ja otetaan siitä 10 ml:n näyte.

2) *Makeat tislausta varten väkevöidyt tai väkevöimättömät viinit*, joiden tiheys on välillä 1,005-1,038. Otetaan 20 ml:n näyte 20-prosenttisesta liuoksesta.3) *Puolimakeat viinit*, joiden tiheys on 0,997-1,005. Otetaan 20 ml:n näyte laimentamattomasta viinistä.

Valutetaan edellä mainittu määrä viiniä tai rypälemehua 3 ml:n erissä asetaattimuodossa olevan anioninvaihtokolonnin läpi joka toinen minuutti. Kerätään eluaatti 100 ml:n mittapulloon, huuhdellaan kolonnia vedellä, kunnes saadaan noin 90 ml eluaattia. Lisätään 0,5 g kalsiumkarbonaattia ja 1 ml kyllästettyä lyijyasetaattiliuosta. Sekoitetaan ja annetaan seistä vähintään 15 minuuttia aina välillä sekoittaen. Täytetään merkkiin vedellä. Suodatetaan.

Tapauksen mukaan:

1) 1 ml suodosta vastaa 0,01 ml:aa rypälemehua tai mistelleä,

2) 1 ml suodosta vastaa 0,04 ml:aa makeaa viiniä,

3) 1 ml suodosta vastaa 0,20 ml:aa puolimakeaa viiniä.

▼M8

▼B

4 MÄÄRITYS

4.1 Reagenssit

4.1.1 *Emäksinen kuparisulfoliuos*

Kuparisulfaatti, puhdas ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$)	25 g
Sitruunahappo ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	50 g
Kiteinen natriumkarbonaatti ($\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	388 g
Täytetään vedellä	1 000 ml:ksi

Liutetaan kuparisulfaatti 100 ml:aan vettä, sitruunahappo 300 ml:aan vettä ja natriumkarbonaatti 300-400 ml:aan lämmintä vettä.

▼B

Sekoitetaan sitruunahappo- ja natriumkarbonaattiliuokset. Lisätään kuparisulfaattiliuos ja täytetään yhdeksi litraksi.

4.1.2 30 % kaliumjodidiliuos

Kaliumjodidi (KI)	30 g
Täytetään vedellä	100 ml:ksi

Säilytetään värillisessä lasipullossa.

4.1.3 25 % rikkihappo

Rikkihappo, puhdas (H_2SO_4) $\rho_{20} = 1,84$ g/ml	25 g
Täytetään vedellä	100 ml:ksi

Happo kaadetaan varovasti veteen, annetaan jäähtyä ja täytetään 100 ml:ksi.

4.1.4 5 g/l tärkkelysliuos

Sekoitetaan 5 g tärkkelystä noin 500 ml:aan vettä. Kuumennetaan kiehuvaan koko ajan sekoittaen ja annetaan kiehua noin 10 minuuttia. Lisätään 200 g natriumkloridia (NaCl). Täytetään yhdeksi litraksi jäähtymisen jälkeen.

— Natriumtiosulfaattiliuos, 0,1 M

— Inverttisokeriliuos, 5 g/l:

käytetään määritysmenetelmän tarkastamiseen.

Mitataan 200 ml:n mittapulloon seuraavat aineet

Puhdas sakkaroosi ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	4,75 g
Vesi, noin	100 ml
Kloorivetyhappo, puhdas (HCl) ($\rho_{20} = 1,16 - 1,19$ g/ml)	5 ml

Pidetään mittapulloa 60 °C:ssa vesihauteessa, kunnes liuoksen lämpötila on 50 °C ja pidetään tämä lämpötila 15 minuutin ajan. Annetaan pullon jäähtyä 30 minuuttia itseksensä ja tämän jälkeen jäähdytetään kylmässä vesihauteessa. Siirretään liuos 1 l:n mittapulloon. Täytetään litraksi. Tämä liuos säilyy käyttökelpoisena yhden kuukauden ajan. Käyttöön otettaessa neutraloidaan määritettävä näyte (tämä liuos on noin 0,06 M happo) natriumhydroksidiliuoksella.

4.2 Suoritus

Mitataan 300 ml:n mittapulloon 25 ml emäksistä kuparisuolaliuosta, 15 ml vettä ja 10 ml kirkastettua liuosta, joka saa sisältää enintään 60 mg inverttisokeria.

Lisätään muutamia hohkakivirakeita. Yhdistetään pystyjäähdytimeen ja kuumennetaan kiehumispisteeseen 2 minuutin kuluessa. Annetaan kiehua tarkalleen 10 minuuttia.

Jäähdytetään välittömästi kylmässä juoksevassa vedessä. Kun liuos on jäähtynyt täysin, lisätään 10 ml 30-prosentista kaliumjodidiliuosta (4.1.2), 25 ml 25-prosentista rikkihappoa (4.1.3) ja 2 ml tärkkelysliuosta (4.1.4).

Titraataan 0,1 M natriumtiosulfaattiliuoksella (4.1.5). n = käytetty millilitramäärä.

Tehdään myös sokeakoe, jossa 10 ml sokeriliuosta korvataan 10 ml:lla tislattua vettä. n' = titraukseen käytetty tiosulfaatin määrä.

4.3 Tulosten ilmoittaminen

4.3.1 Laskutoimitukset

Määritettävän näytteen sisältämä sokerimäärä, inverttisokerina ilmoitettuna, annetaan jäljempänä olevassa taulukossa käytetyn tiosulfaatin n' – n millilitramäärän funktiona.

Viinin sokeripitoisuus inverttisokeria grammoina litrassa on ilmoitettava yhdellä desimaalilla ottaen huomioon kirkastamisen aikana suoritettujen laimennukset ja määritettävän näytteen tilavuus.

▼B4.3.2 *Toistettavuus*

$$r = 0,015 x_i$$

x_i = inverttisokerin konsentraatio grammoina litrassa näytettä.

4.3.3 *Uusittavuus*

$$R = 0,058x_i$$

x_i = inverttisokerin konsentraatio grammoina litrassa näytettä.

0,1 M natriumtiosulfaattiliuoksen tilavuus, (n'-n) ml, ja vastaava pelkistävien sokerien määrä milligrammoina					
Na ₂ S ₂ O ₃ (ml 0,1 M)	Pelkistävät sokerit (mg)	Erotus	Na ₂ S ₂ O ₃ (ml 0,1 M)	Pelkistävät sokerit (mg)	Erotus
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			

▼B

6 SAKKAROOSI

1 PERIAATE

I Kvalitatiivinen koemenetelmä ohutlevykyromatografialla. Sakkarooi erotetaan muista sokereista selluloosalla päällystetyllä levyllä ja täplä kehitetään urea-kloorivetyhapporeagenssilla 105 °C:ssa lämpökaapissa.

II Koe- ja määritysmenetelmä suuren erotuskyvyn nestekromatografialla. Sakkarooi erotetaan sidostetulla alkyylamiinisilikolonnilla, ja määritetään refraktometrillä. Tulos suhteutetaan samoissa koeolosuhteissa määritettyyn ulkoisena standardina käytettyyn aineeseen.

Huomautukset:

Rypälemehun tai viinin aitous voidaan tarkistaa deuterium NMR-menetelmällä, joka on kuvattu rypälemehujen, puhdistettujen tiivistettyjen rypälemehujen ja viinien väkevöinnin osoittamiseksi.

Sakkarooiin toteamiseksi ja määrittämiseksi voidaan käyttää myös 42 luvun f kohdassa kuvattua kaasukromatografiaa.

2 KVALITATIIVINEN MENETELMÄ OHUTLEVYKROMATOGRAPHIALLA

2.1 Laitteet

2.1.1 Selluloosalla päällystettyjä kromatografialevyjä

2.1.2 Kromatografiakammio

2.1.3 Mikroruisku tai mikropipetti

2.1.4 Lämpökaappi, joka voidaan säätää 105 °C ± 2 °C:seen

2.2 Reagenssit

2.2.1 *Aktiivihiihi värin poistoon*

2.2.2 *Liikkuva faasi:* dikloorimetaani — jäätikka ($p_{20} = 1,05$ g/ml) — etanoli — metanoli — vesi (50:25:9:6:10).

2.2.3 *Kehitin*

Urea	5 g
Kloorivetyhappo 2 M	20 ml
Etanoli	100 ml

2.2.4 *Vertailuliuos*

Glukoosi	35 g
Fruktoosi	35 g
Sakkarooi	0,5 g
Täytetään vedellä	1000 ml:ksi

2.3 Suoritus

2.3.1 *Näytteen valmistaminen*

Jos rypälemehun tai viinin väri on voimakas, väri poistetaan aktiivihii-likäsittelyllä.

Kun kyseessä on puhdistettu tiivistetty rypälemehu käytetään liuosta, jonka sokeripitoisuus on 25 % (m/m) (25°C Brix) ja joka on valmistettu luvussa ”pH:n määrittäminen” olevassa 4.1.2 kohdassa kuvatulla tavalla, ja laimennetaan mittapullossa 25 ml liuosta vedellä 100 ml:ksi.

2.3.2 *Kromatografointi*

Annostellaan 2,5 cm:n etäisyydelle levyn alareunasta:

— 10 µl näytettä,

— 10 µl vertailuliuosta.

Asetetaan levy liikkuvan faasin höyryllä kyllästettyyn kromatografiakammioon ja annetaan nesteen nousta 1 cm:n etäisyydelle yläreunasta. Nostetaan levy pois ja kuivataan se lämpimässä ilmavirrassa. Toistetaan

▼B

ajo kaksi kertaa ja kuivataan levy molemmilla kerroilla. Sumutetaan levyille tasaisesti 15 ml kehitintä ja pidetään sitä 105 °C:ssa lämpökäpissa 5 minuuttia.

2.4 Tulokset

Sakkaroosi ja fruktoosi näkyvät tummansinisinä täplinä valkoisella taustalla; glukoosin täplä on heikosti vihertävä.

3 KOE- JA MÄÄRITYSMENETELMÄ SUUREN EROTUSKYVYN NESTEKROMATOGRAFIALLA

Kromatografiset olosuhteet ovat ohjeellisia.

3.1 Laitteet

3.1.1 *Suuren erotuskyvyn nestekromatografi, jossa on:*

- 1) 10 µl injektointiluoppi,
- 2) detektori, differentiaalinen refraktometri tai interferometri-refraktometri,
- 3) sidostettu alkyylamiinisilikakolonni (pituus 25 mm ja sisähalkaisija 4 mm),
- 4) samalla faasilla täytetty esikolonni,
- 5) valmius esikolonnin ja kolonnin eristämiseksi ja lämpötilan pysyttämiseksi (30 °C),
- 6) piirturi ja mahdollisesti integraattori,
- 7) liikkuvan faasin virtausnopeus: 1 ml/min.

3.1.2 *Kalvosuodatuslaitteisto (0,45 µm)*

3.2 Reagenssit

3.2.1 *Kahdesti tislattu vesi*

3.2.2 *Asetonitriili (CH₃CN), HPLC-laatu*

3.2.3 *Liikkuva faasi:* asetonitriili-vesi, suodatettu kalvon (0,45 µm) läpi, (80-20 v/v).

Liikkuvasta faasista on poistettava kaasu ennen sen käyttöä.

3.2.4 *Vertailuliuos:* sakkaroosin vesiliuos 1,2 g/l. Suodatetaan kalvon (0,45 µm) läpi.

3.3 Suoritus

3.3.1 *Näytteen valmistaminen*

— Viinit ja rypälemehut.

Suodatetaan kalvon (0,45 µm) läpi.

— Puhdistetut tiivistetyt rypälemehut.

Käytetään liuosta, joka on valmistettu laimentamalla puhdistettu tiivistetty rypälemehu 40 %:ksi (m/v) luvussa ”Kokonaishappopitoisuus” olevassa 5.1.2 kohdassa kuvatulla tavalla ja suodatettu kalvon (0,45 µm) läpi.

3.3.2 *Kromatografinen määrittäminen*

Injektoidaan kromatografiin vuorotellen 10 µl vertailuliuosta ja 10 µl 3.3.1 kohdassa kuvatulla tavalla valmistettua näytettä. Toistetaan injektioinit samassa järjestyksessä.

Tulostetaan kromatogrammi.

Sakkaroosin retentioaika on noin 10 minuuttia.

3.4 Laskutoimitukset

Laskutoimituksissa käytetään vertailuliuoksen ja näytteen kahden määrittäksen tulosten keskiarvoa.

3.4.1 *Viinit ja rypälemehut*

Lasketaan pitoisuus grammoina litrassa.

▼B3.4.2 *Puhdistetut tiivistetyt rypälemehut*

C g/l on 40 % (m/v) puhdistetun tiivistetyn rypälemehuliuksen sakkaroosipitoisuus.

Puhdistetun tiivistetyn rypälemehun sakkaroosipitoisuus grammoina kilogrammassa: $2,5 \times C$.

3.5 **Tulosten ilmoittaminen**

Viinien, rypälemehujen ja puhdistettujen tiivistettyjen rypälemehujen sakkaroosipitoisuus ilmoitetaan grammoina litrassa (viinit ja rypälemehut) ja grammoina kilogrammassa (puhdistetut tiivistetyt rypälemehut) yhdellä desimaalilla.

▼B

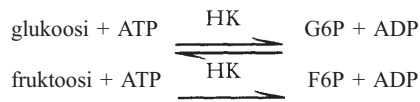
7 GLUKOOSI JA FRUKTOOSI

1 MÄÄRITELMÄ

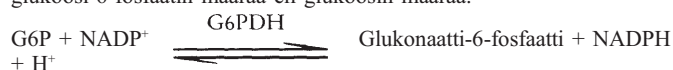
Glukoosi ja fruktoosi voidaan määrittää erikseen entsymaattisella menetelmällä, jonka ainoa tavoite on glukoosi/fruktoosi -suhteen laskeminen.

2 PERIAATE

Glukoosi tuottaa adenosiinitrifosforihapon kanssa (ATP) heksokinaasilla (HK) katalysoidussa entsymaattisessa reaktiossa glukoosi-6-fosfaattia (G6P) ja fruktoosi fruktoosi-6-fosfaattia (F6P).

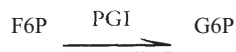


Aluksi glukoosi-6-fosfaatti hapetetaan nikotiiniamidi-adeniini-dinukleotidi-fosfaatilla (NADP) glukonaatti-6-fosfaatiksi glukoosi-6-fosfaattidehydrogenaasi-entsyymillä (G6PDH) läsnäollessa. Pelkistyneen nikotiiniamidi-adeniini-dinukleotidi-fosfaatin (NADPH) määrä vastaa glukoosi-6-fosfaatin määrää eli glukoosin määrää.



Pelkistynyt nikotiiniamidi-adeniini-dinukleotidi-fosfaatti määritetään mittaamalla absorptio 340 nm:ssä.

Reaktion päättyessä fruktoosi-6-fosfaatti muutetaan fosfogluukoosi-isomeraasilla (PGI) glukoosi-6-fosfaatiksi.



Glukoosi-6-fosfaatti reagoi jälleen nikotiiniamidi-adeniini-dinukleotidi-fosfaatin kanssa ja tuottaa glukonaatti-6-fosfaattia ja pelkistynyttä nikotiiniamidi-adeniini-dinukleotidi-fosfaattia: jälkimmäinen määritetään.

3 LAITTEET

— Spektrofotometri, jolla voidaan tehdä mittaus 340 nm:ssä, jossa NADPH:n absorptio on suurin. Jos kyseessä ovat absoluuttiset mittaukset (ei käytetä kalibroitisarjoja, vaan NADPH:n ekstinktiokerrointa), laitteen aallonpituus- ja absorbanssiarvot on tarkistettava.

Jos tällaista spektrofotometriä ei ole saatavissa, käytetään spektrofotometriä, josta saadaan epäjatkuva spektri ja jolla voidaan tehdä mittauksia 334 tai 365 nm:ssä.

— Lasikyvettejä, joiden optinen pituus on 1 cm tai kertakäyttöisiä kyvettejä.

— Entsymaattisissa kokeissa käytettäviä pipettejä, 0,02 — 0,05 — 0,1 — 0,2 ml.

4 REAGENSIT

- 4.1 **Liuos 1:** puskuriliuos (trietanoliamiini 0,3 M: pH = 7,6; 4×10^{-3} M, Mg^{2+}). 150 ml:aan kahdesti tislattua vettä liuotetaan 11,2 g trietanoliamiinihydrokloridia ($(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N} \times \text{HCl}$) ja 0,2 g $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$, lisätään noin 4 ml 5 M natriumhydroksidiliuosta (NaOH) pH:n säätämiseksi arvoon 7,6 ja täytetään 200 ml:ksi.

Tätä standardiliuosta voi säilyttää 4 viikkoa + 4 °C:ssa.

- 4.2 **Liuos 2:** nikotiiniamidi-adeniini-dinukleotidi-fosfaatti-liuos (noin $11,5 \times 10^{-3}$ M): 5 ml:aan kahdesti tislattua vettä liuotetaan 50 mg dinatrium nikotiiniamidi-adeniini-dinukleotidi-fosfaattia.

Liuos säilyy 4 viikkoa + 4 °C:ssa.

- 4.3 **Liuos 3:** adenosiini-5'-trifosfaatti -liuos (noin 81×10^{-3} M): 5 ml:aan kahdesti tislattua vettä liuotetaan 250 mg dinatrium adenosiini-5'-trifosfaattia ja 250 mg natriumvetykarbonaattia NaHCO_3 .

Liuos säilyy 4 viikkoa + 4 °C:ssa.

- 4.4 **Liuos 4:** Heksokinaasi/glukoosi-6-fosfaatti-dehydraasi: sekoitetaan 0,5 ml heksokinaasia (2 mg proteiinia/ml tai 280 U/ml) ja 0,5 ml glukoosi-6-fosfaatti-dehydraasia (1 mg proteiinia/ml).

Liuos säilyy yhden vuoden + 4 °C:ssa.

▼B

- 4.5 **Liuos 5:** Fosfogluukoosi-isomeraasi (2 mg proteiinia/ml tai 700 U/ml). Liuosta käytetään laimentamattomana.

Liuos säilyy vuoden + 4 °C:ssa.

Huomautus:

Kaikkia määrittämissä tarvittavia reagensseja on kaupallisesti saatavilla.

5 SUORITUS

5.1 Näytteen valmistaminen

Arvioitujen glukoosi + fruktoosimäärän/l mukaan tehdään seuraavat laimennukset:

Mittaus 340 ja 334 nm:ssä	Mittaus 365 nm:ssä	Laimennus vedellä	Laimennuskerroin F
0,4 g/l asti	0,8 g/l	—	—
4,0 g/l asti	8,0 g/l	1 + 9	10
10,0 g/l asti	20,0 g/l	1 + 24	25
20,0 g/l asti	40,0 g/l	1 + 49	50
40,0 g/l asti	80,0 g/l	1 + 99	100
yli 40,0 g/l	80,0 g/l	1 + 999	1 000

5.2 Määrittäminen

Tehdään mittaukset 340 nm:n aallonpituudelle säädetyllä spektrofotometrillä vertailuna ilma (ei kyvetä) tai vesi.

Lämpötila 20-25 °C.

Annostellaan kahteen 1 cm:n kyvetiin:

	vertailu	määrittäminen
Liuos 1 (4.1) (saatettu 20 °C:ksi)	2,50 ml	2,50 ml
Liuos 2 (4.2)	0,10 ml	0,10 ml
Liuos 3 (4.3)	0,10 ml	0,10 ml
Määritettävä näyte		0,20 ml
Kahdesti tislattu vesi	0,20 ml	

Sekoitetaan ja luetaan liuosten absorbanssi (A_1) noin 3 minuutin kuluttua. Käynnistetään reaktio lisäämällä:

Liuos 4 (4.4)	0,02 ml	0,02 ml
---------------	---------	---------

Sekoitetaan; odotetaan 15 minuuttia; luetaan absorbanssi ja tarkistetaan, että reaktio on tapahtunut loppuun 2 minuutin kuluttua (A_2).

Lisätään välittömästi:

Liuos 5 (4.5)	0,02 ml	0,02 ml
---------------	---------	---------

Sekoitetaan; luetaan absorbanssi 10 minuutin kuluttua; tarkistetaan, että reaktio on tapahtunut loppuun 2 minuutin kuluttua (A_3).

Lasketaan absorbanssin erotukset vertailu- ja määrittäliuoksille:

$A_2 - A_1$ vastaa glukoosia,

$A_3 - A_2$ vastaa fruktoosia,

Lasketaan absorbanssien erotukset vertailu- (ΔA_v) ja määrittäliuoksille (ΔA_m), jolloin saadaan

glukoosille: $\Delta A_G = \Delta A_m - \Delta A_v$

fruktoosille: $\Delta A_F = \Delta A_m - \Delta A_v$

Huomautus:

Entsyymiaktiivisuuden loppuunsaattamiseen tarvittava aika voi vaihdella erästä toiseen. Edellä annettu arvo on vain ohjeellinen. On suositeltavaa määrittää aika erikseen jokaiselle erälle.

▼B**5.3 Tulosten ilmoittaminen****5.3.1 Laskeminen**

Konsentraatioiden yleinen laskentakaava on:

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

jossa

V = koeliuoksen tilavuus (ml)

v = näytteen tilavuus (ml)

MP = määritettävän aineen molekyylimassa

d = kyvetin optinen pituus (cm)

Σ = NADPH:n absorptiokerroin 340 nm:ssä = 6,3 (mmol⁻¹ × 1 × cm⁻¹)

V = glukoosin määrittämisessä 2,92 ml

V = fruktoosin määrittämisessä 2,94 ml

v = 0,20 ml

MP = 180

d = 1

Saadaan:

glukoosille: Cg/l = 0,417ΔA_G

fruktoosille: Cg/l = 0,420ΔA_F

Jos näyte on laimennettu valmistamisen yhteydessä, tulos kerrotaan laimennuskertoimella F.

Huomautus:

Jos mittaukset on tehty aallonpituuksilla 334 tai 365 nm, saadaan:

— mittausta 334 nm:ssä: $\Sigma = 6,2$ (mmol⁻¹ × 1 × cm⁻¹)

glukoosille: Cg/l = 0,425ΔA_G

fruktoosille: Cg/l = 0,428ΔA_F

— mittausta 365 nm:ssä: $\Sigma = 3,4$ (mmol⁻¹ × 1 × cm⁻¹)

glukoosille: Cg/l = 0,773ΔA_G

fruktoosille: Cg/l = 0,778ΔA_F

5.3.2 Toistettavuus (r)

$$r = 0,056x_1$$

5.3.3 Uusittavuus (R)

$$R = 0,12 + 0,076x_1$$

x₁ = glukoosi- tai fruktoosipitoisuus grammoina litrassa.

▼B

8 RYPÄLEMEHUJEN, TIIVISTETTYJEN RYPÄLEMEHUJEN, PUHDISTETTUJEN TIIVISTETTYJEN RYPÄLEMEHUJEN JA VIININ VÄKEVÖINNIN HAVAITSEMINEN DEUTERIUMIN YDINMAGNEETTISTA RESONANSSIA SOVELTAMALLA

1 MÄÄRITELMÄ

Käymisen jälkeen rypälemehussa ollut veden ja sokerien sisältämä deuterium jakautuu uudelleen viinissä molekyyliin I, II, III ja IV:



Väkevöinti sokeria lisäämällä (chaptalisation) ennen rypälemehun käymistä vaikuttaa deuteriumin jakautumiseen.

Verrattaessa saman alueen luonnollisen vertailuviinin parametrien arvoihin, väkevöinti sokerilla johtaa seuraaviin muutoksiin:

Viini \ Parametrit	(D/H) _I	(D/H) _{II}	(D/H) _W ^Q	R
— Luonnollinen	→	→	→	→
— Väkevöity				
— juurikassokeri	}	↗↘	↗↘	↗↘
— ruokosokeri				
— maissisokeri				

(D/H)_I: isotooppisuhde, joka liittyy molekyyliin I

(D/H)_{II}: isotooppisuhde, joka liittyy molekyyliin II

(D/H)_W^Q: veden isotooppisuhde viinissä.

$R = 2(D/H)_{II}/(D/H)_I$ ilmaisee deuteriumin suhteellisen jakautumisen molekyyliissä I ja II: R mitataan suoraan signaalien h-voimakkuudesta ja tällöin $R = 3h_{II}/h_I$.

(D/H)_I on tunnusomainen erityisesti sokerin yhteyttäneelle kasvilajille ja vähemmässä määrin satopaikan maantieteelliselle sijainnille (fotosynteesin aikana käytetyn veden laatu).

(D/H)_{II} kuvaa viinirypäleiden tuotantopaikan ilmasto-oloja (sadeveden luonne ja sääolosuhteet) ja vähemmässä määrin alkuperäisen rypälemehun sokerikonsentraatiota.

(D/H)_W^Q kuvaa tuotantopaikan ilmasto-oloja ja alkuperäisen rypälemehun sokeripitoisuutta.

2 PERIAATE

Edellä määritellyt parametrit [R, (D/H)_I, (D/H)_{II}] määritetään deuteriumin ydinmagneettisella resonanssilla viinistä, tai rypälemehun, tiivistetyn rypälemehun ja puhdistetun tiivistetyn rypälemehun annetuissa olosuhteissa saaduista käymistuotteista erotetusta etanolista. Määrittystä voidaan mahdollisesti täydentää määrittämällä viinistä erotetun veden isotooppisuhde, (D/H)_W^Q ja määrittämällä ¹³C/¹²C isotooppisuhde etanolista.

▼M1

▼B

3 NÄYTTEEN VALMISTAMINEN MÄÄRITYSTÄ VARTEN

3.1 Etanolin ja veden erottaminen viinistä

Huomautus:

Etanolin erottamiseen voidaan käyttää mitä tahansa menetelmää sillä edellytyksellä, että 98-98,5 % viinin sisältämästä kokonaisalkoholista saadaan yhteen tisleeseen, jonka alkoholipitoisuus on 92-93 massa-% (95 til-%).

▼B3.1.1 *Laitteet ja reagenssit*

- Laitteisto etanolin erottamiseksi (kuva 1), jossa on
 - tehonsäätimellä varustettu sähköhaude,
 - 1 litran vetoinen hioksellinen keittopullo,
 - Cadiot-kolonne, jossa on pyörivä läpivienti (liikkuva osa teflonia),
 - hioksellisia 125 ml:n erlenmeyerkolveja,
 - muovitulpallisia 125 ja 60 ml:n pulloja.
- Reagensseja veden määrittämiseen Karl Fischerin menetelmällä (esimerkiksi Merck 9241 ja 9243).

3.1.2 *Suoritus*3.1.2.1 Määritetään viinin alkoholipitoisuus (t°) vähintään 0,05 til-%:n tarkkuudella.

3.1.2.2 Etanolin erottaminen

Mitataan 500 ml:n homogeeninen näyte alkoholipitoisuudeltaan t° olevaa viiniä noin 0,9 vakiopalautussuhteen omaavan tisluslaitteen tislaukskolviin. Asetetaan aiemmin taarattu tisleen keräykseen tarkoitettu 125 ml:n hioksellinen erlenmeyerpullo paikoilleen. Kerätään 78,0-78,2 °C:ssa kiehuva neste, eli noin 40-60 ml. Jos lämpötila on yli 78,5 °C, keskeytetään keräys viideksi minuutiksi.

Kun lämpötila on palautunut 78 °C:seen, jatketaan tisleen keräystä 78,5 °C:seen saakka ja suoritus toistetaan, kunnes lämpötila keräyksen keskeyttämisen jälkeen suljetussa järjestelmässä ei enää muutu. Täydellinen tislus kestää noin 5 tuntia. Tällä periaatteella voidaan kerätä 98-98,5 % viinin kokonaisalkoholista tisleeseen, jonka alkoholipitoisuus on 92-93 massa-% (95 til-%). Jäljempänä 4 kohdassa kuvatut NMR-olosuhteet on vahvistettu tälle pitoisuudelle.

Kerätty etanoli punnitaan.

Tislusjäännöksen 60 ml:n suuruinen homogeeninen näyte säilytetään 60 ml:n mittapullossa ja se edustaa viinissä olevaa vettä. Sen isotoppi-suhde määritetään tarvittaessa.

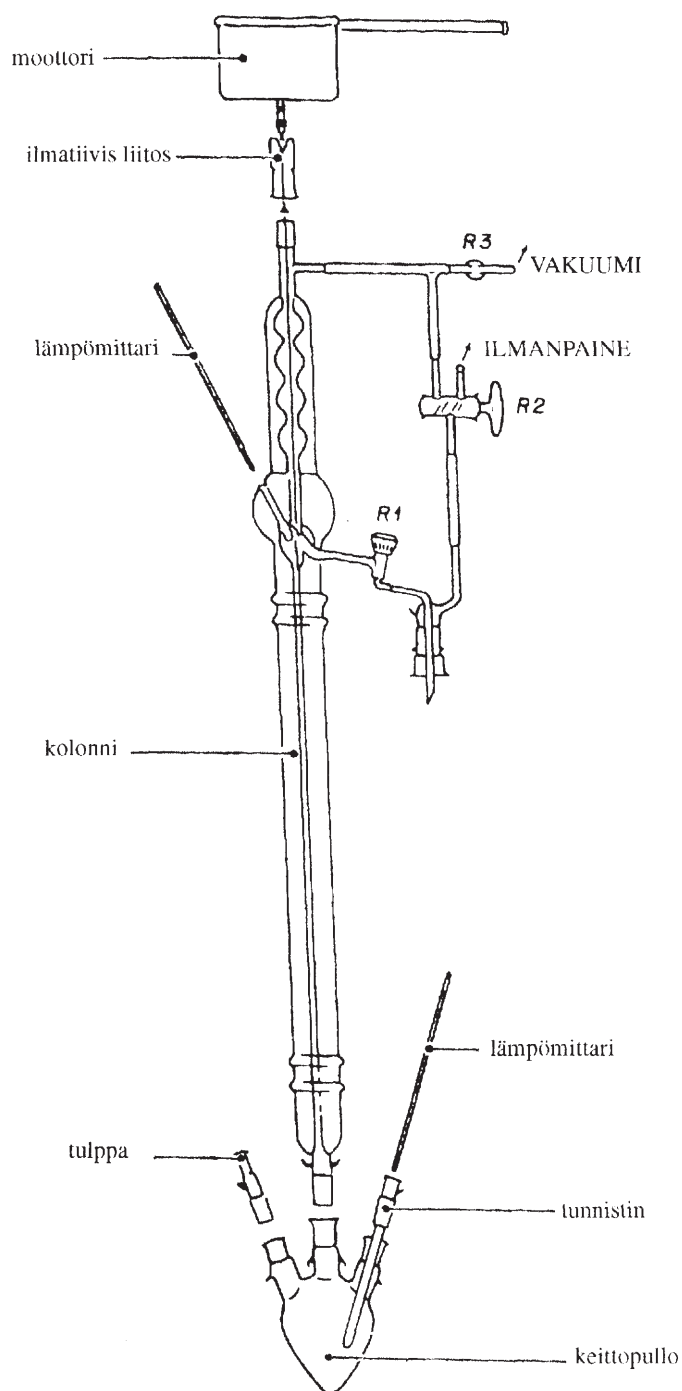
Huomautus:

Jos käytettävissä on spektrometri, joka on varustettu 10 mm:n näyteputkella (katso kuva 4), 300 ml:n suuruinen homogeeninen viininäyte on riittävä.

3.1.2.3 Uutetun alkoholin alkoholipitoisuuden määrittäminen

Noin 0,5 ml:n alkoholinäytteen, jonka massa p on tarkalleen tunnettu, vesipitoisuus, $p'g$, määritetään Karl Fischerin menetelmällä.

▼B



Kuva 1 - Etanolin tislauslaite

Etanolin alkoholipitoisuus painoprosentteina saadaan kaavasta

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

3.2 Rypälemehujen, tiivistettyjen rypälemehujen ja puhdistettujen tiivistettyjen rypälemehujen fermentointi

3.2.1 Laitteet ja reagenssit

— viinihappo,

— *Bacto Yeast Nitrogen, Base without amino acids DIFCO*,

— aktiivisia kuivahiivoja (*SaCharomyces cerevisiae*).

Jos veden isotooppisuhte rypälemehussa on tunnettu, hiivat voidaan aktivoida etukäteen uudelleen pienessä määrässä tislamatonta haaleaa

▼B

vettä (1 g/50 ml), jotta isotooppisuhde pysyisi lähellä viinin sisältämän veden isotooppisuhdetta.

Jos veden isotooppisuhde viinissä ei ole tunnettu, on suositeltavaa siirrostaa suoraan.

Käytettävien kuivahiivojen määrä on noin 1 g eli noin 10^{10} solua/1 l rypälemehua.

Vetoisuudeltaan 1,5 l oleva käymisastia, joka on varustettu astian ilmatiivinä pitävällä osalla ja jolla alkoholihöyryt voidaan tiivistää, sillä etanolia ei saa hävitä käymisen aikana. Sokeri on fermentoitava etanoliksi vähintään 98 %:n saannolla.

3.2.2 *Suoritus*

3.2.2.1 Rypälemehut

— Tuoreet rypälemehut

Mitataan käymisastiaan 1 l rypälemehua, jonka käymiskykyisten sokerien konsentraatio on ennalta määritetty. Lisätään 1 g etukäteen aktivoitua kuivahiivaa. Asetetaan ilmatiiviuden pitävä osa paikoilleen. Annetaan käydä noin 20 °C:n lämpötilassa, kunnes sokerit ovat käyneet loppuun. Kun käymistuotteen alkoholi-pitoisuus on määritetty ja sokerien käymisaste alkoholiksi laskettu, käymisliuos sentrifugoidaan ja tislataan etanolin erottamiseksi.

— Rypälemehut, joissa käyminen on estetty rikkidioksidia lisäämällä

Poistetaan rikki hieman yli 1 l:n (1,2 l) rypälemehumäärästä kuplitamalla tyypeä rypälemehun läpi kuumassa vesihautteessa 70-80 °C:ssa palautusjäähdyttimen alla, kunnes kokonaisrikkidioksidipitoisuus on alle 200 mg/l. Veden haihtumisesta aiheutuva rypälemehun väkevöityminen on estettävä käyttämällä tehokasta jäähdytintä.

Mitataan käymisastiaan 1 l rypälemehua, josta rikki on poistettu, ja jatketaan suoritusta samalla tavoin kuin tuoreella rypälemehulla.

Huomautus:

Jos rypälemehun rikittämiseen käytetään natriummetabisulfiittia, rypälemehuun on lisättävä ennen rikin poistamista 0,25 ml väkevää rikkihappoa ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml) rypälemehulitraan käytettyä metabisulfiittigrammaa kohti.

3.2.2.2 Tiivistetyt rypälemehut

Mitataan käymisastiaan V ml tiivistettyä rypälemehua, joka sisältää tunnetun määrän sokeria, noin 170 g. Täytetään tilavuus 1 l:ksi $(1\,000 - V)$ ml:lla vettä, jonka isotooppisuhde on sama kuin luonnollisen vertailurypälemehun sisältämän veden isotooppisuhde. Siirrostetaan 3.2.1 kohdassa kuvatulla tavalla. Lisätään 3 g *Bacto Yeast Nitrogen Base without amino acids DIFCO*. Homogenoidaan ja jatketaan suoritusta edellä kuvatulla tavalla.

3.2.2.3 Puhdistetut tiivistetyt rypälemehut

Edetään 3.2.2.2 kohdassa kuvatulla tavalla täyttämällä tilavuus 1 l:ksi $(1\,000 - V)$ ml:lla vettä, jonka isotooppisuhde on sama kuin luonnollisen vertailurypälemehun, johon on liuotettu 3 g viinihappoa, sisältämän veden isotooppisuhde.

Huomautus:

Säästetään 50 ml:n näyte rypälemehusta tai rypälemehusta, josta rikki on poistettu, tai tiivistetystä rypälemehusta tai puhdistetusta tiivistetystä rypälemehusta, jotta voidaan tarvittaessa erottaa vesi ja määrittää sen isotooppisuhde $(D/H)_W^Q$.

Rypälemehujen sisältämä vesi voidaan erottaa aseotrooppisella tislauksella käyttäen toluenia.

▼B

3.3 Alkoholinäytteen valmistaminen NMR-mittausta varten

3.3.1 *Reagenssit*

N,N-tetrametyyliurea (TMU): käytetään TMU-vertailunäytettä, jonka isotooppisuhde D/H on tunnettu ja tarkistettu. Tämän näytteen voi toimittaa:

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

3.3.2 *Suoritus*

— Halkaisijaltaan 15 mm oleva NMR-näyteputki:

Mitataan taarattuun pulloon 7 ml:aa 3.1.2 kohdan mukaisesti saatua alkoholia ja punnitaan 0,1 mg:n tarkkuudella, m_A ; tämän jälkeen otetaan 3 ml:aa sisäistä standardia (TMU) ja punnitaan 0,1 mg:n tarkkuudella, m_{st} . Homogenoidaan seos ravistelemalla.

— Halkaisijaltaan 10 mm oleva NMR-näyteputki:

Riittävä määrä on 3,2 ml alkoholia ja 1,3 ml TMU:ta.

Spektrometrin ja käytetyn näyteyksikön mukaan (ks. 4 kohta) lisätään riittävä määrä heksafluorobentseeniä kenttätaajuuden stabilointiaineeksi (lock).

Spektrometri	Näyteputki	
	10 mm	15 mm
7,05 T	150 µl	200 µl
9,4 T	35 µl	50 µl

3.4 Vesinäytteen valmistaminen NMR-mittausta varten isotooppisuhteen määrittämiseksi

3.4.1 *Reagenssit*

N,N-tetrametyyliurea (TMU): ks. 3.3.1.

3.4.2 *Suoritus*

Mitataan taarattuun pulloon 3 ml 3.1.2 tai 3.2 (huomautus) kohdan mukaista vettä; punnitaan 0,1 mg:n tarkkuudella, m'_E ; tämän jälkeen lisätään 4 ml sisäistä standardia (TMU) ja punnitaan 0,1 mg:n tarkkuudella. Homogenoidaan ravistelemalla.

Huomautus:

Jos laboratoriossa on massaspektrometri isotooppisuhteen määrittämiseen, tämä määrittäminen voidaan tehdä tällä laitteella NMR-spektrometrin kuormituksen vähentämiseksi. On tarpeen kalibroida T_{IV} -suhde (5.2) jokaiselle tutkitulle viinisarjalle.

4 ALKOHOLIN JA VEDEN (2) H NMR-SPEKTRIEN TULOSTA-MINEN

Isotooppisten parametrien määrittäminen.

4.1 *Laitteet*

— NMR-spektrometri, joka on varustettu erityisellä "deuterium" näyteyksiköllä, joka on viritetty B_0 -kentälle (esimerkiksi kun $B_0 = 7,05$ T niin $V_0 = 46,05$ MHz ja kun $B_0 = 9,4$ T niin $V_0 = 61,4$ MHz) tyypilliselle taajuudelle V_0 , ja jossa on protonin irtautuskanava B_2 ja kenttäfrekvenssisuhteen stabilointikanava (lock) fluorin frekvenssillä. Spektristä mitattu resoluutio muunnetaan ilman eksponenttikerrointa (toisin sanoen $LB = 0$) (kuva 2 b) ja ilmoitetaan etanolin metyyli- ja metyleenisignaalien ja TMU:n metyyli-signaalin puolileveytenä, ja sen on oltava alle 0,5 Hz.

Herkkyyden, joka mitataan eksponenttikertoimella $LB = 2$ (kuva 2 a), on oltava vähintään 150 95 til-%:ssa (93,5 massa-%) alkoholissa olevan etanolin metyyli-signaalille. Näissä koeolosuhteissa signaalin korkeusmittauksen luotettavuusväli, joka on laskettu 97,5 %:n

▼B

todennäköisyydelle (yksipuolinen koe) ja 10 spektrin toistolle, on 0,35 %.

— Automaattinen näytteenvaihtaja (mahdollisesti).

— Tietokoneohjelma tulosten käsittelyyn.

— Spektrometrin ominaisuuksien mukaan 15 mm:n ja 10 mm:n näyteputkia.

4.2 Spektrometrin kalibrointi ja tarkistus

4.2.1 Asetukset

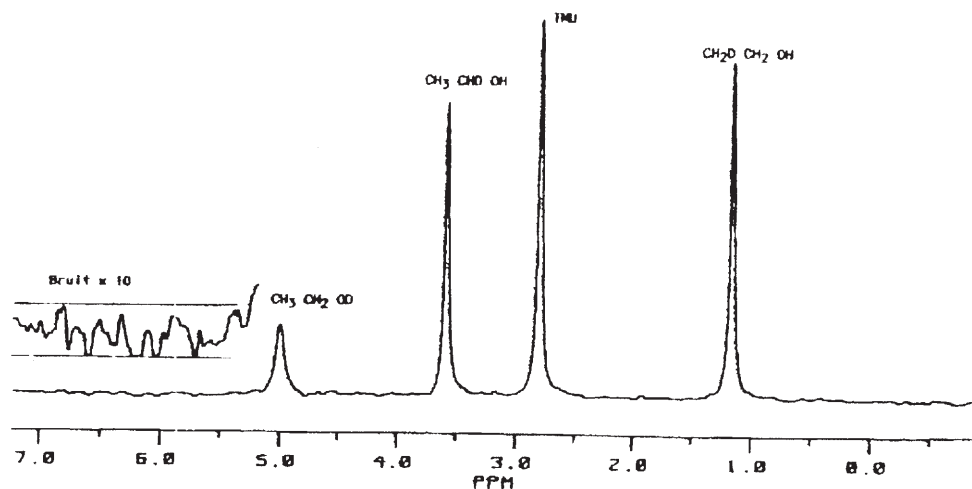
Tehdään valmistajan antamien ohjeiden mukaiset tavalliset homogeenisuuden ja herkkyuden asetukset.

4.2.2 Kalibroinnin tarkastaminen

Käytetään vertailuetanoleja, jotka merkitään kirjaimilla C (ruokosokerietanoli), V (viinietanoli) ja B (juurikasetanoli) ja joiden isotooppipitoisuus on erilainen, mutta tarkalleen mitattu. Näillä tarkoitetaan C: ruoko- tai maissisokerialkoholi; V: viinialkoholi ja B: juurikasalkoholi. Yhteisön vertailumittaustoimisto toimittaa nämä näytteet.

Määritetään näiden alkoholien isotooppiarvot 4.3 kohdassa kuvatus menettelyn mukaisesti ja merkitään ne C_{meas} , V_{meas} , B_{meas} (ks. 5.3).

Verrataan näitä vastaaviin vertailuarvoihin ja merkitään alaindeksillä C_{st} , B_{st} , V_{st} (ks. 5.3).

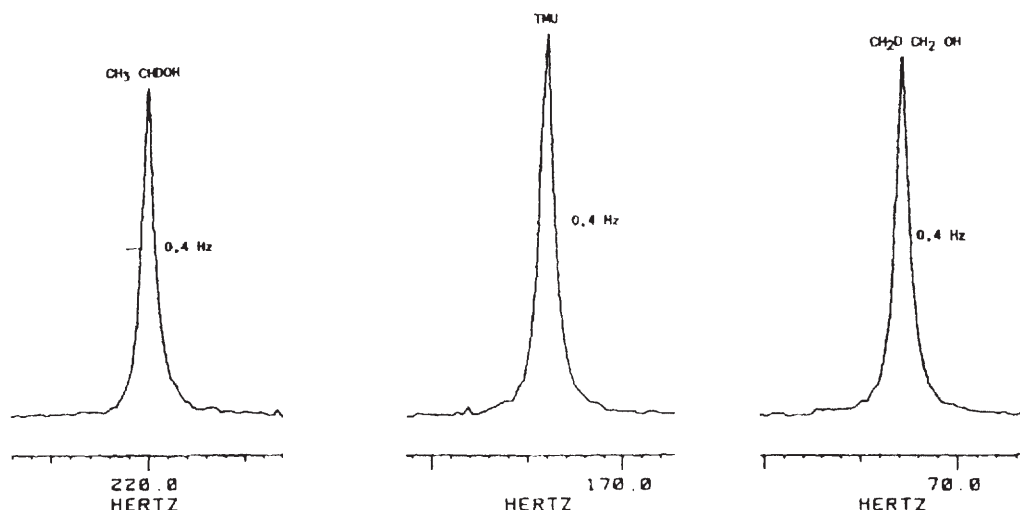


Kuva 2a

Viinin sisältämän etanolin ja sisäisen standardin

(TMU: N,N-tetrametyyliurea) ^2H NMR-spektri

▼B



Kuva 2b

Vastaavissa olosuhteissa kuin kuva 2 a, mutta ilman eksponenttikerrointa ($LB = 0$) ajettu etanolin 2H spektri.

Jokaisen spektrin keskimäärin 10 toistosta saadun toistettavuuden keskihajonnan on oltava alle 0,01 suhteelle R ja alle 0,3 ppm $(D/H)_I$:lle ja $(D/H)_{II}$:lle.

Eri isotooppiparametrien $[R, (D/H)_I, (D/H)_{II}]$ keskiarvojen on oltava vastaavan, yhteisön vertailumittaustoimiston kolmen vertailualkoholin parametreille ilmoittaman toistettavuuden keskihajonnan rajoissa. Jos näin ei ole, on kalibrointi tehtävä uudelleen.

4.3 NMR-spektrien määrittäolosuhteet

Kaadetaan 3.3 kohdan mukaisesti valmistettu alkoholinäyte (tai 3.4 kohdan mukaisesti valmistettu vesinäyte) 15 tai 10 mm:n putkeen ja asetetaan näytekysikköön.

