

31990R2676

3.10.1990

ÚŘEDNÍ VĚSTNÍK EVROPSKÝCH SPOLEČENSTVÍ

L 272/1

NAŘÍZENÍ KOMISE (EHS) č. 2676/90
ze dne 17. září 1990,
kterým se stanoví metody Společenství používané pro rozbor vín

KOMISE EVROPSKÝCH SPOLEČENSTVÍ,

s ohledem na Smlouvu o založení Evropského hospodářského společenství,

s ohledem na nařízení Rady (EHS) č. 822/87 ze dne 16. března 1987 o společné organizaci trhu s vínem ⁽¹⁾, ve znění nařízení (EHS) č. 1325/90 ⁽²⁾, a zejména na článek 74 uvedeného nařízení,

vzhledem k tomu, že čl. 74 odst. 1 nařízení (EHS) č. 822/87 předepisuje přijetí metod rozboru pro stanovení složení produktů stanovených v článku 1 uvedeného nařízení a pravidel umožňujících zjistit, zda u těchto produktů nebylo použito nepovolených enologických postupů;

vzhledem k tomu, že Společenství dosud nestanovilo mezní hodnoty pro látky, jejichž přítomnost naznačuje, že byly použity určité enologické postupy, a ještě nepřijalo tabulky umožňující srovnání analytických údajů, je vhodné ke stanovení takových mezních hodnot oprávnit členské státy;

vzhledem k tomu, že čl. 13 odst. 1 nařízení (EHS) č. 822/87 stanoví zkoušku rozbořem, která se vztahuje alespoň na hodnoty charakteristických prvků dotýčných jakostních vín s. o. uvedené v příloze k uvedenému nařízení;

vzhledem k tomu, že pro získání přesných a srovnatelných údajů vyžaduje dohled nad údaji v dokladech týkajících se dotýčných produktů jednotné metody rozboru; že v důsledku toho by tyto metody měly být povinné pro všechny obchodní transakce a všechna kontrolní opatření; že by však mělo být s ohledem na omezené možnosti obchodu povoleno omezené množství obvyklých postupů umožňujících rychlé a dostatečně přesné určení sledovaných prvků;

vzhledem k tomu, že je užitečné zachovat pokud možno obecně uznávané metody, jako jsou metody vyvinuté podle Mezinárodní

úmluvy o sjednocení metod rozboru a oceňování vín z roku 1954, které byly zveřejněny v *Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins* (Kompendium mezinárodních metod rozboru vín) Mezinárodním úřadem pro révu a víno;

vzhledem k tomu, že metody Společenství použitelné pro rozbor vína byly stanoveny v nařízení Komise (EHS) č. 1108/82 ⁽³⁾; že s ohledem na dosažený vědecký pokrok je nutné nahradit některé z těchto metod metodami vhodnějšími, jiné upravit a zavést metody nové, zejména metody schválené Mezinárodním výborem pro révu a víno; že z důvodu množství a složitosti těchto změn by se měly všechny rozboru znovu souhrnně uvést v novém nařízení a nařízení (EHS) č. 1108/82 by mělo být zrušeno;

vzhledem k tomu, že k zajištění srovnatelnosti výsledků získaných metodami rozboru uvedenými v článku 74 nařízení (EHS) č. 822/87 je třeba vztahovat na přesnost, opakovatelnost a reprodukovatelnost těchto výsledků definice stanovené Mezinárodním úřadem pro révu a víno;

vzhledem k tomu, že za účelem zohlednění vědeckého pokroku na straně jedné a technického vybavení úředních laboratoří na straně druhé a s cílem zvýšení účinnosti a ziskovosti těchto laboratoří je žádoucí za jistých podmínek povolit používání těchto automatizovaných metod rozboru; že je důležité upřesnit, že v případě sporu nesmějí automatizované metody nahradit referenční metody a obvyklé metody;

vzhledem k tomu, že výsledky měření hustoty automatizovanou metodou založenou na principu frekvenčního oscilátoru jsou s ohledem na přesnost, opakovatelnost a reprodukovatelnost přinejmenším rovnocenné výsledkům metod pro měření hustoty nebo relativní hustoty uvedených v oddíle 1 přílohy tohoto nařízení; že proto na základě čl. 74 odst. 3 nařízení (EHS) č. 822/87 se tato automatizovaná metoda považuje za rovnocennou výše uvedené metodě stanovené v příloze tohoto nařízení;

⁽¹⁾ Úř. věst. L 84, 27.3.1987, s. 1.

⁽²⁾ Úř. věst. L 132, 23.5.1990, s. 19.

⁽³⁾ Úř. věst. L 133, 14.5.1982, s. 1.

vzhledem k tomu, že postup popsáný v kapitole 25 bodu 2.2.3.3.2 v příloze tohoto nařízení týkající se rozboru obsahu oxidu siřičitého ve víně a hroznovém moštu o předpokládaném obsahu méně než 50 mg/l vede k lepší extrakci oxidu siřičitého ve srovnání s metodami popsány v kapitole 13 bodu 13.4 přílohy nařízení (EHS) č. 1108/82; že výsledkem je vyšší celkový obsah oxidu siřičitého v analyzovaných produktech, který může zejména v případě určitých hroznových šťáv překročit stanovenou mezní hodnotu; že aby se zamezilo obtížím při odbytu hroznové šťávy, která byla vyrobena již před vstupem tohoto nařízení v platnost, je žádoucí povolit na přechodné období používání postupu stanoveného v uvedeném nařízení, a to až do doby zavedení výrobních postupů, které povedou k úplnějšímu odsíření hroznového moštu, jehož kvašení bylo zastaveno přidáním alkoholu;

vzhledem k tomu, že opatření tohoto nařízení jsou v souladu se stanoviskem Řídícího výboru pro víno,

PŘIJALA TOTO NAŘÍZENÍ:

Článek 1

1. V příloze tohoto nařízení jsou uvedeny metody rozboru vína používané ve Společenství, které při obchodních transakcích a všech kontrolních opatřeních umožňují

- stanovit složení produktů uvedených v článku 1 nařízení (EHS) č. 822/87,
- zkontrolovat, zda u těchto produktů nebylo použito nepovolených enologických postupů.

2. Pro látky, pro které jsou stanoveny referenční metody a obvyklé metody, mají přednost výsledky získané použitím referenčních metod.

Článek 2

Pro účely tohoto nařízení se rozumí:

- a) opakovatelností hodnota, u které lze očekávat, že absolutní rozdíl mezi výsledky dvou jednotlivých zkoušek získaných na totožném zkušebním materiálu a za stejných podmínek (stejný zpracovatel, stejné vybavení, stejná laboratoř a krátký časový odstup) bude s určitou pravděpodobností nižší než tato hodnota;

- b) reprodukovatelností hodnota, u které lze očekávat, že absolutní rozdíl mezi výsledky dvou jednotlivých zkoušek získaných na totožném zkušebním materiálu za různých podmínek (různý zpracovatel, různé vybavení a/nebo různé laboratoře a/nebo různá doba) bude s určitou pravděpodobností nižší než tato hodnota.

Výrazem „výsledek jednotlivé zkoušky“ se rozumí hodnota, která se získá, pokud se normalizovaný zkušební postup použije plně na jeden jednotlivý vzorek.

Není-li uvedeno jinak, pravděpodobnost je 95 %.

Článek 3

1. Automatizované metody rozboru jsou přípustné na odpovědnost vedoucího laboratoře za podmínky, že přesnost, opakovatelnost a reprodukovatelnost výsledků jsou alespoň rovnocenné přesnosti, opakovatelnosti a reprodukovatelnosti výsledků získaných metodami rozboru uvedenými v příloze.

Ve sporných případech nesmějí být metody uvedené v příloze nahrazeny automatizovanými metodami.

2. Automatizovaná metoda pro měření hustoty pomocí frekvenčního oscilátoru se považuje za rovnocennou metodám uvedeným v oddíle 1 přílohy tohoto nařízení.

Článek 4

Kdykoli je zmíněna voda pro roztok, zředění nebo mytí, znamená to destilovanou vodu nebo demineralizovanou vodu rovnocenné čistoty. Není-li stanoveno jinak, musí mít všechny chemikálie analytickou kvalitu.

Článek 5

Zrušuje se nařízení (EHS) č. 1108/82.

Ustanovení čl. 1 odst. 4 uvedeného nařízení se však použije až do dne 31. prosince 1990.

Článek 6

Toto nařízení vstupuje v platnost dnem vyhlášení v Úředním věstníku Evropských společenství.

Použije se ode dne 1. října 1990.

Toto nařízení je závazné v celém rozsahu a přímo použitelné ve všech členských státech.

V Bruselu dne 17. září 1990.

Za Komisi

Ray MAC SHARRY

člen Komise

PŘÍLOHA

1. HUSTOTA A RELATIVNÍ HUSTOTA PŘI TEPLITĚ 20 °C

1. DEFINICE

Hustota je hmotnost jednotkového objemu vína nebo moštu při teplotě 20 °C. Vyjadřuje se v gramech na mililitr a označuje se symbolem $\rho_{20\text{ °C}}$.

Relativní hustota při teplotě 20 °C nebo hustota 20 °C/20 °C je poměr hustoty určitého objemu vína nebo moštu při teplotě 20 °C k hustotě stejného objemu vody při stejné teplotě, vyjádřený desetinným číslem. Označuje se symbolem $d_{20\text{ °C}}^{20\text{ °C}}$.

2. PRINCIP METOD

Hustota a relativní hustota při 20 °C se měří na zkušebním vzorku:

- referenční metodou: pyknometrem,
- obvyklými metodami: areometrem nebo hustoměrem pomocí hydrostatických vah.

Poznámka:

Pro velmi přesná měření se hustota musí upravit kvůli účinku oxidu siřičitého pomocí vzorce:

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

kde $\rho_{20\text{ °C}}$ = korigovaná hustota

$\rho'_{20\text{ °C}}$ = korigovaná hustota

S = celkové množství oxidu siřičitého v gramech na litr.

3. PŘEDBĚŽNÁ ÚPRAVA VZORKU

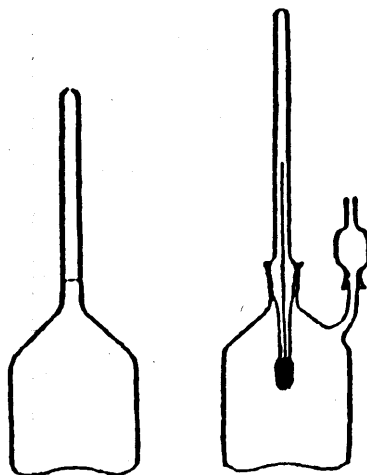
Pokud víno nebo mošt obsahuje nezanedbatelné množství oxidu uhličitého, odstraňte jeho většinu mícháním 250 ml vína v jedolitrové baňce nebo filtrací při sníženém tlaku přes 2 g vaty vložené do prodlužovací trubice.

4. REFERENČNÍ METODA

4.1 Vybavení

Běžné laboratorní vybavení, zejména:

- 4.1.1 Pyknometr z ohnivzdorného skla (Pyrex) ⁽¹⁾ o kapacitě přibližně 100 ml s odnímatelným teploměrem se zábrusem, kalibrovaným v desetínách stupně od 10 do 30 °C (obr. 1). Teploměr musí být odzkoušen.



Obr. 1

Pyknometr a jeho tárovací baňka

⁽¹⁾ Může být použit jakýkoli pyknometr s rovnocennými vlastnostmi.

Pyknometr má postranní trubici o délce 25 mm a vnitřním průměru nejvýše 1 mm, zakončenou kuželovým zabroušeným spojem. Tato postranní trubice může být uzavřena zátkou se zásobníkem, která se skládá z kuželové trubice se zabroušeným spojem a končí vytaženou sekcí. Tato zátka slouží jako expanzní komora.

Dva zabroušené spoje aparatury musí být provedeny velmi pečlivě.

- 4.1.2 Tárovací láhev, která se skládá z nádoby se stejným vnějším objemem (s přesností na 1 ml) jako pyknometr a hmotností rovnou hmotnosti pyknometru naplněného kapalinou o relativní hustotě 1,01 (roztok chloridu sodného 2,0 % hmotnost/objem).

Tepečně izolovaná nádobka přesně odpovídající tělesu pyknometru.

- 4.1.3 Dvumiskové váhy s rozsahem alespoň 300 g a citlivostí 0,1 mg,
nebo
jednomiskové váhy s rozsahem alespoň 200 g a citlivostí 0,1 mg.

4.2 Kalibrace pyknometru

Kalibrace pyknometru zahrnuje stanovení následujících veličin:

- hmotnost prázdného pyknometru,
- objem pyknometru při 20 °C,
- hmotnost pyknometru naplněného vodou při teplotě 20 °C.

4.2.1 Metoda s použitím dvumiskových vah

Položte tárovací láhev na levou misku vah a čistý a suchý pyknometr opatřený „zátkou se zásobníkem“ na pravou misku. Na misku s pyknometrem přidávejte závaží a zaznamenejte hmotnost nutnou k ustavení rovnováhy: nechť je to p gramů.

Pyknometr opatrně naplňte destilovanou vodou o teplotě okolí a nasadte teploměr. Pyknometr pečlivě otřete do sucha a vložte ho do tepečně izolované nádoby. Promíchejte ho otáčením nádoby, dokud nebude odečet teploty na teploměru konstantní. Hladinu nastavte přesně k hornímu okraji postranní trubice. Postranní trubici otřete do sucha a nasadte zátku se zásobníkem; pečlivě odečtěte teplotu t °C, případně ji upravte s ohledem na nepřesnost na teplotní stupnici. Zvažte pyknometr naplněný vodou proti tárovací baňce a zaznamenejte hmotnost p' v gramech požadovanou k vytvoření rovnováhy.

Výpočet ⁽¹⁾:

Tárování prázdného pyknometru:

Tára prázdného pyknometru = $p + m$,

kde m = hmotnost vzduchu obsaženého v pyknometru,

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

Objem při 20 °C:

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

kde F_t = faktor převzatý z tabulky 1 pro teplotu t °C.

Hodnota objemu $V_{20\text{ °C}}$ by měla být známa v rozmezí $\pm 0,001$ ml.

Hmotnost vody při 20 °C:

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

kde 0,998203 je hustota vody při 20 °C.

⁽¹⁾ Číselný příklad je uveden v části 6 této kapitoly.

4.2.2 Metoda s použitím jednomiskových vah

Stanovte:

- hmotnost čistého a suchého pyknometru; nechť tato hmotnost je P .
- hmotnost pyknometru naplněného vodou při t °C podle postupu popsáného v 4.2.1 výše; nechť tato hmotnost je P_1 .
- hmotnost táry: T_0 .

Výpočet ⁽¹⁾:

Tárování prázdného pyknometru:

Tára prázdného pyknometru = $P - m$,

kde m = hmotnost vzduchu v pyknometru,

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

Objem při 20 °C:

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

kde F_t = faktor převzatý z tabulky I pro teplotu t °C.

Hodnota objemu $V_{20\text{ °C}}$ by měla být známa v rozmezí $\pm 0,001$ ml.

Hmotnost vody při 20 °C:

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

kde 0,998203 je hustota vody při 20 °C.

4.3 Metoda měření ⁽¹⁾

4.3.1 Metoda s použitím dvoumiskových vah

Naplňte pyknometr připraveným zkušebním vzorkem postupem podle bodu 4.2.1.

Nechť p'' je hmotnost v gramech požadovaná k zavedení rovnováhy při t °C.

Hmotnost kapaliny obsažené v pyknometru = $p + m - p''$.

Zdánlivá hustota při t °C:

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

Pomocí jedné z korekčních tabulek uvedených dále vypočítejte hustotu při 20 °C, v souladu s povahou měřené kapaliny: suché víno (tabulka II), přírodní nebo zahuštěný mošt (tabulka III), sladké víno (tabulka IV).

Relativní hustota vína 20 °C/20 °C se vypočítá dělením jeho hustoty při 20 °C číslem 0,998203.

4.3.2 Metoda při použití jednomiskových vah ⁽²⁾

Zvažte tárovací láhev, její hmotnost nechť je T .

Vypočítejte $dT = T_1 - T_0$.

Hmotnost prázdného pyknometru v okamžiku měření = $P - m + dT$.

Zvažte pyknometr naplněný připraveným zkušebním vzorkem postupem podle bodu 4.2.1. Nechť jeho hmotnost při t °C je P_2 .

⁽¹⁾ Číselný příklad je uveden v části 6 této kapitoly.

⁽²⁾ Obsah cukru se vyjadřuje jako invertní cukr.

Hmotnost kapaliny obsažené v pyknometru při $t\text{ }^{\circ}\text{C} = P_2 - (P - m + dT)$.

Zdánlivá hustota při $t\text{ }^{\circ}\text{C}$:

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

Hustotu zkoušené kapaliny (suchého vína, přírodního nebo zahuštěného moštu nebo sladkého vína) při $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ vypočítejte podle 4.3.1 výše.

Relativní hustota vína $20\text{ }^{\circ}\text{C}/20\text{ }^{\circ}\text{C}$ se vypočítá dělením jeho hustoty při $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ číslem 0,988203.

4.3.3 Opakovatelnost měření hustoty

pro suchá a polosladká vína: $r = 0,00010$

a pro sladká vína: $r = 0,00018$.

4.3.4 Reprokovatelnost měření hustoty:

pro suchá a polosladká vína: $R = 0,00037$

a pro sladká vína: $R = 0,00045$.

5. OBVYKLÉ METODY

5.1 Areometrie

5.1.1 Vybavení

5.1.1.1 Areometr

Areometry musejí s ohledem na rozměry a dělení stupnice splňovat normy ISO.

Musejí mít válcovou baňku a stopku s kruhovým průřezem o minimálním průměru 3 mm. Pro suchá vína musejí mít stupnici od 0,983 do 1,003 s dílky stupnice po každých 0,0010 a 0,0002. Každá značka po 0,0010 bude vzdálena od následující značky alespoň 5 mm. Pro měření hustoty odalkoholizovaných vín, sladkých vín a moštů se používá sada pěti areometrů odstupňovaných od 1,000 do 1,030, od 1,030 do 1,060, od 1,060 do 1,090, od 1,090 do 1,120 a od 1,120 do 1,150. Tyto areometry budou mít stupnice pro hustoty při $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ se značkami alespoň každých 0,0010 až 0,0005 a každá značka při 0,0010 bude vzdálena od další odpovídající značky alespoň 3 mm.

Tyto areometry musí mít takovou stupnici, aby se odečet prováděl na menisku. Údaje o stupnici vyjádřené jako hustota nebo relativní hustota při $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ a o způsobu odečtu menisku se uvádějí buď na stupnici nebo na proužku papíru uzavřeném v trubici. Tyto areometry musí být kontrolovány úředním subjektem.

5.1.1.2 Kalibrovaný teploměr se stupnicí dělenou nejméně po $0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

5.1.1.3 Odměrný válec o vnitřním průměru 36 mm a výšce 320 mm držení ve svislé poloze opěrnými vyrovnávacími šrouby.

5.1.2 Postup

5.1.2.1 Metoda měření

Do odměrného válce uvedeného v bodu 5.1.1.3 nalijte 250 ml zkušební vzorku připraveného podle bodu 3 pro pokus a zaveďte do něj teploměr a hustoměr. Teplotu odečtěte jednu minutu po dobrém promíchání vzorku, kterým se vyrovná teplota. Vyjměte teploměr a po další minutě odečtěte na areometru zdánlivou hustotu při $t\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Zdánlivá hustota při $t\text{ }^{\circ}\text{C}$ se pak upraví na $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ pomocí tabulek použitelných na suchá vína (tabulka V), mošty (tabulka VI) nebo vína s obsahem cukru (tabulka VII).

Relativní hustota $20\text{ }^{\circ}\text{C}/20\text{ }^{\circ}\text{C}$ se získá vydělením hustoty při $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ číslem 0,988203.

5.2 Měření hustoty s použitím hydrostatických vah

5.2.1 Vybavení

5.2.1.1 Hydrostatické váhy s horní mezí váživosti nejméně 100 g a s citlivostí 0,1 mg.

Pod obě misky se upevní totožné plováky z ohnivzdorného skla Pyrex o objemu nejméně 20 ml zavěšením na drátu o průměru nejvýše 0,1 mm.

Musí být možné zavést plovák zavěšený pod pravou miskou do odměrného válce se značkou udávající hladinu. Odměrný válec musí mít vnitřní průměr alespoň o 6 mm větší, než je průměr plováku. Plovák musí být možno úplně zasunout do objemu odměrného válce vymezeného pod značkou tak, že se kapalina dotýká vlákn. Teplota kapaliny v odměrném válci se měří teploměrem s dílkou stupnice po $0,2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

5.2.1.2 Rovněž lze použít jednomiskové hydrostatické váhy.

5.2.2 Postup

5.2.2.1 Standardizace hydrostatických vah.

S těmito dvěma plováky ve vzduchu vytvořte rovnováhu tím, že na pravou miskou vložíte závaží. Zaznamenejte hmotnost p těchto přidaných závaží.

Odměrný válec naplňte čistou vodou až ke značce a po protřepání a ponechání v klidu po dvě nebo tři minuty odečtěte teplotu $t\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Položením závaží na pravou miskou obnovte rovnováhu. Jejich hmotnost budiž p' .

Objem plováku při $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ je dán vztahem:

$$V_{20\text{ }^{\circ}\text{C}} = (p' - p) (F + 0,0012),$$

kde F je faktor uvedený v tabulce I pro teplotu $t\text{ }^{\circ}\text{C}$,

p a $V_{20\text{ }^{\circ}\text{C}}$ jsou charakteristiky plováku.

5.2.2.2 Metoda měření

Pravý plovák se ponoří do odměrného válce naplněného vínem (nebo moštem) až ke značce. Odečte se teplota $t\text{ }^{\circ}\text{C}$ vína (nebo moštu) a zaznamená se hmotnost p'' potřebná k obnovení rovnováhy.

Zdánlivá hustota ρ_t je dána vztahem

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

Tato hustota se upraví na $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ pomocí jedné z tabulek II, III nebo IV, pokud je plovák z ohnivzdorného skla (Pyrex).

6. PŘÍKLAD VÝPOČTU HUSTOTY PŘI 20 °C A RELATIVNÍ HUSTOTY 20 °C/20 °C (REFERENČNÍ METODA)

6.1 **Pyknometrie s použitím dvoumiskových vah.**

6.1.1 *Standardizace pyknometru*

1. Vážení čistého suchého pyknometru:

$$\text{Tára} = \text{pyknometr} + p$$

$$p = 104,9454 \text{ g}$$

2. Zvážení pyknometru naplněného vodou při t °C:

$$\text{Tára} = \text{pyknometr} + \text{voda} + p'$$

$$p' = 1,2396 \text{ g při } t = 20,5 \text{ °C}$$

3. Výpočet hmotnosti vzduchu v pyknometru:

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

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

$$m = 0,1244 \text{ g}$$

4. Charakteristické hodnoty k uchování:

$$\text{Tára prázdného pyknometru, } p + m$$

$$p + m = 104,9454 + 0,1244$$

$$p + m = 105,0698 \text{ g}$$

$$\text{Objem při } 20 \text{ °C} = F (p + m - p')_{t \text{ °C}}$$

$$F_{20,5 \text{ °C}} = 1,001900$$

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

$$V_{20 \text{ °C}} = 104,0275 \text{ ml}$$

$$\text{Hmotnost vody při } 20 \text{ °C:}$$

$$M_{20 \text{ °C}} = V_{20,5 \text{ °C}} \times 0,998203$$

$$M_{20 \text{ °C}} = 103,8405 \text{ g}$$

6.1.2 *Stanovení hustoty a relativní hustoty při 20 °C/20 °C suchého vína*

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

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

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

Tabulka II umožňuje vypočítat $\rho_{20 \text{ °C}}$ z $\rho_{t \text{ °C}}$ pomocí vztahu:

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

Pro $t = 17,80 \text{ °C}$ a obsah alkoholu 11 % objemových je $c = 0,54$.

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

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

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

6.2 **Pyknometrie s použitím jednomiskových vah**

6.2.1 *Stanovení konstant pyknometru:*

1. Vážení čistého a suchého pyknometru:

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

2. Zvážení pyknometru naplněného vodou při t °C:

$$P_1 = 169,2715 \text{ g při } t = 21,65 \text{ °C}$$

3. Hmotnost vzduchu v pyknometru:

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

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

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

4. Charakteristické hodnoty k uchování:

Tára prázdného pyknometru, $P - m$:

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

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

$$\text{Objem při } 20 \text{ °C} = [P_1 - (P - m)] F_{t \text{ °C}}$$

$$F_{21,65 \text{ °C}} = 1,002140$$

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

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

Hmotnost vody při 20 °C:

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

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

Hmotnost tárovací láhve, T_0 :

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

6.2.2 Stanovení hustoty při 20 °C a relativní hustoty 20 °C / 20 °C u suchého vína

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

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

$$P - m + dT = 67,6695 + 0,0018 = 67,6713$$

$$P_2 = 169,2799 \text{ g/ml při } 18 \text{ °C}$$

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

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

Tabulka II umožňuje vypočítat $\rho_{20 \text{ °C}}$ na základě $\rho_{t \text{ °C}}$ pomocí vztahu:

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

Pro $t = 18 \text{ °C}$ a objem alkoholu 11 % obj. je $c = 0,49$.

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

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

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

TABULKA I

Faktory F, kterými se musí vynásobit hmotnost vody v pyknometru z ohnivzdorného skla (Pyrex), aby se vypočítal objem pyknometru při 20 °C

t °C	F	t °C	F	t °C	F	t °C	F	t °C	F	t °C	F	t °C	F
10,0	1,000398	13,0	1,000691	16,0	1,001097	19,0	1,001608	22,0	1,002215	25,0	1,002916	28,0	1,003704
,1	1,000406	,1	1,000703	,1	1,001113	,1	1,001627	,1	1,002238	,1	1,002941	,1	1,003731
,2	1,000414	,2	1,000714	,2	1,001128	,2	1,001646	,2	1,002260	,2	1,002966	,2	1,003759
,3	1,000422	,3	1,000726	,3	1,001144	,3	1,001665	,3	1,002282	,3	1,002990	,3	1,003787
,4	1,000430	,4	1,000738	,4	1,001159	,4	1,001684	,4	1,002304	,4	1,003015	,4	1,003815
10,5	1,000439	13,5	1,000752	16,5	1,001175	19,5	1,001703	22,5	1,002326	25,5	1,003041	28,5	1,003843
,6	1,000447	,6	1,000764	,6	1,001191	,6	1,001722	,6	1,002349	,6	1,003066	,6	1,003871
,7	1,000456	,7	1,000777	,7	1,001207	,7	1,001741	,7	1,002372	,7	1,003092	,7	1,003899
,8	1,000465	,8	1,000789	,8	1,001223	,8	1,001761	,8	1,002394	,8	1,003117	,8	1,003928
,9	1,000474	,9	1,000803	,9	1,001239	,9	1,001780	,9	1,002417	,9	1,003143	,9	1,003956
11,0	1,000483	14,0	1,000816	17,0	1,001257	20,0	1,001800	23,0	1,002439	26,0	1,003168	29,0	1,003984
,1	1,000492	,1	1,000829	,1	1,001273	,1	1,001819	,1	1,002462	,1	1,003194	,1	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		

TABULKA II

Teplotní korekce c k hustotě suchých vín bez alkoholu měřené pyknometrem ze skla Pyrex při t °C k úpravě výsledku na 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \begin{cases} - \text{je-li } t \text{ °C nižší než } 20 \text{ °C} \\ + \text{je-li } t \text{ °C vyšší než } 20 \text{ °C} \end{cases}$$

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

Poznámka: Tato tabulka se může použít k převodu relativní hustoty d_{20}^t na relativní hustotu $d_{20}^{20\text{ °C}}$

TABULKA III

Teplotní korekce c k hustotě přírodních moštů a zahuštěných moštů měřené pyknometrem ze skla Pyrex při t °C k úpravě výsledku na 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \begin{cases} - \text{je-li } t \text{ °C nižší než } 20 \text{ °C} \\ + \text{je-li } t \text{ °C vyšší než } 20 \text{ °C} \end{cases}$$

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

TABULKA IV

Teplotní korekce c k hustotě vín o obsahu alkoholu nejméně 13 % obj. a obsahujících zbytkový cukr, měřené pyknometrem ze skla Pyrex k úpravě výsledku na 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{cases} - \text{je-li } t \text{ °C nižší než } 20 \text{ °C} \\ + \text{je-li } t \text{ °C vyšší než } 20 \text{ °C} \end{cases}$$

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

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

TABULKA VII

Teplotní korekce c k hustotě vín o obsahu alkoholu 13 % obj. a více, která obsahují zbytkový cukr, měřené hustoměrem nebo pyknometrem z obyčejného skla k úpravě výsledku na 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \begin{cases} - \text{je-li } t \text{ °C nižší než } 20 \text{ °C} \\ + \text{je-li } t \text{ °C vyšší než } 20 \text{ °C} \end{cases}$$

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

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

2. **REFRAKTOMETRICKÉ STANOVENÍ OBSAHU CUKRU V HROZNOVÝCH MOŠTECH, ZAHUŠTĚNÝCH HROZNOVÝCH MOŠTECH A REKTIFIKOVANÝCH MOŠTOVÝCH KONCENTRÁTECH**

1. **PRINCIP METODY**

Obsah Cukru v gramech na litr a v gramech na kilogram pro hroznové mošty, zahuštěné hroznové mošty a rektifikované moštové koncentráty se stanoví na základě indexu lomu při 20 °C vyjádřeném buď jako absolutní hodnota, nebo jako hmotnostní procento sacharosy, který je uveden v příslušné tabulce.

2. **VYBAVENÍ**

2.1 **Abbé refraktometr**

Použitý refraktometr musí být vybaven stupnicí měřící:

- s přesností 0,1 % hmotnostního sacharosy,
- nebo index lomu na čtyři desetinná místa.

Refraktometr musí být vybaven teploměrem, který má stupnici v rozsahu alespoň od +15 °C do +25 °C a s úpravou pro cirkulující vodu, která umožňuje provádět měření při teplotě 20 ± 5 °C.

Provozní pokyny pro tento přístroj je třeba přísně dodržovat, zejména pokud jde o kalibraci a zdroj světla.

3. **PŘÍPRAVA VZORKU**

3.1 **Mošt a zahuštěný mošt**

Mošt případně přefiltrujte přes suchou gázu čtyřikrát přeloženou, odstraňte první podíly filtrátu a proveďte stanovení na filtrovaném vzorku.

3.2 **Rektifikovaný moštový koncentrát**

V závislosti na koncentraci použijte buď rektifikovaný moštový koncentrát samotný, nebo roztok získaný doplněním 200 g rektifikovaného moštového koncentráту na 500 g vodou, přičemž veškerá odvažování musí být přesná.

4. **POSTUP**

Vzorek temperujeme na teplotu přibližně 20 °C. Na hranol refraktometru dejte malý zkušební vzorek a dejte pozor, aby tento zkušební vzorek pokrýval skleněný povrch stejnoměrně (hranoly jsou stisknuty pevně k sobě). Proveďte měření podle provozních pokynů pro použitý přístroj.

Odečtěte hmotnostní procento sacharosy s přesností na 0,1 % nebo odečtěte index lomu na čtyři desetinná místa.

Na stejném připraveném vzorku proveďte alespoň dvě stanovení.

Poznamenejte si teplotu t °C.

5. **VÝPOČET**

5.1 **Korekce teploty**

5.1.1 **Přístroje se stupnicí v hmotnostních procentech sacharosy: k získání korekce teploty použijte tabulku I.**

- 5.1.2 Přístroje se stupnicí v indexu lomu: v tabulce II najdete index změřený při t °C, abyste získali odpovídající hodnotu hmotnostního procenta sacharosy při t °C (sloupec 1). Tuto hodnotu upravte pomocí tabulky I na teplotu 20 °C.

5.2 Obsah cukru v moštu a zahuštěném moštu

V tabulce II najdete hmotnostní procento sacharosy při 20 °C a zjistíte obsah cukru v gramech na litr a v gramech na kilogram. Obsah cukru se vyjadřuje jako invertní cukr s přesností na jedno desetinné místo.

5.3 Obsah cukru v rektifikovaném moštovém koncentrátu

V tabulce III najdete hmotnostní procento sacharosy při 20 °C a zjistíte obsah cukru v gramech na litr a v gramech na kilogram. Obsah cukru se vyjadřuje jako invertní cukr s přesností na jedno desetinné místo.

Pokud bylo měření provedeno na zředěném rektifikovaném moštovém koncentrátu, výsledek vynásobte faktorem zředění.

5.4 Index lomu moštu, zahuštěného moštu a rektifikovaného moštového koncentrátu

V tabulce II najdete hmotnostní procento sacharosy při 20 °C a zjistíte index lomu při 20 °C. Index lomu se vyjadřuje s přesností na čtyři desetinná místa.

TABULKA I

Korekce pro případ, že hmotnostní procento sacharosy bylo stanoveno při teplotě jiné než 20 °C

Teplota °C	Sacharosa v gramech na 100 g produktu									
	5	10	15	20	30	40	50	60	70	75
Odečíst										
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
Přičíst										
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

Teploty se nesmí od 20 °C lišit více než ± 5 °C.

TABULKA II

Tabulka udávající obsah cukru ⁽¹⁾ v moštu a zahuštěném moštu v gramech na litr a gramech na kilogram stanovený pomocí refraktometru v hmotnostním procentu sacharosy při 20 °C nebo v indexu lomu při 20 °C. Rovněž je uvedena hustota při 20 °C.

Sacharosa % (hmotn.)	Index lomu při 20 °C	Hustota při 20 °C	Cukr v g/l	Cukr v g/kg	Obsah alkoholu % obj. při 20 °C
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	1,35318	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⁾ Obsah cukru se vyjadřuje jako invertní cukr.

Sacharosa % (hmotn.)	Index lomu při 20 °C	Hustota při 20 °C	Cukr v g/l	Cukr v g/kg	Obsah alkoholu % obj. při 20 °C
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	10,83
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

Sacharosa % (hmotn.)	Index lomu při 20 °C	Hustota při 20 °C	Cukr v g/l	Cukr v g/kg	Obsah alkoholu % obj. při 20 °C
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

Sacharosa % (hmotn.)	Index lomu při 20 °C	Hustota při 20 °C	Cukr v g/l	Cukr v g/kg	Obsah alkoholu % obj. při 20 °C
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

Sacharosa % (hmotn.)	Index lomu při 20 °C	Hustota při 20 °C	Cukr v g/l	Cukr v g/kg	Obsah alkoholu % obj. při 20 °C
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	350,3	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

Sacharosa % (hmotn.)	Index lomu při 20 °C	Hustota při 20 °C	Cukr v g/l	Cukr v g/kg	Obsah alkoholu % obj. při 20 °C
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

Sacharosa % (hmotn.)	Index lomu při 20 °C	Hustota při 20 °C	Cukr v g/l	Cukr v g/kg	Obsah alkoholu % obj. při 20 °C
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

Sacharosa % (hmotn.)	Index lomu při 20 °C	Hustota při 20 °C	Cukr v g/l	Cukr v g/kg	Obsah alkoholu % obj. při 20 °C
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

Sacharosa % (hmotn.)	Index lomu při 20 °C	Hustota při 20 °C	Cukr v g/l	Cukr v g/kg	Obsah alkoholu % obj. při 20 °C
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	1,42499	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

Sacharosa % (hmotn.)	Index lomu při 20 °C	Hustota při 20 °C	Cukr v g/l	Cukr v g/kg	Obsah alkoholu % obj. při 20 °C
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	529,9	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

Sacharosa % (hmotn.)	Index lomu při 20 °C	Hustota při 20 °C	Cukr v g/l	Cukr v g/kg	Obsah alkoholu % obj. při 20 °C
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

Sacharosa % (hmotn.)	Index lomu při 20 °C	Hustota při 20 °C	Cukr v g/l	Cukr v g/kg	Obsah alkoholu % obj. při 20 °C
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

Sacharosa % (hmotn.)	Index lomu při 20 °C	Hustota při 20 °C	Cukr v g/l	Cukr v g/kg	Obsah alkoholu % obj. při 20 °C
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

TABULKA III

Tabulka udávající obsah cukru ⁽¹⁾ v rektifikovaném moštovém koncentrátu v gramech na litr a gramech na kilogram stanovený pomocí refraktometru v hmotnostním procentu sacharosy při 20 °C nebo v indexu lomu při 20 °C. Rovněž je uvedena hustota při 20 °C.

Sacharosa % (hmotn.)	Index lomu při 20 °C	Hustota při 20 °C	Cukr v g/l	Cukr v g/kg	Obsah alkoholu v % obj. při 20 °C
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	1,42489	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⁾ Např. pro obsah alkoholu 12 % hmotnostních platí $p = 0,12$.

Sacharosa % (hmotn.)	Index lomu při 20 °C	Hustota při 20 °C	Cukr v g/l	Cukr v g/kg	Obsah alkoholu v % obj. při 20 °C
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

Sacharosa % (hmotn.)	Index lomu při 20 °C	Hustota při 20 °C	Cukr v g/l	Cukr v g/kg	Obsah alkoholu v % obj. při 20 °C
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

Sacharosa % (hmotn.)	Index lomu při 20 °C	Hustota při 20 °C	Cukr v g/l	Cukr v g/kg	Obsah alkoholu v % obj. při 20 °C
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

Sacharosa % (hmotn.)	Index lomu při 20 °C	Hustota při 20 °C	Cukr v g/l	Cukr v g/kg	Obsah alkoholu v % obj. při 20 °C
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

3. OBSAH ALKOHOLU

1. DEFINICE

Obsah Alkoholu v % objemových je počet litrů ethanolu obsažených ve 100 litrech vína, přičemž se oba objemy měří při teplotě 20 °C. Vyjadřuje se symbolem „% obj.“

Poznámka:

Homology ethanolu spolu s ethanolem a homology ethanolu v ethylesterech se zahrnují do obsahu alkoholu, protože se vyskytují v destilátu.

2. PRINCIP METOD

2.1 Destilace vína po zalkalizování suspenzí hydroxidu vápenatého. Měření obsahu alkoholu destilátu.

2.2 **Referenční metoda:** měření hustoty destilátu pyknometrem.

2.3 Obvyklé metody:

2.3.1 Měření obsahu alkoholu destilátu areometrem.

2.3.2 Měření obsahu alkoholu destilátu měřením hustoty pomocí hydrostatických vah.

2.3.3 Měření obsahu alkoholu destilátu refraktometricky.

Poznámka:

Pro získání obsahu alkoholu z hustoty destilátu použijte tabulky I, II a III v dodatku II k tomuto oddílu přílohy. Ty byly vypočteny na základě mezinárodních tabulek obsahu alkoholu, vydaných v roce 1972 Mezinárodní organizací pro legální metrologii v jejím doporučení č. 22 a přijatých OIV na valném shromáždění v roce 1974.

Tabulka I udává obecný vzorec ohledně obsahu alkoholu v % objemových a hustoty směsí alkoholu a vody jako funkce teploty.

3. ZÍSKÁNÍ DESTILÁTU

3.1 Vybavení

3.1.1 Destilační aparatura, která se skládá z

- jednolitrové baňky s kulatým dnem se zabroušenými spoji,
- rektifikační kolony asi 20 cm vysoké nebo jakéhokoli přístroje zabraňujícího přestřiku,
- zdroje tepla; vhodným opatřením je třeba zabránit jakékoli pyrolýze extrahované látky,
- chladiče ukončeného vytaženou trubicí, která přivádí destilát ke dnu odměrné baňky obsahující několik ml vody.

3.1.2 Aparatura pro destilaci s vodní párou, která se skládá z:

1. parního generátoru,
2. parní trubice,
3. rektifikační kolony,
4. chladiče.

Používat se smí jakýkoli typ destilační aparatury nebo aparatury pro destilaci s vodní párou, pokud vyhovuje této zkoušce:

Destilujte pětkrát po sobě směs ethanolu a vody o obsahu alkoholu nejméně 10 % objemových. Destilát by měl po páté destilaci mít obsah alkoholu nejméně 9,9 % objemových, tj. ztráta alkoholu během každé destilace by neměla být vyšší než 0,02 % objemových.

3.2 Činidla

- 3.2.1 Suspenze 2M hydroxidu vápenatého získaná opatrným nalitím 1 litru vody při 60 až 70 °C na 120 g oxidu vápenatého (CaO).

3.3 Příprava vzorku

Z mladých a šumivých vín odstraňte převážnou část oxidu uhličitého mícháním 250 až 300 ml vína v baňce o objemu 500 ml.

3.4 Postup

Odměrnou baňkou odměřte 200 ml vína.

Zaznamenejte teplotu vína.

Převedte víno do destilační baňky a zaveďte parní trubici aparatury pro destilaci s vodní párou. Odměrnou baňku postupně čtyřikrát vypláchněte 5 ml vody přidané do baňky nebo parní trubice. Přidejte 10 ml (3.2.1) hydroxidu vápenatého a několik kousků inertního pórovitého materiálu (pemzy apod.).

Destilát zachycujte v odměrné baňce o objemu 200 ml použité k odměření vína.

Používáte-li destilaci, zachyťte objem asi tří čtvrtin počátečního objemu, a používáte-li destilaci s vodní párou, zachyťte objem 198 až 199 ml. Destilovanou vodou doplňte na objem 200 ml a teplotu destilátu udržujte při teplotě v rozmezí 2 °C od počáteční teploty.

Pomocí krouživých pohybů velmi pečlivě promíchejte.

Poznámka:

V případě vín s obsahem obzvláště velkého množství amonných iontů se destilát smí predestilovat za podmínek popsaných výše, ale s náhradou suspenze hydroxidu vápenatého za 1M kyselinu sírovou zředěnou 1:10 (objemově).

4. REFERENČNÍ METODA

Měření obsahu alkoholu v destilátu pomocí pyknometru.

4.1 Vybavení

- 4.1.1 Použijte standardizovaný pyknometr popsaný v kapitole „Hustota a relativní hustota“ (příloha, kapitola 1).

4.2 Postup

Změřte zdánlivou hustotu destilátu (3.4) při t °C podle popisu v kapitole „Hustota a relativní hustota“ (příloha, kapitola 1, body 4.3.1 a 4.3.2). Nechť je tato hustota ρ_t .

4.3 Vyjádření výsledků

4.3.1 Metoda výpočtu

Pomocí tabulky I zjistěte obsah alkoholu při 20 °C. V řádce této tabulky odpovídající teplotě T (vyjádřené jako celé číslo) bezprostředně nižší než t °C najdete nejmenší hustotu vyšší než ρ_t . S použitím tabulkového rozdílu hned pod touto hodnotou vypočítejte hustotu ρ při této teplotě T .

Na řádce teploty T najděte hustotu ρ hned pod ρ' a vypočítejte rozdíl mezi hustotami ρ a ρ' . Tento rozdíl vydělte tabulkovým rozdílem hned vpravo od hustoty ρ' . Podíl dává desetinnou část obsahu alkoholu, zatímco celá část čísla je uvedena v záhlaví sloupce, ve kterém se nachází ρ' .

Příklad výpočtu obsahu alkoholu je uveden v dodatku I k této kapitole přílohy.

Poznámka:

Tato teplotní korekce byla začleněna do počítačového programu a může se případně provádět automaticky.

4.3.2 Opakovatelnost, r : $r = 0,10$ % obj.

4.3.3 Reprodukovatelnost, R : $R = 0,19$ % obj.

5. OBVYKLÉ METODY

5.1 Areometrie

5.1.1 Vybavení

5.1.1.1 Lihoměr

Lihoměr musí odpovídat specifikacím pro zařízení třídy I nebo třídy II definovaným v Mezinárodním doporučení č. 44, *Lihoměry a alkoholové areometry*, OIML (Mezinárodní organizace pro legální metrologii).

5.1.1.2 Teploměr odstupňovaný po stupních a po $0,1$ °C od 0 do 40 °C cejchovaný na jednu dvacetinu stupně.

5.1.1.3 Odměrný válec o průměru 36 mm a výšce 320 mm udržovaný ve svislé poloze opěrnými vyrovnávacími šrouby.

5.1.2 Postup

Do odměrného válce nalijte destilát (3.4). Zajistěte, aby byl válec udržován ve svislé poloze. Vložte teploměr a lihoměr. Teplotu na teploměru odečtěte jednu minutu po promíchání tak, aby bylo dosaženo vyrovnání teploty odměrného válce, teploměru, lihoměru a destilátu. Teploměr vyjměte a po jedné minutě odečtěte zdánlivý obsah alkoholu. Pomocí zvětšovacího skla proveďte alespoň tři odečtení. Zdánlivý obsah změřený při t °C upravte s ohledem na vliv teploty pomocí tabulky II.

Teplota kapaliny se musí velmi málo lišit od okolní teploty (nejvýše o 5 °C).

5.2 Měření hustoty s použitím hydrostatických vah

5.2.1 Vybavení

5.2.1.1 Hydrostatické váhy se používají podle popisu v kapitole 1 „Hustota a relativní hustota“.

5.2.2 Postup

Zdánlivá hustota destilátu při t °C se měří podle popisu v kapitole „Hustota a relativní hustota“, bodu 5.2.2.

5.2.3 Vyjádření výsledků

Najděte obsah alkoholu při 20 °C podle metody popsané v 4.3.1 s použitím tabulky I, pokud je plovák z ohnivzdorného skla (Pyrex), a tabulky III, pokud je z obyčejného skla.

5.3 Refraktometrie

5.3.1 Vybavení

5.3.1.1 Refraktometr, který umožňuje měření indexů lomu v rozsahu 1,330 až 1,346. V závislosti na typu zařízení se měření provádí

- buď vhodným přístrojem při 20 °C,
- nebo při okolní teplotě t °C přístrojem vybaveným teploměrem, který umožňuje stanovení teploty s přesností alespoň 0,05 °C. Tabulka udávající korekce na teplotu se poskytuje s přístrojem.

5.3.2 Postup

Index lomu destilátu vína získaného podle 3.3 se měří postupem předepsaným pro typ použitého přístroje.

5.3.3 Vyjádření výsledků

Ke zjištění obsahu alkoholu odpovídajícího indexu lomu při 20 °C se použije tabulka IV.

Poznámka:

Tabulka IV udává hodnoty obsahu alkoholu odpovídající indexům lomu jak pro čisté směsi alkohol-voda, tak pro vinné destiláty. V případě vinných destilátů bere v úvahu přítomnost nečistot v destilátu (zejména vyšších alkoholů). Přítomnost methanolu snižuje index lomu a tedy i obsah alkoholu.

6. PŘÍKLAD VÝPOČTU OBSAHU ALKOHOLU VE VÍNĚ

6.1 Měření pyknometrem na dvoumiskových vahách

6.1.1 Konstanty pyknometru byly stanoveny a vypočítány podle kapitoly I „Hustota a relativní hustota“, bodu 6.1.1.

6.1.2 Vážení pyknometru naplněného destilátem

Tára = pyknometr + destilát při t °C + p''

Numerický příklad	
t °C	= 18,90 °C
t °C korigováno	= 18,70 °C
p''	= 2,8074 g

$p + m - p''$ = hmotnost destilátu při t °C

$$105,0698 - 2,8074 = 102,2624 \text{ g}$$

Zdánlivá hustota při t °C

$$\rho_t = \frac{p + m - p''}{\text{objem pyknometru při } 20^\circ\text{C}} \quad \left\{ \begin{array}{l} \rho_{18,70^\circ\text{C}} = \frac{102,2624}{104,0229} = 0,983076 \end{array} \right.$$

6.1.3. Výpočet obsahu alkoholu

Viz tabulky zdánlivých hustot směsí voda-alkohol při různých teplotách, jak je výše uvedeno

Na řádku 18 °C tabulky zdánlivých hustot nejmenší hustota větší než pozorovaná hustota 0,983076 je 0,98398 v sloupci 11 % obj.

Hustota při 18 °C je:
 $(98307,6 + 0,7 \times 22)10^{-5} = 0,98323$

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

Desetinná část obsahu alkoholu v % objemových je $75/114 = 0,65$

Obsah alkoholu je 11,65 % obj.

6.2 Měření pyknometrem na jednomiskových vahách

6.2.1 Konstanty pyknometru byly stanoveny a vypočteny podle kapitoly 1, „Hustota a relativní hustota“, bodu 6.2.1.

6.2.2 Vážení pyknometru naplněného destilátem

Hmotnost tárovací lahve v okamžiku měření v gramech:

$$T_1 = 171,9178$$

Pyknometr naplněný destilátem při 20,50 °C v gramech

$$P_2 = 167,8438$$

Odchylka ve vzlaku vzduchu:

$$\begin{aligned} dT &= 171,9178 - 171,9160 \\ &= +0,0018 \end{aligned}$$

Hmotnost destilátu při 20,50 °C:

$$\begin{aligned} L_t &= 1647,8438 - (67,6695 + 0,0018) \\ &= 100,1725 \end{aligned}$$

Zdánlivá hustota destilátu:

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

6.2.3 Výpočet obsahu alkoholu

Viz tabulky zdánlivých hustot směsí voda-alkohol při různých teplotách, jak je výše uvedeno

Na řádku 20 °C tabulky zdánlivých hustot nejmenší hustota větší než pozorovaná hustota 0,983825 je 0,98471 v sloupci 10 % obj.

Hustota při 20 °C je: $(98382,5 + 0,5 \times 24)10^{-5} = 0,983945$

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

Desetinná část obsahu alkoholu v % objemových je $76,5/119 = 0,64$.

Obsah alkoholu je 10,64 % obj.

**VZOREC, ZE KTERÉHO SE POČÍTÁJÍ TABULKY OBSAHŮ ALKOHOLU SMĚSÍ
ETHANOL-VODA**

Hustota ρ v kilogramech na metr krychlový (kg/m^3) směsi ethanol-voda při teplotě t ve stupních Celsia je dána níže uvedeným vzorcem jako funkce:

— obsahu alkoholu p % hmotnostních p vyjádřeného jako desetinné číslo ⁽¹⁾,

— teploty t ve °C (EIP 68),

— numerických koeficientů uvedených níže.

Vzorec platí pro teploty mezi -20 a $+40$ °C.

