

31990R2676

3.10.1990

URADNI LIST EVROPSKIH SKUPNOSTI

L 272/1

UREDBA KOMISIJE (EGS) št. 2676/90
z dne 17. septembra 1990
o določitvi metod Skupnosti za analizo vin

KOMISIJA EVROPSKIH SKUPNOSTI JE

ob upoštevanju Pogodbe o ustanovitvi Evropske gospodarske skupnosti,

ob upoštevanju Uredbe Sveta (EGS) št. 822/87 z dne 16. marca 1987 o skupni ureditvi trga za vino ⁽¹⁾, kakor je bila spremenjena z Uredbo (EGS) št. 1325/90 ⁽²⁾, in zlasti člena 74 Uredbe,

ker člen 74(1) Uredbe (EGS) št. 822/87 predvideva sprejetje analiznih metod za določitev sestave proizvodov iz člena 1 navedene uredbe in postopka za preverjanje, ali so ti proizvodi obdelani na načine, ki niso v skladu z odobrenim enološkim postopkom;

ker glede na to, da Skupnost še ni določila mejnih vrednosti za značilne sestavine pri uporabi nekaterih enoloških postopkov in niti ni sprejela tabel, ki bi omogočile primerjavo analiznih podatkov, obstaja dober razlog za pooblastitev držav članic, da določijo te mejne vrednosti;

ker člen 13(1) Uredbe (EGS) št. 822/87 določa analitsko preskušanje zadevnega kakovostnega vina pdpo, ki vključuje vsaj mejne vrednosti tistih značilnih sestavin, ki so navedene v Prilogi k tej uredbi;

ker je zaradi nadzorovanja podatkov v dokumentih, ki se nanašajo na zadevne proizvode, treba uvesti enotne analizne metode, da se pridobijo natančni in primerljivi podatki; ker morajo torej te metode biti obvezne za vse trgovinske posle in vse nadzorne ukrepe; ker pa je zaradi potreb nadzora in omejenih zmogljivosti trgovine treba dopustiti le omejeno število običajnih postopkov, ki omogočajo hitro in dovolj zanesljivo določanje predpisanih sestavin;

ker se, kolikor je to mogoče, določijo metode, ki so splošno priznane, kakor na primer metode, razvite v okviru Mednarodne konvencije za poenotenje analiznih metod in metod za

ocenjevanje vin iz leta 1954, ki jih je objavil Mednarodni urad za trto in vino v Zbirki mednarodnih analiznih metod za vino (*Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins*);

ker so analizne metode Skupnosti, ki se uporabljajo v vinskem sektorju, določene v Uredbi Komisije (EGS) št. 1108/82 ⁽³⁾; ker je zaradi znanstvenega napredka postalo nujno, da se nekatere metode nadomestijo z ustrežnejšimi in nekatere metode spremenijo ter uvedejo nekatere nove metode, zlasti tiste, ki jih je Mednarodni urad za trto in vino sprejel po navedeni uredbi; ker je treba zaradi obsega in raznolikosti teh prilagoditev vse analizne metode združiti v novi uredbi, pri čemer je treba Uredbo (EGS) št. 1108/82 razveljaviti;

ker je zaradi zagotavljanja primerljivosti rezultatov, pridobljenih na podlagi analiznih metod iz člena 74 Uredbe (EGS) št. 822/87, treba storiti vse, da se v zvezi s ponovljivostjo in obnovljivostjo teh rezultatov omogoči sklicevanje na opredelitve pojmov, ki jih je določil Mednarodni urad za trto in vino;

ker so upoštevanje znanstvenega napredka na eni strani in boljše tehnične opreme uradnih laboratorijev na drugi strani ter povečanje učinkovitosti in donosnosti teh laboratorijev dobri razlogi, da se dovoli uporaba avtomatskih analiznih metod pod določenimi pogoji; ker je treba opozoriti, da v primeru spora avtomatske metode ne smejo nadomestiti referenčnih in običajnih metod;

ker so rezultati merjenja gostote z avtomatsko metodo na principu frekvenčnega oscilatorja glede natančnosti, ponovljivosti in obnovljivosti vsaj enakovredni rezultatom, dobljenim z metodami iz oddelka 1 Priloge k tej uredbi za merjenje gostote ali specifične teže; ker je po členu 74(3) Uredbe (EGS) št. 822/87 to avtomatsko metodo treba šteti za enakovredno metodam, naštetim v Prilogi k tej uredbi;

⁽¹⁾ UL L 84, 27.3.1987, str. 1.

⁽²⁾ UL L 132, 23.5.1990, str. 19.

⁽³⁾ UL L 133, 14.5.1982, str. 1.

ker se s postopkom za analizo vsebnosti skupnega žveplovega dioksida v vinu in grozdnem moštu, opisanim v točki 2.2.3.3.2 poglavja 25 v Prilogi k tej uredbi, ob domnevi, da je vsebnost nižja od 50 mg/l, ta snov bolje ekstrahira kakor z metodami iz točke 13.4 poglavja 13 iz Priloge k Uredbi (EGS) št. 1108/82; ker je rezultat višja vsebnost skupnega žveplovega dioksida v analiziranih proizvodih, ki lahko zlasti pri nekaterih grozdnih sokovih preseže predpisano mejno vrednost; ker je treba v prehodnem obdobju dovoliti uporabo postopka iz navedene uredbe zaradi preprečevanja težav pri prodaji grozdnega soka, že proizvedenega v času začetka veljavnosti te uredbe, vse dokler se proizvodni postopki ne prilagodijo tako, da zagotovijo popolnejše razžveplanje grozdnega mošta s fermentacijo, zaustavljeno z dodajanjem alkohola;

ker so ukrepi, predvideni s to uredbo, v skladu z mnenjem Upravljalnega odbora za vino,

SPREJELA NASLEDNJO UREDBO:

Člen 1

1. Metode Skupnosti za analizo vina, ki v okviru trgovinskih poslov in vseh nadzornih ukrepov omogočajo:

- ugotavljanje sestave proizvodov, naštetih v členu 1 Uredbe (EGS) št. 822/87,
- ugotavljanje, ali so bili ti proizvodi obdelani na način, ki ni v skladu z odobrenim enološkim postopkom,

so opredeljene v Prilogi k tej uredbi.

2. Pri snoveh, za katere so predpisane referenčne in običajne metode, imajo prednost rezultati, pridobljeni na podlagi referenčnih metod.

Člen 2

V tej uredbi:

- (a) je ponovljivost vrednost, za katero se lahko z določeno verjetnostjo pričakuje, da je nad absolutno razliko dveh posameznih rezultatov preskušanja, dobljenih na enakem testnem

materialu in pri enakih pogojih (isti izvajalec, ista oprema, isti laboratorij in kratek časovni interval);

- (b) je obnovljivost vrednost, za katero se lahko z določeno verjetnostjo pričakuje, da je nad absolutno razliko dveh posameznih rezultatov preskušanja, dobljenih na enakem testnem materialu in pri različnih pogojih (drug izvajalec, druga oprema in/ali drug laboratorij in/ali različen čas).

Izraz „posamezni rezultat preskušanja“ je vrednost, ki je v celoti in na enem samem vzorcu dobljena z uporabo standardizirane metode preskušanja.

Če ni določeno drugače, je verjetnost 95 %.

Člen 3

1. Avtomatske analizne metode so dopustne, zanje je odgovoren direktor laboratorija, pod pogojem, da so natančnost, ponovljivost in obnovljivost rezultatov vsaj enakovredne rezultatom, dobljenim z analiznimi metodami iz Priloge.

V primeru spora se metode iz Priloge ne smejo nadomestiti z avtomatskimi metodami.

2. Avtomatska metoda merjenja gostote na principu frekvenčnega oscilatorja se razume kot enakovredna metodam, naštetim v oddelku 1 Priloge k tej uredbi.

Člen 4

Voda za raztapljanje, redčenje ali pranje pomeni destilirano vodo ali demineralizirano vodo enakovredne čistosti. Vse kemikalije imajo kakovost analitičnega reagenta, razen kadar je določeno drugače.

Člen 5

Uredba (EGS) št. 1108/82 se razveljavi.

Člen 1(4) navedene uredbe se uporablja do 31. decembra 1990.

Člen 6

Ta uredba začne veljati z dnem objave v *Uradnem listu Evropskih skupnosti*.

Uporablja se od 1. oktobra 1990.

Ta uredba je v celoti zavezujoča in se neposredno uporablja v vseh državah članicah.

V Bruslju, 17. septembra 1990

Za Komisijo

Ray MAC SHARRY

Član Komisije

PRILOGA

1. GOSTOTA IN SPECIFIČNA TEŽA PRI 20 °C

1. OPREDELITVE POJMOV

Gostota je masa na enoto prostornine vina ali mošta pri 20 °C. Izražena je v gramih na mililiter in označena s simbolom $\rho_{20\text{ °C}}$.

Specifična teža pri 20 °C (ali relativna gostota 20 °C/20 °C) je z decimalnim številom izraženo razmerje med gostoto neke prostornine vina ali mošta pri 20 °C in gostoto enake prostornine vode pri enaki temperaturi. Označena je s simbolom $d_{20\text{ °C}}^{20\text{ °C}}$.

2. PRINCIP METODE

Gostota in specifična teža pri 20 °C se merita na testnem vzorcu:

- bodisi s pigmentacijo: referenčna metoda
- bodisi s hidrometrijo ali denzimetrijo z uporabo hidrostatske tehtnice: običajne metode.

Opomba:

Za zelo natančno merjenje je potrebna korekcija gostote zaradi vpliva žveplovega dioksida po formuli:

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

pri čemer je $\rho_{20\text{ °C}}$ = korigirana gostota

$\rho'_{20\text{ °C}}$ = ugotovljena gostota

S = koncentracija skupnega žveplovega dioksida v gramih na liter

3. POPREJŠNJA OBDELAVA VZORCA

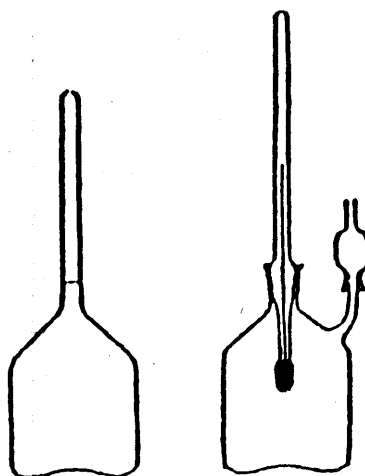
Če vino ali mošt vsebuje znatne količine ogljikovega dioksida, ga večino odstranimo z mešanjem 250 ml vina v litrski bučki ali s filtracijo pod zmanjšanim pritiskom skozi 2 g bombažne vate, nameščene v razširjeno epruveto.

4. REFERENČNA METODA

4.1 **Aparature:**

Običajna laboratorijska oprema, zlasti:

- 4.1.1 Piknomet iz nepregornega stekla ⁽¹⁾, prostornine približno 100 ml in s snemljivim termometrom, povezanim z obrušom in umerjenim v desetinkah stopinje od 10 do 30 °C (slika 1). Termometer mora biti standardiziran.



Slika 1
Piknomet in tara posoda

⁽¹⁾ Uporabi se lahko kateri koli piknomet z enakovrednimi lastnostmi.

Piknometer ima stransko cevko dolžine 25 mm in notranjega premera 1 mm (največ), ki se končuje s koničnim obrušom. Ta stranska cevka je lahko pokrita z „zbiralnim zamaškom“, ki ima prav tako konični obruš in se končuje z vodoravnim prerezom. Ta zamašek se uporablja kot raztezna celica.

Oba obrusa aparature morata biti narejena zelo pazljivo.

- 4.1.2 Tara posoda, in to z enako zunanjo prostornino (natančno do najmanj 1 ml) kakor piknometer in maso, enako masi piknometra, napolnjenega s tekočino specifične teže 1,01 (raztopina natrijevega klorida 2,0 % m/v).

Toplotno izolirana posoda, ki se točno prilega piknometru.

- 4.1.3 Dvoramenska tehtnica z merilnim območjem vsaj 300 g in občutljivostjo na 0,1 mg ali enoramenska tehtnica z merilnim območjem vsaj 200 g in občutljivostjo na 0,1 mg.

4.2 Umerjanje piknometra

Pri umerjanju piknometra se določijo naslednje vrednosti:

- masa praznega piknometra,
- prostornina piknometra pri 20 °C,
- masa piknometra, napolnjenega z vodo pri 20 °C.

4.2.1 Metoda z uporabo dvoramenske tehtnice

Tara posodo postavimo na levo stran tehtnice ter čist in suh piknometer, opremljen z „zbiralnim zamaškom“, na desno stran tehtnice. Posodi, ki drži piknometer, dodamo uteži in zapišemo maso, ki je potrebna za ravnotežje: to maso označimo s p gramov.

Piknometer pazljivo napolnimo z destilirano vodo pri sobni temperaturi in pritrdimo termometer; piknometer pazljivo obrišemo, ga osušimo in postavimo v toplotno izolirano posodo. Mešamo z obračanjem posode, dokler ima temperatura, ki jo odčitamo na termometru, konstantno vrednost. Na vrhu stranske cevke točno uravnamo raven vode. Stransko cevko osušimo in zapremo z zbiralnim zamaškom; natančno odčitamo temperaturo t v °C in po možnosti upoštevamo korekcijo netočnosti temperaturne skale. Stehtamo z vodo napolnjeni piknometer proti tara posodi in zapišemo maso p' v gramih, ki je potrebna za vzpostavitev ravnotežja.

Izračun ⁽¹⁾:

Tariranje praznega piknometra:

masa praznega piknometra = $\rho + m$,

pri čemer je m = masa zraka v piknometru,

$m = 0,0012 (\rho - \rho')$.

Prostornina pri 20 °C:

$V_{20\text{ °C}} = (\rho + m - \rho') \cdot F_v$

pri čemer je F_t = faktor iz tabele I za temperaturo t °C.

$V_{20\text{ °C}}$ mora biti dan na $\pm 0,001$ ml natančno.

Masa vode pri 20 °C:

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

pri čemer je 0,998203 gostota vode pri 20 °C.

⁽¹⁾ Številčni primer je dan v oddeku 6 tega poglavja.

4.2.2 Metoda z uporabo enoramenske tehtnice

Določimo:

- maso čistega in suhega piknometra: označimo jo s P ,
- maso piknometra, napolnjenega z vodo pri t °C, po postopku, opisanem v točki 4.2.1 zgoraj: označimo jo s P_1 ,
- maso tare: T_0 .

Izračun ⁽¹⁾:

Tariranje praznega piknometra:

masa praznega piknometra = $P - m$,

pri čemer je m = masa zraka v piknometru,

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

Prostornina pri 20 °C:

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

pri čemer je F_t = faktor iz tabele I za temperaturo t °C.

Prostornina pri 20 °C mora biti dana na $\pm 0,001$ ml natančno.

Masa vode pri 20 °C:

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

pri čemer je 0,998203 gostota vode pri 20 °C.

4.3 Metoda merjenja ⁽¹⁾

4.3.1 Metoda z uporabo dvoramenske tehtnice

Piknometer napolnimo s pripravljenim testnim vzorcem po postopku, opisanem v točki 4.2.1 zgoraj.

S p'' označimo maso v gramih, ki je potrebna za vzpostavitev ravnovesja pri t °C.

Masa tekočine v piknometru = $p + m - p''$.

Navidezna gostota pri t °C:

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

Izračunamo gostoto pri 20 °C, pri čemer uporabimo eno od v nadaljevanju navedenih korekcijskih tabel glede na vrsto merjene tekočine: suho vino (tabela II), naravni ali zgoščen mošt (tabela III), sladko vino (tabela IV).

Specifično težo 20 °C/20 °C vina izračunamo tako, da delimo gostoto pri 20 °C z 0,998203.

4.3.2 Metoda z uporabo enoramenske tehtnice ⁽¹⁾

Stehtamo tara posodo in njeno maso označimo s T_0 .

Izračunamo $dT = T_1 - T_0$.

Masa praznega piknometra v času merjenja = $P - m + dT$.

Stehtamo piknometer, napolnjen s pripravljenim testnim vzorcem, po postopku iz točke 4.2.1 zgoraj. Njegovo maso pri t °C označimo s P_2 .

⁽¹⁾ Številčni primer je dan v delu 6 tega poglavja.

Masa tekočine v piknometru pri $t^{\circ}\text{C} = P_2 - (P - m + dT)$

Navidezna gostota pri $t^{\circ}\text{C}$:

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

Izračunamo gostoto testirane tekočine pri 20°C (suho vino, naravni ali zgoščeni mošt ali sladko vino), kakor je opisano v točki 4.3.1 zgoraj.

Specifično težo $20^{\circ}\text{C}/20^{\circ}\text{C}$ izračunamo tako, da gostoto pri 20°C delimo z 0,998203.

4.3.3 Ponovljivost merjenja gostote

za suha in polsladka vina: $r = 0,00010$

in za sladka vina: $r = 0,00018$.

4.3.4 Obnovljivost merjenja gostote:

za suha in polsladka vina: $R = 0,00037$

in za sladka vina: $R = 0,00045$.

5. OBIČAJNE METODE

5.1 Hidrometrija

5.1.1 Aparature

5.1.1.1 Hidrometer

Dimenzije in razdelitev skale hidrometrov morajo biti v skladu s standardi ISO.

Hidrometri imajo cilindrično bučko in cevko s krožnim prerezom minimalnega premera 3 mm. Za suha vina morajo biti umerjeni od 0,983 do 1,003 z razdelki na vsakih 0,0010 in 0,0002. Vsak razdelek pri 0,0010 mora biti ločen od naslednjega vsaj za 5 mm. Za meritev gostote dealkoholiziranih vin, sladkih vin in moštov uporabimo set petih hidrometrov, umerjenih od 1,000 do 1,030, 1,030 do 1,060, 1,060 do 1,090, 1,090 do 1,120 in 1,120 do 1,150. Ti hidrometri so umerjeni v enotah gostote pri 20°C , z razdelke vsaj na vsakih 0,0010 in 0,0005, vsak razdelek pri 0,0010 je vsaj za 3 mm ločen od naslednjega razdelka.

Ti hidrometri so umerjeni tako, da se vrednost lahko odčita „na vrhu meniska“. Oznaka o umeritvi gostote ali specifične teže in o odčitavanju „na vrhu meniska“ mora biti na umeritveni skali ali na kosu papirja, zaprtem v bučki. Hidrometre umerja uradni organ.

5.1.1.2 Umerjeni termometer, ki ima skalo z najmanjšimi razdelki $0,5^{\circ}\text{C}$.

5.1.1.3 Merilni valj, z notranjim premerom 36 mm in višino 320 mm, postavljen navpično z uporabo izravnalnih vijakov.

5.1.2 Postopek

5.1.2.1 Metoda merjenja

V merilni valj nalijemo 250 ml testnega vzorca, pripravljenega kakor pri točki 5.1.1.3 zgoraj, in vanj vstavimo termometer in hidrometer. Vzorec dobro premešamo, da je njegova temperatura povsod enaka, in po eni minuti temperaturo odčitamo. Odstranimo termometer in po nadaljnji minuti na hidrometru odčitamo navidezno gostoto pri $t^{\circ}\text{C}$.

Navidezno gostoto pri t °C nato korigiramo na 20 °C z uporabo tabel za suha vina (tabela V), mošte (tabela VI) ali vina, ki vsebujejo sladkor (tabela VII).

Specifično težo 20 °C/20 °C dobimo, če gostoto pri 20 °C delimo z 0,998203.

5.2 Denzimetrija z uporabo hidrostatske tehtnice

5.2.1 Aparature

5.2.1.1 Hidrostatska tehtnica z največjo kapaciteto vsaj 100 g in občutljivostjo na 0,1 mg.

Popolnoma enaka plovca iz nepregornega stekla s prostornino *najmanj* 20 ml pritrdimo pod obe posodi tehtnice z nitjo z maksimalnim premerom 0,1 mm.

Plovec pod desno posodo mora biti takšne velikosti, da ga je mogoče vstaviti v merilni valj, ki označuje raven. Notranji premer merilnega valja mora biti najmanj 6 mm večji od premera plovca. Plovec mora biti takšne velikosti, da ga je mogoče celega vstaviti v predel merilnega valja pod oznako; plovec mora biti v celoti potopljen v merjeno tekočino, tako da se ta dotika niti. Temperatura tekočine v merilnem valju se meri s termometrom, umerjenim na 0,2 °C natančno.

5.2.1.2 Uporabimo lahko tudi enoramensko hidrostatsko tehtnico.

5.2.2 Postopek

5.2.2.1 Standardizacija hidrostatske tehtnice

Oba plovca prosto visita, nato pa vzpostavimo ravnovesje z obtežitvijo desne posode. Maso dodatnih uteži označimo s p .

Merilni valj napolnimo s čisto vodo do oznake, vsebino pretresemo, pustimo jo mirovati za dve do tri minute in nato odčitamo temperaturo t °C.

Ponovno vzpostavimo ravnovesje z obtežitvijo desne posode. Masa teh uteži je p' .

Prostornino plovca pri 20 °C dobimo z:

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

pri čemer je F faktor iz tabele I za temperaturo t °C.

p in $V_{20\text{ °C}}$ sta značilnosti plovca.

5.2.2.2 Metoda merjenja

Desni plovec potopimo v merilni valj, napolnjen z vinom (ali moštom) do oznake. Odčitamo temperaturo t °C vina (ali mošta) in zabeležimo maso p'' , ki je bila potrebna za ponovno vzpostavitev ravnovesja.

Navidezno gostoto ρ_t dobimo z uporabo formule:

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

To gostoto korigiramo na 20 °C z uporabo ene od tabel II, III ali IV, če je plovec iz nepregornega stekla.

6. PRIMER IZRAČUNA GOSTOTE PRI 20 °C IN SPECIFIČNA TEŽA 20 °C/20 °C (REFERENČNA METODA)

6.1 **Piknometrija z uporabo dvoramenske tehtnice**6.1.1 *Standardizacija piknometra:*

1. Tehtanje čistega in suhega piknometra:

$$\text{Tara} = \text{piknometer} + p$$

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

2. Tehtanje piknometra, napolnjenega z vodo, pri
- t
- °C:

$$\text{Tara} = \text{piknometer} + \text{voda} + p'$$

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

3. Izračun mase zraka v piknometru:

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

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

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

4. Značilne vrednosti, ki jih moramo poznati:

Tara praznega piknometra, $p + m$:

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

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

Prostornina pri 20 °C = $F (p + m - p')_{t \text{ °C}}$:

$$F_{20,5 \text{ °C}} = 1,001900$$

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

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

Masa vode pri 20 °C:

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

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

6.1.2 *Določitev gostote in specifične teže 20 °C/20 °C suhega vina*

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

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

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

Z uporabo tabele II lahko izračunamo $\rho_{20 \text{ °C}}$ iz $\rho_{t \text{ °C}}$ s formulo:

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

Pri $t = 17,80 \text{ °C}$ in alkoholni stopnji 11 % vol $c = 0,54$.

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

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

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

6.2 **Piknometrija z uporabo enoramenske tehtnice**6.2.1 *Standardizacija piknometra:*

1. Teža čistega in suhega piknometra:

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

2. Teža piknometra, napolnjenega z vodo, pri t °C:

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

3. Masa zraka v piknometru:

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

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

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

4. Značilne vrednosti, ki jih moramo poznati:

Tara praznega piknometra, $P - m$:

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

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

Prostornina pri 20 °C = $[P_1 - (P - m)] F_t$ °C:

$$F_{21,65 \text{ °C}} = 1,002140;$$

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

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

Masa vode pri 20 °C:

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

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

Masa tara posode, T_0 :

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

6.2.2 Določitev gostote in specifične teže suhega vina pri 20 °C

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

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

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

$$P_2 = 169,2799 \text{ pri } 18 \text{ °C}$$

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

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

Z uporabo tabele II lahko izračunamo $\rho_{20 \text{ °C}}$ iz $\rho_{t \text{ °C}}$ s formulo:

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

Pri $t = 18 \text{ °C}$ in alkoholni stopnji 11 % vol $c = 0,49$.

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

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

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

TABELA I

Faktor F, s katerim moramo pomnožiti maso vode v nepregornem piknometru pri t °C za izračun prostornine piknometra pri 20 °C

t °C	F	t °C	F	t °C	F	t °C	F	t °C	F	t °C	F	t °C	F
10,0	1,000398	13,0	1,000691	16,0	1,001097	19,0	1,001608	22,0	1,002215	25,0	1,002916	28,0	1,003704
,1	1,000406	,1	1,000703	,1	1,001113	,1	1,001627	,1	1,002238	,1	1,002941	,1	1,003731
,2	1,000414	,2	1,000714	,2	1,001128	,2	1,001646	,2	1,002260	,2	1,002966	,2	1,003759
,3	1,000422	,3	1,000726	,3	1,001144	,3	1,001665	,3	1,002282	,3	1,002990	,3	1,003787
,4	1,000430	,4	1,000738	,4	1,001159	,4	1,001684	,4	1,002304	,4	1,003015	,4	1,003815
10,5	1,000439	13,5	1,000752	16,5	1,001175	19,5	1,001703	22,5	1,002326	25,5	1,003041	28,5	1,003843
,6	1,000447	,6	1,000764	,6	1,001191	,6	1,001722	,6	1,002349	,6	1,003066	,6	1,003871
,7	1,000456	,7	1,000777	,7	1,001207	,7	1,001741	,7	1,002372	,7	1,003092	,7	1,003899
,8	1,000465	,8	1,000789	,8	1,001223	,8	1,001761	,8	1,002394	,8	1,003117	,8	1,003928
,9	1,000474	,9	1,000803	,9	1,001239	,9	1,001780	,9	1,002417	,9	1,003143	,9	1,003956
11,0	1,000483	14,0	1,000816	17,0	1,001257	20,0	1,001800	23,0	1,002439	26,0	1,003168	29,0	1,003984
,1	1,000492	,1	1,000829	,1	1,001273	,1	1,001819	,1	1,002462	,1	1,003194	,1	1,004013
,2	1,000501	,2	1,000842	,2	1,001290	,2	1,001839	,2	1,002485	,2	1,003222	,2	1,004042
,3	1,000511	,3	1,000855	,3	1,001306	,3	1,001859	,3	1,002508	,3	1,003247	,3	1,004071
,4	1,000520	,4	1,000868	,4	1,001323	,4	1,001880	,4	1,002531	,4	1,003273	,4	1,004099
11,5	1,000530	14,5	1,000882	17,5	1,001340	20,5	1,001900	23,5	1,002555	26,5	1,003299	29,5	1,004128
,6	1,000540	,6	1,000895	,6	1,001357	,6	1,001920	,6	1,002578	,6	1,003326	,6	1,004158
,7	1,000550	,7	1,000909	,7	1,001374	,7	1,001941	,7	1,002602	,7	1,003352	,7	1,004187
,8	1,000560	,8	1,000923	,8	1,001391	,8	1,001961	,8	1,002625	,8	1,003379	,8	1,004216
,9	1,000570	,9	1,000937	,9	1,001409	,9	1,001982	,9	1,002649	,9	1,003405	,9	1,004245
12,0	1,000580	15,0	1,000951	18,0	1,001427	21,0	1,002002	24,0	1,002672	27,0	1,003432	30,0	1,004275
,1	1,000591	,1	1,000965	,1	1,001445	,1	1,002023	,1	1,002696	,1	1,003458		
,2	1,000601	,2	1,000979	,2	1,001462	,2	1,002044	,2	1,002720	,2	1,003485		
,3	1,000612	,3	1,000993	,3	1,001480	,3	1,002065	,3	1,002745	,3	1,003513		
,4	1,000623	,4	1,001008	,4	1,001498	,4	1,002086	,4	1,002769	,4	1,003540		
12,5	1,000634	15,5	1,001022	18,5	1,001516	21,5	1,002107	24,5	1,002793	27,5	1,003567		
,6	1,000645	,6	1,001037	,6	1,001534	,6	1,002129	,6	1,002817	,6	1,003594		
,7	1,000656	,7	1,001052	,7	1,001552	,7	1,002151	,7	1,002842	,7	1,003621		
,8	1,000668	,8	1,001067	,8	1,001570	,8	1,002172	,8	1,002866	,8	1,003649		
,9	1,000679	,9	1,001082	,9	1,001589	,9	1,002194	,9	1,002891	,9	1,003676		

TABELA IV

Temperaturne korekcije c za gostoto vin z volumenskim deležem alkohola 13 % in več, ki vsebujejo preostanek sladkorja, izmerjeno s steklenim nepregornim piknometrom pri t °C, popravek rezultata na vrednost pri 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{cases} - \text{če je } t \text{ °C nižja od } 20 \text{ °C} \\ + \text{če je } t \text{ °C višja od } 20 \text{ °C} \end{cases}$$

		Vina s 13 % vol							Vina s 15 % vol							Vina s 17 % vol						
		Gostote							Gostote							Gostote						
		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	0,35	0,39	0,42	0,45	0,48	0,51	0,54
	22°	0,60	0,67	0,73	0,80	0,85	0,91	0,98	0,65	0,72	0,78	0,84	0,90	0,96	1,01	0,71	0,78	0,84	0,90	0,96	1,01	1,07
	23°	0,93	1,02	1,12	1,22	1,30	1,39	1,49	1,01	1,10	1,20	1,29	1,38	1,46	1,55	1,10	1,19	1,29	1,38	1,46	1,55	1,63
	24°	1,27	1,39	1,50	1,61	1,74	1,84	1,95	1,37	1,49	1,59	1,72	1,84	1,95	2,06	1,48	1,60	1,71	1,83	1,95	2,06	2,17
	25°	1,61	1,75	1,90	2,05	2,19	2,33	2,47	1,73	1,87	2,02	2,17	2,31	2,45	2,59	1,87	2,01	2,16	2,31	2,45	2,59	2,73
	26°	1,94	2,12	2,29	2,47	2,63	2,79	2,95	2,09	2,27	2,44	2,62	2,78	2,94	3,10	2,26	2,44	2,61	2,79	2,95	3,11	3,26
	27°	2,30	2,51	2,70	2,90	3,09	3,27	3,44	2,48	2,68	2,87	3,07	3,27	3,45	3,62	2,67	2,88	3,07	3,27	3,46	3,64	3,81
	28°	2,66	2,90	3,13	3,35	3,57	3,86	4,00	2,86	3,10	3,23	3,55	3,77	3,99	4,20	3,08	3,31	3,55	3,76	3,99	4,21	4,41
	29°	3,05	3,31	3,56	3,79	4,04	4,27	4,49	3,28	3,53	3,77	4,02	4,26	4,49	4,71	3,52	3,77	4,01	4,26	4,50	4,73	4,95
	30°	3,44	3,70	3,99	4,28	4,54	4,80	5,06	3,68	3,94	4,23	4,52	4,79	5,05	5,30	3,95	4,22	4,51	4,79	5,07	5,32	5,57

		Vina z 19 % vol							Vina z 21 % vol						
		Gostote							Gostote						
		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 VII

Temperaturne korekcije c za gostoto vin z volumenskim deležem alkohola 13 % in več, ki vsebujejo preostanek sladkorja, izmerjeno z običajnim steklenim piknometrom ali hidrometrom pri $t\text{ }^{\circ}\text{C}$, popravek rezultata na vrednost pri $20\text{ }^{\circ}\text{C}$

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \begin{cases} - \text{če je } t\text{ }^{\circ}\text{C} \text{ nižja od } 20\text{ }^{\circ}\text{C} \\ + \text{če je } t\text{ }^{\circ}\text{C} \text{ višja od } 20\text{ }^{\circ}\text{C} \end{cases}$$

		Vina s 13 % vol							Vina s 15 % vol							Vina s 17 % vol						
		Gostote							Gostote							Gostote						
		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

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

2. REFRAKTOMETRIČNO DOLOČANJE KONCENTRACIJE SLADKORJA V GROZDNIH MOŠTIH, ZGOŠČENIH GROZDNIH MOŠTIH IN REKTIFICIRANIH ZGOŠČENIH GROZDNIH MOŠTIH

1. PRINCIP METODE

Lomni količnik pri 20 °C, izražen bodisi kot absolutna vrednost bodisi kot masni delež saharoze, je dan v ustrezni tabeli in z uporabo te tabele lahko določimo koncentracijo sladkorja v gramih na liter in v gramih na kilogram za grozdne mošte, zgoščene grozdne mošte in rektificirane zgoščene grozdne mošte.

2. APARATURE

2.1 **Abbéjev refraktometer**

Uporabljeni refraktometer mora imeti skalo, ki prikazuje:

- bodisi masni delež saharoze do 0,1 % natančno
- bodisi lomne količnike na štiri decimalna mesta natančno.

Refraktometer mora biti opremljen s termometrom s skalo od najmanj +15 °C do +25 °C in s pripravo za kroženje vode, ki omogoča meritve pri temperaturi 20 ± 5 °C.

Navodila za uporabo instrumenta moramo natančno upoštevati, zlasti glede kalibracije in vira svetlobe.