NMR-spektrien määrittäolosuhteet ovat seuraavat:

- Näyteputken lämpötilan (esimerkiksi 302 K) on säilyttävä vakiona.
- Vähintään 6,8 sekunnin keräämisaika 1 200 Hz:n spektrin leveydellä (16 K muisti), eli noin 20 ppm 61,4 MHz:ssä tai 27 ppm 46,1 MHz:ssä.
- Pulssi: 90°C.
- Keräämisajan asetus: arvon on oltava samaa luokkaa kuin näytepisteiden poimintaväli (*dwelt time*).
- neliöllinen ilmaiseminen: säädetään "offset" 01 etanolille signaalien OD ja CHD välillä ja vedelle signaalien HOD ja TMU välillä.
- Määritetään irtautus-offset 02 protonispektristä, joka on mitattu saman putken irtautuskäämillä. Hyvä irtautus saavutetaan, kun 02 on CH₃- ja CH₂-ryhmien frekvenssi-intervallin keskellä. Käytetään laajakaistaista irtautusmenetelmää.

Jokaista spektriä kohti tehdään sellainen määrä NS-summauksia, että saadaan 4.1. kohdassa annettu signaali-kohinasuhde ja tämä NS-summaussarja toistetaan $NE = 10$ kertaa. NS-arvot riippuvat käytetystä spektrometrillä ja näytekysiköstä (ks. 4 kohta). Voidaan valita esimerkiksi:

Spektrometri	Näyteputki	
	10 mm	15 mm
7,05 T	NS = 304	NS = 200
9,4 T	NS = 200	NS = 128

▼B

5 TULOSTEN ILMOITTAMINEN

5.1 Etanoli

Määritetään kaikille 10 spektrille (ks. etanolin NMR-spektri, kuva 2a):

$$— R = 3 \frac{h_{II}}{h_I} = 3 \times \frac{\text{signaalin II korkeus (CH}_3\text{CHD OH)}}{\text{signaalin I korkeus (CH}_2\text{D CH}_2\text{OH)}}$$

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

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

joissa

$$— T_I = \frac{\text{signaalin I korkeus (CH}_2\text{D CH}_2\text{OH)}}{\text{sisäisen standardin (TMU) signaalin korkeus}}$$

$$— T_{II} = \frac{\text{signaalin II korkeus (CH}_3\text{T CHD OH)}}{\text{sisäisen standardin (TMU) signaalin korkeus}}$$

$$— \text{CH}_3\text{CHDOH } m_{st} \text{ ja } m_A, \text{ ks. 3.3.2.}$$

$$— t_m^D \text{ se 3.1.2.3.}$$

$$— (D/H)_{st} = \text{sisäisen standardin (TMU) isotooppisuhde, joka on merkitty yhteisön vertailumittaustoimiston toimittamaan pulloon.}$$

Käytettäessä piikkien korkeuksia niiden pinta-alojen asemasta, mikä on epätarkempaa, piikin puolileveyden on oltava sama kuin pinta-alan. Tämä antaa kohtuullisen hyvän arvion (kuva 2b).

5.2 Vesi

Määritettäessä veden isotooppisuhdetta vesi-TMU-seoksesta NMR-menetelmällä käytetään seuraavaa suhdetta:

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

jossa

$$— T_{IV} = \frac{\text{Viinistä erotetun veden (HOD) signaalin pinta-ala}}{\text{Sisäisen standardin (TMU) signaalin pinta-ala}}$$

$$— m'_{st} \text{ ja } m'_E \text{ ks. 3.4.2.}$$

$$— (D/H)_{st} = \text{sisäisen standardin (TMU) isotooppisuhde, joka on merkitty yhteisön vertailumittaustoimiston toimittamaan pulloon.}$$

5.3 Jokaiselle isotooppiparametrille lasketaan 10 määrittelyn keskiarvo ja luotettavuusväli.

Spektrometrin tietokone täydennettynä sopivalla lisäohjelmistolla (esimerkiksi SNIF-NMR) antaa mahdollisuuden suorittaa nämä laskutoimitukset suoraan.

Huomautus:

Jos spektrometrin asetusten säätämisen jälkeen vertailualkoholien tyypillisille isotoopeille saatujen keskiarvojen (4.2.2) ja yhteisön vertailumittaustoimiston antamien arvojen välillä on järjestelmällinen ero keskihajonnan rajoissa, oikean arvon saamiseksi mille tahansa näytteelle X voidaan tehdä seuraavat korjaukset.

Interpolaatio tehdään ottamalla näytteen X arvon ympärillä olevat vertailunäytearvot.

$(D/H)_I^{X_{mes}}$ on mitattu arvo ja $(D/H)_I^{X_{corr}}$ on korjattu arvo. Tästä saadaan:

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

jossa

$$\alpha = \frac{(D/H)_I^{V_{st}} \times (D/H)_I^{B_{st}}}{(D/H)_I^{V_{mes}} \times (D/H)_I^{B_{mes}}}$$

▼B

Esimerkki:

Yhteisön vertailumittaustoimiston toimittamat ja määrittämät vertailunäytteet:

$$(D/H)_I^{V_{st}} = 102,0 \text{ ppm}$$

$$(D/H)_I^{B_{st}} = 91,95 \text{ ppm}$$

Laboratorion mittaamat vertailunäytteet:

$$(D/H)_I^{V_{mes}} = 102,8 \text{ ppm}$$

$$(D/H)_I^{B_{mes}} = 93,0 \text{ ppm}$$

Epävarma korjaamaton näyte:

$$(D/H)_I^{X_{mes}} = 100,2 \text{ ppm}$$

Lasketaan $\alpha = 1,0255$ ja $(D/H)_I^{X_{corr}} = 99,3 \text{ ppm}$

6 TULOSEN TULKITSEMINEN

Verrataan epävarman näytteen suhteelle R saatua arvoa R^X vertailuvii-neille saatuihin suhteisiin. Jos R^X eroaa vertailuviineille saadusta keskiarvosta R^T enemmän kuin kaksi kertaa keskihajonta, voidaan epäillä väärentämistä.

6.1 Juurikassokerilla, ruokosokerilla tai maissiglukoosilla väkevöinti

6.1.1 Viinit

R^X on suurempi kuin R^T : oletetaan, että on lisätty juurikassokeria.

R^X on pienempi kuin R^T : oletetaan, että on lisätty ruokosokeria tai maissisokeria.

On huomattava, että $(D/H)_I^X$ ja $(D/H)_W^{QX}$ kasvavat.

Tutkitaan $(D/H)_I^X$. Oletetaan, että

— on lisätty juurikassokeria:

epävarman näytteen $(D/H)_I^X$ on enemmän kuin keskihajonnan verran pienempi kuin $(D/H)_I^T$ vertailunäytteille saatu keskiarvo.

— on lisätty ruokosokeria tai maissisokeria:

$(D/H)_I^X$ on enemmän kuin keskihajonnan verran suurempi kuin $(D/H)_I^T$.

— Väkevöinnin E laskeminen, ilmaistuna etanolin til-%:na.

— Juurikassokerin lisääminen:

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

$(D/H)_I^B$ – isotooppisuhde sijaintipaikan I juurikassokerista valmistetussa alkoholissa:

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

t^v = määritetyn viinin (X) alkoholipitoisuus

— Ruoko- tai maissisokerin lisääminen:

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

$(D/H)_I^C$ – isotooppisuhde sijaintipaikan I ruokosokerista tai juurikassokerista valmistetussa alkoholissa: $(D/H)_I^C = 110,5 \text{ (}^1\text{)}.$

t^v = määritetyn viinin (X) alkoholipitoisuus.

6.1.2 Rypälemehut, tiivistetyt rypälemehut ja puhdistetut tiivistetyt rypälemehut

Tutkitaan rypälemehun, tiivistetyn rypälemehun ja puhdistetun tiivistetyn rypälemehun käymistuotteesta (3.2) 3.1 kohdan mukaisesti erotetun alkoholin isotooppiparametrien arvot noudattaen kohdan 6 ”Tulosten tulkitseminen” 6.1.1 alakohdassa annettuja ohjeita ja verrataan niitä luonnollisten vertailurypälemehujen käymistuotteista erotettuun alkoholiin.

(¹) Nämä arvot annetaan yhteisön tietopankin perustamista odotettaessa.

▼B

Väkevyys, E til-%, ilmaisee käyneeseen tuotteeseen lisätyn alkoholin tilavuuden. Kun tunnetaan ennen käymistä mahdollisesti tehty laimentaminen (tiivistetyt rypälemehut ja puhdistetut tiivistetyt rypälemehut) ja oletetaan, että 16,83 g sokeria tuottaa 1 til-% alkoholia, voidaan laskea yhteen litraan rypälemehua, tiivistettyä rypälemehua tai puhdistettua tiivistettyä rypälemehua lisätyn sokerin massamäärä.

6.2 **Juurikassokeri-, ruokosokeri- ja maissiglukoosiseoksella väkevöinti**

Isotooppisuhteet $(D/H)_l$ ja R muuttuvat vähemmän kuin tehtäessä väkevöinti yhdellä sokerilla.

$(D/H)_l$ kasvaa, kuten myös $(D/H)_w^{13C}$

Nämä lisäykset voidaan varmentaa määrittämällä etanolin $^{13}C/^{12}C$ suhde massaspektrometrillä: tässä tapauksessa suhde on korkeampi.

▼B

9 TUHKAPITOISUUS

1 MÄÄRITELMÄ

Tuhkalla tarkoitetaan kaikkia viinin haihdutusjäännöksen hehkuttamisen jälkeen jäljelle jääneitä tuotteita. Hehkuttaminen on tehtävä siten, että kaikki kationit (lukuun ottamatta ammoniumia) muuttuvat karbonaateiksi tai muiksi vedettömiksi mineraalisuoloiksi.

2 PERIAATE

Hehkutetaan viiniutetta 500-550 °C:een lämpötilassa, kunnes orgaaninen aines on palanut täydellisesti.

3 VÄLINEISTÖ

3.1 Vesihaude, 100 °C.

3.2 Tarkkuudeltaan 0,1 mg oleva vaaka.

3.3 Sähkölevy tai infrapunahaihdutin.

3.4 Sähköuuni, jonka lämpötilaa voidaan säätää.

3.5 Eksikkaattori.

3.6 Laakeapohjainen platinamalja, jonka halkaisija on 70 mm ja korkeus 25 mm.

4 SUORITUS

Pipetoidaan 20 ml viiniä taarattuun platinamaljaan (P_0 g). Haihdutetaan 100 °C:ssa vesihauteessa, kuumennetaan jäännöstä 200 °C:n sähkölevyllä tai infrapunahaihduttimen alla hiiltymiseen asti. Kun höyryä ei enää synny, sijoitetaan malja sähköuuniin, jota pidetään 525 °C $\pm$ 25 °C:ssa. 15 minuutin kuluttua hiiltymisestä otetaan malja uunista, lisätään 5 ml tislattua vettä. Haihdutetaan tämän jälkeen vesihauteessa tai infrapunahaihduttimessa ja kuumennetaan uudelleen noin 10 minuutin ajan 525 °C:ssa.

Jos hiiltyneiden hiukkasten palaminen ei ole täydellinen, toistetaan hiiltyneiden hiukkasten pesu, veden haihduttaminen ja hehkuttaminen.

Kun kyseessä ovat hyvin sokeripitoiset viinit, on tarkoituksenmukaista lisätä uutteeseen muutama tippa puhdasta kasvisöljyä ennen ensimmäistä hehkuttamista sisällön liiallisen kuohumisen estämiseksi.

Eksikkaattorissa jäädyttämisen jälkeen malja punnitaan, P_1 g.

Näytettä (20 ml) vastaavan tuhkan paino on $p = (P_1 - P_0)$ g.

5 TULOSTEN ILMOITTAMINEN

Laskentamenetelmä

Tuhkan paino ilmoitettuna grammoina litrassa kahdella desimaalilla on:
 $P = 50 \times p$

▼B**10 TUHKAN EMÄKSISYYS****1 MÄÄRITELMÄ**

Tuhkan emäksisyydellä tarkoitetaan ammoniumia lukuun ottamatta sellaisten kationien summaa, jotka ovat liittyneet viinin orgaanisiin happoihin.

2 PERIAATE

Tuhka liuotetaan tunnettuun määrään kuumaa happoliuosta; ylijäämä määritetään titraamalla käyttäen metyylioranssia indikaattorina.

3 REAGENSIT JA LAITTEET**3.1 0,05 M rikkihappoliuos (H_2SO_4)****3.2 0,1 M natriumhydroksidiliuos (NaOH)****3.3 Metyylioranssiliuos, 0,1 g metyylioranssia/100 ml tislattua vettä****3.4 Vesihaude, 100 °C.****4 SUORITUS**

Lisätään platinamaljaan, joka sisältää 20 ml:sta viiniä saadun tuhkun, 10 ml 0,05 M rikkihappoliuosta (3.1); asetetaan 100 °C:seen vesihautteeseen noin 15 minuutiksi murskatun jäännöksen lasipuikolla liukenemisen edistämiseksi. Tämän jälkeen lisätään kaksi tippaa metyylioranssiliuosta ja titrataan rikkihappoylijäämää 0,1 M natriumhydroksidiliuoksella (3.2), kunnes indikaattorin väri muuttuu keltaiseksi.

5 TULOSTEN ILMOITTAMINEN

Laskentamenetelmä

Tuhkan emäksisyys ilmoitettuna milliekvivalenteina litrassa yhdellä desimaalilla on:

$$A = 5 (10 - n)$$

n = titrauksessa kuluneen 0,1 M natriumhydroksidin määrä millilitroina.

▼B

11 KLORIDIT

- 1 PERIAATE

Kloridit määritetään suoraan viinistä potentiometrisesti käyttäen Ag/AgCl-elektrodia.
- 2 VÄLINEISTÖ
 - 2.1 Millivolttiasteikolla varustettu pH-mittari, jonka asteikko on jaettu vähintään 2 mV:n välein.
 - 2.2 Magneettisekoittaja.
 - 2.3 Ag/AgCl-elektrodi, jossa elektrolyytinä on kyllästetty kaliumnitraattiliuos.
 - 2.4 Mikrobyretti, jonka asteikko on jaettu 1/100 ml:n välein.
 - 2.5 Sekuntikello.
- 3 REAGENSIT
 - 3.1 Kloridistandardiliuos: liuotetaan tislattuun veteen 2,1027 g kaliumkloridia, KCl (max. 0,005 % Br), jota on kuivattu ennen käyttöä eksikkaattorissa usean päivän ajan; täytetään yhdeksi litraksi; 1 ml tätä liuosta sisältää 1 mg Cl:a.
 - 3.2 Hopeanitraattititrausliuos: 4,7912 g analyysilaatua olevaa hopeanitraattia, AgNO₃, liuotetaan 10 % (v/v) alkoholiliuokseen ja täytetään yhdeksi litraksi; 1 ml tätä liuosta vastaa 1 mg Cl:a.
 - 3.3 Typpihappo, puhtaus vähintään 65 % ($\rho_{20} = 1,40$ g/ml).
- 4 SUORITUS
 - 4.1 Mitataan 5,0 ml kloridistandardiliuosta 150 ml:n vetoiseen magneettisekoittajaan asetettuun lieriömuotoiseen astiaan, laimennetaan noin 100 ml:ksi tislattua vedellä ja hapotetaan 1,0 ml:lla vähintään 65 % typpihappoa. Kun elektrodi on upotettu liuokseen, titrataan lisäämällä mikrobyretillä hopeanitraattititrausliuosta sekoittaen kohtuullisesti. Aloitetaan lisäämällä 1,00 ml neljää ensimmäistä ml:aa kohti ja luetaan vastaavat millivolttiarvot. Tämän jälkeen lisätään 2 ml 0,20 ml:n erissä. Jatketaan lisäämistä 1 ml:n erissä, kunnes on lisätty yhteensä 10 ml. Jokaisen lisäyksen jälkeen odotetaan noin 30 sekuntia ennen vastaavien millivolttien lukemista. Siirretään saadut arvot millimetripaperille siten, että ne vastaavat titrausliuoksen millilitroja ja määritetään ekvivalenttipisteen potentiaali saadun käyrän yksittäisen pisteen perusteella.
 - 4.2 150 ml:n lieriömäiseen astiaan mitataan 5 ml kloridistandardiliuosta sekä 95 ml tislattua vettä ja 1 ml vähintään 65 % typpihappoa. Upotetaan elektrodi liuokseen ja titrataan sekoittaen, kunnes saavutetaan ekvivalenttipisteen potentiaali. Tämä määrittäminen toistetaan, kunnes saavutetaan tulosten hyvä yhdenmukaisuus. Tämä tarkistus on tehtävä ennen kloridien mittaussarjan tekemistä näytteestä.
 - 4.3 Mitataan 50 ml määritettävää viiniä 150 ml:n lieriömäiseen astiaan. Lisätään 50 ml tislattua vettä ja 1 ml vähintään 65 % typpihappoa ja titrataan 4.2 kohdan mukaisesti.
- 5 TULOSTEN ILMOITTAMINEN
 - 5.1 **Laskutoimitukset**

Jos n edustaa hopeanitraattititrausliuoksen millilitramäärää, tutkitun liuoksen kloriittipitoisuus on:

$20 \times n$ ilmoitettuna milligrammoina Cl:a litrassa,

$0,5633 \times n$ ilmoitettuna milliekvivalentteina litrassa;

$32,9 \times n$ ilmoitettuna milligrammoina natriumkloridia litrassa.
 - 5.2 **Toistettavuus (r)**

$r = 1,2$ mg Cl:a litrassa

$r = 0,03$ mek/l

$r = 2,0$ mg NaCl/l.

▼B

5.3 Uusittavuus (R)

R = 4,1 mg Cl:a litrassa

R = 0,12 mek/l

R = 6,8 mg NaCl/l.

6 Huomautus:

Erittäin tarkat määritykset

Käytetään hopeanitraattiliuoksella koeliuoksen määrityksessä saatua titrauskäyrää.

a) Mitataan 50 ml määritettävää viiniä 150 ml:n lieriömäiseen astiaan. Lisätään 50 ml tislattua vettä ja 1 ml vähintään 65 % typpihappoa. Titrataan hopeanitraattiliuoksella 0,5 ml:n lisäyksiin ja luetaan vastaavat millivolttipotentiaalit. Johdetaan tästä ensimmäisestä titrauksesta tarvittavan hopeanitraattiliuoksen likimääräinen tilavuus.

b) Toistetaan määrittäminen samoissa koeolosuhteissa. Aluksi lisätään titrausliuosta 0,5 ml kerrallaan, kunnes lisätty tilavuus on 1,5-2 ml pienempi kuin a alakohdassa määritetty tilavuus. Tämän jälkeen lisätään 0,2 ml kerrallaan; jatketaan likimääräisesti määritetyn ekvivalenttipisteen jälkeen liuoksen lisäämistä symmetrisesti, aluksi 0,2 ml:n ja sitten 0,5 ml:n erissä.

Määrityksen päätepiste ja käytetyn hopeanitraattiliuoksen tarkka tilavuus saadaan:

— joko piirtämällä käyrä ja määrittämällä ekvivalenttipiste,

— tai seuraavalla yhtälöllä:

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

jossa

V = titrausliuoksen tilavuus ekvivalenttipisteessä,

V' = titrausliuoksen tilavuus ennen suurinta potentiaalin muutosta,

ΔV_i = lisätyn titrausliuoksen vakiotilavuus, 0,2 ml,

$\Delta \Delta E_1$ = toinen potentiaaliero ennen potentiaalin suurinta muutosta,

$\Delta \Delta E_2$ = toinen potentiaaliero potentiaalin suurimman muutoksen jälkeen.

Esimerkki:

AgNO ₃ titrausliuoksen tilavuus	E potentiaali mV	Erotus ΔE	Toinen erotus $\Delta \Delta E$
0	204		
0,2	208	4	0
0,4	212	4	2
0,6	218	6	0
0,8	224	6	0
1,0	230	6	2
1,2	238	8	4
1,4	250	12	10
1,6	272	22	22
1,8	316	44	10
2,0	350	34	8
2,2	376	26	6
2,4	396	20	

▼B

Tässä esimerkissä titrauksen päätepiste on 1,6 ja 1,8 ml:n välillä: tällä välillä esiintyy potentiaalin suurin muutos ($\Delta E = 44$ mV). Käytetyn hopeanitraattititrausliuoksen tilavuus kloridin määrittämiseksi näytteestä on:

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

▼B

12 SULFAATIT

1 PERIAATE

1.1 Vertailumenetelmä

Saostetaan bariumsulfaattina ja punnitaan. Samoissa koeolosuhteissa saostunut bariumfosfaatti poistetaan pesemällä sakka kloorivetyhapolla.

Jos rypälemehu tai viini sisältää runsaasti rikkidioksidia, on suositeltavaa poistaa rikki ilmatiiviissä astiassa keittämällä.

1.2 Nopea koemenetelmä

Viinit luokitellaan moniin laatuluokkiin käyttäen ns. rajamenetelmää, joka perustuu bariumsulfaatin saostamiseen bariumionititrausliuoksella.

2 VERTAILUMENETELMÄ

2.1 Reagenssit

2.1.1 2 M kloorivetyhappoliuos.

2.1.2 Bariumkloridiliuos, BaCl_2 , 2 H_2O , 200 g/l.

2.2 Suoritus

2.2.1 Yleinen suoritus

Mitataan 50 ml:n sentrifugiputkeen 40 ml määritettävää näytettä; lisätään 2 ml 2 M kloorivetyhappoa ja 2 ml 200 g/l bariumkloridiliuosta; sekoitetaan lasipuikolla; huuhdotaan lasipuikko pienellä määrällä tislattua vettä ja annetaan seistä viisi minuuttia. Sentrifugoidaan 5 minuutin ajan ja dekantoidaan supernatantti varovasti.

Tämän jälkeen pestään bariumsulfaattisakka seuraavasti: lisätään 10 ml 2 M kloorivetyhappoa, suspendoidaan sakka ja sentrifugoidaan 5 minuutin ajan. Erotetaan supernatantti varovasti. Toistetaan sakan pesu kaksi kertaa samoissa koeolosuhteissa aina 15 ml:lla tislattua vettä.

Siirretään sakka kvantitatiivisesti tislattulla vedellä huuhtoen taarattuun platinamaljaan ja haihdutetaan kuivaksi 100 °C:ssa vesihäuteessa. Kuivattu sakka hehkutetaan nopeasti liekillä useita kertoja, kunnes saadaan valkea jäännös. Annetaan jäähtyä eksikkaattorissa ja punnitaan.

Saadun bariumsulfaatin massa milligrammoina on m.

2.2.2 Erityinen suoritus: rikitetyt rypälemehut ja viinit, joiden rikkidioksidipitoisuus on korkea

Aluksi poistetaan rikkidioksidi.

Mitataan 500 ml:n erlenmeyerkolviin, joka on varustettu tiputussuppilolla ja päästöputkella, 25 ml vettä ja 1 ml puhdasta kloorivetyhappoa ($\rho_{20} = 1,15\text{--}1,18 \text{ g/ml}$). Kiehautetaan tämä liuos ilman poistamiseksi ja lisätään 100 ml viiniä tiputussuppilon kautta koko ajan kiehua. Annetaan kiehua, kunnes kolvin sisältämä nestetilavuus on vähentynyt 75 ml:aan ja siirretään kvantitatiivisesti jäähdyttämisen jälkeen 100 ml:n mittapulloon. Täytetään merkkiin vedellä. Määritetään sulfaattipitoisuus 40 ml:n näytteestä 2.2.1 kohdan mukaisesti.

2.3 Tulosten ilmoittaminen

2.3.1 Laskutoimitukset

Sulfaattipitoisuus, ilmoitettuna milligrammoina kaliumsulfaattia, K_2SO_4 , litrassa, on: $18,67 \times m$

Rypälemehun tai viinin sulfaattipitoisuus ilmoitetaan kokonaislukuna milligrammoina kaliumsulfaattia litrassa.

▼ B2.3.2 *Toistettavuus*1 000 mg/l asti: $r = 27$ mg/lnoin 1 500 mg/l: $r = 41$ mg/l2.3.3 *Uusittavuus*1 000 mg/l asti: $R = 51$ mg/lnoin 1 500 mg/l: $R = 81$ mg/l.**▼ M8**

▼B

13. KOKONAISHAPPOPITOISUUS

1 MÄÄRITELMÄ

Kokonaishappopitoisuudella tarkoitetaan titrattavien happojen yhteismäärää, kun pH säädetään arvoon 7 emäksisellä titrausliuoksella.

Hiilidioksidi ei kuulu kokonaishappopitoisuuteen.

2 PERIAATE

Potentiometrinen titraus tai titraus indikaattori bromtymolisinen ja vertaaminen päätepuheen värimalliin.

3 REAGENSIT

3.1 Standardiliuos pH 7,0:

Monokaliumfosfaatti KH_2PO_4 : 107,3 g

1 M natriumhydroksidiliuos (NaOH): 500 ml

Täytetään vedellä 1 000 ml:ksi.

Voidaan käyttää myös kaupallisesti saatavissa olevia vertailupuskuriliuoksia.

3.2 0,1 M natriumhydroksidiliuos (NaOH).

3.3 4 g/ml bromtymolisinen indikaattori.

Bromtymolisinen ($\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{Br}_2\text{O}_4\text{S}$) 4 g

Neutraali etanoli 96 til-% 200 ml

Liuotetaan ja lisätään:

Vesi, CO_2 -vapaa 200 ml

1 M natriumhydroksidiliuosta, kunnes väri muuttuu sinivihreäksi (pH 7) 7,5 ml

täytetään vedellä 1 000 ml:ksi

4 VÄLINEISTÖ

4.1 Vesivakuumpumppu.

4.2 500 ml:n vakuumpullo.

4.3 Potentiometri, jonka asteikko on jaettu pH-yksiköihin ja elektrodeja. Lasielektrodi on säilytettävä tislatussa vedessä. Kalomeli/kyllästetty kaliumkloridi-elektrodi on säilytettävä kyllästetyssä kaliumkloridiliuoksessa. Useimmiten käytetään yhdistettyä elektrodia, jota säilytetään tislatussa vedessä.

4.4 Vetoisuudeltaan 50 ml olevia mittalaseja (viinit) ja vetoisuudeltaan 100 ml olevia mittalaseja (puhdistetut tiivistetyt rypälemehut).

5 SUORITUS

5.1 Näytteen valmistaminen

5.1.1 Viinit

Poistetaan hiilidioksidi. Mitataan noin 50 ml viiniä vakuumpulloon, ravistellaan ja samanaikaisesti poistetaan ilma käyttäen vesivakuumpumppua. Ravistelun on kestävä 1-2 minuuttia.

5.1.2 Puhdistetut tiivistetyt rypälemehut

Mitataan tarkalleen 200 g puhdistettua tiivistettyä rypälemehua 500 ml:n mittapulloon. Täytetään merkkiin vedellä. Homogenoidaan.

5.2 Potentiometrinen titraus

5.2.1 pH-mittarin kalibrointi

Valmistajan ohjeita noudattaen kalibroidaan pH-mittari 20 °C:ssa puskuriliuoksella, jonka pH-arvo 20 °C:ssa on 7.

▼B

5.2.2 *Mittausmenetelmä*

Mitataan mittalasiin (4.4) 5.1 kohdan mukaisesti valmistettua näytettä 10 ml, kun kyseessä on viini, ja 50 ml, kun kyseessä on puhdistettu tiivistetty rypälemehu. Lisätään noin 10 ml tislattua vettä ja byretillä 0,1 M natriumhydroksidiliuosta (3.2), kunnes pH-arvo 20 °C:ssa on 7. Emäksisen nesteen lisääminen on tehtävä hitaasti ja liuosta on sekoitettava koko ajan. Lisätyn 0,1 M NaOH:n millilitramäärä on n.

5.3 **Indikaattorititraus** (bromtymolisininen)5.3.1 *Esikoe: värimallin määrittäminen*

Mitataan mittalasiin (4.4) 25 ml keitettyä tislattua vettä, 1 ml bromtymolisinisen liuosta (3.3) ja 10 ml viiniä tai 50 ml puhdistettua tiivistettyä rypälemehua, joka on valmistettu 5.1 kohdan mukaisesti. Lisätään 0,1 M natriumhydroksidiliuosta (3.2), kunnes väri muuttuu sinivihreäksi. Lisätään 5 ml puskuriliuosta (3.1), jonka pH-arvo on 7.

5.3.2 *Määrittäminen*

Mitataan mittalasiin (4.4) 30 ml keitettyä tislattua vettä, 1 ml bromtymolisinisen liuosta (3.3) ja 10 ml viiniä tai 50 ml puhdistettua tiivistettyä rypälemehua, joka on valmistettu 5.1 kohdan mukaisesti. Lisätään 0,1 M natriumhydroksidiliuosta (3.2), kunnes värinmuutos on samanlainen kuin esikokeessa (5.3.1) saatu väri. Lisätyn 0,1 M natriumhydroksidin millilitramäärä on n.

6 TULOSEN ILMOITTAMINEN

6.1 **Laskentamenetelmä**6.1.1 *Viinit*

Kokonaishappopitoisuus ilmoitettuna milliekvivalentteina litrassa on:

$$A = 10 \text{ n}$$

Tulos annetaan yhdellä desimaalilla.

Kokonaishappopitoisuus ilmoitettuna grammoina viinihappoa litrassa on:

$$A' = 0,075 \times A$$

Tulos annetaan yhdellä desimaalilla.

6.1.2 *Puhdistetut tiivistetyt rypälemehut*

— Kokonaishappopitoisuus ilmoitettuna milliekvivalentteina kilogrammassa puhdistettua tiivistettyä rypälemehua: $a = 5 \times n$

— Kokonaishappopitoisuus ilmoitettuna milliekvivalentteina kilogrammassa kokonaissokereita:

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

P = kokonaissokerien pitoisuus %:ina (m/m).

Se ilmoitetaan yhdellä desimaalilla.

6.2 **Titrauksen toistettavuus (r) indikaattorilla**

$$r = 0,9 \text{ mek/l}$$

$$r = 0,07 \text{ g viinihappoa/l}$$

valko-, rosee- ja punaviineille.

6.3 **Titrauksen (5.3) uusittavuus (R) indikaattorilla**

Valko- ja roseeviineille:

$$R = 3,6 \text{ mek/l}$$

$$R = 0,3 \text{ g viinihappoa/l}$$

Punaviineille:

$$R = 5,1 \text{ mek/l}$$

$$R = 0,4 \text{ g viinihappoa/l}$$

▼B

14 HAIHTUVAT HAPOT

1 MÄÄRITELMÄ

Haihtuvat hapot muodostuvat etikkahappoihin kuuluvista hapoista, joita on viinissä sekä vapaina happoina että suoloina.

2 MENETELMÄ

Erotetaan haihtuvat hapot viinistä vesihöyrytislauksella ja titrataan tisleestä.

Viinistä poistetaan aluksi hiilidioksidi.

Näissä koeolosuhteissa tislattava vapaa rikkidioksidi ja sitoutunut rikkidioksidi on vähennettävä tisleen happopitoisuudesta.

Mahdollisesti viiniin lisätyn sorbiinihapon pitoisuus on myös vähennettävä.

Huomautus:

Joissain maissa viinit stabiloidaan ennen määrittystä salisyylihapolla, jota löytyy tisleestä. Se on määritettävä ja vähennettävä happopitoisuudesta. Määrittymenetelmä selostetaan tämän luvun 7 kohdassa.

3 REAGENSIT

3.1 Kiteinen viinihappo ($C_4H_6O_6$).

3.2 0,1 M natriumhydroksidiliuos (NaOH).

3.3 1 % fenoliftaleiiniiliuos 96 til-% neutraalissa alkoholissa.

3.4 Kloorivetyhappo ($\rho_{20} = 1,18-1,19$ g/ml) laimennettu suhteessa 1/4 (v/v).

3.5 0,005 M jodiliuos (I_2).

3.6 Kiteinen kaliumjodidi (KI).

3.7 5 g/l tärkkelysliuos:

Sekoitetaan 5 g tärkkelystä noin 500 ml:aan vettä. Kuumennetaan kiehuvaan koko ajan sekoittaen ja annetaan kiehua noin 10 minuuttia; lisätään 200 g natriumkloridia. Täytetään 1 litraksi jäähtymisen jälkeen.

3.8 Kyllästetty natriumboraattiliuos ($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$), eli noin 55 g/l 20 °C:ssa.

4 VÄLINEISTÖ

4.1 Vesihöyrytisluslaitteisto, johon kuuluu:

- 1) vesihöyrykehitin: vesihöyryn on oltava hiilidioksidivapaata,
- 2) tislauksolvi, jossa on putki vesihöyryn johtamiseksi,
- 3) tislauksolonni,
- 4) jäähdytin.

Tämän laitteen on läpäistävä seuraavat kolme koetta:

- a) Mitataan tislauksolviin 20 ml keitettyä vettä; kerätään 250 ml tislettä ja lisätään 0,1 ml 0,1 M natriumhydroksidiliuosta (3.2) ja 2 tippaa fenoliftaleiiniiliuosta (3.3); vaaleanpunaisen värin on pysyttävä muuttumattomana vähintään 10 sekunnin ajan (hiilidioksidista vapaa vesihöyry).
- b) Mitataan tislauksolviin 20 ml 0,1 M etikkahappoliuosta. Kerätään 250 ml tislettä. Titrataan 0,1 M natriumhydroksidiliuksella (3.2). Käytetyn tilavuuden on oltava vähintään 19,9 ml. (Tislattu etikkahappo $\geq 99,5$ %).
- c) Mitataan tislauksolviin 20 ml 1 M maitohappoliuosta. Kerätään 250 ml tislettä ja titrataan happo 0,1 M natriumhydroksidiliuksella (3.2).

Kulutettu tilavuus saa olla enintään 1,0 ml (tislattu maitohappo $\leq 0,5$ %).

Mikä tahansa laite tai menetelmä, joka läpäisee nämä kokeet, katsotaan viralliseksi kansainväliseksi laitteeksi tai menetelmäksi.

▼B

4.2 Vesivakuumpumppu.

4.3 Vakuumpullo.

5 SUORITUS

5.1 Näytteen valmistaminen hiilidioksidin poistaminen.

Mitataan noin 50 ml viiniä vakuumpulloon; koko ajan ravistellen imetään ilma pullosta vesivakuumpulla. Ravistelun on kestävä 1-2 minuuttia.

5.2 Vesihöyrytisläus

Mitataan tislaukolviin 20 ml viiniä, josta hiilidioksidi on poistettu 5.1 kohdan mukaisesti. Lisätään noin 0,5 g viinihappoa (3.1). Kerätään vähintään 250 ml tislettä.

5.3 Titraus

Titraataan 0,1 M natriumhydroksidiliuoksella (3.2) käyttäen indikaattorina kahta tippaa fenoliftaleiiniliuosta (3.3), käytetty tilavuus on n ml.

Lisätään 4 tippaa suhteessa 1/4 laimennettua kloorivetyhappoa (3.4), 2 ml tarkkelysliuosta (3.7) ja muutamia kaliumjodikiteitä (3.6). Titraataan vapaa rikkidioksidi 0,005 M jodiliuoksella (3.5). Käytetty tilavuus on n' ml.

Lisätään kyllästettyä natriumboraattiliuosta (3.8), kunnes vaaleanpunainen väri ilmestyy uudelleen. Titraataan sitoutunut rikkidioksidi 0,005 M jodiliuoksella (3.5). Käytetty tilavuus on n'' ml.

6 TULOSTEN ILMOITTAMINEN

6.1 Laskentamenetelmä

Haihtuvat hapot ilmoitettuna milliekvivalenteina litrassa yhdellä desimaalilla ovat:

$$A = 5 (n - 0,1 n' - 0,05 n'')$$

Haihtuvat hapot ilmoitettuna grammoina etikkahappoa litrassa kahdella desimaalilla ovat:

$$0,300 (n - 0,1 n' - 0,05 n'')$$

6.2 Toistettavuus (r)

$$r = 0,7 \text{ mek/l}$$

$$r = 0,04 \text{ etikkahappoa g/l.}$$

6.3 Uusittavuus (R)

$$R = 1,3 \text{ mek/l}$$

$$R = 0,08 \text{ etikkahappoa g/l.}$$

6.4 Viini, johon on lisätty sorbiinihappoa

Koska 250 ml:n tisleeseen saadaan vesihöyrytislauksella 96 % sorbiinihaposta, se on vähennettävä haihtuvista hapoista. Tiedetään, että 100 mg sorbiinihappoa vastaa 0,89 milliekvivalenttia, tai 0,053 g etikkahappoa, ja tunnetaan sorbiinihappopitoisuus, joka on määritetty muilla menetelmillä.

7 SALISYYLIHAPON MÄÄRITTÄMINEN HAIHTUVIA HAPPOJA SISÄLTÄVÄSTÄ TISLEESTÄ

7.1 Periaate

Haihtuvien happojen määrittämisen ja rikkidioksidin suhteen tehdyn korjauksen jälkeen, salisyylihappo osoitetaan happamaksi tehdystä liuoksesta rauta(III)suolalla, joka antaa violetin värin.

Haihtuvia happoja sisältävään tisleeseen tislautuva salisyylihappo määritetään toisesta tisleestä, jonka tilavuus on sama kuin tisleen, josta haihtuvat hapot on määritetty. Salisyylihappo määritetään tästä tisleestä kolorimetrisellä vertailumenetelmällä. Se on vähennettävä haihtuvat hapot sisältävän tisleen happopitoisuudesta.

▼B**7.2 Reagenssit**

- 7.2.1 Kloorivetyhappo (HCl) ($\rho_{20} = 1,18-1,19$ g/ml).
- 7.2.2 0,1 M natriumtiosulfaatti ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).
- 7.2.3 10 % (m/v) rauta(III)ammoniumsulfaattiliuos [$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \times 24\text{H}_2\text{O}$]
- 7.2.4 0,01 M natriumsalisylaattiliuos. Liuos sisältää 1,60 g/l natriumsalisylaattia ($\text{NaC}_7\text{H}_5\text{O}_3$).

7.3 Suoritus**7.3.1 Salisyylihapon tunnistaminen haihtuvia happoja sisältävästä tisleestä**

Välittömästi haihtuvien happojen määrittämisen ja vapaan ja sitoutuneen rikkidioksidin suhteen tehdyn korjauksen jälkeen lisätään pulloon 0,5 ml kloorivetyhappoa (7.2.1), 3 ml 0,1 M natriumtiosulfaattiliuosta (7.2.2) ja 1 ml rauta(III)ammoniumsulfaattiliuosta (7.2.3).

Jos salisyylihappoa esiintyy, ilmaantuu violetti väri.

7.3.2 Salisyylihapon määrittäminen

Tehdään mainittuun keräyspulloon merkki tisleen tilavuuden kohdalle. Tyhjennetään ja huuhdotaan pullo.

Otetaan viinistä uusi 20 ml:n näyte, joka tislataan vesihöyrytislauksella ja kerätään tislettä keräyspullossa olevaan merkkiin asti. Lisätään 0,3 ml puhdasta kloorivetyhappoa (7.2.1) ja 1 ml rauta(III)ammoniumsulfaattiliuosta (7.2.3). Pullon sisältö värjäytyy violetiksi, jos salisyylihappoa esiintyy.

Kaadetaan samanlaiseen pulloon tislattua vettä edellisessä pullossa olevan tisleen tasolle. Lisätään 0,3 ml puhdasta kloorivetyhappoa (7.2.1) ja 1 ml rauta(III)ammoniumsulfaattiliuosta (7.2.3). Lisätään byretillä 0,01 M natriumsalisylaattiliuosta (7.2.4), kunnes saadaan saman intensiteetin omaava violetti väri kuin viinitisleen sisältämässä pullossa.

Käytetty millilitramäärä on n' .

7.4 Haihtuvien happojen pitoisuuden korjaaminen

Vähennetään tilavuus $0,1 \times n'$ 0,1 M natriumhydroksidiliuoksen n ml tilavuudesta, joka kului, kun haihtuvat hapot titrattiin tisleestä.

▼B**15. KIIINTEÄT HAPOT****1 PERIAATE**

Kiinteät hapot määritetään kokonaishappojen pitoisuuden ja haihtuvien happojen pitoisuuden erotuksesta.

2 TULOSTEN ILMOITTAMINEN

Kiinteät hapot ilmoitetaan:

- milliekvivalentteina litrassa,
- grammoina viinihappoa litrassa.



16. VIINIHAPPO

1 PERIAATE

1.1 Vertailumenetelmä

Viinihappo saostetaan kalsiumtartraattina ja määritetään gravimetrisesti. Tätä määrittystä voidaan täydentää volumetrisellä vertailumenetelmällä. Saostamisolosuhteet: pH, käytetty kokonaistilavuus, saostamisionien konsentraatio ovat sellaisia, että raseemisen kalsiumtartraatin saostuminen on täydellinen, kun taas kalsiumD(-)tartraatti pysyy liuoksessa.

Kun viiniin on lisätty mesoviinihappoa, joka aiheuttaa kalsiumtartraatin epätäydellisen saostumisen, se on hydrolysoitava ennen määrittystä.

1.2 Tavanomainen menetelmä

Anioninvaihtokolonissa erotettu viinihappo määritetään eluaatista kolorimetrisesti mittaamalla vanadiinihapolla saatu punainen väri. Tämä eluaatti sisältää myös maito- ja omenahappoja, jotka eivät häiritse määrittystä.

2 VERTAILUMENETELMÄ

2.1 Gravimetrisen menetelmä

2.1.1 *Reagenssit*

2.1.1.1 Kalsiumasetaattiliuos, joka sisältää kalsiumia 10 g/l:

Kalsiumkarbonaatti: CaCO_3	25 g
Etikkahappo (CH_3COOH) ($\rho_{20} = 1,05 \text{ g/ml}$)	40 ml
Täytetään vedellä	1 l:ksi

2.1.1.2 Kiteytetty kalsiumtartraatti: $\text{CaC}_4\text{O}_6\text{H}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$:

itataan 400 ml:n dekantterilasiin 20 ml L(+)-viinihappoliuosta (5 g/l), 20 ml ammoniumD(-)tartraattiliuosta (6,126 g/l) ja 6 ml kalsiumasetaattiliuosta, joka sisältää kalsiumia 10 g/l (2.1.1.1).

Annetaan saostua kahden tunnin ajan. Kootaan sakka huokoisuudeltaan 4 olevaan lasisintteriin ja pestään se kolmeen kertaan noin 30 ml:lla tislattua vettä. Kuivataan lämpökaapissa 70 °C:n lämpötilassa, kunnes paino pysyy vakiona. Käyttäen mainittuja reagenssimääriä saadaan noin 340 mg kiteistä raseemista kalsiumtartraattia.

Säilytetään tulpalla suljetussa pullossa.

2.1.1.3 Saostusliuos (pH 4,75):

— D(-)viinihappo	122 mg
— 25 % (v/v) ammoniumhydroksidiliuos ($\rho_{20} = 0,97 \text{ g/ml}$)	0,3 ml
— Kalsiumasetaattiliuos, joka sisältää 10 g kalsiumia litrassa	8,8 ml
Täytetään vedellä	1 000 ml:ksi

Liutetaan D(-)viinihappo ja lisätään ammoniumhydroksidi; säädetään tilavuus noin 900 ml:ksi; lisätään 8,8 ml kalsiumasetaattiliuosta (2.1.1.1) ja sekoittamisen jälkeen säädetään pH etikkahapolla arvoon 4,75. Täytetään yhdeksi litraksi.

Koska raseemista kalsiumtartraattia liukenee niukasti tähän liuokseen, siihen on lisättävä 5 mg raseemista kalsiumtartraattia litrassa, ravistellaan 12 tunnin ajan ja suodatetaan.

2.1.2 *Suoritus*

2.1.2.1 Viinit, joihin ei ole lisätty mesoviinihappoa

Mitataan 600 ml:n dekanterilasiin 500 ml saostusliuosta ja 10 ml viiniä. Sekoitetaan ja aloitetaan saostaminen hieromalla lasin pintaa lasipuikolla. Annetaan saostua 12 tunnin ajan (yön yli).

▼B

Suodatetaan liuos ja sakka puhtaan vakuumpullon päälle asetetun taaratussuodoksella sen varmistamiseksi, että koko sakka on saatu keräytyksi.

Kuivataan lämpökaapissa 70 °C:n lämpötilassa, kunnes paino pysyy vakiona. Punnitaan: p on kiteytyneen, neljä vesimolekyyliä sisältävän kalsiumtartraatin $\text{CaC}_4\text{O}_6\text{H}_4$ paino.

2.1.2.2 Viinit, joihin on lisätty mesoviinihappoa

Määritettäessä viinejä, joihin on lisätty mesoviinihappoa tai joihin epäillään lisätyn mesoviinihappoa, tämä happo hydrolysoidaan seuraavissa olosuhteissa.

Mitataan 50 ml:n keittopulloon 10 ml viiniä ja 0,4 ml puhdasta etikkahappoa (CH_3COOH , $\rho_{20} = 1,05 \text{ g/ml}$). Yhdistetään pystyjäähdytin pulloon ja kuumennetaan kiehuvaan 30 minuutissa. Jäähdytymisen jälkeen siirretään neste 600 ml:n dekanterilasiin; huuhdotaan pullo 2 kertaa 5 ml:lla vettä ja jatketaan suoritusta edellä kuvatulla tavalla.

Mesoviinihappo lasketaan viinihapoksi.

2.1.3 Tulosten ilmoittaminen

Yksi raseeminen kalsiumtartraattimolekyyli vastaa puolta $\text{L}(+)$ viinihapon molekyylejä.

Viinihapon määrä litrassa viiniä, ilmoitettuna milliekvivalentteina, on 384,5 p.

Se ilmoitetaan yhdellä desimaalilla.

Viinihapon määrä litrassa viiniä, ilmoitettuna grammoina viinihappoa, on 28,84 p.

Se ilmoitetaan yhdellä desimaalilla.

Viinihapon määrä litrassa viiniä, ilmoitettuna grammoina kaliumvetytartraattia, on 36,15 p.