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

$$\begin{matrix} n = 5 & m_3 = 9 \\ m_1 = 11 & m_4 = 4 \\ m_2 = 10 & m_5 = 2 \end{matrix}$$

Numerické koeficienty ve vzorcích

Numerické koeficienty ve vzorcích			
k	A_k kg/m^3	B_k	
1	$9,982\,012\,300 \cdot 10^2$	$-2,061\,851\,3 \cdot 10^{-1} \text{ kg/(m}^3 \cdot ^\circ\text{C)}$	
2	$-1,929\,769\,495 \cdot 10^2$	$-5,268\,254\,2 \cdot 10^{-3} \text{ kg/(m}^3 \cdot ^\circ\text{C}^2)$	
3	$3,891\,238\,958 \cdot 10^2$	$3,613\,001\,3 \cdot 10^{-5} \text{ kg/(m}^3 \cdot ^\circ\text{C}^3)$	
4	$-1,668\,103\,923 \cdot 10^3$	$-3,895\,770\,2 \cdot 10^{-7} \text{ kg/(m}^3 \cdot ^\circ\text{C}^4)$	
5	$1,352\,215\,441 \cdot 10^4$	$7,169\,354\,0 \cdot 10^{-9} \text{ kg/(m}^3 \cdot ^\circ\text{C}^5)$	
6	$-8,829\,278\,388 \cdot 10^4$	$-9,973\,923\,1 \cdot 10^{-11} \text{ kg/(m}^3 \cdot ^\circ\text{C}^6)$	
7	$3,062\,874\,042 \cdot 10^5$		
8	$-6,138\,382\,34 \cdot 10^5$		
9	$7,470\,172\,998 \cdot 10^5$		
10	$-5,478\,461\,354 \cdot 10^5$		
11	$2,234\,460\,334 \cdot 10^5$		
12	$-3,903\,285\,426 \cdot 10^4$		

k	$C_{1,k}$ $\text{kg/(m}^3 \cdot ^\circ\text{C)}$	$C_{2,k}$ $\text{kg/(m}^3 \cdot ^\circ\text{C}^2)$
1	$1,693\,443\,461\,530\,087 \cdot 10^{-1}$	$-1,193\,013\,005\,057\,010 \cdot 10^{-2}$
2	$-1,046\,914\,743\,455\,169 \cdot 10^1$	$2,517\,399\,633\,803\,461 \cdot 10^{-1}$
3	$7,196\,353\,469\,546\,523 \cdot 10^1$	$-2,170\,575\,700\,536\,993$
4	$-7,047\,478\,054\,272\,792 \cdot 10^2$	$1,353\,034\,988\,843\,029 \cdot 10^1$
5	$3,924\,090\,430\,035\,045 \cdot 10^3$	$-5,029\,988\,758\,547\,014 \cdot 10^1$
6	$-1,210\,164\,659\,068\,747 \cdot 10^4$	$1,096\,355\,666\,577\,570 \cdot 10^2$
7	$2,248\,646\,550\,400\,788 \cdot 10^4$	$-1,422\,753\,946\,421\,155 \cdot 10^2$
8	$-2,605\,562\,982\,188\,164 \cdot 10^4$	$1,080\,435\,942\,856\,230 \cdot 10^2$
9	$1,852\,373\,922\,069\,467 \cdot 10^4$	$-4,414\,153\,236\,817\,392 \cdot 10^1$
10	$-7,420\,201\,433\,430\,137 \cdot 10^3$	$7,442\,971\,530\,188\,783$
11	$1,285\,617\,841\,998\,974 \cdot 10^3$	

k	$C_{3,k}$ $\text{kg/(m}^3 \cdot ^\circ\text{C}^3)$	$C_{4,k}$ $\text{kg/(m}^3 \cdot ^\circ\text{C}^4)$	$C_{5,k}$ $\text{kg/(m}^3 \cdot ^\circ\text{C}^5)$
1	$-6,802\,995\,733\,503\,803 \cdot 10^{-4}$	$4,075\,376\,675\,622\,027 \cdot 10^{-6}$	$-2,788\,074\,354\,782\,409 \cdot 10^{-8}$
2	$1,876\,837\,790\,289\,664 \cdot 10^{-2}$	$-8,763\,058\,573\,471\,110 \cdot 10^{-6}$	$1,345\,612\,883\,493\,354 \cdot 10^{-8}$
3	$-2,002\,561\,813\,734\,156 \cdot 10^{-1}$	$6,515\,031\,360\,099\,368 \cdot 10^{-6}$	
4	$1,022\,992\,966\,719\,220$	$-1,515\,784\,836\,987\,210 \cdot 10^{-6}$	
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	$-5,411\,227\,621\,436\,812 \cdot 10^{-1}$		

⁽¹⁾ Např. pro obsah alkoholu 12 % hmotnostních platí $p = 0,12$.

TABULKA I
MEZINÁRODNÍ OBSAH ALKOHOLU PŘI 20 °C
Tabulka zdánlivých hustot směsí ethanol-voda — Pyrexový pyknometr
Hustoty při t °C korigované na vztlak vzduchu

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

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

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

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

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

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

TABULKA II

MEZINÁRODNÍ OBSAH ALKOHOLU PŘI 20 °C

Tabulka korekcí používaných pro opravu zdánlivého obsahu alkoholu s ohledem na teplotu

Korekci uvedenou níže přičtete nebo odečtete od zdánlivého obsahu alkoholu při t °C (obyčejný skleněný lihoměr)

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

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

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

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

TABULKA III
MEZINÁRODNÍ OBSAH ALKOHOLU PŘI 20 °C

Tabulka zdánlivých hustot směsí ethanol-voda — aparatura z obvyčejného skla

Hustoty při t °C korigovány na vztlak vzduchu

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

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

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

t°	Zdánlivý obsah alkoholu při t °C																							
	10		11		12		13		14		15		16		17		18		19		20		21	
20°	984.71	1,19	983.52	1,17	982.35	1,14	981.21	1,13	980.08	1,11	978.97	1,10	977.87	1,08	976.79	1,08	975.71	1,08	974.63	1,07	973.56	1,08	972.48	1,08
21°	0.23		0.23		0.23		0.25		0.26		0.28		0.29		0.31		0.32		0.33		0.35		0.36	
	984.48	1,19	983.29	1,17	982.12	1,16	980.96	1,14	979.82	1,13	978.69	1,11	977.58	1,10	976.48	1,09	975.39	1,09	974.30	1,09	973.21	1,09	972.12	1,09
22	0.23		0.24		0.25		0.26		0.27		0.28		0.29		0.31		0.32		0.33		0.35		0.36	
	984.25	1,20	983.05	1,18	981.97	1,17	980.70	1,15	979.55	1,14	978.41	1,12	977.29	1,12	976.17	1,10	975.07	1,10	973.97	1,10	972.86	1,10	971.76	1,11
23	0.24		0.25		0.26		0.27		0.28		0.29		0.30		0.31		0.32		0.33		0.34		0.37	
	984.01	1,21	982.80	1,19	981.61	1,18	980.43	1,16	979.27	1,15	978.12	1,13	976.99	1,13	975.86	1,12	974.74	1,11	973.63	1,12	972.51	1,12	971.39	1,13
24	0.25		0.26		0.27		0.28		0.29		0.30		0.31		0.32		0.33		0.35		0.36		0.38	
	983.76	1,22	982.54	1,20	981.34	1,19	980.15	1,17	978.98	1,16	977.82	1,14	976.68	1,14	975.54	1,13	974.41	1,13	973.28	1,13	972.15	1,14	971.01	1,14
25	0.26		0.27		0.28		0.29		0.30		0.31		0.32		0.33		0.35		0.36		0.38		0.39	
	983.50	1,23	982.27	1,21	981.06	1,20	979.86	1,18	978.68	1,17	977.51	1,16	976.36	1,15	975.21	1,15	974.06	1,14	972.92	1,15	971.77	1,15	970.62	1,15
26	0.27		0.28		0.29		0.30		0.31		0.32		0.33		0.34		0.35		0.37		0.38		0.39	
	983.23	1,24	981.99	1,22	980.77	1,20	979.57	1,19	978.38	1,18	977.20	1,17	976.03	1,16	974.87	1,16	973.71	1,16	972.55	1,16	971.39	1,16	970.23	1,17
27	0.29		0.29		0.30		0.31		0.32		0.33		0.34		0.36		0.37		0.38		0.39		0.41	
	982.94	1,24	981.70	1,23	980.47	1,21	979.26	1,20	978.06	1,19	976.87	1,18	975.69	1,18	974.51	1,17	973.34	1,17	972.17	1,17	971.00	1,18	969.82	1,18
28	0.29		0.30		0.30		0.31		0.32		0.33		0.35		0.36		0.38		0.39		0.40		0.41	
	982.65	1,25	981.40	1,23	980.17	1,22	978.95	1,21	977.74	1,20	976.54	1,20	975.34	1,19	974.15	1,19	972.96	1,18	971.78	1,18	970.60	1,19	969.41	1,20
29	0.30		0.31		0.32		0.33		0.34		0.35		0.36		0.37		0.38		0.39		0.40		0.42	
	982.35	1,26	981.09	1,24	979.85	1,23	978.62	1,22	977.40	1,21	976.19	1,21	974.98	1,20	973.78	1,20	972.58	1,19	971.39	1,19	970.20	1,21	968.99	1,21
30	0.31		0.32		0.33		0.34		0.35		0.36		0.37		0.38		0.38		0.40		0.42		0.43	
	982.04	1,27	980.77	1,25	979.52	1,24	978.28	1,23	977.05	1,22	975.83	1,21	974.62	1,21	973.41	1,21	972.20	1,21	970.99	1,21	969.78	1,22	968.56	1,23
31	0.32		0.32		0.33		0.34		0.35		0.36		0.37		0.38		0.39		0.40		0.42		0.43	
	981.72	1,27	980.45	1,26	979.19	1,25	977.74	1,24	976.70	1,23	975.47	1,22	974.25	1,22	973.03	1,22	971.81	1,22	970.59	1,23	969.36	1,23	968.13	1,24
32	0.33		0.34		0.34		0.35		0.36		0.37		0.38		0.39		0.40		0.42		0.43		0.45	
	981.39	1,28	980.11	1,26	978.85	1,26	977.59	1,25	976.34	1,24	975.10	1,23	973.87	1,23	972.64	1,23	971.41	1,24	970.17	1,24	968.93	1,25	967.68	1,26
33	0.34		0.34		0.35		0.35		0.36		0.37		0.39		0.40		0.41		0.42		0.43		0.45	
	981.05	1,28	979.77	1,27	978.50	1,26	977.24	1,26	975.98	1,25	974.73	1,25	973.48	1,24	972.24	1,24	971.00	1,25	969.75	1,25	968.50	1,27	967.23	1,27
34	0.34		0.35		0.36		0.37		0.38		0.39		0.40		0.41		0.42		0.43		0.45		0.47	
	980.71	1,29	979.42	1,28	978.14	1,27	976.87	1,27	975.60	1,26	974.34	1,26	973.08	1,25	971.83	1,25	970.58	1,26	969.32	1,27	968.05	1,27	966.78	1,29
35	0.34		0.35		0.36		0.37		0.38		0.39		0.40		0.41		0.43		0.44		0.45		0.47	
	980.37	1,30	979.07	1,29	977.78	1,28	976.50	1,28	975.22	1,27	973.95	1,27	972.68	1,26	971.42	1,27	970.15	1,27	968.88	1,28	967.60	1,29	966.31	1,30
36	0.36		0.37		0.37		0.38		0.38		0.39		0.40		0.42		0.43		0.44		0.45		0.47	
	980.01	1,31	978.70	1,29	977.41	1,29	976.12	1,28	974.84	1,28	973.56	1,28	972.28	1,28	971.00	1,28	969.72	1,28	968.44	1,29	967.15	1,31	965.84	1,31
37	0.36		0.37		0.38		0.39		0.40		0.41		0.42		0.43		0.44		0.45		0.46		0.47	
	979.65	1,32	978.33	1,30	977.03	1,30	975.73	1,29	974.44	1,29	973.15	1,29	971.86	1,29	970.57	1,29	969.28	1,29	967.99	1,30	966.69	1,32	965.37	1,32
38	0.38		0.38		0.39		0.39		0.40		0.41		0.42		0.43		0.44		0.46		0.47		0.48	
	979.27	1,32	977.95	1,31	976.64	1,30	975.34	1,30	974.04	1,30	972.74	1,30	971.44	1,30	970.14	1,30	968.84	1,31	967.53	1,31	966.22	1,33	964.89	1,34
39	0.38		0.39		0.39		0.40		0.41		0.42		0.43		0.44		0.45		0.46		0.48		0.49	
	978.89	1,33	977.56	1,31	976.25	1,31	974.94	1,31	973.63	1,31	972.32	1,31	971.01	1,31	969.70	1,31	968.39	1,32	967.07	1,33	965.74	1,34	964.40	1,36
40	0.39		0.39		0.40		0.41		0.42		0.42		0.43		0.45		0.47		0.48		0.49		0.50	
	978.50	1,33	977.17	1,32	975.85	1,32	974.53	1,32	973.21	1,31	971.90	1,32	970.58	1,33	969.25	1,31	967.92	1,33	966.59	1,34	965.25	1,35	963.90	1,37

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

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

TABULKA IV

Tabulka udávající indexy lomu čistých směsí ethanol-voda a destilátů při 20 °C a odpovídající obsahy alkoholu při 20 °C

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

4. CELKOVÝ SUCHÝ EXTRAKT

Celková suchá hmota

1. DEFINICE

Celkový suchý extrakt neboli celková suchá hmota zahrnuje veškerou hmotu, která je za daných fyzikálních podmínek netěkavého charakteru. Tyto fyzikální podmínky musejí být takové, aby hmota, která tvoří veškerý suchý extrakt, procházela během provádění zkoušky co nejmenšími změnami.

Bezcukerný extrakt je rozdíl mezi celkovým suchým extraktem a celkovým obsahem cukrů.

Redukovaný extrakt je rozdíl mezi celkovým suchým extraktem a celkovým obsahem cukrů s přebytkem o 1 g/l, síranem draselným s přebytkem o 1 g/l, veškerého přítomného mannitu a veškerých dalších chemických látek, které mohly být do vína přidány.

Zbytkový extrakt je rozdíl mezi bezcukerným extraktem a obsahem netěkavých kyselin vyjádřených jako kyselina vinná.

Extrakt se vyjadřuje v gramech na litr a měl by se stanovovat s přesností na 0,5 g.

2. PRINCIP METODY

Jediná metoda: měřením hustoty.

Celkový suchý extrakt se vypočítá nepřímo z relativní hustoty moštu a v případě vína z relativní hustoty vína bez alkoholu.

Tento suchý extrakt se vyjadřuje jako množství sacharosy, která při rozpuštění ve vodě a doplnění na objem jednoho litru dává roztok o stejné relativní hustotě jako mošt nebo víno bez alkoholu. Toto množství je uvedeno v tabulce I.

3. METODA VÝPOČTU

Relativní hustota 20/20 d_r vína bez alkoholu se vypočítá pomocí následujícího vzorce:

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

kde:

d_v = relativní hustota vína při 20 °C (opravená na podíl těkavých kyselin) ⁽¹⁾ Tyto hodnoty udává databanka Společenství, jež bude vytvořena.,

d_a = relativní hustota směsi alkohol-voda při 20 °C o stejném obsahu alkoholu jako víno.

d_r se také může vypočítat z hustot při 20 °C, ρ_v vína a ρ_a směsi voda-alkohol o stejném obsahu alkoholu pomocí vzorce:

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

kde se koeficient 1,0018 blíží 1, když ρ_v je menší než 1,05, což je nejčastější případ.

4. VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ

Pro výpočet celkového suchého extraktu v g/l z relativní hustoty 20/20 d_r vína bez alkoholu nebo z relativní hustoty $d_{200}^{20\text{ °C}}$ moštu je třeba používat tabulku I.

Celkový suchý extrakt se vyjadřuje v g/l na jedno desetinné místo.

⁽¹⁾ Před provedením tohoto výpočtu musí být relativní hustota (nebo hustota) vína měřena podle výše uvedeného postupu korigována o chybu způsobenou těkavými kyselinami pomocí tohoto vzorce:

$d_v = d_{20\text{ °C}}^0 - 0,0000086$ a nebo $\rho_v = \rho_{20} - 0,0000086$ a

kde a je obsah těkavých kyselin vyjádřený v miliekvivalentech na litr.

TABULKA I
Pro výpočet obsahu celkového suchého extraktu v g/l

Relativní hustota na dvě desetinná místa	Třetí desetinné místo relativní hustoty									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Gramy extraktu na litr									
1	0	2,6	5,1	7,7	10,3	12,9	15,4	18	20,6	23,2
1,01	25,8	28,4	31	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	111,6	114,2	116,8	119,4	122	124,6	127,2
1,05	129,8	132,4	135	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	171,6	174,3	176,9	179,5
1,07	182,1	184,8	187,4	190	192,6	195,2	197,8	200,5	203,1	205,8
1,08	208,4	211	213,6	216,2	218,9	221,5	224,1	226,8	229,4	232
1,09	234,7	237,3	242,5	242,5	245,2	247,8	250,4	253,1	255,7	258,4
1,1	261	263,6	268,9	268,9	271,5	274,2	276,8	279,5	282,1	284,8
1,11	287,4	290	295,3	295,3	298	300,6	303,3	305,9	308,6	311,2
1,12	313,9	316,5	321,8	321,8	324,5	327,1	329,8	332,4	335,1	337,8
1,13	340,4	343	348,3	348,2	351	353,7	356,3	359	361,6	364,3
1,14	366,9	369,6	375	375	377,6	380,3	382,9	385,6	388,3	390,9
1,15	393,6	396,2	401,6	401,6	404,3	406,9	409,6	412,3	415	417,6
1,16	420,3	423	428,3	428,3	431	433,7	436,4	439,9	441,7	444,4
1,17	447,1	449,8	455,2	455,2	457,8	460,5	463,2	465,9	468,6	471,3
1,18	473,9	476,6	482	482	484,7	487,4	490,1	492,8	495,5	498,2
1,19	500,5	503,5	508,9	508,9	511,6	514,3	517	519,7	522,4	525,1
1,2	527,8	–	–	–	–	–	–	–	–	–

Interpolační tabulka

Čtvrté desetinné místo relativní hustoty	Gramy extraktu na litr	Čtvrté desetinné místo relativní hustoty	Gramy extraktu na litr	Čtvrté desetinné místo relativní hustoty	Gramy extraktu na litr
1	0,3	4	1,0	7	1,8
2	0,5	5	1,3	8	2,1
3	0,8	6	1,6	9	2,3

5. REDUKUJÍCÍ CUKRY

1. DEFINICE

Redukující cukry zahrnují všechny cukry s ketonovou nebo aldehydickou funkční skupinou, které redukují alkalicko-měďnatý roztok.

2. PRINCIP METOD

2.1 Číření

2.1.1 *Referenční metoda:* po neutralizaci a odstranění alkoholu víno prochází ionexovou kolonou, ve které se jeho anionty vyměňují za octanové ionty, po čemž následuje číření neutrálním octanem olovnatým.

2.1.2 *Obvyklá metoda:* na víno se působí jedním z následujících činidel:

2.1.2.1 neutrálním octanem olovnatým;

2.1.2.2 hexakynoželeznatem zinečnatým.

2.2 Stanovení

2.2.1 *Jediná metoda:* vyčiřené víno nebo mošt reaguje s určitým množstvím alkalicko-měďnatého roztoku a přebytečné ionty mědi se pak stanovují jodometricky.

3. ČÍŘENÍ

Obsah cukru v kapalině, ve které se má cukr stanovit, musí být nejméně 0,5 a 5 g/l.

Suchá vína by se během číření neměla ředit; sladká vína je při číření třeba ředit tak, aby se hladina cukru dostala mezi hodnoty předepsané v následující tabulce:

Popis	Obsah cukru (g/l)	Hustota	Ředění (%)
Mošty a mistely	> 125	> 1,038	1
Sladká vína, též alkoholizovaná	25 až 125	1,005 až 1,038	4
Polosladká vína	5 až 25	0,997 až 1,005	20
Suchá vína	< 5	< 0,997	Bez ředění

3.1 Referenční metoda

3.1.1 Činidla

3.1.1.1 1M roztok kyseliny chlorovodíkové (HCl);

3.1.1.2 1M roztok hydroxidu sodného (NaOH);

3.1.1.3 4M roztok kyseliny octové (CH₃COOH);

3.1.1.4 2M roztok hydroxidu sodného (NaOH);

3.1.1.5 Měníč aniontů — anex (Dowex 3 (o zrnitosti 20–50 mesh) nebo rovnocenná)

Příprava ionexové kolony

Na dno byrety vložte malou zátku ze skelné vaty a 15 ml anexu (3.1.1.5).

Před použitím pryskyřice ji vystavte dvěma úplným cyklům regenerace střídavým průchodem 1M roztoku kyseliny chlorovodíkové (3.1.1.1) a hydroxidu sodného (3.1.1.2). Po vypláchnutí 50 ml destilované vody převedte pryskyřici do kádinky, přidejte 50 ml 4M roztoku kyseliny octové (3.1.1.3) a míchejte po dobu 5 minut. Byretu znovu naplňte pryskyřicí a kolonou prolijte 100 ml 4M roztoku kyseliny octové (3.1.1.3). (Doporučuje se mít zásobu pryskyřice uloženou v lahvičce naplněné tímto 4M roztokem kyseliny octové). Kolonu promývejte destilovanou vodou, dokud vytékající kapalina není neutrální.

Regenerace pryskyřice

Pryskyřici prolijte 150 ml 2M roztoku hydroxidu sodného, abyste odstranili kyseliny a většinu pigmentů v pryskyřici zachycených. Pryskyřici vypláchněte 100 ml vody a prolijte 100 ml 4M roztoku kyseliny octové. Kolonu vyplachujte, dokud vytékající kapalina není neutrální.

3.1.1.6 Neutrální roztok octanu olovnatého (přibližně nasycený)

Neutrální octan olovnatý $[\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \times 3 \text{H}_2\text{O}]$, 250 g;
velmi horká voda do 500 ml;
míchat, dokud se nerozpustí.

3.1.1.7 Uhličitán vápenatý (CaCO_3).

3.1.2 *Postup*

3.1.2.1 Suchá vína

Vložte 50 ml vína do kádinky o průměru asi 10 až 12 cm spolu s $0,5 \times (n - 0,5)$ ml 1M roztoku hydroxidu sodného (3.1.1.2) (přičemž n je objem 0,1M roztoku hydroxidu sodného použitého pro stanovení celkové kyselosti v 10 ml vína) a odpařujte nad lázní vařící vody v proudě horkého vzduchu, až se objem kapaliny zmenší asi na 20 ml.

Tuto kapalinu prolijte kolonou s anexem v octanové formě (3.1.1.5) rychlostí 3 ml každé 2 minuty. Vytékající kapalinu zachycujte v odměrné baňce o objemu 100 ml. Nádobku a kolonu vymyjte šestkrát pokaždé pomocí 10 ml destilované vody. Za neustálého míchání přidejte k vytékající kapalině 2,5 ml nasyceného roztoku octanu vápenatého (3.1.1.6.) a 0,5 g oxidu vápenatého (3.1.1.7); několikrát protřepejte a ponechte stát alespoň 15 minut. Doplněte vodou ke značce. Přefiltrujte.

1 ml tohoto filtrátu odpovídá 0,5 ml vína.

3.1.2.2 Mošty, mistely, sladká a polosladká vína:

Zředění uvedená níže jsou orientační.

1. Mošty a mistely: připravte 10 % roztok kapaliny, která má projít rozbořem, a odeberte 10 ml zředěného vzorku.
2. Sladká vína, též alkoholizovaná, o hustotě mezi 1,005 až 1,038: připravte 20 % roztok kapaliny, která má projít rozbořem, a odeberte 20 ml zředěného vzorku.
3. Polosladká vína o hustotě při 20 °C mezi 0,997 a 1,005; odeberte 20 ml neředěného vína.

Ponechte výše uvedený objem vína nebo moštu protékat sloupcem anexu v octanové formě rychlostí 3 ml každé dvě minuty. Vytékající kapalinu zachycujte v odměrné baňce o objemu 100 ml. Nádobku a kolonu vyplachujte vodou, dokud není zachyceno asi 90 ml kapaliny. Přidejte 0,5 g uhličitanu vápenatého a 1 ml nasyceného roztoku octanu olovnatého. Zamíchejte a ponechte stát alespoň 15 minut. Doplněte vodou ke značce. Přefiltrujte.

V případě:

1. 1 ml filtrátu odpovídá 0,01 ml moštu nebo mistely.
2. 1 ml filtrátu odpovídá 0,04 ml sladkého vína.
3. 1 ml filtrátu odpovídá 0,20 ml polosladkého vína.

3.2 Obvyklé metody**3.2.1 Číření neutrálním octanem olovnatým****3.2.1.1 Činidla**

Roztok neutrálního octanu olovnatého (přibližně nasyceného) (viz 3.1.1.6).

Uhličitan vápenatý.

3.2.1.2 Postup

3.2.1.2.1 Suchá vína: dejte 50 ml vína do odměrné baňky objemu 100 ml, přidejte $0,5 \times (n - 0,5)$ ml 1M roztoku hydroxidu sodného (3.1.1.2) (kde n je objem 0,1M roztoku hydroxidu sodného použitého pro stanovení veškerých kyselin v 10 ml vína). Během míchání přidejte 2,5 ml nasyceného roztoku octanu olovnatého (3.1.1.6) a 0,5 g uhličitanu vápenatého (3.1.1.7). Několikrát protřepejte a ponechte stát po dobu asi 15 minut. Doplněte vodou až ke značce. Přefiltrujte.

1 ml filtrátu odpovídá 0,5 ml vína.

3.2.1.2.2 Mošty, mistely, sladká a polosladká vína: do odměrné baňky o objemu 100 ml dejte následující objemy vína (nebo moštu nebo mistely), níže uvedené zředění je orientační.

1. Mošty a mistely: připravte 10 % roztok kapaliny, která má projít rozbořem, a odeberte 10 ml zředěného vzorku.

2. Sladká vína, obohacená či nikoli, o hustotě mezi 1,005 až 1,038: připravte 20 % roztok kapaliny, která se má analyzovat, a odeberte 20 ml zředěného vzorku.

3. Polosladká vína o hustotě při 20 °C mezi 0,997 a 1,005: odeberte 20 ml neředěného vína.

Přidejte 0,5 g uhličitanu vápenatého, asi 60 ml vody a 0,5, 1 nebo 2 ml nasyceného roztoku octanu olovnatého. Zamíchejte a ponechte stát alespoň 15 minut při občasném promíchání. Doplněte vodou ke značce. Přefiltrujte.

V případě:

1. 1 ml filtrátu odpovídá 0,01 ml moštu nebo mistely.

2. 1 ml filtrátu odpovídá 0,04 ml sladkého vína.

3. 1 ml filtrátu odpovídá 0,20 ml polosladkého vína.

3.2.2 Číření hexakynoželesnatanem zinečnatým

Tento postup číření by se měl používat pouze pro bílá vína, lehce zbarvená sladká vína a mošty.

3.2.2.1 Činidla**3.2.2.1.1 Roztok I, hexakynoželesnatan draselný:**

Hexakynoželesnatan draselný ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \times 3 \text{H}_2\text{O}$), 150 g

Voda do 1 000 ml.

3.2.2.1.2 Roztok II, síran zinečnatý:

Síran zinečnatý ($\text{ZnSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$), 300 g

Voda do 1 000 ml.

3.2.2.2 Postup

Do odměrné baňky o objemu 100 ml dejte následující objemy vína (nebo moštu nebo mistely); níže uvedená zředění jsou orientační.

1. *Mošty a mistely*: připravte 10 % roztok kapaliny, která má projít rozborem, a odeberte 10 ml zředěného vzorku.
2. *Sladká vína, též alkoholizovaná*, o hustotě mezi 1,005 a 1,038: připravte 20 % roztok kapaliny, která má projít rozborem, a odeberte 20 ml zředěného vzorku.
3. *Polosladká vína* o hustotě při 20 °C mezi 0,997 a 1,005; odeberte 20 ml neředěného vína.
4. *Suchá vína*: odeberte 50 ml neředěného vína.

Přidejte 5 ml roztoku I hexakyno-železnatému draselnému (3.2.2.1.1) a 5 ml roztoku II, síranu zinečnatého (3.2.2.1.2). Promíchejte. Doplněte vodou ke značce. Počkejte 10 minut. Přefiltrujte.

V případě:

1. 1 ml filtrátu odpovídá 0,01 ml moštu nebo mistely.
2. 1 ml filtrátu odpovídá 0,04 ml sladkého vína.
3. 1 ml filtrátu odpovídá 0,20 ml polosladkého vína.
4. 1 ml filtrátu odpovídá 0,50 ml suchého vína.

4. STANOVENÍ CUKRŮ

4.1 Činidla

4.1.1 Alkalicko-měďnatý roztok:

síran měďnatý, čistý, $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$	25 g
kyselina citronová ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \times \text{H}_2\text{O}$)	50 g
krystalický uhličitan sodný, $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$	388 g
voda do	1 000 ml

Rozpusťte síran měďnatý ve 100 ml vody, kyselinu citronovou ve 300 ml vody a uhličitan sodný ve 300 až 400 ml horké vody. Smíchejte roztoky kyseliny citronové a uhličitanu sodného. Přidejte roztok síranu měďnatého a doplňte na jeden litr.

4.1.2 30 % roztok jodidu draselného:

jodid draselný (KI)	30 g
voda do	100 ml

Uchovávejte v tmavé skleněné láhvi.

4.1.3 25 % kyselina sírová:

koncentrovaná kyselina sírová (H_2SO_4) $\rho_{20} = 1,84 \text{ g/ml}$	25 g
voda do	100 ml

Kyselinu přidávejte pomalu do vody, nechte vychladnout a doplňte vodou na 100 ml.

4.1.4 Roztok škrobu 5 g/l:

Rozmíchejte 5 g škrobu v asi 500 ml vody. Uveďte do varu za stálého míchání a vařte po dobu 10 minut. Přidejte 200 g chloridu sodného (NaCl). Nechte vychladnout a pak doplňte vodou na jeden litr.

Thiosíran sodný, roztok 0,1M.

Roztok invertního cukru 5g/l pro kontrolu metody stanovení:

Do odměrné baňky o objemu 200 ml dejte tyto látky:

čistá suchá sacharosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	4,75	g
voda, přibližně	100	ml
koncentrovaná kyselina chlorovodíková (HCl) ($\rho_{20} = 1,16-1,19$ g/ml)	5	ml

Baňku zahřívejte ve vodní lázni udržované na 60 °C, dokud teplota roztoku nedosáhne 50 °C; pak baňku a roztok udržujte po dobu 15 minut na 50 °C. Nechte baňku přirozeným způsobem chladnout po dobu 30 minut a pak ji ponořte do studené vodní lázně. Převeďte roztok do odměrné baňky o objemu 1 litr a doplňte na 1 litr. Tento roztok lze uspokojivě uchovat po dobu jednoho měsíce. Před použitím zkušební vzorek neutralizujte (roztok je kyselina přibližně 0,06M) roztokem hydroxidu sodného.

4.2 Postup

Smíchejte 25 ml alkalicko-měďnatého roztoku, 15 ml vody a 10 ml vyčiřeného roztoku v kuželové baňce o objemu 300 ml. Tento objem cukerného roztoku nesmí obsahovat více než 60 mg invertního cukru.

Přidejte několik malých kousků pemzového kamene. Na baňku nasadte zpětný chladič a směs uveďte během dvou minut do varu. Směs udržujte ve varu přesně po dobu 10 minut.

Baňku ihned ochlaďte pod studenou tekoucí vodou. Když je zcela chladná, přidejte 10 ml 30 % a roztoku jodidu draselného (4.1.2), 25 ml 25 % kyseliny sírové (4.1.3) a 2 ml roztoku škrobu (4.1.4).

Titrujte 0,1M roztokem thiosíranu sodného (4.1.5). Necht' n je počet spotřebovaných ml thiosíranu sodného.

Také proveďte slepou titraci, ve které se 10 ml cukerného roztoku nahradí 10 ml destilované vody. Necht' n' je počet spotřebovaných ml thiosíranu sodného.

4.3 Vyjádření výsledků

4.3.1 Výpočty

Množství cukru vyjádřené jako invertní cukr obsažené ve zkušebním vzorku je udáno v dále uvedené tabulce jako funkce ($n' - n$) ml spotřebovaného roztoku thiosíranu sodného.

Obsah cukru ve víně se má vyjádřit v gramech invertního cukru na litr na jedno desetinné místo, přičemž se zohledňuje zředění provedené během čiření a objem zkušební vzorku.

4.3.2 Opakovatelnost

$$r = 0,015 x_i$$

x_i = koncentrace invertního cukru v g/l vzorku

4.3.3 Reprodukovatelnost

$$R = 0,058 x_i$$

x_i = koncentrace invertního cukru v g/l vzorku

Vztah mezi objemem 0,1M roztoku thiosíranu sodného, (n' – n) ml a množstvím redukujících cukrů v mg					
Na ₂ S ₂ O ₃ (ml 0,1M)	Redukující cukry (mg)	Rozdíl	Na ₂ S ₂ O ₃ (ml 0,1M)	Redukující cukry (mg)	Rozdíl
1	2,4	2,4	13	33	2,7
2	4,8	2,4	14	35,7	2,8
3	7,2	2,5	15	35,8	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	3
8	19,8	2,6	20	53	3
9	22,4	2,6	21	56	3,1
10	25	2,6	22	59,1	3,1
11	27,6	2,7	23	62,2	
12	30,3	2,7			

6. SACHAROSA

1. PRINCIP METOD

- I. Pro kvalitativní zkoušení pomocí chromatografie na tenké vrstvě: sacharosa se odděluje od ostatních cukrů pomocí chromatografie na tenké vrstvě na desce potažené celulosou. Vyvíjecím činidlem je směs močoviny a kyseliny chlorovodíkové při 105 °C.
- II. Pro zkoušení a stanovení pomocí vysoce účinné kapalinové chromatografie: sacharosa se odděluje v křemenné koloně s vázaným alkylaminem a detekuje se refraktometricky. Výsledek se kvantitativně vyjadřuje pomocí vnějšího standardu, který prošel rozborem za stejných podmínek.

Poznámka:

Pravost moštu nebo vína se může ověřit metodou využívající nukleární magnetickou rezonanci deuteria popsanou pro zjišťování obohacení moštů, rektifikovaných moštových koncentrátů a vín.

Pro zkoušení a stanovení sacharosy je také možno použít plynovou chromatografii popsanou v kapitole 42, bod f).

2. KVALITATIVNÍ ZKOUŠENÍ POMOCÍ CHROMATOGRRAFIE NA TENKÉ VRSTVĚ

2.1 Vybavení

- 2.1.1 Chromatografické desky pokryté celulosovým práškem o požadované tloušťce (např. MN 300) (20 × 20).
- 2.1.2 Chromatografická nádržka.
- 2.1.3 Injekční mikrostříkačka nebo mikropipeta.
- 2.1.4 Sušárna s regulací na 105 ± 2 °C.

2.2 Činidla

- 2.2.1 Aktivní uhlí.
- 2.2.2 *Mobilní fáze:* Dichlormethan -koncentrovaná kyselina octová ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml) – etanol – metanol – voda (50:25:9:6:10).
- 2.2.3 *Vyvíjecí činidlo*

Močovina	5 g
Kyselina chlorovodíková 2M	20 ml
Ethanol	100 ml
- 2.2.4 *Standardní roztoky*

Glukosa	35 g
Fruktosa	35 g
Sacharosa	0,5 g
Destilovaná voda	1 000 ml

2.3 Postup

2.3.1 Příprava vzorku

Když je mošt nebo víno silně zbarvené, odbarvěte ho pomocí aktivního uhlí.

Pro rektifikované moštové koncentráty použijte roztok s obsahem cukru 25 % hmotnostních (25° Brix) připravený podle kapitoly „pH vína a moštu“, bodu 4.1.2, a zředte ho vodou na čtvrtinu doplněním 25 ml na 100 ml v odměrné baňce.

2.3.2 Získání chromatogramu

Na čáru rovnoběžnou s dolním okrajem desky ve vzdálenosti 2,5 cm naneste:

- 10 µl vzorku
- 10 µl standardu.

Vložte desku do nádržky nasycené párou z mobilní fáze. Mobilní fázi nechte migrovat až do vzdálenosti 1 cm od horního okraje desky. Odeberte desku a osušte ji proudem suchého vzduchu. Opakujte migraci ještě dvakrát a desku pokaždé osušte. Desku postříkejte stejnoměrně barvicím činidlem a vložte ji do sušárny při 105 °C na dobu přibližně pěti minut.

2.4 Výsledky

Sacharosa a fruktosa se objeví jako temně modrá skvrna na bílém pozadí; glukosa dává méně intenzivní zelenou skvrnu.

3. ZKOUŠENÍ A STANOVENÍ POMOCÍ VYSOCE ÚČINNÉ KAPALINOVÉ CHROMATOGRAFIE

Chromatografické podmínky jsou uvedeny pouze orientačně.

3.1 Vybavení

3.1.1 Vysoce účinný kapalinový chromatograf vybavený takto:

1. vstřikovací zařízení s 10 µl smyčkou,
2. detektor: diferenciální refraktometr nebo interferometrický refraktometr,
3. křemenná kolona s vázaným alkylaminem (délka 25 cm, vnitřní průměr 4 mm),
4. ochranná kolona naplněná stejnou fází,
5. úprava pro izolaci ochranné kolony a analytických kolon nebo pro udržování jejich teploty (30 °C),
6. zapisovač, a v případě potřeby i integrátor,
7. rychlost průtoku mobilní fáze: 1 ml/min.

3.1.2 Úprava pro membránovou filtraci (0,45 µm).

3.2 Činidla.

3.2.1 Dvakrát destilovaná voda

3.2.2 Acetonitril (CH₃CN) pro HPLC.

3.2.3 Mobilní fáze: acetonitril – voda po předchozí membránové filtraci (0,45 µm), (80:20 objemově).

Tuto mobilní fázi je nutné před použitím odplynit.

3.2.4 Standardní roztok: Vodný roztok sacharosy 1,2 g/l. Přefiltrujte pomocí membránového filtru 0,45 µm.

3.3 **Postup**

3.3.1 *Příprava vzorku:*

- Vína a mošty: přefiltrujte pomocí membránového filtru 0,45 µm.
- Rektifikované moštové koncentráty: použijte roztok získaný zředěním rektifikovaného moštového koncentrátu na 40 % (hmotnost/objem) podle kapitoly „Celková kyselost“ bodu 5.1.2 a přefiltrujte pomocí membránového filtru 0,45 µm.

3.3.2 *Chromatografické stanovení*

Do chromatografu nastříknete postupně 10 µl standardního roztoku a 10 µl vzorku připraveného podle bodu 3.3.1. Tyto nástřiky opakujte ve stejném pořadí.

Zaznamenejte chromatogram.

Retenční čas sacharosy je přibližně 10 minut.

3.4 **Výpočet**

Pro výpočet použijte průměr dvou výsledků pro standardní roztok a vzorek.

3.4.1 *Pro vína a mošty:* vypočítejte koncentraci v g/l.

3.4.2 *Pro rektifikované moštové koncentráty:* nechť C je obsah sacharosy v g/l 40 % (hmotnost/objem) roztoku rektifikovaného moštového koncentrátu. Obsah sacharosy v g/kg rektifikovaného moštového koncentrátu je potom: 2,5 C.

3.5 **Vyjádření výsledků**

Obsah sacharosy ve víně, moštích a rektifikovaných moštových koncentrátech se vyjadřuje v gramech na litr u vín a moštů a v gramech na kilogram u rektifikovaných moštových koncentrátů, v obou případech na jedno desetinné místo.

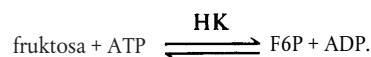
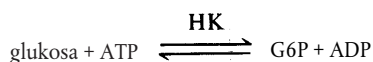
7. GLUKOSA A FRUKTOSA

1. DEFINICE

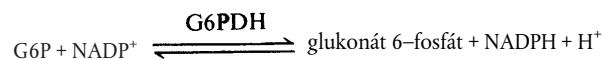
Glukosu a fruktosu lze stanovit individuálně enzymatickou metodou s výlučným cílem vypočítat poměr glukosa/fruktosa.

2. PRINCIP METODY

Glukosa a fruktosa se fosforylují adenosin-trifosfátem (ATP) během enzymatické reakce katalyzované hexokinázou (HK) a vytvářejí glukosu 6-fosfát (G6P) a fruktosu 6-fosfát (F6P):

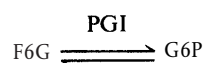


Glukosa-6-fosfát se nejdříve oxiduje na glukonát-6-fosfát nikotinamideadeninukleotidfosfátem (NADP) v přítomnosti enzymu glukosa-6-fosfát-dehydrogenáza (G6PDH). Množství vyrobeného redukovaného nikotinamideadeninukleotidfosfátu (NADPH) odpovídá množství glukosa-6-fosfátu, a tedy množství glukosy.



Redukovaný nikotinamideadeninukleotidfosfát se stanoví z jeho absorpce při 340 nm.

Na konci této reakce se fruktosa-6-fosfát převádí na glukosu-6-fosfát působením fosfoglukosa–isomerasy (PGI).



Glukosa-6-fosfát opět reaguje s nikotinamideadeninukleotidfosfátem a dává glukonát-6-fosfát a redukovaný nikotinamideadeninukleotidfosfát, který se potom stanoví.

3. VYBAVENÍ

— Spektrofotometr umožňující provádět měření při 340 nm, vlnové délce, při které je absorpce NADPH na maximální hodnotě. Jde o absolutní měření (tj. nepoužívají se kalibrační diagramy, ale standardizace se provádí pomocí extinkčního koeficientu NADPH), takže je třeba zkontrolovat stupnice vlnových délek a hodnot absorpce získané z aparatury.

Pokud není k dispozici, je možné použít spektrofotometr se zdrojem monochromatického záření, který umožňuje provádět měření při 334 nebo 365 nm.

— Skleněné kyvety s délkou optické dráhy 1 cm nebo kyvety na jedno použití.

— Pipety pro použití s enzymatickými zkušebními roztoky, 0,02, 0,05, 0,1, 0,2 ml.

4. ČINIDLA

4.1 Roztok 1: tlumivý roztok (0,3M trietanolamin, pH 7,6, $4 \times 10^{-3}\text{M}$ v Mg^{2+}): rozpustíte 11,2 g trietanolamin hydrochloridu ($(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N} \times \text{HCl}$) a 0,2 g $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ ve 150 ml dvakrát destilované vody, přidejte asi 4 ml 5M roztoku hydroxidu sodného (NaOH), abyste získali hodnotu pH 7,6 a doplňte na 200 ml.

Tento tlumivý roztok se může uchovávat po čtyři týdny při teplotě $+4^\circ\text{C}$.

4.2 Roztok 2: roztok nikotinamideadeninukleotidfosfátu (asi $11,5 \times 10^{-3}\text{M}$): rozpustíte 50 mg dinatrium nikotinamideadeninukleotidfosfátu v 5 ml dvakrát destilované vody.

Roztok se může uchovávat po čtyři týdny při teplotě + 4 °C.

- 4.3 **Roztok 3:** roztok adenosin-5' – trifosfátu (asi $81 \times 10^{-3}\text{M}$): rozpustíte 250 mg dinatrium adenosin-5' — trifosfátu a 250 mg hydrogenuhličitanu sodného (NaHCO_3) v 5 ml dvakrát destilované vody.

Roztok se může uchovávat po čtyři týdny při teplotě + 4 °C.

- 4.4 **Roztok 4:** hexokinasa/glukosa 6-fosfát dehydrogenasa: smíchejte 0,5 ml hexokinasy (2 mg proteinu/ml nebo 280 U/ml) se 0,5 ml glukosy 6–fosfát dehydrogenasy 1 mg proteinu/ml).

Směs se může uchovávat po dobu jednoho roku při teplotě asi + 4 °C.

- 4.5. **Roztok 5:** fosfoglukosa isomerasa (2 mg proteinu/ml nebo 700 U/ml): Suspenze se používá neředěná.

Může se uchovávat po dobu jednoho roku při teplotě asi + 4 °C.

Poznámka: Všechny výše uvedené používané roztoky jsou dostupné v obchodní síti.

5. POSTUP

5.1 Příprava vzorku

V závislosti na odhadovaném množství glukosy a fruktosy na litr naředíte vzorek takto:

Měření při 340 a 334 nm	Měření při 365 nm	Zředění vodou	Faktor zředění F
až do 0,4 g/l	0,8 g/l	–	–
až do 4,0 g/l	8,0 g/l	1 + 9	10
až do 10,0 g/l	20,0 g/l	1 + 24	25
až do 20,0 g/l	40,0 g/l	1 + 49	50
až do 40,0 g/l	80,0 g/l	1 + 99	100
nad 40,0 g/l	80,0 g/l	1 + 999	1 000

5.2 Stanovení

Spektrofotometrem nastaveným na vlnovou délku 340 nm provedte měření pomocí vzduchu (bez kyvety v optické dráze) nebo vody jako reference.

Teplota mezi 20 až 25 °C.

Do dvou kyvet s optickými dráhami o délce 1 cm dejte toto:

	Standardní roztok	Vzorek
Vzorek 1 (4.1) (o teplotě 20 °C)	2,50 ml	2,50 ml
Roztok 2 (4.2)	0,10 ml	0,10 ml
Roztok 3 (4.3)	0,10 ml	0,10 ml
Měřený vzorek		0,20 ml
Dvakrát destilovaná voda	0,20 ml	

Promíchejte a po asi třech minutách odečtěte absorbanci roztoku (A_1) Reakci začněte přidáním:

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

Zamíchejte; počkejte 15 minut; odečtěte absorbanci a po dalších dvou minutách zkontrolujte, zda se reakce zastavila (A_2).

Ihned přidejte:

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

Zamíchejte; odečtěte absorbanci po 10 minutách a po dalších dvou minutách zkontrolujte, zda se reakce zastavila (A_3).

Vypočítejte rozdíly absorbancí:

$A_2 - A_1$ odpovídající glukose,

$A_3 - A_2$ odpovídající fruktose,

pro kyvety se standardním roztokem a vzorkem.

Vypočítejte rozdíly v absorbancích pro referenční kyvetu (ΔA_R) a kyvetu se vzorkem (ΔA_S) a pak obdržíte:

Pro glukosu: $\Delta A_G = \Delta A_S - \Delta A_R$

Pro fruktosu: $\Delta A_F = \Delta A_S - \Delta A_R$

Poznámka:

Doba potřebná k dokončení enzymové aktivity se může měnit od dávky k dávce. Hodnota uvedená výše je udána pouze jako vodítko a doporučuje se ji stanovit pro každou dávku.

5.3 Vyjádření výsledků

5.3.1 Výpočet

Obecný vzorec pro výpočet koncentrací je:

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

kde V = objem zkušební roztoku (ml)

v = objem vzorku (ml)

M = molekulová hmotnost stanovované látky

d = optická dráha v kyvetě (cm)

ε = absorpční koeficient NADPH při 340 nm ($= 6,3 \text{ mM}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1}$)

a $V = 2,92 \text{ ml}$ pro stanovení glukosy

$V = 2,94 \text{ ml}$ pro stanovení fruktosy

$v = 0,20 \text{ ml}$

$M = 180$

$d = 1$

takže:

pro glukosu: $C(\text{g/l}) = 0,417 \Delta A_G$

pro fruktosu: $C(\text{g/l}) = 0,420 \Delta A_F$

Pokud byl vzorek během přípravy zředěn, vynásobte výsledek faktorem zředění F .

Poznámka:

Pokud se měření provádějí při 334 nebo 365 nm, pak budou získány následující výrazy:

— měření při 334 nm: $\varepsilon = 6,2 (\text{mmol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1})$

pro glukosu: $C(\text{g/l}) = 0,425 \Delta A_G$

pro fruktosu: $C(\text{g/l}) = 0,428 \Delta A_F$

— měření při 365 nm: $\varepsilon = 3,4 (\text{mmol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1})$

pro glukosu: $C(\text{g/l}) = 0,773 \Delta A_G$

pro fruktosu: $C(\text{g/l}) = 0,778 \Delta A_F$

5.3.2 Opakovatelnost (r)

$r = 0,056 x_i$

5.3.3 Reprodukovatelnost (R)

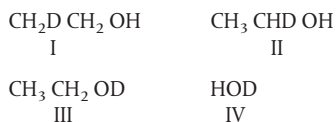
$R = 0,12 + 0,076 x_i$

x_i = obsah glukosy nebo fruktosy v g/l.

8. ZJIŠŤOVÁNÍ OBOHACENÍ HROZNOVÝCH MOŠTŮ, ZAHUŠTĚNÝCH HROZNOVÝCH MOŠTŮ, REKTIFIKOVANÝCH MOŠTOVÝCH KONCENTRÁTŮ A VÍN MĚŘENÍM NUKLEÁRNÍ MAGNETICKÉ REZONANCE DEUTERIA (SNIF-NMR/RMN-FINS)

1. DEFINICE

Deuterium obsažené v cukrech a vodě v hroznech bude po kvašení přerozděleno v molekulách I, II, III a IV vína:



Přidání exogenního cukru (suché cukření) před zkvašením moštu bude mít vliv na distribuci deuteria.

Ve srovnání se vzory parametrů pro přírodní víno ze stejné oblasti povede obohacení exogenním cukrem k následujícím změnám:

$(\text{D}/\text{H})_{\text{I}}$:

Isotopový poměr odpovídající molekule I				
Víno \ Parametry	$(\text{D}/\text{H})_{\text{I}}$	$(\text{D}/\text{H})_{\text{II}}$	$(\text{D}/\text{H})_{\text{W}}^{\text{Q}}$	R
– Přírodní	→	→	→	→
– Obohacené:				
– repný cukr	↘	↗	↗	↗
– trtinový cukr	}	↗	↗	↗
– kukuricný cukr		↗	↗	↘

$(\text{D}/\text{H})_{\text{II}}$: Isotopový poměr odpovídající molekule II

$(\text{D}/\text{H})_{\text{W}}^{\text{Q}}$: Isotopový poměr vody ve víně

$R = 2(\text{D}/\text{H})_{\text{II}}/(\text{D}/\text{H})_{\text{I}}$ vyjadřuje relativní distribuci deuteria v molekulách I a II; R se měří přímo z h-intenzit signálů a pak platí $R = 3h_{\text{II}}/h_{\text{I}}$.

$(\text{D}/\text{H})_{\text{I}}$ zejména charakterizuje rostlinné druhy, které syntetizovaly cukr, a v menší míře zeměpisnou polohu místa sklizně (typ vody používaný během fotosyntézy).

$(\text{D}/\text{H})_{\text{II}}$ představuje klimatologii místa pěstování hroznů (typ dešťové vody a povětrnostních podmínek) a v menší míře cukernatost původního moštu.

$(\text{D}/\text{H})_{\text{W}}^{\text{Q}}$ představuje klimatologii místa pěstování a cukernatost původního moštu.