3. PRIPRAVA VZORCA

3.1 **Mošt in zgoščeni mošt**

Po potrebi mošt prefiltriramo prek štirikrat preganjene suhe gaze, zavržemo prvih nekaj kapljic filtrata in nato določimo vrednosti na filtratu.

3.2 **Rektificirani zgoščeni mošt**

Glede na koncentracijo uporabimo bodisi rektificirani zgoščeni mošt bodisi raztopino, ki jo dobimo tako, da v 200 g rektificiranega zgoščenega mošta dodajamo vodo, dokler ne dobimo 500 g, pri tem pa morajo biti vsa tehtanja natančna.

4. POSTOPEK

Vzorec segrejemo na temperaturo skoraj 20 °C. Manjši testni vzorec naneseemo na nižjo prizmo refraktometra, pri čemer pazimo (kajti prizme so pritrjene tesno skupaj), da testni vzorec enakomerno pokrije stekleno površino. Meritev opravimo v skladu z navodili za uporabo instrumenta.

Odčitamo masni delež saharoze na 0,1 % natančno ali odčitamo lomni količnik na štiri decimalna mesta natančno.

Opravimo vsaj dve meritvi na istem pripravljenem vzorcu.

Zabeležimo temperaturo t °C.

5. IZRAČUN

5.1 **Korekcija temperature**

5.1.1 Instrumenti, umerjeni na masni delež saharoze: korekcija temperature je dana v tabeli I.

- 5.1.2 Instrumenti, umerjeni na lomni količnik: v tabeli II poiščemo količnik, merjen pri $t^{\circ}\text{C}$, in nato (v stolpcu ena) še ustrezno vrednost, ki prikazuje masni delež saharoze pri $t^{\circ}\text{C}$. Ta vrednost je korigirana zaradi temperature in je izražena kot koncentracija pri 20°C na podlagi tabele I.

5.2 Koncentracija sladkorja v moštu in zgoščenem moštu

V tabeli II poiščemo masni delež saharoze pri 20°C in v isti vrstici še koncentracijo sladkorja v gramih na liter in v gramih na kilogram. Koncentracija sladkorja je izražena kot vrednost invertnega sladkorja na eno decimalno mesto natančno.

5.3 Koncentracija sladkorja v rektificiranem zgoščenem moštu

V tabeli III poiščemo masni delež saharoze pri 20°C in v isti vrstici še koncentracijo sladkorja v gramih na liter in gramih na kilogram. Koncentracija sladkorja je izražena kot vrednost invertnega sladkorja na eno decimalno mesto natančno.

Če je bila meritev opravljena na razredčenem rektificiranem zgoščenem moštu, rezultat pomnožimo s faktorjem razredčitve.

5.4 Lomni količnik mošta, zgoščenega mošta in rektificiranega zgoščenega mošta

V tabeli II poiščemo masni delež saharoze pri 20°C in v isti vrstici še lomni količnik pri 20°C . Količnik je izražen na štirimi decimalna mesta natančno.

TABELA I

Korekcija, ki jo moramo narediti, kadar določamo masni delež saharoze pri temperaturi, različni od 20°C

Temperatura $^{\circ}\text{C}$	Saharoza v gramih na 100 gramov proizvoda									
	5	10	15	20	30	40	50	60	70	75
	Odštejemo									
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
	Prištejemo									
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

Temperature se ne smejo razlikovati od 20°C za več kakor $\pm 5^{\circ}\text{C}$.

TABELA II

V tabeli so dane koncentracije sladkorja ⁽¹⁾ v moštu in zgoščenem moštu v gramih na liter in gramih na kilogram, ki so bile določene z refraktometrom, umerjenim bodisi na masni delež saharoze pri 20 °C bodisi na lomni količnik pri 20 °C. Dana je tudi gostota pri 20 °C

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

⁽¹⁾ Koncentracija sladkorja je izražena kot vrednost invertnega sladkorja.

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

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

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

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

Saharoza % (m/m)	Lomni količnik pri 20 °C	Gostota pri 20 °C	Sladkor v g/l	Sladkor v g/kg	Alkoholna stopnja % vol pri 20 °C
35.0	1.39031	1.1537	370.5	321.1	22,01
35.1	1.39050	1.1543	371.8	322.1	22,09
35.2	1.39069	1.1548	373.0	323.0	22,16
35.3	1.39087	1.1553	374.3	324.0	22,24
35.4	1.39106	1.1558	375.6	325.0	22,32
35.5	1.39125	1.1563	376,9	325.9	22,39
35.6	1.39144	1.1568	378.1	326.9	22,45
35.7	1.39163	1.1573	379.4	327.8	22,54
35.8	1.39181	1.1579	380.7	328.8	22,62
35.9	1.39200	1.1584	381.9	329.7	22,69
36.0	1.39219	1.1589	383.2	330.7	22,77
36.1	1.39238	1.1594	384.5	331.6	22,85
36.2	1.39257	1.1599	385.8	332.6	22,92
36.3	1.39276	1.1604	387.0	333.5	22,99
36.4	1.39295	1.1610	388.3	334.5	23,07
36.5	1.39314	1.1615	389.6	335.4	23,15
36.6	1.39332	1.1620	390.9	336.4	23,22
36.7	1.39351	1.1625	392.2	337.3	23,30
36.8	1.39370	1.1630	393.4	338.3	23,37
36.9	1.39389	1.1635	394.7	339.2	23,45
37.0	1.39408	1.1641	396.0	340.2	23,53
37.1	1.39427	1.1646	397.3	341.1	23,60
37.2	1.39446	1.1651	398.6	342.1	23,68
37.3	1.39465	1.1656	399.8	343.0	23,75
37.4	1.39484	1.1661	401.1	344.0	23,83
37.5	1.39504	1.1666	402.4	344.9	23,91
37.6	1.39523	1.1672	403.7	345.9	23,99
37.7	1.39542	1.1677	405.0	346.8	24,06
37.8	1.39561	1.1682	406.2	347.7	24,13
37.9	1.39580	1.1687	407.5	348.7	24,21
38.0	1.39599	1.1692	408.8	349.6	24,29
38.1	1.39618	1.1698	410.1	350.6	24,37
38.2	1.39637	1.1703	411.3	351.5	24,44
38.3	1.39657	1.1708	412.6	352.4	24,51
38.4	1.39676	1.1713	413.9	353.4	24,59
38.5	1.39695	1.1718	415.2	354.3	24,67
38.6	1.39714	1.1723	416.4	355.2	24,74
38.7	1.39733	1.1728	417.7	356.1	24,82
38.8	1.39753	1.1733	419.0	357.1	24,90
38.9	1.39772	1.1739	420.2	358.0	24,97
39.0	1.39791	1.1744	421.5	358.9	25,04
39.1	1.39810	1.1749	422.8	359.8	25,12
39.2	1.39830	1.1754	424.1	360.8	25,20
39.3	1.39849	1.1759	425.3	361.7	25,27
39.4	1.39869	1.1764	426.6	362.6	25,35
39.5	1.39888	1.1770	427.9	363.6	25,42
39.6	1.39907	1.1775	429.2	364.5	25,50
39.7	1.39927	1.1780	430.5	365.4	25,58
39.8	1.39946	1.1785	431.7	366.3	25,65
39.9	1.39966	1.1790	433.0	367.3	25,73

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

Saharoza % (m/m)	Lomni količnik pri 20 °C	Gostota pri 20 °C	Sladkor v g/l	Sladkor v g/kg	Alkoholna stopnja % vol pri 20 °C
45.0	1.40977	1.2 064	500.7	415.0	29,75
45.1	1.40997	1.2 070	502.1	416.0	29,83
45.2	1.41018	1.2 076	503.5	417.0	29,92
45.3	1.41038	1.2 081	504.9	417.9	30,00
45.4	1.41058	1.2 087	506.3	418.9	30,08
45.5	1.41079	1.2 093	507.8	419.9	30,17
45.6	1.41099	1.2 098	509.2	420.9	30,25
45.7	1.41119	1.2 104	510.6	421.8	30,34
45.8	1.41139	1.2 110	512.0	422.8	30,42
45.9	1.41160	1.2 115	513.4	423.7	30,50
46.0	1.41180	1.2 121	514.8	424.7	30,59
46.1	1.41200	1.2 127	516.1	425.6	30,66
46.2	1.41221	1.2 132	517.5	426.5	30,75
46.3	1.41241	1.2 137	518.8	427.5	30,82
46.4	1.41262	1.2 143	520.2	428.4	30,91
46.5	1.41282	1.2 148	521.5	429.3	30,99
46.6	1.41302	1.2 154	522.8	430.2	31,06
46.7	1.41323	1.2 159	524.2	431.1	31,15
46.8	1.41343	1.2 165	525.5	432.0	31,22
46.9	1.41364	1.2 170	526.9	432.9	31,31
47.0	1.41384	1.2 175	528.2	433.8	31,38
47.1	1.41405	1.2 181	529.6	434.8	31,47
47.2	1.41425	1.2 187	531.0	435.7	31,55
47.3	1.41446	1.2 192	532.4	436.7	31,63
47.4	1.41466	1.2 198	533.8	437.6	31,72
47.5	1.41487	1.2 204	535.3	438.6	31,81
47.6	1.41508	1.2 210	536.7	439.5	31,89
47.7	1.41528	1.2215	538.1	440.5	31,97
47.8	1.41549	1.2221	539.5	441.4	32,05
47.9	1.41569	1.2227	540.9	442.4	32,14
48.0	1.41590	1.2232	542.3	443.3	32,22
48.1	1.41611	1.2238	543.6	444.2	32,30
48.2	1.41632	1.2243	545.0	445.1	32,38
48.3	1.41652	1.2249	546.3	446.0	32,46
48.4	1.41673	1.2254	547.7	446.9	32,59
48.5	1.41694	1.2260	549.1	447.8	32,63
48.6	1.41715	1.2265	550.4	448.7	32,70
48.7	1.41736	1.2271	551.8	449.7	32,79
48.8	1.41756	1.2276	553.1	450.6	32,86
48.9	1.41777	1.2282	554.5	451.4	32,95
49.0	1.41798	1.2287	555.8	452.3	33,02
49.1	1.41819	1.2293	557.2	453.3	33,11
49.2	1.41840	1.2298	558.6	454.2	33,19
49.3	1.41861	1.2304	560.0	455.1	33,27
49.4	1.41882	1.2310	561.4	456.1	33,36
49.5	1.41903	1.2315	562.8	457.0	33,44
49.6	1.41924	1.2321	564.2	457.9	33,52
49.7	1.41945	1.2327	565.6	458.8	33,61
49.8	1.41966	1.2332	567.0	459.8	33,69
49.9	1.41987	1.2338	568.4	460.7	33,77

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

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

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

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

Saharoza % (m/m)	Lomni količnik pri 20 °C	Gostota pri 20 °C	Sladkor v g/l	Sladkor v g/kg	Alkoholna stopnja % vol pri 20 °C
70.0	1.46544	1.3577	874.6	644.2	51,97
70.1	1.46568	1.3583	876.2	645.1	52,06
70.2	1.46593	1.3590	877.8	645.9	52,15
70.3	1.46618	1.3596	879.4	646.8	52,25
70.4	1.46642	1.3603	881.0	647.7	52,35
70.5	1.46667	1.3609	882.7	648.6	52,45
70.6	1.46691	1.3616	884.3	649.4	52,54
70.7	1.46715	1.2622	885.9	650.3	52,64
70.8	1.46740	1.3629	887.5	651.2	52,73
70.9	1.46765	1.3635	889.1	652.1	52,83
71.0	1.46789	1.3642	890.7	652.9	52,92
71.1	1.46814	1.3649	892.4	653.8	53,02
71.2	1.46838	1.3655	894.1	654.7	53,12
71.3	1.46863	1.3662	895.7	655.6	53,22
71.4	1.46888	1.3669	897.4	656.5	53,32
71.5	1.46913	1.3676	899.1	657.4	53,42
71.6	1.46937	1.3683	900.8	658.3	53,52
71.7	1.46962	1.3689	902.5	659.2	53,62
71.8	1.46987	1.3696	904.1	660.1	53,72
71.9	1.47011	1.3703	905.8	661.0	53,82
72.0	1.47036	1.3710	907.5	661.9	53,92
72.1	1.47061	1.3717	909.2	662.8	54,02
72.2	1.47086	1.3723	910.8	663.7	54,12
72.3	1.47110	1.3730	912.5	664.6	54,22
72.4	1.47135	1.3737	914.2	665.5	54,32
72.5	1.47160	1.3744	915.9	666.4	54,42
72.6	1.47185	1.3750	917.5	667.3	54,51
72.7	1.47210	1.3757	919.2	668.2	54,62
72.8	1.47234	1.3764	920.9	669.0	54,72
72.9	1.47259	1.3771	922.5	669.9	54,81
73.0	1.47284	1.3777	924.2	670.8	54,91
73.1	1.47309	1.3784	925.9	671.7	55,01
73.2	1.47334	1.3791	927.6	672.6	55,11
73.3	1.47359	1.3798	929.2	673.5	55,21
73.4	1.47384	1.3804	930.9	674.4	55,31
73.5	1.47409	1.3811	932.6	675.2	55,41
73.6	1.47434	1.3818	934.3	676.1	55,51
73.7	1.47459	1.3825	936.0	677.0	55,61
73.8	1.47484	1.3832	937.6	677.9	55,71
73.9	1.47509	1.3838	939.3	678.8	55,81
74.0	1.47534	1.3845	941.0	679.7	55,91
74.1	1.47559	1.3852	942.7	680.5	56,01
74.2	1.47584	1.3859	944.4	681.4	56,11
74.3	1.47609	1.3866	946.0	682.3	56,21
74.4	1.47634	1.3872	947.7	683.2	56,31
74.5	1.47660	1.3879	949.4	684.0	56,41
74.6	1.47685	1.3886	951.1	684.9	56,51
74.7	1.47710	1.3893	952.8	685.8	56,61
74.8	1.47735	1.3900	954.4	686.7	56,71
74.9	1.47760	1.3906	956.1	687.5	56,81

TABELA III

V tabeli so dane koncentracije sladkorja ⁽¹⁾ v rektificiranem zgoščenem moštu v gramih na liter in gramih na kilogram, ki so bile določene z refraktometrom, umerjenim bodisi na masni delež saharoze pri 20 °C bodisi na lomni količnik pri 20 °C. Dana je tudi gostota pri 20 °C

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

⁽¹⁾ Koncentracija sladkorja je izražena kot vrednost invertnega sladkorja.

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

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

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

Saharoza % (m/m)	Lomni količnik pri 20 °C	Gostota pri 20 °C	Sladkor v g/l	Sladkor v g/kg	Alkoholna stopnja % vol pri 20 °C
70.0	1.46544	1.3573	971.8	716.0	57,72
70.1	1.46565	1.3579	973.8	717.1	57,84
70.2	1.46590	1.3586	975.6	718.1	57,95
70.3	1.46614	1.3593	977.6	719.2	58,07
70.4	1.46639	1.3599	979.4	720.2	58,18
70.5	1.46663	1.3606	981.3	721.2	58,29
70.6	1.46688	1.3613	983.3	722.3	58,41
70.7	1.46712	1.3619	985.2	723.4	58,52
70.8	1.46737	1.3626	987.1	724.4	58,63
70.9	1.46761	1.3633	988.9	725.4	58,74
71.0	1.46789	1.3639	990.9	726.5	58,86
71.1	1.46810	1.3646	992.8	727.5	58,97
71.2	1.46835	1.3653	994.8	728.6	59,09
71.3	1.46859	1.3659	996.6	729.6	59,20
71.4	1.46884	1.3665	998.5	730.7	59,31
71.5	1.46908	1.3672	1000.4	731.7	59,42
71.6	1.46933	1.3678	1002.2	732.7	59,53
71.7	1.46957	1.3685	1004.2	733.8	59,65
71.8	1.46982	1.3692	1006.1	734.8	59,76
71.9	1.47007	1.3698	1008.0	735.9	59,88
72.0	1.47036	1.3705	1009.9	736.9	59,99
72.1	1.47056	1.3712	1012.0	738.0	60,11
72.2	1.47081	1.3718	1013.8	739.0	60,22
72.3	1.47106	1.3725	1015.7	740.0	60,33
72.4	1.47131	1.3732	1017.7	741.1	60,45
72.5	1.47155	1.3738	1019.5	742.1	60,56
72.6	1.47180	1.3745	1021.5	743.2	60,68
72.7	1.47205	1.3752	1023.4	744.2	60,79
72.8	1.47230	1.3758	1025.4	745.3	60,91
72.9	1.47254	1.3765	1027.3	746.3	61,02
73.0	1.47284	1.3772	1029.3	747.4	61,14
73.1	1.47304	1.3778	1031.2	748.4	61,25
73.2	1.47329	1.3785	1033.2	749.5	61,37
73.3	1.47354	1.3792	1035.1	750.5	61,48
73.4	1.47379	1.3798	1037.1	751.6	61,60
73.5	1.47404	1.3805	1039.0	752.6	61,72
73.6	1.47429	1.3812	1040.9	753.6	61,83
73.7	1.47454	1.3818	1042.8	754.7	61,94
73.8	1.47479	1.3825	1044.8	755.7	62,06
73.9	1.47504	1.3832	1046.8	756.8	62,18
74.0	1.47534	1.3838	1048.6	757.8	62,28
74.1	1.47554	1.3845	1050.7	758.9	62,41
74.2	1.47579	1.3852	1052.6	759.9	62,52
74.3	1.47604	1.3858	1054.6	761.0	62,64
74.4	1.47629	1.3865	1056.5	762.0	62,76
74.5	1.47654	1.3871	1058.5	763.1	62,87
74.6	1.47679	1.3878	1060.4	764.1	62,99
74.7	1.47704	1.3885	1062.3	765.1	63,10
74.8	1.47730	1.3892	1064.4	766.2	63,23
74.9	1.47755	1.3898	1066.3	767.2	63,33
75.0	1.47785	1.3905	1068.3	768.3	63,46

3. VOLUMENSKI DELEŽ ALKOHOLA

1. OPREDELITEV POJMA

Volumenski delež alkohola je število litrov etanola v 100 litrih vina, pri čemer sta obe prostornini merjeni pri temperaturi 20 °C. Izražen je s simbolom „% vol“.

Opomba:

Homologi etanola, skupaj z etanolom in homologi etanola v etilnih estrih, so vključeni v alkoholno stopnjo, ker nastopajo v destilatu.

2. PRINCIP METOD

2.1 Destilacija vina, ki je naalkaljeno s suspenzijo kalcijevega hidroksida. Meri se alkoholna stopnja v destilatu.

2.2 **Referenčna metoda:** merjenje gostote destilata s piknometrom.

2.3 Običajne metode:

2.3.1 Merjenje alkoholne stopnje v destilatu s hidrometrom.

2.3.2 Merjenje alkoholne stopnje v destilatu z denzimetrijo z uporabo hidrostatske tehnice.

2.3.3 Merjenje alkoholne stopnje v destilatu z refraktometrijo.

Opomba:

Če želimo ugotoviti alkoholno stopnjo iz gostote destilata, uporabimo tabele I, II in III v dodatku II k temu oddelku Priloge. Te so bile izračunane na podlagi *Mednarodnih tabel alkoholnih stopenj*, ki jih je objavila Mednarodna organizacija za zakonsko meroslovje v Priporočilu št. 22 iz leta 1972 in sprejel Mednarodni urad za trto in vino (OIV) (Generalna skupščina, 1974).

Tabela I vsebuje splošne formule, ki povezujejo volumenski delež alkohola z gostoto mešanic alkohol–voda kot funkcijo temperature.

3. METODE ZAPRIDOBIVANJA DESTILATA

3.1 Aparature

3.1.1 Destilator, ki je sestavljen iz:

- litrske okrogle bučke z obrusi,
- rektifikacijske kolone, visoke približno 20 cm, ali katere koli druge aparature, ki prepreči brizganje,
- vira toplote; z ustrezno pripravo je treba preprečiti pirolizo ekstrakta,
- kondenzatorja s cevjo, ki destilat vodi na dno umerjene bučke, vsebujoče nekaj mililitrov vode.

3.1.2 Parni destilator, ki je sestavljen iz:

1. uparjalnika;
2. parne cevke;
3. rektifikacijske kolone;
4. kondenzatorja.

Uporaben je kateri koli tip destilatorja ali parnega destilatorja, ki ustreza naslednjemu testu:

Destiliramo mešanico vode in etanola z alkoholno stopnjo 10 % vol petkrat zapored. Po peti destilaciji mora biti alkoholna stopnja v destilatu najmanj 9,9 % vol, kar pomeni, da izguba alkohola med vsako destilacijo ne sme presežati 0,02 % vol.

3.2 Reagenti

- 3.2.1 2 M raztopina kalcijevega hidroksida, ki jo pripravimo tako, da 1 liter vode s temperaturo 60 do 70 °C previdno nalijemo na 120 g gašenega apna (CaO).

3.3 Priprava vzorca

Iz mladih in penečih vin večino ogljikovega dioksida odstranimo tako, da 250 do 300 ml vina stresamo v 500 ml bučki.

3.4 Postopek

Odmerimo 200 ml vina z uporabo merilne bučke.

Zabeležimo temperaturo vina.

Vino nalijemo v destilacijsko bučko in nanjo namestimo parno cevko parnega destilatorja. Merilno bučko štirikrat zapored izplaknemo s 5 ml vode, ki jo nalijemo v bučko ali v cevko za paro. Dodamo 10 ml (3.2.1) kalcijevega hidroksida in več poroznih vrelnih kamenčkov (plovec itd.).

Destilat lovimo v 200 ml merilno bučko, s katero merimo prostornino vina.

Pri navadni destilaciji destiliramo do približno treh četrtin prvotne prostornine, pri parni destilaciji odvezujemo 198 do 199 ml destilata. Dodamo toliko destilirane vode, da dobimo 200 ml, pri čemer ohranjamo temperaturo destilata v razponu ± 2 °C prvotne temperature.

Pazljivo premešamo s krožnimi gibi.

Opomba:

Če vino vsebuje zelo velike koncentracije amonijevih ionov, se lahko destilat ponovno destilira pod zgoraj opisanimi pogoji, pri čemer pa se raztopina kalcijevega hidroksida nadomesti z 1 M žveplovo kislino, razredčeno na 10 delov v 100 (vol/vol).

4. REFERENČNA METODA

Merjenje alkoholne stopnje v destilatu s piknometrom.

4.1 Aparatura

- 4.1.1 Uporabimo standardizirani piknometar, kakor je opisano v poglavju „Gostota in specifična teža“ (poglavje 1 Priloge).

4.2 Postopek

Izmerimo navidezno gostoto destilata (3.4) pri t °C, kakor je opisano v poglavju „Gostota in specifična teža“ (oddelka 4.3.1 in 4.3.2 poglavja 1 Priloge). To gostoto označimo z ρ_t .

4.3 Izražanje rezultatov

4.3.1 Izračun

Določimo alkoholno stopnjo pri 20 °C z uporabo tabele I. V vodoravni vrstici te tabele, ki prikazuje temperaturo T (izraženo v celih številih), neposredno pod t °C najdemo najmanjšo gostoto, ki presega ρ_t . Uporabimo tabelarično razliko neposredno pod to gostoto za izračun gostote ρ pri tej temperaturi T .

V vrstici, ki prikazuje temperaturo T , najdemo gostoto ρ neposredno nad ρ' in izračunamo razliko med gostotama ρ in ρ' . To razliko delimo s tabelarično razliko, ki je neposredno na desni strani gostote ρ' . Količnik pomeni decimalni del alkoholne stopnje, medtem ko je celo število te stopnje prikazano na začetku stolpca, v katerem je gostota ρ' .

Primer izračuna alkoholne stopnje je naveden v dodatku I k temu poglavju Priloge.

Opomba:

Ta temperaturna korekcija je bila vnesena v računalniški program in se lahko izvaja avtomatsko.

4.3.2 Ponovljivost, r : $r = 0,10$ % vol.

4.3.3 Obnovljivost, R : $R = 0,19$ % vol.

5. OBIČAJNE METODE

5.1 Hidrometrija

5.1.1 Aparature

5.1.1.1 Alkoholometer.

Alkoholometer mora ustrezati specifikacijam za opremo razreda I ali razreda II, opredeljenim v Mednarodnem priporočilu št. 44, *Alkoholometri in alkoholni hidrometri*, Mednarodne organizacije za zakonsko meroslovje.

5.1.1.2 Termometer, umerjen v stopinjah in z razdelki $0,1$ °C od 0 do 40 °C ter s potrjeno natančnostjo do $1/20$ stopinje.

5.1.1.3 Merilni valj premera 36 mm in višine 320 mm, postavljen navpično z uporabo izravnalnih vijakov.

5.1.2 Postopek

Destilat (3.4) prelijemo v merilni valj. Pri tem moramo paziti, da je valj v navpičnem položaju. Vstavimo termometer in alkoholometer. Najprej valj pretresemo, da izenačimo temperaturo merilnega valja, termometra, alkoholometra in destilata, nato po preteku ene minute odčitamo temperaturo na termometru. Odstranimo termometer in po eni minuti odčitamo navidezno alkoholno stopnjo. Stopnjo odčitamo najmanj trikrat in pri tem uporabimo povečevalno steklo. Z uporabo tabele II korigiramo navidezno stopnjo, merjeno pri t °C, zaradi temperaturnega učinka.

Temperatura tekočine naj se le malo razlikuje od temperature prostora (največ za 5 °C).

5.2 Denzimetrija z uporabo hidrostatske tehtnice

5.2.1 Aparatura

5.2.1.1 Hidrostatska tehtnica se uporablja, kakor je opisano v poglavju „Gostota in specifična teža“.

5.2.2 Postopek

Navidezna gostota destilata pri t °C se meri, kakor je opisano v poglavju „Gostota in specifična teža“, oddelek 5.2.2.

5.2.3 *Izražanje rezultatov*

Določimo alkoholno stopnjo pri 20 °C z metodo iz točke 4.3.1, pri čemer uporabimo tabelo I, če je plovec iz nepregornega stekla, in tabelo III, če je plovec iz navadnega stekla.

5.3 **Refraktometrija**5.3.1 *Aparatura*

5.3.1.1 Refraktometer, ki omogoča merjenje lomnih količnikov v razponu 1,330 do 1,346. Glede na vrsto opreme se meritve opravijo:

- bodisi pri 20 °C z ustreznim instrumentom,
- bodisi pri temperaturi prostora t °C z instrumentom, opremljenim s termometrom, na katerem je možno odčitati temperaturo vsaj na 0,05 °C natančno. Skupaj z instrumentom je na voljo tudi tabela s temperaturnimi korekcijami.

5.3.2 *Postopek*

Lomni količnik vinskega destilata, pridobljenega v skladu s 3.3 zgoraj, se meri po postopku, ki je predpisan za uporabljeno vrsto instrumenta.

5.3.3 *Izražanje rezultatov*

Tabela IV se uporablja za ugotavljanje alkoholne stopnje, ki ustreza lomnemu količniku pri 20 °C.

Opomba:

Tabela IV prikazuje alkoholne stopnje, ki ustrezajo lomnim količnikom za mešanico čistega alkohola in vode in za vinske destilate. Pri vinskih destilatih upošteva tudi nečistoče v destilatu (pretežno višjih alkoholov). Navzočnost metanola zniža lomni količnik in s tem tudi alkoholno stopnjo.

6. PRIMER IZRAČUNA ALKOHOLNE STOPNJE V VINU

6.1 **Merjenje s piknometrom na dvoramenski tehtnici**

6.1.1 Konstante piknometra so bile določene in izračunane, kakor je opisano v poglavju 1 „Gostota in specifična teža“, oddelek 6.1.1.

6.1.2 *Tehtanje piknometra, napolnjenega z destilatom*

Številčni primer

$$\text{Tara} = \text{piknometer} + \text{destilat pri } t \text{ °C} + p'' \quad \left\{ \begin{array}{l} t \text{ °C} = 18,90 \text{ °C} \\ t \text{ °C korigirana} = 18,70 \text{ °C} \\ p'' = 2,8074 \text{ g} \end{array} \right.$$

$$p + m - p'' = \text{masa destilata pri } t \text{ °C} \quad 105,0698 - 2,8074 = 102,2624 \text{ g}$$

Navidezna gostota pri t °C

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

6.1.3 *Izračun alkoholne stopnje*

Uporabimo tabelo navideznih gostot mešanice vode in alkohola pri različnih temperaturah, kakor je prikazano zgoraj

V vrstici tabele z navideznimi gostotami, kjer je 18 °C, je najmanjša gostota, ki presega ugotovljeno gostoto 0,983076, v stolpcu 11 % vol, in to 0,98398

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

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

Decimalni del % vol alkoholne stopnje je
 $75/114 = 0,65$

Alkoholna stopnja je 11,65 % vol

6.2 **Merjenje s piknometrom na enoramenski tehtnici**

6.2.1 Konstante piknometra so bile določene in izračunane, kakor je opisano v poglavju 1 „Gostota in specifična teža“, oddelek 6.2.1.

6.2.2 *Tehtanje piknometra, napolnjenega z destilatom*

Teža tara posode v gramih v času merjenja:

$$T_1 = 171,9178$$

Piknometer, napolnjen z destilatom pri 20,50 °C v gramih:

$$P_2 = 167,8438$$

Variacija v vzgonu zraka:

$$dT = 171,9178 - 171,9160 \\ = + 0,0018$$

Masa destilata pri 20,50 °C:

$$L_t = 167,8438 - (67,6695 + 0,0018) \\ = 100,1725$$

Navidezna gostota destilata:

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

6.2.3 *Izračun alkoholne stopnje*

Uporabimo tabelo navideznih gostot mešanice vode in alkohola pri različnih temperaturah, kakor je prikazano zgoraj

V vrstici tabele z navideznimi gostotami, kjer je 20 °C, je najmanjša gostota, ki presega ugotovljeno gostoto 0,983825, v stolpcu 10 % vol, in to 0,98471

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

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

Decimalni del % vol alkoholne stopnje je
 $76,5/119 = 0,64$

Alkoholna stopnja je 10,64 % vol

**FORMULA, S KATERO SO IZRAČUNANE TABELE ALKOHOLNIH
STOPENJ MEŠANICE ETANOLA IN VODE**

Gostota ρ v kilogramih na kubični meter (kg/m^3) mešanice etanola in vode pri temperaturi t v stopinjah Celzija je dana s spodnjo formulo kot funkcija:

- alkoholne stopnje glede na težo p , izražene kot decimalno število ⁽¹⁾,
- temperature t v $^{\circ}\text{C}$ (EIP 68),
- spodnjih številčnih koeficientov.

Formula velja za temperature med -20 in $+40$ $^{\circ}\text{C}$.