Se ilmoitetaan yhdellä desimaalilla.

2.2 Volumetrinen vertailumenetelmä

2.2.1 Reagenssit

2.2.1.1 Kloorivetyhappo (HCl) ($\rho_{20} = 1,18\text{--}1,19 \text{ g/ml}$) laimennetaan suhteessa 1/5 (v/v).

2.2.1.2 0,05 M EDTA-liuos:

EDTA (etyleenidiamiinitetraetikkahapon dinatriumsuola)	
$(\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2, 2\text{H}_2\text{O})$	18,61 g
Täytetään tislattulla vedellä	1 000 ml:ksi

2.2.1.3 40 % (m/v) natriumhydroksidiliuos:

Natriumhydroksidi (NaOH)	40 g
Täytetään tislattulla vedellä	100 ml:ksi

2.2.1.4 Kalkoni-karbonihappo kompleksometrinen indikaattori: 1 % (m/m)

Kalkoni-karbonihappo tai 2-hydroksi-1-(2-hydroksi-4-sulfo-1-naftyyliatso)-3-naftaleenihappo ($\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}, 3\text{H}_2\text{O}$)	1 g
Vedetön natriumsulfaatti	100 g

2.2.2 Suoritus

Punnitsemisen jälkeen raseeminen kalsiumtartraattisakan sisältävä lasisinteri pannan imupullon päälle ja liuotetaan sakka 10 ml:lla laimennettua kloorivetyhappoa (2.2.1.1). Pestään lasisinteri 50 ml:lla tislattua vettä.

Lisätään 5 ml 40 % natriumhydroksidiliuosta (2.2.1.3) ja noin 30 mg indikaattoria (2.2.1.4). Titrataan 0,05 M EDTA-liuoksella (2.2.1.2). Käytetty millilitramäärä on n.

▼B2.2.3 *Tulosten ilmoittaminen*

Viinihapon määrä litrassa viiniä, milliekvivalentteina ilmoitettuna, on 5 n.

Se ilmoitetaan yhdellä desimaalilla.

Viinihapon määrä litrassa viiniä, ilmoitettuna grammoina viinihappoa, on 0,375 n.

Se ilmoitetaan yhdellä desimaalilla.

Viinihapon määrä litrassa viiniä, ilmoitettuna grammoina kaliumvetytraattia, on 0,470 n.

Se ilmoitetaan yhdellä desimaalilla.

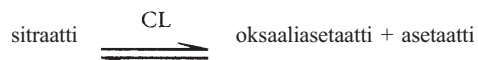
▼M8

▼B

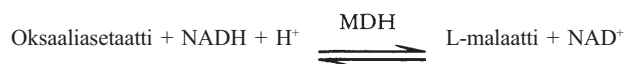
17. SITRUUNAHAPPO

1 PERIAATE

Sitruunahappo muutetaan sitraattilyaasilla (CL) katalysoidussa reaktiossa oksaaliasetaatiksi ja asetaatiksi:



Malaattidehydrogenaasin (MDH) ja laktaattidehydrogenaasin läsnäollessa oksaaliasetaatti ja sen dekarboksylaatiojohdannainen, pyruvaatti, pelkistyvät nikotiiniamidi-adeniini-dinukleotidilla (NADH) L-malaatiksi ja L-laktaatiksi:



Näissä reaktioissa NAD^+ :ksi hapettuneen NADH on verrannollinen sitraattimäärään. NADH:n hapettuminen mitataan sen absorbanssin pienenemisestä 340 nm:n aallonpituudella.

2 REAGENSIT

2.1 Standardiliuos pH 7,8

(0,51 M glysyyliglysiini; pH = 7,8; Zn^{2+} : $0,6 \times 10^{-3}\text{M}$):

Liutetaan 7,13 g glysyyliglysiiniä noin 70 ml:aan kahdesti tislattua vettä.

Säädetään pH arvoon 7,8 noin 13 ml:lla 5 M natriumhydroksidiliuosta; lisätään 10 ml sinkkikloridiliuosta ZnCl_2 (80 mg/100 ml) ja täytetään kahdesti tislattulla vedellä 100 ml:ksi.

Liuos säilyy vähintään 4 viikon ajan + 4 °C:ssa.

2.2 Pelkistynyt nikotiiniamidi-adeniini-dinukleotidi (NADH) -liuos, noin 6×10^{-3} M, liutetaan 30 mg NADH:ta ja 60 mg NaHCO_3 6 ml:aan kahdesti tislattua vettä.

2.3 Malaattidehydrogenaasi/laktaattidehydrogenaasi -liuos, (MDH/LDH) (0,5 mg MDH/ml; 2,5 mg LDH/ml): sekoitetaan 0,1 ml MDH:ta (5 mg MDH/ml), 0,4 ml ammoniumsulfaattiliuosta (3,2 M) ja 0,5 ml LDH:ta (5 mg/ml). Tämä liuos säilyy vähintään yhden vuoden + 4 °C:ssa.

2.4 Sitraattilyaasi CL (5 mg proteiinia/ml). Liutetaan 168 mg lyofiili-saattia 1 ml:aan jäävettä. Liuos säilyy vähintään yhden viikon ajan + 4 °C:ssa ja vähintään neljän viikon ajan jäädytettynä.

On suositeltavaa varmistaa entsyymien aktiivisuus ennen määrittystä.

2.5 Polyvinylipolypyrrolidoni (PVPP)

Huomautus:

Kaikki tähän määrittelyyn tarvittavat reagenssit ovat kaupallisesti saatavilla.

3 VÄLINEISTÖ

3.1 Spektrofotometri, jolla voidaan tehdä mittauksia 340 nm:ssä, jossa NADH:n absorptio on korkeimmillaan.

Jos tällaista spektrofotometriä ei ole saatavissa, käytetään epäjatkuvan spektrin omaavaa fotometriä, jolla voidaan mitata 334 tai 365 nm:ssä. Jos kyseessä ovat absoluuttiset absorbanssimittaukset (ei käytetä kalibrointisarjoja, vaan NADH:n ekstinktiokerrointa), laitteen aallonpituus- ja absorbanssiasteikkojen on oltava tarkistettuja.

3.2 Lasikyvettejä, joiden optinen pituus on 1 cm, tai kertakäyttöisiä kyvettejä.

3.3 Mikropipettejä, joilla voidaan pipetoida 0,02 - 2 ml:n suuruisia tilavuuksia.

▼B**4 NÄYTTEEN VALMISTAMINEN**

Sitraatti määritetään tavallisesti suoraan viinistä ilman, että väriaineet poistetaan ennen määrittystä tai viini laimennetaan, jos sitruunahappopitoisuus on alle 400 mg/l. Jos näin ei ole laimennetaan viini siten, että sen sitraattikonsentraatio on välillä 20-400 mg/l (näytteen sitraattimäärä välillä 5-80 µg).

Kun kyseessä on runsaasti fenolisia yhdisteitä sisältävä punaviini, on suositeltavaa käsitellä viini ennen määrittystä PVPP:llä:

Suspendoidaan veteen noin 0,2 g PVPP:tä, annetaan seistä 15 minuutin ajan. Suodatetaan laskostetun suodattimen läpi.

50 ml:n erlenmeyerpulloon mitataan 10 ml viiniä, lisätään lastalla suodattimesta otettua kosteaa PVPP:tä. Ravistellaan 2-3 minuuttia. Suodatetaan.

5 SUORITUS

Tehdään 340 nm:n aallonpituudelle kalibroidulla spektrofotometrillä absorptiomittaukset 1 cm:n kyvettejä käyttäen; absorbanssiasteikko nollataan ilmaa (ei kyvetteä) vastaan. Mitataan 1 cm:n kyvetteihin:

	vertailu	määrittäminen
Liuos 2.1	1,00 ml	1,00 ml
Liuos 2.2	0,10 ml	0,10 ml
Näyte	—	0,20 ml
Kahdesti tislattu vesi	2,00 ml	1,80 ml
Liuos 2.3	0,02 ml	0,02 ml

Sekoitetaan; noin 5 minuutin kuluttua luetaan vertailu- ja määrittämissäliuosten absorbanssit (A_1).

Lisätään:

Liuos 2.4	0,02 ml	0,02 ml
-----------	---------	---------

Sekoitetaan; odotetaan reaktion päättymistä (noin 5 minuuttia) ja luetaan vertailu- ja määrittämissäliuosten absorbanssit (A_2).

Lasketaan vertailu- ja määrittämissäliuosten absorbanssien erotus ($A_1 - A_2$).

Lasketaan vertailuliuoksen absorbanssien erotuksen ja määrittämissäliuoksen absorbanssien erotuksen erotus:

$$\Delta A = \Delta A_D - \Delta A_T$$

Huomautus:

Entsyymien aktiivisuuden loppuunsaattamiseksi tarvittava aika voi vaihdella eri erien kohdalla. Edellä annettu arvo on vain ohjeellinen. On suositeltavaa määrittää se erikseen jokaisesta erästä.

6 TULOSTEN ILMOITTAMINEN

Sitruunahappopitoisuus ilmoitetaan kokonaislukuna milligrammoina litrassa (mg/l).

6.1 Laskentamenetelmä

Konsentraatio milligrammoina litrassa saadaan yleisestä yhtälöstä:

$$C = \frac{V \times MP}{\epsilon \times d \times v} \times \Delta A$$

V = koeliuoksen tilavuus millilitroina (tässä 3,14 ml)

v = näytteen tilavuus millilitroina (tässä 0,2 ml)

MP = määritettävän aineen molekyylimassa (tässä vedetön sitruunahappo = 192,1)

d = kyvetin optinen pituus senttimetreinä (tässä 1 cm)

ϵ = NADH:n absorptiokerroin; 340 nm:ssä, $\epsilon = 6,3 \text{ mmol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1}$.

▼B

Saadaan:

$$C = 479 \times \Delta A$$

Jos näytettä valmistettaessa on tehty laimennus, kerrotaan tulos laimennuskertoimella.

Huomautus:

$$334 \text{ nm:ssä: } C = 488 \times \Delta A \ (\epsilon = 6,2 \text{ mmol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1})$$

$$365 \text{ nm:ssä: } C = 887 \times \Delta A \ (\epsilon = 3,4 \text{ mmol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1})$$

6.2 **Toistettavuus (r)**

Sitruunahappopitoisuus alle 400 mg/l: $r = 14 \text{ mg/l}$.

Sitruunahappopitoisuus yli 400 mg/l: $r = 28 \text{ mg/l}$.

6.3 **Uusittavuus (R)**

Sitruunahappopitoisuus alle 400 mg/l: $R = 39 \text{ mg/l}$.

Sitruunahappopitoisuus yli 400 mg/l: $R = 65 \text{ mg/l}$.

▼B

18. MAITOHAPPO

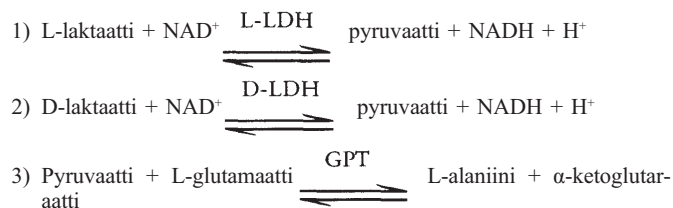
1 PERIAATE

1.1 Vertailumenetelmä

Maitohapot (L-laktaatti ja D-laktaatti) hapetetaan nikotiiniamidi-adeniini-dinukleotidilla (NAD) pyruvaatiksi L-laktaattidehydrogenaasin (L-LDH) ja D-laktaattidehydrogenaasin (D-LDH) katalysoimassa reaktiossa.

Reaktion tasapaino on laktaatin puolella. Pyruvaatin poistaminen reaktioseoksesta siirtää reaktion tasapainon pyruvaatin muodostumisen suuntaan.

L-glutamaatti muuttaa pyruvaatin L-alaniiniksi glutamaatti-pyruvaatti-transaminaasin (GPT) katalysoimassa reaktiossa:



NADH:n muodostuminen, joka mitataan absorbanssin kasvuna aallonpituudella 340 nm, on verrannollinen laktaattimäärään.

Huomautus:

L-maitohappo voidaan määrittää erikseen reaktioilla 1 ja 3.

D-maitohappo voidaan määrittää erikseen reaktioilla 2 ja 3.

1.2 Tavanomainen menetelmä

Anioninvaihtokolonnilla erotettu maitohappo hapetetaan asetaldehydiksi ja määritetään kolorimetrisesti antamalla aldehydin ensin reagoida natriumnitroprussidin ja piperidiinin kanssa.

2. VERTAILUMENETELMÄ

2.1 Reagenssit

2.1.1 Standardiliuos pH 10 (glysyyliglysiini 0,6 mol/l; L-glutamaatti 0,1 mol/l).

Liuetetaan 4,75 g glysyyliglysiiniä ja 0,88 g L-glutaamihappoa noin 50 ml:aan kahdesti tislattua vettä; säädetään pH arvoon 10 muutamalla millilitralla 10 M natriumhydroksidiliuosta ja täytetään 60 ml:ksi kahdesti tislattulla vedellä.

Liuos säilyy vähintään 12 viikkoa + 4 °C:ssa.

2.1.2 Nikotiiniamidi-adeniini-dinukleotidi (NAD) -liuos, noin 40×10^{-3} M; liuetetaan 900 mg NAD:tä 30 ml:aan kahdesti tislattua vettä. Liuos säilyy vähintään 4 viikkoa + 4 °C:ssa.

2.1.3 Glutamaatti-pyruvaatti-transaminaasi (GPT) -liuos, 20 mg/ml. Liuos säilyy vähintään yhden vuoden + 4 °C:ssa.

2.1.4 L-laktaattidehydrogenaasi (L-LDH) -liuos, 5 mg/ml. Liuos säilyy vähintään yhden vuoden + 4 °C:ssa.

2.1.5 D-laktaattidehydrogenaasi (D-LDH) -liuos, 5 mg/l. Liuos säilyy vähintään yhden vuoden + 4 °C:ssa.

On suositeltavaa varmistaa entsyymien aktiivisuus ennen määrittystä.

Huomautus:

Kaikki määrittäykseen tarvittavat reagenssit ovat kaupallisesti saatavilla.

▼B**2.2 Välineistö**

- 2.2.1 Spektrofotometri, jolla voidaan tehdä mittauksia 340 nm:ssä, jossa NADH:n absorptio on korkeimmillaan.

Jos tällaista spektrofotometriä ei ole saatavissa, käytetään epäjatkuvan spektrin omaavaa fotometriä, jolla voidaan tehdä mittauksia 334 tai 365 nm:ssä.

Jos kyseessä ovat absoluuttiset absorbanssimittaukset (ei käytetä kalibrointisarjoja, vaan NADH:n ekstinktiokerrointa), laitteen aallonpituus- ja absorbanssiasteikkojen on oltava tarkistettuja.

- 2.2.2 Lasikyvettejä, joiden optinen pituus on 1 cm, tai kertakäyttöisiä kyvettejä.
- 2.2.3 Mikropipettejä, joilla voidaan pipetoida 0,02-2 ml:n suuruisia näytteitä.

2.3 Näytteen valmistaminen

Reaktioseosten kanssa kosketuksiin joutuvia lasitavaroitten osia ei saa koskea sormin, sillä kosketuksesta voi siirtyä reaktioseokseen tuloksen vääristävää L-maitohappoa.

Laktaatin määrittäminen tehdään yleensä suoraan viinistä ilman, että väriaineet poistetaan ennen määrittämistä tai viini laimennetaan, jos maitohappopitoisuus on alle 100 mg/l. Jos viinin maitohappokonsentraatio on välillä:

100 mg/l-1 g/l laimennetaan suhteessa 1/10 kahdesti tislattulla vedellä,

1-2,5 g/l laimennetaan suhteessa 1/25 kahdesti tislattulla vedellä,

2,5-5 g/l laimennetaan suhteessa 1/50 kahdesti tislattulla vedellä.

2.4 Suoritus

- 2.4.1 *Kokonaismaitohappopitoisuuden määrittäminen*

Standardiliuoksen lämpötilan on oltava 20-25 °C ennen määrittämisen aloittamista.

Tehdään aallonpituudelle 340 nm kalibroidulla spektrofotometrillä absorptiomittaukset 1 cm:n kyvettejä käyttäen, absorbanssiasteikko nollataan ilmaa (ei kyvetteä) tai vettä vastaan.

Mitataan kyvetteihin, joiden optinen pituus on 1 cm:

	vertailu	määrittäminen
Liuos 2.1.1	1,00 ml	1,00 ml
Liuos 2.1.2	0,20 ml	0,20 ml
Kahdesti tislattu vesi	1,00 ml	0,80 ml
Liuos 2.1.3	0,02 ml	0,02 ml
Näyte	—	0,20 ml

Sekoitetaan lasisekoittajalla tai synteettisestä materiaalista valmistetulla litteäpäisellä puikolla; noin 5 minuutin kuluttua luetaan vertailu- ja määrittäysliuosten absorbanssit (A_1).

Lisätään 0,02 ml 2.1.4 -liuosta ja 0,05 ml 2.1.5 -liuosta, homogenoidaan, odotetaan reaktion päättymistä (noin 30 minuuttia) ja mitataan vertailu- ja määrittäysliuosten absorbanssit (A_2).

Lasketaan vertailu- ja määrittäysliuosten absorbanssien erotus ($A_2 - A_1$).

Lasketaan vertailuliuoksen absorbanssien erotuksen ja määrittäysliuoksen absorbanssien erotuksen erotus:

$$\Delta A = \Delta A_M - \Delta A_V$$

- 2.4.2 *L-maitohapon ja D-maitohapon määrittäminen*

L-maitohappo ja D-maitohappo voidaan määrittää erikseen noudattaen kokonaismaitohapon määrittämis menetelmää, mutta A_1 :n määrittämisen jälkeen jatketaan määrittäystä seuraavasti:

Lisätään 0,02 ml 2.1.4 -liuosta, homogenoidaan, odotetaan reaktion loppuun kulumista (noin 20 minuuttia) ja mitataan vertailu- ja määrittäysliuosten absorbanssit (A_2).

▼ **B**

Lisätään 0,05 ml 2.1.5 -liuosta, homogenoidaan, odotetaan reaktion loppuun kulumista (noin 30 minuuttia) ja mitataan vertailu- ja määrittysliuosten absorbanssit (A_3).

Lasketaan vertailu- ja määrittysliuosten absorbanssien erotus L-maitohapon ($A_2 - A_1$) ja D-maitohapon ($A_3 - A_2$) osalta.

Lasketaan vertailuliuksen absorbanssien erotuksen ja määrittysliuksen absorbanssien erotuksen erotus:

$$\Delta A = \Delta A_M - \Delta A_V$$

Huomautus:

Entsyymiaktiivisuuden loppuun saattamiseksi tarvittava aika voi vaihdella eri erien kohdalla. Edellä annettu arvo on vain ohjeellinen. On suositeltavaa määrittää se erikseen jokaiselle erälle. Määritettäessä ainoastaan L-maitohappoa L-laktaattidehydrogenaasin lisäämisen jälkeen inkubointiaika voidaan vähentää 10 minuuttiin.

2.5 Tulosten ilmoittaminen

Maitohappopitoisuus ilmoitetaan grammoina litrassa (g/l) yhdellä desimaalilla.

2.5.1 Laskentamenetelmä

Konsentraatio grammoina litrassa lasketaan yleisellä yhtälöllä:

$$C = \frac{V \times MP}{\epsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A$$

V = koeliuksen tilavuus millilitroina (L-maitohappo V = 2,24 ml, D-maitohappo ja kokonaismaitohappo V = 2,29)

v = näytteen tilavuus millilitroina (tässä 0,2 ml)

MP = määritettävän aineen molekyylimassa (tässä DL-maitohappo = 90,08)

d = kyvetin optinen pituus senttimetreinä (tässä 1 cm)

ϵ = NADH:n absorptiokerroin 340 nm:ssä, $\epsilon = 6,3 \text{ mmol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1}$.

2.5.1.1 Kokonaismaitohappo ja D-maitohappo

$$C = 0,164 \times \Delta A$$

Jos näytettä valmistettaessa on tehty laimennus, kerrotaan tulos laimennuskertoimella.

Huomautus:

Mittaus 334 nm:ssä: $C = 0,167 \times \Delta A$ ($\epsilon = 6,2 \text{ mmol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1}$)

Mittaus 365 nm:ssä: $C = 0,303 \times \Delta A$ ($\epsilon = 3,4 \text{ mmol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1}$)

2.5.1.2 L-maitohappo

$$C = 0,160 \times \Delta A$$

Jos näytettä valmistettaessa on tehty laimennus, kerrotaan tulos laimennuskertoimella.

Huomautus:

Mittaus 334 nm:ssä: $C = 0,163 \times \Delta A$ ($\epsilon = 6,2 \text{ mmol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1}$)

Mittaus 365 nm:ssä: $C = 0,297 \times \Delta A$ ($\epsilon = 3,4 \text{ mmol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1}$)

2.5.2 Toistettavuus (r)

$$r = 0,02 + 0,07x_i \text{ g/l}$$

x_i = näytteen maitohappokonsentraatio grammoina litrassa.

2.5.3 Usittavuus (R)

$$R = 0,05 + 0,125x_i \text{ g/l.}$$

x_i är mjölksyrakoncentrationen i provet i g/l.

▼ **M8**

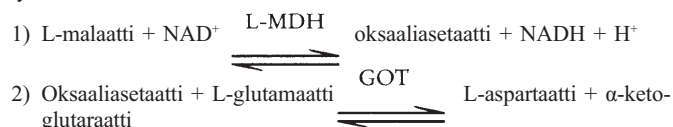
▼B

19. L-OMENAHAPPO

1 PERIAATE

Nikotiiniamidi-adeniini-dinukleotidi (NAD) hapettaa L-omenahapon (L-malaatti) oksaaliasetaatiksi L- malaattidehydrogenaasin (L-MDH) katalysoimassa reaktiossa.

Reaktion tasapaino on malaatin puolella. Oksaaliasetaatin poistaminen reaktioseoksesta siirtää reaktion tasapainoa oksaaliasetaatin muodostumisen suuntaan. L-glutamaatinläsnäollessa oksaaliasetaatti muutetaan L-aspartaatiksi glutamaatti-oxaaliasetaatti-transaminaasin (GOT) katalysoimassa reaktiossa:



Muodostunut NADH mitataan absorbanssin kasvuna aallonpituudella 340 nm ja se on verrannollinen L-malaatin määrään.

2 REAGENSIT

2.1 Puskuriliuos pH 10

(Glysyyliglysiini 0,6 mol/l, L-glutamaatti 0,1 mol/l).

Liuotetaan 4,75 g glysyyliglysiiniä ja 0,88 g L-glutaamihappoa noin 50 ml: aan kahdesti tislattua vettä; säädetään pH arvoon 10 noin 4,6 ml:lla 10 M natriumhydroksidiliuosta ja täytetään 60 ml:ksi kahdesti tislattulla vedellä.

Liuos säilyy vähintään 12 viikkoa + 4 °C:ssa.

2.2 Nikotiiniamidi-adeniini-dinukleotidi (NAD) -liuos, noin 40×10^{-3} M; liuotetaan 420 mg NAD:tä 12 ml:aan kahdesti tislattua vettä. Liuos säilyy vähintään 4 viikkoa + 4 °C:ssa.

2.3 Glutamaatti-oxaaliasetaatti-transaminaasi (GOT) -liuos, 2 mg/ml. Liuos säilyy vähintään yhden vuoden + 4 °C:ssa.

2.4 L-malaattidehydrogenaasi (L-MDH) -liuos, 5 mg/ml. Liuos säilyy vähintään yhden vuoden + 4 °C:ssa.

Huomautus:

Kaikki määritykseen tarvittavat reagenssit ovat kaupallisesti saatavilla.

3 VÄLINEISTÖ

3.1 Spektrofotometri, jolla voidaan tehdä absorbanssimittaukset aallonpituudella 340 nm, jossa NADH:n absorptio on korkeimmillaan.

Jos tällaista spektrofotometriä ei ole saatavissa, käytetään epäjatkuvan spektrin omaavaa fotometriä, jolla voidaan tehdä mittauksia 334 tai 365 nm:ssä.

Jos kyseessä ovat absoluuttiset absorbanssimittaukset (ei käytetä kalibrointisarjoja, vaan NADH:n ekstinktiokerrointa), laitteen aallonpituus- ja absorbanssiasteikkojen on oltava tarkistettuja.

3.2 Lasikyvettejä, joiden optinen pituus on 1 cm, tai kertakäyttöisiä kyvettejä.

3.3 Mikropipettejä, joilla voidaan pipetoida 0,01 - 2 ml:n suuruisia tilavuuksia.

4 NÄYTTEEN VALMISTAMINEN

L-malaatin määrittäminen tehdään tavallisesti suoraan viinistä ilman, että väriaineet poistetaan ennen määrittämistä tai viini laimennetaan, jos L-omenahappopitoisuus on alle 350 mg/l (mitattu 365 nm:ssä). Jos näin ei ole, laimennetaan viini kahdesti tislattulla vedellä siten, että sen L-malaattikonsentraatio on välillä 30-350 mg/l (näytteen L-malaattimäärä välillä 3-35 µg).

Jos viinin malaattikonsentraatio on alle 30 mg/l, näytteen tilavuus voidaan nostaa 1 ml: aan. Tässä tapauksessa lisättävän veden tilavuutta vähennetään siten, että molemmissa kyveteissä kokonaistilavuus on sama.

▼B

5. SUORITUS

Tehdään aallonpituudelle 340 nm kalibroidulla spektrofotometrillä absorptiomittaukset 1 cm:n kyvettejä käyttäen; absorbanssiasteikko nollataan ilmaa (ei kyvetteä) tai vettä vastaan.

Mitataan kyvetteihin, joiden optinen pituus on 1 cm:

	vertailu	määritys
Liuos 2.1	1,00 ml	1,00 ml
Liuos 2.2	0,20 ml	0,20 ml
Kahdesti tislattu vesi	1,00 ml	0,90 ml
Liuos 2.3	0,01 ml	0,01 ml
Näyte	—	0,10 ml

Sekoitetaan; noin 3 minuutin kuluttua mitataan vertailu- ja määritysliuosten absorbanssi (A_1).

Lisätään:

Liuos 2.4	0,01 ml	0,01 ml
-----------	---------	---------

Sekoitetaan; odotetaan reaktion päättymistä (noin 5-10 minuuttia) ja mitataan vertailu- ja määritysliuosten absorbanssi (A_2).

Lasketaan vertailu- ja määritysliuosten absorbanssien erotus ($A_2 - A_1$).

Lasketaan vertailuliuoksen absorbanssien erotuksen ja määritysliuoksen absorbanssien erotuksen erotus:

$$\Delta A = \Delta A_D - \Delta A_T$$

Huomautus:

Entsyymiaktiivisuuden loppuun saattamiseksi tarvittava aika voi vaihdella eri erien kohdalla. Edellä annettu arvo on vain ohjeellinen. On suositeltavaa määrittää se erikseen jokaisesta erästä.

6. TULOSEN ILMOITTAMINEN

L-omenahappokonsentraatio ilmoitetaan grammoina litrassa (g/l) yhdellä desimaalilla.

6.1 Laskentamenetelmä

Konsentraatio grammoina litrassa lasketaan yleisellä yhtälöllä:

$$C = \frac{V \times MP}{\epsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A$$

V = koeliuoksen tilavuus millilitroina (tässä 2,22 ml)

v = näytteen tilavuus millilitroina (tässä 0,1 ml)

MP = määritettävän aineen molekyylimassa (tässä L-omenahappo = 134,09)

d = kyvetin optinen pituus senttimetreinä (tässä 1 cm)

ϵ = NADH:n absorptiokerroin 340 nm:ssä, $\epsilon = 6,3 \text{ mmol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1}$.

L-malaatille saadaan:

$$C = 0,473 \times \Delta A \text{ g/l}$$

Jos näytettä valmistettaessa on tehty laimennus, kerrotaan tulos laimennuskertoimella.

Huomautus:

Mittaus 334 nm:ssä: $C = 0,482 \times \Delta A$

Mittaus 365 nm:ssä: $C = 0,876 \times \Delta A$

▼B**6.2 Toistettavuus (r)**

$$r = 0,03 + 0,034x_i$$

x_i = näytteen omenahappopitoisuus grammoina litrassa.

6.3 Uusittavuus (R)

$$R = 0,05 + 0,071x_i$$

x_i = näytteen omenahappopitoisuus grammoina litrassa.

▼M7

20. D-OMENAHAPPO

(Entsyaattinen määritysmenetelmä)

1. PERIAATE

D-omenahappodehydrogenaasin (D-MDH) ja nikotiiniamidiadeniiniidiniukleotidin (NAD) läsnäollessa D-omenahappo hapettuu oksaloasetaatiksi. Oksaloasetatti muuttuu pyruvaatiksi ja hiilidioksidiksi.



Muodostuneen NADH:n määrä, joka mitataan absorbanssin lisääntymisenä aallonpituudella 334, 340 tai 365 nm, on suhteessa D-omenahapon määrään.

2. REAGENSIT

Reagenssit, joilla voidaan tehdä noin 30 määritystä, ovat saatavina kaupallisesti testipakkauksina, joissa on:

- a) pullo 1, jossa on noin 30 ml Hepes-puskuriliuosta [N-(2-hydroksietyyli)piperatsiini-N'-2-etaanisulfonihappo], pH = 9,0, ja stabilisaattoreita;
- b) pullo 2, jossa on noin 210 mg kylmäkuivattua NAD:tä;
- c) pullo 3 (kolme kappaletta), joissa on kylmäkuivattua D-MDH:ta, noin 8 yksikköä.

Liuosten valmistus

1. Pullon 1 sisältö käytetään laimentamatta. Liuos saatetaan lämpötilaan 20-25 °C ennen käyttöä.
2. Pullon 2 sisältö liuotetaan 4 ml:aan kahdesti tislattua vettä.
3. Pullon 3 sisältö liuotetaan 0,6 ml:aan kahdesti tislattua vettä. Liuos saatetaan lämpötilaan 20-25 °C ennen käyttöä.

Liuosten säilyvyys

Pullon 1 sisältö säilyy ainakin vuoden lämpötilassa + 4 °C; liuos 2 säilyy noin 3 viikkoa + 4 °C:ssa ja 2 kuukautta – 20 °C:ssa; liuos 3 säilyy 5 päivää + 4 °C:ssa.

3. VÄLINEET

- 3.1 Spektrofotometri, jolla voidaan mitata aallonpituudella 340 nm (NADH:n absorptiomaksimi). Jos tällaista spektrofotometriä ei ole, voidaan käyttää (suodatin)fotometriä, jolla voidaan mitata aallonpituuksilla 334 nm tai 365 nm. Koska mitataan absoluuttisia absorbanssi-arvoja (ei kalibrointikäyrää, vaan vertailuna käytetään NADH:n ekstinktiokerrointa), laitteen aallonpituus- ja absorbanssias-teikot on kalibroitava.
- 3.2 Lasi- tai kertakäyttökylvettejä, joiden valotie on 1 cm.
- 3.3 Mikropipettejä, joilla voidaan käsitellä tilavuuksia välillä 0,01-2ml.

4. NÄYTTEEN VALMISTUS

D-omenahappo määritetään tavallisesti suoraan viinistä ilman värinpoistoa.

Koska D-omenahapon määrän kyvetissä pitää olla välillä 2-50 µg, on viininäyte laimennettava siten, että omenahappokonsentraatio on välillä 0,02-0,5 g/l tai välillä 0,02-0,3 g/l (laitteistosta riippuen).

▼M7

Laimennustaulukko:

D-omenahapon arvioitu määrä litrassa		Laimennus vedellä	Laimennusker- roin F
Mittaus aallonpituudella:			
340 tai 334 nm	365 nm		
< 0,3 g	< 0,5 g	—	1
0,3-3,0 g	0,5-5,0 g	1 + 9	10

5. SUORITUS

Spektrofotometrissä valitaan aallonpituus 340 nm ja absorbanssimitaukset tehdään kyveteissä, joiden valotie on 1 cm. Nolla-absorbanssi määritetään ilmaa vastaan (ei kyvetiä valotiessä) tai vettä vastaan.

Pipetoidaan kyvetiin, jonka valotie on 1 cm:

	Kontrolli	Näyte
liuosta 1	1,00 ml	1,00 ml
liuosta 2	0,10 ml	0,10 ml
tislattua vettä	1,80 ml	1,70 ml
näyteliuosta	—	0,10 ml

Sekoitetaan. Noin 6 minuutin kuluttua mitataan kontrolli- ja näyteliuoksen absorbanssi (A_1).

Lisätään:

	Kontrolli	Näyte
liuosta 3	0,05 ml	0,05 ml

Sekoitetaan. Odotetaan, että reaktio loppuu (noin 20 min) ja mitataan kontrolli- ja näyteliuoksen absorbanssi (A_2).

Lasketaan absorbanssien erotukset ($A_2 - A_1$) sekä kontrollille (ΔA_r) että näytteelle (ΔA_e). Vähennetään kontrollin absorbanssiero näytteen absorbanssierosta: $\Delta A = \Delta A_e - \Delta A_r$

Huom.

EntsHuom.yymivaikutuksen kesto voi vaihdella näyte-erien välillä. Suositeltu aika on vain ohjeellinen. Suositellaan, että vaikutusaikaa määritetään kullekin näyte-erälle.

D-omenahappo reagoi nopeasti. Jos entsyymiä on ylimäärin, se vaikuttaa myös L-viinihappoon, vaikka reaktionopeus on paljon pienempi. Tämän vuoksi esiintyy heikkoa sivureaktioita, jonka vaikutus voidaan korjata ekstrapoloimalla (ks. lisäys A).

6. TULOSTEN ILMOITTAMINEN

Konsentraatio milligrammoina litraa kohti lasketaan seuraavalla yleiskaavalla:

$$C = \frac{V \times PM}{\epsilon \times d \times v \times \Delta A}$$

missä:

V = mittaliuoksen tilavuus millilitroina (tässä 2,95 ml)

v = näytteen tilavuus millilitroina (tässä 0,1 ml)

PM = mitattavan aineen molekyylimassa (tässä D-omenahappo = 134,09)

d = kyvetin valotie senttimetreinä (tässä 1 cm)

▼M7

ϵ = NADH:n absorptiokerroin

aallonpituudella 340 nm = 6,3 (l mmol⁻¹ cm⁻¹)

aallonpituudella 365 nm = 3,4 (l mmol⁻¹ cm⁻¹)

aallonpituudella 334 nm = 6,18 (l mmol⁻¹ cm⁻¹).

Jos näytettä on laimennettu, tulos kerrotaan laimennuskertoimella.

D-omenahapon konsentraatio ilmoitetaan milligrammoina litraa kohti (mg/l) ilman desimaaleja.

7. LUOTETTAVUUS

Laboratorioiden väliset luotettavuuskokeet esitetään liitteessä B. Laboratorioiden välisestä kokeesta saatuja arvoja ei välttämättä voi käyttää, jos analyttikonsentraatiot ja matriisit ovat erilaisia kuin lisäyksessä B käytetyt.

7.1 Toistettavuus

Absoluuttinen ero kahden yksittäisen tuloksen välillä, jotka sama määrittäjä on saanut samalla laitteistolla samasta näytemateriaalista hyvin lyhyin aikavälein, ei saa ylittää toistettavuusarvoa r enemmän kuin 5 prosentissa määrittämisistä.

Tämä r -arvo = 11 mg/l

7.2 Uusittavuus

Absoluuttinen ero kahden yksittäisen tuloksen välillä, jotka on saatu samasta näytemateriaalista kahdessa eri laboratoriossa, ei saa ylittää uusittavuusarvoa R enemmän kuin 5 prosentissa määrittämisistä.

Tämä R -arvo = 20 mg/l

▼M10

8. PIENTEN D-OMENAHAPPOPITOISUUKSIEN (D(+)-OMENAHAPPO) MÄÄRITYS VIINISSÄ

8.1 Sovellusala

Kuvattua menetelmää käytetään alle 50 mg/l olevien D-omenahappopitoisuuksien entsymaattiseen määrittämiseen viineistä.

8.2 Periaate

Menetelmän periaate on selostettu kohdassa 1. Kun mittakyvetiin lisätään liuosta, jonka pitoisuus on 50 mg D-omenahappoa litraa kohden, NADH:n muodostuminen on suoraan verrannollista läsnä olevan D-malaatin määrään, ja sitä mitataan määrittämällä absorbanssin lisääntyminen aallonpituudella 340 nm.

8.3 Reagenssit

0,199 g D-omenahappoa litraa kohden sisältävä liuos sekä kohdassa 2 mainitut reagenssit.

8.4 Välineistö

Kohdassa 3 mainittu välineistö.

8.5 Näytteen valmistaminen

Kohdan 4 mukaisesti.

8.6 Menetelmä

Menetelmä on kohdassa 5 kuvattuna kaltainen, paitsi siltä osin, että mittakyvetiin lisätään liuosta, jonka D-omenahappopitoisuus on 50 mg/l (0,025 ml:n lisäys liuosta, jonka D-omenahappopitoisuus on 0,199 g/l; sillä korvataan vastaava tilavuus vettä); saaduista mittaustuloksista vähennetään pitoisuus 50 mg/l.

▼ **M10**

8.7

Sisäinen validointi

Seuraavassa taulukossa on yhteenveto 50 mg litraa kohden sisältävän liuoksen lisäämisen jälkeen tapahtuvaan D(+)-omenahapon pitoisuuden määrittämiseen käytettävän menetelmän sisäisestä validoinnista.

Mittausalue	0—70 mg D-omenahappoa litrassa. Tällä alueella menetelmä on lineaarinen korrelaatioker- toimen vaihdellessa välillä 0,990—0,994
Kvantitatiivisen määrittämisen alaraja	24,4 mg/l
Havaintoraja	8,3 mg/l
Herkkyys	0,0015 abs/mg/l
Saanto	87,5—115,0 % valkoviineille ja 75—105 % punaviineille
Toistettavuus	12,4 mg/l valkoviineille (OIV-menetelmän mukaan 12,5 mg/ l) 12,6 mg/l punaviineille (OIV-menetelmän mukaan 12,7 mg/ l)
Variaatiokerroin	4,2—7,6 % (valko- ja punaviinit)
Laboratorioiden välinen hajonta	CV = 7,4 % (s = 4,4 mg/l; keskiarvo = 59,3 mg/l)

▼M7

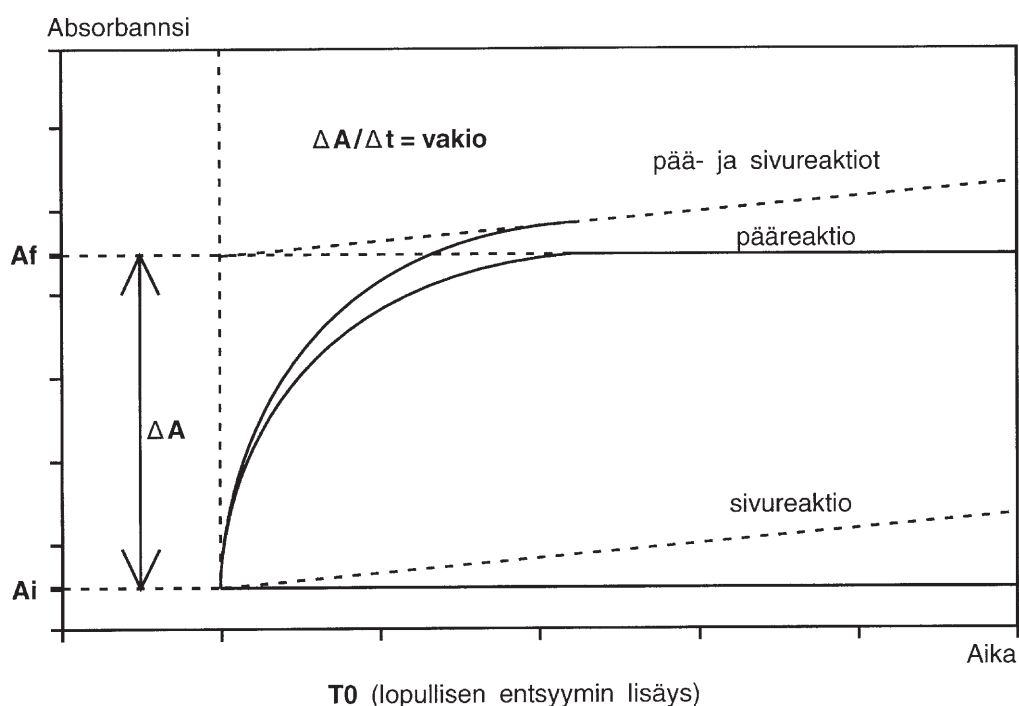
Lisäys A

Entsymaattisten sivureaktioiden huomioon ottaminen

Sivureaktiot johtuvat yleensä entsyymien toissijaisista reaktioista, muiden entsyymien läsnäolosta näytematriisissa tai yhden tai useamman matriisikomponentin reaktiosta entsyymireaktion jonkin kofaktorin kanssa.

Tavanomaisessa reaktiossa absorbanssi saavuttaa pysyvän arvon tietyn ajan, yleensä noin 10-20 minuutin kuluttua riippuen spesifisestä entsyymireaktiosta. Jos esiintyy toissijaisia reaktioita, absorbanssi ei vakiinnu, vaan nousee ajan funktiona. Tämän tyyppistä reaktiota sanotaan sivureaktioksi.

Kun tällainen ongelma esiintyy, on suositeltavaa mitata liuoksen absorbanssi säännöllisin väliajoin (2-5 min) sen jälkeen kun kalibrointiliuos on saavuttanut lopullisen absorbanssin. Jos absorbanssi nousee säännöllisesti, tehdään 5-6 mittausta, minkä jälkeen suoritetaan graafinen tai laskennallinen ekstrapolaatio, jonka avulla saadaan liuoksen absorbanssi hetkellä, jolloin entsyymi lisättiin (T_0). Tälle hetkelle ekstrapoloitua absorbanssiero ($A_f - A_i$) käytetään substraattikonsentraation laskemiseen.



Kuva 1: Sivureaktio

▼ **M7***Lisäys B*

Laboratorioidenvälisen kokeen tulokset

Suoritusvuosi:: 1995

Laboratorioiden lukumäärä:: 8

Näytteiden määrä:: 5, joihin oli lisätty D-omenahappoa

Näyte	A	B	C	D	E
Hyväksytyjen laboratorioiden lukumäärä, kun oli poistettu ne laboratoriot, jossa oli saatu väärä tuloksia	7	8	7	8	7
Niiden laboratorioiden lukumäärä, joissa oli saatu väärä tuloksia	1	—	1	—	1
Hyväksytyjen tulosten lukumäärä	35	41	35	41	36
Keskiarvo ($\bar{x}$) (mg/l)	161,7	65,9	33,1	106,9	111,0
Toistettavuuden keskihajonta (s_p) (mg/l)	4,53	4,24	1,93	4,36	4,47
Toistettavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD_p) (%)	2,8	6,4	5,8	4,1	4,00
Toistettavuusraja (r) (mg/l)	12,7	11,9	5,4	12,2	12,5
Uusittavuuden keskihajonta (s_R) (mg/l)	9,26	7,24	5,89	6,36	6,08
Uusittavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD_R) (%)	5,7	11	17,8	5,9	5,5
Uusittavuusraja (R) (mg/l)	25,9	20,3	16,5	17,8	17,0

Näytetyypit:

A: punaviini; B: punaviini; C: valkoviini; D: valkoviini; E: valkoviini.



21. KOKONAISOMENAHAPPO

TAVANOMAINEN MENETELMA

1 PERIAATE

Anioninvaihtokolonilla erotettu omenahappo määritetään kolorimetri-
sesti eluaatista mittaamalla keltainen väri, joka saadaan 96 %
rikkihapon kromotropahapon avulla. Eluaatin sisältämät aineet
häiritsevät reaktiossa. Nämä aineet reagoivat vielä, toisin kuin
omenahappo, 86 % rikkihapossa kromotropahapon kanssa. Häiriön
poistamiseksi vähennetään kromotropahapolla 96 % rikkihapossa
saadusta absorbanssista kromatokropahapolla 86 % rikkihapossa saatu
absorbanssi.

2 VÄLINEISTÖ

- 2.1 Lasikolonne, jonka pituus on noin 250 mm ja sisähalkaisija 35 mm ja
joka on varustettu hanalla.
- 2.2 Lasikolonne, jonka pituus on noin 300 mm ja sisähalkaisija 10-11 mm
ja joka on varustettu hanalla.
- 2.3 Vesihaude, 100 °C.
- 2.4 Spektrofotometri, jolla voidaan tehdä absorbanssimittaukset aallonpi-
tuudella 420 nm, ja kyvettejä, joiden optinen pituus on 10 mm.

3 REAGENSIT

- 3.1 Vahvasti emäksinen anioninvaihtoharts (esimerkiksi Merck III).
- 3.2 5 % (m/v) natriumhydroksidi.
- 3.3 30 % (m/v) etikkahappo.
- 3.4 0,5 % (m/v) etikkahappo.
- 3.5 10 % (m/v) natriumsulfaattiliuos (Na_2SO_4).
- 3.6 95-97 % (m/m) väkevä rikkihappo.
- 3.7 86 % (m/m) rikkihappo.
- 3.8 5 % (m/v) kromotropahappoliuos.

Tuore liuos valmistetaan ennen jokaista määrittystä liuottamalla 500 mg
kromotropahapon natriumsuolaa ($\text{C}_{10}\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 10 ml:aan
tislattua vettä.

- 3.9 DL-omenahappoliuos, 0,5 g/l.

Liuotetaan 250 mg/l omenahappoa ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_5$) riittävään määrään 10 %
natriumsulfaattiliuosta (3.5) ja täytetään 500 ml:ksi.