2. PRINCIP

Parametry definované výše (R , $(\text{D}/\text{H})_{\text{I}}$, $(\text{D}/\text{H})_{\text{II}}$) se stanoví měřením nukleární magnetické rezonance deuteria v ethanolu extrahovaného z vína nebo z produktů kvašení moštu, zahuštěného moštu nebo rektifikovaného moštového koncentrátu získaného za daných podmínek; je možné je doplnit stanovením isotopového poměru vody extrahované z vína, $(\text{D}/\text{H})_{\text{W}}^{\text{Q}}$ a stanovením poměru $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ v ethanolu.

Až do doby vytvoření databanky Společenství postupujte takto:

V případě vín musejí být kontrolní vzorky odebrané v regionech doprovázeny přírodními kontrolními vzorky (nejméně třemi) stejného původu (zeměpisná poloha a vinobraní); mají se odebrat tři řady takových vzorků.

V případě moštů, zahuštěných hroznových moštů a rektifikovaných moštových koncentrátů se tři řady kontrolních vzorků mají skládat z přírodních moštů stejného původu (zeměpisná poloha a vinobraní).

Pro kontroly produktů připravených na svém území a až do doby vytvoření databanky Společenství mohou členské státy přechodně využívat vnitrostátní databanku.

3. PŘÍPRAVA VZORKU K ROZBORU

3.1 Extrakce ethanolu a vody z vína

Poznámka:

Je možné použít jakoukoli metodu pro extrakci ethanolu, pokud se ve vinném destilátu, který obsahuje 92 až 93 hmotnostních procent (95 % objemových), získá zpět 98 až 98,5 % celkového obsahu alkoholu ve víně.

3.1.1 Vybavení a činidla

Vybavení pro extrakci ethanolu (obr. 1) se skládá

- elektrického topného pláště s regulátorem napětí,
- jednolitrové baňky s kulatým dnem se zabroušeným hrdlem,
- Cadiotovy kolony s otáčejícím se pásem (pohybující se část v teflonu),
- kuželových baněk se zabroušeným hrdlem o objemu 125 ml,
- lahví o objemu 125 a 60 ml s plastovými zátkami.

Činidla pro stanovení vody Karl Fischerovou metodou (např. Merck 9241 a 9243).

3.1.2 Postup

3.1.2.1 Stanovte obsah alkoholu ve víně (t°) s přesností nejméně 0,05 % objemových.

3.1.2.2 Extrakce ethanolu

Homogenní vzorek 500 ml vína o objemu alkoholu t° zaveďte do baňky v destilační aparatuře s konstantním refluxním poměrem asi 0,9. K jímání destilátu vložte zabroušenou kuželovou baňku o objemu 125 ml, předem kalibrovanou. Vařící kapalinu zachycujte mezi 78,0 a 78,2 °C, tj. přibližně 40 až 60 ml. Pokud teplota překročí 78,5 °C, zachycování na pět minut přerušte.

Když se teplota vrátí na 78 °C, začněte znovu zachycovat destilát až do 78,5 °C a tuto činnost opakujte, dokud teplota po přerušení zachycování a činnosti v uzavřeném okruhu nezůstane konstantní. Úplná destilace trvá přibližně pět hodin. Tento postup umožňuje v destilátu o obsahu alkoholu mezi 92 a 93 % (hmotnostními, 95 % objemových), tj. objemu, pro který byly stanoveny podmínky nukleární magnetické rezonance popsané v bodu 4, znovu získat mezi 98 a 98,5 % celkového obsahu alkoholu ve víně.

Zachycený ethanol se zvaží.

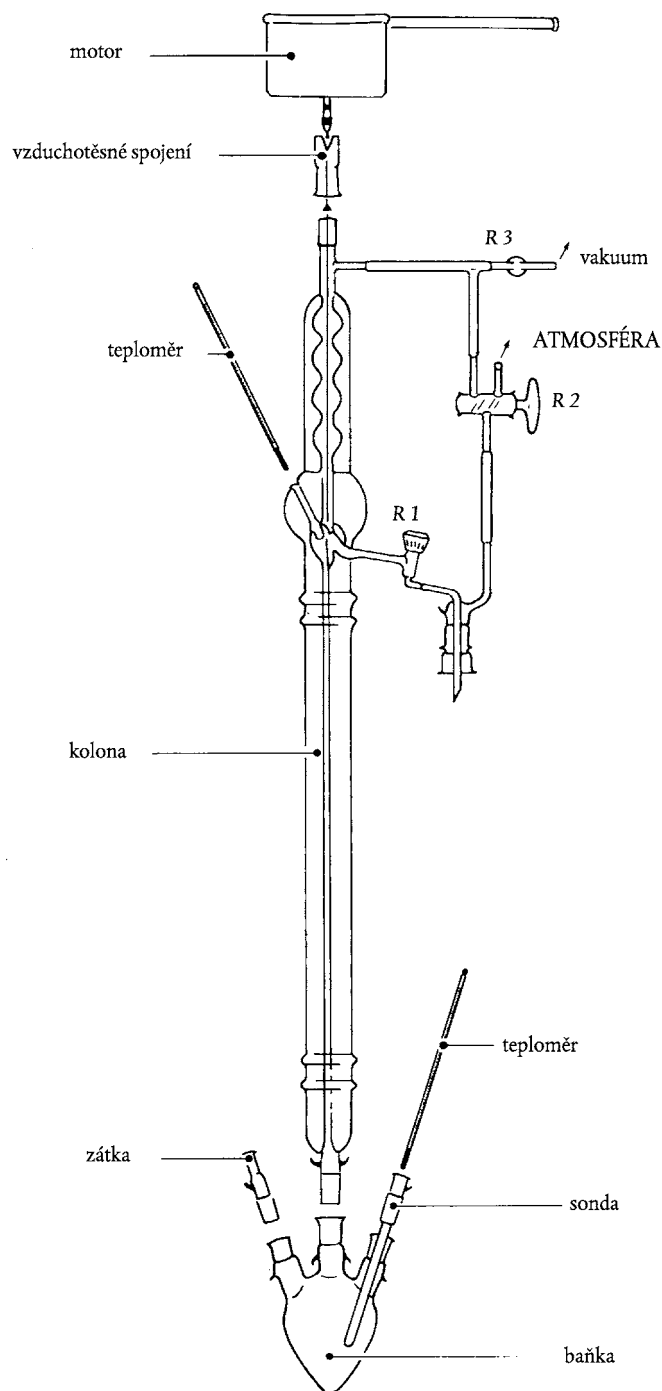
Homogenní vzorek zbytků po destilaci o objemu 60 ml se uchová v baňce o objemu 60 ml a představuje vodu ve víně. Pokud je třeba, je možné stanovit isotopový poměr.

Poznámka:

Pokud je k dispozici spektrometr se sondou 10 mm (srov. bod 4), je postačující homogenní zkušební vzorek 300 ml vína.

3.1.2.3 Stanovení obsahu alkoholu v extrahovaném alkoholu

Obsah vody (p' g) se stanovuje Karl Fischerovou metodou pomocí vzorku asi 0,5 ml alkoholu o přesně známé hmotnosti p .

**Obr. 1**

Destilační přístroj pro extrakci ethanolu

Obsah alkoholu v % hmotnostních je dán vztahem

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

3.2 Kvašení moštů, zahuštěných moštů a rektifikovaných moštových koncentrátů

3.2.1 Vybavení a činidla

Kyselina vinná

Dusíkatý základ kvasinek DIFCO Bacto bez aminokyselin.

Aktivní sušené vinné kvasinky (*Saccharomyces cerevisiae*)

Pokud je znám isotopový poměr moštu, je možné kvasinky reaktivovat před použitím po dobu 15 minut v minimálním množství vlažné nedestilované vody tak, aby isotopový poměr byl podobný isotopovému poměru moštu.

Pokud není isotopový poměr moštu znám, je vhodnější použít kvasinky přímo.

Kvasná nádoba o objemu 1,5 litru vybavená zařízením, které ji uchovává vzduchotěsnou a umožňuje kondenzaci par alkoholu, protože nelze připustit jakoukoliv ztrátu ethanolu během kvašení. Míra přeměny zkvasitelných cukrů na ethanol by měla být větší než 98 %.

3.2.2 Postup

3.2.2.1 Mošty

— Čerstvé mošty

Nalijte do kvasné nádoby jeden litr moštu, u kterého byla již dříve stanovena koncentrace zkvasitelných cukrů. Přidejte 1 g suchých předem reaktivovaných kvasinek. Vložte zařízení udržující vzduchotěsnost. Nechte kvasit při teplotě kolem 20 °C, dokud není cukr spotřebován. Po stanovení obsahu alkoholu v produktu kvašení a výpočtu míry přeměny cukru na alkohol se kvasná tekutina odstředí a destiluje za účelem extrakce ethanolu.

— Mošty, jejichž kvašení bylo zastaveno přidáním oxidu siřičitého

Odsířte množství moštu mírně převyšující jeden litr (např. 1,2 litru) tím, že necháte moštem probublávat dusík ve vodní lázni při teplotě 70 až 80 °C pod zpětným chladičem, dokud celkový obsah oxidu siřičitého není menší než 200 mg/l. Aby se mošt nekoncentroval odpařováním vody, dbejte na použití účinného chlazení. Dejte 1 litr odsířeného moštu do kvasné nádoby a pokračujte podle popisu pro čerstvý mošt.

Poznámka:

Pokud se k síření moštu používá metasiřičitan draselný, je třeba před odsířením moštu přidat 0,25 ml kyseliny sírové ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml) na gram metasiřičitanu draselného použitého na litr moštu.

3.2.2.2 Zahuštěné mošty

Do kvasné nádoby dejte V ml zahuštěného moštu obsahujícího známé množství cukru (přibližně 170 g). Doplňte na jeden litr vodou (1 000 – V) ml z normálního vodního zdroje o stejném isotopovém poměru jako vzorky přírodního moštu. Přidejte 1g suchých kvasnic (viz 3.2.1) a 3 g dusíkatého základu kvasnic DIFCO Bacto bez aminokyselin. Homogenizujte a postupujte jak uvedeno výše.

3.2.2.3 Rektifikované moštové koncentráty

Postupujte podle popisu v bodu 3.2.2.2 a množstvím vody (1 000 – V) ml z normálního vodního zdroje o stejném isotopovém poměru, ale s obsahem 3 g rozpuštěné kyseliny vinné, doplňte na jeden litr.

Poznámka:

Ponechte si 50 ml vzorku moštu nebo moštu ošetřeného oxidem siřičitým nebo zahuštěného moštu nebo rektifikovaného moštového koncentrátu s ohledem na možnou extrakci vody a stanovení jejího isotopového poměru $(D/H)_W^Q$. Extrakce vody obsažené v moštu se může provést szeptotropickou destilací pomocí toluenu.

3.3 Příprava vzorku alkoholu pro měření NMR

3.3.1 Činidla

N, N-tetrametyl-močovina (TMU); použijte vzorek standardní TMU s daným sledovaným isotopovým poměrem D/H. Tento vzorek může dodat:

Generální ředitelství – věda, výzkum a vývoj
Referenční úřad Společenství
200 rue de la Loi, B-1049, Bruxelles

3.3.2 Postup

— Sonda NMR o průměru 15 mm

Do předem zvážené lahvičky zachyťte 7 ml alkoholu získaného postupem podle bodu 3.1.2 a zvažte ho s přesností na 0,1 mg (m_A); pak vezměte 3 ml vzorku vnitřního standardu (TMU) a zvažte s přesností na 0,1 mg (m_A). Homogenizujte protřepáním.

— Sonda NMR o průměru 10 mm

V závislosti na typu spektrometru a použité sondy (srov. bod 4) přidejte postačující množství hexafluorbenzenu jako stabilizační látku frekvence pole (zámek):

Spektrometr	Sonda 10 mm	Sonda 15 mm
7,05 T	150 ml	200 ml
9,4 T	35 ml	50 ml

3.4 Příprava vodného vzorku pro měření NMR za účelem možného stanovení jeho isotopového poměru

3.4.1 Činidla

N, N-tetramethyl-močovina: viz 3.3.1.

3.4.2 Postup

Do tárované baňky dejte 3 ml vody stejně jako v bodu 3.1.2 nebo 3.2 (poznámka) a zvažte s přesností na 0,1 mg (m'_E). Homogenizujte protřepáním.

Poznámka:

Pokud má laboratoř hmotnostní spektrometr pro stanovování isotopových poměrů, měření se může provést na tomto přístroji, aby se snížilo zatížení NMR spektrometru. Je nutné standardizovat poměr T_{IV} (5.2.) pro každou sérii zkoumaných vín.

4. ZAZNAMENÁNÍ NMR SPEKTRA ^2H V ALKOHOLU A VODĚ

Stanovení isotopových parametrů

4.1 Vybavení

— NMR spektrometr vybavený zvláštní deuteriovou sondou naladěnou na charakteristickou frekvenci V_0 pole B_0 (např. pro $B_0 = 7,05\text{ T}$, je $V_0 = 46,05\text{ MHz}$ a pro $B_0 = 9,4\text{ T}$ je $V_0 = 61,4\text{ MHz}$) s kanálem zrušení spinové interakce protonů (B_2) a kanálem stabilizace frekvence pole (zámek) na frekvenci fluoru.

Rozlišení naměřené na spektru převedené bez exponenciálního násobení (tj. $LB = 0$) (obr. 2b) a vyjádřené pološířkou methylových a methylenových signálů ethanolu a methylového signálu TMU musí být menší než 0,5 Hz. Citlivost naměřená s exponenciálním násobícím faktorem LB rovným 2 (obr. 2a) musí pro methylový signál ethanolu o obsahu alkoholu 95 % objemových (93,5 % hmotnostních) být nejméně 150.

Za těchto podmínek je interval spolehlivosti pro měření výšky signálu vypočítaný pro pravděpodobnost 97,5 % (jednostranná zkouška) a 10 opakování spektra 0,35 %,

- automatický podavač vzorků (případně),
- software na zpracování dat,
- vzorkové zkumavky 15 mm nebo 10 mm podle provedení spektrometru.

4.2 Nastavení spektrometru a kontroly

4.2.1 Nastavení

Homogenita a citlivost se nastavuje jako obvykle podle pokynů výrobce.

4.2.2 Kontrola platnosti nastavení

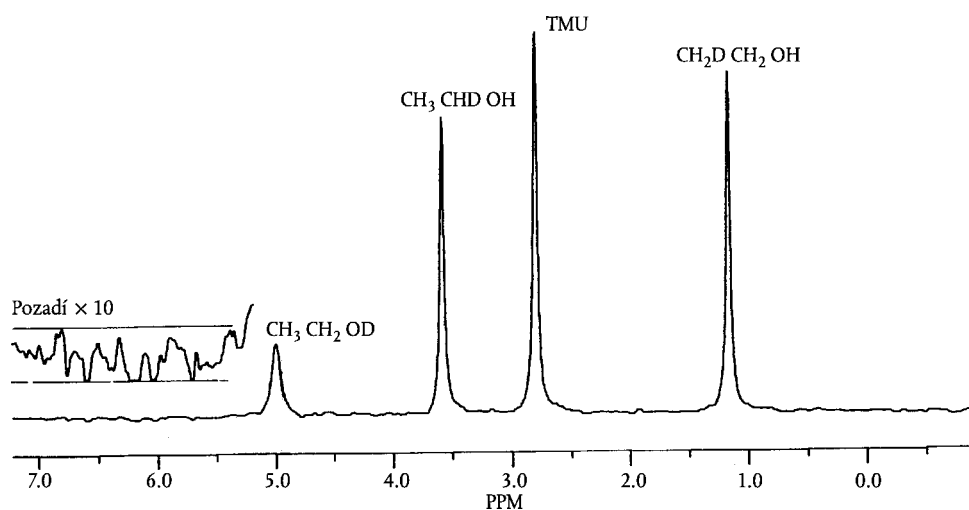
Použijte referenční ethanol y označené písmeny C, V a B s izotopovými koncentracemi, které jsou odlišné, ale přesně standardizované. Budou mít následující významy:

- C: alkohol z třtinového cukru nebo kukuřice,
- V: vinný alkohol,
- B: řepný alkohol.

Tyto vzorky dodává Referenční úřad Společenství.

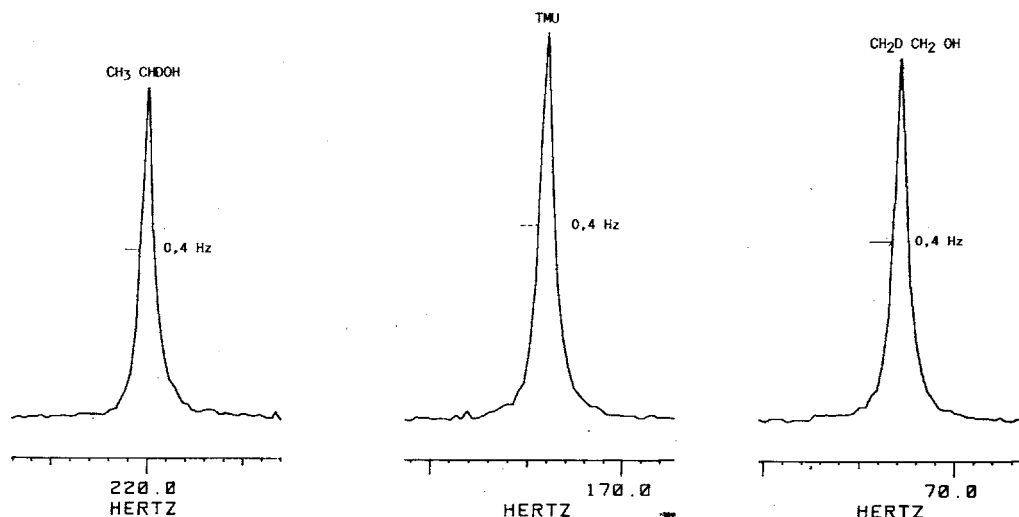
Postupem podle bodu 4.3 stanovte izotopové hodnoty těchto alkoholů a označte je C_{meas} , V_{meas} , B_{meas} (viz bod 5.3).

Porovnejte je s danými odpovídajícími referenčními hodnotami označenými C_{st} , B_{st} , V_{st} (viz bod 5.3).



Obr. 2a

NMR spektrum ^2H v ethanolu z vína s vnitřním standardem (TMU: N, N-tetramethyl–močovina



Obr. 2b

^2H spektrum ethanolu odebraného za stejných podmínek, jako jsou podmínky obr. 2a, avšak bez exponenciálního násobení ($\text{LB} = 0$).

Směrodatná odchylka pro opakovatelnost vypočítaná z průměru 10 opakování každého spektra musí být menší než 0,01 pro poměr R a menší než 0,3 ppm pro $(\text{D}/\text{H})_{\text{I}}$ a $(\text{D}/\text{H})_{\text{II}}$.

Průměrné hodnoty získané pro různé isotopické parametry (R , $(\text{D}/\text{H})_{\text{I}}$, $(\text{D}/\text{H})_{\text{II}}$) musejí být v rozmezí odpovídající směrodatné odchylky opakovatelnosti dané pro tyto parametry pro tři referenční alkoholy Referenčním úřadem Společenství. Pokud nejsou, proveďte nastavení ještě jednou.

4.3 Podmínky pro získání spektra NMR

Dejte vzorek alkoholu připravený podle bodu 3.3 (nebo vodný vzorek připravený podle bodu 3.4) do zkumavky 15 mm nebo 10 mm a zaveďte ho do sondy.

Podmínky pro získání spektra NMR jsou tyto:

- konstantní teplota sondy (např. 302 K),
- doba snímání spektra alespoň 6,8 s pro 1 200 Hz spektrální šířky (paměť 16 K), tj. asi 20 ppm při 61,4 MHz nebo 27 ppm při 46,1 MHz),
- impuls 90° ,
- nastavení doby snímání: její hodnota musí být stejného řádu jako doba prodlení,
- parabolická detekce: nastavte odstup 01 mezi referenčními signály OD a CHD pro ethanol a mezi referenčními signály HOD a TMU pro vodu,
- stanovit hodnotu odstupu zrušení spinové interakce 02 z protonového spektra měřeného rušící cívkou na stejné trubici. Dobrého zrušení spinové interakce je dosaženo, když je 02 umístěno uprostřed frekvenčního intervalu mezi skupinami CH_3 a CH_2 . Použijte širokopásmový režim zrušení spinové interakce.

Pro každé spektrum proveďte počet akumulací NS postačující k získání poměru signálu k šumu uvedeného v 4.1. a opakujte tuto sadu akumulací $\text{NE} = 10$ krát. Hodnoty NS závisí na typech použitého spektrometru a sondy (srov. bod 4). Příklady možných voleb jsou:

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

5. VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ

5.1 Ethanol

Pro každé z 10 spekter (viz NMR spektrum pro ethanol, obr. 2a) stanovte:

$$— R = \frac{3h_{II}}{h_I} = 3 \times \frac{\text{výška signálu II (CH}_3\text{CHD OH)}}{\text{výška signálu I (CH}_2\text{DCH}_2\text{OH)}}$$

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

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

kartu su:

$$— T_I = \frac{\text{výška signálu I (CH}_2\text{D CH}_2\text{ OH)}}{\text{výška signálu vnitřního s tan dardu (TMU)}}$$

$$— T_{II} = \frac{\text{výška signálu II (CH}_3\text{CHDOH)}}{\text{výška signálu vnitřního s tan dardu (TMU)}}$$

— m_{st} i m_A , žiūr 3.3.2. skirsnį,

— t_m^D viz bod 3.1.2.3,

— $(D/H)_n$ = isotopový poměr vnitřního standardu (TMU) vyznačený na láhvi dodané Referenčním úřadem Společenství

Použití výšek signálů místo ploch měřitelných s menší přesností předpokládá, že šířka signálu v polovině výšky je totožná a je při použití rozumnou aproximací (obr. 2b).

5.2 Voda

Když se isotopový poměr vody stanoví nukleární magnetickou rezonancí ze směsi voda-TMU, použije se následující vztah:

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

s

$$— T_{IV} = \frac{\text{Plocha signálu (HOD) u vody extrahované z vína}}{\text{Plocha signálu vnitřního s tan dardu (TMU)}}$$

— m'_{st} a m'_E viz bod 3.4.2.

— $(D/H)_{st}$ = isotopový poměr vnitřního standardu (TMU) vyznačený na láhvi dodané Referenčním úřadem Společenství

5.3 Pro každý z isotopových parametrů vypočítejte průměr 10 stanovení a interval spolehlivosti.

Volitelný software (např. SNIF-NMR) vhodný pro spektrometr umožňuje provádět takové výpočty „on-line“.

Poznámka:

Pokud po standardizaci spektrometru je systematický rozdíl mezi průměrnými hodnotami získanými pro charakteristické isotopy standardních alkoholů (4.2.2.) a hodnotami uváděnými Referenčním úřadem Společenství v rozmezí směrodatné odchylky, je možné pro získání správných hodnot pro jakýkoli vzorek X použít následující korekci.

K provedení interpolace se vezmou hodnoty pro standardní vzorek, které ohraničují hodnotu vzorku X.

Nechť $(D/H)_i^{X_{\text{meas}}}$ je naměřená hodnota a $(D/H)_i^{X_{\text{corr}}}$ je korigovaná hodnota. Pak dostaneme:

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

kde

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

Příklad:

Standardní vzorky dodávané a standardizované Referenčním úřadem Společenství:

$$(D/H)_i^{V_{\text{st}}} = 102,0 \text{ ppm} \quad (D/H)_i^{B_{\text{st}}} = 91,95 \text{ ppm}$$

Standardní vzorky naměřené laboratoří

$$(D/H)_i^{V_{\text{meas}}} = 102,8 \text{ ppm} \quad (D/H)_i^{B_{\text{meas}}} = 93,0 \text{ ppm}$$

Podezřelý nekorigovaný vzorek: $(D/H)_i^{X_{\text{meas}}} = 100,2 \text{ ppm}$

$$\alpha = 1,0255 \text{ a } (D/H)_i^{X_{\text{corr}}} = 99,3 \text{ ppm jsou vypočteny}$$

6. VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ

Porovnejte hodnotu R^X získanou pro poměr R podezřelého vzorku s poměry získanými pro kontrolní vína. Pokud se R^X liší o více než dvojnásobek směrodatné odchylky od průměrné hodnoty R^T získané pro kontrolní víno, lze předpokládat nežádoucí příměsi.

6.1 Přidávání řepného cukru, třtinového cukru nebo kukuřičné glukosy

6.1.1 Vína

R^X je větší než R^T : předpokládá se, že byl přidán řepný cukr.

R^X je menší než R^T : předpokládá se, že byl přidán třtinový nebo kukuřičný cukr.

Povšimněte si, že jsou zvýšeny hodnoty $(D/H)_i^X$ a $(D/H)_w^{QX}$.

Uvažujme $(D/H)_i^X$:

— Předpokládá se, že byl přidán řepný cukr: $(D/H)_i^X$ podezřelého vzorku, jehož průměrná hodnota byla získána z kontrolních vzorků, je nižší než $(D/H)_i^T$ o více než směrodatnou odchylku.

— Předpokládá se, že byl přidán třtinový nebo kukuřičný cukr:

$$(D/H)_i^X \text{ podezřelého vzorku je větší než } (D/H)_i^T \text{ o více než směrodatnou odchylku.}$$

— Výpočet obohacení E vyjádřeného v % objemových ethanolu:

— Přídavek řepného cukru:

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

kde

$(D/H)_i^B$ = isotopový poměr pro místo I řepného alkoholu

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

t^V = obsah alkoholu ve zkoušeném víně (X).

— Přídavek třtinového cukru nebo kukuřičného cukru:

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

⁽¹⁾ Tyto hodnoty udává databanka Společenství, jež bude vytvořena.

kde

$(D/H)_I^C$ = isotopový poměr pro místo I třtinového nebo kukuřičného cukru:

$(D/H)_I^C = 110,5$ ⁽¹⁾

t^V = obsah alkoholu ve zkoušeném víně (X).

6.1.2 Mošty, zahuštěné mošty a rektifikované moštové koncentráty

Hodnoty isotopických parametrů pro alkohol extrahovaný podle bodu 3.1 z produktu kvašení získaného (bod 3.2) z moštu, zahuštěného moštu a rektifikovaného moštového koncentrátu se zkoumají podle pokynů v bodu 6 „Vyjádření výsledků“ (bod 6.1.1) a srovnávají se s alkoholem extrahovaným z produktu kvašení moštu.

Obohacení, E % obj., vyjadřuje objem alkoholu přidaného k produktu kvašení. Se znalostí zředění, provedeného případně před kvašením (zahuštěné mošty a rektifikované moštové koncentráty), a za předpokladu, že 16,83 g cukru dává 1 % alkoholu, vypočítejte množství cukru (hmotu) přidaného na litr moštu, zahuštěného moštu nebo rektifikovaného moštového koncentrátu.

6.2 Přídavek směsi řepného cukru a třtinového cukru nebo kukuřičného cukru

Isotopové poměry $(D/H)_I$ a R se změní méně, než když se přidává jen jeden typ cukru.

$(D/H)_{II}$ je vyšší, stejně jako $(D/H)_{w}^Q$.

Tyto přídavky je možné potvrdit stanovením poměru $^{13}C/^{12}C$ ethanolu hmotnostní spektrometrií; v tomto případě je poměr vyšší.

⁽¹⁾ Jedním z běžných obchodních označení je „Norit“.

9. POPEL

1. DEFINICE

Popel je definován jako souhrn látek zbylých po spálení odparku vína prováděném takovým způsobem, že se všechny kationty (s výjimkou amonných kationtů) převedou na uhličitany nebo jiné bezvodé anorganické soli.

2. PRINCIP METODY

Odparek vína se žihá při teplotě mezi 500 a 550 °C až do dosažení úplného spálení organického materiálu.

3. VYBAVENÍ

- 3.1 varná vodní lázeň;
- 3.2 váhy s citlivostí 0,1 mg;
- 3.3 vyhřívaná plotýnka nebo infračervená lampa;
- 3.4 muflová pec s nastavitelnou teplotou;
- 3.5 exsikátor;
- 3.6 platinová miska s plochým dnem o průměru 70 mm a výšce 25 mm.

4. POSTUP

Do předem tárované platinové misky napipetujte 20 ml vína (původní hmotnost P^0 g). Odpařte na varné vodní lázni a zbytek zahřívejte na vyhřívané plotýnce při 200 °C nebo pod infračervenou lampou, dokud nezačne karbonizace. Když se již nevytváří žádný další dým, vložte misku do muflové pece udržované na 525 ± 25 °C. Po 15 minutách karbonizace vyjměte misku z pece, přidejte 5 ml destilované vody, odpařte na vodní lázni nebo pod infračervenou lampou a zbytek opět zahřívejte na teplotu 525 °C po dobu 10 minut.

Není-li spálení uhlenných podílů úplné, opakujte předchozí postup přidání vody, odpařování a spálení.

U vín s vysokým obsahem cukrů je výhodné přidat k odparku před prvním uhlňováním několik kapek čistého rostlinného oleje, aby se zamezilo nadměrnému pění.

Po ochlazení v exsikátoru se miska zváží. (P_1 g),

Hmotnost popela ve vzorku je pak $p = (P_1 - P_0)$ g.

5. VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ

5.1 Metoda výpočtu

Hmotnost P popela v gramech na litr vína bude dána na dvě desetinná místa výrazem: $P = 50 p$

10. ALKALITA POPELA**1. DEFINICE**

Alkalita popela se definuje jako součet kationtů, které jsou vázány na organické kyseliny ve víně, s výjimkou amonných kationtů.

2. PRINCIP METODY

Popel se rozpustí ve známém nadměrném množství horkého standardizovaného roztoku kyseliny; přebytek se stanoví titrací pomocí methylovanže jako indikátoru.

3. ČINIDLA A VYBAVENÍ

3.1 roztok kyseliny sírové 0,05M (H_2SO_4);

3.2 roztok hydroxidu sodného 0,1M (NaOH);

3.3 methylovanž, 0,1 % roztok v destilované vodě;

3.4 varná vodní lázeň.

4. POSTUP

K popelu z 20 ml vína obsaženého v platinové misce přidejte 10 ml 0,05M roztoku kyseliny sírové (3.1). Misku vložte na asi 15 minut na varnou vodní lázeň; zbytkové částičky rozbíjejte a promíchávejte skleněnou tyčinkou, aby se rozpouštění urychlilo. Přidejte dvě kapky roztoku methylovanže a titrujte přebytečnou kyselinu sírovou 0,1M roztokem hydroxidu sodného (3.2), dokud se barva indikátoru nezmění na žlutou.

5. VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ

Metoda výpočtu

Alkalita popela vyjádřená v miliekvivalentech na litr na jedno desetinné místo je dána vztahem

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

kde n ml je objem hydroxidu sodného 0,1M.

11. CHLORIDY

1. PRINCIP

Chloridy se stanovují přímo ve víně potenciometrií pomocí elektrody Ag/AgCl.

2. VYBAVENÍ

2.1 Měřič pH/mV se stupnicí v intervalech alespoň 2 mV.

2.2 Magnetická míchačka.

2.3 Elektroda Ag/AgCl s nasyceným roztokem dusičnanu draselného jako elektrolytem.

2.4 Mikrobýreta se stupnicí po 1/100 ml.

2.5 Chronometr.

3. ČINIDLA

3.1 Standardní chloridový roztok: 2,1027 g chloridu draselného, KCl (max. 0,005 % Br), před použitím vysušeného ponecháním v exsikátoru po několik dní, se rozpustí v destilované vodě a doplní na 1 litr. 1 ml tohoto roztoku obsahuje 1 mg Cl⁻.

3.2 Titrační roztok dusičnanu stříbrného: 4,7912 g dusičnanu stříbrného analytické kvality, AgNO₃, se rozpustí v 10 % (objemově) roztoku alkoholu a doplní na jeden litr. 1 ml tohoto roztoku odpovídá 1 mg Cl⁻.

3.3 Kyselina dusičná o čistotě alespoň 65 % ($\rho_{20} = 1,40$ g/ml).

4. POSTUP

4.1 Do válcové nádoby o objemu 150 ml umístěné na magnetické míchačce se odměří 5,0 ml standardního roztoku chloridu zředěného destilovanou vodou na přibližně 100 ml a okyseleného 1,0 ml kyseliny dusičné (alespoň 65 %). Po ponoření elektrody titrujte přidáním titračního roztoku dusičnanu stříbrného pomocí mikrobýrety za mírného míchání. Začněte přidávkem prvních 4 ml po 1,00 ml a odečítejte odpovídající hodnoty v milivoltech. Doplníte další 2 ml ve frakcích po 0,20 ml. Konečně pokračujte v doplňování ve frakcích po 1 ml, dokud není doplněno celkem 10 ml. Po každém přidavku počkejte před odečtením odpovídajících milivoltů asi 30 sekund. Hodnoty takto získané přeneste na grafický papír vůči odpovídajícím mililitrům titračního roztoku a stanovte potenciál bodu ekvivalence na základě singulárního bodu na získané křivce.

4.2 Do válcové nádoby o objemu 150 ml s 95 ml destilované vody a 1 ml kyseliny dusičné (alespoň 65 %) se odměří 5 ml standardního chloridového roztoku. Ponořte elektrodu a titrujte za současného míchání, dokud nebude dosaženo potenciálu bodu ekvivalence. Toto stanovení se opakuje, dokud není dosaženo dobrého stupně shody výsledků. Tuto kontrolu je nutné provádět před každou sérií měření chloridů ve vzorcích.

4.5 Do válcové nádoby o objemu 150 ml se odměří 50 ml vína. Přidejte 50 ml destilované vody a 1 ml kyseliny dusičné (alespoň 65 %) a titrujte pomocí postupu popsaného ve 4.2.

5. VYJÁDRĚNÍ VÝSLEDKŮ

5.1 Výpočty

Jestliže n představuje počet mililitrů titračního roztoku dusičnanu stříbrného, obsah chloridů ve zkoušené kapalině je:

- $20 \times n$ vyjádřeno v miligramech Cl na litr,
 $0,5633 \times n$ vyjádřeno v miliekvivalentech na litr,
 $32,9 \times n$ vyjádřeno v miligramech chloridu sodného na litr.

5.2 Opakovatelnost (r):

$r = 1,2$ mg Cl na litr

$r = 0,03$ miliekvivalentů na litr

$r = 2,0$ mg NaCl na litr

5.3 Reprodukovatelnost (R):

$R = 4,1$ mg Cl na litr

$R = 0,12$ miliekvivalentů na litr

$R = 6,8$ mg NaCl na litr

6. Poznámka: Pro velmi přesná stanovení.

Viz úplná titrační křivka získaná během stanovování zkušební kapaliny s roztokem dusičnanu stříbrného.

- Do válcové nádoby o objemu 150 ml odměřte 50 ml vína, které se má analyzovat. Přidejte 50 ml destilované vody a 1 ml kyseliny dusičné (alespoň 65 %). Titrujte pomocí roztoku dusičnanu stříbrného; pokaždé přidejte 0,5 ml a zaznamenávejte odpovídající potenciál v milivoltech. Z této první titrace odvoďte požadovaný přibližný objem roztoku dusičnanu stříbrného.
- Za stejných podmínek začněte stanovení znovu. Začněte přidáváním 0,5 ml titračního roztoku a zaznamenáváním odpovídajícího potenciálu v milivoltech, dokud přidaný objem není o 1,5 až 2,0 ml menší než objem zjištěný v bodu a). Pak přidejte pokaždé 0,2 ml. Pokračujte v přidávání roztoku za přibližně umístěný bod ekvivalence symetrickým způsobem, tj. přidáním 0,2 ml a pak 0,5 ml.

Koncový bod měření a přesný objem spotřebovaného dusičnanu stříbrného se získají:

— buď nakreslením křivky a stanovením bodu ekvivalence,

— nebo následujícím výpočtem:

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

kde:

V = objem titračního roztoku v bodě ekvivalence;

V' = objem titračního roztoku před největší změnou potenciálu;

ΔV_i = konstantní objem přírůstku titračního roztoku, tj. 0,2 ml;

$\Delta \Delta E_1$ = druhý rozdíl v potenciálu před největší změnou v potenciálu

$\Delta \Delta E_2$ = druhý rozdíl v potenciálu po největší změně v potenciálu

Příklad:

Objem titračního roztoku AgNO ₃	Potenciál E v mV	Rozdíl ΔE	Druhý rozdíl ΔΔE
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	

V tomto případě je koncový bod titrace mezi 1,6 a 1,8 ml; největší změna potenciálu ($\Delta E = 44$ mV) nastává v tomto intervalu. Objem titračního roztoku dusičnanu stříbrného spotřebovaného na změření chloridů ve zkoušeném vzorku je:

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

12. SÍRANY

1. PRINCIP

1.1 Referenční metoda

Srážení síranu barnatého a zvážení. Fosforečnan barnatý vysrážený ve stejných podmínkách se eliminuje promytím sraženiny kyselinou chlorovodíkovou.

V případě moštů nebo vína bohatého na oxid siřičitý se doporučuje provést předem odsíření varem ve vzduchotěsné nádobě.

1.2 Rychlá zkušební metoda

Vína se zařídují do několika kategorií pomocí tzv. limitní metody vycházející ze srážení síranu barnatého pomocí titračního činidla s ionty barya.

2. REFERENČNÍ METODA

2.1 Činidla

2.1.1 2M roztok kyseliny chlorovodíkové.

2.1.2 Roztok chloridu barnatého 200 g/l $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

2.2 Postup

2.2.1 Všeobecný postup:

Do odstředivkové zkumavky o objemu 50 ml odměřte 40 ml analyzovaného vzorku; přidejte 2 ml 2M kyseliny chlorovodíkové a 2 ml roztoku chloridu barnatého 200 g/l. Zamíchejte skleněným míchadlem, míchadlo opláchněte malým množstvím destilované vody a nechte pět minut stát. Odstředujte po dobu pěti minut, pak kapalinu nad sedlinou pečlivě odlijte.

Dále síran barnatý promyjte takto: přidejte 10 ml 2M kyseliny chlorovodíkové, sedlinu promíchejte a odstředujte po dobu pěti minut. Promývací postup opakujte dvakrát za stejných podmínek a pokaždé použijte 15 ml destilované vody.

Sraženinu převedte kvantitativně propláchnutím destilovanou vodou do tárované platinové kapsle a umístěte nad vodní lázeň při 100 °C, dokud se zcela nevysuší. Vysušená sraženina se několikrát krátce žihá nad plamenem, dokud se nezíská bílý zbytek. Nechte zchladnout v exsikátoru a zvažte.

Nechť m = hmotnost získaného síranu barnatého v miligramech.

2.2.2 Speciální postup: Sířený mošt a víno s vysokým obsahem oxidu siřičitého.

Předem odstraňte oxid siřičitý.

Do Erlenmeyerovy baňky vybavené přikapávací nálevkou a odvzdušňovací trubicí odměřte 25 ml vody a 1 ml čisté kyseliny chlorovodíkové ($\rho_{20} = 1,15$ až $1,18$ g/ml). Vařením roztoku odstraňte vzduch a přikapávací nálevkou zaveďte 100 ml vína. Pokračujte ve vaření, dokud objem kapaliny v baňce není snížen asi na 75 ml a po ochlazení ho převedte kvantitativně do odměrné baňky o objemu 100 ml. Doplňte vodou ke značce. Stanovte sírany ve 40 ml vzorku podle 2.2.1.

2.3 **Vyjádření výsledků**

2.3.1 Výpočty:

Obsah síranů vyjádřený v miligramech síranu draselného K_2SO_4 na litr je:

$$18,67 \times m$$

Obsah síranů v moštu nebo ve víně se vyjadřuje v miligramech síranu draselného na litr, bez desetinných míst.

2.3.2 *Opakovatelnost*

až do 1 000 mg/l: $r = 27 \text{ mg/l}$

asi 1 500 mg/l: $r = 41 \text{ mg/l}$

2.3.3 *Reprodukovatelnost*

až do 1 000 mg/l: $R = 51 \text{ mg/l}$

asi 1 500 mg/l: $R = 81 \text{ mg/l}$.

3. RYCHLÁ ZKUŠEBNÍ METODA

3.1 **Činidla**3.1.1 *Titrační roztok chloridu barnatého*

2,084 g chloridu barnatého, $BaCl_2 \times 2 H_2O$, a 10 ml kyseliny chlorovodíkové ($\rho_{20} = 1,15$ až $1,18 \text{ g/ml}$) se rozpustí v dostatečném množství vody tak, aby se získal jeden litr roztoku, 1 ml tohoto roztoku vysráží množství iontů síranu ekvivalentní 2 mg síranu draselného.

3.1.2 Kyselina sírová ($\rho_{20} = 1,84 \text{ g/ml}$), roztok 1/10 (hmotnost/objem).3.2 **Postup**

Do tří zkumavek odměřte 10 ml moštů nebo vín; do zkumavky č. 1 přidejte 3,5 ml, do č. 2 5 ml a do č. 3 10 ml roztoku chloridu barnatého. Protřepejte a přiveďte k varu, nechte stát jednu až dvě hodiny. Kapalina v každé zkumavce se slijí, přefiltruje a rozdělí do dvou částí. K jedné části přidejte několik kapek zředěného roztoku kyseliny sírové, do druhé několik kapek roztoku chloridu barnatého. Každou zkumavku prohlédněte a povšimněte si, zda je kapalina čirá nebo zakalená. Interpretace těchto pozorování je uvedena v následující tabulce.

	Víno	Chlorid barnatý	Filtrované víno +	
			zředěná kyselina sírová	roztok chloridu barnatého
	(ml)	(ml)	zakalený	čirý
První zkouška	10	3,5	(méně než $0,7 \text{ g K}_2\text{SO}_4/\text{l}$)	
			čirý	zakalený
			(více než $0,7 \text{ g K}_2\text{SO}_4/\text{l}$)	
Druhá zkouška	10	5	zakalený	čirý
			(méně než $1 \text{ g K}_2\text{SO}_4/\text{l}$)	
			čirý	zakalený
			(více než $1 \text{ g K}_2\text{SO}_4/\text{l}$)	
Třetí zkouška	10	10	zakalený	čirý
			(méně než $2 \text{ g K}_2\text{SO}_4/\text{l}$)	
			čirý	zakalený
			(více než $2 \text{ g K}_2\text{SO}_4/\text{l}$)	

13. CELKOVÝ OBSAH KYSELIN

1. DEFINICE

Celkový obsah kyselin vína je součet titrovatelných kyselin, titrovaných do pH 7 odměrným alkalickým roztokem.

V celkovém obsahu kyselin není zahrnut oxid uhličitý.

2. PRINCIP METODY

Potenciometrická titrace nebo Titrace s bromothymolovou modří jako indikátorem a porovnání s barevným standardem koncového bodu.

3. ČINIDLA

3.1 Tlumivý roztok pH 7,0

— Dihydrogenfosforečnan draselný (KH_2PO_4)	107 g
— 1 M roztok hydroxidu sodného (NaOH)	500 ml
— voda do	1 000 ml

Rovněž mohou být použity tlumivé roztoky běžné v obchodní síti.

3.2 0,1 M roztok hydroxidu sodného.

3.3 Roztok indikátoru bromothymolová modř 4g/l

— bromothymolová modř ($\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{Br}_2\text{O}_5\text{S}$)	4 g
— neutrální ethanol, 96 % obj.	200 ml
Rozpusťte a přidejte:	
— vodu bez CO_2	200 ml
— 1 M roztoku hydroxidu sodného postačujícího ke vzniku modrozelené barvy (pH 7)	přibližně 7,5 ml
— voda do	1 000 ml.

4. VYBAVENÍ

4.1 Vodní vývěva.

4.2 Odsávací baňka o objemu 500 ml.

4.3 Potenciometr se stupnicí v pH hodnotách a elektrody. Skleněná elektroda se musí uchovávat v destilované vodě. Kalomelová elektroda s nasyceným chloridem draselným se musí uchovávat v nasyceném roztoku chloridu draselného. Nejčastěji se používá kombinovaná elektroda; je třeba ji uchovávat v destilované vodě.

4.4 Odměrné válce o objemu 50 ml (víno), 100 ml (rektifikovaný moštový koncentrát).

5. POSTUP

5.1 Příprava vzorku:

5.1.1 Vína

Odstranění oxidu uhličitého. Do odsávací baňky dejte asi 50 ml vína. Vodní vývěvou udržujte v baňce za neustálého protřepávání vakuum po dobu jedné nebo dvou minut.

5.1.2 *Rektifikované moštové koncentráty*

Zaveďte 200 g přesně odváženého rektifikovaného moštového koncentrátu, Doplňte vodu ke značce 500 ml. Zamíchejte.

5.2 **Potenciometrická titrace****5.2.1** *Kalibrace pH-metru.*

Podle pokynů výrobce se pH-metr nyní kalibruje pro použití při 20 °C tlumivým roztokem pH 7,00 při 20 °C.

5.2.2 *Metoda měření*

Do odměrného válce (4.4) dejte vzorek připravený podle popisu v 5.1 o objemu 10 ml v případě vína a 50 ml v případě rektifikovaného moštového koncentrátu. Přidejte asi 10 ml destilované vody a pak přidávejte z byřety 0,1M roztok hydroxidu sodného, dokud se pH při 20 °C nerovná 7. Hydroxid sodný se musí přidávat pomalu a roztok se musí neustále míchat. Necht' *n* je objem přidaného 0,1M NaOH v ml.

5.3 **Titrace na indikátor** (bromothymolová modř)**5.3.1** *Předběžná zkouška: stanovení barvy koncového bodu*

Do odměrného válce (4.4) dejte 25 ml převařené destilované vody, 1 ml roztoku bromothymolové modři (3.3) a vzorek připravený podle (5.1) o objemu 10 ml v případě vína a 50 ml v případě rektifikovaného moštového koncentrátu. Přidávejte 0,1M roztok hydroxidu sodného (3.2), dokud se barva nezmění na modrozelenou. Pak přidejte 5 ml tlumivého roztoku pH 7 (3.7).

5.3.2 *Měření*

Do odměrného válce (4.4) dejte 30 ml převařené destilované vody, 1 ml roztoku bromothymolové modři (3.3) a vzorek připravený podle (5.1) o objemu 10 ml v případě vína a 50 ml v případě rektifikovaného moštového koncentrátu. Přidávejte 0,1M roztok hydroxidu sodného (3.2), dokud není dosaženo stejné barvy jako v předběžné zkoušce (5.3.1). Necht' *n* je objem přidaného 0,1M hydroxidu sodného v ml.

6. **VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ****6.1** **Metoda výpočtu****6.1.1** *Vína*

Celkový obsah kyselin vyjádřený v miliekvivalentech na litr je dán vztahem:

$$A = 10 n.$$

Zaznamenává se na jedno desetinné místo.

Celkový obsah kyselin vyjádřený v gramech kyseliny vinné na litr je dán vztahem:

$$A = 0,075 A.$$

Zaznamenává se na jedno desetinné místo.

6.1.2 *Rektifikované moštové koncentráty*

— Celkový obsah kyselin vyjádřený v miliekvivalentech na kilogram rektifikovaného moštového koncentrátu je dán vztahem $a = 5 n$.

— Celkový obsah kyselin vyjádřený v miliekvivalentech na kilogram celkových cukrů je dán vztahem

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

P = celkový obsah cukrů v % (hmotnostních).
Zaznamenává se na jedno desetinné místo.

6.2 **Opakovatelnost** (r) pro titraci s indikátorem:

$r = 0,9$ meq/litr

$r = 0,07$ g kyseliny vinné/litr

pro bílá, růžová a červená vína.

6.3 **Reprodukovatelnost** (R) pro titraci s indikátorem (5.3):

Pro bílá a růžová vína:

$R = 3,6$ meq/litr

$R = 0,3$ g kyseliny vinné/litr.

Pro červená vína

$R = 5,1$ meq/litr

$R = 0,4$ g kyseliny vinné/litr.

14. STANOVENÍ TĚKAVÝCH KYSELIN

1. DEFINICE

Těkavé kyseliny jsou tvořeny přítomnými mastnými kyselinami, zejména kyselinou octovou volně nebo ve formě soli.

2. PRINCIP METODY

Titrace těkavých kyselin oddělených od vína destilací s vodní párou a titrace destilátu.

Z vína se nejprve odstraní oxid uhličitý.

Od obsahu těkavých kyselin se odečte obsah volné a vázané kyseliny siřičité destilované za těchto podmínek.

Rovněž je třeba odečíst obsah kyseliny sorbové případně přidané k vínu.

Poznámka:

V destilátu je přítomna část kyseliny salicylové používané v některých zemích ke stabilizaci vína před rozborem. Tu je třeba stanovit a od obsahu kyselin odečíst. Metoda stanovení je uvedena v bodu 7 této kapitoly.

3. ČINIDLA

3.1 Krystalická kyselina vinná ($C_4H_6O_6$).

3.2 0,1 M roztok hydroxidu sodného (NaOH).

3.3 1 % roztok fenoltaleinu v neutrálním alkoholu 96 % obj.

3.4 Kyselina chlorovodíková ($\rho_{20} = 1,18$ až $1,19$ g/ml) zředěná 1:4 (objemově).

3.5 0,005M roztok jódu (I_2).

3.6 Krystalický jodid draselný (KI).

3.7 Roztok škrobu 5 g/l.

Smíchejte 5 g škrobu s asi 500 ml vody. Za stálého míchání přiveďte k varu a vařte po dobu 10 minut. Přidejte 200 g chloridu sodného. Po zchlazení doplňte na 1 litr.

3.8 Nasycený roztok boritanu sodného ($Na_2B_4O_7 \times 10 H_2O$), tj. asi 55 g/l při 20 °C.

4. VYBAVENÍ

4.1 Aparatura na destilaci s vodní párou, která se skládá z

1. generátoru páry; pára musí být bez oxidu uhličitého;
2. baňky s parní trubicí;
3. destilační kolony;
4. chladiče.

Toto zařízení musí projít následujícími třemi zkouškami:

- a) Do baňky dejte 20 ml převařené vody. Zachyťte 250 ml destilátu a přidejte k němu 0,1 ml 0,1M roztoku hydroxidu sodného (3.2) a dvě kapky roztoku fenoltaleinu (3.3). Růžové zbarvení musí být stabilní alespoň po dobu 10 sekund (tj. pára bez oxidu uhličitého).
- b) Do baňky dejte 20 ml 0,1M roztoku kyseliny octové. Zachyťte 250 ml destilátu. Titrujte 0,1M roztokem hydroxidu sodného (3.2); objem použitého roztoku musí být alespoň 19,9 ml (tj. alespoň 99,5 % kyseliny octové zachycené v páře).

- c) Do baňky dejte 20 ml 1M roztoku kyseliny mléčné. Zachyťte 250 ml destilátu a kyselinu titrujte 0,1M roztokem hydroxidu sodného (3.2).

Objem přidaného roztoku hydroxidu sodného musí být nejvýše 1,0 ml (tj. nedeštiluje se více než 0,5 % kyseliny mléčné).