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

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

Številčni koeficienti v formuli

k	A_k kg/m^3	B_k	
1	$9,982\,012\,300 \cdot 10^2$	$-2,061\,851\,3 \cdot 10^{-1} \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot ^{\circ}\text{C})$	
2	$-1,929\,769\,495 \cdot 10^2$	$-5,268\,254\,2 \cdot 10^{-3} \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot ^{\circ}\text{C}^2)$	
3	$3,891\,238\,958 \cdot 10^2$	$3,613\,001\,3 \cdot 10^{-5} \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot ^{\circ}\text{C}^3)$	
4	$-1,668\,103\,923 \cdot 10^3$	$-3,895\,770\,2 \cdot 10^{-7} \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot ^{\circ}\text{C}^4)$	
5	$1,352\,215\,441 \cdot 10^4$	$7,169\,354\,0 \cdot 10^{-9} \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot ^{\circ}\text{C}^5)$	
6	$-8,829\,278\,388 \cdot 10^4$	$-9,973\,923\,1 \cdot 10^{-11} \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot ^{\circ}\text{C}^6)$	
7	$3,062\,874\,042 \cdot 10^5$		
8	$-6,138\,381\,234 \cdot 10^5$		
9	$7,470\,172\,998 \cdot 10^5$		
10	$-5,478\,461\,354 \cdot 10^5$		
11	$2,234\,460\,334 \cdot 10^5$		
12	$-3,903\,285\,426 \cdot 10^4$		
k	$C_{1,k}$ $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot ^{\circ}\text{C})$	$C_{2,k}$ $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot ^{\circ}\text{C}^2)$	
1	$1,693\,443\,461\,530\,087 \cdot 10^{-1}$	$-1,193\,013\,005\,057\,010 \cdot 10^{-2}$	
2	$-1,046\,914\,743\,455\,169 \cdot 10^1$	$2,517\,399\,633\,803\,461 \cdot 10^{-1}$	
3	$7,196\,353\,469\,546\,523 \cdot 10^1$	$-2,170\,575\,700\,536\,993$	
4	$-7,047\,478\,054\,272\,792 \cdot 10^2$	$1,353\,034\,988\,843\,029 \cdot 10^1$	
5	$3,924\,090\,430\,035\,045 \cdot 10^3$	$-5,029\,988\,758\,547\,014 \cdot 10^1$	
6	$-1,210\,164\,659\,068\,747 \cdot 10^4$	$1,096\,355\,666\,577\,570 \cdot 10^2$	
7	$2,248\,646\,550\,400\,788 \cdot 10^4$	$-1,422\,753\,946\,421\,155 \cdot 10^2$	
8	$-2,605\,562\,982\,188\,164 \cdot 10^4$	$1,080\,435\,942\,856\,230 \cdot 10^2$	
9	$1,852\,373\,922\,069\,467 \cdot 10^4$	$-4,414\,153\,236\,817\,392 \cdot 10^1$	
10	$-7,420\,201\,433\,430\,137 \cdot 10^3$	$7,442\,971\,530\,188\,783$	
11	$1,285\,617\,841\,998\,974 \cdot 10^3$		
k	$C_{3,k}$ $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot ^{\circ}\text{C}^3)$	$C_{4,k}$ $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot ^{\circ}\text{C}^4)$	$C_{5,k}$ $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot ^{\circ}\text{C}^5)$
1	$-6,802\,995\,733\,503\,803 \cdot 10^{-4}$	$4,075\,376\,675\,622\,027 \cdot 10^{-6}$	$-2,788\,074\,354\,782\,409 \cdot 10^{-8}$
2	$1,876\,837\,790\,289\,664 \cdot 10^{-2}$	$-8,763\,058\,573\,471\,110 \cdot 10^{-6}$	$1,345\,612\,883\,493\,354 \cdot 10^{-8}$
3	$-2,002\,561\,813\,734\,156 \cdot 10^{-1}$	$6,515\,031\,360\,099\,368 \cdot 10^{-6}$	
4	$1,022\,992\,966\,719\,220$	$-1,515\,784\,836\,987\,210 \cdot 10^{-6}$	
5	$-2,895\,696\,483\,903\,638$		
6	$4,810\,060\,584\,300\,675$		
7	$-4,672\,147\,440\,794\,683$		
8	$2,458\,043\,105\,903\,461$		
9	$-5,411\,227\,621\,436\,812 \cdot 10^{-1}$		

⁽¹⁾ Na primer za alkoholno stopnjo 12 % na težo, $p = 0,12$.

TABELA I

MEDNARODNA ALKOHOLNA STOPNJA PRI 20 °C

Tabela navideznih gostot mešanice etanola in vode – piknomet iz nepregornega stekla

Gostote pri t °C, korigirane glede na vzgon zraka

t°	Alkoholna stopnja v % vol																							
	0		1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11	
0°	999,64	1,50	998,14	1,44	996,70	1,40	995,30	1,35	993,95	1,30	992,65	1,24	991,41	1,19	990,22	1,14	989,08	1,10	987,98	1,05	986,93	1,00	985,93	0,95
1°	-0,07		-0,06		-0,06		-0,06		-0,06		-0,06		-0,06		-0,05		-0,04		-0,03		-0,02		-0,01	
	999,71	1,51	998,20	1,44	996,76	1,40	995,36	1,35	994,01	1,30	992,71	1,24	991,47	1,20	990,27	1,15	989,12	1,11	988,01	1,06	986,95	1,01	985,94	0,97
2°	-0,05		-0,05		-0,04		-0,04		-0,04		-0,04		-0,03		-0,03		-0,02		-0,02		-0,01		0,00	
	999,76	1,51	998,25	1,45	996,80	1,40	995,40	1,35	994,05	1,30	992,75	1,25	991,50	1,20	990,30	1,16	989,14	1,11	988,03	1,07	986,96	1,02	985,94	0,98
3°	-0,03		-0,03		-0,03		-0,02		-0,02		-0,02		-0,02		-0,01		-0,01		0,00		0,01		0,02	
	999,79	1,51	998,28	1,45	996,83	1,41	995,42	1,35	994,07	1,30	992,77	1,25	991,52	1,21	990,31	1,16	989,15	1,12	988,03	1,08	986,95	1,03	985,92	1,00
4°	-0,02		-0,02		-0,01		-0,02		-0,01		-0,01		0,00		0,00		0,01		0,02		0,03		0,04	
	999,81	1,51	998,30	1,46	996,84	1,40	995,44	1,36	994,08	1,30	992,78	1,26	991,52	1,21	990,31	1,17	989,14	1,13	988,01	1,09	986,92	1,04	985,88	1,00
5°	0,00		0,00		0,00		0,00		0,01		0,02		0,02		0,02		0,02		0,03		0,04		0,05	
	999,81	1,51	998,30	1,46	996,84	1,40	995,44	1,37	994,07	1,31	992,76	1,26	991,50	1,21	990,29	1,17	989,12	1,14	987,98	1,10	986,88	1,05	985,83	1,01
6°	0,01		0,01		0,01		0,02		0,01		0,02		0,03		0,04		0,05		0,05		0,05		0,06	
	999,80	1,51	998,29	1,46	996,83	1,41	995,42	1,36	994,06	1,32	992,74	1,27	991,47	1,22	990,25	1,18	989,07	1,14	987,93	1,10	986,83	1,06	985,77	1,03
7°	0,03		0,03		0,03		0,03		0,04		0,04		0,04		0,05		0,06		0,07		0,08		0,09	
	999,77	1,51	998,26	1,46	996,80	1,41	995,39	1,37	994,02	1,32	992,70	1,27	991,43	1,23	990,20	1,19	989,01	1,15	987,86	1,11	986,75	1,07	985,68	1,03
8°	0,05		0,04		0,04		0,05		0,05		0,05		0,05		0,06		0,06		0,07		0,08		0,09	
	999,72	1,50	998,22	1,46	996,76	1,42	995,34	1,37	993,97	1,32	992,65	1,27	991,38	1,24	990,14	1,19	988,95	1,16	987,79	1,12	986,67	1,08	985,59	1,05
9°	0,05		0,06		0,06		0,06		0,06		0,06		0,07		0,07		0,08		0,09		0,10		0,11	
	999,67	1,51	998,16	1,46	996,70	1,42	995,28	1,37	993,91	1,32	992,59	1,28	991,31	1,24	990,07	1,20	988,87	1,17	987,70	1,13	986,57	1,09	985,48	1,06
10°	0,07		0,07		0,07		0,07		0,07		0,08		0,08		0,09		0,09		0,10		0,11		0,12	
	999,60	1,51	998,09	1,46	996,63	1,42	995,21	1,37	993,84	1,33	992,51	1,28	991,23	1,25	989,98	1,20	988,78	1,17	987,60	1,14	986,46	1,10	985,36	1,06
11°	0,09		0,09		0,09		0,08		0,09		0,09		0,10		0,10		0,11		0,11		0,12		0,13	
	999,51	1,51	998,00	1,46	996,54	1,41	995,13	1,38	993,75	1,33	992,42	1,29	991,13	1,25	989,88	1,21	988,67	1,18	987,49	1,15	986,34	1,11	985,23	1,07
12°	0,10		0,09		0,09		0,10		0,10		0,11		0,11		0,12		0,12		0,13		0,13		0,14	
	999,41	1,50	997,91	1,46	996,45	1,42	995,03	1,38	993,65	1,34	992,31	1,29	991,02	1,25	989,77	1,22	988,55	1,19	987,36	1,15	986,21	1,12	985,09	1,09
13°	0,11		0,11		0,11		0,11		0,11		0,11		0,12		0,12		0,13		0,14		0,15		0,16	
	999,30	1,50	997,80	1,46	996,34	1,42	994,92	1,38	993,54	1,34	992,20	1,30	990,90	1,25	989,65	1,23	988,42	1,20	987,22	1,16	986,06	1,13	984,93	1,09
14°	0,12		0,12		0,12		0,13		0,13		0,13		0,13		0,14		0,14		0,15		0,16		0,17	
	999,18	1,50	997,68	1,46	996,22	1,43	994,79	1,38	993,41	1,34	992,07	1,30	990,77	1,26	989,51	1,23	988,28	1,21	987,07	1,17	985,90	1,13	984,77	1,11
15°	0,13		0,14		0,14		0,13		0,13		0,14		0,14		0,15		0,16		0,16		0,17		0,18	
	999,05	1,51	997,54	1,46	996,08	1,42	994,66	1,38	993,28	1,35	991,93	1,30	990,63	1,27	989,36	1,24	988,12	1,21	986,91	1,18	985,73	1,14	984,59	1,12
16°	0,15		0,14		0,14		0,15		0,15		0,16		0,16		0,17		0,17		0,18		0,19		0,20	
	998,90	1,50	997,40	1,46	995,94	1,43	994,51	1,38	993,13	1,35	991,78	1,31	990,47	1,27	989,20	1,25	987,95	1,21	986,74	1,19	985,55	1,15	984,40	1,13
17°	0,16		0,16		0,16		0,16		0,16		0,17		0,17		0,18		0,18		0,19		0,20		0,21	
	998,74	1,50	997,24	1,46	995,78	1,43	994,35	1,38	992,97	1,36	991,61	1,31	990,30	1,28	989,02	1,25	987,77	1,22	986,55	1,19	985,36	1,16	984,20	1,14
18°	0,17		0,17		0,17		0,16		0,17		0,17		0,18		0,18		0,19		0,20		0,21		0,22	
	998,57	1,50	997,07	1,46	995,61	1,42	994,19	1,39	992,80	1,36	991,44	1,32	990,12	1,28	988,84	1,26	987,58	1,23	986,35	1,20	985,15	1,17	983,98	1,14
19°	0,18		0,18		0,18		0,19		0,19		0,19		0,20		0,20		0,21		0,22		0,23		0,24	
	998,39	1,50	996,89	1,46	995,43	1,43	994,00	1,39	992,61	1,36	991,25	1,32	989,93	1,29	988,64	1,26	987,38	1,23	986,15	1,21	984,94	1,10	983,76	1,16
20°	0,19		0,19		0,19		0,19		0,19		0,20		0,20		0,21		0,22		0,23		0,24		0,25	
	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°	Alkoholna stopnja v % vol																							
	0		1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11	
20°	998,20	1,50	996,70	1,46	995,24	1,43	993,81	1,39	992,42	1,36	991,06	1,33	989,73	1,29	988,44	1,27	987,17	1,24	985,93	1,22	984,71	1,19	983,52	1,16
	0,20		0,20		0,20		0,20		0,21		0,21		0,21		0,22		0,22		0,23		0,24		0,24	
21°	998,00	1,50	996,50	1,46	995,04	1,43	993,61	1,40	992,21	1,36	990,85	1,33	989,52	1,30	988,22	1,27	986,95	1,25	985,70	1,23	984,47	1,19	983,28	1,18
	0,21		0,21		0,21		0,21		0,21		0,22		0,22		0,23		0,24		0,24		0,24		0,26	
22°	997,79	1,50	996,29	1,46	994,83	1,43	993,40	1,40	992,00	1,37	990,63	1,33	989,30	1,31	987,99	1,28	986,71	1,25	985,46	1,23	984,23	1,21	983,02	1,18
	0,22		0,22		0,23		0,23		0,23		0,23		0,24		0,24		0,24		0,25		0,26		0,25	
23°	997,57	1,50	996,07	1,47	994,60	1,43	993,17	1,40	991,77	1,37	990,40	1,34	989,06	1,31	987,75	1,28	986,47	1,26	985,21	1,24	983,97	1,20	982,77	1,20
	0,24		0,23		0,23		0,23		0,24		0,24		0,24		0,25		0,26		0,26		0,27		0,29	
24°	997,33	1,49	995,84	1,47	994,37	1,43	992,94	1,41	991,53	1,37	990,16	1,34	988,82	1,32	987,50	1,29	986,21	1,26	984,95	1,25	983,70	1,22	982,48	1,20
	0,24		0,25		0,24		0,25		0,24		0,25		0,26		0,26		0,26		0,27		0,28		0,28	
25°	997,09	1,50	995,59	1,46	994,13	1,44	992,69	1,40	991,29	1,38	989,91	1,35	988,56	1,32	987,24	1,29	985,95	1,27	984,68	1,26	983,42	1,22	982,20	1,21
	0,25		0,25		0,26		0,25		0,26		0,26		0,26		0,26		0,28		0,28		0,28		0,30	
26°	996,84	1,50	995,34	1,47	993,87	1,43	992,44	1,41	991,03	1,38	989,65	1,35	988,30	1,32	986,98	1,31	985,67	1,27	984,40	1,26	983,14	1,24	981,90	1,22
	0,26		0,26		0,26		0,27		0,27		0,27		0,27		0,28		0,28		0,29		0,30		0,30	
27°	996,58	1,50	995,08	1,47	993,61	1,44	992,17	1,41	990,76	1,38	989,38	1,35	988,03	1,33	986,70	1,31	985,39	1,28	984,11	1,27	982,84	1,24	981,60	1,23
	0,27		0,27		0,27		0,27		0,28		0,28		0,29		0,29		0,29		0,30		0,31		0,32	
28°	996,31	1,50	994,81	1,47	993,34	1,44	991,90	1,42	990,48	1,38	989,10	1,36	987,74	1,33	986,41	1,31	985,10	1,29	983,81	1,28	982,53	1,25	981,28	1,23
	0,28		0,28		0,28		0,29		0,28		0,29		0,29		0,30		0,31		0,31		0,31		0,32	
29°	996,03	1,50	994,53	1,47	993,06	1,45	991,61	1,41	990,20	1,39	988,81	1,36	987,45	1,34	986,11	1,32	984,79	1,29	983,50	1,28	982,22	1,26	980,96	1,24
	0,28		0,29		0,29		0,29		0,30		0,30		0,31		0,31		0,31		0,32		0,32		0,33	
30°	995,75	1,51	994,24	1,47	992,77	1,45	991,32	1,42	989,90	1,39	988,51	1,37	987,14	1,34	985,80	1,32	984,48	1,30	983,18	1,28	981,90	1,27	980,63	1,25
	0,30		0,30		0,30		0,30		0,31		0,31		0,31		0,31		0,32		0,33		0,34		0,34	
31°	995,45	1,51	993,94	1,47	992,47	1,45	991,02	1,43	989,59	1,39	988,20	1,37	986,83	1,34	985,49	1,33	984,16	1,31	982,85	1,29	981,56	1,27	980,29	1,26
	0,31		0,31		0,31		0,32		0,31		0,32		0,32		0,33		0,33		0,34		0,35		0,36	
32°	995,14	1,51	993,63	1,47	992,16	1,46	990,70	1,42	989,28	1,40	987,88	1,37	986,51	1,35	985,16	1,33	983,83	1,32	982,51	1,30	981,21	1,28	979,93	1,26
	0,31		0,31		0,32		0,32		0,32		0,33		0,33		0,34		0,35		0,35		0,35		0,35	
33°	994,83	1,51	993,32	1,48	991,84	1,46	990,38	1,42	988,96	1,41	987,55	1,37	986,18	1,36	984,82	1,34	983,48	1,32	982,16	1,30	980,86	1,28	979,58	1,28
	0,32		0,33		0,33		0,33		0,35		0,34		0,35		0,35		0,34		0,35		0,36		0,37	
34°	994,51	1,52	992,99	1,48	991,51	1,46	990,05	1,44	988,61	1,40	987,21	1,38	985,83	1,36	984,47	1,33	983,14	1,33	981,81	1,31	980,50	1,29	979,21	1,28
	0,33		0,33		0,34		0,35		0,34		0,35		0,35		0,35		0,36		0,36		0,36		0,37	
35°	994,18	1,52	992,66	1,49	991,17	1,47	989,70	1,43	988,27	1,41	986,86	1,38	985,48	1,36	984,12	1,34	982,78	1,33	981,45	1,31	980,14	1,30	978,84	1,29
	0,34		0,35		0,35		0,35		0,35		0,35		0,35		0,36		0,36		0,37		0,37		0,38	
36°	993,84	1,53	992,31	1,49	990,82	1,47	989,35	1,43	987,92	1,41	986,51	1,38	985,13	1,37	983,76	1,34	982,42	1,34	981,08	1,31	979,77	1,31	978,46	1,29
	0,35		0,35		0,36		0,35		0,36		0,36		0,37		0,37		0,38		0,37		0,39		0,39	
37°	993,49	1,53	991,96	1,50	990,46	1,46	989,00	1,44	987,56	1,41	986,15	1,39	984,76	1,37	983,39	1,35	982,04	1,33	980,71	1,33	979,38	1,31	978,07	1,30
	0,36		0,36		0,36		0,37		0,37		0,37		0,37		0,37		0,38		0,39		0,38		0,39	
38°	993,13	1,53	991,60	1,50	990,10	1,47	988,63	1,44	987,19	1,41	985,78	1,39	984,39	1,37	983,02	1,36	981,66	1,34	980,32	1,32	979,00	1,32	977,68	1,31
	0,36		0,37		0,37		0,37		0,38		0,38		0,38		0,39		0,38		0,39		0,40		0,40	
39°	992,77	1,54	991,23	1,50	989,73	1,47	988,26	1,45	986,81	1,41	985,40	1,39	984,01	1,38	982,63	1,35	981,28	1,35	979,93	1,33	978,60	1,32	977,28	1,32
	0,37		0,37		0,38		0,39		0,38		0,39		0,39		0,39		0,40		0,39		0,40		0,41	
40°	992,40	1,54	990,86	1,51	989,35	1,48	987,87	1,44	986,43	1,42	985,01	1,39	983,62	1,38	982,24	1,36	980,88	1,34	979,54	1,34	978,20	1,33	976,87	1,32

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

t°	Alkoholna stopnja v % vol																							
	10		11		12		13		14		15		16		17		18		19		20		21	
20	984.71 0.24	1.19	983.52 0.24	1.16	982.36 0.26	1.15	981.21 0.26	1.13	980.08 0.27	1.11	978.97 0.28	1.10	977.87 0.29	1.08	976.79 0.31	1.08	975.71 0.33	1.08	974.63 0.34	1.07	973.56 0.36	1.08	972.48 0.37	1.08
21	984.47 0.24	1.19	983.28 0.26	1.18	982.10 0.28	1.15	980.95 0.29	1.14	978.81 0.30	1.12	978.69 0.31	1.11	977.58 0.33	1.10	976.48 0.33	1.10	975.38 0.35	1.09	974.29 0.35	1.09	973.20 0.36	1.09	972.11 0.37	1.09
22	984.23 0.26	1.21	983.02 0.26	1.18	981.84 0.27	1.17	980.67 0.28	1.15	979.52 0.29	1.13	978.39 0.31	1.12	977.27 0.32	1.12	976.15 0.33	1.10	975.05 0.35	1.11	973.94 0.35	1.10	972.84 0.37	1.10	971.74 0.39	1.12
23	983.97 0.27	1.20	982.77 0.29	1.20	981.57 0.29	1.18	980.39 0.29	1.16	979.23 0.30	1.15	978.08 0.31	1.13	976.95 0.33	1.13	975.82 0.33	1.12	974.70 0.35	1.11	973.59 0.37	1.12	972.47 0.38	1.12	971.36 0.40	1.12
24	983.70 0.28	1.22	982.48 0.28	1.20	981.28 0.29	1.18	980.10 0.31	1.17	978.93 0.32	1.16	977.77 0.33	1.15	976.62 0.33	1.13	975.49 0.35	1.14	974.35 0.36	1.13	973.22 0.37	1.13	972.09 0.39	1.14	970.95 0.40	1.14
25	983.42 0.28	1.22	982.20 0.30	1.21	980.99 0.31	1.20	979.79 0.31	1.18	978.61 0.32	1.17	977.44 0.33	1.15	976.29 0.35	1.15	975.14 0.36	1.15	973.99 0.37	1.14	972.85 0.39	1.15	971.70 0.40	1.15	970.55 0.41	1.16
26	983.14 0.30	1.24	981.90 0.30	1.22	980.68 0.31	1.20	979.48 0.32	1.19	978.29 0.33	1.18	977.11 0.34	1.17	975.94 0.35	1.16	974.78 0.36	1.16	973.62 0.38	1.16	972.46 0.39	1.16	971.30 0.40	1.16	970.14 0.42	1.17
27	982.84 0.31	1.24	981.60 0.32	1.23	980.37 0.32	1.21	979.16 0.33	1.20	977.96 0.34	1.19	976.77 0.35	1.18	975.59 0.36	1.17	974.42 0.38	1.18	973.24 0.38	1.17	972.07 0.40	1.17	970.90 0.41	1.18	969.72 0.43	1.18
28	982.53 0.31	1.25	981.28 0.32	1.23	980.05 0.33	1.22	978.83 0.34	1.21	977.62 0.35	1.20	976.42 0.36	1.19	975.23 0.37	1.19	974.04 0.38	1.18	972.86 0.40	1.19	971.67 0.40	1.18	970.49 0.42	1.20	969.29 0.43	1.20
29	982.22 0.32	1.26	980.96 0.33	1.24	979.72 0.34	1.23	978.49 0.35	1.22	977.27 0.36	1.21	976.06 0.37	1.20	974.86 0.38	1.20	973.66 0.40	1.20	972.46 0.41	1.19	971.27 0.43	1.20	970.07 0.44	1.21	968.86 0.45	1.22
30	981.90 0.34	1.27	980.63 0.34	1.25	979.38 0.35	1.24	978.14 0.36	1.23	976.91 0.37	1.22	975.69 0.38	1.21	974.48 0.40	1.22	973.26 0.40	1.21	972.05 0.41	1.21	970.84 0.42	1.21	969.63 0.44	1.22	968.41 0.45	1.23
31	981.56 0.35	1.27	980.29 0.36	1.26	979.03 0.36	1.25	977.78 0.37	1.24	976.54 0.38	1.23	975.31 0.39	1.23	974.08 0.39	1.22	972.86 0.40	1.22	971.64 0.42	1.22	970.42 0.43	1.23	969.19 0.44	1.23	967.96 0.46	1.24
32	981.21 0.35	1.28	979.93 0.35	1.26	978.67 0.37	1.26	977.41 0.37	1.25	976.16 0.38	1.24	974.92 0.39	1.23	973.69 0.40	1.23	972.46 0.42	1.24	971.22 0.42	1.23	969.99 0.44	1.24	968.75 0.45	1.25	967.50 0.46	1.25
33	980.86 0.36	1.28	979.58 0.37	1.28	978.30 0.37	1.26	977.04 0.38	1.26	975.78 0.39	1.25	974.53 0.40	1.24	973.29 0.41	1.25	972.04 0.42	1.24	970.80 0.43	1.25	969.55 0.44	1.25	968.30 0.46	1.26	967.04 0.47	1.27
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 0.37	1.30	978.84 0.38	1.29	977.55 0.38	1.28	976.27 0.39	1.27	975.00 0.40	1.27	973.73 0.41	1.27	972.46 0.42	1.26	971.20 0.44	1.27	969.93 0.45	1.28	968.65 0.45	1.27	967.38 0.47	1.29	966.09 0.48	1.30
36	979.77 0.39	1.31	978.46 0.39	1.29	977.17 0.40	1.29	975.88 0.40	1.28	974.60 0.41	1.28	973.32 0.42	1.28	972.04 0.43	1.28	970.76 0.44	1.28	969.48 0.45	1.28	968.20 0.47	1.29	966.91 0.48	1.30	965.61 0.49	1.32
37	978.38 0.38	1.31	977.07 0.39	1.30	975.77 0.40	1.29	974.48 0.41	1.29	973.19 0.42	1.29	971.90 0.43	1.29	970.61 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

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

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

TABELA II

MEDNARODNA ALKOHOLNA STOPNJA PRI 20 °C

Tabela korekcij navidezne alkoholne stopnje, ki se korigira zaradi temperaturnega učinka

Vrednosti, ki jih prištejemo ali odštejemo od navidezne alkoholne stopnje pri t °C
(navaden stekleni alkoholometer), so navedene spodaj

			Navidezna alkoholna stopnja pri t °C																
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Temperatura (°C)	0°	Prištejemo	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		

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

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

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

TABELA III
MEDNARODNA ALKOHOLNA STOPNJA PRI 20 °C

Tabela navideznih gostot mešanice etanola in vode – aparatura iz navadnega stekla

Gostote pri t °C, korigirane glede na vzgon zraka

	Alkoholna stopnja v % vol																							
t°	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
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		0,20	
	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

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

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

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

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

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

TABELA IV

**Tabela z lomnimi količniki za mešanice čistega etanola in vode ter destilatov pri 20 °C in
ustrezne alkoholne stopnje pri 20 °C**

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

4. SKUPNI SUHI EKSTRAKT

Skupna suha snov

1. OPREDELITEV POJMA

Skupni suhi ekstrakt ali skupna suha snov vključuje vse snovi, ki pri določenih fizikalnih pogojih niso hlapne. Ti fizikalni pogoji morajo biti takšni, da se snovi, ki sestavljajo ekstrakt, med testiranjem čimmanj spremenijo.

Ekstrakt brez sladkorja je razlika med skupnim suhim ekstraktom in skupnimi sladkorji.

Reducirani ekstrakt je razlika med skupnim suhim ekstraktom in skupnimi sladkorji nad koncentracijo 1 g/l, kalijevim sulfatom nad koncentracijo 1 g/l, navzočim manitolom ali katero koli kemično snovjo, ki je bila lahko dodana vinu.

Preostali ekstrakt je razlika med ekstraktom brez sladkorja in nehlapnimi kislinami, izraženimi kot vinska kislina.

Ekstrakt se izraža v gramih na liter in mora biti določen na 0,5 g natančno.

2. PRINCIP METODE

Posamična metoda: merjenje z denzimetrom

Skupni suhi ekstrakt je izračunan posredno iz specifične teže mošta, za vino pa iz specifične teže dealkoholiziranega vina.

Ta suhi ekstrakt pomeni količino saharoze, ki ob raztapljanju v litru vode dá raztopino z enako specifično težo, kakor jo ima mošt ali dealkoholizirano vino. Ta količina je prikazana v tabeli I.

3. IZRAČUN

Specifično težo 20/20 „dealkoholiziranega vina“ d_r izračunamo s formulo:

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

pri čemer je:

d_v = specifična teža vina pri 20 °C (korigirana na hlapne kisline) ⁽¹⁾

d_a = specifična teža mešanice vode in alkohola pri 20 °C z enako alkoholno stopnjo kakor vino.

d_r lahko izračunamo tudi iz gostot pri 20 °C, ρ_v vina in ρ_a mešanice vode in alkohola z enako alkoholno stopnjo s formulo:

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

pri čemer se koeficient 1,0018 približuje 1, kadar je ρ_v pod 1,05, kar se tudi najbolj pogosto zgodi.

4. IZRAŽANJE REZULTATOV

Za izračun skupnega suhega ekstrakta v g/l iz specifične teže 20/20 d_r dealkoholiziranega vina ali iz specifične teže d_{20}^{20} mošta se uporablja tabela I.

Skupni suhi ekstrakt se izraža v g/l na eno decimalno mesto natančno.

⁽¹⁾ Pred tem izračunom moramo specifično težo (ali gostoto) vina, merjeno v skladu z gornjimi navodili, korigirati glede na vpliv hlapnih kislin s formulo:

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

pri čemer so a hlapne kisline izražene v tisočinkah enote na liter.

TABELA I
Izračun vsebnosti skupnega suhega ekstrakta (g/l)

Specifična teža na dve decimalni mesti natančno	Tretje decimalno mesto specifične teže									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Grami ekstrakta na liter									
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	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Interpolacijska tabela

Četrto decimalno mesto specifične teže	Grami ekstrakta na liter	Četrto decimalno mesto specifične teže	Grami ekstrakta na liter	Četrto decimalno mesto specifične teže	Grami ekstrakta na liter
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. REDUCIRAJOČI SLADKORJI

1. OPREDELITEV POJMOV

Reducirajoči sladkorji so vsi sladkorji, ki imajo keto in aldehidne funkcionalne skupine in je njihovo določevanje povezano z redukcijo alkalne raztopine bakrove soli.

2. PRINCIP METOD

2.1 Čiščenje

2.1.1 *Referenčna metoda:* Po nevtralizaciji in odstranitvi alkohola vino spustimo skozi ionsko izmenjalno kolono, v kateri se njegovi anioni izmenjajo z acetatnimi ioni, temu pa sledi čiščenje z nevtralnimi svinčevimi acetatom.

2.1.2 *Običajne metode:* Vino čistimo z enim od naslednjih reagentov:

2.1.2.1 nevtralni svinčev acetat;

2.1.2.2 cink-2-heksacianoferat.

2.2 Določitev

2.2.1 *Posamična metoda:* Očiščeno vino ali mošt reagira z določeno količino alkalne raztopine bakrove soli, prebitek bakrovih ionov pa določimo jodometrično.

3. ČIŠČENJE

Vsebnost sladkorja v tekočini, ki jo analiziramo, mora biti med 0,5 in 5 g/l.

Suhih vin med čiščenjem ne razredčujemo; sladka vina moramo razredčiti med čiščenjem tako, da je vsebnost sladkorja v mejah, ki jih predpisuje naslednja tabela:

Opis	Vsebnost sladkorja (g/l)	Gostota	Razredčitev (%)
Mošti in mistele	> 125	> 1,038	1
Sladka vina, obogatena ali ne	25 do 125	1,005 do 1,038	4
Polsladka vina	5 do 25	0,997 do 1,005	20
Suha vina	< 5	< 0,997	Brez razredčenja

3.1 Referenčna metoda

3.1.1 Reagenti

3.1.1.1 1 M raztopina klorovodikove kisline (HCl);

3.1.1.2 1 M raztopina natrijevega hidroksida (NaOH);

3.1.1.3 4 M raztopina očetne kisline (CH₃COOH);

3.1.1.4 2 M raztopina natrijevega hidroksida (NaOH);

3.1.1.5 anionska izmenjalna smola (Dowex 3 (20-50 mesh) ali podobna smola).

Priprava anionske izmenjalne kolone

Majhen zamašek iz steklene volne in 15 ml anionske izmenjalne smole (3.1.1.5) damo na dno birete.

Pred uporabo smolo dvakrat regeneriramo tako, da jo izmenično prelijemo z 1 M raztopino klorovodikove kisline (3.1.1.1) in natrijevega hidroksida (3.1.1.2). Po spiranju s 50 ml destilirane vode smolo prenesemo v čašo, dodamo 50 ml 4 M raztopine očetne kisline (3.1.1.3) in mešamo pet minut. Ponovno napolnimo bireto s smolo in skozi jo prelijemo 100 ml 4 M raztopine očetne kisline (3.1.1.3). (Zaželeno je, da je zaloga smole shranjena v steklenici, ki je napolnjena z 4 M raztopino očetne kisline.) Kolono spiramo z destilirano vodo, dokler eluat ni nevtralen.

Regeneracija smole

Skozi kolono nalijemo 150 ml 2 M raztopine natrijevega hidroksida, da odstranimo kisline in večino barvil, ki se vežejo na smolo. Speremo s 100 ml vode in nato nalijemo 100 ml 4 M raztopine očetne kisline. Kolono spiramo z destilirano vodo, dokler eluat ni nevtralen.

3.1.1.6 Nevtralna raztopina svinčevega acetata (približno nasičena)

Nevtralni svinčev acetat $[\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \times 3 \text{H}_2\text{O}]$; 250 g;
zelo vroča voda do 500 ml;
mešamo, dokler se ne raztopi.

3.1.1.7 Kalcijev karbonat (CaCO_3)

3.1.2 Postopek

3.1.2.1 Suha vina

50 ml vina nalijemo v čašo s premerom približno 10 do 12 cm, dodamo $\frac{1}{2}$ ($n - 0,5$) ml 1 M raztopine natrijevega hidroksida (3.1.1.2) (n je prostornina 0,1 M raztopine natrijevega hidroksida, ki ga uporabimo za titracijo skupnih kislin v 10 ml vina) in odparevamo v vodni kopeli v toku toplega zraka, dokler se prostornina tekočine ne zmanjša na približno 20 ml.

To tekočino spustimo skozi anionsko izmenjalno kolono v acetatni obliki (3.1.1.5) po 3 ml na vsaki 2 minuti. Eluat zbiramo v 100 ml merilno bučko. Posodo in kolono speremo šestkrat s po 10 ml destilirane vode. Med mešanjem dodamo 2,5 ml nasičene raztopine svinčevega acetata (3.1.1.6) in 0,5 g kalcijevega karbonata (3.1.1.7) v eluat: večkrat stresemo in pustimo stati najmanj 15 minut. Bučko do oznake dopolnimo z vodo. Filtriramo.

1 ml tega filtrata ustreza 0,5 ml vina.

3.1.2.2 Mošti, mistele, sladka in polsladka vina:

Spodnje razredčitve so dane kot napotek.

1. *Mošti in mistele*: pripravimo 10 % raztopino vzorca za analizo in vzamemo 10 ml tega razredčenega vzorca.
2. *Sladka vina, obogatena ali ne*, z gostoto med 1,005 in 1,038: pripravimo 20 % raztopino vzorca in vzamemo 20 ml razredčenega vzorca.
3. *Polsladka vina*, z gostoto pri 20 °C med 0,997 in 1,005: vzamemo 20 ml nerazredčenega vina.