4 SUORITUS

4.1 Ioninvaihtohartsin esikäsitteleminen

Asetetaan tislattulla vedellä kostutettu vanutuppo kolonnin
(35 × 250 mm) pohjalle hanan yläpuolelle. Kaadetaan anioninvaihto-
harts lasikolonnein. Neste on ulotuttava 50 mm hartsin
yläpuolelle. Huuhdotaan 1 000 ml: lla tislattua vettä. Pestään kolonne
natriumhydroksidiliuoksella (5 %), annetaan valua 2-3 mm hartsin
yläpuolelle, toistetaan 5 % natriumhydroksidiliuoksella pesu kaksi
kertaa ja annetaan seistä tunnin ajan. Pestään kolonne 1 000 ml:lla
tislattua vettä. Täytetään kolonne uudelleen 30 % etikkahapolla,
annetaan valua 2-3 mm etäisyydelle hartsin yläpinnasta ja toistetaan
30 % etikkahapolla pesu kaksi kertaa. Annetaan seistä vähintään 24
tuntia ennen käyttöä. Myöhempiä määrittäksiä varten ioninvaihtohartsia
säilytetään etikkahapossa (30 %).

4.2 Ioninvaihtokolonin valmistaminen

Asetetaan vanutuppo kolonnin (11 × 300 mm) pohjalle hanan
yläpuolelle. Kaadetaan 4.1 kohdassa kuvatulla tavalla valmistettua
ioninvaihtohartsia lasikolonnein 10 cm:n korkeudelle. Avataan hana ja
annetaan etikkahappoliuoksen (30 %) valua 2-3 mm hartsin
yläpuolelle. Pestään 50 ml: lla etikkahappoa (0,5 %).

▼B

4.3 **DL-omenahapon erottaminen**

Kaadetaan 4.2 kohdan mukaisesti valmistettuun kolonniin 10 ml viiniä tai rypälemehua. Annetaan virrata tipoittain (keskimääräinen virtausnopeus 1 tippa sekunnissa) ja pysäytetään virtaus 2-3 mm hartsin yläpuolelle. Pestään kolonni 50 ml: lla etikkahappoa (0,5 %) ja tämän jälkeen 50 ml:lla tislattua vettä, annetaan virrata samalla nopeudella kuin edellä ja pysäytetään virtaus 2-3 mm etäisyydelle hartsin yläosasta.

Eluoidaan hartsiin absorboituneet hapot 10 % natriumsulfaattiliuoksella (3.5). Kerätään eluaatti 100 ml:n mittapulloon.

Kolonni voidaan regeneroida käyttäen 4.1 kohdassa kuvattua menetelmää.

4.4 **Omenahapon määrittäminen**

Otetaan kaksi laajakaulaista lasihiostulpallista 30 ml: n putkea ja nimetään ne putkiksi A ja B. Lisätään molempiin putkiin 1,0 ml eluaattia (4.3) ja 1 ml kromotropahappoa (5 %). Lisätään putkeen A 10 ml 86 % rikkihappoa (vertailu) ja putkeen B 10 ml 96 % rikkihappoa (nayte). Suljetaan ja homogenoidaan ravistelemalla lasitulpun kastumista varoen. Upotetaan putket kiehuvaan vesihauteeseen tarkalleen 10 minuutiksi. Jäähdytetään putkia valolta suojattuna 20 °C:ssa tarkalleen 90 minuuttia. Mitataan absorbanssi viipymättä vertailunäytettä vastaan 420 nm:ssä 10 mm:n kyvetissä.

4.5 **Kalibrointikäyrän esittäminen graafisesti**

Pipetoidaan neljään 50 ml:n mittapulloon 5,0; 10,0; 15,0 ja 20 ml näytettä. Täytetään merkkiin natriumsulfaattiliuoksella (10 %).

Nämä liuokset vastaavat eluaatteja, jotka saadaan 0,5; 1,0; 1,5 ja 2,0 g/l omenahappoa sisältävistä viineistä.

Jatketaan 4.4 kohdassa kuvatulla tavalla.

Näiden liuosten absorbanssien graafinen kuvaaja maitohappopitoisuuden funktiona on origon kautta kulkeva suora.

Syntyvän värin intensiteetti riippuu suuressa määrin käytetyn rikkihapon väkevyydestä. On tarpeen tarkistaa kalibrointi jokaisen suorasarjan suhteen ainakin yhdellä pisteellä sen tarkastamiseksi, onko rikkihapon väkevyys muuttunut.

5. **TULOSTEN ILMOITTAMINEN**

Arvioimalla mitatusta absorbanssista kalibrointikäyrän avulla eluaatin konsentraatio saadaan vastaava omenahappokonsentraatio g/l. Tulos ilmoitetaan yhdellä desimaalilla.

Toistettavuus:

pitoisuus < 2 g/l:r = 0,1 g/l

pitoisuus > 2 g/l:r = 0,2 g/l.

Uusittavuus:

R = 0,3 g/l.



22. SORBIINIHAPPO

1. PERIAATE

1.1 Määrittäminen ultraviolettiaabsorptiospektrofotometrisesti

Sorbiinihappo (*trans.* 2,4-heksadieeni-happo), joka on erotettu vesihöyrytisluslaitteistolla, määritetään viinitisleestä ultraviolettiaabsorptiospektrofotometrisesti. Ultravioletin absorptiomittauksessa häiriöitä aiheuttavat aineet poistetaan haihduttamalla hieman emaksiseksi tehty tislennysele kuivaksi kalsiumhydroksidiiuoksele. Alle 20 mg/l olevat pitoisuudet on varmistettava ohutlevykromatografiolla (herkkyys: 1 mg/l).

1.2 Määrittäminen kaasukromatografiolla

Etyylieetterissä erotettu sorbiinihappo määritetään kaasukromatografiolla sisäisen standardin kanssa.

1.3 Jälkien tunnistaminen ohutlevykromatografiolla

Etyylieetterissä erotettu sorbiinihappo erotetaan ohutlevykromatografiolla ja sen konsentraatio arvioidaan semi-kvantitatiivisesti.

2. MÄÄRITTÄMINEN ULTRAVIOLETTIABSORPTIOSPEKTROFOTOMETRISESTI

2.1 Reagenssit

2.1.1 Kiteinen viinihappo ($C_4H_6O_6$).

2.1.2 Noin 0,02 M kalsiumhydroksidiliuos, $Ca(OH)_2$.

2.1.3 Sorbiinihappovertailuliuos, 20 mg/l.

Liuotetaan 20 mg sorbiinihappoa, $C_4H_6O_6$, noin 2 ml:aan 0,1 M natriumhydroksidiliuosta. Kaadetaan 1 000 ml:n mittapulloon, täytetään merkkiin vedellä. Voidaan myös liuottaa 26,8 mg kaliumsorbaattia, $C_6H_7KO_2$, veteen ja täyttää 1 000 ml:ksi vedellä.

2.2 Välineistö

2.2.1 Vesihöyrytisluslaite (ks. "Haihtuvat hapot").

2.2.2 Vesihaude, 100 °C.

2.2.3 Spektrofotometri, jolla voidaan tehdä mittaukset aallonpituudella 256 nm, ja kvartsikyvettejä, joiden optinen pituus on 1 cm.

2.3 Suoritus

2.3.1 Tislaus

Mitataan 10 ml viiniä vesihöyrytisluslaitteen tisluskolviin, lisätään 1-2 g viinihappoa (2.2.1). Kerätään 250 ml tislettä.

2.3.2 Kalibrointikäyrä

Valmistetaan vertailuliuksesta (2.3.1) veteen 4 laimennettua vertailuliusta, joiden pitoisuudet ovat 0,5; 1; 2,5 ja 5 mg viinihappoa litrassa; mitataan spektrofotometrillä niiden absorbanssit tislattua vettä vastaan 256 nm:ssä. Piirretään absorbanssin kuvaaja, joka esittää muutoksen konsentraatioiden funktiona. Kuvaaja on lineaarinen.

2.3.3 Määrittäminen

Mitataan 55 mm halkaisijaltaan olevaan haihdutusmaljaan 5 ml tislettä, lisätään 1 ml kalsiumhydroksidiliuosta (2.1.2). Haihdutetaan kuivaksi kiehuvaan vesihauteeseen.

Liuotetaan jäännös muutamaan millilitraan tislattua vettä, siirretään kvantitatiivisesti 20 ml:n mittapulloon ja täytetään merkkiin huuhteluviedellä. Mitataan absorbanssi spektrofotometrillä 256 nm:ssä vertailuliustavastaan, joka on saatu laimentamalla 1 ml kalsiumhydroksidiliuosta (2.1.2) 20 ml:lla vettä.

▼B

Merkitään mitattu absorbanssi-arvo kalibrointikäyrälle ja johdetaan siitä liuoksen sorbiinihappokonsentraatio C .

Huomautus:

Käytännössä kuivaksi haihduttaminen voidaan ohittaa. Mitataan absorbanssi tislattua vettävästään suoraan tisleestä, joka on laimennettu suhteessa 1/4.

2.4 Tulosten ilmoittaminen

2.4.1 Laskentamenetelmä

Viinin sorbiinihappokonsentraatio ilmoitettuna milligrammoina litrassa on:

$$100 \times C$$

C = spektrofotometrisesti määritetyn liuoksen sorbiinihappokonsentraatio, ilmoitettuna milligrammoina litrassa.

3 MÄÄRITTÄMINEN KAASUKROMATOGRAFIALLA

3.1 Reagenssit

3.1.1 Etyylieetteri, $(C_2H_5)_2O$, tislataan juuri ennen käyttöä.

3.1.2 Sisäinen standardiliuos: undekaanihappoliuos, $C_{11}H_{22}O_2$, 95 til-% etanolissa ja pitoisuus 1 g/l.

3.1.3 Vedellä laimennettu nikkihappo, H_2SO_4 ($\rho = 1,84$ g/ml), laimennettu suhteessa 1/3 (v/v).

3.2 Välineistö

3.2.1 Kaasukromatografi, jossa on liekki-ionisaatiotektori ja ruostumattomasta teräksestä valmistettu kolonni (4 m $\times$ 1/8 tuuma), joka on käsitelty dimetyylikloorisilaanilla ja pakattu stationaarifaasilla, Gaschrom Q80 — 100 mesh, johon sidottu dietyleeniglykolisukkinaatin (5 %) ja fosforihapon (1 %) seos (DEGS — H_3PO_4) tai dietyleeniglykoliadipaatin (7 %) ja fosforihapon (1 %) seos (DEGA — H_3PO_4).

Dimetyylikloorisilaani (DMDCS) -käsittelyssä johdetaan kolonnin läpi liuosta, jonka sisältää 2-3 gDMDCS:ia toluenissa. Pestään kolonni välittömästi metanolilla; johdetaan kolonnin läpi typpivirta ja tämän jälkeen hekseenivirta ja uudelleen typpivirta. Tämän jälkeen se täytetään.

Suoritusolosuhteet:

Uunin lämpötila: 175 °C.

Injektorin ja detektorin lämpötila: 230 °C.

Kantokaasu: typi (virtausnopeus 20 ml/min).

3.2.2 Vetoisuudeltaan 10 mikrolitraa oleva mikroruisku, jonka asteikko on jaettu 0,1 mikrolitran välein.

Huomautus:

Myös muilla kolonneilla voidaan saada aikaan hyvä erottuminen, erityisesti kapillaarikolonnilla (esimerkiksi FFAP).

Jäljempänä kuvattu suoritus annetaan esimerkkinä.

3.3 Suoritus

3.3.1 Näytteen valmistaminen määrittystä varten

Kaadetaan noin 40 ml: n hiostulpalliseen lasiseen koeputkeen 20 ml viiniä, lisätään 2 ml sisäistä standardiliuosta (3.1.2) ja 1 ml laimennettua rikkihappoliuosta (3.1.3).

Sekoitetaan liuos kääntelemällä koeputkea ylösalaisin, lisätään putkeen 10 ml etyylieetteriä (3.1.1). Uutetaan sorbiinihappo orgaaniseen faasiin ravistelemalla putkea 5 minuutin ajan. Annetaan erottua.

3.3.2 Vertailuliuoksen valmistaminen

Valitaan viini, jonka eetteriuutteen kromatogrammissa ei esiinny yhtään sorbiinihapon eluoitumista vastaavaa piikkiä; lisätään tähän viiniin

▼B

sorbiinihappoa 100 mg litrassa. Käsitellään 20 ml näin valmistettua näytettä 3.3.1 kohdassa kuvatulla tavalla.

3.3.3 *Kromatografia*

Injektoidaan kromatografiin mikroruiskulla vuorotellen 2 µl 3.3.2 kohdassa kuvatulla tavalla saatua eetterifaasia ja 2 µl 3.3.1 kohdassa kuvatulla tavalla saatua eetterifaasia.

Tulostetaan vastaavat kromatogrammit: tarkistetaan sorbiinihapon ja sisäisen standardin retentioaikojen identtisyys. Mitataan molempien piikkien korkeus tai pinta-ala.

3.4 **Tulosten ilmoittaminen**

3.4.1 *Laskentamenetelmä*

Määritetyn viinin sorbiinihappokonsentraatio, ilmoitettuna milligrammoina litrassa, on:

$$100 \times \frac{h}{H} \times \frac{1}{i}$$

H = sorbiinihapon piikin korkeus vertailuliuksessa

h = sorbiinihapon piikin korkeus määritettävässä näytteessä

I = sisäisen standardin piikin korkeus vertailunäytteessä

i = sisäisen standardin piikin korkeus määritettävässä näytteessä

Huomautus:

Sorbiinihappokonsentraatio voidaan määrittää samalla tavoin vastaavien piikkien pinta-alojen mittauksista.

4 SORBIINIHAMPOJÄLKIEN TUNNISTAMINEN OHUTLEVYKROMATOGRAFIALLA

4.1 **Reagenssit**

4.1.1 Etyylieetteri, (C₂H₅)₂O.

4.1.2 Vedellä laimennettu rikkihappo, H₂SO₄ (ρ = 1,84 g/ml), laimennettu suhteessa 1/3 (v/v).

4.1.3 Sorbiinihappovertailuliuos, noin 10 til-% etanoli-vesiseoksessa, 20 mg/l.

4.1.4 Liikkuva faasi: heksaani - pentaani - etikkahappo (20:20:3)

(C₆H₁₄ — C₅H₁₂ — CH₃COOH, ρ = 1,05 g/ml).

4.2 **Välineistö**

4.2.1 Käyttövalmiita ohutlevykromatografialevyjä, 20 × 20 cm jotka on päällystetty polyamidigeelillä (paksuus:0,15 mm), johon on lisätty fluoresssi-indikaattoria.

4.2.2 Ohutlevykromatografiakammio

4.2.3 Tarkkuudeltaan ± 0,1 mikrolitraa oleva mikropipetti tai mikroruisku, jolla voidaan siirtää 5 mikrolitransuuruisia tilavuuksia.

4.2.4 Ultraviolettilamppu (254 nm).

4.3 **Suoritus**

4.3.1 *Näytteen valmistaminen määrittystä varten*

Kaadetaan noin 25 ml: n hiostulpalliseen lasiseen koeputkeen 10 ml viiniä, lisätään 1 ml laimennettuarikkihappoliuosta (4.1.2) ja 5 ml etyylieetteriä (4.1.1). Sekoitetaan kääntelemällä koeputkea ylösalaisin. Annetaan erottua.

4.3.2 *Laimennettujen vertailuliuosten valmistaminen*

Valmistetaan 4.1.3 kohdan liuoksesta 5 laimennettua vertailuliuosta, joissa pitoisuudet ovat 2, 4, 6, 8 ja 10 mg sorbiinihappoa litrassa.

4.3.3 *Kromatografia*

Annostellaan mikroruiskulla tai mikropipetillä 2 cm etäisyydelle levyn alareunasta ja 2 cm etäisyydelletoisistaan 5 µl eetterifaasia, joka on saatu 4.3.1 kohdassa kuvatulla tavalla ja 5 µl kaikkia laimennettujavertailuliukuksia (4.3.2).

▼B

Pannaan liikkuvaa faasia (4.1.4) kromatografiakammioon noin 0,5 cm korkeuteen ja annetaan kammionilman kyllästyä liuotinhöyrystä. Asetetaan levy kammion. Annetaan levyn kehittyä 12-15 cm: iin(kehitymisaika noin 30 minuuttia). Kuivataan levy kylmässä ilmavirrassa. Tutkitaan kromatogrammiultraviolettilampun alla 254 nm:ssä.

Sorbiinihappotäplät ilmenevät tumman violetteina levyn fluorenssikeltaista taustaa vasten.

4.4 Tulosten ilmoittaminen

Määritettävän näytteen ja vertailuliuosten täpliä vertailemalla voidaan arvioida semi-kvantitatiivisestisorbiinihappokonsentraatio välillä 2-10 mg litrassa. Suuruudeltaan 1 mg litrassa oleva konsentraatio voidaan määrittää 10 µl:n suuruudesta näyte-erästä.

10 mg litrassa suuremmat konsentraatiot voidaan määrittää alle 5 µl:n suuruudesta näyteliuoserästä (mitattumikroruiskulla).

▼B

23. L-ASKORBIINIhapPO

1. MENETELMIEN PERIAATE

Ehdotetuilla menetelmillä on mahdollista määrittää viineissä ja rypälemehuissa oleva L-askorbiinihapPO ja dehydroaskorbiinihapPO.

1.1 Vertailumenetelmä (fluorometria)

L-askorbiinihapPO hapetetaan aktiivihieillä dehydroaskorbiinihapoksi. Tämä muodostaa fluoresoivan yhdisteen reagoimalla ortofenyleenidiamiinin (OPDA) kanssa. Vertailukokeella boorihapon kanssa voidaan määrittää häiriöfluorenssi (boorihapPO — dehydroaskorbiinihapPO -kompleksin muodostumisella) ja johtaa siitä fluorometrinen määrittäminen.

1.2 Tavanomainen menetelmä (kolorimetria)

L-askorbiinihapPO hapetetaan jodilla dehydroaskorbiinihapoksi. Tämä saostuu 2,4-dinitrofenyylihydrat siinillä ja tuottaa bis(2,4-dinitrofenyylihydratsoni):n. Ohutlevykromatografialla erottamisen ja etikkahapPOseen liuokseen liuottamisen jälkeen y tämä väriltään punainen yhdiste määritetään spektrofotometrillä 500 nm:ssä.

2. VERTAILUMENETELMÄ (FLUOROMETRINEN MENETELMÄ)

2.1 Reagenssit

2.1.1 Ortofenyleenidiamiini- dihydrokloridi -liuos ($C_6H_{10}Cl_2N_2$), 0,02 g/100 ml, valmistetaan juuri ennen käyttöä.

2.1.2 Natriumasetaatti trihydraatti ($CH_3COONa \cdot 3H_2O$), 500 g/l.

2.1.3 Boorihapon ja natriumasetaatin liuos.

Liuotetaan 3 g boorihapPOa (H_3BO_3) 100 ml:aan natriumasetaattiliuosta (2.1.2). Tämä liuos on valmistettava juuri ennen käyttöä.

2.1.4 Jäätikkaliuos CH_3COOH , ($\rho = 1,05$ g/ml) laimennettu 56 %:ksi (v/v), pH noin 1,2.

2.1.5 L-askorbiinihapPO-vertailuliuos, 1 g/l:

Liuotetaan juuri ennen käyttöä 50 mg L-askorbiinihapPOLiusta ($C_6H_8O_6$), joka on aiemmin kuivattu eksikkaattorissa valolta suojattuna, 50 ml:aan etikkahapPOLiusta (2.1.4).

2.1.6 Erittäin puhdas analyysilaatua oleva aktiivihie (1)

Mitataan 2 l:n erlenmeyerpulloon 100 g aktiivihie, lisätään 500 ml 10 % (v/v) kloorivetyhapPOLiusta (HCl), ($\rho_{20} = 1,19$ g/ml). Kuumennetaan kiehuvaan, suodatetaan huokoisuudeltaan 3 olevaa lasisintteriä käyttäen. Kerätään tällä tavoin käsitelty hie 2 l:n pulloon, lisätään 1 l vettä, ravistellaan ja suodatetaan huokoisuudeltaan 3 olevaa lasisintteriä käyttäen. Toistetaan tämä suoritus kaksi kertaa. Asetetaan jäännös 115 ± 5 °C:n uuniin 12 tunnin ajaksi (esimerkiksi yhdeksi yöksi).

2.2 Välineistö

2.2.1 Fluorometri. Käytetään spektrofotometriä, jossa lamppu antaa jatkuvan spektrin, kun sitä käytetään sen pienimmällä teholla. Kokeen optimaaliset heräte- ja emissioaallonpituudet määritetään ennen suoritusta ja ne riippuvat käytetystä laitteesta. Ohjeellinen heräteaallonpituus on noin 350 nm ja ohjeellinen emissioaallonpituus noin 430 nm.

Kyvettejä, joiden optinen pituus on 1 cm.

2.2.2 Huokoisuudeltaan 3 oleva lasisintteri.

2.2.3 Koeputkia (halkaisija noin 10 mm).

2.2.4 Sekoitin koeputkille.

(1) Yksi kauppanimike on "norite".

▼B

2.3 Suoritus

2.3.1 Viini- ja rypälemehunäytteen valmistaminen

Otetaan tilavuus viiniä tai rypälemehua ja laimennetaan se mittapullossa 100 ml: ksi 56 % etikkahappoliuoksella (2.1.4) siten, että saadaan liuos, jonka L-askorbiinihappokonsentraatio on välillä 0–60 mg/litra. Homogenoidaan mittapullon sisältö ravistelemalla. Lisätään 2 g aktiivihäiltä (2.1.6) ja annetaan seistä 15 minuutin ajan ajoittain ravistellen. Suodatetaan tavallisen suodatinpaperin läpi hyläten suodoksen ensimmäiset millilitrat.

Mitataan kahteen 100 ml:n mittapulloon 5 ml suodosta ja ensimmäiseen mittapulloon 5 ml boorihapon ja natriumasetaatin liuosta (2.1.3) (vertailu) ja toiseen mittapulloon 5 ml natriumasetaattiliuosta (2.1.2) (näyte). Annetaan seistä 15 minuuttia ajoittain ravistellen, täytetään 100 ml:ksi tislattulla vedellä.

Otetaan 2 ml kummankin mittapullon sisällöstä, lisätään 5 ml ortofenyleenidiamiiniliuosta (2.1.1), ravistellaan; annetaan reagoida 30 minuuttia kunnes liuos tummenee, tämän jälkeen tehdään mittausta spektrofotometrillä.

2.3.2 Kalibrintikäyrä

Mitataan kolmeen 100 ml:n mittapulloon 2, 4 ja 6 ml L-askorbiinihappo-vertailuliuosta (2.1.5), täytetään 100 ml:ksi etikkahappoliuoksella (2.1.4), homogenoidaan ravistelemalla. Valmistetut vertailuliukset sisältävät 2–4–6 mg/100 ml.

Lisätään 2 g aktiivihäiltä (2.1.6) jokaiseen mittapulloon ja annetaan seistä 15 minuuttia ajoittain ravistellen. Suodatetaan tavallisen suodatinpaperin läpi hyläten suodoksen ensimmäiset millilitrat. Mitataan jokaista kerättyä suodosta 5 ml kolmeen 100 ml:n mittapulloon (ensimmäinen sarja), toistetaan suoritus toisen kolmen mittapullon saamiseksi. Lisätään jokaiseen ensimmäisen sarjan mittapulloon (vastaavat vertailunäytettä) 5 ml boorihapon ja natriumasetaatin liuosta (2.1.3) ja jokaiseen toisen sarjan mittapulloon 5 ml natriumasetaattiliuosta (2.1.2).

Annetaan seistä 15 minuuttia ajoittain ravistellen, täytetään 100 ml:ksi tislattulla vedellä. Otetaan 2 ml jokaisesta mittapullostä, lisätään 5 ml ortofenyleenidiamiiniliuosta (2.1.1), ravistellaan, annetaan reagoida 30 minuuttia kunnes liuos tummenee, tämän jälkeen tehdään mittausta spektrofotometrillä.

2.3.3 Fluorimetrinen määrittäminen

Säädetään jokaiselle kalibrintiliuokselle ja määrittäliuokselle nollakohta mittausasteikolla käyttäen vastaavia vertailukoenäytteitä. Tämän jälkeen mitataan fluoresssin intensiteetti jokaiselle kalibrintisarjan liuokselle ja määrittäliuokselle.

Piirretään kalibrintikäyrä: sen on oltava lineaarinen ja kuljettava origon kautta. Etsitään tältä kuvaajalta määrittästä vastaava arvo ajohdetaan määritettävän liuoksen L-askorbiinihapon + dehydroaskorbiinihapon pitoisuus C.

2.3.4 Tulosten ilmoittaminen

Viinin L-askorbiinihappo + dehydroaskorbiinihappo -konsentraatio, ilmoitettuna milligrammoina litrassa, on:

$$C \times F$$

$$F = \text{laimennuskerroin}$$

▼M8

▼B

24. pH

1 PERIAATE

Mitataan potentiaaliero kahden tutkittavaan nesteeseen upotetun elektrodin välillä. Toisen elektrodin potentiaali on nesteen pH:n funktio, toisen potentiaali on kiinteä ja tunnettuja se muodostaa vertailuelektrodin.

2 LAITTEET

2.1 pH-mittari, jonka asteikko on kalibroitu pH-yksiköiksi ja jolla voidaan tehdä mittaukset vähintään 0,05 pH-yksikön tarkkuudella.

2.2 Elektrodit:

2.2.1 Lasielektrodi, säilytetään tislatussa vedessä.

2.2.2. Kalomeli/kyllästetty natriumkloridi -vertailuelektrodi, säilytetään kyllästetyssä kaliumkloridiliuoksessa.

2.2.3 Tai yhdistetty elektrodi, säilytetään tislatussa vedessä.

3 REAGENSIT

3.1 Puskuriliuokset:

3.1.1 Kaliumvetytartraatilla kyllästetty liuos. Liuos sisältää vähintään 5,7 g/l kaliumvetytartraattia ($C_4H_5KO_6$) 20 °C:ssa. Tätä liuosta voidaan säilyttää 2 kuukautta lisäämällä siihen 0,1 g tymolia 200 ml:aa kohti.

pH { 3,57 20 °C:ssa
3,56 25 °C:ssa
3,55 30 °C:ssa

3.1.2 0,05 M kaliumvetyftalaattiliuos. Liuos sisältää 10,211 g/l kaliumvetyftalaattia ($C_8H_5KO_4$) 20 °C:ssa. (Pisin säilytysaika: 2 kuukautta).

pH { 3,999 15 °C:ssa
4,003 20 °C:ssa
4,008 25 °C:ssa
4,015 30 °C:ssa

3.1.3 Liuos, joka sisältää:

onokaliumfosfaatti, KH_2PO_4	3,402	g
Dikaliumfosfaatti, K_2HPO_4	4,354	g
Täytetään vedellä	1	l:ksi

(Pisin säilytysaika: 2 kuukautta)

pH { 6,90 15 °C:ssa
6,88 20 °C:ssa
6,86 25 °C:ssa
6,85 30 °C:ssa

Huomautus:

Voidaan käyttää myös kaupallisia vertailupuskuriliuoksia.

4 SUORITUS

4.1 **Näytteen valmistaminen määrittystä varten**

4.1.1 *Rypälemehu ja viini*

Käytetään rypälemehua tai viiniä sellaisenaan.

▼B**4.1.2 Puhdistettu tiivistetty rypälemehu**

Laimennetaan puhdistettu tiivistetty rypälemehu vedellä, jotta saataisiin suuruudeltaan $25 \pm 0,5$ % (m/m) oleva kokonaissokerikonsentraatio (25°C Brix).

Jos P on puhdistetun tiivistetyn rypälemehun kokonaissokerin pitoisuus prosentteina (m/m), punnitaan massa, joka vastaa

$$\frac{2\,500}{P}$$

ja täytetään 100 g:ksi vedellä. Käytetyn veden johtokyvyn on oltava alle 2 mikrosiemensia senttimetriä kohti.

4.2 Laitteen säätäminen nolnaan

Laitteen säätäminen nolnaan tehdään ennen mittausta käytetyn laitteen käyttöohjeiden mukaisesti.

4.3 pH-mittarin kalibrointi

Kalibrointi tehdään 20 °C:ssa puskuriliuksilla, joiden pH-arvot 20 °C:ssa ovat 6,88 ja 3,57, käytetyn laitteen käyttöohjeiden mukaisesti.

Asteikon kalibrointi tarkistetaan puskuriliuksella, jonka pH-arvo 20 °C:ssa on 4,00.

4.4 Mittaus

Upotetaan elektrodi määritettävään näytteeseen, jonka lämpötilan on oltava välillä 20-25 °C ja mahdollisimman lähellä 20 °C. Luetaan pH-arvo suoraan asteikolta.

Samasta näytteestä tehdään vähintään kaksi määritystä.

Tulokseksi otetaan kahden määrittelyn aritmeettinen keskiarvo.

5 TULOSTEN ILMOITTAMINEN

Rypälemehun, viinin tai 25 % (m/m) (25 °C Brix) puhdistetusta tiivisteystä rypälemehusta valmistetun liuoksen pH-arvo ilmoitetaan kahdella desimaalilla.

▼B

25. RIKKIDIOKSIDI

1 MÄÄRITELMÄT

Rikkidioksidilla tarkoitetaan rypälemehussa ja viinissä seuraavissa muodoissa olevaa rikkidioksidia: H_2SO_3 , HSO_3^- . Näiden muotojen tasapaino on pH:n ja lämpötilan funktio:



H_2SO_3 edustaa molekulaarista rikkidioksidia.

Kokonaisrikkidioksidilla tarkoitetaan viinissä vapaana olevien tai sen ainesosiin sitoutuneiden rikkidioksidimuotojen yhteenlaskettua määrää.

2 VAPAA RIKKIDIOKSIDI JA KOKONAISSRIKKIDIOKSIDI

2.1 Menetelmien periaate

2.1.1 Vertailumenetelmä

2.1.1.1 Viinit ja rypälemehut

Rikkidioksidi erotetaan ilma- tai typpivirralla: se sidotaan ja hapetetaan kuplittamalla kaasuvirta laimennetun neutraalin vetyperoksidiliuoksen läpi. Muodostunut rikkihappo määritetään titraamalla natriumhydroksidiliuoksella. Vapaa rikkidioksidi erotetaan viinistä tislamalla matalassa lämpötilassa (10 °C).

Kokonaisrikkidioksidi erotetaan viinistä tislamalla korkeassa lämpötilassa (noin 100 °C).

2.1.1.2 Puhdistetut tiivistetyt rypälemehut

Kokonaisrikkidioksidi erotetaan kuumassa (noin 100 °C) aiemmin laimennetusta puhdistetusta tiivistetystä rypälemehusta.

2.1.2 Nopea koemenetelmä (viinit ja rypälemehut)

Vapaa rikkidioksidi määritetään suoralla jodometrisellä titrauksella.

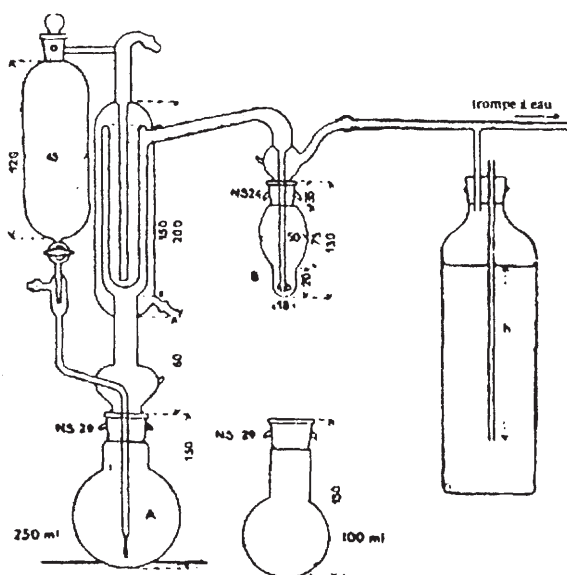
Tämän jälkeen määritetään sitoutunut rikkidioksidi emäs-hydrolyysin jälkeen jodometrisellä titrauksella. Kun se lisätään vapaaseen rikkidioksidiin, saadaan kokonaisrikkidioksidi.

2.2 Vertailumenetelmä

2.2.1 Välineistö

2.2.1.1 Käytettävän laitteen, erityisesti jäähdyttimen, on oltava alla olevan kaavion mukainen.

▼B



Kuva 1

Mitat on annettu millimetreinä. Jäähdyttimen muodostaa neljä samankeskeistä putkea, joiden sisähalkaisijat ovat 45, 34, 27 ja 10 mm.

Kaasun syöttöputki kuplimisastiassa B päättyy halkaisijaltaan 1 cm olevaan palloon, jonka laajimmalla vaakasuoralla kehällä on 20 halkaisijaltaan 0,2 mm olevaa reikää. Tämä putki voi myös päättyä huokoiseen lasilaattaan, jolla saadaan aikaan paljon pieniä kuplia ja tällä tavoin varmistetaan hyvä kosketus kaasun ja nestefaasien välillä.

Laitteen läpi kulkevan kaasuvirran nopeuden on oltava noin 40 l/h. Laitteen oikealla puolella olevan pullon tarkoituksena on rajoittaa vesipumpulla aikaan saatu paineen aleneminen 20-30 cm:iin vettä. Vakuumin säätämiseksi oikeaan arvoonsa olisi kuplimisastian ja pullon väliin sijoitettava puolikapillaariputkella varustettu virtausmittari.

2.2.1.2 Mikrobyretti.

2.2.2 Reagenssit

2.2.2.1 85 % fosforihappo (H_3PO_4) ($\rho_{20} = 1,71 \text{ g/ml}$).2.2.2.2 Vetyperoksidiliuos, 9,1 g H_2O_2 /l (3 tilavuutta).

2.2.2.3 Indikaattoreagenssi:

metyylipunaine	100 mg
metyleenisininen	50 mg
alkoholi, 50 til-%	100 ml

2.2.2.4 Natriumhydroksidiliuos (NaOH), 0,01 M

2.2.3 Suoritus

2.2.3.1 Vapaan rikkidioksidin määrittäminen

Viini on säilytettävä suljetussa täysinäisessä pullossa 20 °C:ssa 2 vuorokauden ajan ennen määrittystä.

— Kuplituslaitteeseen B mitataan 2-3 ml vetyperoksidiliuosta (2.2.2.2), 2 tippaa indikaattoreagenssia ja neutraloidaan vetypéroksidiliuos 0,01 M natriumhydroksidiliuoksella (2.2.2.4). Liitetään kuplituslaite laitteeseen.

— Tislauslaitteen 250 ml:n pulloon A mitataan 50 ml näytettä ja 15 ml fosforihappoa (2.2.2.1). Liitetään pullo laitteeseen.

Tämän jälkeen kuplitetaan ilmaa (tai typpeä) 15 minuuttia. Ylikulkeutuva vapaa rikkidioksidi hapettuu rikkihapoksi. Irrotetaan kuplituslaite ja titrataan muodostunut happo 0,01 M natriumhydroksidiliuoksella (2.2.2.4). Käytetty millilitramäärä on n .

▼B

2.2.3.2 Tulosten ilmoittaminen

Vapaa rikkidioksidi ilmoitetaan kokonaislukuna milligrammoina litrassa (mg/l).

2.2.3.2.1 Laskeminen

Vapaa rikkidioksidi milligrammoina litrassa: 6,4 n.

2.2.3.3 Kokonaisrikkidioksidin määrittäminen

2.2.3.3.1 Määritettäessä puhdistettuja tiivistettyjä rypälemehuja käytetään liuosta, joka on saatu laimentamalla määritettävä näyte 40 %: ksi (m/v) luvussa ”Kokonaishappopitoisuus” olevassa 5.1.2 kohdassa kuvatulla tavalla. Tislauslaitteen 250 ml:n pulloon A mitataan 50 ml tätä liuosta ja 5 ml fosforihappoa (2.2.2.1). Liitetään pullo laitteeseen.

2.2.3.3.2 Viinit ja rypälemehut

Näytteen arvioitu pitoisuus ≤ 50 mg/ kokonais-SO₂ |reset| litrassa. Tislauslaitteen 250 ml:n pulloon A mitataan 50 ml näytettä ja 15 ml fosforihappoa (2.2.2.1). Liitetään pullo laitteeseen.

Kuitenkin rypäletäysmehun rikkidioksidipitoisuuden määrittämisessä käytetään ►M5 31 päivään elokuuta 1996 ◄ saakka 5 ml fosforihappoa (2.2.2.1), joka on laimennettu 25 %:ksi (m/v).

2.2.3.3.3 Näytteen arvioitu pitoisuus ≥ 50 mg/kokonais-SO₂ litrassa. Tislauslaitteen 250 ml:n pulloon A mitataan 20 ml näytettä ja 5 ml fosforihappoa (2.2.2.1). Liitetään pullo laitteeseen.

Mitataan kuplitusastiaan B 2-3 ml vetyperoksidiliuosta (2.2.2.2), neutraloidaan se edellä kuvatulla tavalla, kuunnetaan pullon A sisältämä viini kiehumispisteeseen pienellä noin 4-5 cm korkealla liekillä, joka koskettaa suoraan pullon pohjaa. Pullon alle ei saa asettaa metalliverkkoa, mutta sen voi asettaa levyille, jossa on 30 mm halkaisijaltaan oleva reikä. Tällä tavoin vältetään viinistä erottuvien pullon seinämiin tarttuneiden aineiden ylikuumentuminen.

Pidetään kiehuvana ja johdetaan samalla ilmavirtaa (tai typpivirtaa). 15 minuutissa kokonaisrikkidioksidi on kulkeutunut yli ja hapettunut. Määritetään muodostunut rikkihappo titraamalla 0,01 M natriumhydroksidilla (2.2.2.4).

Käytetty millilitramäärä on n.

2.2.3.4 Tulosten ilmoittaminen

Kokonaisrikkidioksidi ilmoitetaan kokonaislukuna milligrammoina litrassa (mg/l) tai vastaavasti milligrammoina kilogrammassa (mg/kg) kokonaissokeria.

2.2.3.4.1 Laskeminen

— *Viinit ja rypälemehut*

Kokonaisrikkidioksidipitoisuus milligrammoina litrassa.

— näytteet, joiden rikkidioksidipitoisuus on matala (näyte 50 ml):

$$6,4 \times n$$

— muut näytteet (näyte 20 ml):

$$16 \times n.$$

— *Puhdistetut tiivistetyt rypälemehut*

Rikkidioksidi milligrammoina kilogrammassa kokonaissokeria (näyte 50 ml valmistetusta näytteestä) (2.2.3.3.1):

$$\frac{1600 \times n}{P}$$

P = kokonaissokerin pitoisuus prosentteina (m/m)

2.2.3.4.2 Toistettavuus (r)

Pitoisuus < 50 mg/l (näyte 50 ml), r = 1 mg/l.

Pitoisuus > 50 mg/l (näyte 20 ml), r = 6 mg/l.

▼B

2.2.3.4.3 Uusittavuus (R)

Pitoisuus < 50 mg/l (näyte 50 ml), R = 9 mg/l.

Pitoisuus > 50 mg/l (näyte 20 ml), R = 15 mg/l.

▼M8**▼B**

3 MOLEKULAARINEN RIKKIDIOKSIDI

3.1 Menetelmän periaate

Molekulaarisen rikkidioksidin, H_2SO_3 , prosentuaalinen osuus vapaassa rikkihapokkeessa arvioidaan pH:n, alkoholipitoisuuden ja lämpötilan funktiona.

Kun lämpötila ja alkoholipitoisuus ovat annettuja:



$$[\text{H}_2\text{SO}_3] = \frac{L}{10^{(\text{pH} - \text{pK}_M)} + 1}$$

$$\text{pK}_M = \text{pK}_T - \frac{A \sqrt{I}}{1 + B \sqrt{I}}$$

$$L = [\text{H}_2\text{SO}_3] + [\text{HSO}_3^-]$$

$$I = \text{ionivahvuus}$$

A ja B = kertoimet, jotka vaihtelevat lämpötilan ja alkoholipitoisuuden mukaan

K_T = termodynaaminen dissosiaatiovakio

K_M = yhdistetty dissosiaatiovakio

Kun ionivahvuuden I:n keskiarvoksi otetaan 0,038, saadaan taulukosta 2 pK_M arvot lämpötilan ja alkoholipitoisuuden funktiona.

Yhtälöä 1 käyttäen laskettu molekulaarinen rikkidioksidi saadaan taulukosta 3 pH:n, lämpötilan ja alkoholipitoisuuden funktiona.

3.2 Laskeminen

Kun tunnetaan viinin pH-arvo ja sen alkoholipitoisuus, saadaan molekulaarisen rikkidioksidin prosentuaalinen osuus taulukosta 3 lämpötilassa t °C: tämä on X %.

Molekulaarisen rikkidioksidin pitoisuus mg/l:

$$X \times C$$

C = vapaan rikkidioksidin pitoisuus mg/l.



TAULUKKO 1

Termodynaamisen vakion pK_T arvot

Alkoholipitoisuus til-%	Lämpötila °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

TAULUKKO 2

Yhdistetyn vakion pK_M arvot ($I = 0,038$)

Alkoholipitoisuus til-%	Lämpötila °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

TAULUKKO 3

Molekulaarisen rikkidioksidin prosentuaalinen osuus vapaasta rikkidioksidista ($I = 0,038$)

pH	T = 20 °C				
	Alkoholipitoisuus til-%				
	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

▼B

pH	T = 20 °C				
	Alkoholipitoisuus til-%				
	0	5	10	15	20
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

▼B

26. NATRIUM

1 MENETELMIEN PERIAATE

1.1 Vertailumenetelmä: atomiabsorptiospektrofotometria

Natrium määritetään suoraan viinistä atomiabsorptiospektrofotometri-
sesti sen jälkeen, kun siihen on lisätty ionisaatiota vaimentavaksi
aineeksi cesiumkloridia.

1.2 Tavanomainen menetelmä: liekkifotometria

Natrium määritetään suoraan vähintään suhteessa 1/10 laimennetusta
viinistä liekkifotometnsesti.

2 VERTAILUMENETELMÄ

2.1 Reagenssit

2.1.1 *Natriumliuos, 1 g/l*

Käytetään kaupallisesti saatavissa olevaa standardiliuosta, joka sisältää
natriumia 1 g/l. Tarma liuos voidaan valmistaa liuottamalla 2,542 g
kuivaa natriumkloridia, NaCl, tislattuun veteen ja täyttämällä tilavuus
yhdeksi litraksi.

Tätä liuosta säilytetään polyetyleenipullossa.

2.1.2 *Matriisiliuos*

Sitruunahappo $C_6H_8O_7$, H_2O	3,5 g
Sakkaroosi $C_{12}H_{22}O_{11}$	1,5 g
Glyseroli $C_3H_8O_3$	5,0 g
Vedetön kalsiumkloridi $CaCl_2$	50 mg
Vedetön magnesiumkloridi $MgCl_2$	50 mg
Absoluuttinen alkoholi C_2H_5OH	50 ml
Täytetään vedellä	500 ml:ksi

2.1.3 *Cesiumkloridiliuos, joka sisältää 5 % cesiumia*

Liuotetaan 6,330 g cesiumkloridia, CsCl, 100 ml:aan tislattua vettä.

2.2 Laitteet

2.2.1 Atomiabsorptiospektrofotometri, jossa on ilma-asetyleenipoltin.

2.2.2 Natriumonttokatodilamppu.

2.3 Suoritus

2.3.1 *Näytteen valmistaminen*

Mitataan 2,5 ml viiniä 50 ml:n mittapulloon, lisätään 1 ml cesiumklon-
diliuosta (2.1.3) ja täytetään merkkiin tislattulla vedellä.

2.3.2 *Kalibrointi*

Mitataan 100 ml:n mittapulloista koostuvan sarjan jokaiseen mittapul-
loon 5,0 ml matriisiliuosta, lisätään suhteessa 1/100 laimennettua 1 g/l
natriumliuosta (2.1.1) 0; 2,5; 5; 7,5 ja 10 ml, lisätään kaikkiin pulloihin
2 ml cesiumkloridiliuosta (2.1.3) ja täytetään tilavuus 100 ml: ksi
tislattulla vedellä.

Valmistettujen vertailuliuosten pitoisuudet ovat 0; 0,25; 0,50; 0,75 ja
1,00 mg natriumia litrassa ja nesisältävät 1 g cesiumia litrassa. Näitä
liuoksia säilytetään polyetyleenipulloissa.

2.3.3 *Määrittäminen*

Valitaan aallonpituus 589,0 nm. Säädetään 1 g cesiumia litrassa sisältä-
vällä matriisiliuksella (2.3.2) absorbanssiasteikon nollakohta. Imetään
laimennettu viini suoraan spektrofotometrin polttimoon ja tämän jälkeen
vertailuliukset (2.3.2) vuorotellen. Luetaan absorbanssit. Toistetaan
määrittäykset.

▼B**2.4 Tulosten ilmoittaminen****2.4.1 Laskentamenetelmä**

Piirretään absorbanssi vertailuliuosten natriumkonsentraation funktiona.

Etsitään käyrältä näytteelle saatujen absorbanssien keskiarvo ja luetaan vastaava natriumkonsentraatio C milligrammoina litrassa.

Natriumkonsentraatio ilmoitettuna kokonaislukunä milligrammoina litrassa viiniä on: $20 \times C$

2.4.2 Toistettavuus (r)

$$r = 1 + 0,024 x_i \text{ mg/l}$$

x_i = näytteen natriumkonsentraatio mg/l.

2.4.3 Uusittavuus (R)

$$R = 2,5 + 0,05 x_i \text{ mg/l}$$

x_i = näytteen natriumkonsentraatio mg/l.

▼M8

▼B

27. KALIUM

1. MENETELMIEN PERIAATE

1.1 Vertailumenetelmä

Kalium määritetään suoraan laimennetusta viinistä atomiabsorptiospektrofotometrisesti sen jälkeen, kun siihen on lisätty ionisaatiota vaimentavaksi aineeksi cesiumkloridia.