Jakákoli vybavení nebo postup, které projdou úspěšně těmito zkouškami, jsou uznány za úřední mezinárodní vybavení nebo úřední mezinárodní postup.

4.2 Vodní vývěva

4.3 Odsávací baňka

5. POSTUP

5.1 **Příprava vzorku:** odstranění oxidu uhličitého. Do odsávací baňky dejte asi 50 ml vína. Vývěvou udržujte v baňce za neustálého protřepávání vakuum po dobu jedné nebo dvou minut.

5.2 **Destilace s vodní parou**

Do baňky dejte 20 ml vína zbaveného oxidu uhličitého. Přidejte asi 0,5 g kyseliny vinné (3.1). Zachyťte alespoň 250 ml destilátu.

5.3 **Titrace**

Titrujte 0,1M roztokem hydroxidu sodného (3.2), jako indikátor použijte dvě kapky fenolftaleinu (3.3). Necht' n ml je množství použitého hydroxidu sodného.

Přidejte čtyři kapky kyseliny chlorovodíkové zředěné 1:4 (3.4), 2 ml roztoku škrobu (3.3) a několik krystalů jodidu draselného (3.6). Titrujte volný oxid siřičitý 0,005M roztokem jódu (3.5). Necht' n ml je použitý objem.

Přidávejte nasycený roztok boritanu sodného (3.8), dokud se znovu neobjeví růžové zbarvení. Titrujte vázaný oxid siřičitý 0,005M roztokem jódu (3.5). Necht' n ml je použitý objem.

6. VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ

6.1 **Metoda výpočtu**

Obsah těkavých kyselin vyjádřený v miliekvivalentech kyseliny octové na litr na jedno desetinné místo je dán vztahem

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

Obsah těkavých kyselin v gramech kyseliny octové na litr na dvě desetinná místa je dán vztahem:

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

6.2 **Opakovatelnost (r)**

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

$$r = 0,04 \text{ g kyseliny octové/litr}$$

6.3 **Reprodukovatelnost (R)**

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

$$R = 0,08 \text{ g kyseliny octové/litr}$$

6.4 Víno s přídavkem kyseliny sorbové

Protože 96 % kyseliny sorbové se destiluje s párou při objemu destilátu 250 ml, je nutné obsah kyseliny sorbové odečíst od obsahu těkavých kyselin s tím, že 100 mg kyseliny sorbové odpovídá obsahu kyselin 0,89 miliekvivalentů nebo 0,053 g kyseliny octové, přičemž obsah kyseliny sorbové v mg/l se stanoví jinými metodami.

7 STANOVENÍ KYSELINY SALICYLOVÉ V DESTILÁTU TĚKAVÝCH KYSELIN**7.1 Princip**

Po stanovení obsahu těkavých kyselin a opravě s ohledem na oxid siřičitý je přítomnost kyseliny salicylové indikována po okyselení fialovým zabarvením, které se objeví po přidání železitě soli.

Stanovení kyseliny salicylové v destilátu těkavých kyselin se provede na druhém destilátu, který má stejný objem jako destilát, na kterém se provádělo stanovení obsahu těkavých kyselin. V tomto destilátu se kyselina salicylová stanoví srovnávací kolorimetrickou metodou. Odečítá se od destilátu těkavých kyselin.

7.2 Činidla

7.2.1 Kyselina chlorovodíková (HCl) ($\rho_{20} = 1,18$ až $1,19$ g/l).

7.2.2 Thiosíran sodný ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) v 0,1M roztoku.

7.2.3 10 % roztok (hmotnost/objem) síranu železito-amonného ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \times (\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4 \times 24 \text{H}_2\text{O}$).

7.2.4 0,01M roztok salicylanu sodného.

Roztok obsahující 1,60 g/l salicylanu sodného ($\text{NaC}_7\text{H}_5\text{O}_3$).

7.3 Postup**7.3.1 Určení kyseliny salicylové v destilátu těkavých kyselin**

Íhned po stanovení obsahu těkavých kyselin a opravě na volný a vázaný oxid siřičitý dejte do Erlenmeyerovy baňky 0,5 ml kyseliny chlorovodíkové (7.2.1), 3 ml 0,1M roztoku thiosíranu sodného (7.2.2) a 1 ml roztoku síranu železito-amonného (7.2.3).

Pokud je přítomna kyselina salicylová, objeví se fialové zbarvení.

7.3.2 Stanovení kyseliny salicylové

Na výše uvedené Erlenmeyerově baňce vyznačte objem destilátu (referenční značka). Baňku vyprázdněte a vypláchněte.

Nový zkušební vzorek 20 ml vína podrobte destilaci s vodní párou a destilát zachycujte v Erlenmeyerově baňce až k referenční značce. Přidejte 0,3 ml čisté kyseliny chlorovodíkové (7.2.1) a 1 ml roztoku síranu železito-amonného (7.2.3). Obsah Erlenmeyerovy baňky zřídloví.

Do Erlenmeyerovy baňky shodné s baňkou, na které je referenční značka, nalijte destilovanou vodu do stejné úrovně, jako destilát. Přidejte 0,3 ml čisté kyseliny chlorovodíkové (7.2.1) a 1 ml roztoku síranu železito-amonného (7.2.3). Z byrety přidávejte 0,01M roztok salicylanu sodného (7.2.4), až získané fialové zbarvení má stejnou intenzitu jako zbarvení v kuželové baňce obsahující destilát vína.

Nechť n ml je objem roztoku přidaného z byrety.

7.3.3 *Korekce obsahu těkavých kyselin*

Objem $0,1 \times n''$ ml odečtěte od objemu 0,1M roztoku hydroxidu sodného použitého k titraci kyselin destilátu během stanovení obsahu těkavých kyselin.

15. STANOVENÍ NETĚKAVÝCH KYSELIN

1. PRINCIP

Obsah netěkavých kyselin se stanoví z rozdílu mezi celkovým obsahem kyselin a obsahem těkavých kyselin.

2. VYJÁDRĚNÍ VÝSLEDKŮ

Obsah netěkavých kyselin se vyjadřuje v

- miliekvivalentech na litr,
- gramech kyseliny vinné na litr.

16. KYSELINA VINNÁ

1. PRINCIP METOD

1.1 Referenční metoda

Kyselina vinná se sráží ve formě ($\pm$)-vinanu vápenatého a stanoví se gravimetricky. Toto stanovení může být doplněno pro srovnání odměrnou metodou. Podmínky pro srážení (pH, celkový použitý objem, koncentrace srážejících se iontů) jsou takové že srážení ($\pm$)-vinanu vápenatého je úplné, zatímco v roztoku zůstává D(-)-vinan vápenatý.

Je-li k vínu přidána kyselina mesovinná, což způsobuje, že srážení ($\pm$)-vinanu vápenatého je neúplné, je třeba ji nejprve hydrolyzovat.

1.2 Obvyklá metoda

Kyselina vinná oddělená pomocí anexové kolony se v eluátu stanovuje kolorimetricky změřením červené barvy vytvořené reakcí s kyselinou vanadičnou. Eluát obsahuje rovněž kyselinu mléčnou a kyselinu jablečnou, které nejsou na závadu.

2. REFERENČNÍ METODA

2.1 Gravimetrická metoda

2.1.1 Činidla

2.1.1.1 Roztok octanu vápenatého obsahující 10 g vápníku na litr:

uhličitan vápenatý (CaCO_3)	25 g
ledová kyselina octová (CH_3COOH) ($\rho_{20} = 1,05 \text{ g/ml}$)	40 ml
doplnit vodou na	1 litr.

2.1.1.2 ($\pm$)-vinan vápenatý, krystalický: $\text{CaC}_4\text{O}_6\text{H}_4 \times 4 \text{ H}_2\text{O}$.

Do kádinky o objemu 400 ml dejte 20 ml roztoku kyseliny L(+)-vinné (5 g/l). Přidejte 20 ml roztoku D(-)-vinanu amonného (6,126 g/l) a 6 ml roztoku octanu vápenatého (obsahujícího 10 g vápníku na litr (2.1.1.1)).

Nechte stát po dobu dvou hodin k vysrážení. Sraženinu shromážděte v kelímku ze slinutého skla o poréznosti stupně 4 a třikrát ji vypláchněte asi 30 ml destilované vody. Vysoušejte až do konstantní hmotnosti v sušárně při teplotě 70 °C. Pomocí výše uvedeného množství činidel se získá asi 340 mg krystalického ($\pm$)-vinanu vápenatého.

Uchovávejte v zazátkované láhvi.

2.1.1.3 Srážecí roztok (pH 4,75)

— kyselina D(–)-vinná	122 mg
— 25 % (obj.) roztok hydroxidu amonného ($\rho_{20}=0,97$ g/ml) ...	0,3 ml
— roztok octanu vápenatého (10 g vápníku/litr)	8,8 ml
— doplnit vodou na	1 000 ml

Rozpusťte kyselinu D(–)-vinnou, přidejte hydroxid amonný a doplňte asi na 900 ml; přidejte 8,8 ml roztoku octanu vápenatého (2.1.1), doplňte na jeden litr a upravte pH kyselinou octovou na 4,75. Protože je (±)-vinan vápenatý v tomto roztoku mírně rozpustný, přidejte 5 mg (±)-vinanu vápenatého na litr, míchejte po dobu 12 hodin a přefiltrujte.

2.1.2 *Postup*

2.1.2.1 Vína bez přídavku kyseliny mesovinné

Do kádinky o objemu 600 ml dejte 500 ml srážecího roztoku a 10 ml vína. Promíchejte a třením stěny nádoby špičkou skleněné tyčinky vyvolejte proces srážení. Nechte srážet po dobu 12 hodin (přes noc).

Kapalinu a sraženinu přefiltrujte přes kelímek ze slinutého skla o poréznosti stupně 4 upevněný na čisté odsávací baňce. Nádobku, ve které došlo ke srážení, vypláchněte filtrátem, aby bylo zaručeno, že byla převedena veškerá sraženina.

Vysoušejte do konstantní hmotnosti v sušárně při 70 °C. Necht' p je hmotnost získaného krystalického (±)-vinanu vápenatého ($\text{CaC}_4\text{O}_6\text{H}_4 \times 4 \text{H}_2\text{O}$).

2.1.2.2 Vína s přídavkem kyseliny mesovinné

Při rozboru vín, do kterých byla nebo mohla být přidána kyselina mesovinná, proveďte nejdříve její hydrolýzu tímto způsobem:

Do kuželové baňky o objemu 50 ml nalijte 10 ml vína a 0,4 ml ledové kyseliny octové (CH_3COOH , $\rho_{20} = 1,05$ g/ml). Na horní část nádoby vložte zpětný chladič a vařte po dobu 30 minut. Nechte zchladnout a pak do kádinky o objemu 600 ml přemístěte roztok z kuželové baňky. Baňku dvakrát vypláchněte pokaždé 5 ml vody a pak pokračujte podle popisu výše.

Kyselina mesovinná je započítána a obsažena v konečném výsledku jako kyselina vinná.

2.1.3 *Vyjádření výsledků*

Jedna molekula (±)-vinanu vápenatého odpovídá polovině molekuly kyseliny L(+)-vinné ve víně.

Množství kyseliny vinné na litr vína vyjádřené v miliekvivalentech se rovná 384,5 p.

Udává se na jedno desetinné místo.

Množství kyseliny vinné na litr vína vyjádřené v gramech kyseliny vinné se rovná 28,84 p.

Udává se na jedno desetinné místo.

Množství kyseliny vinné ve víně vyjádřené v gramech vinanu draselného se rovná 36,15 p.

Udává se na jedno desetinné místo.

2.2 Srovnávací stanovení objemu

2.2.1 Činidla

2.2.1.1 Kyselina chlorovodíková (HCl) (1:5 objemově) ($p_{20} = 1,18 - 1,19$ g/ml)

2.2.1.2 Roztok EDTA, 0,05M

EDTA (dvojsodná sůl kyseliny ethylendiaminotetraoctové):

(C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₈ Na ₂ × 2H ₂ O)	18,61 g
doplnit destilovanou vodou na	1 000 ml

2.2.1.3. Roztok hydroxidu sodného, 40 % (hmotnost/objem)

hydroxid sodný	40 g
doplnit destilovanou vodou na	100 ml

2.2.1.4. Komplexometrický indikátor: 1 % (hmotnostní)

kyselina 2-hydroxy-1-(2-hydroxy-4-sulfo-1-naftylázo)-3-naftolová (C ₂₁ H ₁₄ N ₂ O ₇ S × 3H ₂ O)	1 g
bezvodý síran sodný (Na ₂ SO ₄)	100 g

2.2.2. Postup

Po zvážení vyměňte kelímek ze slinutého skla obsahující sraženinu (±)-vinanu vápenatého na odsávací baňce a sraženinu rozpustěte v 10 ml zředěné kyseliny chlorovodíkové (2.2.1.1). Kelímek ze slinutého skla vymyjte 50 ml destilované vody.

Přidejte 5 ml 40 % roztoku hydroxidu sodného (2.2.1.3) a asi 30 mg indikátoru (2.2.1.4). Titrujte s 0,05M EDTA (2.2.1.2). Nechť n je počet použitých ml.

2.2.3 Vyjádření výsledků

Množství kyseliny vinné na litr vína vyjádřené v miliekvivalentech se rovná $5 n$.

Udává se na jedno desetinné místo.

Množství kyseliny vinné na litr vína vyjádřené gramech kyseliny vinné se rovná $0,375 n$.

Udává se na jedno desetinné místo.

Množství kyseliny vinné ve víně vyjádřené v gramech vinanu draselného se rovná $0,470 n$.

Udává se na jedno desetinné místo.

3. OBVYKLÁ METODA

3.1 Činidla

3.1.1 Pro předběžnou úpravu vína

3.1.1.1 Kyselina octová (CH₃COOH) ($p_{20} = 1,05$ g/ml), zředěná 30 % (objemově).

3.1.1.2 Silně zásaditý anex (např. anex III Merck, zrnitosti 20–50 mesh) v octanové formě. Připravte suspenzi přibližně asi 100 g anexu ve 200 ml 30 % kyseliny octové (3.1.1.1). Před použitím nechte stát alespoň po dobu 24 hodin.

Anex uchovejte ve 30 % kyselině octové pro pozdější stanovení.

3.1.1.3 Kyselina octová (CH_3COOH , $\rho_{20} = 1,05 \text{ g/ml}$), zředěná 0,5 % (objemově).

3.1.1.4 Roztok síranu sodného 7,1 g na 100 ml (0,5M)

Rozpusťte 71 g bezvodého síranu sodného (Na_2SO_4) v destilované vodě a doplňte destilovanou vodou na 1 000 ml.

3.1.2 *Pro stanovení kyseliny vinné*

3.1.2.1 Roztok octanu sodného ($\text{CH}_3\text{CO Na}$), 27 % (hmotnost/objem)

Rozpusťte 270 g bezvodého octanu sodného (CH_3COONa) v destilované vodě a doplňte na 1 000 ml.

3.1.2.2 Vanadičnė činidlo

Ve 150 ml 1M roztoku hydroxidu sodného (3.1.2.10) rozpusťte 10 g metavanadičnanu amonného NH_4VO_3 . Tento roztok převeďte do odměrné baňky o objemu 500 ml a přidejte 200 ml 27 % roztoku octanu sodného (3.1.2.1). Doplňte destilovanou vodou na 500 ml.

3.1.2.3 1M roztok H_2SO_4

3.1.2.4 0,5M roztok H_2SO_4

3.1.2.5 0,05M roztok H_2SO_4

3.1.2.6 0,05M roztok kyseliny jodisté

Do odměrné baňky o objemu 1 000 ml dejte 10,696 g jodistanu sodného, NaIO_4 a 50 ml 0,5M kyseliny sírové (3.1.2.4); doplňte destilovanou vodou na 1 000 ml.

3.1.2.7 Roztok glycerolu, 10 % (hmotnost/objem):

Do odměrné baňky o objemu 100 ml dejte 10 g glycerolu, $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$, a doplňte destilovanou vodou na 100 ml.

3.1.2.8 Roztok síranu sodného, 7,1 g na 100 ml (viz 3.1.1.4).

3.1.2.9 Roztok kyseliny vinné, 1 g/l:

Do odměrné baňky o objemu 500 ml dejte 0,5 g kyseliny vinné a 6,66 ml roztoku 1M hydroxidu sodného (3.1.2.10). Doplňte na 500 ml 7,1 % roztokem síranu sodného (3.1.1.4).

3.1.2.10 Roztok hydroxidu sodného, NaOH , 1M.

3.2 Vybavení

3.2.1 Skleněná kolona o vnitřním průměru 10 až 11 mm a přibližně 300 mm dlouhá, osazená vypouštěcím kohoutem.

3.2.2 Spektrofotometr umožňující provádět měření absorbance při vlnové délce 490 nm, s kyvetami o optické dráze 10 mm.

3.3 Postup

3.3.1 *Příprava anexové kolony.*

Do skleněné kolony nad vypouštěcí kohout (3.2.1) dejte zátku ze skelné vaty. Nechte tuto zátku nasáknout destilovanou vodou. Do kolony nalijte 10 ml suspenze anexu voctové formě (3.1.1.2). Nechte usadit. Zátka ze skelné vaty dejte na povrch anexu (aby se zamezilo jejímu promíchání při následném mytí).

Anex lze použít jen pro jednu operaci.

3.3.2 Oddělení organických kyselin

Při otevření kohoutu nechte roztok kyseliny octové vytékat kolonou přibližně do úrovně 2 až 3 mm nad horní zátku ze skelné vaty.

Přidejte 10 ml 0,5 % roztoku kyseliny octové (3.1.1.3) a nechte kapalinu opět vytéci do stejné úrovně jako při předchozí operaci. Tuto vymývací operaci několikrát opakujte.

Po posledním mytí kohout uzavřete a na anex nalijte 10 ml vína nebo moštu. Nechte odkapávat (průměrnou rychlostí jedna kapka za sekundu) a zastavte odkapávání těsně nad anexem. Do kolony přidejte ještě jednou 10 ml 0,5 % roztoku kyseliny octové (3.1.1.3), nechte odkapávat stejnou rychlostí jako dříve a následně sedmkrát propláchněte stejným způsobem, pokaždé s použitím 10 ml vody. Během posledního proplachu kohout uzavřete, jakmile je hladina kapaliny těsně nad horní zátkou ze skelné vaty.

Kyseliny absorbované v anexu vymyjte 7,1 % roztokem síranu sodného (3.1.1.4). Eluát zachyčujte do odměrné baňky o objemu 100 ml až ke kalibrační značce.

3.3.3 Stanovení kyseliny vinné

3.3.3.1 Vína bez přídavku kyseliny mesovinné

Do dvou kuželových baněk *a* a *b* dejte 20 ml eluátu.

Baňku *a* použijte pro stanovení a banku *b*, ve které bude kyselina vinná zničena kyselinou jodistou, pro slepý srovnávací pokus.

Do baňky *a* dejte:

- 2 ml 1M H_2SO_4 (3.1.2.3),
- 5 ml 0,05M H_2SO_4 (3.1.2.5),
- 1 ml 10 % glycerolu (3.1.2.7).

Do baňky *b* dejte:

- 2 ml 1M H_2SO_4 (3.1.2.3),
- 5 ml 0,05M roztoku kyseliny jodisté (3.1.2.6).

Počkejte 15 minut; přidejte

1 ml 10 % glycerolu (3.1.2.7) kvůli rozkladu přebytečné kyseliny jodisté.

Počkejte 2 minuty.

Pak za současného míchání napipetujte 5 ml vanadičného činidla (3.1.2.2) nejdříve do baňky *b* a pak bezprostředně na to do baňky *a*. Spusťte ihned časovací zařízení a obsahy baněk *a* i *b* nalijte do kyvet spektrofotometru. Po 90 sekundách zaznamenejte absorbanci při 490 nm kapaliny z baňky *a* (stanovení) proti kapalině *b* (srovnávací).

Eluáty s velkým obsahem kyseliny vinné, které dávají příliš vysoké absorbance, je třeba zředit 7,1 % síranem sodným a pak změřit stejným způsobem.

3.3.3.2 Vína s přídavkem kyseliny mesovinné

Při provádění rozboru vín, do kterých byla nebo mohla být přidána kyselina mesovinná, postupujte tak, že tuto kyselinu budete nejdříve hydrolyzovat podle popisu pro referenční metodu.

Po zchlazení se obsahy kuželových baněk nalijí do horní části ionexové kolony, po čemž následuje proplach vodou (5 ml, dvakrát). Pokračujte, jak je uvedeno výše.

V konečném výsledku je kyselina mesovinná zahrnuta v kyselině vinné.

3.3.4 Stanovení kalibrační křivky

Do odměrných baněk o objemu 100 ml napipetujte 10, 20, 30, 40 a 50 ml roztoku kyseliny vinné – 1 g/l (3.1.2.9) a doplňte na 100 ml 7,1 % roztokem síranu sodného (3.1.1.4). Koncentrace těchto roztoků odpovídá eluátům vína obsahujícím 1, 2, 3, 4 a 5 g/l kyseliny vinné.

Do dvou kuželových baněk *a* a *b* dejte 20 ml těchto roztoků a pokračujte výše uvedeným postupem pro vinný eluát.

Grafem absorbancí těchto roztoků jako funkce obsahu kyseliny vinné je křivka mírně se zakřívující dovnitř k bodu nula. V případě nutnosti zpřesněte tuto část křivky použitím stanovení na roztocích o přesně známých obsazích menších než 1,0 g/l.

3.3.5 Vyjádření výsledků

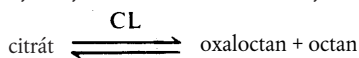
Absorbance změřená pro eluát se zjistí na kalibrační křivce a udává obsah kyseliny vinné ve víně v gramech na litr.

Tento výsledek se vyjadřuje na jedno desetinné místo.

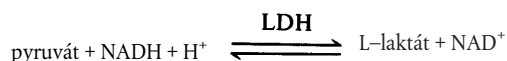
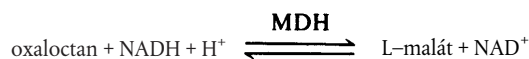
17. KYSELINA CITRÓNOVÁ

1. PRINCIP METODY

Kyseliny citronové se v reakci katalyzované citrát-lyázou (CL) převádí na oxaloctan a octan:



V přítomnosti malát-dehydrogenázy (MDH) a laktát-dehydrogenázy (LDN) se oxaloctan a jeho derivát dekarboxylace, pyruvát, redukováným nikotinamidadeninukleotidem (NADH) redukuje na L-malát a L-laktát.



Množství NADH oxidované v těchto reakcích na NAD^+ je úměrné množství přítomného citrátu. Oxidace NADH se měří výsledným poklesem absorbance při vlnové délce 340 nm.

2. ČINIDLA

2.1 Tlumivý roztok pH 7,8

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

rozpust'ete 7,13 glycylglycinu v přibližně 70 ml dvakrát destilované vody.

Upravte pH na 7,8 přibližně 13 ml 5M roztoku hydroxidu sodného, přidejte 10 ml roztoku chloridu zinečnatého (80 mg ZnCl_2 v 100 ml vody) a doplňte dvakrát destilovanou vodou na 100 ml.

2.2 Roztok redukováného nikotinamidadeninukleotidu (NADH) (přibližně $6 \times 10^{-3}\text{M}$): rozpust'ete 30 mg NADH a 60 mg (NaHCO_3 v 6 ml dvakrát destilované vody.

2.3 Roztok malát-hydrogenázy/laktát-hydrogenázy (MDH/LDH, 0,5 mg MDH/ml, 2,5 mg LDH/ml): smíchejte spolu 0,1 ml MDH (5 mg MDH/ml), 0,4 ml síranu amonného (3,2M) a 0,5 ml LDH (5mg/ml). Tato suspenze zůstává stabilní při teplotě 4 °C alespoň po dobu jednoho roku.

2.4. Citrát-lyáza (CL, 5 mg proteinu/ml): rozpust'ete 168 mg lyofilizátu v 1 ml ledově studené vody. Tento roztok zůstává stabilní při teplotě 4 °C alespoň po dobu jednoho týdne a alespoň po dobu čtyř týdnů, je-li zmrazen.

Doporučuje se před stanovením zkontrolovat aktivitu enzymů.

2.5 Polyvinylpolypyrrolidon (PVPP)

Poznámka: Veškerá výše uvedená činidla jsou k dostání v obchodní síti.

3. VYBAVENÍ

3.1 Spektrofotometr, který dovoluje provádět měření při vlnové délce 340 nm, při které je absorpce NADH na maximální hodnotě.

Není-li to možné, lze použít spektrofotometr se zdrojem nespojitého spektra, který dovoluje provádět měření při 334 nebo 365 nm.

Protože se jedná o měření absolutní absorbance (tj. nepoužívají se kalibrační křivky, ale standardizace se provádí posouzením extinkčního koeficientu NADH), je nutné zkontrolovat rozsahy vlnových délek a spektrální absorbanci aparatury.

3.2 Skleněné kvety s délkami optické dráhy 1 cm nebo kvety na jedno použití.

3.3 Mikropipety pro pipetování objemu v rozsahu 0,02 až 2 ml.

4. PŘÍPRAVA VZORKU

Stanovení citrátu se normálně provádí přímo ve víně bez předchozího odstranění pigmentace (zbarvení) a bez ředění za předpokladu, že obsah kyseliny citronové je menší než 400 mg/l. Pokud tomu tak není, ředte víno, dokud koncentrace citrátu neleží mezi 20 a 400 mg/l (tj. mezi 5 a 80 µg citrátu ve zkušebním vzorku).

U červených vín, které jsou bohaté na fenolové sloučeniny, se doporučuje předběžné ošetření pomocí PVPP:

Utvořte suspenzi asi 0,2 g PVPP ve vodě a nechte 15 minut stát. Přefiltrujte přes skládaný filtr.

Do kuželové baňky o objemu 50 ml dejte 10 ml vína, přidejte vlhký PVPP odebraný z filtru špachtlí. Protřepávejte po dobu dvou až tří minut. Přefiltrujte.

5. POSTUP

Spektrofotometrem nastaveným na vlnovou délku 340 nm stanovte pomocí kyvet o délce 1 cm absorbanci, přičemž použijete vzduch jako (referenční) standard nulové absorpance (žádná kyveta v optické dráze). Do kyvet o délce 1 cm dejte toto:

	Referenční kyveta (ml)	Kyveta se vzorkem (ml)
Roztok 2.1	1,00	1,00
Roztok 2.2	0,10	0,10
Měřený vzorek	–	0,20
Dvakrát destilovaná voda	2,00	1,80
Roztok 2.3.	0,02	0,02

Promíchejte a asi po pěti minutách odečtěte absorbanci roztoků v referenční kyvetě a kyvetě se vzorkem (A_1).

Přidejte

Roztok 2.4.	0,02 ml	0,02 ml
-------------	---------	---------

Promíchejte; počkejte, dokud není reakce ukončena (asi pět minut) a odečtěte absorbanci roztoků v referenční kyvetě a kyvetě se vzorkem (A_2).

Vypočítejte rozdíl v absorbancích ($A_2 - A_1$) pro referenční kyvetu a kyvetu se vzorkem), ΔA_R a ΔA_S .

Nakonec vypočítejte rozdíl mezi těmito rozdíly:

$$\Delta A = \Delta A_S - \Delta A_R$$

Poznámka:

Doba potřebná pro reakci enzymů se může od dávky k dávce měnit. Výše uvedená hodnota je uvedena pouze orientačně a doporučuje se, aby byla stanovena pro každou dávku.

6. VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ

Obsah kyseliny citronové se udává v miligramech na litr na nejbližší celé číslo.

6.1. **Metoda výpočtu**

Obecný vzorec pro výpočet koncentrace v mg/l je:

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

kde V = objem zkušební vzorku v ml (zde 3,14 ml)

v = objem vzorku v ml (zde 0,2 ml)

M = molekulová hmotnost stanovované látky

(zde, pro bezvodou kyselinu citronovou $M = 192,1$)

d = optická dráha v kyvetě v cm (zde 1 cm)

ε = absorpční koeficient NADH (při 340 nm $\varepsilon = 6,3 \text{ mmol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1}$),

takže

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

Pokud byl vzorek během přípravy zředěn, vynásobte výsledek faktorem zředění.

Poznámka:

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

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

6.2 Opakovatelnost (r)

Obsah kyseliny citronové menší než 400 mg/l: $r = 14 \text{ mg/l}$.

Obsah kyseliny citronové větší než 400 mg/l: $r = 28 \text{ mg/l}$.

6.3 Reprodukovatelnost (R)

Obsah kyseliny citronové menší než 400 mg/l: $R = 39 \text{ mg/l}$.

Obsah kyseliny citronové větší než 400 mg/l: $R = 65 \text{ mg/l}$.

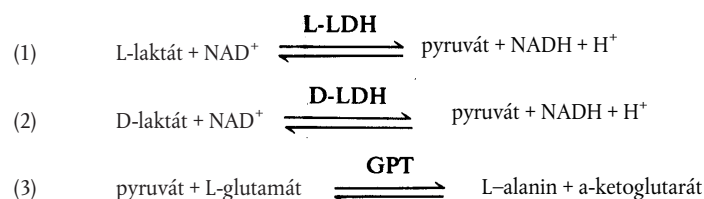
18. KYSELINA MLÉČNÁ

1. PRINCIP METODY

Celkový obsah kyseliny mléčné (L-laktát a D-laktát) se oxiduje nikotinamidadeninukleotidem (NAD) na pyruvát v reakci katalyzované L-laktát-dehydrogenázou (L-LDH) a D-laktát-dehydrogenázou (D-LDH).

Rovnováha reakce je ve prospěch laktátu. Odstraňování pyruvátu z reakční směsi posunuje rovnováhu směrem k tvoření pyruvátu.

V přítomnosti L-glutamátu se pyruvát v reakci katalyzované glutamát-pyruvát-transaminázou (GPT) transformuje na L-alanin:



Množství vytvořeného NADH změřené zvýšením absorbance při vlnové délce 340 nm je úměrné množství původně přítomného laktátu.

Poznámka:

Kyselinu L-mléčnou lze stanovit nezávisle pomocí reakcí (1) a (3), zatímco kyselinu D-mléčnou lze stanovit obdobně pomocí reakcí (2) a (3).

1.2 Obvyklá metoda

Kyselina mléčná oddělená průchodem přes anexovou kolonu se oxiduje na ethanal a stanovuje se kolorimetricky po reakci s nitroprusidem sodným a piperidinem.

2. REFERENČNÍ METODA

2.1 Činidla

2.1.1 Tlumivý roztok, pH 10 (glycylglycin 0,6 mol/l; L-glutamát 0,1 mol/l):

rozpustíte 4,75 g glycylglycinu a 0,88 kyseliny L-glutamové v přibližně 50 ml dvakrát destilované vody; pH upravte na 10 několika ml 10M hydroxidu sodného a doplňte na 60 ml dvakrát destilovanou vodou.

Tento roztok zůstane stabilní při 4 °C po dobu 12 týdnů.

2.1.2 Roztok nikotinamidadeninukleotidu, přibližně 40×10^{-3} M: rozpustíte 900 mg NAD ve 30 ml dvakrát destilované vody. Tento roztok zůstane stabilní při 4 °C po dobu alespoň čtyř týdnů.

2.1.3 Suspenze glutamát-pyruvát-transaminázy (GPT), 20 mg/ml. Suspenze zůstává stabilní při 4 °C po dobu alespoň jednoho roku.

2.1.4 Suspenze L-laktát-dehydrogenázy (L-LDH), 5 mg/ml. Tato suspenze zůstává stabilní při 4 °C po dobu alespoň jednoho roku.

2.1.5 Suspenze D-laktát-dehydrogenázy (D-LDH), 5 mg/ml. Tato suspenze zůstává stabilní při 4 °C po dobu alespoň jednoho roku.

Před stanovením se doporučuje zkontrolovat aktivitu enzymů.

Poznámka: Veškerá činidla jsou k dostání v obchodní síti.

2.2 Vybavení

- 2.2.1 Spektrofotometr, který dovoluje provádět měření při vlnové délce 340 nm, při které je absorpce NADH na maximální hodnotě.

Není-li to možné, může být použit spektrofotometr se zdrojem nespojitého spektra, který dovoluje provádět měření při 334 nebo 365 nm.

Protože se jedná o měření absolutní absorpance (tj. nepoužívají se kalibrační křivky, ale standardizace se provádí posouzením extinkčního koeficientu NADH), je nutné zkontrolovat rozsahy vlnových délek a spektrální absorpance aparatury.

- 2.2.2 Skleněné kyvety s délkami optické dráhy 1 cm nebo kyvety na jedno použití.

- 2.2.3 Mikropipety pro pipetování objemu v rozsahu 0,02 až 2 ml.

2.3 Příprava vzorku

Nedotýkejte se prsty žádné části skla, která přichází do styku s reakční směsí, protože tím by mohlo dojít ke vzniku kyseliny L-mléčné a k chybným výsledkům.

Stanovení laktátu se normálně provádí přímo ve víně, bez předchozího odstranění pigmentace (zabarvení) a bez zředění za předpokladu, že koncentrace kyseliny mléčné je menší než 100 mg/l. Pokud však koncentrace kyseliny mléčné leží mezi:

- 100 mg/l a 1 g/l, nařed'te 1:10 dvakrát destilovanou vodou,
- 1 g/l a 2,5 g/l, nařed'te 1:25 dvakrát destilovanou vodou,
- 2,5 g/l a 5 g/l, nařed'te 1:50 dvakrát destilovanou vodou.

2.4 Postup

- 2.4.1 *Stanovení celkové kyseliny mléčné*

Tlumivý roztok musí mít před měřením teplotu mezi 20 a 25 °C.

Spektrofotometrem nastaveným na vlnovou délku 340 nm stanovte absorpaci pomocí kyvet o optické dráze 1 cm, přičemž použijete vzduch jako (referenční) standard nulové absorpance (žádná kyveta v optické dráze).

Do kyvet o optické dráze 1 cm dejte toto:

	Referenční kyveta (ml)	Kyveta se vzorkem (ml)
Roztok 2.1.1	1,00	1,00
Roztok 2.1.2	0,20	0,20
Dvakrát destilovaná voda	1,00	0,80
Suspenze 2.1.3.	0,02	0,02
Měřený vzorek	–	0,20

Promíchejte pomocí skleněného míchadla nebo tyčinky ze syntetického materiálu se zploštělým koncem; po asi pěti minutách změřte absorpance roztoků v referenční kyvetě a v kyvetě se vzorkem (A_1).

Přidejte 0,02 ml roztoku 2.1.4 a 0,05 ml roztoku 2.1.5, homogenizujte, počkejte na dokončení reakce (asi 30 minut) a změřte absorpance roztoků v referenční kyvetě a kyvetě se vzorkem.

Vypočítejte rozdíly v absorbancích ($A_2 - A_1$) roztoků v referenční kyvetě a kyvetě se vzorkem.

Nakonec vypočítejte rozdíl mezi těmito rozdíly:

$$\Delta A = \Delta A_S - \Delta A_R$$

2.4.2 Stanovení kyseliny L-mléčné a D-mléčné

Stanovení kyselin D-mléčné a L-mléčné se může provádět nezávisle použitím postupu pro celkovou kyselinu mléčnou až do stanovení A_1 a pak se pokračuje takto:

Přidejte 0,02 ml roztoku 2.1.4, homogenizujte, počkejte, až je reakce úplná (asi 20 minut) a změřte absorbance roztoků v referenční kyvetě a kyvetě se vzorkem (A_2).

Přidejte 0,05 ml roztoku 2.1.5, zamíchejte, počkejte, až reakce proběhne (asi 30 minut) a změřte absorbance roztoků v referenční kyvetě a kyvetě se vzorkem (A_3).

Vypočítejte rozdíly ($A_2 - A_1$) pro kyselinu L-mléčnou a ($A_3 - A_2$) pro kyselinu D-mléčnou mezi absorbancemi roztoků v referenční kyvetě a kyvetě se vzorkem.

Nakonec vypočítejte rozdíl mezi těmito rozdíly:

$$\Delta A = \Delta A_S - \Delta A_R$$

Poznámka:

Doba potřebná k reakci enzymů se může měnit od dávky k dávce. Hodnota uvedená výše je udána pouze orientačně a doporučuje se ji stanovit pro každou dávku. Při stanovování samotné kyseliny L-mléčné lze reakční doby snížit na 10 minut.

2.5 Vyjádření výsledků.

Obsah kyseliny mléčné se udává v gramech na litr na jedno desetinné místo.

2.5.1 Metoda výpočtu

Obecný vzorec pro výpočet obsahu v g/l je:

$$C = \frac{V \times M}{\varepsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A$$

kde

V = objem zkušební vzorku v ml ($V = 2,24$ ml pro kyselinu L-mléčnou, $V = 2,29$ ml pro kyselinu D-mléčnou a celkovou kyselinu mléčnou)

v = objem vzorku v ml (zde 0,2 ml)

M = molekulová hmotnost stanovované látky (zde pro kyselinu DL-mléčnou, $M = 90,08$)

d = optická dráha v kyvetě v cm (zde 1 cm)

ε = absorpční koeficient NADH (při 340 nm, $\varepsilon = 6,3 \text{ mmol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1}$).

2.5.1.1 Celková kyselina mléčná a kyselina D-mléčná

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

Pokud byl vzorek během své přípravy zředěn, vynásobte výsledek faktorem zředění.

Poznámka:

Měření při 334 nm: $C = 0,167 \times \Delta A$ ($\varepsilon = 6,2 \text{ mmol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1}$).

Měření při 365 nm: $C = 0,393 \times \Delta A$ ($\varepsilon = 3,4 \text{ mmol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1}$).

2.5.1.2 Kyselina L-mléčná

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

Pokud byl vzorek během přípravy zředěn, vynásobte výsledek faktorem zředění.

Poznámka:

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

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

2.5.2 Opakovatelnost (r)

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

x_i je obsah kyseliny mléčné ve vzorku v g/l.

2.5.3 Reprodukovatelnost (R)

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

x_i je obsah kyseliny mléčné ve vzorku v g/l.

3. OBVYKLÁ METODA

3.1.1 Pro předběžnou úpravu vína

Viz kapitola „Kyselina vinná“, obvyklá metoda, bod 3.1.1.

3.1.2 Pro stanovení kyseliny mléčné

3.1.2.1 0,1M roztok síranu ceričitého v 0,35M kyselině sírové:

Roztok udržujte chladný a rozpustíte 40,431 g síranu ceričitého $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ v 350 ml přesně odměřeného 1M roztoku kyseliny sírové (3.1.2.4). Doplníte destilovanou vodou na 1 000 ml.

3.1.2.2 2,5M roztok hydroxidu sodného (NaOH).

3.1.2.3 Roztok octanu sodného, 270 g na litr (připravený ze suchého octanu sodného, CH_3COONa).3.1.2.4 1M kyselina sírová, H_2SO_4 .3.1.2.5 2 % (hmotnost/objem) roztok nitroprusidu sodného ($\text{Na}_2\text{FeNO}(\text{CN})_5 \times 2\text{H}_2\text{O}$).

Uchovávejte ve tmavé dobře zazátkované láhvi.

Roztok neuchovávejte po dobu delší než osm hodin.

3.1.2.6 10 % (objemově) roztok piperidinu ($\text{C}_3\text{H}_{11}\text{N}$).

3.1.2.7 1M roztok kyseliny mléčné:

100 ml kyseliny mléčné ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$) se rozpustí ve 400 ml vody. Tento roztok se zahřívá v odpařovací misce nad vařící vodou po čtyři hodiny, přičemž se objem příležitostně doplňuje destilovanou vodou. Po zchlazení doplňte na jeden litr. Kyselinu mléčnou titrujte v 10 ml tohoto roztoku 1M roztokem hydroxidu sodného (3.1.2.8). Roztok upravte na 1M kyselinu mléčnou (90 g).

3.1.2.8 1M roztok hydroxidu sodného (NaOH).

3.2 Vybavení

- 3.2.1 Skleněná kolona o vnitřním průměru 10 až 11 mm a přibližně 300 mm dlouhá, vybavená vypouštěcím kohoutem k regulaci průtoku.
- 3.2.2 Vodní lázeň o konstantní teplotě 65 °C.
- 3.2.3 Spektrofotometr, který umožňuje provádět měření při vlnové délce 570 nm s kyvetami o optické dráze 1 cm.

3.3 Postup

3.3.1 Příprava ionexové kolony

Viz kapitolu „Kyselina vinná“, obvyklá metoda, bod 3.3.1.

3.3.2 Oddělení organických kyselin

Viz kapitolu „Kyselina vinná“, obvyklá metoda, bod 3.3.2.

3.3.3 Stanovení kyseliny mléčné

Do skleněné zkumavky se zabroušenou skleněnou zátkou dejte 10 ml eluátu a přidejte 10 ml roztoku síranu ceričitého (3.1.2.1). Zamíchejte: zkumavku vložte do vodní lázně s konstantní teplotou 65 °C na přesně 10 minut. V době ponoření do lázně na několik sekund odstraňte skleněnou zátku, aby se vyrovnalo zvýšení tlaku vzhledem k zahřátí, pak zátku zasuňte tak, aby trubici pevně utěsňovala a zamezila ztrátě jakéhokoli vytvářeného ethanal (acetaldehydu). Zkumavku vyjměte z lázně a ochlaďte ji pod tekoucí vodou na teplotu asi 20 °C. Přidejte 5 ml 2,5M roztoku hydroxidu sodného (3.1.2.2), promíchejte a filtrujte.

Vezměte 15 ml filtrátu a nalijte ho do baňky opatřené zátkou o objemu 50 ml, ve které je již homogenní směs 5 ml 27 % roztoku octanu sodného (3.1.2.3) a 2 ml kyseliny sírové (3.1.2.4). Přidejte 5 ml nitroprusidu sodného (3.1.2.5), promíchejte, pak přidejte 5 ml roztoku piperidinu (3.1.2.6), rychle zamíchejte a tento roztok dejte okamžitě do kyvety spektrofotometru. Vzniklé zbarvení se mění od zelené až po fialovou a měří se při 570 nm proti vzduchu (žádná kyveta v optické dráze); zvyšuje se a pak prudce klesá.

Sledujte odpovídající kolísání absorbance a jako definitivní hodnotu zvolte maximální hodnotu.

Pokud je eluát příliš bohatý na kyselinu mléčnou a absorbance příliš vysoká, zředte jej 7,1 % roztokem síranu sodného (3.1.1) a pokračujte v měření na zředěném roztoku.

3.3.4 Stanovení kalibrační křivky

Do odměrné baňky o objemu 1 000 ml napipetujte 10 ml 1M roztoku kyseliny mléčné (3.1.2.7) a 10 ml titrovaného 1M roztoku hydroxidu sodného (3.1.2.8) a doplňte ke značce 7,1 % roztokem síranu sodného. Vezměte 5, 10, 15, 20 a 25 ml tohoto roztoku a dejte do odměrných baněk o objemu 100 ml. Doplňte k referenční značce 7,1 % roztokem síranu sodného (3.1.1). Vezměte 10 ml každého z výsledných roztoků a stanovte jejich absorbance podle postupu popsaného pro eluát v 3.3.3.

Koncentrace těchto roztoků odpovídají eluátům vína obsahujícím 0,45, 0,9, 1,35, 1,80 a 2,25 g/l kyseliny mléčné.

Grafem absorbancí těchto roztoků jako funkce obsahu kyseliny mléčné je přímka.

3.4 Vyjádření výsledků

Absorbanci změřenou pro eluát lze zjistit na kalibrační křivce a udává obsah kyseliny mléčné ve víně v gramech na litr.

Výsledek se vyjadřuje na jedno desetinné místo.

Poznámka:

Vína obsahující více než 250 mg/l oxidu siřičitého mohou obsahovat kyselinu ethanalsulfonovou, která je zahrnuta v obsahu kyseliny vinné. V tom případě se musí výsledek opravit množstvím daným následující dodatečnou operací: 15 ml eluátu se smíchá v zazátkované zkumavce s 5 ml 27 % octanu sodného (3.1.2.3) a 2 ml 0,775M H₂SO₄ (775 ml 1M H₂SO₄ se doplní na 1000 ml destilovanou vodou). Pak stejně jako u stanovení kyseliny mléčné přidejte 5 ml 2 % nitroprusidu sodného (3.1.2.5) a 5 ml 10 % piperidinu (3.1.1.6). Po promíchání změřte absorbanci za stejných podmínek, jaké byly popsány výše pro stanovení kyseliny mléčné. Tuto absorbanci umístěte na kalibrační křivku, abyste získali zdánlivou hodnotu *B* kyseliny mléčné v gramech na litr s ohledem na kyselinu ethanalsulfonovou. Jestliže *L'* je zdánlivý obsah kyseliny mléčné ve víně v gramech na litr, skutečný obsah *L* kyseliny mléčné je dán vztahem:

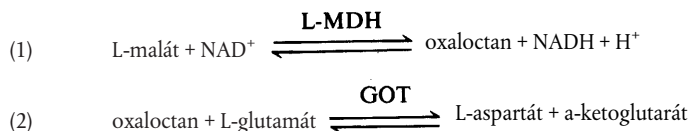
$$L = L' - B \times 0,4 \text{ (g/l)}.$$

19. KYSELINA L — JABLEČNÁ

1. PRINCIP METODY

Kyselina l-jablečná se oxiduje nikotinamidadenindinukleotidem (NAD) na oxaloctan v reakci katalyzované L-malát-dehydrogenázou (L-MDH).

Rovnováha reakce je ve prospěch malátu. Odstraňování oxaloctanu z reakční směsi posunuje rovnováhu směrem ke vzniku oxaloctanu. V přítomnosti L-glutamátu se oxaloctan v reakci katalyzované glutamát-oxaloctan-transaminázou (GOT) transformuje na L-aspartát:



Množství vytvořeného NADH změřené zvýšením absorbance při vlnové délce 340 nm je úměrné množství původně přítomného L-malátu.

2. ČINIDLA

2.1 Tlumivý roztok, pH 10 (glycylglycin 0,6M; L-glutamát 0,1M):

rozpustíte 4,75 g glycylglycinu a 0,88 kyseliny L-glutamové v přibližně 50 ml dvakrát destilované vody; pH upravte na 10 asi 4,6 ml 10M hydroxidu sodného a doplňte na 60 ml dvakrát destilovanou vodou.

Tento roztok zůstane stabilní při 4 °C po dobu alespoň 12 týdnů.

2.2 Roztok nikotinamidadenindinukleotidu, přibližně 47×10^{-3} M:

rozpustíte 420 mg NAD ve 12 ml dvakrát destilované vody. Tento roztok zůstane stabilní při 4 °C po dobu alespoň čtyř týdnů.

2.3 Suspenze glutamát-oxaloctan-transaminázy (GOT), 2 mg/ml. Suspenze zůstává stabilní při 4 °C po dobu alespoň jednoho roku.

2.4 Roztok L-malát-hydrogenázy (L-MDH), 5 mg/ml. Tento roztok zůstává stabilní při 4 °C po dobu alespoň jednoho roku.

Poznámka: Veškerá činidla jsou k dostání v obchodní síti.

3. VYBAVENÍ

3.1 Spektrofotometr, který dovoluje provádět měření při vlnové délce 340 nm, při které je absorpce NADH na maximální hodnotě.

Není-li to možné, lze použít spektrofotometr se zdrojem nespojitého spektra, který dovoluje provádět měření při 334 nebo 365 nm.

Protože se jedná o měření absolutní absorbance (tj. nepoužívají se kalibrační křivky, ale standardizace se provádí posouzením extinkčního koeficientu NADH), je nutné zkontrolovat rozsahy vlnových délek a spektrální absorbanci aparatury.

3.2 Skleněné kyvety s délkami optické dráhy 1 cm nebo kyvety na jedno použití.

3.3 Mikropipety pro pipetování objemu vzorků v rozsahu 0,01 až 2 ml.

4. PŘÍPRAVA VZORKU

Stanovení L-malátu se obecně provádí přímo na víně, bez předchozího odstranění pigmentace (zabarvení) a bez zředění za předpokladu, že obsah kyseliny L-jablečné je menší než 350 mg/l (měřeno při 365

ml/l). Pokud tomu tak není, zředte víno dvakrát destilovanou vodou, dokud obsah L-malátu neleží mezi 30 a 350 mg/l (tj. množství L-malátu ve zkušebním vzorku leží mezi 3 a 35 µg).

Pokud je obsah malátu ve víně menší než 30 mg/l, objem zkušebního vzorku se může zvýšit až na 1 ml. V tom případě se objem přidávané vody sníží takovým způsobem, aby celkové objemy v obou kyvetách byly stejné.

5. POSTUP

Spektrofotometrem nastaveným na vlnovou délku 340 nm stanovte absorbanci pomocí kyvet o optické dráze 1 cm, přičemž použijte vzduch jako (referenční) standard nulové absorpce (žádná kyveta v optické dráze).

Do kyvet o optické dráze 1 cm dejte toto:

	Referenční kyveta (ml)	Kyveta se vzorkem (ml)
Roztok 2.1	1,00	1,00
Roztok 2.2	0,20	0,20
Dvakrát destilovaná voda	1,00	0,90
Suspenze 2.3.	0,01	0,01
Měřený vzorek	–	0,10

Promíchejte; asi po třech minutách změřte absorbance roztoků v referenční kyvetě a v kyvetě se vzorkem (A_1).

Přidejte:

Roztok 2.4	0,01 ml	0,01 ml
------------	---------	---------

Promíchejte; počkejte na dokončení reakce (asi 5 až 10 minut) a změřte absorbanci roztoků v referenční kyvetě a kyvetě se vzorkem (A_2).

Vypočítejte rozdíly v absorbancích ($A_2 - A_1$) roztoků v referenční kyvetě a kyvetě se vzorkem.

Nakonec vypočítejte rozdíl mezi těmito rozdíly: $\Delta A = \Delta A_S - \Delta A_R$

Poznámka:

Doba potřebná pro reakci enzymů může kolísat od dávky k dávce. Výše uvedená hodnota je stanovena jen orientačně a doporučuje se ji stanovit pro každou dávku.

6. VYJÁDRĚNÍ VÝSLEDKŮ

Obsah kyseliny L-jablečné se udává v gramech na litr na jedno desetinné místo.

6.1 Metoda výpočtu

Obecný vzorec pro výpočet obsahu v g/l je:

$$C = \frac{V \times M}{\varepsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A$$

kde

V = objem zkušebního vzorku v ml ($V = 2,22$ ml)

v = objem vzorku v ml (zde 0,1 ml)

M = molekulová hmotnost stanovované látky (zde pro kyselinu L-jablečnou, $M = 134,09$)

d = optická dráha v kyvetě v cm (zde 1 cm)

ε = absorpční koeficient NADH (při 340 nm, $\varepsilon = 6,3 \text{ mmol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1}$),

takže pro L-malát

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

Pokud byl vzorek během své přípravy zředěn, vynásobte výsledek faktorem zředění.