Zgoraj navedene prostornine vina ali mošta spuščamo skozi anionsko izmenjalno kolono v acetatni obliki, po 3 ml na vsaki 2 minuti. Eluat zbiramo v 100 ml bučki, kolono pa spiramo z vodo, dokler ne dobimo približno 90 ml eluata. V eluat dodamo 0,5 g kalcijevega karbonata in 1 ml nasičene raztopine svinčevega acetata. Zmešamo in pustimo stati 15 minut, občasno premešamo. Nato dopolnimo z vodo do oznake. Filtriramo.

V primeru:

1. 1 ml filtrata ustreza 0,01 ml mošta ali mistele.
2. 1 ml filtrata ustreza 0,04 ml sladkega vina.
3. 1 ml filtrata ustreza 0,20 ml polsladkega vina.

3.2 Običajne metode

3.2.1 Čiščenje z nevtralnimi svinčevimi acetatom

3.2.1.1 Reagenti

Raztopina nevtralnega svinčevega acetata (približno nasičena) (glej 3.1.1.6).

Kalcijev karbonat.

3.2.1.2 Postopek

3.2.1.2.1 *Suha vina* : 50 ml vina nalijemo v 100 ml merilno bučko; dodamo $\frac{1}{2}(n - 0,5)$ ml 1 M raztopine natrijevega hidroksida (3.1.1.2) (pri čemer je n prostornina 0,1 M raztopine natrijevega hidroksida, ki se uporabi za določitev skupnih kislin v 10 ml vina). Med mešanjem dodamo 2,5 ml nasičene raztopine svinčevega acetata (3.1.1.6) in 0,5 g kalcijevega karbonata (3.1.1.7). Večkrat pretresemo in pustimo stati vsaj 15 minut. Dopolnimo do oznake z vodo. Filtriramo.

1 ml filtrata ustreza 0,5 ml vina.

3.2.1.2.2 *Mošči, mistele, sladka in polsladka vina*: v 100 ml merilno bučko nalijemo naslednje prostornine vina (ali mošta ali mistele), razredčitve so dane kot napotek:

1. *Mošči in mistele*: pripravimo 10 % raztopino vzorca in za analizo vzamemo 10 ml tega razredčenega vzorca.

2. *Sladka vina, obogatena ali ne*, z gostoto med 1,005 in 1,038: pripravimo 20 % raztopino vzorca in vzamemo 20 ml razredčenega vzorca.

3. *Polsladka vina* z gostoto med 0,997 in 1,005: vzamemo 20 ml nerazredčenega vina.

Dodamo 0,5 g kalcijevega karbonata, približno 60 ml vode in 0,5, 1 ali 2 ml nasičene raztopine svinčevega acetata. Premešamo, pustimo stati vsaj 15 minut, občasno mešamo. Dopolnimo do oznake z vodo. Filtriramo.

V primeru:

1. 1 ml filtrata ustreza 0,01 mošta ali mistele.
2. 1 ml filtrata ustreza 0,04 ml sladkega vina.
3. 1 ml filtrata ustreza 0,20 ml polsladkega vina.

3.2.2 Čiščenje s cinkovim-2-heksacianoferatom

Ta postopek uporabljamo le za bela vina, rahlo obarvana sladka vina in mošte.

3.2.2.1 Reagenti

3.2.2.1.1 Raztopina I, kalijev 2-heksacianoferat:
kalijev 2-heksacianoferat: $(K_4Fe(CN)_6 \times 3 H_2O) - 150$ g;
dopolnimo z vodo do 1 000 ml.

3.2.2.1.2 Raztopina II, cinkov sulfat:
cinkov sulfat $(ZnSO_4 \times 7 H_2O) - 300$ g;
dopolnimo z vodo do 1 000 ml.

3.2.2.2 Postopek

V 100 ml merilno bučko nalijemo naslednje prostornine vina (ali mošta ali mistele), razredčitve so dane kot napotek:

1. *Mošti in mistele*: pripravimo 10 % raztopino vzorca in za analizo vzamemo 10 ml razredčenega vzorca.
2. *Sladka vina, obogatena ali ne*, z gostoto med 1,005 in 1,038: pripravimo 20 % raztopino vzorca in vzamemo 20 ml razredčenega vzorca.
3. *Polsladka vina* z gostoto med 0,997 in 1,005: vzamemo 20 ml nerazredčenega vina.
4. *Suha vina*: vzamemo 50 ml nerazredčenega vina.

Dodamo 5 ml raztopine I, kalijevega 2-heksacianoferata (3.2.2.1.1), in 5 ml raztopine II, cinkovega sulfata (3.2.2.1.2). Premešamo. Dopolnimo z vodo do oznake. Počakamo 10 minut. Filtriramo.

V primeru:

1. 1 ml filtrata ustreza 0,01 ml mošta ali mistele.
2. 1 ml filtrata ustreza 0,04 ml sladkega vina.
3. 1 ml filtrata ustreza 0,20 ml polsladkega vina.
4. 1 ml filtrata ustreza 0,50 ml suhega vina.

4. DOLOČITEV SLADKORJEV

4.1 Reagenti

4.1.1 Alkalna raztopina bakrove soli:

Bakrov sulfat, čist, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	25 g
Citronska kislina ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	50 g
Kristalinični natrijev karbonat, $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	388 g
Voda do	1 000 ml

Bakrov sulfat raztopimo v 100 ml vode, citronsko kislino v 300 ml vode in natrijev karbonat v 300 do 400 ml vroče vode. Zmešamo raztopini citronske kisline in natrijevega karbonata. Dodamo raztopino bakrovega sulfata in dopolnimo do enega litra.

4.1.2 30 % raztopina kalijevega jodida:

Kalijev jodid (KI)	30 g
Voda do	100 ml

Hranimo v temni steklenici.

4.1.3 25 % žveplova kislina:

Koncentrirana žveplova kislina, (H_2SO_4) $\rho_{20} = 1,84 \text{ g/ml}$	25 g
Voda do	100 ml

Kislino počasi dodajamo vodi, počakamo, da se ohladi, in dopolnimo do 100 ml z vodo.

4.1.4 Raztopina škroba 5 g/l:

5 g škroba zmešamo s približno 500 ml vode. Ob nenehnem mešanju segrejemo do vrenja in pustimo vreti 10 minut. Dodamo 200 g natrijevega klorida (NaCl). Ohladimo in dopolnimo z vodo do enega litra.

0,1 M raztopina natrijevega tiosulfata

Raztopina invertnega sladkorja, 5 g/l, za preverjanje metode določitve:

v 200 ml merilno bučko damo:

Čista suha saharoza ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	4,75 g
Voda, približno	100 ml
Koncentrirana klorovodikova kislina (HCl) ($\rho_{20} = 1,16 - 1,19 \text{ g/ml}$)	5 ml

Bučko segrevamo na vodni kopeli pri 60 °C, dokler temperatura raztopine ne doseže 50 °C; bučko in raztopino 15 minut držimo pri temperaturi 50 °C. Bučko ohlajamo na zraku 30 minut, nato jo potopimo v hladno vodno kopel. Raztopino pretočimo v enolitrsko merilno bučko in dopolnimo do oznake. Ta raztopina je obstojna 1 mesec. Kadar jo uporabljamo, testni vzorec (raztopina je približno 0,06 M kislina) nevtraliziramo z raztopino natrijevega hidroksida.

4.2 Postopek

V 300 ml erlenmajerici zmešamo 25 ml alkalne raztopine bakrove soli, 15 ml vode in 10 ml očiščene raztopine vzorca. Ta prostornina raztopine ne sme vsebovati več kakor 60 mg invertnega sladkorja.

Dodamo nekaj vrelnih kamenčkov. Na erlenmajerico pritrdimo hladilnik in v dveh minutah segrejemo do vrenja. Mešanica mora vreti točno 10 minut.

Erlenmajerico takoj ohladimo pod tekočo mrzlo vodo. Ko je popolnoma hladna, dodamo 10 ml 30 % raztopine kalijevega jodida (4.1.2), 25 ml 25 % žveplove kisline (4.1.3) in 2 ml raztopine škroba (4.1.4).

Titriramo z 0,1 M raztopino natrijevega tiosulfata (4.1.5). Število porabljenih mililitrov označimo z n .

Opravimo tudi slepo titracijo, pri čemer 10 ml raztopine sladkorja zamenjamo z 10 ml destilirane vode. Število porabljenih ml natrijevega tiosulfata označimo z n' .

4.3 Izražanje rezultatov

4.3.1 Izračuni

Količina sladkorja v testnem vzorcu, izražena kot invertni sladkor, je dana v spodnji tabeli kot funkcija števila ($n' - n$) mililitrov porabljenega natrijevega tiosulfata.

Vsebnost sladkorja v vinu izrazimo v gramih invertnega sladkorja na liter na 1 decimalno mesto natančno, pri čemer upoštevamo razredčitev med čiščenjem in prostornino testnega vzorca.

4.3.2 Ponovljivost

$$r = 0,015 x_i$$

x_i = koncentracija invertnega sladkorja v g/l v vzorcu

4.3.3 Obnovljivost

$$R = 0,058 x_i$$

x_i = koncentracija invertnega sladkorja v g/l v vzorcu

Razmerje med prostornino 0,1 M raztopine natrijevega tiosulfata, ($n' - n$) ml, in količino reducirajočih sladkorjev v mg					
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (ml 0,1 M)	Reducirajoči sladkorji (mg)	Raz- lika	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (ml 0,1 M)	Reducirajoči sladkorji (mg)	Razlika
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. SAHAROZA

1. PRINCIP METOD

- I. Za kvalitativno testiranje s tankoplastno kromatografijo: saharoza se loči od drugih sladkorjev s tankoplastno kromatografijo na plošči, na katero nanesemo sloj celuloze. Sredstvo za razvijanje je sečnina-klorovodikova kislina pri 105 °C.
- II. Za testiranje in določitev s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti: saharoza se loči v koloni s silikagelom, na katerem je kemijsko vezan alkilamil, in se detektira z refraktometrijo. Rezultat se ovrednoti glede na eksterni standard, ki je bil analiziran pod enakimi pogoji.

Opomba:

Pristnost mošta ali vina se lahko preveri z uporabo metode NMR devterija, ki je opisana pri ugotavljanju obogatitve mošta, rektificiranega zgoščenega mošta in vin.

Za testiranje in določitev saharoze se lahko uporablja tudi kromatografija v plinski fazi, kakor je opisano v točki (f) poglavja 42.

2. KVALITATIVNO TESTIRANJE S TANKOPLASTNO KROMATOGRAFIJO

2.1 Oprema

- 2.1.1 Kromatografska plošča, na katero nanesemo sloj celuloznega prahu v želeni debelini (npr. MN 300) (20 × 20).
- 2.1.2 Kromatografska posoda.
- 2.1.3 Mikrometrična igla ali mikropipeta.
- 2.1.4 Peč z regulacijo do 105 ± 2 °C.

2.2 Reagenti

- 2.2.1 Oglje za razbarvanje.
- 2.2.2 *Mobilna faza*: diklorometan – očetna kislina (ledocet) (p20 – 1,05 g/ml) – etanol – metanol – voda (50 : 25 : 9 : 6 : 10).
- 2.2.3 *Sredstvo za razvijanje*

Sečnina	5 g
Klorovodikova kislina 2 M	20 ml
Etanol	100 ml
- 2.2.4 *Referenčne raztopine*

Glukoza	35 g
Fruktoza	35 g
Saharoza	0,5 g
Destilirana voda	1 000 ml

2.3 Postopek

2.3.1 Priprava vzorca

Če je mošt ali vino močno obarvano, ga razbarvamo z aktivnim ogljem.

Za rektificirani zgoščen mošt uporabimo raztopino z masnim deležem sladkorja 25 % (25° Brix), ki je pripravljena v skladu z opisom v poglavju „pH vina in mošta“, oddelek 4.1.2, in ga razredčimo z vodo na četrtino koncentracije, tako da 25 ml mošta v merilni bučki dodamo vode do 100 ml.

2.3.2 Izdelava kromatograma

2,5 cm od spodnjega roba plošče nanese v obliki črtice:

- 10 µl vzorca
- 10 µl standarda.

Ploščo postavimo v posodo, ki je bila predtem nasičena s hlapi mobilne faze. Pustimo, da mobilna faza pripotuje do višine 1 cm od zgornjega roba plošče. Ploščo vzamemo iz posode in jo osušimo v toku toplega zraka. Postopek ponovimo še dvakrat in ploščo vsakokrat osušimo. Ploščo enakomerno orosimo s 15 ml razvijalca barve in jo za približno pet minut postavimo v peč, ogreto na 105 °C.

2.4 Rezultati

Saharoza in fruktoza se pokažeta kot temno moder madež na belem ozadju, glukoza pa kot manj intenziven zelen madež.

3. TESTIRANJE IN DOLOČITEV S TEKOČINSKO KROMATOGRAFIJO VISOKE LOČLJIVOSTI

Kromatografski pogoji so dani kot napotek.

3.1 Oprema

3.1.1 Tekočinski kromatograf visoke ločljivosti, ki ima:

1. 10 µl injektor,
2. detektor: diferencialni refraktometer ali interferometer refraktometer,
3. kolono s silikagelom, na katerem je kemijsko vezan alkilamil (dolžina 25 cm, notranji premer 4 mm),
4. predkolono, napolnjeno z isto fazo,
5. pripravo za izoliranje predkolone in analitskih kolon ali za vzdrževanje njihove temperature (30 °C),
6. rekorder in po potrebi integrator,
7. hitrost pretoka mobilne faze: 1 ml/min.

3.1.2 Priprava za membransko filtriranje (0,45 µm).

3.2 Reagenti

3.2.1 Dvakrat destilirana voda.

3.2.2 Acetonitril HPLC kakovosti (CH₃CN).

3.2.3 Mobilna faza: acetonitril-voda, ki jo predtem filtriramo z membranskim filtrom (0,45 µm), (80: 20 v/v).

Mobilno fazo moramo pred uporabo razpliniti.

3.2.4 Standardna raztopina: 1,2 g/l vodne raztopine saharoze. Filtriramo z 0,45 µm membranskim filtrom.

3.3 **Postopek**

3.3.1 *Priprava vzorca:*

- Za vina in mošte: filtriramo z 0,45 µm membranskim filtrom.
- Za rektificirani zgošчени grozdni mošt: uporabimo raztopino, ki jo dobimo tako, da rektificirani zgošчени mošt razredčimo do 40 % (m/v), kakor je opisano v poglavju „Skupne kisline“, oddelek 5.1.2, in filtriramo z 0,45 µm membranskim filtrom.

3.3.2 *Kromatografska določitev*

V kromatograf izmenično vbrizgamo 10 µl standardne raztopine in 10 µl vzorca, pripravljenega, kakor je opisano v 3.3.1. Vbrizgavanje ponovimo v istem vrstnem redu.

Zabeležimo kromatogram.

Retencijski čas saharoze je približno 10 minut.

3.4 **Izračuni**

Za izračun uporabimo povprečje dveh rezultatov za standardno raztopino in vzorec.

3.4.1 *Za vina in mošte:* koncentracije izračunamo v g/l.

3.4.2 *Za rektificirani zgošчени grozdni mošt:* C je koncentracija saharoze v g/l v 40 % raztopini rektificiranega zgoščenega mošta. Koncentracija saharoze za rektificirani zgošчени mošt v g/kg je tako: $2,5 \times C$.

3.5 **Izražanje rezultatov**

Koncentracija saharoze v vinu, moštu in rektificiranem zgoščenem moštu se izraža v gramih na liter za vina in mošt in v gramih na kilogram za rektificirani zgošчени mošt, in to na eno decimalno mesto natančno.

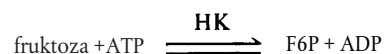
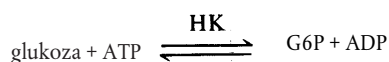
7. GLUKOZA IN FRUKTOZA

1. OPREDELITEV POJMA

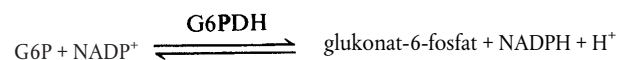
Glukoza in fruktozo lahko določamo individualno z encimsko metodo, katere edini cilj je izračun razmerja glukoza/fruktoza.

2. PRINCIP METODE

Glukoza in fruktoza sta fosforilirani z adenzin-trifosfatom (ATP) med encimsko reakcijo, ki jo katalizira heksokinaza (HK), in proizvedeta glukozo 6-fosfat (G6P) in fruktozo 6-fosfat (F6P):

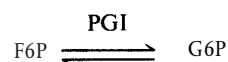


Glukoza-6-fosfat najprej oksidira v glukonat-6-fosfat z nikotinamadenin dinukleotidfosfatom (NADP) v navzočnosti encima glukoza 6-fosfat dehidrogenaza (G6PDH). Količina proizvedenega reduciranega nikotinamadenin dinukleotidfosfata (NADPH) ustreza količini glukoze 6-fosfat in tako tudi količini glukoze.



Reducirani nikotinamadenin dinukleotidfosfat določimo iz njegove absorpcije pri 340 nm.

Na koncu te reakcije fruktoza 6-fosfat preide v glukozo 6-fosfat z delovanjem fosfoglukoze izomeraze (PGI):



Glukoza-6-fosfat ponovno reagira z nikotinamadenin dinukleotidfosfatom, rezultat česar je glukonat 6-fosfat in reducirani nikotinamadenin dinukleotidfosfat, tega pa nato določimo.

3. APARATURE

— Spektrofotometer, ki omogoča meritve pri 340 nm, pri valovni dolžini, pri kateri je absorpcija NADPH največja. Ker merimo absolutno absorpcijo (ne uporabljamo umeritvenih krivulj), ampak opravimo standardizacijo z upoštevanjem ekstrakcijskega koeficienta NADPH), moramo preveriti lestvice valovnih dolžin in spektralne absorpcije opreme.

Če tega nimamo na voljo, lahko uporabimo spektrofotometer z nekontinuiranim spektrom, ki omogoča meritve pri 334 nm ali 365 nm.

— Steklene celice z dolžino optične poti 1 cm ali kivete za enkratno uporabo.

— Pipete za uporabo pri raztopinah za encimski test, 0,02, 0,05, 0,1, 0,2 ml.

4. REAGENTI

- 4.1 **Raztopina 1:** puferska raztopina (0,3 M trietanolamin, pH 7,6, 4×10^{-3} M v Mg^{2+}): raztopimo 11,2 g trietanolamin hidroklorida ($(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N} \times \text{HCl}$) in 0,2 g $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ v 150 ml dvakrat destilirane vode, dodamo približno 4 ml 5 M raztopine natrijevega hidroksida (NaOH), da dobimo pH vrednost 7,6, in dopolnimo do 200 ml.

Ta puferska raztopina je pri +4 °C stabilna štiri tedne.

- 4.2 **Raztopina 2:** raztopina nikotinamadenin dinukleotidfosfata (približno $11,5 \times 10^{-3}$ M): raztopimo 50 mg dinatrijevega nikotinamadenin dinukleotidfosfata v 5 ml dvakrat destilirane vode.

Ta raztopina je pri +4 °C stabilna štiri tedne.

- 4.3 **Raztopina 3:** raztopina adenzin 5'-trifosfata (približno 81×10^{-3} M): raztopimo 250 mg dinatrijevega adenzin 5'-trifosfata in 250 mg natrijevega hidrogenkarbonata (NaHCO_3) v 5 ml dvakrat destilirane vode.

Ta raztopina je pri +4 °C stabilna štiri tedne.

- 4.4 **Raztopina 4:** heksokinaza/glukoza 6-fosfat dehidrogenaza: zmešamo 0,5 ml heksokinaze (2 mg protein/ml ali 280 U/ml) z 0,5 ml glukoza 6-fosfata dehidrogenaze (1 mg protein/ml).

Ta mešanica je pri +4 °C stabilna eno leto.

- 4.5 **Raztopina 5:** fosfogluoza izomeraza (2 mg protein/ml ali 700 U/ml). Uporabimo nerazredčeno suspenzijo.

Pri +4 °C je stabilna eno leto.

Opomba:

Vse zgoraj navedene raztopine so na voljo na trgu.

5. POSTOPEK

5.1 Priprava vzorca

Glede na ocenjeno količino glukoze + fruktoze na liter vzorec razredčimo po naslednjem postopku:

Meritev pri 340 in 334 nm	Meritev pri 365 nm	Redčenje z vodo	Faktor redčenja 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
nad 40,0 g/l	80,0 g/l	1 + 999	1 000

5.2 Določitev

S spektrofotometrom, nastavljenim na valovno dolžino 340 nm, opravimo meritve, pri čemer zrak (na poti žarka ni nobene celice) ali vodo uporabimo kot referenco.

Temperatura med 20 in 25 °C.

V dve celici z optično potjo 1 cm damo naslednje:

	Referenčna celica	Vzorčna celica
Raztopina 1 (4.1) (pri 20 °C)	2,50 ml	2,50 ml
Raztopina 2 (4.2)	0,10 ml	0,10 ml
Raztopina 3 (4.3)	0,10 ml	0,10 ml
Vzorec za meritev		0,20 ml
Dvakrat destilirana voda	0,20 ml	

Mešamo in po približno treh minutah odčitamo absorpcijo raztopin (A_1). Reakcijo sprožimo z dodajanjem:

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

Mešamo; počakamo 15 minut; odčitamo absorpcijo in preverimo, ali se reakcija po dveh minutah konča (A_2).

Takoj dodamo:

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

Mešamo; odčitamo absorpcijo po 10 minutah in preverimo, ali se reakcija po dveh minutah konča (A_3).

Izračunamo razlike v absorpciji:

$A_2 - A_1$ ustreza glukozi,

$A_3 - A_2$ ustreza fruktozi,

za referenčno in vzorčno celico.

Izračunamo razlike v absorpciji za referenčno celico (ΔA_R) in vzorčno celico (ΔA_S) in nato dobimo:

za glukozo: $\Delta A_G = \Delta A_S - \Delta A_R$

za fruktozo: $\Delta A_F = \Delta A_S - \Delta A_R$

Opomba:

Čas, ki je potreben, da se konča aktivnost encimov, se lahko od ene serije do druge razlikuje. Gornja vrednost je samo napotek in jo je priporočljivo določiti za vsako posamezno serijo.

5.3 Izražanje rezultatov

5.3.1 Izračun

Splošna formula za izračun koncentracije je:

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

pri čemer je: V = prostornina testne raztopine (ml)

v = prostornina vzorca (ml)

M = molekulska masa snovi, ki jo določamo

d = dolžina optične poti v celici (cm)

ϵ = absorpcijski koeficient NADPH pri 340 nm ($\epsilon = 6,3 \text{ mmol}^{-1} \times \text{l} \times \text{cm}^{-1}$)

in $V = 2,92 \text{ ml}$ za določitev glukoze

$V = 2,94 \text{ ml}$ za določitev fruktoze

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

$M = 180$

$d = 1$

zato je:

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

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

Če je bil vzorec med pripravo razredčen, rezultat pomnožimo s faktorjem redčenja F .

Opomba:

Če so meritve opravljene pri 334 ali 365 nm, dobimo naslednje:

— meritev pri 334 nm: $\epsilon = 6,2 (\text{mmol}^{-1} \times \text{l} \times \text{cm}^{-1})$

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

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

— meritev pri 365 nm: $\epsilon = 3,4 (\text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1})$

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

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

5.3.2 Ponovljivost (r)

$$r = 0,056 x_i$$

5.3.3 Obnovljivost (R)

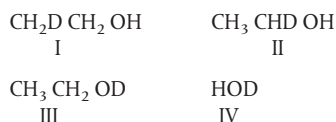
$$R = 0,12 + 0,076 x_i$$

x_i = koncentracija glukoze ali fruktoze v g/l.

8. UGOTAVLJANJE OBOGATITVE GROZDNEGA MOŠTA, ZGOŠČENEGA GROZDNEGA MOŠTA, REKTIFICIRANEGA ZGOŠČENEGA GROZDNEGA MOŠTA IN VIN Z UPORABO NUKLEARNE MAGNETNE RESONANCE DEVTERIJA (SNIF-NMR/RMN-FINS)

1. OPREDELITEV POJMA

Devterij v sladkorjih in vodi v grozdnem moštu se po fermentaciji prerazporedi v molekule I, II, III in IV vina:



Dodajanje eksogenega sladkorja (sladkanje na suho), še preden mošt fermentira, vpliva na razporeditev devterija.

Glede na primerjavo s števkami za parameter pri naravnem kontrolnem vinu iz iste regije bi obogatitev z eksogenim sladkorjem privedla do naslednjih sprememb:

Vino \ Parametri	(D/H) _I	(D/H) _{II}	(D/H) _W ^Q	R
– Naravno	→	→	→	→
– Obogateno:				
– spesnim sladkorjem	↘	↗	↗	↗
– strsnim sladkorjem	↗	↘	↘	↘
– skoruznim sladkorjem	↗	↗	↗	↘

(D/H)_I: Razmerje izotopov, povezano z molekulo I

(D/H)_{II}: Razmerje izotopov, povezano z molekulo II

(D/H)_W^Q: Razmerje izotopov vode v vinu

$R = 2(D/H)_{II}/(D/H)_I$ izraža relativno distribucijo devterija v molekulah I in II; R merimo neposredno iz h-intenzivnosti signalov in nato $R = 3h_{II}/h_I$.

(D/H)_I v glavnem označuje rastlinske vrste, ki so sintetizirale sladkor, in v manjši meri geografsko lego kraja trgatve (tip vode, uporabljene med fotosintezo).

(D/H)_{II} pomeni klimatologijo kraja gojenja grozdja (tip deževnice in vremenski pogoji) in v manjši meri koncentracijo sladkorja originalnega mošta.

(D/H)_W^Q pomeni klimatologijo kraja gojenja in vsebnost sladkorja v originalnem moštu.

2. PRINCIP

Zgoraj opredeljeni parametri (R, (D/H)_I, (D/H)_{II}) so določeni z nuklearno magnetno resonanco devterija v etanolu, ekstrahiranem iz vina ali iz produktov fermentacije mošta, zgoščenega mošta ali rektificiranega zgoščenega mošta, pridobljenega v določenih pogojih; poleg tega lahko dodatno določimo razmerje izotopov v vodi, ekstrahirani iz vina, (D/H)_W^Q in razmerje $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ v etanolu.

Dokler ni vzpostavljena banka podatkov Skupnosti, uporabimo naslednji postopek:

Pri vinih morajo biti skupaj s kontrolnimi vzorci, odvzetimi v regijah, tudi naravni kontrolni vzorci (najmanj trije) enakega izvora (geografsko območje in letnik); odvzamejo se tri serije takšnih vzorcev.

Pri moštih, zgoščenih moštih in rektificiranih zgoščenih moštih moramo odvzeti tri serije kontrolnih vzorcev iz naravnih moštov enakega izvora (geografsko območje in letnik).

Dokler ni vzpostavljena banka podatkov Skupnosti, lahko države članice v prehodnem obdobju uporabljajo svojo banko podatkov pri preverjanju proizvodov, proizvedenih na njihovem lastnem ozemlju.

3. PRIPRAVA VZORCA ZA ANALIZO

3.1 Ekstrakcija etanola in vode v vinu

Opomba:

Uporabimo lahko katero koli metodo ekstrakcije etanola, pod pogojem, da se 98 do 98,5 % skupnega alkohola v vinu ohrani v destilatu, ki vsebuje 92 do 93 % mas (95 % vol).

3.1.1 Aparature in reagenti

Aparatura za ekstrakcijo etanola (slika 1) je sestavljena iz:

- električne grelnе mrežice z regulatorjem napetosti,
- enolitrske bučke z okroglim dnom in obrusom,
- Cadiot kolone z vrtljivim jermenom (gibljivi del iz teflona),
- 125 ml erlenmajerice z obrusi,
- 125 in 60 ml steklenice s plastičnim zamaškom.

Reagenti za določitev vode z uporabo metode Karla Fischerja (npr. Merck 9241 in 9243).

3.1.2 Postopek

3.1.2.1 Določimo alkoholno stopnjo vina (t^v) na vsaj 0,05 % natančno.

3.1.2.2 Ekstrakcija etanola

V bučko v destilatorju nalijemo homogen vzorec 500 ml vina z alkoholno stopnjo t^v , pri čemer je stopnja stalnega refluksa približno 0,9. Namestimo 125 ml erlenmajerico z obrusom, ki je bila poprej umerjena, v kateri zbiramo destilat. Zberemo približno 40 do 60 ml vrele tekočine s temperaturo med 78,0 in 78,2 °C. Če temperatura preseže 78,5 °C, za pet minut prenehamo zbiranje.

Ko se temperatura spet spusti na 78 °C, destilat začnemo ponovno zbirati, dokler ne doseže 78,5 °C; ta postopek ponavljamo, dokler temperatura po prekinitvah zbiranja in pri izvajanju v končnem krogu ne postane konstantna. Popolna destilacija traja približno pet ur. Ta postopek omogoča ohranitev od 98 % do 98,5 % skupnega alkohola v vinu v destilatu z jakostjo med 92 % in 93 % mas (95 % vol), jakostjo, za katero so pogoji NMR določeni v oddelku 4.

Zbrani etanol stehtamo.

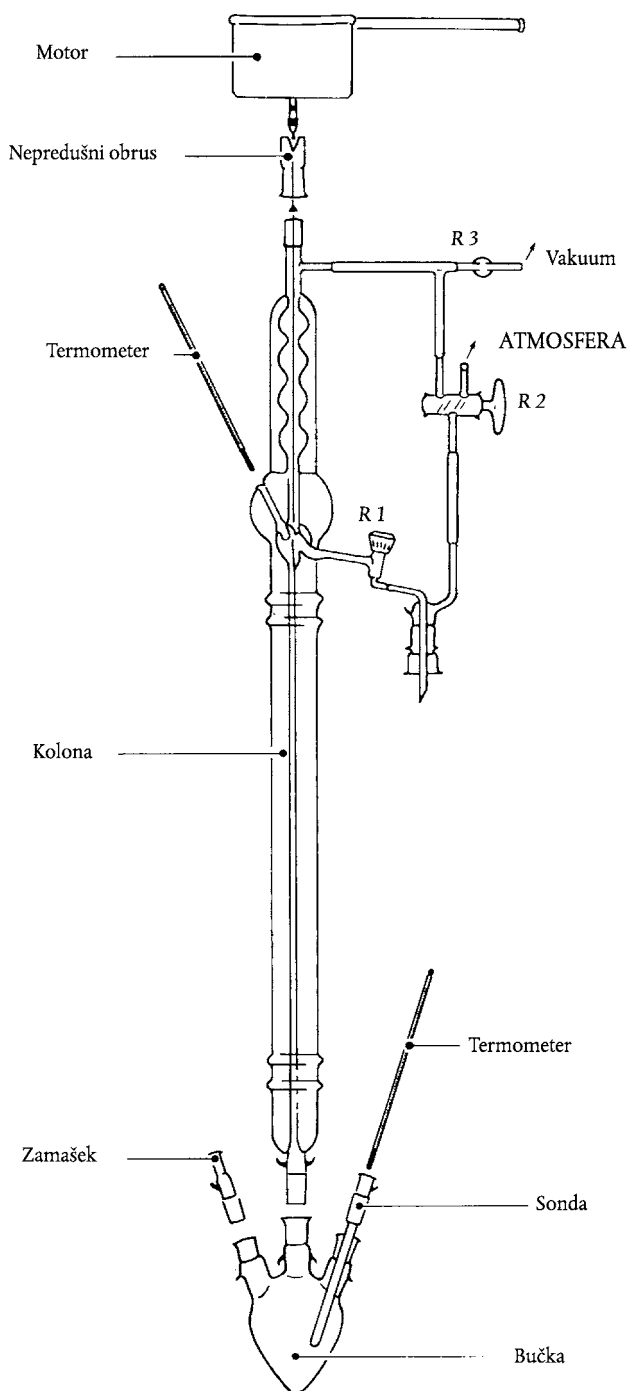
Homogeni 60 ml vzorec ostankov ostane v 60 ml bučki in pomeni vodo v vinu. Po potrebi se lahko določi razmerje izotopov.

Opomba:

Če imamo na voljo spektrometer z 10 mm sondo (glej oddelek 4), zadostuje homogeni testni vzorec 300 ml vina.

3.1.2.3 Določitev alkoholne stopnje ekstrahiranega alkohola

Vsebnost vode (p' g) določimo z metodo Karla Fischerja, pri čemer uporabimo približno 0,5 ml vzorec alkohola z natančno določeno maso p .