1.2 Tavanomainen menetelmä

Kalium määritetään suoraan laimennetusta viinistä liekkifotometrisesti.

2. VERTAILUMENETELMÄ

2.1 Reagenssit

2.1.1 Kaliumliuos, 1 g/l

Käytetään kaupallisesti saatavissa olevaa standardiliuosta, joka sisältää kaliumia 1 g/l. Tämä liuos voidaan valmistaa liuottamalla 4,813 g kaliumvetytartraattia ($C_4H_5KO_6$) tislattuun veteen ja täyttämällä tilavuusyhdeksi litraksi.

2.1.2 Matriisiliuos

Sitruunahappo $C_6H_8O_7$, H_2O	3,5 g
Sakkaroosi $C_{12}H_{22}O_{11}$	1,5 g
Glyseroli $C_3H_8O_3$	5,0 g
Vedetön kalsiumkloridi $CaCl_2$	50 mg
Vedetön magnesiumkloridi $MgCl_2$	50 mg
Absoluuttinen alkoholi C_2H_5OH	50 ml
Täytetään vedellä	500 ml:ksi

2.1.3 Cesiumkloridiliuos, joka sisältää 5 % cesiumia

Liuetetaan 6,330 g cesiumkloridia ($CsCl$) 100 ml:aan tislattua vettä.

2.2 Laitteet

2.2.1 Atomiabsorptiospektrofotometri, jossa on ilma-asetyleenipoltin.

2.2.2 Kaliumonttokatodilamppu.

2.3 Suoritus

2.3.1 Näytteen valmistaminen

Mitataan 2,5 ml viiniä (laimennettu suhteessa 1/10) 50 ml:n mittapulloon, lisätään 1 ml cesiumkloridiliuosta (2.1.3) ja täytetään merkkiin tislattulla vedellä.

2.3.2 Kalibrointi

Mitataan 100 ml:n mittapulloista koostuvan sarjan jokaiseen pulloon 5 ml matriisiliuosta (2.1.2), lisätään kaliumliuosta (1 g/l) (2.1.1) (laimennettu suhteessa 1/10) 0; 2,0; 4,0; 6,0 ja 8,0 ml, lisätään kaikkiin

pulloihin 2 ml cesiumkloridiliuosta (2.1.3), täytetään tilavuus 100 ml:ksi tislattulla vedellä. Valmistettujen vertailuliusten pitoisuudet ovat 0; 2; 4; 6 ja 8 mg kaliumia litrassa ja ne sisältävät 1 g cesiumia litrassa. Näitä liuoksia säilytetään polyetyleenipulloissa.

2.3.3 Määrittäminen

Valitaan aallonpituus 769,9 nm. Säädetään 1 g cesiumia litrassa sisältävällä matriisiliuksella (2.3.2) absorbanssiasteikon nollakohta. Imetään laimennettu viini (2.3.1) suoraan spektrofotometrin polttimoon ja tämän jälkeen vertailuliukset (2.3.2) vuorotellen; luetaan absorbanssit. Toistetaan määrittäminen.

▼B**2.4 Tulosten ilmoittaminen****2.4.1 Laskentamenetelmä**

Piirretään absorbanssit vertailuliuosten kaliumkonsentraation funktiona.

Etsitään tältä käyrältä laimennetulle viininäytteelle saatujen absorbanssien keskiarvo ja luetaan vastaava kaliumkonsentraatio C milligrammoina litrassa.

Kaliumkonsentraatio ilmoitettuna kokonaislukuna milligrammoina litrassa viiniä on: $F \times C$

F = laimennuskerroin (tässä 200).

2.4.2 Toistettavuus (r)

$r = 35$ mg/l.

2.4.3 Uusittavuus (R)

$R = 66$ mg/l.

2.4.4 Muut tulosten ilmaisutavat

— milliekvivalentteina litrassa: $0,0256 \times F \times C$

— milligrammoina kaliumvetytartraattia litrassa

$4,813 \times F \times C$

▼M8

▼B

28. MAGNESIUM

1. PERIAATE

Magnesium määritetään suoraan sopivasti laimennetusta viinistä atomiabsorptiospektrofotometrisesti.

2. REAGENSIT

2.1 Väkevä vertailuliuos, jonka magnesiumpitoisuus on 1 g/l

Käytetään kaupallisesti saatavissa olevaa magnesiumstandardiliuosta, jonka pitoisuus on 1 g/l. Tämä liuos voidaan valmistaa liuottamalla 8,3646 g magnesiumkloridia ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) tislattuun veteen ja täyttämällä tilavuus yhdeksi litraksi.

2.2 Laimennettu standardiliuos, jonka magnesiumpitoisuus on 5 mg/l

Huomautus:

Näitä magnesiumstandardiliuoksia säilytetään polyetyleenipulloissa.

3. LAITTEISTO

3.1 Atomiabsorptiospektrofotometri, jossa on ilma-asetyleenipoltin.

3.2 Magnesiumonttokatodilamppu.

4. SUORITUS

4.1 Naytteen valmistaminen

Laimennetaan viini tislattulla vedellä suhteessa 1/100.

4.2 Kalibrointi

Mitataan 100 ml:n mittapulloista koostuvaan sarjaan 5; 10; 15 ja 20 ml liuosta 2.2 ja täytetään 100 ml:ksi tislattulla vedellä. Valmistettujen vertailuliusten pitoisuudet ovat 0,25; 0,50; 0,75 ja 1 mg magnesiumia litrassa. Näitä liuoksia säilytetään polyetyleenipulloissa.

4.3 Määrittäminen

Valitaan aallonpituus 285 nm. Säädetään tislattulla vedellä absorbanssiasteikon nollakohta. Imetään laimennettu viini suoraan spektrofotometrin polttimoon ja tämän jälkeen vuorotellen 4.2 kohdan mukaisesti valmistetut vertailuliukset.

Luetaan absorbanssit; toistetaan määrittäykset.

5. TULOSTEN ILMOITTAMINEN

5.1 Laskentamenetelmä

Piirretään absorbanssit vertailuliusten magnesiumkonsentraation funktiona.

Etsitään tältä käyrältä laimennetulle viininäytteelle saatujen absorbanssien keskiarvo ja luetaan vastaava magnesiumkonsentraatio C .

Magnesiumkonsentraatio ilmoitettuna kokonaislukuna milligrammoina litrassa viiniä on:

$$100 \times C.$$

5.2 Toistettavuus (r)

$$r = 3 \text{ mg/l.}$$

5.3 Uusittavuus (R)

$$R = 8 \text{ mg/l.}$$

▼B

29. KALSIUM

1. PERIAATE

Kalsium määritetään suoraan sopivasti laimennetusta viinistä atomiabsorptiospektrofotometrisesti sen jälkeen, kun siihen on lisätty ionisaation vaimentavaa ainetta.

2. REAGENSIT

2.1 **Vertailuliuos, jonka kalsiumpitoisuus on 1 g/l**

Kaytetaan kaupallisesti saatavissa olevaa kalsiumstandardiliuosta, jonka pitoisuus on 1 g/l. Tämä liuos voidaan valmistaa liuottamalla 2,5 g kalsiumkarbonaattia (CaCO_3) sen liuottamiseksi tarvittavaan määrään suhteessa 1/10 (v/v) laimennettua HCl:a ja täyttämällä tilavuus yhdeksi litraksi tislattulla vedellä.

2.2 **Laimennettu standardiliuos, jonka kalsiumpitoisuus on 50 mg/l**

Huomautus:

Näitä kalsiumstandardiliuoksia säilytetään polyetyleenipulloissa.

2.3 **Lantaanikloridiliuos, jonka lantaanipitoisuus on 50 g/l**

Liuotetaan 13,369 g lantaanikloridia ($\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) tislattuun veteen; lisätään 1 ml suhteessa 1/10 (v/v) laimennettua HCl:a ja täytetään tilavuus 100 ml:ksi.

3. LAITTEISTO

3.1 Atomiabsorptiospektrofotometri, jossa on ilma-asetyleenipoltin.

3.2 Kalsiumonttokatodilamppu.

4. SUORITUS

4.1 **Näytteen valmistaminen**

Mitataan 20 ml:n mittapulloon 1 ml viiniä, 2 ml 2.3 liuosta ja täytetään merkkiin tislattulla vedellä. Suhteessa 1/20 laimennetun viinin lantaanipitoisuus on 5 g/l.

Huomautus:

Makeiden viinien määrittämisessä riittää 5 g/l:n suuruinen lantaanikonsentraatio sillä edellytyksellä, että laimennuksen jälkeen sokeripitoisuus on vähintään 2,5 g/l. Jos viinin sokerikonsentraatio on korkeampi, on tarpeen säätää lantaanipitoisuus 10 g/l:aan.

4.2 **Kalibrointi**

Mitataan viiteen 100 ml:n mittapullon sarjaan 0; 5; 10; 15 ja 20 ml 2.2 liuosta, lisätään kaikkiin pulloihin 10 ml 2.3. liuosta ja täytetään 100 ml:ksi tislattulla vedellä. Valmistettujen vertailuliusten pitoisuudet ovat 0; 2,5; 5; 7,5 ja 10 mg kalsiumia litrassa ja ne sisältävät lantaania 5 g/l. Näitä liuoksia säilytetään polyetyleenipulloissa.

4.3 **Määrittäminen**

Valitaan aallonpituus 422,7 nm. Saadetaan lantaania 5 g/l sisältävällä liuoksella (4.2) absorbanssiasteikon nollakohta. Imetään laimennettu viini suoraan spektrofotometrin polttimoon ja tämän jälkeen vuorotellen 4.2 kohdan mukaisesti valmistetut vertailuliukset. Luetaan absorbanssit. Toistetaan määritykset.

5. TULOSTEN ILMOITTAMINEN

5.1 **Laskentamenetelmä**

Piirretään absorbanssit vertailuliusten kalsiumkonsentraation funktiona.

▼B

Etsitään tältä käyrältä laimennetulle viininäytteelle saatujen absorbanssien keskiarvo ja luetaan vastaava kalsiumkonsentraatio C . Kalsiumkonsentraatio ilmoitettuna kokonaislukuna milligrammoina litrassa viiniä on:

$$20 \times C$$

5.2 Toistettavuus (r)

Pitoisuus < 60 mg/l: $r = 2,7 \text{ mg/l}$.

Pitoisuus > 60 mg/l: $r = 4 \text{ mg/l}$.

5.3 Uusittavuus (R)

$$R = 0,114 x_i - 0,5$$

x_i = näytteen konsentraatio mg/l.

▼B

30. RAUTA

1. MENETELMIEN PERIAATE

1.1 Vertailumenetelmä

Rauta määritetään suoraan atomiabsorptiospektrofotometrisesti sen jälkeen, kun viini on laimennettu sopivassa suhteessa ja alkoholi on poistettu.

Tavanomainen menetelmä

Viini digestoidaan 30 % vetyperoksidin kanssa, jolloin kaikki rauta hapettuu rauta(III):ksi. Rauta(III) pelkistetään rauta(II)-muotoon ja määritetään ortofenantroliinilla, joka antaa rauta(II):n kanssa punaisen värin.

2. VERTAILUMENETELMÄ

2.1 Reagenssit

2.1.1 Väkevä vertailuliuos, jonka rauta(III)pitoisuus on 1 g/l.

Käytetään kaupallisesti saatavissa olevaa standardiliuosta, jonka rauta (III)pitoisuus on 1 g/l. Tämä liuos voidaan valmistaa liuottamalla 8,6341 g rauta(III)sulfaattia ja ammoniumsulfaattia ($\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) tislattuun 1 M kloorivetyhapolla happamaksi tehtyyn veteen ja täyttämällä tilavuus yhdeksi litraksi.

2.1.2 Laimennettu vertailuliuos, jonka rautapitoisuus on 100 mg/l.

2.2 Laitteisto

2.2.1 Pyöröhaihdutin ja säädettävä vesihaude.

2.2.2 Atomiabsorptiospektrofotometri, jossa on ilma-asetyleenipoltin.

2.2.3 Rautaonttokatodilamppu.

2.3 Suoritus

2.3.1 Näytteen valmistaminen

Poistetaan viinistä alkoholi haihduttamalla näytteen tilavuus puoleen alkuperäisestä pyöröhaihduttimessa (50-60 °C). Täytetään alkuperäiseen tilavuuteensa tislatulla vedellä.

Tarpeen vaatiessa tehdään laimennus ennen määrittystä.

2.3.2 Kalibrointi

Mitataan viiteen 100 ml:n mittapullon sarjaan 1, 2, 3, 4 ja 5 ml 100 mg/l rautaliuosta (2.1.2), täytetään 100 ml:ksi tislatulla vedellä. Valmistettujen liuosten pitoisuudet ovat 1, 2, 3, 4 ja 5 mg rautaa litrassa.

Näitä liuoksia säilytetään polyetyleenipulloissa.

2.3.3 Määrittäminen

Valitaan aallonpituus 248,3 nm. Säädetään tislatulla vedellä absorbanssiasteikon nollakohta. Imetään laimennettu näyte suoraan spektrofotometrin polttimoon ja tämän jälkeen vuorotellen 2.3.2 kohdan mukaisesti valmistetut vertailuliokset. Luetaan absorbanssit. Toistetaan määrittäykset.

2.4 Tulosten ilmoittaminen

2.4.1 Laskentamenetelmä

Piirretään absorbanssit vertailuliuosten rautakonsentraation funktiona. Etsitään tältä käyrältä laimennetulle viininäytteelle saadun absorbanssin keskiarvo ja luetaan vastaava rautakonsentraatio C.

▼ B

Rautakonsentraatio ilmoitettuna milligrammoina litrassa viiniä yhdellä desimaalilla on:

$C \times F$

F = laimennuskerroin.

▼ M8



31. KUPARI

1. MENETELMÄN PERIAATE
Käytetään atomiabsorptiospektrofotometriä.
2. LAITTEET
 - 2.1 Platinamalja.
 - 2.2 Atomiabsorptiospektrofotometri.
 - 2.3 Kuparionttokatodilamppu.
 - 2.4 Polttokaasu: ilma-asetyleni tai typpioksiduuli-asetyleni.
3. REAGENSIT
 - 3.1 Kuparimetalli.
 - 3.2 Väkevä 65 % typpihappo (HNO_3 , $\rho_{20} = 1,38 \text{ g/ml}$).
 - 3.3 Suhteessa 1/2 (v/v) laimennettu typpihappo.
 - 3.4 **Kupariliuos, 1 g/l**
Käytetään kaupallisesti saatavissa olevaa kuparistandardiliuosta, jonka pitoisuus on 1 g/l. Tämä liuos voidaan valmistaa punnitsemalla 1,000 g kuparimetallia ja siirtämällä se kvantitatiivisesti 1 000 ml:n mittapulloon. Lisätään metallin liuottamiseen tarvittava määrä suhteessa 1/2 laimennettua typpihappoa (3.3), lisätään 10 ml väkevää typpihappoa (3.2), täytetään merkkiin kahdesti tislatulla vedellä.
 - 3.5 **Kupariliuos, 100 mg/l**
Mitataan 10 ml 3.4 liuosta 100 ml:n mittapulloon ja täytetään tilavuus kahdesti tislatulla vedellä.
4. SUORITUS
 - 4.1 **Näytteen valmistaminen ja kuparin määrittäminen**
Tarvittaessa valmistetaan sopiva laimennos kahdesti tislatulla vedellä.
 - 4.2 **Kalibrointi**
Mitataan 100 ml:n mittapulloihin 0,5; 1 ja 2 ml liuosta 3.5 ja täytetään tilavuus kahdesti tislatulla vedellä; saadut liuokset sisältävät kuparia 0,5; 1 ja 2 mg.
 - 4.3 **Määrittäminen**
Valitaan aallonpituus 324,8 nm. Säädetään kahdesti tislatulla vedellä absorbanssiasteikon nollakohta. Imetään laimennettu näyte suoraan spektrofotometrin polttimoon ja tämän jälkeen vuorotellen 4.2 kohdan mukaisesti valmistetut vertailuliuokset. Luetaan absorbanssit. Toistetaan määrittäykset.
5. TULOSTEN ILMOITTAMINEN
 - 5.1 **Laskentamenetelmä**
Piiirretään absorbanssit vertailuliuosten kuparikonsentraation funktiona.
Etsitään kalibrointikäyrältä laimennetulle viininäytteelle saatu absorbanssi ja luetaan vastaava konsentraatio C mg/l.
Jos F on laimennuskertoimen, viinin kuparipitoisuus milligrammoina litrassa on: $F \times C$. Se annetaan kahdella desimaalilla.
Huomautukset:
 - a) Kalibrointikäyrän laadinnassa käytetyt liuokset ja näytelaimennokset on aina valittava käytetyn laitteenherkkyyden ja näytteen kuparikonsentraation mukaan.
 - b) Jos näytteen kuparikonsentraatio on hyvin pieni, edetään seuraavasti: mitataan 100 ml näytettä platinamaljaan, haihdutetaan 100 °C:ssa vesihäuteessa, kunnes näyte muuttuu siirappimaiseksi, lisätään tipoitain 2,5 ml väkevää typpihappoa (3.2) siten, että

▼B

astian pohja peittyy kokonaan. Poltetaan jäännös varovasti tuhkaksi sähkölevyllä tai pienellä liekillä; tämän jälkeen siirretään astia $500\text{ °C} \pm 25\text{ °C}$:een säädettyyn muhveliuuniin noin yhden tunnin ajaksi. Jäähdytynyt tuhka kostutetaan noin 1 ml:lla väkevää typpihappoa (3.2) murskaten se pienellä lasipuikolla, haihdutetaan ja poltetaan uudelleen tuhkaksi edellä kuvatulla tavalla. Siirretään astia uudelleen uuniin 15 minuutin ajaksi; toistetaan käsittely väkevällä typpihapolla vähintään kolme kertaa. Liuotetaan tuhka lisäämällä astiaan 1 ml väkevää typpihappoa (3.2) ja 2 ml kahdesti tislattua vettä; siirretään 10 ml:n mittapulloon. Pestään astia kolme kertaa aina 2 ml:lla kahdesti tislattua vettä, täytetään merkkiin kahdesti tislattulla vedellä.

▼B

32. KADMIUM

1. MENETELMÄN PERIAATE

Kadmium määritetään suoraan viinistä liekittömällä atomiabsorptiospektrofotometrialla.

2. VÄLINEISTÖ

Kaikki lasitavarat on pestävä ennen käyttöä kuumalla (70-80 °C) väkevällä typpihapolla ja huuhdottava kahdesti tislatusella vedellä.

2.1 Atomiabsorptiospektrofotometri, jossa on grafiittiuuni, taustankorjain ja monikanavapiirturi.

2.2 Kadmiumonttokatodilamppu.

2.3 Vetoisuudeltaan 5 µl olevia mikropipettejä, joissa on atomiabsorptionmittauksiin tarkoitetut erikoispäät.

3. REAGENSIT

Käytettävän veden on oltava borosilikaattilasista valmistetussa laitteessa kahdesti tislattua vettä tai vastaavan puhtausasteen omaavaa vettä. Kaikkien reagenssien on oltava puhtaudeltaan yleisesti hyväksyttyä analyttistä laatua ja erityisesti kadmiumvapaita.

3.1 85 % fosforihappo ($\rho_{20} = 1,71$ g/ml).

3.2 Fosforihappoliuos, joka saadaan laimentamalla 8 ml fosforihappoa 100 ml:ksi vedellä.

3.3 0,02 M etyleenidiamiinitetraetikkahapon dinatriumsuola -liuos (EDTA).

3.4 pH-arvoltaan 9 oleva puskunliuos, joka saadaan liuottamalla 100 ml:n mittapullossa 5,4 g ammoniumkloridilla muutamaan millilitraan vettä, lisäämällä 35 ml 25 %:ksi (v/v) laimennettua ammoniumhydroksidiliuosta ($\rho = 0,92$ g/ml) ja täyttämällä merkkiin vedellä.

3.5 Eriokromimusta T: 1 % (w/w) kiinteä liuos natriumkloridissa.

3.6 **Kadmiumsulfaatti ($3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$)**

Kadmiumsulfaattipitoisuus on tarkastettava seuraavasti:

Punnitaan tarkalleen 102,6 mg suuruinen kadmiumsulfaatinäyte, siirretään veden kanssa kvantitatiivisesti mittalasiin, ravistellaan, kunnes se on liennut; lisätään 5 ml pH-arvoltaan 9 olevaa puskuriliuosta ja noin 20 mg eriokromimustaa T. Titraataan EDTA-liuoksella, kunnes indikaattori muuttuu siniseksi.

Käytetyn EDTA-liuoksen tilavuuden on oltava 20 ml. Jos tilavuus on eri, on vertailuliuoksen valmistukseen käytetyn punnitun kadmiumsulfaatin määrä korjattava.

3.7 **Vertailuliuos, jonka kadmiumpitoisuus on 1 g/l**

Käytetään kaupallisesti saatavissa olevaa standardiliuosta. Tämä liuos voidaan valmistaa liuottamalla 2,2820 g kadmiumsulfaattia veteen ja täyttämällä tilavuus yhdeksi litraksi. Liuosta säilytetään hiostulpallissa borosilikaattilasista valmistetussa pullossa.

4. SUORITUS

4.1 **Näytteen valmistaminen**

Laimennetaan viini suhteessa 1/2 (v/v) fosforihappoliuoksella.

4.2 **Kalibrointisarjan liuosten valmistaminen**

Valmistetaan kadmiumvertailuliuksesta peräkkäisillä laimennuksilla liuokset, jotka sisältävät kadmiumia 2,5, 5, 10 ja - 15 mikrogrammaa litrassa.

4.3 **Määrittäminen**4.3.1 *Uunin säätäminen (vain ohjeellinen)*

Kuivaaminen 100 °C:ssa 30 sekuntia.

Mineralisaatio 900 °C:ssa 20 sekuntia.

▼B

Atomisaatio 2 250 °C:ssa 2-3 sekuntia.

Typen virtausnopeus (huuhtelukaasu): 6 litraa minuutissa.

Huomautus:

Suorituksen lopussa lämpötila nostetaan 2 700 °C:seen uunin puhdistamiseksi.

4.3.2 *Atomiabsorptiomittaukset*

Valitaan aallonpituus 228,8 nm. Säädetään kahdesti tislattulla vedellä absorbanssiasteikon nollakohta. Ruiskutetaan mikropipetillä uuniin kolme kertaa 5 µl kaikkia kalibrointisarjan liuoksia ja määritettävää näyteliuosta. Luetaan mitatut absorbanssit. Lasketaan absorbanssin keskiarvo kolmen ruiskutuksen tuloksista.

5. TULOSTEN ILMOITTAMINEN

5.1 **Laskentamenetelmä**

Piirretään absorbanssit kalibrointiliuosten kadmiumkonsentraatioiden funktiona. Kuvaaja on lineaarinen. Etsitään kalibrointisuoralta näyteliuoksen absorbanssin keskiarvo ja johdetaan siitä kadmiumkonsentraatio C. Kadmiumkonsentraatio ilmoitettuna mikrogrammoina litrassa viiniä on:

2 C.

▼B**33. HOPEA**

1. MENETELMÄN PERIAATE

Käytetään atomiabsorptiospektrofotometriä, jota edeltää näytteen polttaminen.
2. VÄLINEISTÖ
 - 2.1 Platinamalja.
 - 2.2 100 °C:seen säädetty vesihaude.
 - 2.3 500-525 °C:seen säädetty uuni.
 - 2.4 Atomiabsorptiospektrofotometri.
 - 2.5 Hopeaonttokatodilamppu.
 - 2.6 Poltтокаasu: ilma-asetyleeni.
3. REAGENSIT
 - 3.1 Hopeanitraatti (AgNO_3).
 - 3.2 Väkevä 65 % typpihappo (HNO_3 = 1,38 g/ml).
 - 3.3 Suhteessa 1/10 (v/v) laimennettu typpihappo.
 - 3.4 **Hopealiuos, 1 g/l**

Käytetään kaupallisesti saatavaa hopeastandardiliuosta.

Tämä liuos voidaan valmistaa liuottamalla 1,575 g hopeanitraattia laimennettuun typpihappoon ja täyttämällä tilavuus 1 000 ml:ksi laimennetulla typpihapolla.
 - 3.5 **Hopealiuos, 10 mg/l**

Laimennetaan 10 ml 3.4 liuosta 1 000 ml:ksi laimennetulla typpihapolla.
4. SUORITUS
 - 4.1 **Näytteen valmistaminen**

Mitataan 20 ml näytettä platinamaljaan, haihdutetaan kuiviin 100 °C:ssa kiehuvaan vesihauteeseen. Poltetaan 500-525 °C:ssa uunissa valkeaksi tuhaksi. Kostutetaan tuhka 1 ml:lla väkevää typpihappoa (3.2), haihdutetaan 100 °C:ssa vesihauteeseen, lisätään uudelleen 1 ml typpihappoa (3.2) ja haihdutetaan. Lisätään 5 ml laimennettua typpihappoa (3.3) ja lämmitetään varovasti, kunnes jäännös on liennut.
 - 4.2 **Kalibrointi**

Mitataan 100 ml:n mittapulloista koostuvaan sarjaan 2; 4; 6; 8; 10 ja 20 ml 10 g/l hopeaa sisältävää 3.5 liuosta ja täytetään merkkiin laimennetulla typpihapolla (3.3). Nämä liuokset sisältävät hopeaa 0,20; 0,40; 0,60; 0,80; 1,0 ja 2,0 mg/l.
 - 4.3 **Määrittäminen**

Valitaan aallonpituus 328,1 nm. Säädetään laimennetulla typpihapolla (3.3) absorbanssiasteikon nollakohta. Imetään 4.1 kohdan mukaisesti saatu neste suoraan spektrofotometrin polttimoon ja tämän jälkeen vuorotellen vertailuliuokset. Luetaan absorbanssit. Toistetaan määrittäykset.
5. TULOSTEN ILMOITTAMINEN
 - 5.1 **Laskentamenetelmä**

Piirretään absorbanssit vertailuliuosten hopeakonsentraation funktiona.

Etsitään kalibrointikäyrältä 4.1 kohdan mukaisesti saadun nesteen absorbanssi ja johdetaan konsentraatio C mg/l.

▼B

Viinin hopeapitoisuus ilmoitettuna mikrogrammoina litrassa on:

0,25 C. Se annetaan kahdella desimaalilla.

Huomautus:

Kalibrointikäyrän laadinnassa käytettyjä vertailuliukuksia, näytemäärää ja lopullista nestetilavuutta voidaan muuttaa käytetyn laitteen herkkyyden mukaan.



34. SINKKI

1 PERIAATE

Sinkki määritetään suoraan viinistä atomiabsorptiospektrofotometrisesti alkoholin poistamisen jälkeen.

2 REAGENSIT

Käytettävän veden on oltava borosilikaattilasista valmistetussa laitteessa kahdesti tislattua vettä tai vastaavan puhtausasteen omaavaa vettä.

2.1 Vertailuliuos, jonka sinkkipitoisuus on 1 g/l.

Käytetään kaupallisesti saatavissa olevaa sinkkistandardiliuosta. Tämä liuos voidaan valmistaa liuottamalla 4,3975 g sinkkisulfaattia ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) veteen ja täyttämällä tilavuus yhdeksi litraksi.

2.2 Laimennettu vertailuliuos, jonka sinkkipitoisuus on 100 mg/l.

3. LAITTEISTO

3.1 Pyöröhaihdutin ja säädettävä vesihaude.

3.2 Atomiabsorptiospektrofotometri, jossa on ilma-asetyleenipoltin.

3.3 Sinkkionttokatodilamppu.

4. SUORITUS

4.1 Näytteen valmistaminen

Poistetaan viinin sisältämä alkoholi tiivistamalla viinin tilavuus puoleen pyöröhaihduttimessa (lämpötila: 50-60 °C), täytetään alkuperäiseen 100 ml:n tilavuuteen kahdesti tislattulla vedellä.

4.2 Kalibrointi

Mitataan neljään 100 ml:n mittapulloon 0,5; 1; - 1,5 ja 2 ml 100 mg/l sinkkiliuosta (2.2) ja täytetään merkkiin kahdesti tislattulla vedellä. Liuosten sinkkipitoisuudet ovat 0,5; 1; 1,5 ja 2 mg/l.

4.3 Määrittäminen

Valitaan aallonpituus 213,9 nm. Säädetään kahdesti tislattulla vedellä absorbanssiasteikon nollakohta. Imetään viini suoraan spektrofotometrin polttimoon ja tämän jälkeen vuorotellen vertailuliuokset. Luetaan absorbanssit. Toistetaan määrittäykset.

5. TULOSTEN ILMOITTAMINEN

5.1 Laskentamenetelmä

Piirretään absorbanssit vertailuliuosten sinkkikonsentraation funktiona. Etsitään viinille saatujen absorbanssien keskiarvo ja luetaan vastaava sinkkikonsentraatio C milligrammoina litrassa viiniä yhdellä desimaalilla.

▼B

35. LYIJY

1. MENETELMÄN PERIAATE
Lyijy määritetään suoraan viinistä liekittömällä atomiabsorptiospektrofotometrialla.
2. VÄLINEISTÖ
Kaikki lasitavarat on pestävä ennen käyttöä kuumalla (70-80 °C) väkevällä typpihapollaja huuhtottava kahdesti tislattulla vedellä.
 - 2.1 Atomiabsorptiospektrofotometri, jossa on grafiittiuuni, epaspesifinen absorptionkorjain ja monikanavapiirituri.
 - 2.2 Lyijyonttokatodilamppu.
 - 2.3 Vetoisuudeltaan 5 µl olevia mikropipettejä, joissa on atomiabsorptionmittauksiin tarkoitetut erikoispäät.
3. REAGENSIT
Kaikkien reagenssien on oltava puhtaudeltaan yleisesti hyväksyttyä analyttistä laatua ja erityisesti lyijyvapaita. Käytettävän veden on oltava borosilikaattilasista valmistetussa laitteessa kahdesti tislattua vettä tai vastaavan puhtausasteen omaavaa vettä.
 - 3.1 85 % fosforihappo ($\rho_{20} = 1,71$ g/ml).
 - 3.2 Fosforihappoliuos, joka saadaan laimentamalla 8 ml fosforihappoa 100 ml:ksi vedellä.
 - 3.3 Typpihappo ($\rho_{20} = 1,38$ g/ml).
 - 3.4 Lyijyliuos 1 g/l.
Käytetään kaupallisesti saatavissa olevaa standardiliuosta. Tämä liuos voidaan valmistaa liuottamatta 1,600 g lyijy(II)nitraattia, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, 1 %:ksi (v/v) laimennettuun typpihappoon ja täyttämällä tilavuus yhdeksi litraksi. Liuosta säilytetään hiostulpallisessa borosilikaattilasista valmistetussa pullossa.
4. SUORITUS
 - 4.1 **Näytteen valmistaminen**
Laimennetaan viini suhteessa 1/2 tai 1/3 fosforihappoliuoksella (3.2) oletetun lyijykonsentraation mukaan.
 - 4.2 **Kalibrointisarjan liuosten valmistaminen**
Valmistetaan lyijyvertailuliuksesta kahdesti tislattulla vedellä peräkkäin laimentaen liuokset, jotka sisältävät lyijyä 25, 50, 100 ja 150 mikrogrammaa litrassa.
 - 4.3 **Määrittäminen**
 - 4.3.1 *Uunin säätäminen (vain ohjeellinen)*
Kuivaaminen 100 °C:ssa 30 sekuntia.
Mineralisaatio 900 °C:ssa 20 sekuntia.
Atomisaatio 2 250 °C:ssa 2-3 sekuntia.
Tyypin virtausnopeus (huuhtelukaasu): 6 litraa minuutissa.
Huomautus:
Suorituksen jälkeen lämpötila nostetaan 2 700 °C:seen uunin puhdistamiseksi.
 - 4.3.2 *Mittaukset*
Valitaan aallonpituus 217 nm. Säädetään kahdesti tislattulla vedellä absorbanssiasteikon nollakohta. Ruisku- tetaan mikropipetillä uuniin kolme kertaa 5 µl kaikkia kalibrointisarjan liuoksia ja määritettävää näyteliuosta. Luetaan mitatut absorbanssit. Lasketaan absorbanssin keskiarvo kolmen ruiskutuksen tuloksista.

▼B

5. TULOSTEN ILMOITTAMINEN

5.1 **Laskeminen**

Piirretään absorbanssit kalibrointiliuosten lyijykonsentraatioiden funktiona. Kuvaaja on lineaarinen. Etsitään kalibrointisuoralta näyteliuoksen absorbanssin keskiarvo ja johdetaan siitä lyijykonsentraatio C . Lyijykonsentraatio ilmoitettuna mikrogrammoina litrassa viiniä on:

$$C \times F$$

F = laimennuskerroin.

▼B

36. FLUORIDIT

1. PERIAATE

Fluoridipitoisuus määritetäänpuskuriliuokseenlisätystäviiniistäkiinteäkalvoelektrodilla. Mitattu potentiaali on verrannollinen fluoridi-ionien aktiviteetin logaritmiin määritettävässä liuoksessa seuraavan yhtälön mukaisesti:

$$E = E_0 \pm S \log a_F$$

E = ioniselektiivisen elektrodin potentiaali mitattuna suhteessa vertailuelektrodiin määritettävässä liuoksessa

E_0 = anturin normaalipotentiaali

S = ioniselektiivisen elektrodin potentiaalin nousukerroin (Nernst-tekijä). Lämpötilassa 25 °C teoreettinen potentiaalin nousukerroin on 59,2 mV.

a_F = fluoridi-ioniaktiviteetti määritettävässä liuoksessa.

2. VÄLINEISTÖ

- 2.1 Fluondi-ioniselektiiv inen kidekalvoelektrodi.
- 2.2 Vertailuelektrodi (Kalomeli tai Ag/AgCl).
- 2.3 Millivoltmittari (pH-mittari, jossa on laajennettu millivolttiasteikko), tarkkuus 0,1 mV.
- 2.4 Magneettisekoittaja, jossa on eristelaatta määritettävän liuoksen suojaamiseksi moottorin lämmöltä (polyetyleni tai vastaava matenaali).
- 2.5 Vetoisuudeltaan 30 tai 50 ml olevia muovisia mittalaseja tai muovisia mittapulloja (polyetyleni tai vastaava materiaali).
- 2.6 Tarkkuuspipettejä (pipettejä, joiden asteikko on jaettu mikrolitroiin tai muita vastaavia pipettejä).

3. REAGENSIT

3.1 Fluoridikantaliuos, 1 g/l.

Käytetään kaupallisesti saatavissa olevaa 1 g/l standardiliuosta. Tämä liuos voidaan valmistaa liuottamalla 2,210 g natriumfluoridia (kuivattu 3-4 tuntia 105 °C:ssa) tislattuun veteen. Täytetään 1 000 ml:ksi tislattulla vedellä. Liuosta säilytetään muovipullossa.

3.2 Konsentraatioiltaan sopivat fluoridivertailuliokset valmistetaan laimentamalla kantaliuosta tislattulla vedellä ja niitä säilytetään muovipulloissa. Fluoridipitoisuudeltaan 1 mg/l olevat vertailuliokset on valmistettava juuri ennen käyttöä.

3.3 Puskunliuos, pH 5,5.

Lisätään 10 g 1,2-sykloheksaanidiamiinitetraetikkahappoa (CDTA) veteen (noin 50 ml); lisätään 700 ml:aan tislattua vettä, johon on liuotettu 58 g natriumkloridia ja 29,4 g trinitriumsitraattia. CDTA liukenee lisättäessä 32 % (m/v) natriumhydroksidiliuosta (noin 6 ml).

Lopuksi lisätään 57 ml etikkahappoa ($p_{20} = 1,05$ g/ml) ja säädetään pH arvoon 5,5 32 % natriumhydroksidiliuksella (noin 45 ml). Annetaan jäähtyä ja täytetään yhdeksi litraksi tislattulla vedellä.

4. SUORITUS

Alkuhuomautus:

On huolehdittava siitä, että kaikkia liuoksia pidetään mittauksen aikana lämpötilassa 25 ± 1 °C. (Yli ± 1 °C:n poikkeama aiheuttaa noin $\pm 0,2$ mV:n muutoksen.)

4.1 Suora menetelmä

Mitataan muoviseen dekanterilasiin määrätty määrä viiniä ja sama tilavuus puskuriliuosta.

Sekoitetaan liuosta tasaisesti ja maltillisesti. Kun lukema on vakaa (vakaa tila saavutetaan kun potentiaali vaihtelee korkeintaan 0,2-0,3 mV/3 minuuttia), luetaan potentiaalin arvo mV.

▼B

4.2 Tunnettujen lisäysten menetelmä

Koko ajan sekoittaen lisätään tutkittavaan aineeseen tarkkuuspipetillä tunnettu tilavuus fluoridivertailuluosta. Kun lukema on vakaa, luetaan potentiaalin arvo mV.

Valitaan lisättävän vertailuliuksen konsentraatio seuraavasti:

- kerrotaan tutkittavan aineen fluoridikonsentraatio kahdella tai kolmella,
- määritettävän aineen tilavuuden on pysyttävä käytännössä vakiona (tilavuuden lisäys $\leq 1\%$).

Ehto b yksinkertaistaa laskemista (ks. 5).

Tutkittavan aineen likimääräinen konsentraatio luetaan kalibrintisuoralta, joka piirretään puolilogantimias- teikolle fluoripitoisuudeltaan 0,1; 0,2; 0,5; 1,0 ja 2,0 mg/l olevien vertailuliusten kanssa.

Huomautus:

Jos tutkittavan aineen likimääräinen konsentraatio on konsentraatioalueen ulkopuolella, laimennetaan näyte.

Esimerkki:

Tutkittavan aineen (tilavuus 20 ml) likimääräinen pitoisuus on 0,25 mg/l F⁻; konsentraatiota on lisättävä 0,25 mg/l. Tämä tehdään esimerkiksi lisäämällä liuokseen sopivalla tarkkuuspipetillä 0,20 ml (=1 %) vertailuluosta, joka sisältää 25 mg/l F⁻ tai 0,050 ml vertailuluosta, joka sisältää 100 mg/l F⁻.

5. LASKEMINEN

Tutkittavan aineen fluoridipitoisuus, ilmoitettuna milligrammoina litrassa, saadaan seuraavalla yhtälöllä:

$$C_F = \frac{V_a \times C_a}{V_o} \times \frac{1}{(\text{antilog } \Delta E/S) - 1}$$

C_F = tutkittavan aineen fluoridikonsentraatio (mg/l)

C_a = tutkittavaan aineeseen (V_a) lisätyn fluoridin konsentraatio (mg/l)

V_o = tutkittavan aineen alkutilavuus ennen liikakuormitusta

V_a = liikakuormitetun liuoksen tilavuus (ml)

ΔE = 4.1 ja 4.2 kohdan mukaisesti saatujen potentiaalien E_1 ja E_2 välinen erotus (mV)

S = tutkittavassa liuoksessa olevan elektrodin potentiaalin nousukerroin

Jos V_a on hyvin lähellä V_o :ta, käytetään seuraavaa yksinkertaistettua yhtälöä:

$$C_F = C_a \times \frac{1}{(\text{antilog } \Delta E/S) - 1}$$

Saatu arvo on kerrottava laimennuskertoimella, joka saadaan puskuriliuoslisäyksestä.

▼B

37. HIILIDIOKSIDI

▼M13

1. MENETELMÄN PERIAATE

▼B

- 1.1 Vertailumenetelmä

- 1.1.1 *Hiilihapottomat viinit* (CO_2 -ylipaine $\leq 0,5 \times 10^5$ Pa) ⁽¹⁾

Tietyn tilavuinen viininäyte jäädytetään lähelle 0 °C ja sekoitetaan sellaiseen määrään natriumhydroksidiliuosta, että pH-arvoksi tulee 10–11. Titraataan happoliuoksella karboanhydraasin läsnäollessa. Hiilidioksidipitoisuus lasketaan pH:n muuttamiseksi arvosta 8,6 (bikarbonaattimuoto) arvoon 4,0 (hiilihappo) tarvittavasta happotilavuudesta. Sokeatitraus tehdään samoissa koeolosuhteissa viinistä, josta hiilihappo on poistettu, jotta voitaisiin ottaa huomioon viinin happojen kuluttama natriumhydroksidiliuoksen tilavuus.

- 1.1.2 *Helmeilevät viinit ja kuohuviinit*

Jäädytetään määritettävästä viinistä otettu näyte lähelle jäätymispistettä. Otetaan tietty tilavuus viiniä, jota käytetään hiilihapon poistamisen jälkeen sokeanäytteenä. Tehdään pulloon jäänyt viini emäkiseksi kaiken CO_2 :n sitomiseksi Na_2CO_3 ksi. Titraataan happoliuoksen kanssa karboanhydraasin läsnäollessa. Hiilidioksidipitoisuus lasketaan pH:n muuttamiseksi arvosta 8,6 (bikarbonaattimuoto) arvoon 4,0 (hiilihappo) tarvittavasta happotilavuudesta. Sokeatitraus tehdään samoissa koeolosuhteissa viinistä, josta hiilihappo on poistettu, jotta voitaisiin ottaa huomioon viinin happojen kuluttama natriumhydroksidiliuoksen tilavuus.

▼M13

▼B

2. VERTAILUMENETELMÄ

- 2.1 Hiilihapottomat viinit (CO_2 -ylipaine $\leq 0,5 \times 10^5$ Pa).

- 2.1.1 *Välineistö*

- 2.1.1.1 Magneettisekoittaja.

- 2.1.1.2 pH-mittari.

- 2.1.2 *Reagenssit*

- 2.1.2.1 Natriumhydroksidiliuos (NaOH), 0,1 M.

- 2.1.2.2 Rikkihappoliuos (H_2SO_4), 0,05 M.

- 2.1.2.3 Karboanhydraasiliuos, 1 g/l.

- 2.1.3 *Suoritus*

Jäädytetään viininäyte sekä näytteenottoon käytettävä 10 ml:n pipetti noin 0 °C:seen.

Mitataan 100 ml:n dekantterilasiin 25 ml natriumhydroksidiliuosta (2.1.2.1); lisätään 2 tippaa vesikarboanhydraasiliuosta (2.1.2.3). Lisätään 10 ml viiniä 0 °C:seen jäädytetyllä pipetillä.

Asetetaan dekantterilasi magneettisekoittajalle, sijoitetaan elektrodi ja magneettitanko liuokseen ja sekoitetaan maltillisesti.

Kun neste on saavuttanut ympäristön lämpötilan, titrataan hitaasti rikkihappoliuoksella (2.1.2.2), kunnes pH-arvo on 8,6.

Jatketaan rikkihappotitrausta (2.1.2.2), kunnes pH-arvo on 4,0. pH:n 8,6 ja pH:n 4,0 välillä käytetty tilavuus on n.

Poistetaan CO_2 noin 50 ml:sta viininäytettä ravistelemalla sitä vakuuissa 3 minuutin ajan, lämmittäen pulloa noin 25 °C:ssa vesihauhteessa.

Toistetaan edellä kuvattu suoritus 10 ml:lle viiniä, josta on poistettu hiilihappo; käytetty tilavuus on n'.

⁽¹⁾ 10^5 pascalia (Pa) = 1 bar.

▼B**2.1.4 Tulosten ilmoittaminen**

1 ml 0,1 M natriumhydroksidititrausliuosta vastaa 4,4 mg CO₂:a.

CO₂-määrä grammoina litrassa viiniä saadaan yhtälöstä:

$$0,44 (n - n')$$

Se ilmoitetaan kahdella desimaalilla.

Huomautus:

Jos viinin CO₂-pitoisuus on matala (CO₂ < 1 g/l), ei ole tarpeen lisätä karboanhydraasia katalysoimaan CO₂:n hydratoitumista.

2.2 Helmeilevät viinit ja kuohuviinit**2.2.1 Välineistö****2.2.1.1** Magneettisekoittaja.**2.2.1.2** pH-mittari.**2.2.2 Reagenssit****2.2.2.1** Natriumhydroksidiliuos (NaOH), 50 % (m/m).**2.2.2.2** Rikkihappoliuos (H₂SO₄), 0,05 M.**2.2.2.3** Karboanhydraasiliuos, 1 g/l.**2.2.3 Suoritus**

Tehdään pulloon merkki määritettävän viinin täyttökorkeudelle ja jäädytetään, kunnes jäätyminen alkaa.

Annetaan pullon lämmitä hieman koko ajan ravistellen, kunnes jääkiteet häviävät.

Avataan pullo nopeasti ja otetaan mittalasiin 45-50 ml viiniä sokeatitrausta varten. Tämän näytteen tarkka tilavuus, v ml, luetaan mittalasista sen jälkeen, kun se on palautunut ympäristön lämpötilaan.

Heti sokeatitrausnäytteen ottamisen jälkeen lisätään 750 ml:n pulloon 20 ml natriumhydroksidiliuosta (2.2.2.1).

Odotetaan viinin palautumista ympäristön lämpötilaan.

Mitataan 100 ml:n dekantterilasiin 30 ml keitettyä tislattua vettä ja 2 tippaa karboanhydraasiliuosta (2.2.2.3). Lisätään 10 ml emäksistä viiniä.

Asetetaan dekantterilasi magneettisekoittajalle, sijoitetaan elektrodi ja magneettitanko liuokseen ja sekoitetaan maltillisesti.

Kun neste on saavuttanut ympäristön lämpötilan, titrataan hitaasti rikkihappoliuksella (2.2.2.2), kunnes pH-arvo on 8,6.

Jatketaan rikkihappotitrausta (2.2.2.2), kunnes pH-arvo on 4,0. pH:n 8,6 ja pH:n 4,0 välillä käytetty tilavuus on n.