Poznámka:

Měření při 334 nm: $C = 0,482 \times \Delta A$

Měření při 365 nm: $C = 0,876 \times \Delta A$

6.2 **Opakovatelnost (r)**

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

x_i je obsah kyseliny jablečné ve vzorku v g/l.

6.3 **Reprodukovatelnost (R)**

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

x_i je obsah kyseliny jablečné ve vzorku v g/l.

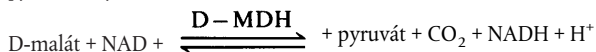
20. KYSELINA D-JABLEČNÁ

(enzymatická metoda)

Zkušební sada pro přibližně 30 stanovení

1. PRINCIP

V přítomnosti dekarboxylu d-malát – dehydrogenázy (D-MDH) se kyselina D-jablečná (D-malát) oxiduje nikotinamidadenin dinukleotidem (NAD) na oxaloctan. Oxaloctan vytvořený v této reakci se štěpí na pyruvát a kyselinu uhličitou.



Množství vytvořeného NADH je úměrné obsahu kyseliny D-jablečné a měří se při vlnové délce 334, 340 nebo 365 nm.

2. ZKUŠEBNÍ SADA OBSAHUJE:

- a) Lahvičku 1 s přibližně 30 ml tlumivého roztoku Hepes 4-(2-hydroxyetyl)-1-piperzeinethan-sulfonové kyseliny), pH = 9,0 a stabilizátory;
- b) lahvičku 2 s přibližně 210 mg NAD-lyofilizátu;
- c) tři lahvičky s D-MDH-lyofilizátem, každá asi 8 U.

2.1 Příprava roztoku

- 2.1.1 Obsah lahvičky 1 použijte nezředěný. Před použitím roztok uveďte na teplotu 20 až 25 °C.
- 2.1.2 Obsah lahvičky 2 rozpustě ve 4 ml redestilované vody. Před použitím roztok uveďte na teplotu 20 až 25 °C.
- 2.1.3 Obsah jedné z lahviček 3 rozpustě v 0,6 ml redestilované vody. Před použitím roztok uveďte na teplotu 20 až 25 °C.

2.2 Stabilita roztoků

Obsah lahvičky 2.1.1 je stabilní po dobu 1 roku, pokud je uložen při + 4 °C.

Roztok 2.1.2. je stabilní po tři týdny, pokud je uložen při + 4 °C a po dva měsíce, je-li uložen při – 20 °C.

Roztok 2.1.3. je stabilní po dobu pěti dní, pokud je uložen při + 4 °C.

3. VYBAVENÍ

- 3.1 Spektrofotometr, který umožňuje měření při vlnové délce 340 nm, při které je absorpce NADH a NADPH na maximální hodnotě.

Pokud není k dispozici, lze použít spektrofotometr se zdrojem nespojitého spektra, který umožňuje provádět měření při 334 nebo 365 nm.
- 3.2 Skleněné kyvety 1 cm (je možné použít kyvety na jedno použití).
- 3.3 Mikropipety: vhodné pro pipetování objemů 0,01 a 2 ml.

4. PŘÍPRAVA VZORKU

Množství kyseliny D-jablečné by mělo být mezi 2 mg a 50 g. Roztok vzorku se proto musí zředit tak, aby dal obsah kyseliny D-jablečné mezi 0,02 a 0,5 g/l respektive 0,02 a 0,3 g/l.

Pokud je rozdíl absorbance $\Delta A < 0,100$, objem vzorku se může zvýšit až na 1,80 ml. Objem přidávané vody se pak musí snížit tak, aby se v obou kyvetách (se vzorkem i referenční) získal stejný objem.

5. POSTUP

Teplota: 20 až 25 °C

Konečný objem: 2,95 ml

Odečítejte proti vzduchu (bez kyvety ve světelné dráze), proti vodě nebo proti referenčnímu vzorku.

Pipetujte do kyvet	referenční	se vzorkem
Roztok 2.1.1	1,00 ml	0,10 ml
Roztok 2.1.2	1,80 ml	1,00 ml
Redestilovaná voda	0,10 ml	1,70 ml
Roztok vzorku	–	0,10 ml
Promíchejte, asi po šesti minutách odečtěte absorbance roztoků (A_1); začněte reakci přidáním		
Roztok 2.1.3	0,05 ml	0,05 ml
Promíchejte, po dokončení reakce (přibližně 20 minut) odečtěte absorbance roztoků (A_2):		

Vypočítejte rozdíly absorbancí ($A_2 - A_1$) roztoků v referenční kyvetě a kyvetě se vzorkem. Nakonec vypočítejte rozdíl mezi těmito rozdíly:

$$\Delta A = \Delta A_S - \Delta A_R$$

6. VYJÁDRĚNÍ VÝSLEDKŮ

Obsah kyseliny D-jablečné se uvádí v g/l na jedno desetinné místo.

6.1 Výpočet

Podle obecného vzorce pro výpočet obsahů platí rovnice

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

kde V = konečný objem (ml)

v = objem vzorku (ml)

M = molekulová hmotnost stanovované látky

d = optická dráha v kyvetě (cm)

ε = absorpční koeficient NADPH při

$$340 \text{ nm} = 6,3 (\text{mmol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1})$$

$$\text{Hg } 365 \text{ nm} = 3,4 (\text{mmol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1})$$

$$\text{Hg } 334 \text{ nm} = 6,18 (\text{mmol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1})$$

Pro kyselinu D-jablečnou vyplývá:

$$C = \frac{2,95 \times 134,09 \times \Delta A}{\varepsilon \times 1 \times 0,1 \times 1000} = \frac{3,956}{\varepsilon} \times \Delta A (\text{g kyseliny D - jableč. / vzorek})$$

Pokud bylo během přípravy vzorku provedeno zředění, musí se výsledek vynásobit faktorem zředění F .

6.2 **Reprodukovatelnost (r)**

$$r = 0,05 x_i$$

x_i = obsah kyseliny D-jablečné v g/l.

6.3 **Reprodukovatelnost (R)**

$$R = 0,1 x_i$$

x_i = obsah kyseliny D-jablečné v g/l.

21. CELKOVÁ KYSELINA JABLEČNÁ**1. PRINCIP**

Kyselina jablečná oddělená pomocí anexové kolony se určuje kolorimetricky v eluátu změřením žlutého zabarvení, které vytváří s kyselinou chromotropovou v přítomnosti koncentrované kyseliny sírové. Korekce na rušivé látky se provádí odečtením absorpance získané pomocí 86 % kyseliny sírové a kyseliny chromotropové (kyselina jablečná při těchto koncentracích kyselin nereaguje) od absorpance získané z použití kyselin o koncentraci 96 %.

2. VYBAVENÍ

- 2.1 Skleněná kolona přibližně 250 mm dlouhá a o vnitřním průměru 35 mm, vybavená vypouštěcím kohoutem.
- 2.2 Skleněná kolona přibližně 300 mm dlouhá a o vnitřním průměru 10 až 11 mm, vybavená vypouštěcím kohoutem.
- 2.3 Varná vodní lázeň.
- 2.4 Spektrofotometr nastavený na měření absorpance při 420 nm, pomocí kyvet o délce 10 mm.

3. ČINIDLA

- 3.1 Silně zásaditý anex (např. Merck III).
- 3.2 Hydroxid sodný 5 % (hmotnost/objem).
- 3.3 Kyselina octová 30 % (hmotnost/objem).
- 3.4 Kyselina octová 0,5 % (hmotnost/objem).
- 3.5 Roztok síranu sodného 10 % (hmotnost/objem).
- 3.6 Koncentrovaná kyselina sírová 95 až 97 % (hmotn.).
- 3.7 Kyselina sírová 86 % (hmotn.).
- 3.8 Kyselina chromotropová 5 % (hmotnost/objem)

Před každým stanovováním připravte čerstvý roztok rozpuštěním 50 mg chromotropanu sodného ($C_{10}H_6Na_2O_8S_2 \times 2H_2O$) v 10 ml destilované vody.

- 3.9 Roztok kyseliny DL-jablečné 0,5 g/l.

Rozpusťte 250 mg kyseliny jablečné ($C_4H_6O_5$) v roztoku síranu sodného (10 %), doplňte na 500 ml roztokem síranu sodného (10 %) (3.5).

4. POSTUP**4.1 Příprava ionexu**

Na dno kolony (35 × 250 mm) nad kohout vložte zátku z vaty napuštěné destilovanou vodou. Do skleněné kolony nalijte suspenzi ionexu. Hladina kapaliny by měla být

50 mm nad vrchní částí pryskyřice. Vypláchněte 1 000 ml destilované vody. Kolonu vymyjte roztokem hydroxidu sodného (5 %), nechte odtéci 2 až 3 mm od horního okraje ionexu, opakujte se dvěma dalšími proplachy hydroxidem sodným (5 %) a nechte jednu hodinu v klidu. Kolonu vymyjte 1 000 ml destilované vody. Naplňte kolonu kyselinou octovou (30 %), nechte odtéci 2 až 3 mm od horního okraje sloupce a opakujte s dalšími dvěma proplachy kyselinou octovou. (30 %). Nechte stát před použitím alespoň 24 hodin. Ionex uchovávejte v kyselině octové (30 %) pro další rozbor.

4.2 Příprava ionexové kolony

Na dno kolony (11 × 300 mm) nad kohout vložte zátku ze skelné vaty. Do skleněné kolony nalijte suspenzi ionexu (připravené podle 4.1) do výšky 10 cm. Otevřete kohoutek a roztok kyseliny octové (30 %) nechte odtéci 2 nebo 3 mm od horní části ionexu. Vypláchněte množstvím 50 ml kyseliny octové (0,5 %).

4.3 Oddělení kyseliny DL-jablečné

Do kolony (připravené podle 4.2) nalijte 10 ml vína nebo moštu. Nechte odkapávat po kapkách (průměrná rychlost jedna kapka za sekundu) a zastavte průtok 2 až 3 mm od horní části ionexu. Kolonu vymyjte 50 ml kyseliny octové (0,5 %), pak 50 ml destilované vody, a nechte odtékat stejnou rychlostí jako dříve; průtok zastavte 2 až 3 mm od horní části ionexu.

Kyseliny absorbované v ionexu vymyjte 10 % roztokem síranu sodného (3.5). Eluát zachyťte do odměrné baňky o objemu 100 ml.

Kolonu je možno regenerovat postupem popsáním v bodu 4.1.

4.4 Stanovení kyseliny jablečné

Označte dvě zkumavky (se zátkami ze zabroušeného skla) o objemu 30 ml se širokým hrdlem jako A a B. Do každé zkumavky přidejte 1,0 ml eluátu (4.3) a 1 ml kyseliny chromotropové (5 %). Do zkumavky A přidejte 10 ml kyseliny sírové (86 %) (referenční) a do zkumavky B dejte 10 ml kyseliny sírové (96 %) (vzorek). Zazátkujte a protřepáním zhomogenizujte; dávejte pozor, abyste skleněnou zátku nenavlhčili. Zkumavky ponořte přesně na 10 minut do varné vodní lázně. Zkumavky ochlazujte v temnu při teplotě 20 °C po dobu přesně 90 minut. Změřte ihned absorbanci relativně vůči referenčnímu vzorku při 420 nm v kyvetě 10 mm.

4.5 Stanovení kalibrační křivky

Do 4 odměrných baněk o objemu 50 ml napipetujte postupně objemové podíly 5,0, 10,0, 15,0 a 20,0 ml roztoku kyseliny DL-jablečné (3.9). Doplněte ke značce roztokem síranu sodného (10 %).

Tyto roztoky odpovídají eluátům získaným z vína obsahujícím 0,5, 1,0, 1,5 a 2,0 g/l kyselina jablečné.

Pokračujte postupem podle bodu 4.4.

Graf absorbancí těchto roztoků jako funkce obsahu kyseliny jablečné představuje přímku procházející počátkem.

Intenzita vzniklé barvy závisí do značné míry na koncentraci použité kyseliny sírové; je nutné zkontrolovat kalibrační křivku alespoň jedním bodem v sérii odečtů pro kontrolu, zda se koncentrace kyseliny sírové nezměnila.

5. VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ

Obsah kyseliny dl-jablečné v g/l se zjistí pomocí hodnoty absorbance změřené u eluátu na kalibrační křivce. Tento obsah se vyjadřuje na jedno desetinné místo.

Opakovatelnost:

Obsah < 2 g/l: $r = 0,1$ g/l.

Obsah > 2 g/l: $r = 0,2$ g/l.

Reprodukovatelnost:

$R = 0,3$ g/l.

22. KYSELINA SORBOVÁ**1. PRINCIP METOD****1.1 Stanovení ultrafialovou absorpční spektrofotometrií**

Kyselina sorbová (*trans, trans*, kyselina 2,4-hexadienová) extrahovaná destilací s vodní párou se ve vinném destilátu stanovuje ultrafialovou absorpční spektrofotometrií. Látky, které v ultrafialové části interferují, se odstraňují odpařováním do sucha pomocí lehce alkalického hydroxidu vápenatého. Chromatografie na tenké vrstvě se používá pro potvrzení hladin (1 mg/l) menších než 20 mg/l.

1.2 Stanovení plynovou chromatografií

Kyselina sorbová extrahovaná v ethyletheru se stanoví plynovou chromatografií s vnitřním standardem.

1.3 Určení stop chromatografií na tenké vrstvě

Kyselina sorbová extrahovaná v ethyletheru se odděluje chromatografií na tenké vrstvě a její koncentrace se určuje semikvantitativně.

2. STANOVENÍ ULTRAFIALOVOU ABSORPČNÍ SPEKTROFOTOMETRIÍ**2.1 Činidla**

2.1.1 Krystalická kyselina vinná ($C_4H_6O_6$).

2.1.2 Roztok hydroxidu vápenatého $Ca(OH)_2$, přibližně 0,02M.

2.1.3 Referenční roztok kyseliny sorbové, 20 mg/l.

Rozpusťte 20 mg kyseliny sorbové, ($C_6H_8O_2$), přibližně ve 2 ml 0,1M roztoku hydroxidu sodného. Nalijte do odměrné baňky o objemu 1 000 ml a doplňte ke značce vodou. Je také možné rozpustit 26,8 mg sorbátu draselného, ($C_6H_7KO_2$), ve vodě a doplnit vodou na 1 000 ml.

2.2 Vybavení

2.2.1 Vybavení pro destilaci s vodní parou (viz kapitola „Stanovení těkavých kyselin“).

2.2.2 Vodní lázeň při 100 °C.

2.2.3 Spektrofotometr umožňující měřit absorbance při vlnové délce 256 nm s křemennou kyvetou a optickou dráhou 1 cm.

2.3 Postup**2.3.1 Destilace**

Do baňky aparatury na destilaci s vodní párou dejte 10 ml vína a přidejte 1 až 2 g kyseliny vinné (2.1.1). Zachyťte 250 ml destilátu.

2.3.2 Kalibrační křivka

Zředěním referenčního roztoku (2.1.3) připravte čtyři zředěné referenční roztoky o obsahu 0,5, 1,0, 2,5 a 5 mg kyseliny sorbové na litr. Změřte jejich absorbance spektrofotometrem při 256 nm pomocí desti-

lované vody. Znázorněte závislost udávající hodnoty absorbance jako funkce koncentrace. Závislost je lineární.

2.3.3 Stanovení

Do odpařovací misky o průměru 55 mm dejte 5 ml destilátu, přidejte 1 ml roztoku hydroxidu vápenatého (2.1.2). Odpařujte na vodní lázni až do sucha.

Zbytek rozpustíte v několika ml destilované vody, převedte kvantitativně do odměrné baňky o objemu 20 ml a doplňte výplachovou vodou až ke značce. Změřte absorbanci při 256 nm pomocí spektrofotometru oproti slepému vzorku, který se skládá z roztoku získaného zředěním 1 ml roztoku hydroxidu vápenatého (2.1.2.) vodou na 20 ml.

Hodnotu změřené absorbance znázorněte na kalibrační křivce a odtud zjistíte obsah C kyseliny sorbové v roztoku.

Poznámka:

V této metodě je možné zanedbat ztrátu následkem odpařování a absorbanci změřit na zpracovávaném destilátu zředěním 1:4 destilovanou vodou.

2.4 Vyjádření výsledků

2.4.1 Výpočet

Obsah kyseliny sorbové ve víně vyjádřený v mg na litr se udává součinem $100 \times C$,
kde C = obsah kyseliny sorbové v roztoku analyzovaném spektrofotometrií vyjádřený v mg na litr.

3. STANOVENÍ PLYNOVOU CHROMATOGRAPHIÍ

3.1 Činidla

3.1.1 Ethylether, $(C_2H_5)_2O$, destilovaný těsně před použitím.

3.1.2 Vnitřní referenční roztok: roztok kyseliny undekanové, $C_{11}H_{22}O_2$, v 95 % ethanolu (obj.) o koncentraci 1 g/l.

3.1.3 Vodný roztok kyseliny sírové, H_2SO_4 , ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml) zředěný 1:3 (objemově).

3.2 Vybavení

3.2.1 Plynový chromatograf vybavený plamenovým ionizačním detektorem a kolonou z nerezové oceli (4 m × 6 mm) po předchozí úpravě dimetyldichlorsilanem (DMDCS) a s náplní stacionární fáze skládající se ze směsi dietylglykolsukcinátu (5 %) a kyseliny ortofosforečné (1 %) (DEGS – H_3PO_4) nebo směsi dietylglykoladipátu (7 %) a kyseliny ortofosforečné (1 %) (DEGA – H_3PO_4) vázané na Gaschrom Q o zrnitosti 80-100 mesh.

Úprava kolony pomocí DMDCS – kolonou nechte projít roztok obsahující 2 až 3 mg DMDCS v toluenu. Ihned vymyjte methanolem, pak dusíkem a pak vymyjte hexanem a po něm dalším dusíkem. Nyní je kolona připravena k naplnění.

Provozní podmínky:

Teplota termostatu: 175 °C.

Teplota nástřiku a detektoru: 230 °C.

Nosný plyn: dusík (rychlost průtoku = 200 ml/min).

- 3.2.2 Mikrostříkačka: kapacita 10 µl, odstupňovaná po 0,1 µl.

Poznámka:

Je možné použít další typy kolon, které dávají dobrou separaci, zejména kapilární kolony (např. FFAP). Popsaná pracovní metoda je uvedena jako příklad.

3.3 **Postup**

3.3.1 *Příprava vzorku k rozboru*

Do skleněné zkumavky o objemu přibližně 40 ml se zabroušenou skleněnou zátkou dejte 20 ml vína, přidejte 2 ml vnitřního referenčního roztoku (3.1.2) a 1 ml zředěné kyseliny sírové (3.1.3).

Pro promíchání roztoku opakovaným převrácením zkumavky k jejímu obsahu přidejte 10 ml ethyletheru (3.1.1). Kyselinu sorbovou extrahujte v organické fázi protřepáváním zkumavky po dobu pěti minut. Nechte usadit.

3.3.2 *Příprava referenčního roztoku*

Vyberte víno, pro které chromatogram etherového extraktu nevykazuje žádný pík na úrovni kyseliny sorbové; přidejte k tomuto vínu kyselinou sorbovou při koncentraci 100 mg na litr. Zpracujte 20 ml takto připraveného vzorku postupem podle bodu 3.3.1.

3.3.3 *Chromatografie*

Pomocí mikrostříkačky vstříkněte do chromatografu postupně 2 µl fáze extrakce etheru získané v bodu 3.3.2 a v bodu 3.3.1.

Zaznamenejte příslušné chromatogramy: zkontrolujte totožnost retenčních časů kyseliny sorbové a vnitřního standardu. Změřte výšku (nebo plochu) každého zaznamenaného píku.

3.4 **Vyjádření výsledků**

3.4.1 *Výpočet*

Obsah kyseliny sorbové v analyzovaném víně vyjádřený v mg na litr je dán vztahem:

$$100 \times \frac{h}{H} \times \frac{I}{i}$$

kde

H = výška píku standardního roztoku kyseliny sorbové

h = výška píku zkoušeného roztoku kyseliny sorbové

I = výška píku vnitřního standardu ve standardním roztoku

i = výška píku vnitřního standardu ve zkoušeném roztoku

Poznámka:

Obsah kyseliny sorbové je možné stanovit stejným způsobem z měření ploch pod příslušnými píky.

4. STANOVENÍ STOP KYSELINY SORBOVÉ CHROMATOGRAPHIÍ NA TENKÉ VRSTVĚ

4.1 Činidla

4.1.1 Ethylether, $(C_2H_5)_2O$.

4.1.2 Vodný roztok kyseliny sírové, H_2SO_4 ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml), zředěný 1:3 (objemově).

4.1.3 Referenční roztok kyseliny sorbové v přibližně 10 % směsi ethanol/voda (obj.) s obsahem 20 mg na litr.

4.1.4 Mobilní fáze: hexan-pentan-kyselina octová (20:20:3) (C_6H_{14} / C_5H_{12} / CH_3COOH , $\rho_{20} = 1,05$ g/ml).

4.2 Vybavení

4.2.1 Předem potažené desky 20×20 cm pro chromatografii na tenké vrstvě potažené polyamidovým gelem (o tloušťce 0,15 mm) s přídavkem fluorescenčního indikátoru.

4.2.2 Nádoba pro chromatografii na tenké vrstvě.

4.2.3 Mikropipeta nebo mikrostříkačka pro doplnění objemů 5 μ l s přesností $\pm 0,1$ μ l.

4.2.4 Ultrafialová lampa (254 nm).

4.3 Postup

4.3.1 Příprava vzorku k rozboru

Do skleněné zkumavky o objemu přibližně 25 ml se zabroušenou skleněnou zátkou dejte 10 ml vína, přidejte 1 ml zředěné kyseliny sírové (4.1.2) a 5 ml ethyletheru (4.1.1). Promíchejte opakovaným obracením zkumavky. Nechte usadit.

4.3.2 Příprava zředěného referenčního vzorku

Z roztoku podle 4.1.3 připravte pět zředěných referenčních vzorků obsahujících 2, 4, 6, 8 a 10 mg kyseliny sorbové na litr.

4.3.3 Chromatografie

Pomocí mikrostříkačky nebo mikropipety naneste 5 μ l etherem extrahované fáze získané podle bodu 4.3.1 nebo 5 μ l každého ze zředěných referenčních roztoků (4.3.2) v bodech 2 cm od dolního okraje desky a 2 cm od sebe navzájem.

Mobilní fázi (4.1.4) dejte do chromatografické nádoby do výšky asi 0,5 cm a nechte atmosféru v nádobě nasytit parami rozpouštědla. Umístěte desku do nádoby. Chromatogram nechte vyvíjet až na vzdálenost čela 12 až 15 cm (doba vyvíjení asi 30 minut). Desku osušte proudem chladného vzduchu. Chromatogram zkoumejte pod ultrafialovou lampou 254 nm.

Proti žlutému fluorescenčnímu pozadí desky se skvrny naznačující přítomnost kyseliny sorbové budou jevit jako tmavě fialové.

4.4 Vyjádření výsledků

Porovnání intenzit skvrn produkovaných analyzovaným vzorkem a referenčními roztoky umožní provést semikvantitativní vyhodnocení obsahu kyseliny sorbové mezi 2 a 10 mg na litr. Obsah 1 mg na litr by bylo možno stanovit nanesením 10 μ l analyzovaného vzorku.

Obsah větší než 10 mg na litr by bylo možné stanovit nanesením menšího množství analyzovaného vzorku než 5 μ l (odměřeno mikrostříkačkou).

23. KYSELINA L-ASKORBOVÁ**1. PRINCIP METOD**

Navržené metody umožňují stanovení kyseliny L-askorbové a dehydroaskorbové přítomné ve víně a v mošttech.

1.1 Referenční metoda (fluorimetrie)

Kyselina L-askorbová se oxiduje na aktivním uhlí na kyselinu dehydroaskorbovou. Ta tvoří fluorescenční sloučeninu tím, že reaguje s ortofenylendiaminem (OPDA). Kontrolní zkouška v přítomnosti kyseliny borité umožňuje stanovit nepravou fluorescenci (vznikem komplexu kyseliny borité a kyseliny dehydroaskorbové) a odečíst ji od fluorimetrického stanovení.

1.2 Obvyklá metoda (kolorimetrie)

Kyselina L-askorbová se oxiduje jódem na kyselinu dehydroaskorbovou, která se potom sráží pomocí 2,4-dinitrofenylhydrazinu za vzniku bis (2,4-dinitrofenylhydrazonu). Po oddělení chromatografií na tenké vrstvě a rozpuštění v médiu kyseliny octové se při 500 nm spektrofotometrií stanoví červeně zbarvený derivát.

2. REFERENČNÍ METODA (fluorimetrická metoda)**2.1 Činidla**

2.1.1 Roztok ortofenylendiamindihydrochloridu, $C_6H_{10}Cl_2N_2$, 0,02 g na 100 ml, připravený těsně před použitím.

2.1.2 Roztok trihydrátu octanu sodného, $CH_3COONa \times 3H_2O$, 500 g/l.

2.1.3 Smíšený roztok kyseliny borité a octanu sodného.

Rozpusťte 3 g kyseliny borité, H_3BO_3 , ve 100 ml roztoku octanu sodného (2.1.2). Tento roztok se musí připravit těsně před použitím.

2.1.4 Roztok ledové kyseliny octové, CH_3COOH ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml), zředěný na 56 % (objemově) s pH přibližně 1,2.

2.1.5 Referenční vzorek kyseliny L-askorbové, 1 g/litr

Těsně před použitím rozpusťte 50 mg kyseliny L-askorbové, $C_6H_8O_6$ (předem dehydrované v exsikátoru chráněném před světlem) v 50 ml roztoku kyseliny octové (2.1.4).

2.1.6 Velmi čisté aktivní uhlí analytické kvality ⁽¹⁾

Do dvoulitrové kuželové baňky dejte 100 g aktivního uhlí a přidejte 500 ml 10 % (objemově) roztoku kyseliny chlorovodíkové (HCl) ($\rho_{20} = 1,19$ g/ml). Přiveďte k varu, přefiltrujte skleněnou fritou o pórovitosti 3. Uhlí ošetřené tímto způsobem dejte do dvoulitrové kuželové baňky, přidejte 1 litr vody, protřepejte a přefiltrujte pomocí skleněné frity o pórovitosti 3. Tuto operaci opakujte ještě dvakrát. Zbytek dejte na 12 hodin do sušárny s teplotou udržovanou na 115 ± 5 °C.

2.2 Vybavení

2.2.1 Fluorimetr Použijte fluorimetr se zdrojem spojitého spektra a nastavte minimální výkon. Předem se určí optimální vlnové délky excitace a emise pro zkoušku, které závisejí na použitém zařízení. Vodítkem je vlnová délka excitace asi 350 nm a vlnové délka emise asi 430 nm. Kyvety o délce dráhy 1 cm.

⁽¹⁾ Jedním z běžných obchodních označení je „Norit“.

2.2.2 Skleněná frit a poréznosti stupně 3.

2.2.3 Zkumavky (průměr přibližně 10 mm).

2.2.4 Míchací tyčinky pro zkumavky.

2.3 Postup

2.3.1 Příprava vzorku vína nebo moštu

Vezměte objem vína nebo moštu a zředte ho v odměrné baňce na 100 ml 56 % roztokem kyseliny octové (2.1.4), abyste získali roztok s koncentrací kyseliny L-askorbové mezi 0 a 60 mg/l. Obsah baňky homogenizujte mícháním. Přidejte 2 g aktivního uhlí (2.1.6) a nechte za občasného zamíchání stát po dobu 15 minut. Přefiltrujte pomocí běžného filtračního papíru; prvních několik ml filtrátu se nepoužívá.

Do dvou odměrných baněk o objemu 100 ml dejte 5 ml filtrátu a do první 5 ml smíšeného roztoku kyseliny borité a octanu sodného (2.1.3) (slepý vzorek), do druhé 5 ml roztoku octanu sodného (2.1.2) (vzorek k měření). Nechte stát po dobu 15 minut za občasného zamíchání. Doplněte destilovanou vodu na 100 ml.

Odeberte z obsahu každé baňky 2 ml a přidejte 5 ml roztoku ortofenylendiaminu (2.1.1), zamíchejte, nechte reakci pokračovat po dobu 30 minut, dokud roztok neztmavne a pak proveďte spektrofotometrická měření.

2.3.2 Kalibrační křivka

Do tří odměrných baněk o objemu 100 ml dejte po řadě 2, 4 a 6 ml referenčního roztoku kyseliny L-askorbové (2.1.5), doplněte na 100 ml roztokem kyseliny octové (2.1.4) a mícháním zhomogenizujte. Referenční roztok připravený tímto způsobem obsahuje 2, 4 a 6 mg na 100 ml.

Do každé baňky přidejte 2 g aktivního uhlí (2.1.6) a nechte stát po dobu 15 minut za občasného zamíchání. Přefiltrujte přes obyčejný filtrační papír a několik prvních mililitrů odstraňte. Dejte 5 ml každého filtrátu do tří odměrných baněk o objemu 100 ml (první série). Operaci opakujte a získáte druhou sérii odměrných baněk. Do každé z baněk v první sérii (odpovídající slepému pokusu) přidejte 5 ml smíšeného roztoku kyseliny borité a octanu sodného (2.1.5) a do každé z baněk v druhé sérii přidejte 5 ml roztoku octanu sodného (2.1.2).

Nechte stát po dobu 15 minut za občasného zamíchání. Doplněte na 100 ml destilovanou vodou. Z každé baňky odeberte 2 ml obsahu, přidejte 5 ml roztoku ortofenylendiaminu (2.1.1), zamíchejte a nechte reakci pokračovat po dobu 30 minut, dokud roztok neztmavne a pak proveďte spektrofotometrická měření.

2.3.3 Fluorimetrické stanovení

Pro každý referenční roztok a pro roztok, který se má stanovit, nastavte nulu na stupnici měření pomocí odpovídajícího slepého pokusu. Pak změřte intenzitu fluorescence pro každý kalibrační roztok a pro roztok, který se má stanovit.

Kalibrační křivku graficky znázorněte; měla by to být přímka procházející počátkem. Na této přímce najdete hodnotu odpovídající stanovení a tak zjistíte obsah kyseliny L-askorbové + kyseliny dehydroaskorbové v analyzovaném roztoku.

2.3.4 Vyjádření výsledků

Obsah kyseliny L-askorbové a dehydroaskorbové ve víně v mg na litr je dán součinem $C \times F$, kde F je faktor zředění.

3. OBVYKLÁ METODA (kolorimetrická metoda)
- 3.1 **Činidla**
- 3.1.1 Kyselina metafosforečná, 30 % roztok (hmotnost/objem):
Vezměte 30 g kyseliny metafosforečné (HPO_3)_n, předem rozdrcené v třecí misce. Rychle omyjte ponořením do destilované vody a zamícháním. Omytou kyselinu rozpusťte v destilované vodě protřepáním v odměrné baňce o objemu 100 ml a doplňte až k referenční značce. Výsledný roztok bude mít koncentraci kyseliny metafosforečné přibližně 30 % (hmotnost/objem).
- 3.1.2 3 % (hmotnost/objem) roztok kyseliny metafosforečné připravený těsně před použitím zředěním roztoku 3.1.1 destilovanou vodou 1:10.
- 3.1.3 1 % (hmotnost/objem) roztok kyseliny metafosforečné připravený těsně před použitím zředěním roztoku 3.1.1 destilovanou vodou 1:30.
- 3.1.4 Polyamidová suspenze:
Připravte suspenzi 10 g polyamidu pro chromatografii s 60 ml destilované vody. Nechte stát po dobu dvou hodin. Připravené množství je dostatečné pro čtyři stanovení.
- 3.1.5 Thiomočovina, $(\text{NH}_2)_2\text{CS}$
- 3.1.6 Roztok jódu, I_2 , 0,05M.
- 3.1.7 Roztok 2,4-dinitrofenylhydrazinu, 6 % (hmotnost/objem):
Připravte suspenzi 6 g 2,4-dinitrofenylhydrazinu ($\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_4$) v 50 ml ledové kyseliny octové ($\rho_{20} = 1,05 \text{ g/ml}$) a přidejte 50 ml kyseliny sírové ($\rho_{20} = 1,84 \text{ g/ml}$). 2,4-dinitrofenylhydrazin se rozpustí mícháním.
- 3.1.8 Ethylacetát ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$) s přídavkem 2 % ledové kyseliny octové (3.1.12) (objemově).
- 3.1.9 Chloroform, CHCl_3 .
- 3.1.10 Roztok škrobu ve vodě, 0,5 % (hmotnost/objem).
- 3.1.11 Mobilní fáze:
- | | |
|------------------------------|---------|
| ethylacetát | 50 obj. |
| chloroform | 60 obj. |
| ledová kyselina octová | 5 obj. |
- Nechte směs rozpouštědel v klidu před použitím po dobu 12 hodin.
- 3.1.12 Ledová kyselina octová, CH_3COOH , ($\rho_{20} = 1,05 \text{ g/ml}$).
- 3.1.13 Roztok kyseliny L-askorbové, 0,1 g na 100 ml 1 % roztoku kyseliny metafosforečné (3.1.3).
- 3.2 **Vybavení**
- 3.2.1 Laboratorní odstředivka s 50 ml odstředivkovými zkumavkami se zabroušenými skleněnými zátkami.
- 3.2.2 Chladná vodní lázeň, řízená termostaticky mezi 5 a 10 °C.
- 3.2.3 Vodní lázeň, řízená termostaticky na 20 °C.
- 3.2.4 Předem potažené desky pro chromatografii na tenké vrstvě, 20 × 20 cm, potažené silikagelem G (tloušťka 0,25 nebo 0,3 mm).

3.2.5 Chromatografická nádoba

3.2.6 Mikropipeta schopná odměřovat objemy 0,2 ml.

3.2.7 Spektrofotometr schopný provádět měření absorbancí při 500 nm vybavený kyvetami s optickou dráhou 1 cm.

3.3 Postup

3.3.1 *Oxidace kyseliny L-askorbové na kyselinu dehydroaskorbovou.*

Do odměrné baňky o objemu 100 ml dejte 50 ml vína, přidejte 15 ml polyamidové suspenze (3.1.4) a doplňte ke značce 3 % roztokem kyseliny metafosforečné (3.1.2). Ponechte stát jednu hodinu, v pravidelných intervalech protřepávejte. Přefiltrujte skládaným filtrem. V odstředivkové zkumavce zachyťte 20 ml filtrátu, přidejte 1 ml 0,05M roztoku jódu (3.1.6). Homogenizujte protřepáním zazátkované odstředivkové zkumavky a po jedné minutě snižte přebytečný jód přidáním přibližně 25 mg thiomochoviny.

3.3.2 *Vznik a extrakce bis (2,4-dinitrofenylhydrazon) derivátu kyseliny diketogulonové*

Zkumavku dejte do vodní lázně s teplotou udržovanou mezi 5 a 10 °C; přidejte 4 ml roztoku 2,4-dinitrofenylhydrazinu (3.1.7). Obsah pečlivě promíchejte a vyhněte se navlhčení skleněné zátky. Zkumavku úplně utěsněte a umístěte do vodní lázně o teplotě 20 °C na dobu přibližně 16 hodin (přes noc).

Do odstředivkové zkumavky dejte 15 ml ethylacetátu (3.1.8). Zkumavku uzavřete zabroušenou zátkou a silně protřepávejte po dobu 30 sekund. Odstřeďte po dobu pěti minut při použití odstředivé síly 350 až 400 G. Napipetujte 10 ml extraktu ethylacetátu do kuželové baňky ze zabroušenou skleněnou zátkou. Zátku sundejte a do odstředivkové zkumavky přidejte dalších 5 ml ethylacetátu (3.1.8), opět protřepávejte 30 sekund a odstřeďte při stejné rychlosti pět minut. Napipetujte 5 ml extraktu ethylacetátu do kuželové baňky obsahující 10 ml z první extrakce. Promíchejte.

3.3.3 *Oddělení bis (2,4-dinitrofenylhydrazonu) chromatografií; provést do dvou hodin po extrakci (3.3.2).*

Naneste 0,2 ml extraktu ethylacetátu na celou startovní čáru umístěnou 2 cm od okraje desky; na stranách desky nechte okraj 2 cm. Do chromatografické nádoby dejte mobilní fázi (3.1.11) do výšky 1 cm a nechte atmosféru nasytit parami rozpouštědel. Desku založte na místo a rozpouštědla nechte vzlínat k hornímu okraji desky.

Desku vysoušejte jednu hodinu v táhnuoucí digestoři. Misku držte ve svislé poloze nad archem hladkého papíru a špachtlí seškrabujte (v pravém úhlu ke směru toku) červeně zbarvenou zónu (charakteristika 2,4-dinitrofenylhydrazonu). Získaný práškový produkt převedte beze ztrát do kuželové baňky se zabroušenou skleněnou zátkou a přidejte 4 ml kyseliny octové (3.1.12). Nechte stát po dobu 30 minut při častém zamíchání. Přefiltrujte skládaným filtrem přímo do spektrofotometrické kyvety (3.2.7). Získaný filtrát musí být dokonale čirý. Absorbanci tohoto roztoku změřte při 500 nm proti kyselině octové (3.1.12) v referenční kyvetě k získání nuly pro měření.

3.3.4 *Kalibrační křivka*

Do tří odměrných baněk o objemu 100 ml dejte 5, 10 a 15 ml roztoku kyseliny L-askorbové (3.1.13) a doplňte ke značce 1 % roztokem kyseliny metafosforečné (3.1.3). Takto získané roztoky mají postupně obsah 50, 100 a 150 mg kyseliny askorbové na litr.

Zpracujte každý z těchto roztoků postupem podle bodů 3.3.1, 3.3.2 a 3.3.3. Znázorněte graficky kalibrační křivku — měla by to být přímka procházející počátkem.

3.3.5 *Vyjádření výsledků*

Obsah kyseliny L-askorbové + kyseliny dehydroaskorbové ve víně se vyjadřuje v miligramech na litr.

3.3.5.1 Výpočet

Najděte hodnotu absorbance změřenou v 3.3.3 na kalibrační přímce a pak stanovte obsah kyseliny L-askorbové + kyseliny dehydroaskorbové v analyzovaném roztoku.

Poznámka:

Pokud je obsah kyseliny L-askorbové + kyseliny dehydroaskorbové větší než 150 mg/l, snižte objem zkoušeného vzorku na 25, 20 nebo 10 ml vína a výsledek vynásobte faktorem zředění F .

24. pH

1. PRINCIP

Změří se rozdíl v potenciálu mezi elektrodami ponořenými do zkoumané kapaliny. Jedna z těchto dvou elektrod má potenciál, který je funkcí pH kapaliny, zatímco druhá má stabilní a známý potenciál a představuje referenční elektrodu.

2. VYBAVENÍ

2.1 pH-metr se stupnicí kalibrovanou v pH jednotkách a umožňující provádět měření s přesností alespoň $\pm 0,05$ jednotky pH.

2.2 Elektrody:

2.2.1 Skleněná elektroda uchovávaná v destilované vodě.

2.2.2 Kalomelová referenční elektroda s nasyceným chloridem draselným uchovávaná v nasyceném roztoku chloridu draselného.

2.2.3. Nebo kombinovaná elektroda uchovávaná v destilované vodě.

3. ČINIDLA

3.1 Tlumivý roztok

3.1.1. Nasycený roztok vinanu draselného s obsahem alespoň 5,7 g ($C_4H_5KO_6$) na litr při 20 °C. (Tento roztok se může uchovávat po dobu až dvou měsíců s přidáním 0,1 gramu thymolu na 200 ml).

$$\text{pH} \begin{cases} 3,57 \text{ při } 20^\circ\text{C} \\ 3,56 \text{ při } 25^\circ\text{C} \\ 3,55 \text{ při } 30^\circ\text{C} \end{cases}$$

3.1.2 Roztok ftalátu draselného 0,05M s obsahem 10,211 g ($C_8H_5KO_4$) na litr při 20 °C. (Maximální doba uchování je dva měsíce.)

$$\text{pH} \begin{cases} 3,999 \text{ při } 15^\circ\text{C} \\ 4,003 \text{ při } 20^\circ\text{C} \\ 4,008 \text{ při } 25^\circ\text{C} \\ 4,015 \text{ při } 30^\circ\text{C} \end{cases}$$

3.1.3. Roztok obsahující

dihydrogenfosforečnan draselný, KH_2PO_4		3,402 g
hydrogenfosforečnan draselný, K_2HPO_4		4,354 g
doplnit vodou na		1 litr

(maximální období pro uchování dva měsíce)

$$\text{pH} \begin{cases} 6,90 \text{ při } 15^\circ\text{C} \\ 6,88 \text{ při } 20^\circ\text{C} \\ 6,86 \text{ při } 25^\circ\text{C} \\ 6,85 \text{ při } 30^\circ\text{C} \end{cases}$$

Poznámka: Je také možné použít referenční tlumivé roztoky běžně dostupné v obchodní síti.

4. POSTUP

4.1 Příprava vzorku pro rozbor

4.1.1 Pro mošt a víno: použijte přímo mošt nebo víno.

4.1.2 Pro rektifikovaný moštový koncentrát: rektifikovaný moštový koncentrát zředte vodou tak, aby vznikl celkový obsah cukrů $25 \pm 0,5$ % hmotnostních (25° Brix).

Pokud je P celkový obsah cukrů v % hmotnostních v rektifikovaném moštovém koncentrátu, odvažte hmotnost

$$\frac{2500}{P}$$

a doplňte na 100 g vodou. Voda musí mít vodivost pod 2 mikrosiemensy na cm.

4.2 Vynulování aparatury

Vynulování se provádí před provedením jakéhokoli měření podle pokynů předaných s používanou aparaturou.

4.3 Kalibrace pH-metru

Kalibrujte pH-metr při 20 °C pomocí tlumivého roztoku pH 6,88 a 3,57 při 20 °C.

Ke kontrole kalibrace stupnice použijte tlumivý roztok o pH 4,00 při 20 °C.

4.4 Stanovení

Elektrodu ponořte do zkoumaného vzorku, jehož teplota by měla být mezi 20 a 25 °C a co nejbližší 20 °C. Hodnotu pH odečtěte přímo ze stupnice.

Na stejném vzorku proveďte alespoň dvě stanovení.

Konečný výsledek bude aritmetickým průměrem těchto dvou stanovení.

5. VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ

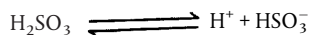
Hodnota pH moštu, vína nebo 25 % (hmotn.) roztoku rektifikovaného moštového koncentrátu (25 ° Brix) se uvádí na dvě desetinná místa.

25. OXID SIŘIČITÝ

1. DEFINICE

Oxid siřičitý se definuje jako oxid siřičitý přítomný v moštu nebo víně v následujících formách: H_2SO_3 , HSO_3^- .

Rovnováha mezi těmito formami závisí na pH a teplotě:



H_2SO_3 představuje molekulární oxid siřičitý.

Celkový oxid siřičitý se definuje jako oxid siřičitý přítomný ve víně ve volné i vázané formě.

2. VOLNÝ A CELKOVÝ OXID SIŘIČITÝ

2.1 Princip metody

2.1.1 Referenční metoda

2.1.1.1 Pro vína a mošty

Oxid siřičitý je unášen proudem vzduchu nebo dusíku; váže se a oxiduje probubláváním zředěným a neutrálním peroxidem vodíku. Vytvořená kyselina sírová se stanovuje titrací standardním roztokem hydroxidu sodného. Volný oxid siřičitý se z vína uvolňuje při nízké teplotě (10 °C).

Celkový oxid siřičitý se z vína uvolňuje při vysoké teplotě (přibližně 100 °C).

2.1.1.2 Pro rektifikované moštové koncentráty

Celkový oxid siřičitý se z rektifikovaného moštového koncentrátu zředěného předem uvolňuje při vysoké teplotě (přibližně 100 °C).

2.1.2 Rychlá metoda stanovení (pro vína a mošty)

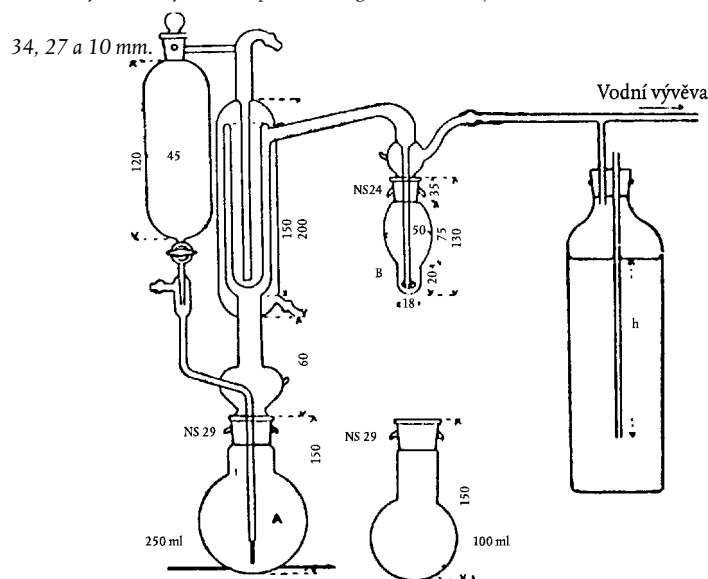
Volný oxid siřičitý se stanovuje přímou jodometrickou titrací.

Vázaný oxid siřičitý se následně stanoví jodometrickou titrací po alkalické hydrolyze. Při přičtení k volnému oxidu siřičitému dává celkový oxid siřičitý.

2.2 Referenční metoda

2.2.1 Vybavení

2.2.1.1 Použitá vybavení by měla odpovídat diagramu níže, zejména s ohledem na kondenzátor.



Obr. 1 Uvedené rozměry jsou v milimetrech. Vnitřní průměry čtyř soustředných trubic, které tvoří kondenzátor, jsou 45,

Trubice pro přívod plynu k promývačce plynu B končí malou koulí o průměru 1 cm s dvaceti otvory o průměru 0,2 mm kolem svého největšího vodorovného obvodu. Alternativně může tato trubice končit v misce se skleněnou fritou, která vytváří velké množství velmi malých bublinek a tak zajišťuje dobrý kontakt mezi kapalinou a plynnými fázemi.

Průtok plynu aparaturou by měl být přibližně 40 litrů za hodinu. Láhev na pravé straně diagramu má za účel omezit snížení tlaku vytvářeného vodní vývěvou na 20 až 30 cm vodního sloupce. K regulaci vakua na správnou hodnotu je třeba mezi promývačku plynů a láhev instalovat průtokoměr se semikapilární trubicí.

2.2.1.2 Mikrobyreta.

2.2.2 Činidla

2.2.2.1 Kyselina fosforečná, 85 % (H_3PO_4 , $\rho_{20} = 1,71 \text{ g/ml}$).

2.2.2.2 Roztok peroxidu vodíku, 9,1 g H_2O_2 /litr (tři objemy).

2.2.2.3 Indikátorové činidlo

methylčerveně	100 mg
methylenová modř	50 mg
alkohol, 50 % obj.	100 ml

2.2.2.4 Roztok hydroxidu sodného, NaOH, 0,01M

2.2.3 Postup

2.2.3.1 Stanovení volného oxidu siřičitého

Víno se musí po dva dny před stanovením uchovávat v plné a zazátkované láhvi při teplotě 20 °C.

Do promývačky B dejte 2 až 3 ml roztoku peroxidu vodíku (2.2.2.2) a dvě kapky indikátorového činidla, roztok peroxidu vodíku neutralizujte 0,01M roztokem hydroxidu sodného (2.2.2.4). Promývačku připojte k aparatuře.

Do baňky A extrahovací aparatury dejte 50 ml vzorku a 15 ml kyseliny fosforečné (2.2.2.1). Baňku připojte k aparatuře.

Nechte skrz ní probublávat vzduch (nebo dusík) po dobu 15 minut. Volný unášený oxid siřičitý se oxiduje na kyselinu sírovou. Promývačku plynů odpojte od aparatury a titrujte vzniklou kyselinu 0,01M roztokem hydroxidu sodného (2.2.2.4). Nechť n ml je použitý objem.

2.2.3.2 Vyjádření výsledků.

Volný oxid siřičitý se vyjadřuje v mg/l na nejbližší celé číslo.

2.2.3.2.1 Výpočet

Volný oxid siřičitý v miligramech na litr je $6,4 n$.

2.2.3.3 Stanovení celkového oxidu siřičitého.

2.2.3.3.1 Pro rektifikované moštové koncentráty použijte roztok získaný zředěním zkoumaného vzorku na 40 % (hmotnost/objem), jak je uvedeno v kapitole „Celkový obsah kyselin“ bodu 5.1.2. Do baňky o objemu 250 ml z extrahovací aparatury dejte 50 ml tohoto roztoku a 5 ml kyseliny fosforečné (2.2.2.1). Baňku připojte k aparatuře.

2.2.3.3.2 Vína a mošty

Pokud není odhadovaná koncentrace ve vzorku větší než 50 mg celkového SO₂ na litr, dejte do baňky A o objemu 250 ml z extrahovací aparatury 50 ml vzorku a 15 ml kyseliny fosforečné (2.2.2.1). Připojte baňku k aparatuře.

Avšak nejpozději do 31. prosince 1992 se pro rozbor obsahu oxidu siřičitého v hroznové šťávě bude používat 5 ml 25 % roztoku (hmotnost/objem) kyseliny fosforečné (2.2.2.1).

Pokud je odhadovaná koncentrace ve vzorku větší než 50 mg celkového SO₂ na litr, dejte do baňky A o objemu 250 ml z extrahovací aparatury 20 ml vzorku a 15 ml kyseliny fosforečné (2.2.2.1). Připojte baňku k aparatuře.

Do promývačky B dejte 2 až 3 ml roztoku peroxidu vodíku (2.2.2.2) neutralizovaného stejně jako výše, a víno v baňce A uveďte do varu pomocí malého plamene o výšce 4 až 5 cm, který by se měl přímo dotýkat dna baňky. Nedávejte baňku na kovovou destičku, ale na kotouč, který v sobě má otvor o průměru přibližně 30 mm. To je pro zamezení přehřátí látek extrahovaných z vína, které se usazují na stěnách baňky.

Během průchodu proudy vzduchu (nebo dusíku) udržujte var. Během 15 minut se celkový oxid siřičitý uvolní a oxiduje. Kyselinu sírovou, která se vytvořila, stanovte titrací 0,01 M roztokem hydroxidu sodného (2.2.2.4).

Nechť *n* je použitý objem.

2.2.3.4 Vyjádření výsledků

Mošty a vína: celkový oxid siřičitý se vyjadřuje v mg/l.

