

Dokument ten służy wyłącznie do celów dokumentacyjnych i instytucje nie ponoszą żadnej odpowiedzialności za jego zawartość

► **B**

ROZPORZĄDZENIE KOMISJI (EWG) NR 2676/90

z dnia 17 września 1990 r.

określające wspólnotowe metody analizy wina

(Dz.U. L 272 z 3.10.1990, str. 1)

zmienione przez:

		Dziennik Urzędowy		
		nr	strona	data
► <u>M1</u>	Commission Regulation (EEC) No 2348/91 of 29 July 1991 (*)	L 214	39	2.8.1991
► <u>M2</u>	zmienione przez Commission Regulation (EC) No 1932/97 of 3 October 1997 (*)	L 272	10	4.10.1997
► <u>M3</u>	Commission Regulation (EEC) No 2645/92 of 11 September 1992 (*)	L 266	10	12.9.1992
► <u>M4</u>	Commission Regulation (EC) No 60/95 of 16 January 1995 (*)	L 11	19	17.1.1995
► <u>M5</u>	Rozporządzenie Komisji (WE) nr 69/96 z dnia 18 stycznia 1996 r.	L 14	13	19.1.1996
► <u>M6</u>	Rozporządzenie Komisji (WE) nr 822/97 z dnia 6 maja 1997 r.	L 117	10	7.5.1997
► <u>M7</u>	Rozporządzenie Komisji (WE) nr 761/1999 z dnia 12 kwietnia 1999 r.	L 99	4	14.4.1999
► <u>M8</u>	Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1622/2000 z dnia 24 lipca 2000 r.	L 194	1	31.7.2000
► <u>M9</u>	zmienione przez Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1609/2001 z dnia 6 sierpnia 2001 r.	L 212	9	7.8.2001
► <u>M10</u>	Rozporządzenie Komisji (WE) nr 440/2003 z dnia 10 marca 2003 r.	L 66	15	11.3.2003
► <u>M11</u>	Rozporządzenie Komisji (WE) nr 128/2004 z dnia 23 stycznia 2004 r.	L 19	3	27.1.2004
► <u>M12</u>	Rozporządzenie Komisji (WE) nr 355/2005 z dnia 28 lutego 2005 r.	L 56	3	2.3.2005
► <u>M13</u>	Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1293/2005 z dnia 5 sierpnia 2005 r.	L 205	12	6.8.2005

(*) Akt ten nie został nigdy opublikowany w języku polskim.



ROZPORZĄDZENIE KOMISJI (EWG) NR 2676/90

z dnia 17 września 1990 r.

określające wspólnotowe metody analizy wina

KOMISJA WSPÓLNOT EUROPEJSKICH,

uwzględniając Traktat ustanawiający Europejską Wspólnotę Gospodarczą,

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

a także mając na uwadze, co następuje:

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

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

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

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

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

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

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

⁽¹⁾ Dz.U. L 84 z 27.3.1987, str. 1.

⁽²⁾ Dz.U. L 132 z 23.5.1990, str. 19.

⁽³⁾ Dz.U. L 133 z 14.5.1982, str. 1.

▼B

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

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

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

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

PRZYJMUJE NINIEJSZE ROZPORZĄDZENIE:

Artykuł 1

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

- ustalenie składu produktów wymienionych w art. 1 rozporządzenia (EWG) nr 822/87,
- sprawdzenie, czy produkty te zostały poddane obróbce sprzecznej z dozwolonymi zabiegami enologicznymi,

zostały wymienione w Załączniku do niniejszego rozporządzenia.

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

Artykuł 2

Do celów stosowania niniejszego rozporządzenia:

- a) powtarzalność jest to wartość, poniżej której można się spodziewać, z określonym prawdopodobieństwem, że wartość bezwzględna różnicy między dwoma pojedynczymi wynikami badań uzyskanymi na identycznym badanym materiale i w tych samych warunkach (ta sama osoba wykonująca, ten sam aparat, to samo laboratorium i w krótkim odstępie czasu) może być zafalszowana;
- b) odtwarzalność jest to wartość, poniżej której można się spodziewać, z określonym prawdopodobieństwem, że wartość bezwzględna różnicy między dwoma pojedynczymi wynikami badań uzyskanymi na identycznym badanym materiale i w różnych warunkach (różne osoby wykonujące, różne aparaty i/lub różne laboratoria i/lub w różnym czasie) będzie zafalszowana.

▼B

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

Prawdopodobieństwo wynosi 95 %, o ile nie stwierdzono inaczej.

Artykuł 3

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

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

▼M12**▼B***Artykuł 4*

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

Artykuł 5

Rozporządzenie (EWG) nr 1108/82 traci moc.

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

Artykuł 6

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

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

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



ZALĄCZNIK

1. GĘSTOŚĆ I CIĘŻAR WŁAŚCIWY W TEMPERATURZE 20 °C

1. DEFINICJE

Gęstość jest to masa przypadająca na jednostkę objętości wina lub moszczu w temperaturze 20 °C. Wyrażana jest w gramach na mililitr i oznaczana symbolem $\rho_{20\text{ °C}}$.

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

2. ZASADA METOD

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

- albo piknometryczną: metoda porównawcza,
- albo hydrometryczną lub densymetryczną z wykorzystaniem wagi hydrostatycznej: metoda zwykła.

Uwaga:

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

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

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

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

S = całkowita ilość ditlenku siarki w gramach na litr

3. PRZYGOTOWANIE PRÓBKII DO ANALIZY

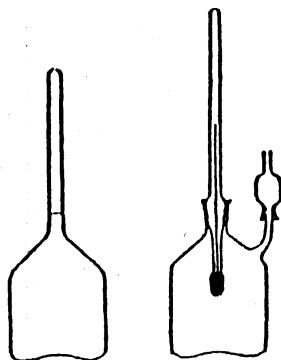
Jeżeli wino lub moszcz zawiera znaczne ilości ditlenku węgla, należy usunąć jego większość poprzez mieszanie 250 ml wina w jednolitrowej kolbie lub poprzez filtrację pod zmniejszonym ciśnieniem przez 2 g waty umieszczonej w rurce odprowadzającej.

4. METODA PORÓWNAWCZA

4.1. Urządzenie:

Zwykły sprzęt laboratoryjny, w szczególności:

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



Rysunek 1

Piknometr i jego butelka tarująca

⁽¹⁾ Można stosować każdy piknometr o równorzędnej charakterystyce.

▼ **B**

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

Oba połączenia szlifowe aparatu powinny być wykonane bardzo starannie.

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

Izolowany termicznie pojemnik, pasujący dokładnie do kształtu piknometr.

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

lub

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

4.2. **Kalibracja piknometr**

Kalibracja piknometr polega na oznaczeniu następujących wielkości:

- tara pustego piknometr,
- objętość piknometr w temperaturze 20 °C,
- masa piknometr napełnionego wodą w temperaturze 20 °C.

4.2.1. *Metoda z wykorzystaniem wagi dwuszalkowej*

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

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

Obliczanie ⁽¹⁾:

Tarowanie pustego piknometr:

tara pustego piknometr = $p + m$,

gdzie m = masa powietrza wypełniającego piknometr,

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

Objętość w temperaturze 20 °C:

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

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

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

Masa wody w temperaturze 20 °C:

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

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

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

▼ **B**4.2.2. *Metoda z wykorzystaniem wagi jednoszalkowej*

Ustalić:

- masę czystego i suchego piknomietru: wartość ta oznaczana jest symbolem P ,
- masę piknomietru napełnionego wodą o temperaturze t °C, zgodnie ze sposobem postępowania opisanym w 4.2.1: wartość ta oznaczana jest symbolem P_1 ,
- masa butelki tarującej: T_0 .

Obliczanie ⁽¹⁾:

Tarowanie pustego piknomietru:

tara pustego piknomietru = $P - m$,

gdzie m = masa powietrza wypełniającego piknometr,

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

Objętość w temperaturze 20 °C:

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

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

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

Masa wody w temperaturze 20 °C:

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

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

4.3. **Metoda pomiaru** ⁽¹⁾4.3.1. *Metoda z wykorzystaniem wagi dwuszalkowej*

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

p'' oznacza masę w gramach wymaganą do uzyskania równowagi w temperaturze t °C.

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

Pozorna gęstość w temperaturze t °C:

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

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

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

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

Zważyć butelkę tarującą, jej masę oznaczyć jako T .

Obliczyć d $T = T_1 - T_0$.

Masa pustego piknomietru w czasie pomiaru = $P - m + d$.

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

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

Gęstość pozorna w temperaturze t °C:

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

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

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

▼ B

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

- 4.3.3. Powtarzalność pomiarów gęstości
dla win wytrawnych i półsłodkich: $r = 0,00010$,
a dla win słodkich: $r = 0,00018$.
- 4.3.4. Odtwarzalność pomiarów gęstości:
dla win wytrawnych i półsłodkich $R = 0,00037$,
a dla win słodkich: $R = 0,00045$.

▼ M8**▼ B**

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

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

6.1.1. *Normalizacja piknomtru:*

1. Ważenie czystego, suchego piknomtru:

$$\text{Tara} = \text{masa piknomtru} + p$$

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

2. Ważenie piknomtru napełnionego wodą o temperaturze t °C:

$$\text{Tara} = \text{masa piknomtru} + \text{masa wody} + p'$$

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

3. Obliczanie masy powietrza wypełniającego piknomtr:

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

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

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

4. Wartości charakterystyczne, które należy ustalić:

Tara pustego piknomtru, $p + m$:

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

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

Objętość w temperaturze 20 °C = $F(p + m - p')_{t, °C}$

$$F_{20,5 \text{ °C}} = 1,001900$$

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

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

Masa wody w temperaturze 20 °C =

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

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

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

$\rho'' = 1,2622$ w temperaturze 17,80 °C

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

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

▼ **B**

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

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

Dla $t = 17,80\text{ °C}$ i dla zawartości alkoholu 11 % obj. $c = 0,54$.

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

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

$$d_{20\text{ °C}}^{20\text{ °C}} = \frac{0,99744}{0,998203} = 0,99913$$

6.2. **Metoda piknometryczna z użyciem wagi jednoszalkowej**6.2.1. *Normalizacja piknomtru:*

1. Waga czystego, suchego piknomtru:

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

2. Waga piknomtru napełnionego wodą o temperaturze $t\text{ °C}$:

$$P_1 = 169,2715\text{ w } 21,65\text{ °C}$$

3. Masa powietrza wypełniającego piknomtr:

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

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

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

4. Charakterystyczne wartości, które należy ustalić:

Tara pustego piknomtru, $P - m$:

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

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

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

$$F_{21,65\text{ °C}} = 1,002140$$

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

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

Masa wody w temperaturze 20 °C :

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

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

Masa butelki tarowej (tarującej), T_0 :

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

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

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

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

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

$P_2 = 169,2799$ w temperaturze 18 °C

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

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

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

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

▼B

Dla temp. $t = 18\text{ }^{\circ}\text{C}$ i dla zawartości alkoholu 11 % obj. $c = 0,49$.

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

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

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

TABELA I

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

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

▼B

<i>t</i> °C	F	<i>t</i> °C	F	<i>t</i> °C	F	<i>t</i> °C	F	<i>t</i> °C	F	<i>t</i> °C	F	<i>t</i> °C	F
, 8	1,000668	, 8	1,001067	, 8	1,001570	, 8	1,002172	, 8	1,002866	, 8	1,003649		
, 9	1,000679	, 9	1,001082	, 9	1,001589	, 9	1,002194	, 9	1,002891	, 9	1,003676		

TABELA II

Korekty temperatury c w stosunku do gęstości bezalkoholowych win wytrawnych, mierzonej przy użyciu piknometru ze szkła pyreksowego w temperaturze $t^{\circ}\text{C}$ w celu otrzymania wyników odpowiadających temperaturze 20°C

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

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

Uwaga: Tabela ta może być wykorzystana do przeliczania ciężaru właściwego d_{20}^t na ciężar właściwy d_{20}^{20} .

TABELA III

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

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

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

Uwaga: Tabela ta może być wykorzystana do przeliczania ciężaru właściwego d_{20}^t na ciężar właściwy d_{20}^{20} .

TABELA IV

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

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

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

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

TABELA V

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

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

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

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

TABELA VI

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

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

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

Uwaga: Tabela ta może być wykorzystana do przeliczania ciężaru właściwego d_{20}^t na ciężar właściwy d_{20}^{20} .

TABELA VII

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

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

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

▼B

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

▼ **B**

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

1. ZASADA METODY

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

2. URZĄDZENIE

2.1. Refraktometr Abbego

Refraktometr powinien być wyposażony w skalę podającą:

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

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

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

3. PRZYGOTOWANIE PRÓBKII

3.1. Moszcz i moszcz zagęszczony

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

3.2. Rektyfikowany moszcz zagęszczony

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

4. PROCEDURA

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

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

Przeprowadzić co najmniej dwa określenia tej samej przygotowanej próbki.

Zapisać temperaturę t °C.

5. OBLICZANIE

5.1. Poprawka na temperaturę

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

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

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

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

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

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

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

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

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

TABELA I

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

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

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



TABELA II

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

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukry w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
10.0	1.34 781	1.0 390	82.3	79.2	4,89
10.1	1.34 798	1.0 394	83.4	80.2	4,95
10.2	1.34 814	1.0 398	84.5	81.3	5,02
10.3	1.34 830	1.0 402	85.6	82.2	5,09
10.4	1.34 845	1.0 406	86.6	83.2	5,14
10.5	1.34 860	1.0 410	87.6	84.1	5,20
10.6	1.34 875	1.0 414	88.6	85.1	5,26
10.7	1.34890	1.0419	89.7	86.1	5,33
10.8	1.34 906	1.0 423	90.8	87.1	5,39
10.9	1.34 921	1.0 427	91.8	88.1	5,45
11.0	1.34 936	1.0 431	92.9	89.1	5,52
11.1	1.34 952	1.0 435	94.0	90.0	5,58
11.2	1.34 968	1.0 439	95.0	91.0	5,64
11.3	1.34 984	1.0 443	96.1	92.0	5,71
11.4	1.34 999	1.0 447	97.1	92.9	5,77
11.5	1.35 015	1.0 452	98.2	94.0	5,83
11.6	1.35 031	1.0 456	99.3	95.0	5,90
11.7	1.35 046	1.0 460	100.3	95.9	5,96
11.8	1.35 062	1.0 464	101.4	96.9	6,02
11.9	1.35 077	1.0 468	102.5	97.9	6,09
12.0	1.35 092	1.0 473	103.6	98.9	6,15
12.1	1.35 108	1.0 477	104.7	99.9	6,22
12.2	1.35 124	1.0 481	105.7	100.8	6,28
12.3	1.35 140	1.0 485	106.8	101.9	6,35
12.4	1.35 156	1.0 489	107.9	102.9	6,41
12.5	1.35 172	1.0 494	109.0	103.8	6,47
12.6	1.35 187	1.0 498	110.0	104.8	6,53
12.7	1.35 203	1.0 502	111.1	105.8	6,60
12.8	1.35 219	1.0 506	112.2	106.8	6,66
12.9	1.35 234	1.0 510	113.2	107.8	6,73
13.0	1.35 249	1.0 514	114.3	108.7	6,79
13.1	1.35 266	1.0 519	115.4	109.7	6,86
13.2	1.35 282	1.0 523	116.5	110.7	6,92
13.3	1.35 298	1.0 527	117.6	111.7	6,99
13.4	1.35 313	1.0 531	118.6	112.6	7,05
13.5	1.35 329	1.0 536	119.7	113.6	7,11
13.6	1.35 345	1.0 540	120.8	114.6	7,18
13.7	1.35 360	1.0 544	121.8	115.6	7,24
13.8	1.35 376	1.0 548	122.9	116.5	7,30
13.9	1.35 391	1.0 552	124.0	117.5	7,37
14.0	1.35 407	1.0 557	125.1	118.5	7,43
14.1	1.35 424	1.0 561	126.2	119.5	7,50
14.2	1.35 440	1.0 565	127.3	120.5	7,56
14.3	1.35 456	1.0 569	128.4	121.5	7,63
14.4	1.35 472	1.0 574	129.5	122.5	7,69
14.5	1.35 488	1.0 578	130.6	123.4	7,76
14.6	1.35 503	1.0 582	131.6	124.4	7,82
14.7	1.35 519	1.0 586	132.7	125.4	7,88
14.8	1.35 535	1.0 591	133.8	126.3	7,95
14.9	1.35 551	1.0 595	134.9	127.3	8,01

⁽¹⁾ Zawartość cukrów w przeliczeniu na cukier inwertowany.

▼B

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

▼B

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukry w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
20.0	1.36 383	1.0 817	191.9	177.4	11,40
20.1	1.36 400	1.0 822	193.1	178.4	11,47
20.2	1.36 417	1.0 826	194.2	179.4	11,54
20.3	1.36 434	1.0 831	195.3	180.4	11,60
20.4	1.36 451	1.0 835	196.5	181.4	11,67
20.5	1.36 468	1.0 840	197.7	182.3	11,75
20.6	1.36 484	1.0 844	198.8	183.3	11,81
20.7	1.36 501	1.0 849	200.0	184.3	11,88
20.8	1.36 518	1.0 853	201.1	185.3	11,96
20.9	1.36 534	1.0 857	202.2	186.2	12,01
21.0	1.36 550	1.0 862	203.3	187.2	12,08
21.1	1.36 568	1.0 866	204.5	188.2	12,15
21.2	1.36 585	1.0 871	205.7	189.2	12,22
21.3	1.36 601	1.0 875	206.8	190.2	12,29
21.4	1.36 618	1.0 880	207.9	191.1	12,35
21.5	1.36 635	1,0 884	209.1	192.1	12,42
21.6	1.36 652	1.0 889	210.3	193.1	12,49
21.7	1.36 669	1.0 893	211.4	194.1	12,56
21.8	1.36 685	1.0 897	212.5	195.0	12,63
21.9	1.36 702	1.0 902	213.6	196.0	12,69
22.0	1.36 719	1.0 906	214.8	196.9	12,76
22.1	1.36 736	1.0 911	216.0	198.0	12,83
22.2	1.36 753	1.0 916	217.2	199.0	12,90
22.3	1.36 770	1.0 920	218.3	199.9	12,97
22.4	1.36 787	1.0 925	219.5	200.9	13,04
22.5	1.36 804	1.0 929	220.6	201.8	13,11
22.6	1.36 820	1.0 933	221.7	202.8	13,17
22.7	1.36 837	1.0 938	222.9	203.8	13,24
22.8	1.36 854	1.0 943	224.1	204.8	13,31
22.9	1.36 871	1.0 947	225.2	205.8	13,38
23.0	1.36 888	1.0 952	226.4	206.7	13,45
23.1	1.36 905	1.0 956	227.6	207.7	13,52
23.2	1.36 922	1.0 961	228.7	208.7	13,59
23.3	1.36 939	1.0 965	229.9	209.7	13,66
23.4	1.36 956	1.0 970	231.1	210.7	13,73
23.5	1.36 973	1.0 975	232.3	211.6	13,80
23.6	1.36 991	1.0 979	233.4	212.6	13,87
23.7	1.37 008	1.0 984	234.6	213.6	13,94
23.8	1.37 025	1.0 988	235.8	214.6	14,01
23.9	1.37 042	1.0 993	237.0	215.6	14,08
24.0	1.37 059	1.0 998	238.2	216.6	14,15
24.1	1.37 076	1.1 007	239.3	217.4	14,22
24.2	1.37 093	1.1 011	240.3	218.2	14,28
24.3	1.37 110	1.1 016	241.6	219.4	14,35
24.4	1.37 128	1.1 022	243.0	220.5	14,44
24.5	1.37 145	1.1 026	244.0	221.3	14,50
24.6	1.37 162	1.1 030	245.0	222.1	14,56
24.7	1.37 180	1.1 035	246.4	223.2	14,64
24.8	1.37 197	1.1 041	247.7	224.4	14,72
24.9	1.37 214	1.1 045	248.7	225.2	14,78

▼B

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukry w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
25.0	1.37 232	1.1 049	249.7	226.0	14,84
25.1	1.37 249	1.1 053	250.7	226.8	14,90
25.2	1.37 266	1.1 057	251.7	227.6	14,96
25.3	1.37 283	1.1 062	253.0	228.7	15,03
25.4	1.37 300	1.1 068	254.4	229.9	15,11
25.5	1.37 317	1.1 072	255.4	230.7	15,17
25.6	1.37 335	1.1 076	256.4	231.5	15,23
25.7	1.37 353	1.1 081	257.8	232.6	15,32
25.8	1.37 370	1.1 087	259.1	233.7	15,39
25.9	1.37 387	1.1 091	260.1	234.5	15,45
26.0	1.37 405	1.1 095	261.1	235.3	15,51
26.1	1.37 423	1.1 100	262.5	236.4	15,60
26.2	1.37 440	1.1 106	263.8	237.5	15,67
26.3	1.37 457	1.1 110	264.8	238.3	15,73
26.4	1.37 475	1.1 114	265.8	239.2	15,79
26.5	1.37 493	1.1 119	267.2	240.3	15,88
26.6	1.37 510	1.1 125	268.5	241.4	15,95
26.7	1.37 528	1.1 129	269.5	242.2	16,01
26.8	1.37 545	1.1 133	270.5	243.0	16,07
26.9	1.37 562	1.1 138	271.8	244.1	16,15
27.0	1.37 580	1.1 144	273.2	245.2	16,23
27.1	1.37 598	1.1 148	274.2	246.0	16,29
27.2	1.37 615	1.1 152	275.2	246.8	16,35
27.3	1.37632	1.1157	276.5	247.9	16,43
27.4	1.37 650	1.1 163	277.9	249.0	16,51
27.5	1.37 667	1.1 167	278.9	249.8	16,57
27.6	1.37 685	1.1 171	279.9	250.6	16,63
27.7	1.37 703	1.1 176	281.3	251.6	16,71
27.8	1.37 721	1.1 182	282.6	252.7	16,79
27.9	1.37 739	1.1 186	283.6	253.5	16,85
28.0	1.37 757	1.1 190	284.6	254.3	16,91
28.1	1.37 775	1.1 195	286.0	255.4	16,99
28.2	1.37 793	1.1 201	287.3	256.5	17,07
28.3	1.37 810	1.1 205	288.3	257.3	17,13
28.4	1.37 828	1.1 209	289.3	258.1	17,19
28.5	1.37 846	1.1 214	290.7	259.2	17,27
28.6	1.37 863	1.1 220	292.0	260.3	17,35
28.7	1.37 881	1.1 224	293.0	261.0	17,41
28.8	1.37 899	1.1 228	294.0	261.8	17,47
28.9	1.37 917	1.1 233	295.3	262.9	17,55
29.0	1.37 935	1.1 239	296.7	264.0	17,63
29.1	1.37 953	1.1 244	298.1	265.1	17,71
29.2	1.37 971	1.1 250	299.4	266.1	17,79
29.3	1.37 988	1.1 254	300.4	266.9	17,85
29.4	1.38 006	1.1 258	301.4	267.7	17,91
29.5	1.38 024	1.1 263	302.8	268.8	17,99
29.6	1.38 042	1.1 269	304.1	269.9	18,07
29.7	1.38 060	1.1 273	305.1	270.6	18,13
29.8	1.38 078	1.1 277	306.1	271.4	18,19
29.9	1.38 096	1.1 282	307.4	272.5	18,26

▼B

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukry w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
30.0	1.38 114	1.1 288	308.8	273.6	18,35
30.1	1.38 132	1.1 293	310.0	274.5	18,42
30.2	1.28 150	1.1 298	311.2	275.5	18,49
30.3	1.38 168	1.1 302	312.4	276.4	18,56
30.4	1.3 8186	1.1 307	313.6	277.3	18,63
30.5	1.38 204	1.1 312	314.8	278.3	18,70
30.6	1.38 222	1.1 317	316.0	279.2	18,77
30.7	1.38 240	1.1 322	317.2	280.2	18,85
30.8	1.38 258	1.1 327	318.4	281.1	18,92
30.9	1.38 276	1.1 332	319.6	282.0	18,99
31.0	1.38 294	1.1 336	320.8	283.0	19,06
31.1	1.38 312	1.1 341	322.0	283.9	19,13
31.2	1.38 330	1.1 346	323.2	284.9	19,20
31.3	1.38 349	1.1 351	324.4	285.8	19,27
31.4	1.38 367	1.1 356	325.6	286.8	19,35
31.5	1.38 385	1.1 361	326.8	287.7	19,42
31.6	1.38 403	1.1 366	328.1	288.6	19,49
31.7	1.38 421	1.1 371	329.3	289.6	19,56
31.8	1.38 440	1.1 376	330.5	290.5	19,64
31.9	1.38 458	1.1 380	331.7	291.5	19,71
32.0	1.38 476	1.1 385	332.9	292.4	19,78
32.1	1.38 494	1.1 391	334.2	293.4	19,86
32.2	1.38 513	1.1 396	335.5	294.4	19,93
32.3	1.38 531	1.1 401	336.7	295.4	20,00
32.4	1.38 550	1.1 406	338.0	296.4	20,08
32.5	1.38 568	1.1 411	339.3	297.3	20,16
32.6	1.38 586	1.1 416	340.6	298.3	20,24
32.7	1.38 605	1.1 422	341.9	299.3	20,31
32.8	1.38 623	1.1 427	343.1	300.3	20,38
32.9	1.38 642	1.1 432	344.4	301.3	20,46
33.0	1.38 660	1.1 437	345.7	302.3	20,54
33.1	1.38 678	1.1 442	346.9	303.2	20,61
33.2	1.38 697	1.1 447	348.1	304.1	20,68
33.3	1.38 715	1.1 452	349.3	305.0	20,75
33.4	1.38 734	1.1 457	350.5	305.9	20,82
33.5	1.38 753	1.1 461	351.7	306.9	20,90
33.6	1.38 771	1.1 466	352.9	307.8	20,97
33.7	1.38 790	1.1 471	354.1	308.7	21,04
33.8	1.38 808	1.1 476	355.3	309.6	21,11
33.9	1.38 827	1.1 481	356.5	310.5	21,18
34.0	1.38 845	1.1 486	357.7	311.4	21,25
34.1	1.38 864	1.1 491	359.0	312.4	21,33
34.2	1.38 882	1.1 496	360.3	313.4	21,41
34.3	1.38 901	1.1 501	361.5	314.3	21,48
34.4	1.38 919	1.1 506	362.8	315.3	21,55
34.5	1.38 938	1.1 512	364.1	316.3	21,63
34.6	1.38 957	1.1 517	365.4	317.3	21,71
34.7	1.38 975	1.1 522	366.7	318.2	21,79
34.8	1.38 994	1.1 527	367.9	319.2	21,86
34.9	1.39 012	1.1 532	369.2	320.2	21,94

▼B

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukry w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
35.0	1.39 031	1.1 537	370.5	321.1	22,01
35.1	1.39 050	1.1 543	371.8	322.1	22,09
35.2	1.39 069	1.1 548	373.0	323.0	22,16
35.3	1.39 087	1.1 553	374.3	324.0	22,24
35.4	1.39 106	1.1 558	375.6	325.0	22,32
35.5	1.39 125	1.1 563	376.9	325.9	22,39
35.6	1.39 144	1.1 568	378.1	326.9	22,45
35.7	1.39 163	1.1 573	379.4	327.8	22,54
35.8	1.39 181	1.1 579	380.7	328.8	22,62
35.9	1.39 200	1.1 584	381.9	329.7	22,69
36.0	1.39 219	1.1 589	383.2	330.7	22,77
36.1	1.39 238	1.1 594	384.5	331.6	22,85
36.2	1.39 257	1.1 599	385.8	332.6	22,92
36.3	1.39 276	1.1 604	387.0	333.5	22,99
36.4	1.39 295	1.1 610	388.3	334.5	23,07
36.5	1.39 314	1.1 615	389.6	335.4	23,15
36.6	1.39332	1.1620	390.9	336.4	23,22
36.7	1.39 351	1.1 625	392.2	337.3	23,30
36.8	1.39 370	1.1 630	393.4	338.3	23,37
36.9	1.39 389	1.1 635	394.7	339.2	23,45
37.0	1.39 408	1.1 641	396.0	340.2	23,53
37.1	1.39 427	1.1 646	397.3	341.1	23,60
37.2	1.39 446	1.1 651	398.6	342.1	23,68
37.3	1.39 465	1.1 656	399.8	343.0	23,75
37.4	1.39 484	1.1 661	401.1	344.0	23,83
37.5	1.39 504	1.1 666	402.4	344.9	23,91
37.6	1.39523	1.1672	403.7	345.9	23,99
37.7	1.39 542	1.1 677	405.0	346.8	24,06
37.8	1.39561	1.1682	406.2	347.7	24,13
37.9	1.39 580	1.1 687	407.5	348.7	24,21
38.0	1.39 599	1.1 692	408.8	349.6	24,29
38.1	1.39 618	1.1 698	410.1	350.6	24,37
38.2	1.39 637	1.1 703	411.3	351.5	24,44
38.3	1.39 657	1.1 708	412.6	352.4	24,51
38.4	1.39 676	1.1 713	413.9	353.4	24,59
38.5	1.39 695	1.1 718	415.2	354.3	24,67
38.6	1.39 714	1.1 723	416.4	355.2	24,74
38.7	1.39 733	1.1 728	417.7	356.1	24,82
38.8	1.39 753	1.1 733	419.0	357.1	24,90
38.9	1.39 772	1.1 739	420.2	358.0	24,97
39.0	1.39 791	1.1 744	421.5	358.9	25,04
39.1	1.39 810	1.1 749	422.8	359.8	25,12
39.2	1.39 830	1.1 754	424.1	360.8	25,20
39.3	1.39 849	1.1 759	425.3	361.7	25,27
39.4	1.39 869	1.1 764	426.6	362.6	25,35
39.5	1.39 888	1.1 770	427.9	363.6	25,42
39.6	1.39 907	1.1 775	429.2	364.5	25,50
39.7	1.39 927	1.1 780	430.5	365.4	25,58
39.8	1.39 946	1.1 785	431.7	366.3	25,65
39.9	1.39 966	1.1 790	433.0	367.3	25,73

▼B

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

▼B

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

▼B

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukry w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
50.0	1.42 008	1.2 344	569.8	461.6	33,86
50.1	1.42 029	1.2 349	571.2	462.5	33,94
50.2	1.42 050	1.2 355	572.6	463.5	34,02
50.3	1.42 071	1.2 361	574.0	464.4	34,10
50.4	1.42 092	1.2 366	575.4	465.3	34,19
50.5	1.42 114	1.2 372	576.9	466.2	34,28
50.6	1.42 135	1.2 378	578.3	467.2	34,36
50.7	1.42 156	1.2 384	579.7	468.1	34,44
50.8	1.42 177	1.2 389	581.1	469.0	34,53
50.9	1.42 198	1.2 395	582.5	469.9	34,61
51.0	1.42 219	1.2 401	583.9	470.9	34,69
51.1	1.42 240	1.2 407	585.4	471.8	34,78
51.2	1.42 261	1.2 413	586.9	472.8	34,87
51.3	1.42 283	1.2 419	588.3	473.8	34,95
51.4	1.42 304	1.2 425	589.8	474.7	35,04
51.5	1.42 325	1.2 431	591.3	475.7	35,13
51.6	1.42 346	1.2 437	592.8	476.6	35,22
51.7	1.47 367	1.2 443	594.3	477.6	35,31
51.8	1.42 389	1.2 449	595.7	478.6	35,39
51.9	1.42 410	1.2 455	597.2	479.5	35,48
52.0	1.42 431	1.2 461	598.7	480.5	35,57
52.1	1.42 452	1.2 466	600.1	481.4	35,65
52.2	1.42 474	1.2 472	601.5	482.3	35,74
52.3	1.42 495	1.2 478	602.9	483.2	35,82
52.4	1.42 517	1.2 483	604.3	484.1	35,91
52.5	1.42 538	1.2 489	605.8	485.0	35,99
52.6	1.42 559	1.2 495	607.2	485.9	36,08
52.7	1.42 581	1.2 500	608.6	486.8	36,16
52.8	1.42 602	1.2 506	610.0	487.7	36,24
52.9	1.42 624	1.2 512	611.4	488.6	36,33
53.0	1.42 645	1.2 518	612.8	489.6	36,41
53.1	1.42 666	1.2 524	614.3	490.5	36,50
53.2	1.42 686	1.2 530	615.8	491.4	36,59
53.3	1.42 707	1.2 536	617.2	492.4	36,67
53.4	1.42 727	1.2 542	618.7	493.3	36,76
53.5	1.42 748	1.2 548	620.2	494.3	36,85
53.6	1.42 769	1.2 554	621.7	495.2	36,94
53.7	1.42 789	1.2 560	623.2	496.2	37,03
53.8	1.42810	1.2566	624.6	497.1	37,11
53.9	1.42 830	1.2 571	626.1	498.0	37,20
54.0	1.42 851	1.2 577	627.6	499.0	37,29
54.1	1.42 874	1.2 583	629.0	499.9	37,37
54.2	1.42 897	1.2 589	630.4	500.8	37,45
54.3	1.42 919	1.2 595	631.8	501.7	37,54
54.4	1.42 942	1.2 600	633.2	502.6	37,62
54.5	1.42 965	1.2 606	634.7	503.5	37,71
54.6	1.42 988	1.2 612	636.1	504.3	37,79
54.7	1.43 011	1.2 617	637.5	505.2	37,88
54.8	1.43 033	1.2 623	638.9	506.1	37,96
54.9	1.43 056	1.2 629	640.3	507.0	38,04

▼B

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukry w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
55.0	1.43 079	1.2 635	641.7	507.9	38,11
55.1	1.43 101	1.2 640	643.2	508.8	38,22
55.2	1.43 123	1.2 646	644.6	509.7	38,30
55.3	1.43 145	1.2 652	646.1	510.7	38,39
55.4	1.43 167	1.2 658	647.6	511.6	38,48
55.5	1.43 189	1.2 664	649.1	512.5	38,57
55.6	1.43 210	1.2 670	650.5	513.4	38,65
55.7	1.43 232	1.2 676	652.0	514.3	38,74
55.8	1.43 254	1.2 682	653.5	515.3	38,83
55.9	1.43 276	1.2 688	654.9	516.2	38,91
56.0	1.43 298	1.2 694	656.4	517.1	39,00
56.1	1.43 320	1.2 700	657.9	518.0	39,09
56.2	1.43 342	1.2 706	659.4	518.9	39,18
56.3	1.43 364	1.2 712	660.8	519.9	39,26
56.4	1.43 386	1.2 718	662.3	520.8	39,35
56.5	1.43 409	1.2 724	663.8	521.7	39,44
56.6	1.43 431	1.2 730	665.3	522.6	39,53
56.7	1.43 453	1.2 736	666.8	523.5	39,62
56.8	1.43 475	1.2 742	668.2	524.4	39,70
56.9	1.43 497	1.2 748	669.7	525.4	39,79
57.0	1.43 519	1.2 754	671.2	526.3	39,88
57.1	1.43 541	1.2 760	672.7	527.2	39,97
57.2	1.43 563	1.2 766	674.3	528.2	40,06
57.3	1.43 586	1.2 773	675.8	529.1	40,15
57.4	1.43 608	1.2 779	677.4	530.1	40,25
57.5	1.43 630	1.2 785	678.9	531.0	40,34
57.6	1.43 652	1.2 791	680.4	532.0	40,43
57.7	1.43 674	1.2 797	682.0	532.9	40,52
57.8	1.43 697	1.2 804	683.5	533.8	40,61
57.9	1.43 719	1.2 810	685.1	534.8	40,70
58.0	1.43 741	1.2 816	686.6	535.7	40,80
58.1	1.43 763	1.2 822	688.1	536.6	40,88
58.2	1.43 786	1.2 828	689.6	537.5	40,97
58.3	1.43 808	1.2 834	691.0	538.4	41,06
58.4	1.43 831	1.2 840	692.5	539.3	41,14
58.5	1.43 854	1.2 846	694.0	540.2	41,23
58.6	1.43 876	1.2 852	695.5	541.1	41,32
58.7	1.43 899	1.2 858	697.0	542.0	41,41
58.8	1.43 921	1.2 864	698.4	542.9	41,50
58.9	1.43 944	1.2 870	699.9	543.8	41,58
59.0	1.43 966	1.2 876	701.4	544.7	41,67
59.1	1.43 989	1.2 882	702.9	545.7	41,76
59.2	1.44 011	1.2 888	704.5	546.6	41,86
59.3	1.44 034	1.2 895	706.0	547.5	41,95
59.4	1.44 056	1.2 901	707.6	548.5	42,04
59.5	1.44 079	1.2 907	709.1	549.4	42,13
59.6	1.44 102	1.2 913	710.6	550.3	42,22
59.7	1.44 124	1.2 920	712.2	551.2	42,32
59.8	1.44 147	1.2 926	713.7	552.2	42,41
59.9	1.44 169	1.2 932	715.3	553.1	42,50

▼B

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukry w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
60.0	1.44 192	1.2 938	716.8	554.0	42,59
60.1	1.44 215	1.2 944	718.3	554.9	42,68
60.2	1.44 237	1.2 950	719.8	555.8	42,77
60.3	1.44 260	1.2 956	721.2	556.7	42,85
60.4	1.44 283	1.2 962	722.7	557.6	42,94
60.5	1.44 306	1.2 968	724.2	558.4	43,03
60.6	1.44 328	1.2 974	725.7	559.3	43,12
60.7	1.44 351	1.2 980	727.2	560.2	43,21
60.8	1.44 374	1.2 986	728.6	561.1	43,29
60.9	1.44 396	1.2 992	730.1	562.0	43,38
61.0	1.44 419	1.2 998	731.6	562.8	43,47
61.1	1.44 442	1.3 004	733.1	563.8	43,56
61.2	1.44 465	1.3 011	734.7	564.7	43,65
61.3	1.44 488	1.3 017	736.2	565.6	43,74
61.4	1.44 511	1.3 023	737.8	566.5	43,84
61.5	1.44 533	1.3 030	739.4	567.4	43,93
61.6	1.44 556	1.3 036	740.9	568.4	44,02
61.7	1.44 579	1.3 042	742.5	569.3	44,12
61.8	1.44 602	1.3 048	744.0	570.2	44,21
61.9	1.44 625	1.3 055	745.6	571.1	44,30
62.0	1.44 648	1.3 061	747.1	572.0	44,39
62.1	1.44 671	1.3 067	748.6	572.9	44,48
62.2	1.44 694	1.3 073	750.2	573.8	44,57
62.3	1.44 717	1.3 080	751.7	574.7	44,66
62.4	1.44 740	1.3 086	753.3	575.6	44,76
62.5	1.44 764	1.3 092	754.8	576.5	44,85
62.6	1.44 787	1.3 098	756.3	577.4	44,94
62.7	1.44 810	1.3 104	757.9	578.3	45,03
62.8	1.44 833	1.3 111	759.4	579.2	45,12
62.9	1.44 856	1.3 117	761.0	580.1	45,21
63.0	1.44 879	1.3 123	762.5	581.0	45,31
63.1	1,44 902	1.3 130	764.1	582.0	45,40
63.2	1.44 926	1.3 136	765.7	582.9	45,49
63.3	1.44 949	1.3 143	767.3	583.8	45,59
63.4	1.44 972	1.3 149	768.9	584.8	45,69
63.5	1.44 996	1.3 156	770.6	585.7	45,79
63.6	1.45 019	1.3 162	772.2	586.6	45,88
63.7	1.45 042	1.3 169	773.8	587.6	45,98
63.8	1.45 065	1.3 175	775.4	588.5	46,07
63.9	1.45 089	1.3 182	777.0	589.4	46,17
64.0	1.45 112	1.3 188	778.6	590.4	46,26
64.1	1.45 135	1.3 195	780.1	591.3	46,35
64.2	1.45 159	1.3 201	781.7	592.1	46,45
64.3	1.45 183	1.3 207	783.2	593.0	46,53
64.4	1.45 206	1.3 213	784.8	593.9	46,63
64.5	1.45 230	1.3 219	786.3	594.8	46,72
64.6	1.45 253	1.3 226	787.8	595.7	46,81
64.7	1.45 276	1.3 232	789.4	596.6	46,90
64.8	1.45 300	1.3 238	790.9	597.5	46,99
64.9	1.45 324	1.3 244	792.5	598.3	47,09

▼B

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukry w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
65.0	1.45 347	1.3 251	794.0	599.2	47,18
65.1	1.45 371	1.3 257	795.6	600.1	47,27
65.2	1.45 394	1.3 264	797.2	601.1	47,37
65.3	1.45 418	1.3 270	798.8	602.0	47,46
65.4	1.45 441	1.3 277	800.4	602.9	47,56
65.5	1.45 465	1.3 283	802.1	603.8	47,66
65.6	1.45 489	1.3 290	803.7	604.7	47,75
65.7	1.45 512	1.3 296	805.3	605.6	47,85
65.8	1.45 536	1.3 303	806.9	606.6	47,94
65.9	1.45 559	1.3 309	808.5	607.5	48,04
66.0	1.45 583	1.3 316	810.1	608.4	48,13
66.1	1.45 607	1.3 322	811.6	609.3	48,22
66.2	1.45 630	1.3 328	813.2	610.1	48,32
66.3	1.45 654	1.3 335	814.8	611.0	48,41
66.4	1.45 678	1.3 341	816.3	611.9	48,50
66.5	1.45 702	1.3 347	817.9	612.8	48,60
66.6	1.45 725	1.3 353	819.4	613.6	48,69
66.7	1.45 749	1.3 360	820.9	614.5	48,77
66.8	1.45 773	1.3 366	822.5	615.4	48,87
66.9	1.45 796	1.3 372	824.1	616.2	48,97
67.0	1.45 820	1.3 378	825.6	617.1	49,05
67.1	1.45 844	1,3 385	827.2	618.0	49,15
67.2	1.45 868	1.3 391	828.8	618.9	49,24
67.3	1.45 892	1.3 398	830.4	619.8	49,34
67.4	1.45 916	1.3 404	832.0	620.7	49,43
67.5	1.45 940	1.3 411	833.7	621.6	49,53
67.6	1.45 964	1.3 418	835.3	622.5	49,63
67.7	1.45 988	1.3 424	836.9	623.4	49,73
67.8	1.46 012	1.3 431	838.5	624.3	49,82
67.9	1.46 036	1.3 437	840.1	625.2	49,92
68.0	1.46 060	1.3 444	841.7	626.1	50,01
68.1	1.46 084	1.3 450	843.4	627.0	50,11
68.2	1.46 108	1.3 457	845.1	628.0	50,21
68.3	1,46 132	1.3 464	846.7	628.9	50,31
68.4	1.46 156	1.3 471	848.4	629.8	50,41
68.5	1.46 181	1.3 478	850.1	630.8	50,51
68.6	1.46 205	1.3 484	851.8	631.7	50,61
68.7	1.46 229	1.3 491	853.5	632.6	50,71
68.8	1.46 253	1.3 498	855.1	633.5	50,81
68.9	1.46 277	1.3 505	856.8	634.5	50,91
69.0	1.46 301	1.3 512	858.5	635.4	51,01
69.1	1.46 325	1.3 518	860.1	636.3	51,10
69.2	1.46 350	1.3 525	861.7	637.2	51,20
69.3	1.46 374	1.3 531	863.3	638.0	51,29
69.4	1.46 398	1.3 538	864.9	638.9	51,39
69.5	1.46 423	1.3 544	866.6	639.8	51,49
69.6	1.46 447	1.3 551	868.2	640.7	51,58
69.7	1.46 471	1.3 557	869.8	641.6	51,68
69.8	1.46 495	1.3 564	871.4	642.4	51,78
69.9	1.46 520	1.3 570	873.0	643.3	51,87

▼B

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukry w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
70.0	1.46 544	1.3 577	874.6	644.2	51,97
70.1	1.46 568	1.3 583	876.2	645.1	52,06
70.2	1.46 593	1.3 590	877.8	645.9	52,15
70.3	1.46 618	1.3 596	879.4	646.8	52,25
70.4	1.46 642	1.3 603	881.0	647.7	52,35
70.5	1.46 667	1.3 609	882.7	648.6	52,45
70.6	1.46 691	1.3 616	884.3	649.4	52,54
70.7	1.46 715	1.2 622	885.9	650.3	52,64
70.8	1.46 740	1.3 629	887.5	651.2	52,73
70.9	1.46 765	1.3 635	889.1	652.1	52,83
71.0	1.46 789	1.3 642	890.7	652.9	52,92
71.1	1.46 814	1.3 649	892.4	653.8	53,02
71.2	1.46 838	1.3 655	894.1	654.7	53,12
71.3	1.46 863	1.3 662	895.7	655.6	53,22
71.4	1.46 888	1.3 669	897.4	656.5	53,32
71.5	1.46 913	1.3 676	899.1	657.4	53,42
71.6	1.46 937	1.3 683	900.8	658.3	53,52
71.7	1.46 962	1.3 689	902.5	659.2	53,62
71.8	1.46 987	1.3 696	904.1	660.1	53,72
71.9	1.47 011	1.3 703	905.8	661.0	53,82
72.0	1.47 036	1.37 10	907.5	661.9	53,92
72.1	1.47 061	1.3 717	909.2	662.8	54,02
72.2	1.47 086	1.3 723	910.8	663.7	54,12
72.3	1.47 110	1.3 730	912.5	664.6	54,22
72.4	1.47 135	1.3 737	914.2	665.5	54,32
72.5	1.47 160	1.3 744	915.9	666.4	54,42
72.6	1.47 185	1.3 750	917.5	667.3	54,51
72.7	1.47 210	1.3 757	919.2	668.2	54,62
72.8	1.47 234	1.3 764	920.9	669.0	54,72
72.9	1.47 259	1.3 771	922.5	669.9	54,81
73.0	1.47 284	1.3 777	924.2	670.8	54,91
73.1	1.47 309	1.3 784	925.9	671.7	55,01
73.2	1.47 334	1.3 791	927.6	672.6	55,11
73.3	1.47 359	1.3 798	929.2	673.5	55,21
73.4	1.47 384	1.3 804	930.9	674.4	55,31
73.5	1.47 409	1.3 811	932.6	675.2	55,41
73.6	1.47 434	1.3 818	934.3	676.1	55,51
73.7	1.47 459	1.3 825	936.0	677.0	55,61
73.8	1.47 484	1.3 832	937.6	677.9	55,71
73.9	1.47 509	1.3 838	939.3	678.8	55,81
74.0	1.47 534	1.3 845	941.0	679.7	55,91
74.1	1.47 559	1.3 852	942.7	680.5	56,01
74.2	1.47 584	1.3 859	944.4	681.4	56,11
74.3	1.47 609	1.3 866	946.0	682.3	56,21
74.4	1.47 634	1.3 872	947.7	683.2	56,31
74.5	1.47 660	1.3 879	949.4	684.0	56,41
74.6	1.47 685	1.3 886	951.1	684.9	56,51
74.7	1.47 710	1.3 893	952.8	685.8	56,61
74.8	1.47 735	1.3 900	954.4	686.7	56,71
74.9	1.47 760	1.3 906	956.1	687.5	56,81



TABELA III

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

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

⁽¹⁾ Zawartość cukrów w przeliczeniu na cukier inwertowany.

▼B

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukier w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
55.0	1.43 079	1.2635	707.8	560.2	42,04
55.1	1.43 102	1.2 639	709.4	561.3	42,14
55.2	1.43 124	1.2 645	711.0	562.3	42,23
55.3	1.43 146	1.2 652	712.7	563.3	42,33
55.4	1.43 168	1.2 659	714.4	564.3	42,44
55.5	1.43 189	1,2665	716.1	565.4	42,54
55.6	1.43211	1.2672	717.8	566.4	42,64
55.7	1.43 233	1.2 679	719.5	567.5	42,74
55.8	1.43 255	1.2 685	721.1	568.5	42,83
55.9	1.43 277	1.2 692	722.8	569.5	42,93
56.0	1.43 298	1.2 699	724.5	570.5	43,04
56.1	1.43 321	1.2 703	726.1	571.6	43,13
56.2	1.43 343	1.2 708	727.7	572.6	43,23
56.3	1.43 365	1.2 713	729.3	573.7	43,32
56.4	1.43 387	1.2 718	730.9	574.7	43,42
56.5	1.43 409	1.2 724	732.6	575.8	43,52
56.6	1.43 431	1.2 731	734.3	576.8	43,62
56.7	1.43 454	1.2 738	736.0	577.8	43,72
56.8	1.43 476	1.2 744	737.6	578.8	43,81
56.9	1.43 498	1.2 751	739.4	579.9	43,92
57.0	1.43 519	1.2 758	741.1	580.9	44,02
57.1	1.43 542	1.2 763	742.8	582.0	44,12
57.2	1.43 564	1.2 768	744.4	583.0	44,22
57.3	1.43 586	1.2 773	745.9	584.0	44,31
57.4	1.43 609	1.2 778	747.6	585.1	44,41
57.5	1.43 631	1.2 784	749.3	586.1	44,51
57.6	1.43 653	1.2 791	751.0	587.1	44,61
57.7	1.43 675	1.2 798	752.7	588.1	44,71
57.8	1.43 698	1.2 804	754.4	589.2	44,81
57.9	1.43 720	1.2 810	756.1	590.2	44,91
58.0	1.43 741	1.2 818	757.8	591.2	45,01
58.1	1.43 764	1.2 822	759.5	592.3	45,11
58.2	1.43 784	1.2 827	761.1	593.4	45,21
58.3	1.43 809	1.2 832	762.6	594.3	45,30
58.4	1.43 832	1.2 837	764.3	595.4	45,40
58.5	1.43 854	1.2 843	766.0	596.4	45,50
58.6	1.43 877	1.2 850	767.8	597.5	45,61
58.7	1.43 899	1.2 857	769.5	598.5	45,71
58.8	1.43 922	1.2 863	771.1	599.5	45,80
58.9	1.43 944	1.2 869	772.9	600.6	45,91
59.0	1.43 966	1.2 876	774.6	601.6	46,01
59.1	1.43 988	1.2 882	776.3	602.6	46,11
59.2	1.44 011	1.2 889	778.1	603.7	46,22
59.3	1.44 034	1.2 896	779.8	604.7	46,32
59.4	1.44 057	1.2 902	781.6	605.8	46,43
59.5	1.44 079	1.2 909	783.3	606.8	46,53
59.6	1.44 102	1.2 916	785.2	607.9	46,64
59.7	1.44 124	1.2 921	786.8	608.9	46,74
59.8	1.44 147	1.2 926	788.4	609.9	46,83
59.9	1.44 169	1.2 931	790.0	610.9	46,93

▼B

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukier w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
60.0	1.44 192	1,2936	791.7	612.0	47,03
60.1	1.44 215	1.2 942	793.3	613.0	47,12
60.2	1.44 238	1.2 949	795.2	614.1	47,23
60.3	1.44 260	1.2 956	796.9	615.1	47,34
60.4	1.44 283	1.2 962	798.6	616.1	47,44
60.5	1.44 305	1.2 969	800.5	617.2	47,55
60.6	1.44 328	1.2 976	802.2	618.2	47,65
60.7	1.44 351	1.2 981	803.9	619.3	47,75
60.8	1.44 374	1.2 986	805.5	620.3	47,85
60.9	1.44 397	1.2 991	807.1	621.3	47,94
61.0	1.44 419	1.2 996	808.7	622.3	48,04
61.1	1.44 442	1.3 002	810.5	623.4	48,14
61.2	1.44 465	1.3 009	812.3	624.4	48,25
61.3	1.44 488	1.3 016	814.2	625.5	48,36
61.4	1.44 511	1.3 022	815.8	626.5	48,46
61.5	1.44 534	1.3 029	817.7	627.6	48,57
61.6	1.44 557	1.3 036	819.4	628.6	48,67
61.7	1.44 580	1.3 042	821.3	629.7	48,79
61.8	1.44 603	1.3 049	823.0	630.7	48,89
61.9	1.44 626	1.3 056	824.8	631.7	48,99
62.0	1.44 648	1.3 062	826.6	632.8	49,10
62.1	1.44 672	1.3 068	828.3	633.8	49,20
62.2	1.44 695	1.3 075	830.0	634.8	49,30
62.3	1.44 718	1.3 080	831.8	635.9	49,40
62.4	1.44 741	1.3 085	833.4	636.9	49,50
62.5	1.44 764	1.3 090	835.1	638.0	49,60
62.6	1.44 787	1.3 095	836.8	639.0	49,71
62.7	1.44 810	1.3 101	838.5	640.0	49,81
62.8	1.44 833	1.3 108	840.2	641.0	49,91
62.9	1.44 856	1.3 115	842.1	642.1	50,02
63.0	1.44 879	1.3 121	843.8	643.1	50,12
63.1	1.44 902	1.3 128	845.7	644.2	50,23
63.2	1.44 926	1.3 135	847.5	645.2	50,34
63.3	1.44 949	1.3 141	849.3	646.3	50,45
63.4	1.44 972	1.3 148	851.1	647.3	50,56
63.5	1.44 995	1.3 155	853.0	648.4	50,67
63.6	1.45 019	1.3 161	854.7	649.4	50,77
63.7	1,45042	1.3168	856.5	650.4	50,88
63.8	1,45065	1.3175	858.4	651.5	50,99
63.9	1.45 088	1.3 180	860.0	652.5	51,08
64.0	1.45 112	1.3 185	861.6	653.5	51,18
64.1	1.45 135	1.3 190	863.4	654.6	51,29
64.2	1.45 158	1.3 195	865.1	655.6	51,39
64.3	1.45 181	1.3 201	866.9	656.7	51,49
64.4	1.45 205	1.3 208	868.7	657.7	51,60
64.5	1.45 228	1.3 215	870.6	658.8	51,71
64.6	1.45 252	1.3 221	872.3	659.8	51,81
64.7	1.45 275	1.3 228	874.1	660.8	51,92
64.8	1.45 299	1.3 235	876.0	661.9	52,03
64.9	1.45 322	1.3 241	877.8	662.9	52,14

▼B

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

▼B

Sacharoza % (m/m)	Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Gęstość w temperaturze 20 °C	Cukier w g/l	Cukier w g/kg	Zawartość alkoholu % obj. w temperaturze 20 °C
70.0	1.46 544	1.3 573	971.8	716.0	57,72
70.1	1.46 565	1.3 579	973.8	717.1	57,84
70.2	1.46 590	1.3 586	975.6	718.1	57,95
70.3	1.46 614	1.3 593	977.6	719.2	58,07
70.4	1.46 639	1.3 599	979.4	720.2	58,18
70.5	1.46 663	1.3 606	981.3	721.2	58,29
70.6	1.46 688	1.3 613	983.3	722.3	58,41
70.7	1.46 712	1.3 619	985.2	723.4	58,52
70.8	1.46 737	1.3 626	987.1	724.4	58,63
70.9	1.46 761	1.3 633	988.9	725.4	58,74
71.0	1.46 789	1.3 639	990.9	726.5	58,86
71.1	1.46 810	1.3 646	992.8	727.5	58,97
71.2	1.46 835	1.3 653	994.8	728.6	59,09
71.3	1.46 859	1.3 659	996.6	729.6	59,20
71.4	1.46 884	1.3 665	998.5	730.7	59,31
71.5	1.46 908	1.3 672	1000.4	731.7	59,42
71.6	1.46 933	1.3 678	1002.2	732.7	59,53
71.7	1.46 957	1.3 685	1004.2	733.8	59,65
71.8	1.46 982	1.3 692	1006.1	734.8	59,76
71.9	1.47 007	1.3 698	1008.0	735.9	59,88
72.0	1.47 036	1.3 705	1009.9	736.9	59,99
72.1	1.47 056	1.3 712	1012.0	738.0	60,11
72.2	1.47 081	1.3 718	1013.8	739.0	60,22
72.3	1.47 106	1.3 725	1015.7	740.0	60,33
72.4	1.47 131	1.3 732	1017.7	741.1	60,45
72.5	1.47 155	1.3 738	1019.5	742.1	60,56
72.6	1.47 180	1.3 745	1021.5	743.2	60,68
72.7	1.47 205	1.3 752	1023.4	744.2	60,79
72.8	1.47 230	1.3 758	1025.4	745.3	60,91
72.9	1.47 254	1.3 765	1027.3	746.3	61,02
73.0	1.47 284	1.3 772	1029.3	747.4	61,14
73.1	1.47 304	1.3 778	1031.2	748.4	61,25
73.2	1.47 329	1.3 785	1033.2	749.5	61,37
73.3	1.47 354	1.3 792	1035.1	750.5	61,48
73.4	1.47 379	1.3 798	1037.1	751.6	61,60
73.5	1.47 404	1.3 805	1039.0	752.6	61,72
73.6	1.47 429	1.3 812	1040.9	753.6	61,83
73.7	1.47 454	1.3 818	1042.8	754.7	61,94
73.8	1.47 479	1.3 825	1044.8	755.7	62,06
73.9	1.47 504	1.3 832	1046.8	756.8	62,18
74.0	1.47 534	1.3 838	1048.6	757.8	62,28
74.1	1.47 554	1.3 845	1050.7	758.9	62,41
74.2	1.47 579	1.3 852	1052.6	759.9	62,52
74.3	1.47 604	1.3 858	1054.6	761.0	62,64
74.4	1.47 629	1.3 865	1056.5	762.0	62,76
74.5	1.47 654	1.3 871	1058.5	763.1	62,87
74.6	1.47 679	1.3 878	1060.4	764.1	62,99
74.7	1.47 704	1.3 885	1062.3	765.1	63,10
74.8	1.47 730	1.3 892	1064.4	766.2	63,23
74.9	1.47 755	1.3 898	1066.3	767.2	63,33
75.0	1.47 785	1.3 905	1068.3	768.3	63,46

▼ **B****3. OBJĘTOŚCIOWA ZAWARTOŚĆ ALKOHOLU**

1. DEFINICJE

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

Uwaga:

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

2. ZASADA METOD

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

▼ **M12**2.2. **Metody referencyjne:**

- Oznaczanie mocy alkoholu w destylacie za pomocą piknometrii
- Oznaczanie mocy alkoholu w winach za pomocą wagi hydrostatycznej
- Oznaczanie mocy alkoholu w winach za pomocą oscylacyjnego gęstościomierza elektronicznego.