Slika 1

Destilator za ekstrakcijo etanola

Masni delež alkohola dobimo s formulo:

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

3.2 Fermentacija moštov, zgoščenih moštov in rektificiranih zgoščenih moštov

3.2.1 Aparature in reagenti

Vinska kislina

DIFCO Bacto Yeast Nitrogen Base brez aminokislin

Aktivni suhi kvas (*Saccharomyces cerevisiae*)

Če poznamo razmerje izotopov v moštu, lahko kvas pred uporabo reaktiviramo, za 15 minut ga namreč položimo v minimalno količino mlačne nedestilirane vode, tako da je razmerje izotopov v njem podobno kakor v moštu.

Če razmerja izotopov v moštu ne poznamo, je bolje, da uporabimo sveži kvas.

Fermentacijska posoda s kapaciteto 1,5 litra, ki jo nepredušno zamašimo in v njej kondenziramo alkoholne hlape, ker med fermentacijo ni dopustna nikakršna izguba etanola. Stopnja konverzije fermentacijskih sladkorjev v etanol mora biti višja od 98 %.

3.2.2 Postopek

3.2.2.1 Mošti

— Sveži mošti

En liter mošta, pri katerem prej določimo koncentracijo fermentacijskih sladkorjev, nalijemo v fermentacijsko posodo. Dodamo 1 g suhega kvasa, ki ga poprej reaktiviramo. Nepredušno zamašimo. Mošt naj fermentira pri približno 20 °C, dokler ne porabimo vsega sladkorja. Ko določimo alkoholno stopnjo produkta fermentacije in izračunamo stopnjo konverzije sladkorjev v alkohol, fermentirano tekočino centrifugiramo in destiliramo in tako ekstrahiramo etanol.

— Mošti, pri katerih z dodajanjem žveplovega dioksida preprečimo fermentacijo

Nekoliko več kakor en liter (tj. 1,2 l) mošta razžveplamo tako, da spuščamo skozi mošt v vodni kopeli pri 70 do 80 °C mehurčke dušika pod refluksom, dokler ni vsebnost skupnega žveplovega dioksida manjša od 200 mg/l. Z učinkovitim ohlajanjem zagotovimo, da se mošt ne skoncentrira zaradi izparevanja vode. 1 liter razžveplanega mošta nalijemo v fermentacijsko posodo in nadaljujemo po enakem postopku kakor pri svežem moštu.

Opomba:

Če kalijev metabisulfit uporabimo za žveplanje mošta, moramo moštu pred razžveplanjem dodati 0,25 ml žveplove kisline ($\rho_{20} = 1,84 \text{ g/ml}$) na gram uporabljenega metabisulfitna na liter mošta.

3.2.2.2 Zgoščeni mošti

V fermentacijsko posodo nalijemo V ml zgoščenega mošta, v katerem poznamo količino sladkorja (približno 170 g). Dopolnimo do enega litra z (1 000 – V) ml vode iz vodovoda z enakim razmerjem izotopov kakor vzorci naravnega mošta. Dodamo (3.2.1) suhi kvas (1 g) in 3 g DIFCO Bacto Yeast Nitrogen Base brez aminokislin. Homogeniziramo in nadaljujemo po enakem postopku kakor prej.

3.2.2.3 Rektificirani zgoščeni mošti

Izvedemo postopek, opisan v 3.2.2.2, in dopolnimo do enega litra (1 000 – V) ml vode iz vodovoda, ki ima enako razmerje izotopov, vendar vsebuje tudi 3 g raztopljenih vinske kisline.

Opomba:

Shranimo 50 ml vzorca mošta, ali mošta, obdelanega z žveplovim dioksidom, ali zgoščenega mošta, ali rektificiranega zgoščenega mošta, da lahko ekstrahiramo vodo in določimo razmerje izotopov $(D/H)_{\text{W}}^{\text{Q}}$. Ekstrakcijo vode iz mošta lahko izvedemo zelo preprosto, in to z azotropično destilacijo z uporabo toluena.

3.3 Priprava vzorca alkohola za merjenje NMR

3.3.1 Reagenti

N, N-tetrametil sečnina (TMU); uporabimo vzorec standardne TMU z danim in spremljanim razmerjem izotopov D/H. Ta vzorec lahko dobavi:

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

3.3.2 Postopek

— Sonda NMR s 15 mm premerom:

V stehtani steklenici zberemo 7 ml alkohola, pridobljenega v skladu s 3.1.2, in jo stehtamo na 0,1 mg (m_A) natančno; nato vzamemo 3 ml vzorec internega standarda (TMU) in ga stehtamo na 0,1 mg (m_{st}) natančno. Homogeniziramo s stresanjem.

— Sonda NMR z 10 mm premerom:

Zadostuje 3,2 ml alkohola in 1,3 ml TMU.

Glede na vrsto spektrometra in uporabljene sonde (glej oddelek 4) dodamo zadostno količino hek-safluorobenzena kot substance za stabiliziranje frekvence polja (zavora):

Spektrometer	10 mm sonda	15 mm sonda
7,05 T	150 μ l	200 μ l
9,4 T	35 μ l	50 μ l

3.4 Priprava vzorca vode za merjenje NMR, zaradi morebitne določitve razmerja izotopov

3.4.1 Reagenti

N, N-tetrametil sečnina (TMU); glej 3.3.1.

3.4.2 Postopek

V tara bučko nalijemo 3 ml vode, pridobljene v skladu s 3.1.2 ali 3.2 (opomba) in stehtamo na 0,1 mg (m'_E) natančno. Dodamo 4 ml internega standarda (TMU) in stehtamo na 0,1 mg (m'_{st}) natančno. Homogeniziramo s stresanjem.

Opomba:

Če je v laboratoriju masni spektrometer za določitev razmerij izotopov, se lahko meritev opravi s tem instrumentom, da se zmanjša obremenitev NMR spektrometra. Treba je standardizirati razmerje Trv (5.2) za vsako serijo pregledanega vina.

4. BELEŽENJE ^2H NMR SPEKTROV ALKOHOLA IN VODE

Določitev parametrov izotopov.

4.1 Aparature

— NMR spektrometer, opremljen s specifično „devterijsko“ sondo, nastavljeno na tipično frekvenco V_o polja B_o (npr. za $B_o = 7,05 \text{ T}$, $V_o = 46,05 \text{ MHz}$ in za $B_o = 9,4 \text{ T}$, $V_o = 61,4 \text{ MHz}$), pri čemer sta kanal za ločevanje protonov (B_2) in kanal za stabiliziranje frekvence polja (zavora) na frekvenci fluora.

Resolucija, merjena na spektru, ki se pretvori brez eksponentne pomnožitve (tj. $LB = 0$) (slika 2b) in je izražena s polovico širine metilnih in metilenskih signalov etanola ter metilnega signala TMU, mora biti manjša od 0,5 Hz. Občutljivost, merjena s faktorjem eksponentne pomnožitve LB , ki je enak 2 (slika 2a), mora biti večja od 150 ali enaka 150 pri metilnem signalu etanola z alkoholno stopnjo 95 % vol (93,5 % mas).

Pod temi pogoji je interval zaupanja pri merjenju višine signala, izračunanega za 97,5 % verjetnost (enostranski test) in 10 ponovitev spektra, 0,35 %.

- Avtomatski menjalec vzorcev (po možnosti)
- Programska oprema za obdelavo podatkov
- 15 mm ali 10 mm vzorčne cevke, odvisno od zmogljivosti spektrometra.

4.2 Standardizacija in preverjanje spektrometra

4.2.1 Standardizacija

Opravimo običajni postopek standardizacije za homogenost in občutljivost v skladu z navodili proizvajalca.

4.2.2 Preverjanje veljavnosti standardizacije

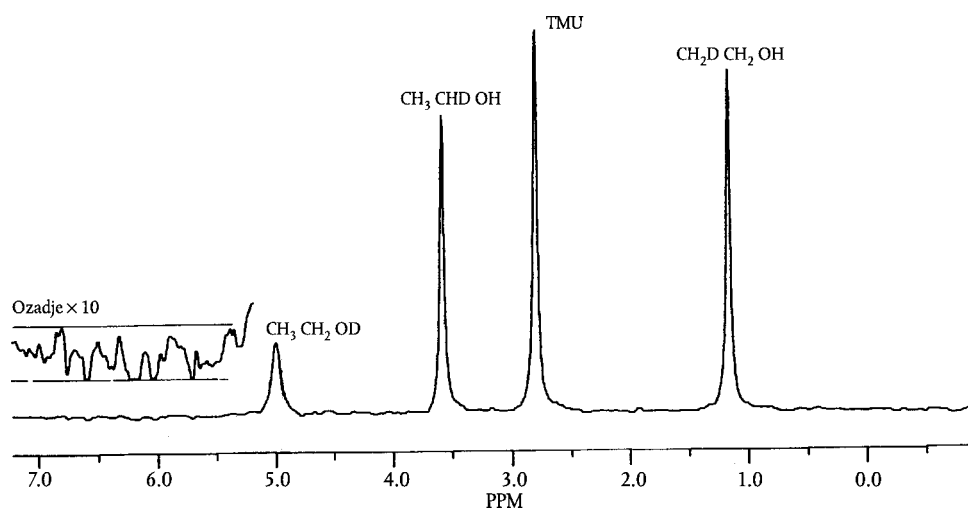
Uporabimo standardne etanole, označene s črkami C, V in B, katerih koncentracije izotopov se razlikujejo, vendar so ustrezno standardizirane. Oznake pomenijo naslednje:

- C: alkohol iz trsnega sladkorja ali koruze,
- V: vinski destilat,
- B: iz pese pridobljeni alkohol.

Te vzorce dobavlja Referenčni urad Skupnosti.

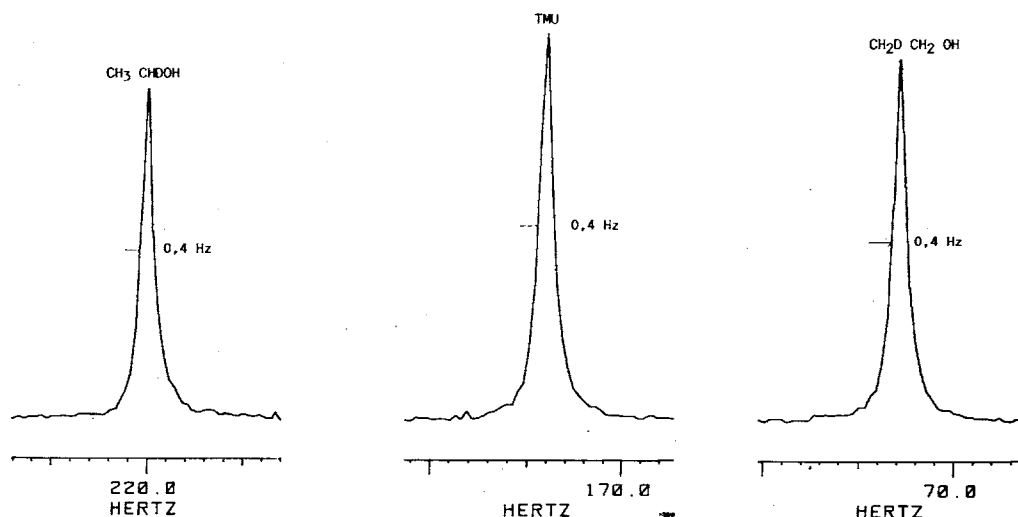
Po postopku, opisanem v 4.3, določimo vrednosti izotopov teh alkoholov, ki jih označimo s C_{meas} , V_{meas} , B_{meas} (glej 5.3).

Primerjamo jih z danimi ustreznimi standardnimi vrednostmi, ki so označene s C_{st} , B_{st} , V_{st} (glej 5.3).



Slika 2a

^2H NMR spekter etanola v vinu z internim standardom (TMU: N, N-tetrametil-sečnina)



Slika 2b

²H spekter etanola, dobljen pod enakimi pogoji kakor pri sliki 2a, vendar brez eksponentne pomnožitve (LB = 0)

Standardni odklon za ponovljivost, pridobljeno s povprečno 10 ponovitvami za vsak spekter, mora biti manjši od 0,01 za razmerje R in manjši od 0,3 ppm za (D/H)_I in (D/H)_{II}.

Povprečne vrednosti, pridobljene za različne parametre izotopov (R, (D/H)_I, (D/H)_{II}), morajo biti v okviru ustreznega standardnega odklona za ponovljivost, ki jih za navedene parametre za tri standardne alkohole dá Referenčni urad Skupnosti. Če teh vrednosti ne dosežemo, ponovno opravimo preverjanja.

4.3 Pogoji za pridobitev spektrov NMR

Vzorec alkohola, pripravljen v skladu s 3.3 (ali vzorec vode, pripravljen v skladu s 3.4), nalijemo v 15 mm ali 10 mm cevko in ga vstavimo v sondo.

Pogoji za pridobitev spektrov NMR so:

- stalna temperatura sonde (npr. 302 K);
- čas zbiranja meritev najmanj 6,8 s za širino spektra 1 200 Hz (16K spomin) (tj. približno 20 ppm meritev od ene do druge vršne vrednosti pri 61,4 MHz ali 27 ppm pri 46,1 MHz);
- 90° impulz;
- prilagoditev časa zbiranja meritev: njegova vrednost mora biti enakega reda kakor čas mirovanja;
- parabolična detekcija: ofset 01 nastavimo za etanol med referenčnima signaloma OD in CHD in za vodo med referenčnima signaloma HOD in TMU;
- določimo vrednost ločilnega ofseta 02 iz spektra protona, merjenega na isti cevki z ločilno tuljavo. Dobro ločevanje dosežemo, ko je 02 na sredini frekvenčnega intervala med skupinama CH₃- in CH₂- Uporabimo širokopasovno metodo ločevanja.

Za vsak spekter izvedemo nekaj kopičenj NS, ki zadostujejo za ugotovitev razmerja signal-šum iz točke 4.1, in ponovimo ta sklop NS kopičenj NE = 10-krat. Vrednosti NS so odvisne od vrst spektrometra in uporabljene sonde (glej oddelek 4). Primeri možnih izbir so:

Spektrometer	10 mm sonda	15 mm sonda
7,05 T	NS = 304	NS = 200
9,4 T	NS = 200	NS = 128

5. IZRAŽANJE REZULTATOV

5.1 Etanol

Za vsakega od 10 spektrov (glej spekter NMR za etanol, slika 2a) določimo:

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

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

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

pri čemer je

$$— T_I = \frac{\text{višina signala I}(\text{CH}_2\text{D CH}_2 \text{ OH})}{\text{višina signala internega standarda(TMU)}}$$

$$— T_{II} = \frac{\text{višina signala II}(\text{CH}_3\text{CHD OH})}{\text{višina signala internega standarda(TMU)}}$$

— m_{st} in m_A , glej 3.3.2

— t_m^D , glej 3.1.2.3

— $(D/H)_{st}$ = razmerje izotopov internega standarda (TMU) je navedeno na steklenici, ki jo dobavi Referenčni urad Skupnosti.

Pri uporabi vršnih vrednosti namesto vršnega področja, kar je manj natančno, predpostavljamo, da je največja širina pri polovični višini identična in pomeni ustrezen približek, če je to možno (slika 2b).

5.2 Voda

Ko z NMR v mešanici vode in TMU določamo razmerje izotopov v vodi, uporabimo naslednjo formulo:

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

pri čemer je

$$— T_{IV} = \frac{\text{področje signala(HOD) vode ekstrahirane iz vina}}{\text{iz internega standarda(TMU)}}$$

— m'_{st} in m'_E , glej 3.4.2

— $(D/H)_{st}$ = razmerje izotopov internega standarda (TMU), navedeno na steklenici, ki jo dobavi Referenčni urad Skupnosti.

5.3 Za vsak parameter izotopov izračunamo povprečje 10 določitev in interval zaupanja.

Dodatna programska oprema (npr. SNIF-NMR), ki je primerna za računalnik spektrometra, omogoča tovrstne izračune z uporabo računalnika.

Opomba:

Če po standardizaciji spektrometra nastopi sistematična razlika med povprečnimi vrednostmi, dobljenimi za tipične izotope standardnih alkoholov (4.2.2), in vrednostmi, ki jih dá Referenčni urad Skupnosti, v okviru standardnega odklona, lahko uporabimo naslednje korekcije, da dobimo pravo vrednost za kateri koli vzorec X.

Interpoliramo tako, da vzamemo vrednosti za standardni vzorec, ki vsebujejo vrednosti vzorca X.

$Z (D/H)_i^{X_{\text{meas}}}$ označimo merjeno vrednost in $z (D/H)_i^{X_{\text{corr}}}$ korigirano vrednost. Tako dobimo:

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

pri čemer je

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

Primer:

Standardni vzorci, ki jih dobavlja in standardizira Referenčni urad Skupnosti:

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

Standardni vzorci, ki jih meri laboratorij:

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

Preiskovani nekorrigirani vzorec: $(D/H)_I^{X_{\text{meas}}} = 100,2 \text{ ppm}$

$$\alpha = 1,0255 \text{ in } (D/H)_I^{X_{\text{corr}}} = 99,3 \text{ ppm sta izračunana.}$$

6. RAZLAGA REZULTATOV

Primerjamo vrednost R^X , dobljeno za razmerje R preiskovanega vzorca, z razmerji iz kontrolnih vin. Če se R^X razlikuje za več kakor dva standardna odklona od povprečne vrednosti R^I za kontrolno vino, lahko sumimo, da je to ponarejanje.

6.1 Dodajanje pesnega ali trsnega sladkorja ali glukoze koruze

6.1.1 Vina

R^X višji kakor R^T : predpostavljamo, da je bil dodan pesni sladkor.

R^X nižji kakor R^T : predpostavljamo, da je bil dodan trsni ali koruzni sladkor.

Upoštevati moramo, da se $(D/H)_I^X$ in $(D/H)_W^{QX}$ povišata.

Upoštevamo $(D/H)_I^X$:

— Predpostavljamo, da je bil dodan pesni sladkor: $(D/H)_I^X$ preiskovanega vzorca je nižji kakor $(D/H)_I^T$, ki je povprečna vrednost iz kontrolnih vzorcev, za več kakor en standardni odklon

— Predpostavljamo, da je bil dodan trsni ali koruzni sladkor:

$(D/H)_I^X$ je višji kakor $(D/H)_I^T$ za več kakor en standardni odklon

— Izračun obogatitve je E , izražen v % vol etanola:

— Dodajanje pesnega sladkorja:

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

pri čemer je

$(D/H)_I^B$ = razmerje izotopov za lokacijo I iz pese pridobljenega alkohola;

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

t^V = alkoholna stopnja v analiziranem vinu (X).

— Dodajanje pesnega ali koruznega sladkorja:

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

⁽¹⁾ Te vrednosti so dane, dokler se ne vzpostavi banka podatkov Skupnosti teh vrednosti.

pri čemer je

$(D/H)_I^C$ = razmerje izotopov za lokacijo I trsnega ali koruznega sladkorja;

$(D/H)_I^C = 110,5$ ⁽¹⁾

t^V = alkoholna stopnja v analiziranem vinu (X)

6.1.2 Mošti, zgoščeni mošti in rektificirani zgoščeni mošti

Vrednosti parametrov izotopov za alkohol, ki je bil ekstrahiran v skladu s 3.1 iz fermentiranega proizvoda, pridobljenega (3.2) iz mošta, zgoščenega mošta in rektificiranega zgoščenega mošta, preverimo v skladu z navodili pod 6 „Razlaga rezultatov“ (6.1.1) in jih primerjamo z alkoholom, ekstrahiranim iz fermentacijskih proizvodov mošta.

Obogatitev, E % vol, izraža prostornino alkohola, dodanega fermentiranemu proizvodu. Če poznamo redčenje, ki je bilo morda izvedeno pred fermentacijo (zgoščeni mošt in rektificirani zgoščeni mošt), in predpostavljamo, da 16,83 g sladkorja dá 1 % vol alkohola, lahko izračunamo količino sladkorja (masa), ki je bil dodan na liter mošta, zgoščenega mošta ali rektificiranega zgoščenega mošta.

6.2 Dodajanje mešanice pesnega in trsnega sladkorja ali glukoze koruze

Razmerja izotopov $(D/H)_I$ in R se spremenijo manj, kakor če je dodana samo ena vrsta sladkorja.

$(D/H)_{II}$ je višji, prav tako $(D/H)_{\text{W}}^Q$.

Te dodatke lahko potrdimo z določitvijo razmerja $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ etanola z masno spektrometrijo; v tem primeru je razmerje višje.

⁽¹⁾ Te vrednosti so dane, dokler se ne vzpostavi banka podatkov Skupnosti teh vrednosti.

9. DOLOČITEV PEPELA

1. OPREDELITEV POJMA

Kot pepel so opredeljeni vsi tisti produkti, ki ostanejo po sežigu ostanka, dobljenega po izparevanju vina. Sežig poteka tako, da vsi kationi (razen amonijevega kationa) preidejo v karbonate ali druge brezvodne anorganske soli.

2. PRINCIP METODE

Ekstrakt vina žarimo pri temperaturi med 500 in 550 °C do popolnega sežiga (oksidacije) organskih sestavin.

3. APARATURE

- 3.1 vrelna vodna kopel;
- 3.2 tehtnica z natančnostjo 0,1 mg;
- 3.3 izparilnik z vročo ploščo ali infrardeči izparilnik;
- 3.4 električna žarilna peč s kontrolo temperature;
- 3.5 eksikator;
- 3.6 platinske posode z ravnim dnom, premera 70 mm in višine 25 mm.

4. POSTOPEK

V poprej stehano platinsko posodo (začetna masa P_0 g) odpipetiramo 20 ml vina. Odparimo do suhega na vreli vodni kopeli, ostanek pa segrevamo na vroči plošči pri 200 °C ali na infrardečem izparilniku do začetka pooglenitve. Ko se nastajanje dima ustavi, postavimo posodo v električno žarilno peč, segreto na 525 ± 25 °C. Po 15 minutah sežiga jo vzamemo iz peči, dodamo 5 ml destilirane vode, odparimo do suhega na vodni kopeli ali pod infrardečim izparilnikom in ostanek ponovno žarimo 10 minut pri 525 °C.

Če sežig (oksidacija) karboniziranih delcev ni popoln, ponavljamo postopek dodajanja vode, odparevanja vode in sežiga.

Pri vinih z veliko vsebnostjo sladkorja je priporočljivo pred prvim žarjenjem v ekstrakt dodati nekaj kapljic čistega rastlinskega olja zaradi preprečitve penjenja.

Platinsko posodo ohladimo v eksikatorju in stehamo (P_1 g).

Masa pepela v vzorcu (20 ml) je torej $P = (P_1 - P_0)$ g.

5. IZRAŽANJE REZULTATOV

5.1 Izračun

Masa pepela P v gramih na liter prikažemo na dve decimalni mesti natančno z izrazom: $P = 50 p$

10. ALKALNOST PEPELA**1. OPREDELITEV POJMA**

Alkalnost pepela je opredeljena kot vsota kationov, razen amonijevih ionov, vezanih z organskimi kislinami v vinu.

2. PRINCIP METODE

Pepel raztopimo v znani (odvečni) količini vroče standardizirane kisle raztopine; preostanek določimo s titracijo z uporabo indikatorja metil oranž.

3. REAGENTI IN APARATURA

- 3.1 0,05 M raztopina žveplove kisline (H_2SO_4);
- 3.2 0,1 M raztopina natrijevega hidroksida (NaOH);
- 3.3 metil oranž, 0,1 % raztopina v destilirani vodi;
- 3.4 vrelo vodna kopel.

4. POSTOPEK

10 ml 0,05 M raztopine žveplove kisline (3.1) dodamo pepelu iz 20 ml vina iz platinske posode. Posodo postavimo na vrelo vodno kopel za približno 15 minut in ostanek zmešamo s stekleno palčko, da pospešimo raztapljanje. Dodamo dve kapljici metil oranž raztopine in titriramo preostanek žveplove kisline z 0,1 M natrijevim hidroksidom (3.2), dokler se barva indikatorja ne spremeni v rumeno.

5. IZRAŽANJE REZULTATOV

Izračun

Alkalnost pepela, izraženega v tisočinkah enote na liter na eno decimalno mesto natančno, dobimo z:

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

pri čemer je n ml prostornina uporabljenega 0,1 M natrijevega hidroksida.

11. KLORIDI

1. PRINCIP

Kloride določamo neposredno v vinu potenciometrično z uporabo elektrode Ag/AgCl.

2. APARATURE

- 2.1 Meter pH/mV, umerjen na intervale najmanj 2 mV.
- 2.2 Magnetno mešalo.
- 2.3 Elektroda Ag/AcCl z nasičeno raztopino kalijevega nitrata kot elektrolitom.
- 2.4 Mikrobireta, umerjena na 1/100 ml.
- 2.5 Kronometer.

3. REAGENTI

- 3.1 Standardna raztopina klorida: 2,1027 g kalijevega klorida, KCl (maks. 0,005 % Br), ki ga pred uporabo posušimo tako, da ga nekaj dni pustimo v eksikatorju, razredčimo z destilirano vodo in dopolnimo z vodo do enega litra. 1 ml te raztopine vsebuje 1 mg Cl^- .
- 3.2 Raztopina srebrovega nitrata za titiranje: 4,7912 g analitsko čistega srebrovega nitrata AgNO_3 razredčimo v 10 % (v/v) alkoholni raztopini in dopolnimo do enega litra. 1 ml te raztopine ustreza 1 mg Cl^- .
- 3.3 Dušikova kislina, z najmanj 65 % čistostjo ($p_{20} = 1,40 \text{ g/ml}$).

4. POSTOPEK

- 4.1 5,0 ml standardne raztopine klorida nalijemo v 150 ml cilindrično posodo, ki jo postavimo na magnetno mešalo, razredčimo z destilirano vodo do približno 100 ml in ji povečamo kislost z 1,0 ml dušikove kisline (vsaj 65 %). Nato vanjo potopimo elektrodo, titriramo z dodajanjem raztopine srebrovega nitrata za titiranje z uporabo mikrobirete in zmerno mešamo. Najprej dodamo 1,00 ml za prve 4 ml in odčitamo ustrezne vrednosti v milivoltih. Dodamo naslednja 2 ml, in to po 0,20 ml hkrati. Na koncu dodajamo po 1 ml, dokler ne dosežemo 10 ml skupne dodane količine. Po vsakem dodajanju počakamo približno 30 sekund, preden odčitamo ustrezne vrednosti v milivoltih. Tako dobljene vrednosti prenesemo na milimetrski papir glede na ustrezne mililitre raztopine za titiranje in določimo potencial ekvivalentne točke na podlagi posamične točke na dobljeni krivulji.
- 4.2 5 ml standardne raztopine klorida nalijemo v 150 ml cilindrično posodo s 95 ml destilirane vode in 1 ml dušikove kisline (vsaj 65 %). Potopimo elektrodo in med mešanjem titriramo, dokler ne dobimo potenciala ekvivalentne točke. Določitev ponavljamo, dokler se rezultati v pretežnem delu ne ujemajo. To ugotavljanje opravimo pred vsako serijo meritev kloridov v vzorcih.
- 4.3 50 ml vina za analizo nalijemo v 150 ml cilindrično posodo. Dodamo 50 ml destilirane vode in 1 ml dušikove kisline (vsaj 65 %) in titriramo po postopku, opisanem v 4.2.

5. IZRAŽANJE REZULTATOV

5.1 Izračuni

Če n označuje število mililitrov raztopine srebrovega nitrata za titiranje, je vsebnost klorida v testni tekočini:

- $20 \times n$ izraženo v miligramih Cl na liter,
 $0,5633 \times n$ izraženo v tisočinkah enote na liter,
 $32,9 \times n$ izraženo v miligramih natrijevega klorida na liter.

5.2 **Ponovljivost (r):**

$r = 1,2$ mg Cl na liter

$r = 0,03$ tisočink enote na liter

$r = 2,0$ mg NaCl na liter

5.3 **Obnovljivost (R):**

$R = 4,1$ mg Cl na liter

$R = 0,12$ tisočink enote na liter

$R = 6,8$ mg NaCl na liter

6. **Opomba:** Za zelo natančno določitev.

Upoštevamo celotno krivuljo titracije, dobljeno med določanjem testne tekočine z raztopino srebrovega nitrata.

- (a) Izmerimo 50 ml vina za analizo in ga nalijemo v 150 ml cilindrično posodo. Dodamo 50 ml destilirane vode in 1 ml dušikove kisline (vsaj 65 %). Titriramo z raztopino srebrovega nitrata, ki je dodajamo po 0,5 ml hkrati, in zabeležimo ustrezní potencial v milivoltih. Iz te prve titracije določimo približno prostornino srebrovega nitrata, ki ga potrebujemo.
- (b) Določanje ponovno začnemo v enakih pogojih. Najprej neprekinjeno dodajamo 0,5 ml raztopine za titriranje, dokler ni prostornina dodane raztopine 1,5 do 2 ml manjša kakor prostornina, določena v (a). Nato hkrati dodamo 0,2 ml. Zatim nadaljujemo simetrično dodajanje raztopine prek približno določene ekvivalentne točke, tj. z dodajanjem 0,2 ml in nato 0,5 ml hkrati.

Končno točko meritve in točno prostornino porabljenega srebrovega nitrata dobimo:

— bodisi z izrisom krivulje in določitvijo ekvivalentne točke

— bodisi z naslednjim izračunom:

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

pri čemer je:

V = prostornina raztopine za titriranje na ekvivalentni točki;

V' = prostornina raztopine za titriranje pred največjo spremembo potenciala;

ΔV_i = konstantna prostornina diferenc v raztopini za titriranje, tj. 0,2 ml;

$\Delta \Delta E_1$ = druga razlika v potencialu pred največjo spremembo potenciala;

$\Delta \Delta E_2$ = druga razlika v potencialu po največji spremembi potenciala.

Primer:

Prostornina raztopine za titriranje AgNO_3	E potencial v mV	Razlika ΔE	Druga razlika $\Delta\Delta E$
0	204		
0,2	208	4	0
0,4	212	4	2
0,6	218	6	0
0,8	224	6	0
1,0	230	6	2
1,2	238	8	4
1,4	250	12	10
1,6	272	22	22
1,8	316	44	10
2,0	350	34	8
2,2	376	26	6
2,4	396	20	

V tem primeru je končna točka titracije med 1,6 in 1,8 ml: največja sprememba potenciala ($\Delta E = 44 \text{ mV}$) se pokaže v tem intervalu. Prostornina porabljene raztopine srebrovega nitrata za titriranje za merjenje kloridov v testnem vzorcu je:

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

12. SULFATI

1. PRINCIP

1.1 Referenčna metoda

Obarjanje barijevega sulfata in tehtanje. Barijev fosfat, ki je obarjen v enakih pogojih, odstranimo tako, da oborino operemo v klorovodikovi kislini.

Pri moštih ali vinih, bogatih z žveplovim dioksidom, je priporočljivo, da jih pred razžveplanjem prevremo v nepredušni posodi.

1.2 Metoda hitrega testa

Vina razvrščamo v več kategorij z uporabo tako imenovane metode omejitev, ki temelji na obarjanju barijevega sulfata s titrantom barijevih ionov.

2. REFERENČNA METODA

2.1 Reagenti

2.1.1 2 M raztopina klorovodikove kisline.

2.1.2 Raztopina barijevega klorida z 200 g/l $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

2.2 Postopek

2.2.1 Splošni postopek:

Odmerimo 40 ml vzorca za analizo in ga nalijemo v 50 ml epruveto za centrifugiranje; dodamo 2 ml 2 M klorovodikove kisline in 2 ml raztopine barijevega klorida z 200 g/l. Premešamo s steklenim mešalom; mešalo splaknemo z malo destilirane vode in pustimo stati pet minut. Centrifugiramo pet minut, nato pazljivo dekantiramo tekočino, zbrano na površju.

Nato oborino barijevega sulfata operemo takole: dodamo 10 ml 2 M klorovodikove kisline, oborino vložimo v suspenzijo in centrifugiramo pet minut, potem pa pazljivo dekantiramo tekočino, zbrano na površju. Postopek izpiranja izvedemo dvakrat v enakih pogojih, pri čemer vsakokrat uporabimo 15 ml destilirane vode.

Z izpiranjem z destilirano vodo oborino kvantitativno prenesemo v tarirano platinsko kapsulo in jo postavimo nad vodno kopel pri 100 °C, dokler popolnoma ne izpari. Posušeno oborino večkrat za kratek čas kalciniramo nad plamenom, dokler se ne pokaže bel ostanek. Pustimo, da se ohladi v eksikatorju, in stehtamo.

m = masa dobljenega barijevega sulfata v miligramih.

2.2.2 Posebni postopek: žveplani mošt in vino z visoko vsebnostjo žveplovega dioksida.

Najprej odstranimo žveplov dioksid.

25 ml vode in 1 ml čiste klorovodikove kisline ($\rho_{20} = 1,15$ do $1,18$ g/ml) nalijemo v 500 ml erlenmajerico, ki ima kapalni lijak in odvodno cevko. Raztopino prevremo, s čimer odstranimo zrak, in dolijemo 100 ml vina skozi kapalni lijak. Nadaljujemo vrenje, dokler se prostornina tekočine v erlenmajerici ne zmanjša na okoli 75 ml, in jo nato po ohlajanju kvantitativno prenesemo v 100 ml merilno bučko. Dopolnimo z vodo do oznake. Določimo sulfat v 40 ml vzorcu, kakor je navedeno v 2.2.1.