Rektifikované moštové koncentráty: celkový oxid siřičitý se vyjadřuje v mg/kg redukujících cukrů.

2.2.3.4.1 Výpočet

Pro vína:

Celkový oxid siřičitý v miligramech na litr:

— Vzorky s nízkým obsahem oxidu siřičitého (50 ml vzorku): 6,4 *n*.

— Ostatní vzorky (20 ml vzorku): 16 *n*.

Pro rektifikované moštové koncentráty:

Celkový oxid siřičitý v miligramech na kilogram celkového obsahu cukrů (připravený zkušební vzorek 50 ml (2.2.3.3.1)):

$$\frac{1600 \times n}{P}$$

kde

P = celkový obsah cukrů v % hmotnostních

2.2.3.4.2 Opakovatelnost (*r*):

zkušební vzorek 50 ml < 50 mg/l; *r* = 1 mg/l;

zkušební vzorek 20 ml > 50 mg/l; *r* = 6 mg/l

2.2.3.4.3 Reprodukovatelnost (*R*):

zkušební vzorek 50 ml < 50 mg/l; *R* = 9 mg/l;

zkušební vzorek 20 ml > 50 mg/l; *R* = 15 mg/l

2.3 Rychlá metoda stanovení

2.3.1 Činidla

2.3.1.1 EDTA (Komplexon III): sodná sůl kyseliny ethylendiaminotetraoctové (C₁₀H₁₄N₂O₈Na₂ × 2H₂O).

- 2.3.1.2 Roztok hydroxidu sodného, NaOH, 4M (160 g/l).
- 2.3.1.3 Kyselina sírová, H_2SO_4 ($\rho_{20} = 1,84$ ml) (1:10 objemově)
- 2.3.1.4 Roztok škrobu 5 g/l.
Smíchejte 5 g škrobu s asi 500 ml vody. Uvedte za stálého míchání do varu a var udržujte po dobu 10 minut. Přidejte 200 g chloridu sodného (NaCl). Po zchlazení doplňte na jeden litr.
- 2.3.1.5 0,025M roztok jódu, I_2 .
- 2.3.2. Vybavení
- 2.3.2.1 Kuželové baňky o objemu 500 ml.
- 2.3.2.2 Byreta.
- 2.3.2.3 Pipety - 1, 2, 5 a 50 ml.
- 2.3.3 Postup
- 2.3.3.1 Volný oxid siřičitý
Do kuželové baňky o objemu 500 ml dejte:
— 50 ml vína,
— 5 ml roztoku škrobu (2.3.1.4),
— 30 mg EDTA Komplexonu III (2.3.1.1),
— 3 ml kyseliny sírové H_2SO_4 (1:10 objemově) (2.3.1.3).
Titrujte ihned 0,025M roztokem jódu (2.3.1.5), dokud nebude přetrvávat jasné modré zbarvení po dobu 10 až 15 sekund. Nechť n ml je objem použitého jódu.
- 2.3.3.2 Vázaný oxid siřičitý
Přidejte 8 ml 4M roztoku hydroxidu sodného (2.3.1.2), směs jednou protřepejte a ponechte stát po dobu pěti minut. Za intenzivního míchání přidejte v jedné dávce obsah malé kádinky, do které bylo nalito 10 ml kyseliny sírové (1:10 objemově) (2.3.1.3). Ihned titrujte 0,025M roztokem jódu (2.3.1.5); nechť n' ml je použitý objem.
Přidejte 20 ml 4M roztoku hydroxidu sodného (2.3.1.2.), jednou protřepejte a nechte stát po dobu pěti minut. Zředte 200 ml ledově studené vody.
Za intenzivního míchání přidejte v jedné dávce obsah zkumavky, do které jste předtím dali 30 ml kyseliny sírové (1:10 objemově) (2.3.1.3). Volný oxid siřičitý okamžitě titrujte 0,025M roztokem jódu (2.3.1.5); nechť n ml je použitý objem.
- 2.3.4 Vyjádření výsledků
- 2.3.4.1 Výpočet:
Volný oxid siřičitý v miligramech na litr: $32 n$.
Celkový oxid siřičitý v miligramech na litr: $32 (n + n' + n'')$.

Poznámky:
1) U červených vín s nízkým obsahem SO_2 je vhodné použít jód zředěný více než 0,025M (např. 0,01M. Pak ve vzorci výše nahradte koeficient 32 koeficientem 12,8).

- 2) U červených vín je užitečné osvětlení zespoda paprskem žlutého světla z obyčejné elektrické žárovky, které svítí skrz roztok chromanu draselného nebo ze sodíkové výbojky. Stanovení by se mělo provádět v temné komoře a sledovat průhlednost vína, které se po dosažení koncového bodu stane neprůhledným.
- 3) Pokud je množství oxidu siřičitého (H_2SO_3) blízko povolené meze nebo ji převyšuje, je třeba stanovit celkový oxid siřičitý referenční metodou.
- 4) Pokud se požaduje zejména stanovení volného oxidu siřičitého, proveďte rozbor na vzorku uchovávaném před rozbořem při anaerobních podmínkách po dva dny při 20 °C. Stanovení se provede při 20 °C.
- 5) Protože se v kyselém prostředí některé látky oxidují jódem, je třeba pro přesnější stanovení vyhodnotit množství jódu použitého tímto způsobem. K tomu účelu je třeba volný oxid siřičitý před provedením titrace jódem vázat na přebytečný ethanal nebo propanal. K 50 ml vína v kuželové baňce o objemu 300 ml přidejte 5 ml roztoku ethanalu ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$) 7g/l nebo 5 ml roztoku propanalu ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$) 10 g/l.

Na baňku nasadíte zátku a nechte stát po dobu alespoň 30 minut. Přidejte 3 ml kyseliny sírové 1:10 objemově (2.3.1.3) a postačující množství 0,025M roztoku jódu (2.3.1.5), které způsobí, že škrob změní barvu. Nechť n''' ml je množství použitého jódu. To se musí odečíst od n (volného oxidu siřičitého) a od $n + n' + n''$ (celkový oxid siřičitý).

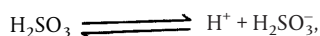
Množství n''' je obecně malé, od 0,2 do 0,3 ml 0,025M jódu. Pokud byla k vínu přidána kyselina askorbová, bude n''' mnohem větší a je možné alespoň přibližně změřit množství této látky z hodnoty n''' za předpokladu, že 1 ml 0,025M jódu zoxiduje 4,4 mg kyseliny askorbové. Stanovením n''' je možné docela přesně zjistit přítomnost zbytkové kyseliny askorbové v množstvích větších než 20 mg/l ve vínech, do nichž byla přidána.

3. MOLEKULÁRNÍ OXID SIŘIČITÝ

3.1 Princip metody

Procentuální podíl molekulárního oxidu siřičitého, H_2SO_3 , ve volném oxidu siřičitém se vypočítá jako funkce pH, obsahu alkoholu a teploty.

Za dané teploty a obsahu alkoholu:



$$(1) \quad [\text{H}_2\text{SO}_3] = \frac{L}{10^{(\text{pH} - \text{p}K_M) + 1}}$$

s

$$\text{p}K_M = \text{p}K_T - \frac{A\sqrt{I}}{1 + B\sqrt{I}}$$

$$L^- = [\text{H}_2\text{SO}_3] + [\text{HSO}_3^-]$$

kde

I = iontová síla,

A a B = koeficienty, které se mění s teplotou a obsahem alkoholu,

K_T = termodynamická disociační konstanta; hodnoty $\text{p}K_T$ jsou pro různé obsahy alkoholu a teploty uvedeny v tabulce 1

K_M = směsná disociační konstanta

Při střední hodnotě pro iontovou sílu $I = 0,038$ udává tabulka 2 hodnoty $\text{p}K_M$ pro různé teploty a obsahy alkoholu.

Obsah molekulárního oxidu siřičitého vypočítaný vyjádřením (1) je uveden v tabulce 3 pro různé hodnoty pH, teploty a obsahu alkoholu.

3.2 Výpočet

Na základě pH vína a jeho obsahu alkoholu je pro teplotu T °C v tabulce 3 uveden procentuální podíl molekulárního oxidu siřičitého. Nechť toto je $X\%$.

Obsah molekulárního oxidu siřičitého v mg/l je:

$$X \times C$$

kde C = je obsah volného oxidu siřičitého v mg/l.

TABULKA 1

Hodnoty termodynamické disociační konstanty pK_T

Obsah alkoholu v % objemových	Teplota (°C)				
	20	25	30	35	40
0	1,798	2,000	2,219	2,234	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

TABULKA 2

Hodnoty směsné disociační konstanty pK_M ($I = 0,038$)

Obsah alkoholu v % objemových	Teplota (°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

TABULKA 3

Molekulární oxid siřičitý jako procentuální podíl volného oxidu siřičitého

pH	T = 20 °C (I = 0,038)				
	Obsah alkoholu v % objemových				
	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	4,06	4,99	6,14	7,61	9,42
3,4	3,24	4,00	4,94	6,14	7,63
3,5	2,60	3,20	3,97	4,94	6,16
3,6	2,07	2,56	3,18	3,97	4,55
3,7	1,65	2,05	2,54	3,18	3,98
3,8	1,32	1,63	2,03	2,54	3,18
T = 30 °C					
2,8	18,05	20,83	24,49	29,28	35,36
2,9	14,89	17,28	20,48	24,75	30,29
3,0	12,20	14,23	16,98	20,71	25,66
3,1	9,94	11,65	13,98	17,18	21,52
3,2	8,06	9,48	11,44	14,15	17,88
3,3	6,51	7,65	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

pH	T = 35 °C (l = 0,038)				
	Obsah alkoholu v % objemových				
	0	5	10	15	20
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	36,01	29,52	35,47	44,74
3,0	20,67	21,83	24,96	30,39	38,85
3,1	17,15	18,16	20,90	25,75	33,54
3,2	14,12	14,98	17,35	21,60	28,62
3,3	11,55	12,28	14,29	17,96	24,15
3,4	9,40	10,00	11,70	14,81	20,19
3,5	7,61	8,11	9,52	12,13	16,73
3,6	6,14	6,56	7,71	9,88	13,77
3,7	4,94	5,28	6,22	8,01	11,25
3,8	3,97	4,24	5,01	6,47	9,15

26. SODÍK

1. PRINCIP METODY

1.1 Referenční metoda: atomová absorpční spektrofotometrie

Sodík se stanovuje přímo ve víně atomovou absorpční spektrofotometrií po přidání činidla pro potlačení ionizace (chlorid cesný), aby se zabránilo ionizaci sodíku.

1.2 Obvyklá metoda: plamenová fotometrie

Sodík se stanoví přímo ve zředěném víně (alespoň 1:10) plamenovou fotometrií.

2. REFERENČNÍ METODA

2.1 Činidla

2.1.1 Roztok s obsahem 1 g sodíku na litr:

Použijte standardní komerční roztok s obsahem 1 g sodíku na litr. Tento roztok je možné připravit rozpuštěním 2,542 g bezvodého chloridu sodného, NaCl, v destilované vodě a doplněním na 1 litr.

Tento roztok uchovávejte v polyetylenové láhvi.

2.1.2 Základní (modelový) roztok

kyselina citronová, $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$	3,5 g
sacharosa $C_{12}H_{22}O_{11}$	1,5 g
glycerol $C_3H_8O_3$	5,0 g
bezvodý chlorid vápenatý, $CaCl_2$	50 mg
bezvodý chlorid hořečnatý, $MgCl_2$	50 mg
absolutní alkohol, C_2H_5OH	50 ml
doplnit deionizovanou vodou na	500 ml

2.1.3 Roztok chloridu cesného s obsahem 5 % cesia:

Rozpusťte 6,330 g chloridu cesného, CsCl, ve 100 ml destilované vody.

2.2 Vybavení

2.2.1 Atomový absorpční spektrofotometr vybavený hořákem na vzduch a acetylen.

2.2.2 Sodíková výbojka s dutou katodou.

2.3 Postup

2.3.1 Příprava vzorku

Do odměrné baňky o objemu 50 ml napipetujte 2,5 ml vína, přidejte 1 ml roztoku chloridu cesného (2.1.3) a doplňte destilovanou vodou ke značce.

2.3.2 Kalibrace

Do každé ze sady odměrných baněk o objemu 100 ml dejte 5,0 ml základního roztoku a přidejte po řadě 0, 2,5, 5,0, 7,5 a 10 ml roztoku sodíku 1 g/l (2.1.1) předem zředěného 1:100. Do každé baňky přidejte 2 ml roztoku chloridu cesného (2.1.3) a doplňte na 100 ml destilovanou vodou.

Standardní roztoky tímto způsobem připravené obsahují po řadě 0, 0,25, 0,50, 0,75 a 1,00 mg sodíku na litr. Tyto roztoky uchovávejte v polyetylenových láhvích.

2.3.3 Stanovení

Nastavte vlnovou délku na 589,0 nm. Vynulujte stupnici absorpance pomocí základního roztoku obsahujícího 1 g cesia na litr (2.3.2). Nasajte zředěné víno přímo do hořáku spektrofotometru a po něm postupně standardní roztoky (2.3.2). Odečtěte absorpance. Každé měření opakujte.

2.4 Vyjádření výsledků

2.4.1 Metoda výpočtu

Znárněte graf udávající absorpaci jako funkci obsahu sodíku v standardním roztoku.

Na tomto grafu zaznamenejte absorpaci získanou u zředěného vína a určete obsah sodíku C v miligramech na litr.

Obsah sodíku v miligramech na litr vína pak bude 20 C , vyjádřeno na nejbližší celé číslo.

2.4.2 Opakovatelnost (r)

$$r = 1 + 0,024 x_i \text{ mg/l}$$

x_i = obsah sodíku ve vzorku v mg/l.

2.4.3 Reprodukovatelnost (R)

$$R = 2,5 + 0,05 x_i \text{ mg/l}$$

x_i = obsah sodíku ve vzorku v mg/l.

3. OBVYKLÁ METODA

3.1 Činidla

3.1.1 Standardní roztok obsahující 20 mg sodíku na litr

absolutní alkohol, C_2H_5OH	10	ml
kyselina citronová, $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$	700	mg
sacharosa $C_{12}H_{22}O_{11}$	300	mg
glycerol $C_3H_8O_3$	1 000	mg
vinan draselný ($C_4H_5KO_6$)	481,3	mg
bezvodý chlorid vápenatý, $CaCl_2$	10	mg
bezvodý chlorid hořečnatý, $MgCl_2$	10	mg
suchý chlorid sodný ($NaCl$)	50,84	mg
doplnit vodou na	1	litr

3.1.2 Zředovací roztok

absolutní alkohol, C_2H_5OH	10	ml
kyselina citronová, $C_6H_8O_7 \times H_2O$	700	mg
sacharosa $C_{11}H_{22}O_{11}$	300	mg
glycerol $C_3H_8O_3$	1 000	mg
vinan draselný ($C_4H_5KO_6$)	481,3	mg
bezvodý chlorid vápenatý, $CaCl_2$	10	mg
bezvodý chlorid hořečnatý, $MgCl_2$	10	mg
doplnit vodou na	1	litr

K přípravě roztoku 3.1.1 a 3.1.2 rozpustíte vinan draselný přibližně v 500 ml velmi horké destilované vody, smíchejte tento roztok se 400 ml destilované vody, ve které již byly rozpuštěny ostatní chemikálie a doplňte na jeden litr.

Tyto roztoky uchovávejte v polyetylenových lahvích s přidavkem dvou kapek allylthiokynátu.

3.2 Vybavení

3.2.1 Plamenový fotometr na směs vzduch-butan.

3.3. Postup

3.3.1. Kalibrace

Do odměrných baněk o objemu 100 ml dejte 5, 10, 15, 20 a 25 ml standardního roztoku (3.1.1) a doplňte na 100 ml zředovacím roztokem (3.1.2). Tímto postupem se získají roztoky obsahující 1, 2, 3, 4 a 5 mg sodíku na litr.

3.3.2 Stanovení

Proveďte měření při 589,0 nm. Proveďte nastavení na 100 % propustnost pomocí destilované vody. Přímou do hořáku fotometru postupně nasávejte standardní roztoky (3.3.1), po nich víno zředěné destilovanou vodou 1:10 a zaznamenejte odečtené hodnoty propustnosti v procentech. V případě nutnosti může být víno již zředěné 1:10 dále zředěno zředovacím roztokem (3.1.2).

3.4 Vyjádření výsledků

3.4.1 Metoda výpočtu

Znárodně graf udávající závislost propustnosti v procentech na obsahu sodíku v standardních roztocích. Zaznamenejte získanou propustnost u vzorku zředěného vína z tohoto grafu a stanovte odpovídající obsah sodíku C .

Obsah sodíku v mg sodíku na litr bude $F \times C$, kde F je faktor zředění.

3.4.2 Opakovatelnost (r):

$r = 1,4 \text{ mg/l}$ (s výjimkou likérových vín)

$r = 2,0 \text{ mg/l}$ pro likérová vína.

3.4.3 Reprodukovatelnost (R):

$R = 4,7 + 0,08 x_i \text{ mg/l}$

x_i = obsah sodíku ve vzorku v mg/l.

27. DRASLÍK

1. PRINCIP METOD

1.1 Referenční metoda

Draslík se stanovuje přímo ve víně atomovou absorpční spektrofotometrií po přidání činidla pro potlačení ionizace (chlorid cesný), aby se zabránilo ionizaci sodíku.

1.2 Obvyklá metoda

Draslík se stanoví přímo ve zředěném víně plamenovou fotometrií.

2. REFERENČNÍ METODA

2.1 Činidla

2.1.1 Roztok s obsahem 1 g draslíku na litr:

Použijte standardní komerční roztok s obsahem 1 g draslíku na litr. Tento roztok je možné připravit rozpuštěním 4,813 g vinanu draselného ($C_4H_5KO_6$), v destilované vodě a doplněním na 1 litr.

2.1.2 Srovnávací roztok

kyselina citronová, $C_6H_8O_7 \times H_2O$	3,5 g
sacharosa $C_{12}H_{22}O_{11}$	1,5 g
glycerol $C_3H_8O_3$	5,0 g
bezvodý chlorid vápenatý ($CaCl_2$)	50 mg
bezvodý chlorid hořečnatý ($MgCl_2$)	50 mg
absolutní alkohol, C_2H_5OH	50 ml
doplnit vodou	500 ml

2.1.3 Roztok chloridu cesného s obsahem 5 % cesia:

Rozpusťte 6,33 g chloridu cesného, CsCl, ve 100 ml destilované vody.

2.2 Vybavení

2.2.1 Atomový absorpční spektrofotometr vybavený hořákem na vzduch a acetylen.

2.2.2 Draslíková výbojka s dutou katodou.

2.3 Postup

2.3.1 Příprava vzorku

Do odměrné baňky o objemu 50 ml napipetujte 2,5 ml vína (předem zředěného 1:10), přidejte 1 ml roztoku chloridu cesného (2.1.3) a doplňte destilovanou vodou ke značce.

2.3.2 Kalibrace

Do každé ze sady odměrných baněk o objemu 100 ml dejte 5,0 ml základního roztoku a přidejte po řadě 0, 2,0, 4,0, 6,0 a 8,0 ml roztoku draslíku 1 g/l (2.1.1) předem

zředěného 1:10. Do každé baňky přidejte 2 ml roztoku chloridu cesného (2.1.3) a doplňte na 100 ml destilovanou vodou.

Standardní roztoky tímto způsobem připravené obsahují po řadě 0, 2, 4, 6 a 8 mg draslíku na litr. Tyto roztoky uchovávejte v polyetylenových láhvích.

2.3.3 Stanovení

Nastavte vlnovou délku na 769,9 nm. Vynulujte stupnici absorbance pomocí srovnávacího roztoku obsahujícího 1 g cesia na litr (2.3.2). Nasajte zředěné víno (2.3.1) přímo do hořáku spektrofotometru a po něm postupně standardní roztoky (2.3.2). Odečtěte absorbance. Každé měření zopakujte.

2.4 Vyjádření výsledků

2.4.1 Metoda výpočtu

Znáznorněte graf udávající absorbanci jako funkci obsahu draslíku v standardním roztoku.

Na tomto grafu zaznamenejte absorbanci získanou u zředěného vína a určete obsah draslíku C v miligramech na litr.

Obsah draslíku vyjádřený v miligramech na litr vína na nejbližší celé číslo pak bude $F \times C$, kde F je faktor zředění (zde 200).

2.4.2 Opakovatelnost (r)

$$r = 35 \text{ mg/l}$$

2.4.3 Reprodukovatelnost (R)

$$R = 66 \text{ mg/l.}$$

2.4.4 Další způsoby vyjádření výsledků

V miliekvivalentech na litr: $0,0256 \times F \times C$

V mg vinanu draselného na litr: $4,813 \times F \times C$

3. OBVYKLÁ METODA

3.1 Činidla

3.1.1 Standardní roztok obsahující 100 mg draslíku na litr

absolutní alkohol, C_2H_5OH	10	ml
kyselina citronová, $C_6H_8O_7 \times H_2O$	700	mg
sacharosa $C_{12}H_{22}O_{11}$	300	mg
glycerol $C_3H_8O_3$	1 000	mg
chlorid sodný (NaCl)	50,8	mg
bezvodý chlorid vápenatý, $CaCl_2$	10	mg
bezvodý chlorid hořečnatý, $MgCl_2$	10	mg
suchý vinan draselný ($C_4H_5KO_6$)	481,3	mg
doplnit vodou	na ...	1 000 ml

Rozpusťte vinan draselný v 500 ml velmi horké destilované vody, smíchejte tento roztok s 400 ml destilované vody, ve které již byly rozpuštěny ostatní chemikálie a doplňte na jeden litr.

3.1.2 Zředovací roztok

absolutní alkohol, C_2H_5OH ...	10	ml
kyselina citronová, $C_6H_8O_7 \times H_2O$	700	mg
sacharosa $C_{12}H_{22}O_{11}$	300	mg
glycerol $C_3H_8O_3$	1 000	mg
chlorid sodný (NaCl)	50,8	mg
bezvodý chlorid vápenatý, $CaCl_2$	10	mg
bezvodý chlorid hořečnatý, $MgCl_2$	10	mg
kyselina vinná ($C_4H_6O_6$)	383	mg
doplnit vodou	1 000	ml

Tyto roztoky uchovávejte v polyetylenových lahvích s přidáním dvou kapek allylisothiokynátu.

3.2 Vybavení

3.2.1 Plamenový fotometr na směs vzduch-butan.

3.3 Postup

3.3.1 Kalibrace

Do odměrných baněk o objemu 100 ml dejte 25, 50, 75 a 100 ml standardního roztoku (3.1.1) a doplňte na 100 ml zředovacím roztokem (3.1.2). Tímto postupem se získají roztoky obsahující 25, 50, 75 a 100 mg draslíku na litr.

3.3.2 Stanovení

Proveďte měření při 766 nm. Proveďte nastavení na 100 % propustnost pomocí destilované vody. Přímo do hořáku fotometru postupně nasávejte standardní roztoky (3.3.1), po nich víno zředěné destilovanou vodou 1:10 a zaznamenejte odečtené hodnoty. V případě nutnosti může být víno již zředěné 1:10 dále zředěno zředovacím roztokem (3.1.2).

3.4 Vyjádření výsledků

3.4.1 Metoda výpočtu

Znáznorněte graf udávající hodnotu propustnosti v procentech jako funkci obsahu draslíku v standardních roztocích. Zaznamenejte získanou propustnost u vzorku zředěného vína z tohoto grafu a stanovte odpovídající obsah draslíku C .

Obsah draslíku v mg na litr na nejbližší celé číslo bude $F \times C$, kde F je faktor zředění.

3.4.2 Opakovatelnost (r):

$r = 17 \text{ mg/l}$.

3.4.3 Reprodukovatelnost (R):

$R = 66 \text{ mg/l}$.

3.4.4 *Jiné způsoby vyjádření výsledků:*

V miliekvivalentech na litr: $0,0256 \times F \times C$.

V mg vinanu draselného na litr: $4,813 \times F \times C$.

28. HOŘČÍK

1. PRINCIP METODY

Hořčík se stanovuje přímo ve vhodně zředěném víně atomovou absorpční spektrofotometrií.

2. ČINIDLA

2.1 Koncentrovaný standardní roztok obsahující 1 g hořčíku na litr

Použijte standardní komerční roztok hořčíku (1 g/l). Tento roztok je možné připravit rozpuštěním 8,3646 g chloridu hořečnatého ($\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$) v destilované vodě a doplněním na 1 litr.

2.2 Zředěný standardní roztok obsahující 5 mg hořčíku na litr

Poznámka: Standardní roztoky hořčíku uchovávejte v polyetylenových lahvích.

3. VYBAVENÍ

3.1 Atomový absorpční spektrofotometr vybavený hořákem na vzduch a acetylen.

3.2 Hořčíková výbojka s dutou katodou.

4. POSTUP

4.1 Příprava vzorku

Víno zředíte destilovanou vodou 1:100.

4.2 Kalibrace

Do každé ze sady odměrných baněk o objemu 100 ml dejte 5, 10, 15 a 20 ml standardního roztoku hořčíku (2.2) a doplňte na 100 ml destilovanou vodou. Standardní roztoky tímto způsobem připravené obsahují po řadě 0,25, 0,50, 0,75 a 1,0 mg hořčíku na litr. Tyto roztoky je třeba uchovávat v polyetylenových lahvích.

4.3 Stanovení

Nastavte vlnovou délku na 285 nm. Vynulujte stupnici absorbance pomocí destilované vody. Nasajte zředěné víno přímo do hořáku spektrofotometru a po něm postupně standardní roztoky (4.2).

Odečtěte absorbance. Každé měření zopakujte.

5. VYJÁDRĚNÍ VÝSLEDKŮ

5.1 Metoda výpočtu

Znáznorněte graf udávající hodnoty absorbance jako funkci obsahu hořčíku v standardních roztocích. Zaznamenejte střední hodnotu absorbance získanou u zředěného vzorku vína na tomto grafu a stanovte obsah hořčíku C v miligramech na litr.

Obsah hořčíku v mg na litr vína na nejbližší celé číslo bude 100 C.

5.3 Opakovatelnost (r): $r = 3 \text{ mg/l.}$ **5.4 Reprodukovatelnost (R):** $R = 8 \text{ mg/l.}$

29. VÁPŇÍK

1. PRINCIP METODY

Vápník se stanovuje přímo ve vhodně zředěném víně atomovou absorpční spektrofotometrií po přidání činidla pro potlačení ionizace.

2. ČINIDLA

2.1 Standardní roztok obsahující 1 g vápníku na litr

Použijte standardní komerční roztok vápníku (1 g/l). Tento roztok je možné připravit rozpuštěním 2,5 g uhličitanu vápenatého, CaCO_3 , v množství HCl 1:10 (objemově), které postačuje k jeho úplnému rozpuštění, a doplněním na 1 litr destilovanou vodou.

2.2 Zředěný standardní roztok obsahující 50 mg vápníku na litr

Poznámka: Standardní roztoky vápníku uchovávejte v polyetylenových lahvích.

2.3 Roztok chloridu lanthanitého obsahující 50 g lanthanu na litr

Rozpusťte 13,369 g chloridu lanthanitého, $\text{LaCl}_3 \times 7\text{H}_2\text{O}$, v destilované vodě; přidejte 1 ml HCl zředěné 1:10 (objemově) a doplňte na 100 ml.

3. VYBAVENÍ

3.1 Atomový absorpční spektrofotometr vybavený hořákem na vzduch a acetylen.

3.2 Vápníková výbojka s dutou katodou.

4. POSTUP

4.1 Příprava vzorku

Do odměrné baňky o objemu 20 ml dejte 1 ml vína, 2 ml roztoku chloridu lanthanitého (2.3) a doplňte ke značce destilovanou vodou. Víno zředěné 1:20 obsahuje 5 g lanthanu na litr.

Poznámka:

Pro sladká vína je koncentrace 5 g lanthanu na litr postačující za předpokladu, že zředění nesníží obsah cukru pod 2,5 g na litr. Pro vína s vyšším obsahem cukru je třeba zvýšit obsah lanthanu na 10 g na litr.

4.2. Kalibrace

Do sady odměrných baněk o objemu 100 ml dejte 0, 5, 10, 15 a 20 ml zředěného standardního roztoku vápníku (2.2), do každé baňky přidejte 10 ml roztoku chloridu lanthanitého (2.3) a doplňte na 100 ml destilovanou vodou. Standardní roztoky tímto způsobem připravené obsahují po řadě 0, 2,5, 5,0, 7,5 a 10 mg vápníku na litr a každý obsahuje 5 g lanthanu na litr. Tyto roztoky je třeba uchovávat v polyetylenových lahvích.

4.3 Stanovení

Nastavte vlnovou délku na 422,7 nm. Vynulujte stupnici absorbance pomocí roztoku obsahujícího 5 g lanthanu na litr (4.2). Nasajte zředěné víno přímo do hořáku spektrofotometru a po něm postupně pět standardních roztoků (4.2). Odečtěte absorbance. Každé měření zopakujte.

5. VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ

5.1 **Metoda výpočtu**

Znázorněte graf udávající hodnoty absorbance jako funkci obsahu vápníku v standardních roztocích.

Zaznamenejte střední hodnotu absorbance získanou u zředěného vzorku vína na tomto grafu a stanovte obsah vápníku C. Obsah vápníku v miligramech na litr vína na nejbližší celé číslo bude 20 C.

5.2 **Opakovatelnost (r):**

Obsah < 60 mg/l: $r = 2,7 \text{ mg/l}$.

Obsah > 60 mg/l: $r = 4 \text{ mg/l}$

5.3 **Reprodukovatelnost (R):**

$R = 0,114 x_i - 0,5$.

x_i = obsah ve vzorku v mg/l.

30. ŽELEZO

1. PRINCIP METOD

Referenční metoda

Po vhodném zředění vína a odstranění alkoholu se železo stanovuje přímo atomovou absorpční spektrofotometrií.

Obvyklá metoda

Po vyluhování v 30 % roztoku peroxidu vodíku se celkové železo, nyní ve stavu Fe(III), redukuje na Fe(II) a stanovuje se pomocí zbarvení vytvářeného ortofenantrolinem.

2. REFERENČNÍ METODA

2.1 Činidla

2.1.1 Koncentrovaný standardní roztok železa obsahující 1 g Fe(III) na litr.

Použijte standardní roztok železa (1 g/l). Tento roztok se může připravit rozpuštěním 8,6341 g síranu amonného železitého ($\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) v destilované vodě mírně okyselené 1M kyselinou chlorovodíkovou a doplněním na jeden litr.

2.1.2 Zředěný standardní roztok železa obsahující 100 mg železa na litr.

2.2 Vybavení

2.2.1 Rotační odparka s termostaticky řízenou vodní lázní.

2.2.2 Atomový absorpční spektrofotometr vybavený hořákem vzduch-acetylén.

2.2.3 Železná výbojka s dutou katodou.

2.3 Postup

2.3.1 Příprava vzorku

Pomocí rotační odparky (50 až 60 °C) z vína odstraňte alkohol snížením objemu vzorku na polovinu jeho původního objemu. Doplněte destilovanou vodou na původní objem.

V případě potřeby před stanovením zřeďte.

2.3.2 Kalibrace

Do sady odměrných baněk o objemu 100 ml dejte postupně 1, 2, 3, 4 a 5 ml roztoku obsahujícího 100 mg železa na litr (2.1.2) a doplňte na 100 ml destilovanou vodou. Roztoky tímto způsobem připravené obsahují 1, 2, 3, 4 a 5 mg železa.

Tyto roztoky je třeba uchovávat v polyetylenových láhvích.

2.3.3 Stanovení

Nastavte vlnovou délku na 248,3 nm. Stupnici absorbance vynulujte destilovanou vodou. Nasajte zředěný vzorek přímo do hořáku spektrofotometru a po něm postupně standardní roztoky (2.3.2). Odečtěte ab-

sorbance. Každé měření zopakujte.

2.4 Vyjádření výsledků

2.4.1 Metoda výpočtu

Znáznorněte graf udávající hodnoty absorbance jako funkci obsahu železa v standardních roztocích. Na tomto grafu zaznamenejte střední hodnotu absorbance získané se zředěným vzorkem vína a stanovte obsah železa C .

Obsah železa v mg na litr vína na jedno desetinné místo bude $F \times C$, kde F je faktor zředění.

3. OBVYKLÁ METODA

3.1 Činidla

3.1.1 Peroxid vodíku, H_2O_2 , 30 % (hmotnost/objem) roztok, bez obsahu železa.

3.1.2 1M kyselina chlorovodíková, bez obsahu železa.

3.1.3 Hydroxid amonný, ($\rho_{20} = 0,92$ g/ml).

3.1.4 Zrnka pemzového kamene upravená vařícím roztokem kyseliny chlorovodíkové (1:2) a opláchnutá destilovanou vodou.

3.1.5 Roztok hydrochinonu, $C_6H_6O_2$, 2,5 %, okyselený 1 ml koncentrované kyseliny sírové ($\rho_{20} = 1,84$ mg/l) na 100 ml roztoku. Tento roztok se musí uchovávat ve žluté láhvi v lednici a zlikvidovat i při nejslabším příznaku tmavnutí.

3.1.6 Roztok siřičitanu sodného, Na_2SO_3 , 20 %, připravený z neutrálního bezvodého siřičitanu sodného.

3.1.7 Roztok ortofenantrolinu, $C_{12}H_8N_2$, 0,5 % v 96 % alkoholu (obj.)

3.1.8 Roztok octanu amonného, CH_3COONH_4 , 20 % (hmotnost/objem).

3.1.9 Roztok Fe(III) s 1 g železa na litr. Přednostně se používá komerční roztok. Alternativně je možné připravit roztok Fe(III) 1 000 mg/l rozpuštěním 8,6341 g síranu železito-amonného ($FeNH_4(SO_4)_2 \times 12H_2O$) ve 100 ml 1M kyseliny chlorovodíkové a doplněním kyselinou chlorovodíkovou (3.1.2) na jeden litr.

3.1.10 Zředěný standardní roztok železa s obsahem 100 miligramů železa na litr.

3.2 Vybavení

3.2.1 Kjeldahlova baňka, 100 ml.

3.2.2 Spektrofotometr, který umožňuje provádět měření při vlnové délce 508 nm.

3.3 Postup

3.3.1 Vyluhování

3.3.2 Pro vína s obsahem cukru menším než 50 g/l:

Do Kjeldahlovy baňky o objemu 100 ml dejte 25 ml vína, 10 ml roztoku peroxidu vodíku (3.1.1) a několik zrněk pemzy (3.1.4). Směs zahustěte na objem 2 až 3 ml.

Nechte zchladnout a ke zbytku přidejte (přitom dávejte pozor, abyste nenavlhčili stěny baňky) dostatečné množství hydroxidu amonného (3.1.3), aby vznikla alkalická kapalina a veškeré hydroxidy se vysrážely.

Po zchladnutí přidejte k alkalické kapalině 1M kyselinu chlorovodíkovou (3.1.2) v dostatečném množství, aby rozpustila vysrážené hydroxidy a získaný roztok převedte do odměrné baňky o objemu 100 ml. Kjeldahlovu baňku vypláchněte kyselinou chlorovodíkovou (3.1.2), výplach přidejte do odměrné baňky a doplňte objem na 100 ml.

3.3.1.2 Pro mošty a vína s obsahem cukru větším než 50 g/l:

3.3.1.2.1 Pokud je obsah cukru mezi 50 a 200 mg/l, 25 ml vzorku vína () se upraví 20 ml roztoku peroxidu vodíku (3.1.1).

Postupujte podle bodu 3.3.1.1.

3.3.1.2.2 Pokud je obsah cukru větší než 200 g/l, vzorky vína je nutné před zkoumáním podle bodu 3.3.1.2.1. zředit 1:2, případně 1:4.

3.3.2 Slepý pokus

Proveďte slepý pokus s destilovanou vodou s použitím stejného objemu roztoku peroxidu vodíku (3.1.1) jako pro vyluhování a postupujte podle bodu 3.3.1.1.

3.3.3 Stanovení

Do dvou samostatných odměrných baněk o objemu 50 ml dejte 20 ml roztoku kyseliny chlorovodíkové připraveného podle (3.3.1.1) a 20 ml roztoku kyseliny chlorovodíkové ze „slepého experimentu“ (3.3.2). Do každé baňky přidejte 2 ml roztoku hydrochinonu (3.1.5), 2 ml roztoku siřičitanu (3.1.6) a 1 ml roztoku ortofenantrolinu (3.1.7). Nechte stát po dobu 15 minut. Během této doby se Fe(III) redukuje na Fe(II). Přidejte 10 ml roztoku octanu amonného (3.1.8), doplňte na 50 ml destilovanou vodou a obě baňky protřepejte. Roztok pocházející ze slepého experimentu použijte k nastavení nuly na absorbanční stupnici při 508 nm a změřte absorbanci stanovovaného roztoku při stejné vlnové délce.

3.3.4 Kalibrace

Do sady odměrných baněk o objemu 50 ml dejte 0,5, 1, 1,5 a 2 ml roztoku o koncentraci 100 mg železa na litr (3.1.10) a ke každé přidejte 20 ml destilované vody. Proveďte postup popsáný v 3.3.3. a změřte absorbanci každého z těchto připravených standardních roztoků, které postupně obsahují 50, 100, 150 a 200 mikrogramů železa.

3.4 Vyjádření výsledků

3.4.1 Metoda výpočtu

Znáznorněte graf udávající hodnoty absorpance jako funkci obsahu železa v standardních roztocích. Absorbanci získanou u zkoumaného roztoku zaznamenejte a vypočítejte obsah železa C ve vzorku 20 ml kyseliny chlorovodíkové připraveného vyluhováním, tj. v 5 ml vzorku analyzovaného vína.

Obsah železa v miligramech na litr vína na jedno desetinné místo bude 200 C.

Pokud bylo víno (nebo mošt) zředěno, obsah železa v miligramech na litr na jedno desetinné místo bude $F \times C$, kde F je faktor zředění.

31. MĚĎ

1. PRINCIP METODY

Metoda je založena na použití atomové absorpční spektrofotometrie.

2. VYBAVENÍ

2.1 Platinová miska.

2.2 Atomový absorpční spektrofotometr.

2.3 Měděná výbojka s dutou katodou.

2.4 Přívod plynu: vzduch-acetylén nebo oxid dusný-acetylén

3. ČINIDLA

3.1 Měděný kov.

3.2 Kyselina dusičná, HNO_3 , koncentrovaná 65 %, $\rho_{20} = 1,38 \text{ mg/l}$.

3.3 Zředěná kyselina dusičná, 1:2 (objemově).

3.4 Roztok obsahující měď, 1 g/l

Použijte standardní komerční roztok mědi. Tento roztok je možné připravit odvážením 1,000 g kovové mědi a jejím přenesením bez ztráty do odměrné baňky o objemu 1 000 ml. Přidejte kyselinu dusičnou (3.3) zředěnou 1:2 (objemově) v množství právě postačujícímu k rozpuštění kovu, přidejte 10 ml koncentrované kyseliny dusičné (3.2) a doplňte až ke značce dvakrát destilovanou vodou.

3.5 Roztok obsahující měď 100 mg/l.

Do odměrné baňky o objemu 100 ml dejte 10 ml roztoku připraveného podle 3.4 a doplňte až ke značce dvakrát destilovanou vodou.

4. POSTUP

4.1 Příprava vzorku a stanovení mědi

V případě požadavku připravte roztok vhodně zředěný dvakrát destilovanou vodou.

4.2 Kalibrace

Do odměrných baněk o objemu 100 ml napipetujte 0,5, 1 a 2 ml roztoku 3.5. (100 mg mědi na litr) a doplňte na objem dvakrát destilovanou vodou; takto získané roztoky obsahují postupně 0,5, 1 a 2 mg mědi na litr.

4.3 Změřte absorbanci při 324,8 nm. Nastavte nulu dvakrát destilovanou vodou. Změřte přímo absorbanci po sobě jdoucích standardních roztoků připravených v 4.2. Proveďte dvakrát.

5. VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ

5.1 Metoda výpočtu

Znáznorněte graf udávající hodnoty absorpance jako funkci obsahu mědi v standardních roztocích.

Pomocí změřené absorpance vzorků z kalibrační křivky odečtěte obsah C v mg/l.

Pokud F je faktor zředění, obsah přítomné mědi je dán v miligramech na litr součinem $F \times C$. Uvádí se na dvě desetinná místa.

Poznámky:

- a) Zvolte roztoky pro stanovení kalibrační křivky a zředění vzorku odpovídají citlivosti použitého přístroje a obsah mědi přítomné ve vzorku.
- b) Při očekávání velmi malého obsahu mědi v analyzovaném vzorku postupujte takto. Na platinovou misku dejte 100 ml vzorku a odpařujte ho na vodní lázni při teplotě 100 °C, dokud nebude sirupovitý. Přidávejte po kapkách 2,5 ml koncentrované kyseliny dusičné (3.2), dokud nepokryje plně dno misky. Opatrně zpopelněte zbytek na elektrické vyhřívané plotýnce nebo nad nízkým plamenem; pak misku dejte do muflové pece nastavené na 500 ± 25 °C a nechte zde asi jednu hodinu. Po ochlazení zvlhčete popel 1 ml koncentrované kyseliny dusičné (3.2), za současného drcení skleněnou tyčinkou; nechte směs odpařovat a zpopelněte jako předtím. Dejte misku opět do muflové pece na 15 minut; toto působení kyselinou dusičnou opakujte alespoň třikrát. Popel rozpust'ete přidavkem 1 ml koncentrované kyseliny dusičné (3.2.) a 2 ml dvakrát destilované vody a obsah přemístěte do odměrné baňky o objemu 10 ml. Misku třikrát vypláchněte, vždy 2 ml dvakrát destilované vody. Nakonec doplňte na plný objem dvakrát destilovanou vodou.

32. KADMIUM**1. PRINCIP**

Kadmium se stanovuje přímo ve víně neplamenovou atomovou absorpční spektrofotometrií.

2. VYBAVENÍ

Veškeré sklo se musí před užitím umýt v koncentrované kyselině dusičné zahřáté na 70 až 80 °C a opláchnout v dvakrát destilované vodě.

2.1 Atomový absorpční spektrofotometr vybavený grafitovou pecí, korekcí na pozadí a multipotenciometrem.

2.2 Kadmiová výbojka s dutou katodou.

2.3 Mikropipety 5 µl se speciálními špičkami pro měření atomovou absorpcí.

3. ČINIDLA

Použitá voda musí být dvakrát destilovaná pomocí borokřemičitanového skla nebo musí být obdobné čistoty. Veškerá činidla musejí být uznané analytické kvality, a zejména nesmějí obsahovat kadmium.

3.1 85 % kyselina fosforečná ($\rho_{20} = 1,71$ g/ml).

3.2 Roztok kyseliny fosforečné získaný zředěním 8 ml kyseliny fosforečné ve vodě na objem 100 ml.

3.3 0,02M roztok sodné soli kyseliny ethylendiaminotetraoctové (EDTA).

3.4 Tlumivý roztok pH 9: v odměrné baňce o objemu 100 ml rozpust'ete 5,4 g chloridu amonného v několika mililitrech vody, přidejte 35 ml roztoku hydroxidu amonného ($\rho_{20} = 0,92$ g/ml) zředěného na 25 % (objemově) a doplňte vodou na 100 ml.

3.5 Eriochromová čern' T: 1 % směs (hmotnostně) s práškovým chloridem sodným.

3.6 Síran kademnatý ($\text{CdSO}_4 \times 8\text{H}_2\text{O}$).

Obsah síranu kademnatého se určí takto:

Odvažte přesně 102,6 mg vzorku síranu kademnatého do válcové nádoby s trochou vody a protřepejte, dokud se nerozpustí; přidejte 5 ml tlumivého roztoku pH 9 a přibližně 20 mg eriochromové černě T. Titrujte roztokem EDTA, dokud indikátor nezačne modrat.

Objem přidané kyseliny EDTA musí být roven 20 ml. Pokud se tento objem mírně liší, upravte podle toho odváženou zkušební dávku síranu kademnatého použitého při přípravě standardního roztoku.

3.7 Standardní roztok kadmia, 1 g na litr.

Použijte standardní roztok komerční kvality. Tento roztok je možné získat rozpuštěním 2,2820 g síranu kademnatého ve vodě a doplněním na jeden litr. Roztok uchovávejte v láhvi z borokřemičitanového skla se zabroušenou skleněnou zátkou.

4. POSTUP**4.1 Příprava vzorku**

Víno zředěte 1:2 (objemově) roztokem kyseliny fosforečné.

4.2 Příprava kalibrační řady roztoků

Pomocí standardního roztoku kadmia připravte po řadě roztoky obsahující 2,5, 5, 10 a 15 µg kadmia na litr

4.3 Stanovení**4.3.1 Programování pece (pouze orientačně):**

Sušení při 100 °C po dobu 30 sekund.

Mineralizace při 900 °C po dobu 20 sekund

Atomizace při 2 250 °C po dobu 2 až 3 sekundy

Proud dusíku (proplachovací plyn): 6 litrů/min.

Poznámka: Na konci postupu zvýšte teplotu na 2 700 °C k vyčištění pece.

4.3.2 Měření

Zvolte vlnovou délku 228,8 nm. Nastavte nulu na absorpční stupnici dvakrát destilovanou vodou. Pomocí mikropipety do pece zaveďte tři dávky o objemu 5 µl každého z roztoků v kalibrační řadě i analyzovaného roztoku. Zaznamenejte změřené absorbance. Z výsledků pro tři dávky vypočítejte střední hodnotu absorbance.

5. VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ**5.1 Metoda výpočtu**

Nakreslete křivku hodnot absorbance jako funkci obsahu kadmia v roztocích v kalibrační řadě. Závislost je lineární. Na kalibrační křivce zadejte střední hodnotu absorbance roztoku vzorku a odvoďte z ní obsah kadmia C. Obsah kadmia vyjádřený v mikrogramech na litr vína se rovná:

2 C.

33. STŘÍBRO

1. PRINCIP METODY

Metoda je založena na použití atomové absorpční spektrofotometrie po zpopelnění vzorku.

2. VYBAVENÍ

2.1 Platinová miska

2.2 Vodní lázeň termostaticky řízená na 100 °C.

2.3 Pec řízená na 500 až 525 °C.

2.4 Atomový absorpční spektrofotometr.

2.5 Stříbrná výbojka s dutou katodou.

2.6 Přívod plynů: vzduch, acetylén

3. ČINIDLA

3.1 Dusičnan stříbrný, AgNO_3 .

3.2 Kyselina dusičná HNO_3 , koncentrovaná 65 %, $\rho_{20} = 1,38 \text{ g/ml}$.

3.3 Zředěná kyselina dusičná, 1:10 (objemově).

3.4 Roztok obsahující stříbro, 1 g/l.

Použijte standardní komerční roztok stříbra.

Tento roztok lze připravit rozpuštěním 1,575 g dusičnanu stříbrného ve zředěné kyselině dusičné a doplněním na objem 1 000 ml zředěnou kyselinou dusičnou (3.3).

3.5 Roztok obsahující stříbro, 10 mg/l.

10 ml roztoku připraveného postupem v 3.4 se zředí na 1 000 ml zředěnou kyselinou dusičnou.

4. POSTUP

4.1 Příprava vzorku

Do platinové misky dejte 20 ml vzorku a odpařuje do sucha nad varnou vodní lázní. Zpopelněte v peci při 500 až 525 °C. Bílý popel navlhčete 1 ml koncentrované kyseliny dusičné (3.2). Odpařte nad varnou vodní lázní, znovu přidejte 1 ml kyseliny dusičné (3.2) a odpařte podruhé. Přidejte 5 ml zředěné kyseliny dusičné (3.3) a mírně zahřívejte až do rozpuštění.

4.2 Kalibrace

Do sady odměrných baněk o objemu 100 ml napipetujte 2, 4, 6, 8, 10 a 20 ml roztoku 3.5 (100 mg stříbra na litr) a doplňte až ke značce zředěnou kyselinou dusičnou (3.3); takto získané roztoky obsahují po řadě 0,20, 0,40, 0,60, 0,80, 1,0 a 2,0 mg stříbra na litr.

4.3 Nastavte vlnovou délku na 328,1 nm. Nastavte nulu pomocí dvakrát destilované vody. Změřte postupně přímo absorbanci standardních roztoků připravených v 4.2. Proveďte dvakrát.

5. VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ

5.1 **Metoda výpočtu.**

Znázorněte graf udávající hodnoty absorbance jako funkci obsahu stříbra v standardních roztocích.

Pomocí změřené absorbance vzorku odečtete z kalibrační křivky obsah C v mg/l.

Obsah stříbra ve víně se udává v miligramech na litr součinem $0,25 C$. Uvádí se na dvě desetinná místa.

Poznámka:

Zvolte koncentraci roztoků pro přípravu kalibrační křivky, objem odebraného vzorku a konečný objem kapaliny úměrně citlivosti používané aparatury.

34. ZINEK

1. PRINCIP METODY

Po odstranění alkoholu se zinek určuje přímo ve víně atomovou absorpční spektrofotometrií.

2. ČINIDLA

Voda používaná v aparatuře z borokřemičitananového skla musí být dvakrát destilovaná nebo být obdobné čistoty.

2.1 Standardní roztok obsahující 1 g zinku na litr:

Použijte komerční standardní roztok zinku. Tento roztok se může připravit rozpuštěním 4,3975 g síranu zinečnatého ($\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$) ve vodě a doplněním objemu na jeden litr

2.2 Zředěný standardní roztok obsahující 100 mg zinku na litr.

3. VYBAVENÍ

3.1 Rotační odparka s termostaticky řízenou vodní lázní.

3.2 Atomový absorpční spektrofotometr vybavený hořákem na vzduch a acetylen.

3.3 Zinková výbojka s dutou katodou.

4. POSTUP

4.1 Příprava vzorku

Ze 100 ml vína odstraňte pomocí rotační odparky (50 až 60 °C) alkohol snížením objemu vzorku na polovinu jeho původního objemu. Doplněte na původní objem 100 ml dvakrát destilovanou vodou.

4.2 Kalibrace

Do sady odměrných baněk o objemu 100 ml dejte 0,5, 1, 1,5 a 2 ml roztoku obsahujícího 100 mg zinku na litr (2.2) a doplňte ke značce dvakrát destilovanou vodou. Roztoky tímto způsobem připravené po řadě obsahují 0,5, 1, 1,5 a 2 mg zinku na litr.

4.3 Stanovení

Nastavte vlnovou délku na 213,9 nm. Stupnici absorbance vynulujte pomocí dvakrát destilované vody. Přímo do hořáku spektrofotometru nasávejte víno a po něm postupně čtyři standardní roztoky. Odečtěte absorbance. Každé měření opakujte.