▼ **B**2.3. **Metody zwykle:**2.3.1. *Pomiar zawartości alkoholu w destylacie za pomocą areometru.*▼ **M11**▼ **B**2.3.3. *Pomiar zawartości alkoholu w destylacie za pomocą refraktometru.*

Uwaga:

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

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

3. METODA UZYSKIWANIA DESTYLATU

3.1. **Urządzenie**

3.1.1. Urządzenie do destylacji składające się z:

- jednolitrowej kolby okrągłodennej ze szlifem szklanym,
- kolumny rektyfikacyjnej o wysokości około 20 cm lub innego urządzenia zapobiegającego rozpryskiwaniu,
- źródła ciepła; należy zapewnić zabezpieczenie odciągniętej substancji przed pirolizą w drodze odpowiednich ustaleń,
- skraplacza zakończonego przedłużaczem, doprowadzającym destylat na dno kolby miarowej, zawierającej kilka mililitrów wody.

3.1.2. Zestaw do destylacji parowej składający się z:

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

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

▼ B

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

3.2. **Odczynniki**

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

3.3. **Przygotowanie próbki**

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

3.4. **Procedura**

Odmierzyć 200 ml wina przy użyciu kolby pomiarowej.

Zapisać temperaturę wina.

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

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

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

Bardzo ostrożnie wymieszać destylat kolistymi ruchami.

Uwaga:

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

▼ M12

4. METODY REFERENCYJNE

4-A **Oznaczanie mocy alkoholu w destylacie za pomocą piknometrii****▼ B**4.1. **Urządzenie**

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

4.2. **Procedura**

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

4.3. **Przedstawienie wyników**4.3.1. *Metoda obliczania*

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

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

▼ **B**

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

Uwaga:

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

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

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

▼ **M11**▼ **M12**

4-B **Oznaczanie mocy alkoholu w winach za pomocą wagi hydrostatycznej**

▼ **M11**

1. METODA POMIARU

1.1. **Wprowadzenie**

Objętościowa zawartość alkoholu musi być zmierzona przed wprowadzeniem do obrotu zasadniczo w celu przestrzegania reguł odnoszących się do etykietowania.

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

1.2. **Przedmiot i zakres zastosowania**

Opisaną metodą pomiaru jest metoda densymetryczna z wykorzystaniem wagi hydrostatycznej.

Do celów obowiązujących przepisów wykonawczych, temperaturę, w jakiej przeprowadza się próbę ustala się na 20 °C.

1.3. **Zasady i definicje**

Zasada niniejszej metody jest oparta na destylowaniu wina. Metoda destylacji jest opisana w niniejszym rozdziale. Destylacja eliminuje substancje nietlotne. Homologi alkoholu etylowego wraz z alkoholem etylowym oraz homologami alkoholu etylowego w estrach etylu są uwzględnione w zawartości alkoholu, jako że występują w destylacie.

Następnie dokonywany jest pomiar gęstości uzyskanego destylatu. Gęstość cieczy w danej temperaturze jest równa ilorazowi masy przez jej objętość $\rho_2 = m/V$; w odniesieniu do wina jest to wyrażone w g/ml.

Zawartość alkoholu w winach może być zmierzona za pomocą metody densymetrycznej z wykorzystaniem wagi hydrostatycznej w oparciu o prawo Archimiedesa, zgodnie z którym na ciało zanurzone w cieczy działa siła wyporu skierowana ku górze i równa ciężarowi wypartej cieczy.

1.4. **Odczynniki**

W trakcie analizy, chyba że określono inaczej, wykorzystuje się jedynie odczynniki posiadające uznany stopień czystości analitycznej oraz wodę o stopniu przynajmniej 3, jak określono w ISO 3696:1987.

1.4.1. *Roztwór czyszczący pływaki (wodorotlenek sodu, 30 % m/V)*

Do przygotowania 100 ml, zważyć 30 g wodorotlenku sodu, oraz uzupełnić do pełnej objętości przy wykorzystaniu 96 % objętościowo alkoholu etylowego.

1.5. **Urządzenie i sprzęt**

Zwykły sprzęt laboratoryjny, w szczególności:

1.5.1. jednoszalkowa waga hydrostatyczna czułości 0,1 mg.

1.5.2. Pływak o objętości minimum 20 ml, szczególnie dostosowany do wagi, przymocowany przy pomocy nici o średnicy nie przekraczającej 0,1 mm.

1.5.3. Cylinder miarowy, na którym kreską zaznaczony jest poziom cieczy. Pływak musi całkowicie mieścić się w części cylindra miarowego znajdującej się poniżej kreski; powierzchnia badanej cieczy powinna być przecięta jedynie przez nitkę utrzymującą numik. Cylinder miarowy musi mieć średnicę co najmniej o 6 mm większą od średnicy pływaka.

▼ **M11**

1.5.4. Termometr (lub próbnik mierzący temperaturę), wskazujący stopnie i dziesiąte stopni od 10 °C do 40 °C, skalibrowany do 0,05 °C.

1.5.5. Odważniki, skalibrowane przez uznany organ poświadczający.

1.6. **Procedura**

Pływak i cylinder miarowy muszą być oczyszczone wodą destylowaną przed każdym pomiarem, osuszone miękkim papierem laboratoryjnym nie zostawiającym włókien oraz opłukany roztworem, którego gęstość ma być określona. Pomiary muszą być dokonywane niezwłocznie po osiągnięciu stabilności przez urządzenie, tak aby ograniczyć straty alkoholu w wyniku parowania.

1.6.1. *Kalibracja wagi*

Pomimo, iż wagi mają zwykle wewnętrzny system kalibracji, waga hydrostatyczna musi być kalibrowana odważnikami zbadanymi przez organ poświadczający.

1.6.2. *Kalibracja pływaka*

1.6.2.1. Wypełnić cylinder miarowy do kreski podwójnie destylowaną wodą (lub wodą o równoważnej czystości np. mikrofiltrowana woda o przewodności równej 18,2 MΩ/cm) w temperaturze między 15 °C a 25 °C, najlepiej w temperaturze 20 °C.

1.6.2.2. Zanurzyć pływak i termometr, zamieszać, odczytać gęstość cieczy z urządzenia oraz, jeżeli jest to konieczne, poprawić wskazanie/odczyt tak aby był równy z odczytem wody w temperaturze pomiaru.

1.6.3. *Kontrola z wykorzystaniem roztworu woda — alkohol*

1.6.3.1. Wypełnić cylinder miarowy do kreski mieszaniną woda — alkohol o znanej zawartości alkoholu w temperaturze między 15 °C a 25 °C, najlepiej w temperaturze 20 °C.

1.6.3.2. Zanurzyć pływak i termometr, zamieszać, odczytać gęstość cieczy (lub zawartość alkoholu, jeżeli jest to możliwe) z urządzenia. Ustalona w ten sposób zawartość alkoholu powinna być równa uprzednio ustalonej zawartości alkoholu.

Uwaga:

Ten roztwór o znanej zawartości alkoholu może być również wykorzystany do kalibracji pływaka, zamiast wody podwójnie destylowanej.

1.6.4. *Pomiar gęstości destylatu (lub zawartości alkoholu w tym destylacie, jeżeli umożliwia to urządzenie)*

1.6.4.1. Umieścić badaną próbkę w cylindrze miarowym do działki.

1.6.4.2. Zanurzyć pływak i termometr, zamieszać, odczytać gęstość cieczy (lub zawartość alkoholu jeżeli jest to możliwe) z urządzenia. Odnosić temperaturę, jeżeli gęstość jest mierzona w °C pt

1.6.4.3. Skorygować pt z wykorzystaniem tabeli gęstości pt dla mieszanin woda — alkohol (Tabela II załącznika II do niniejszego rozdziału).

1.6.5. *Czyszczenie pływaka i cylindra miarowego*

1.6.5.1. Zanurzyć pływak w roztworze czyszczącym pływak, znajdującym się w cylindrze miarowym.

1.6.5.2. Umożliwić nasiąkanie przez jedną godzinę, obracając cyklicznie pływak.

1.6.5.3. Opłukać dużą ilością wody z kranu, a następnie wodą destylowaną.

1.6.5.4. Osuszyć miękkim papierem laboratoryjnym, który nie zostawia włókien.

Przeprowadzać tę procedurę przy pierwszym użyciu pływaka, a następnie powtarzać regularnie zależnie od potrzeb.

1.6.6. *Wynik*

Wykorzystując gęstość ρ_{20} , obliczyć rzeczywistą zawartość alkoholu z wykorzystaniem tabeli, podającej wartości objętościowej zawartości alkoholu (obj. %) w temperaturze 20 °C jako funkcję gęstości mieszaniny woda — alkohol w temperaturze 20 °C, tj. międzynarodowa tabela przyjęta przez Międzynarodową Organizację Metrologii Prawnej w jej zaleceniu nr 22.

▼ **M11**

2. PORÓWNANIE POMIARÓW DOKONANYCH Z WYKORZYSTANIEM WAGI HYDROSTATYCZNEJ Z PROCEDURAMI UZYSKANymi Z WYKORZYSTANIEM DENSYMETRA ELEKTRONICZNEGO

Wykorzystując próbki o zawartości alkoholu między 4 % a 18 % obj., powtarzalność i odtwarzalność zostały zmierzone dzięki zastosowaniu międzylaboratoryjnej próby pierścieniowej. Została porównana zawartość alkoholu w różnych próbkach, zmierzona z wykorzystaniem wagi hydrostatycznej oraz densymetra elektronicznego oraz wartości odnoszące się do powtarzalności i odtwarzalności otrzymane w wyniku wszechstronnego, wieloletniego badania porównawczego.

2.1. **Próbki**

Wina o różnej gęstości i zawartości alkoholu przygotowywane każdego miesiąca na skalę przemysłową, pobrane z należycie przechowywanych zapasów butelek i dostarczonych do laboratoriów jako produkty anonimowe.

2.2. **Laboratoria**

Laboratoria uczestniczące w comiesięcznych próbach pierścieniowych organizowanych przez *Unione Italiana Vini* (Werona, Włochy) zgodnie z regulami ISO 5725 (UNI 9225) oraz międzynarodowym protokołem sprawności badawczej dla laboratoriów analizy chemicznej, ustanowionym na podstawie wytycznych AOAC, ISO, IUPAC, ISO 43 i ILAC G13. Roczne sprawozdanie ma być przekazane przez *Unione Italiana Vini* wszystkim uczestnikom.

2.3. **Sprzęt**

2.3.1. Elektroniczna waga hydrostatyczna (z dokładnością do 5 miejsc dziesiętnych), jeżeli jest to możliwe, z urządzeniem do przetwarzania danych.

2.3.2. Densyometr elektroniczny, jeżeli jest to możliwe, z automatycznym dozowaniem próbek.

2.4. **Analiza**

Zgodnie z regulami oceny metod, każda próbka została zanalizowana dwa razy pod rząd w celu określenia zawartości alkoholu.

2.5. **Wynik**

Tabela 1 wskazuje wyniki pomiarów uzyskane przez laboratoria wykorzystujące wagę hydrostatyczną.

Tabela 2 wskazuje wyniki uzyskane przez laboratoria wykorzystujące densyometr elektroniczny.

2.6. **Oceny wyników**

2.6.1. Wyniki próby zostały zbadane w zakresie wskazania indywidualnego, systematycznego błędu ($p < 0,025$) z sukcesywnym wykorzystaniem testu Cochra i Grubba, przy zastosowaniu procedur określonych w międzynarodowo uzgodnionym protokole dotyczącym zaprojektowania, przeprowadzenia i interpretacji studium wykonania metody (Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies).

2.6.2. *Powtarzalność (r) i odtwarzalność (R)*

Obliczenia powtarzalności (r) i odtwarzalności (R), określone w tym protokole, zostały dokonane w odniesieniu do tych wyników, pozostałych po usunięciu wartości odstających. Przy dokonywaniu oceny nowej metody często nie istnieje zatwierdzone odniesienie lub metoda ustawowa, z którymi należy porównywać kryteria dokładności, stąd użyteczne jest porównanie dokładności danych uzyskanych ze wspólnej próby z przewidywanymi poziomami dokładności. Te przewidywane poziomy są obliczone na podstawie równania Horwitza. Porównanie wyników próby oraz przewidywanych poziomów dają wskazówkę dotyczącą tego, czy metoda jest wystarczająco dokładna w odniesieniu do poziomu analitu poddanego pomiarowi. Przewidywana wartość Horwitza jest obliczona na podstawie równania Horwitza.

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

gdzie C = zmierzone stężenie analitu wyrażone jako dziesiąta (np. 1 g/100 g = 0,01).

▼ **M11**

Wartość Horrata daje porównanie rzeczywistej dokładności zmierzonej z dokładnością przewidywaną przez równanie Horwitza w odniesieniu do metody pomiarowej na określonym poziomie analitu. Oblicza się to w następujący sposób:

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

2.6.3. *Dokładność międzylaboratoryjna*

Wartość Horrata równa 1 wskazuje zadowalającą dokładność międzylaboratoryjną, zważywszy, że wartość równa 2 wskazuje zwykle niezadowalającą dokładność, tj. taką, która jest za bardzo zmienna dla większości celów analizy, lub gdy uzyskana zmienna jest wyższa od oczekiwanej dla rodzaju wykorzystanej metody. Hor jest również obliczana i stosowana do oceny dokładności wewnątrzlaboratoryjnej, z wykorzystaniem obliczenia przybliżonego:

$$\text{RSDr (Horwitz)} = 0,66 \text{ RSDr (Horwitz)} \text{ (przy założeniu obliczenia przybliżonego } r = 0,66 R \text{)}$$

Tabela 3 wskazuje różnice pomiędzy pomiarami uzyskanymi przez laboratoria wykorzystujące densymetr elektroniczny, a laboratoriami wykorzystującymi wagę hydrostatyczną. Z wyjątkiem próbki 2000/3, w której występowała bardzo niska zawartość alkoholu i w odniesieniu do której obie techniki wykazują słabą odtwarzalność, obserwuje się zasadniczo bardzo wysoką zgodność w odniesieniu do innych próbek.

2.6.4. *Współczynniki dokładności*

Tabela 4 wskazuje średnie ogólne współczynniki dokładności, obliczone na podstawie wszystkich comiesięcznych prób przeprowadzonych od stycznia 1999 r. do maja 2001 r.

W szczególności:

Powtarzalność r = 0,074 (% obj.), w odniesieniu do wagi hydrostatycznej oraz 0,061 (% obj.) w odniesieniu do densymetra elektronicznego;

Odtwarzalność R = 0,229 (% obj.) w odniesieniu do wagi hydrostatycznej oraz 0,174 (% obj.) w odniesieniu do densymetra elektronicznego.

2.7. **Wnioski**

Wyniki określania zawartości alkoholu w szerokim zakresie win wskazują porównywalność pomiarów przeprowadzonych z wykorzystaniem wagi hydrostatycznej oraz gęstościomierza elektronicznego przy zastosowaniu oscylatora częstotliwości oraz ukazują, że wartości współczynników oceny są podobne dla obydwu metod.

Objaśnienie do tabeli

— średnia	Średnia wszystkich danych wykorzystanych w analizie statystycznej
— N	Całkowita liczba zestawów dostarczonych danych
— Nc	Liczba wyników wyłączonych z analizy statystycznej ze względu na niezgodność
— wartości odstające	Liczba wyników wyłączonych z analizy statystycznej ze względu na określenie ich jako wartości odstające w wyniku testu Cochrańa albo testu Grubba
— nl	Liczba wyników wykorzystanych w analizie statystycznej
— r	Limit powtarzalności
— Sr	Standardowe odchylenie powtarzalności
— RSDr	Odpowiednie standardowe odchylenie powtarzalności ($Sr \times 100 / \text{średnia}$)
— Hor	Wartość Horrata dla powtarzalności równa zaobserwowanej RSDr podzielonej przez wartość RSDr oszacowaną na podstawie równania Horwitza przy zastosowaniu założenia $r = 0,66R$
— R	Limit odtwarzalności
— SR	Standardowe odchylenie odtwarzalności

▼ **M11**

— HoR	Wartość Horrata dla odtwarzalności równa zaobserwowanej RSDR podzielonej przez wartość RSDR obliczoną na podstawie HoR = $RSDR(\text{zmierzona})/RSDR$
-------	---

Tabela 1: Waga hydrostatyczna (WH)

	Średnia	n	Wartości odstające	nl	r	Sr	RSDr	Hor	R	sR	RSDR	HoR	Liczba replikacji	Istotna różnica CrD95
1999/1	11,043	17	1	16	0,0571	0,0204	0,1846	0,1004	0,1579	0,0564	0,5107	0,18	2	0,1080
1999/2	11,247	14	1	13	0,0584	0,0208	0,1854	0,1011	0,1803	0,0644	0,5727	0,21	2	0,1241
1999/3	11,946	16	0	16	0,0405	0,0145	0,1211	0,0666	0,1593	0,0569	0,4764	0,17	2	0,1108
1999/4	7,653	17	1	16	0,0502	0,0179	0,2344	0,1206	0,1537	0,0549	0,7172	0,24	2	0,1057
1999/5	11,188	17	0	17	0,0871	0,0311	0,2780	0,1515	0,2701	0,0965	0,8622	0,31	2	0,1860
1999/6	11,276	19	0	19	0,0846	0,0302	0,2680	0,1462	0,2957	0,1056	0,9365	0,34	2	0,2047
1999/7	8,018	17	0	17	0,0890	0,0318	0,3964	0,2054	0,2573	0,0919	1,1462	0,39	2	0,1764
1999/9	11,226	17	0	17	0,0580	0,0207	0,1846	0,1423	0,2796	0,0999	0,8896	0,45	2	0,1956
1999/10	11,026	17	0	17	0,0606	0,0216	0,1961	0,1066	0,2651	0,0947	0,8588	0,31	2	0,1850
1999/11	7,701	16	1	15	0,0643	0,0229	0,2980	0,1535	0,2330	0,0832	1,0805	0,37	2	0,1616
1999/12	10,987	17	2	15	0,0655	0,0234	0,2128	0,1156	0,1258	0,0449	0,4089	0,15	2	0,0827
2000/1	11,313	16	0	16	0,0986	0,0352	0,3113	0,1699	0,2577	0,0920	0,8135	0,29	2	0,1754
2000/2	11,232	17	0	17	0,0859	0,0307	0,2731	0,1489	0,2535	0,0905	0,8060	0,29	2	0,1740
2000/3	0,679	10	0	10	0,0680	0,0243	3,5773	1,2783	0,6529	0,2332	34,3395	8,10	2	0,4604
2000/4	11,223	18	0	18	0,0709	0,0253	0,2257	0,1230	0,2184	0,0780	0,6951	0,25	2	0,1503
2000/5	7,439	19	1	18	0,0630	0,0225	0,3023	0,1549	0,1522	0,0544	0,7307	0,25	2	0,1029
2000/6	11,181	19	0	19	0,0536	0,0191	0,1710	0,0932	0,2783	0,0994	0,8890	0,32	2	0,1950
2000/7	10,858	16	0	16	0,0526	0,0188	0,1731	0,0939	0,1827	0,0653	0,6011	0,22	2	0,1265
2000/9	12,031	17	1	16	0,0602	0,0215	0,1787	0,0985	0,2447	0,0874	0,7263	0,26	2	0,1704
2000/10	11,374	18	0	18	0,0814	0,0291	0,2555	0,1395	0,2701	0,0965	0,8482	0,31	2	0,1866
2000/11	7,644	18	0	18	0,0827	0,0295	0,3863	0,1988	0,2289	0,0817	1,0694	0,36	2	0,1565
2000/12	11,314	19	1	18	0,0775	0,0277	0,2447	0,1336	0,2421	0,0864	0,7641	0,28	2	0,1667
2001/1	11,415	19	0	19	0,0950	0,0339	0,2971	0,1623	0,2410	0,0861	0,7539	0,27	2	0,1636
2001/2	11,347	19	0	19	0,0792	0,0283	0,2493	0,1361	0,1944	0,0694	0,6119	0,22	2	0,1316
2001/3	11,818	16	0	16	0,0659	0,0235	0,1990	0,1093	0,2636	0,0941	0,7965	0,29	2	0,1834
2001/4	11,331	17	0	17	0,1067	0,0381	0,3364	0,1836	0,1895	0,0677	0,5971	0,22	2	0,1229
2001/5	8,063	19	1	18	0,0782	0,0279	0,3465	0,1797	0,1906	0,0681	0,8442	0,29	2	0,1290

Tabela 2: Densyometr elektroniczny (DE)

	Średnia	n	Wartości odstające	nl	r	sr	RSDr	Hor	R	sR	RSDR	HoR	Liczba replikacji	Istotna różnica CrD95
D1999/1	11,019	18	1	17	0,0677	0,0242	0,2196	0,1193	0,1996	0,0713	0,6470	0,23	2	0,1370
D1999/2	11,245	19	2	17	0,0448	0,0160	0,1423	0,0776	0,1311	0,0468	0,4165	0,15	2	0,0900
D1999/3	11,967	21	0	21	0,0701	0,0250	0,2091	0,1151	0,1552	0,0554	0,4631	0,17	2	0,1040
D1999/4	7,643	19	1	18	0,0610	0,0218	0,2852	0,1467	0,1340	0,0479	0,6262	0,21	2	0,0897
D1999/5	11,188	21	3	18	0,0260	0,0093	0,0829	0,0452	0,2047	0,0731	0,6536	0,24	2	0,1442
D1999/6	11,303	21	0	21	0,0652	0,0233	0,2061	0,1125	0,1466	0,0523	0,4631	0,17	2	0,0984
D1999/7	8,026	21	0	21	0,0884	0,0316	0,3935	0,2039	0,1708	0,0610	0,7600	0,26	2	0,1124
D1999/9	11,225	17	0	17	0,0372	0,0133	0,1183	0,0645	0,1686	0,0602	0,5366	0,19	2	0,1178
D1999/10	11,011	19	0	19	0,0915	0,0327	0,2969	0,1613	0,1723	0,0615	0,5588	0,20	2	0,1129
D1999/11	7,648	21	1	20	0,0615	0,0220	0,2872	0,1478	0,1538	0,0549	0,7183	0,24	2	0,1043
D1999/12	10,999	16	1	15	0,0428	0,0153	0,1389	0,0755	0,2015	0,0720	0,6541	0,23	2	0,1408
D2000/1	11,248	22	1	21	0,0697	0,0249	0,2212	0,1206	0,1422	0,0508	0,4516	0,16	2	0,0944
D2000/2	11,240	19	3	16	0,0448	0,0160	0,1424	0,0776	0,1619	0,0578	0,5145	0,19	2	0,1123
D2000/3	0,526	12	1	11	0,0327	0,0117	2,2185	0,7630	0,9344	0,3337	63,4009	14,39	2	0,6605
D2000/4	11,225	19	1	18	0,0476	0,0170	0,1514	0,0825	0,1350	0,0482	0,4295	0,15	2	0,0924
D2000/5	7,423	21	0	21	0,0628	0,0224	0,3019	0,1547	0,2635	0,0941	1,2677	0,43	2	0,1836
D2000/6	11,175	23	2	21	0,0606	0,0217	0,1938	0,1056	0,1697	0,0606	0,5424	0,20	2	0,1161
D2000/7	10,845	21	5	16	0,0440	0,0157	0,1449	0,0786	0,1447	0,0517	0,4766	0,17	2	0,0999
D2000/9	11,983	22	1	21	0,0841	0,0300	0,2507	0,1380	0,2410	0,0861	0,7183	0,26	2	0,1651
D2000/10	11,356	22	1	21	0,0635	0,0227	0,1997	0,1090	0,1865	0,0666	0,5866	0,21	2	0,1280
D2000/11	7,601	27	0	27	0,0521	0,0186	0,2448	0,1258	0,1685	0,0602	0,7916	0,27	2	0,1162
D2000/12	11,322	25	1	24	0,0476	0,0170	0,1503	0,0820	0,1594	0,0569	0,5028	0,18	2	0,1102
D2001/1	11,427	29	0	29	0,0706	0,0252	0,2207	0,1206	0,1526	0,0545	0,4771	0,17	2	0,1020
D2001/2	11,320	29	1	28	0,0675	0,0241	0,2128	0,1161	0,1570	0,0561	0,4952	0,18	2	0,1057
D2001/3	11,826	34	1	33	0,0489	0,0175	0,1476	0,0811	0,1762	0,0629	0,5322	0,19	2	0,1222
D2001/4	11,339	31	2	29	0,0639	0,0228	0,2012	0,1099	0,1520	0,0543	0,4788	0,17	2	0,1026
D2001/5	8,058	28	0	28	0,0473	0,0169	0,2098	0,1088	0,2025	0,0723	0,8976	0,31	2	0,1412

Tabela 3: Porównanie wyników pomiędzy wagą hydrostatyczną (WH) a densymetrem elektronicznym (DE)

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

▼ **M11**

	Średnia (WH)	n	Wartości odstające	nl		Średnia (DE)	n	Wartości odstające	nl	DTAV(WH-DE)
2001/4	11,331	17	0	17	D2001/4	11,339	31	2	29	- 0,008
2001/5	8,063	19	1	18	D2001/5	8,058	28	0	28	0,004
Średnia różnica/D TAV (WH-DE)										0,014
Standardowe odchylenie różnicy										0,036

(*) Test 2000/3 nie został uwzględniony

▼ **M11****Tabela 4: Współczynniki dokładności**

	Waga hydrostatyczna	Densymetr elektroniczny
nl	441	557
Zważona zmienna powtarzalności	0,309	0,267
R	0,074	0,061
Sr	0,026	0,022
Zważona zmienna odtwarzalności	2,948	2,150
R	0,229	0,174
sR	0,082	0,062

▼ **M12**4-C **Oznaczanie objętościowej mocy alkoholu w winach za pomocą oscylacyjnego gęstościomierza elektronicznego**1. **Metoda pomiaru**1.1. *Tytuł i wprowadzenie*

Objętościowa moc alkoholu (OMA) w winach powinna być mierzona przed wprowadzeniem do obrotu w celu dostosowania się do zasad etykietowania.

Objętościowa moc alkoholu określona jest w ust. 1 niniejszego rozdziału.

1.2. *Przedmiot i zakres zastosowania*

Opisano metodę elektronicznego pomiaru gęstości przy użyciu gęstościomierza oscylacyjnego.

Zgodnie z obowiązującymi przepisami, temperatura pomiaru wynosi 20 °C.

1.3. *Zasada i definicje*

Zasada metody jest oparta na destylacji wina. Metoda destylacji opisana jest w ust. 3 niniejszego rozdziału. Podczas destylacji usuwane są substancje nietlotne. Homologi alkoholu etylowego wraz z alkoholem etylowym oraz homologami alkoholu etylowego w estrach etylu są uwzględnione w mocy alkoholu, jako że występują w destylacie.

Następnie dokonywany jest pomiar gęstości uzyskanego destylatu. Gęstość cieczy w danej temperaturze jest równa ilorazowi masy przez jej objętość:

$$\rho = m/V, \text{ w odniesieniu do wina jest to wyrażone w g/ml.}$$

W przypadku wodnego roztworu alkoholu, jakim jest destylat, tabele pozwalają na przeliczenie gęstości na moc alkoholu w danej temperaturze. Ta moc alkoholu odpowiada mocy wina (destylacja wina).

W niniejszej metodzie gęstość destylatu mierzona jest przy użyciu oscylacyjnego gęstościomierza elektronicznego. Zasada polega na mierzeniu okresu drgań w U-rurce zawierającej próbkę poddaną wzbudzeniu elektromagnetycznemu. Następnie wylicza się gęstość, która jest zależna od okresu drgań, za pomocą następującego wzoru:

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

ρ = gęstość próbki

T = okres oscylacji

M = masa pustej U-rurki

C = stała celi pomiarowej

V = objętość próbki poddanej drganiom

Zależność tę można wyrazić wzorem $\rho = A T^2 - B$ (2); jest to zależność liniowa pomiędzy gęstością i kwadratem okresu drgań. Stałe A i B są określone dla każdego oscylatora i są szacowane poprzez pomiar okresu drgań płynów o znanej gęstości.

▼ **M12**1.4. *Odczynniki i produkty*

1.4.1. Płyiny wzorcowe

Do nastawienia gęstościomierza służą dwa płyny wzorcowe. Gęstości płynów wzorcowych muszą obejmować gęstości destylatów, w odniesieniu do których ma być dokonany pomiar. Wskazane jest, aby różnica gęstości płynów wzorcowych była wyższa od 0,01000 g/ml. Ich gęstość musi być znana z dokładnością $\pm 0,00005$ g/ml, w temperaturze 20,00 $\pm 0,05$ °C.

Przy pomiarze objętościowej mocy alkoholu w winach za pomocą gęstościomierza elektronicznego płynami wzorcowymi są:

- suche powietrze (niezanieczyszczone),
- woda o stopniu czystości przynajmniej 3, jak określono w normie ISO 3696 :1987,
- wodne roztwory alkoholu o gęstości wzorcowej,
- roztwory zgodne z krajowymi standardami lepkości poniżej 2 mm²/s.

1.4.2. Produkty czyszczenia i suszenia

- detergenty, kwasy,
- rozpuszczalniki organiczne: alkohol etylowy 96 % obj., czysty aceton.

1.5. *Aparatura*

1.5.1. Oscylacyjny gęstościomierz elektroniczny

Gęstościomierz elektroniczny zawiera następujące elementy:

- termostatowaną celę pomiarową z U-rurką,
- system do wywoływania i pomiaru okresu drgań,
- zegar,
- wyświetlacz cyfrowy i ewentualnie kalkulator.

Gęstościomierz jest umieszczony na stole antywibracyjnym.

1.5.2. Kontrola temperatury celi pomiarowej

U-rurka umieszczana jest w termostatowanej celi pomiarowej. Stabilność temperatury powinna wynosić minimum $\pm 0,02$ °C.

Jeśli gęstościomierz na to pozwala, należy kontrolować temperaturę celi pomiarowej, ponieważ ma ona duży wpływ na wyniki pomiarów. Gęstość wodnego roztworu alkoholu o mocy 10 % obj. wynosi 0,98471 g/ml w temperaturze 20 °C i 0,98447 g/ml w temperaturze 21 °C, co stanowi różnicę 0,00024 g/ml.

Temperatura pomiaru wynosi 20 °C. Pomiaru temperatury w komorze dokonuje się za pomocą termometru z dokładnością minimum 0,01 °C, zgodnie ze standardami krajowymi. Ma on gwarantować pomiar temperatury z dokładnością $\pm 0,07$ °C.

1.5.3. Kalibracja urządzenia

Urządzenie musi być wykalibrowane przed pierwszym użyciem, a później co sześć miesięcy lub gdy sprawdzenie kalibracji daje wynik niezadowolający. Celowe jest posługiwanie się dwoma płynami wzorcowymi, ażeby obliczyć stałe A i B (patrz zależność (2)). W celu praktycznego przeprowadzenia kalibracji należy skorzystać z instrukcji producenta urządzenia. Zasadniczo kalibrację przeprowadza się z wykorzystaniem suchego powietrza (uwzględnić ciśnienie atmosferyczne) oraz bardzo czystej wody (podwójnie destylowanej i/lub mikrofiltrowanej o bardzo wysokiej przewodności większej niż 18 M Ω).

1.5.4. Sprawdzenie kalibracji

W celu sprawdzenia kalibracji dokonuje się pomiaru gęstości płynów wzorcowych.

Codziennie dokonuje się sprawdzenia gęstości powietrza. Różnica między gęstością teoretyczną i gęstością obserwowaną większa niż 0,00008 g/ml może oznaczać, że U-rurka jest zanieczyszczona. Wówczas należy ją oczyścić. Po oczyszczeniu ponownie sprawdza się gęstość powietrza, a jeżeli wynik nie jest ostateczny, należy nastawić aparaturę.

▼ **M12**

Dokonyje się również sprawdzenia gęstości wody i jeżeli różnica między gęstością teoretyczną i gęstością obserwowaną jest większa niż 0,00008 g/ml, należy nastawić aparaturę.

Jeżeli sprawdzenie temperatury celi jest trudne, można bezpośrednio sprawdzić gęstość wodnego roztworu alkoholu o porównywalnej objętościowej mocy z mocą badanych destylatów.

1.5.5. Kontrola

Jeżeli różnica między gęstością teoretyczną roztworu wzorcowego (znana z dokładnością minimum 0,00005 g/ml) a zmierzoną gęstością jest wyższa niż 0,00008 g/ml, należy sprawdzić temperaturę celi.

1.6. *Pobieranie i przygotowanie próbek*

(patrz punkt 3 niniejszego rozdziału „Otrzymywanie destylatu”)

1.7. *Procedura*

Po otrzymaniu destylatu dokonuje się pomiaru jego gęstości lub jego objętościowej mocy alkoholu za pomocą gęstościomierza.

Osoba dokonująca pomiaru upewnia się, że temperatura celi pomiarowej jest stabilna. Destylat w celi pomiarowej gęstościomierza nie powinien zawierać pęcherzyków powietrznych i powinien być jednorodny. Jeżeli dysponujemy systemem oświetleniowym, który pozwala sprawdzić brak pęcherzyków, należy wyłączyć go szybko po sprawdzeniu, ponieważ ciepło wytwarzane przez lampę ma wpływ na temperaturę pomiaru.

Jeśli urządzenie podaje jedynie okres, gęstość obliczamy dzięki stałym A i B (patrz pkt 1.3). Jeśli urządzenie nie podaje bezpośrednio objętościowej mocy alkoholu, znając gęstość, odczytujemy tę moc za pomocą tabel.

1.8. *Przedstawianie wyników*

Objętościowa moc alkoholu w winach to moc otrzymana dla destylatu. Jest ona wyrażana w „% obj.”

Jeżeli warunki dotyczące temperatury nie są przestrzegane, należy dokonać korekty, ażeby określić ją w temperaturze 20 °C. Wynik jest podawany z dokładnością do dwóch miejsc dziesiętnych).

1.9. *Uwagi*

Objętość wprowadzana do celi powinna być na tyle duża, ażeby uniknąć ewentualnego zanieczyszczenia poprzednią próbką. Konieczne jest więc dokonanie dwóch oznaczeń. Jeżeli nie dają one wyników zawartych w granicy powtarzalności, konieczne jest dokonanie trzeciego oznaczenia. Na ogół wyniki dwóch ostatnich oznaczeń są jednorodne i eliminuje się pierwszą wartość.

1.10. *Precyzja*

Dla próbek o objętościowej mocy alkoholu pomiędzy 4 i 18 % obj.

$$\begin{aligned} \text{Powtarzalność (r)} &= 0,067 (\% \text{ obj.}), \\ \text{Odtwarzalność (R)} &= 0,0454 + 0,0105 \times \text{objętościowa moc alkoholu} \end{aligned}$$

2. **Testy międzylaboratoryjne. Precyzja i dokładność**

Parametry skuteczności metody, określone w pkt 1.10, pochodzą z testu międzylaboratoryjnego przeprowadzonego zgodnie z procedurami ustanowionymi na poziomie międzynarodowym, na sześciu próbkach i przez jedenaście laboratoriów.

Wszystkie szczegóły i obliczenia powtarzalności i odtwarzalności pochodzące z tego testu są opisane w rozdziale „OBJĘTOŚCIOWA MOC ALKOHOLU” (pkt 4.B.2) w *Recueil International des Méthodes d'Analyses de l'Organisation Internationale de la Vigne et du Vin* (Kompendium międzynarodowych metod analizy opublikowane przez Międzynarodowy Urząd Winorośli i Wina) – (wydanie 2004 r.).

▼ **M8**

▼B

6. PRZYKŁAD OBLICZANIA ZAWARTOŚCI ALKOHOLU W WINIE

6.1. Pomiar piknometryczny z użyciem wagi dwuszalkowej

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

6.1.2. *Ważenie piknomtru napełnionego destylatem*

$$\text{Tara = piknomtr + destylat o temperaturze } t \text{ }^{\circ}\text{C} + p'' \quad \left\{ \begin{array}{l} t \text{ }^{\circ}\text{C} = 18,90 \text{ }^{\circ}\text{C} \\ t \text{ }^{\circ}\text{C skorygowana} = 18,70 \text{ }^{\circ}\text{C} \\ p'' = 2,8074 \text{ g} \end{array} \right.$$

$$p + m - p'' = \text{masa destylatu o temperaturze } t \text{ }^{\circ}\text{C} \quad 105,0698 - 2,8074 = 102,2624 \text{ g}$$

Gęstość pozorna w temperaturze $t \text{ }^{\circ}\text{C}$

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

6.1.3. *Obliczanie zawartości alkoholu*

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

W wierszu odpowiadającym temp. 18 °C w tabeli pozornych gęstości najmniejsza wartość gęstości większa od wartości zmierzonej 0,983076 wynosi 0,98398 w kolumnie odpowiadającej 11 % obj.
Gęstość w temperaturze 18 °C wynosi $(98307,6 + 0,7 \times 22) 10^{-5} = 0,98323$
 $0,98398 - 0,98323 = 0,00075$
Dziesiąta część wartości % zawartości alkoholu obj. wynosi $75/114 = 0,65$
Zawartość alkoholu wynosi 11,65 % obj.

6.2. Pomiar piknometryczny z użyciem wagi jednoszalkowej

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

6.2.2. *Ważenie piknomtru napełnionego destylatem*

$$\text{Waga butelki tarującej w czasie pomiaru w gramach:} \quad T_1 = 171,9178$$

$$\text{Piknomtr napełniony destylatem o temperaturze } 20,50 \text{ }^{\circ}\text{C} \text{ w gramach} \quad P_2 = 167,8438$$

$$\text{Poprawka na wyporność powietrza:} \quad dT = 171,9178 - 171,9160 = + 0,0018$$

$$\text{Masa destylatu o temperaturze } 20,50 \text{ }^{\circ}\text{C:} \quad L_1 = 167,8438 - (67,6695 + 0,0018) = 100,1725$$

$$\text{Gęstość pozorna destylatu} \quad \rho_{20,50 \text{ }^{\circ}\text{C}} = \frac{100,1725}{100,8194} = 0,983825$$

6.2.3. *Obliczanie zawartości alkoholu*

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

W wierszu odpowiadającym temperaturze 20 °C w tabeli gęstości pozornych najmniejsza gęstość większa od gęstości zmierzonej 0,983825 wynosi 0,98471 w kolumnie odpowiadającej 10 % obj.
Gęstość w temperaturze 20 °C wynosi $(98382,5 + 0,5 \times 24) 10^{-5} = 0,983945$
 $0,98471 - 0,983945 = 0,000765$
Dziesiąta część wartości % zawartości alkoholu obj. wynosi $76,5/119 = 0,64$
Zawartość alkoholu wynosi 10,64 %.

▼B

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

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

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

— temperatury t w C (EIPT 68),

— poniższych współczynników liczbowych.

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

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

Wartość współczynników liczbowych w równaniu

k	A_k kg/m^3	B_k
1	$9,982012300 \cdot 10^2$	$-2,0618513 \cdot 10^{-1} \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{°C})$
2	$-1,929769495 \cdot 10^2$	$-5,2682542 \cdot 10^{-3} \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{°C}^2)$
3	$3,891238958 \cdot 10^2$	$3,6130013 \cdot 10^{-5} \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{°C}^3)$
4	$-1,668103923 \cdot 10^3$	$-3,8957702 \cdot 10^{-7} \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{°C}^4)$
5	$1,352215441 \cdot 10^4$	$7,1693540 \cdot 10^{-9} \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{°C}^5)$
6	$-8,829278388 \cdot 10^4$	$-9,9739231 \cdot 10^{-11} \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{°C}^6)$
7	$3,062874042 \cdot 10^5$	
8	$-6,138381234 \cdot 10^5$	
9	$7,470172998 \cdot 10^5$	
10	$-5,478461354 \cdot 10^5$	
11	$2,234460334 \cdot 10^5$	
12	$-3,903285426 \cdot 10^4$	

k	$C_{1,k}$ $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{°C})$	$C_{2,k}$ $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{°C}^2)$
1	$1,693443461530087 \cdot 10^{-1}$	$-1,193013005057010 \cdot 10^{-2}$
2	$-1,046914743455169 \cdot 10^1$	$2,517399633803461 \cdot 10^{-1}$
3	$7,196353469546523 \cdot 10^1$	$-2,170575700536993$
4	$-7,047478054272792 \cdot 10^2$	$1,353034988843029 \cdot 10^1$
5	$3,924090430035045 \cdot 10^3$	$-5,029988758547014 \cdot 10^1$
6	$-1,210164659068747 \cdot 10^4$	$1,096355666577570 \cdot 10^2$
7	$2,248646550400788 \cdot 10^4$	$-1,422753946421155 \cdot 10^2$
8	$-2,605562982188164 \cdot 10^4$	$1,080435942856230 \cdot 10^2$
9	$1,852373922069467 \cdot 10^4$	$-4,414153236817392 \cdot 10^1$
10	$-7,420201433430137 \cdot 10^3$	$7,442971530188783$
11	$1,285617841998974 \cdot 10^3$	

k	$C_{3,k}$ $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{°C}^3)$	$C_{4,k}$ $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{°C}^4)$	$C_{5,k}$ $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{°C}^5)$
1	$-6,802995733503803 \cdot 10^{-4}$	$4,075376675622027 \cdot 10^{-6}$	$-2,788074354782409 \cdot 10^{-8}$

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

▼**B**

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

TABELA I
MIĘDZYNARODOWA TABELA ZAWARTOŚCI ALKOHOLU W TEMPERATURZE 20 °C
Tabela pozornych gęstości mieszanin alkohol etylowy–woda — piknometr ze szkła pyreksowego
Gęstości w temperaturze t °C z uwzględnieniem wyporności powietrza

t °C	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	0		1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11	
0°	999,64	1,50	998,14	1,44	996,70	1,40	995,30	1,35	993,95	1,30	992,65	1,24	991,41	1,19	990,22	1,14	989,08	1,10	987,98	1,05	986,93	1,00	985,93	0,95
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
	0,09		0,09		0,09		0,08		0,09		0,09		0,10		0,10		0,11		0,11		0,12		0,13	

▼B

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

t °C	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	0		1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11	
20°	998,20	1,50	996,70	1,46	995,24	1,43	993,81	1,39	992,42	1,36	991,06	1,33	989,73	1,29	988,44	1,27	987,17	1,24	985,93	1,22	984,71	1,19	983,52	1,16
	0,20		0,20		0,20		0,20		0,21		0,21		0,21		0,22		0,22		0,23		0,24		0,24	
21°	998,00	1,50	996,50	1,46	995,04	1,43	993,61	1,40	992,21	1,36	990,85	1,33	989,52	1,30	988,22	1,27	986,95	1,25	985,70	1,23	984,47	1,19	983,28	1,18
	0,21		0,21		0,21		0,21		0,21		0,22		0,22		0,23		0,24		0,24		0,24		0,26	
22°	997,79	1,50	996,29	1,46	994,83	1,43	993,40	1,40	992,00	1,37	990,63	1,33	989,30	1,31	987,99	1,28	986,71	1,25	985,46	1,23	984,23	1,21	983,02	1,18

▼B

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

▼B

t °C	Zawartość alkoholu w % obj.																						
	0		1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11
37°	0,35		0,35		0,36		0,35		0,36		0,36		0,37		0,37		0,38		0,37		0,39		0,39
	993,49	1,53	991,96	1,50	990,46	1,46	989,00	1,44	987,56	1,41	986,15	1,39	984,76	1,37	983,39	1,35	982,04	1,33	980,71	1,33	979,38	1,31	978,07
38°	0,36		0,36		0,36		0,37		0,37		0,37		0,37		0,37		0,38		0,39		0,38		0,39
	993,13	1,53	991,60	1,50	990,10	1,47	988,63	1,44	987,19	1,41	985,78	1,39	984,39	1,37	983,02	1,36	981,66	1,34	980,32	1,32	979,00	1,32	977,68
39°	0,36		0,37		0,37		0,37		0,38		0,38		0,38		0,39		0,38		0,39		0,40		0,40
	992,77	1,54	991,23	1,50	989,73	1,47	988,26	1,45	986,81	1,41	985,40	1,39	984,01	1,38	982,63	1,35	981,28	1,35	979,93	1,33	978,60	1,32	977,28
40°	0,37		0,37		0,38		0,39		0,38		0,39		0,39		0,39		0,40		0,39		0,40		0,41
	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

t °C	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	10		11		12		13		14		15		16		17		18		19		20		21	
0°	986,93	1,00	985,93	0,95	984,98	0,92	984,06	0,88	983,18	0,84	982,34	0,80	981,54	0,78	980,76	0,75	980,01	0,73	979,28	0,72	978,56	0,70	977,86	0,70
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	
	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
2°	-0,01		0,00		0,01		0,03		0,04		0,07		0,08		0,10		0,12		0,14		0,16		0,18	
	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
3°	0,01		0,02		0,04		0,05		0,06		0,07		0,09		0,11		0,13		0,15		0,17		0,19	
	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
4°	0,03		0,04		0,04		0,06		0,07		0,09		0,10		0,12		0,14		0,16		0,18		0,20	
	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
5°	0,04		0,05		0,06		0,07		0,09		0,10		0,12		0,14		0,15		0,17		0,19		0,22	
	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
6°	0,05		0,06		0,08		0,09		0,10		0,12		0,13		0,14		0,17		0,19		0,21		0,22	
	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
7°	0,08		0,09		0,09		0,10		0,12		0,13		0,15		0,16		0,18		0,19		0,21		0,23	
	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
8°	0,08		0,09		0,11		0,13		0,13		0,14		0,15		0,18		0,19		0,21		0,23		0,25	
	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

▼B

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

▼B

t °C	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	10		11		12		13		14		15		16		17		18		19		20		21	
20°	984,71	1,19	983,52	1,16	982,36	1,15	981,21	1,13	980,08	1,11	978,97	1,10	977,87	1,08	976,79	1,08	975,71	1,08	974,63	1,07	973,56	1,08	972,48	1,08
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		0,35		0,36		0,37	
	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		0,35		0,37		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	972,47	1,12
24°	0,27		0,29		0,29		0,29		0,30		0,31		0,33		0,33		0,35		0,37		0,38		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		0,33		0,35		0,36		0,37		0,39		0,40	
	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		0,31		0,32		0,33		0,35		0,36		0,37		0,39		0,40		0,41	
	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		0,40		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
	0,36		0,37		0,37		0,38		0,39		0,40		0,41		0,42		0,43		0,44		0,46		0,47	

▼B

t °C	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	10		11		12		13		14		15		16		17		18		19		20		21	
34°	980,50 0,36	1,29	979,21 0,37	1,28	977,93 0,38	1,27	976,66 0,39	1,27	975,39 0,39	1,26	974,13 0,40	1,25	972,88 0,42	1,26	971,62 0,42	1,25	970,37 0,44	1,26	969,11 0,46	1,27	967,84 0,46	1,27	966,57 0,48	1,29
35°	980,14	1,30	978,84	1,29	977,55	1,28	976,27	1,27	975,00	1,27	973,73	1,27	972,46	1,26	971,20	1,27	969,93	1,28	968,65	1,27	967,38	1,29	966,09	1,30
36°	0,37 979,77 0,39	1,31	0,38 978,46 0,39	1,29	0,38 977,17 0,40	1,29	0,39 975,88 0,40	1,28	0,40 974,60 0,41	1,28	0,41 973,32 0,42	1,28	0,42 972,04 0,43	1,28	0,44 970,76 0,44	1,28	0,45 969,48 0,45	1,28	0,45 968,20 0,47	1,29	0,47 966,91 0,48	1,30	0,48 965,61 0,49	1,32
37°	978,38 0,38	1,31	978,07 0,39	1,30	976,77 0,40	1,29	975,48 0,41	1,29	974,19 0,42	1,29	972,90 0,43	1,29	971,61 0,44	1,29	970,32 0,45	1,29	969,03 0,46	1,30	967,73 0,47	1,30	966,43 0,49	1,31	965,12 0,50	1,33
38°	979,00 0,40	1,32	977,68 0,40	1,31	976,37 0,41	1,30	975,07 0,42	1,30	973,77 0,42	1,30	972,47 0,43	1,30	971,17 0,44	1,30	969,87 0,45	1,30	968,57 0,47	1,31	967,26 0,48	1,32	965,94 0,49	1,32	964,62 0,50	1,34
39°	978,60 0,40	1,32	977,28 0,41	1,32	975,96 0,41	1,31	974,65 0,42	1,30	973,35 0,43	1,31	972,04 0,44	1,31	970,73 0,45	1,31	969,42 0,46	1,32	968,10 0,47	1,32	966,78 0,48	1,33	965,45 0,49	1,33	964,12 0,51	1,36
40°	978,20	1,33	976,87	1,32	975,55	1,32	974,23	1,31	972,92	1,32	971,60	1,32	970,28	1,32	968,96	1,33	967,63	1,33	966,30	1,34	964,96	1,35	963,61	1,37

t °C	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	20		21		22		23		24		25		26		27		28		29		30		31	
0°	978,56	0,70	977,86	0,70	977,16	0,69	976,47	0,71	975,76	0,71	975,05	0,72	974,33	0,75	973,58	0,77	972,81	0,80	972,01	0,83	971,18	0,87	970,31	0,90
1°	0,14 978,42 0,16	0,73	0,17 977,69 0,18	0,72	0,19 976,97 0,20	0,72	0,22 976,25 0,23	0,73	0,24 975,52 0,25	0,73	0,26 974,79 0,28	0,75	0,29 974,04 0,30	0,77	0,31 973,27 0,32	0,80	0,34 972,47 0,34	0,82	0,36 971,65 0,37	0,86	0,39 970,79 0,39	0,89	0,41 969,90 0,41	0,92
2°	978,26 0,17	0,75	977,51 0,19	0,74	976,77 0,22	0,75	976,02 0,23	0,75	975,27 0,26	0,76	974,51 0,28	0,77	973,74 0,31	0,79	972,95 0,33	0,82	972,13 0,36	0,85	971,28 0,38	0,88	970,40 0,40	0,91	969,49 0,42	0,95
3°	978,09 0,18	0,77	977,32 0,20	0,77	976,55 0,22	0,76	975,79 0,25	0,78	975,01 0,27	0,78	974,23 0,29	0,80	973,43 0,31	0,81	972,62 0,34	0,85	971,77 0,36	0,87	970,90 0,38	0,90	970,00 0,40	0,93	969,07 0,43	0,98
4°	977,91 0,19	0,79	977,12 0,22	0,79	976,33 0,23	0,79	975,54 0,26	0,80	974,94 0,27	0,80	973,94 0,30	0,82	973,12 0,33	0,84	972,28 0,35	0,87	971,41 0,37	0,89	970,52 0,39	0,92	969,60 0,42	0,96	968,64 0,44	1,00