2.3 **Izražanje rezultatov**2.3.1 *Izračuni:*

Vsebnost sulfatov, izražena v miligramih na liter kalijevega sulfata (K_2SO_4), je:

$$18,67 \times m$$

Vsebnost sulfatov v moštu ali vinu je izražena v miligramih na liter kalijevega sulfata, brez decimalne vejice.

2.3.2 *Ponovljivost*

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

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

2.3.3 *Obnovljivost*

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

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

3. **METODA HITREGA TESTA**3.1 **Reagenti**

3.1.1 Raztopina barijevega klorida za titiranje

2,804 g barijevega klorida, $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ in 10 ml klorovodikove kisline ($\rho_{20} = 1,15$ do $1,18 \text{ g/ml}$) raztopimo v zadostni količini vode, da dobimo en liter raztopine, iz 1 ml te raztopine se obori količina sulfatnih ionov, ki je enakovredna 2 mg kalijevega sulfata.

3.1.2 Žveplova kislina ($\rho_{20} = 1,84 \text{ g/ml}$), 1/10 (m/v) raztopina.3.2 **Postopek**

10 ml mošta ali vina nalijemo v tri testne epruvete; št. 1 dodamo 3,5 ml, št. 2 dodamo 5 ml in št. 3 dodamo 10 ml raztopine barijevega klorida. Pretresemo in zavremo; pustimo stati od ene do dveh ur. Tekočino iz vsake epruvete dekantiramo, prefiltriramo in razdelimo na dva dela. Enemu delu dodamo več kapljic razredčene raztopine žveplove kisline, drugemu pa nekaj kapljic raztopine barijevega klorida. Vsako epruveto pregledamo in zabeležimo, ali je tekočina bistra ali motna. Razlaga teh opažanj je dana v tabeli spodaj.

	Vino	Barijev klorid	Filtrirano vino +	
			razredčena žveplova kislina	raztopina barijevega klorida
	(ml)	(ml)	motno	bistro
Prvi test	10	3,5	(manj kakor $0,7 \text{ g K}_2\text{SO}_4/\text{l}$) bistro	motno
			(več kakor $0,7 \text{ g K}_2\text{SO}_4/\text{l}$)	
Drugi test	10	5	motno	bistro
			(manj kakor $1 \text{ g K}_2\text{SO}_4/\text{l}$) bistro	motno
			(več kakor $1 \text{ g K}_2\text{SO}_4/\text{l}$)	
Tretji test	10	10	motno	bistro
			(manj kakor $2 \text{ g K}_2\text{SO}_4/\text{l}$) bistro	motno
			(več kakor $2 \text{ g K}_2\text{SO}_4/\text{l}$)	

13. SKUPNE KISLINE

1. OPREDELITEV POJMA

Skupne kisline vina so vsota titracijskih kislin, dobljenih s titracijo do pH 7 s standardno raztopino baze.

Ogljikov dioksid k skupnim kislinam ni prištet.

2. PRINCIP METODE

Potenciometrična titracija ali titracija z indikatorjem bromtimol modro in primerjava z barvnim standardom končne točke.

3. REAGENTI

3.1 Puferska raztopina pH 7,0:

— monokalijev fosfat, (KH_2PO_4)	107,3 g
— 1 M raztopina natrijevega hidroksida (NaOH)	500 ml
— voda do	1 000 ml

Lahko uporabimo že pripravljene puferske raztopine, ki so na voljo na trgu.

3.2 0,1 M raztopina natrijevega hidroksida (NaOH).

3.3 Raztopina indikatorja bromtimol modro 4 g/l:

— bromtimol modro ($\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{Br}_2\text{O}_5\text{S}$)	4 g
— nevtralni etanol, 96 % vol	200 ml

Raztopimo in dodamo:

— vodo brez CO_2	200 ml
— 1 M raztopino natrijevega hidroksida, in to do nastopa modro zelene barve (pH 7)	približno 7,5 ml
— vodo do	1 000 ml

4. APPARATURA

4.1 Vodna vakuumška črpalka.

4.2 500 ml vakuumška bučka.

4.3 Potenciometer s skalo v pH enotah in dve elektrodi. Steklana elektroda mora biti shranjena v destilirani vodi. Kalomelova (nasičeni kalijev klorid) elektroda mora biti shranjena v nasičeni raztopini kalijevega klorida. Najpogosteje se uporablja kombinirana elektroda, ki mora biti shranjena v destilirani vodi.

4.4 Merilni valji, 50 ml (vino), 100 ml (rektificirani zgoščeni mošt).

5. POSTOPEK

5.1 Priprava vzorca:

5.1.1 Vina

Odstranitev ogljikovega dioksida. V vakuumško bučko nalijemo približno 50 ml vina in priključimo na vodno vakuumško črpalko za eno do dve minuti, vmes pa ves čas stresamo.

5.1.2 *Rektificirani zgoščeni mošti*

V bučko odtehtamo točno 200 g rektificiranega zgoščenega mošta. Dolijemo 500 ml vode do oznake. Homogeniziramo.

5.2 **Potenciometrična titracija****5.2.1** *Umerjanje pH metra*

V skladu s proizvajalčevimi navodili mora biti pH meter umerjen na 20 °C, s puferno raztopino pH 7,00 pri 20 °C.

5.2.2 *Metoda merjenja*

V merilni valj (4.4) nalijemo prostornino vzorca, to je 10 ml vina oziroma 50 ml rektificiranega zgoščenega mošta, ki je pripravljen v skladu s 5.1. Dodamo približno 10 ml destilirane vode in nato še 0,1 M raztopino natrijevega hidroksida (3.2) iz birete, dokler ni pH enak 7 pri 20 °C. Natrijev hidroksid dodajamo počasi in med nenehnim mešanjem. Prostornino dodanega 0,1 M NaOH označimo z n ml.

5.3 **Titracija v navzočnosti indikatorja** (bromtimol modro)**5.3.1** *Poprejšnji test: določitev barve v končni točki.*

V merilni valj (4.4) nalijemo 25 ml prevrete destilirane vode, 1 ml raztopine bromtimol modro (3.3) in prostornino vzorca, pripravljenega v skladu z opisom (5.1), in to 10 ml vina oziroma 50 ml rektificiranega zgoščenega mošta. Dodamo 0,1 M raztopino natrijevega hidroksida (3.2), dokler se barva ne spremeni v modro-zeleno. Potem dodamo 5 ml puferske raztopine pH 7,0 (3.7).

5.3.2 *Merjenje*

V merilni valj (4.4) nalijemo 30 ml prevrete destilirane vode, 1 ml raztopine bromtimol modro in prostornino vzorca, pripravljenega v skladu z opisom v 5.1, in to 10 ml vina oziroma 50 ml rektificiranega zgoščenega mošta. Dodamo 0,1 M raztopino natrijevega hidroksida (3.2), dokler ne dosežemo enakega barvnega odtenka kakor v poprejšnjem testu (5.3.1). Prostornino dodanega 0,1 M natrijevega hidroksida označimo z n ml.

6. **IZRAŽANJE REZULTATOV****6.1** **Izračun****6.1.1** *Vina*

Skupne kisline, izražene v tisočinkah enote na liter, so dane kot:

$$A = 10 n.$$

Rezultat je dan na eno decimalno mesto natančno.

Skupne kisline, izražene v gramih vinske kisline na liter, so dane kot:

$$A' = 0,075 A$$

Rezultat je dan na eno decimalno mesto natančno.

6.1.2 *Rektificirani zgoščeni mošti*

— Skupne kisline, izražene v tisočinkah enote na kilogram rektificiranega zgoščenega mošta, so dane kot $a = 5 n$.

— Skupne kisline, izražene v tisočinkah enote na kilogram skupnih sladkorjev, so dane kot

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

P = % koncentracija (m/m) skupnih sladkorjev.

Rezultat je dan na eno decimalno mesto natančno.

6.2 **Ponovljivost** (r) pri titraciji z indikatorjem:

$r = 0,9$ tisočink enote/liter

$r = 0,07$ g vinske kisline/liter

za bela, rozé in rdeča vina.

6.3 **Obnovljivost** (R) pri titraciji z indikatorjem (5.3):

Za bela in rozé vina:

$R = 3,6$ tisočink enote/liter

$R = 0,3$ g vinske kisline/liter

Za rdeča vina:

$R = 5,1$ tisočink enote/liter

$R = 0,4$ g vinske kisline/liter

14. HLAPNE KISLINE

1. OPREDELITEV POJMA

Hlapne kisline sestavljajo homologi očetne kisline, ki v vinu nastopajo v prosti obliki ali v obliki soli.

2. PRINCIP METODE

Titracija hlapnih kislin, ki jih iz vina ločimo s parno destilacijo, in titracija destilata.

Ogljikov dioksid poprej odstranimo iz vina.

Kislost prostega in skupnega žveplovega dioksida v destilatu, dobljenem pod temi pogoji, odštejemo od kislosti destilata.

Če je bila vinu dodana sorbinska kislina, odštejemo od hlapne kislosti tudi njeno kislost.

Opomba: Del salicilne kisline, ki se v nekaterih državah uporablja za stabilizacijo vin pred analizo, je navzoč v destilatu. Ta del moramo določiti in odšteti od kislosti. Metoda za določitev je dana v oddelku 7 tega poglavja.

3. REAGENTI

3.1 Kristalinična vinska kislina ($C_4H_6O_6$).

3.2 0,1 M raztopina natrijevega hidroksida (NaOH).

3.3 1 % raztopina fenolftaleina v 96 % vol nevtralnem alkoholu.

3.4 Klorovodikova kislina ($\rho_{20} = 1,18$ do $1,19$ g/ml), razredčena 1/4 (V/V).

3.5 0,005 M raztopina joda (I_2).

3.6 Kristalinični kalijev jodid (KJ).

3.7 Raztopina škroba, 5 g/l.

5 g škroba zmešamo s približno 500 ml vode. Med nenehnim mešanjem segrejemo do vrenja in pustimo vreti 10 minut. Dodamo 200 g natrijevega klorida. Ko se ohladi, razredčimo na 1 liter.

3.8 Nasičena raztopina natrijevega borata ($Na_2B_4O_7 \times 10H_2O$), kar je približno 55 g/l pri 20 °C.

4. APARATURE

4.1 Parni destilator, sestavljen iz:

1. parnega generatorja; para ne sme vsebovati ogljikovega dioksida;
2. bučke s parno cevko;
3. destilacijske kolone;
4. kondenzatorja.

Ta oprema mora ustrezati naslednjim trem pogojem:

- (a) V bučko damo 20 ml prevrete vode. Ulovimo 250 ml destilata in mu dodamo 0,1 ml 0,1 M raztopine natrijevega hidroksida (3.2) in 2 kapljici raztopine fenolftaleina (3.3). Rožnata barva mora biti obstojna najmanj 10 sekund (kar pomeni, da para ne vsebuje ogljikovega dioksida).
- (b) V bučko damo 20 ml 0,1 M raztopine očetne kisline. Ulovimo 250 ml destilata. Titriramo z 0,1 M raztopino natrijevega hidroksida (3.2), katere prostornina mora biti najmanj 19,9 ml (kar pomeni, da je predestilirane najmanj 99,5 % očetne kisline).

- (c) V bučko damo 20 ml 1 M raztopine mlečne kisline. Ulovimo 250 ml destilata in titriramo kislino z 0,1 M raztopino natrijevega hidroksida (3.2).

Prostornina dodane raztopine natrijevega hidroksida mora biti manjša ali enaka 1,0 ml (kar pomeni, da je predestilirane največ 0,5 % mlečne kisline).

Katera koli aparatura oziroma postopek, ki ustreza tem pogojem, zadosti zahtevam uradnih mednarodnih aparatov oziroma postopkov.

4.2 Vodna črpalka.

4.3 Vakuumska bučka.

5. POSTOPEK

5.1 **Priprava vzorca:** odstranitev ogljikovega dioksida. V vakuumsko bučko nalijemo približno 50 ml vina; z uporabo vodne črpalke v bučki vzpostavimo vakuum za približno minuto ali dve in medtem nenehno stresamo.

5.2 Destilacija s paro

V bučko nalijemo 20 ml vina brez ogljikovega dioksida, kakor je opisano v 5.1. Dodamo približno 0,5 g vinske kisline (3.1). Zberemo vsaj 250 ml destilata.

5.3 Titracija

Titriramo z 0,1 M raztopino natrijevega hidroksida (3.2) ob dodatku dveh kapljic fenolftaleina (3.3) kot indikatorja. Prostornino porabljenega natrijevega hidroksida označimo z n ml.

Dodamo štiri kapljice razredčene raztopine klorovodikove kisline (3.4), 2 ml raztopine škroba (3.3) in nekaj kristalov kalijevega jodida (3.6). Prosti žveplov dioksid titriramo z 0,005 M raztopino joda (3.5). Porabljeno prostornino označimo kot n'' ml.

Dodamo nasičeno raztopino natrijevega borata (3.8), dokler se ponovno ne pokaže rožnato obarvanje. Skupni žveplov dioksid titriramo z 0,005 M raztopino joda (3.5). Porabljeno prostornino označimo z n'' ml.

6. IZRAŽANJE REZULTATOV

6.1 Izračun

Hlapne kisline, izražene v tisočinkah enote na liter, in to na eno decimalno mesto natančno, so dane kot:

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

Hlapne kisline, izražene v gramih očetne kisline na liter, in to na dve decimalni mesti natančno, so dane kot:

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

6.2 Ponovljivost (r)

$$r = 0,7 \text{ tisočink enote/liter}$$

$$r = 0,04 \text{ g očetne kisline/liter.}$$

6.3 Obnovljivost (R)

$$R = 1,3 \text{ tisočink enote/liter}$$

$$R = 0,08 \text{ g očetne kisline/liter.}$$

6.4 Vina z navzočo sorbinsko kislino

Ker se 96 % sorbinske kisline predestilira v destilat prostornine 250 ml, moramo njeno kislost odšteti od hlapnih kislin, pri čemer pa upoštevamo, da 100 mg sorbinske kisline ustreza kislosti 0,89 tisočink enote ali 0,053 g očetne kisline, in upoštevamo koncentracijo sorbinske kisline v mg/l, kakor je bila določena z uporabo drugih metod.

7. DOLOČITEV SALICILNE KISLINE V DESTILATU HLAPNIH KISLIN**7.1 Princip**

Pri določitvi hlapnih kislin in korekciji na žveplov dioksid navzočnost salicilne kisline po povečanju kislosti raztopine in dodatku železove (III) soli pokaže vijolično obarvanje.

Določitev salicilne kisline, ki je ob hlapnih kislinah v destilatu, poteka v drugem destilatu enake prostornine, kakor je tista, v kateri smo določili hlapne kisline. V tem destilatu vsebnost salicilne kisline določamo s primerjalno kolorimetrično metodo. Odštejemo jo od kislosti hlapnih kislin destilata.

7.2 Reagenti

7.2.1 Klorovodikova kislina (HCl) ($\rho_{20} = 1,18$ do $1,19$ g/l).

7.2.2 0,1 M raztopina natrijevega tiosulfata ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$).

7.2.3 10 % (m/v) raztopina amonijevega železovega (III) sulfata ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \times (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \times 24\text{H}_2\text{O}$).

7.2.4 0,01 M raztopina natrijevega salicilata.
Raztopina vsebuje 1,60 g/l natrijevega salicilata ($\text{NaC}_7\text{H}_5\text{O}_3$).

7.3 Postopek**7.3.1 Identifikacija salicilne kisline v destilatu hlapnih kislin.**

Takoj po določitvi hlapnih kislin in korekciji na prosti in skupni žveplov dioksid damo v erlenmajerico 0,5 ml klorovodikove kisline (7.2.1), 3 ml 0,1 M raztopine natrijevega tiosulfata (7.2.2) in 1 ml raztopine amonijevega železovega (III) sulfata (7.2.3).

Ob navzočnosti salicilne kisline se pokaže vijolično obarvanje.

7.3.2 Določitev salicilne kisline

Na zgoraj navedeni erlenmajerici označimo prostornino destilata. Erlenmajerico spraznimo in izplaknemo.

V isto erlenmajerico damo novih 20 ml vina, parno destiliramo in zberemo destilat do poprej narejene oznake. Dodamo 0,3 ml čiste klorovodikove kisline (7.2.1) in 1 ml raztopine amonijevega železovega (III) sulfata (7.2.3). Vsebina erlenmajerice se obarva vijolično.

V erlenmajerico, enako označeni erlenmajerici, damo destilirano vodo do enake ravni, kakor je raven destilata. Dodamo 0,3 ml čiste klorovodikove kisline (7.2.1) in 1 ml raztopine amonijevega železovega (III) sulfata (7.2.3). Iz birete dodajamo 0,01 M raztopino natrijevega salicilata (7.2.4), dokler ne dobimo enako intenzivnega vijoličnega barvnega odtenka, kakor je v erlenmajerici z destilatom vina.

Prostornino raztopine, ki smo jo dodali iz birete, označimo z n'' ml.

7.3.3 *Korekcija hlapnih kislin*

Od prostornine n ml 0,1 M raztopine natrijevega hidroksida, ki smo ga porabili za titracijo kislin destilata pri določitvi hlapnih kislin, odštejemo prostornino $0,1 \times n''$ ml.

15. NEHLAPNE KISLINE

1. PRINCIP

Nehlapne kisline pomenijo razliko med skupnimi in hlapnimi kisljinami.

2. IZRAŽANJE REZULTATOV

Nehlapne kisline izražamo v:

- tisočinkah enote na liter,
- gramih vinske kisline na liter.

16. VINSKA KISLINA

1. PRINCIP METOD

1.1 Referenčna metoda

Vinsko kislino oborimo v obliki kalcijevega ($\pm$) tartrata in jo določimo gravimetrično. Za primerjavo lahko to določitev dopolnimo z volumetričnim postopkom. Pogoji za obarjanje (pH, celotna uporabljena prostornina, koncentracije obarjalnih ionov) so takšni, da je obarjanje kalcijevega ($\pm$) tartrata popolno, medtem ko kalcijev D(-) tartrat ostane v raztopini.

Ko vinu dodamo mezovinsko kislino, ki povzroči nepopolno obarjanje kalcijevega ($\pm$) tartrata, jo moramo najprej hidrolizirati.

1.2 Običajna metoda

Vinsko kislino, ločeno z uporabo ionske izmenjalne kolone, določimo v izlužku s kolorimetrično metodo, in to z merjenjem rdeče barve, ki nastane pri reakciji z vanadijevo kislino. Izlužek vsebuje tudi mlečno in jabolčno kislino, ki medsebojno ne reagirata.

2. REFERENČNA METODA

2.1 Gravimetrična metoda

2.1.1 Reagenti

2.1.1.1 Raztopina kalcijevega acetata, ki vsebuje 10 g kalcija na liter:

kalcijev karbonat (CaCO_3)	25 g
očetna kislina (CH_3COOH) ($\rho_{20} = 1,05 \text{ g/ml}$) ...	40 ml
voda do	1 litre

2.1.1.2 Kalcijev ($\pm$) tartrat, kristaliziran: $\text{CaC}_4\text{O}_6\text{H}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$:

V 400 ml čašo nalijemo 20 ml raztopine L(+) vinske kisline (5 g/l). Dodamo 20 ml raztopine amonijevega D(-) tartrata (6,126 g/l) in 6 ml raztopine kalcijevega acetata, ki vsebuje 10 g kalcija na liter (2.1.1.1).

Pustimo stati dve uri, da se obori. Oborino zberemo v talilnem lončku iz sintranega stekla s poroznostjo št. 4 in jo trikrat izperemo s približno 30 ml destilirane vode. Posušimo v peči pri 70 °C, dokler teža ne postane stalna. Če uporabimo zgoraj navedene količine reagenta, dobimo približno 340 mg kristaliziranega kalcijevega ($\pm$) tartrata.

Shranjujemo v zamašeni steklenici.

2.1.1.3 Raztopina oborine (pH 4,75):

— D(–) vinska kislina ...	122 mg
— 25 % (v/v) raztopina amonijevega hidroksida ($\rho_{20} = 0,97 \text{ g/ml}$)	0,3 ml
— raztopina kalcijevega acetata (10 g kalcij/liter)	8,8 ml
— voda do	1 000 ml

Raztopimo D(–) vinsko kislino, dodamo amonijev hidroksid in dopolnimo do približno 900 ml; dodamo 8,8 ml raztopine kalcijevega acetata (2.1.1), dopolnimo do enega litra in z očetno kislino prilagodimo pH na 4,75. Ker je kalcijev ($\pm$)tartrat delno topen v tej raztopini, dodamo 5 mg kalcijevega ($\pm$)tartrata na liter, mešamo 12 ur in filtriramo.

2.1.2 *Postopek*

2.1.2.1 Vina brez dodane mezovinske kisline

V 600 ml čašo nalijemo 500 ml raztopine oborine in 10 ml vina. Zmešamo in sprožimo obarjanje, tako da s konico steklene palčke drsimo po stranici posode. Pustimo 12 ur, da se obori (prek noči).

Tekočino filtriramo in oborimo prek stehtanega talilnega lončka iz sintranega stekla s poroznostjo št. 4, nameščenega na čisto vakuumsko bučko. Posodo, v kateri se je tekočina obarjala, izplaknemo s filtratom, da pobereemo celotno oborino.

Posušimo na stalno težo v peči pri 70 °C. Stehamo. Težo dobljenega kristaliziranega kalcijevega ($\pm$)tartrata ($\text{CaC}_4\text{O}_6\text{H}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$) označimo s p.

2.1.2.2 Vina z dodano mezovinsko kislino

Pri analizi vin, katerim je bila dodana mezovinska kislina ali le sumimo, da je bila dodana, to kislino najprej hidroliziramo po naslednjem postopku:

10 ml vina in 0,4 ml očetne kisline (ledocet) (CH_3COOH , $\rho_{20} = 1,05 \text{ g/ml}$) nalijemo v 50 ml erlemajerico. Na vrh erlemajerice namestimo kondenzator refluxa in vremo 30 minut. Pustimo, da se ohladi, in nato raztopino prelijemo iz erlemajerice v 600 ml čašo. Erlemajerico dvakrat izplaknemo, pri čemer vsakokrat uporabimo 5 ml vode, in nato nadaljujemo v skladu z gornjim opisom.

Mezovinsko kislino izračunamo in vključimo kot vinsko kislino v končni rezultat.

2.1.3 *Izražanje rezultatov*

Ena molekula kalcijevega ($\pm$) tartrata ustreza polovici molekule L(+) vinske kisline v vinu.

Količina vinske kisline na liter vina, izražena v tisočinkah enote, je enaka 384,5 p.

Izrazimo jo na eno decimalno mesto natančno.

Količina vinske kisline na liter vina, izražena v gramih vinske kisline, je enaka 28,84 p.

Izrazimo jo na eno decimalno mesto natančno.

Količina vinske kisline na liter vina, izražena v gramih tartrata kalijeve kisline, je enaka 36,15 p.

Izrazimo jo na eno decimalno mesto natančno.

2.2 Primerjalna volumetrična analiza

2.2.1 Reagenti

2.2.1.1 Klorovodikova kislina (HCl) (1 : 5 v/v) ($\rho_{20} = 1,18$ do $1,19$ g/ml)

2.2.1.2 Raztopina EDTA, 0,05 M:

EDTA (dinatrijeva sol etilendiamintetraocetne kisline:

($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$)	18,61 g
destilirana voda do	1 000 ml

2.2.1.3 40 % (m/v) raztopina natrijevega hidroksida:

natrijev hidroksid (NaOH)	40 g
destilirana voda do	100 ml

2.2.1.4 Kompleksometrični indikator: 1 % (m/m)

2-hidroksi-1-(2-hidroksi-4-sulfo-1-naftilazo)-3-naftoična kislina ($C_{21}H_{14}N_2O_7S \cdot 3H_2O$)	1 g
brezvodni natrijev sulfat (Na_2SO_4)	100 g

2.2.2 Postopek

Po tehtanju zamenjamo talilni lonček iz sintranega stekla, ki vsebuje oborino kalcijevega ($\pm$) tartrata, z vakuumsko bučko in oborino raztopimo z 10 ml razredčene klorovodikove kisline (2.2.1.1). Talilni lonček iz sintranega stekla izplaknemo s 50 ml destilirane vode.

Dodamo 5 ml 40 % raztopine natrijevega hidroksida (2.2.1.3) in približno 30 mg indikatorja (2.2.1.4). Titriramo z 0,05 M EDTA (2.2.1.2). Število uporabljenih ml označimo z n .

2.2.3 Izražanje rezultatov

Količina vinske kisline na liter vina, izražena v tisočinkah enote, je enaka $5 n$.

Izrazimo jo na eno decimalno mesto natančno.

Količina vinske kisline na liter vina, izražena v gramih vinske kisline, je enaka $0,375 n$.

Izrazimo jo na eno decimalno mesto natančno.

Količina vinske kisline na liter vina, izražena v gramih tartrata kalijeve kisline, je enaka $0,470 n$.

Izrazimo jo na eno decimalno mesto natančno.

3. OBIČAJNA METODA

3.1 Reagenti

3.1.1 Za poprejšnjo obdelavo vina

3.1.1.1 Ocetna kislina (CH_3COOH ; $\rho_{20} = 1,05$ g/ml), razredčena 30 % (v/v).

3.1.1.2 Močno bazična ionska izmenjalna smola (npr. anionska izmenjalna smola Merck 20-50 s stopnjo bazičnosti mesha III) v acetatni obliki. Pripravimo suspenzijo ionske izmenjalne smole (približno 100 g)

v 200 ml 30 % očetne kisline (3.1.1.1). Pred uporabo ju vsaj 24 ur pustimo, da medsebojno učinkujeta. Ionsko izmenjalno smolo pustimo v 30 % očetni kislini za poznejše določitve.

3.1.1.3 Očetna kislina (CH_3COOH ; $\rho_{20} = 1,05 \text{ g/ml}$), razredčena 0,5 % (v/v).

3.1.1.4 Raztopina natrijevega sulfata 7,1 g na 100 ml (0,5 M)

V destilirani vodi raztopimo 71 g brezvodnega natrijevega sulfata (Na_2SO_4) in dopolnimo z destilirano vodo do 1 000 ml.

3.1.2 *Za določitev vinske kisline*

3.1.2.1 Raztopina natrijevega acetata ($\text{CH}_3\text{CO Na}$) 27 % (m/v):

Raztopimo 270 g brezvodnega natrijevega acetata (CH_3COONa) v destilirani vodi in dopolnimo do 1 000 ml.

3.1.2.2 Vanadijev reagent:

Raztopimo 10 g amonijevega metavanadata (NH_4VO_3) v 150 ml 1 M raztopini natrijevega hidroksida (3.1.2.10). Raztopino prelijemo v 500 ml merilno bučko in dodamo 200 ml 27 % raztopine natrijevega acetata (3.1.2.1). Dopolnimo do 500 ml z destilirano vodo.

3.1.2.3 1 M raztopina H_2SO_4

3.1.2.4 0,5 M raztopina H_2SO_4

3.1.2.5 0,05 M raztopina H_2SO_4

3.1.2.6 0,05 M raztopina periodične kisline:

V 1 000 ml merilno bučko nalijemo 10,696 g natrijevega periodata, NaIO_4 , in 50 ml 0,5 M žveplove kisline (3.1.2.4) ter dopolnimo do 1 000 ml z destilirano vodo.

3.1.2.7. Raztopina glicerola, 10 % (m/v):

V 100 ml merilno bučko nalijemo 10 g glicerola, $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$, in dopolnimo do 100 ml z destilirano vodo.

3.1.2.8 Raztopina natrijevega sulfata, 7,1 g na 100 ml (glej 3.1.1.4).

3.1.2.9 Raztopina vinske kisline, 1 g/l:

V 500 ml merilno bučko nalijemo 0,5 g vinske kisline in 6,66 ml 1 M raztopine natrijevega hidroksida (3.1.2.10) ter dopolnimo do 500 ml s 7,1 % raztopino natrijevega sulfata (3.1.1.4).

3.1.2.10 Raztopina natrijevega hidroksida, NaOH , 1 M.

3.2 **Aparature**

3.2.1 Steklena kolona z notranjim premerom 10 do 11 mm, dolga približno 300 mm, na kateri je odvod.

3.2.2 Spektrofotometer za merjenje absorpcije pri valovni dolžini 490 nm, s celicami z 10 mm optično potjo.

3.3 **Postopek**

3.3.1 *Priprava ionske izmenjalne kolone*

Zamašek iz steklene volne namestimo v stekleno kolono nad odvodom (3.2.1). Zamašek prepojimo z destilirano vodo. V kolono nalijemo 10 ml suspenzije ionske izmenjalne smole v acetatni obliki (3.1.1.2). Pustimo, da se ustali. Zamašek iz steklene volne postavimo na vrh smole (s čimer preprečimo stik z drugimi sestavinami pri poznejšem izpiranju).

Ionsko izmenjalno smolo lahko uporabimo le za en postopek.

3.3.2 *Ločevanje organskih kislin*

Odvod odmašimo in pustimo, da raztopina očetne kisline steče v kolono do višine približno 2 do 3 mm od zgornjega zamaška iz steklene volne.

Dodamo 10 ml 0,5 % raztopine očetne kisline (3.1.1.3) in pustimo, da tekočina spet steče v kolono do enake ravni kakor pri prejšnjem postopku. Ta postopek izpiranja ponovimo še štirikrat.

Po zadnjem izpiranju zamašimo odvod in nalijemo 10 ml vina ali mošta na ionsko izmenjalno smolo. Pustimo, da kaplja (s povprečno hitrostjo ena kaplja na sekundo) in kapljanje zaustavimo nekoliko nad ionsko izmenjalno smolo. V kolono ponovno dodamo 10 ml 0,5 % raztopine očetne kisline (3.1.1.3), pustimo, da izkaplja z enako hitrostjo kakor prej, in nato izperemo sedemkrat na enak način, pri čemer vsakič uporabimo 10 ml vode. Med zadnjim izpiranjem zapremo odvod takoj, ko je raven tekočine neposredno nad zgornjim zamaškom iz steklene volne.

S 7,1 % raztopino natrijevega sulfata (3.1.1.4) lužimo kislino, absorbirano v ionski izmenjalni smoli. Izlužek zberemo v 100 ml merilni bučki do umeritvene oznake.

3.3.3 *Določitev vinske kisline*

3.3.3.1 *Vina brez dodane mezovinske kisline*

V dve erlenmajerici *a* in *b* nalijemo 20 ml izlužka.

Erlenmajerico *a* potrebujemo za določitev, erlenmajerico *b*, v kateri je bila vinska kislina uničena s periodično kislino, pa za slepi poskus.

V erlenmajerico *a* damo:

- 2 ml $\text{M H}_2\text{SO}_4$ (3.1.2.3),
- 5 ml 0,05 M H_2SO_4 (3.1.2.5),
- 1 ml 10 % glicerola (3.1.2.7).

V erlenmajerico *b* damo:

- 2 ml $\text{M H}_2\text{SO}_4$ (3.1.2.3),
- 5 ml 0,05 M raztopine periodične kisline (3.1.2.6).

Počakamo 15 minut; dodamo

1 ml 10 % glicerola (3.1.2.7), s katerim uničimo odvečno periodično kislino.

Počakamo dve minuti.

Nato med mešanjem odpipetiramo 5 ml vanadijevega reagenta (3.1.2.2) najprej v erlenmajerico *b* in takoj zatem v erlenmajerico *a*. Takoj sprožimo časovnik in vsebino iz erlenmajeric *a* in *b* prelijemo v celice spektrofotometra. Po 90 sekundah zabeležimo absorpcijo pri 490 nm tekočine iz erlenmajerice *a* (določitev) glede na tekočino *b* (slepi poskus).

Raztopine, ki vsebujejo visoke ravni vinske kisline in dajejo absorpcije nad najvišjim standardom, moramo razredčiti s 7,1 % natrijevim sulfatom in nato izmeriti po enakem postopku kakor prej.

3.3.3.2 Vina z dodano mezovinsko kislino

Pri analizi vin, katerim je bila dodana mezovinska kislina ali le sumimo, da je bila dodana, to kislino najprej hidroliziramo po postopku, opisanem pri referenčni metodi.

Po ohlajanju vsebino erlenmajerice nalijemo na vrh ionske izmenjalne kolone, zatem pa dolijemo vodo za izpiranje (5 ml, dvakrat). Nadaljujemo po zgoraj opisanem postopku.

Mezovinska kislina je v končni rezultat vključena kot vinska kislina.