5. VYJÁDRĚNÍ VÝSLEDKŮ

5.1 Metoda výpočtu

Znázorněte graf udávající hodnoty absorbance jako funkci obsahu zinku v standardních roztocích. Na tomto grafu zaznamenejte střední hodnotu absorbance získanou se zředěným vzorkem vína a stanovte obsah zinku na jedno desetinné místo.

35. OLOVO**1. PRINCIP**

Olovo se stanovuje přímo ve víně neplamenovou atomovou absorpční spektrofotometrií.

2. VYBAVENÍ

Veškeré sklo se musí před použitím umýt v koncentrované kyselině dusičné zahřáté na 70 až 80 °C a opláchnout ve dvakrát destilované vodě.

2.1 Atomový absorpční spektrofotometr vybavený grafitovou pecí, nespecifickou korekcí absorpce a multipotenciometrem.

2.2 Olověná výbojka s dutou katodou.

2.3 Mikropipety, 5 µl, se speciálními špičkami pro atomová absorpční měření.

3. ČINIDLA

Veškerá činidla musejí být uznané analytické kvality a zejména nesmí obsahovat olovo. Používaná voda musí být dvakrát destilovaná pomocí aparatury z borokřemičitanového skla nebo musí být obdobné kvality.

3.1 85 % kyselina fosforečná ($\rho_{20} = 1,71$ g/ml).

3.2 Roztok kyseliny fosforečné získaný zředěním 8 ml kyseliny fosforečné vodou na 100 ml.

3.3 Kyselina dusičná ($\rho_{20} = 1,38$ g/ml).

3.4 Roztok olova, 1g na litr.

Použijte standardní komerční roztok. Tento roztok se může získat rozpuštěním 1,600 g dusičnanu olovnatého $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ v kyselině dusičné zředěné na 1 % (objemově) a doplněním na jeden litr. Roztok uchovávejte v láhvi z borokřemičitanového skla se zabroušenou skleněnou zátkou.

4. POSTUP**4.1 Příprava vzorku**

Víno zředíte 1:2 nebo 1:3 roztokem kyseliny fosforečné v závislosti na předpokládané koncentraci olova.

4.2 Příprava kalibrační řady roztoků

Pomocí standardního roztoku olova připravte po řadě roztoky s titry 2,5, 5, 10 a 15 µg olova na litr zředěním dvakrát destilovanou vodou.

4.3 Stanovení**4.3.1 Programování pece (pouze orientačně):**

Sušení při 100 °C po dobu 30 sekund

Mineralizace při 900 °C po dobu 20 sekund

Atomizace při 2 250 °C po dobu 2 až 3 sekund

Proud dusíku (proplachovací plyn): 6 litrů/min.

Poznámka: Na závěr zvýšte teplotu na 2 700 °C k vyčištění pece.

4.3.2 Měření

Zvolte vlnovou délku 217 nm. Na stupnici absorbance nastavte nulu dvakrát destilovanou vodou. Pomocí mikropipety dejte do naprogramované pece tři pětimililitrové dávky každého z roztoků v kalibrační řadě a analyzovaného vzorku roztoku. Zaznamenejte změřené absorbance. Z výsledků pro tyto tři dávky vypočítejte střední hodnotu absorbance.

5. VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ

5.1 Metoda výpočtu

Nakreslete křivku hodnot absorbance jako funkci obsahu olova v kalibrační řadě. Závislost je lineární. Střední hodnotu absorbance roztoku vzorku přeneste na kalibrační křivku a odvoďte z ní obsah olova C . Obsah olova vyjádřený v mikrogramech na litr vína se rovná:

$$C \times F$$

kde F = faktor zředění.

36. FLUORIDY

1. PRINCIP

Obsah fluoridů ve víně přidaném k tlumivému roztoku se stanoví pomocí selektivní elektrody s pevnou membránou. Změřený potenciál je úměrný logaritmu aktivity fluoridových iontů ve zkoumaném prostředí v souladu s rovnicí:

$$(1) E = E_0 \pm S \log a_F$$

kde

E = potenciál iontové selektivní elektrody měřený ve vztahu k referenční elektrodě ve zkoumaném prostředí

E_0 = standardní potenciál čidla

S = strmost iontové selektivní elektrody (Nernstův faktor). Při 25 °C je teoretická strmost rovná 59,2 mV

a_F = aktivita fluoridových iontů ve zkoumaném roztoku.

2. VYBAVENÍ

2.1 Fluoridová iontově selektivní elektroda s krystalovou membránou

2.2 Referenční elektroda (kalomelová nebo Ag/AgCl).

2.3 Milivoltmetr (pH-metr s prodlouženou elektrodou v milivoltech), s přesností na 0,1 mV.

2.4 Magnetická míchačka s izolační destičkou chránící zkoumaný roztok před teplem z motoru. Míchací nádoba je pokryta plastem (polyetylénem nebo obdobným materiálem).

2.5 Plastové kádinky s kapacitou 30 nebo 50 ml a plastové lahvičky (polyetylén nebo obdobný materiál).

2.6 Přesné pipety (pipety se stupnicí v mikrolitrech nebo jakékoli obdobné pipety).

3. ČINIDLA

3.1 Zásobní roztok fluoridů, 1 g /ml.

Použijte standardní komerční roztok 1 g/l. Tento roztok se může připravit rozpuštěním 2,210 g fluoridu sodného (vysoušeného po dobu tří až čtyř hodin při teplotě 105 °C) v destilované vodě. Doplňte destilovanou vodou na jeden litr. Roztok se uchovává v plastové láhvi.

3.2 Standardní fluoridové roztoky příslušné koncentrace se připravují rozpuštěním zásobního roztoku destilovanou vodou a uchovávají se v plastových lahvích. Roztoky s obsahem fluoridů řádově v mg/l se nesmějí připravovat předem.

3.3 Tlumivý roztok, pH 5,5.

K vodě (přibližně 50 ml) se přidá 10 g kyseliny trans-1,2-diaminocyklohexantetraoctové (CDTA); přidejte roztok obsahující 58 g chloridu sodného a 29,4 g citrátu trojsodného v 700 ml destilované vody. CDTA se rozpustí přidáním přibližně 6 ml 32 % roztoku (hmotnost/objem) hydroxidu sodného.

Nakonec přidejte 57 ml kyseliny octové ($p_{20} = 1,05$ g/ml) upravte pH na 5,5 32 % roztokem hydroxidu sodného (asi 45 ml). Ponechte zchladnout a doplňte destilovanou vodou na jeden litr.

4. POSTUP

Úvodní poznámka:

Je třeba dávat pozor, aby všechny roztoky zůstávaly během měření při teplotě 25 °C (± 1 °C). (Odchylka větší než 1 °C způsobuje změnu asi 0,2 mV.)

4.1 **Přímá metoda**

Do plastické kádinky dejte definovaný objem vína se stejným objemem tlumivého roztoku.

Roztok se stejnoměrně a mírně promíchává. Když je indikátor stabilní (stability je dosaženo, když se potenciál nemění více než 0,2 až 0,3 mV za tři minuty), odečtěte hodnotu potenciálu v mV.

4.2 **Metoda známých přísad**

Za stálého míchání přidejte ke zkoumanému roztoku pomocí přesné pipety známý objem standardního fluoridového roztoku. Když je indikátor stabilní, odečtěte hodnotu potenciálu v mV.

Koncentrace přidávaného standardního roztoku se volí takto:

- a) zdvojnásobit nebo ztrojnásobit koncentraci fluoridů v analyzovaném médiu;
- b) objem zkoumaného roztoku musí zůstat prakticky konstantní (zvýšení objemu o 1 % nebo méně)

(Podmínka b) zjednodušuje výpočty, viz bod 5.)

Přibližná koncentrace zkoumaného roztoku se odečítá na kalibrační čáře nakreslené na semilogaritmické stupnici se standardními fluoridovými roztoky obsahujícími 0,1, 0,2, 0,5, 1,0, 2,0 mg/l fluoru.

Poznámka:

Pokud přibližná koncentrace zkoumaného roztoku přesahuje koncentraci standardních roztoků, vzorek zřeďte.

Příklad:

Pokud je přibližný obsah fluoridů ve zkoumaném roztoku (objem 20 ml) 0,25 mg/l F⁻, koncentrace se musí zvýšit o 0,25 mg/l. K tomu účelu použijte příslušnou pipetu a přidejte např. 0,20 ml (= 1 %) standardního roztoku obsahujícího 25 mg/l F⁻ nebo 0,050 ml standardního roztoku se 100 mg/l F⁻.

5. VÝPOČTY

Obsah fluoridů ve zkoumaném roztoku vyjádřený v mg/l se získá použitím následujícího vzorce:

$$C_F = \frac{V_a \times C_a}{V_o} \times \frac{1}{(\text{antilog } \Delta E/S) - 1}$$

C_F = koncentrace fluoridů ve zkoumaném roztoku (mg/l);

C_a = koncentrace fluoridů (mg/l) přidávaných ke zkoumanému roztoku (V_a);

V_o = počáteční objem zkoumaného roztoku před přetížením (ml);

V_a = objem přetíženého roztoku (ml);

ΔE = rozdíl mezi potenciály E_1 a E_2 získanými v bodech 4.1 a 4.2 (mV);

S = strmost elektrody ve zkoumaném roztoku.

Pokud je hodnota V_a velmi blízká hodnotě V_o (viz. 4.2), použije se následující zjednodušený vzorec :

$$C_F = C_a \times \frac{1}{(\text{antilog } \Delta E/S) - 1}$$

Získaná hodnota se musí vynásobit faktorem zředění vyplývajícím z přidání tlumivého roztoku.

37. OXID UHLIČITÝ

1. PRINCIP METOD

1.1 Referenční metoda

1.1.1 Tichá vína (přetlak $\text{CO}_2 \leq 0,5 \times 10^5 \text{ Pa}$) ⁽¹⁾

Objem vína odebraného ze vzorku se ochladí na asi 0 °C a smíchá s dostatečným množstvím hydroxidu sodného tak, aby výsledné pH bylo 10 až 11. Titrace se provádí roztokem kyseliny v přítomnosti karbonát-dehydrázy. Obsah oxidu uhličitého se vypočítá z objemu kyseliny potřebné ke změně pH z 8,6 (hydrogenuhlíčanová forma) na 4,0 (kyselina uhličitá). Ve stejných podmínkách se provede srovnávací titrace ve víně s odstraněným oxidem uhličitým, aby se zohlednil objem roztoku hydroxidu sodného spotřebovaný kyselinami ve víně.

1.1.2 Šumivá a perlivá vína

Vzorek zkoumaného vína se ochladí na teplotu blízkou bodu mrazu. Po odebrání množství, které se použije jako srovnávací vzorek po odstranění oxidu uhličitého, se zbytek láhve zalkalizuje, aby se veškerý oxid uhličitý vázal ve formě Na_2CO_3 . Titrace se provádí roztokem kyseliny v přítomnosti karbonát-dehydrázy. Obsah oxidu uhličitého se vypočítá z objemu kyseliny potřebné ke změně pH z 8,6 (hydrogenuhlíčanová forma) na 4,0 (kyselina uhličitá). Ve stejných podmínkách se provede srovnávací titrace ve víně s odstraněným oxidem uhličitým, aby se zohlednil objem roztoku hydroxidu sodného spotřebovaný kyselinami ve víně.

1.2 Obvyklá metoda: šumivá a perlivá vína

Manometrická metoda: přetlak oxidu uhličitého se měří přímo v láhvi pomocí afrometru.

2. REFERENČNÍ METODA

2.1 Tichá vína (přetlak $\text{CO}_2 \leq 0,5 \times 10^5 \text{ Pa}$)

2.1.1 Vybavení

2.1.1.1 Magnetická míchačka

2.1.1.2 pH-metr

2.1.2 Činidla

2.1.2.1 Roztok hydroxidu sodného, NaOH, 0,1M

2.1.2.2 Roztok kyseliny sírové, H_2SO_4 , 0,05M

2.1.2.3 Roztok karbonát-dehydrázy, 1 g/l

2.1.3 Postup

Vzorek vína ochlaďte na přibližně 0 °C spolu 10 ml pipetou používanou pro vzorkování.

Do kádinky o objemu 100 ml dejte 25 ml roztoku hydroxidu sodného (2.1.2.1.); přidejte dvě kapky vodného roztoku karbonát-dehydrázy (2.1.2.3). Pipetou ochlazenou na 0 °C přidejte 10 ml vína.

⁽¹⁾ 10^5 pascal (Pa) = 1 bar.

Kádinku dejte na magnetickou míchačku, zaveďte pH elektrodu a mírně míchejte.

Když kapalina dosáhla laboratorní teploty, pomalu titrujte roztokem kyseliny sírové (2.1.2.2), dokud pH nedosáhne hodnoty 8,6. Poznamenejte údaj na byretě.

Pokračujte v titraci kyselinou sírovou (2.1.2.2), dokud pH nedosáhne hodnoty 4,0. Nechť n je objem použitý mezi pH 8,6 a 4,0.

Ze vzorku vína o objemu přibližně 50 ml odstraňte CO_2 mícháním ve vakuu po dobu tří minut, přičemž se baňka zahřívá ve vodní lázni asi na 25 °C.

Proveďte výše uvedený postup na 10 ml vína s odstraněným oxidem uhličitým. Nechť n je použitý objem.

2.1.4 Vyjádření výsledků

1 ml titračního 0,1M roztoku hydroxidu sodného odpovídá 4,4 mg CO_2 .

Množství CO_2 v gramech na litr je dáno vzorcem:

$$0,44 (n - n')$$

Udává se na dvě desetinná místa.

Poznámka:

V případě, že víno obsahuje málo CO_2 ($\text{CO}_2 < 1 \text{ g/l}$), není nutné přidávat karbonát — dehydrázu za účelem katalýzy hydratace CO_2 .

2.2 Šumivá a perlivá vína

2.2.1 Vybavení

2.2.1.1 Magnetická míchačka

2.2.1.2 pH-metr

2.2.2 Činidla

2.2.2.1. Roztok hydroxidu sodného, NaOH, 50 % hmotnostních

2.2.2.2. Roztok kyseliny sírové, H_2SO_4 , 0,05M

2.2.2.3. Roztok karbonát-dehydrázy, 1 g/l

2.2.3. Postup

Označte hladinu vína v láhvi a pak ho ochlazujte, až začne mrznout. Nechte láhev mírně zahřát při současném protřepávání, dokud nezmizí ledové krystalky. Odstraňte rychle zátku a do odměrného válce dejte 45 až 50 ml vína pro srovnávací titraci. Přesný odebraný objem v ml se určí odečtením na válci, jakmile se obnoví pokojová teplota.

İhned po odběru srovnávacího vzorku přidejte do láhve o kapacitě 750 ml 20 ml roztoku hydroxidu sodného (2.2.2.1).

Počkejte, dokud víno nedosáhne pokojové teploty.

Do kádinky o objemu 100 ml dejte 30 ml převařeně destilované vody a dvě kapky roztoku karbonát-dehydrázy (2.2.2.3). Přidejte 10 ml vína, které bylo zalkalizováno. Kádinku dejte na magnetickou míchačku, zaveďte elektrodu a mírně míchejte.

Titrujte pomalu roztokem kyseliny sírové (2.2.2.2), dokud pH nedosáhne hodnoty 8,6. Poznamenejte údaj na byretě.

Pokračujte v titraci kyselinou sírovou (2.2.2.2), dokud pH nedosáhne hodnoty 4,0. Necht' n je objem použitý mezi pH 8,6 a 4,0.

Ze vzorku vína o objemu přibližně 50 ml odstraňte CO_2 mícháním ve vakuu po dobu tří minut, přičemž se baňka zahřívá ve vodní lázni asi na 25 °C. Odeberte 10 ml vína zbaveného oxidu uhličitého a přidejte ke 30 ml převařeně destilované vody, přidejte dvě až tři kapky roztoku hydroxidu sodného (2.2.2.1) tak, aby hodnota pH byl 10 až 11. Necht' n mlje objem přidané 0,05M kyseliny sírové.

2.2.4 Vyjádření výsledků

1 ml 0,05M kyseliny sírové odpovídá 4,4 mg CO_2 .

Vyprázdněte láhev zalkalizovaného vína a stanovte s přesností na 1 ml počáteční objem vína jeho doplněním vody až ke značce, řekněme V ml.

Množství CO_2 v gramech na litr je dáno následujícím vzorcem:

$$0,44(n - n') \times \frac{(V - v + 20)}{V - v}$$

Výsledek se uvádí na dvě desetinná místa.

2.3 Vyjádření výsledků

Přetlak při 20 °C (P_{20}) vyjádřený v pascálech je dán vzorcem:

$$P_{20} = \frac{Q}{1,951 \times 10^{-5} (0,86 - 0,01A)(1 - 0,00144S)} - P_{\text{atm}}$$

kde

Q = obsah CO_2 v g/l vína,

A = obsah alkoholu ve víně při 20 °C,

S = obsah cukru ve víně v g/l,

P_{atm} : atmosférický tlak vyjádřený v pascálech.

3. OBVYKLÁ METODA, ŠUMIVÁ A PERLIVÁ VÍNA

3.1 Vybavení

3.1.1 Afrometr

Přístroj, který umožňuje měřit přetlak v lahvích šumivých a perlivých vín, se nazývá afrometr. Podle druhu uzávěru lahve (kovová kapsle, korunka, korková nebo plastová zátka) se používají různé afrometry. (viz obr. 1 a 2).

Mají stupnici v pascálech (Pa) ⁽¹⁾. Účelnější je jako jednotku používat 10^5 Pa nebo kilopascal (kPa).

⁽¹⁾ 1 Pa = 1 N/m² = 10⁻⁵ bar.

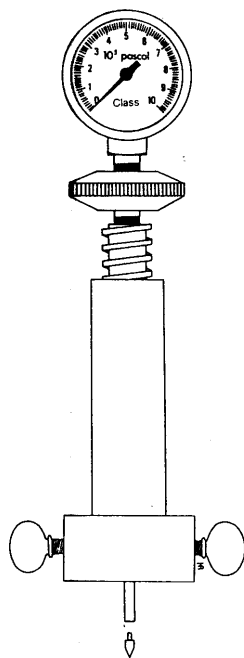
Mohou spadat do různých tříd. Třídou manometru je přesnost odečítání s ohledem na rozsah plné stupnice vyjádřený jako procento (např. manometr 1 000 kPa třídy 1 znamená, že maximální tlak 1 000 kPa se může odečítat s přesností ± 10 kPa). Pro přesná měření se doporučuje přístroj třídy 1.

Afrometry je nutné pravidelně kontrolovat (alespoň jednou ročně).

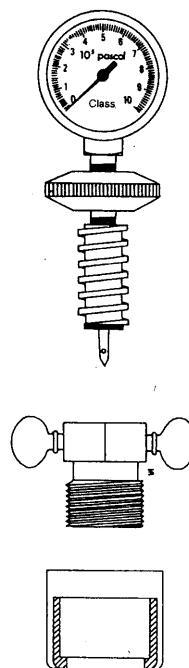
3.2 Postup

Měření je nutné provádět na lahvích, jejichž teplota byla stabilizována po dobu alespoň 24 hodin.

Po provrtání kapsle nebo zátky je nutné pro provedení odečtu silně třást s lahví, dokud není tlak konstantní.



Obr. 1: Afrometr pro kapsle



Obr. 2: Afrometr pro zátky

3.3 Vyjádření výsledků

Přetlak při 20 °C ($P_{aph_{20}}$) se vyjadřuje v pascálech (Pa) nebo v kilopascálech (kPa).

Musí se uvádět ve formě odpovídající přesnosti manometru (např. pro manometr třídy 1 s odečtem na plné stupnici 1 000 kPa se uvádí $6,3 \times 10^5$ kPa) nebo 630 kPa, a nikoli $6,33 \times 10^5$ Pa nebo 633 kPa).

Pokud se teplota, při které se měření provádí, liší od 20 °C, je třeba provést korekci vynásobením změřeného tlaku koeficientem

$$\frac{P_{aph_{20}}}{P_{aph_t}}$$

uvedeným v Tabulce I. Tím se výsledek upraví k 20 °C.

4. VZTAH MEZI TLAKEM A MNOŽSTVÍM OXIDU UHLIČITÉHO OBSAŽENÉHO V PERLIVÉM VÍNĚ ⁽¹⁾

Z přetlaku při 20 °C ($P_{aph_{20}}$) s vypočítá absolutní tlak při 20 °C ($P_{abs_{20}}$) pomocí vzorce

$$P_{abs_{20}} = P_{atm} + P_{aph_{20}}$$

⁽¹⁾ V úvahu se neberou jiné přítomné plyny (O_2 , N_2), které jsou v příliš malém množství, aby měly vliv na přetlak.

kde P_{atm} je atmosférický tlak vyjádřený v barech.

Množství oxidu uhličitého obsaženého ve víně je dáno těmito vztahy:

— v litrech CO_2 na litr vína

$$0,987 \times 10^{-5} P_{abs_{20}} (0,86 - 0,01 A)(1 - 0,00144 S)$$

— v gramech CO_2 na litr vína

$$1,951 \times 10^{-5} P_{abs_{20}} (0,86 - 0,01 A)(1 - 0,00144 S)$$

kde A je obsah alkoholu ve víně při 20 °C

S je obsah cukru ve víně v gramech na litr.

Tabulka I

Poměr přetlaku $P_{aph_{20}}$ v šumivém nebo perlivém víně
k přetlaku P_{aph_t} při teplotě

0	1,85	13	1,24
1	1,80	14	1,20
2	1,74	15	1,16
3	1,68	16	1,13
4	1,64	17	1,09
5	1,59	18	1,06
6	1,54	19	1,03
7	1,50	20	1,00
8	1,45	21	0,97
9	1,40	22	0,95
10	1,36	23	0,93
11	1,32	24	0,91
12	1,28	25	0,88

38. DERIVÁTY KYANIDŮ

1. PRINCIP METOD

1.1 Rychlá zkušební metoda:

kontrola vín ošetřených hexakynoželeznatanem draselným.

Ověření nepřítomnosti hexakynoželeznatanu železitého v usazené suspenzi.

Ověření nesrážení hexakynoželeznatanu železitého přidáním železitě soli k okyselenému vínu.

Ověření přítomnosti železa vysráženého přidáním směsi zásaditého hexakynoželezitanu a hexakynoželeznatanu k okyselenému vínu.

1.2 Obvyklá metoda

Argentometrické stanovení celkové kyseliny kyanovodíkové uvolněné kyselou hydrolyzou a oddělené destilací.

2. RYCHLÁ ZKUŠEBNÍ METODA

Kontrola vín ošetřených hexakynoželeznatanem draselným.

2.1 Vybavení

K dispozici by mělo být jedno z následujících zařízení.

2.1.1 Odstředivka dávající odstředivé síly od 1 200 do 1 500 G.

2.1.2 Filtrační vybavení s membránovými filtry (průměr pórů 0,45 mm).

2.2 Činidla

2.2.1 Kyselina chlorovodíková, zředěná 1:2 (objemově), získaná zředěním kyseliny chlorovodíkové bez obsahu železa, HCl ($\rho_{20} = 1,18$ až $1,19$ g/ml).

2.2.2 Síran železito-amonný, $(\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \times 24\text{H}_2\text{O})$, 15 % roztok (hmotnost/objem).

2.2.3 Hexakynoželeznatan draselný, $(\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \times 3\text{H}_2\text{O})$ 10 % (hmotnost/objem).

2.2.4 Hexakynoželezitan draselný, $(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6])$, 10 % roztok (hmotnost/objem). Připravit těsně před použitím.

2.3 Postup

2.3.1 Zkouška na stopy hexakynoželeznatanu železitého v suspenzi

Po protřepání vzorku dejte do kuželové odstředivkové zkumavky o objemu 30 ml 20 ml vína. Přidejte 1 ml zředěné kyseliny chlorovodíkové (2.2.1). Odstřeďte po dobu 15 minut nebo filtrujte přes membránový filtr o průměru pórů 0,45 mm. Usazenina získaná po odstředování nebo filtr by měly být zcela bez modrých částic.

2.3.2 Zkouška na stopy iontů hexakynoželeznatanu v roztoku

Ke kapalině nad sedimentem nebo filtrátu ze zkoušky 2.3.1. přidejte jednu kapku roztoku síranu železito-amonného (2.2.2). Zamíchejte a ponechte stát po dobu alespoň 24 hodin.

Odstředějte po dobu 15 minut nebo filtrujte přes membránový filtr o průměru pórů 0,45 mm. Usazenina získaná po odstředování nebo filtr by měly být zcela bez modrých částíček hexakynoželesnatanu železitého.

2.3.3 Zkouška na přítomnost iontů železa ve víně

Do zkumavky dejte 20 ml vína, 1 ml kyseliny chlorovodíkové (2.2.1), jednu kapku roztoku hexakynoželesnatanu draselného (2.2.3) a jednu kapku roztoku hexakynoželesitanu draselného (2.2.4). Během méně než 30 minut by se mělo objevit modré zbarvení nebo modrá sraženina. Po odstředění nebo po přefiltrování přes membránový filtr o průměru pórů 0,45 mm, po kterém následuje dvojí vypláchnutí 5 ml vody, by měla být pozorována ve zkumavce nebo na membránovém filtru modrá usazenina.

3. OBVYKLÁ METODA

3.1 Vybavení

3.1.1 Destilační aparatura, která se skládá z baňky s kulatým dnem o objemu 500 ml spojené trubicí se skleněnými zábrusy k hornímu konci vertikálně upevněného chladiče dlouhého alespoň 350 mm.

Dolní konec chladiče je upevněn k nástavci s protaženou částí k odvádění destilátu na dno baňky o objemu 50 ml, která je zcela ponořena do ledové vody.

3.1.2 Vodní varná lázeň (řízená termostaticky).

3.2 Činidla

3.2.1 Kyselina sírová, zředěná 1:5 (objemově).

S velkou opatrností přidejte k dostatečnému množství vody 200 ml kyseliny sírové, H_2SO_4 ($\rho_{20} = 1,84 \text{ g/ml}$) tak, aby vznikl jeden litr roztoku.

3.2.2 Krystalický chlorid měďnatý, $\text{CuCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$.

3.2.3 Roztok fenolové červeně

V 1,4 ml 0,1M roztoku hydroxidu sodného rozpusťte 0,05 g fenolové červeně; roztok doplňte na 1 000 ml.

3.2.4 Roztok jodidu draselného

Rozpusťte 250 g jodidu draselného, KI, v dostatečném množství vody pro získání jednoho litru roztoku.

3.2.5 Roztok dusičnanu stříbrného, 0,001M.

K 10 ml 0,1M roztoku dusičnanu stříbrného, AgNO_3 , přidejte 0,5 ml koncentrované kyseliny dusičné, HNO_3 ($\rho_{20} = 1,40 \text{ g/ml}$) a doplňte vodou na jeden litr.

3.2.6 Roztok hydroxidu sodného, 1M, bez obsahu železa.

3.3 Postup

Vezměte 10 ml přefiltrovaného vína (nebo v nefiltrovaném stavu, pokud se rovněž požaduje stanovení kyseliny kyanovodíkové obsažené v jakémkoli modrém zákalu), přidejte přibližně 5 mg chloridu měďnatého (3.2.2) a 10 ml zředěné kyseliny sírové (3.2.1). Do jímací baňky dejte 5 ml roztoku hydroxidu sodného (3.2.6). Destilujte, dokud baňka o objemu 50 ml není plná.

Destilát převedte do kádinky o objemu 400 ml a dejte ji na vařící vodní lázeň; odpařování urychlete nasměrováním dosti silného proudu studeného vzduchu z dmýchadla nad povrch alkalické kapaliny. Ob-

jem by se měl snížit na 5 až 7 ml, což zabere asi 30 minut (zajistěte, aby tento objem nikdy neklesl pod 5 ml).

Ochlazený roztok v případě potřeby přefiltrujte a filtrát zachycujte ve válcové zkumavce o průměru 20 mm a délce 180 mm, nebo roztok převeďte přímo do této zkumavky. Kádinku a případně filtr opláchněte několika mililitry vody a přidejte je do zkumavky.

Skleněnou zkumavku dejte na černý podklad a nechte na ni ze strany dopadat paprsek bílého světla. Kapalina by měla být zcela průzračná ⁽¹⁾.

Přidejte dvě kapky roztoku fenolové červeně (3.2.3) ⁽²⁾ pro usnadnění pozorování koncového bodu a jednu kapku roztoku jodidu draselného (3.2.4). Titrujte 0,001M roztokem dusičnanu stříbrného (3.2.5), dokud se neobjeví mírný, ale trvalý zákal. Necht' n je objem titračního činidla použitého k získání tohoto výsledku.

Kromě toho připravte podobnou zkumavku pro slepý pokus s obsahem 5 ml hydroxidu sodného (3.2.6), dvěma kapkami roztoku fenolové červeně (3.2.3), jednu kapku roztoku jodidu draselného (3.2.4) a dostatečné množství vody k získání stejného objemu jako výše. Necht' použitý objem je n' ⁽³⁾.

3.4 Vyjádření výsledků

1 ml 0,001M roztoku dusičnanu stříbrného odpovídá 54 mg kyseliny kyanovodíkové, HCN.

Celková kyselina kyanovodíková obsažená v jednom litru vína je tedy 0,54 ($n - n'$) mg. Výsledek se uvádí na dvě desetinná místa.

Za významné považujte jen ty výsledky, kde ($n - n'$) je větší než 0,5 ml.

Pokud je ($n - n'$) větší než 10 ml, postup opakujte s použitím 0,01M roztoku dusičnanu stříbrného.

⁽¹⁾ Určitá vína, např. likérová vína, dávají destilát, který není průzračný ani po filtraci; v takových případech je třeba destilát dát do destilační baňky o objemu 200 ml, doplnit na 30 ml destilovanou vodou a destilovat, dokud je stále alkalický, přičemž se prvních 15 ml destilátu vyhodí. Obsah baňky ochlaďte, okyselte přibližně 5 ml zředěné kyseliny sírové a obnovte destilaci; destilát zachycujte v 5 ml 1M roztoku hydroxidu sodného. Destilujte přibližně 5 ml kapaliny, která pak bude průzračná.

⁽²⁾ Tento přírůstek není povinný. Někteří analytici považují za snazší pozorovat vzhled zakalení v růžovém roztoku než v bezbarvém.

⁽³⁾ n' je rovno 0,05 nebo 0,1 ml, pokud je použitý objem vody menší než 10 ml. K získání rozeznatelného koncového bodu by použitý objem měl být co nejmenší, a tedy je během hlavní operace potřeba vyhnout se pokud možno jakémukoli ředění.

39. ALLYLISOTHIOKYANÁT**1. PRINCIP METODY**

Allylisothiokyanát, který případně může být přítomen ve víně, se zachycuje destilací a stanovuje plynovou chromatografií.

2. ČINIDLA

2.1 Ethanol, absolutní.

2.2 Standardní roztok: roztok allylisothiokyanátu v absolutním alkoholu obsahující 15 mg allylisothiokyanátu na litr.

2.3 Mrazicí směs skládající se z ethanolu a suchého ledu (teplota – 60 °C).

3. VYBAVENÍ

3.1 Destilační aparatura vyobrazená na obrázku na druhé straně. Aparaturou prochází nepřetržitě proud dusíku.

3.2 Topný plášť, řízený termostaticky.

3.3 Průtokoměr.

3.4 Plynový chromatograf vybavený plynovým spektrofotometrickým detektorem se selektivním filtrem pro sloučeniny síry (vlnová délka = 394 nm) nebo jiným vhodným detektorem.

3.5 Chromatografická kolona z nerezové oceli, o vnitřním průměru 3 mm a délce 3 m naplněná Carbonwaxem 20M při 10 % na Chromosorbu WHP, zrnitost 80 až 100 mesh.

3.6 Mikrostříkačka, 10 ml.

4. POSTUP

Do destilační baňky dejte dva litry vína, do dvou záchytných zkumavek dejte několik mililitrů ethanolu (2.1) tak, aby pórovité části tyčinek na rozptylování plynu byly zcela ponořeny. Tyto dvě zkumavky ochlaďte zevnějšku mrazicí směsí. Připojte baňku k zachycovacím zkumavkám a začněte do aparatury vhánět dusík rychlostí 3 litry za hodinu. Víno zahřejte pomocí topného pláště na 80 °C, destilujte a zachyťte 45 až 50 ml destilátu.

Chromatograf stabilizujte. Doporučuje se použít následujících podmínek:

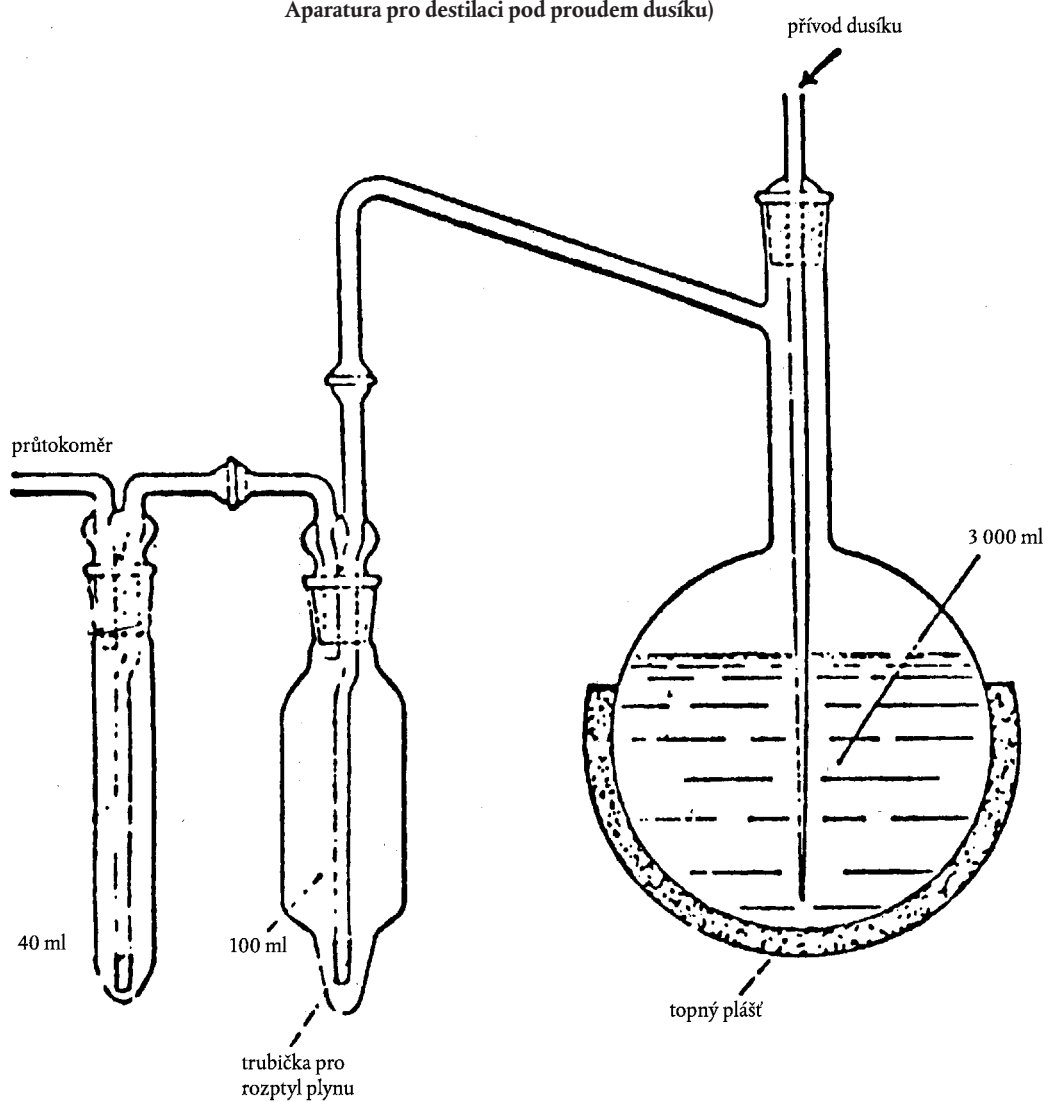
- teplota nástřiku: 200 °C,
- teplota kolony: 130 °C,
- rychlost proudění nosného plynu helia: 20 ml za minutu.

Mikrostříkačkou zaveďte objem standardního roztoku tak, aby na plynovém chromatogramu bylo možno snadno identifikovat pík odpovídající allylisothiokyanátu.

Podobně nastříkněte do chromatografu poměrnou část destilátu. Zkontrolujte, zda retenční čas obdrženého píku odpovídá času píku allylisothiokyanátu.

Za podmínek popsaných výše sloučeniny přirozeně přítomné ve víně nebudou na chromatogramu roztoku vzorku vytvářet interferující píky.

Aparatura pro destilaci pod proudem dusíku)



40. CHROMATICKÉ VLASTNOSTI**1. VÍNA A MOŠTY****1.1 Definice**

Barevné charakteristiky vína jsou jeho jas a barevnost.

Jas odpovídá prostupnosti. Mění se v opačném poměru k intenzitě barvy vína.

Barevnost je vyjádřena dominantní vlnovou délkou (charakterizující odstín barvy) a sytostí barvy.

Podle úmluvy a z důvodu jednoduchosti se barevné charakteristiky červených a růžových vín uvádějí jako intenzita barvy a odstín barvy podle postupu přijatého jako obvyklá metoda.

1.2 Princip metod**1.2.1 Referenční metoda**

Spektrofotometrická metoda, která umožňuje stanovit hodnoty tří stimulů a tři chromatické souřadnice nutné pro určení barvy podle Mezinárodní komise pro osvětlení (CIE).

1.2.2 Obvyklá metoda (pro červená a růžová vína)

Spektrofotometrická metoda, kterou se podle dohody vyjadřují barevné charakteristiky takto:

Intenzita barvy je dána součtem absorbancí při vlnových délkách 420, 520 a 620 nm pro záření, které ve vzorku prochází optickými drahami o délce 1 cm.

Odstín barvy se vyjadřuje jako poměr absorbancí při 420 nm a 520 nm.

1.3 Referenční metoda**1.3.1 Vybavení****1.3.1.1 Spektrofotometr umožňující provádět měření mezi 300 a 700 nm.****1.3.1.2 Skleněné kyvety ve dvojicích, s optickými drahami $b = 0,1, 0,2, 0,5, 1,2$ a $4,0$ cm.****1.3.2 Postup****1.3.2.1 Příprava vzorku**

Zakalené víno je třeba vyčistit odstředěním. Oxid uhličitý v mladých a šumivých vínech je třeba odstranit protřepáním ve vakuu.

1.3.2.2 Měření

Optickou dráhu b ve skleněné kyvetě je třeba zvolit tak, aby změřená absorbance ležela mezi 0,3 a 0,7.

Pro vhodnou volbu optické dráhy je uvedeno následující vodítko: pro bílá vína použijte kyvety v optickou drahou 2 (nebo 4) cm, pro růžová vína 1 cm a pro červená vína 0,1 cm (nebo 0,2 cm).

Spektrofotometrická měření je třeba provádět při použití destilované vody jako referenční kapaliny v kyvetě se stejnou optickou drahou b při vlnových délkách 445, 495, 550 a 625 nm.

Pro optickou dráhu b je pak třeba změřit na tři desetinná místa čtyři odpovídající absorbance pro víno. Označme je A_{445} , A_{495} , A_{550} a A_{625} .

1.3.3 Výpočty

Tyto hodnoty absorbancí pro optickou dráhu b cm použijte k získání odpovídajících prostupností (T %). Označme je T_{445} , T_{495} , T_{550} a T_{625} .

— Vypočítejte hodnoty tří stimulů X , Y a Z vyjádřené jako desetinné zlomky z následujících výrazů:

$$X = 0,42 T_{625} + 0,35 T_{550} + 0,21 T_{445}$$

$$Y = 0,20 T_{625} + 0,63 T_{550} + 0,17 T_{495}$$

$$Z = 0,24 T_{495} + 0,94 T_{445}$$

— Souřadnice barevnosti x a y vypočítejte ze vztahů:

$$x = \frac{X}{X + Y + Z} \quad x = \frac{X}{X + Y + Z}$$

1.3.4 Vyjádření výsledků

1.3.4.1 Poměrný jas vína se stanoví jako hodnota Y vyjádřená v procentech. (Pro úplnou tmou je $Y = 0$ %, pro bezbarvé kapaliny je $Y = 100$ %.)

1.3.4.2 Barevnost se vyjadřuje dominantní vlnovou délkou a sytostí.

Stanovení těchto dvou veličin využívá diagram barevnosti vázaný spektrálním místem daný na obr. 1. Bod O znázorněný v tomto diagramu představuje použitý zdroj bílého světla a má souřadnice standardního zdroje, C , $x_0 = 0,3101$, $y_0 = 0,3163$, představující průměrně jasné denní světlo.

— Dominantní vlnová délka

Na diagramu barevnosti znázorněte bod C se souřadnicemi x, y .

Pokud je C mimo trojúhelník AOB , nakreslete přímku spojující body O a C a prodlužte ji tak, aby protínala spektrální místo v bodě S , který odpovídá dominantní vlnové délce.

Pokud je C uvnitř trojúhelníku AOB , nakreslete přímku spojující body C a O a prodlužte ji tak, aby protínala spektrální místo v bodě, který odpovídá vlnové délce barvy komplementární k barvě vína. Tato vlnová délka se označuje svou hodnotou následovanou písmenem C .

— Čistota

Pokud je bod C mimo trojúhelník AOB , čistota je dána v procentech poměrem:

$$100 \times \frac{\text{vzdálenost z } C \text{ k } O.}{\text{vzdálenost z } O \text{ k } S.}$$

Pokud je C uvnitř trojúhelníku AOB , čistota je dána v procentech poměrem:

$$100 \times \frac{\text{vzdáleno z } C \text{ k } O.}{\text{vzdáleno z } O \text{ k } P.} \quad (1)$$

(1) Tato vzdálenost se musí uvádět ve směru z O k C .

kde P je bod, ve kterém přímka OC protíná čáru purpurových barev (čára AB).

Čistota je jaké dána přímo diagramy barevnosti ze známých hodnot x a y (obrázky 2, 3, 4, 5 a 6).

1.3.4.3 Výsledky

Barva vína je úplně určena jeho jasem, barevností (vyjádřenou dominantní vlnovou délkou) a čistotou.

Tyto hodnoty je třeba uvádět ve zprávě o výsledku rozboru s hodnotou optické dráhy, ve které se měření prováděla.

1.4 Obvyklá metoda

1.4.1 Vybavení

1.4.1.1 Spektrofotometr umožňující provádět měření mezi 300 a 700 nm.

1.4.1.2 Skleněné kyvety ve dvojicích, s optickými drahami $b = 0,1, 0,2, 0,5, \text{ a } 1 \text{ cm}$.

1.4.2 Předběžná příprava vzorku

Zakalené víno je třeba vyčistit odstředěním.

Oxid uhličitý v mladých a šumivých vínech je třeba odstranit protřepáním ve vakuu.

1.4.3 Postup

Optickou dráhu b ve skleněných kyvetách je třeba zvolit tak, aby změřená absorbance A ležela mezi 0,3 a 0,7.

Spektrofotometrická měření je třeba provádět při použití destilované vody jako referenční kapaliny v kyvetě se stejnou optickou drahou b ke stanovení nuly stupnice absorbance při vlnových délkách 420, 520 a 620 nm.

1.4.4 Vyjádření výsledků

1.4.4.1 Výpočty

Vypočtete absorbance při třech vlnových délkách pro optickou dráhu 1 cm dělením změřených absorbancí hodnotou b v cm. Označme je A_{420} , A_{520} a A_{620} .

Intenzita barvy I je dána dohodou následujícím výrazem:

$$I = A_{420} + A_{520} + A_{620}$$

Udává se na tři desetinná místa.

Barevný odstín N je dohodou dán tímto výrazem.

$$N = \frac{A_{420}}{A_{520}}$$

Udává se na tři desetinná místa.

TABULKA 1

Transformace absorbancí na prostupnost (T %)*Metoda použití*

V prvním svislém sloupci najdete první desetinné místo absorbance a jeho řádek označte R. V horním vodorovném řádku najdete druhé desetinné místo absorbance a jeho sloupec označte C. Odečtete hodnotu v buňce, která je průsečíkem řádku R a sloupce C. K výpočtu prostupnosti tuto hodnotu vydělíte 10, pokud je absorbance menší než 1, 100, pokud leží mezi 1 a 2 a 1 000, pokud leží mezi 2 a 3.

Poznámka:

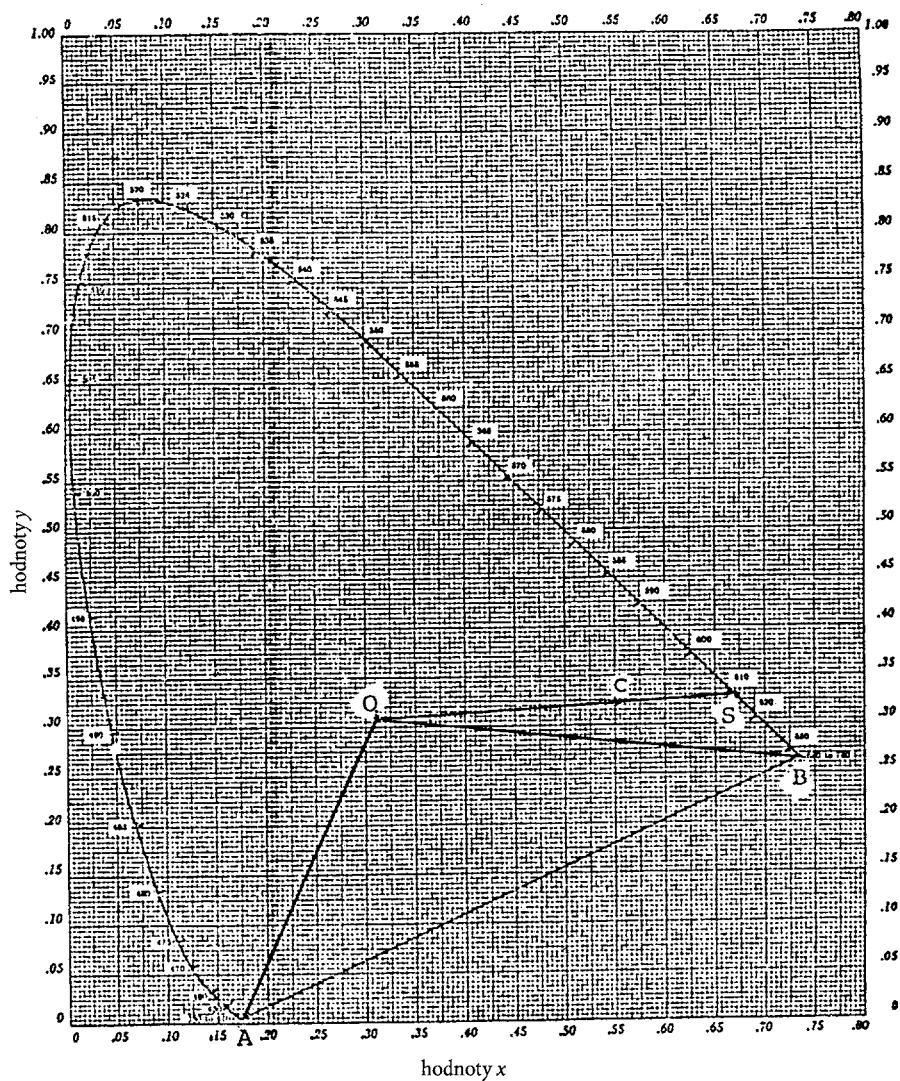
Číslo v pravém horním rohu každé buňky umožňuje brát ohled na třetí desetinné místo hodnoty absorbance při interpolaci.

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	1 000 ²³	977 ²²	955 ²²	933 ²¹	912 ²¹	891 ²⁰	871 ²⁰	851 ¹⁹	832 ¹⁹	813 ¹⁹
1	794 ¹⁸	776 ¹⁸	759 ¹⁷	741 ¹⁷	724 ¹⁶	708 ¹⁶	692 ¹⁶	676 ¹⁵	661 ¹⁵	646 ¹⁵
2	631 ¹⁴	617 ¹⁴	603 ¹⁴	589 ¹⁴	575 ¹³	562 ¹³	549 ¹³	537 ¹²	525 ¹²	513 ¹²
3	501 ¹¹	490 ¹¹	479 ¹¹	468 ¹¹	457 ¹⁰	447 ⁹	436 ⁹	427 ¹⁰	417 ¹⁰	407 ⁹
4	398 ⁹	389 ⁹	380 ⁹	371 ⁸	363 ⁸	355 ⁸	347 ⁸	339 ⁸	331 ⁷	324 ⁸
5	316 ⁷	309 ⁷	302 ⁷	295 ⁷	288 ⁶	282 ⁷	275 ⁶	269 ⁶	263 ⁶	257 ⁶
6	251 ⁶	245 ⁵	240 ⁶	234 ⁵	229 ⁵	224 ⁵	219 ⁵	214 ⁵	209 ⁵	204 ⁵
7	199 ⁴	195 ⁵	190 ⁴	186 ⁴	182 ⁴	178 ⁴	174 ⁴	170 ⁴	166 ⁴	162 ⁴
8	158 ³	155 ⁴	151 ³	148 ⁴	144 ⁴	141 ³	138 ³	135 ³	132 ³	129 ³
9	126 ³	123 ³	120 ³	117 ²	115 ³	112 ²	110 ³	107 ²	105 ³	102 ²

Příklad:

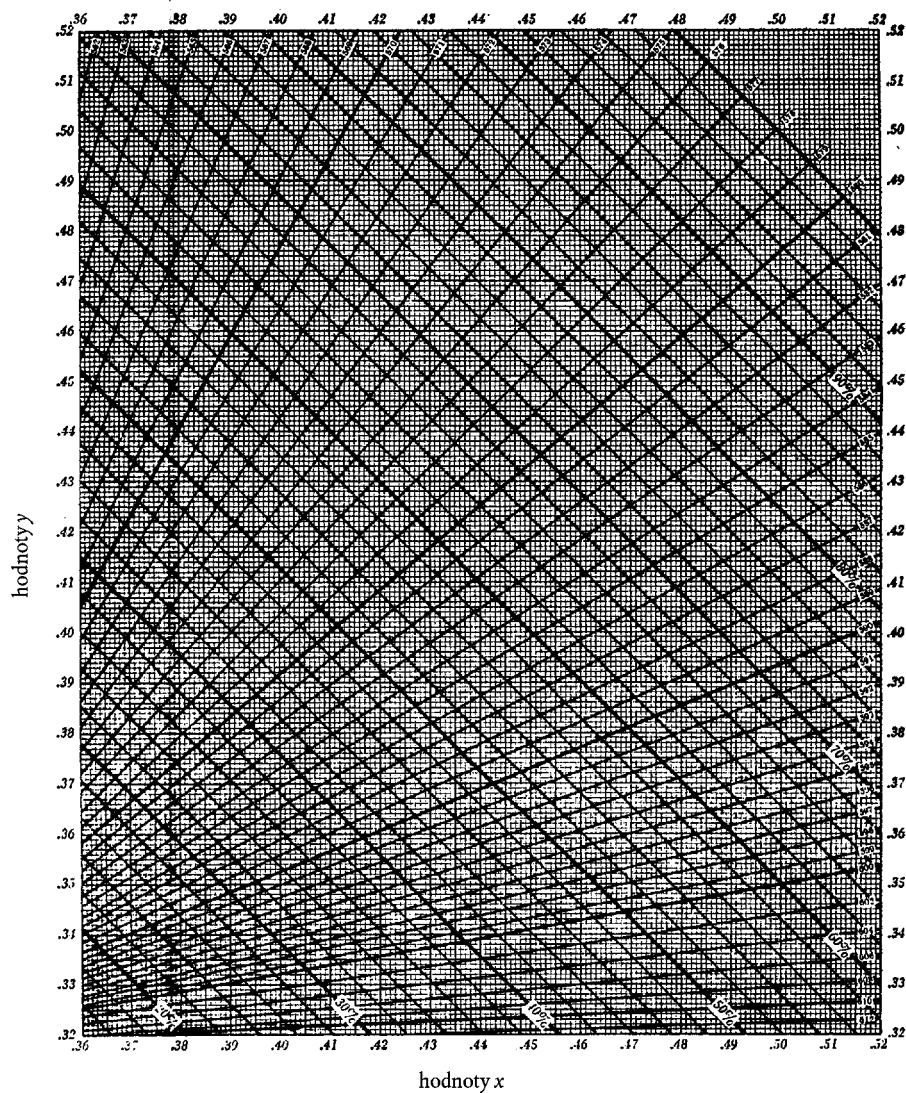
Absorbance	0,47	1,47	2,47	3,47
T %	33,9	3,4	0,3	0

Prostupnost T % se vyjadřuje s přesností na 0,1 %.