▼B

t °C	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	20		21		22		23		24		25		26		27		28		29		30		31	
5°	977,72	0,82	976,90	0,80	976,10	0,82	975,28	0,81	974,47	0,83	973,64	0,85	972,79	0,86	971,93	0,89	971,04	0,91	970,13	0,95	969,18	0,98	968,20	1,01
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
18°	0,34		0,35		0,36		0,39		0,40		0,42		0,43		0,45		0,47		0,48		0,50		0,52	

▼B

t °C	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	20		21		22		23		24		25		26		27		28		29		30		31	
19°	973,90	1,06	972,84	1,06	971,78	1,08	970,70	1,08	969,62	1,10	968,52	1,11	967,41	1,14	966,27	1,16	965,11	1,18	963,93	1,21	962,72	1,25	961,47	1,27
	0,34		0,36		0,38		0,39		0,41		0,42		0,45		0,46		0,47		0,49		0,51		0,52	
20	973,56	1,08	972,48	1,08	971,40	1,09	970,31	1,10	969,21	1,11	968,10	1,14	966,96	1,15	965,81	1,17	964,64	1,20	963,44	1,23	962,21	1,26	960,95	1,29

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

▼B

t °C	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	20		21		22		23		24		25		26		27		28		29		30		31	
30°	969,63	1,22	968,41	1,23	967,18	1,24	965,94	1,26	964,68	1,26	963,42	1,29	962,13	1,31	960,82	1,33	959,49	1,35	958,14	1,39	956,75	1,40	955,35	1,44
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		0,57		0,59		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		0,56		0,59		0,59		0,60	
	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		0,58		0,60		0,62	
	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

TABELA II
MIĘDZYNARODOWA TABELA ZAWARTOŚCI ALKOHOLU W TEMPERATURZE 20 °C

Tabela poprawek, które należy zastosować wobec widocznej wartości zawartości alkoholu w celu uzyskania wyniku zgodnego z temperaturą
Podaną poniżej wartość poprawki dodać lub odjąć od widocznej zawartości alkoholu w temperaturze t °C (piknometr ze zwykłego szkła)

			Pozorna zawartość alkoholu w t°C																
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Temperatura (°C)	Dodac	0°	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		

▼B

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

			Pozorna zawartość alkoholu w t°C																
			14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
	0°	Dodać	3,49	4,02	4,56	5,11	5,65	6,16	6,63	7,05	7,39	7,67	7,91	8,07	8,20	8,30	8,36	8,39	8,40
	1°		3,40	3,87	4,36	4,86	5,35	5,82	6,26	6,64	6,96	7,23	7,45	7,62	7,75	7,85	7,91	7,95	7,96

▼B

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

			Pozorna zawartość alkoholu w t°C																
			14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Temperatura (°C)	21°	Odjąć	0,23	0,25	0,26	0,28	0,29	0,30	0,31	0,33	0,34	0,35	0,35	0,37	0,38	0,38	0,39	0,39	0,40
	22°		0,47	0,49	0,52	0,55	0,57	0,60	0,62	0,65	0,67	0,70	0,72	0,74	0,75	0,76	0,78	0,79	0,80
	23°		0,70	0,74	0,78	0,82	0,86	0,90	0,93	0,97	1,01	1,04	1,07	1,10	1,12	1,15	1,17	1,18	1,19
	24°		0,94	0,99	1,04	1,10	1,15	1,20	1,25	1,29	1,34	1,39	1,43	1,46	1,50	1,53	1,55	1,57	1,59
	25°		1,19	1,25	1,31	1,37	1,43	1,49	1,56	1,62	1,68	1,73	1,78	1,83	1,87	1,90	1,94	1,97	1,99

▼B

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

TABELA III
MIĘDZYNARODOWA TABELA ZAWARTOŚCI ALKOHOLU W TEMPERATURZE 20 °C

Tabela gęstości pozornych mieszanin alkohol — woda — piknometr ze zwykłego szkła
Gęstości w temperaturze t °C z uwzględnieniem poprawki na wyporność powietrza

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

▼B

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

t °C	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	0		1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11	
20°	998,20	1,50	996,70	1,47	995,23	1,42	993,81	1,40	992,41	1,35	991,06	1,33	989,73	1,30	988,43	1,27	987,16	1,24	985,92	1,21	984,71	1,19	983,52	1,17
21°	0,19		0,19		0,19		0,19		0,19		0,20		0,20		0,21		0,21		0,22		0,23		0,23	
	998,01	1,50	996,51	1,47	995,04	1,42	993,62	1,40	992,22	1,36	990,86	1,33	989,53	1,31	988,22	1,27	986,95	1,25	985,70	1,22	984,48	1,19	983,29	1,17

▼B

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

▼B

t °C	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	0		1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11	
36°	0,32		0,32		0,33		0,33		0,33		0,33		0,34		0,34		0,35		0,35		0,36		0,37	
	994,08	1,53	992,55	1,49	991,06	1,46	989,60	1,43	988,17	1,41	986,76	1,39	985,37	1,36	984,01	1,35	982,66	1,33	981,33	1,32	980,01	1,31	978,70	1,29
37°	0,33		0,34		0,34		0,34		0,35		0,35		0,35		0,35		0,36		0,36		0,36		0,37	
	993,75	1,54	992,21	1,49	990,72	1,46	989,26	1,44	987,82	1,41	986,41	1,39	985,02	1,37	983,65	1,35	982,30	1,33	980,97	1,32	979,65	1,32	978,33	1,30
38°	0,34		0,34		0,35		0,36		0,36		0,36		0,36		0,36		0,37		0,38		0,38		0,38	
	993,41	1,54	991,87	1,50	990,37	1,47	988,90	1,44	987,46	1,41	986,05	1,39	984,66	1,37	983,29	1,36	981,93	1,34	980,59	1,32	979,27	1,32	977,95	1,31
39°	0,35		0,35		0,36		0,36		0,36		0,37		0,37		0,37		0,37		0,38		0,38		0,39	
	993,06	1,54	991,52	1,51	990,01	1,47	988,54	1,44	987,10	1,41	985,68	1,39	984,29	1,37	982,92	1,36	981,56	1,34	980,22	1,33	978,89	1,33	977,56	1,31
40°	0,35		0,36		0,36		0,37		0,38		0,38		0,38		0,38		0,38		0,39		0,39		0,39	
	992,71	1,55	991,16	1,51	989,65	1,48	988,17	1,45	986,72	1,42	985,30	1,39	983,91	1,37	982,54	1,36	981,18	1,35	979,83	1,33	978,50	1,33	977,17	1,32

t°	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	10		11		12		13		14		15		16		17		18		19		20		21	
0	986,63	1,00	985,63	0,96	984,67	0,92	983,75	0,87	982,88	0,84	982,04	0,81	981,23	0,77	980,46	0,75	979,71	0,73	978,98	0,72	978,26	0,70	977,56	0,70
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

▼B

t°	Zawartość alkoholu w % obj.																						
	10		11		12		13		14		15		16		17		18		19		20		21
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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

▼B

t°	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	10		11		12		13		14		15		16		17		18		19		20		21	
20°	984,71	1,19	983,52	1,17	982,35	1,14	981,21	1,13	980,08	1,11	978,97	1,10	977,87	1,08	976,79	1,08	975,71	1,08	974,63	1,07	973,56	1,08	972,48	1,08
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		0,33		0,34		0,35		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		0,29		0,30		0,31		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	921,00	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	977,94	1,24	976,70	1,23	975,47	1,22	974,25	1,22	973,03	1,22	971,81	1,22	970,59	1,23	969,36	1,23	968,13	1,24
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	975,78	1,25	974,73	1,25	973,48	1,24	972,24	1,24	971,00	1,25	969,75	1,25	968,50	1,27	967,23	1,27
	0,34		0,35		0,36		0,37		0,38		0,39		0,40		0,41		0,42		0,43		0,45		0,45	

▼B

t°	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	10		11		12		13		14		15		16		17		18		19		20		21	
34	980,71 0,34	1,29	979,42 0,35	1,28	978,14 0,36	1,27	976,87 0,37	1,27	975,60 0,38	1,26	974,34 0,39	1,26	973,08 0,40	1,25	971,83 0,41	1,25	970,58 0,43	1,26	969,32 0,44	1,27	968,05 0,45	1,27	966,78 0,47	1,29
35	980,37	1,30	979,07	1,29	977,78	1,28	976,50	1,28	975,22	1,27	973,95	1,27	972,68	1,26	971,42	1,27	970,15	1,27	968,88	1,28	967,60	1,29	966,31	1,30
36	0,36 980,01 0,36	1,31	0,37 978,70 0,37	1,29	0,37 977,41 0,38	1,29	0,38 976,12 0,39	1,28	0,38 974,84 0,40	1,28	0,39 973,56 0,41	1,28	0,40 972,28 0,42	1,28	0,42 971,00 0,43	1,28	0,43 969,72 0,44	1,28	0,44 968,44 0,45	1,29	0,45 967,15 0,46	1,31	0,47 965,84 0,47	1,31
37	979,65 0,38	1,32	978,33 0,38	1,30	977,03 0,39	1,30	975,73 0,39	1,29	974,44 0,40	1,29	973,15 0,41	1,29	971,86 0,42	1,29	970,57 0,43	1,29	969,28 0,44	1,29	967,99 0,46	1,30	966,69 0,47	1,32	965,37 0,48	1,32
38	979,27 0,38	1,32	977,95 0,39	1,31	976,64 0,39	1,30	975,34 0,40	1,30	974,04 0,41	1,30	972,74 0,42	1,30	971,44 0,43	1,30	970,14 0,44	1,30	968,84 0,45	1,31	967,53 0,46	1,31	966,22 0,48	1,33	964,89 0,49	1,34
39	978,89 0,39	1,33	977,56 0,39	1,31	976,25 0,40	1,31	974,94 0,41	1,31	973,63 0,42	1,31	972,32 0,42	1,31	971,01 0,43	1,31	969,70 0,45	1,31	968,39 0,47	1,32	967,07 0,48	1,33	965,74 0,49	1,34	964,40 0,50	1,36
40	978,50	1,33	977,17	1,32	975,85	1,32	974,53	1,32	973,21	1,31	971,90	1,32	970,58	1,33	969,25	1,33	967,92	1,33	966,59	1,34	965,25	1,35	963,90	1,37

t °C	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	20		21		22		23		24		25		26		27		28		29		30		31	
0	978,26	0,70	977,56	0,70	976,86	0,69	976,17	0,70	975,47	0,72	974,75	0,72	974,03	0,74	973,29	0,77	972,52	0,80	971,72	0,83	970,89	0,87	970,02	0,90
1	0,13 978,13 0,14	0,72	0,15 977,41 0,17	0,72	0,17 976,69 0,19	0,72	0,20 975,97 0,21	0,72	0,22 975,25 0,24	0,74	0,24 974,51 0,26	0,75	0,27 973,76 0,29	0,77	0,30 972,99 0,31	0,79	0,32 972,20 0,34	0,83	0,35 971,37 0,36	0,85	0,37 970,52 0,38	0,89	0,39 969,63 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	960,22 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	976,88 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

▼B

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

▼B

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

▼B

t °C	Zawartość alkoholu w % obj.																							
	20		21		22		23		24		25		26		27		28		29		30		31	
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		0,45		0,47		0,49		0,50		0,51		0,52		0,54		0,55		0,56		0,58		0,60	
	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	996,31	1,30	965,01	1,31	963,70	1,32	962,38	1,34	961,04	1,36	959,68	1,38	958,30	1,40	956,90	1,42	955,48	1,45	954,03	1,48	952,55	1,50
36	0,45		0,47		0,48		0,49		0,51		0,53		0,54		0,55		0,57		0,59		0,60		0,61	
	967,15	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	0,46		0,47		0,48		0,50		0,52		0,53		0,55		0,56		0,57		0,58		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		0,48		0,50		0,51		0,52		0,54		0,55		0,57		0,58		0,59		0,60		0,61	
	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		0,49		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



TABELA IV

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

Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Zawartość alkoholu w temperaturze 20 °C		Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	Zawartość alkoholu w temperaturze 20 °C	
	Mieszaniny alkohol etylowy – woda	Destylaty		Mieszaniny alkohol etylowy – woda	Destylaty
1,33628	6,54	0,25	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. CAŁKOWITY SUCHY EKSTRAKT****Całkowita sucha masa**

1. DEFINICJA

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

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

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

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

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

2. ZASADA METODY

Metoda pojedyncza: pomiar densymetrem

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

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

3. METODA OBLICZANIA

Ciężar właściwy 20/20 d_r , „wina bezalkoholowego” oblicza się według wzoru:

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

gdzie:

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

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

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

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

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

4. PRZEDSTAWIENIE WYNIKÓW

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

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

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

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

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

Tabela interpolacyjna

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

**5. CUKRY REDUKUJĄCE**

1. DEFINICJA

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

2. ZASADA METOD

2.1. **Klarowanie**

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

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

2.1.2.1. Obojętny octan ołowiu;

2.1.2.2. 2-heksacyjanożelazian cynku.

2.2. Oznaczanie

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

3. KLAROWANIE

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

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

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

3.1 **Metoda porównawcza**3.1.1. *Odczynniki*

3.1.1.1. 1 M roztwór kwasu wodorochlorowego (HCl);

3.1.1.2. 1 M roztwór wodorotlenku sodu (NaOH);

3.1.1.3. 4 M roztwór kwasu octowego (CH₃COOH);

3.1.1.4. 2 M roztwór wodorotlenku sodu (NaOH);

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

Przygotowanie kolumny z żywicą anionowymienną

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

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

▼ **B***Regeneracja żywicy*

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

3.1.1.6. Obojętny roztwór octanu ołowiu (w przybliżeniu nasycony)

Obojętny octan ołowiu [$\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$], 250 g;

bardzo gorąca woda do 500 ml;

mieszać do rozpuszczenia.

3.1.1.7. Węglan wapnia (CaCO_3)3.1.2. *Procedura*

3.1.2.1. Wina wytrawne

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

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

1 ml filtratu odpowiada 0,5 ml wina.

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

Poniżej podane rozcieńczenia są podane jako wskazówka

1. *Moszcze oraz świeże moszcze gronowe z fermentacją powstrzymaną przez dodanie alkoholu*: przygotować 10-procentowy roztwór cieczy poddanej analizie i pobrać 10 ml rozcieńczonej próbki.
2. *Wina słodkie, likierowane lub nie*, o gęstości między 1,005 a 1,038: przygotować 20 % cieczy poddanej analizie i pobrać 20 ml rozcieńczonej próbki.
3. *Wina półsłodkie* o gęstości w temperaturze 20 °C między 0,997 a 1,005: pobrać 20 ml nierozcieńczonego wina.

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

Przefiltrować.

W przypadku:

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

▼ **M8**

▼ **B**

4. OZNACZANIE CUKRÓW

4.1. **Odczynniki**4.1.1. *Alkaliczny roztwór soli miedzi:*

siarczan miedzi, czysty, $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	25 g
kwasy cytrynowy ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	50 g
krystaliczny węgiel sodowy, $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$	388 g
woda do	1 000 ml

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

4.1.2. *30-procentowy roztwór jodku potasu:*

jodek potasu (KI)	30 g
woda do	100 ml

Przechowywać w butelce z kolorowego szkła.

4.1.3. *25-procentowy kwas siarkowy:*

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

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

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

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

Tiosiarczan sodu, roztwór 0,1 M.

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

W kolbie miarowej o pojemności 200 ml umieścić:

czystą suchą sacharozę ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$)	4,75 g
wodę, około	100 ml
stężony kwas solny (HCl) ($\rho_{20} = 1,16\text{—}1,19 \text{ g/ml}$)	5 ml

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

4.2. **Procedura**

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

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

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

▼ **B**

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

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

4.3. **Przedstawienie wyników**4.3.1. *Obliczenia*

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

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

4.3.2. *Powtarzalność*

$$r = 0,015 x_i$$

x_i = zawartość cukru inwertowanego w g/l próbki

4.3.3. *Odtwarzalność*

$$R = 0,058 x_i$$

x_i = zawartość cukru inwertowanego w g/l próbki

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

**6. SACHAROZA**

1. ZASADA METOD

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

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

Uwaga:

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

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

2. BADANIE JAKOŚCIOWE METODĄ CHROMATOGRAFII CIENKOWARSTWOWEJ

2.1. Wyposażenie

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

2.1.2. Komora chromatograficzna.

2.1.3. Mikrostrzykawka lub mikropipeta.

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

2.2. Odczynniki

2.2.1. Odbarwiający węgiel drzewny.

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

2.2.3. *Roztwór wywołujący*

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

2.2.4. *Roztwory porównawcze*

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

2.3. Procedura

2.3.1. *Przygotowanie próbek*

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

W przypadku rektyfikowanych moszczów zagęszczonych należy użyć roztworu o stężeniu cukru 25 % masy (25°Brix), przygotowanego wg rozdziału „pH wina i moszczu” ppkt 4.1.2. i rozcieńczyć czterokrotnie, wprowadzając 25 ml roztworu do kolby miarowej na 100 ml i uzupełniając wodą do kreski.

2.3.2. *Otrzymywanie chromatogramu*

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

— 10 µl próbki,

— 10 µl wzorca.

▼ **B**

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

2.4. **Wyniki**

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

3. **BADANIE I OZNACZANIE METODĄ WYSOKO SPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ**

Warunki chromatograficzne podane są jako wskazówka

3.1. **Wyposażenie**

3.1.1. Wysoko sprawny chromatograf cieczowy wyposażony w:

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

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

3.2. **Odczynniki**

3.2.1. Woda podwójnie destylowana.

3.2.2. Acetonitryl (CH₃CN) o jakości HPLC.3.2.3. *Faza ruchoma*: acetonitryl — woda, poddane uprzednio filtracji membranowej (0,45µm), (80:20 v/v).

Fazę ruchomą należy odgazować przed użyciem.

3.2.4. *Roztwór mianowany*: wodny roztwór sacharozy o stężeniu 1,2 g/l. Przefiltrować, używając filtru membranowego 0,45 µm.3.3. **Procedura**3.3.1. *Przygotowanie próbek:*

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

3.3.2. *Oznaczanie chromatograficzne*

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

Zarejestrować chromatogram.

Czas retencji sacharozy wynosi około 10 minut.

3.4. **Obliczenia**

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

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

▼B

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

3.5. **Przedstawianie wyników**

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

▼B

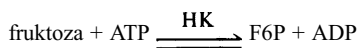
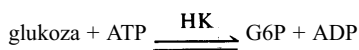
7. GLUKOZA I FRUKTOZA

1. DEFINICJA

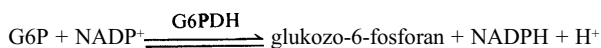
Glukoza i fruktoza mogą być oznaczane indywidualnie metodą enzymatyczną, jedynie w celu obliczenia stosunku glukoza / fruktoza.

2. ZASADA METODY

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

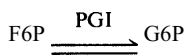


6-fosforan glukozy jest najpierw utleniany do 6-fosforanu glukonianu za pomocą zredukowanego fosforanu dinukleotydu nikotynamidoadeninowego w obecności enzymu dehydrogenazy 6-fosforanu glukozy (G6PDH). Ilość powstającego zredukowanego fosforanu dinukleotydu nikotynamidoadeninowego (NADPH) odpowiada ilości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



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

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



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

3. APARATURA

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

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

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

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

4. ODCZYNNIKI

- 4.1. **Roztwór 1:** roztwór buforowy (0,3 M trietanolamina, pH 7,6, 4×10^{-3} M w Mg^{2+}): rozpuścić 11,2 g chlorowodoru trietanolaminy ($\text{C}_2\text{H}_5\text{N}$. HCl) i 0,2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ w 150 ml wody podwójnie destylowanej, dodać około 4 ml 5 M roztworu wodorotlenku sodu (NaOH) do uzyskania wartości pH 7,6 i uzupełnić do 200 ml.

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

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

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

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

▼B

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

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

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

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

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

Uwaga:

Wszystkie wyżej wymienione stosowane roztwory są dostępne w handlu.

5. PROCEDURA

5.1. Przygotowanie próbek

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

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

5.2. Oznaczanie

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

Temperatura między 20 i 25 °C.

Do dwóch celek o drodze optycznej 1 cm nalać:

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

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

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

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

Dodać niezwłocznie:

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

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

▼ **B**

Obliczyć różnice w chłonności:

$A_2 - A_1$ dotyczącą glukozy,

$A_3 - A_2$ dotyczącą fruktozy,

dla celek porównawczych i celek z próbkami.

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

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

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

Uwaga:

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

5.3. **Przedstawienie wyników**5.3.1. *Obliczanie*

Ogólny wzór na obliczanie stężenia:

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

gdzie:

V = objętość roztworu używanego do badań (ml)

v = objętość próbki (ml)

M = masa cząsteczkowa oznaczanej substancji

d = droga optyczna celki (cm)

ϵ = współczynnik chłonności NADPH przy 340 nm (= 6,3 mM⁻¹ × 1 × cm⁻¹)

oraz V = 2,92 dla określenia glukozy

V = 2,94 dla określenia fruktozy

v = 0,20 ml

M = 180

d = 1

a więc:

dla glukozy $C \text{ (g/l)} = 0,417 A_G$

dla fruktozy $C \text{ (g/l)} = 0,420 A_F$

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

Uwaga:

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

— pomiar przy 334 nm: = 6,2 (mmola⁻¹ × 1 × cm⁻¹)

dla glukozy $C \text{ (g/l)} = 0,425 \Delta A_G$

dla fruktozy $C \text{ (g/l)} = 0,428 \Delta A_F$

— pomiar przy 365 nm: = 3,4 (mmola⁻¹ × 1 × cm⁻¹)

dla glukozy $C \text{ (g/l)} = 0,773 \Delta A_G$

dla fruktozy $C \text{ (g/l)} = 0,778 \Delta A_F$

5.3.2. *Powtarzalność (r)*

$r = 0,056 x_i$

5.3.3. *Odtwarzalność (R)*

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

x_i = zawartość glukozy lub fruktozy w g/l.

▼ **B**

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

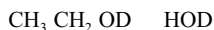
1. DEFINICJA

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



I

II



III

IV

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2. ZASADA

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

▼ **M1**

▼ **B**

3. PRZYGOTOWANIE PRÓBKII DO ANALIZY

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

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

3.1.1. *Aparatura i odczynniki*

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

- elektrycznego płaszcza grzejnego z regulatorem napięcia,
- kolby okrągłodennej o pojemności 1 litra z matową szyjką,
- kolumny Cadiota z obrotowym pierścieniem (części ruchome wykonane z teflonu),
- kolby stożkowej o pojemności 125 ml z matową szyjką,
- butelek o pojemności 125 i 60 ml z korkami z tworzywa sztucznego.

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

3.1.2. *Procedura*

3.1.2.1. Określić zawartość alkoholu w winie (r') z dokładnością co najmniej do 0,05 % obj.

3.1.2.2. *Wydzielanie alkoholu etylowego*

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

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

Zważyć zebrany alkohol etylowy.

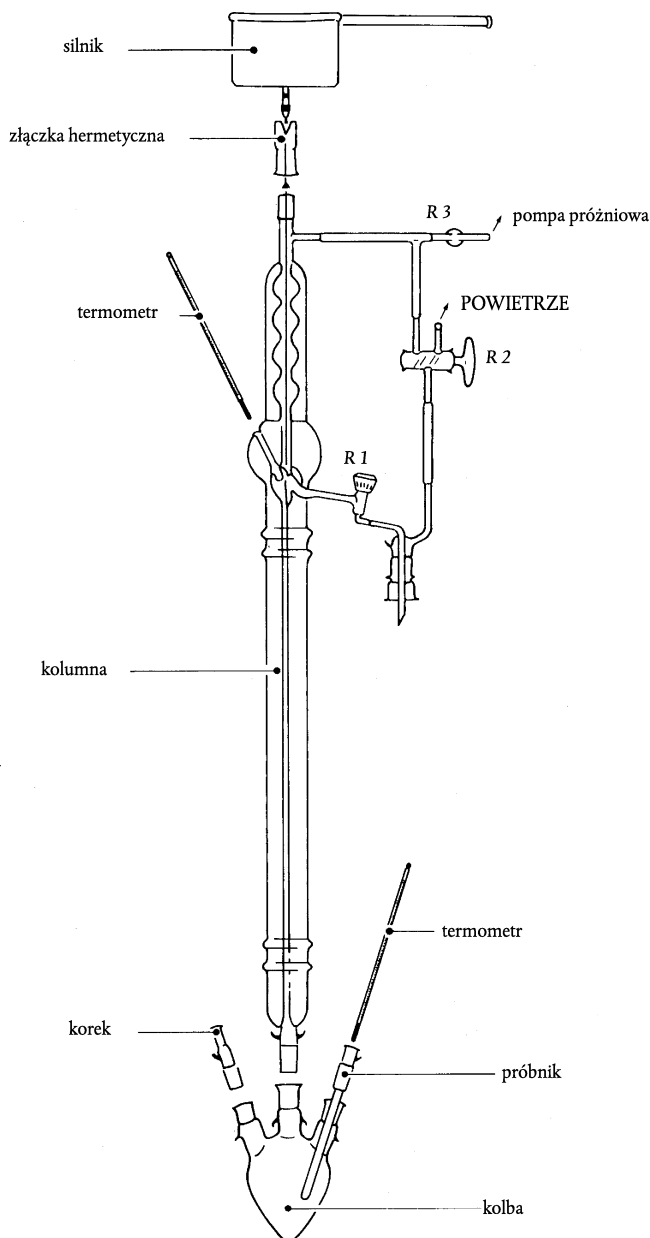
Jednolitowa 60-mililitrowa próbka pozostałości, odpowiadającej wodzie zawartej w winie, przechowywana jest w kolbie o pojemności 60 ml. Można oznaczyć jej stosunek izotopów, jeżeli jest to wymagane.

Uwaga:

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

3.1.2.3. *Oznaczanie zawartości alkoholu w alkoholu wyciągniętym*

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

▼ **B****Rysunek 1**

Urządzenie destylacyjne do ekstrakcji alkoholu etylowego Zawartość masy alkoholu przedstawia:

Urządzenie destylacyjne do ekstrakcji alkoholu etylowego

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

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

3.2.1. *Aparatura i odczynniki*

Kwas winowy

DIFCO Bacto Yeast Nitrogen Base bez aminokwasów

Aktywne suszone drożdże (*Saccharomyces cerevisiae*)

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

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

▼ **B**

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

3.2.2. *Procedura*

3.2.2.1. Moszcze

— Świeże moszcze

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

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

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

Uwaga:

Jeżeli do sulfatacji moszczu użyto pirosiarczynu potasu, przed desulfatacją do moszczu należy dodać 0,25 ml kwasu siarkowego ($\rho_{20} = 1,84\text{g/ml}$) na gram pirosiarczynu dodanego na litr moszczu.

3.2.2.2. Moszcze zagęszczone

Umieścić V ml moszczu zagęszczonego o znanej zawartości cukru (około 170 g) w naczyniu fermentacyjnym. Uzupełnić do 1 litra (1000 — V) ml wody wodociągowej o tym samym stosunku izotopów co próbki naturalnego moszczu. Dodać suche drożdże (1 g) (3.2.1) i 3 g DIFCO Bacto Yeast Nitrogen Base bez aminokwasów. Dokładnie wymieszać i postępować jak uprzednio.

3.2.2.3. Rektyfikowane moszcze zagęszczone

Postępować, jak opisano w ppkt 3.2.2.2, uzupełniając moszcz do jednego litra (1000 — V) ml wody wodociągowej o takim samym stosunku izotopów, zawierającej ponadto 3 g rozpuszczonego kwasu winowego.

Uwaga:

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

3.3. **Przygotowanie próbki alkoholu do pomiaru metodą NMR**3.3.1. *Odczynniki*

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

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

3.3.2. *Procedura*

— próbnik do NMR o średnicy 15 mm:

▼B

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

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

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

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

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

3.4.1. Odczynniki

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

3.4.2. Procedura

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

Uwaga:

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

4. REJESTROWANIE WIDM ^2H NMR ALKOHOLU I WODY

Oznaczenie parametrów izotopowych.

4.1. Aparatura

- Spektrometr NMR wyposażony w specjalny próbnik „deuteru” dostrojony do charakterystycznej częstotliwości V_0 pola B_0 (np. dla $B_0 = 7,05$ T, $V_0 = 46,05$ MHz a dla $B_0 = 9,4$ T, $V_0 = 61,4$ MHz), posiadający kanał odsprężania protonów (B_2) i kanał stabilizacji częstotliwości pola (lock) na częstotliwości fluorowej.

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

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

- Urządzenie do automatycznej zmiany próbek (ewentualnie)
- Komputerowy program do przetwarzania danych
- Probówki na próbki o średnicy 15 lub 10 mm, zależnie od konstrukcji spektrometru.

4.2. Normalizacja spektrofotometru i sprawdzanie

4.2.1. Normalizacja

Przeprowadzić zwykłą normalizację jednorodności i czułości zgodnie z zaleceniami producenta.

4.2.2. Sprawdzanie prawidłowości normalizacji

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

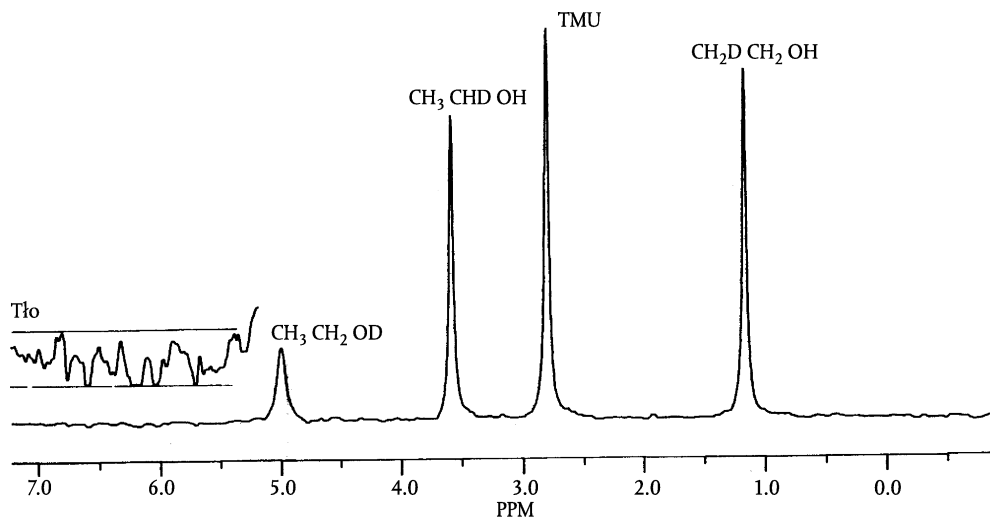
▼ **B**

- C: alkohol z cukru trzcinowego lub kukurydzy,
- V: spirytus winny,
- B: alkohol z buraków.

Próbki te są dostarczane przez Wspólnotowe Biuro Referencji.

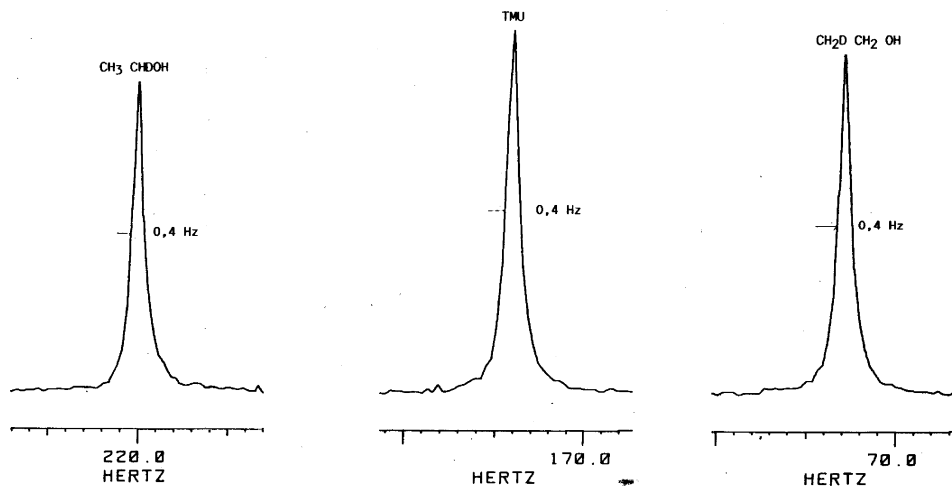
Postępując zgodnie z procedurą określoną w ppkt 4.3, ustalić stosunek izotopów w tych alkoholach, oznaczając je symbolami C_{meas} , V_{meas} , B_{meas} (patrz ppkt 5.3).

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



Rysunek 2a

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



Rysunek 2b

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

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

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

▼ B

4.3. Warunki uzyskiwania widm NMR

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

Warunki uzyskiwania widm NMR są następujące:

- stała temperatura próbnika (np. 302 K),
- czas wykrycia co najmniej 6,8 s dla szerokości widma 1200 Hz (16 K pamięci) (tzn. około 20 ppm przy 61,4 MHz lub 27 ppm przy 46,1 MHz),
- puls 90°,
- ustawienie czasu wykrycia: wartość ta powinna być tego samego rzędu co czas przerwy,
- wykrywanie paraboliczne: przesunięcie 01 ustawić między sygnałem odniesienia OD i CHD dla alkoholu etylowego i między wzorcowym sygnałem HOD i TMU dla wody,
- określić wartość przesunięcia odsprzęgania 02 na podstawie widma protonowego mierzonego za pomocą cewki odsprzęgającej w tej samej próbówce. Dobre odsprzęganie osiąga się, gdy 02 znajduje się w środku przedziału częstotliwości występującego między grupami CH_3^- i CH_2^- . Stosować szerokie pasmo odsprzęgania.

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

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

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

5.1. Alkohol etylowy

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

$$R = \frac{3h_{II}}{h_I} = 3 \times \frac{\text{height of signal II (CH}_3\text{ CHD OH)}}{\text{height of signal I (CH}_2\text{D CH}_2\text{OH)}}$$

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

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

gdzie:

$$T_I = \frac{\text{height of signal I (CH}_2\text{D CH}_2\text{ OH)}}{\text{height of signal of internal standard(TMU)}}$$

$$T_{II} = \frac{\text{height of signal II (CH}_3\text{CHD OH)}}{\text{height of signal of internal standard(TMU)}}$$

— m_{st} i m_A , patrz ppkt 3.3.2.

— t^D , patrz ppkt 3.1.2.3.

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

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

5.2. Woda

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

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

▼ B

gdzie:

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

— m'_{st} i m'_{Es} patrz ppkt 3.4.2.

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

- 5.3. Dla każdego z parametrów izotopów obliczyć średnią z 10 określeń oraz przedział wiarygodności.

Odpowiednie oprogramowanie (np. SNIF-NMR) dostosowane do komputera współpracującego ze spektrometrem umożliwi bezpośrednie przeprowadzanie obliczeń.

Uwaga:

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

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

$(D/H)_i^X$ oznacza wartość zmierzoną, a $(D/H)_i^{X_{cor}}$ oznacza wartość poprawioną. Otrzymana się następujące równanie:

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

gdzie

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

Przykład:

Próbki wzorcowe dostarczone i znormalizowane przez Wspólnotowe Biuro Referencji:

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

Próbki wzorcowe mierzone w laboratorium:

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

Kwestionowana próbka bez poprawki: $(D/H)_i^{X_{max}} = 100,2 \text{ ppm}$

Obliczone wartości wynoszą: $(D/H)_i^{X_{cor}} = 99,3 \text{ ppm}$ are calculated.

6. INTERPRETACJA WYNIKÓW

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

6.1. Dodatek cukru buraczanego, cukru trzcinowego lub glukozy kukurydzianej

6.1.1. Wina

R^x wyższy niż R^T : przypuszczalny dodatek cukru buraczanego.

R^x mniejszy niż R^T : przypuszczalny dodatek cukru trzcinowego lub cukru kukurydzianego.

Zwrócić uwagę, że wartości $(D/H)_i^X$ and $(D/H)_w^{OX}$ wzrastają.

Znaczenie: $(D/H)_i^X$:

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

— Przypuszczalny dodatek cukru kukurydzianego:

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

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

— Dodatek cukru buraczanego:

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

▼ **B**

gdzie:

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

$(D/H)_I^B$ = 92,5 ⁽¹⁾

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

— Dodatek cukru trzcinowego lub cukru kukurydzianego:

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

gdzie:

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

$(D/H)_I^C$ = 110,5 ⁽²⁾

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

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

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

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

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

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

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

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

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

⁽²⁾ Wartości te sa podane do czasu utworzenia wspólnotowego banku danych takich wartości.

**9. ZAWARTOŚĆ POPIOŁU**

1. DEFINICJA

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

2. ZASADA METODY

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

3. APARATURA

3.1. wrząca łaźnia wodna;

3.2. waga o czułości do 0,1 mg;

3.3. płyta grzejna lub wyparka promiennikowa;

3.4. elektryczny piec muflowy o kontrolowanej temperaturze;

3.5. ekcykator;

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

4. PROCEDURA

Do uprzednio zważonego naczynia platynowego (waga początkowa P_0 g) odmierzyć pipetą 20 ml wina. Odparować na wrzącej łaźni wodnej, a następnie ogrzewać pozostałość na płycie grzejnej o temperaturze 200 °C lub w wyparce promiennikowej aż do rozpoczęcia zwęglania. Kiedy przestanie wydzielać się dym, umieścić naczynie w elektrycznym piecu muflowym o temperaturze 525 ± 25 °C. Po 15 minutach zwęglania wyjąć tygiel z pieca, dodać 5 ml wody destylowanej, odparować wodę w łaźni wodnej lub w wyparce promiennikowej i ponownie ogrzewać próbkę w temperaturze 525 °C przez 10 minut.

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

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

Po ochłodzeniu w ekcykatorze zważyć tygiel (P_1 g).

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

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

5.1. Metoda obliczania

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

▼B**10. ZASADOWOŚĆ POPIOŁU**

1. DEFINICJA

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

2. ZASADA METODY

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

3. ODCZYNNIKI I APARATURA

- 3.1. 0,05 M roztwór kwasu siarkowego (H₂SO₄);
- 3.2. 0,1 M roztwór wodorotlenku sodu (NaOH);
- 3.3. oranż metylowy, 0,1-procentowy roztwór w wodzie destylowanej;
- 3.4. łaźnia z wrzącą wodą.

4. PROCEDURA

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

5. PRZEDSTAWIENIE WYNIKÓW

METODA OBLICZANIA

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

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

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

▼B

11. CHLORKI

1. ZASADA

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

2. APARATURA

- 2.1. Pehametr / miliwoltomierz o podziałce elementarnej co najmniej 2 mV.
- 2.2. Mieszadło magnetyczne.
- 2.3. Elektroda Ag / AcCl z nasyconym roztworem azotanu potasu jako elektrolitem.
- 2.4. Mikrobiureta o podziałce elementarnej 1/100 ml.
- 2.5. Chronometr.

3. ODCZYNNIKI

- 3.1. Wzorcowy roztwór chlorku: 2,1027 g chlorku potasu, KCl (maks. 0,005 % Br), suszony przed użyciem przez kilka dni w eksykatorze, rozpuścić w wodzie destylowanej i uzupełnić do jednego litra. 1 ml roztworu zawiera 1 mg Cl⁻.
- 3.2. Roztwór azotanu srebra do miareczkowania: 4,7912 g azotanu srebra, AgNO₃ rozpuścić w 10-procentowym (v/v) roztworze alkoholu i uzupełnić do 1 litra. 1 ml roztworu odpowiada 1 mg Cl⁻.
- 3.3. Kwas azotowy, co najmniej 65 % ($\rho_{20} = 1,40$ g/ml).

4. PROCEDURA

- 4.1. Do cylindrycznego naczynia na 150 ml umieszczonego na mieszadle magnetycznym odmierzyć 5,0 ml wzorcowego roztworu chlorku, rozcieńczyć wodą do około 100 ml i zakwasić za pomocą 1,0 ml kwasu azotowego (co najmniej 65 %). Po zanurzeniu elektrody miareczkować roztworem azotanu srebra dozowanym z mikrobiurety, przy umiarkowanym mieszaniu. Na początku dodać 4 ml azotanu w porcjach po 1,00 ml i odczytać odpowiednie wartości w miliwoltach. Dodać następne 2 ml w porcjach po 0,20 ml. Na koniec dodawać porcje o objętości 1 ml aż do wprowadzenia całości 10 ml. Po każdym wkropleniu odczekać około 30 sekund i odczytać odpowiednie miliwolt. Odczytane wartości nanieść na wykres przedstawiający zależność potencjału od mililitrów miareczkowanego roztworu i na podstawie punktu osobliwego uzyskanej krzywej określić potencjał punktu równoważnikowego.
- 4.2. Do cylindrycznego naczynia na 150 ml odmierzyć 5 ml wzorcowego roztworu chlorku, dodać 95 ml wody destylowanej i 1 ml kwasu azotowego (co najmniej 65 %). Zanurzyć elektrodę i miareczkować, ciągle mieszając, do uzyskania potencjału punktu równoważnikowego. Oznaczenie powtarzać do uzyskania zbliżonych wyników. Test ten należy przeprowadzić przed każdą serią oznaczeń chlorków w próbkach.
- 4.3. Do cylindrycznego naczynia na 150 ml odmierzyć 50 ml wina do analizy. Dodać 50 ml wody destylowanej i 1 ml kwasu azotowego (co najmniej 65 %), zgodnie z procedurą opisaną w ppkt 4.2.

5. PRZEDSTAWIENIE WYNIKÓW

5.1. Obliczenia

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

$20 \times n$ wyrażone jako miligramy Cl na litr,

$0,5633 \times n$ wyrażone jako miliekwiwalenty na litr,

$32,9 \times n$ wyrażone jako miligramy chlorku sodu na litr.

5.2. Powtarzalność (r):

$r = 1,2$ mg Cl na litr

$r = 0,03$ mg na litr

$r = 2,0$ mg NaCl na litr

▼ **B**5.3. **Odtwarzalność (R)**

$R = 4,1$ mg Cl na litr

$R = 0,12$ mg na litr

$R = 6,8$ mg NaCl na litr

6. *Uwaga:* Dla każdego dokładnego oznaczenia.

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

- a) Do cylindrycznego naczynia na 150 ml odmierzyć 50 ml wina poddanego analizie. Dodać 50 ml wody destylowanej i 1 ml kwasu azotowego (co najmniej 65 %). Miareczkować, używając roztworu azotanu srebra, dodając po 0,5 ml i rejestrując odpowiedni potencjał w miliwoltach. Na podstawie pierwszego miareczkowania określić przybliżoną objętość azotanu srebra potrzebną do zmia-reczkowania próbki.
- b) Powtórzyć miareczkowanie w tych samych warunkach. Na początku dodawać po 0,5 ml roztworu miareczkującego do momentu, w którym dodana ilość jest mniejsza od objętości wyznaczonej w lit. a) o 1,5 - 2 ml. Następnie dodawać po 0,2 ml. Kontynuować miareczkowanie poza przybliżony punkt równoważnikowy w sposób symetryczny, tzn. dodając po 0,2 ml, a następnie po 0,5 ml.

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

- poprzez wykreślenie krzywej i wyznaczenie punktu równoważnikowego,
- lub z następującego wyliczenia:

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

gdzie:

V = objętość miareczkującego roztworu w punkcie równoważnikowym;

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

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

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

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

Przykład:

Objętość AgNO ₃	E potencjał w mV	Różnica ΔE	Druga różnica ΔΔE
0	204		
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
		34	

▼B

Objętość AgNO ₃	E potencjał w mV	Różnica ΔE	Druga różnica ΔΔE
2,0	350		8
2,2	376	26	6
2,4	396	20	

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

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

▼B

12. SIARCZANY

1. ZASADA

1.1. **Metoda porównawcza**

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

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

1.2. **Szybka metoda badawcza**

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

2. METODA PORÓWNAWCZA

2.1. **Odczynniki**

2.1.1. 2 M roztwór kwasu solnego.

2.1.2. Roztwór chlorku baru o stężeniu 200 g/l $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 2.2. **Procedura**2.2.1. *Ogólna procedura:*

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

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

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

m = masa otrzymanego siarczanu baru w miligramach.

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

Wcześniej usunąć ditlenek siarki.

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

2.3. **Prezentowanie wyników**2.3.1. *Obliczenia:*

Zawartość siarczanów w przeliczeniu na miligramy siarczanu potasu, K_2SO_4 , na litr wynosi:

$$18,67 \times m$$

Zawartość siarczanów w moszczach lub winie wyrażana jest w miligramach na litr siarczanu potasu, bez miejsca dziesiątego.

2.3.2. *Powtarzalność*

do 1000 mg/l: $r = 27$ mg/l

około 1500 mg/l: $r = 41$ mg/l

▼ **B**

- 2.3.3. *Odtwarzalność:*
do 1000 mg/l: $R = 51$ mg/l
około 1500 mg/l: $R = 81$ mg/l

▼ **M8**

**13. KWASOWOŚĆ OGÓLNA**

1. DEFINICJA

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

Ditlenek węgla nie wchodzi w skład kwasowości ogólnej.

2. ZASADA METODY

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

3. ODCZYNNIKI

3.1. Roztwór buforowy o pH 7,0:

— (orto) fosforan potasu (KH_2PO_4) ...	107,3 g
— M roztwór wodorotlenku sodu (NaOH) ...	500 ml
— woda do ...	1 000 ml

Można użyć gotowych roztworów buforowych, dostępnych w handlu.

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

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

— błękit bromotymolowy ($\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{Br}_2\text{O}_5\text{S}$)...	4 g
— obojętny alkohol etylowy, 96 % obj ...	200 ml

Rozpuścić i dodać:

— wodę pozbawioną CO_2 ...	200 ml
— 1 M roztwór wodorotlenku sodu w ilości potrzebnej do uzyskania barwy niebieskozielonej (pH 7)...	około 7,5 ml
— wody do ...	1 000 ml

4. APARATURA

4.1. Pompka wodna.

4.2. Kolba próżniowa o pojemności 500 ml.

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

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

5. PROCEDURA

5.1. **Przygotowanie próbki:**5.1.1. *Wina*

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

5.1.2. *Rektyfikowane moszcze zagęszczone*

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

5.2. **Miareczkowanie potencjometryczne**5.2.1. *Kalibracja pehametru*

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

▼ **B**5.2.2. *Metoda pomiaru*

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

5.3. **Miareczkowanie ze wskaźnikiem** (błękit bromotymolowy)5.3.1. *Próba wstępna*: oznaczanie barwy roztworu w końcowym punkcie miareczkowania.

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

5.3.2. *Pomiar*

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

6. PRZEDSTAWIENIE WYNIKU

6.1. **Metoda obliczania**6.1.1. *Wina*

Kwasowość ogólna w miliekwiwalentach na litr wynosi:

$$A = 10 n$$

Wartość tę podaje się z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

Kwasowość ogólna kwasu winowego w gramach na litr wynosi:

$$A^{\text{g}} = 0,075 A$$

Zapisuje się z dokładnością do jednego dziesiętnego.

6.1.2. *Rektyfikowane moszcze zagęszczone*

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

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

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

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

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

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

$$r = 0,9 \text{ mg/litr}$$

$$r = 0,07 \text{ g kwasu winowego / litr}$$

dla win białych, różowych i czerwonych.

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

Dla win białych i różowych:

$$R = 3,6 \text{ miliekwiwalentów / litr}$$

$$R = 0,3 \text{ g kwasu winowego/litr}$$

Dla win czerwonych:

$$R = 5,1 \text{ miliekwiwalentów / litr}$$

▼**B**

$R = 0,4$ g kwasu winowego / litr

**14. KWASOWOŚĆ LOTNA**

1. DEFINICJE

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

2. ZASADA METODY

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

Z wina należy uprzednio usunąć ditlenek węgla.

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

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

Uwaga:

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

3. ODCZYNNIKI

3.1. Krystaliczny kwas winowy ($C_4H_6O_6$).

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

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

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

3.5. 0,005 M roztwór jodu (I_2).

3.6. Krystaliczny jodek potasu (KI).

3.7. Roztwór skrobi o stężeniu 5 g/l.

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

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

4. APARATURA

4.1. Aparatura do destylacji parowej, składająca się z:

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

To wyposażenie musi zostać poddane trzem następującym badaniom:

- a) Umieścić w kolbie 20 ml przegotowanej wody. Zebrać 250 ml destylatu i dodać do niego 0,1 ml 0,1 M roztworu wodorotlenku sodu (3.2) i dwie krople roztworu fenoloftaleiny (3.3). Barwa różowa musi utrzymywać się przez co najmniej 10 sekund (tzn. że para wodna nie zawiera ditlenku węgla).
- b) Umieścić w kolbie 20 ml 0,1 M roztworu kwasu octowego. Zebrać 250 ml destylatu. Miareczkować 0,1 M roztworem wodorotlenku sodu (3.2): objętość roztworu zużytego do miareczkowania musi wynosić co najmniej 19,9 ml (tzn. że co najmniej 99,5 % kwasu octowego zostało oddestylowane z parą wodną).
- c) Umieścić w kolbie miarowej 20 ml 1 M roztworu kwasu mlekowego. Zabrać 250 ml destylatu i miareczkować kwas 0,1 M roztworem wodorotlenku sodu (3.2).

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

▼ **B**

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

- 4.2. Pompka wodna.
- 4.3. Kolba próżniowa.
5. PROCEDURA
- 5.1. Przygotowanie próbek: usunięcie ditlenku węgla. Umieścić około 50 ml wina w kolbie próżniowej; utworzyć w kolbie stan próżni, podłączając pompkę wodną na jedną do dwóch minut, stale wstrząsając kolbą.
- 5.2. **Destylacja parowa**
- Umieścić 20 ml wina pozbawionego ditlenku węgla w kolbie w sposób opisany w ppkt 5.1. Dodać około 0,5 g kwasu winowego (3.1). Zebrać co najmniej 250 ml destylatu.
- 5.3. **Miareczkowanie**
- Miareczkować 0,1 M roztworem wodorotlenku sodu (3.2), używając dwóch kropli fenoloftaleiny (3.3) jako wskaźnika. n'' ml oznacza objętość zużytego wodorotlenku sodu.
- Dodać cztery krople kwasu solnego rozcieńczonego w stosunku 1:4 (3.4), 2 ml roztworu skrobi (3.3) i kilka kryształów jodku potasu (3.6). Miareczkować wolny ditlenek siarki za pomocą 0,005 M roztworu jodu (3.5). n'' ml oznacza zużyta objętość.
- Dodawać nasycony roztwór boranu sodu (3.8) do pojawienia się barwy różowej. Miareczkować związany ditlenek siarki za pomocą 0,005 M roztworu jodu (3.5). n'' ml oznacza zużyta objętość.
6. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW
- 6.1. **Metoda obliczania**
- Kwasowość lotna, wyrażana w miliekwiwalentach na litr z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego, wynosi:
- $$A = 5(n - 0,1 n' - 0,05 n'')$$
- Kwasowość lotna, wyrażana w gramach kwasu octowego na litr z dokładnością do dwóch miejsc dziesiętnych, wynosi:
- $$0,300 (n - 0,1 n' - 0,05 n'')$$
- 6.2. **Powtarzalność (r)**
- $$r = 0,7 \text{ meq/litr}$$
- $$r = 0,04 \text{ g/litr kwasu octowego.}$$
- 6.3. **Odtwarzalność (R)**
- $$R = 1,3 \text{ meq/litr}$$
- $$R = 0,08 \text{ g/litr kwasu octowego.}$$
- 6.4. **Wino zawierające kwas sorbinowy**
- Ponieważ przy objętości destylatu wynoszącej 250 ml przechodzi do niego 96 % kwasu sorbinowego, kwasowość pochodząca z kwasu sorbinowego należy odjąć od oznaczonej kwasowości lotnej, wiedząc, że 100 mg kwasu sorbinowego odpowiada kwasowości 0,89 miliekwiwalentów lub 0,053 g kwasu octowego i znając zawartość kwasu sorbinowego w mg/ml, ustaloną innymi metodami.
7. OZNACZANIE KWASU SALICYLOWEGO UMIESZCZONEGO W DESTYLACIE POCHODZĄCYM Z KWASOWOŚCI LOTNEJ
- 7.1. **Zasada**
- Po określeniu kwasowości lotnej i wprowadzeniu poprawki na ditlenek siarki należy stwierdzić obecność kwasu salicylowego, po zakwaszeniu, poprzez fioletowe zabarwienie pojawiające się po dodaniu soli żelaza (III).
- Określenie kwasu salicylowego przechodzącego do destylatu z kwasami lotnymi wykonuje się w drugim destylacie, o tej samej objętości, co destylat wykorzystany do oznaczania kwasowości lotnej. W

▼ **B**

destylacie tym oznacza się kwas salicylowy kolorymetryczną metodą porównawczą. Zawartość kwasu salicylowego odejmuje się od kwasowości lotnej destylatu oznaczonej w destylacie uzyskanym w pierwszej destylacji.

7.2. **Odczynniki**

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

7.2.2. 0,1 M roztwór tiosiarczanu sodu ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).

7.2.3. 10-procentowy (m/v) roztwór siarczanu żelazowo-amonowego ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$).