Poistetaan CO₂ noin v ml:sta sokeatitraukseen varattua viiniä ravistelemalla sitä vakuuissa 3 minuutin ajan, lämmittäen pulloa noin 25 °C:ssa vesihauteessa. Mitataan 10 ml viiniä, josta on poistettu hiilihappo, 30 ml:aan keitettyä tislattua vettä, lisätään 2-3 tippaa natriumhydroksidiliuosta (2.2.2.1) pH:n saattamiseksi arvoon 10-11. Seurataan edellä kuvattua suoritustapaa. Käytetty 0,05 M rikkihappotilavuus on n'.

2.2.4 Tulosten ilmoittaminen

1 ml 0,05 M rikkihappoliuosta vastaa 4,4 mg CO₂:a.

Kaadetaan emäksinen viini pullosta ja määritetään yhden ml:n tarkkuudella pullon sisältämän alkuperäisen viinin tilavuus täyttämällä pullo merkkiin vedellä. Tämä on V ml.

CO₂-määrä grammoina litrassa viiniä saadaan yhtälöstä:

$$0,44(n - n') \times \frac{V - v + 20}{V - v}$$

Se ilmoitetaan kahdella desimaalilla.

▼ B2.3 ► M13 Teoreettisen paineen laskeminen ◀

Ylipaine 20 °C:ssa, $P_{\text{ph}_{20}}$, ilmoitettuna pascaleina, saadaan yhtälöstä:

$$P_{\text{ph}_{20}} = \frac{Q}{1,951 \times 10^{-5} (0,86 - 0,01 A)(1 - 0,00144 S)} - P_{\text{atm}}$$

jossa

Q: CO₂-pitoisuus grammoina litrassa viiniä

A: viinin alkoholipitoisuus 20 °C:ssa

S: viinin sokeripitoisuus grammoina litrassa

Patm: ilmanpaine, ilmoitettuna pascaleina.

▼ M8▼ M13

▼M13

37 a – HELMEILEVIEN VIINIEN JA KUOHUVIINIEN PAINEEN MITTAUS

1. PERIAATE

Paine mitataan afrometrillä (paine-eromittari) sen jälkeen kun pullon lämpötila on tasaantunut ja pulloa ravistettu. Paine ilmoitetaan pascaleina (Pa) (I tyypin menetelmä). Samaa menetelmää sovelletaan myös hiilihapotettuihin kuohuviineihin ja hiilihapotettuihin helmeileviin viineihin.

2. VÄLINEISTÖ

Laitetta, jolla voidaan suorittaa paineen mittausta helmeilevää viiniä tai kuohuviiniä sisältävistä pulloista, kutsutaan afrometriksi. Se on eri muotoinen sen mukaan, miten pullo on suljettu (metallinen kapseli, kruunukorkki, korkkiaineesta tai muovista valmistettu korkki).

2.1 Metallisella kapselilla tai kruunukorkilla varustetut pullot

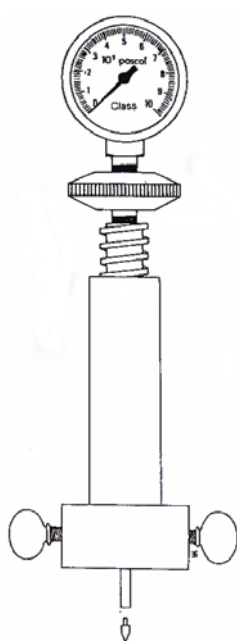
Laitteessa on kolme osaa (kuva 1):

- Yläosassa on manometri, käsin kiristettävä rengas, keskiosan sisällä liikkuva päätön ruuvi ja neula, joka lävistää kapselin tai kruunukorkin. Neulan kyljessä on reikä, josta paine siirtyy manometriin. Kohdassa, jossa laite kiinnittyy kapseliin tai kruunukorkkiin, on tiiviste.
- Keskiosan avulla yläosa ohjautuu oikeaan asentoon. Keskiosa kierretään kiinni alaosaan, jolloin laite pysyy tiukasti pullon suulla.
- Laitteen alaosassa on liitinosa, joka liu'utetaan pullon kaularengas alle siten, että laite kiinnittyy tukevasti. Kullekin pullotyypille on oma liitinosa.

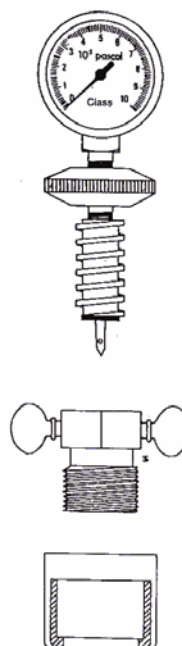
2.2 Korkkiaineesta tai muovista valmistetulla korkilla varustetut pullot

Laitteessa on kaksi osaa (kuva 2):

- Yläosa on muuten samanlainen kuin edellisessä laitteessa, mutta neula on pidempi. Neula on pitkä ontto putki, jonka päässä on piikki korkin lävistämistä varten. Piikki on irrallinen ja se putoaa viiniin korkin läpäistyään.
- Alaosassa on liitin ja alusta, joka asetetaan korkin päälle. Alustassa on neljä ruuvia, joiden avulla laite pysyy korkin päällä.



Kuva 2: Korkkiafrometri



Kuva 1: Kapseliafrometri

▼ **M13**

Molempiin laitteisiin kuuluvia manometrejä koskevat huomautukset:

- Manometri voi olla joko mekaaninen, jolloin siinä on Bourdon-putki, tai digitaalinen, jolloin siinä on pietsosähköinen anturi. Bourdon-putken on oltava ruostumatonta terästä.
- Manometrien asteikot on jaettu pascaleihin (lyhenne Pa). Kuohuville on käytännöllisempää käyttää yksikkönä 10^5 pascalia (10^5 Pa) tai kilopascalia (kPa).
- Manometrejä on eri luokkia. Manometrin luokka on lukeman tarkkuus suhteessa koko asteikkoon ilmoitettuna prosentteina (esimerkiksi 1 000 kPa:n manometri, luokka I, tarkoittaa, että suurin käyttöpaine on 1 000 kPa ja lukemataarkkuus ± 10 kPa). Luokkaa I suositellaan tarkkoihin mittauksiin.

3. SUORITUS

Mittaus on suoritettava pulloista, joiden lämpötilan on annettu tasaantua vähintään 24 tunnin ajan. Kun kapseli, kruunukorkki tai korkkiaineesta tai muovista valmistettu korkki on lävistetty, pulloa ravistellaan voimakkaasti kunnes paine on asettunut, ja paine mitataan.

3.1 Metalliset kapselit tai kruunukorkit

Laitteen alaosan liitin liu'utetaan pullon kaularenkaan alle. Liitintä kiristetään, kunnes ala- ja keskiosa ovat tiukasti kiinni pullossa. Yläosa kiinnitetään keskiosaan. Jotta kaasua ei häviäisi, kapseli tai kruunukorkki on lävistettävä mahdollisimman nopeasti siten, että tiiviste tulee kosketukseen kapselin tai kruunukorkin kanssa. Pulloa ravistellaan jälleen voimakkaasti, ja mittaustulos luetaan paineen asetuttua.

3.2 Korkkiaineesta tai muovista valmistetut korkit

Piikki kiinnitetään neulaan. Yhdistelmä asetetaan korkin päälle. Ruuvit kiristetään korkkiin. Laitteen yläosaa kierretään (jolloin neula lävistää korkin). Jotta paine voi siirtyä manometriin, piikin on pudottava pulloon. Mittaustulos luetaan sen jälkeen kun pulloa on ravisteltu voimakkaasti ja paine on asettunut. Mittauksen jälkeen piikki poistetaan.

4. TULOSTEN ILMOITTAMINEN

Paine 20 °C:ssa ($P_{ph_{20}}$) ilmoitetaan pascaleina (Pa) tai kilopascaleina (kPa). Se on ilmoitettava yhtäpitävästi manometrin tarkkuuden kanssa (esimerkiksi: 6,3 10^5 Pa tai 630 kPa, ei 6,33 10^5 Pa eikä 633 kPa luokan I manometrille, jossa on 1 000 kPa:n lukema-asteikko).

Jos mittaustilämpötila ei ole 20 °C, on tehtävä korjaus kertomalla mitattu paine asianmukaisella kertoimella (ks. taulukko 1).

Taulukko 1

20 °C:ssa olevan helmeilevän viinin tai kuohuviinin paineen $P_{ph_{20}}$ suhde paineeseen P_{ph_t} lämpötilassa t

°C	
0	1,85
1	1,80
2	1,74
3	1,68
4	1,64
5	1,59
6	1,54
7	1,50
8	1,45
9	1,40
10	1,36
11	1,32
12	1,28

▼ **M13**

°C	
13	1,24
14	1,20
15	1,16
16	1,13
17	1,09
18	1,06
19	1,03
20	1,00
21	0,97
22	0,95
23	0,93
24	0,91
25	0,88

5. TULOSTEN KONTROLLOIMINEN

Menetelmä fyysisten muuttujien määrittämiseksi suoraan (I-tyypin vertailumenetelmä)

Afrometrien tarkistus

Afrometrit on tarkistettava säännöllisesti (vähintään kerran vuodessa).

Tarkistus tehdään kalibrointilaitteen avulla. Testattavaa manometriä verrataan sellaiseen rinnakkain kytkettyyn vertailumanometriin, joka on kansallisten mittanormaalien (ylemmän tason mittanormaali) mukainen. Tarkistus tehdään vertaamalla molempien laitteiden ilmoittamia arvoja toisiinsa sekä lisääntyvän että alenevan paineen osalta. Jos arvot ovat erilaiset, tarvittavat korjaukset voidaan tehdä säätöruuvien avulla.

Tällaisia kalibrointilaitteita on kaikissa akkreditoiduissa laboratorioissa ja laitoksissa, ja niitä on saatavilla myös manometrien valmistajilta.

▼M7

38. SYAANIVETYHAPON JOHDANNAISET

(Huom. Kemiallisten aineiden kuten kloramiini-T:n, pyridiinin, kaliumsyaniidin, suolahapon ja fosforihapon käsittelyssä on noudatettava turvaohjeita. Käytetyt aineet on hävitettävä sopivalla tavalla asianmukaisia ekologisia määräyksiä ja asetuksia noudattaen. Happamaksi tehtyä viiniä tislattaessa vapautuvaa syaanivetyhappoa on varottava.)

1. PERIAATE

Vapaa kokonaissyaanivetyhappo vapautetaan happohydrolyysillä ja erotetaan tislaamalla. Sen annetaan reagoida kloramiini T:n ja pyridiinin kanssa, minkä jälkeen muodostunut glutakonihiappodialdehydi määritetään kolorimetrisesti mittaamalla sininen väri, joka muodostuu sen reagoitessa 1,3-dimetylibarbituurihapon kanssa.

2. VÄLINEET JA LAITTEET

2.1 Tislauslaitteisto

Käytetään tislauslaitteistoa, joka on kuvattu viinin alkoholinmäärittystä varten.

2.2 500 ml:n tislauskolvi, jossa on vakiohios

2.3 Vesihaude, joka on säädetty 20 °C:een

2.4 Spektrofotometri, jolla voidaan mitata aallonpituudella 590 nm

2.5 Lasi- tai kertakäyttökyvettejä, joiden valotie on 20 mm

3. REAGENSIT

3.1 Fosforihappo (H_3PO_4), 25 % (m/v)3.2 Kloramiini T -liuos ($\text{C}_7\text{H}_7\text{ClNNaO}_2\text{S}$, $3\text{H}_2\text{O}$), 3 % (m/v)3.3 1,3-dimetylibarbituurihappoliuos: liuotetaan 3,658 g 1,3-dimetylibarbituurihappoa ($\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_3$) 15 ml:aan pyridiiniä ja 3 ml:aan suolahappoa ($\rho_{20} = 1,19 \text{ g/ml}$) ja täytetään 50 ml:aan tislattua vedellä

3.4 Kaliumsyanidi (KCN)

3.5 Kaliumjodidiliuos (KI) 10 % (m/v)

3.6 Hopeanitraattiliuos (AgNO_3), 0,1 M

4. SUORITUS

4.1 Tislaus

Lisätään 500 ml:n tislauskolviin (kohta 2.2) 25 ml viiniä, 50 ml tislattua vettä, 1 ml fosforihappoa (kohta 3.1) ja muutama lasihelmi. Kolvi kiinnitetään heti tislauslaitteistoon. Tisla johdetaan kapenevan putken kautta 50 ml:n mittapulloon, jossa on 10 ml vettä. Mittapullo upotetaan jääveteen. Kerätään 30-35 ml tislettä (ts. mittapullossa on kaikkiaan noin 45 ml nestettä).

Pestään jäädytyslaitteen kapeneva putki muutamalla millilitralla tislattua vettä, lämmitetään tisle 20 °C:een ja täytetään merkkiin tislattua vedellä.

4.2 Mittaus

Siirretään 25 ml tislettä 50 ml:n kartiokolviin, jossa on hiostulppa, lisätään 1 ml kloramiini T -liuosta (kohta 3.2) ja suljetaan tiiviisti. Täsmälleen 60 sekunnin kuluttua lisätään 3 ml 1,3-dimetylibarbituurihappoliuosta (kohta 3.3), suljetaan tiiviisti ja odotetaan 10 min. Mitataan absorbanssi standardia vastaan (25 ml tislattua vettä tisleen sijasta) aallonpituudella 590 nm kyveteissä, joiden valotie on 20 mm.

5. KALIBROINTIKÄYRÄN MÄÄRITYS

5.1 Kaliumsyaniidin titraus hopeanitraatilla

Liuotetaan 300 ml:n mittapullossa 0,2 g (tarkasti punnittu) KCN:a (kohta 3.4) 100 ml:aan tislattua vettä. Lisätään 0,2 ml kaliumjodidiliuosta (kohta 3.5) ja titraaan 0,1 M hopeanitraattiliuoksella (kohta 3.6), kunnes saadaan pysyvä kellertävä väri.

▼ **M7**

1 ml 0,1 M hopeanitraattia vastaa 13,2 mg:aa KCN:a, josta lasketaan näytteen KCN-pitoisuus.

5.2 **Kalibrointikäyrä**5.2.1 *Kalibrointiliuosten valmistus*

Kun tunnetaan KCN-pitoisuus, joka on määritetty kohdan 5.1 mukaisesti, valmistetaan kalibrointiliuos, jossa on 30 mg/l syaanivetyhappoa (30 mg HCN $\cong$ 72,3 mg KCN). Liuos laimennetaan suhteessa 1/10.

Lisätään 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 ja 5,0 ml kalibrointiliuoksen laimennosta 100 ml:n mittapulloihin ja täytetään merkkiin tislatulla vedellä. Liuokset vastaavat 30:tä, 60:tä, 90:tä, 120:tä ja 150:tä µg/l syaanivetyhappoa.

5.2.2 *Määrittäminen*

Otetaan 25 ml näin saaduista liuksista ja jatketaan, kuten edellä kohdissa 4.1 ja 4.2 selostetaan.

Kuvaaja, jossa esitetään kalibrointiliuksille saadut absorbanssi-arvot vastaavien syaanivetyhappopitoisuuksien funktiona, on origon kautta kulkeva suora.

6. TULOSTEN ILMOITTAMINEN

Syaanivetyhappo ilmaistaan mikrogrammoina litraa kohti (µg/l) ilman desimaaleja.

6.1 **Laskeminen**

Syaanivetyhappopitoisuus luetaan kalibrointikäyrältä. Jos näytettä on laimennettu, saatu tulos kerrotaan laimennuskertoimella.

Toistettavuus (r) ja uusittavuus (R)

Valkoviini = r = 3,1 µg/l eli noin 6 % · x_i

R = 12 µg/l eli noin 25 % · x_i

Punaviini = r = 6,4 µg/l eli noin 8 % · x_i

R = 23 µg/l eli noin 29 % · x_i

x_i = HCN:n keskimääräinen pitoisuus viinissä

x_i = 48,4 µg/l valkoviinille

x_i = 80,5 µg/l punaviinille.

▼B

39. ALLYYLI-ISOTIOSYANAATTI

1 MENETELMÄN PERIAATE

Viinin mahdollisesti sisältämä allyyli-isotiosyanaatti kerätään tislamalla ja tunnistetaan kaasukromatografisesti.

2 REAGENSIT

2.1 Absoluuttinen etanoli.

2.2 Vertailuliuos: absoluuttisessa alkoholissa oleva allyyli-isotiosyanaattiliuos, joka sisältää 15 mg allyyli-isotiosyanaattia litrassa.

2.3 Jäähdytysseos, joka koostuu etanolin ja hiilihappojään seoksesta (lämpötila -60 °C).

3. LAITTEET

3.1 Kuvion mukainen laitteisto typpivirrassa tislamista varten.

3.2 Säädetty lämpöhaude.

3.3 Virtausmittari.

3.4 Kaasukromatografi, liekki-fotometridetektorilla, jossa on rikkiyhdisteille selektiivinen suodatin (aallonpituus = 394 nm) tai muu tähän laitteeseen soveltuva detektori.

3.5 Ruostumattomasta teräksestä valmistettu kromatografiakolonne, sisähalkaisija 3 mm, pituus 3 m; täytetty 10 % Carbowax 20 M 80-100 meshin Chromosorb WHP:llä.

3.6 Mikroruisku, 10 µl.

4 SUORITUS

Mitataan 2 litraa viiniä tislauskolviin. Lisätään muutama millilitra etanolia (2.1) kahteen keräysputkeen siten, että kaasudispersioputken huokoiset osat peittyvät kokonaan. Jäähdytetään putket ulkopuolelta jäähdytysseoksella. Liitetään kolvi keräysputkiin ja annetaan typen virtata laitteeseen noin 3 l/tunnissa. Lämmitetään viini 80- C:ise ksi säätämällä lämpöhaude sopivalla tavalla ja kerätään yhteensä 45-50 ml tisleettä.

Stabiloidaan kromatografi. Seuraavat suoritulosuhteet ovat suositeltavia:

— injektorin lämpötila: 200 °C,

— kolonnin lämpötila: 130 °C,

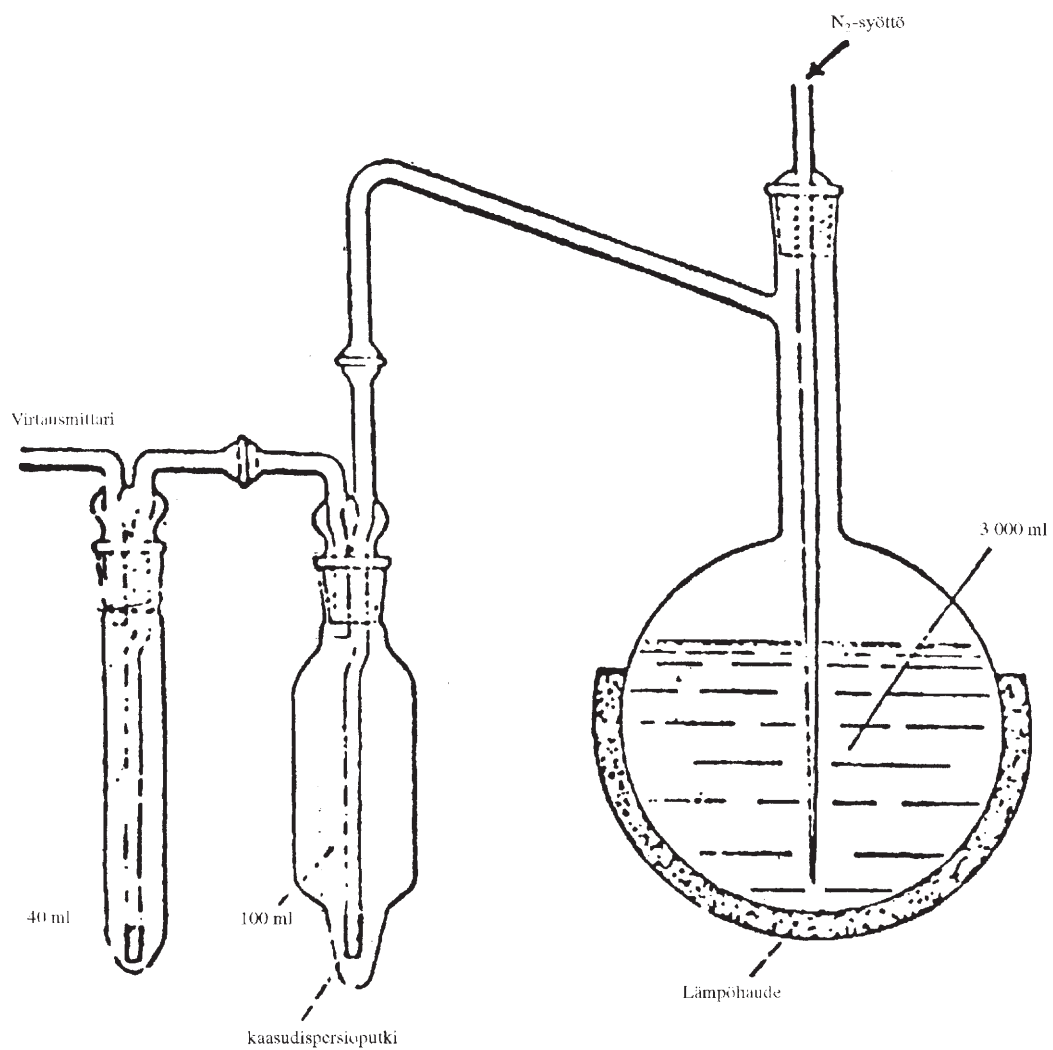
— helium-kantokaasun virtausnopeus: 20 ml/minuutti.

Ruiskutetaan mikroruiskulla sellainen määrä vertailuliuosta, että allyyli-isotiosyanaattia vastaava piikki voidaan tunnistaa kromatogrammista helposti.

Lisäksi ruiskutetaan tisleestä otettu näyte ja tarkistetaan, että saadun piikin retentioaika vastaa allyyli-isotiosyanaatin piikkiä.

Edellä kuvatuissa koeolosuhteissa mikään viinin luontainen aine ei aiheuta häiritsevää piikkiä tutkittavan näytteen kromatogrammissa.

▼B



Lätteisto typpivirrassa tislamista varten



40. VÄRIOMINAISUUDET

1 VIINIT JA RYPÄLEMEHUT

1.1 Määritelmät

Viinin väriominaisuuksilla tarkoitetaan sen luminositeettia ja sen kromaattisuutta.

Luminositeetti vastaa transmittanssia. Se muuttuu käänteisesti viinin värin voimakkuuden kanssa.

Kromaattisuus vastaa hallitsevaa aallonpituutta (joka luonnehtii värisävyä) ja puhtautta.

Perinteisesti ja mukavuussyistä, puna- ja roseeviinien väriominaisuudet esitetään värin intensiteettinä ja sävynä noudattaen tavanomaiseksi menetelmäksi omaksuttua menettelytapaa.

1.2 Menetelmien periaate

1.2.1 Vertailumenetelmä

Spektrofotometrinen menetelmä, jolla voidaan määrittää tristimulusarvot ja kolme värikoordinaattia, joitatarvitaan värin laatuvaatimuksille kansainvälisen valaistustoimikunnan (CIE) mukaisesti.

1.2.2 Tavanomainen menetelmä (sovellettavissa puna- ja roseeviineihin)

Spektrofotometrinen menetelmä, jolla väriominaisuudet ilmoitetaan perinteisesti seuraavalla tavalla:

Väri-intensiteetti annetaan aallonpituuksilla 420, 520 ja 620 nm mitattujen niiden absorbanssien summana, jotka saadaan 1 cm:n optisella pituudella.

Värisävy ilmoitetaan absorbanssien suhteena 420 ja 520 nm:ssä.

1.3 Vertailumenetelmä

1.3.1 Välineistö

1.3.1.1 Spektrofotometri, jolla voidaan tehdä mittaukset 300-700 nm:n välillä.

1.3.1.2 Pareittain saatavissa olevia lasikyvettejä, joiden optinen pituus b on 0,1; 0,2; 0,5; 1; 2 ja 4 cm.

1.3.2 Suoritus

1.3.2.1 Näytteen valmistaminen

Samea viini on kirkastettava sentrifugoimalla.

Mahdollisimman suuri määrä uusien viinien ja kuohuviinien sisältämästä hiilidioksidista on poistettava ravistelemalla vakuuissa.

1.3.2.2 Mittaukset

Käytettävien kyvetien optinen pituus, b , on valittava siten, että mitattu absorbanssi on välillä 0,3-0,7.

Ohjeellisesti on suositeltavaa käyttää valkoviinejä määritettäessä kyvettejä, joiden optinen pituus on 2 cm (tai 4 cm), roseeviinejä määritettäessä kyvettejä, joiden optinen pituus on 1 cm, ja punaviinejä määritettäessä kyvettejä, joiden optinen pituus on 0,1 cm (tai 0,2 cm).

Spektrofotometriset mittaukset tehdään käyttäen vertailuliuksena tislattua vettä, saman optisen pituuden, b , omaavassa kyvetissä, absorbanssiasteikon nollakohdan säätämiseksi aallonpituuksilla 445, 495, 550 ja 625 nm.

Viinille mitataan optisella pituudella b neljä absorbanssia, A_{445} , A_{495} , A_{530} ja A_{625} (kolmella desimaalilla).

▼B

1.3.3 Laskeminen

Käyttäen taulukossa 1 esitettyjä b cm optisen pituuden absorbanssiarvoja etsitään vastaavat trans mittanssit (T %): T_{445} , T_{495} , T_{550} ja T_{625} .

— Lasketaan tristimulusarvot X, Y ja Z, ilmoitettuna kymmenmurtolukuina:

$$X = 0,42 \times T_{625} + 0,35 \times T_{550} + 0,21 \times T_{445}$$

$$Y = 0,20 \times T_{625} + 0,63 \times T_{550} + 0,17 \times T_{495}$$

$$Z = 0,24 \times T_{495} + 0,94 \times T_{445}$$

— Lasketaan värikoordinaatit x ja y:

$$x = \frac{X}{X + Y + Z} \quad y = \frac{Y}{X + Y + Z}$$

1.3.4 Tulosten ilmoittaminen

1.3.4.1 Suhteellinen luminositeetti annetaan Y:n arvona prosentteina. (Musta Y % = 0, väritön: Y % = 100).

1.3.4.2 Kromaattisuus ilmoitetaan hallitsevalla aallonpituudella ja puhtaudella.

Näiden määrittämiseen käytetään spektripaikoilla yhdistettyä kromaattisuusdiagrammia, joka määritellään kuviossa 1. O-piste vastaa käytettyä valkoista valonlähdettä ja edustaa standardilähteen C koordinaatteja $x_o = 0,3101$ ja $y_o = 0,3163$, joka edustaa keskimääräisen kirkkauden omaavaa päivänvaloa.

— Hallitseva aallonpituus

Sijoitetaan kromaattisuusdiagrammiin x ja y koordinaatein piste C. Jos piste C sijaitsee kolmion AOB ulkopuolella, piirretään suora, joka yhdistää pisteen O pisteeseen C, ja jatketaan sitä, kunnes se leikkaa spektripaikan pisteessä S, joka vastaa hallitsevaa aallonpituutta.

Jos piste C sijaitsee kolmion AOB sisäpuolella, piirretään suora C:stä O:hon; se leikkaa spektripaikan pisteessä, joka vastaa viinin komplementtiväriä aallonpituutta. Tämä aallonpituus ilmoitetaan arvona, jota seuraa kirjain C.

— Puhtaus:

Jos piste C sijaitsee kolmion AOB ulkopuolella, puhtaus ilmoitetaan prosentteina suhteella:

$$100 \times \frac{\text{etäisyys C : stä O : hon}}{\text{etäisyys O : sta S : ään}}$$

Jos piste C sijaitsee kolmion AOB sisäpuolella, puhtaus ilmoitetaan prosentteina suhteella:

$$\frac{100 \times \text{etäisyys C : stä O : hon}}{\text{etäisyys O : st P : hen}}^{(1)}$$

Piste P on piste, jossa suora OC leikkaa purppuralinjan.

Puhtaus annetaan myös suoraan kromaattisuusdiagrammissa tunnetuista arvoista x ja y (kuviot 2, 3, 4, 5 ja 6).

1.3.4.3 Tulokset

Luminositeetti, kromaattisuus (ilmoitettuna hallitsevalla aallonpituudella) ja puhtaus määrittävät täydellisesti viininvann.

Ne on ilmoitettava määrittelyselosteessa, samoin kuin optinen pituus, jolla mittaukset tehtiin.

▼M8

⁽¹⁾ Tämä etäisyys on annettava suunnassa O:sta C:hen.



TAULUKKO 1

Absorbanssien muuttaminen transmittansseiksi (T %)*Käyttöohje:*

Luetaan absorbanssiarvon ensimmäinen desimaali pystysuorasta sarakkeesta 1 ja toinen desimaalivaakasuorasta sarakkeesta 2.

Luetaan niiden leikkauskohdassa sijaitseva luku. Transmittanssin saamiseksi tämä luku on jaettava 10:llä jos absorbanssin arvo on alle 1, 100:lla jos se on välillä 1-2, 1 000:lla jos se on välillä 2-3.

Huomautus:

Jokaisen lokeron oikeassa yläkulmassa olevan luvun avulla voidaan ottaa interpoloimalla huomioon absorbanssiarvon kolmas desimaali.

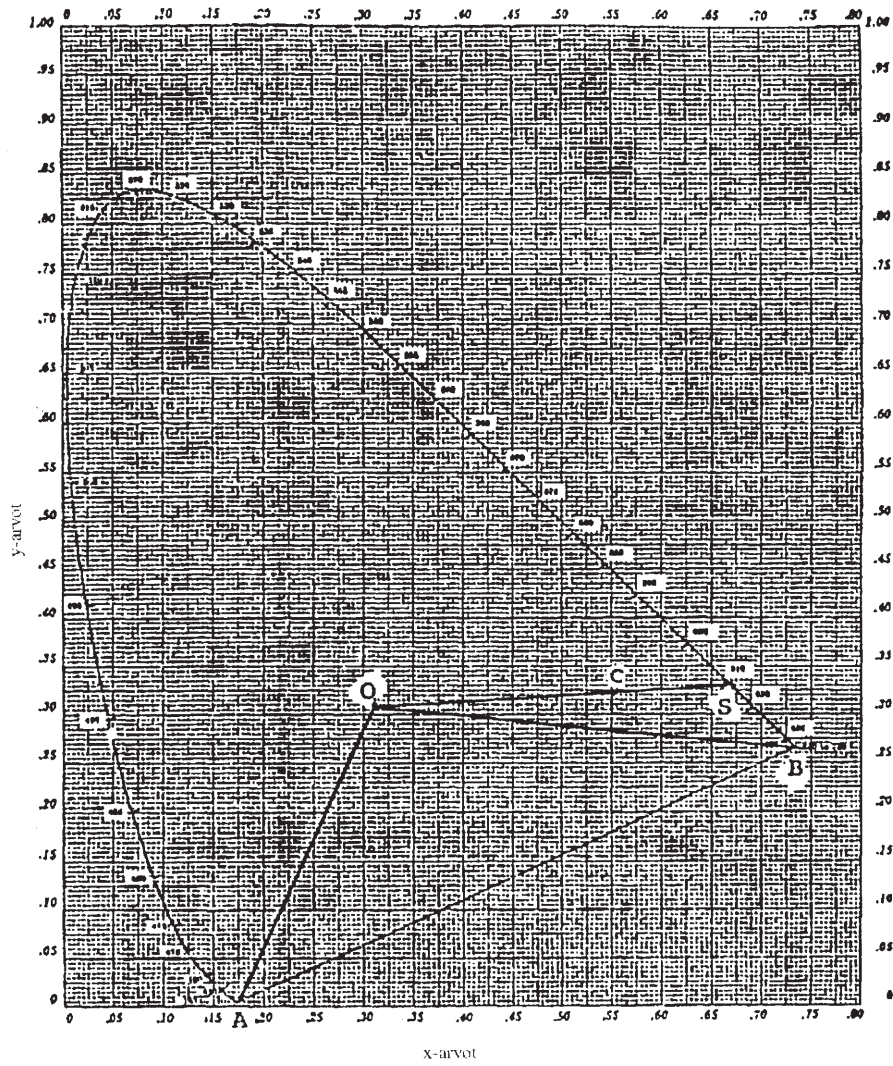
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	1000 ²³	977 ²²	955 ²²	933 ²¹	912 ²¹	891 ²⁰	871 ²⁰	851 ¹⁹	832 ¹⁹	813 ¹⁹
1	794 ¹⁸	776 ¹⁸	759 ¹⁷	741 ¹⁷	724 ¹⁶	708 ¹⁶	692 ¹⁶	676 ¹⁵	661 ¹⁵	646 ¹⁵
2	631 ¹⁴	617 ¹⁴	603 ¹⁴	589 ¹⁴	575 ¹³	562 ¹³	549 ¹³	537 ¹²	525 ¹²	513 ¹²
3	501 ¹¹	490 ¹¹	479 ¹¹	468 ¹¹	457 ¹⁰	447 ⁹	436 ⁹	427 ¹⁰	417 ¹⁰	407 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

Exempel:

Absorbans	0,47	1,47	2,47	3,47
T%	33,9 %	3,4 %	0,3 %	0 %

Transmittanssit T % on ilmoitettava 0,1 %:n tarkkuudella

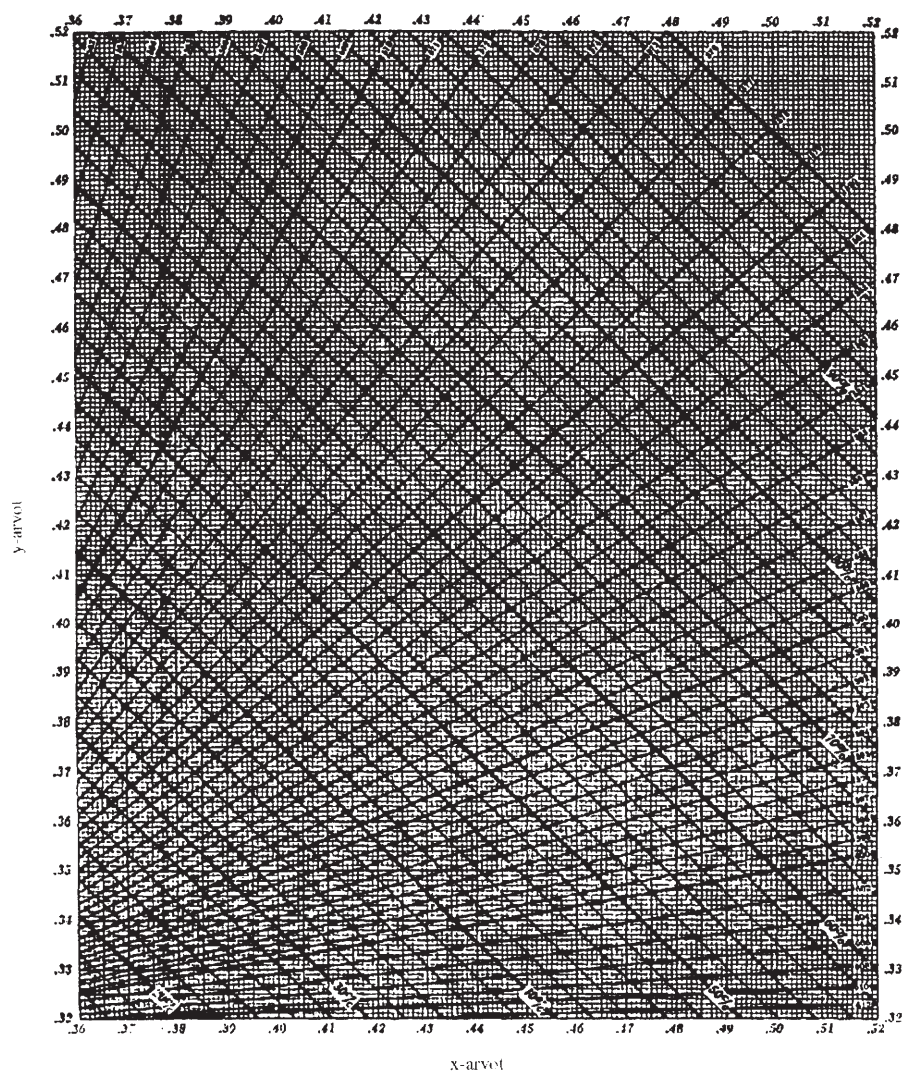
▼B



KUVA 1

Kromaattisuusdiagrammi, jossa on kaikki spektrin värit

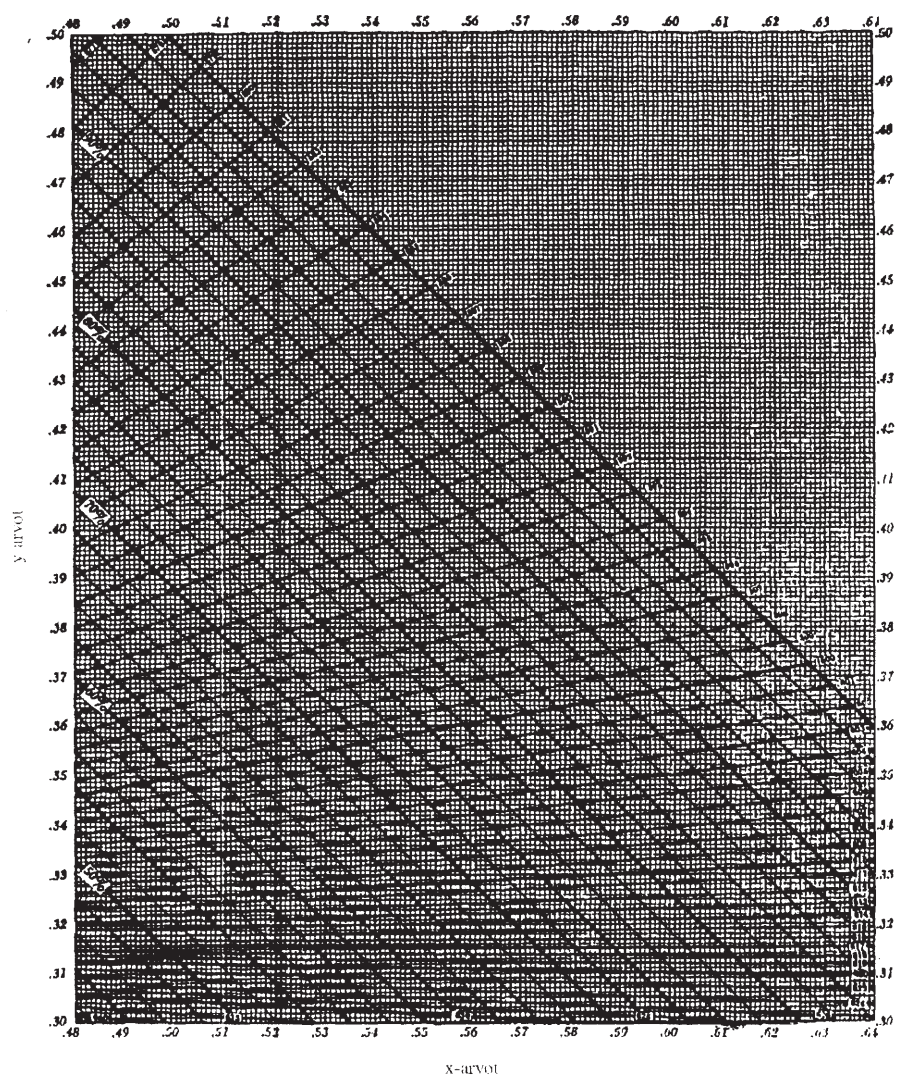
▼B



KUVA 2

Kromaattisuusdiagrammi heleänpunaisille punaviineille ja ruskean-punaisille punaviineille

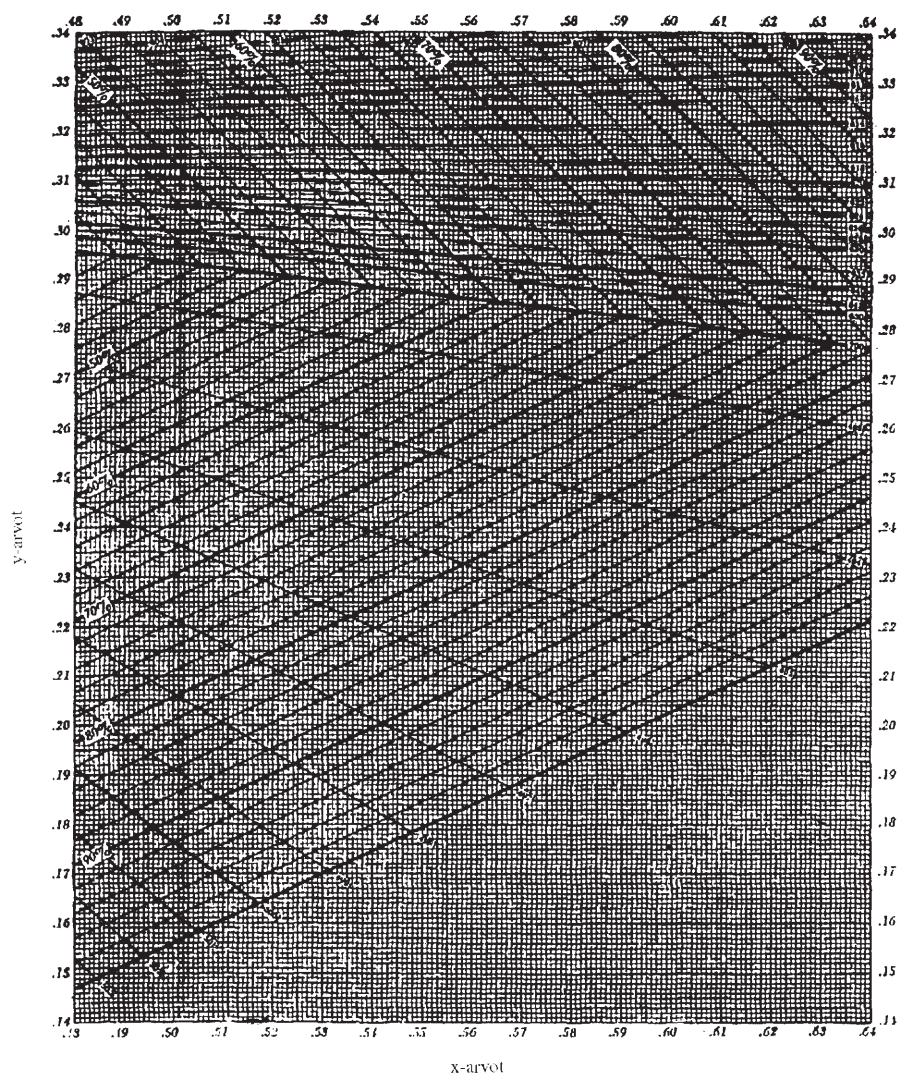
▼B



KUVA 3

Kromaattisuusdiagrammi heleänpunaisille punaviineille ja ruskean-punaisille punaviineille

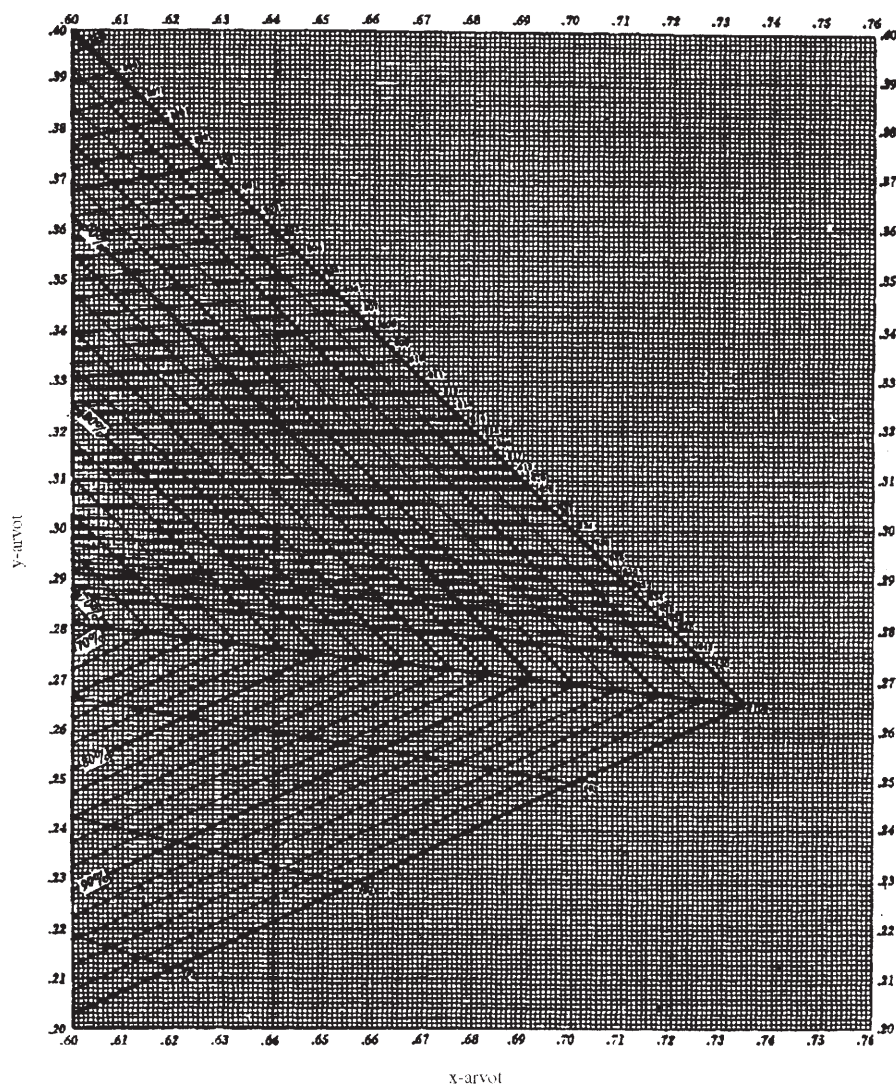
▼B



KUVA 4

Kromaattisuusdiagrammi heleänpunaisille punaviineille ja purp-
 puranpunaisille punaviineille

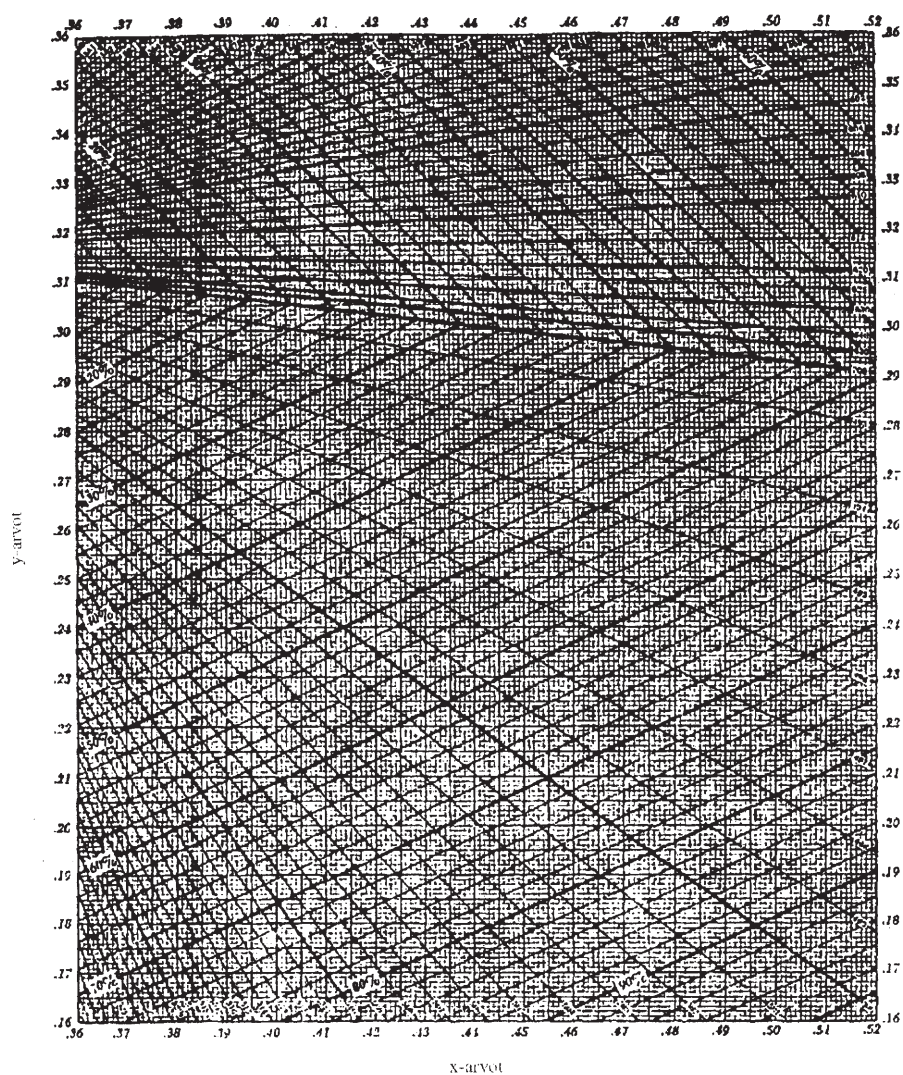
▼B



KUVA 5

Kromaattisuusdiagrammi heleänpunaisille punaviineille ja purp-
 puranpunaisille punaviineille

▼B



KUVA 6

Kromaattisuusdiagrammi ruskeanpunaisille punaviineille ja purp-
 puranpunaisille punaviineille

▼B**2 PUHDISTETUT TIIVISTETYT RYPÄLEMEHUT****2.1 Periaate**

Mitataan absorbanssi 452 nm:ssä 1 cm:n paksuudessa sen jälkeen, kun puhdistetun tiivistetyn rypälemehunsokerikonsentraatio on saatettu 25 %:ksi (m/m) (25 °CBrix).