3.3.4 Izris umeritvene krivulje

V umerjene 100 ml bučke odpipetiramo po 10, 20, 30, 40 in 50 ml 1 g/l raztopine vinske kisline (3.1.2.9) in dopolnimo do 100 ml s 7,1 % raztopino natrijevega sulfata (3.1.1.4). Koncentracije teh raztopin ustrezajo vinskim izlužkom, ki vsebujejo po 1, 2, 3, 4 in 5 g/l vinske kisline.

V dve erlenmajerici *a* in *b* nalijemo 20 ml teh raztopin in nadaljujemo po zgoraj opisanem postopku za vinski izlužek.

Grafični prikaz absorpcij teh raztopin kot funkcija koncentracije vinske kisline v njih je ravna črta, ki se rahlo krivi navznoter proti koordinatnemu izhodišču. Po potrebi ta del krivulje izrišemo bolj pazljivo, za kar uporabimo določitve za raztopine z natančno opredeljenimi koncentracijami pod 1,0 g/l.

3.3.5 Izražanje rezultatov

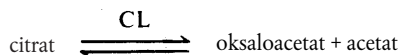
Absorpcija, merjena za izlužek, je prikazana na umeritveni krivulji in daje koncentracijo vinske kisline v vinu v gramih na liter.

Rezultat izrazimo na eno decimalno mesto natančno.

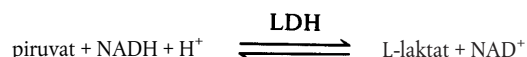
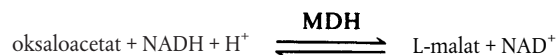
17. CITRONSKA KISLINA

1. PRINCIP METODE

V reakciji, ki jo katalizira encim citrat liaza (CL), se citronska kislina pretvori v oksaloacetat in acetat:



V navzočnosti malat dehidrogenaze (MDH) in laktat dehidrogenaze (LDH) se oksaloacetat in njegov dekarboksilacijski derivat, piruvat, reducirata z reducirano obliko nikotinamid adenin dinukleotida (NADH) v L-malat in L-laktat:



Pri teh reakcijah je količina NADH, ki se oksidira v NAD^+ , sorazmerna s količino navzočega citrata. Oksidacija NADH se določi z zmanjšanjem absorpcije pri valovni dolžini 340 nm.

2. REAGENTI

2.1 Puferska raztopina pH 7,8.

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

7,13 g glicilglicina raztopimo v približno 70 ml dvakrat destilirane vode.

pH uravnamo na 7,8 s približno 13 ml 5 M raztopine natrijevega hidroksida, dodamo 10 ml raztopine cinkovega klorida (80 mg ZnCl_2 v 100 ml H_2O) in dopolnimo z dvakrat destilirano vodo do 100 ml.

2.2 Raztopina reduciranega nikotinamid adenin dinukleotida (NADH) (približno 6×10^{-3} M): 30 mg NADH in 60 mg NaHCO_3 raztopimo v 6 ml dvakrat destilirane vode.

2.3 Raztopina malat dehidrogenaze/laktat dehidrogenaze (MDH/LDH, 0,5 mg MDH/ml, 2,5 mg LDH/ml): zmešamo 0,1 ml MDH (5 mg MDH/ml), 0,4 ml raztopine amonijevega sulfata (3,2 M in 0,5 ml LDH (5 mg/ml). Pri 4 °C je ta suspenzija stabilna najmanj eno leto.

2.4 Citrat liaza (CL, 5 mg protein/ml): 168 mg liofilizata raztopimo v 1 ml ledeno mrzle vode. Ta raztopina pri 4 °C ostane stabilna najmanj en teden, če jo zamrzujemo, pa najmanj štiri tedne.

Pred določanjem je priporočljivo preveriti aktivnost encimov.

2.5 Polivinilpolipirrolidon (PVPP)

Opomba: Vsi zgoraj navedeni reagenti so na voljo na trgu.

3. APARATURE

3.1 Spektrofotometer, ki omogoča meritve pri 340 nm, pri valovni dolžini namreč, pri kateri je absorpcija NADH največja.

Lahko pa uporabimo tudi spektrofotometer z nekontinuiranim spektrom, ki omogoča meritve pri 334 nm ali 365 nm.

Ker merimo absolutno absorpcijo (tj. ne uporabljamo umeritvenih krivulj), ampak opravimo standardizacijo z upoštevanjem ekstrakcijskega koeficienta NADH), moramo preveriti lestvice valovnih dolžin in spektralno absorpcijo aparature.

3.2 Steklene celice z dolžino optične poti 1 cm ali plastične celice za enkratno uporabo.

3.3 Mikropipete za dodajanje količin v območju prostornin od 0,02 do 2 ml.

4. PRIPRAVA VZORCA

Določitev citrata se navadno izvede neposredno v vinu brez poprejšnje odstranitve pigmentacije (barvil) in brez razredčevanja, če je vsebnost citronske kisline manjša od 400 mg/l. Če je večja, vino razredčimo, dokler koncentracija citrata ni od 20 do 400 mg/l (tj. od 5 in 80 µg citrata v testnem vzorcu).

Pri rdečih vinih, ki vsebujejo veliko fenolnih spojin, se priporoča poprejšnja obdelava s PVPP:

Napravimo vodno suspenzijo približno 0,2 g PVPP in pustimo stati 15 minut. Prefiltriramo prek nagubanega filter papirja.

V 50 ml erlenmajerico nalijemo 10 ml vina in dodamo vlažen PVPP, ki ga s filtra odstranimo s spatulo. Stresamo dve do tri minute. Filtriramo.

5. POSTOPEK

S spektrofotometrom pri valovni dolžini 340 nm določimo absorpcijo na 1 cm celicah, pri čemer zrak uporabljamo kot slepi vzorec za (referenčno) absorpcijo (na optični poti ni nobene celice). V 1 cm celico damo naslednje:

	referenčna celica (ml)	vzorčna celica (ml)
raztopina 2.1	1,00	1,00
raztopina 2.2	0,10	0,10
vzorec za meritev	—	0,20
dvakrat destilirana voda	2,00	1,80
raztopina 2.3	0,02	0,02

Mešamo in po približno petih minutah odčitamo absorpcijo raztopin v referenčni in vzorčni celici (A_1).

Dodamo:

raztopina 2.4	0,02 ml	0,02 ml
---------------	---------	---------

Mešamo; počakamo, dokler se reakcija ne konča (okrog pet minut), in odčitamo absorpcije raztopin v referenčni in vzorčni celici (A_2).

Izračunamo razliko absorpcij ($A_2 - A_1$) za referenčno celico in celico z vzorcem in dobimo ΔA_R in ΔA_S .

Na koncu izračunamo razliko med temi razlikami:

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

Opomba: Čas, ki je potreben, da se konča aktivnost encimov, se lahko od ene serije do druge razlikuje. Zgornja vrednost je samo napotek in jo je priporočljivo določiti za vsako posamezno serijo.

6. IZRAŽANJE REZULTATOV

Koncentracija citronske kisline je izražena v miligramih na liter, zaokrožena na najbližje celo število.

6.1 Izračun

Splošna formula za izračun koncentracije v mg/l je:

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

pri čemer je V = prostornina testne raztopine v ml (tukaj 3,14 ml)

v = prostornina vzorca v ml (tukaj 0,2 ml)

M = molekulska masa snovi, ki jo določamo

(tukaj $M = 192,1$ za brezvodno citronsko kislino)

d = dolžina optične poti v celici v cm (tukaj 1 cm)

ϵ = absorpcijski koeficient NADH (pri 340 nm, $\epsilon = 6,3 \text{ mmol}^{-1} \times \text{l} \times \text{cm}^{-1}$),

zato je

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

Če je bil vzorec med pripravo razredčen, rezultat pomnožimo s faktorjem razredčitve.

Opomba:

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

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

6.2 **Ponovljivost (r)**

Koncentracija citronske kisline, manjša od 400 mg/l: $r = 14 \text{ mg/l}$.

Koncentracija citronske kisline, večja od 400 mg/l: $r = 28 \text{ mg/l}$.

6.3 **Obnovljivost (R)**

Koncentracija citronske kisline, manjša od 400 mg/l: $R = 39 \text{ mg/l}$.

Koncentracija citronske kisline, večja od 400 mg/l: $R = 65 \text{ mg/l}$.

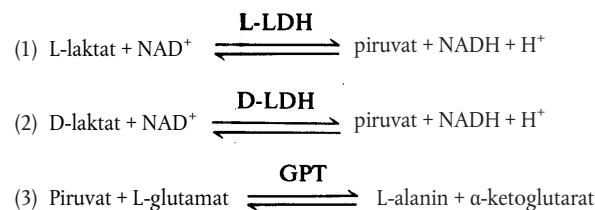
18. MLEČNA KISLINA

1. PRINCIP METODE

Skupna mlečna kislina (L-laktat in D-laktat) zaradi nikotinamid adenin dinukleotida (NAD) pri reakciji, ki jo katalizirata L-laktat dehidrogenaza (L-LDH) in D-laktat dehidrogenaza (D-LDH), oksidira v piruvat.

Pri reakciji se ravnovesje nagiba bolj k laktatu. Če odstranimo piruvat iz reakcijske mešanice, se ravnovesje nagne k formaciji piruvata.

V navzočnosti L-glutamata pri reakciji, ki jo katalizira glutamat piruvat transaminaza (GPT), piruvat preide v L-alanin:



Količina dobljenega NADH, merjena z zvišanjem absorpcije pri valovni dolžini 340 nm, je sorazmerna s količino že sprva navzočega laktata.

Opomba:

L-mlečno kislino lahko določimo neodvisno z uporabo reakcij (1) in (3); podobno lahko določimo tudi D-mlečno kislino z uporabo reakcij (2) in (3).

1.2 Običajna metoda

Mlečna kislina, ki se loči ob prehajanju skozi kolono z ionsko izmenjalno smolo, oksidira v etanal in jo s kolorimetrijo določimo šele, ko reagira z natrijevim nitroprusidom in piperidinom.

2. REFERENČNA METODA

2.1 Reagenti

2.1.1 Puferska raztopina, pH 10 (glicilglicin 0,6 mol/l; L-glutamat 0,1 mol/l):

4,75 g glicilglicina in 0,88 g L-glutamične kisline raztopimo v približno 50 ml dvakrat destilirane vode; pH prilagodimo na 10 z nekaj mililitri 10 M natrijevega hidroksida in dopolnimo do 60 ml z dvakrat destilirano vodo.

Pri 4 °C je ta raztopina stabilna najmanj 12 tednov.

2.1.2 Raztopina nikotinamid adenin dinukleotida (NAD), približno 40×10^{-3} M: 900 mg NAD raztopimo v 30 ml dvakrat destilirane vode. Pri 4 °C je ta raztopina stabilna najmanj 4 tedne.

2.1.3 Suspenzija glutamat piruvat transaminaze (GPT), 20 mg/ml. Pri 4 °C je ta suspenzija stabilna najmanj 1 leto.

2.1.4 Suspenzija L-laktat dehidrogenaze (L-LDH), 5 mg/ml. Pri 4 °C je ta suspenzija stabilna najmanj 1 leto.

2.1.5 Suspenzija D-laktat dehidrogenaze (D-LDH), 5 mg/ml. Pri 4 °C je ta suspenzija stabilna najmanj 1 leto.

Pred določanjem je priporočljivo preveriti aktivnost encimov.

Opomba: Vsi reagenti so na voljo na trgu.

2.2 Aparature

- 2.2.1 Spektrofotometer, ki omogoča meritve pri 340 nm, pri valovni dolžini namreč, pri kateri je absorpcija NADH največja.

Lahko pa uporabimo tudi spektrofotometer z nekontinuiranim spektrom, ki omogoča meritve pri 334 nm ali 365 nm.

Ker merimo absolutno absorpcijo (tj. ne uporabljamo umeritvenih krivulj, ampak opravimo standardizacijo z upoštevanjem ekstrakcijskega koeficienta NADH), moramo preveriti lestvice valovnih dolžin in spektralno absorpcijo aparature.

- 2.2.2 Steklene celice z dolžino optične poti 1 cm ali plastične celice za enkratno uporabo.

- 2.2.3 Mikropipete za dodajanje količin v območju prostornin od 0,02 do 2 ml.

2.3 Priprava vzorca

Uvodna opomba: Nobenega dela steklene opreme, ki pride v stik z reakcijsko mešanico, se ne smemo dotikati s prsti, ker bi s tem lahko vnesli L-mlečno kislino in bi bili zato rezultati napačni.

Določitev laktata se navadno izvede neposredno v vinu brez poprejšnje odstranitve pigmentacije (barvil) in brez razredčevanja, če je koncentracija mlečne kisline manjša od 100 mg/l. Če pa je koncentracija mlečne kisline med:

- 100 mg/l in 1 g/l, razredčimo 1/10 z dvakrat destilirano vodo,
- 1 g/l in 2,5 g/l, razredčimo 1/25 z dvakrat destilirano vodo,
- 2,5 g/l in 5 g/l, razredčimo 1/50 z dvakrat destilirano vodo.

2.4 Postopek

2.4.1 Določitev skupne mlečne kisline

Preden začnemo merjenje, mora biti temperatura puferske raztopine med 20 °C in 25 °C.

S spektrofotometrom pri valovni dolžini 340 nm določimo absorpcijo na celicah z optično potjo 1 cm, pri čemer uporabljamo zrak kot slepi vzorec za (referenčno) absorpcijo (na optični poti ni nobene celice) ali vodo kot standard.

V celice z optično potjo 1 cm damo naslednje:

	referenčna celica (ml)	vzorčna celica (ml)
raztopina 2.1.1	1,00	1,00
raztopina 2.1.2	0,20	0,20
dvakrat destilirana voda	1,00	0,80
suspensija 2.1.3	0,02	0,02
vzorec za meritev	—	0,20

Mešamo s steklenim mešalom ali palčko iz umetne snovi s sploščeno konico; po približno petih minutah odčitamo absorpcijo raztopin v referenčni in vzorčni celici (A_1).

Dodamo 0,02 ml raztopine 2.1.4 in 0,05 ml raztopine 2.1.5, homogeniziramo, počakamo, dokler se reakcija ne konča (približno 30 minut), in odčitamo absorpcijo raztopin v referenčni in vzorčni celici (A_2).

Izračunamo razliko ($A_2 - A_1$) med absorpcijami raztopin v referenčni in vzorčni celici in dobimo ΔA_R in ΔA_S .

Na koncu izračunamo razliko med temi razlikami:

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

2.4.2 Določitev L-mlečne kisline in D-mlečne kisline

Določitev L-mlečne kisline in D-mlečne kisline lahko izvedemo z neodvisnim postopkom, ki ga uporabljamo za določitev skupne mlečne kisline, dokler ne dobimo A_1 , nato pa nadaljujemo:

Dodamo 0,02 ml raztopine iz 2.1.4, homogeniziramo, počakamo, dokler ni reakcija končana (približno 20 minut), in izmerimo absorpcijo raztopin v referenčni in vzorčni celici (A_2).

Dodamo 0,05 ml raztopine iz 2.1.5, homogeniziramo, počakamo, dokler reakcija ni končana (približno 30 minut), in izmerimo absorpcijo raztopin v referenčni in vzorčni celici (A_3).

Izračunamo razliki ($A_2 - A_1$) za L-mlečno kislino in ($A_3 - A_2$) za D-mlečno kislino med absorpcijo raztopin v referenčni in vzorčni celici, ΔA_R in ΔA_S .

Na koncu izračunamo razliko med temi razlikami:

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

Opomba:

Čas, ki je potreben, da se encimsko delovanje konča, se lahko od ene serije do druge razlikuje. Gornja vrednost je dana le kot napotek, priporočamo pa, da se določi za vsako serijo posebej. Ko določamo samo L-mlečno kislino, se lahko inkubacijski čas zmanjša na 10 minut.

2.5 Izražanje rezultatov

Koncentracijo mlečne kisline izrazimo v gramih na liter na eno decimalno mesto natančno.

2.5.1 Izračun

Splošna formula za izračun koncentracije v g/l je:

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

pri čemer je

V = prostornina testne raztopine v ml ($V = 2,24$ ml za L-mlečno kislino, $V = 2,29$ ml za D-mlečno kislino in skupno mlečno kislino)

v = prostornina vzorca v ml (tukaj 0,2 ml)

M = molekulska masa snovi, ki jo določamo (tukaj je za DL-mlečno kislino $M = 90,08$)

d = optična pot v celici v cm (tukaj 1 cm)

ϵ = absorpcijski koeficient NADH (pri 340 nm, $\epsilon = 6,3 \text{ mmol}^{-1} \times \text{l} \times \text{cm}^{-1}$).

2.5.1.1 Skupna mlečna kislina in D-mlečna kislina

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

Če vzorec med pripravo razredčimo, moramo rezultat pomnožiti s faktorjem redčenja.

Opomba:

Meritev pri 334 nm: $C = 0,167 \times \Delta A$ ($\epsilon = 6,2 \text{ m mol}^{-1} \times \text{l} \times \text{cm}^{-1}$).

Meritev pri 365 nm: $C = 0,303 \times \Delta A$ ($\epsilon = 3,4 \text{ m mol}^{-1} \times \text{l} \times \text{cm}^{-1}$).

2.5.1.2 L-mlečna kislina

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

Če vzorec med pripravo razredčimo, moramo rezultat pomnožiti s faktorjem redčenja.

Opomba:

Meritev pri 334 nm: $C = 0,163 \Delta A$, ($\epsilon = 6,2 \text{ m mol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1}$).

Meritev pri 365 nm: $C = 0,297 \Delta A$, ($\epsilon = 3,4 \text{ m mol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1}$).

2.5.2 Ponovljivost (r)

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

x_i je koncentracija mlečne kisline v vzorcu v g/l.

2.5.3 Obnovljivost (R)

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

x_i je koncentracija mlečne kisline v vzorcu v g/l.

3. OBIČAJNA METODA

3.1.1 Za poprejšnjo obdelavo vina

Za določitev mlečne kisline glej poglavje „Vinska kislina“, običajna metoda, oddelek 3.1.1.

3.1.2 Za določitev mlečne kisline

3.1.2.1 0,1 M raztopina cerijevega (IV) sulfata in 0,35 M žveplove kisline:

Raztopino ohranjamo hladno, raztopimo 40,431 g cerijevega (IV) sulfata, $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, v 350 ml natančno izmerjene 1 M raztopine žveplove kisline (3.1.2.4). Dopolnimo z destilirano vodo do 1 000 ml.

3.1.2.2 2,5 M raztopina natrijevega hidroksida (NaOH).

3.1.2.3 Raztopina natrijevega acetata, 270 g na liter (pripravljena iz suhega natrijevega acetata, CH_3COONa).3.1.2.4 1 M žveplova kislina, H_2SO_4 .3.1.2.5 2 % (m/v) raztopina natrijevega nitroprusida ($\text{Na}_2\text{FeNO}(\text{CN})_5 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

Hranimo na temnem v dobro zamašeni steklenici.

Raztopine ne hranimo dlje kakor osem ur.

3.1.2.6 10 % (v/v) raztopina piperidina ($\text{C}_5\text{H}_{11}\text{N}$).

3.1.2.7 1 M raztopina mlečne kisline:

100 ml mlečne kisline ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$) razredčimo s 400 ml vode. To raztopino segrevamo v izparilni posodi nad vrelo vodno kopeljo štiri ure in jo občasno dopolnimo z destilirano vodo. Ko se ohladi, dopolnimo do enega litra. Mlečno kislino titriramo v 10 ml te raztopine z 1 M raztopino natrijevega hidroksida (3.1.2.8). Raztopino prilagodimo na 1 M mlečno kislino (90 g).

3.1.2.8 1 M raztopina natrijevega hidroksida (NaOH).

3.2 Aparature

- 3.2.1 Steklena kolona z notranjim premerom 10 do 11 mm, dolga približno 300 mm, na kateri je odvod za regulacijo pretoka.
- 3.2.2 Vodna kopel s stalno temperaturo 65 °C.
- 3.2.3 Spektrofotometer za merjenje absorpcije pri valovni dolžini 570 nm, s celicami z 1 cm optično potjo.

3.3 Postopek

3.3.1 Priprava ionske izmenjalne kolone

Glej poglavje „Vinska kislina“, običajna metoda, oddelek 3.3.1.

3.3.2 Ločevanje organskih kislin

Glej poglavje „Vinska kislina“, običajna metoda, oddelek 3.3.2.

3.3.3 Določitev mlečne kisline

V 50 ml stekleno epruveto, ki ima zamašek z obrusom, nalijemo 10 ml izlužka in dodamo 10 ml raztopine cerijevega sulfata (3.1.2.1). Mešamo; epruveto postavimo v vodno kopel s stalno temperaturo 65 °C za natanko 10 minut. Ko epruveto potopimo v vodno kopel, za nekaj sekund odstranimo zamašek, da sprostimo povečani pritisk zaradi segrevanja, nato epruveto tesno zamašimo in pazimo, da ne izgubimo niti najmanjše količine nastalega etanala (acetaldehida). Epruveto vzamemo iz vodne kopeli in jo ohladimo pod tekočo vodo, tako da njena temperatura pade na približno 20 °C. Dodamo 5 ml 2,5 M raztopine natrijevega hidroksida (3.1.2.2), zmešamo in filtriramo.

Vzamemo 15 ml filtrata in ga zlijemo v 50 ml bučko z zamaškom, ki že vsebuje homogeno mešanico iz 5 ml 27 % raztopine natrijevega acetata (3.1.2.3) in 2 ml 1 M žveplove kisline (3.1.2.4). Dodamo 5 ml raztopine natrijevega nitroprusida (3.1.2.5), zmešamo, nato dodamo še 5 ml raztopine piperidina (3.1.2.6), hitro premešamo in to raztopino takoj vnesemo v celico spektrofotometra. Nastalo obarvanje je lahko od zelene barve do vijolične, merimo pa ga pri 570 nm glede na zrak (brez celice v optični poti): najprej se povečuje, potem se hitro zmanjša.

Glede na ustrezne spremembe v absorpciji izberemo največjo vrednost kot dokončno vrednost.

Če izlužek vsebuje preveč mlečne kisline in je absorpcija prevelika, izlužek razredčimo s 7,1 % raztopino natrijevega sulfata (3.1.1) in nadaljujemo merjenje razredčene raztopine.

3.3.4 Izris umeritvene krivulje

10 ml 1 M raztopine mlečne kisline (3.1.2.7) in 10 ml titrirane 1 M raztopine natrijevega hidroksida (3.1.2.8) odpipetiramo v 1 000 ml merilno bučko in dopolnimo do oznake s 7,1 % raztopino natrijevega sulfata. Vzamemo po 5, 10, 15, 20 in 25 ml te raztopine in jih nalijemo v 100 ml merilne bučke. Dopolnimo do referenčne oznake s 7,1 % (3.1.1) raztopino natrijevega sulfata. Vzamemo po 10 ml vsake od nastalih raztopin in po postopku, opisanem v 3.3.3 za izlužek, določimo njihovo absorpcijo.

Koncentracije teh raztopin ustrezajo izlužkom vina, ki vsebujejo po 0,45, 0,9, 1,35, 1,80 in 2,25 g/l mlečne kisline.

Graf absorpcije teh raztopin kot funkcija njihovih koncentracij mlečne kisline je ravna črta.

3.4 Izražanje rezultatov

Absorpcija, merjena za izlužek, je izražena z umeritveno krivuljo in prikazuje koncentracijo mlečne kisline v vinu v gramih na liter.

Rezultat izrazimo na eno decimalno mesto natančno.

Opomba:

Vina, ki vsebujejo več kakor 250 mg/l žveplovega dioksida, lahko vsebujejo etanalsulfonično kislino, ki je vključena v vsebnost mlečne kisline. V tem primeru je treba rezultat korigirati s količino, ki jo dobimo po naslednjem dodatnem postopku: v zamašeni epruveti zmešamo 15 ml izlužka s 5 ml 27 % natrijevega acetata (3.1.2.3) in 2 ml 0,775 H₂SO₄ (775 ml 1 M H₂SO₄ dopolnimo do 100 ml z destilirano vodo). Nato, enako kakor pri določitvi mlečne kisline, dodamo 5 ml 2 % natrijevega nitroprusida (3.1.2.5) in 5 ml 10 % (3.1.1.6) piperidina. Po mešanju izmerimo absorpcijo pod enakimi pogoji, kakor so opisani za določitev mlečne kisline. To absorpcijo določimo na umeritveni krivulji, da dobimo navidezno vrednost *B* mlečne kisline v gramih na liter zaradi etanalsulfonične kisline. Če je *L'* navidezna koncentracija mlečne kisline v vinu v gramih na liter, pravo koncentracijo *L* mlečne kisline dobimo s formulo:

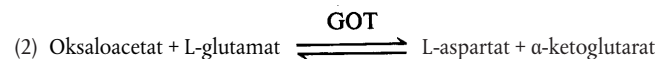
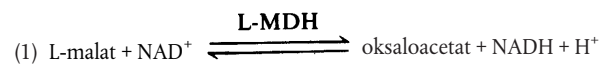
$$L = L' - B \times 0,4 \text{ (g/l)}$$

19. L-JABOLČNA KISLINA

1. PRINCIP METODE

L-jabolčna kislina (L-malat) se z nikotinamid adenin dinukleotidom (NAD) oksidira v oksaloacetat v reakciji, ki jo katalizira L-malat dehidrogenaza (L-MDH).

Ravnovesje reakcije se navadno precej nagne v prid malata. Odstranitev oksaloacetata iz reakcijske mešanice premakne ravnovesje proti izoblikovanju oksaloacetata. V navzočnosti L-glutamata se oksaloacetat pretvori v L-aspartat v reakciji, ki jo katalizira glutamat oksaloacetat transaminaza (GOT):



Količina nastalega NADH, merjena s porastom absorpcije pri valovni dolžini 340 nm, je sorazmerna s količino že sprva navzočega L-malata.

2. REAGENTI

2.1 Puferska raztopina, pH 10

(glicilglicin 0,6 M; L-glutamat 0,1 M):

4,75 g glicilglicina in 0,88 g L-glutamične kisline raztopimo v približno 50 ml dvakrat destilirane vode; prilagodimo pH na 10 s približno 4,6 ml 10 M natrijevega hidroksida in dopolnimo do 60 ml z dvakrat destilirano vodo.

Pri 4 °C je ta raztopina stabilna najmanj 12 tednov.

2.2 Raztopina nikotinamid adenin dinukleotida (NAD), približno 47×10^{-3} M:

420 mg NAD raztopimo v 12 ml dvakrat destilirane vode. Pri 4 °C je ta raztopina stabilna najmanj 4 tedne.

2.3 Suspenzija glutamat oksaloacetat transaminaze (GOT), 2 mg/ml. Pri 4 °C je ta raztopina stabilna najmanj eno leto.

2.4 Raztopina L-malat dehidrogenaze (L-MDH), 5 mg/ml. Pri 4 °C je ta raztopina stabilna najmanj eno leto.

Opomba: Vsi zgoraj navedeni reagenti so na voljo na trgu.

3. APARATURE

3.1 Spektrofotometer, ki omogoča meritve pri 340 nm, pri valovni dolžini namreč, pri kateri je absorpcija NADH največja.

Lahko pa uporabimo tudi spektrofotometer z nekontinuiranim spektrom, ki omogoča meritve pri 334 nm ali 365 nm.

Ker merimo absolutno absorpcijo (tj. ne uporabljamo umeritvenih krivulj, ampak opravimo standardizacijo z upoštevanjem ekstrakcijskega koeficienta NADH), moramo preveriti lestvice valovnih dolžin in spektralno absorpcijo aparature.

3.2 Steklene celice z dolžino optične poti 1 cm ali plastične celice za enkratno uporabo.

3.3 Mikropipete za dodajanje količin v območju prostornin od 0,01 do 2 ml.

4. PRIPRAVA VZORCA

Določitev L-malata se navadno izvede neposredno v vinu brez poprejšnje odstranitve pigmentacije (barvil) in brez razredčevanja, če je vsebnost L-jabolčne kisline manjša od 350 mg/l (merjeno pri 365 mg/l). Če je večja, vino razredčimo z dvakrat destilirano vodo, dokler koncentracija L-malata ni med 30 in 350 mg/l (tj. količina L-malata v testnem vzorcu je med 3 in 35 µg).

Če je koncentracija malata v vinu manjša od 30 mg/l, lahko prostornino testnega vzorca povečamo do 1 ml. V tem primeru prostornino dodane vode zmanjšamo za toliko, da sta skupni prostornini v obeh celicah enaki.

5. POSTOPEK

S spektrofotometrom pri valovni dolžini 340 nm določimo absorpcijo na celicah z optično potjo 1 cm, pri čemer uporabljamo zrak kot slepi vzorec za referenčno absorpcijo (na optični poti ni nobene celice) ali vodo kot standard.

V celice z optično potjo 1 cm damo:

	referenčna celica (ml)	vzorčna celica (ml)
raztopina 2.1	1,00	1,00
raztopina 2.2	0,20	0,20
dvakrat destilirana voda	1,00	0,90
suspenzija 2.3	0,01	0,01
vzorec za meritev	—	0,10

Mešamo; po približno treh minutah odčitamo absorpcijo raztopin v referenčni in vzorčni celici (A_1).

Dodamo:

raztopina 2.4	0,01 ml	0,01 ml
---------------	---------	---------

Mešamo; počakamo, dokler se reakcija ne konča (približno 5 do 10 minut), in odčitamo absorpcijo raztopin v referenčni in vzorčni celici (A_2).

Izračunamo razliko ($A_2 - A_1$) med absorpcijami raztopin v referenčni in vzorčni celici in dobimo ΔA_R in ΔA_S .

Na koncu izračunamo razliko med temi razlikami: $\Delta A = \Delta A_S - \Delta A_R$

Opomba: Čas, ki je potreben, da se konča aktivnost encimov, se lahko od ene serije do druge razlikuje. Gornja vrednost je samo napotek in jo je priporočljivo določiti za vsako posamezno serijo.

6. IZRAŽANJE REZULTATOV

Koncentracija L-jabolčne kisline je izražena v gramih na liter na eno decimalno mesto natančno.

6.1 Izračun

Splošna formula za izračun koncentracije v g/l je:

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

pri čemer je

V = prostornina testne raztopine v ml (tukaj 2,22 ml)

v = prostornina vzorca v ml (tukaj 0,1 ml)

M = molekulska masa snovi, ki jo določamo (tukaj $M = 134,09$ za L-jabolčno kislino)

d = dolžina optične poti v celici v cm (tukaj 1 cm)

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

zato je za L-malat:

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

Če je bil vzorec med pripravo razredčen, rezultat pomnožimo s faktorjem razredčitve.

Opomba:

Meritev pri 334 nm: $C = 0,482 \times \Delta A$

Meritev pri 365 nm: $C = 0,876 \times \Delta A$

6.2 Ponovljivost (r)

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

x_i je koncentracija jabolčne kisline v vzorcu v g/l.

6.3 Obnovljivost (R)

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

x_i je koncentracija jabolčne kisline v vzorcu v g/l.

20. D-JABOLČNA KISLINA

(Encimska metoda)

Testna kombinacija za približno 30 določitev

1. PRINCIP

V navzočnosti D-malat dehidrogenaze dekarboksila (D-MDH) D-jabolčna kislina (D-malat) oksidira z nikotinamid adenin dinukleotidom (NAD) v oksaloacetat. Oksaloacetat, ki nastane pri tej reakciji, se razcepi v piruvat in ogljikovo kislino.



Količina nastalega NADH je sorazmerna s koncentracijo D-jabolčne kisline in jo merimo pri valovni dolžini 334, 340 ali 365 nm.

2. TESTNA KOMBINACIJA VSEBUJE:

(a) Steklenica št. 1 s približno 30 ml raztopine iz Hepes pufra 4-(2-hidroksietil)-1-piperzeinetan-sulfonske kisline, pH = 9,0 in stabilizatorjev;

(b) steklenica št. 2 s približno 210 mg NAD-liofilizata;

(c) tri steklenice z D-MDH-liofilizatom, vsaka s približno 8 U.

2.1 Priprava raztopin

2.1.1 Vzamemo nerazredčeno vsebino steklenice št. 1. Pred uporabo raztopino segrejemo na 20 do 25 °C.

2.1.2 Vsebinsko steklenice št. 2 raztopimo v 4 ml dvakrat destilirane vode. Pred uporabo raztopino segrejemo na 20 do 25 °C.

2.1.3 Vsebinsko ene od treh steklenic št. 3 raztopimo v 0,6 ml dvakrat destilirane vode. Pred uporabo raztopino segrejemo na 20 do 25 °C.

2.2 Stabilnost raztopin

Pri +4 °C je vsebina steklenice iz 2.1.1 stabilna eno leto.

Pri +4 °C je raztopina iz 2.1.2 stabilna tri tedne, pri – 20°C pa dva meseca.

Pri +4 °C je raztopina iz 2.1.3 stabilna pet dni.

3. APARATURE

3.1 Spektrofotometer, ki omogoča meritve pri 340 nm, pri valovni dolžini namreč, pri kateri je absorpcija NADH in NADPH največja.