7.2.4. 0,01 M roztwór salicylanu sodu.

Roztwór salicylanu sodu ($\text{NaC}_7\text{H}_5\text{O}_3$) o stężeniu 1,60 g/l).

7.3. **Procedura**7.3.1. *Identyfikacja kwasu salicylowego w destylacie kwasowości lotnej*

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

Barwa fioletowa świadczy o obecności kwasu salicylowego.

7.3.2. *Oznaczanie kwasu salicylowego*

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

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

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

n'' ml oznacza objętość roztworu dodanego z biurety.

7.3.3. *Poprawka do kwasowości lotnej*

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

▼**B**

15. KWASOWOŚĆ ZWIĄZANA

1. ZASADA

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

2. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

Kwasowość związana wyrażana jest w:

- miliekwiwalentach na litr,
- gramach kwasu winowego na litr.

**16. KWAS WINOWY****1. ZASADA METODY****1.1. Metoda porównawcza**

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

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

1.2. Metoda zwykła

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

2. METODA PORÓWNAWCZA**2.1. Metoda grawimetryczna****2.1.1. Odczynniki****2.1.1.1. Roztwór octanu wapnia o stężeniu 10 g wapnia w litrze:**

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

2.1.1.2. (\pm)winian wapnia, krystaliczny: $\text{CaC}_4\text{O}_6\text{H}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$:

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

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

Przechowywać w zakorkowanej butelce.

2.1.1.3. Roztwór wytrącający (pH 4,75):

— kwas D(-) — winowy ...	122 mg
— 25-procentowy (v/v) roztwór wodorotlenku amonu ($r_{20} = 0,97$ g/ml) ...	0,3 ml
— roztwór octanu wapnia (10 g/litr wapnia) ...	8,8 ml
— woda do ...	1 000 ml

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

2.1.2. Procedura**2.1.2.1. Wina bez dodatku kwasu mezowinowego**

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

▼B

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

Wysuszyć do ciężaru stałego w piecu w temperaturze 70 °C. Zważyć.
p oznacza wagę otrzymanego krystalicznego (\pm)winianu wapnia
($\text{CaC}_4\text{O}_6\text{H}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$).

2.1.2.2. Wina, do których dodano kwas mezowinowy

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

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

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

2.1.3. *Przedstawianie wyników*

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

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

Wartość ta podawana jest z dokładnością do jednego miejsca po prze-
cinku.

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

Wartość ta podawana jest z dokładnością do jednego miejsca dziesiąt-
nego.

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

Wartość ta podawana jest z dokładnością do jednego miejsca dziesiąt-
nego.

2.2. **Porównawcza analiza miareczkowa**2.2.1. *Odczynniki*2.2.1.1. Kwas solny (HCl) (1:5 v/v) ($\rho_{20} =$ od 1,18 do 1,19 g/ml)

2.2.1.2. 0,05 M roztwór EDTA:

EDTA (sól disodowa kwasu etylenodiaminotetraocto-
wego):

($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ...	18,61 g
woda destylowana do...	1 000 ml

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

wodorotlenek sodu (NaOH) ...	40 g
woda destylowana do...	100 ml

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

kwas 2-hydroksy-1-(2-hydroksy-4-sulfo-1-naftyłazo)-3- naftoenowy ($\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_7\text{S} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) ...	1 g
bezwodny siarczan sodu (Na_2SO_4) ...	100 g

2.2.2. *Procedura*

Po zważeniu umieścić tygiel ze spiekane-
go szkła zawierający osad (\pm)
winianu wapnia na kolbie próżniowej i rozpuścić osad za pomocą 10
ml rozcieńczonego kwasu solnego (2.2.1.1). Przemyc tygiel ze spieka-
nego szkła w 50 ml wody destylowanej.

▼ B

Dodać 5 ml 40-procentowego roztworu wodorotlenku sodu (2.2.1.3) i około 30 mg wskaźnika (2.2.1.4). Miareczkować 0,05 M roztworem EDTA (2.2.1.2). n oznacza ilość ml zużytych do miareczkowania.

2.2.3. *Przedstawianie wyników*

Ilość kwasu winowego na litr wina, wyrażana w miliekwiwalentach, jest równa $5 n$.

Wartość ta jest podawana z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

Ilość kwasu winowego na litr wina, wyrażana w gramach kwasu winowego jest równa $0,375 n$.

Wartość ta jest podawana z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

Ilość kwasu winowego na litr wina, wyrażana w gramach winianu potasu, równa się $0,470 n$.

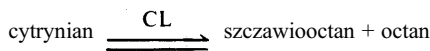
Wartość ta jest podawana z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

▼ M8

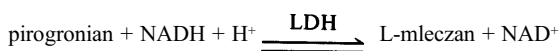
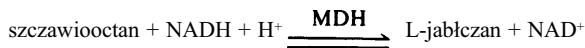
▼**B****17. KWAS CYTRYNOWY**

1. ZASADA METODY

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



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



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

2. ODCZYNNIKI

2.1. Roztwór buforowy o pH 7,8,

(0,51 M glicyloglicyna; pH 7,8; Zn²⁺ (0,6 × 10⁻³ M):

rozpuścić 7,13 g glicyloglicyny w około 70 ml wody podwójnie destylowanej.

Dostosować pH do 7,8 za pomocą około 13 ml 5 M roztworu wodorotlenku sodu, dodać 10 ml roztworu chlorku cynkowego (ZnCl₂ 80 mg w 100 ml H₂O) i uzupełnić do 100 ml wodą podwójnie destylowaną.

2.2. Roztwór zredukowanego dinukleotydu nikotynamidoadeninowego (NADH) (około 6 × 10⁻³ M): rozpuścić 30 mg NADH i 60 mg NaHCO₃ w 6 ml wody podwójnie destylowanej.

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

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

Zaleca się sprawdzić aktywność enzymów przed wykonaniem oznaczenia.

2.5. Poliwinylolopiprolidon (PVPP)

Uwaga: Wszystkie wyżej wymienione odczynniki są dostępne w handlu.

3. APARATURA

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

Jeżeli spektrofotometr taki nie jest dostępny, można użyć spektrofotometru o źródle widma nieciągłego, umożliwiający pomiar przy 334 lub 365 nm.

Ponieważ w oznaczeniu mierzy się bezwzględną chłonność (tzn. nie wykorzystuje się krzywych odwzorowania, natomiast przeprowadza się standaryzację, uwzględniając współczynnik ekstynkcji NADH), należy sprawdzić skale długości fali i chłonność widmową aparatu.

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

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

▼ **B**

4. PRZYGOTOWANIE PRÓBKII

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

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

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

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

5. PROCEDURA

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

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

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

Dodać:

Roztwór 2.4	0,02 ml	0,02 ml
-------------	---------	---------

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

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

Na koniec obliczyć różnicę między tymi różnicami:

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

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

6. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

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

6.1. **Metoda obliczania**

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

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

gdzie

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

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

M = masa cząsteczkowa oznaczanej substancji

▼B

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

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

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

a więc

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

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

Uwaga:

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

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

6.2. **Powtarzalność (r)**

Stężenie kwasu cytrynowego poniżej 400 mg/l: $r = 14 \text{ mg/l}$.

Stężenie kwasu cytrynowego powyżej 400 mg/l: $r = 28 \text{ mg/l}$.

6.3. **Odtwarzalność (R)**

Stężenie kwasu cytrynowego poniżej 400 mg/l: $R = 39 \text{ mg/l}$.

Stężenie kwasu cytrynowego powyżej 400 mg/l: $R = 65 \text{ mg/l}$.

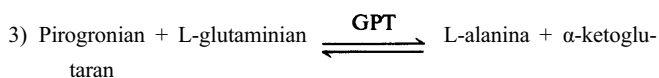
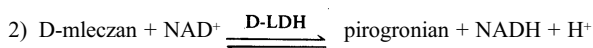
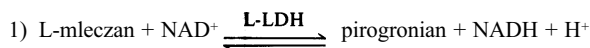
▼ **B****18. KWAS MLEKOWY**

1. ZASADA METODY

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

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

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



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

Uwaga:

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

1.2. **Metoda rutynowa**

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

2. METODA PORÓWNAWCZA

2.1. **Odczynniki**

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

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

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

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

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

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

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

Zaleca się sprawdzenie aktywności enzymów przed określeniem.

Uwaga: Wszystkie odczynniki są dostępne w handlu.

2.2. **Aparatura**

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

Jeżeli spektrofotometr taki nie jest dostępny, można użyć spektrofotometru o źródle widma nieciągłego, umożliwiający pomiar przy 334 lub 365 nm.

▼B

Ponieważ przy oznaczaniu uwzględnia się wartość bezwzględną chłonności (tzn. nie wykorzystuje się krzywych odwzorowania, natomiast przeprowadza się normalizację, uwzględniając współczynnik ekstynkcji NADH), należy sprawdzić skale długości fali i chłonność widmową aparatu.

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

2.2.3. Mikropipety do odmierzania objętości w zakresie 0,02-2 ml.

2.3. Przygotowanie próbki

Uwaga wstępna: Żadna część używanego szkła, która wchodzi w kontakt z mieszaniną reakcyjną, nie może być dotykana palcami, gdyż w ten sposób można wprowadzić kwas L-mlekowy i spowodować błąd w wyniku.

Ustalanie kwasu mlekowego przeprowadza się zwykle bezpośrednio w winie, bez uprzedniego usuwania związków barwnych i bez rozcieńczania, o ile zawartość kwasu mlekowego wynosi poniżej 100 mg/l. Jeżeli jednak zawartość kwasu mlekowego wynosi między:

- 100 mg/l i 1 g/l, rozcieńczyć 1:10 wodą podwójnie destylowaną,
- 1 g/l i 2,5 g/l, rozcieńczyć 1:25 wodą podwójnie destylowaną,
- 2,5 g/l i 5 g/l, rozcieńczyć 1:50 wodą podwójnie destylowaną.

2.4. Procedura

2.4.1. Ustalanie kwasu mlekowego ogółem

Temperatura roztworu buforowego przed przystąpieniem do ustalania powinna wynosić 20-25 °C.

Ustawić długość fali w spektrofotometrze na 340 nm i ustalić chłonność, stosując celki o drodze optycznej 1 cm i w stosunku do powietrza jako wzorca o zerowej chłonności (celka odniesienia) (bez celki na drodze światła) lub w stosunku do wody jako odnośnika.

W jednocentymetrowych celkach umieścić:

	Celka odniesienia (ml)	Celka z badaną próbką (ml)
Roztwór 2.1.1	1,00	1,00
Roztwór 2.1.2	0,20	0,20
Woda podwójnie destylowana	1,00	0,80
Zawiesina 2.1.3	0,02	0,02
Próbka poddawana badaniu	—	0,20

Wymieszać, używając mieszadła szklanego lub prętu z materiału syntetycznego ze spłaszczonym końcem: po około 5 minutach zmierzyć chłonność roztworów w celkach z odniesienia i celkach z próbką (A_1).

Dodać 0,02 ml roztworu 2.1.4 i 0,05 ml roztworu 2.1.5, dokładnie wymieszać, pozostawić do zakończenia reakcji (około 30 minut), następnie zmierzyć chłonność roztworów w celkach odniesienia i celkach z próbką (A_2).

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

Na koniec obliczyć różnicę między tymi różnicami:

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

2.4.2. Oznaczanie kwasu L-mlekowego i kwasu D-mlekowego

Oznaczanie kwasu L-mlekowego i D-mlekowego można prowadzić niezależnie, stosując metodę oznaczania kwasu mlekowego ogółem do momentu wyznaczenia wartości A_1 , a dalej postępując w następujący sposób:

Dodać 0,02 ml roztworu 2.1.4, dokładnie wymieszać, pozostawić do zakończenia reakcji (około 20 minut) i zmierzyć chłonność w celkach odniesienia i w celkach z próbką (A_2).

▼ **B**

Dodać 0,05 ml roztworu 2.1.5, dokładnie wymieszać, pozostawić do zakończenia reakcji (około 30 minut) i zmierzyć chłonność w celkach odniesienia i w celkach z próbką (A_3).

Obliczyć różnice ($A_3 - A_1$) dla kwasu L-mlekowego i ($A_3 - A_2$) dla kwasu D-mlekowego między chłonnościami roztworów w celkach odniesienia i w celkach z próbką, ΔA_R i ΔA_S .

Na koniec obliczyć różnicę między tymi różnicami:

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

Uwaga:

Czas potrzebny do zakończenia reakcji enzymatycznej może różnić się przy kolejnych oznaczeniach. Powyższe wartości są podane tylko jako wskazówka i zaleca się, aby były oznaczane dla każdej serii. Przy oznaczaniu wyłącznie kwasu L-mlekowego czas inkubacji można skrócić do 10 minut.

2.5. **Przedstawianie wyników**

Stężenie kwasu mlekowego należy podać w gramach na litr z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

2.5.1. *Metoda obliczania*

Ogólny wzór na obliczanie zawartości kwasu mlekowego w g/l jest następujący:

$$C = \frac{V \times M}{\varepsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A$$

gdzie:

V = objętość badanego roztworu w ml ($V = 2,24$ ml dla kwasu L-mlekowego, $V = 2,29$ dla kwasu D-mlekowego i kwasu mlekowego ogółem)

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

M = masa cząsteczkowa oznaczanej substancji (w niniejszym przykładzie dla kwasu DL-mlekowego $M = 90,08$)

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

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

2.5.1.1. Całkowita zawartość kwasu mlekowego i kwasu D-mlekowego

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

Jeżeli próbka została rozcieńczona w trakcie przygotowania do ustalenia, wynik należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.

Uwaga:

Pomiar w 334 nm: $C = 0,167 \times \Delta A$, ($\varepsilon = 6,2 \text{ mmol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1}$).

Pomiar w 365 nm: $C = 0,303 \times \Delta A$, ($\varepsilon = 3,4 \text{ mmol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1}$).

2.5.1.2. Kwas L-mlekowy

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

Jeżeli próbka została rozcieńczona w trakcie przygotowania do ustalenia, wynik należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.

Uwaga:

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

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

2.5.2. *Powtarzalność (r)*

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

x_i oznacza stężenie kwasu mlekowego w próbce w g/l.

▼ B2.5.3. *Odtwarzalność (R)*

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

 x_i oznacza stężenie kwasu mlekowego w próbce w g/l.**▼ M8**

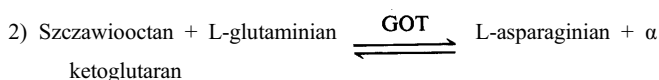
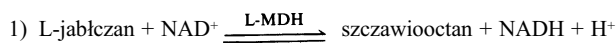
▼B

19. KWAS L-JABŁKOWY

1. ZASADA METODY

Kwas L-jabłkowy (L-jabłczan) jest utleniany przez dinukleotyd nikotynamidoadeninowy (NAD) do szczawiooctanu w reakcji katalizowanej przez dehydrogenazę L-jabłczanową (L-MDH).

Równowaga tej reakcji jest zwykle wyraźnie przesunięta w stronę jabłczanu. Usuwanie szczawiooctanu z mieszaniny reakcyjnej przesuwa równowagę reakcji w stronę tworzenia szczawiooctanu. W obecności L-glutaminianu szczawiooctan przechodzi w L-asparaginian w reakcji katalizowanej przez transaminazę glutaminianowo-szczawiooctanową (GOT):



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

2. ODCZYNNIKI

2.1. Roztwór buforowy, pH 10

(glicyloglicyna 0,6 M; L-glutaminian 0,1 M):

Rozpuścić 4,75 g glicyloglicyny i 0,88 g kwasu L-glutaminowego w około 50 ml wody podwójnie destylowanej; sprowadzić pH do 10 za pomocą około 4,6 ml 10 M wodorotlenku sodu i uzupełnić do 60 ml wodą podwójnie destylowaną.

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

2.2. Roztwór dinukleotydu nikotynamidoadeninowego (NAD), około 47×10^{-3} M: Rozpuścić 420 mg NAD w 12 ml wody podwójnie destylowanej. Roztwór ten jest trwały przez co najmniej 4 tygodnie w temperaturze 4 °C.

2.3. Zawiesina transaminazy glutaminianowo-szczawiooctanowej (GOT), 2 mg/ml. Zawiesina jest trwała przez co najmniej rok w temperaturze 4 °C.

2.4. Roztwór dehydrogenazy L-jabłczanowej (L-MDH), 5 mg/ml. Roztwór ten jest trwały przez co najmniej rok w temperaturze 4 °C.

Uwaga: Wszystkie powyższe odczynniki są dostępne w handlu.

3. APARATURA

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

Jeżeli spektrofotometr taki nie jest dostępny, można użyć spektrofotometru o źródle widma nieciągłego, umożliwiający pomiar przy 334 lub 365 nm.

Ponieważ w oznaczeniu wykorzystuje się bezwzględną chłonność (tzn. nie wykorzystuje się krzywych odwzorowania, natomiast przeprowadza się normalizację, uwzględniając współczynnik ekstynkcji NADH), należy sprawdzić zakres długości fali i chłonność widmową aparatu.

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

3.3. Mikropipety do odmierzania objętości w zakresie 0,01—2 ml.

4. PRZYGOTOWANIE PRÓBKII

Oznaczanie L-jabłczanu przeprowadza się zwykle bezpośrednio w winie, bez uprzedniego usuwania związków barwnych (koloryzujących) i bez rozcieńczania, o ile zawartość kwasu L-jabłkowego wynosi poniżej 350 mg/l (oznaczana przy 365 nm). Jeżeli nie, wino należy rozcieńczyć wodą podwójnie destylowaną do uzyskania zawartości L-jabłczanu 30—350 mg/l (tzn. że zawartość L-jabłczanu w badanym roztworze wynosi 3—35 µg).

▼ **B**

Jeżeli zawartość jabłczanu w winie wynosi mniej niż 30 mg/l, objętość badanej próbki można zwiększyć do 1 ml. W tym przypadku ilość dodawanej wody należy zmniejszyć w ten sposób, aby całkowita objętość roztworu w obu celkach była równa.

5. PROCEDURA

Za pomocą spektrofotometru z długością fali ustawioną na 340 nm oznaczyć chłonność przy użyciu celek o drodze optycznej 1 cm i w stosunku do powietrza jako wzorca o zerowej chłonności (odniesienie) (bez celki na drodze światła) lub w stosunku do wody jako wzoru.

W celkach o drodze optycznej 1 cm umieścić:

	Celka odniesienia (ml)	Celka z próbką (ml)
Roztwór 2.1	1,00	1,00
Roztwór 2.2	0,20	0,20
Woda podwójnie destylowana	1,00	0,90
Zawiesina 2.3	0,01	0,01
Badana próbka	–	0,10

Wymieszać; po około 3 minutach odczytać chłonność roztworów w celce odniesienia i w celce z próbką (A_1).

Dodać:

Roztwór 2.4	0,01 ml	0,01 ml
-------------	---------	---------

Wymieszać, pozostawić do zakończenia reakcji (około 5–10 minut) i odczytać chłonność roztworów w celce z próbką odniesienia i w celce z badaną próbką (A_2).

Obliczyć różnice chłonności ($\Delta A_2 - \Delta A_1$) dla celek z próbką odniesienia i celek z próbką, A_R i A_S .

Na koniec obliczyć różnicę między tymi różnicami: $\Delta A = \Delta A_2 - \Delta A_R$

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

6. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

Zawartość kwasu L-jabłkowego podaje się w gramach na litr z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

6.1. Metoda obliczania

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

$$C = \frac{V \times M}{\varepsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A$$

gdzie

V = objętość badanego roztworu w ml (tu 2,22 ml)

v = objętość próbki w ml (w niniejszym przykładzie 0,1 ml)

M = masa cząsteczkowa oznaczanej substancji (w niniejszym przykładzie dla kwasu L-jabłkowego, $M = 134,09$)

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

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

a więc dla L-jabłczanu:

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

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

Uwaga:

Przy pomiarze w 334 nm: $C = 0,482 \times \Delta A$

Przy pomiarze w 365 nm: $C = 0,876 \times \Delta A$

▼ B6.2. **Powtarzalność (r)**

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

x_i oznacza stężenie kwasu jabłkowego w próbce w g/l.

6.3. **Odtwarzalność (R)**

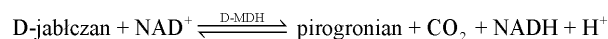
$$R = 0,05 + 0,071 x_i$$

x_i oznacza stężenie kwasu jabłkowego w próbce w g/l.

▼ **M7****20. KWAS D-JABŁKOWY****(metoda enzymatyczna)**

1. ZASADA

W obecności dehydrogenazy D-jabłczanu (D-MDH) kwas D-jabłkowy (D-jabłczan) zostaje utleniony przez dinukleotyd nikotyno-amidoadeninowy do szczawiooctanu. Powstały szczawiooctan rozszczepia się na pirogronian i ditlenek węgla.



Ilość powstałego NADH jest proporcjonalna do stężenia kwasu D-jabłkowego i mierzy się ją z zastosowaniem długości fali 334, 340 lub 365 nm.

2. ODCZYNNIKI

Skład badania dla około 30 oznaczeń:

- a) Butla 1 zawierająca około 30 ml roztworu składającego się z buforu Hepes [N-(2-hydroksyetyl)piperazyna-N'-2-kwas 2 etanosulfonowy], pH = 9,0 oraz stabilizatory;
- b) Butla 2 zawierająca około 210 mg liofilizatu NAD;
- c) Trzy butle 3 zawierające liofilizat D-MDH, każda około 8 jednostek.

Przygotowanie roztworu

1. Użyć zawartości butli 1 nierozcieńczonej. Przed użyciem rozgrzać do 20-25 °C.
2. Rozpuścić zawartość butli 2 w 4 ml wody podwójnie destylowanej.
3. Rozpuścić zawartość jednej z butli 3 w 0,6 ml wody podwójnie destylowanej. Przed użyciem rozgrzać do 20-25 °C.

Stabilność roztworów

Zawartość butli 1 jest stabilna przez co najmniej jeden rok, jeśli jest przechowywana w temperaturze +4 °C; roztwór 2 jest stabilny przez trzy tygodnie, jeśli jest przechowywany w temperaturze +4 °C oraz przez dwa miesiące, jeśli jest przechowywany w temperaturze -20 °C; roztwór 3 jest stabilny przez pięć dni, jeśli jest przechowywany w temperaturze +4 °C.

3. APARATURA

- 3.1. Spektrometr pozwalający na pomiar przy długości fali 340 nm, to jest długości fali, przy której NADH ma maksimum absorpcji. W razie braku można użyć spektrometru ze źródłem nieciągłego widma pozwalającym na pomiary przy długości fali 334 lub 365 nm. Ponieważ uwzględnia się pomiary absolutnej absorpcji (tj. nie zestaw roztworów kalibracyjnych, lecz odniesienie do współczynnika ekstynkcji NADH), należy sprawdzić skalę długości fali oraz spektrum absorpcji.
- 3.2. Szklane kuwety z drogą światła 1 cm (w zależności od preferencji można użyć kuwet jednorazowych).
- 3.3. Mikropipety do pipetowania objętości w zakresie 0,01-2 ml.

4. PRZYGOTOWANIE PRÓBKII

Analizę D-jabłczanu przeprowadza się normalnie bezpośrednio na winie, bez wstępnej dekoloryzacji.

Ilość D-jabłczanu w kuwecie powinna wynosić między 2 a 50 µg. Dlatego wino musi być rozcieńczone w celu otrzymania stężenia D-jabłczanu odpowiednio między 0,02 a 0,5 g/l lub 0,02 a 0,3 g/l (w zależności od używanego aparatu).

Tabela rozcieńczania:

▼ M7

Szacowana ilość D-jabłczanu/litr		Rozcieńczenie z wodą	Czynnik rozcieńczenia F
Mierzone przy:			
340 lub 334 nm	365 nm		
< 0,3 g	< 0,5 g	—	1
0,3 – 3,0 g	0,5 – 5,0 g	1 + 9	10

5. PROCEDURA

Za pomocą spektrometru ustawionego na szerokość fali 340 nm ustalać absorpcję, używając kuwet jednocentymetrowych, używając powietrza do ustawienia absorpcji zero (brak kuwety w ścieżce optycznej) lub używając wody.

Pipeta w kuwetach:

	Odniesienie	Badanie
Roztwór 1	1,00 ml	1,00 ml
Roztwór 2	0,10 ml	0,10 ml
Woda podwójnie destylowana	1,80 ml	1,70 ml
Próbka do pomiaru	-	0,10 ml

Zmieszać i po około sześciu minutach zmierzyć absorpcję roztworów odniesienia i roztworów do badań (A¹).

Dodać:

	Odniesienie	Badanie
Roztwór 3	0,05 ml	0,05 ml

Zmieszać; poczekać na zakończenie reakcji (około 20 minut) i zmierzyć absorpcje roztworu odniesienia i roztworu do badań (A²).

Obliczyć różnice absorpcji (A² - A¹) dla roztworu odniesienia (ΔA^T) i roztworu do badań (ΔA^E). Na zakończenie obliczyć różnicę między tymi różnicami: ΔA = ΔA^E - ΔA^T.

Uwaga: Czas wymagany dla zakończenia działania enzymu może być zróżnicowany w stosunku do różnych partii. Powyższy czas podany jest jedynie jako wskazówka i zaleca się, aby ustalać go dla poszczególnej partii.

Kwas D-jabłkowy reaguje szybko. Enzym przekształca kwas L-winowy, jednak o wiele wolniej. Tłumaczy to niewielką reakcję poboczną, którą można skorygować za pomocą ekstrapolacji (patrz dodatek A).

6. PRZEDSTAWIENIE WYNIKÓW

Ogólny wzór na obliczenie stężenia w mg/l jest następujący:

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

gdzie:

V = objętość roztworu do badań w ml (2,95 ml)

v = objętość próbki w ml (0,1 ml)

PM = masa molekularna substancji, która ma być ustalona (dla kwasu D-jabłkowego PM = 134,09)

d = ścieżka optyczna kuwety w cm (1 cm)

ε = współczynnik absorpcji NADH:

przy 340 nm = 6,3 (1 mmol⁻¹ cm⁻¹)

przy 365 nm = 3,4 (1 mmol⁻¹ cm⁻¹)

przy 334 nm = 6,18 (1 mmol⁻¹ cm⁻¹).

▼ **M7**

Jeżeli próbka została rozcieńczona podczas jej przygotowywania, pomnożyć wynik przez współczynnik rozcieńczania.

Stężenie kwasu D-jabłkowego podaje się w miligramach na litr (mg/l) bez miejsc liczb dziesiętnych.

7. **DOKŁADNOŚĆ**

Dane szczegółowe dotyczące próby międzylaboratoryjnej odnośnie do dokładności metody streszczone są w dodatku B. Wartości otrzymane z próby międzylaboratoryjnej mogą nie być stosowalne do zakresów zagęszczenia analitu oraz parametrów statystycznych innych niż podane w dodatku B.

7.1. **Powtarzalność**

Absolutna różnica między dwoma indywidualnymi wynikami otrzymanymi z identycznych materii poddanych próbie z zastosowaniem tej samej aparatury, w najkrótszych okresach czasu nie przekroczy wartości powtarzalności r w więcej niż 5 % przypadków.

$r=11$ mg/l.

7.2. **Odtwarzalność**

Absolutna różnica między dwoma niezależnymi wynikami otrzymanymi z badania przeprowadzonego na identycznej materii poddanej próbie w dwóch różnych laboratoriach nie przekroczy wartości odtwarzalności R w więcej niż 5 % przypadków.

$R= 20$ mg/l.

▼ **M10**8. **DOZOWANIE KWASU D-JABŁKOWEGO (D(+)-KWAS JABŁKOWY) W WINACH O NISKIM POZIOMIE KWASU D-JABŁKOWEGO**8.1. **ZAKRES ZASTOSOWANIA**

Opisana metoda jest stosowana do dozowania, środkami enzymatycznymi, kwasu D-jabłkowego w winach o poziomie poniżej 50 mg/l.

8.2. **ZASADA**

Zasadę tej metody opisano w pkt 1. Powstawanie NADH po wprowadzeniu do celki 50 mg/l kwasu D-jabłkowego jest proporcjonalne do ilości D-jabłczanu obecnego i jest mierzone na podstawie wzrostu chłonności przy długości fali 340 nm.

8.3. **ODCZYNNIKI**

0,199 g/l roztworu kwas D-jabłkowego plus odczynniki wskazane w pkt 2.

8.4. **APARATURA**

Aparatura określona w pkt 3.

8.5. **PRZYGOTOWANIE PRÓBK**

Jak określono w pkt 4.

8.6. **PROCEDURA**

Procedura jest taka, jaką opisano w pkt 5, ale łącznie z wprowadzeniem do celki pomiarowej 50 mg/l kwasu D-jabłkowego. (Wprowadzenie 0,025 ml roztworu 0,199 g/l kwasu D-jabłkowego, zastępując równoważną ilość wody; uzyskane wartości pomniejsza się o 50 mg/l).

8.7. **WEWNĘTRZNA OCENA**

Poniższa tabela podsumowuje informacje dotyczące wewnętrznej oceny metody określania dozowania kwasu D(+)-jabłkowego po dodaniu 50 mg/l izomeru.

Zakres pomiarowy	0 mg do 70 mg kwasu D- jabłkowego na litr. W tych granicach metoda jest linearna ze współczynnikiem korelacji między 0,990 a 0,994
Limit kwantyfikacji	24,4 mg/l

▼ **M10**

Limit wykrywania	8,3 mg/l
Czułość	0,0015 abs/mg/l
Stopień regeneracji	87,5–115,0 % dla białych win i 75–105 % dla czerwonych win
Powtarzalność	= 12,4 mg/l dla białych win (zgodnie z metodą OIV = 12,5 mg/l) = 12,6 mg/l dla czerwonych win (zgodnie z metodą OIV = 12,7 mg/l)
Współczynnik zmienności	4,2–7,6 % (białe wina i czerwone wina)
Zmienność wewnątrzlaboratoryjna	CV = 7,4 % (s = 4,4 mg/l; średnia = 59,3 mg/l)

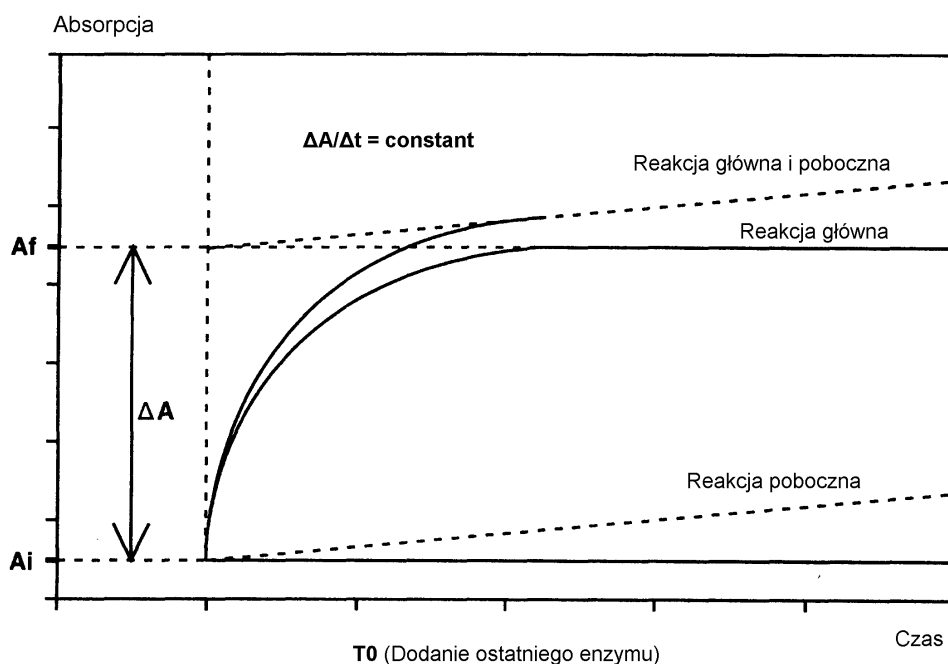
▼ **M7***Dodatek A*

Postępowanie z reakcjami pobocznymi

Reakcje poboczne wynikają zwykle z drugorzędnych reakcji enzymu, obecności innych enzymów w matrycy próbek lub interakcji jednego lub więcej elementów matrycy z kofaktorem reakcji enzymatycznej.

W przypadku normalnej reakcji absorpcja osiąga stałą wartość po pewnym czasie, zwykle po 10–20 minutach, w zależności od szybkości specyficznej reakcji enzymatycznej. Jednakże gdy występują reakcje drugorzędne, absorpcja nie osiąga wartości stałej, ale wzrasta regularnie w przedziale czasowym. Ten rodzaj procesu potocznie nazywa się „reakcją poboczną”.

Gdy występują reakcje poboczne, absorpcję roztworu powinno się mierzyć w regularnych odstępach czasu (co dwie do pięciu minut) po upływie czasu koniecznego, aby roztwór mianowany osiągnął absorpcję końcową. Jeśli absorpcja wzrasta regularnie, należy wykonać pięć lub sześć pomiarów i dokonać ich ekstrapolacji za pomocą wykresu lub obliczenia w celu ustalenia absorpcji, którą można było zaobserwować przy dodaniu ostatniego enzymu (T_0). Stężenie substratu oblicza się na podstawie różnicy w ekstrapolacji absorpcji w tym czasie ($A_f - A_i$).



Rysunek 1. Reakcja poboczna

▼ **M7***Dodatek B*

Rodzaje próbek:

Rok próby międzylaboratoryjnej: 1995

Liczba laboratoriów: 8

Liczba próbek: 5 z dodatkiem kwasu D-jabłkowego

Próbka	A	B	C	D	E
Liczba laboratoriów pozostałych po odrzuceniu laboratoriów wykazujących aberracyjne wyniki	7	8	7	8	7
Liczba laboratoriów wykazujących aberracyjne wyniki	1	—	1	—	1
Liczba przyjętych wyników	35	41	35	41	36
Średnia wartość (\bar{x}) (mg/l)	161,7	65,9	33,1	106,9	111,0
Standardowe odchylenie powtarzalności (sr)(mg/l)	4,53	4,24	1,93	4,36	4,47
Względne odchylenie standardowe powtarzalności (RSDr) (%)	2,8	6,4	5,8	4,1	4,00
Granica powtarzalności (r) (mg/l)	12,7	11,9	5,4	12,2	12,5
Standardowe odchylenie odtwarzalności (sR) (mg/l)	9,26	7,24	5,89	6,36	6,08
Względne odchylenie standardowe odtwarzalności (RSDR) (%)	5,7	11	17,8	5,9	5,5
Granica odtwarzalności (R) (mg/l)	25,9	20,3	16,5	17,8	17,0

Rodzaje próbek:

A: wino czerwone; B: wino czerwone; C: wino białe; D: wino białe; E: wino białe.

**21. CAŁKOWITY KWAS JABŁKOWY**

1. ZASADA

Kwas jabłkowy, rozdzielony za pomocą kolumny anionowymiennej, oznaczany jest kolorymetrycznie w eluacie, poprzez pomiar barwy żółtej, tworzącej się w reakcji z kwasem chromotropowym w obecności stężonego kwasu siarkowego. Poprawka na obecność substancji przeszkadzających dokonywana jest poprzez odjęcie chłonności uzyskanej w reakcji prowadzonej z 86-procentowym kwasem siarkowym i kwasem chromotropowym (kwas jabłkowy nie reaguje przy takim stężeniu kwasu) od chłonności uzyskanej przy użyciu kwasu siarkowego o stężeniu 96 %.

2. APARATURA

- 2.1. Kolumna szklana o długości około 250 mm i średnicy wewnętrznej 35 mm, wyposażona w zawór odwadniający.
- 2.2. Kolumna szklana o długości około 300 mm i średnicy wewnętrznej 10 — 11 mm, wyposażona w zawór odwadniający.
- 2.3. Łaźnia wodna kontrolowana termostatycznie, o temperaturze 100 °C.
- 2.4. Spektrofotometr ustawiony na wykonywanie pomiaru przy 420 nm, z celkami o drodze optycznej 10 mm.

3. ODCZYNNIKI

- 3.1. Silnie zasadowa żywica jonowymienna (np. Merck III).
- 3.2. Wodorotlenek sodu 5 % (m/v).
- 3.3. Kwas octowy 30 % (m/v).
- 3.4. Kwas octowy 0,5 % (m/v).
- 3.5. Siarczan sodu 10 % (m/v).
- 3.6. Stężony kwas siarkowy 95—97 % (m/m).
- 3.7. Kwas siarkowy 86 % (m/m).
- 3.8. Kwas chromotropowy 5 % (m/v).

Przed każdym określeniem przygotować świeży roztwór poprzez rozpuszczenie 500 mg chromotropianu sodu ($C_{10}H_6Na_2O_8S_2 \cdot 2H_2O$) w 10 ml wody destylowanej.

- 3.9. Roztwór kwasu DL-jabłkowego, 0,5 g/l.

Rozpuścić 250 g kwasu jabłkowego ($C_4H_6O_5$) w roztworze (10 %) siarczanu sodu, uzupełnić do 500 ml roztworem (10 %) siarczanu sodu (3.5).

4. PROCEDURA

4.1. Przygotowanie żywicy jonowymiennej

Umieścić zatyczkę z waty nasączonej wodą destylowaną na dnie kolumny (35 × 250 mm), nad zaworem. Do szklanej kolumny włąć zawieszinę żywicy anionowymiennej. Poziom cieczy powinien znajdować się 50 mm ponad warstwą żywicy. Przepłukać 1000 ml wody destylowanej. Następnie przemyć roztworem (5 %) wodorotlenku sodu, sączyć roztwór przez kolumnę do chwili, gdy górny poziom cieczy w kolumnie znajdzie się 2-3 mm nad złożem żywicy i dwukrotnie powtórzyć przemywanie 5-procentowym wodorotlenkiem sodu, pozostawić na godzinę. Przemyć kolumnę za pomocą 1000 ml wody destylowanej. Napęlnić kolumnę kwasem octowym (30 %), sączyć roztwór przez kolumnę do chwili, gdy górny poziom cieczy w kolumnie znajdzie się 2—3 mm nad złożem żywicy i dwukrotnie powtórzyć przemywanie kwasem octowym (30 %). Pozostawić na co najmniej 24 godziny przed użyciem. Do następnej analizy pozostawić kolumnę zalaną kwasem octowym (30 %).

4.2. Przygotowanie kolumny jonowymiennej

Na dnie kolumny (11 × 300 mm), nad zaworem umieścić zatyczkę z waty. Włąć zawieszinę żywicy jonowymiennej (przygotowanej jak w ppkt 4.1) do wysokości 10 cm. Otworzyć kran i pozwolić spływać roztworowi kwasu octowego (30 %) do chwili, gdy górny poziom cieczy w kolumnie znajdzie się 2—3 mm nad złożem żywicy. Przemywać 50-mililitrowymi porcjami kwasu octowego (0,5 %).

▼ **B**4.3. **Separacja kwasu DL-jabłkowego**

Nanieść na kolumnę (przygotowaną w ppkt 4.2) 10 ml wina lub moszczu. Sączyć próbkę przez kolumnę z taką prędkością, aby z kolumny wypływały pojedyncze krople (średnia prędkość jedna kropla na sekundę) i zamknąć kran w chwili, gdy górny poziom cieczy znajdzie się 2—3 mm nad złożem żywicy. Przemyc kolumnę za pomocą 50 ml kwasu octowego (0,5 %), a następnie 50 ml wody destylowanej i sączyć ciecz przez kolumnę z poprzednią prędkością, zatrzymując przepływ, gdy górny poziom cieczy znajdzie się 2—3 mm nad złożem żywicy.

Kwasy wchłonięte przez żywicę jonowymienną eluować 10-procentowym roztworem siarczanu sodu (3.5). Zbierać eluat w kolbie miarowej na 100 ml.

Kolumnę można zregenerować, stosując procedurę opisaną w ppkt 4.1.

4.4. **Oznaczanie kwasu jabłkowego**

Dwie próbówki z szeroką szyjką na 30 ml (z doszlifowanym korkiem) oznaczyć jako A i B. Do każdej próbówki wprowadzić 1,0 ml eluatu (4.3) i 1 ml kwasu chromotropowego (5 %). Dodać 10 ml kwasu siarkowego (86 %) (odniesienie) do próbówki A i 10 ml kwasu siarkowego (96 %) do próbówki B (próbka). Zamknąć korkiem i wymieszać przez wytrząsanie, uważając, aby nie zamoczyć korka. Zanurzyć próbówki we wrzącej łaźni wodnej dokładnie na 10 minut. Probówki schłodzić w ciemności w temperaturze 20 °C dokładnie przez 90 minut. Niezwłocznie zmierzyć chłonność badanej próbki w stosunku do próbki odniesienia przy 420 nm w celkach o drodze optycznej 10 mm.

4.5. **Wykreślanie krzywej odwzorowania**

Do czterech kolb miarowych na 50 ml odmierzyć pipetą odpowiednio 5,0, 10,0, 15,0 i 20 ml części podwielokrotnych. Uzupełnić do kreski roztworem siarczanu sodu (10 %).

Uzyskane roztwory odpowiadają eluatom otrzymanym z wina zawierającego odpowiednio 0,5, 1, 0, 1,5 i 2,0 g/l kwasu jabłkowego.

Dalej postępować jak w ppkt 4.4.

Wykres chłonności tych roztworów jest funkcją zawartości w nich kwasu jabłkowego, w postaci linii prostej przechodzącej przez początek układu współrzędnych.

Intensywność powstającego zabarwienia w dużym stopniu zależy od mocy użytego kwasu siarkowego, konieczne jest sprawdzanie krzywej wzorcowej przynajmniej w jednym punkcie na serię odczytów, aby sprawdzić, czy stężenie kwasu siarkowego uległo zmianie.

5. **PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW**

Zawartość kwasu jabłkowego w eluacie w g/l odczytuje się, wykorzystując krzywą wzorcową poprzez ekstrapolację zmierzonej wartości chłonności. Wyniki podaje się z dokładnością do jednego miejsca dziesiątego.

Powtarzalność:

Zawartość < 2 g/l:r = 0,1 g/l.

Zawartość > 2 g/l:r = 0,2 g/l.

Odtwarzalność:

R = 0,3 g/l.

**22. KWAS SORBINOWY**

1. ZASADA METOD

1.1. **Oznaczanie metodą spektrofotometrii absorpcji w ultrafiolecie**

Kwas sorbinowy (kwas *trans, trans*, 2,4-heksadienowy,), wydzielony metodą destylacji parowej jest oznaczany w destylacie wina metodą spektrofotometrii w ultrafiolecie. Substancje, które zakłócają pomiar w ultrafiolecie, usuwa się poprzez odparowanie do sucha z zastosowaniem lekko alkalicznego wodorotlenku wapnia. Do potwierdzenia wyniku przy zawartości kwasu sorbinowego w ilości poniżej 20 mg/l, (1 mg/l) stosuje się chromatografię cienkowarstwową.

1.2. **Oznaczanie metodą chromatografii gazowej**

Kwas sorbinowy, wyłączony w eterze etylowym, oznaczany jest metodą chromatografii gazowej z wzorcem wewnętrznym.

1.3. **Wykrywanie ilości śladowych metodą chromatografii cienkowarstwowej**

Kwas sorbinowy, wyłączony w eterze etylowym, jest separowany metodą chromatografii cienkowarstwowej, a jego zawartość jest oznaczana półilościowo.

2. OZNACZANIE METODĄ SPEKTROFOTOMETRII W ULTRAFIOLECIE

2.1. **odczynniki**2.1.1. Krystaliczny kwas winowy, $C_4H_6O_6$.2.1.2. Wodorotlenek wapnia, $Ca(OH)_2$, roztwór około 0,02 M.

2.1.3. Wzorcowy roztwór kwasu sorbinowego, 20 mg/l:

Rozpuścić 20 mg kwasu sorbinowego, $C_6H_8O_2$ w około 2 ml 0,1 M roztworu wodorotlenku sodu. Przenieść do kolby miarowej na 1000 ml i uzupełnić wodą do kreski. Można również rozpuścić 26,8 mg sorbinianu potasu, $C_6H_7KO_2$ w wodzie i uzupełnić wodą do 1000 ml.

2.2. **Aparatura**

2.2.1. Aparatura do destylacji parowej (patrz rozdział „Kwasowość lotna”).

2.2.2. Łaźnia wodna o temperaturze 100 °C.

2.2.3. Spektrofotometr umożliwiający pomiar chłonności przy 256 nm, wyposażony w celki o drodze optycznej 1 cm.

2.3. **Procedura**2.3.1. *Destylacja*

W kolbie aparatu do destylacji z parą wodną umieścić 10 ml wina i dodać 1—2 g kwasu winowego (2.1.1). Zebrać 250 ml destylatu.

2.3.2. *Przygotowanie krzywej odwzorowania*

Przygotować, rozcieńczając roztwór wzorcowy (2.1.3), cztery rozcieńczone roztwory wzorcowe, zawierające odpowiednio 0,5, 1, 0, 2,5 i 5 mg kwasu sorbinowego w litrze. Zmierzyć chłonność roz tworów za pomocą spektrofotometru przy 256 nm z wodą destylowaną jako próbą ślepą. Wykre- ślić krzywą obrazującą zróżnicowanie chłonności jako funkcję stężenia. Zależność ta jest liniowa.

2.3.3. *Oznaczanie*

W parownicy o średnicy 55 mm umieścić 5 ml destylatu, dodać 1 ml roztworu wodorotlenku wapnia (2.1.2). Odparować do sucha na łaźni wodnej.

Pozostałość rozpuścić w kilku mililitrach wody destylowanej, przenieść w całości do kolby miarowej o pojemności 20 ml i uzupełnić do kreski wodą do płukania. Zmierzyć chłonność przy 256 nm, używając spektrofotometru w stosunku do próby ślepej składającej się z roztworu otrzymanego przez rozcieńczenie wodą 1 ml roztworu wodorotlenku wapnia (2.1.2) do objętości 20 ml.

Znaleźć zmierzoną wartość chłonności na krzywej odwzorowania i odczytać zawartość *C* kwasu sorbinowego w roztworze.

Uwaga: W tej metodzie można pominąć straty następujące w wyniku odparowania i dokonać pomiaru chłonności w poddanym obróbce destylacie, rozcieńczonym o 1/4 wodą destylowaną.

▼ **B**2.4. **Przedstawianie wyników**2.4.1. *Obliczanie*

Zawartość kwasu sorbinowego w winie, wyrażana w mg na litr, wynosi $100 \times C$

gdzie C = zawartość kwasu sorbinowego w roztworze, którego użyto do pomiaru spektrofotometrycznego, wyrażona w mg na litr.

3. OZNACZANIE METODĄ CHROMATOGRAFII GAZOWEJ

3.1. **Odczynniki**

3.1.1. Eter etylowy, $(C_2H_5)_2O$, destylowany przed użyciem.

3.1.2. Roztwór wzorca wewnętrznego: roztwór kwasu undekanowego, $C_{11}H_{22}O_2$ w 95 % obj. alkoholu etylowego o stężeniu 1 g/l.

3.1.3. Roztwór wodny kwasu siarkowego, H_2SO_4 , ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml), rozcieńczony w stosunku 1:3 (v/v).

3.2. **Aparatura**

3.2.1. Chromatograf gazowy wyposażony w detektor płomieniowo-jonizacyjny i kolumnę ze stali kwasoodpornej (4 m \times 1/8 cala), poddana uprzednio obróbce dimetylodichlorosilanem i z fazą stacjonarną składającą się z mieszaniny bursztynianu glikolu dietylenowego (5 %) i kwasu fosforowego (1 %) (DEGS — H_3PO_4) lub mieszaniny adypinianu glikolu dietylenowego (7 %) i kwasu fosforowego (1 %) (DEGA — H_3PO_4) osadzoną na nośniku Gaschrom Q 80—100 mesh.

Obróbka kolumny za pomocą DMDCS — przepuścić przez kolumnę roztwór zawierający 2—3 g DMDCS w toluenie. Natychmiast przemyć metanolem i przepłukać azotem, następnie przemyć heksanem i ponownie przepłukać większą ilością azotu. Kolumna jest teraz gotowa do wypełniania.

Warunki działania:

Temperatura pieca: 175 °C.

Temperatura wtryskiwacza i czujnika: 230 °C.

Gaz nośny: azot (szybkość przepływu = 200 ml/min).

3.2.2. Mikrostrzykawka, pojemność 10 μ l, skalowana co 0,1 μ l.

Uwaga: Można wykorzystać inne rodzaje kolumn, dające dobrą separację, szczególnie kolumny kapilarne (np. FFAP). Metoda oznaczania podana jest jako przykład.

3.3. **Procedura**3.3.1. *Przygotowanie próbki do analizy*

Do szklanej probówki o objętości około 40 ml i zamykanej korkiem szklanym ze szlifem odmierzyć 20 ml wina, dodać 2 ml roztworu wzorca wewnętrznego (3.1.2) i 1 ml rozcieńczonego kwasu siarkowego (3.1.3).

Po zmieszaniu roztworów poprzez kilkakrotne odwracanie probówki dnem do góry dodać 10 ml eteru etylowego (3.1.1). Wyłączyć kwas sorbinowy do fazy organicznej, wstrząsając probówką przez 5 minut. Pozostawić do osadzenia.

3.3.2. *Przygotowanie roztworu wzorcowego*

Wybrać wino, którego chromatogram ekstraktu eterowego nie wykazuje piku odpowiadającego kwasowi sorbinowemu. Do tego wina dodać kwas sorbinowy w ilości 100 mg na litr. 20 ml tak przygotowanej próbki poddać obróbce zgodnie z procedurą określoną w ppkt 3.3.1.

3.3.3. *Chromatografia*

Za pomocą mikrostrzykawki wprowadzić do chromatografu kolejno 2 μ l fazy ekstraktu eterowego otrzymanej w ppkt 3.3.2 i 2 μ l fazy ekstraktu eterowego otrzymanej w ppkt 3.3.1.

Zapisać odpowiednie chromatogramy: sprawdzić zgodność czasów retencji kwasu sorbinowego i wzorca wewnętrznego. Zmierzyć wysokość (lub powierzchnię) każdego zarejestrowanego piku.

▼ B**3.4. Przedstawianie wyników****3.4.1. Obliczanie**

Zawartość kwasu sorbinowego w analizowanym winie, wyrażana w mg na litr, wynosi:

$$100 \times \frac{h}{H} \times \frac{I}{i}$$

gdzie:

H = wysokość pików kwasu sorbinowego w roztworze wzorcowym

h = wysokość pików kwasu sorbinowego w analizowanej próbce

I = wysokość pików wzorca wewnętrznego w roztworze wzorcowym

i = wysokość pików wzorca wewnętrznego w analizowanej próbce

Uwaga: Zawartość kwasu sorbinowego można obliczyć w podobny sposób, wykorzystując powierzchnie odpowiednich pików.

4. IDENTYFIKACJA ŚLADOWYCH ILOŚCI KWASU SORBINO-WEGO METODĄ CHROMATOLOGRAFII CIENKOWARSTWOWEJ**4.1. Odczynniki**

4.1.1. Eter etylowy (C₂H₅)₂O.

4.1.2. Roztwór wodny kwasu siarkowego, H₂SO₄ (ρ₂₀ = 1,84 g/ml), rozcieńczony w stosunku 1:3 (v/v).

4.1.3. Roztwór wzorcowy kwasu sorbinowego w około 10-procentowym obj. roztworze etanolu w wodzie, zawierający 20 mg kwasu w litrze.

4.1.4. Faza ruchoma: heksan—pentan—kwas octowy (20:20:3) (C₆H₁₄/C₅H₁₂/CH₃COOH, ρ₂₀ = 1,05 g/ml).

4.2. Aparatura

4.2.1. Gotowe płytki do chromatografii cienkowarstwowej 20 × 20 cm, pokryte żelalem poliamidowym (grubość warstwy 0,15 mm) z dodatkiem wskaźnika fluorescencyjnego.

4.2.2. Celka do chromatografii cienkowarstwowej.

4.2.3. Mikropipety lub mikrostrzykawki do nanoszenia objętości 5 μl z dokładnością ± 0, 1 μl.

4.2.4. Lampa UV (254 nm).

4.3. Procedura**4.3.1. Przygotowanie próbki do analizy**

Do szklanej probówki o pojemności około 25 ml, zaopatrzonej w doszlifowany korek odmierzyć 10 ml wina, dodać 1 ml rozcieńczonego kwasu siarkowego (4.1.2) i 5 ml eteru etylowego (4.1.2). Zmieszać poprzez kilkakrotne odwracanie probówki dnem do góry. Pozostawić do rozdzielenia faz.

4.3.2. Przygotowanie rozcieńczonego roztworu wzorcowego

Przygotować pięć rozcieńczonych roztworów wzorcowych z roztworu 4.1.3, zawierających 2, 4, 6, 8 i 10 mg kwasu sorbinowego w litrze.

4.3.3. Chromatografia

Używając mikropipety lub mikrostrzykawki, umieścić 5 μl fazy eterowej otrzymanej w ppkt 4.3.1. i 5 μl każdego z rozcieńczonych roztworów wzorcowych (4.3.2) w punkcie oddalonych o 2 cm od dolnej krawędzi płytki i 2 cm od siebie nawzajem.

Do komory chromatograficznej wlać fazę ruchomą (4.1.4) do wysokości około 0,5 cm i pozostawić do nasycenia celki parami rozpuszczalnika. Umieścić płytkę w komorze. Rozwijać chromatogram na drodze 12-15 cm (czas rozwijania około 30 minut). Wysuszyć płytkę w strumieniu chłodnego powietrza. Obejrzeć chromatogram pod promiennikiem nadfioletu przy 254 nm.

Plamy wskazujące na obecność kwasu sorbinowego będą miały barwę ciemnofioletową na żółtym fluorescencyjnym tle płytki.

▼B**4.4. Przedstawianie wyników**

Półilościowe oznaczenie kwasu sorbinowego w stężeniu 2-10 mg na litr jest dokonywane poprzez porównanie natężenia barwy plam uzyskanych w wyniku rozdziału próbki z intensywnością plam roztworów wzorcowych. Stężenie 1 mg na litr można oznaczyć, nanosząc na płytkę 10 µl roztworu badanej próbki.