2.2 Laitteet

2.2.1 Spektrofotometri, jolla voidaan tehdä mittauksia välillä 300-700 nm.

2.2.2 Lasikyvettejä, joiden optinen pituus on 1 cm.

2.2.3 Kalvosuodatin, jonka huokoisuus on 0,45 µm.

2.3 Suoritus**2.3.1 Näytteen valmistaminen**

Käytetään liuosta, jonka sokeripitoisuus on 25 % (m/m) (25 °CBrix) ja joka on valmistettu luvun ”pH” 4.1.2 kohdassa kuvatulla tavalla. Suodatetaan kalvosuodattimen läpi, jonka huokoisuus on 0,45 µm.

2.3.2 Absorbanssin määrittäminen

Säädetään absorbanssin nollakohta aallonpituudella 425 nm käyttäen tislattua vettä sisältävää kyvetiä, jonka optinen pituus on 1 cm.

Mitataan 25 % (25 °CBrix) sokeria sisältävän nesteen, joka on valmistettu 2.3.1 kohdassa kuvatullatavalla, 1 cm:n optisen pituuden omaavassa kyvetissä, absorbanssi A samalla aallonpituudella.

2.4 Tulosten ilmoittaminen

25 % (m/m) sokeria sisältävän (25 °CBrix) puhdistetun tiivistetyn rypälemehun absorbanssi 425 nm:ssä ilmoitetaan kahdella desimaalilla.

▼B

41. FOLIN-CIOCALTEU-LUKU

1 MÄÄRITELMÄ

Folin-Ciocalteu-luku on jäljempänä kuvatulla menetelmällä saatu tulos.

2 PERIAATE

Kaikki viinin sisältämät fenoliset yhdisteet hapetetaan Folin-Ciocalteu-reagenssilla. Reagenssi koostuu fosforylframiinihapon ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) ja fosfomolybdeenihapon ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$) seoksesta, joka pelkistyy fenolien hapettuessa siniseksi volframi- (W_8O_{23}) ja molybdeenioksidiiksi (Mo_8O_{23}).

Sinisen värin absorptio on korkeimmillaan noin 750 nm:ssä. Se on verrannollinen fenolisten yhdisteiden kokonaismäärään.

3 REAGENSIT

Reagenssien on oltava analyysilaatua. Käytetyn veden on oltava tislattua vettä tai vastaavan puhtausasteenomaavaa vettä.

3.1 Folin-Ciocalteu-reagenssi

Tätä reagenssia on kaupallisesti saatavissa suoraan käytettävässä muodossa. Se voidaan valmistaa seuraavasti: liuotetaan 100 g natriumvolframaattia ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) ja 25 g natriummolybdaattia ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) 700 ml:aan tislattua vettä; lisätään 50 ml 85 % fosforihappoa ($\rho = 1,71 \text{ g/ml}$) ja 100 ml väkevää kloorivetyhappoa ($\rho = 1,19 \text{ g/ml}$). Kuumennetaan kiehuvaan ja keitetään 10 tuntiapysty-jäähdyttimellä varustetussa kolvissa, tämän jälkeen lisätään 150 g litiumsulfaattia ($\text{Li}_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), muutama bromitippa ja keitetään uudelleen 15 minuutin ajan. Jäähdytetään ja täytetään yhdeksi litraksi tislattulla vedellä.

3.2 Vedetön natriumkarbonaatti (Na_2CO_3), 20 % (m/v) -liuos.

4 VÄLINEISTÖ

Tavalliset laboratoriovälineet ja erityisesti:

4.1 100 ml:n mittapulloja.

4.2 Spektrofotometri, jota voidaan käyttää 750 nm:ssä.

5. SUORITUS

5.1 Punaviinit

Mitataan 100 ml:n (4.1) mittapulloon seuraavassa järjestyksessä:

1 ml suhteessa 1/5 laimennettua viiniä,

50 ml tislattua vettä,

5 ml Folin-Ciocalteu-reagenssia (3.1),

20 ml natriumkarbonaattiliuosta (3.2).

Täytetään 100 ml:ksi tislattulla vedellä.

Homogenoidaan ravistelemalla. Odotetaan 30 minuuttia reaktion tasoitumista. Määritetään absorbanssi 750 nm:ssä 1 cm:n optisella pituudella suhteessa vertailunäytteeseen, jossa on käytetty viinin sijasta tislattua vettä.

Jos absorbanssi ei ole lähellä 0,3:a, on viinin laimennusta muutettava.

5.2 Valkoviinit

Tehdään määrittäminen samalla tavalla 1 ml:sta laimentamatonta viiniä.

▼B**5.3 Puhdistetut tiivistetyt rypälemehut****5.3.1 Näytteen valmistaminen**

Käytetään liuosta, jonka sokeripitoisuus on 25 % (m/m) (25 °CBrix) ja joka on valmistettu luvun ”pH” 4.1.2 kohdassa kuvatulla tavalla.

5.3.2 Mittaus

Tehdään mittausta samalla tavoin kuin punaviineille (5.1) 5 ml:sta 5.3.1 kohdan mukaisesti valmistettuanäytettä ja mitataan absorbanssi suhteessa vertailunäytteeseen, joka on valmistettu 5 ml:sta 25 % (m/m)inverttisokeriliuosta.

6. TULOSTEN ILMOITTAMINEN**6.1 Laskentatapa**

Tulos ilmoitetaan lukuna, joka saadaan kertomalla absorbanssi 100:lla, jos kyseessä ovat suhteessa 1/5 laimennetut punaviinit (tai käytettyä laimennusta vastaavalla kertoimella), ja 20:llä, jos kyseessä ova tvalkoviinit. Kun kyseessä ovat puhdistetut tiivistetyt rypälemehut, absorbanssi kerrotaan 16:lla.

6.2 Toistettavuus

Samankahden kahden samanaikaisesti tai nopeasti peräkkäin tekemän määrittelyn välinen ero ei saa olla yli 1.

Tulosten hyvä toistettavuus saavutetaan käyttämällä erittäin puhtaita välineitä (mittapullot ja spektrofotometrin kyvetit).

▼B

42. PUHDISTETTujen TIIVISTETTYJEN RYPÄLEMEHUJEN
ERITYISET MÄÄRITYSEENETELMÄT

a) KATIONIEN KOKONAISMÄÄRÄ

1 PERIAATE

Käsitellään näyte vahvasti happamalla kationinvaihtajalla. Kationit vaihdetaan H⁺:ksi. Ne ilmoitetaan eluaatin kokonaishappopitoisuuden ja näytteen kokonaishappopitoisuuden erotuksena.

2 VÄLINEISTÖ

2.1 Pituudeltaan noin 300 mm ja sisähalkaisijaltaan 10-11 mm oleva lasikolonne, jossa on hana.

2.2 pH-mittari, jonka asteikko on jaettu vähintään 0,1 pH-yksiköihin.

2.3 Elektrodit:

— lasielektrodi, säilytetään tislatussa vedessä.

— kalomeli/kyllästetty kaliumkloridi-vertailuelektrodi, säilytetään kylästätyssä kaliumkloridiliuoksessa,

— tai yhdistetty elektrodi, säilytetään tislatussa vedessä.

3 REAGENSsit

3.1 Vahvasti hapan kationinvaihtaja H⁺-muodossa. Ennen käyttöä hartsia on turvotettava vedessä yli yön.

3.2 0,1 M natriumhydroksidiliuos.

3.3 pH-indikaattoripaperi.

4 SUORITUS

4.1 Näytteen valmistaminen

Käytetään liuosta, joka on saatu laimentamalla puhdistettu tiivistetty rypälemehu 40 %:ksi (m/v) luvun ”Kokonaishappopitoisuus” 5.1.2 kohdassa kuvatulla tavalla.

4.2 Ioninvaihtokolonnin valmistaminen

Asetetaan kolonniin noin 10 ml H⁺ -muodossa olevaa paisutettua ioninvaihtohartsia; huuhdellaan kolonnia tislatussa vedellä, kunnes happo on peseytynyt pois; tämä todetaan indikaattoripaperilla.

4.3 Ioninvaihto

Valutetaan kolonnin läpi 100 ml puhdistetusta tiivistetystä rypälemehusta 4.1 kohdan mukaisesti valmistettua liuosta 1 tippa sekunnissa. Kerätään eluaatti mittalasiin. Huuhdotaan kolonne 50 ml:lla tislattua vettä. Titrataan eluaatin happopitoisuus (mukaan lukien huuhteluvesi) 0,1 M natriumhydroksidiliuoksella pH-arvoon 7 20 °C:ssa. Emäksistä liuosta on lisättävä hitaasti ja liuosta on ravisteltava koko ajan. Käytetyn 0,1 M natriumhydroksidiliuoksen tilavuus on n ml.

5 TULOSTEN ILMOITTAMINEN

Kationien kokonaismäärä ilmoitetaan milliekvivalentteina kilogrammassa kokonaissokeria yhdellä desimaalilla.

5.1 Laskeminen

— Eluaatin happopitoisuus ilmoitettuna milliekvivalentteina kilogrammassa puhdistettua tiivistettyä rypälemehua:

$$E = 2,5 \times n.$$

— Puhdistetun tiivistetyn rypälemehun kokonaishappopitoisuus milliekvivalentteina kilogrammassa (ks. ”Kokonaishappopitoisuus” 6.1.2 kohta): a

▼B

— Kationien kokonaismäärä milliekvivalentteina kilogrammassa kokonaissokeria:

$$\frac{2,5 \text{ n} - a}{P} \times 100$$

P = kokonaissokerien pitoisuus prosentteina (m/m).

b) JOHTOKYKY

1 PERIAATE

Nestepatsaan sähkönjohtavuus määritetään kahdella samansuuntaisella platinaelektrodilla, jotka muodostavat yhden haaran Wheatstonen sillan kytkennässä.

Johtokyky vaihtelee lämpötilan mukaan. Se ilmoitetaan 20 °C:ssa.

2. LAITE

2.1 Johtokykymittari, jolla voidaan tehdä johtokykymittauksia alueella 1-1 000 mikrosiemensiä/cm.

2.2 Vesihaude, jolla voidaan saattaa määritettävien näytteiden lämpötila noin 20 °C:seen (20 ± 2 °C).

3 REAGENSIT

3.1 Demineralisoitu vesi, jonka ominaisjohtokyky on alle 2 mikrosiemensiä/cm 20 °C:ssa.

3.2 Kaliumkloridivertailuliuos.

Liuotetaan 0,581 g aiemmin 105 °C:ssa vakiopainoon kuivattua kaliumkloridia, KCl, demineralisoituun veteen (3.1). Täytetään yhdeksi litraksi demineralisoidulla vedellä (3.1). Tämä liuoksen johtokyky on 1 000 mikrosiemensiä/cm 20 °C:ssa. Se säilyy 3 kuukautta.

4 SUORITUS

4.1 Näytteen valmistaminen määrittystä varten

Käytetään liuosta, jonka kokonaissokenpitoisuus on 25 % (m/m) (25 °CBrix), kuten kuvataan luvun ”pH:n määrittäminen” 4.1.2 kohdassa.

4.2 Johtokyvyn määrittäminen

Saatetaan määritettävä näyte 20 °C:seen vesihauteessa. Pidetään lämpötila vakiona 0,1 °C:n tarkkuudella.

Huuhdotaan johtokykymittarin mittauskenno kaksi kertaa tutkittavalla liuoksella.

Mitataan johtokyky ilmoitettuna mikrosiemenseinä senttimetriä kohti.

5. TULOSTEN ILMOITTAMINEN

Puhdistetusta tiivistetystä rypälemehusta valmistetun 25 % (m/m) (25 °CBrix) liuoksen johtokyky ilmoitetaan kokonaislukuna mikrosiemenseinä senttimetriä kohti (Scm⁻¹) 20 °C:ssa.

5.1 Laskeminen

Jos laitteessa ei ole lämpötilankompensoijaa, mitattu johtokyky korjataan taulukon 1 avulla. Jos lämpötila on alle 20 °C, lisätään korjaus; jos lämpötila on yli 20 °C, vähennetään korjaus.



TAULUKKO 1

Johtokykyyn tehtävät korjaukset, kun lämpötila eroaa 20 °C:sta, mikrosiemenseinä cm^{-1}

Johtokyky	Lämpötilat									
	20,2 19,8	20,4 19,6	20,6 19,4	20,8 19,2	21,0 19,0	21,2 18,8	21,4 18,6	21,6 18,4	21,8 18,2	22,0 ⁽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⁾ Korjaus vähennetään.⁽²⁾ Korjaus lisätään.

c) HYDROKSHIMETYLYLIFURFURAALI

1 MENETELMIEN PERIAATE

1.1 Kolorimetrisen menetelmä

Furaanista johdetut aldehydit, joista tärkein on hydroksimetyylifurfuraali, reagoivat barbituurihapon ja paratoluidiinin kanssa ja reaktiossa syntyy punainen yhdiste, joka määritetään kolorimetrisesti 550 nm:ssä.

1.2 Suuren erotuskyvyn nestekromatografia

Erottaminen kolonnissa käänteisfaasilla ja määrittäminen 280 nm:ssä.

2. KOLORIMETRINEN MENETELMÄ

2.1 Laitteet

2.1.1 Spektrofotometri, jolla voidaan tehdä mittauksia välillä 300-700 nm.

2.1.2 Lasikyvettejä, optinen pituus 1 cm.

2.2 Reagenssit

2.2.1 Barbituurihappo, 0,5 % liuos (m/v)

Liuotetaan 500 mg barbituurihappoa, $\text{C}_4\text{O}_3\text{N}_2\text{H}_4$, tislattuun veteen lämmittäen hieman 100 °C:ssa vesihautessa; täytetään 100 ml:ksi tislattulla vedellä. Liuos säilyy noin yhden viikon.

2.2.2 Paratoluidiini, 10 % liuos (m/v)

Mitataan 10 g paratoluidiinia, $\text{C}_6\text{H}_4(\text{CH}_3)\text{NH}_2$, 100 ml:n mittapulloon; lisätään 50 ml isopropanolia, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$, ja 10 ml jäätikkää, CH_3COOH ($\rho_{20} = 1,05 \text{ g/ml}$); täytetään 100 ml:ksi isopropanolilla. Tämä liuos on uusittava päivittäin.

2.2.3 Asetaldehydi (CH_3CHO), 1 % vesiliuos (m/v)

Valmistetaan juuri ennen käyttöä.

2.2.4 Hydroksimetyylifurfuraali, $\text{C}_6\text{O}_3\text{H}_6$, 1 g/l vesiliuos

Valmistetaan perättäisillä laimennuksilla liuokset, joiden pitoisuudet ovat 5; 10; 20; 30 ja 40 mg/l. Pitoisuudeltaan 1 g/l oleva liuos ja sen laimennokset on valmistettava juuri ennen käyttöä.

▼B**2.3 Suoritus****2.3.1 Näytteen valmistaminen**

Käytetään liuosta, joka on saatu laimentamalla puhdistettu tiivistetty rypälemehu 40 %:ksi (m/v) luvun "Kokonaishappopitoisuus" 5.1.2 kohdan mukaisesti. Tehdään määrittäminen 2 ml:sta tätä liuosta.

2.3.2 Kolorimetrinen määrittäminen

Mitataan kahteen 25 ml:n hiostulupalliseen pulloon *a* ja *b* 2 ml näytettä, joka on valmistettu 2.3.1 kohdan mukaisesti. Mitataan molempiin pulloihin 5 ml paratoluidiiniliuosta (2.2.2); sekoitetaan. Lisätään pulloon *b* (vertailu) 1 ml tislattua vettä, ja pulloon *a* (mittaus) 1 ml barbituurihappoliuosta (2.2.1). Homogenoidaan ravistelemalla. Siirretään pullojen sisältö spektrofotometrin 1 cm:n kyvetteihin. Säädetään absorbanssiasteikon nollakohta aallonpituudelle 550 nm käyttäen pullon *b* sisältöä, seurataan pullon *a* sisällön absorbanssin muutosta; mitataan sen suurin arvo *A*, joka saavutetaan 2-5 minuutissa.

Näytteet, joiden hydroksimetyylifurfuraalipitoisuus on yli 30 mg/l, on laimennettava ennen määrittäystä.

2.3.3 Kalibrointikäyrän laatiminen

Mitataan kahteen 25 ml:n pulloon *a* ja *b* 2 ml hydroksimetyylifurfuraaliliuoksia, joiden pitoisuudet ovat 5; 10; 20; 30 ja 40 mg/l (2.2.4) ja käsitellään ne 2.3.2 kohdassa kuvatulla tavalla.

Graafinen kuvaaja, joka esittää absorbanssin muutoksen vertailuliuosten hydroksimetyylifurfuraalipitoisuuksien milligrammoina litrassa funktiona on origon kautta kulkeva suora.

2.4 Tulosten ilmoittaminen

Puhdistettujen tiivistettyjen rypälemehujen hydroksimetyylifurfuraalipitoisuus ilmoitetaan milligrammoina kilogrammassa kokonaissokeria.

2.4.1 Laskentatapa

Määritettävän näytteen hydroksimetyylifurfuraalipitoisuus *C* mg/l on kalibrointikäyrältä saatava pitoisuus, joka vastaa tästä näytteestä mitattua absorbanssia *A*.

Hydroksimetyylifurfuraalipitoisuus milligrammoina kilogrammassa kokonaissokeria:

$$250 \times \frac{C}{P}$$

P = puhdistetun tiivistetyn rypälemehun kokonaissokerien pitoisuus prosentteina (m/m).

3. SUUREN EROTUSKYVYN NESTEKROMATOGRAFIA**3.1 Laitteet****3.1.1 Suuren erotuskyvyn nestekromatografi, jossa on:**

- 5-10 µl injektointiluuhi,
 - detektori, spektrofotometri, jolla voidaan tehdä mittauksia 280 nm:ssä,
 - kolonni, silikaan sidottu oktadesyyli (esimerkiksi: Bondapak C₁₈ - Corasil, Water Ass.),
 - piirturi ja mahdollisesti integraattori.
- Liikkuvan faasin virtausnopeus: 1,5 ml/min.

3.1.2 Kalvosuodatuslaitteisto (0,45 µm)**3.2 Reagenssit**

- 3.2.1 Kahdesti tislattu vesi.
- 3.2.2 Metanoli, CH₃OH, tislattu tai HPLC-laatu.
- 3.2.3 Etikkahappo, CH₃COOH (ρ₂₀ = 1,05 g/ml).

▼B

- 3.2.4 Liikkuva faasi: vesi-metanoli (3.2.2) - etikkahappo (3.2.3) suodatettu kalvosuodattimen (0,45 µm) läpi, (40 - 9 - 1 v/v).

Tämä liikkuva faasi on valmistettava päivittäin ja kaasut on poistettava ennen käyttöä.

- 3.2.5 Hydroksimetyylifurfuraalivertailuliuos, 25 mg/l (m/v).

Mitataan 100 ml:n mittapulloon tarkalleen 25 mg hydroksimetyylifurfuraalia, $C_6H_3O_6$, ja täytetään tilavuus merkkiin metanolilla (3.2.2). Tämä liuos laimennetaan metanolilla (3.2.2) suhteessa 1/10 ja suodatetaan kalvosuodattimen (0,45 µm) läpi.

Ruskeassa ilmatiiviisti suljetussa pullossa jääkaapissa säilytettynä tämä liuos säilyy 2-3 kuukautta.

3.3 Suoritus

3.3.1 Näytteen valmistaminen

Käytetään liuosta, joka on saatu laimentamalla puhdistettu tiivistetty rypälemehu 40 %:ksi (m/v) luvun "Kokonaishappopitoisuus" 5.1.2 kohdan mukaisesti ja suodattamalla liuos kalvosuodattimen (0,45 µm) läpi.

3.3.2 Kromatografinen määrittäminen

Injektoidaan kromatografiin 5 (tai 10) µl 3.3.1 kohdan mukaisesti valmistettua näytettä ja 5 (tai 10) µl hydroksimetyylifurfuraalivertailuliosta (3.2.5). Tulostetaan kromatogrammi.

Hydroksimetyylifurfuraalin retentioaika on noin 6-7 minuuttia.

3.4 Tulosten ilmoittaminen

Puhdistettujen tiivistettyjen rypälemehujen hydroksimetyylifuriuraalipitoisuus ilmoitetaan milligrammoina kilogrammassa kokonaissokeria.

3.4.1 Laskentatapa

Puhdistetusta tiivistetystä rypälemehusta saadun 40 % (m/v) liuoksen hydroksimetyylifurfuraalipitoisuus on C mg/l.

Hydroksimetyylifurfuraalipitoisuus milligrammoina kilogrammassa kokonaissokeria:

$$\frac{250 \times C}{P}$$

P = puhdistetun tiivistetyn rypälemehun kokonaissokerien pitoisuus prosentteina (m/m).

d) RASKASMETALLIT

1. PERIAATTEET

I. Raskasmetallien nopea arviointimenetelmä

Raskasmetallit osoitetaan sopivasti laimennetusta puhdistetusta tiivistetystä rypälemehusta värillä, jonka sulfidien muodostuminen tuottaa. Ne arvioidaan vertaamalla Iyijyvertailuliokseen, joka vastaa korkeinta hyväksyttyä pitoisuutta.

II. Lyijypitoisuuden määrittäminen atomiabsorptiospektrofotometrisesti

Kelaatti, jonka lyijy muodostaa ammoniumpyrrolidiiniditiokarbamaatin kanssa, uutetaan metyyli-isobutyliketonilla ja absorbanssi mitataan 283,3 nm:ssä. Lyijypitoisuus määritetään lisäysmenetelmällä.

2. RASKASMETALLIEN NOPEA ARVIOINTIMENETELMÄ

2.1 Reagenssit

2.1.1 Laimennettu kloorivetyhappo, 70 % (m/v)

Mitataan 70 g kloorivetyhappoa (HCl), ($\rho_{20} = 1,16-1,19$ g/ml), ja täytetään vedellä 100 ml:ksi.

▼B

- 2.1.2 *Laimennettu kloorivetyhappo, 20 % (m/v)*
Mitataan 20 g kloorivetyhappoa (HCl), ($\rho_{20} = 1,16-1,19$ g/ml), ja täytetään vedellä 100 ml:ksi.
- 2.1.3 *Laimennettu ammoniakki*
Mitataan 14 g ammoniakkaa (NH_3), ($\rho_{20} = 0,931-0,934$ g/ml), ja täytetään vedellä 100 ml:ksi.
- 2.1.4 *Puskuriliuos, pH 3,5*
Liuotetaan 25 g ammoniumasetaattia ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) 25 ml:aan vettä ja lisätään 38 ml laimennettua kloorivetyhappoa (2.1.1). Tarpeen vaatiessa säädetään pH laimennetulla rikkihapolla (2.1.2) tai laimennetulla ammoniakilla (2.1.3) ja täytetään vedellä 100 ml:ksi.
- 2.1.5 *Tioasetamidiliuos, ($\text{C}_2\text{H}_5\text{NS}$), 4 % (m/v)*
- 2.1.6 *Glyseroliliuos ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$), 85 % (m/v)*
($n_{\text{D}}^{20} \text{ } ^\circ\text{C} = 1,449-1,455$).
- 2.1.7 *Tioasetamidireagenssi*
Lisätään 0,2 ml:aan tioasetamidiliuosta (2.1.5) 1 ml seosta, jossa on 5 ml vettä, 15 ml 1 M natriumhydroksidiliuosta ja 20 ml glyserolia (2.1.6). Lämmitetään $100 \text{ } ^\circ\text{C}$:ssa vesihauteessa 20 sekuntia. Valmistetaan juuri ennen käyttöä.
- 2.1.8 *Lyijyliuos, 0,002 g/l*
Valmistetaan 1 g/l lyijyä sisältävä liuos liuottamalla veteen 0,400 g lyijynitraattia, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, ja täytetään vedellä 250 ml:ksi. Laimennetaan tämä liuos vedellä juuri ennen käyttöä 2%:ksi, jotta saadaan lyijyä 0,002 g/l sisältävä liuos.
- 2.2 **Suoritus**
Liuotetaan puhdistetusta tiivistetystä rypälemehusta otettu 10 g:n suuruinen näyte 10 ml:aan vettä. Lisätään 2 ml puskuriliuosta, jonka pH-arvo on 3,5 (2.1.4); sekoitetaan. Lisätään 1,2 ml tioasetamidireagenssia (2.1.7). Sekoitetaan viipymättä. Valmistetaan vertailunäyte samoissa koeolosuhteissa käyttäen 10 ml lyijyä 0,002 g/l sisältävää liuosta (2.1.8).

Puhdistettuun tiivistettyyn rypälemehuun mahdollisesti muodostunut ruskea väri ei saa olla kahden minuutin kuluttua tummempi kuin vertailuliuoksen väri.
- 2.3 **Laskeeminen**
Käytetyissä koeolosuhteissa vertailukoe vastaa korkeinta hyväksyttyä raskasmetallipitoisuutta ilmoitettunalyijynä 2 mg/kg:ssa puhdistettua tiivistettyä rypälemehua.
- 3 **LYLTYPITOISUUDEN MÄÄRITTÄMINEN ATOMIABSORPTIOSPEKTROFOTOMETRILLÄ**
- 3.1 **Laitteet**
- 3.1.1 Atomiabsorptiospektrofotometri, jossa on ilma-asetyleenipoltin.
- 3.1.2 Lyijyonttokatodilamppu.
- 3.2 **Reagenssit**
- 3.2.1 Laimennettu etikkahappo.
Mitataan 12 g jääetikkaa ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml) ja täytetään vedellä 100 ml:ksi.
- 3.2.2 Ammoniumpyrrolidiiniditiokarbamaattiliuos $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}_2\text{S}_2$, 1 % (m/v).
- 3.2.3 Metyyli-isobutyryliketoni, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{COCH}_3$.
- 3.2.4 Lyijyliuos, joka sisältää lyijyä 0,010 g/l.
Laimennetaan 1 g/l lyijyä sisältävä lyijyliuos (2.1.8) 1 %:ksi (v/v).

▼B

3.3 Suoritus

3.3.1 Tutkittava liuos

Liuetetaan 10 g puhdistettua tiivistettyä rypälemehua seokseen, joka sisältää yhtä suuret tilavuudet laimennettua etikkahappoa (3.2.1) ja vettä, ja täytetään tällä seoksella 100 ml:ksi.

Lisätään 2 ml ammoniumpyrrolidiiniditiokarbamaattiliuosta (3.2.2) ja 10 ml metyyli-isobutyryliketoni (3.2.3). Ravistellaan 30 sekuntia valolta suojattuna. Annetaan kerrosten erottua. Käytetään metyyli-isobutyryliketonikerros.

3.3.2 Vertailuliuokset

Valmistetaan 3 vertailuliuosta, jotka sisältävät 10 g puhdistettua tiivistettyä rypälemehua, 1, 2 ja 3 ml 0,010 g/l lyijyliuosta (3.2.4). Käsitellään liuokset samalla tavoin kuin määritettävä liuos.

3.3.3 Sokeakoe

Valmistetaan sokeakoeliuos 3.3.1 kohdan koeolosuhteissa, mutta ei lisätä liuokseen puhdistettua tiivistettyä rypälemehua.

3.3.4 Määrittäminen

Valitaan aallonpituus 283,3 nm.

Atomisoidaan sokeakokeesta peräisin oleva metyyli-isobutyryliketoni liekissä ja säädetään absorbanssin nollakohta.

Käyttäen vastaavia liuosuutteita määritetään tutkittavan liuoksen ja vertailuliuosten absorbanssit.

3.4 Tulosten ilmoittaminen

Lyijypitoisuus ilmoitetaan milligrammoina kilogrammassa puhdistettua tiivistettyä rypälemehua.

3.4.1 Laskeminen

Piirretään käyrä, joka edustaa absorbanssien muuttumista vertailuliuoksiin lisätyn lyijyn konsentraation funktiona, kun nollakonsentraatio vastaa tutkittavaa liuosta.

Ekstrapoloidaan pisteet yhdistävä suora, kunnes se leikkaa konsentraatioakselin negatiivisella osalla. Tämän pisteen etäisyys origosta antaa tutkittavan liuoksen lyijykonsentraation.

e) ETANOLIN KEMIALLINEN MÄÄRITYS

Tätä määrittämismenetelmää käytetään määritettäessä alkoholipitoisuus vähän alkoholia sisältävistä nesteistä, kuten rypälemehut, tiivistetyt rypälemehut ja puhdistetut tiivistetyt rypälemehut.

1 PERIAATE

Nesteen yksinkertainen tislauksen. Tisleen sisältämän etanolin hapettaminen kaliumdikromaatilla. Dikromaattilyijäämään titraus rauta (II) liuoksella.

2. LAITE

2.1 Käytetään luvun "Alkoholipitoisuus" 3.2 kohdassa kuvattua tislauslaitetta.

3. REAGENSIT

3.1 Kaliumdikromaattiliuos

Liuetetaan 33,600 g kaliumdikromaattia ($K_2Cr_2O_7$) sellaiseen määrään vettä, että liuosta on 20 °C:ssa yksi litra.

Yksi millilitra tätä liuosta hapettaa 7,8924 mg alkoholia.

3.2 Rauta (II) ammoniumsulfaattiliuos

Liuetetaan 135 g rauta(II)ammoniumsulfaattia, $FeSO_4 \cdot (NH_4)_2SO_4 \cdot 6H_2O$ sellaiseen määrään vettä, että siitä tulee 1 litra liuosta ja lisätään 20 ml

▼B

väkevää rikkihappoa (H_2SO_4), ($\rho_{20} = 1,84 \text{ g/ml}$). Juuri valmistettuna tämä liuos vastaa noin puolen tilavuutensa kokoista dikromaattiliuosta. Tämän jälkeen se hapettuu hitaasti.

3.3 Kaliumpermanganaattiliuos

Liutetaan 1,088 g kaliumpermanganaattia, KMnO_4 , sellaiseen määrään vettä, että saadaan liuosta 1 litra.

3.4 Suhteessa 1/2 (v/v) laimennettu rikkihappo

Lisätään ravistellen ja hieman kerrallaan 500 ml:aan vettä 500 ml rikkihappoa (H_2SO_4) ($\rho_{20} = 1,84 \text{ g/ml}$).

3.5 Rauta-ortofenantroliini -reagenssi

Liutetaan 0,695 g rautasulfaattia, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 100 ml:aan vettä, lisätään 1,485 g ortofenantroliinimonohydraattia, $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Lämmitetään liukenemisen helpottamiseksi. Tämä kirkkaan punainen liuos säilyy erittäin hyvin.

4 SUORITUS

4.1 Tislaus

Mitataan tislauksolviin 100 g puhdistettua tiivistettyä rypälemehua ja 100 ml vettä. Kerätään tisle 100 ml:n mittapulloon ja täytetään merkkiin vedellä.

4.2 Hapettaminen

Mitataan 300 ml:n hiostulpalliseen pulloon, joka voidaan huuhdella ilman hävikkiä laajennetun kaulaosansa ansiota, 20 ml kaliumdikromaattiliuosta (3.1), 20 ml suhteessa 1/2 (v/v) laimennettua rikkihappoa (3.4) ja ravistellaan. Lisätään 20 ml tislettä. Suljetaan pullo, ravistellaan ja odotetaan vähintään 30 minuuttia ravistellen pulloa ajoittain ("määritys" -pullo).

Tehdään rauta (II) ammoniumsulfaattiliuoksella titraus (3.2) kaliumdikromaattiliuoksen suhteen mittaamalla samanlaiseen pulloon sama määrä reagensseja, mutta korvaamalla 20 ml tislettä 20 ml:lla tislattua vettä ("vertailu" -pullo).

4.3 Titraus

Lisätään 4 tippaa ortofenantroliinireagenssia (3.5) "määritys" -pulloon. Titraandikromaattilyijäämä lisää- mällä pulloon rauta (II) ammoniumsulfaattiliuosta (3.2). Keskeytetään rautaliuoksen lisääminen, kun seos muuttuu sinivihreästä ruskeaksi.

Loppukohdan tarkentamiseksi muutetaan ruskea liuos sinivihreäksi kaliumpermanganaattiliuoksella (3.3). Vähennetään kymmenesosa tämän liuoksen tilavuuden rauta (II) sulfaattiliuoksen tilavuudesta. Tämä erotus on n.

Toistetaan suoritus samalla tavoin "vertailu" -pullolle. Erotus on n'.

5. TULOSTEN ILMOITTAMINEN

Etanoli ilmoitetaan grammina kilogrammassa kokonaissokeria yhdellä desimaalilla.

5.1 Laskentatapa

n' ml rautaliuosta pelkistää 20 ml dikromaattiliuosta, joka hapettaa 157,85 mg puhdasta etanolia.

Yhdellä millilitralla rauta (II) liuosta on sama pelkistävä vaikutus kuin:

$$\frac{157,85}{n'} \text{ mg etanol}$$

n' - n ml:lla rauta (II) liuosta on sama pelkistävä vaikutus kuin:

$$157,85 \times \frac{n' - n}{n'} \text{ mg etanol}$$

Etanolia g/kg puhdistettua tiivistettyä rypälemehua:

$$7,892 \times \frac{n' - n}{n'}$$

▼B

Etanolia g/kg kokonaissokeria:

$$789,2 \times \frac{n' - n}{n' \times P}$$

jossa P = kokonaissokerien pitoisuus prosentteina (m/m).

f) MESOINOSITOLI, SKYLLOINOSITOLI JA SAKKAROOSI

1 PERIAATE

Silanoitujen johdannaisten kaasukromatografia.

2 REAGENSIT

2.1 Sisäinen standardi: xylitoli (10 g/l vesiliuos, johon on lisätty lastankärsjellinen natriumatsidia).

2.2 Bistrimetyylisilyylitrifluoroasetamidi - BSTFA - (C₈H₁₈F₃NOSi₂).

2.3 Trimetyylikloorisilaani (C₃H₉ClSi).

2.4 Pyridiini, analyysilaatua (C₅H₅N).

2.5 Mesoinositoli (C₆H₁₂O₆).

3. VÄLINEISTÖ

3.1 Kaasukromatografi, jossa on:

3.2 Kapillaarikolonne (esimerkiksi sulatettu silikakapillaarikolonne, OV 1, kalvon paksuus 0,15 µm, pituus 25 m ja sisähalkaisija 0,3 mm).

Suoritusolosuhteet:

— kantokaasu: vety tai helium,

— kaasun virtausnopeus: noin 2 ml/minuutissa,

— injektorin ja detektorin lämpötila: 300 °C,

— lämpötilan ohjelmointi: 1 minuutti 160 °C, 4 °C/minuutti, kunnes saavutetaan 260 °C, isotermisesti 260 °C:ssa 15 minuuttia,

— jakosuhte: noin 1 1-20.

3.3 Integraanori.

3.4 Mikroruisku, 10 µl.

3.5 Mikropipettejä, 50, 100 ja 200 µl.

3.6 2 ml:n mittapulloja, joissa on teflonkorkki.

3.7 Uuni.

4. SUORITUS

Mitataan 50 ml:n mittapulloon tarkalleen 5 g puhdistettua tiivistettyä rypälemehua, 1 ml xylitolistandardiliuosta (2.1) ja täytetään merkkiin vedellä. Näytteen homogenoinnin jälkeen otetaan 100 µl liuosta mittapulloon ja kuivataan kevyessä ilmavirrassa (3.6). Haihtumisen helpottamiseksi on mahdollista lisätä 100 µl absoluuttista etanolia.

Liutetaan jäännös huolellisesti 100 µl:aan pyridiiniä (2.4), lisätään 100 µl bistrimetyylisilyylitrifluoroasetamidia (2.2) ja 10 µl trimetyylikloorisilaania (2.3), suljetaan pullo teflonkorkilla ja asetetaan 60 °C:n uuniin tunnin ajaksi.

Otetaan 0,5 µl kirkasta nestettä ja injektoidaan se käyttäen onttoa lämmitettyä neulaa edellä mainitun jaka ja suhteen mukaisesti.

5. TULOSTEN LASKEMINEN

5.1 Valmistetaan liuos, joka sisältää:

60 g/l glukoosia, 60 g/l fruktoosia, 1 g/l mesoinositolia ja 1 g/l sakkaroosia.

Punnitaan 5 g tätä liuosta ja edetään 4 kohdassa kuvatulla tavalla. Lasketaan mesoinositolin ja sakkaroosinkertoimet xylitolin suhteen saadusta kromatogrammista.

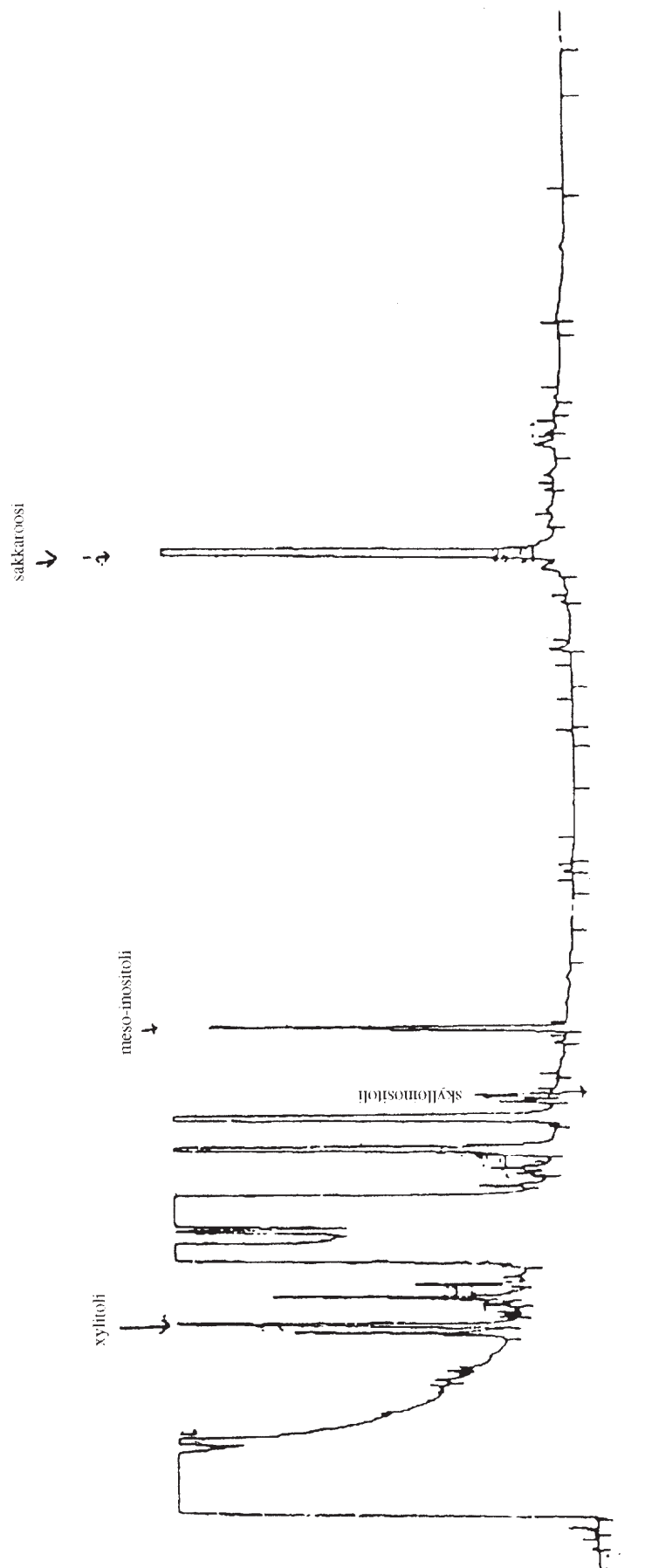
Skyllöinositolille, jota ei ole kaupallisesti saatavissa ja jonka retentioaika on glukoosin anomeriamuotojen viimeisen piikin ja

▼B

mesoinositolin viimeisen piikin välillä (ks. liitekuva), käytetään mesoinositolin kerrointa.

6 TULOSTEN ILMOITTAMINEN

- 6.1 Mesoinositol ja skylloinositoli ilmoitetaan milligrammoina kilogrammassa kokonaissokeria. Sakkaroosi ilmoitetaan grammoina kilogrammassa rypälemehua.

▼B

Kuva: Mesoinositolin, skylloinositolin ja sakkarosin kaasukromatogrammi.

▼M6

43. VEDEN 18- JA 16-HAPPI-ISOTOOPPIEN SUHTEEN MÄÄRITTÄMINEN VIINISSÄ

I. MENETELMÄN KUVAUS

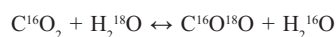
1. Menetelmän tarkoitus

Tällä menetelmällä määritetään eri alkuperää olevan veden 18- ja 16-happi-isotooppien suhde. Isotooppisuhde $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ voidaan ilmaista poikkeamana δ ‰ suhteessa kansainvälisen vertailumateriaalin V. SMOW isotooppisuhteesta:

$$\delta_i[\text{‰}] = \left[\frac{R_i}{R_{\text{SMOW}}} - 1 \right] \times 1\,000$$

2. Periaate

Isotooppisuhde $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ määritetään isotooppisuhdemassaspektrometrialla (IRMS) ionivirroista m/z 46 ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$) ja m/z 44 ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}_2$), jotka muodostuvat hiilidioksidista, kun viinissä olevan veden kanssa on tapahtunut vaihto reaktiossa



Määrittämiseen käytetään kaasufaasissa olevaa hiilidioksidia.