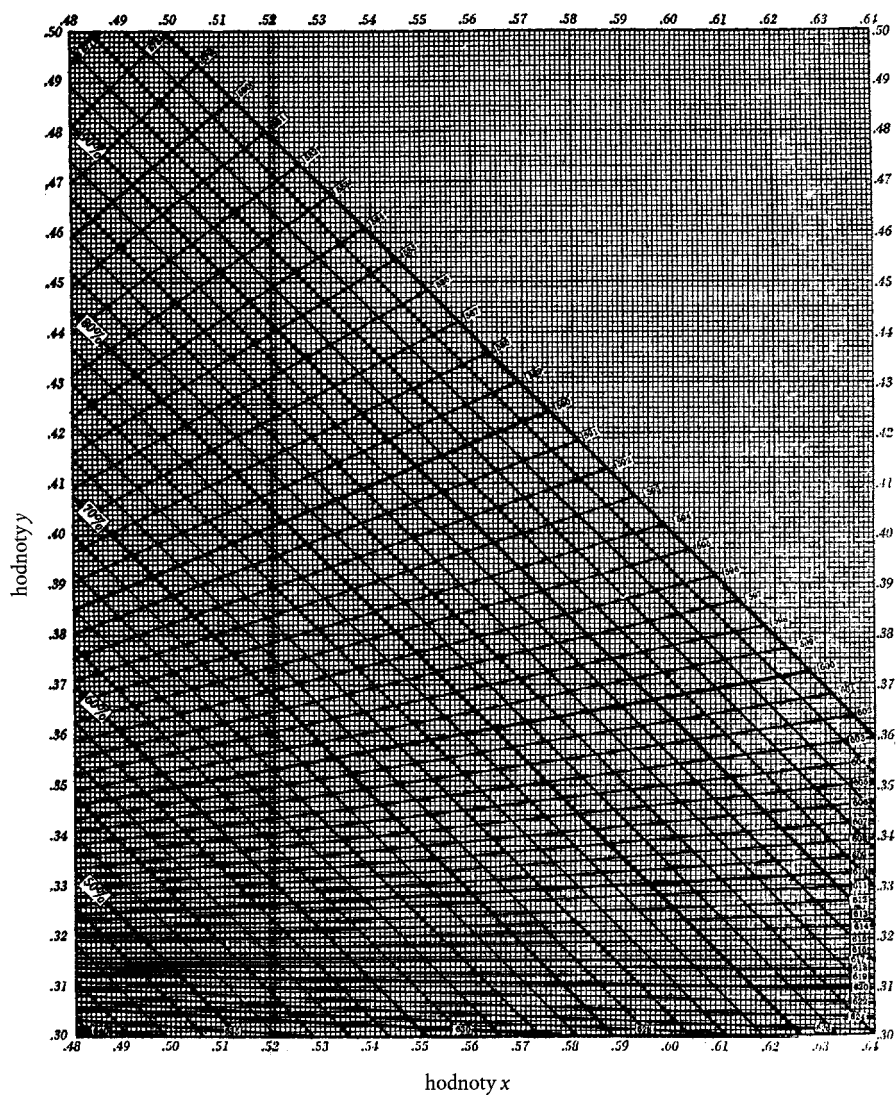
OBR. 1

Diagram barevnosti zahrnující veškeré barvy ve spektru



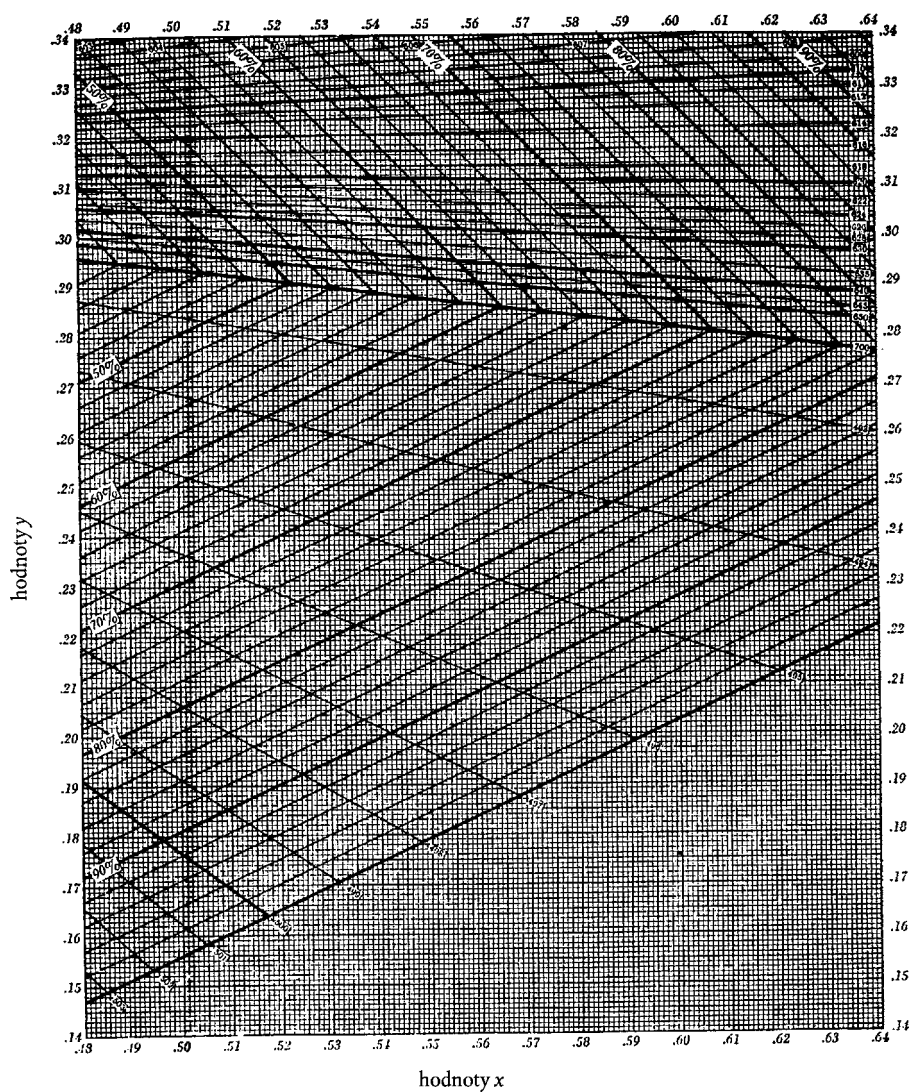
OBR. 2

Diagram barevnosti pro světlá červená a cihlově červená vína.



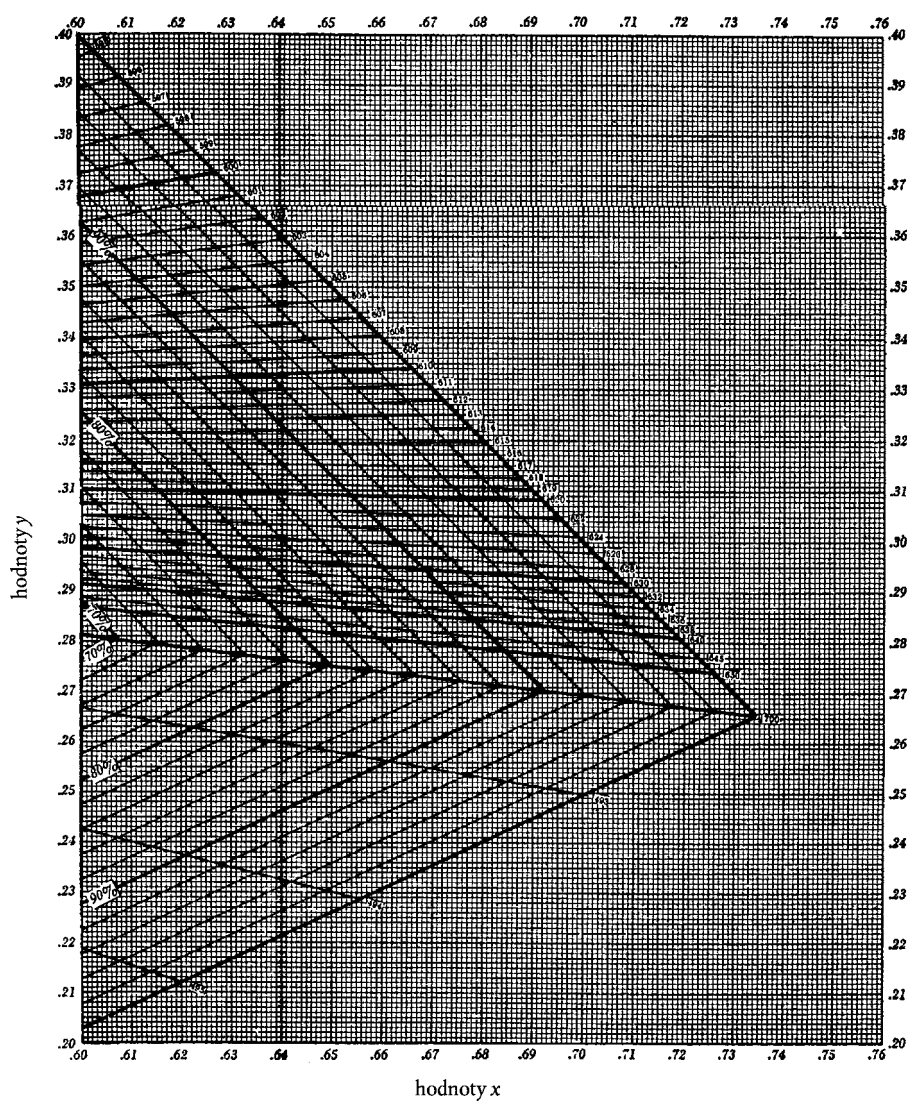
OBR. 3

Diagram barevnosti pro světlá červená a cihlově červená vína.



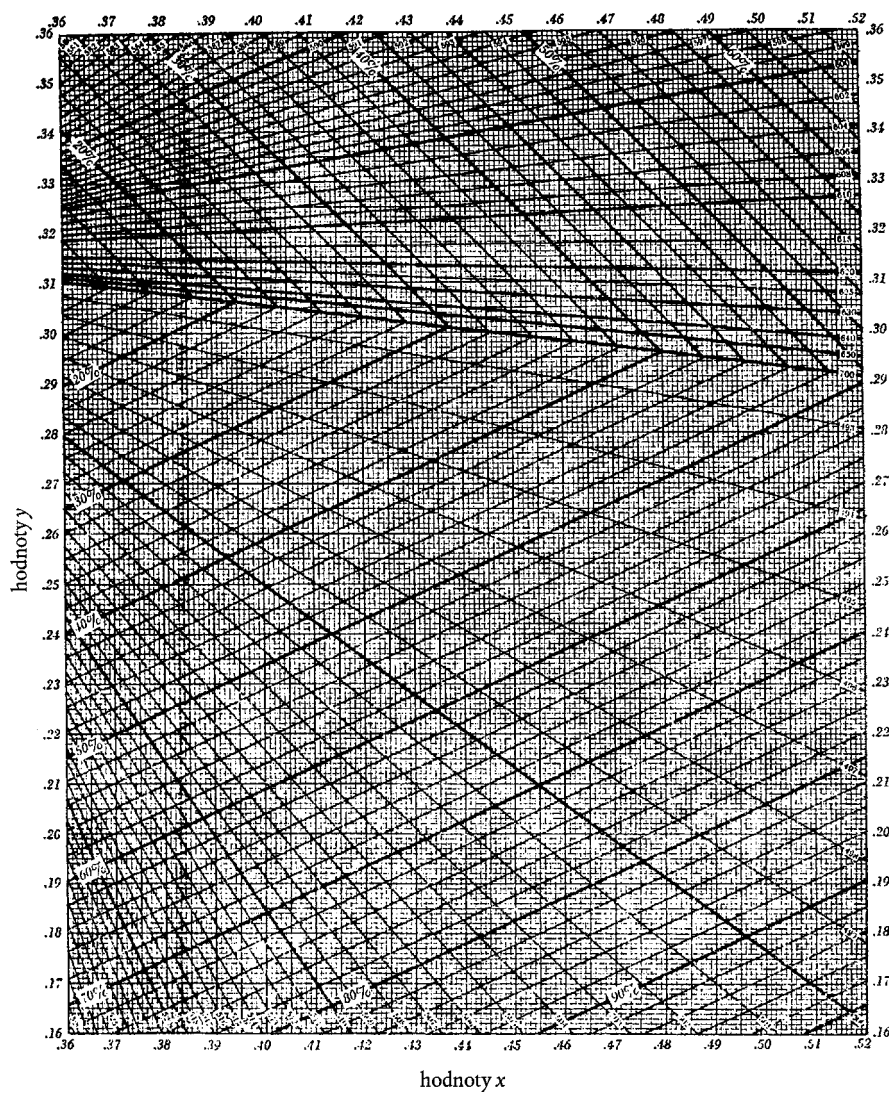
OBR. 4

Diagram barevnosti pro světlá červená a purpurově zabarvená vína.



OBR. 5

Diagram barevnosti pro světlá červená a purpurově zabarvená vína



OBR. 6

Diagram barevnosti pro cihlově červená vína a purpurově zabarvená vína

2. REKTIFIKOVANÉ MOŠTOVÉ KONCENTRÁTY

2.1 Princip metody

Absorbance rektifikovaného moštového koncentrátu se měří po zředění na obsah cukru 25 % hmotnostních (25° Brix) při 425 nm po průchodu světla vrstvou o tloušťce 1 cm.

2.2 Vybavení

2.2.1 Spektrofotometr umožňující provádět měření mezi 300 a 700 nm.

2.2.2 Skleněné kyvety s optickou dráhou 1 cm.

2.2.3 Membránový filtr s průměrem pórů 0,45 mm.

2.3 Postup

2.3.1 Příprava vzorku

Použijte roztok s obsahem cukru 25 % hmotnostních (25° Brix) připravený podle kapitoly „pH“, bodu 4.1.2. Filtrujte přes membránový filtr o průměru pórů 0,45 mm.

2.3.2 Stanovení absorbance

Stupnici absorbance vynulujte při vlnové délce 425 nm pomocí kyvety s optickou drahou 1 cm, která obsahuje destilovanou vodu.

Při stejné vlnové délce změřte absorbanci A roztoku s obsahem 25 % cukru (25° Brix) připraveného podle 2.3.1 a umístěného v kyvetě s optickou drahou 1 cm.

2.4 Vyjádření výsledků

Absorbance rektifikovaného moštového koncentrátu v roztoku s 25 % cukru (25° Brix) při 425 nm se uvádí na dvě desetinná místa.

41. FOLIN-CIOCALTEUŮV INDEX

1. DEFINICE

Folin-Ciocalteuův index je výsledek získaný na základě níže uvedené metody.

2. PRINCIP METODY

Veškeré fenolové sloučeniny obsažené ve víně se oxidují Folin-Ciocalteuovým činidlem. Toto činidlo se vytváří ze směsi kyseliny fosforečno-wolframové ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) a kyseliny fosforečno-molybdenové ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$), která se po oxidaci fenolů redukuje na směs modrých oxidů wolframu (W_8O_{23}) a molybdenu (Mo_8O_{23}).

Vytvořené modré zbarvení má maximální absorpci v oblasti 750 nm a je úměrné celkovému množství původně přítomných fenolových sloučenin.

3. ČINIDLA

Musejí být analytické kvality, voda musí být destilovaná nebo obdobné čistoty.

3.1 Folin-Ciocalteuovo činidlo

Toto činidlo je k dostání v obchodní síti ve formě připravené k použití. Je možné ho připravit tímto způsobem: rozpustíte 100 g wolframanu sodného ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$) a 25 g molybdenanu sodného ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$) v 700 ml destilované vody. Přidejte 50 ml 85 % kyseliny fosforečné ($r_{20} = 1,71 \text{ g/ml}$) a 100 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové ($r_{20} = 1,19 \text{ g/ml}$). Uvedte do varu a vařte po dobu 10 hodin pod zpětným chladičem. Pak přidejte 150 g síranu lithného ($\text{Li}_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) a několik kapek bromu a vařte ještě jednou po dobu 15 minut. Ponechte zchladnout a doplňte destilovanou vodou na jeden litr.

3.2 Bezvodý uhličitan sodný, Na_2CO_3 , doplněný na 20 % (hmotnost/objem) roztok vodou.

4. VYBAVENÍ

Běžné laboratorní vybavení, zejména:

4.1 Odměrné baňky o objemu 100 ml.

4.2 Spektrofotometr po měření při 750 nm.

5. POSTUP

5.1 Červené víno

DO odměrné baňky o objemu 100 ml (4.1) dejte tyto látky přesně v daném pořadí:

1 ml vína předem zředěného 1: 5,

50 ml destilované vody,

5 ml Folin-Ciocalteuova činidla (3.1),

20 ml roztoku uhličitanu sodného (3.2).

Doplňte na 100 ml destilovanou vodou.

Zamícháním homogenizujte. Počkejte 30 minut, než se reakce stabilizuje. Stanovte absorbanci při 750 nm v kvetě o délce 1 cm proti slepému vzorku připravenému z vody místo vína.

Pokud absorbance není kolem 0,3, je třeba provést přiměřené zředění.

5.2 Bílé víno

Proveďte stejný postup s 1 ml nezředěného vína.

5.3 Rektifikovaný moštový koncentrát**5.3.1 Příprava vzorku**

Použijte roztok s obsahem cukru 25 % hmotnostních (25 ° Brix) připravený podle kapitoly „pH“, bodu 4.1.2.

5.3.2 Měření

Postupujte podle popisu pro případ červeného vína (5.1) s použitím vzorku o objemu 5 ml připraveného podle popisu v bodě 5.3.1 a změřte absorbanci proti slepému vzorku připravenému s 5 ml 25 % (hmotn.) roztoku invertního cukru.

6. VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ**6.1 Metoda výpočtu**

Výsledek se vyjadřuje ve formě indexu získaného vynásobením absorbance číslem 100 pro červená vína zředěná 1: 5 (nebo odpovídajícím činitelem pro jiná zředění) a číslem 20 pro bílá vína. Pro rektifikované moštové koncentráty násobte číslem 16.

6.2 Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou stanovení provedených současně nebo velmi rychle po sobě stejným analytikem nesmí být větší než 1.

Dobré opakovatelnosti výsledků se dosáhne používáním velmi čistého vybavení (odměrné baňky a kvety spektrofotometru).

42. ZVLÁŠTNÍ METODY ROZBORU PRO REKTIFIKOVANÝ MOŠTOVÝ KONCENTRÁT**a) CELKOVÉ KATIONTY****1. PRINCIP METODY**

Na zkoušený vzorek se působí silně kyselým katexem. kationty se vymění za H^+ . Celkové kationty se vyjadřují rozdílem mezi celkovým obsahem kyselin vytékající kapaliny a obsahem kyselin zkoušeného vzorku.

2. VYBAVENÍ

- 2.1 Skleněná kolona o vnitřním průměru 10 až 11 mm a délce přibližně 300 mm, na kterou je nasazen vypouštěcí kohout.
- 2.2 pH-metr se stupnicí alespoň 0,1 jednotky pH.
- 2.3 Elektrody:
- skleněná elektroda uchovávaná v destilované vodě,
 - referenční kalomelová elektroda s nasyceným chloridem draselným uchovávaná v nasyceném roztoku chloridu draselného,
 - nebo kombinovaná elektroda uchovávaná v destilované vodě.

6. ČINIDLA

- 3.1 Silně kyselá katexová pryskyřice v H^+ formě nabobtnalá předem namočením přes noc ve vodě.
- 3.2 Roztok hydroxidu sodného, 0,1M.
- 3.3 Papírový indikátor pH.

4. POSTUP**4.1 Příprava vzorku**

Použijte roztok získaný zředěním rektifikovaného moštového koncentráту na 40 % (hmotnost/objem) podle popisu v kapitole „Celkový obsah kyselin“ bodu 5.1.2.

4.2 Příprava ionexu

Do kolony zaveďte asi 10 ml předem nabobtnalého katexu v H^+ formě. Proplachujte kolonu destilovanou vodou, dokud se neodstraní kyselá reakce vytékající kapaliny, kontrolovaná indikátorovým papírem.

4.3 Výměna iontů

Nechte 100 ml roztoku rektifikovaného moštového koncentráту připraveného postupem podle bodu 4.1 projít kolonou rychlostí jedna kapka za sekundu. Vytékající kapalinu zachycujte v kádince. Kolonu vypláchněte 50 ml destilované vody. Titrujte kyselost v získané kapalině (včetně oplachové vody) 0,1M roztokem hydroxidu sodného, dokud hodnota pH při 20 °C není rovna 7. Je třeba pomalu přidávat zásaditý roztok a roztok trvale protřepávat. Nechť n ml je objem použitého 0,1M hydroxidu sodného.

5. VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ

Celkové kationty se vyjadřují v miliekvivalentech na kilogram celkového cukru na jedno desetinné místo.

5.1 Výpočty

- Obsah kyselin eluátu vyjádřený v miliekvivalentech na kilogram rektifikovaného moštového koncentrátu:

$$E = 2,5 n$$

- Celkový obsah kyselin rektifikovaného moštového koncentrátu v miliekvivalentech na kilogram (viz „Celkový obsah kyselin“ bod 6.1.2): a

- Celkové kationty v miliekvivalentech na kilogram celkových cukrů:

$$\frac{2,5n - a}{P} \times 100$$

kde P = celkový obsah cukrů v % hmotnostních.

b) VODIVOST

1. PRINCIP METODY

Elektrická vodivost sloupce kapaliny definovaná dvěma paralelními platinovými elektrodami na koncích se měří jejím začleněním do jednoho ramene wheatstonova můstku.

Vodivost se mění s teplotou, a proto se vyjadřuje při 20 °C.

2. VYBAVENÍ

- 2.1 Měřič vodivosti umožňující provádět měření vodivosti v rozsahu 0 až 100 mikrosiemens na cm ($\mu\text{S cm}^{-1}$).

- 2.2 Vodní lázeň pro uvedení teploty zkoumaných vzorků na hodnotu přibližně 20 °C (20 ± 2 °C).

3. ČINIDLA

- 3.1 Demineralizovaná voda se specifickou vodivostí pod $2 \mu\text{S cm}^{-1}$ při 20 °C.

- 3.2 Standardní roztok chloridu draselného.

V demineralizované vodě (3.1) rozpustíte 0,581 g chloridu draselného, KCl, předem vysušeného na konstantní hmotnost při teplotě 105 °C. Doplníte demineralizovanou vodou (3.1) na jeden litr. Tento roztok má vodivost při 20 °C rovnou $1\,000 \mu\text{S cm}^{-1}$. Neměl by se uchovávat déle než tři měsíce.

4. POSTUP

4.1 Příprava vzorku

Použijte roztok s celkovým obsahem cukru 25 % hmotnostních (25° Brix) podle kapitoly „pH“ bodu 4.1.2.

4.2 Stanovení vodivosti

Vzorek, který se má zkoumat, uveďte ponořením do vodní lázně na teplotu 20 °C. Teplotu udržujte v rozmezí $\pm 0,1$ °C.

Roztokem, který se má zkoumat, vypláchněte dvakrát nádoby pro stanovení vodivosti.

Změřte vodivost a vyjádřete výsledek v $\mu\text{S cm}^{-1}$.

5. VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ

Výsledek se vyjadřuje v mikrosiemensech na cm ($\mu\text{S cm}^{-1}$) při 20 °C. na nejbližší celé číslo pro 25 % (hmotn.) (25° Brix) roztok rektifikovaného moštového koncentrátu.

5.1 Výpočty

Pokud není aparatura vybavena prostředky pro řízení teploty, upravte změřenou vodivost pomocí tabulky I. Jestliže je teplota nižší než 20 °C, korekci přičtěte; jestliže je nad 20 °C, korekci odečtěte.

TABULKA I

Korekce vodivosti pro teploty jiné než 20 °C (MS CM^{-1})

Vodivost	Teplota (°C)									
	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⁾ Odečíst korekci.

⁽²⁾ Přičíst korekci.

c) HYDROXYMETHYLFURFURAL (HMF)

1. PRINCIP METOD

1.1 Kolorimetrická metoda

Aldehydy odvozené od furanu, z nichž hlavní je hydroxymethylfurfural, reagují s kyselinou barbiturovou a paratoluidinem a dávají červenou sloučeninu, která se stanoví kolorimetricky při 550 nm.

1.2 Vysoce účinná kapalinová chromatografie

Separace kolonou s obrácenými fázemi a stanovení při 280 nm.

2. KOLORIMETRICKÁ METODA

2.1 Vybavení

2.1.1 Spektrofotometr pro provádění měření mezi 300 a 700 nm

2.1.2 Skleněné kyvety s optickou dráhou 1 cm.

2.2 Činidla

2.2.1 Kyselina barbiturová, roztok 0,5 % (hmotnost/objem).

V destilované vodě rozpustíte 500 mg kyseliny barbiturové, $C_4O_3N_2H_4$, a mírně zahříváte nad vodní lázní při 100 °C. Doplňte destilovanou vodou na 100 ml. Roztok vydrží asi týden.

2.2.2 Roztok paratoluidinu, 10 % (hmotnost/objem)

Do odměrné baňky o objemu 100 ml dejte 10 g paratoluidinu, $C_6H_4(CH_3)NH_2$, přidejte 50 ml isopropanolu $CH_3CH(OH)CH_3$ a 10 ml ledové kyseliny octové, CH_3COOH ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml). Doplňte isopropanolem na 100 ml. Tento roztok by se měl denně obnovovat.

2.2.3 Ethanal (acetaldehyd), CH_3CHO , vodný roztok, 1 % (hmotnost/objem)

Připravte těsně před použitím.

2.2.4 Hydroxymethylfurfural $C_6O_3H_6$, vodný roztok, 1 g/l

Připravte postupně roztoky s obsahem 5, 10, 20, 30 a 40 mg/l. Roztok 1 g/l a zředěné roztoky musejí být čerstvě připravené.

2.3 Postup

2.3.1 Příprava vzorku

Použijte roztok získaný zředěním rektifikovaného moštového koncentrátu na 40 % (hmotnost/objem) podle popisu v kapitole „Celkový obsah kyselin“ bodu 5.1.2. Stanovení provedte se 2 ml tohoto roztoku.

2.3.2 Kolorimetrické stanovení

Do každé ze dvou baněk *a* a *b* o objemu 25 ml se zabroušenými zátkami dejte 2 ml vzorku připraveného podle 2.3.1. Do každé baňky dejte 5 ml roztoku paratoluidinu (2.2.2); promíchejte. Do baňky *b* (kontrolní) přidejte 1 ml destilované vody a do baňky *a* přidejte 1 ml kyseliny barbiturové. Protřepáním homogenizujte. Obsahy baněk převedte do kyvet spektrofotometru s optickými drahami 1 cm. Stupnici absorpce vynulujte pomocí obsahu baňky *b* pro vlnovou délku 550 nm. Sledujte změnu v absorpaci obsahu baňky *a*; zaznamenejte maximální hodnotu *A*, které bude dosaženo po dvou až pěti minutách.

Vzorky s obsahem hydroxymethylfurfuralu nad 30 mg/l je před rozbořem nutné zředit.

2.3.3 Kalibrační křivka

Do dvou sad baněk *a* a *b* o objemu 25 ml dejte 2 ml každého z roztoků hydroxymethylfurfuralu s 5, 10, 20, 30 a 40 mg/l (2.2.4) a postupujte podle popisu v bodu 2.3.2.

Graf představující změny absorpce v závislosti na obsahu hydroxymethylfurfuralu v mg/l je přímka procházející počátkem.

2.4 Vyjádření výsledků

Obsah hydroxymethylfurfuralu v rektifikovaných moštových koncentrátech se vyjadřuje v miligramech na kilogram celkových cukrů.

2.4.1 Metoda výpočtu

Obsah hydroxymethylfurfuralu C mg/l ve zkoušeném vzorku je obsah na kalibrační křivce, který odpovídá absorbanci A změřené na vzorku.

Obsah hydroxymethylfurfuralu v miligramech na kilogram celkových cukrů je dán vztahem:

$$250 \times \frac{C}{P}$$

kde P = je obsah celkových cukrů v % (hmotnostních) v rektifikovaném moštovém koncentrátu.

3. VYSOCE ÚČINNÁ KAPALINOVÁ CHROMATOGRRAFIE

3.1 Vybavení

3.1.1 Vysoce účinný kapalinový chromatograf vybavený:

- smyčkovým vstřikovačem, 5 nebo 10 ml,
- spektrofotometrickým detektorem pro měření při 280 nm,
- kolonou z křemene s navázaným oktadecylem,
- zapisovačem, případně integrátorem.

Rychlost průtoku mobilní fáze: 1,5 ml/min.

3.1.2 Membránová filtrační aparatura, průměr pórů 0,45 μ m.

3.2 Činidla

3.2.1 Dvakrát destilovaná voda.

3.2.2 Methanol, CH_3OH , destilovaný nebo kvality pro vysocí účinnou kapalinovou chromatografii.

3.2.3 Kyselina octová, CH_3COOH , ($\rho = 1,05$ g/ml).

3.2.4 Mobilní fáze: voda-methanol (3.2.2) – kyselina octová (3.2.3) předem přefiltrovaná přes membránový filtr (0,45 μ m), (40:9:1 objemově).

Tato mobilní fáze se musí připravovat denně a před použitím odplynit.

3.2.5 Standardní roztok hydroxymethylfurfuralu, 25 mg/l (objemově).

Do odměrné baňky o objemu 100 ml dejte 25 mg hydroxymethylfurfuralu, přesně odváženého, a doplňte ke značce methanolem (3.2.2). Tento roztok zřeďte 1:10 methanolem (3.2.2) a přefiltrujte přes membránový filtr (0,45 μ m).

Roztok uchovávaný v chladničce v hnědé láhvi vydrží dva až tři měsíce.

3.3 Postup

3.3.1 Příprava vzorku

Použijte roztok získaný zředěním rektifikovaného moštového koncentrátu na 40 % (hmotnost/objem) podle popisu v kapitole „Celkový obsah kyselin“ bod 5.1.2. a přefiltrujte ho přes membránový filtr 0,45 μ m.

3.3.2 Chromatografické stanovení

Do chromatografu vstříknete 5 (nebo 10) ml vzorku připraveného podle 3.3.1 a 5 (nebo 10) ml standardního hydroxymethylfurfuralového roztoku (3.2.5). Zaznamenejte chromatogram.

Retenční čas hydroxymethylfurfuralu je přibližně šest až sedm minut.

3.4 Vyjádření výsledků

Obsah hydroxymethylfurfuralu v rektifikovaných moštových koncentrátech se vyjadřuje v miligramech na kilogram celkových cukrů.

3.4.1 Metoda výpočtu

Nechť obsah hydroxymethylfurfuralu v 40 % (hmotnost/objem) roztoku rektifikovaného moštového koncentrátu je C mg/l.

Obsah hydroxymethylfurfuralu v miligramech na kilogram celkových cukrů je dán vztahem:

$$250 \times \frac{C}{P}$$

kde P = je obsah celkových cukrů v % (hmotn.) v rektifikovaném moštovém koncentrátu.

d) TĚŽKÉ KOVY

1. PRINCIP METOD

I. Rychlá metoda pro vyhodnocení těžkých kovů

Těžké kovy se odhalují ve vhodně zředěném rektifikovaném moštovém koncentrátu zbarvením způsobeným vznikem sulfidů. Vyhodnocují se srovnáním se standardním olovnatým roztokem odpovídajícím nejvyšším přípustným hodnotám.

II. Stanovení obsahu olova atomovou absorpční spektrofotometrií

Chelát vzniklý reakcí olova s pyrolidin-dithiokarbamátem amonným se extrahuje methylisobutylketonem a absorbance se měří při 283,3 nm. Obsah olova se stanoví pomocí známých přidaných množství olova v sadě standardních roztoků.

2. RYCHLÁ METODA PRO VYHODNOCENÍ TĚŽKÝCH KOVŮ

2.1 Činidla

2.1.1 Zředěná kyselina chlorovodíková, 70 % (hmotnost/objem)

Vezměte 70 g kyseliny chlorovodíkové, HCl ($\rho_{20} = 1,16$ až $1,19$ g/ml) a doplňte vodou na 100 ml.

2.1.2 Zředěná kyselina chlorovodíková, 20 % (hmotnost/objem)

Vezměte 20 g kyseliny chlorovodíkové, HCl ($\rho_{20} = 1,16$ až $1,19$ g/ml) a doplňte vodou na 100 ml.

2.1.3 Zředěný amoniak. Vezměte 14 g amoniaku, NH_3 , ($\rho_{20} = 0,931$ až $0,934$ g/ml) a doplňte vodou na 100 ml.

2.1.4 Tlumivý roztok, pH 3,5

Rozpusťte 25 g octanu amonného $\text{CH}_3\text{COONH}_4$, ve 25 ml vody a přidejte 38 ml zředěné kyseliny chlorovodíkové (2.1.1). V případě potřeby upravte pH zředěnou kyselinou chlorovodíkovou (2.1.2) nebo zředěným amoniakem (2.1.3) a doplňte vodou na 100 ml.

2.1.5 Roztok thioacetamidu, $\text{C}_2\text{H}_5\text{SN}$, 4 % (hmotnost/objem).**2.1.6 Roztok glycerolu, $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$, 85 % (hmotnost/objem), ($n_D^{20} = 1,449$ až $1,455$).****2.1.7 Thioacetamidové činidlo.**

K 0,2 ml roztoku thioacetamidu (2.1.5) přidejte 1 ml směsi sestávající z 5 ml vody, 15 ml 1M roztoku hydroxidu sodného a 20 ml glycerolu (2.1.6). Zahřívajte na vodní lázni při 100°C po dobu 20 sekund. Připravte těsně před použitím.

2.1.8 Roztok obsahující 0,002 g/l olova

Připravte roztok olova 1 g/l rozpuštěním 0,400 g dusičnanu olovnatého, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ve vodě a doplněním vodou na 250 ml. V době použití zředte tento roztok postupně dvakrát vodou tak, abyste získali roztok 0,002 g/l.

2.2 Postup

Rozpusťte zkušební vzorek 10 g rektifikovaného moštového koncentrátu v 10 ml vody. Přidejte 2 ml tlumivého roztoku 3,5 pH (2.1.4); promíchejte. Přidejte 1,2 ml thioacetamidového činidla (2.1.7). Ihned promíchejte. Připravte srovnávací vzorek za stejných podmínek použitím 10 ml roztoku olova 0,002 g/l (2.1.8).

Po dvou minutách by hnědé zbarvení rektifikovaného moštového koncentrátu nemělo být intenzivnější než zbarvení srovnávacího vzorku.

2.3 Výpočty

Za výše uvedených podmínek odpovídá srovnávací vzorek nejvyššímu přípustnému obsahu těžkých kovů vyjádřenému jako olovo - 2 mg/kg rektifikovaného moštového koncentrátu.

3. STANOVENÍ OBSAHU OLOVA ATOMOVOU ABSORPČNÍ SPEKTROFOTOMETRIÍ**3.1 Vybavení****3.1.1 Atomový absorpční spektrofotometr vybavený hořákem na vzduch a acetylen.****3.1.2 Olověná výbojka s dutou katodou.****3.2 Činidla****3.2.1 Zředěná kyselina octová**

Vezměte 12 g ledové kyseliny octové ($\rho = 1,05$ g/ml) a doplňte vodou na 100 ml.

3.2.2 Roztok pyrolidin-dithiokarbamátu amonného, $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}_2\text{S}_2$, 1 % (hmotnost/objem).**3.2.3 Methylisobuthylketon, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{COCH}_3$.**

3.2.4 Roztok obsahující 0,010 g/l olova

Zředte roztok olova 1 g/l (z 2.1.8) na 1 % (objemově).

3.3 Postup

3.3.1 Příprava vzorku ke zkoumání

Rozpusťte 10 g rektifikovaného moštového koncentrátu ve směsi stejných objemů zředěné kyseliny octové (3.2.1) a vody a doplňte touto směsí na 100 ml.

Přidejte 2 ml roztoku pyrolidin-dithiokarbamátu amonného (3.2.2) a 10 ml methylobutylketonu (3.2.3). Protřepejte po dobu 30 sekund za současného chránění před jasným světlem. Nechte oddělit dvě vrstvy. Použijte vrstvu methylobutylketonu.

3.3.2 Příprava standardních roztoků

Připravte tři standardní roztoky obsahující kromě 10 g rektifikovaného moštového koncentrátu po řadě 1, 2 a 3 ml roztoku obsahujícího 0,010 g/l olova (3.2.4). S těmito roztoky zacházejte stejným způsobem jako se zkoumaným roztokem.

3.3.3 Slepý vzorek

Připravte slepý vzorek postupem podle bodu 3.3.1, ale bez přidání rektifikovaného moštového koncentrátu.

3.3.4 Stanovení

Vlnovou délku nastavte na 283,3 nm.

Methylobutylketon ze slepého vzorku atomizujte v plameni a vynulujte stupnici absorbance.

Pomocí příslušných extraktů v rozpouštědle stanovte absorbance zkoumaného roztoku i standardního roztoků.

3.4 Vyjádření výsledků

Obsah olova v miligramech na kilogram rektifikovaného moštového koncentrátu vyjádřete na jedno desetinné místo

3.4.1 Výpočty

Znázorněte graficky křivku udávající změny v absorbanci jako funkci obsahu olova přidaného k standardním roztokům, přičemž nulový obsah odpovídá zkoumanému roztoku.

Extrapolujte přímkou spojující body, dokud neprotne zápornou část osy obsahu. Vzdálenost průsečíku od počátku udává obsah olova ve zkoumaném roztoku.

e) CHEMICKÉ STANOVENÍ ETHANOLU

Tato metoda se používá pro stanovení obsahu alkoholu nízkalkoholických tekutin, jako jsou mošty, zahuštěné mošty a rektifikované moštové koncentráty.

1. PRINCIP METODY

Jednoduchá destilace kapaliny. Oxidace ethanolu v destilátu dichromanem draselným. Titrace přebytečného dichromanu roztokem dvojmocného železa.

2. VYBAVENÍ

- 2.1 Použijte destilační aparaturu popsanou v kapitole „Obsah alkoholu“ bodu 3.2.

3. ČINIDLA

3.1 Roztok dichromanu draselného

Rozpusťte 33,600 g dichromanu draselného, $K_2Cr_2O_7$, v dostatečném množství vody, aby vznikl jeden litr roztoku při 20 °C.

Jeden mililitr tohoto roztoku oxiduje 7,8924 mg alkoholu.

3.2 Roztok síranu železnato-amonného

Rozpusťte 135 g síranu železnato-amonného, $FeSO_4 \cdot (NH_4)_2SO_4 \cdot 6 H_2O$, v dostatečném množství vody, aby vznikl jeden litr roztoku a přidejte 20 ml koncentrované kyseliny sírové, H_2SO_4 ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml). Tento roztok, čerstvě připravený, více méně odpovídá polovině svého objemu roztoku dichromanu. Následně pomalu oxiduje.

3.3 Roztok manganistanu draselného

Rozpusťte 1,088 g manganistanu draselného, $KMnO_4$, v dostatečném množství vody, aby vznikl jeden litr roztoku.

3.4 Zředěná kyselina sírová, 1:2 (objemově)

Po malých dávkách a za neustálého míchání k 500 ml vody přidávejte 500 ml kyseliny sírové H_2SO_4 , ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml).

3.5 Činidlo ortofenantrolin železnatý

Rozpusťte 0,695 g síranu železnatého, $FeSO_4 \times 7H_2O$, ve 100 ml vody a přidejte 1,485 g ortofenantrolin monohydrátu $C_{12}H_8N_2 \times H_2O$. Zahřátím usnadněte rozpouštění. Tento jasně červený roztok se dobře uchovává.

4. POSTUP

4.1 Destilace

Do destilační baňky dejte 100 g rektifikovaného moštového koncentrátu a 100 ml vody. Destilát zachycujte v odměrné baňce o objemu 100 ml a doplňte vodou ke značce.

4.2 Oxidace

Vezměte baňku se zabroušenou skleněnou zátkou a s rozšířeným hrdlem umožňující vypláchnutí hrdla beze ztráty. Do baňky dejte 20 ml titračního roztoku dichromanu draselného (3.1) a 20 ml zředěné kyseliny sírové (1:2, objemově) (3.4) a protřepejte. Přidejte 20 ml destilátu. Baňku uzavřete zátkou, protřepejte a počkejte alespoň 30 minut při občasném zatřepání. (To je „měřená“ baňka.).

Proveďte titraci roztoku síranu železnato-amonného (3.2) s ohledem na roztok dichromanu draselného tak, že do stejné baňky dáte stejná množství činidel, ale nahradíte 20 ml destilátu 20 ml destilované vody. (To je „kontrolní“ baňka.)

4.3 Titrace

K obsahu „měřené“ baňky přidejte čtyři kapky činidla ortofenantrolinu (3.5). Titrujte přebytečný dichroman přidáváním roztoku síranu železnato-amonného (3.2). Železnatý roztok přestaňte přidávat, když se barva směsi změní z modrozelené na hnědou.

K přesnějšímu posouzení koncového bodu změňte barvu směsi zpátky z hnědé na modrozelenou přidáním roztoku hypermanganu draselného (3.3). Odečtěte desetinu objemu tohoto použitého roztoku od objemu přidaného železnatého roztoku. Nechť tento rozdíl je n ml.

Postupujte stejným způsobem se slepým roztokem. Nechť n' ml je rozdíl.

5. VYJÁDRĚNÍ VÝSLEDKŮ

Ethanol se vyjadřuje v gramech na kilogram cukru a uvádí se na jedno desetinné místo.

5.1 Metoda výpočtu

n' ml železnatého roztoku redukuje 20 ml roztoku dichromanu, který oxiduje 157,85 mg čistého ethanolu.

Jeden mililitr železnatého roztoku má stejnou redukční sílu jako

$$\frac{157,85}{n'} \text{ mg of ethanolu}$$

$n - n'$ ml železnatého roztoku má stejnou redukční sílu jako

$$\frac{157,85(n - n')}{n'} \text{ mg ethanolu}$$

Obsah ethanolu v g/kg rektifikovaného moštového koncentrátu je dán vztahem:

$$7,892 \times \frac{(n' - n)}{n}$$

Obsah ethanolu v g/kg celkových cukrů je dán vztahem

$$789,2 \times \frac{(n' - n)}{n'P}$$

kde P = obsah celkových cukrů v % (hmotnostních).

f) MESO-INOSITOL, SCYLLO-INOSITOL A SACHAROSA

1. PRINCIP

Plynná chromatografie silylovaných derivátů

2. ČINIDLA

- 2.1 Vnitřní standard: xylitol (vodný roztok asi 10 g/l, ke kterému se přidá na špičku lžičky azidu sodného).
- 2.2 Bis(trimethylsilyl)trifluoracetamid — BSTFA — ($C_8H_{18}F_3NOSi_2$).
- 2.3 Trimethylchlorsilan (C_3H_9ClSi).
- 2.4 Pyridin p.a. (C_5H_5N).
- 2.5 Meso-inositol ($C_6H_{12}O_6$)

3. VYBAVENÍ

- 3.1 Plynový chromatograf vybavený:
- 3.2 Kapilární kolonou (např. křemenné sklo, potažené OV 1, tloušťka filmu 0,15 μm , délka 25 m a vnitřní průměr 0,3 mm)
Provozní podmínky:
 - nosný plyn: vodík nebo helium,
 - rychlost průtoku nosného plynu: asi 2 ml za minutu,
 - teplota vstřikovače a detektoru: 300 °C,
 - programování teploty: 1 minuta při 160 °C, 4 °C za minutu na 260 °C, konstantní teplota 260 °C po dobu 15 minut,
 - poměr děliče: asi 1:20.
- 3.3 Integrátor
- 3.4 Mikrostříkačka, 10 μl
- 3.5 Mikropipety, 50, 100 a 200 μl .
- 3.6 Baňka o objemu 2 ml s teflonovou zátkou.
- 3.7 Sušárna.

4. PROVOZNÍ METODA

Přesně odvážený vzorek asi 5 g rektifikovaného moštového koncentráту se vloží do baňky o objemu 5 ml. Přidá se 1 ml standardního roztoku xylitolu (2.1) a doplní se vodou. Po promíchání se odebere 100 ml roztoku a dá do baňky (3.6), kde se suší pod mírným proudem vzduchu. V případě nutnosti se může přidat 100 ml absolutního ethanolu, aby se usnadnilo odpařování.

Zbytek se opatrně rozpustí v 100 μl pyridinu (2.4) a přidá se 100 μl bis(trimethylsilyl)trifluoracetamidu (2.2) a 10 μl trimethylchlorsilanu (2.3.). Baňka se uzavře teflonovou zátkou a zahřívá při 60 °C po dobu jedné hodiny.

Odeberte 0,5 μl čiré tekutiny a vstříkněte pomocí zahřáté duté jehly v souladu s uvedeným poměrem děliče.

5. VÝPOČET VÝSLEDKŮ

- 5.1 Připraví se roztok obsahující:

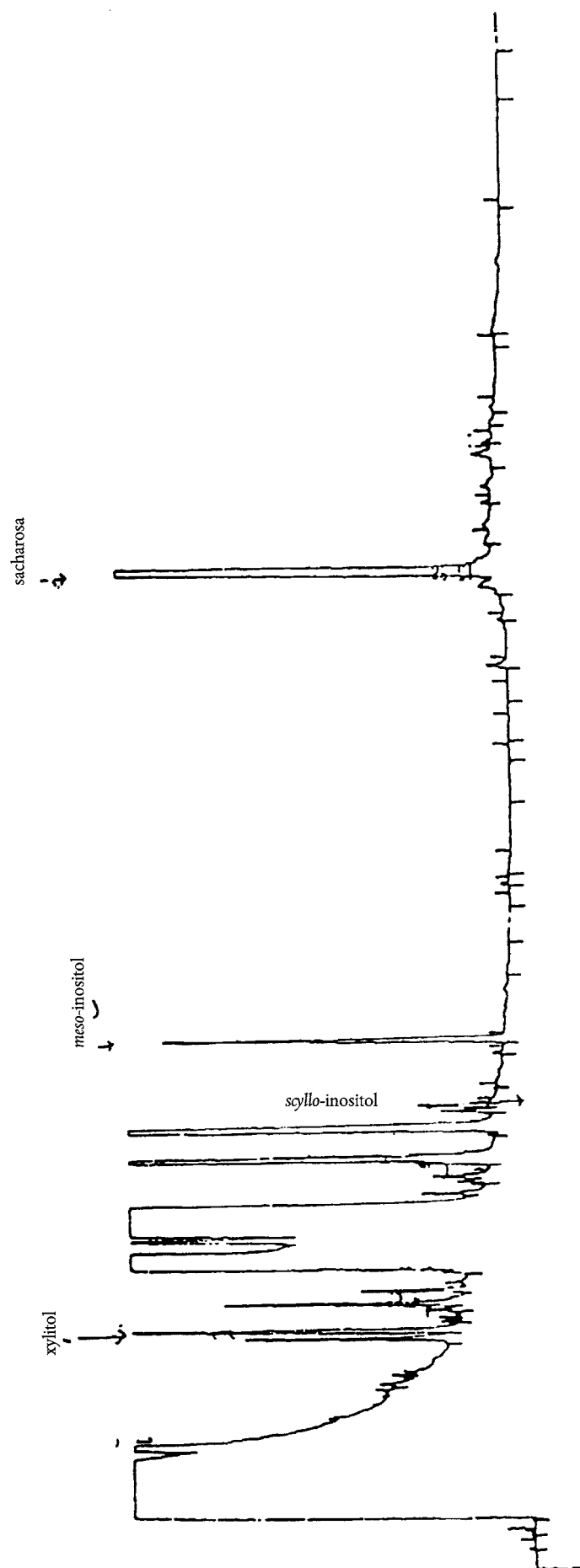
60 g/l glukosy, 60 g/l fruktosy, 1 g/l meso-inositolu a 1 g/l sacharosy.

Odváží se 5 g roztoku a postupuje se podle bodu 4. Výsledky pro meso-inositol a sacharosu s ohledem na xylitol se vypočítají z chromatogramu.

V případě scyllo-inositolu, který není k dispozici v obchodní síti a má retenční čas mezi posledním píkem anomerní formy glukosy a píkem pro meso-inositol (viz diagram na další straně) se bere stejný výsledek jako pro meso-inositol.

6. VYJÁDRĚNÍ VÝSLEDKŮ

- 6.1 Meso-inositol a scyllo-inositol se vyjadřují v miligramech na kilogram cukru. Sacharosa se vyjadřuje v gramech na kilogram moštu.



Obr. Chromatogram v plynné fázi meso-inositolu, scyllo-inositolu a sacharosy