Kwas sorbinowy w stężeniu powyżej 10 mg na litr można oznaczyć, nanosząc na płytkę mniej niż 5 µl roztworu badanej próbki (odmierzonego mikrostrzykawką).

▼B

23. KWAS L-ASKORBINOWY

1. ZASADA METOD

Proponowane metody umożliwiają oznaczenie kwasu L-askorbinowego i kwasu dehydroaskorbinowego obecnego w winie lub moszczu.

1.1. Metoda porównawcza (fluorymetryczna)

Kwas L-askorbinowy jest utleniany na węglu aktywnym do kwasu dehydroaskorbinowego. Ten ostatni daje związek fluorescencyjny w reakcji z ortofenylenodiaminą. Badanie kontrolne w obecności kwasu borowego umożliwia oznaczenie fluorescencji zakłócającej (poprzez wytworzenie kompleksu kwasu borowego z kwasem dehydroaskorbinowym) i odjęcie wyniku uzyskanego w tej próbie od wyniku oznaczania.

1.2. Metoda zwykła (kolorymetryczna)

Kwas L-askorbinowy jest utleniany za pomocą jodu do kwasu dehydroaskorbinowego, który jest następnie wytrącany przy użyciu 2,4-dinitrofenylohydrazyny, tworząc bis (2,4-dinitrofenylohydrazon). Po rozdziale metodą chromatografii cienkowarstwowej i rozpuszczeniu w środowisku kwasu octowego pochodna o barwie czerwonej jest oznaczana spektrofotometrycznie przy 500 nm.

2. METODA PORÓWNAWCZA (metoda fluorymetryczna)

2.1. Odczynniki

2.1.1. Roztwór dichlorowodoru ortofenylenodiaminy, $C_6H_{10}Cl_2N_2$, 0,02 g w 100 ml, przygotowany bezpośrednio przed użyciem.

2.1.2. Roztwór trójwodnego octanu sodu, $CH_3COONa \cdot 3 H_2O$, 500 g/litr.

2.1.3. Roztwór kwasu borowego i octanu sodu:

Rozpuścić 3 g kwasu borowego, H_3BO_3 w 100 ml roztworu octanu sodu (2.1.2). Roztwór ten przygotować bezpośrednio przed użyciem.

2.1.4. Roztwór lodowatego kwasu octowego, CH_3COOH ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml), rozcieńczony do 56 % (v/v) o pH około 1,2.

2.1.5. Roztwór wzorcowy kwasu L-askorbinowego, 1 g/l:

Bepośrednio przed użyciem rozpuścić 50 mg kwasu L-askorbinowego, $C_6H_8O_6$, osuszonego uprzednio w eksykatorze zabezpieczonym przed dostępem światła, w 50 ml roztworu kwasu octowego (2.1.4).

2.1.6. Bardzo czysty węgiel aktywny ⁽¹⁾

Do 2-litrowej kolby stożkowej odważyć 100 g węgla aktywnego i dodać 500 ml 10-procentowego (v/v) roztworu kwasu solnego (HCl) ($\rho_{20} = 1,19$ g/ml). Doprowadzić do wrzenia, przesączyć przez tygiel o porowatości 3. Tak przygotowany węgiel przenieść do kolby stożkowej o pojemności 2 litrów, dodać 1 litr wody, wstrząsnąć i przefiltrować, używając wypiekanego szkła o porowatości 3. Powtórzyć tę czynność dwukrotnie. Pozostałość umieścić w piecu o kontrolowanej temperaturze 115 ± 5 °C na 12 godzin (przez noc).

2.2. Aparatura

2.2.1. Fluorymetr. Użyć spektrofluorymetra wyposażonego w lampę o ciągłym widmie, nastawionego na minimalny pobór mocy. Na wstępie należy ustalić optymalną długość fali wzbudzenia i emisji dla oznaczenia, są one zależne od używanego sprzętu. Jako wskazówkę należy przyjąć długość fali wzbudzenia około 350 nm i długość fali emisji około 430 nm. Celki o drodze optycznej 1 cm.

2.2.2. Filtr z wypiekanego szkła o porowatości 3.

2.2.3. Probówki (o średnicy około 10 mm).

2.2.4. Pręt do mieszania w probówkach.

2.3. Procedura

2.3.1. *Przygotowanie próbki wina lub moszczu*

Pobrać próbkę wina lub moszczu i rozcieńczyć do 100 ml w kolbie miarowej 56-procentowym roztworem kwasu octowego (2.1.4) w celu uzyskania roztworu o zawartości kwasu L-askorbinowego 0-60 mg/litr. Dokładnie wymieszać zawartość kolby. Dodać 2 g węgla aktyw-

⁽¹⁾ Jedną z nazw handlowych jest „Norite”.

▼ **B**

nego (2.1.6) i odstawić na 15 minut, mieszając od czasu do czasu. Przefiltrować przez zwykłą bibułę filtracyjną, odrzucając kilka pierwszych mililitrów filtratu.

Do dwóch kolb miarowych o pojemności 100 ml wprowadzić 5 ml filtratu, a następnie do pierwszej kolby 5 ml roztworu mieszaniny kwasu borowego i octanu sodu (2.1.3) (próba ślepa), a do drugiej 5 ml roztworu octanu sodu (2.1.2) (próbka). Odstawić na 15 minut, mieszając od czasu do czasu. Uzupełnić do 100 ml wodą destylowaną.

Z każdej kolby pobrać po 2 ml roztworu, dodać 5 ml roztworu ortofenylenodiaminy (2.1.1) i wymieszać; prowadzić reakcję przez około 30 minut do pociemnienia barwy roztworu i przeprowadzić pomiar spektrofluorometryczny.

2.3.2. *Przygotowanie krzywej odwzorowania*

Do trzech kolb miarowych na 100 ml odmierzyć odpowiednio 2, 4 i 6 ml roztworu wzorcowego kwasu L-askorbinowego (2.1.5), uzupełnić do 100 ml roztworem kwasu octowego (2.1.4) i dokładnie wymieszać. Przygotowane w ten sposób roztwory wzorcowe zawierają 2, 4 i 6 mg kwasu L-askorbinowego w 100 ml.

Do każdej kolby dodać 2 g węgla aktywnego (2.1.6) i odstawić na 15 minut, mieszając od czasu do czasu. Przefiltrować przez zwykłą bibułę filtracyjną, odrzucając pierwsze kilka mililitrów filtratu. Odmierzyć 5 ml każdego przesącza do trzech kolb miarowych na 100 ml (pierwsza seria). Powtórzyć czynności, otrzymując drugą serię trzech kolb miarowych. Do każdej z kolb pierwszej serii (odpowiadających próbie ślepej) dodać 5 ml roztworu kwasu borowego i kwasu octowego (2.1.5), a do każdej z kolb drugiej serii dodać 5 ml roztworu octanu sodu (2.1.2).

Odstawić na 15 minut, mieszając od czasu do czasu. Uzupełnić do 100 ml wodą destylowaną. Z każdej kolby pobrać 2 ml roztworu, dodać 5 ml roztworu ortofenylenodiaminy (2.1.1), wymieszać, prowadzić reakcję przez około 30 minut do pociemnienia barwy roztworu i przeprowadzić pomiar spektrofluorometryczny.

2.3.3. *Oznaczanie fluorymetryczne*

Dla każdego roztworu używanego do przygotowania krzywej odwzorowania i dla roztworu badanego ustawić zero na skali pomiarowej, wykorzystując odpowiednią próbkę wzorcową. Następnie zmierzyć natężenie fluorescencji każdego roztworu wzorcowego i badanej próbki.

Wykreślić krzywą odwzorowania, która powinna być linią prostą przechodzącą przez początek. Na tej linii znaleźć wartość odpowiadającą wynikowi pomiaru i na tej podstawie określić zawartość C kwasu L-askorbinowego + kwasu dehydroaskorbinowego w badanym roztworze.

2.3.4. *Przedstawianie wyników*

Zawartość kwasu L-askorbinowego i kwasu dehydroaskorbinowego w winie w mg na litr wynosi $C \times F$, gdzie F oznacza współczynnik rozcieńczenia.

▼ **M8**

▼ **B****24. pH**

1. ZASADA

Mierzona jest różnica potencjału między dwoma elektrodami zanurzonymi w badanej cieczy. Jedna z tych elektrod wykazuje potencjał, który jest funkcją wartości pH cieczy, natomiast druga wykazuje stały i znany potencjał i stanowi elektrodę odniesienia.

2. APARATURA

2.1. Pehometr, wyskalowany w jednostkach pH i umożliwiający pomiar z dokładnością co najmniej $\pm 0,05$ jednostki pH.

2.2. **Elektrody:**

2.2.1. Elektroda szklana, przechowywana w wodzie destylowanej.

2.2.2. Kalomelowa nasycona elektroda odniesienia, przechowywana w nasyconym roztworze chlorku potasu.

2.2.3. Lub elektroda kombinowana, przechowywana w wodzie destylowanej.

3. ODCZYNNIKI

3.1. **Roztwory buforowe**

3.1.1. Nasycony roztwór wodorowinianu potasu, zawierający co najmniej 5,7 g wodorowinianu potasu w litrze ($C_4H_4K_2O_6$) w temperaturze 20 °C. (Roztwór ten można przechowywać do 2 miesięcy, dodając 0,1 g tymolu na 200 ml.)

$$\text{pH: } \begin{cases} 3,57 \text{ w temperaturze } 20 \text{ }^\circ\text{C} \\ 3,56 \text{ w temperaturze } 25 \text{ }^\circ\text{C} \\ 3,55 \text{ w temperaturze } 30 \text{ }^\circ\text{C} \end{cases}$$

3.1.2. Roztwór wodorofalanu potasu, 0,05 M, zawierający 10,211 g wodorofalanu potasu ($C_8H_5K_2O_4$) w litrze w temperaturze 20 °C. (Maksymalny okres przechowywania dwa miesiące.)

$$\text{pH: } \begin{cases} 3,999 \text{ w temperaturze } 15 \text{ }^\circ\text{C} \\ 4,003 \text{ w temperaturze } 20 \text{ }^\circ\text{C} \\ 4,008 \text{ w temperaturze } 25 \text{ }^\circ\text{C} \\ 4,015 \text{ w temperaturze } 30 \text{ }^\circ\text{C} \end{cases}$$

3.1.3. Roztwór zawierający:

fosforan jednopotasowy, KH_2PO_4 ...	3,402 g
fosforan dipotasowy, K_2HPO_4 ...	4,354 g
woda do ...	1 000 ml

(Maksymalny okres przechowywania dwa miesiące.)

$$\text{pH: } \begin{cases} 6,90 \text{ w temperaturze } 15 \text{ }^\circ\text{C} \\ 6,88 \text{ w temperaturze } 20 \text{ }^\circ\text{C} \\ 6,86 \text{ w temperaturze } 25 \text{ }^\circ\text{C} \\ 6,85 \text{ w temperaturze } 30 \text{ }^\circ\text{C} \end{cases}$$

Uwaga: Można użyć buforowych roztworów wzorcowych dostępnych w handlu.

4. PROCEDURA

4.1. **Przygotowanie próbki do analizy**

4.1.1. W przypadku moszczów i win: bezpośrednio użyć moszczu lub wina.

4.1.2. W przypadku rektyfikowanych moszczów zagęszczonych: rozcieńczyć rektyfikowany moszcz zagęszczony wodą do zawartości $25 \pm 0,5$ % (m/m) cukrów ogółem (25° Brix).

Jeżeli P oznacza procentową zawartością (m/m) cukrów ogółem w rektyfikowanym moszczu zagęszczonym, odważyć masę

$$\frac{2500}{P}$$

▼B

i uzupełnić wodą do 100 g. Użyta woda musi mieć przewodność elektryczną poniżej 2 mikrosimensów na centymetr.

4.2. Zerowanie aparatu

Zerowanie należy przeprowadzić przed każdym pomiarem, zgodnie z instrukcją dołączoną do aparatu.

4.3. Kalibracja pehametru

Wyskalować pehametr w temperaturze 20 °C, stosując roztwory buforowe o pH 6,88 i 3,57 i o temperaturze 20 °C.

Do sprawdzenia kalibracji skali użyć roztworu buforowego o pH 4,00 i o temperaturze 20 °C.

4.4. Wykonanie oznaczenia

Zanurzyć elektrodę w badanej próbce, której temperatura powinna wynosić 20—25 °C i możliwie jak najmniej odbiegać od 20 °C. Odczytać wartość pH bezpośrednio ze skali.

Przeprowadzić co najmniej dwa oznaczenia tej samej próbki.

Wynik końcowy stanowi średnią arytmetyczną z dwóch oznaczeń.

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

Wartość pH moszczów, wina lub roztworu rektyfikowanego moszczu zagęszczonego o stężeniu 25 % (m/m) (25° Brix) podawać z dokładnością do dwóch miejsc dziesiętnych.

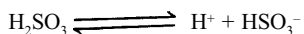
▼B

25. DITLENEK SIARKI

1. DEFINICJE

Wolny ditlenek siarki jest to ditlenek siarki obecny w moszczu lub winie pod następującymi postaciami: H_2SO_3 , HSO_3^- .

Równowaga między tymi dwoma postaciami jest funkcją pH i temperatury:



H_2SO_3 stanowi cząsteczkowy ditlenek siarki.

Całkowity ditlenek siarki jest oznaczany jako wszystkie formy ditlenku siarki obecne w winie, zarówno w stanie wolnym, jak i związane ze składnikami wina.

2. WOLNY I CAŁKOWITY DITLENEK SIARKI

2.1. Zasada Metod

2.1.1. Metoda porównawcza

2.1.1.1. Dla win i moszczów

Ditlenek siarki jest wydzielany z próbki strumieniem powietrza lub azotu; następnie jest wiązany i utleniany poprzez przepuszczanie przez rozcieńczony i obojętny roztwór nadtlenu wodoru. Powstały kwas siarkowy jest oznaczany poprzez miareczkowanie mianowanym roztworem wodorotlenku sodu. Wolny ditlenek siarki jest wydzielany z próbki przez odparowanie w niskiej temperaturze (10 °C).

Całkowity ditlenek siarki jest wydzielany z wina przez odparowanie w wysokiej temperaturze (około 100 °C).

2.1.1.2. Dla rektyfikowanych moszczy zagęszczonych

Całkowity ditlenek siarki ogółem jest wydzielany z uprzednio rozcieńczonego rektyfikowanego moszczu zagęszczonego przez odparowanie w wysokiej temperaturze (około 100 °C).

2.1.2. Szybka metoda oznaczania (dla win i moszczów)

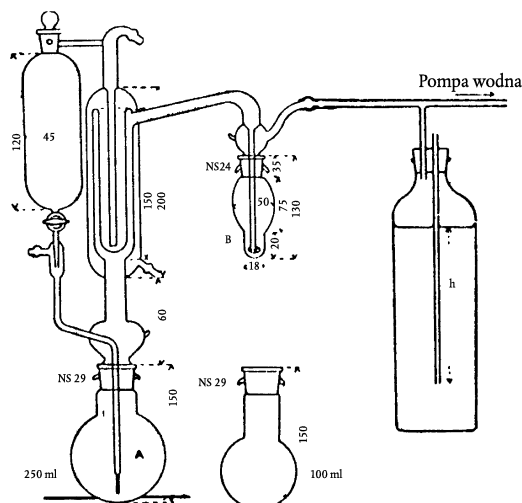
Wolny ditlenek siarki jest oznaczany poprzez bezpośrednie miareczkowanie jodometryczne.

Następnie oznacza się związany ditlenek siarki metodą miareczkowania jodometrycznego, po przeprowadzeniu hydrolyzy alkalicznej. Suma zawartości wolnego i związanego ditlenku siarki stanowi zawartość całkowitego ditlenku siarki ogółem.

2.2. Metoda porównawcza

2.2.1. Aparatura

2.2.1.1. Używany aparat powinien odpowiadać poniżej zamieszczonemu schematowi, ze szczególnym uwzględnieniem skraplacza.



Wymiary podane są w milimetrach. Średnice wewnętrzne czterech koncentrycznych rurek tworzących skraplacz wynoszą 45, 34, 27 i 10 mm.

▼B

Rurka doprowadzająca gaz do barbotera B jest zakończona małą kulką o średnicy 1 cm, posiadającą na poziomym obwodzie 20 otworów o średnicy 0,2 mm. Rurka może być również zakończona płytką ze szkła, który powoduje tworzenie dużej ilości bardzo małych pęcherzyków gazu, przez co zapewnia dobry kontakt fazy ciekłej z gazową.

Przepływ gazu przez aparat powinien wynosić około 40 litrów na godzinę. Butelka umieszczona na schemacie po prawej stronie ma za zadanie ograniczać redukcję ciśnienia powodowaną przez pompkę wodną do 20—30 cm słupa wody. W celu utrzymania próżni na odpowiednim poziomie między barboterem a butelką należy zainstalować przepływomierz z rurkami półkapilarnymi.

2.2.1.2. Mikrobiureta.

2.2.2. *Odczynniki*2.2.2.1. Kwas fosforowy, 85 %, (H_3PO_4 , $\rho_{20} = 1,71$ g/ml).2.2.2.2. Roztwór nadtlenu wodoru, 9,1 g H_2O_2 /litr (trzy objętości).

2.2.2.3. Wskaźnik:

czerwień metylowa ...	100 mg
błękit metylenowy ...	50 mg
alkohol, 50 % obj. ...	100 ml

2.2.2.4. Roztwór wodorotlenku sodu, NaOH, 0,01 M.

2.2.3. *Procedura*

2.2.3.1. Oznaczanie wolnego ditlenku siarki

Wino przed określeniem powinno być przechowywane przez dwa dni w całkowicie napełnionej i zamkniętej butelce w temperaturze 20 °C.

Umieścić 2-3 ml roztworu nadtlenu wodoru (2.2.2.2) i dwie krople wskaźnika w barboterze B, po czym zobojętnić roztwór nadtlenu wodoru za pomocą 0,01 M roztworu wodorotlenku sodu (2.2.2.4). Przyłączyć barboter do aparatu.

Do kolby A aparatu wprowadzić 50 ml próbki i 15 ml kwasu fosforowego (2.2.2.1). Przyłączyć kolbę do aparatu.

Przepuszczać powietrze lub azot przez aparat przez 15 minut. Wolny ditlenek siarki wydzielony z próbki jest utleniany do kwasu siarkowego. Odłączyć barboter od aparatu i miareczkować powstały kwas siarkowy 0,01 M roztworem wodorotlenku sodu (2.2.2.4). *n'* oznacza ilość ml zużytych przy miareczkowaniu.

2.2.3.2. Przedstawianie wyników

Uwolniony ditlenek siarki wyrażać w mg/l, zaokrąglając wynik do najbliższej liczby całkowitej.

2.2.3.2.1. Obliczanie

Zawartość wolnego ditlenku siarki w miligramach na litr wynosi $6,4 n$.

2.2.3.3. Oznaczanie całkowitego ditlenku siarki

2.2.3.3.1. Dla zagęszczonych moszczów rektyfikowanych należy użyć roztworu otrzymanego przez rozcieńczenie badanej próbki do stężenia 40 % (m/v), jak podano w rozdziale „Kwasowość ogólna”, ppkt 5.1.2. Do kolby A aparatu na 250 ml wprowadzić 50 ml badanego roztworu i 5 ml kwasu fosforowego (2.2.2.1). Przyłączyć kolbę do aparatu.

2.2.3.3.2. Wina i moszcze

Jeżeli oczekiwana zawartość SO_2 ogółem w próbce nie jest większa niż 50 mg na litr, do kolby A na 250 ml aparatury odmierzyć 50 ml próbki i 15 ml kwasu fosforowego (2.2.2.1). Przyłączyć kolbę do aparatury.

Jednak najpóźniej do dnia ►M5 31 sierpnia 1996 r. ◀ do analizy zawartości ditlenku siarki w soku gronowym należy używać 5 ml 25 —procentowego roztworu (m/v) kwasu fosforowego (2.2.2.1).

▼ **B**

Jeżeli szacunkowa zawartość SO₂ ogółem w próbce jest większa niż 50 mg na litr, do kolby A aparatu na 100 ml odmierzyć 20 ml próbki i 5 ml kwasu fosforowego (2.2.2.1). Przyłączyć kolbę do aparatu.

Do barbotera B odmierzyć 2—3 ml roztworu nadtlenu wodoru (2.2.2.2), zobojętnionego jak uprzednio, wino w kolbie A doprowadzić do wrzenia za pomocą niewielkiego płomienia o wysokości 4—5 cm, który powinien bezpośrednio dotykać dna kolby. Nie należy umieszczać kolby na płycie metalowej, lecz na krążku z otworem o średnicy około 30 mm. Zapobiega to przegrzaniu substancji wydzielanych z wina, które osadzają się na ściankach kolby.

Utrzymywać próbkę w stanie wrzenia, przepuszczając przez nią strumień powietrza (lub azotu). W ciągu 15 minut następuje wydzielenie z próbki i utlenienie całości ditlenku siarki (wolnego i związanego). Oznaczyć ilość wytworzonego kwasu siarkowego poprzez miareczkowanie 0,01 M roztworem wodorotlenku sodu (2.2.2.4).

n oznacza ilość ml roztworu zużytego do miareczkowania.

2.2.3.4. Przedstawianie wyników

Moszcze i wina: Zawartość ditlenku siarki ogółem wyrazić w mg/l.

Rektyfikowany moszcz zagęszczony: Zawartość ditlenku siarki ogółem wyrazić w mg/kg cukrów ogółem.

2.2.3.4.1. Obliczanie

Dla win:

Zawartość ditlenku siarki ogółem w miligramach na litr:

— próbki o niskiej zawartości ditlenku siarki (objętość badanej próbki 50 ml): $6,4 n$

— pozostałe próbki (objętość badanej próbki 20 ml): $16 n$

Dla zagęszczonych moszczów rektyfikowanych:

Całkowita zawartość ditlenku siarki w miligramach na kilogram cukrów ogółem (objętość badanej próbki 50 ml (2.2.3.3.1)) wynosi:

$$\frac{1600 \times n}{P}$$

gdzie P = procentowa zawartość (m/m) cukrów ogółem

2.2.3.4.2. Powtarzalność (r)

badana próbka 50 ml < 50 mg/l; r = 1 mg/l.

badana próbka 20 ml > 50 mg/l; r = 6 mg/l.

2.2.3.4.3. Odtwarzalność (R)

badana próbka 50 ml < 50 mg/l; R = 9 mg/l.

badana próbka 20 ml > 50 mg/l; R = 15 mg/l.

▼ **M8**▼ **B**

3. CZĄSTECZKOWY DITLENEK SIARKI

3.1. Zasada Metody

Procentowy udział cząsteczkowego ditlenku siarki, H₂SO₃ w wolnym ditlenku siarki oblicza się jako funkcję pH, zawartości alkoholu i temperatury.

Dla danej temperatury i zawartości alkoholu:



$$1) [\text{H}_2\text{SO}_3] = \frac{L}{10^{(\text{pH} - \text{pK}_M) + 1}}$$

gdzie

$$\text{p K}_M = \text{p K}_T - \frac{A\sqrt{I}}{I + B\sqrt{I}}$$

$$L = [\text{H}_2\text{SO}_3] + [\text{HSO}_3^-]$$

gdzie:

▼ **B**

I = siła jonowa,

A i B = współczynniki zależne od temperatury i zawartości alkoholu,

K_T = termodynamiczna stała dysocjacji: wartości K_T dla różnych temperatury i różnej zawartości alkoholu podane są w tabeli 1.

K_M = mieszana stała dysocjacji.

Przyjmując średnią wartość siły jonowej I 0,038, tabela 2 podaje wartości pK_M dla różnej temperatury i zawartości alkoholu.

Zawartość cząsteczkowego ditlenku siarki obliczona na podstawie wzoru 1) podana jest w tabeli 3 dla różnej wartości pH, temperatury i zawartości alkoholu.

3.2. **Obliczanie**

W tabeli 3 podana jest procentowa zawartość cząsteczkowego ditlenku siarki X % dla temperatury $T^{\circ}\text{C}$ obliczona na podstawie znanej wartości pH wina i zawartości alkoholu.

Zawartość cząsteczkowego ditlenku siarki w mg/l wynosi:

$$X \times C$$

gdzie C = zawartość wolnego ditlenku siarki w mg/l.

TABELA 1

Wartości termodynamicznej stałej dysocjacji pK_T

Zawartość alkoholu (% obj.)	°Temperatura (C)				
	20	25	30	35	40
0	1,798	2,000	2,219	2,334	2,493
5	1,897	2,098	2,299	2,397	2,527
10	1,997	2,198	2,394	2,488	2,606
15	2,099	2,301	2,503	2,607	2,728
20	2,203	2,406	2,628	2,754	2,895

TABELA 2

Wartości mieszanej stałej dysocjacji $pK_M(I = 0,038)$

Zawartość alkoholu (% obj.)	°Temperatura (°C)				
	20	25	30	35	40
0	1,723	1,925	2,143	2,257	2,416
5	1,819	2,020	2,220	2,317	2,446
10	1,916	2,116	2,311	2,405	2,522
15	2,014	2,216	2,417	2,520	2,640
20	2,114	2,317	2,538	2,663	2,803

▼B

TABELA 3

Procentowa zawartość cząsteczkowego ditlenku siarki w stosunku do wolnego ditlenku siarki

Cząsteczkowy SO ₂ /wolny SO ₂ (%)	T = 20 °C			I = 0,038	
pH	Zawartość alkoholu (% obj.)				
	0	5	10	15	20
2,8	7,73	9,46	11,55	14,07	17,09
2,9	6,24	7,66	9,40	11,51	14,07
3,0	5,02	6,18	7,61	9,36	11,51
3,1	4,03	4,98	6,14	7,58	9,36
3,2	3,22	3,99	4,94	6,12	7,58
3,3	2,58	3,20	3,98	4,92	6,12
3,4	2,06	2,56	3,18	3,95	4,92
3,5	1,64	2,04	2,54	3,16	3,95
3,6	1,31	1,63	2,03	2,53	3,16
3,7	1,04	1,30	1,62	2,02	2,53
3,8	0,83	1,03	1,29	1,61	2,02
T = 25 °C					
2,8	11,47	14,23	17,15	20,67	24,75
2,9	9,58	11,65	14,12	17,15	22,71
3,0	7,76	9,48	11,55	14,12	17,18
3,1	6,27	7,68	9,40	11,55	14,15
3,2	5,04	6,20	7,61	9,40	11,58
3,3	4,05	4,99	6,14	7,61	9,42
3,4	3,24	4,00	4,94	6,14	7,63
3,5	2,60	3,20	3,97	4,94	6,16
3,6	2,07	2,56	3,18	3,97	4,55
3,7	1,65	2,05	2,54	3,18	3,98
3,8	1,32	1,63	2,03	2,54	3,18
T = 30 °C					
2,8	18,05	20,83	24,49	29,28	35,36
2,9	14,89	17,28	20,48	24,75	30,29
3,0	12,20	14,23	16,98	20,71	25,66
3,1	9,94	11,65	13,98	17,18	21,52
3,2	8,06	9,48	11,44	14,15	17,88
3,3	6,51	7,68	9,30	11,58	14,75
3,4	5,24	6,20	7,53	9,42	12,08
3,5	4,21	4,99	6,08	7,63	9,84
3,6	3,37	4,00	4,89	6,16	7,98
3,7	2,69	3,21	3,92	4,95	6,44
3,8	2,16	2,56	3,14	3,98	5,19
T = 35 °C					
2,8	22,27	24,75	28,71	34,42	42,18
2,9	18,53	20,71	24,24	29,42	36,69
3,0	15,31	17,18	20,26	24,88	31,52
3,1	12,55	14,15	16,79	20,83	26,77
3,2	10,24	11,58	13,82	17,28	22,51
3,3	8,31	9,42	11,30	14,23	18,74
3,4	6,71	7,63	9,19	11,65	15,49

▼**B**

Cząsteczkowy SO ₂ /wolny SO ₂ (%)		T = 20 °C			I = 0,038	
pH	Zawartość alkoholu (% obj.)					
	0	5	10	15	20	
3,5	5,44	6,16	7,44	9,48	12,71	
3,6	4,34	4,95	6,00	7,68	10,36	
3,7	3,48	3,98	4,88	6,20	8,41	
3,8	2,78	3,18	3,87	4,99	6,80	
T = 40 °C						
2,8	29,23	30,68	34,52	40,89	50,14	
2,9	24,70	26,01	29,52	35,47	44,74	
3,0	20,67	21,83	24,96	30,39	38,85	
3,1	17,15	18,16	20,90	25,75	33,54	
3,2	14,12	14,98	17,35	21,60	28,62	
3,3	11,55	12,28	14,29	17,96	24,15	
3,4	9,40	10,00	11,70	14,81	20,19	
3,5	7,61	8,11	9,52	12,13	16,73	
3,6	6,14	6,56	7,71	9,88	13,77	
3,7	4,94	5,28	6,22	8,01	11,25	
3,8	3,97	4,24	5,01	6,47	9,15	

**26. SÓD**

1. ZASADA METODY

1.1. **Metoda porównawcza: spektrofotometria absorpcji atomowej**

Zawartość sodu oznaczana jest bezpośrednio w winie metodą spektrofotometrii absorpcji atomowej po dodaniu czynnika zmniejszającego jonizację (chlerek cezu) w celu przeciwdziałania jonizacji sodu.

1.2. **Metoda zwykła: fotometria płomieniowa**

Zawartość sodu oznaczana jest bezpośrednio w rozcieńczonym (co najmniej 1:10) winie metodą fotometrii płomieniowej.

2. METODA PORÓWNAWCZA

2.1. **Odczynniki**2.1.1. *Roztwór zawierający 1 g sodu w litrze:*

Użyć wzorcowego handlowego roztworu, zawierającego 1 g sodu w litrze. Roztwór ten można sporządzić, rozpuszczając 2,542 g bezwodnego chlorku sodu, NaCl, w wodzie destylowanej i uzupełniając do objętości 1 litra.

Roztwór przechowywać w butelce z polietylenu.

2.1.2. *Matryca (roztwór wzorcowy):*

kwasy cytrynowy $C_6H_8O_7$, H_2O ...	3,5 g
sacharoza $C_{12}H_{22}O_{11}$...	1,5 g
glicerol $C_3H_8O_3$...	5 g
bezwodny chlorek wapnia $CaCl_2$...	50 mg
bezwodny chlorek magnezu $MgCl_2$...	50 mg
alkohol bezwodny C_2H_5OH ...	50 ml
woda dejonizowana do ...	500 ml

2.1.3. *Roztwór chlorku cezu zawierający 5 % cezu:*

rozpuścić 6,330 g chlorku cezu, CsCl, w 100 ml wody destylowanej.

2.2. **Aparatura**

2.2.1. Spektrofotometr absorpcji atomowej wyposażony w palnik powietrzno—acetylenowy.

2.2.2. Lampa sodowa z katodą wnątkową.

2.3. **Procedura**2.3.1. *Przygotowanie próbek*

Przenieść pipetą 25 ml wina do kolby miarowej na 50 ml, dodać 1 ml roztworu chlorku cezu (2.1.3) i uzupełnić do kreski wodą destylowaną.

2.3.2. *Kalibracja*

Umieścić 5,0 ml roztworu wzorcowego w każdej z zestawu kolb miarowych o pojemności 100 ml i dodać odpowiednio 0, 2,5, 5,0, 7, 5 i 10 ml roztworu sodu o stężeniu 1 g/l (2.1.1), rozcieńczonego uprzednio w stosunku 1:100. Do każdej kolby dodać 2 ml roztworu chlorku cezu (2.1.3) i uzupełnić do 100 ml wodą destylowaną.

Przygotowane w ten sposób roztwory wzorcowe zawierają odpowiednio 0, 0,25, 0,50, 0,75 i 1,00 mg sodu na litr i każdy z nich zawiera 1 g chlorku cezu. Roztwory przechowywać w butelkach z polietylenu.

2.3.3. *Oznaczanie*

Ustawić długość fali na 589,0 nm. Ustawić zero na skali chłonności, stosując roztwór modelowy zawierający 1 g cezu w litrze (2.3.2). Do palnika spektrofotometru wprowadzić bezpośrednio rozcieńczone wino, a następnie roztwory wzorcowe (2.3.2). Odczytać chłonność. Powtórzyć każdy pomiar.

▼ B2.4. **Przedstawianie wyników**2.4.1. *Metoda obliczania*

Sporządzić wykres przedstawiający chłonność jako funkcję zawartości sodu w roztworach wzorcowych.

Zapisać chłonność uzyskaną dla rozcieńczonego wina i oznaczyć stężenie sodu C w miligramach na litr.

Stężenie sodu w miligramach na litr wina wynosi $20 C$ i jest wyrażane w zaokrągleniu do liczby całkowitej.

2.4.2. *Powtarzalność (r)*

$$r = 1 + 0,024 x_i \text{ mg/l.}$$

x_i = stężenie sodu w próbce w mg/l.

2.4.3. *Odtwarzalność (R)*

$$R = 2,5 + 0,05 x_i \text{ mg/l.}$$

x_i = stężenie sodu w próbce w mg/l.

▼ M8

▼ **B****27. POTAS**

1. ZASADA METOD

1.1. **Metoda porównawcza**

Zawartość potasu jest oznaczana bezpośrednio w winie metodą spektrofotometrii absorpcji atomowej po dodaniu czynnika hamującego jonizację (chlorek cezu) w celu przeciwdziałania jonizacji potasu.

1.2. **Metoda zwykła**

Zawartość sodu oznacza się bezpośrednio w rozcieńczonym winie metodą fotometrii płomieniowej.

2. METODA PORÓWNAWCZA

2.1. **Odczynniki**2.1.1. *Roztwór zawierający 1 g potasu w litrze:*

Użyć wzorcowego handlowego roztworu zawierającego 1 g potasu w litrze. Roztwór ten można sporządzić, rozpuszczając 4,813 g wodorowinianu potasu ($C_4H_5KO_6$) w wodzie destylowanej i uzupełniając do objętości 1 litra.

2.1.2. *Matryca (roztwór wzorcowy)*

kwasy cytrynowy ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) ...	3,5 g
sacharoza ($C_{12}H_{22}O_{11}$) ...	1,5 g
glicerol ($C_3H_8O_3$) ...	5,0 g
bezwodny chlorek wapnia ($CaCl_2$) ...	50 mg
bezwodny chlorek magnezowy ($MgCl_2$) ...	50 mg
alkohol bezwodny (C_2H_5OH) ...	50 ml
woda do ...	500 ml

2.1.3. *Roztwór chlorku cezu zawierający 5 % cezu:*

rozpuścić 6,33 g chlorku cezu, CsCl, w 100 ml wody destylowanej.

2.2. **Aparatura**

2.2.1. Spektrofotometr absorpcji atomowej wyposażony w palnik powietrzno—acetylenowy.

2.2.2. Lampa potasowa z katodą węgłową.

2.3. **Procedura**2.3.1. *Przygotowanie próbki*

Przenieść pipetą 2,5 ml wina (rozcieńczonego uprzednio w stosunku 1:10) do kolby miarowej na 50 ml, dodać 1 ml roztworu chlorku cezu (2.1.3) i uzupełnić do kreski wodą destylowaną.

2.3.2. *Kalibracja*

Do każdej z pięciu kolb miarowych na 100 ml wprowadzić 5,0 ml roztworu wzorcowego i dodać odpowiednio 0, 2,0, 4,0, 6, 0 i 8,0 ml roztworu potasu o stężeniu 1 g/l (2.1.1) (rozcieńczonego uprzednio w stosunku 1:10). Do każdej kolby dodać 2 ml roztworu chlorku cezu (2.1.3) i uzupełnić do 100 ml wodą destylowaną.

Przygotowane w ten sposób roztwory wzorcowe zawierają odpowiednio 0, 2, 4, 6 i 8 mg potasu na litr i każdy z nich zawiera 1 g chlorku cezu na litr. Roztwory przechowywać w butelkach z polietylenem.

2.3.3. *Oznaczanie*

Ustawić długość fali na 769,9 nm. Ustawić zero na skali chłonności, stosując roztwór wzorcowy zawierający 1 g cezu w litrze (2.3.2). Do palnika spektrofotometru wprowadzić bezpośrednio rozcieńczone wino (2.3.1), a następnie roztwory wzorcowe (2.3.2). Odczytać chłonność. Powtórzyć wszystkie pomiary.

▼ B2.4. **Przedstawianie wyników**2.4.1. *Metoda obliczania*

Sporządzić wykres przedstawiający zróżnicowanie chłonności jako funkcję zawartości potasu w roztworach wzorcowych.

Zapisać oznaczoną wartość chłonności uzyskaną dla próbki rozcieńczonego wina i oznaczyć stężenie potasu C w miligramach na litr.

Stężenie potasu w miligramach na litr wina, wyrażane w zaokrągleniu do liczby całkowitej, wynosi $F \times C$, przy czym F jest współczynnikiem rozcieńczenia (w tym przypadku 200).

2.4.2. *Powtarzalność (r)*

$r = 35$ mg/l.

2.4.3. *Odtwarzalność (R)*

$R = 66$ mg/l.

2.4.4. *Inne sposoby przedstawiania wyników*

W miliekwiwalentach na litr: $0,0256 \times F \times C$.

W miligramach wodorowinianu potasu na litr: $4,813 \times F \times C$.

▼ M8

▼ **B****28. MAGNEZ**

1. ZASADA METODY

Zawartość magnezu oznacza się bezpośrednio w odpowiednio rozcieńczonym winie, metodą spektrofotometrii absorpcji atomowej.

2. ODCZYNNIKI

2.1. **Stężony roztwór mianowany zawierający 1 g magnezu w litrze**

Użyć mianowanego handlowego roztworu magnezu (1 g/l). Roztwór ten można sporządzić, rozpuszczając 8,3646 g chlorku magnezu ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) w wodzie destylowanej i uzupełniając do objętości 1 litra.

2.2. **Rozcieńczony roztwór mianowany zawierający 5 mg magnezu w litrze.**

Uwaga: Roztwory mianowane magnezu przechowywać w butelkach z polietylenu.

3. APARATURA

3.1. Spektrofotometr absorpcji atomowej wyposażony w palnik powietrzno—acetylenowy.

3.2. Lampa magnezowa z katodą wnątkową.

4. PROCEDURA

4.1. **Przygotowanie Próbki**

Rozcieńczyć wino wodą destylowaną w stosunku 1:100.

4.2. **Kalibracja**

Umieścić odpowiednio 5, 10, 15 i 20 ml rozcieńczonego roztworu mianowanego magnezu (2.2) w każdej z czterech kolb miarowych na 100 ml i uzupełnić do 100 ml wodą destylowaną. Przygotowane w ten sposób roztwory mianowane zawierają odpowiednio 0,25, 0,50, 0,75 i 1,0 mg magnezu na litr. Roztwory przechowywać w butelkach z polietylenu.

4.3. **Oznaczanie**

Ustawić długość fali na 285 nm. Ustawić zero na skali chłonności, używając wody destylowanej. Do palnika spektrofotometru wprowadzić bezpośrednio rozcieńczone wino, a następnie roztwory mianowane (4.2).

Odczytać chłonność. Powtórzyć każdy pomiar.

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

5.1. **Metoda Obliczania**

Sporządzić wykres przedstawiający zróżnicowanie jako funkcję zawartości magnezu w roztworach mianowanych. Zapisać średnią wartość chłonności uzyskaną dla próbki rozcieńczonego wina i odczytać zawartość magnezu C w miligramach na litr.

Zawartość magnezu w miligramach na litr wina, wyrażana w zaokrągleniu do liczby całkowitej, wynosi $100 C$.

5.2. **Powtarzalność (r)**

$r = 3$ mg/l.

5.3. **Odtwarzalność (R)**

$R = 8$ mg/l.

▼B

29. WAPŃ

1. ZASADA METODY

Zawartość wapnia oznaczana jest bezpośrednio w odpowiednio rozcieńczonym winie, metodą spektrofotometrii absorpcji atomowej, po dodaniu czynnika zmniejszającego jonizację.

2. ODCZYNNIKI

2.1. **Roztwór mianowany zawierający 1 g wapnia w litrze**

Użyć mianowanego handlowego roztworu wapnia o stężeniu 1 g/l. Roztwór ten można sporządzić, rozpuszczając 2,5 g węglanu wapnia, CaCO_3 , w kwasie solnym rozcieńczonym w stosunku 1:10 (v/v), w ilości pozwalającej na całkowite rozpuszczenie węglanu i uzupełniając wodą destylowaną do objętości jednego litra.

2.2. **Rozcieńczony roztwór mianowany zawierający 50 mg wapnia w litrze**

Uwaga: Roztwory mianowane wapnia przechowywać w butelkach z polietylenu.

2.3. **Roztwór chlorku lantanu zawierający 50 g lantanu w litrze**

Rozpuścić 13,369 g chlorku lantanu, $\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, w wodzie destylowanej; dodać 1 ml HCl rozcieńczonego w stosunku 1:10 (v/v) i uzupełnić do 100 ml.

3. APARATURA

3.1. Spektrofotometr absorpcji atomowej wyposażony w palnik powietrzno—acetylenowy.

3.2. Lampa wapniowa z katodą wnątkową.

4. WYKONANIE OZNACZANIA

4.1. **Przygotowanie próbki**

Umieścić 1 ml wina, 2 ml roztworu chlorku lantanu (2.3) w kolbie miarowej na 20 ml, przenieść i uzupełnić wodą do kreski. Próbka wina rozcieńczonego w stosunku 1:20 zawiera 5 g lantanu w litrze.

Uwaga: Dla win słodkich stężenie 5 g lantanu w litrze jest wystarczające, o ile w wyniku rozcieńczania zawartość cukrów nie spadnie poniżej 2,5 g na litr. W przypadku win o większym stężeniu cukrów należy zwiększyć stężenie lantanu do 10 g na litr.

4.2. **Kalibracja**

Umieścić odpowiednio 0, 5, 10, 15 i 20 ml rozcieńczonego modelowego roztworu wapnia (2.2) w każdej z pięciu kolb miarowych na 100 ml, dodać 10 ml roztworu lantanu (2.3) i uzupełnić do 100 ml wodą destylowaną. Przygotowane w ten sposób roztwory zawierają odpowiednio 0, 2,5, 5,0, 7, 5 i 10 mg wapnia na litr, każdy roztwór zawiera 5 g lantanu na litr. Roztwory przechowywać w butelkach z polietylenu.

4.3. **Oznaczanie**

Ustawić długość fali na 422,7 nm. Ustawić zero na skali chłonności, używając roztworu zawierającego 5 g lantanu na litr (4.2). Do palnika spektrofotometru wprowadzić bezpośrednio rozcieńczone wino, a następnie kolejno pięć roztworów mianowanych (4.2). Odczytać chłonność. Powtórzyć wszystkie pomiary.

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

5.1. **Metoda obliczania**

Sporządzić wykres przedstawiający zróżnicowanie chłonności jako funkcję zawartości wapnia w roztworach mianowanych.

Zapisać średnią wartość chłonności uzyskaną na tym wykresie dla próbki rozcieńczonego wina i odczytać zawartość wapnia C w miligramach na litr. Zawartość wapnia w miligramach na litr wina, wyrażana w zaokrągleniu do liczby całkowitej, wynosi $20 C$.

5.2. **Powtarzalność (r)**

Stężenie $< 60 \text{ mg/l}$: $r = 2,7 \text{ mg/l}$.

Stężenie $> 60 \text{ mg/l}$: $r = 4 \text{ mg/l}$.

▼B5.3. **Odtwarzalność (R)**

$$R = 0,114 x_i - 0,5$$

x_i = zawartość wapnia w próbce w mg/l.

▼ **B****30. ŻELAZO**

1. ZASADA METOD

Metoda porównawcza

Po odpowiednim rozcieńczeniu wina i usunięciu alkoholu zawartość żelaza oznaczana jest bezpośrednio metodą spektrofotometrii absorpcji atomowej.

Metoda zwykła

Po rozpuszczeniu próbki w 30—procentowym roztworze nadtlenku wodoru żelazo ogółem, występujące obecnie w formie Fe(III), zostaje zredukowane do postaci Fe(II) i oznaczone przy użyciu reakcji barwnej z ortofenantroliną.

2. METODA PORÓWNAWCZA

2.1. **Odczynniki**

2.1.1. Stężony roztwór mianowany żelaza zawierający 1 g Fe(III) w litrze.

Użyć mianowanego handlowego roztworu żelaza (1 g/l). Roztwór ten można sporządzić, rozpuszczając 8,6341g siarczanu amonu żelaza ($\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$) w wodzie destylowanej lekko zakwaszonej 1 M kwasu solnego i uzupełnić do jednego litra.

2.1.2. Rozcieńczony roztwór modelowy żelaza zawierający 100 mg żelaza w litrze.

2.2. **Aparatura**

2.2.1. Obrotowy aparat wyparny z łaźnią wodną kontrolowaną termostatem.

2.2.2. Spektrofotometr absorpcji atomowej wyposażony w palnik powietrzno—acetylenowy.

2.2.3. Lampa żelazowa z katodą węgłową.

2.3. **Procedura**

2.3.1. *Przygotowanie próbki*

Usunąć alkohol z wina, zmniejszając objętość próbki o połowę za pomocą obrotowego aparatu wyparnego (temperatura 50—60 °C). Uzupełnić do początkowej objętości wodą destylowaną.

Jeżeli potrzeba, próbkę należy rozcieńczyć przed oznaczaniem.

2.3.2. *Kalibracja*

Umieścić odpowiednio 1, 2, 3, 4 i 5 ml roztworu zawierającego 100 mg żelaza na litr (2.1.2) w każdej z pięciu kolb miarowych na 100 ml i uzupełnić do 100 ml wodą destylowaną. Przygotowane w ten sposób roztwory zawierają odpowiednio 1, 2, 3, 4 i 5 mg żelaza w litrze.

Roztwory przechowywać w butelkach z polietylenu.

2.3.3. *Oznaczanie*

Ustawić długość fali na 248,3 nm. Ustawić zero na skali chłonności w stosunku do wody destylowanej. Do palnika spektrofotometru wprowadzić bezpośrednio rozcieńczoną próbkę, a następnie kolejno pięć roztworów mianowanych (2.3.2). Odczytać chłonność. Powtórzyć wszystkie pomiary.

2.4. **Przedstawianie wyników**

2.4.1. *Metoda obliczenia*

Sporządzić wykres przedstawiający zróżnicowanie chłonności jako funkcję zawartości żelaza w roztworach wzorcowych. Zapisać średnią wartość chłonności uzyskaną na wykresie dla próbki rozcieńczonego wina i oznaczyć zawartość żelaza *C*.

Stężenie żelaza w miligramach na litr wina, z dokładnością do jednego miejsca dziesiątego, wynosi $F \cdot C$, gdzie *F* jest współczynnikiem rozcieńczenia.

▼ **M8**

**31. MIEDŹ**

1. ZASADA METODY

Metoda jest oparta na wykorzystaniu spektrofotometrii absorpcji atomowej.

2. APARATURA

2.1. Naczynie Platynowe.

2.2. Spektrofotometr absorpcji atomowej.

2.3. Lampa miedziana z katodą wnąkową.

2.4. Doprowadzenia gazu: powietrze – acetylen lub podtlenek azotu/acetylen.

3. ODCZYNNIKI

3.1. Miedź Metaliczna.

3.2. Kwas azotowy, HNO₃, o stężeniu 65 %, ρ₂₀ = 1,38 g/ml.

3.3. Kwas azotowy rozcieńczony, 1:2 (v/v).

3.4. Roztwór zawierający miedź w stężeniu 1 g/l.

Użyć handlowego roztworu mianowanego miedzi. Roztwór ten można sporządzić, odważając 1,000 g metalicznej miedzi i przenosząc ją bez ubytków do kolby miarowej o pojemności 1000 ml. Dodać kwasu azotowego rozcieńczonego w stosunku 1:2 (v/v) (3.3) w ilości wystarczającej do rozpuszczenia metalu, dodać 10 ml stężonego kwasu azotowego (3.2) i uzupełnić do kreski wodą destylowaną.

3.5. Roztwór zawierający miedź w stężeniu 100 mg/l.

Do kolby miarowej na 100 ml przenieść 10 ml roztworu przygotowanego jak w ppkt 3.4 i uzupełnić do kreski wodą podwójnie destylowaną.

4. WYKONANIE OZNACZANIA

4.1. **Przygotowanie próbki i oznaczenie zawartości miedzi**

Jeżeli potrzeba, sporządzić odpowiednio rozcieńczony roztwór, używając wody podwójnie destylowanej.

4.2. **Kalibracja**

Do kolb miarowych na 100 ml przenieść pipetą odpowiednio 0,5, 1, i 2 ml roztworu 3.5 (100 mg miedzi w litrze) i uzupełnić do kreski wodą podwójnie destylowaną; przygotowane w ten sposób roztwory zawierają odpowiednio 0,5, 1 i 2 mg miedzi w litrze.

4.3. Pomiary chłonności wykonywać przy 324,8 nm. Ustawić zera na skali chłonności w stosunku do wody podwójnie destylowanej. Wykonać kolejno bezpośrednie pomiary chłonności roztworów mianowanych przygotowanych w ppkt 4.2. Przeprowadzić dwa równoległe oznaczenia.

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

5.1. **Metoda obliczania**

Sporządzić wykres przedstawiający zróżnicowanie chłonności jako funkcję stężenia miedzi w roztworach mianowanych.

Wykorzystując zmierzoną chłonność badanej próbki, odczytać z krzywej odwzorowania zawartość miedzi C w mg/l.

Jeżeli F jest współczynnikiem rozcieńczenia, stężenie miedzi, podawane w miligramach na litr z dokładnością do dwóch miejsc dziesiętnych, wynosi $F \times C$.

Uwagi:

a) Stężenia roztworów do wyznaczenia krzywej odwzorowania i rozcieńczenie próbki należy właściwie dobrać do czułości używanego aparatu i zawartości miedzi obecnej w próbce.

b) Jeżeli w badanej próbce oczekiwane stężenie miedzi jest bardzo niskie, należy postępować następująco: Umieścić 100 ml próbki w naczyniu platynowym i odparować na łaźni wodnej o temperaturze 100 °C do uzyskania syropu. Dodać 2,5 ml stężonego kwasu azotowego kropla po kropli (3.2), całkowicie pokrywając cieczą dno

▼B

naczynia. Ostrożnie spopielić pozostałość na elektrycznej płytce grzejnej lub w niskim płomieniu palnika; następnie umieścić naczynie w piecu mufowym o temperaturze 500 ± 25 °C i pozostawić na około 1 godzinę. Po schłodzeniu zwilżyć popiół 1 ml stężonego kwasu azotowego (3.2), rozkruszając próbkę szklaną bagietką; pozostawić mieszaninę do odparowania i spopielić jak uprzednio. Umieścić naczynie ponownie w piecu mufowym na 15 minut; powtórzyć obróbkę kwasem azotowym co najmniej trzykrotnie. Rozpuścić popiół, dodając do naczynia 1 ml stężonego kwasu azotowego (3.2) i 2 ml wody podwójnie destylowanej i przenieść do kolby na 10 ml. Przebrać naczynie trzykrotnie, za każdym razem używając 2 ml wody podwójnie destylowanej. Na koniec uzupełnić do kreski wodą podwójnie destylowaną.

**32. KADM**

1. ZASADA

Zawartość kadmu oznaczana jest bezpośrednio w winie metodą bezplamieniowej spektrofotometrii absorpcji atomowej.

2. APARATURA

Całe szkło laboratoryjne należy przed użyciem umyć w stężonym kwasie azotowym podgrzanym do temperatury 70 — 80 °C i spłukać wodą podwójnie destylowaną.

2.1. Spektrofotometr absorpcji atomowej wyposażony w piec grafitowy, korekcję tła i multipotencjometr.

2.2. Lampa kadmowa z katodą wnątkową.

2.3. Mikropipety na 5 µl ze specjalnymi końcówkami do pomiarów metodą absorpcji atomowej.

3. ODCZYNNIKI

Używana woda musi być podwójnie destylowana w aparacie ze szkła borokrzemianowego, można użyć wody o podobnej czystości. Wszystkie odczynniki muszą posiadać uznany stopień czystości analitycznej i, w szczególności, nie zawierać kadmu.

3.1. 85—procentowy kwas fosforowy ($\rho_{20} = 1,71$ g/ml).

3.2. Roztwór kwasu fosforowego, otrzymany przez rozcieńczenie 8 ml kwasu fosforowego wodą do 100 ml.

3.3. A 0,02 M roztwór soli disodowej kwasu etylenodwuaminocteroocowego (EDTA).

3.4. Roztwór buforowy o pH 9: w kolbie miarowej na 100 ml rozpuścić 5,4 g chlorku amonowego w kilku mililitrach wody, dodać 35 ml roztworu wodorotlenku amonowego ($\rho_{20} = 0,92$ g/ml), rozcieńczonego do 25 % (v/v) i uzupełnić wodą do 100 ml.

3.5. Czerń eriochromowa T: 1—procentowy (m/m) suchy roztwór w chlorku sodu.

3.6. Siarczan kadmu ($\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$).

Miano roztworu siarczanu kadmu należy sprawdzić w następujący sposób:

Do cylindrycznego naczynia z pewną ilością wody odważyć dokładnie 102,6 mg siarczanu kadmu i wstrząsać do rozpuszczenia; dodać 5 ml roztworu buforowego o pH 9 i około 20 mg czerni eriochromowej T. Miareczkować roztworem EDTA do zmiany barwy wskaźnika na niebieską.

Objętość dodanego roztworu EDTA musi być równa 20 ml. Jeżeli zużyta objętość niewiele odbiega od 20 ml, należy odpowiednio skorygować ilość siarczanu kadmu odważanego do przygotowania roztworu wzorcowego.