3. Reagenssit

- Hiilidioksidi, analyysilaatu
- SMOW (Standard Mean Ocean Water)
- GISP (Greenland Ice Sheet Precipitation)
- SLAP (Standard Light Arctic Precipitation)
- Vertailuvetenä puhdas laboratoriovesi, joka on tarkasti kalibroitu Wienissä toimivan kansainvälisen atomienergiajärjestön (IAEA) vertailumateriaalien avulla

4. Laboratoriolaitteet

- isotooppisuhdemassaspektrometri, jonka sisäinen toistettavuus on 0,05 ‰.
- kolme kerääjää, jotta voidaan samanaikaisesti rekisteröidä ionit m/z 44, 45 ja 46 tai jollei tällaista ole, kaksi kerääjää, jotta voidaan määrittää ionit m/z 44 ja 46
- termostoitu laitteisto ($\pm 0,5^\circ\text{C}$ C) hiilidioksidin ja viinissä olevan veden tasapainottamiseksi
- tyhjäpumppu, jolla voidaan saavuttaa 0,13 Pa:n sisäinen paine
- näyteampulleja, tilavuus 15 ml, joissa on kapillaariputki, jonka sisähalkaisija on noin 0,015 mm
- Eppendorf-pipetti, jossa on kertakäyttöinen muovikärki

5. Koemääritykset

5.1. Manuaalinen menetelmä

Tasapainotusmenetelmä

Näytteen aplikointi

- Otetaan 1,5 ml:n kiinteätilavuuksinen Eppendorf-pipetti, kiinnitetään siihen kärki ja pipetoidaan analysoitavaa nestettä pyörökolviin. Kolvin kaula ympärille levitetään silikonirasvaa ja kiinnitetään kolvi venttiiliin sekä tarkistetaan, että se on kunnolla suljettu.
- Toistetaan kaikkien kolvien osalta koko näytetelineessä ja yhteen kolviin pannaan vertailulaboratoriovetä.

▼ **M6****Kaasunpoisto telineestä**

Molemmat näytetelineet jäädytetään nestemäisellä typellä, jonka jälkeen koko laitteisto huuhdotaan, kunnes saavutetaan 0,1 mmHg:n paine avaamalla venttiilit.

Tämän jälkeen venttiilit suljetaan ja annetaan lämmetä. Kaasunpoisto toistetaan, kunnes ei enää esiinny paineenvaihtelua.

Veden ja hiilidioksidin tasapainotus

Näytetelineet jäädytetään -70 °C :seen (nestemäisen typen ja alkoholin seoksella) veden jäädyttämiseksi ja näytteet pannaan tyhjöö. Kun tyhjä on vakiintunut, telineet eristetään venttiilillä, ja hiilidioksidin syöttöjärjestelmä huuhdotaan. Kaasumainen hiilidioksidi päästetään telineeseen, kun se on eristetty muusta laitteistosta, ja teline pannaan 25 °C :n ($\pm 0,5\text{ °C}$) termостоituun hauteeseen 12 tunniksi (yön yli). Jotta tasapainotusaika on mahdollisimman oikea, näytteet kannattaa valmistaa iltapäivällä ja jättää tasapainottumaan yön yli.

Vaihtuneen CO_2 :n siirtäminen mittauskyvetteihin

Näyteteline, jossa on yhtä monta mittauskyvetä kuin vaihtunutta CO_2 :ta sisältävää kolvia, kiinnitetään tyhjölinjaan työtelineen viereen. Tyhjiä kyvetit huuhdotaan huolellisesti, ja kolveissa olevat vaihtuneet kaasunäytteet siirretään yksitellen nestemäisellä typellä jäädytettuihin mittauskyvetteihin. Mittauskyvetien annetaan lämmetä huoneenlämpötilaan.

5.2. Automaattisen näytteenvaihtajan käyttö

Tasapainottamista varten näyteampullit täytetään joko 2 ml:lla viiniä tai 2 ml:lla vettä (laboratoriovertailunäyte) ja jäädytetään -18 °C :seen. Näytetelineet, joissa jäädytetyt näytteet ovat, kiinnitetään tasapainotuslaitteistoon, ja sen jälkeen, kun laitteisto on kytketty tyhjöö, siihen päästetään hiilidioksidi 800 hPa:n paineessa.

Tasapaino saavutetaan $22 \pm 0,5\text{ °C}$:n lämpötilassa vähintään 5 tunnin kuluttua ravistaen kohtalaisesti. Koska tasapainottumisaika riippuu ampullin muodosta, oikea aika käytettävälle laitteistolle on määritettävä etukäteen.

Ampulleissa oleva hiilidioksidi siirretään sitten massaspektrometrin syöttökammioon kapillaariputken kautta, ja määrittäminen suoritetaan kunkin laitetyypin ohjeiden mukaisesti.

6. Tulosten laskeminen ja ilmoittaminen

Ionien m/z 46 ja 44 (I_{46}/I_{44}) suhteellinen ero δ' näytteen ja vertailumateriaalin välillä ilmaistaan ‰:na seuraavan yhtälön avulla:

$$\delta' \text{ näyte} = \left[\frac{(I_{46}/I_{44}) \text{ näyte}}{(I_{46}/I_{44}) \text{ vertailumateriaali}} - 1 \right] \times 1000$$

Näytteen ^{18}O -pitoisuus suhteessa vertailumateriaaliin V.SMOW asteikolla V.SMOW/SLAP saadaan suhteesta

$$\delta'^{18}\text{O} = \left[\frac{\delta' \text{ näyte} - \delta' \text{ SMOW}}{\delta' \text{ SMOW} - \delta' \text{ SLAP}} \right] \times 55,5$$

SLAP-vedelle hyväksytty arvo on $-55,5\text{ ‰}$ suhteessa V.SMOW:hen. Vertailumateriaalin isotooppisuhte on määritettävä aina 10 tuntemattoman näytteen mittauksen sarjan jälkeen.

7. Luotettavuus

— toistettavuuden (r) on oltava 0,24 ‰

— uusittavuuden (R) on oltava 0,50 ‰.

▼M7

44. ETYYLIKARBAMAATIN MÄÄRITYS VIINEISTÄ: SELEKTIIVINEN MENETELMÄ KAASUKROMATOGRAFIA-MASSASPEKTROMETRIALLA

(Soveltuu etyylikarbamaatin määrittämiseen, kun sen konsentraatio on välillä 10–200 µg/l)

(Huomio: Kemikaalien kuten etanolin ja asetonin sekä syöpää aiheuttavien aineiden kuten etyylikarbamaatin ja dikloorimetaanin käsittelyssä on noudatettava turvaohjeita. Käytetyt liuottimet on käsiteltävä tai hävitettävä niihin sovellettavien ympäristönsuojelua koskevien sääntöjen ja määräysten mukaisesti.)

A. Menetelmän periaate

Näytteeseen lisätään propyylikarbamaattia sisäiseksi standardiksi, liuosta laimennetaan vedellä, ja se pannaan 50 ml:n kiinteäfaasierotuspylvääseen. Etyylikarbamaatti ja propyylikarbamaatti eluoidaan dikloorimetaanilla.

Eluaatti konsentroidaan tyhjiöpyöröhaihdutuslaitteessa. Konsentraatti analysoidaan kaasukromatografisesti (GC), ja ilmaisimena käytetään massaspektrometriä fragmentometriamenetelmällä SIM-toimintamuodossa (Selected ions monitoring).

B. Kromatografialaitteet ja -olosuhteet (esimerkiksi)

- a) Kaasukromatografi-massaspektrometri (GC/MS) ja mahdollisesti näytteenvaihtolaite ja tulostenkäsittelylaite tai vastaava.

Kapillaarikolonne, jossa on piihappojohdannaista, 30 m (1) × 0,25 mm sisähalkaisija, 0,25 µm tyyppiä Carbowax 20M.

Suoritus: injektorin 180 °C, kantajakaasuna helium, virtaus 1 ml/min, 25 °C, injektio ”Splitless / split”-menetelmällä.

Lämpötilaohjelmointi: 40 °C, 0,75 min, sen jälkeen 10 °C/min, kunnes saavutetaan 60 °C, sitten 3 °C/min, kunnes saavutetaan 150 °C (2), jatketaan 220 °C:een, ja pidetään 4,25 minuutin ajan 220 °C:ssa. Etyylikarbamaatin spesifinen retentioaika on 23–27 min ja propyylikarbamaatin 27–31 min.

Kaasukromatografian ja massaspektrometrin liitännän lämpötila 220 °C. Massaspektrometriparametrit säädetään manuaalisti perfluoritributyyliamiinilla ja optimoidaan matalammalle massaerkkyydelle, SIM-mittausmuoto, liuottimen eluutioaika ja mittausten alkamisaika 22 min, viipymisaika ionia kohti 100 ms.

- b) Tyhjiöpyöröhaihdutuslaite tai Kuderna Danish -tyyppinen konsentrintilalaitteisto.

(Huom. Näytteen etyylikarbamaatin saannon C(g) on oltava tässä vaiheessa välillä 90–110 %).

- c) Kolvi — päärynänmuotoinen, 300 ml, yksi kaula, jossa hios.
d) Konsentrintiputki — 4 ml, asteikollinen, liitoskohdassa teflontiviste ja tulppa.

C. Reagenssit

- a) Asetoni — nestekromatografialaatu.

Huom. Jokaisesta erästä on tarkastettava GC/MS:llä, että siinä ei esiinny ioneja, joiden massavaraussuhde m/z on 62, 74 ja 89.

- b) Dikloorimetaani—

Huom. Jokaisesta erästä on tarkastettava 200-kertaisen konsentrintin jälkeen GC/MS:llä, että siinä ei esiinny ioneja, joiden m/z on 62, 74 ja 89.

- c) Etanoli — vedetön

(1) Tietyille erittäin täyteläisille viineille voi olla suositeltavaa käyttää 50 metriä pitkää kapillaarikolonna.

(2) Tietyille erittäin täyteläisille viineille voi olla suositeltavaa käyttää lämpötilaohjelmointia, jossa lämpötila muuttuu 2 °C minuutissa.

▼M7

d) Etyylikarbamaatti (EK), standardiliuokset

1. Kantaliuos — 1,00 mg/ml. Punnitaan 100 mg etyylikarbamaattia (puhtaus ≥ 99 %) 100 ml:n mittapulloon ja laimennetaan asetonilla.
2. Työstandardi — 10,0 µg/ml. Siirretään 1 ml kantaliuosta 100 ml:n mittapulloon ja täytetään merkkiin asetonilla.

e) Propyylikarbamaatti (PK), standardiliuokset

1. Kantaliuos — 1,00 mg/ml. Punnitaan 100 mg propyylikarbamaattia (reagenssilaatu) 100 ml:n mittapulloon ja laimennetaan asetonilla merkkiin asti.
2. Työstandardi — 10,0 µg/ml. Siirretään 1 ml kantaliuosta 100 ml:n mittapulloon ja täytetään merkkiin asetonilla.
3. Sisäinen standardi — 400 ng/ml. Siirretään 4 ml työstandardia 100 ml:n mittapulloon ja täytetään merkkiin vedellä.

f) EK-PK-standardiliuokset

Laimennetaan työstandardeja (d) 2 ja (e) 2 dikloorimetaanilla siten, että saadaan:

1. (100 ng EK ja 400 ng PK)/ml,
2. (200 ng EK ja 400 ng PK)/ml,
3. (400 ng EK ja 400 ng PK)/ml,
4. (800 ng EK ja 400 ng PK)/ml,
5. (1 600 ng EK ja 400 ng PK)/ml.

g) Vertailunäyte — 100 ng EK/ml 40 % etanolissa.

Siirretään 1 ml työstandardiliuosta (d) 2 100 ml:n mittapulloon ja täytetään merkkiin 40 % etanolilla.

h) Kiinteäfaasiuuttokolonni — Kertäkyttöisiä, pakattu piimaalla, tilavuus 50 ml.

Huom. Jokaisesta kolonnierästä on tarkastettava etyli- ja propyylikarbamaatin saanto ja se, ettei niissä esiinny ioneja, joiden m/z on 62, 74 tai 89. Valmistetaan vertailunäyte, jossa on 100 ng EK/ml (g). Analysoidaan 5,00 ml vertailunäytettä kohtien D(a), E ja F mukaisesti. Saanto välillä 90-110 ng EK/ml on tyydyttävä. Absorbenteista, joiden hiukkasten halkaisijat vaihtelevat, eluutio tapahtuu usein hitaasti, mikä vaikuttaa etyli- ja propyylikarbamaatin saantoon. Jos saantoarvoa 90-110 % mittaustytteen arvosta ei saada useiden yritysten jälkeen, on vaihdettava kolonni tai käytettävä korjattua kalibrintikäyrää etyylikarbamaatin saannon määrittämiseksi. Korjattu kalibrintikäyrä saadaan käyttämällä kohdassa (f) esitetyllä tavalla valmistettuja standardiliuoksia, joissa on käytetty 40 % etanolia dikloorimetaanin sijasta.

Analysoidaan 1 ml kalibrintistandardiliuosta kuten on esitetty kohdissa D, E ja F.

Laaditaan uusi kalibrintikäyrä käyttämällä uutettujen standardien EK/PK-suhdetta.

D. Mittausnäytteen valmistus

Analysoitavaa näytemateriaalia pannaan kahteen 100 ml:n dekanterilasiin seuraavat määrät:

- a) Viinit, joissa on yli 14 tilavuus-% alkoholia: 5,00 ml $\pm$ 0,01 ml.
- b) Viinit, joissa on korkeintaan 14 tilavuus-% alkoholia: 20,00 ml $\pm$ 0,01 ml.

Kuhunkin dekanterilasiin lisätään 1 ml sisäistä PK-standardiliuosta C (e) 3 ja vettä siten, että kokonaistilavuus on 40 ml (tai 40 g).

E. Uutto

Uutto tehdään vetokaapissa, jossa on riittävä ilmanvaihto.

Kohdassa D valmistettu liuos lisätään uuttokolonnein.

Dekanterilasi huuhdellaan 10 ml:lla vettä ja huuhteluvesi lisätään kolonnein.

▼M7

Annetaan nesteen imeytyä kolonniin 4 minuutin ajan, ja eluoidaan 2×80 ml:lla dikloorimetaania. Eluaatti kerätään 300 ml:n kartiokolviin.

Eluaatti haihdutetaan 2-3 ml:aan pyöröhaihduttajalla 30 °C:n vesihautteessa. (Huom. Ei saa antaa haihtua kuiviin).

Siirretään konsentroitua jäänös 4 ml:n asteikolliseen putkeen Pasteur-pipetillä.

Huuhdellaan kolvi 1 ml:lla dikloorimetaania ja siirretään huuhteluneste putkeen. Näyte konsentroidaan 1 ml:ksi heikossa typpivirtauksessa.

Jos käytetään näytteenvaihtajaa, siirretään konsentraatti näytteenvaihtajapulloon GC/MS-analyysiä varten.

F. GC/MS-analyysi

a) Kalibrointikäyrä

Injektoidaan 1 µl kutakin kalibrointistandardiliuosta C (f) GC/MS-laitteistoon. Kuvaajassa esitetään y-akselilla etyylikarbamaatin ja propyylikarbamaatin m/z 62 -ionin pinta-alojen suhde ja x-akselilla etyylikarbamaatin määrä ng/ml (100, 200, 400, 800, 1 600 ng/ml).

b) Etyylikarbamaatin määrittäminen

Injektoidaan 1 µl konsentroitua uutetta E GC/MS-laitteistoon ja lasketaan etyylikarbamaatin ja propyylikarbamaatin m/z 62 -ionin pinta-alojen suhde. Uutteen etyylikarbamaattikonsentraatio (ng/ml) määritetään sisäisen standardin kalibrointikäyrän avulla. Etyylikarbamaatin konsentraatio näytteessä (ng/ml) lasketaan jakamalla uutteen etyylikarbamaattimäärä CE (ng/ml) näytteen tilavuudella (ml).

c) Etyylikarbamaatin puhtauden todentaminen

Tarkistetaan, esiintyvätkö ionien m/z 62, 74 ja 89 signaalit etyylikarbamaatin retentioajan kohdalla. Nämä signaalit ovat luonteenomaisia tärkeimmille fragmenteille $(M - C_2H_2)^+$ ja $(M - CH_3)^+$ sekä molekyyli-ionille (M). Etyylikarbamaatin läsnäolon vahvistaa se, että näiden ionien vasteiden suhteet poikkeavat enintään 20 % etyylikarbamaattistandardin vastaavien ionien suhteesta. Uutetta on mahdollisesti konsentroitava uudelleen, jotta saadaan riittävä signaali ionille m/z 89.

G. Yhteistyölaboratorioiden tulosten analyysi

Taulukossa 1 esitetään esimerkinäytteelle ja kahdelle viinityypille saadut yksittäiset tulokset.

Cochranin testin seurauksena eliminointiin kahden määrittelyn tulokset (yksi viinille, jonka alkoholipitoisuus on yli 14 tilavuus-% ja yksi viinille, jonka alkoholipitoisuus on korkeintaan 14 tilavuus-%). Nämä tulokset olivat peräisin eri laboratorioista.

Uusittavuus näyttää pienenevän etyylikarbamaattikonsentraation kasvaessa.

Alkoholijuomien Sisältämän etyylikarbamaatin GC-MS-määrittelyn suoritusarvot

Näyte	EK-konsentraatio (ng/ml)	Lisätyn EK:n saanto (%)	S_r	S_R	RSD_r (%)	RSD_R (%)
Viini, jonka alkoholipit. on yli 14 tilavuus-%	40		1,59	4,77	4,01	12,02
	80	89	3,32	7,00	4,14	8,74
	162	90	8,20	11,11	5,05	6,84
Viini, jonka alkoholipit. on korkeintaan 14 tilavuus-%	11		0,43	2,03	3,94	18,47
	25	93	1,67	2,67	6,73	10,73
	48	93	1,97	4,25	4,10	8,86

▼ M10

45. VIINIETANOLIN TAI RYPÄLEEN PURISTEMEHUJEN, TIIVISTETTYJEN RYPÄLEEN PURISTEMEHUJEN JA PUHDISTETTUJEN TIIVISTETTYJEN RYPÄLEEN PURISTEMEHUJEN KÄYMISESTÄ SAADUN ETANOLIN ^{13}C - ja ^{12}C -ISOTOOPPIEN SUHTEEN MÄÄRITÄMINEN MASSASPEKTROMETRISIN MENETELMIN

1. SOVELLUSALA

Menetelmällä voidaan mitata ^{13}C - ja ^{12}C -isotooppien suhde viinietanolissa ja viinirypäletuotteiden (rypäleen puristemehujen, tiivistettyjen rypäleen puristemehujen ja puhdistettujen tiivistettyjen rypäleen puristemehujen) käymisestä saadussa etanolissa.

2. VIITESTANDARDIT

ISO: 5725:1994 ”Mittausmenetelmien virheettömyys (oikeellisuus ja tarkkuus): perusmenetelmä standardimittausmenetelmän toistettavuuden ja uusittavuuden määrittämiseksi”.

V-PDB: Vienna-Pee-Dee Belemnite (belemnitti) ($R_{\text{PDB}} = 0,0112372$).

Tämän asetuksen liitteessä esitetty menetelmä 8: ”Rypäleen puristemehujen, tiivistettyjen rypäleen puristemehujen ja puhdistettujen tiivistettyjen rypäleen puristemehujen ja viinien rikastamisen määrittäminen käyttäen hyväksi deuteriumin ydinmagneettista resonanssia (SNIF-NMR)”.

3. TERMIT JA MÄÄRITELMÄT

$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$: ^{13}C :n ja ^{12}C :n isotooppien suhde näytteessä.

$\delta^{13}\text{C}$: Hiili-13-isotoopin eli ^{13}C :n pitoisuus ilmaistuna promilleina (‰).

SNIF-NMR: Isotooppien fraktiointi ydinmagneettisen resonanssin avulla.

V-PDB: Vienna-Pee-Dee Belemnite (belemnitti). PDB on ensisijainen vertailuaine mitattaessa hiili-13-pitoisuuden luonnollisia vaihteluja. Se koostuu Yhdysvaltojen Etelä-Carolinan osavaltiossa sijaitsevan Pee Dee -joen varrella sijaitsevasta esiintymästä löytyvien liitukaudelta peräisin olevien belemnitti-nimisten nilviäisten fossiilien sisältämästä kalsiumkarbonaattista. Sen ^{13}C - ja ^{12}C -isotooppien suhde eli R_{PDB} on 0,0112372. PDB-varannot ovat loppuneet jo aikaa sitten, mutta se on säilyttänyt asemansa ensisijaisena vertailuaineena mitattaessa hiili-13-pitoisuuden luonnollisia vaihteluja, ja sen avulla kalibroidaan Wienissä Itävallassa sijaitsevan Kansainvälisen atomienergiajärjestön (IAEA:n) käyttämät vertailuaineet. Luonnossa esiintyvän hiili-13-isotoopin pitoisuudet ilmoitetaan tavallisesti suhteessa V-PDB:n vastaavaan arvoon.

m/z: Massan ja varauksen suhde.

4. PERIAATE

Yhteytämässä kasvit sitovat hiilidioksidia kahden erilaisen aineenvaihduntamekanismin avulla. Ne ovat C_3 -sykli (Calvinin kierto) ja C_4 -sykli (Hatch-Slack-prosessi). Näissä kahdessa yhteytämispöressissä isotoopit jakautuvat eri tavalla. C_4 -prosessia käyttävien kasvien tuotteissa, kuten sokereissa ja käymistietä valmistetussa alkoholissa esiintyy enemmän hiili-13-isotooppia kuin vastaavissa C_3 -prosessia käyttävien kasvien tuotteissa. Useimmat kasvit, mukaan luettuina viiniköynnökset ja sokerijuurikkaat, käyttävät C_3 -prosessia. Sokeriruoko ja maissi käyttävät C_4 -prosessia. Mittaamalla hiili-13-isotoopin pitoisuus voidaan osoittaa ja arvioida rypäletuotteisiin (kuten rypäleen puristemehuihin ja viineihin) lisätyt C_4 -prosessista (sokeriruosta tai maissiisoglukoosista) peräisin olevat sokerit. Hiili-13-isotoopin pitoisuudesta sekä SNIF-NMR-mittauksista saatavien tietojen avulla voidaan määrittää, paljonko tuotteisiin on lisätty C_3 - ja C_4 -kasveista peräisin olevia sokeri- tai alkoholiseoksia.

Hiili-13-isotoopin pitoisuus määritetään hiilidioksidista, joka syntyy näytteen täydellisessä palamisessa. Massaspektrometrin kolmeen eri ilmaismeen tulevien ionivirtojen avulla määritetään käytännössä

▼ M10

esiintyvien isotopomeerien suhteellinen määrä. Ne ovat massaluvuiltaan 44 ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}_2$), 45 ($^{13}\text{C}^{16}\text{O}_2$ ja $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$) sekä 46 ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$) edustaen isotooppien ^{18}O , ^{17}O , ^{16}O , ^{13}C ja ^{12}C erilaisia mahdollisia yhdistelmiä. Isotopomeerien $^{13}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$ ja $^{12}\text{C}^{17}\text{O}_2$ vaikutusta ei tarvitse ottaa huomioon, koska niiden määrät ovat niin pieniä. Massan ja varauksen suhdetta $m/z = 45$ vastaavan ionivirran arvo korjataan ottaen huomioon $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$ -isotopomeerin vaikutus, joka lasketaan massan ja varauksen suhteelle $m/z = 46$ mitatun virranvoimakkuuden mukaisesti ottaen huomioon isotooppien ^{18}O ja ^{17}O suhteellinen yleisyys (Craigin korjaus). Vertaamalla tuloksia näytteeseen, joka on kalibroitu kansainvälisen V-PDB-vertailunäytteen avulla, voidaan hiili-13-isotoopin pitoisuus laskea ja ilmaista suhteellisella $\delta^{13}\text{C}$ -asteikolla.

5. REAGENSIT

Aineet ja tarvikkeet määrättyvät laboratorion käyttämän välineistön (6) mukaan. Yleensä käytetyt järjestelmät perustuvat alkuaineanalysaattoriin. Nämä järjestelmät voidaan varustaa niin, että näytteet voidaan tuoda niihin suljetuissa metallikapseleissa tai ruiskuttaa nestemäisinä septumin läpi injektioneulaa käyttäen.

Käytettävän laitteen mukaan voidaan käyttää seuraavia vertailuaineita, reagensseja ja tarvikkeita:

- vertailuaineet
- IAEA:sta saatavat:

Nimi	Aine	$\delta^{13}\text{C}$ -lukema verrattuna V-PDB: hen (9)
— IAEA-CH-6	sakkaroosi	- 10,4 ‰
— IAEA-CH-7	polyeteeni	- 31,8 ‰
— NBS22	öljy	- 29,7 ‰
— USGS24	grafiitti	- 16,1 ‰

- Aineet, joita toimittaa Geelissä Belgiassa sijaitseva vertailuaineiden ja mittausten tutkimuslaitos IRMM:

Nimi	Aine	$\delta^{13}\text{C}$ -lukema verrattuna V-PDB: hen (9)
— CRM/BCR 656	viinialkoholi	- 26,93 ‰
— CRM/BCR 657	glukoosi	- 10,75 ‰
— CRM/BCR 660	vesi-alkoholiseos (12 tilavuus-%)	- 26,72 ‰

- Käytettävä standardinäyte, jonka $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -suhde tunnetaan ja joka on kalibroitu kansainvälisten vertailuaineiden avulla.
- Seuraavassa on suuntaa-antava luettelo jatkuvaa virtausta käyttävissä järjestelmissä käytettävistä tarvikkeista:
 - analyysipuhdas helium (CAS 07440-59-7),
 - analyysipuhdas happi (CAS 07782-44-7),
 - analyysipuhdas hiilidioksidi käytettäväksi toissijaisena vertailuaineena hiili-13-isotoopin pitoisuudelle (CAS 00124-38-9),
 - hapetusreagenssi näytteenpoltojärjestelmän uuniin, esimerkiksi alkuaineanalysiin tarkoitettu kupari (II) oksidi (CAS 1317-38-0),
 - kuivausaine palamisessa syntyvän veden poistamiseen, esimerkiksi alkuaineanalysiin tarkoitettu vedetön magnesium-perklooraatti kauppanimeltään Anhydrone (CAS 10034-81-8) (Tätä ei tarvita laitteissa, jotka on varustettu vedenpoistojärjestelmillä, joissa käytetään kylmäloukkuja tai valikoivasti läpäiseviä kapillaareja).

▼ **M10**

6. VÄLINEISTÖ JA LAITTEET

6.1 **Isotooppisuhde-massaspektrometri (IRMS)**

Isotooppisuhde-massaspektrometri (IRMS), joka kykenee määrittämään luonnossa esiintyvän hiilidioksidin suhteellisen ^{13}C -pitoisuuden siten, että sisäinen tarkkuus on suhteellisen arvona (9) ilmoitettuna 0,05 % tai parempi. Tässä yhteydessä sisäinen tarkkuus määritellään siten, että se on kahden samasta hiilidioksidinäytteestä saadun mittausarvon ero. Isotooppisuhdeiden mittaamiseen käytettävä massaspektrometri on yleensä varustettu kolmoisilmaisimella, jotta voidaan samanaikaisesti mitata massan ja varauksen suhteita $m/z = 44, 45$ ja 46 vastaavat intensiteetit. Isotooppisuhde-massaspektrometrissä on joko oltava kaksi tuloaukkoa näytteille, jotta mitattava näyte ja vertailunäyte voidaan mitata vuorotellen, tai siinä on oltava integroitu järjestelmä, jossa näytteet poltetaan kvantitatiivisesti ja hiilidioksidi erotetaan muista palamistuotteista ennen massaspektrometrimittausta.

6.2 **Polttovälineistö**

Polttovälineistö, jonka on kyettävä kvantitatiivisesti muuttamaan etanoli hiilidioksidiksi ja poistamaan kaikki muut palamistuotteet, kuten vesi, ilman että tapahtuu mitään isotooppien fraktioitumista. Välineistö voi olla joko jatkuvaan virtaukseen perustuva, massaspektrometriin integroitu laite (6.2.1) tai erillinen polttojärjestelmä (6.2.2). Välineistön on mahdollistettava vähintään kohdassa (11) mainittu tarkkuus.

6.2.1 *Jatkuva virtausta käyttävät järjestelmät*

Näissä laitteissa on joko alkuaineanalysaattori tai kaasukromatografi liitettynä online-periaatteella toimivaan polttojärjestelmään.

Järjestelmissä, joissa näyte tuodaan mitattavaksi metallikapselissa, tarvitaan seuraavat laboriorivälineet:

- kalibroitu mikroruisku tai -pipetti, jossa on asianmukainen kärki,
- vaaka, jonka tarkkuus on $1\ \mu\text{g}$ tai parempi,
- pinsetit kapselointia varten,
- tinakapseleita nestemäisiä näytteitä varten,
- tinakapseleita kiinteitä näytteitä varten.

Huomaa:

Jotta etanolinäytteiden haihtumisvaara olisi vähäisempi, kapsleihin voidaan laittaa absorboivaa materiaalia (kuten Chromosorb W 45-60 mesh), kunhan absorptioaine ensin mitataan ilman näytettä sen varmistamiseksi, ettei se sisällä merkittäviä määriä hiiltä, mikä saattaisi vaikuttaa tuloksiin.

Käytettäessä alkuaineanalysaattoria, jossa on nestemäisen näytteen ruiskutuslaite, tai kun käytössä on näytteenpoltokromatografiajärjestelmä, tarvitaan seuraavat laboriorivälineet:

- injektioruisku nesteitä varten,
- pulloja, joissa on ilmatiiviit sulkimet ja inertit septumit.

Luetteloissa mainitut laboriorivälineet ovat esimerkkejä, ja ne voidaan korvata muilla vastaavantasoisilla välineillä laboratoriossa käytettävän polttomenetelmän ja massaspektrometrilaitteen mukaan.

6.2.2 *Erillinen näytteenvalmistusjärjestelmä*

Analysoitavien näytteiden polttamisessa syntyneet hiilidioksidinäytteet sekä vertailunäyte kerätään pulloihin, jotka asetetaan isotooppianalyysiin tarkoitetun spektrometrin molempiin sisäänuloaukkoihin. Useita erilaisia kirjallisuudessa kuvattuja polttolaitteita voidaan käyttää:

- suljettu polttojärjestelmä, jossa kiertää happea,
- helium- ja happivirtauksella varustettu alkuaineanalysaattori,
- suljettu lasipullo, jossa on hapettimena kupari (II) oksidia.

▼ M10

7. NÄYTTEIDEN VALMISTAMINEN TESTEJÄ VARTEN

Etanoli on uutettava viinistä ennen isotooppitestiä. Se tehdään tislamalla viini menetelmän nro 8 (SNIF-NMR) kohdassa 3.1 kuvatulla tavalla.

Rypäleen puristemehujen, tiivistettyjen rypäleen puristemehujen ja puhdistettujen tiivistettyjen rypäleen puristemehujen sisältämät sokerit on ensin käytettävä alkoholiksi menetelmän nro 8 kohdassa 3.2 kuvatulla tavalla.

8. MENETELMÄ

Kaikki valmisteluvaiheet on tehtävä ilman, että alkoholia haihtuisi merkittäviä määriä, mikä saattaisi muuttaa näytteen isotooppikoostumusta.

Seuraavassa kuvataan menetelmää, jota yleensä käytetään etanolinäytteiden polttamiseen kaupallisesti saatavien automaattisten polttojärjestelmien avulla. Hiilidioksidin valmistamiseksi isotooppianalyysia varten voidaan käyttää myös muita menetelmiä, kunhan niillä voidaan varmistaa, että kaikki etanoli muuttuu hiilidioksidiksi ilman, että sitä häviää haihtumalla.

Koejärjestely alkuaineanalysaattoria käyttäen:

a) Näytteiden kapselointi:

- käytä puhtaita kapseleita, pinsettejä ja valmistelualustaa,
- tartu pinseteillä oikean kokoiseen kapseliin,
- lisää kapseliin oikea määrä nestettä mikropipetin avulla,
- *Huomaa:*

Tarvitaan 3,84 mg absoluuttista etanolia tai 4,17 mg tislettä, jonka alkoholipitoisuus on 92 painoprosenttia, jotta saadaan 2 mg hiiltä. Vaadittava tisle määrä on laskettava tällä perusteella ottaen huomioon massaspektrometrin herkkyyden edellyttämä hiilimäärä.
- sulje kapseli pinsettien avulla,
- jokainen kapseli on suljettava tiiviisti, ja huonosti suljetut kapselit on hylättävä ja korvattava uudella,
- jokaisesta näytteestä on valmistettava kaksi kapselia,
- aseta kapselit oikeaan paikkaan alkuaineanalysaattorin automaattisen näytteenyöttölaiteen pitimeen; jokaisessa kapselissa on oltava sarjanumero tunnistamista varten,
- aseta käytettävät vertailunäytteet järjestelmällisesti näytesarjan alkuun ja loppuun,
- laita säännöllisesti näytesarjoihin mukaan vertailunäytteitä.

b) Alkuaineanalyysi- ja massaspektrometrilaitteiden tarkastus ja säätö

- säädä alkuaineanalysaattoreiden uunien lämpötila sekä heliumin ja hapen virtaus niin, että näytteen palaminen tapahtuu parhaalla mahdollisella tavalla,
- tarkasta, ettei alkuaineanalyysi- ja massaspektrometrijärjestelmässä ole vuotoja (esimerkiksi tarkastamalla ionivirta massan ja varauksen suhteelle $m/z = 28$, mikä vastaa typpimolekyyliä),
- säädä massaspektrometri mittaamaan ionivirtoja, joissa massan ja varauksen suhde $m/z = 44, 45$ ja 46 ,
- tarkasta järjestelmän toiminta käyttäen tunnettuja näytteitä, ennen kuin mitaat varsinaisia koenäytteitä.

▼ M10

c) Mittaussarjan tekeminen

Alkuaineanalyysointorin (tai kromatografian) automaattiseen näytteen-syöttölaitteeseen asetetut näytteet menevät kukin vuorollaan mitattavaksi. Kunkin näytteen palamisesta syntyvä hiilidioksidi eluoidaan massaspektrometriin, joka mittaa ionivirrat. Laitteistoon liitetty tietokone kirjaa ionivirrat ja laskee δ -arvon kullekin näytteelle (9).

9. LASKENTAMENETELMÄ

Mittausmenetelmän tarkoituksena on mitata ^{13}C - ja ^{12}C -isotooppien suhdetta etanolissa, joka on peräisin viinistä tai muista käyneistä rypäletuotteista. ^{13}C - ja ^{12}C -isotooppien suhde voidaan ilmaista ilmoittamalla sen poikkeama käytettävästä vertailunäytteestä. Hiili-13-isotoopin pitoisuuden poikkeama ($\delta^{13}\text{C}$) lasketaan poikkeaman tuhannesosina ($\delta/1\,000$) vertaamalla mitattavasta näytteestä saatuja tuloksia tuloksiin, jotka on saatu käyttäen vertailunäytettä, joka on sitä ennen kalibroitu ensisijaisen kansainvälisen vertailunäytteen (V-PDB) avulla. $\delta^{13}\text{C}$ -arvot verrattuna vertailunäytteeseen ilmaistaan seuraavasti:

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{sam/ref}} \text{‰} = 1\,000 \times (R_{\text{sam}} - R_{\text{ref}})/R_{\text{ref}}$$

missä R_{sam} on mitattavan näytteen ^{13}C - ja ^{12}C -isotooppien suhde ja R_{ref} vastaava arvo vertailunäytteenä käytetyille hiilidioksidiille.

$\delta^{13}\text{C}$ -arvot verrattuna V-PDB-vertailumateriaaliin ilmaistaan seuraavasti:

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{sam/V-PDB}} \text{‰} = \delta^{13}\text{C}_{\text{sam/ref}} + \delta^{13}\text{C}_{\text{ref/V-PDB}} + (\delta^{13}\text{C}_{\text{sam/ref}} \times \delta^{13}\text{C}_{\text{ref/V-PDB}})/1\,000,$$

missä $\delta^{13}\text{C}_{\text{ref/V-PDB}}$ on etukäteen määritetty käytetyn vertailunäytteen isotooppisuhteen poikkeama V-PDB:n vastaavasta arvosta.

Pientä laitteista johtuvaa vaihtelua saattaa ilmetä tehtäessä on line-mittauksia. Tässä tapauksessa näytteille mitatut $\delta^{13}\text{C}$ -arvot on korjattava käytetyn vertailunäytteen mitatun $\delta^{13}\text{C}$ -arvon ja todellisen arvon välisen eron perusteella. Vertailunäytteen todellinen $\delta^{13}\text{C}$ -arvo tiedetään, koska se on aiemmin kalibroitu käyttäen jotain kansainvälistä vertailuainetta. Kahden vertailumateriaalista tehdyn mittauksen välisen vaihtelun, ja niin ollen myös näytteistä saatuihin tuloksiin tehtävien korjausten, oletetaan olevan lineaarisia. Vertailumateriaali on mitattava kaikkien mittaussarjojen alussa ja lopussa. Näin kullekin näytteelle voidaan sen jälkeen laskea korjaus lineaarista interpolaatiota käyttäen.

10. LAADUNVARMISTUS JA -VALVONTA

Tarkista, ettei käytettävälle vertailuaineelle mitattu ^{13}C -arvo poikkeaa sallitusta enempää kuin 0,5 ‰. Muussa tapauksessa spektrometrilaitteen asetukset on tarkistettava ja tarvittaessa korjattava.

Tarkista, että kahden peräkkäin mitatun saman näytteen arvojen välinen ero on pienempi kuin 0,3 ‰. Kunkin näyte-erän lopullinen tulos on kahden kapselin arvojen keskiarvo. Jos ero on suurempi kuin 0,3 ‰, mittaus on uusittava.

Mittaus voidaan tarkistaa käyttäen massan ja varauksen suhdetta $m/z = 44$ vastaavaa ionivirtaa, joka on verrannollinen alkuaineanalyysointoriin syötettävän hiilen määrään. Vakio-olosuhteissa ionivirran pitäisi olla analysoitaville näytteille lähes vakio. Merkittävä poikkeama saattaa olla merkki etanolin haihtumisesta (esimerkiksi kapselin huonon sulkemisen takia) tai alkuaineanalyysointorin tai massaspektrometrin epävakauksesta.

11. MENETELMÄN SUORITUSKYKY (TARKKUUS)

Alustava tutkimus (11.1) tehtiin laboratorioden välisenä yhteistyönä käyttäen tisleitä, joiden alkoholi oli peräisin viinistä, sokeriruo'osta ja sokerijuurikkaasta, sekä käyttäen erilaisia näistä kolmesta lähteestä peräisin olevia alkoholiseoksia. Koska tässä tutkimuksessa ei otettu huomioon tislauvaihetta, käsiteltäväksi otettiin myös muista laboratorioden välisistä viiniä koskevista vertailututkimuksista saatuja tietoja (11.2) sekä erityisesti sarja isotooppimittauksen soveltuvuuskokeita (11.3). Tulokset osoittavat, että tyydyttävissä oloissa ja erityisesti SNIF-NMR-menetelmää käytettäessä erilaiset tislauksimenetelmät eivät aiheuta merkittävää vaihtelua viinietanolin $\delta^{13}\text{C}$ -arvon määrittämisessä. Tarkkuutta kuvaavien viineille saatujen parametrien arvojen todettiin olevan lähes samat kuin tisleitä koskevissa yhteistutkimuksissa (11.1).

▼ M10

11.1

Tisleitä koskeva yhteistutkimus

Laboratorioiden välisten testien tekovuosi: 1996

Osallistuneiden laboratorioiden lukumäärä: 20

Näytteiden määrä: 6 näytettä kaksoissokko-määrityksenä

Analyytti: etanolin $\delta^{13}\text{C}$ -arvo

Näytteen koodi	Viinistä peräisin olevaa alkoholia	Sokerijuurikkaasta peräisin olevaa alkoholia	Sokeriruo'osta peräisin olevaa alkoholia
A & G	80 %	10 %	10 %
B & C	90 %	10 %	0 %
D & F	0 %	100 %	0 %
E & I	90 %	0 %	10 %
H & K	100 %	0 %	0 %
J & L	0 %	0 %	100 %

Näyttöt	A/G	B/C	D/F	E/I	H/K	J/L
Huomattavasti poikkeavien tulosten eliminoinnin jälkeen jäljelle jääneiden laboratorioiden määrä	19	18	17	19	19	19
Tutkimukseen mukaan hyväksyttyjen tulosten määrä	38	36	34	38	38	38
Keskimääräinen arvo ($\delta^{13}\text{C}$) ‰	- 25,32	- 26,75	- 27,79	- 25,26	- 26,63	- 12,54
S_r^2	0,0064	0,0077	0,0031	0,0127	0,0069	0,0041
Toistettavuuden keskihajonta (S_r) ‰	0,08	0,09	0,06	0,11	0,08	0,06
Toistettavuusraja r ($2,8 \times S_r$) ‰	0,22	0,25	0,16	0,32	0,23	0,18
S_R^2	0,0389	0,0309	0,0382	0,0459	0,0316	0,0584
Uusittavuuden keskihajonta (S_R) ‰	0,20	0,18	0,20	0,21	0,18	0,24
Uusittavuusraja R ($2,8 \times S_R$) ‰	0,55	0,49	0,55	0,60	0,50	0,68

11.2

Laboratorioidenvälinen vertailututkimus kahdesta viinistä ja yhdestä alkoholista

Laboratorioidenvälisten testien tekovuosi: 1996

Osallistuneiden laboratorioiden määrä: viinien tislamiseen osallistui 14 laboratoriota, joista seitsemän myös mittasi viinietanolin $\delta^{13}\text{C}$ -arvon

alkoholinäytteen $\delta^{13}\text{C}$ -arvon mittaamiseen

▼ M10

Näytteiden määrä:

osallistui kahdeksan laboratoriota

kolme (valkoviini, jonka alkoholipitoisuus oli 9,3 tilavuusprosenttia, valkoviini, jonka alkoholipitoisuus oli 9,6 tilavuusprosenttia, sekä alkoholiliuos, jonka vahvuus oli 93 painoprosenttia).

Analyytti:

etanolin $\delta^{13}\text{C}$ -arvo

Näyttet	Punaviini	Valkoviini	Alkoholi
Laboratorioiden määrä	7	7	8
Tutkimukseen hyväksyttyjen mittaustulosten määrä	7	7	8
Keskimääräinen mittaustulos ($\delta^{13}\text{C}$) ‰	- 26,20	- 26,20	- 25,08
Uusittavuuden varianssi S_R^2	0,0525	0,0740	0,0962
Uusittavuuden keskihajonta (S_R) ‰	0,23	0,27	0,31
Uusittavuusraja R ($2,8 \times S_R$) ‰	0,64	0,76	0,87

Tutkimukseen osallistuneet laboratoriot käyttivät erilaisia tislauksjärjestelmiä. Yhdessä laboratoriossa kaikille osallistuvien laboratorioiden palauttamille tisleille tehtyt isotooppimääritykset ($\delta^{13}\text{C}$ -arvojen määritykset) eivät antaneet epäsäännöllisiä tai oleellisesti keskiarvosta poikkeavia tuloksia. Tulosten varianssi ($S^2 = 0,0059$) on sopuoinnussa tisleiden yhteistutkimuksessa (11.1) saatujen toistettavuuden varianssin S_R^2 -arvojen kanssa.

11.3 Isotooppitestauksen soveltuvuuden valvonnan tulokset

Isotooppimittausten soveltuvuutta viinien ja alkoholien (96 tilavuusprosenttia alkoholia sisältävien tisleiden) tutkimiseen on valvottu kansainvälisellä tasolla säännöllisesti joulukuusta 1994 lähtien. Tulosten avulla osallistuvat laboratoriot voivat tarkastaa analyysiensä laadun. Tilastollisin menetelmin voidaan ottaa huomioon tulosten vaihtelu uusittavuuden asettamissa rajoissa ja näin arvioida varianssin ja uusittavuusrajan arvot. Seuraavassa taulukossa on viinien ja tisleiden sisältämän etanolin $\delta^{13}\text{C}$ -arvojen määrittämisessä saatujen tulosten yhteenveto:

Päivämäärä	Viinit				Tisleet			
	N	S_R	S_R^2	R	N	S_R	S_R^2	R
Joulukuu 1994	6	0,210	0,044	0,59	6	0,151	0,023	0,42
Kesäkuu 1995	8	0,133	0,018	0,37	8	0,147	0,021	0,41
Joulukuu 1995	7	0,075	0,006	0,21	8	0,115	0,013	0,32
Maaliskuu 1996	9	0,249	0,062	0,70	11	0,278	0,077	0,78
Kesäkuu 1996	8	0,127	0,016	0,36	8	0,189	0,036	0,53
Syyskuu 1996	10	0,147	0,022	0,41	11	0,224	0,050	0,63
Joulukuu 1996	10	0,330	0,109	0,92	9	0,057	0,003	0,16
Maaliskuu 1997	10	0,069	0,005	0,19	8	0,059	0,003	0,16

▼ **M10**

Päivämäärä	Viinit				Tisleet			
	N	S _R	S ² _R	R	N	S _R	S ² _R	R
Kesäkuu 1997	11	0,280	0,079	0,78	11	0,175	0,031	0,49
Syyskuu 1997	12	0,237	0,056	0,66	11	0,203	0,041	0,57
Joulukuu 1997	11	0,127	0,016	0,36	12	0,156	0,024	0,44
Maaliskuu 1998	12	0,285	0,081	0,80	13	0,245	0,060	0,69
Kesäkuu 1998	12	0,182	0,033	0,51	12	0,263	0,069	0,74
Syyskuu 1998	11	0,264	0,070	0,74	12	0,327	0,107	0,91
Painotettu keskiarvo		0,215	0,046	0,60		0,209	0,044	0,59

N: osallistuneiden laboratorioiden määrä

11.4 **Toistettavuus- ja uusittavuusrajat**

Edellä olevissa taulukoissa esitettyjen laboratorioiden välisistä tutkimuksista saatujen tulosten perusteella voidaan tälle menetelmälle tislausvaihe mukaan luettuna määrittää seuraavat toistettavuus- ja uusittavuusrajat:

Toistettavuusraja r: 0,24

Uusittavuusraja R: 0,6.