3.7. Roztwór wzorcowy kadmu o stężeniu 1 g/l.

Użyć handlowego roztworu wzorcowego kadmu. Roztwór ten można sporządzić, rozpuszczając 2,2820 g siarczanu kadmu w wodzie i uzupełniając do 1 litra. Roztwór przechowywać w butelce ze szkła borokrzemianowego z doszlifowanym korkiem.

4. PROCEDURA

4.1. PRZYGOTOWANIE PRÓBK

Rozcieńczyć wino w stosunku 1:2 (v/v) roztworem kwasu fosforowego.

4.2. Przygotowanie skali kalibracji roztworów

Wykorzystując roztwór wzorcowy kadmu, przygotować serię roztworów o mianach odpowiednio 2,5, 5, 10 i 15 µg kadmu w litrze.

4.3. Oznaczenie

4.3.1. Programowanie temperatury pieca (wylącznie jako wskazówka):

Suszenie w temperaturze 100 °C przez 30 sekund

Mineralizacja w temperaturze 900 °C przez 20 sekund

▼ B

Atomizacja w temperaturze 2250 °C przez 2–3 sekundy

Przepływ azotu (gaz płuczący): 6 litrów/minutę

Uwaga: Na koniec procedury podnieść temperaturę do 2700 °C w celu oczyszczenia pieca.

4.3.2. *Pomiary metodą absorpcji atomowej:*

Długość fali ustawić na 228,8 nm. Ustawić zero na skali chłonności w stosunku do wody podwójnie destylowanej. Za pomocą mikropipety wprowadzić do pieca trzy porcje po 5 µl każdego z roztworów w skali kalibracji i roztworu badanej próbki. Zapisać zmierzone chłonności. Obliczyć średnią wartość chłonności na podstawie pomiarów trzech wprowadzonych porcji.

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

5.1. **Metoda obliczania**

Sporządzić wykres przedstawiający krzywą zróżnicowania chłonności jako funkcję stężenia kadmu w roztworach w skali kalibracji. Zróżnicowanie ma charakter liniowy. Znaleźć na krzywej odwzorowania średnią wartość chłonności roztworu badanej próbki i odczytać odpowiadającą jej zawartość kadmu C . Zawartość kadmu w mikrogramach na litr wina wynosi:

2 C .

**33. SREBRO**

1. ZASADA METODY

Metoda oparta jest na zastosowaniu spektrofotometrii absorpcji atomowej po spopieleniu próbki.

2. APARATURA

- 2.1. Naczynie Platynowe.
- 2.2. Łaźnia wodna, kontrolowana termostatycznie do 100 °C.
- 2.3. Piec o kontrolowanej temperaturze 500—525 °C.
- 2.4. Spektrofotometr absorpcji atomowej.
- 2.5. Lampa srebrowa z katodą węgłową.
- 2.6. Gazy zasilające: powietrze, acetylen.

3. ODCZYNNIKI

- 3.1. Azotan Srebra, AgNO₃.
- 3.2. Kwas azotowy, HNO₃, o stężeniu 65 %, ρ₂₀ = 1,38 g/ml.
- 3.3. Kwas azotowy rozcieńczony w stosunku 1:10 (v/v).
- 3.4. Roztwór zawierający 1 g srebra w litrze.
Użyć handlowego roztworu mianowanego srebra.
Roztwór ten można sporządzić, rozpuszczając 1,575 g azotanu srebra w rozcieńczonym kwasie azotowym i uzupełniając do 1000 mililitrów rozcieńczonym kwasem azotowym (3.3).
- 3.5. Roztwór zawierający 10 mg srebra w litrze.
10 ml roztworu przygotowanego jak w ppkt 3.4 rozcieńczyć do 1000 ml rozcieńczonym roztworem kwasu azotowego.

4. PROCEDURA

4.1. Przygotowanie próbki

Umieścić 20 ml próbki w naczyniu platynowym i odparować do sucha na łaźni wodnej. Spopielić próbkę w piecu w temperaturze 500—525 °C. Zwiłżyć biały popiół 1 ml stężonego kwasu azotowego (3.2). Odparować na wrzącej łaźni wodnej, powtórnie dodać 1 ml kwasu azotowego (3.2) i odparować po raz drugi. Dodać 5 ml rozcieńczonego kwasu azotowego (3.3) i lekko ogrzewać do rozpuszczenia.

4.2. Kalibracja

Do sześciu kolb miarowych na 100 ml odmierzyć pipetą odpowiednio 2, 4, 6, 8, 10 oraz 20 ml roztworu 3.5 (10 mg srebra w litrze) i uzupełnić do kreski rozcieńczonym kwasem azotowym (3.3); przygotowane w ten sposób roztwory zawierają odpowiednio 0,20, 0,40, 0,60, 0,80, 1,0 i 2,0 mg srebra w litrze.

- 4.3. Długość fali ustawić na 328,1 nm. Ustawić zero w stosunku do wody podwójnie destylowanej. Wykonać kolejno bezpośrednie pomiary chłonności roztworów mianowanych przygotowanych w ppkt 4.2. Przeprowadzić dwa równoległe oznaczenia.

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

5.1. Metoda obliczania

Sporządzić wykres przedstawiający zróżnicowanie chłonności jako funkcję zawartości srebra w roztworach mianowanych.

Używając zmierzonej chłonności próbki, odczytać z krzywej odwzorowania odpowiadające jej stężenie *C* w mg/l.

Stężenie srebra w winie w miligramach na litr wynosi 0,25 *C*. Wartość ta jest podawana z dokładnością do dwóch miejsc dziesiętnych.

Uwaga: Stężenia roztworów służących do przygotowania krzywej odwzorowania, objętość próbki pobranej do analizy oraz końcowa objętość cieczy powinny być dobrane do czułości używanego aparatu.



34. CYNK

1. ZASADA METODY

Metoda oparta jest na zastosowaniu spektrofotometrii absorpcji atomowej po spopieleniu próbki.

2. ODCZYNNIKI

Woda używana w aparacie ze szkła borokrzemianowego musi być podwójnie destylowana, można użyć wody o podobnej czystości.

2.1. Roztwór mianowany cynku zawierający 1 g cynku w litrze:

użyć handlowego roztworu mianowanego cynku. Roztwór ten można przygotować, rozpuszczając 4,3975 g siarczanu cynku ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) w wodzie i uzupełniając objętość do jednego litra.

2.2. Rozcieńczony roztwór mianowany zawierający 100 mg cynku w litrze.

3. APARATURA

3.1. Obrotowy aparat wyparny z termostatycznie kontrolowaną łaźnią wodną.

3.2. Spektrofotometr absorpcji atomowej z palnikiem powietrzno—acetylenowym.

3.3. Lampa cynkowa z katodą węgłową.

4. PROCEDURA

4.1. Przygotowanie Próbki

Usunąć alkohol ze 100 ml wina, zmniejszając objętość próbki do połowy, używając obrotowego aparatu wyparnego (temperatura 50—60 °C). Uzupełnić do pierwotnej objętości 100 ml za pomocą wody podwójnie destylowanej.

4.2. Kalibracja

Umieścić odpowiednio 0,5, 1, 1,5 i 2 ml roztworu zawierającego 100 mg cynku w litrze (2.2) w czterech kolbach miarowych na 100 ml i uzupełnić do kreski wodą podwójnie destylowaną. Przygotowane w ten sposób roztwory zawierają odpowiednio 0,5, 1, 1,5 i 2 mg cynku w litrze.

4.3. Oznaczanie

Długość fali ustawić na 213,9 nm. Ustawić zero na skali chłonności w stosunku do wody podwójnie destylowanej. Do palnika spektrofotometru wprowadzić bezpośrednio wino, a następnie kolejno cztery roztwory mianowane. Odczytać chłonność. Powtórzyć każdy pomiar.

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

5.1. Metoda Obliczania

Sporządzić wykres przedstawiający zróżnicowanie chłonności jako funkcję zawartości cynku w roztworach mianowanych. Zapisać średnią wartość chłonności uzyskaną z próbki rozcieńczonego wina, odczytaną z wykresu i oznaczyć stężenie cynku z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

**35. OŁÓW**

1. ZASADA

Zawartość ołowiu oznaczana jest bezpośrednio w winie metodą bezplamieniowej spektrofotometrii absorpcji atomowej.

2. APARATURA

Całe szkło laboratoryjne należy przed użyciem umyć w stężonym kwasie azotowym podgrzany do temperatury 70—80 °C i spłukać wodą podwójnie destylowaną.

2.1. Spektrofotometr absorpcji atomowej wyposażony w piec grafitowy, niespecyficzną korektę chłonności i multipotencjometr.

2.2. Lampa ołowiowa z katodą wnątkową.

2.3. Mikropipety na 5 µl ze specjalnymi końcówkami dla pomiarów metodą absorpcji atomowej.

3. ODCZYNNIKI

Wszystkie odczynniki powinny charakteryzować się uznaną czystością analityczną, w szczególności nie zawierać ołowiu. Woda do oznaczeń powinna być podwójnie destylowana w aparacie ze szkła borokrzemianowego, można użyć wody o podobnej czystości.

3.1. 85—procentowy kwas fosforowy ($\rho_{20} = 1,71$ g/ml).

3.2. Roztwór kwasu fosforowego otrzymany przez rozcieńczenie 8 ml kwasu fosforowego wodą do 100 ml.

3.3. Kwas azotowy ($\rho_{20} = 1,38$ g/ml).

3.4. Roztwór ołowiu o stężeniu 1 g w litrze.

Użyć handlowego roztworu mianowanego ołowiu. Roztwór ten można sporządzić, rozpuszczając 1,600 g azotanu ołowiu (II), $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ w kwasie azotowym rozcieńczonym do 1 % (v/v) i uzupełniając do 1 litra. Roztwór przechowywać w butelce ze szkła borokrzemianowego z doszlifowanym korkiem.

4. PROCEDURA

4.1. **Przygotowanie Próbkki**

Rozcieńczyć wino w stosunku 1:2 lub 1:3 roztworem kwasu fosforowego, zależnie od oczekiwanej zawartości ołowiu.

4.2. **Przygotowanie roztworów do kalibracji**

Używając roztworu wzorcowego ołowiu, przygotować serię roztworów o stężeniach odpowiednio 2,5, 5, 10 i 15 µg ołowiu w litrze, poprzez rozcieńczanie wodą podwójnie destylowaną.

4.3. **Oznaczenie**4.3.1. *Programowanie pieca (wyłącznie jako wskazówka):*

Suszenie w temperaturze 100 °C przez 30 sekund

Mineralizacja w temperaturze 900 °C przez 20 sekund

Atomizacja w temperaturze 2250 °C przez 2—3 sekundy

Przepływ azotu (gaz płuczący): 6 litrów/minutę.

Uwaga: Po zakończeniu procedury podnieść temperaturę do 2700 °C w celu oczyszczenia pieca.

4.3.2. *Pomiary*

Długość fali ustawić na 217 nm. Ustawić zero na skali chłonności w stosunku do wody podwójnie destylowanej. Mikropipetą wprowadzić do pieca o zaprogramowanej temperaturze trzy porcje po 5 µl każdego z roztworów do kalibracji i roztworu badanej próbki. Odczytać wartości chłonności. Obliczyć średnią wartość chłonności na podstawie wyników pomiaru trzech porcji.

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

5.1. **Metoda Obliczania**

Sporządzić krzywą zróżnicowania chłonności jako funkcję stężenia ołowiu w skali kalibracji. Zróżnicowanie ma charakter liniowy. Na podstawie średniej wartości chłonności roztworu badanej próbki

▼B

odczytać z krzywej odwzorowania odpowiadającą jej zawartość ołowiu C . Zawartość ołowiu w winie w miligramach na litr jest równa:

$$C \times F$$

gdzie F = współczynnik rozcieńczenia.

▼B

36. FLUORKI

1. ZASADA

Zawartość fluorków w winie, wprowadzonym do roztworu buforowego, jest oznaczana za pomocą elektrody selektywnej z membraną stałą. Zmierzony potencjał jest proporcjonalny do logarytmu aktywności jonów fluorkowych w badanym środowisku, zgodnie z równaniem:

$$1)E = E_0 \pm S \log a_F$$

gdzie

E = potencjał elektrody jonoselektywnej mierzony w stosunku do elektrody odniesienia w badanym środowisku;

E₀ = standardowy potencjał czujnika;

S = nachylenie elektrody jonoselektywnej (współczynnik Nernsta). W temperaturze 25 °C teoretyczne nachylenie wynosi 59,2 mV;

a_F = aktywność jonów fluorkowych w badanym roztworze.

2. APARATURA

2.1. Elektroda z membraną krystaliczną selektywna w stosunku do jonów fluorkowych.

2.2. Elektroda odniesienia (kalomelowa lub Ag/AgCl).

2.3. Miliwołtomierz (pehametr z rozszerzoną skalą miliwoltową), o dokładności odczytu 0,1 mV.

2.4. Mieszadło magnetyczne z płytką izolacyjną, chroniącą badany roztwór przed ciepłem wytwarzanym przez silnik. Naczynie do mieszania roztworu zamykane pokrywką z tworzywa sztucznego (z polietylenu lub podobnego materiału).

2.5. Zlewki z tworzywa sztucznego o pojemności od 30 do 50 ml i butelki z tworzywa sztucznego (z polietylenu lub podobnego materiału).

2.6. Dokładne pipety (pipety skalowane w mikrolitrach lub inne podobne pipety).

3. ODCZYNNIKI

3.1. Roztwór podstawowy fluorku o stężeniu 1 g/l.

Użyć handlowego roztworu mianowanego o stężeniu 1 g/l. Roztwór ten można sporządzić, rozpuszczając 2,210 g fluorku sodu (suszonego od 3 do 4 godzin w temperaturze 105 °C) w wodzie destylowanej. Uzupełnić do 1 litra wodą destylowaną. Roztwór przechowywać w butelce z tworzywa sztucznego.

3.2. Roztwory mianowane fluorku o odpowiednim stężeniu przygotować poprzez rozcieńczenie roztworu podstawowego wodą destylowaną i przechowywać w butelce z tworzywa sztucznego. Roztwory o zawartości fluorku na poziomie mg/l powinny być przygotowywane na bieżąco.

3.3. Roztwór buforowy o pH 5,5:

10 g kwasu trans-1, 2-diaminocykloheksanotetraoctowego (CDTA) dodać do wody (około 50 ml); dodać roztwór zawierający 58 g chlorku sodu i 29,4 g cytrynianu trisodu w 700 ml wody destylowanej. CDTA rozpuszcza się po dodaniu około 6 ml 32-procentowego (m/v) roztworu wodorotlenku sodu.

Na koniec dodać 57 ml kwasu octowego (ρ₂₀ = 1,05 g/ml) i sprawdzić pH do 5,5 za pomocą 32-procentowego roztworu wodorotlenku sodu (około 45 ml). Pozostawić do ostygnięcia i uzupełnić do jednego litra wodą destylowaną.

4. PROCEDURA

Uwaga wstępna:

Należy zwrócić uwagę, aby wszystkie roztwory w trakcie oznaczania wykazywały temperaturę 25 °C (± 1 °C). (Odchylenie o więcej niż 1 °C powoduje zmianę mierzonego potencjału o około 0,2 mV.)

▼ **B**4.1. **Metoda bezpośrednia**

Do zlewki z tworzywa sztucznego przenieść odmierzoną ilość wina i taką samą objętość roztworu buforowego.

Roztwór mieszać w sposób równomierny i łagodny. Gdy wskazówka ustabilizuje się (stabilność jest osiągnięta, gdy wahania potencjału nie przekraczają 0,2–0,3 mV w ciągu trzech minut), odczytać wartość potencjału w mV.

4.2. **Metoda dodawania znanych ilości**

Do roztworu badanej próbki dodać za pomocą mikropipety, przy ciągłym mieszaniu, znaną objętość roztworu mianowanego fluorku. Gdy wskazówka ustabilizuje się, odczytać wartość potencjału w mV.

Stężenie dodawanego roztworu mianowanego ustalić w następujący sposób:

- a) należy dwukrotnie lub trzykrotnie zwiększyć stężenie fluorku w roztworze badanej próbki;
- b) objętość roztworu badanej próbki powinna pozostać praktycznie niezmienną (dopuszczalny przyrost objętości co najwyżej 1 %).

(Spełnienie warunku lit. b) upraszcza obliczanie wyniku, patrz pkt 5).

Przybliżone stężenie roztworu badanej próbki odczytać z krzywej odwzorowania wykreślonej na skali półlogarytmicznej za pomocą roztworów mianowanych fluorku o stężeniu 0,1, 0, 2, 0,5, 1,0 i 2,0 mg/l.

Uwaga: Jeżeli przybliżone stężenie roztworu badanej próbki znajduje się poza zakresem stężeń roztworów mianowanych, próbkę należy rozcieńczyć.

Przykład:

Jeżeli przybliżone stężenie fluorków w roztworze badanej próbki (o objętości 20 ml) wynosi 0,25 mg/l F^- , stężenie musi zostać zwiększone o 0,25 mg/l. W tym celu należy dodać, właściwą pipetą, np. 0,20 ml (= 1 %) roztworu mianowanego zawierającego 25 mg/l F^- lub 0,05 ml roztworu mianowanego o stężeniu 100 mg/l F^- .

5. **OBLICZENIA**

Zawartość fluorku w roztworze badanej próbki w mg/l obliczyć, stosując następujący wzór:

$$C_F = \frac{V_a \times C_a}{V_o} \times \frac{1}{(\text{antilog } \Delta E/S) - 1}$$

C_F = zawartość fluorków w roztworze badanej próbki (mg/l);

C_a = zawartość fluorków w roztworze dodanym (mg/l) do roztworu badanej próbki (V_a);

V_o = początkowa objętość roztworu badanej próbki przed dodaniem roztworu fluorku (ml);

V_a = objętość roztworu badanej próbki po dodaniu roztworu fluorku (ml);

ΔE = różnica potencjałów E_1 i E_2 otrzymana w ppkt 4.1 i 4.2 (mV);

S = nachylenie elektrody w badanym roztworze.

Jeżeli V_a jest bardzo zbliżone do V_o (patrz ppkt 4.2), należy zastosować następujący uproszczony wzór :

$$C_F = C_a \times \frac{1}{(\text{antilog } \Delta E/S) - 1}$$

Uzyskaną wartość należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia, wynikający z dodania do próbki roztworu buforowego.

▼ **B****37. DITLENEK WĘGLA**▼ **M13**

1. ZASADA METODY

▼ **B**1.1. **Metoda Porównawcza**1.1.1. *Wina niemusujące* (nadciśnienie $\text{CO}_2 \leq 0,5 \times 10^5 \text{ Pa}$) ⁽¹⁾

Objętość wina pobranego z próbki jest schładzana do temperatury około 0 °C i mieszana z wodorotlenkiem sodu w ilości wystarczającej do sprowadzenia pH do wartości 10-11. Miareczkowanie wykonuje się za pomocą roztworu kwasu w obecności anhydryz węglanowej. Zawartość ditlenku węgla oblicza się na podstawie objętości kwasu potrzebnego do zmiany pH z 8,6 (postać wodorowęglanowa,) na 4,0 (kwas węglowy). Przeprowadza się próbę ślepą, miareczkując w tych samych warunkach wino pozbawione ditlenku węgla, w celu uwzględnienia ilości wodorotlenku sodu związanego przez kwasy obecne w winie.

1.1.2. *Wina musujące i półmusujące*

Próbka wina do analizy jest schładzana do temperatury bliskiej temperaturze krzepnięcia. Po pobraniu pewnej ilości wina do wykonania próby ślepej po usunięciu ditlenku węgla wino pozostałe w butelce alkalizuje się w celu związania całego ditlenku węgla w formie Na_2CO_3 . Miareczkowanie wykonuje się za pomocą roztworu kwasu w obecności anhydryz węglowej. Zawartość ditlenku węgla oblicza się na podstawie objętości kwasu potrzebnej do zmiany pH z 8,6 (postać wodorowęglanowa) na 4,0 (kwas węglowy). Przeprowadza się próbę ślepą, miareczkując w tych samych warunkach wino pozbawione ditlenku węgla, w celu uwzględnienia ilości wodorotlenku sodu związanego przez kwasy obecne w winie.

▼ **M13**▼ **B**

2. METODA PORÓWNAWCZA

2.1. Wina Niemusujące (nadciśnienie wywołane przez $\text{CO}_2 \leq 0,5 \times 10^5 \text{ Pa}$)2.1.1. *Aparatura*

2.1.1.1. Mieszadło magnetyczne.

2.1.1.2. Pehametr.

2.1.2. *Odczynniki*

2.1.2.1. Roztwór wodorotlenku sodu, NaOH, 0,1 M.

2.1.2.2. Roztwór kwasu siarkowego (VI), H_2SO_4 , 0,05 M.

2.1.2.3. Roztwór anhydryz węglanowej 1g/l.

2.1.3. *Procedura*

Schłodzić wino do temperatury około 0 °C, razem z pipetą na 10 ml, używaną do pobierania próbek.

Umieścić 25 ml roztworu wodorotlenku sodu (2.1.2.1) w zlewce o objętości 100 ml; dodać dwie krople wodnego roztworu anhydryz węglowej (2.1.2.3). Pipetą schłodzoną do temperatury 0 °C wprowadzić 10 ml wina.

Zlewkę umieścić na mieszadle magnetycznym, włożyć elektrodę pehametru i mieszać z umiarkowaną prędkością.

Gdy roztwór osiągnie temperaturę pokojową, miareczkować powoli roztworem kwasu siarkowego (2.1.2.2) do uzyskania wartości pH 8,6. Zapisać ilość użytego kwasu.

Kontynuować miareczkowanie kwasem siarkowym (pkt 2.1.2.2) do uzyskania wartości pH 4,0. Niech n oznacza ilość ml kwasu zużytego na zmianę pH z 8,6 do 4,0.

⁽¹⁾ 10^5 paskala (Pa) = 1 bar.

▼B

Z próbki wina o objętości około 50 ml usunąć CO₂ poprzez wstrząsanie w warunkach próżniowych przez 3 minuty, ogrzewając kolbę na łaźni wodnej do temperatury 25 °C.

Powyższe postępowanie powtórzyć, używając 10 ml wina pozbawionego ditlenku węgla. Niech n' oznacza ilość ml kwasu zużytego w próbie ślepej.

2.1.4. *Przedstawianie wyników*

1 ml odmiareczkowanego 0,1 M roztworu wodorotlenku sodu odpowiada 4,4 mg CO₂.

Ilość CO₂ w gramach na litr wina wynosi:

$$0,44 (n - n')$$

Wartość tę podawać z dokładnością do dwóch miejsc dziesiętnych.

Uwaga: W przypadku gdy wino zawiera niewiele CO₂ (CO₂ < 1 g/l), nie jest konieczne dodawanie anhydryz węglowej w celu katalizowania reakcji hydratacji CO₂.

2.2. **Wina musujące i półmusujące**2.2.1. *Aparatura*

2.2.1.1. Mieszadło magnetyczne.

2.2.1.2. Pehometr.

2.2.2. *Odczynniki*

2.2.2.1. Roztwór wodorotlenku sodu, NaOH, 50 % (m/m).

2.2.2.2. Roztwór kwasu siarkowego, H₂SO₄, 0,05 M.

2.2.2.3. Roztwór anhydryz węglanowej, 1g/l.

2.2.3. *Procedura*

Zaznaczyć poziom wina w butelce, następnie schłodzić do rozpoczęcia zamarzania wina. Ogrzać lekko butelkę, stale wstrząsając, do zniknięcia kryształów lodu. Szybko wyjąć korek i odmierzyć 45—50 ml wina do cylindra miarowego w celu wykonania próby ślepej. Dokładną ilość odmierzonego wina, v ml, odczytać w cylindrze miarowym po sprowadzeniu próbki do temperatury pokojowej.

Niezwłocznie po pobraniu wina do próby ślepej do butelki o pojemności 750 ml dodać 20 ml roztworu wodorotlenku sodu (2.2.2.1).

Odczekać, aż wino osiągnie temperaturę pokojową.

Umieścić 30 ml przegotowanej wody destylowanej i dodać dwie krople roztworu anhydryz węglowej (2.2.2.3) w zlewce o pojemności 100 ml. Dodać 10 ml zalkalizowanego wina. Umieścić zlewkę na mieszadle magnetycznym, włożyć elektrodę i mieszadło i mieszać z umiarkowaną prędkością.

Miareczkować powoli roztworem kwasu siarkowego (2.2.2.2) do osiągnięcia pH 8,6. Zapisać ilość zużytego roztworu kwasu.

Miareczkować dalej powoli kwasem siarkowym (2.2.2.2) do uzyskania wartości pH 4,0. Niech n oznacza ilość ml kwasu zużytego na zmianę pH z 8,6 do 4,0.

Z próbki wina o objętości v ml, pozostawionego do wykonania próby ślepej, usunąć CO₂ poprzez wstrząsanie w warunkach próżniowych przez 3 minuty, ogrzewając kolbę na łaźni wodnej do temperatury 25 °C. Pobrać 10 ml wina pozbawionego ditlenku węgla i dodać 30 ml przegotowanej wody destylowanej, dodać dwie do trzech kropli roztworu wodorotlenku sodu (2.2.2.1), aby sprowadzić pH do wartości 10 — 11. Dalej postępować jak wyżej. Niech n oznacza ilość ml zużytego 0,5 M roztworu kwasu siarkowego.

2.2.4. *Przedstawianie wyników*

1 ml 0,05 M kwasu siarkowego odpowiada 4,4 mg CO₂.

Opóźnić butelkę wina, które zostało zalkalizowane, i oznaczyć początkową objętość wina z dokładnością do 1 ml poprzez napełnienie butelki wodą do zaznaczonej wysokości, niech V oznacza zmierzoną objętość w ml.

Ilość CO₂ w gramach na litr wina wyliczyć według następującego wzoru:

▼ **B**

$$0,44(n - n') \times \frac{(V - v + 20)}{V - v}$$

Wynik podawać z dokładnością do dwóch miejsc dziesiętnych.

2.3. ► **M13** Obliczanie nadciśnienia teoretycznego ◀

Nadciśnienie w temperaturze 20 °C ($P_{\text{aph}_{20}}$), wyrażane w paskalach, oblicza się według wzoru:

$$P_{\text{aph}_{20}} = \frac{Q}{1,951 \times 10^{-5}(0,86 - 0,01 A)(1 - 0,00144 S)} - P_{\text{atm}}$$

gdzie:

Q: zawartość CO₂ w g/l wina,

A: zawartość alkoholu w winie w temperaturze 20 °C,

S: zawartość cukru w winie w g/l,

P atm: ciśnienie atmosferyczne, wyrażone w paskalach.

▼ **M8**

▼ **M13**

▼ **M13****37a. POMIAR NADCIŚNIENIA WIN MUSUJĄCYCH I PÓLMUSUJĄCYCH**

1. ZASADA

Po stabilizacji temperatury i wstrząśnięciu butelki, nadciśnienie mierzy się za pomocą afrometru (przyrząd do pomiaru ciśnienia). Wyraża się je w paskalach (Pa) (metoda typu I). Metodę tę stosuje się również do win musujących gazowanych i półmusujących gazowanych.

2. APARATURA

Aparat pozwalający mierzyć nadciśnienie w butelkach z winem musującym i półmusującym nazywamy afrometrem. Wygląda on różnie w zależności od rodzaju zamknięcia butelki (kapsel metalowy, kapsel koronowy, korek z korka naturalnego lub plastiku).

2.1. W przypadku butelek zamykanych kapslem

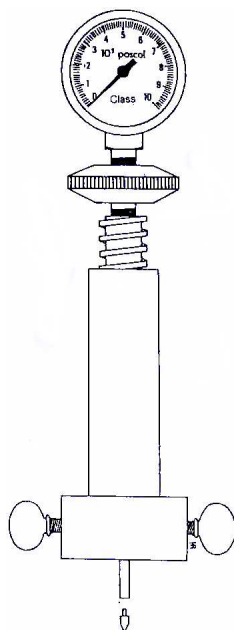
Afrometr składa się z trzech części (rysunek 1):

- Część górna (śruba z igłą) składa się z manometru, ręcznego pierścienia mocującego, śruby bez złącza, która wchodzi w część środkową oraz igły przebijającej kapsel. Igła posiada poprzeczny otwór, który przekazuje ciśnienie do manometru. Złącze zapewnia szczelność całości aparatu zamontowanego na kapslu butelki.
- Część środkowa (nakrętka) służy do ustawienia części górnej w pozycji centralnej. Wkręca się w część dolną w taki sposób, aby mocno utrzymała całość na butelce.
- Część dolna (jarzmo) posiada występ, który wchodzi pod pierścień butelki w ten sposób, że podtrzymuje całość. Istnieją pierścienie dostosowane do każdego typu butelki.

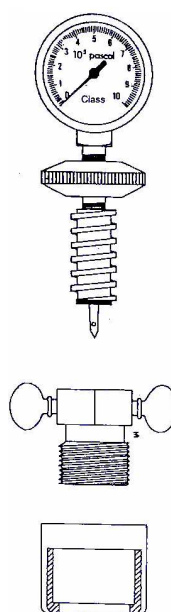
2.2. W przypadku butelek zamykanych korkiem

Składa się z dwóch części (rysunek 2):

- Część górna jest identyczna jak w poprzednim aparacie, jednak igła jest dłuższa. Składa się ona z długiej wklęsłej rurki, na której końcu znajduje się ostrze ułatwiające przebicie korka. Ostrze jest ruchome i wpada do wina po przebicciu korka.
- Część dolna składa się z nakrętki i podstawy, która opiera się na butelce. Jest ona wyposażona w cztery śruby mocujące, które utrzymują całość na korku.



Rysunek 2: Afrometr do korków



Rysunek 1: Afrometr do kapsli

Uwagi dotyczące manometrów, wchodzących w skład obu aparatów:

▼ **M13**

- Mogą być albo mechaniczne, z rurką Bourdona albo cyfrowe z czujnikiem piezoelektrycznym. W pierwszym przypadku, rurka Bourdona musi obowiązkowo być wykonana z nierdzewnej stali.
- Są one wyskalowane w paskalach (skrót Pa). Dla win musujących praktyczniej jest stosować 105 paskali (105) lub kilopaskale (kPa) jako jednostki.
- Istnieją manometry różnych klas. Klasa manometru zależy od dokładności odczytu w stosunku do całej skali wyrażonej w procentach (np. manometr 1 000 kPa klasy 1 oznacza maksymalne stosowane ciśnienie 1 000 kPa, odczyt z dokładnością do ± 10 kPa). Do dokładnych pomiarów zaleca się klasę 1.

3. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

Pomiaru należy dokonywać na butelkach, w których temperatura jest ustabilizowana od co najmniej 24 godzin. Po przebicciu korony lub korka butelkę należy mocno wstrząsnąć aż do uzyskania stałego ciśnienia w celu dokonania odczytu.

3.1. W przypadku butelki kapslowanej

Wsunąć występ jarzma pod pierścień butelki. Dokręcić nakrętkę, aż do zakręcenia całości na butelce. Część górną jest teraz wkręcona w nakrętkę. Aby uniknąć wydobywania się gazu, należy przebić kapsel jak najszybciej, aby doprowadzić do kontaktu złącza z kapslem. Następnie należy mocno wstrząsnąć butelką, aż do uzyskania stałego ciśnienia w celu dokonania odczytu.

3.2. W przypadku butelki korkowanej

Założyć ostrze na koniec igły. Ustawić cały element na korku. Przykręcić cztery śruby do korka. Przykręcić część górną (igła przebija wtedy korek). Ostrze musi wpaść do butelki, tak aby ciśnienie mogło zostać przekazane do manometru. Dokonać odczytu po wstrząśnięciu butelki, aż do uzyskania stałego ciśnienia. Po odczycie wydobyć ostrze.

4. PRZEDSTAWIENIE WYNIKÓW

Nadciśnienie przy 20 °C ($P_{atm,20}$) wyraża się w paskalach (Pa) lub w kilopaskalach (kPa). Musi ono odpowiadać dokładności manometru (np. $6,3 \cdot 10^5$ Pa lub 630 kPa, a nie $6,33 \cdot 10^5$ Pa lub 633 kPa dla manometru o pełnej skali do 1 000 kPa, klasy 1).

Jeśli temperatura pomiaru jest inna niż 20 °C, należy wprowadzić poprawkę mnożąc otrzymane ciśnienie przez odpowiedni współczynnik (patrz: Tabela 1).

Tabela 1

Stosunek nadciśnienia w winie musującym i półmusującym przy temperaturze 20 °C ($P_{atm,20}$) do nadciśnienia w temperaturze t ($P_{atm,t}$)

°C	
0	1,85
1	1,80
2	1,74
3	1,68
4	1,64
5	1,59
6	1,54
7	1,50
8	1,45
9	1,40
10	1,36
11	1,32
12	1,28
13	1,24

▼ **M13**

°C	
14	1,20
15	1,16
16	1,13
17	1,09
18	1,06
19	1,03
20	1,00
21	0,97
22	0,95
23	0,93
24	0,91
25	0,88

5. KONTROLA WYNIKÓW

Metoda bezpośredniego określenia parametrów fizycznych (metoda kryterium typu I)

Sprawdzanie afrometrów

Należy regularnie sprawdzać afrometry (co najmniej raz w roku).

Sprawdzenia dokonuje się na stanowisku pomiarowym. Pozwala to porównać manometr z manometrem wzorcowym, wyższej klasy, zgodnym z normami krajowymi, zamontowanym równolegle. Kontrolę przeprowadza się tak, aby porównać wskazania obu aparatów przy rosnącym i malejącym ciśnieniu. Jeśli jest między nimi różnica, śruba regulacyjna pozwala wprowadzić niezbędne poprawki.

Laboratoria i upoważnione organy wyposażone są w takie stanowiska pomiarowe. Są one też dostępne u producenta manometrów.

▼ **M7****38. POCHODNE CYJANKOWE**

(Uwaga: należy postępować zgodnie z zasadami bezpieczeństwa dotyczącymi używania chemikaliów, takich jak: chloramina T, pyrydyna, cyjanek potasu, kwas solny i kwas fosforowy. Pozbywać się zużytych produktów we właściwy sposób, zgodnie z obowiązującymi przepisami prawa w zakresie ochrony środowiska. Zachować ostrożność w związku z kwasem cyjanowodorowym wydzielającym się podczas destylacji wina zakwaszonego).

1. **ZASADA**

Całkowity wolny kwas cyjanowodorowy w winie wydziela się na drodze hydrolizy kwasowej i ulega oddzieleniu przez destylację. Po reakcji z chloraminą T i pyrydyną powstały dialdehyd glutaminowy ustala się za pomocą kolorymetrii na podstawie niebieskiego zabarwienia, które dialdehyd glutaminowy daje z kwasem 1,3-dimetylo-barbiturowym.

2. **APARATURA**2.1. **Aparat destylacyjny**

Użyć aparatu destylacyjnego określonego dla oznaczania zawartości alkoholu w winie

2.2. Kolba okrągłodenna 500 ml o standardowych złączach szlifowych

2.3. Łażnia wodna kontrolowana termostatycznie przy temperaturze 20 °C

2.4. Spektrometr pozwalający na pomiar absorpcji przy długości fali 590 nm

2.5. Szklane naczynka lub naczynka jednorazowego użytku ze ścieżkami optycznymi 20 mm

3. **ODCZYNNIKI**

3.1. Kwas fosforowy (H_3PO_4) przy 25 % (m/v)

3.2. Roztwór chloraminy T ($C_7H_7ClNNaO_2S, 3H_2O$) 3 % (m/v)

3.3. Roztwór kwasu 1,3-dimetylo-barbiturowego: rozpuścić 3,658 g kwasu 1,3-dimetylo-barbiturowego ($C_6H_8N_2O_3$) w 15 ml pyrydyny i 3 ml kwasu solnego ($\rho_{20} = 1,19$ g/ml) oraz dodać 50 ml wody destylowanej

3.4. Cyjanek potasu (KCN)

3.5. Jodek potasu (KI), roztwór 10 % (m/v)

3.6. Roztwór azotanu srebra ($AgNO_3$), 0,1 M

4. **PROCEDURA**4.1. **Destylacja**

Umieścić 25 ml wina, 50 ml wody destylowanej, 1 ml kwasu fosforowego (ppkt 3.1) oraz kilka koralików szklanych w kolbie 500-mililitrowej (ppkt 2.2). Kolbę niezwłocznie umieścić na aparacie destylacyjnym. Użyć chłodnicy w celu odprowadzenia destylatu do kolby kalibrowanej 50-mililitrowej, zawierającej 10 ml wody. Zanurzyć kolbę kalibrowaną w lodowatej wodzie. Zebrać 30–35 ml destylatu (lub całkowicie około 45 ml płynu) w kolbie kalibrowanej.

Przeplukać rurkę łączącą skraplacz kilkoma mililitrami wody destylowanej, podgrzać destylat do 20 °C i napełnić do linii kalibracyjnej wodą destylowaną.

4.2. **Pomiar**

Wlać 25 ml destylatu do kolby stożkowej 50-mililitrowej z korkiem szklanym docieranym, dodać 1 ml roztworu chloraminy T (ppkt 3.2) i zamknąć korkiem. Dokładnie po 60 sekundach dodać 3 ml roztworu kwasu 1,3-dimetylo-barbiturowego (ppkt 3.3), zamknąć korkiem i pozostawić na 10 minut. Następnie wykonać pomiar absorpcji w stosunku do roztworu kontrolnego (25 ml wody destylowanej zamiast 25 ml destylatu) przy długości fali 590 nm w kuwetach o ścieżce światła 20 mm.

▼ **M7**

5. OKREŚLENIE KRZYWEJ KALIBRACYJNEJ

5.1. **Argentometryczne miareczkowanie cyjanku potasu**

Rozpuścić około 0,2 g KCN (ppkt 3.4), dokładnie odmierzonego, w 100 ml wody destylowanej w kolbie kalibrowanej na 300 ml. Dodać 0,2 ml roztworu jodku potasu (ppkt 3.5) i miareczkować z roztworem azotanu srebra (ppkt 3.6) do otrzymania ustalonej barwy żółtej.

Obliczyć stężenie próbki KCN, przyjmując, że 1 ml 0,1 M roztworu azotanu srebra odpowiada 13,2 mg KCN.

5.2. **Krzywa standardowa**5.2.1. *Przygotowanie roztworów standardowych*

Ustaliwszy stężenie KCN zgodnie z procedurą określoną w ppkt 5.1, przygotować roztwór mianowany zawierający 30 mg/l kwasu cyjanowodorowego (30 mg HCN 72,3 mg KCN). Rozcieńczyć roztwór w stosunku 1:10.

Wprowadzić próbki 1,0 ml, 2,0 ml, 3,0 ml, 4,0 ml, 5,0 ml rozpuszczonego roztworu do kolb kalibrowanych 100-mililitrowych i napełnić do linii kalibracyjnej wodą destylowaną. Przygotowane roztwory zawierają odpowiednio 30 µg, 60 µg, 90 µg, 120 µg oraz 150 µg kwasu cyjanowodorowego na litr.

5.2.2. *Miareczkowanie*

W sposób określony powyżej w ppkt 4.1 i 4.2 postępować z 25-mililitrowymi próbkami roztworu otrzymanego w ten sposób.

Wartości uzyskane dla absorpcji w stosunku do roztworów standardowych jako funkcja odpowiadająca zawartości kwasu cyjanowodorowego, która powinna utworzyć prostą linię, przechodzącą przez początek układu współrzędnych.

6. PRZEDSTAWIENIE WYNIKÓW

Zawartość kwasu cyjanowodorowego przedstawia się w mikrogramach na litr (µg/l) bez miejsc liczb dziesiętnych.

6.1. **Metoda obliczania**

Odczytać zawartość kwasu cyjanowodorowego na krzywej kalibracyjnej. Jeśli próbka była rozcieńczona, należy pomnożyć wyniki przez współczynnik rozcieńczenia.

Powtarzalność (r) i odtwarzalność (R)

Wino białe = r = 3,1 µg/l lub w przybliżeniu 6 % · x_i

R = 12 µg/l lub w przybliżeniu 25 % · x_i

Wino czerwone = r = 6,4 µg/l lub w przybliżeniu 6 % · x_i

r = 23 µg/l lub w przybliżeniu 6 % · x_i

x_i = średnie stężenie HCN w winie

x_i = 48,4 µg/l dla wina białego

x_i = 80,5 µg/l dla wina czerwonego.

▼B

39. IZOTIOCYJANIAN ALLILU

1. ZASADA METODY

Każdy izotiocyanian allilu obecny w winie jest oddestylowywany i identyfikowany metodą chromatografii gazowej.

2. ODCZYNNIKI

2.1. AIKOHOL ETYLOWY BEZWODNY.

2.2. Roztwór mianowany: roztwór izotiocyanianu allilu w bezwodnym alkoholu, zawierający 15 mg izotiocyanianu allilu w litrze.

2.3. Mieszanina zamrażająca, składająca się z alkoholu etylowego i suchego lodu (temperatura – 60 °C).

3. APARATURA

3.1. Aparat destylacyjny przedstawiony na rysunku. Przez aparat przepływa stale strumień azotu.

3.2. Płaszcz grzejny z termostatem.

3.3. Przepływomierz.

3.4. Chromatograf gazowy z czujnikiem płomieniowo-spektrofotometrycznym, wyposażony w filtr selektywny dla związków siarkowych (długość fali = 394 nm) lub inny odpowiedni detektor.

3.5. Kolumna chromatograficzna ze stali kwasoodpornej o średnicy wewnętrznej 3 mm i długości 3 m z fazą stacjonarną 10 % Carbowax 20 M osadzoną na nośniku Chromosorb WHP, 80—100 mesh.

3.6. Mikrostrzykawka, 10 µl.

4. PROCEDURA

Do kolby destylacyjnej odmierzyć 2 litry wina, do dwóch probówek odbierających dodać kilka mililitrów alkoholu etylowego (2.1), tak aby porowata część rurek dyspergujących gaz była całkowicie zakryta. Schłodzić obie probówki od zewnątrz mieszaniną zamrażającą. Połączyć kolbę z probówkami odbierającymi i rozpocząć przepłukiwanie aparatu azotem z prędkością 3 litrów na minutę. Wino podgrzać do temperatury 80 °C za pomocą płaszcza grzejnego, destylować, zbierając 45—50 ml destylatu.

Ustabilizować chromatograf. Zaleca się stosowanie następujących warunków:

— temperatura komory nastrzykowej: 200 °C,

— temperatura kolumny: 130 °C,

— przepływ gazu nośnego helu: 20 ml/min.

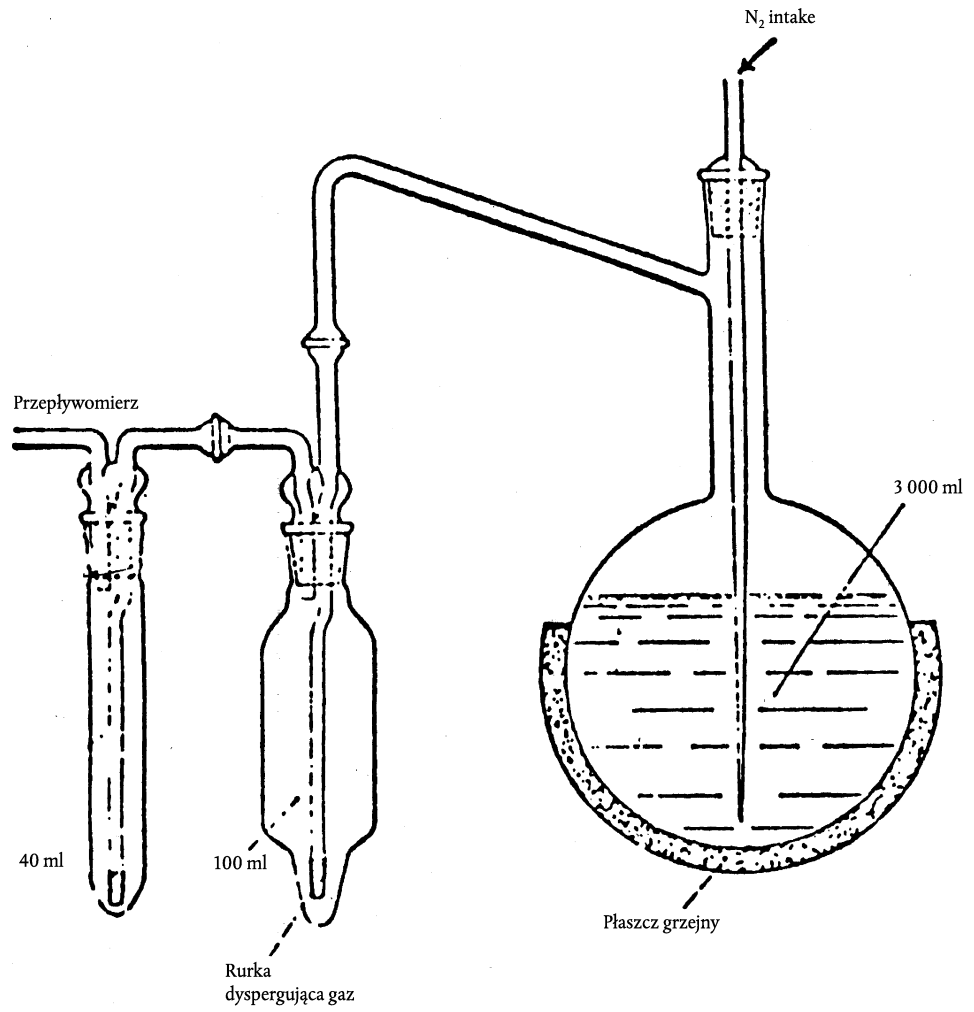
Wprowadzić mikrostrzykawką taką objętość roztworu mianowanego, aby pik odpowiadający izotiocyanianowi allilu mógł być łatwo zidentyfikowany na chromatogramie.

W podobny sposób wprowadzić do chromatografu próbkę destylatu. Sprawdzić, czy czas retencji uzyskanego pików odpowiada czasowi retencji pików izotiocyanianu allilu.

Zgodnie z warunkami opisanymi powyżej składniki występujące naturalnie w winie nie będą dawały zakłócających pików na chromatogramie badanej próbki.

▼B

Aparat do destylacji w strumieniu azotu



**40. WŁAŚCIWOŚCI CHROMATYCZNE**

1. WINA I MOSZCZE

1.1. **Definicje**

Właściwości chromatyczne wina są to jego jasność i chromatyczność.

Jasność jest wyrażana przez transmitancję i jest odwrotnie proporcjonalna do natężenia barwy wina.

Chromatyczność jest wyrażana przez dominującą długość fali (która charakteryzuje odcień) i czystość barwy.

Zgodnie ze zwyczajem i dla wygody właściwości chromatyczne win czerwonych i różowych przedstawia się jako natężenie barwy i odcień, zgodnie z metodą przyjętą jako metoda rutynowa.

1.2. **Zasada metod**1.2.1. *Metoda porównawcza*

Jest to metoda spektrofotometryczna, która umożliwia pomiar wartości współrzędnych trójbodźcowych i współrzędnych trójchromatycznych niezbędnych do określenia barwy zgodnie z Międzynarodową Komisją ds. Oświetlenia (CIE).

1.2.2. *Metoda zwykła* (stosowana do win czerwonych i różowych)

Jest to metoda spektrofotometryczna, w której właściwości chromatyczne wyrażane są zwyczajowo w następujący sposób:

Natężenie barwy jest to suma chłonności przy długości fali 420, 520 i 620 nm dla promieniowania przechodzącego przez warstwę próbki o grubości 1 cm.

Odcień jest wyrażany przez stosunek chłonności przy 420 nm i 520 nm.

1.3. **Metoda porównawcza**1.3.1. *Aparatura*

1.3.1.1. Spektrofotometr umożliwiający pomiar w zakresie 300—700 nm.

1.3.1.2. Celki szklane po dwie sztuki, o drodze optycznej b równej 0,1, 0, 2, 0,5, 1,2 i 4 cm.1.3.2. *Procedura*

1.3.2.1. Przygotowanie próbki

Mętne wino należy sklarować przez wirowanie. Większość ditlenku węgla w młodych i musujących winach należy usunąć przez wytrząsanie w warunkach próżniowych.

1.3.2.2. Pomiary

Droga optyczna szklanej celki b powinna zostać dobrana w taki sposób, aby mierzona chłonność znajdowała się między 0,3 a 0,7.

Przy wyborze właściwej celki należy kierować się następującymi wskazówkami: dla win białych użyć celkę o drodze optycznej 2 (lub 4) cm, dla win różowych o drodze optycznej 1 cm, a dla win czerwonych o drodze optycznej 0,1 (lub 0,2) cm.

Pomiar spektrofotometryczny należy wykonać, stosując jako próbkę odniesienia wodę destylowaną w kuwecie o takiej samej szerokości b , w stosunku do której reguluje się przyrząd na zero chłonności przy 445, 495, 550 i 625 nm.

Następnie należy zmierzyć cztery odpowiadające tym długościom fali chłonności dla próbki wina, z dokładnością do trzeciego miejsca dziesiętnego, dla celki o drodze optycznej b . Zmierzone wartości oznaczyć A_{445} , A_{495} , A_{550} i A_{625} .

1.3.3. *Obliczenia*

Na podstawie wartości chłonności dla celki o drodze optycznej b z tabeli I odczytać odpowiadające wartości transmitancji (T %). Odczytane wartości oznaczyć T_{445} , T_{495} , T_{550} i T_{625} .

— Obliczyć wartości współrzędnych trójbodźcowych X , Y i Z wyrażonych jako ułamki dziesiętne zgodnie z poniższymi równaniami:

$$X = 0,42 T_{625} + 0,35 T_{550} + 0,21 T_{445}$$

▼ **B**

$$Y = 0,20 T_{625} + 0,63 T_{550} + 0,17 T_{495}$$

$$Z = 0,24 T_{495} + 0,94 T_{445}$$

— Obliczyć współrzędne trójchromatyczne x i y na podstawie równania:

$$x = \frac{X}{X + Y + Z} \quad y = \frac{Y}{X + Y + Z}$$

1.3.4. *Przedstawianie wyników*

1.3.4.1. Za jasność względną przyjmuje się wartość Y wyrażoną w procentach. (Dla cieczy całkowicie ciemnych $Y = 0\%$, dla cieczy bezbarwnych $Y = 100\%$.)

1.3.4.2. Chromatyczność wyrażana jest przez dominującą długość fali i czystość.

W celu oznaczenia tych dwóch wielkości wykorzystuje się wykres chromatyczności wyznaczony przez linię barw widmowych, jak przedstawiono na rysunku 1. Pkt 0 zaznaczony na tym wykresie odpowiada źródłu światła białego użytemu do pomiaru i wykazuje współrzędne charakterystyczne dla standardowego źródła, C , $x_o = 0,3101$ i $y_o = 0,3163$, odpowiadającego światłu dziennemu o średniej jasności.

— Dominująca długość fali

Na wykres chromatyczności nanieść pkt C o współrzędnych x , y .

Jeżeli pkt C znajduje się na zewnątrz trójkąta AOB , narysować linię prostą łączącą O i C i przedłużyć ją do przecięcia z linią barw widmowych w punkcie S , który odpowiada dominującej długości fali.

Jeżeli C znajduje się wewnątrz trójkąta AOB , narysować linię prostą łączącą O i C i przedłużyć ją do przecięcia z linią barw widmowych w punkcie odpowiadającym długości fali barwy dopełniającej do barwy wina. Ta długość fali jest oznaczana przez jej wartość i pkt C .

— Czystość

Jeżeli punkt C znajduje się na zewnątrz trójkąta AOB , czystość oblicza się w procentach ze stosunku:

$$100 \times \frac{\text{odległość od } C \text{ do } O}{\text{odległość od } O \text{ do } S}$$

Jeżeli pkt C znajduje się wewnątrz trójkąta AOB , czystość oblicza się w procentach ze stosunku:

$$100 \times \frac{\text{odległość od } C \text{ do } O}{\text{odległość od } O \text{ do } P} \text{ (}^1\text{)}$$

gdzie P jest punktem, w którym linia prosta OC przecina linię purpury (linię AB).

Czystość można odczytać również bezpośrednio z wykresu chromatyczności na podstawie znanych wartości x i y (rysunki 2, 3, 4, 5 i 6).

1.3.4.3. Wyniki

Barwa wina jest w pełni określona przez jej jasność, chromatyczność (wyrażaną jako dominująca długość fali) i czystość.

Wartości te powinny być podane w sprawozdaniu z analizy, z zaznaczeniem drogi optycznej celki, w której wykonywany był pomiar.

▼ **M8**

⁽¹⁾ odległość należy określić w kierunku od O do C .



TABELA I

Przeliczanie chłonności na transmitancję (T %)*Metoda użycia*

W pierwszej kolumnie znaleźć pierwszą cyfrę dziesiętną chłonności i dany rząd oznaczyć literą R. W górnym rzędzie znaleźć drugą cyfrę dziesiętną chłonności i daną kolumnę oznaczyć literą C. Odczytać liczbę w prostokącie na przecięciu rzędu R i kolumny C. W celu obliczenia transmitancji podzielić tę liczbę przez 10, jeżeli chłonność jest mniejsza niż 1, przez 100, jeżeli jest między 1 a 2, i przez 1000, jeżeli jest między 2 a 3.

Uwaga:

Pozycja w prawym górnym rogu każdego prostokąta umożliwia uwzględnienie poprzez interpolację trzeciej cyfry dziesiętnej chłonności.

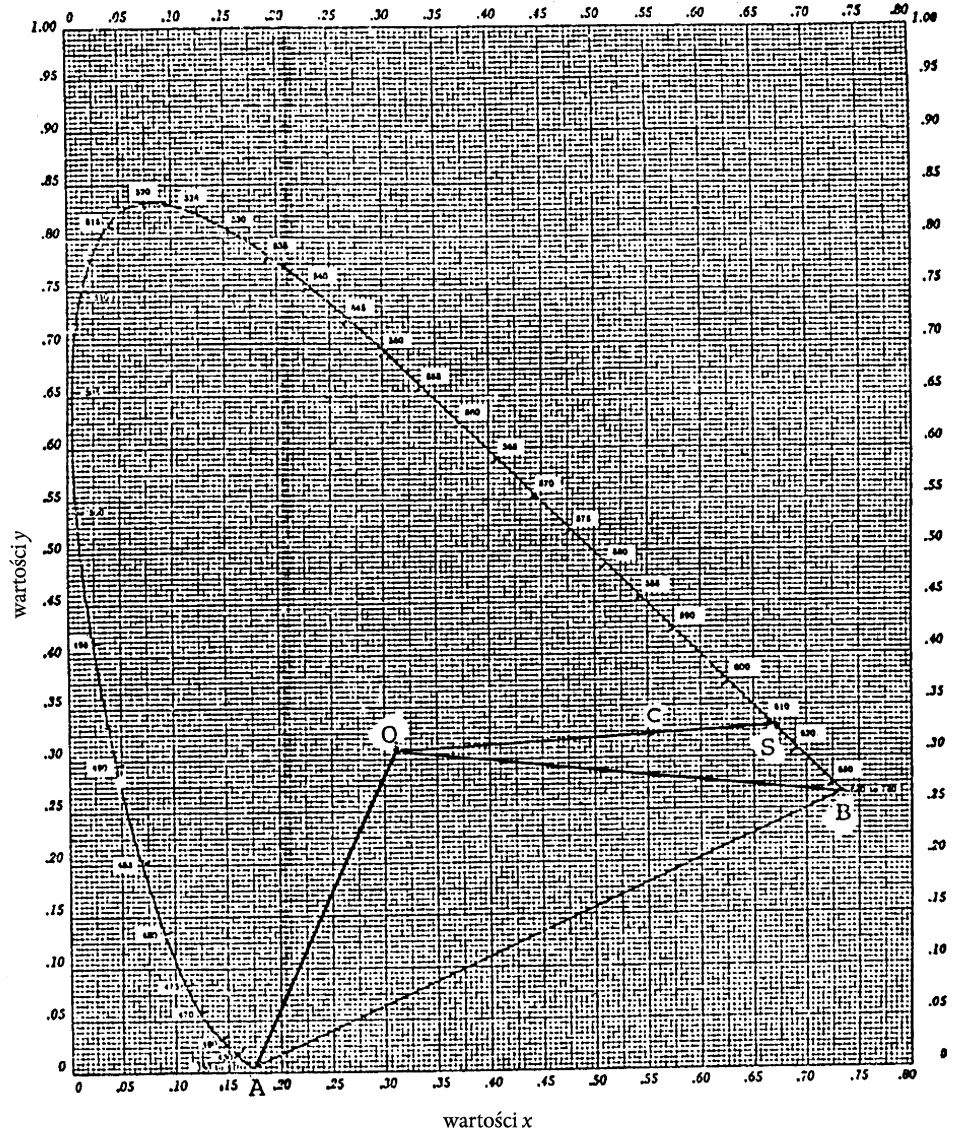
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	1 000 ²⁻	977 ²²	955 ²²	933 ²¹	912 ²¹	891 ²⁰	871 ²⁰	851 ¹⁹	832 ¹⁹	813 ¹⁹
1	794 ¹⁸	776 ¹⁸	759 ¹⁷	741 ¹⁷	724 ¹⁶	708 ¹⁶	692 ¹⁶	676 ¹⁵	661 ¹⁵	646 ¹⁵
2	631 ¹⁴	617 ¹⁴	603 ¹⁴	589 ¹⁴	575 ¹³	562 ¹³	549 ¹³	537 ¹²	525 ¹²	513 ¹²
3	501 ¹¹	490 ¹¹	479 ¹¹	468 ¹¹	457 ¹⁰	447 ⁹	436 ⁹	427 ¹⁰	417 ¹⁰	407 ⁹
4	398 ⁹	389 ⁹	380 ⁹	371 ⁸	363 ⁸	355 ⁸	347 ⁸	339 ⁸	331 ⁷	324 ⁸
5	316 ⁷	309 ⁷	302 ⁷	295 ⁷	288 ⁶	282 ⁷	275 ⁶	269 ⁶	263 ⁶	257 ⁶
6	251 ⁶	245 ⁵	240 ⁶	234 ⁵	229 ⁵	224 ⁵	219 ⁵	214 ⁵	209 ⁵	204 ⁵
7	199 ⁴	195 ⁵	190 ⁴	186 ⁴	182 ⁴	178 ⁴	174 ⁴	170 ⁴	166 ⁴	162 ⁴
8	158 ³	155 ⁴	151 ³	148 ⁴	144 ⁴	141 ³	138 ³	135 ³	132 ³	129 ³
9	126 ³	123 ³	120 ³	117 ²	115 ³	112 ²	110 ³	107 ²	105 ³	102 ²

Przykład:

Chłonność	0,47	1,47	2,47	3,47
T %	33,9	3,4	0,3	0

Transmitancję T % podawać z dokładnością do 0,1 %.

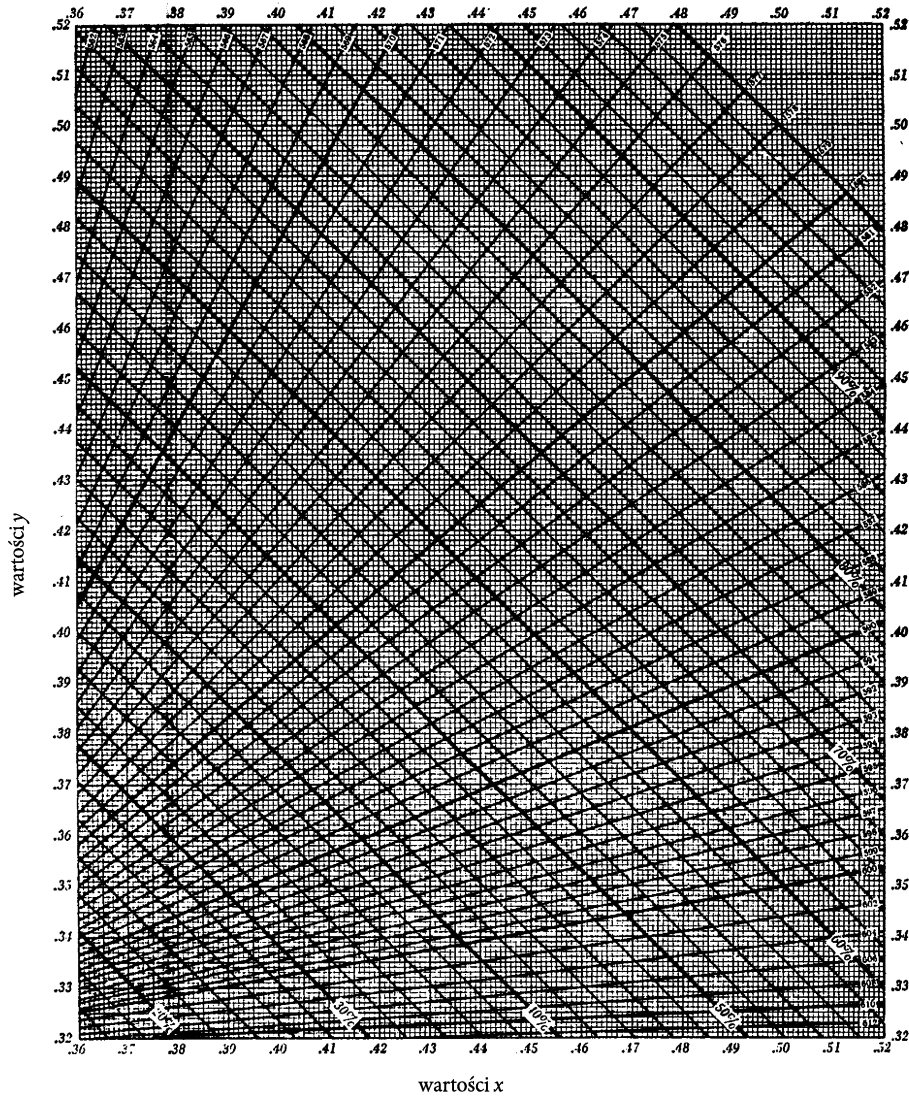
▼B



RYSUNEK 1

Wykres chromatyczności obejmujący wszystkie barwy widma

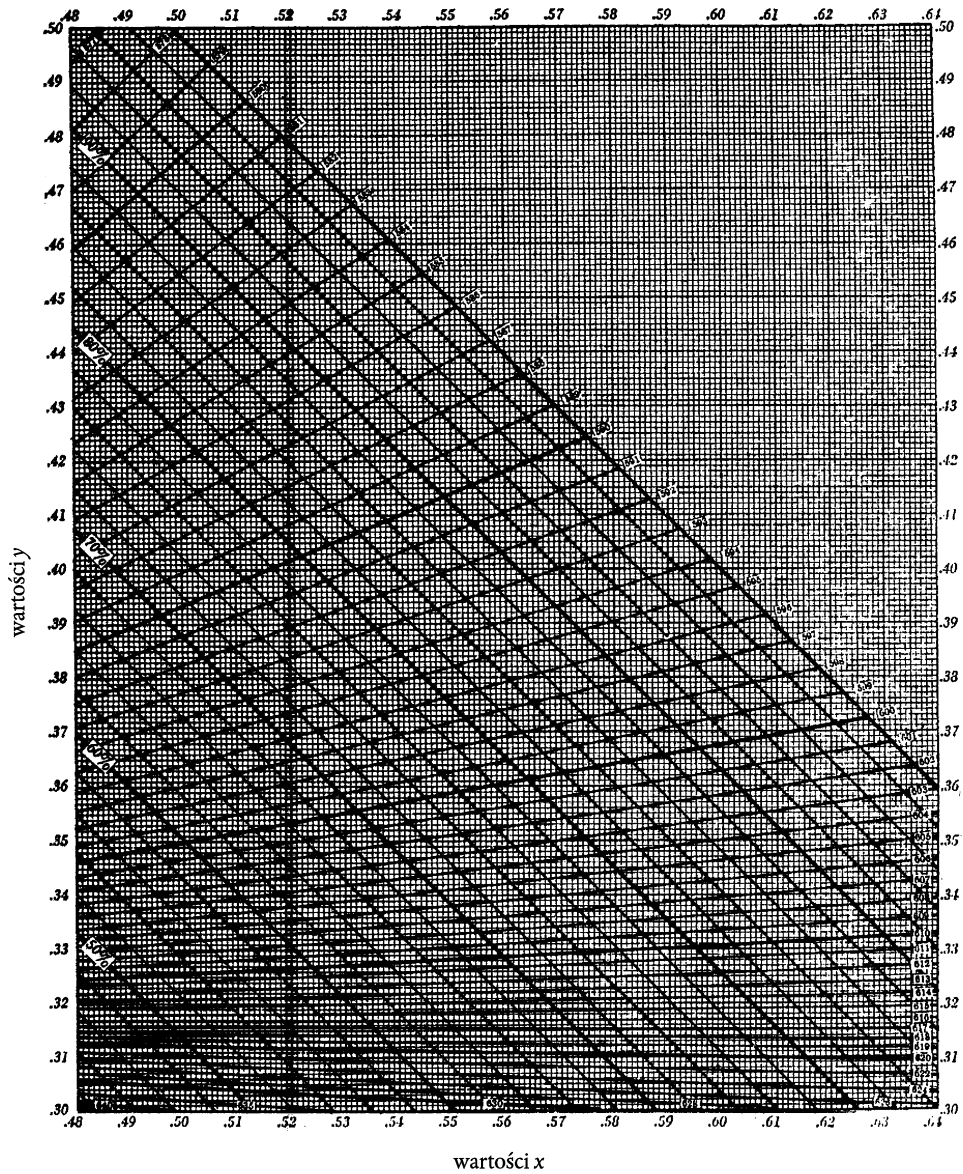
▼B



RYSUNEK 2

Wykres chromatyczności niezafalszowanych win czerwonych (jasnoczerwonych) i win czerwono-brązowych (czerwień ceglasta)

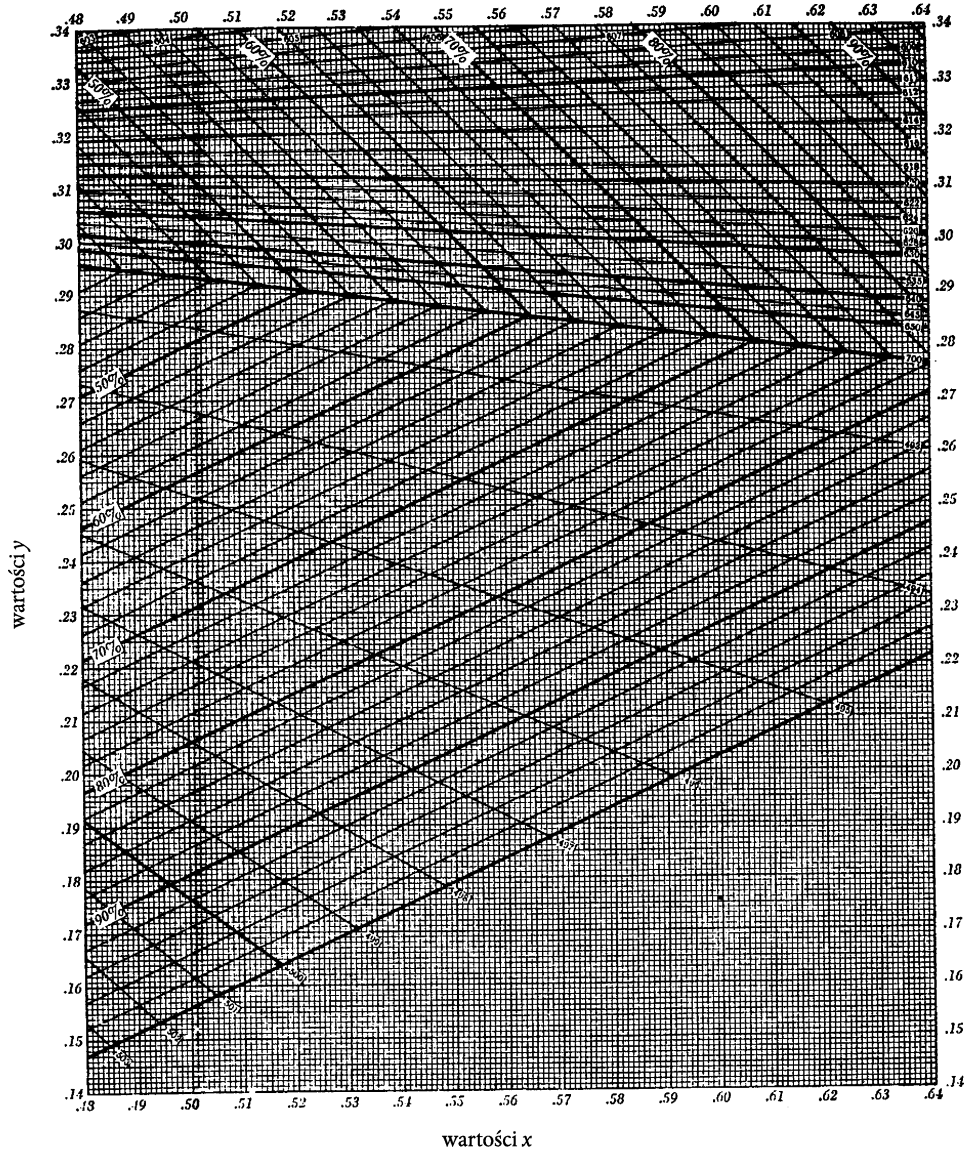
▼B



RYSUNEK 3

Wykres chromatyczności niezafalszowanych win czerwonych (jasnoczerwonych) i win czerwono-brązowych (czerwień ceglasta)

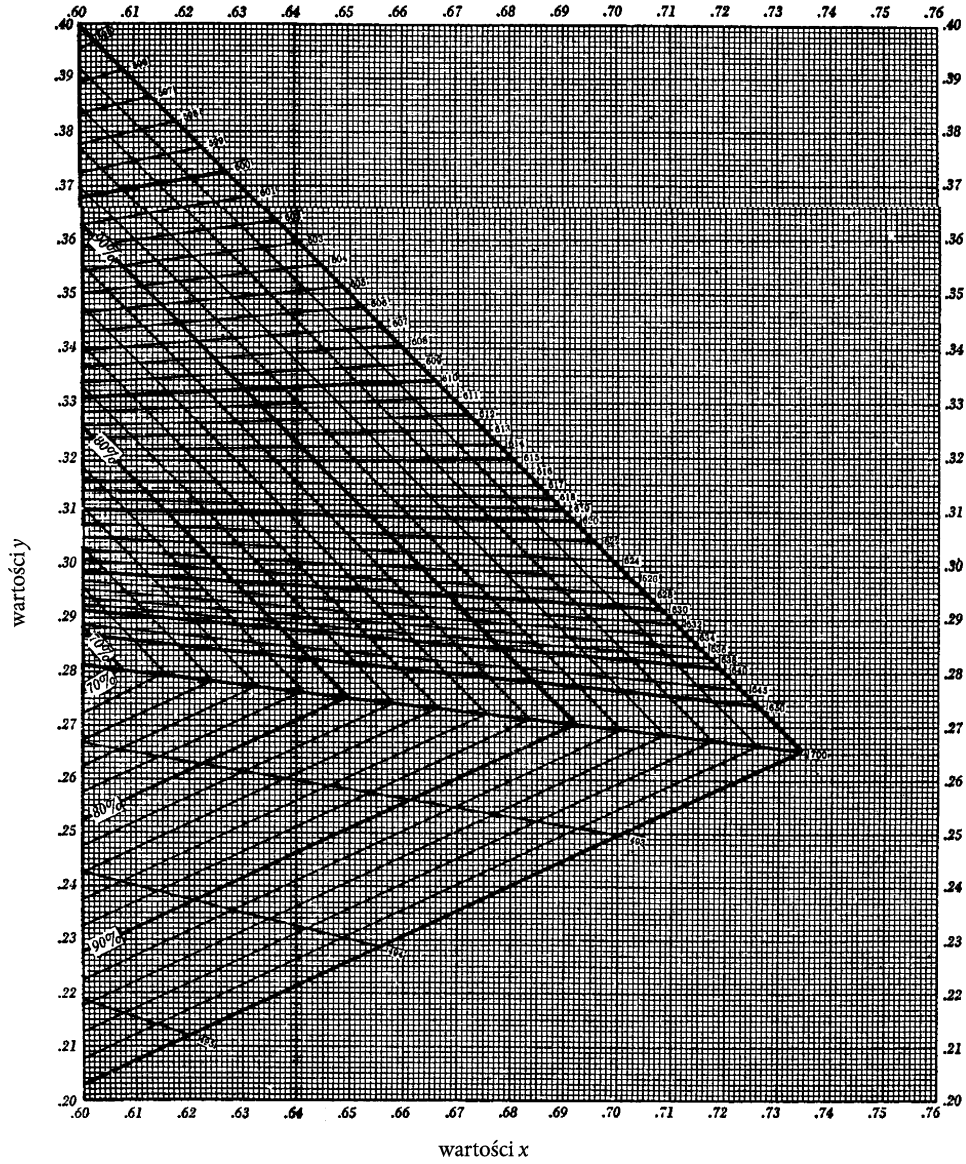
▼B



RYSUNEK 4

Wykres chromatyczności niezafalszowanych win czerwonych (jasnoczerwonych) i win purpurowych

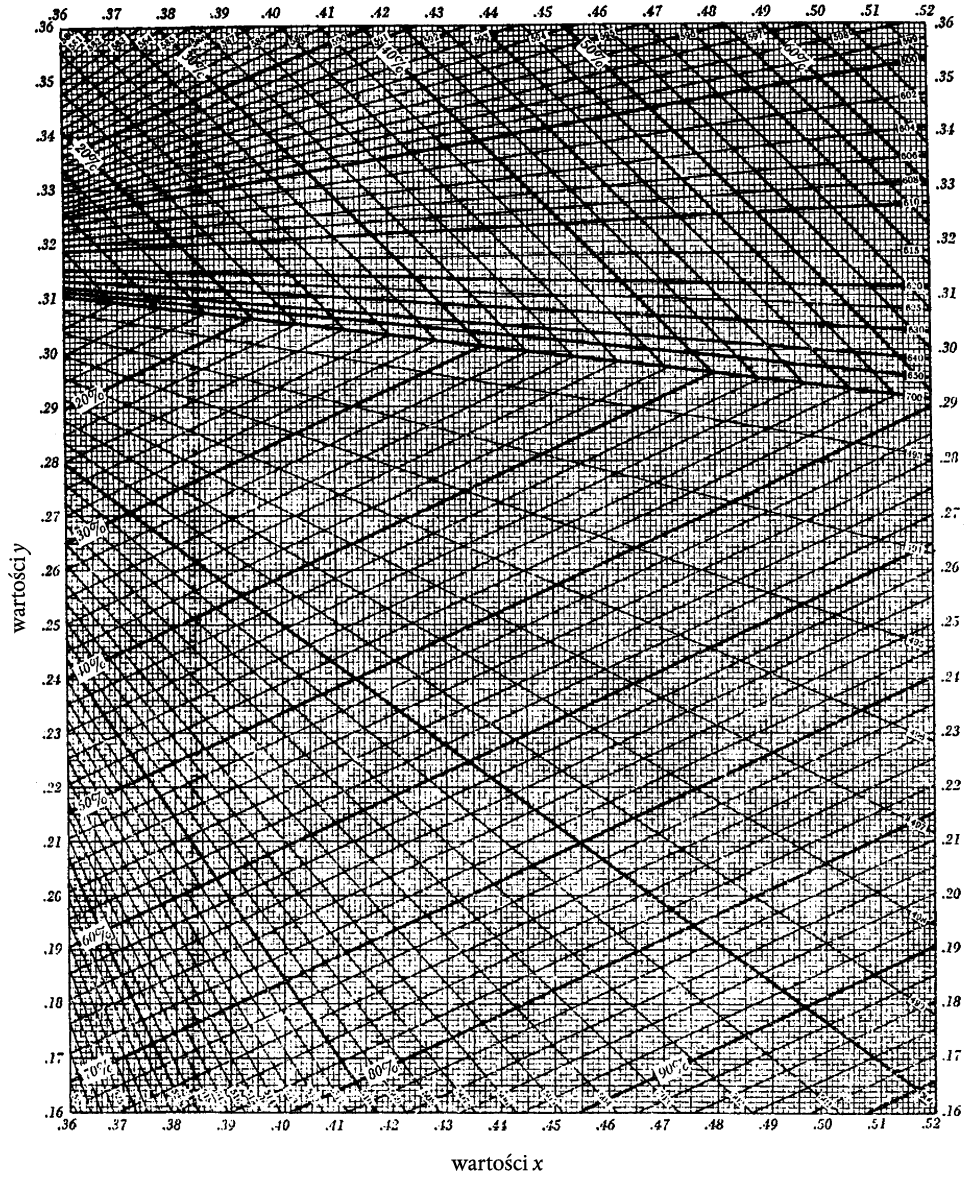
▼B



RYSUNEK 5

Wykres chromatyczności niezafalszowanych win czerwonych (jasnoczerwonych) i win purpurowych

▼**B**



RYSUNEK 6

Wykres chromatyczności niezafalszowanych win czerwono-brązowych (czerwień ceglasta) i win purpurowych

▼ B

2. REKTYFIKOWANE MOSZCZE ZAGĘSZCZONE

2.1. **Zasada metody**

Pomiar chłonności rektyfikowanych moszczów zagęszczonych przy 425 nm w warstwie o grubości 1 cm po rozcieńczeniu w celu uzyskania zawartości cukrów do 25 % (m/m) (25 °Brix).

2.2. **Aparatura i sprzęt**

2.2.1. Spektrofotometr umożliwiający pomiar w zakresie 300—700 nm.

2.2.2. Celki szklane o drodze optycznej 1 cm.

2.2.3. Filtr membranowy z porami o średnicy 0,45 µm.

2.3. **Procedura**2.3.1. *Przygotowanie próbki*

Użyć roztworu o zawartości cukrów 25 % (m/m) (25 °Brix) przygotowanego jak w rozdziale „pH”, ppkt 4.1.2. Przefiltrować roztwór przez filtr membranowy z porami o średnicy 0,45 µm.

2.3.2. *Oznaczanie chłonności*

Ustawić aparat na zero chłonności przy 425 nm w odniesieniu do celki o drodze optycznej 1 cm zawierającej wodę destylowaną.

Przy tej samej długości fali zmierzyć chłonność *A* roztworu zawierającego 25 % cukrów (25 °Brix), przygotowanego jak w ppkt 2.3.1 i umieszczonego w kuwecie o szerokości 1 cm.

2.4. **Przedstawianie wyników**

Chłonność przy 425 nm rektyfikowanego moszczu zagęszczonego w roztworze o stężeniu 25 % cukrów (25 °Brix) podawać z dokładnością do dwóch miejsc dziesiętnych.

▼B

41. WSKAŹNIK FOLIN-CIOCALTEU

1. DEFINICJA

Wskaźnik Folin-Ciocalteu jest to wynik oznaczania uzyskany wg metody opisanej poniżej.

2. ZASADA METODY

Wszystkie związki fenolowe występujące w winie są utleniane przez odczynnik Folin-Ciocalteu. Odczynnik ten stanowi mieszanina kwasu wolframianofosforowego ($H_3PW_{12}O_{40}$) i kwasu molibdenowofosforowego ($H_3PMo_{12}O_{40}$), które po utlenieniu fenoli ulegają redukcji do mieszaniny niebieskich tlenków wolframu (W_8O_{23}) i molibdenu (Mo_8O_{23}).

Powstała barwa niebieska wykazuje maksimum chłonności w pobliżu 750 nm, a jej natężenie jest proporcjonalne do całkowitej ilości związków fenolowych obecnych w winie.

3. ODCZYNNIKI

Odczynniki musi cechować czystość analityczna. Należy używać wody destylowanej lub wody o podobnej czystości.

3.1. Odczynnik Folin-Ciocalteu

Odczynnik ten jest dostępny na rynku w postaci gotowej do użycia. Można go otrzymać w następujący sposób: rozpuścić 100 g wolframianu (VI) sodu ($Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$) i 25 g molibdenianu (VI) sodu ($Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$) w 700 ml wody destylowanej. Dodać 50 ml 85-procentowego kwasu fosforowego ($\rho_{20} = 1,71$ g/ml) i 100 ml stężonego kwasu solnego ($\rho_{20} = 1,19$ g/ml). Doprowadzić do wrzenia i gotować przez 10 godzin pod chłodnicą zwrotną. Następnie dodać 150 g siarczanu litowego ($Li_2SO_4 \cdot H_2O$) i kilka kropli bromu i ponownie gotować przez 15 minut. Odstawić do ostygnięcia i uzupełnić wodą destylowaną do 1 litra.

3.2. Bezwodny węgiel sodowy, Na_2CO_3 , w 20-procentowym (m/v) roztworze.

4. APARATURA

Zwykła aparatura laboratoryjna, w tym w szczególności:

4.1. Kolby miarowe o pojemności 100 ml.

4.2. Spektrofotometr umożliwiający pomiar przy 750 nm.

5. PROCEDURA

5.1. Wino Czerwone

Do kolby miarowej na 100 ml (4.1) odmierzyć ściśle w podanej kolejności:

- 1 ml wina, rozcieńczonego uprzednio w stosunku 1:5,
- 50 ml wody destylowanej,
- 5 ml odczynnika Folin-Ciocalteu (3.1),
- 20 ml roztworu węgla sodowego (3.2).

Uzupełnić wodą destylowaną do 100 ml.

Dokładnie wymieszać. Odczekać 30 minut do ustabilizowania się reakcji. Oznaczyć chłonność przy 750 nm przy grubości warstwy 1 cm w stosunku do próby ślepej, w której zamiast wina użyto wodę.

Jeżeli chłonność nie wynosi około 0,3, próbkę należy odpowiednio rozcieńczyć.

5.2. Wino białe

Postępować jak wyżej, używając 1 ml nierozcieńczonego wina.

5.3. Rektyfikowany moszcz zagęszczony

5.3.1. Przygotowanie próbki

Użyć roztworu próbki o zawartości cukrów 25 % (m/m) (25 °Brix), przygotowanego, jak opisano w rozdziale „pH”, ppkt 4.1.2.

▼ B5.3.2. *Pomiar*

Postępować jak w przypadku wina czerwonego (5.1), używając 5 ml próbki przygotowanej jak w ppkt 5.3.1 i mierząc chłonność w stosunku do próbki kontrolnej otrzymanej z 5 ml 25-procentowego (m/m) roztworu cukru inwertowanego.

6. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

6.1. **Metoda obliczania**

Wynik jest przedstawiany w postaci wskaźnika otrzymywanego przez mnożenie chłonności przez 100 dla win czerwonych rozcieńczonych w stosunku 1:5 (lub przez odpowiedni współczynnik dla innych rozcieńczeń) i przez 20 dla win białych. Dla rektyfikowanych moszczów zagęszczonych mnożyć przez 16.

6.2. **Powtarzalność**

Różnica między wynikami dwóch prób wykonywanych równocześnie lub bardzo szybko jedna po drugiej przez tego samego analityka nie powinna być większa niż 1.

Dobrą powtarzalność wyników uzyskuje się, stosując bardzo czystą aparaturę i sprzęt (kolby miarowe i celki spektrofotometryczne).

▼ **B****42. SPECJALNE METODY ANALIZY REKTYFIKOWANYCH GRONOWYCH MOSZCZÓW ZAGĘSZCZONYCH**

a) KATIONY OGÓŁEM

1. ZASADA METODY

Badana próbka jest poddawana chromatografii na silnie kwasowej żywicy kationowymiennej. Kationy są wymieniane na H⁺. Zawartość kationów ogółem wyrażana jest przez różnicę między kwasowością ogólną eluatu i próbki.

2. APARATURA

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

2.2. Pehametr o działce elementarnej 0,1 jednostki pH.

2.3. Elektrody:

- elektroda szklana, przechowywana w wodzie destylowanej,
- kalomelowa/nasycona chlorkiem potasu elektroda odniesienia, przechowywana w nasyconym roztworze chlorku potasu,
- lub elektroda kombinowana, przechowywana w wodzie destylowanej.

3. ODCZYNNIKI

3.1. Silnie kwasowa żywica kationowymienna w formie H⁺, wstępnie napęczniała przez namoczenie w wodzie przez noc.

3.2. Roztwór wodorotlenku sodu, 0,1 M.

3.3. Papierek wskaźnikowy pH.

4. PROCEDURA

4.1. Przygotowanie próbki

Użyć roztworu otrzymanego przez rozcieńczenie rektyfikowanego moszczu zagęszczonego do 40 % (m/v) jak w rozdziale „Kwasowość ogólna”, ppkt 5.1.2.

4.2. Przygotowanie kolumny jonowymiennej

Do kolumny wlać około 10 ml napęczniałej wstępnie żywicy jonowymiennej w formie H⁺. Przemyc kolumnę wodą destylowaną do usunięcia całej kwasowości, stosując do kontroli papierek wskaźnikowy.

4.3. Wymiana jonów

Przesząć przez kolumnę 100 ml roztworu rektyfikowanego moszczu zagęszczonego, otrzymanego jak w ppkt 4.1, z prędkością jednej kropli na sekundę. Zbierać wyciek w zlewce. Przemyc kolumnę 50 mililitrami wody destylowanej. Wyciek (łącznie z wodą użytą do przemywania) miareczkować 0,1 M roztworem wodorotlenku sodu do wartości pH 7 w temperaturze 20 °C. Roztwór zasady powinien być dodawany powoli, przy ciągłym wstrząsaniu próbki. Niech *n* oznacza ilość ml zużytego 0,01 M roztworu wodorotlenku sodu.

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

Zawartość kationów ogółem wyrazić w miliekwiwalentach na kilogram cukru ogółem z dokładnością do jednego miejsca dziesiątego.

5.1. Obliczenia

— Kwasowość wycieku wyrażona w miliekwiwalentach na kilogram rektyfikowanego moszczu zagęszczonego:

$$E = 2,5 n$$

— Kwasowość ogólna rektyfikowanego moszczu zagęszczonego w miliekwiwalentach na kilogram (patrz rozdział „Kwasowość ogólna”, ppkt 6.1.2): *a*

— Zawartość kationów ogółem w miliekwiwalentach na kilogram cukrów ogółem:

$$\frac{2,5n - a}{P} \times 100$$

gdzie *P* = procentowa zawartość (m/m) cukrów ogółem.

▼ **B**

b) PRZEWODNOŚĆ ELEKTRYCZNA

1. ZASADA METODY

Pomiar przewodności elektrycznej słupa cieczy znajdującego się między dwoma równoległymi elektrodami platynowymi jest wykonywany poprzez włączenie go do jednego ramienia mostka Wheatstone'a.

Przewodność elektryczna różni się w zależności od temperatury i dlatego jest wyrażana jako przewodność w temperaturze 20 °C.

2. APARATURA

2.1. Konduktometr umożliwiający pomiar przewodności elektrycznej w zakresie 1–1000 mikrosimensów na cm^{-1}).

2.2. Łaźnia wodna do sprowadzania temperatury badanych próbek do około 20 °C (20 ± 2 °C).

3. ODCZYNNIKI

3.1. Zdemineralizowana woda o przewodności elektrycznej mniejszej niż 2 $\mu\text{S cm}^{-1}$ w temperaturze 20 °C.

3.2. Roztwór wzorcowy chlorku potasu.

Rozpuścić 0,581 g chlorku potasu, KCl, wysuszonego uprzednio do stałej masy w temperaturze 105 °C, w wodzie zdemineralizowanej (3.1). Uzupełnić do 1 litra wodą zdemineralizowaną (3.1). Roztwór ten wykazuje przewodność elektryczną 1000 $\mu\text{S cm}^{-1}$ w temperaturze 20 °C. Roztwór nie powinien być przechowywany dłużej niż 3 miesiące.

4. PROCEDURA

4.1. Przygotowanie próbki do analizy

Przygotować roztwór o zawartości cukrów ogółem 25 % (m/m) (25 °Brix), jak opisano w rozdziale „pH” ppkt 4.1.2.

4.2. Oznaczanie przewodności elektrycznej

Sprowadzić temperaturę próbki do 20 °C, zanurzając ją w łaźni wodnej. Utrzymywać tę temperaturę w granicach $\pm 0,1$ °C.

Komorę konduktometru przepłukać dwukrotnie badanym roztworem.

Wykonać pomiar przewodności właściwej i wyrazić wynik w $\mu\text{S cm}^{-1}$.

5. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

Wyniki wyrażać w mikrosimensach na cm ($\mu\text{S cm}^{-1}$) w temperaturze 20 °C, zaokrąglając do liczby całkowitej dla 25 % (m/m) (25° Brix) roztworu rektyfikowanego moszczu zagęszczonego.

5.1. Obliczenia

Jeżeli aparat nie jest wyposażony w urządzenie do kontrolowania temperatury, zmierzoną przewodność właściwą należy skorygować, wykorzystując tabelę I. Jeżeli temperatura wynosi poniżej 20 °C, wartość poprawki należy dodać, jeżeli temperatura wynosi powyżej 20 °C, wartość poprawki należy odjąć.

TABELA I

Poprawka, jaką należy wprowadzić, jeżeli przewodność właściwa była oznaczana w temperaturze innej niż 20 °C ($\mu\text{S cm}^{-1}$)

Przewodność właściwa	°Temperatura (C)									
	20,2 20,4	20,6 20,8	21,0 21,2	21,4 21,6	21,8 22,0	19,8 19,6	19,4 19,2	19,0 18,8	18,6 18,4	18,2- (¹) 18,0- (²)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	1	1	1	1	1	2	2	2
100	0	1	1	2	2	3	3	3	4	4
150	1	1	2	3	3	4	5	5	6	7
200	1	2	3	3	4	5	6	7	8	9
250	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11

▼B

Przewodność właściwa	°Temperatura (C)									
	20,2 20,4	20,6 20,8	21,0 21,2	21,4 21,6	21,8 22,0	19,8 19,6	19,4 19,2	19,0 18,8	18,6 18,4	18,2- (¹) 18,0- (²)
300	1	3	4	5	7	8	9	11	12	13
350	1	3	5	6	8	9	11	12	14	15
400	2	3	5	7	9	11	12	14	16	18
450	2	3	6	8	10	12	14	16	18	20
500	2	4	7	9	11	13	15	18	20	22
550	2	5	7	10	12	14	17	19	22	24
600	3	5	8	11	13	16	18	21	24	26

(¹) Dodać wartość korekcji.

(²) Odjąć wartość korekcji.

c) HYDROKSYMETYLOFURFURAL (HMF)

1. ZASADA METODY

1.1. **Metoda kolorymetryczna**

Aldehydy pochodne furanu, z których głównym jest hydroksymetylofurfural, reagują z kwasem barbiturowym i paratoluidyną, dając czerwone produkty reakcji, które oznaczają się kolorymetrycznie przy 550 nm.

1.2. **Wysoko sprawna chromatografia cieczowa (HPLC)**

Rozdzielać w kolumnie chromatograficznej z odwróconymi fazami i oznaczanie przy 280 nm.

2. METODA KOLORYMETRYCZNA

2.1. **Aparatura**

2.1.1. Spektrofotometr dostosowany do pomiarów w zakresie 300–700 nm.

2.1.2. Celki szklane o drodze optycznej 1 cm.

2.2. **Odczynniki**

2.2.1. *Kwas barbiturowy, roztwór 0,5 % (m/v).*

Rozpuścić 500 mg kwasu barbiturowego, C₄O₃N₂H₄ w wodzie destylowanej i ogrzać lekko w łaźni wodnej o temperaturze 100 °C. Uzupełnić do 100 ml wodą destylowaną. Roztwór jest trwały przez około tydzień.

2.2.2. *Roztwór paratoluidyny, 10 % (m/v).*

Przenieść 10 g paratoluidyny, C₆H₄(CH₃)NH₂, do kolby miarowej na 100 ml; dodać 50 ml izopropanolu, CH₃CH(OH)CH₃ i 10 ml lodowatego kwasu octowego, CH₃COOH, (ρ₂₀ = 1,05 g/ml). Uzupełnić do 100 ml izopropanolem. Roztwór ten powinien być przygotowywany codziennie.

2.2.3. *Etanal (aldehyd octowy), CH₃CHO, 1-procentowy (m/v) roztwór wodny.*

Przygotować bezpośrednio przed użyciem.

2.2.4. *Hydroksymetylofurfural, C₆O₃H₆, roztwór wodny o stężeniu 1g/l.*

Przygotować serię roztworów o stężeniu 5, 10, 20, 30 i 40 mg/l. Roztwór o stężeniu 1g/l i roztwory rozcieńczone należy przygotowywać na bieżąco.

2.3. **Procedura**

2.3.1. *Przygotowanie próbek*

Użyć roztworu otrzymanego przez rozcieńczenie rektyfikowanego moszczu zagęszczonego do 40 % (m/v), jak opisano w rozdziale „Kwasowość ogólna”, ppkt 5.1.2. Do oznaczania wziąć 2 ml tego roztworu.

▼ **B**2.3.2. *Oznaczanie kolorymetryczne*

Do każdej z dwóch kolb o pojemności 25 ml z doszlifowanym korkiem, oznaczonych *a* i *b*, odmierzyć 2 ml próbki, przygotowanej jak w ppkt 2.3.1. Do każdej kolby dodać 5 ml roztworu paratoluidyny (2.2.2); wymieszać. Do kolby *b* (próbka kontrolna) dodać 1 ml wody destylowanej, a do kolby *a* 1 ml kwasu barbiturowego (2.2.1). Wymieszać dokładnie. Zawartość kolb przenieść do celek spektrofotometru o drodze optycznej 1 cm. Ustawić zero na skali chłonności, używając zawartości kolby *b* przy długości fali 550 nm. Obserwować zmiany chłonności próbki *a*; zapisać najwyższą wartość chłonności *A*, osiąganą po czasie od dwóch do pięciu minut.

Próbki o zawartości hydroksymetylofurfuralu powyżej 30 mg/l należy rozcieńczyć przed analizą.

2.3.3. *Przygotowanie krzywej odwzorowania*

Umieścić 2 ml roztworów hydroksymetylofurfuralu o stężeniu 5, 10, 20, 30 i 40 mg/l (2.2.4) do dwóch zestawów *a* i *b* kolb miarowych na 25 ml i postępować dalej jak w ppkt 2.3.2.

Wykres przedstawiający zależność chłonności od stężenia hydroksymetylofurfuralu w mg/l jest linią prostą przechodzącą przez początek układu współrzędnych.

2.4. **Przedstawianie wyników**

Stężenie hydroksymetylofurfuralu w rektyfikowanych moszczach zagęszczonych wyrażać w miligramach na kilogram cukrów ogółem.

2.4.1. *Metoda obliczania*

Zawartość hydroksymetylofurfuralu *C* w mg/l w badanej próbce jest to stężenie odczytane na krzywej odwzorowania odpowiadające zmierzonej chłonności *A* próbki.

Zawartość hydroksymetylofurfuralu w miligramach na kilogram cukrów ogółem wynosi:

$$250 \times \frac{C}{P}$$

gdzie *P* = procentowa (m/m) zawartość cukrów ogółem w rektyfikowanym moszczu zagęszczonym.

3. WYSOKO SPRAWNA CHROMATOGRAFIA CIECZOWA

3.1. **Aparatura**3.1.1. *Wysoko sprawny chromatograf cieczowy wyposażony w:*

- wtryskiwacz „pętlowy” o pojemności 5 lub 10 µl,
- czujnik spektrofotometryczny do wykonywania pomiarów przy 280 nm,
- kolumnę z fazą stacjonarną oktadecylosilanową (np. Bondapak C18 — Corasil, Waters Ass.),
- rejestrator, najkorzystniej integrator.

Szybkość przepływu fazy ruchomej: 1,5 ml/min.

3.1.2. Aparat do filtracji membranowej, średnica porów 0,45 µm.

3.2. **Odczynniki**

3.2.1. Woda podwójnie destylowana.

3.2.2. Metanol, CH₃OH, destylowany lub o czystości do HPLC.3.2.3. Kwas octowy, CH₃COOH (ρ = 1,05 g/ml).

3.2.4. Faza ruchoma: woda–metanol (3.2.2)—kwas octowy (3.2.3), przefiltrowana uprzednio przez filtr membranowy (0,45 µm), (40:9:1 v/v).

Fazę ruchomą należy przygotowywać codziennie i odgazowywać przed użyciem.

3.2.5. Roztwór wzorcowy hydroksymetylofurfuralu, 25 mg/l (v/v).

Do kolby miarowej na 100 ml przenieść dokładnie odważone 25 mg hydroksymetylofurfuralu, C₆H₈O₆, i uzupełnić do kreski metanolem (3.2.2). Uzyskany roztwór rozcieńczyć metanolem (3.2.2) w stosunku 1:10 i przefiltrować przez filtr membranowy (0,45 µm).

▼ **B**

Roztwór ten, przechowywany w butelce z brązowego szkła w lodówce, jest trwały przez dwa–trzy miesiące.

3.3. **Procedura**3.3.1. *Przygotowanie próbki*

Użyć roztworu otrzymanego przez rozcieńczenie rektyfikowanego moszczu zagęszczonego do 40 % (m/v), jak opisano w rozdziale „Kwasowość ogólna” ppkt 5.1.2, i przefiltrowanego przez filtr membranowy o średnicy porów 0,45 µm.

3.3.2. *Oznaczanie chromatograficzne*

Do chromatografu wprowadzić 5 (lub 10) µl próbki przygotowanej, jak opisano w ppkt 3.3.1, i 5 (lub 10) µl roztworu wzorcowego hydroksymetylofurfuralu (3.2.5). Zarejestrować chromatogram.

Czas retencji hydroksymetylofurfuralu wynosi od około sześciu do siedmiu minut.

3.4. **Przedstawianie Wyników**

Zawartość hydroksymetylofurfuralu w rektyfikowanych moszczach zagęszczonych wyrażana jest w miligramach na kilogram cukrów ogółem.

3.4.1. *Obliczanie wyniku oznaczania*

C oznacza zawartość hydroksymetylofurfuralu w 40-procentowym (m/v) roztworze rektyfikowanego moszczu zagęszczonego w mg/l.

Zawartość hydroksymetylofurfuralu w miligramach na kilogram cukrów ogółem wynosi:

$$250 \times \frac{C}{P}$$

gdzie *P* = procentowa (m/m) zawartość cukrów ogółem w rektyfikowanym moszczu zagęszczonym.

d) **METALE CIĘŻKIE**1. **ZASADA METOD**I. **Szybka metoda szacowania zawartości metali ciężkich**

Metale ciężkie są wykrywane w odpowiednio rozcieńczonym moszczu rektyfikowanym za pomocą reakcji tworzenia ich barwnych siarczków. Ilość metali ciężkich jest szacowana na podstawie porównania z roztworem mianowanym ołowiu, o stężeniu odpowiadającym najwyższej dopuszczalnej ich zawartości.

II. **Oznaczanie zawartości ołowiu metodą spektrofotometrii absorpcji atomowej**

Związek chelatowy powstający w wyniku reakcji ołowiu z pirolidynoditiokarbaminianem wyłączany jest metyloizobutyloketonem, a chłonność mierzy się przy 283,3 nm. Zawartość ołowiu oznacza się przy użyciu szeregu roztworów wzorcowych o znanej zawartości ołowiu.

2. **SZYBKA METODA SZACOWANIA ZAWARTOŚCI METALI CIĘŻKICH**2.1. **Odczynniki**2.1.1. *Rozcieńczony kwas solny, 70 % (m/v).*

Pobrać 70 g kwasu solnego, HCl, ($\rho_{20} = 1,16\text{--}1,19$ g/ml) i uzupełnić wodą do 100 ml.

2.1.2. *Rozcieńczony kwas solny, 20 % (m/v).*

Pobrać 20 g kwasu solnego, HCl ($\rho_{20} = 1,16\text{--}1,19$ g/ml) i uzupełnić do 100 ml wodą.

2.1.3. *Rozcieńczony amoniak. Pobrać 14 g amoniaku, NH₃ ($\rho_{20} = 0,931\text{--}0,934$ g/ml) i uzupełnić wodą do 100 ml.*2.1.4. *Roztwór buforowy o pH 3,5.*

Rozpuścić 25 g octanu amonowego, CH₃COONH₄, w 25 ml wody i dodać 38 ml rozcieńczonego kwasu solnego (2.1.1). Jeżeli potrzeba, nastawić pH za pomocą rozcieńczonego kwasu solnego (2.1.2) lub rozcieńczonego amoniaku (2.1.3) i uzupełnić wodą do 100 ml.

2.1.5. *Roztwór tioacetamidu, C₂H₅SN, 4 % (m/v).*

▼ **B**

- 2.1.6. Roztwór glicerolu, $C_3H_8O_3$, 85 % (m/v) ($n_D^{20\text{ }^\circ\text{C}} = 1,449\text{—}1,455$)
- 2.1.7. *Odczynnik tioacetamidowy*
Do 0,2 ml roztworu tioacetamidu (2.1.5) dodać 1 ml roztworu otrzymanego przez zmieszanie 5 ml wody, 15 ml 1 M roztworu wodorotlenku sodu i 20 ml glicerolu (2.1.6). Ogrzewać w łaźni wodnej w temperaturze 100°C przez 20 sekund. Przygotowywać bezpośrednio przed użyciem.
- 2.1.8. *Roztwór o zawartości ołowiu 0,002 g/l.*
Przygotować roztwór o zawartości ołowiu 1 g/l przez rozpuszczenie 0,400 g azotanu ołowiawego, $Pb(NO_3)_2$ w wodzie i uzupełnienie wodą do 250 ml. Przed użyciem rozcieńczyć roztwór wodą w stosunku dwóch części na 1000 (v/v), otrzymując roztwór o stężeniu 0,002 g/l.
- 2.2. **Procedura**
Rozpuścić badaną próbkę 10 g rektyfikowanego moszczu zagęszczonego w 10 ml wody. Dodać 2 ml roztworu buforowego o pH 3,5 (2.1.4); wymieszać. Dodać 1,2 ml odczynnika tioacetamidowego (2.1.7). Niezwłocznie wymieszać. Przygotować próbkę kontrolną w ten sam sposób, używając 10 ml roztworu ołowiu o stężeniu 0,002 g/l (2.1.8).
Barwa badanej próbki rektyfikowanego moszczu zagęszczonego po 2 minutach nie powinna być intensywniejsza od barwy próbki kontrolnej.
- 2.3. **Obliczenia**
W warunkach powyższego oznaczania próbka kontrolna odpowiada maksymalnej dopuszczalnej zawartości metali ciężkich, wyrażonej w przeliczeniu na ołów, w wysokości 2 mg/kg rektyfikowanego moszczu zagęszczonego.
3. **OZNACZANIE ZAWARTOŚCI OŁOWIU METODĄ SPEKTROFOTOMETRII ABSORPCJI ATOMOWEJ**
- 3.1. **Aparatura**
- 3.1.1. Spektrofotometr absorpcji atomowej wyposażony w palnik powietrzno-acetylowy.
- 3.1.2. Lampa ołowiowa z katodą wnątkową.
- 3.2. **Odczynniki**
- 3.2.1. *Rozcieńczony kwas octowy.*
Pobrać 12 g lodowego kwasu octowego ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml) i uzupełnić do 100 ml wodą.
- 3.2.2. Roztwór pirolidynoditiokarbaminianu, $C_5H_{12}N_2S_2$, 1 % (m/v).
- 3.2.3. Metyloizobutyloketon, $(CH_3)_2CHCH_2COCH_3$.
- 3.2.4. Roztwór zawierający 0,010 g ołowiu w litrze.
Roztwór ołowiu o stężeniu 1 g/l (2.1.8) rozcieńczyć do 1 n% (v/v).
- 3.3. **Procedura**
- 3.3.1. *Przygotowanie roztworu do badania*
Rozpuścić 10 g rektyfikowanego moszczu zagęszczonego w mieszaninie składającej się z równych objętości rozcieńczonego kwasu octowego (3.2.1) i wody i uzupełnić do 100 ml tą mieszaniną.
Dodać 2 ml roztworu pirolidynoditiokarbaminianu amonowego (3.2.2) i 10 ml metyloizobutyloketonu (3.2.3) Wyrząsać przez 30 sekund, chroniąc przed dostępem światła. Pozostawić do rozdzielenia się dwóch warstw. Do analizy pobrać warstwę metyloizobutyloketonu.
- 3.3.2. *Przygotowanie roztworów wzorcowych*
Przygotować trzy roztwory wzorcowe zawierające, oprócz 10 g rektyfikowanego moszczu zagęszczonego, odpowiednio 1, 2 i 3 ml roztworu o stężeniu 0,010 g/l ołowiu (3.2.4). Postępować dalej tak jak z roztworem badanej próbki.
- 3.3.3. *Próba ślepa*
Przygotować próbę ślepa jak w ppkt 3.3.1, ale bez dodatku rektyfikowanego moszczu zagęszczonego.

▼ **B**3.3.4. *Oznaczanie*

Ustawić długość fali na 283,3 nm.

Rozpylić ekstrakt metyloizobutyloketonowy z próby ślepej w płomieniu i wyzerować skalę chłonności.

Zmierzyć chłonność ekstraktów uzyskanych z badanego roztworu i z roztworów wzorcowych.

3.4. **Przedstawianie wyników**

Zawartość ołowiu wyrażać w miligramach na kilogram rektyfikowanego moszczu zagęszczonego z dokładnością do jednego miejsca dziesiętnego.

3.4.1. *Obliczenia*

Wykreślić krzywą obrazującą zróżnicowanie chłonności w stosunku do zawartości ołowiu w roztworach wzorcowych, przy czym wartość chłonności odpowiada badanemu roztworowi.

Ekstrapolować linię prostą łączącą punkty do przecięcia się z ujemną częścią osi stężenia. Odległość punktu przecięcia od początku układu współrzędnych wyznacza zawartość ołowiu w badanym roztworze.

e) **CHEMICZNE OZNACZANIE ALKOHOLU ETYLOWEGO**

Metoda ta służy do oznaczania alkoholu w cieczach o niskiej zawartości alkoholu, takich jak moszcze, moszcze zagęszczone i rektyfikowane moszcze zagęszczone.

1. **ZASADA METODY**

Zwykła destylacja badanej cieczy. Utlenianie alkoholu etylowego w destylacie dichromianem potasu. Miareczkowanie nadmiaru dichromianu potasu roztworem żelaza (II).

2. **APARATURA**2.1. **Użyć aparatu destylacyjnego opisanego w rozdziale „Objętościowa zawartość alkoholu”, ppkt 3.2.**3. **ODCZYNNIKI**3.1. **Roztwór dichromianu potasu:**

Rozpuścić 33,600 g dichromianu potasu, $K_2Cr_2O_7$ w wodzie i uzupełnić do objętości 1 litra w temperaturze 20 °C.

1 mililitr tego roztworu utlenia 7,8924 mg alkoholu.

3.2. **Roztwór siarczanu amonu żelaza (II)**

Rozpuścić 135 g siarczanu amonu żelaza (II), $FeSO_4 \cdot (NH_4)_2SO_4 \cdot 6H_2O$ w wodzie, uzupełnić do 1 litra i dodać 20 ml stężonego kwasu siarkowego, H_2SO_4 ($r_{20} = 1,84$ g/ml). Pół objętości tego roztworu odpowiada mniej więcej objętości roztworu dichromianu potasu świeżo przygotowanego. Z tego względu powoli ulega utlenianiu.

3.3. **Roztwór nadmanganianu potasu.**

Rozpuścić 1,088 g nadmanganianu potasu, $KMnO_4$, w wodzie i uzupełnić do jednego litra.

3.4. **Kwas siarkowy rozcieńczony w stosunku 1:2 (v/v).**

Małymi porcjami, i stale mieszając, dodać 500 ml kwasu siarkowego, H_2SO_4 , ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml) do 500 ml wody.

3.5. **Odczynnik żelazawo-ortofenantrolinowy.**

Rozpuścić 0,695 g siarczanu żelaza, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ w 100 ml wody, dodać 1,485 g jednowodnej ortofenantroliny, $C_{12}H_8N_2$, H_2O . Podgrzać, aby ułatwić rozpuszczanie. Otrzymany jasnoczerwony roztwór jest trwały.

4. **PROCEDURA**4.1. **Destylacja**

W kolbie destylacyjnej umieścić 100 g rektyfikowanego moszczu zagęszczonego i 100 ml wody. Zbierać destylat w kolbie miarowej na 100 ml i uzupełnić wodą do kreski.

▼ **B**4.2. **Utlenianie**

Wziąć kolbę z doszlifowanym korkiem i z rozszerzoną szyjką, umożliwiającą przepłukiwanie szyjki bez strat. W kolbie umieścić 20 ml roztworu dichromianu potasu (3.1) i 20 ml kwasu siarkowego rozcieńczonego w stosunku 1:2 (3.4) i wstrząsnąć. Dodać 20 ml destylatu. Zamknąć kolbę korkiem, wstrząsnąć i odczekać co najmniej 30 minut, wstrząsając od czasu do czasu. (Kolba ta nazywana jest kolbą „pomiarową”.)

Odmiareczkować roztwór dichromianu potasu roztworem siarczanu amonu żelaza (II) (3.2), umieszczając w identycznej kolbie taką samą ilość odczynników, ale zastępując 20 ml destylatu 20 ml wody destylowanej. (Kolba ta nazywana jest kolbą „kontrolną”.)

4.3. **Miareczkowanie**

Do kolby „pomiarowej” dodać cztery krople odczynnika ortofenantrolinowego (3.5). Odmiareczkować nadmiar dichromianu potasu za pomocą roztworu siarczanu amonu żelaza (II) (3.2). Miareczkowanie zakończyć w chwili zmiany barwy roztworu z zielononiebieskiej na brązową.

W celu dokładniejszego uchwycenia punktu końcowego miareczkowania należy zmienić barwę roztworu z powrotem z brązowej na zielononiebieską za pomocą roztworu nadmanganianu potasu (3.3). Jedną dziesiątą objętości zużytego roztworu nadmanganianu odjąć od objętości zużytego roztworu siarczanu amonu żelaza (II). Niech n oznacza uzyskaną różnicę w ml.

Postępować tak samo z roztworem w kolbie „kontrolnej”. Niech n' oznacza różnicę uzyskaną w tym przypadku w ml.

5. **PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW**

Zawartość etanolu wyrażana jest w gramach na kilogram cukrów i jest podawana z dokładnością do jednego miejsca po przecinku.

5.1. **Metoda obliczania**

Niech n' ml roztworu soli żelaza (II) redukuje 20 ml roztworu dichromianu potasu, która to ilość utlenia 157,85 mg czystego alkoholu etylowego.

1 mililitr roztworu żelaza (II) wykazuje taką samą zdolność redukcyjną jak

$$\frac{157,85}{n'} \text{ mg etanolu.}$$

$n - n'$ ml roztworu żelaza (II) wykazuje taką samą zdolność redukcyjną jak

$$\frac{157,85(n - n')}{n'} \text{ mg etanolu}$$

Zawartość etanolu w g/kg rektyfikowanego moszczu zagęszczonego wynosi:

$$7,892 \times \frac{(n' - n)}{n}$$

Zawartość etanolu w g/kg cukrów ogółem wynosi:

$$789,2 \times \frac{(n' - n')}{n'P}$$

gdzie P = procentowa (m/m) zawartość cukrów ogółem.

f) **MEZOINOZYTOL, SCYLLOINOZYTOL I SACHAROZA**1. **ZASADA**

Chromatografia gazowa pochodnych silylowych.

2. **ODCZYNNIKI**

2.1. Wzorzec wewnętrzny: ksylitol (roztwór wodny o stężeniu około 10 g/l, do którego dodano na końcu łopatkę azydku sodu)

2.2. Bis(trimetylosililo)trifluoroacetamid — BSTFA — (C₈H₁₈F₃NOSi₂)

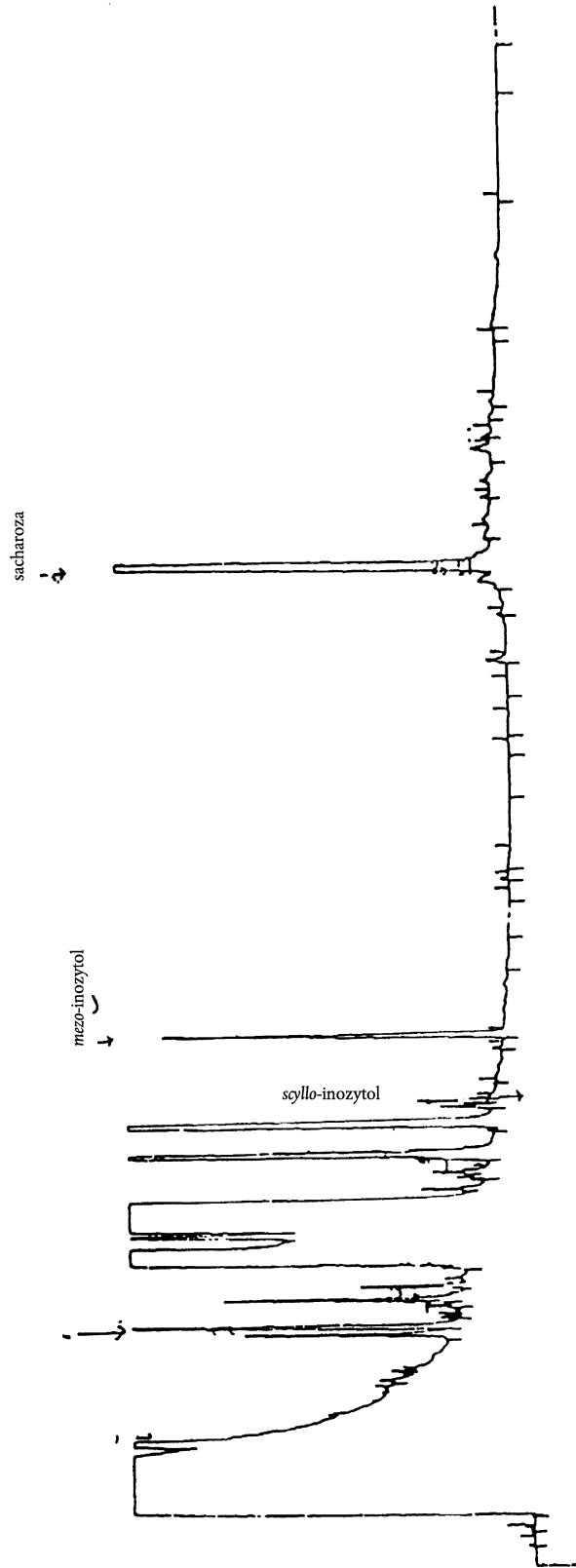
2.3. Trimetylochlorosilan (C₃H₉ClSi)

2.4. Pirydyna (C₅H₅N)

▼B

- 2.5. Mezoinozytol ($C_6H_{12}O_6$)
3. APARATURA
- 3.1. Chromatograf gazowy wyposażony w:
- 3.2. Kolumnę kapilarną (np. ze stopionej krzemionki, pokryta fazą OV 1 o grubości 0,15 μm , o długości 25 m i średnicy wewnętrznej 0,3 mm)
- Warunki rozdziału:
- gaz nośny: wodór lub hel,
 - szybkość przepływu gazu nośnego: około 2 ml/min,
 - temperatura komory nastrzykowej i detektora: 300 °C,
 - program temperaturowy: 1 minuta w temperaturze 160 °C, wzrost temperatury 4 °C/min do temperatury 260 °C, stała temperatura 260 °C przez 15 minut,
 - stosunek podziału próbki: około 1:20.
- 3.3. Integrator.
- 3.4. Mikrostrzykawka, 10 μl .
- 3.5. Mikropipety, 50, 100 i 200 μl .
- 3.6. Kolba na 2 ml z korkiem teflonowym.
- 3.7. Piec.
4. METODA DZIAŁANIA
- Dokładnie odważoną próbkę rektyfikowanego moszczu zagęszczonego o masie około 5 g umieścić w kolbie na 50 ml. Dodać 1 μl roztworu mianowanego ksylitolu (2.1) i dopełnić wodą do kreski. Po wymieszaniu pobrać 100 μl roztworu i przenieść do kolby (3.6), w której jest on odparowywany delikatnym strumieniem powietrza. Jeśli potrzeba, w celu ułatwienia odparowywania można dodać 100 μl bezwodnego alkoholu etylowego.
- Pozostałość ostrożnie rozpuścić w 100 μl pirydyny (2.4) i dodać 100 μl bis(trimetylosililo)tetrafluoroacetamidu (2.2) oraz 10 μl tetrametylochlorosilanu (2.3). Kolbę zamknąć korkiem teflonowym i ogrzewać w temperaturze 60 °C przez jedną godzinę.
- Pobrać do strzykawki 0,5 μl klarownego płynu i wstrzyknąć do chromatografu, używając ogrzanej igły, zgodnie z podanym stosunkiem podziału dzielnika.
5. OBLICZANIE WYNIKÓW
- 5.1. Przygotować roztwór zawierający:
- 60 g/l glukozy, 60 g/l fruktozy, 1 g/l mezoinozytolu i 1 g/l sacharozy.
- Odważyć 5 g roztworu i postępować jak w pkt 4. Wyniki dla mezoinozytolu i sacharozy w stosunku do ksylitolu obliczyć na podstawie chromatogramu.
- W przypadku scylloinozytolu, który nie jest dostępny w handlu, a jego czas retencji znajduje się między ostatnim pikiem anomerycznej formy glukozy i pikiem mezoinozytolu (patrz chromatogram na stronie sąsiedniej), przyjmuje się taki sam wynik jak dla mezoinozytolu.
6. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW
- 6.1. Zawartość mezoinozytolu i scylloinozytolu wyrażana jest w miligramach na kilogram cukrów. Zawartość sacharozy wyrażana jest w gramach na kilogram moszczu.

▼B



Chromatogram mezoinozytolu, scylloinozytolu i sacharozy w fazie gazowej

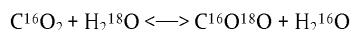
▼ **M6****43. OZNACZANIE STOSUNKU IZOTOPOWEGO ¹⁸O/¹⁶O ZAWARTOŚCI WODY W WINACH****I. OPIS METODY****1. Cel metody**

Celem tej metody jest pomiar stosunku izotopowego ¹⁸O/¹⁶O wód różnego pochodzenia. Stosunek izotopowy ¹⁸O/¹⁶O może być wyrażony w odchyleniu δ ‰ w stosunku do wartości stosunku izotopowego międzynarodowego odniesienia V.SMOW:

$$\delta i\text{‰} \left[\frac{R_i}{R_{\text{SMOW}}} - 1 \right] \times 1000$$

2. Zasada

Stosunek izotopowy ¹⁸O/¹⁶O jest ustalany za pomocą spektrometrii mas stosunków izotopowych (MSIR) z prądów jonowych o wartościach m/z 46 (¹²C ¹⁸O/¹⁶O) i m/z 44 (¹²C¹⁶O₂) wytworzonych przez dwutlenek węgla, uzyskany po wymianie z wodą w winie zgodnie z następującą reakcją:



Dwutlenek węgla w fazie gazowej jest wykorzystywany do analizy.

3. Odczynniki

- dwutlenek węgla do analizy,
- SMOW (Standard Mean Ocean Water),
- GISP (Greenland Ice Sheet Precipitation),
- SLAP (Standard Light Arctic Precipitation),
- woda wzorcowa, właściwa dla laboratorium, dokładnie znormalizowana w stosunku do próbki odniesienia Międzynarodowej Agencji Energii Atomowej w Wiedniu (IAEA).

4. Wyposażenie laboratoryjne

- spektrometr masowy do oznaczania stosunków izotopowych z wewnętrzną powtarzalnością 0,05 ‰,
- potrójny kolektor do jednoczesnego rejestrowania jonów o stosunku m/z 44, 45 i 46 lub, standardowo, podwójny kolektor do pomiaru jonów o stosunku m/z 44 i 46,
- układ termostatyczny (± 0,5 °C) do wykonywania równoważenia między CO₂ i zawartością wody w winie,
- pompa próżniowa mogąca osiągnąć wewnętrzne ciśnienie 0,13 Pa,
- fiolki na próbki o pojemności 15 ml i dodatkowa rurka kapilarna o średnicy wewnętrznej około 0,015 mm,
- pipeta Eppendorfa z plastikową nasadką stożkową jednorazowego użytku.

5. Oznaczenie eksperymentalne**5.1. Metoda ręczna**

Sposób postępowania przy metodzie równoważenia

Wprowadzenie próbki

- Należy wziąć pipetę Eppendorfa o ustalonej pojemności 1,5 ml, nałożyć stożek i pompować ciecz, która ma być poddana analizie, tak by znalazła się w szklanym balonie kolby. Następnie za pomocą smaru silikonowego uszczelnić szyjkę kolby balonu i przyłączyć ją do zaworu, sprawdzając jednocześnie, czy jest ona szczelnie zamknięta,
- Powtórzyć czynność dla każdej kolby balonu znajdującej się na rampie roboczej podczas wprowadzania laboratoryjnej wody wzorcowej do jednego ze szklanych balonów.

Odgazowywanie rampy

Obie rampy schładza się ciekłym azotem, a następnie cały układ jest oczyszczany do 0,1 mm Hg poprzez otwarcie zaworów.

▼ **M6**

Następnie zawory są zamykane i całość podgrzewana. Cykl odgazowywania powtarzany jest dotąd, dopóki nie będzie już zmian ciśnienia.

Równoważenie wody i CO₂

Należy ochłodzić rampy robocze do -70 °C (mieszanina ciekłego azotu i alkoholu), aby zamrozić wodę i umieścić ją całą w próżni. Po stabilizacji próżni wyizolować rampę poprzez uczynienie zaworów i oczyszczenie układu wprowadzania CO₂. Wprowadzić CO₂ w stanie gazowym do rampy roboczej po wyizolowaniu jej uprzednio z reszty układu, umieścić rampę w kąpielii termostatycznej o temperaturze 25 °C (± 0,5 °C) na 12 godzin (jedna noc). W celu zoptymalizowania czasu potrzebnego na przeprowadzenie równoważenia wskazane jest przygotowanie próbek pod koniec dnia, żeby pozwolić w ten sposób na ustalenie się równowagi przez noc.

Przenoszenie CO₂ wymienionego w ogniwach pomiarowych

Uchwyt z próbkami przytrzymujący tyle ogniw pomiarowych, ile szklanych kolb balonów zawierających wymieniony CO₂, mocowany jest na pustej linii obok rampy roboczej. Puste ogniwa są dokładnie oczyszczone, wymienione gazy zawarte w szklanych balonach przeniesione jeden po drugim do ogniw pomiarowych, które zostały schłodzone ciekłym azotem. Następnie ogniwa pomiarowe ogrzewa się w temperaturze pokojowej.

5.2. *Zastosowanie aparatury automatycznej wymiany*

Aby przeprowadzić równoważenie, fiołki na próbki wypełnia się albo 2 ml wina, albo 2 ml wody (wzorcowa woda w warunkach laboratoryjnych) i ochładza się je do temperatury -18 °C. Prowadnice z próbkami zawierającymi zamrożone produkty przyłączane są do układu równoważenia i, po wytworzeniu w układzie próżni, wprowadzany jest dwutlenek węgla pod ciśnieniem 800 hPa.

Równowagę osiąga się w temperaturze 22 ± 0,5 °C po minimalnym czasie pięciu godzin i umiarkowanym wstrząsaniu. Ponieważ czas trwania równoważenia zależy od geometrii fiołki, optymalny czas trwania powinno się ustalić najpierw dla wykorzystywanego układu.

Dwutlenek węgla zawarty we fiołkach jest następnie przenoszony do komory wprowadzającej spektrometru masowego poprzez rurkę kapilarną i pomiar jest dokonywany zgodnie z określonym protokołem dla każdego rodzaju sprzętu.

6. **Obliczanie i wyrażanie wyników**

Względna różnica δ stosunku natężenia jonów o wartości m/z 46 i 44 (I_{46}/I_{44}) między próbka i odniesieniem jest wyrażona w ‰ poprzez następujące równanie:

$$\delta \text{ sample} \left[\frac{(I_{46}/I_{44}) \text{ sample}}{(I_{46}/I_{44}) \text{ reference}} - 1 \right] \times 1000$$

Zawartość tlenu ¹⁸O w próbce w porównaniu z odniesieniem V. SMOW na skali V.SMOW/SLAP podaje następująca relacja:

$$\delta^{18}\text{O} \left[\frac{\delta \text{ sample} - \delta \text{ SMOW}}{\delta \text{ SMOW} - \delta \text{ SLAP}} \right] \times 55,5$$

Wartość przyjęta dla SLAP jest równa - 55,5 ‰ w porównaniu z V. SMOW. Stosunek izotopowego odniesienia ustala się po każdej serii 10 pomiarów na nieznanymi próbkach.

7. **Wierność**

- powtarzalność (r) jest równa 0, 24 ‰
- odtwarzalność (R) jest równa 0,50 ‰.

▼ **M7****44. OKREŚLENIE KARBAMINIANU ETYLU W WINIE: METODA SELEKTYWNEGO WYKRYWANIA PRZY ZASTOSOWANIU CHROMATOGRAFII GAZOWEJ/SPEKTROMETRII MASOWEJ**

(Stosowana do określania karbaminianu etylu dla stężeń między 10 a 200 µg/l)

(Uwaga: postępować zgodnie z zasadami bezpieczeństwa dotyczącymi użycia takich chemikaliów, jak: alkohol etylowy, aceton oraz produkty rakotwórcze (karbaminian etylu oraz dichlorometan). Pozbywać się rozpuszczalników we właściwy sposób, zgodnie z obowiązującymi przepisami prawa w zakresie ochrony środowiska).

A. Zasada

Karbaminian propylu dodaje się do próbki jako standard wewnętrzny, roztwór rozcieńcza się wodą i umieszcza w kolumnie ekstrakcyjnej fazy stałej 50 ml. Karbaminian etylowy i karbaminian propylowy są eluowane dichlorometanem.

Eluat ulega stężeniu w obrotowej wyparce próżniowej. Stężenie jest analizowane przy użyciu chromatografii gazowej (GC). Wykrywanie w zastosowaniu spektrometrii masowej z użyciem fragmentometrii w trybie SIM (monitorowanie wybranych jonów).

B. Aparatura i warunki chromatograficzne (przykład)

a) Chromatogram gazowy/spektrometr masowy (GC/MS) i, w razie konieczności, filtr próbki oraz system przetwarzania danych lub równoważnik

Kolumna kapilarna kwarcowa 30 m (*) × 0,25 mm średnica wewnętrzna, 0,25 µg Carbowax 20 M

Operacja: wtryskiwacz 180 °C, przewodnik helowy 1 ml/minutę przy 25 °C, wtrysk bezrozlewczy

Temperatura programu: 40 °C przez 0,75 minuty, wzrastająca następnie o 10 °C/minutę, aż do 60 °C, potem o 3 °C/minutę aż do 150 °C (**), wzrastająca do 220 °C i utrzymująca się przez 4,25 minuty. Charakterystyczny czas retencji karbaminianu etylu wynosi 23-27 minut, karbaminianu propylowego 27-31 minut.

Połączenie chromatogramu gazowego/spektrometru (GC/MS): linia przesyłowa 220 °C. Parametry spektrometru masowego ustawiane ręcznie z perfluorotributyloaminą i optymalizowany dla niższej czułości masowej, sposób akwizycji SIM, opóźnienie rozpuszczalnika i początek zbierania danych 22 minuty, magazynowanie danych/jon 100 ms.

b) Obrotowa wyparka próżniowa lub system koncentracyjny podobny do duńskiego Kuderna.

(Uwaga: stopień odzysku karbaminianu etylowego z próbki do badań, pkt C lit. g), musi wynosić między 90 a 110 % w czasie trwania procesu.)

c) Kolba – gruszkowa, 300 ml, pojedynczy korek szklany

d) Próbówka zagęszczająca – 4 ml, z podziałką, z połączeniem pokrytym teflonem i korkiem

C. Odczynniki

a) Aceton – jakość LC

(Uwaga: odnośnie do każdej partii przed użyciem GC/MS sprawdzić, czy nie są wykrywalne jony m/z 62, 74 i 89.)

b) Dichlorometan

(Uwaga: dokonać analizy każdej partii przed użyciem w GC/MS po stężeniu zwiększonym 200-krotnie, aby sprawdzić, czy nie są wykrywalne jony m/z 62, 74 i 89.)

c) Alkohol etylowy – bezwodny

(*) Dla określonych szczególnie bogatych win użycie kolumny kapilarej 50 m.

(**) Dla określonych szczególnie bogatych win może być konieczne zastosowanie programu temperatury 2 °C/minutę.

▼ **M7**

- d) Karbominian etylu (EC), roztwory standardowe
1. Roztwór podstawowy – 1,00 mg/ml. Odważyć 100 mg EC (czystość 99 %) w kolbie pomiarowej na 100 ml i rozcieńczyć acetonem.
 2. Standardowy roztwór roboczy – 10,0 µg/ml. Przenieść 1 ml roztworu podstawowego do kolby pomiarowej na 100 ml i rozcieńczyć acetonem dodanym do poziomu cechy.
- e) Karbaminian propylu (PC), roztwory standardowe
1. Roztwór podstawowy – 1,00 mg/ml. Odważyć 100 mg PC (odczynniki czyste do analizy) w kolbie pomiarowej 100 ml i rozcieńczyć acetonem dodanym do poziomu cechy.
 2. Standardowy roztwór roboczy – 10,0 µg/ml. Przenieść 1 ml roztworu podstawowego PC do kolby pomiarowej 100 ml i rozcieńczyć acetonem dodanym do poziomu cechy.
 3. Roztwór wzorca wewnętrznego PC – 400 ng/ml. Przenieść 4 ml roztworu podstawowego PC do kolby pomiarowej na 100 ml i rozcieńczyć wodą do poziomu cechy.
- f) Roztwory kalibrowane standardowo EC-PC
- Rozcieńczyć standardowy roztwór roboczy EC lit. d) pkt 2 oraz standardowy roztwór roboczy PC lit. e) pkt 2 z użyciem dichlorometanu w celu uzyskania:
- 1) (100 ng EC i 400 ng PC)/ml;
 - 2) (200 ng EC i 400 ng PC)/ml;
 - 3) (400 ng EC i 400 ng PC)/ml;
 - 4) (800 ng EC i 400 ng PC)/ml;
 - 5) (1600 ng EC i 400 ng PC)/ml;
- g) Próbkę do badań – 100 ng EC/ml w 40 % alkoholu etylowego
- Przenieść 1 ml standardowego roztworu roboczego EC, lit. d) pkt 2, do kolby pomiarowej na 100 ml i rozcieńczyć 40-procentowym alkoholem etylowym dodanym do poziomu cechy.
- h) Kolumna ekstrakcyjna fazy stałej – materiał jednorazowy, paczkowany z ziemią okrzemkową, objętość 50 ml
- Uwaga:* Przed analizą sprawdzić stopień odzyskania EC i PC dla każdej partii kolumn ekstrakcyjnych oraz czy nie są wykrywalne jony m/z 62,74 i 89. Przygotować 100 ng EC/ml próbki do badań lit. g). Dokonać analizy 5,00 ml próbki do badań według opisu w pkt D lit. a), pkt E i F. Odzysk 90-110 ng substancji EC/ml jest wynikiem zadowalającym. Absorbenty, których średnica cząstek jest nieregularna, mogą doprowadzić do zwolnienia przepływu, co wpływa na odzysk EC i PC. Jeśli po kilku próbach nie można uzyskać wartości próbki do badań 90-110 %, należy zmienić kolumnę lub użyć skorygowanej krzywej kalibracyjnej odzysku dla określenia ilościowego EC. W celu uzyskania skorygowanej krzywej kalibracyjnej należy przygotować roztwory standardowe zgodnie z opisem w lit. f), z użyciem 40-procentowego alkoholu etylowego zamiast dichlorometanu.
- Dokonać analizy 1 ml standardowego roztworu kalibracyjnego zgodnie z opisem w pkt D, E i F.
- Ustalić nową krzywą kalibracyjną z użyciem stosunku EC/PC wyekstrahowanych standardów.

D. Przygotowanie próbki do badań

Umieścić następujące objętości materiałów do badania w dwóch oddzielnych zlewkach na 100 ml:

- a) wina o zawartości alkoholu ponad 14 %: 5,00 ± 0,01 ml;
- b) wina o maksymalnej zawartości alkoholu 14 %: 20,00 ± 0,01 ml.

Do każdej zlewki dodać 1 ml roztworu wzorca wewnętrznego PC pkt C lit. e) pkt 3 i wodę w celu otrzymania całkowitej objętości 40 ml (lub 40 g).

▼ **M7****E. Ekstrakcja**

Ekstrakcję należy przeprowadzać pod kapturem ekstraktora, przy odpowiedniej wentylacji.

Przenieść próbkę przygotowaną w pkt D do kolumny ekstrakcyjnej.

Przepłukać zlewkę 10 ml wody i przenieść wodę płuczącą do kolumny.

Pozostawić ciecz do absorpcji na kilka minut. Eluować z użyciem 2×80 ml dichlorometanu. Zebrać eluat w kolbie stożkowej na 300 ml.

Eluować 2-3 ml w obrotowej wyparce łaźni wodnej przy 30 °C. (*Uwaga:* nie dopuścić do zagotowania na sucho.)

Przenieść stężoną pozostałość do rurki z podziałką 4 ml z użyciem pipety Pasteura.

Przepłukać kolbę 1 ml dichlorometanu i przenieść ciecz płuczącą do rurki. Stężyć próbkę do 1 ml pod słabym strumieniem nitrogeneru.

W razie konieczności przenieść koncentrat do kolby do automatycznego pobierania próbek dla analizy GC/MS.

F. Analiza GC/MC**a) Krzywa odwzorowania**

Wstrzyknąć 1 µl każdego standardowego roztworu kalibracji pkt C lit. f) do GC/MS. Narysować wykres pola stosunku EC-PC dla obecności jonu m/z 62 na pionowej osi oraz ilość EC w ng/ml na osi poziomej (100, 200, 400, 800, 1600 ng/ml).

b) Kwantyfikacja EC

Wstrzyknąć 1 µl stężonego ekstraktu przygotowanego w pkt E do systemu GC/MS i obliczyć pole stosunku EC/PC dla obecności jonu m/z 62. Ustalić stężenie EC (ng/ml) w ekstrakcie z użyciem krzywej odwzorowania standardów wewnętrznych. Obliczyć stężenie EC w próbce do badań (ng/ml), dzieląc ilość EC (ng) w ekstrakcie przez objętość próbki do badań (ml).

c) Potwierdzenie tożsamości EC

Ustalić, czy obecność jonów m/z 62, 74 i 89 odnotowuje się w okresie retencji EC. Obecności te są cechami głównych fragmentów odpowiednio $(M-C_2H_2)^+$ i $(M-CH_3)^+$ i jonu cząsteczkowego $(M)^+$. Obecność EC jest potwierdzona, jeśli względne stosunki tych jonów mieszczą się w obrębie 20 % stosunków dla standardu EC. Może zaistnieć potrzeba dalszego stężenia ekstraktu w celu uzyskania wystarczającej obecności jonu m/z 89.

G. Zbiorcza analiza

Tabela pokazuje indywidualne wyniki do przygotowania próbki rozproszonej dla obydwu rodzajów wina.

Badanie Cochran'a doprowadziło do eliminacji jedynie jednej pary wyników, dla wina o zawartości alkoholu powyżej 14 % i dla wina o zawartości alkoholu wynoszącej 14 % lub mniej, z dwóch różnych laboratoriów.

Względna odtwarzalność (RSDR) wykazuje tendencje do obniżania się przy wzroście stężenia karbaminianu etylu.

Przedstawienie metody dla określenia karbaminianu etylu EC w napojach alkoholowych metodą GC/MS

Próbka	Średnia ilość wykrytego EC (ng/ml)	Regeneracja dodanego EC (%)	Sr	SR	RSDr (%)	RSDR (%)
Wina > 14 % vol	40		1,59	4,77	4,01	12,02
	80	89	3,32	7,00	4,14	8,74
	162	90	8,20	11,11	5,05	6,84

▼ M7

Próbka	Średnia ilość wykrytego EC (ng/ml)	Regeneracja dodanego EC (%)	Sr	SR	RSDr (%)	RSDR (%)
Wina 14 % vol	11		0,43	2,03	3,94	18,47
	25	93	1,67	2,67	6,73	10,73
	48	93	1,97	4,25	4,10	8,86

▼ **M10****45. OZNACZANIE INTENSYWNOŚCI ¹³C/¹²C METODĄ SPEKTOMETRII MASOWEJ IZOTOPÓW W ALKOHOLU ETYLOWYM WINA LUB ALKOHOLU ETYLOWYM UZYSKANYM W WYNIKU FERMENTACJI MOSZCZU, ZAGĘSZCZONEGO MOSZCZU LUB REKTYFIKOWANEGO MOSZCZU ZAGĘSZCZONEGO**

1. ZAKRES ZASTOSOWANIA

Ta metoda umożliwia pomiar stosunku intensywności izotopów ¹³C/¹²C w winnym alkoholu etylowym i alkoholu etylowym uzyskanym z fermentacji produktów z winorośli (moszczu, moszczu zagęszczonego, rektyfikowanego moszczu zagęszczonego).

2. NORMY REFERENCYJNE

ISO:	5725:1994 „Dokładność (prawdziwość i precyzja) metod pomiarowych oraz wyników: Podstawowa metoda oznaczania powtarzalności i odtwarzalności standardowej metody pomiarowej”.
V-PDB:	Vienna-Pee-Dee Belemnite (RPDB = 0,0112372).
Metoda 8 załącznika do niniejszego rozporządzenia:	„Wykrywanie wzbogacania moszczu gronowych, zagęszczonych moszczu gronowych, rektyfikowanych zagęszczonych moszczu gronowych i win metodą magnetycznego rezonansu jądrowego deuteru (SNIF-NMR)”.

3. TERMINY I DEFINICJE

¹³ C/ ¹² C:	stosunek intensywności izotopów węgla 13 (¹³ C) do węgla 12 (¹² C) dla danej próbki.
δ ¹³ C:	zawartość węgla 13 (¹³ C) wyrażona w cząstkach na 1000 (‰).
SNIF-NMR:	frakcjonowanie poszczególnego badanego izotopu naturalnego poprzez magnetyczny rezonans jądrowy.
V-PDB:	Vienna-Pee-Dee Belemnite. PDB jest pierwotnym materiałem odniesienia dla pomiaru naturalnej zmienności zawartości izotopu węgla 13, składającą się z węglanu wapnia formacji belemnitowej z okresu kredowego z Południowej Karoliny (USA). Jego stosunek intensywności izotopów ¹³ C/ ¹² C lub RPDB wynosi 0,0112372. Zasoby PDB są od dawna wyczerpane, lecz pozostają pierwotnym odniesieniem dla wyrażania naturalnej zmienności zawartości izotopu węgla 13, według którego kalibrowany jest materiał odniesienia dostępny w Międzynarodowej Agencji Energii Atomowej (MAEA) w Wiedniu (Austria). Wskazania izotopowe naturalnie występującego węgla 13 są zwyczajowo wyrażane w stosunku do V-PDB.
m/z:	stosunek masy do ładunku.

4. ZASADA

Podczas fotosyntezy asymilacja ditlenku węgla przez rośliny odbywa się na zasadzie dwóch głównych rodzajów metabolizmu, metabolizmu C₃ (cykl Calvina) i metabolizmu C₄ (Hatch i Slack). Te dwa mechanizmy fotosyntezy powodują różny typ frakcjonowania izotopów. Produkty roślin C₄, takie jak cukry i alkohol powstające w wyniku fermentacji, mają wyższe poziomy węgla 13 niż podobne produkty roślin C₃. Większość roślin, włączając winorośl i buraki cukrowe, należą do grupy roślin C₃. Trzcina cukrowa i kukurydza należą do grupy C₄. Pomiar zawartości węgla 13 umożliwia wykrywanie i ocenę cukrów pochodzenia z grupy C₄ (trzcina cukrowa lub izoglukoza z kukurydzy) dodanych do produktów winogronowych (moszczu gronowego, win itp.). Informacje na temat zawartości węgla 13 powiązane z tymi otrzymanymi w wyniku SNIF-NMR umożliwiają ustalenie dodanych ilości mieszanin cukrów lub alkoholi pochodzących z roślin typu C₃ i C₄.

Zawartość węgla 13 ustalana jest na ditlenku węgla wyprodukowanym podczas całkowitego spalania próbki. Rozpowszechnienie głównych izotopomerów o masach 44 (¹²C¹⁶O₂), 45

▼ **M10**

($^{13}\text{C}^{16}\text{O}_2$ i $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$) oraz 46 ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$), wynikających z różnych możliwych kombinacji izotopów ^{18}O , ^{17}O , ^{16}O , ^{13}C i ^{12}C , ustala się na podstawie prądów jonowych mierzonych przez trzy różne kolektory spektrometru mas izotopów. Udział izotopomerów $^{13}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$ i $^{12}\text{C}^{17}\text{O}_2$ może być pominięty pod warunkiem ich niskich poziomów. Prąd jonowy $m/z = 45$ koryguje się dla składu $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$, który jest obliczany zgodnie z natężeniem prądu dla $m/z = 46$, przy uwzględnieniu względnego rozpow szechnienia ^{18}O i ^{17}O (poprawka Craiga). Porównanie z odniesieniem kalibrowanym względem międzynarodowego odniesienia V-PDB pozwala na obliczenie zawartości węgla 13 na skali względnej $\delta^{13}\text{C}$.

5. ODCZYNNIKI

Materiał oraz paliwo zależą aparatury (pkt 6) używanej w laboratorium. Układy zwykle stosowane opierają się na analizatorach elementarnych. Te układy mogą być wyposażone tak, aby umożliwić wprowadzenie próbki umieszczonej w zapieczętowanych metalowych kapsułkach lub wstrzyknięcie strzykawką przez korek próbek płynnych.

W zależności od rodzaju stosowanych przyrządów następujące materiały odniesienia, odczynniki oraz paliwa mogą być użyte:

— materiały odniesienia

— dostępne z MAEA:

Nazwa	Materiał	$\delta^{13}\text{C}$ w stosunku do V-PDB (9)
— IAEA-CH-6	Sacharoza	- 10,4 ‰
— IAEA-CH-7	Polietylen:	- 31,8 ‰
— NBS22	Olej	- 29,7 ‰
— USGS 24	Grafit	- 16,1 ‰

— dostępne z IRMM w Geel (B) (Instytutu Materiałów Odniesienia i Pomiarów):

Nazwa	Materiał	$\delta^{13}\text{C}$ w stosunku do V-PDB (9)
— CRM/BCR 656	Alkohol winny	- 26,93 ‰
— CRM/BCR 657	Glukoza	- 10,75 ‰
— CRM/BCR 660	Roztwór wodno-alkoholowy (ASV 12 %)	- 26,72 ‰

— standardowa próbka robocza o znanym stosunku $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ kalibrowana względem międzynarodowych materiałów odniesienia,

— poniżej znajduje się wskazany wykaz paliw do układów o ciągłym przepływie:

— hel do analizy (CAS 07440–59–7),

— tlen do analizy (CAS 07782–44–7),

— ditlenek węgla do analizy, używany jako wtórny gaz odniesienia, zawartości węgla 13 (CAS 00124–38–9),

— odczynnik utleniający do pieców należących do układów spalania, np. tlenek miedzi (II) do analizy elementarnej (CAS 1317–38–0),

— eksykator w celu eliminowania wody wytworzonej podczas spalania, np. anhydryn do analizy elementarnej (nadchloran magnezu) (CAS 10034–81–8). (Nie jest on niezbędny w przypadku aparatury wyposażonej w układ usuwania wody wykorzystujący łapacze kriogeniczne lub częściowo przepuszczalne rurki kapilarnie).

▼ **M10**

6. APARATURA I WYPOSAŻENIE

6.1. **Spektrometr masowy do określania składu izotopowego (IRMS)**

Spektrometr mas do określania stosunku izotopów (IRMS) posiadający możliwość określania względnej zawartości ^{13}C w naturalnie występującym gazie CO_2 z wewnętrzną dokładnością do 0,05 ‰ lub lepiej wyrażoną jako wartość względna (pkt 9). Wewnętrzną dokładność określa się tutaj jako różnicę między dwoma pomiarami tej samej próbki CO_2 . Spektrometr mas wykorzystywany do pomiaru stosunków intensywności izotopów jest na ogół wyposażony w potrójny kolektor do równoczesnych pomiarów natężeń dla $m/z = 44, 45$ oraz 46 . Spektrometr mas do określania stosunku intensywności izotopów musi być wyposażony w podwójny wlot, aby przemiennie mierzyć nieznaną próbkę i próbkę odniesienia, lub wykorzystywać zintegrowany układ, który przeprowadza ilościowe spalanie próbek i oddziela ditlenek węgla od pozostałych produktów spalania przed pomiarem w spektrometrze mas.

6.2. **Aparatura do spalania**

Aparatura do spalania jest w stanie ilościowo przekonwertować alkohol etylowy w ditlenek węgla i usunąć pozostałe produkty spalania, w tym wodę, bez frakcjonowania izotopowego. Aparatura może być ciągłym układem przepływowym zintegrowanym z aparaturą spektrometrii masowej (ppkt 6.2.1) lub oddzielnym układem spalania (ppkt 6.2.2). Aparatura musi zapewniać przy najmniej wskazaną dokładność (ppkt 11).

6.2.1. *Ciągłe układy przepływowe.*

Na takie składają się analizator elementarny lub chromatograf z bezpośrednim układem spalania.

Następujący sprzęt laboratoryjny jest niezbędny dla układów tak wyposażonych, aby wprowadzać w nie próbki zawarte w metalowych kapsułach:

- kalibrowana mikrostrzykawka lub mikropipeta z odpowiednimi końcówkami,
- waga o dokładności do μg lub lepsza,
- szczypczyki do otoczkowania,
- blaszane kapsuły na próbki płynne,
- blaszane kapsuły na próbki stałe.

Uwaga:

W celu zredukowania ryzyka wyparowania próbek alkoholu etylowego, substancja absorbująca (np. Chromosorb W 45–60 mesh) może zostać umieszczona w kapsułach, po uprzednim sprawdzeniu poprzez pomiar bez próbki, czy nie zawiera znaczących ilości węgla, który mógłby wpłynąć na wyniki.

Następujący sprzęt laboratoryjny jest niezbędny w przypadku korzystania z analizatora elementarnego wyposażonego we wtryskiwacz płynów lub w przypadku spalania chromatograficzny układ przygotowawczy:

- strzykawka do płynów,
- kolby wyposażone w szczelne zamknięcie oraz obojętne chemicznie i nieprzepuszczalne dla gazów korki.

Sprzęt laboratoryjny wskazany w powyższym wykazie jest przykładowy i może być zastąpiony przez urządzenia o podobnym działaniu w zależności od rodzaju aparatury do spalania i spektrometrii masowej używanej w danym laboratorium.

6.2.2. *Oddzielny układ przygotowawczy*

Próbki ditlenku węgla powstałe w wyniku spalania próbek do analizy i próbki odniesienia zbierane są w bańkach, które umieszcza się następnie w podwójnym wlocie spektrometru do analizy izotopów. Kilka aparatów do spalania opisanych w literaturze może być zastosowanych:

- zamknięty układ spalania wypełniony cyrkulującym tlenem,
- analizator elementarny z przepływem helu i tlenu,

▼ **M10**

— zapieczętowane kolby szklane wypełnione tlenkiem miedzi (II) jako utleniaczem.

7. PRZYGOTOWANIE PRÓBEK DO BADAŃ

Alkohol etylowy musi być ekstrahowany z wina przed badaniem izotopowym. Należy przeprowadzić to poprzez destylację wina jak opisano w ppkt 3.1 metody nr 8 (SNIF-NMR).

W przypadku moszczu gronowego, zagęszczonego moszczu gronowego i rektyfikowanego zagęszczonego moszczu gronowego cukry muszą być najpierw przefermentowane w alkoholu etylowym jak opisano w ppkt 3.2 metody nr 8.

8. PROCEDURA

Wszystkie kroki przygotowania należy przeprowadzić bez znacznej utraty alkoholu etylowego wskutek parowania, co zmieniłoby skład izotopowy próbek.

Następujący opis dotyczy procedur zwykle stosowanych dla spalania próbki alkoholu etylowego wykorzystujących zautomatyzowane przemysłowe układy spalania. Wszystkie pozostałe metody, które zapewniają, że całość próbki alkoholu etylowego zostaje przetworzona na ditlenek węgla bez żadnej utraty alkoholu etylowego w wyniku parowania, mogą być stosowane dla przygotowania ditlenku węgla do analizy izotopowej.

Metoda doświadczalna oparta na wykorzystaniu analizatora elementarnego:

a) umieszczanie próbek w kapsułach:

— użyć kapsuły, szczypczyków i tacy przygotowawczej, które muszą być czyste,

— pobrać szczypczkami kapsułę właściwych rozmiarów,

— wprowadzić mikropipetą właściwą ilość płynu do mikrostrzykawki,

— *Uwaga:*

do otrzymania 2 mg węgla niezbędne jest 3,84 mg czystego alkoholu etylowego lub 4,17 mg destylatu o zawartości alkoholu 92 % m/m. Właściwa ilość destylatu musi zostać obliczona na tej podstawie, zgodnie z ilością potrzebnego węgla przy uwzględnieniu czułości aparatury do spektrometrii mas,

— przybliżyć kapsułę szczypczkami,

— każda kapsuła musi być całkowicie zapieczętowana. W przeciwnym razie musi być wyrzucona i należy przygotować nową kapsułę,

— należy przygotować dwie kapsuły dla każdej próbki,

— umieścić kapsuły we właściwym miejscu na tacy automatycznego próbnika analizatora elementarnego. Każdej kapsule należy nadać numer seryjny,

— systematycznie umieszczać kapsuły zawierające robocze substancje odniesienia na początku i końcu serii próbek,

— regularnie wprowadzać próbki kontrolne do serii próbek;

b) sprawdzanie i przygotowanie aparatury do analizy elementarnej i spektrometrii masowej:

— dostosować temperaturę pieców analizatora elementarnego oraz przepływów helu i tlenu do optymalnego spalania próbki,

— sprawdzić układy analizy elementarnej i spektrometrii masowej pod względem przecieków (np. poprzez sprawdzenie prądu jonowego, gdzie $m/z = 28$ dla N_2),

— dostosować spektrometr mas, w celu pomiarów prądów jonowych $m/z = 44, 45$ i 46 ,

— sprawdzić układ wykorzystując znane próbki kontrolne przed rozpoczęciem pomiaru próbek;

c) przeprowadzanie serii pomiarów

Próbki umieszczone na automatycznym próbniku analizatora elementarnego (lub chromatografu) wprowadza się po kolei. Ditlenek węgla ze spalania każdej próbki jest eluowany do

▼ **M10**

spektrometra mas, który mierzy prądy jonowe. Podłączony komputer rejestruje prądy jonowe i oblicza wartość δ dla każdej próbki (pkt 9).

9. OBLICZANIE

Celem metody jest pomiar $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ stosunku intensywności izotopów alkoholu etylowego ekstrahowanego z wina lub produktów pochodzących z winogron w wyniku fermentacji. Stosunek intensywności izotopów $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ można wyrazić poprzez jego odchylenie od wzorca roboczego. Odchylenie izotopowe węgla 13 ($\delta^{13}\text{C}$) jest następnie obliczane na skali delta na tysiąc ($\delta/1000$) poprzez porównanie wyników uzyskanych dla próbki, którą się mierzy z tymi dla wzorca roboczego wcześniej skalibrowanego na podstawie pierwotnego międzynarodowego materiału odniesienia (V-PDB). Wartości $\delta^{13}\text{C}$ wyraża się w odniesieniu do wzorca roboczego jak podano:

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{próbki/odniesienia}} \text{‰} = 1000 \times (R_{\text{próbki}} - R_{\text{odniesienia}}) / R_{\text{odniesienia}}$$

gdzie $R_{\text{próbki}}$ i $R_{\text{odniesienia}}$ są odpowiednio $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ stosunkami izotopów próbki i ditlenku węgla użytego jako gaz odniesienia.

Wartości $\delta^{13}\text{C}$ wyrażane są względem V-PDB:

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{próbki/V-PDB}} \text{‰} = \delta^{13}\text{C}_{\text{próbki/odniesienia}} + \delta^{13}\text{C}_{\text{odniesienia/V-PDB}} + (\delta^{13}\text{C}_{\text{próbki/odniesienia}} \times \delta^{13}\text{C}_{\text{odniesienia/V-PDB}}) / 1000,$$

gdzie $\delta^{13}\text{C}_{\text{odniesienia/V-PDB}}$ jest wcześniej określonym izotopowym odchyleniem wzorca roboczego od V-PDB.

Małe różnice mogą pojawić się podczas pomiaru bezpośredniego z uwagi na zmianę stanu przyrządów. W tym przypadku wartości $\delta^{13}\text{C}$ próbek należy skorygować zgodnie z różnicą mierzonej wartości $\delta^{13}\text{C}$ standardowej próbki roboczej i jej prawdziwą wartością, uprzednio skalibrowaną względem V-PDB poprzez porównanie z jedną z międzynarodowych substancji odniesienia. Między dwoma pomiarami standardowej próbki roboczej można założyć, że zmienność, a zatem poprawka, jaką należy zastosować do wyników uzyskanych z próbek, ma charakter liniowy. Standardową próbkę roboczą należy mierzyć na początku i na końcu wszystkich serii próbek. Poprawkę można obliczyć później dla każdej próbki wykorzystując interpolację liniową.

10. ZAPEWNIENIE I KONTROLA JAKOŚCI

Sprawdzić czy wartość ^{13}C dla wzorca roboczego nie różni się o nie więcej niż 0,5 ‰ od dopuszczalnej wartości. W przeciwnym razie ustawienia aparatury spektrometrycznej należy sprawdzić i, jeśli to konieczne, dostosować.

Dla każdej próbki, sprawdzić czy różnica w wynikach dla dwóch kapsuł mierzonych kolejno jest mniejsza niż 0,3 ‰. Ostateczny wynik dla danej próbki jest średnią wartością dla dwóch kapsuł. Jeśli odchylenie jest większe niż 0,3 ‰ pomiar należy powtórzyć.

Badania prawidłowości pomiarów mogą być oparte na prądzie jonowym gdzie $m/z = 44$, który jest proporcjonalny do ilości węgla wprowadzonego do analizatora elementarnego. W normalnych warunkach prąd jonowy powinien być prawie stały dla analizowanych próbek. Istotne odchylenie może wskazywać na parowanie alkoholu etylowego (np. wadliwe zapieczętowanie lub plomba na kapsule) lub niestabilność analizatora elementarnego lub spektrometra mas.

11. CHARAKTERYSTYKA WYKONANIA METODY (dokładność)

Przeprowadzono wspólne badanie wstępne (ppkt 11.1) na destylatach zawierających alkohol pochodzący z winorośli, trzciny cukrowej i buraka, jak również z różnych mieszanin alkoholi tego pochodzenia. Ponieważ to badanie nie uwzględniło procedury destylacyjnej, dalsze informacje z pozostałych badań międzylaboratoryjnych wina (ppkt 11.2) i, w szczególności, serii kontroli biegłości (ppkt 11.3) dla pomiarów izotopowych zostały również uwzględnione. Wyniki pokazują, że w odpowiednich warunkach, w szczególności tych dotyczących pomiaru wykorzystującego SNIF-NMR, różne układy destylacyjne nie wytwarzają znaczących zmienności w określaniu wartości $\delta^{13}\text{C}$

▼ **M10**

winnego alkoholu etylowego. Parametry dokładności obserwowane dla wina są niemal identyczne z tymi uzyskanymi we wspólnym badaniu destylatów (ppkt 11.1).

11.1. **Wspólne badanie destylatów**

Rok badań międzylaboratoryjnych: 1996
 Ilość laboratoriów: 20
 Liczba próbek: Sześć próbek w podwójnym ślepych porównaniu
 analit: $\delta^{13}\text{C}$ alkoholu etylowego

Kod próbki	Alkohol pochodzenia winnego	Alkohol z buraka	Alkohol z trzciny cukrowej
A & G	80 %	10 %	10 %
B & C	90 %	10 %	0 %
D & F	0 %	100 %	0 %
E & I	90 %	0 %	10 %
H & K	100 %	0 %	0 %
J & L	0 %	0 %	100 %

Próbki	A/G	B/C	D/F	E/I	H/K	J/L
Liczba laboratoriów pozostałych po eliminacji wartości skrajnych	19	18	17	19	19	19
Ilość akceptowanych wyników	38	36	34	38	38	38
Wartość średnia ($\delta^{13}\text{C}$) ‰	-25,32	-26,75	-27,79	-25,26	-26,63	-12,54
S_r^2	0,0064	0,0077	0,0031	0,0127	0,0069	0,0041
Odchylenie standardowe powtarzalności (S_r) ‰	0,08	0,09	0,06	0,11	0,08	0,06
Limit powtarzalności r ($2,8 \times S_r$) ‰	0,22	0,25	0,16	0,32	0,23	0,18
S_R^2	0,0389	0,0309	0,0382	0,0459	0,0316	0,0584
Odchylenie standardowe odtwarzalności (S_R) ‰	0,20	0,18	0,20	0,21	0,18	0,24
Limit odtwarzalności R ($2,8 \times S_R$)	0,55	0,49	0,55	0,60	0,50	0,68

11.2. **Międzylaboratoryjne badanie na dwóch winach i jednym alkoholu**

Rok testów międzylaboratoryjnych: 1996
 Liczba laboratoriów: 14 do destylacji wina, z których siedem również mierzyło $\delta^{13}\text{C}$ winnego alkoholu etylowego,
 Osiem do pomiaru $\delta^{13}\text{C}$ próbek alkoholu,

▼ **M10**

Liczba próbek: Trzy (białe wino o 9,3 % ASV, białe wino o 9,6 % ASV i zawartości alkoholu 93 % m/m).

Analit: $\delta^{13}\text{C}$ alkoholu etylowego

Próbki	Czerwone wino	Białe wino	Alkohol
Liczba laboratoriów	7	7	8
Liczba akceptowanych wyników	7	7	8
Wartość średnia ($\delta^{13}\text{C}$) ‰	-26,20	-26,20	-25,08
Różnica odtwarzalności S_R^2	0,0525	0,0740	0,0962
Odczylenie standardowe odtwarzalności (S_R) ‰	0,23	0,27	0,31
Limit odtwarzalności R ($2,8 \times S_R$) ‰	0,64	0,76	0,87

Uczestniczące laboratoria wykorzystały różne układy destylacyjne. Oznaczenia izotopowe ($\delta^{13}\text{C}$) przeprowadzone w jednym laboratorium na wszystkich destylatach zwróconych przez uczestników nie wykazują żadnych odchyżeń lub wartości, które znacznie różnią się od przeciętnych wartości. Zróżnicowanie w wynikach ($S^2 = 0,0059$) jest porównywalne do średnich różnic powtarzalności S_r^2 w połączonym badaniu destylatów (ppkt 11.1).

11.3. Wyniki doświadczeń przeprowadzonych w celu monitorowania fachowości wykonywania badań izotopowych

Od grudnia 1994 r. organizowano regularne międzynarodowe badania biegłości dotyczące określania pomiarów izotopowych dla wina i alkoholu (destylaty 96 % ASV). Wyniki umożliwiają uczestniczącym laboratoriom sprawdzenie jakości swoich analiz. Wyniki statystyczne pozwalają na ocenę zróżnicowania pomiarów w warunkach odtwarzalności, a także oszacowanie parametrów odchylenia i limitu odtwarzalności. Wyniki uzyskane dla oznaczania $\delta^{13}\text{C}$ dla wina i destylatu alkoholu etylowego są zebrane w poniższej tabeli:

Data	Wina				Destylaty			
	N	SR	S ² R	R	N	SR	S ² R	R
grudzień 1994	6	0,210	0,044	0,59	6	0,151	0,023	0,42
czerwiec 1995	8	0,133	0,018	0,37	8	0,147	0,021	0,41
grudzień 1995	7	0,075	0,006	0,21	8	0,115	0,013	0,32
marzec 1996	9	0,249	0,062	0,70	11	0,278	0,077	0,78
czerwiec 1996	8	0,127	0,016	0,36	8	0,189	0,036	0,53
wrzesień 1996	10	0,147	0,022	0,41	11	0,224	0,050	0,63
grudzień 1996	10	0,330	0,109	0,92	9	0,057	0,003	0,16
marzec 1997	10	0,069	0,005	0,19	8	0,059	0,003	0,16
czerwiec 1997	11	0,280	0,079	0,78	11	0,175	0,031	0,49
wrzesień 1997	12	0,237	0,056	0,66	11	0,203	0,041	0,57
grudzień 1997	11	0,127	0,016	0,36	12	0,156	0,024	0,44
marzec 1998	12	0,285	0,081	0,80	13	0,245	0,060	0,69
czerwiec 1998	12	0,182	0,033	0,51	12	0,263	0,069	0,74
wrzesień 1998	11	0,264	0,070	0,74	12	0,327	0,107	0,91
Średnia ważona		0,215	0,046	0,60		0,209	0,044	0,59

▼ **M10**

Data	Wina				Destylaty			
	N	SR	S ² R	R	N	SR	S ² R	R

N:
liczba uczestniczących laboratoriów.

11.4. **Limity powtarzalności i odtwarzalności**

Na podstawie danych z różnych testów międzylaboratoryjnych poddanych w powyższych tabelach, następujące limit powtarzalności i odtwarzalności można ustanowić dla tej metody, włączając etap destylacji:

Limit powtarzalności r: 0,24

Limit odtwarzalności R: 0,6.