Če tega nimamo na voljo, lahko uporabimo spektrofotometer z nekontinuiranim spektrom, ki omogoča meritve pri 334 nm ali 365 nm.

3.2 1 cm steklene kivete (po želji so lahko za enkratno uporabo).

3.3 Mikropipete, primerne za pipetiranje prostornin med 0,01 in 2 ml.

4. PRIPRAVA VZORCA

Količina D-jabolčne kisline v kiveti mora biti med 2 mg in 50 g. Zato je treba raztopino vzorca razredčiti, da dobimo ustrezno koncentracijo D-jabolčne kisline med 0,02 in 0,5 g/l ali 0,02 in 0,3 g/l.

Če je razlika v absorpciji $\Delta A < 0,100$, lahko prostornino vzorca povečamo na 1,80 ml. Prostornino dodane vode moramo zmanjšati, da dobimo enako končno prostornino v obeh kivetah (vzorčna in slepa).

5. POSTOPEK:

Temperatura: 20 do 25 °C.

Končna prostornina: 2,95 ml.

Odčitamo glede na zrak (brez kivete na poti svetlobe), glede na vodo ali pa na slepo.

Odpipetiramo v kivete:	slepa	vzorec
raztopina 2.1.1	1,00 ml	1,00 ml
raztopina 2.1.2	0,10 ml	0,10 ml
dvakrat destilirana voda	1,80 ml	1,70 ml
vzorčna raztopina	—	0,10 ml

Mešamo, odčitamo absorpcijo raztopin (A_1) po približno šestih minutah. Reakcijo sprožimo z dodajanjem:

raztopina 2.1.3	0,05 ml	0,05 ml
-----------------	---------	---------

Mešamo; ob koncu reakcije (po približno 20 minutah) odčitamo absorpcijo raztopin (A_2).

Izračunamo razliko v absorpciji ($A_2 - A_1$) za slepo in vzorčno raztopino. Razliko v absorpciji slepe (ΔA_B) odštejemo od razlike v absorpciji vzorčne raztopine (ΔA_S):

$$\Delta A = \Delta A_S - \Delta A_B$$

6. IZRAŽANJE REZULTATOV:

Koncentracija D-jabolčne kisline je izražena v g/l na eno decimalno mesto natančno.

6.1 Izračun

Glede na splošno formulo za izračun koncentracij je enačba:

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

pri čemer je V = končna prostornina (ml)

v = prostornina vzorca (ml)

M = molekulska masa snovi, ki jo preskušamo

d = pot svetlobe (cm)

ϵ = absorpcijski koeficient NADH pri:

$$\text{Hg } 340 \text{ nm} = 6,3 \text{ (mmol}^{-1} \times \text{l} \times \text{cm}^{-1}\text{)}$$

$$\text{Hg } 365 \text{ nm} = 3,4 \text{ (mmol}^{-1} \times \text{l} \times \text{cm}^{-1}\text{)}$$

$$\text{Hg } 334 \text{ nm} = 6,18 \text{ (mmol}^{-1} \times \text{l} \times \text{cm}^{-1}\text{)}$$

Iz D-jabolčne kisline sledi:

$$C = \frac{2,95 \times 134,09 \times \Delta A}{\epsilon \times 1 \times 0,1 \times 1000} = \frac{3,956}{\epsilon} \times \Delta A \text{ (g D-jabolčne kisline / vzorec)}$$

Če smo vzorec med pripravo redčili, moramo rezultat pomnožiti s faktorjem redčenja F.

6.2 **Ponovljivost (r)**

$$r = 0,05 X_i$$

x_i = koncentracija D-jabolčne kisline v g/l.

6.3 **Obnovljivost (R)**

$$R = 0,1 X_i$$

X_i = koncentracija D-jabolčne kisline v g/l.

21. SKUPNA JABOLČNA KISLINA

1. PRINCIP

Jabolčno kislino, ločeno z uporabo anionske izmenjalne kolone, določimo s kolorimetrično metodo v izlužku, tako da izmerimo rumeno obarvanje, ki ga povzroči skupaj s kromotropsko kislino v navzočnosti koncentrirane žveplove kisline. Korekcijo na interferenčne snovi opravimo tako, da odštejemo absorpcijo, ki jo dobimo z uporabo 86 % žveplove kisline in ustrezne količine kromotropske kisline (jabolčna kislina v teh koncentracijah kisline ne reagira), od absorpcije, ki jo dobimo z uporabo 96 % kislín.

2. APARATURE

- 2.1 Steklena kolona dolžine približno 250 mm in z notranjim premerom 35 mm, ki ima odvod.
- 2.2 Steklena kolona dolžine približno 300 mm in z notranjim premerom 10 do 11 mm, ki ima odvod.
- 2.3 Termostatsko uravnavana vodna kopel pri 100 °C.
- 2.4 Spektrofotometer, s katerim lahko merimo absorpcijo pri 420 nm z uporabo 10 mm celíc.

3. REAGENTI

- 3.1 Močno bazična ionska izmenjalna smola (npr. Merck III).
- 3.2 5 % natrijev hidroksid (m/v).
- 3.3 30 % očetna kislina (m/v).
- 3.4 0,5 % očetna kislina (m/v).
- 3.5 10 % raztopina natrijevega sulfata (m/v).
- 3.6 95 do 97 % koncentrirana žveplova kislina (m/m).
- 3.7 86 % žveplova kislina (m/m).
- 3.8 5 % kromotropska kislina (m/v).

Pred vsako določitvijo svežo raztopino pripravimo tako, da raztopimo 500 mg natrijevega kromotropata ($C_{10}H_6Na_2O_8S_2 \cdot 2H_2O$) v 10 ml destilirane vode.

- 3.9 0,5 g/l raztopina DL-jabolčne kisline.

Raztopimo 250 g jabolčne kisline ($C_4H_6O_5$) v raztopini natrijevega sulfata (10 %), dopolnimo do 500 ml z raztopino natrijevega sulfata (10 %) (3.5).

4. POSTOPEK

4.1 Priprava ionske izmenjalne smole

Zamašek iz vate, prepojen z destilirano vodo, namestimo na dno kolone (35 × 250 mm) nad odvodom. Suspenzijo anionske izmenjalne smole nalijemo v stekleno kolono. Raven tekočine mora biti 50 mm nad vrhom smole. Izplaknemo s 1 000 ml destilirane vode.

Kolono operemo z raztopino natrijevega hidroksida (5 %), pustimo, da odteče 2 do 3 mm od vrha smole, ponovimo še dve izpiranji s 5 % natrijevim hidroksidom in pustimo stati eno uro. Kolono operemo s 1 000 ml destilirane vode. V kolono ponovno nalijemo (30 %) očetno kislino, pustimo, da odteče 2 do 3 mm od vrha smole, in ponovimo še dve izpiranji z očetno kislino (30 %). Pred uporabo pustimo stati najmanj 24 ur. Ionsko izmenjalno smolo hranimo v očetni kislini (30 %) za poznejše analize.

4.2 Priprava ionske izmenjalne kolone

Zamašek iz vate namestimo na dno kolone (11 × 300 mm) nad odvodom. Nalijemo suspenzijo ionske izmenjalne smole (pripravljene v skladu s 4.1) do višine 10 cm. Odmašimo odvod in pustimo, da raztopina očetne kisline (30 %) odteče do 2 do 3 mm nad vrhom smole. Operemo s 50 ml očetne kisline (0,5 %).

4.3 Ločevanje DL-jabolčne kisline

V kolono (pripravljeno v skladu s 4.2) nalijemo 10 ml vina ali mošta. Pustimo, da odteče po kapljicah (povprečna hitrost je ena kapljica na sekundo), in tok ustavimo 2 do 3 mm od vrha smole. Kolono operemo s 50 ml očetne kisline (0,5 %), nato s 50 ml destilirane vode in pustimo, da odteče z enako hitrostjo kakor prej, pri čemer tok ustavimo 2 do 3 mm od vrha smole.

Kisline, absorbirane v izmenjalni smoli, izlužimo z 10 % raztopino natrijevega sulfata (3.5). Izlužek zberemo v 100 ml merilni bučki.

Kolono lahko regeneriramo z uporabo postopka iz (4.1).

4.4 Določitev jabolčne kisline

S črkama A in B označimo dve 30 ml razširjeni epruveti (s steklenim zamaškom z obrusom). V vsako epruveto dodamo 1,0 ml izlužka (4.3) in 1 ml kromotropske kisline (5 %). V epruveto A dodamo 10 ml žveplove kisline (86 %) (referenca), v epruveto B pa 10 ml (96 %) žveplove kisline (vzorec). Zamašimo in stresemo, da se homogenizira, pri čemer pazimo, da ne zmočimo steklenega zamaška. Epruveti potopimo v vrelo vodno kopel za točno 10 minut. Epruveti hladimo na temnem pri 20 °C točno 90 minut. Takoj izmerimo absorpcijo glede na kontrolno meritev pri 420 nm v 10 mm celici.

4.5 Izris umeritvene krivulje

Količine 5,0, 10,0, 15,0 in 20 ml ustrezno odpipetiramo v 4 × 50 ml merilne bučke. Dopolnimo do oznake z raztopino natrijevega sulfata (10 %).

Te raztopine ustrezajo izlužkom iz vina, ki vsebujejo po 0,5, 1,0, 1,5 in 2,0 g/l jabolčne kisline.

Nadaljujemo kakor v 4.4.

Graf absorpcije navedenih raztopin je funkcija koncentracije jabolčne kisline v njih in poteka linearno skozi koordinatno izhodišče.

Intenzivnost nastalega obarvanja je pretežno odvisna od jakosti uporabljene žveplove kisline; nujno je treba preveriti umeritveno krivuljo z vsaj eno točko na serijo odčitanih vrednosti, s čimer se preveri, ali se je koncentracija žveplove kisline spremenila.

5. IZRAŽANJE REZULTATOV

Koncentracijo izlužka dobimo z uporabo umeritvenega grafa z ekstrapolacijo vrednosti merjene absorpcije, kar nam dá ustrezno koncentracijo jabolčne kisline v g/l. Rezultat izrazimo na eno decimalno mesto natančno.

Ponovljivost:

Vsebnost < 2 g/l: $r = 0,1$ g/l.

Vsebnost > 2 g/l: $r = 0,2$ g/l.

Obnovljivost:

$R = 0,3$ g/l.

22. SORBINSKA KISLINA**1. PRINCIP METOD****1.1 Določitev z ultravijolično absorpcijsko spektrofotometrijo**

Sorbinsko kislino (*trans, trans*, 2,4-heksadienoična kislina), ki jo ekstrahiramo s parno destilacijo, določimo v vinskem destilatu z ultravijolično absorpcijsko spektrofotometrijo. Snovi, ki interferirajo v ultravijolični svetlobi, odstranimo z izhlapevanjem do suhega, pri čemer uporabimo rahlo alkalen kalcijev hidroksid. Tankoplastno kromatografijo uporabimo za potrditev ravni (1 mg/l) pod 20 mg/l.

1.2 Določitev s plinsko kromatografijo

Sorbinsko kislino, ekstrahirano v etilnem etru, določimo s plinsko kromatografijo z internim standardom.

1.3 Ugotavljanje sledi s tankoplastno kromatografijo

Sorbinsko kislino, ekstrahirano v etilnem etru, ločimo s tankoplastno kromatografijo in njeno koncentracijo ocenimo delno kvantitativno.

2. DOLOČITEV Z ULTRAVIJOLIČNO ABSORPCIJSKO SPEKTROFOTOMETRIJO**2.1 Reagenti**

2.1.1 Kristalinična vinska kislina, $C_4H_6O_6$.

2.1.2 Približno 0,02 M raztopina kalcijevega hidroksida, $Ca(OH)_2$.

2.1.3 Referenčna raztopina sorbinske kisline, 20 mg/l:

20 mg sorbinske kisline $C_6H_8O_2$ raztopimo v približno 2 ml 0,1 M raztopine natrijevega hidroksida. Nalijemo v 1 000 ml merilno bučko in dopolnimo z vodo do oznake. Lahko tudi raztopimo 26,8 mg kalijevega sorbata $C_6H_7KO_2$ v vodi in dopolnimo z vodo do 1 000 ml.

2.2 Aparature

2.2.1 Parni destilator (glej poglavje „Hlapne kisline“).

2.2.2 Vodna kopel s temperaturo 100 °C.

2.2.3 Spektrofotometer za merjenje absorpcije pri valovni dolžini 256 nm, s kremenčevo celico z 1 cm optično potjo.

2.3 Postopek**2.3.1 Destilacija**

V bučko parnega destilatorja nalijemo 10 ml vina in dodamo 1 do 2 g vinske kisline (2.1.1). Zberemo 250 ml destilata.

2.3.2 Umeritvena krivulja

Z redčenjem referenčne raztopine (2.1.3) pripravimo štiri razredčene referenčne raztopine, ki vsebujejo po 0,5, 1,0, 2,5 in 5 mg sorbinske kisline na liter. Njihovo absorpcijo merimo s spektrofotometrom pri

256 nm, pri čemer absorpcijo destilirane vode uporabimo za slepi vzorec. Izdelamo krivuljo, ki prikazuje spremembo absorpcije kot funkcijo koncentracije. Sprememba je linearna.

2.3.3 Določitev

5 ml destilata nanesemo v izparilno posodo s premerom 55 mm, dodamo 1 ml raztopine kalcijevega hidroksida (2.1.2). Izparimo do suhega na vodni kopeli.

Ostanek raztopimo v več ml destilirane vode, prelijemo celotno količino v 20 ml merilno bučko in dopolnimo do oznake z vodo za izplakovanje. S spektrometrom izmerimo absorpcijo pri 256 nm proti slepemu vzorcu iz raztopine, ki jo pripravimo tako, da 1 ml raztopine kalcijevega hidroksida (2.1.2) dopolnimo z vodo do 20 ml.

Vrednost izmerjene absorpcije vnesemo na umeritveno krivuljo in poiščemo koncentracijo C sorbinske kisline v raztopini.

Opomba: Pri tej metodi lahko zanemarimo izgubo zaradi izhlapevanja in absorpcijo izmerimo na obdelanem destilatu, ki je razredčen z destilirano vodo v razmerju $\frac{1}{4}$.

2.4 Izražanje rezultatov

2.4.1 Izračun

Koncentracijo sorbinske kisline v vinu, izražene v mg na liter, dobimo s $100 \times C$

pri čemer je C = koncentracija sorbinske kisline v raztopini, ki jo analiziramo z uporabo spektrofotometrije in je izražena v mg na liter.

3. DOLOČITEV S PLINSKO KROMATOGRAFIJO

3.1 Reagenti

3.1.1 Etilni eter, $(C_2H_5)_2O$, destiliran neposredno pred uporabo.

3.1.2 Interna referenčna raztopina: raztopina undekanoične kisline, $C_{11}H_{22}O_2$, v 95 % vol etanolu jakosti 1 g/l.

3.1.3 Vodna raztopina žveplove kisline, H_2SO_4 ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml), razredčene 1: 3 (v/v).

3.2 Aparature

3.2.1 Plinski kromatograf s plamensko-ionizacijskim detektorjem in kolone iz nerjavečega jekla ($4\text{ m} \times 1/8$ palca), poprej obdelan z dimetildiklorosilanom in pakiran skupaj s trdno fazo iz mešanice dietilenglikol sukcinata (5 %) in fosforne kisline (1 %) ($DEGS - H_3PO_4$) ali iz mešanice dietilenglikol adipata (7 %) in fosforne kisline (1 %) ($DEGA - H_3PO_4$), vezane na Gaschrom Q 80-100 mesh.

Obdelava kolone z DMDCS – prek kolone pretočimo raztopino, ki vsebuje 2 do 3 g DMDCS v toluenu. Takoj operemo z metanolom, zatem z nitrogenom, s heksanom in ponovno z nitrogenom. Po vsem tem je pripravljena za pakiranje.

Delovni pogoji:

Temperatura peči: 175 °C.

Temperatura injektorja in detektorja: 230 °C.

Nosilni plin: nitrogen (hitrost pretoka = 200 ml/min).

- 3.2.2 Mikrobrizga s kapaciteto 10 µl, umerjena na 0,1 µl.

Opomba: Lahko uporabimo tudi druge vrste kolon, ki omogočajo uspešno ločevanje, zlasti kapilarne kolone (npr. FFAP). Opisana metoda dela je dana le kot primer.

3.3 Postopek

3.3.1 Priprava vzorca za analizo

V približno 40 ml stekleno epruveto, ki ima steklen zamašek z obrusom, nalijemo 20 ml vina, dodamo 2 ml interne referenčne raztopine (3.1.2) in 1 ml razredčene žveplove kisline (3.1.3).

Z obračanjem epruvete okoli osi raztopino dobro premešamo in dodamo 10 ml etilnega etra (3.1.1). Ekstrahiramo sorbinsko kislino v organski fazi, tako da epruveto pet minut stresamo. Pustimo, da se ustali.

3.3.2 Priprava referenčne raztopine

Izberemo vino, pri katerem kromatogram ekstrakta etra ne kaže vršne vrednosti, ki ustreza izluženju sorbinske kisline. To vino močno nasitimo s sorbinsko kislino pri koncentraciji 100 mg na liter. 20 ml vzorca, ki smo ga tako pripravili, obdelamo v skladu s postopkom iz 3.3.1.

3.3.3 Kromatografija

Z mikrobrizgo izmenično vbrizgamo v kromatograf 2 µl faze z ekstrahiranim etrom, pripravljene v 3.3.2, in 2 µl faze z ekstrahiranim etrom, pripravljene v 3.3.1.

Oba kromatograma zabeležimo: preverimo retencijski čas sorbinske kisline in internega standarda. Izmerimo višino (ali področje) obeh zabeleženih vršnih vrednosti.

3.4 Izražanje rezultatov

3.4.1 Izračun

Koncentracijo sorbinske kisline v analiziranem vinu, izraženo v mg na liter, dobimo z naslednjim izrazom:

$$100 \times \frac{h}{H} \times \frac{I}{i}$$

pri čemer je

H = vršna vrednost sorbinske kisline v referenčni raztopini

h = vršna vrednost sorbinske kisline v vzorcu za analizo

I = vršna vrednost internega standarda v referenčni raztopini

i = vršna vrednost internega standarda vzorcu za analizo

Opomba: Koncentracijo sorbinske kisline lahko enako določimo iz meritev področij pod ustreznimi vršnimi vrednostmi.

4. UGOTAVLJANJE SLEDI SORBINSKE KISLINE S TANKOPLASTNO KROMATOGRAFIJO

4.1 Reagenti

4.1.1 Etilni eter, $(C_2H_5)_2O$.

4.1.2 Vodna raztopina žveplove kisline, H_2SO_4 ($\rho_{20} = 1,84 \text{ g/ml}$), razredčena 1 : 3 (v/v).

4.1.3 Referenčna raztopina sorbinske kisline v približno 10 % vol mešanici etanola in vode, in to 20 mg na liter.

4.1.4 Mobilna faza: heksan-pentan-ocetna kislina (20: 20: 3) ($C_6H_{14}/C_5H_{12}/CH_3COOH$, $\rho_{20} = 1,05 \text{ g/ml}$).

4.2 Aparature

4.2.1 $20 \times 20 \text{ cm}$ velike plošče za tankoplastno kromatografijo, na katere poprej naneseemo sloj poliamidnega gela (debeline 0,15 mm) in dodamo fluorescenčni indikator.

4.2.2 Celica za tankoplastno kromatografijo.

4.2.3 Mikropipeta ali mikrobrizga za nanašanje 5 μl prostornin z natančnostjo $\pm 0,1 \mu\text{l}$.

4.2.4 Ultravijolična žarnica (254 nm).

4.3 Postopek

4.3.1 Priprava vzorca za analizo

V približno 25 ml stekleno epruveto, ki ima steklen zamašek z obrusom, nalijemo 10 ml vina, dodamo 1 ml razredčene žveplove kisline (4.1.2) in 5 ml etilnega etra (4.1.2). Zmešamo, tako da epruveto večkrat obrnemo okoli osi. Pustimo, da se ustali.

4.3.2 Priprava razredčenih referenčnih raztopin

Pripravimo pet razredčenih referenčnih raztopin iz raztopine 4.1.3, ki vsebujejo po 2, 4, 6, 8 in 10 mg sorbinske kisline na liter.

4.3.3 Kromatografija

Z mikrobrizgo ali mikropipeto naneseemo 5 μl faze z ekstrahiranim etrom iz 4.3.1 in 5 μl vsake razredčene referenčne raztopine (4.3.2) na točke, ki so od spodnjega roba plošče in med seboj oddaljene 2 cm.

Mobilno fazo (4.1.4) prelijemo v posodo kromatografa do višine približno 0,5 cm in pustimo, da se zrak v posodi nasiti s hlapi topila. Ploščo položimo v posodo. Pustimo, da se kromatogram razvije od 12 do 15 cm (čas razvijanja okrog 30 minut). Ploščo posušimo s tokom mrzlega zraka. Kromatogram pregledamo pod ultravijolično žarnico z valovno dolžino 254 nm.

Lise, ki kažejo na navzočnost sorbinske kisline, so temno vijolične barve na rumenem fluorescentnem ozadju plošče.

4.4 Izražanje rezultatov

Primerjava intenzivnosti pik v vzorcu za analizo in v referenčnih raztopinah omogoča izvedbo delno kvantitativne analize ocene sorbinske kisline med 2 in 10 mg na liter. Koncentracijo 1 mg na liter lahko določimo na podlagi 10 μl vzorčne raztopine za analizo.

Koncentracije nad 10 mg na liter lahko določimo na podlagi manj kakor 5 μl raztopine za analizo (merjeno z mikrobrizgo).

23. L-ASKORBINSKA KISLINA**1. PRINCIP METOD**

S spodnjimi metodami lahko določimo L-askorbinsko kislino in dehidroaskorbinsko kislino v vinu ali moštu.

1.1 Referenčna metoda (fluorimetrija)

L-askorbinska kislina ob aktivnem oglju oksidira v dehidroaskorbinsko kislino. Ta reagira z ortoifenilendi-aminom (OPDA) in tvori fluorescentno spojino. S kontrolnim testom v navzočnosti borove kisline lahko določimo lažno fluorescence (tvorba borove kisline/kompleksa dehidroaskorbinske kisline) in opravimo fluorimetrično določitev.

1.2 Običajna metoda (kolorimetrija)

L-askorbinska kislina z jodom oksidira v dehidroaskorbinsko kislino, ki jo nato oborimo z uporabo 2,4-dinitrofenilhidrazina, da proizvedemo bis (2,4-dinitrofenilhidrazon). Po ločitvi s tankoplastno kromatografijo in raztopitvi v mediju očetni kislini rdeče obarvani derivat določimo s spektrofotometrijo pri 500 nm.

2. REFERENČNA METODA (fluorimetrična metoda)**2.1 Reagenti**

2.1.1 Raztopina ortoifenilendiamin dihidroklorida, $C_6H_{10}Cl_2N_2$, 0,02 g na 100 ml; pripravljena neposredno pred uporabo.

2.1.2 Raztopina natrijevega acetat trihidrata, $CH_3COONa \cdot 3H_2O$, 500 g/liter.

2.1.3 Mešana raztopina borove kisline in natrijevega acetata:

3 g borove kisline, H_3BO_3 , raztopimo v 100 ml raztopine natrijevega acetata (2.1.2). To raztopino moramo pripraviti neposredno pred uporabo.

2.1.4 Raztopina očetne kisline (ledocet), CH_3COOH ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml), razredčena na 56 % (v/v) in s pH približno 1,2.

2.1.5 Referenčna raztopina L-askorbinske kisline, 1 g/liter:

Neposredno pred uporabo raztopimo 50 mg L-askorbinske kisline, $C_6H_8O_6$, ki smo jo, zaščiteno pred svetlobo, poprej dehidrirali v eksikatorju, v 50 ml raztopine očetne kisline (2.1.4).

2.1.6 Analitsko zelo čisto aktivno oglje ⁽¹⁾

V 2-litrsko erlenmajerico damo 100 g aktivnega oglja in dodamo 500 ml 10 % (v/v) raztopine klorovodikove kisline (HCl) ($\rho_{20} = 1,19$ g/ml). Zavremo in prefiltriramo skozi filter iz sintranega stekla s poroznostjo št. 3. V 2-litrski erlenmajerici zberemo oglje, ki smo ga tako obdelali, dodamo 1 liter vode, stresemo in prefiltriramo skozi filter iz sintranega stekla s poroznostjo št. 3. Ta postopek ponovimo še dvakrat. Ostanek za 12 ur (čez noč) pustimo v peči s kontrolirano temperaturo do 115 ± 5 °C.

2.2 Aparature

2.2.1 Fluorimeter. Uporabimo spektrofluorimeter, ki oddaja svetlobo s kontinuiranim spektrom, in ga nastavimo na minimalno jakost. Optimalno valovno dolžino ekscitacije in emisije za test določimo vnaprej in je odvisna od uporabljene opreme. Kot vodilo lahko uporabimo valovno dolžino ekscitacije približno 350 nm in valovno dolžino emisije približno 430 nm. Dolžina svetlobne poti v celicah je 1 cm.

⁽¹⁾ Ena od blagovnih znamk je „Norite“.

2.2.2 Filter iz sintranega stekla s poroznostjo št. 3.

2.2.3 Epruvete (s premerom približno 10 mm).

2.2.4 Mešalne palčke za epruvete.

2.3 Postopek

2.3.1 Priprava vzorca vina ali mošta

Vzamemo neko količino vina ali mošta in razredčimo do 100 ml v merilni bučki s 56 % raztopino očetne kisline (2.1.4), da dobimo raztopino s koncentracijo L-askorbinske kisline med 0 in 60 mg/liter. Vsebino bučke homogeniziramo z mešanjem. Dodamo 2 g aktivnega oglja (2.1.6), pustimo stati 15 minut in občasno premešamo. Filtriramo z navadnim filtrirnim papirjem, pri čemer prvih nekaj mililitrov filtrata zavržemo.

V dve 100 ml merilni bučki nalijemo 5 ml filtrata in v prvo še 5 ml mešanice raztopine borove kisline in raztopine natrijevega acetata (2.1.3) (slepi vzorec), v drugo pa še 5 ml raztopine natrijevega acetata (2.1.2) (vzorec). Pustimo stati 15 minut in občasno premešamo. Dopolnimo do 100 ml z destilirano vodo.

Iz vsake bučke vzamemo po 2 ml in dodamo 5 ml raztopine ortofenilendiamina (2.1.1) ter premešamo; pustimo, da se reakcija razvija 30 minut, dokler raztopina ne potemni, nato pa opravimo spektrofotometrične meritve.

2.3.2 Umeritvena krivulja

V tri 100 ml merilne bučke nalijemo po 2, 4 in 6 ml referenčne raztopine L-askorbinske kisline (2.1.5), dopolnimo do 100 ml z raztopino očetne kisline (2.1.4) in homogeniziramo z mešanjem. Tako pripravljene referenčne raztopine vsebujejo po 2, 4 in 6 mg na 100 ml.

V vsako bučko dodamo 2 g aktivnega oglja (2.1.6) in pustimo stati 15 minut ter občasno premešamo. Prefiltriramo skozi navaden filtrirni papir in zavržemo prvih nekaj mililitrov. 5 ml vsakega zbranega filtrata nalijemo v tri 100 ml merilne bučke (prvi komplet). Postopek ponovimo in dobimo drugi komplet treh merilnih bučk. V vsako bučko iz prvega kompleta (ki ustreza slepemu testu) dodamo 5 ml mešanice raztopine borove kisline in natrijevega acetata (2.1.5) in v vsako bučko iz drugega kompleta 5 ml raztopine natrijevega acetata (2.1.2).

Pustimo stati 15 minut in občasno premešamo. Dopolnimo z destilirano vodo do 100 ml. Vzamemo 2 ml vsebine vsake bučke, dodamo 5 ml raztopine ortofenilendiamina (2.1.1), premešamo, pustimo, da se reakcija razvija 30 minut, dokler raztopina ne potemni, in nato opravimo spektrofotometrične meritve.

2.3.3 Fluorimetrična določitev

Za vsako raztopino, ki jo vnesemo v umeritveno krivuljo, in za raztopino, ki jo določamo, na merilni skali nastavimo ničlo, pri čemer si pomagamo z ustreznim kontrolnim testnim vzorcem. Nato izmerimo intenzivnost fluorescence za vsako raztopino v razponu umerjanja in za raztopino, ki jo določamo.

Izdelamo umeritveno krivuljo, ki poteka linearno skozi koordinatno izhodišče. Na tej črti poiščemo vrednost, ki pomeni določitev, in izpeljemo koncentracijo C L-askorbinske kisline + dehidroaskorbinske kisline v raztopini za analizo.

2.3.4 Izražanje rezultatov

Koncentracijo L-askorbinske kisline in dehidroaskorbinske kisline v vinu v miligramih na liter dobimo s $C \times F$, pri čemer je F faktor redčenja.

3. OBIČAJNA METODA (kolorimetrična metoda)

3.1 Reagenti

3.1.1 Metafosforna kislina, 30 % (m/v) raztopina:

Vzamemo 30 g metafosforne kisline, $(\text{HPO}_3)_n$, ki jo poprej stremo v tarilnici. Na hitro speremo, tako da jo potopimo v destilirano vodo, in premešamo. Sprano kislino raztopimo v destilirani vodi, tako da jo stresamo v 100 ml merilni bučki, in dopolnimo z vodo do oznake. Nastala raztopina ima koncentracijo približno 30 % (m/v) metafosforne kisline.

3.1.2 3 % (m/v) raztopina metafosforne kisline, ki jo pripravimo neposredno pred uporabo, tako da jo razredčimo v razmerju 1 : 10 z destilirano vodo raztopine 3.1.1.

3.1.3 1 % (m/v) raztopina metafosforne kisline, ki jo pripravimo neposredno pred uporabo, tako da jo razredčimo v razmerju 1 : 30 z destilirano vodo raztopine 3.1.1.

3.1.4 Suspenzija poliamida:

Pripravimo suspenzijo iz 10 g poliamida za kromatografijo in 60 ml destilirane vode. Pustimo stati dve uri. Pripravljena količina zadostuje za štiri določitve.

3.1.5 Tiourea, $(\text{NH}_2)_2\text{CS}$.3.1.6 0,05 M raztopina joda, I_2 .

3.1.7 6 % (m/v) raztopina 2,4-dinitrofenilhidrazina:

Pripravimo suspenzijo 6 g 2,4-dinitrofenilhidrazina ($\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_4$) v 50 ml očetne kisline (ledocet) ($\rho_{20} = 1,05 \text{ g/ml}$) in dodamo 50 ml žveplove kisline ($\rho_{20} = 1,84 \text{ g/ml}$). 2,4-dinitrofenilhidrazin raztopimo z mešanjem.

3.1.8 Etilni acetat ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$) z dodatkom 2 % (v/v) očetne kisline (ledocet) (3.1.12).3.1.9 Kloroform, CHCl_3 .

3.1.10 Vodna raztopina škroba, 0,5 % (m/v).

3.1.11 Mobilna faza:

etilni acetat	50 vol
kloroform	60 vol
očetna kislina (ledocet)	5 vol

Pred uporabo mešanico pustimo stati 12 ur.

3.1.12 Očetna kislina (ledocet), CH_3COOH , ($\rho_{20} = 1,05 \text{ g/ml}$).

3.1.13 Raztopina L-askorbinske kisline, 0,1 g na 100 ml 1 % raztopine metafosforne kisline (3.1.3).

3.2 Aparature

3.2.1 Laboratorijska centrifuga s 50 ml epruvetami za centrifugiranje s steklenimi zamaški z obrušom.

3.2.2 Mrzla vodna kopel s termostatsko nadzorovano temperaturo med 5 in 10 °C.

3.2.3 Vodna kopel s termostatsko nadzorovano temperaturo 20 °C.

3.2.4 Plošče za tankoplastno kromatografijo, 20 × 20 cm, poprej prevlečene s silikagelom G (debeline 0,25 ali 0,3 mm).

- 3.2.5 Kromatografska posoda.
- 3.2.6 Mikropipeta, primerna za nanašanje prostornine 0,2 ml.
- 3.2.7 Spektrofotometer za merjenje absorpcije pri 500 nm, s celicami z 1 cm dolgo optično potjo.

3.3 Postopek

3.3.1 Oksidacija L-askorbinske kisline v dehidroaskorbinsko kislino

V 100 ml merilno bučko nalijemo 50 ml vina, dodamo 15 ml suspenzije poliamida (3.1.4) in dopolnimo do oznake s 3 % raztopino metafosforne kisline (3.1.2). Pustimo, da stoji eno uro, in od časa do časa stresemo. Prefiltriramo prek nagubanega filter papirja. Zberemo 20 ml filtrata v epruveti za centrifugiranje, dodamo 1 ml 0,05 M raztopine joda (3.1.6). Homogeniziramo, tako da stresamo zamašeno epruveto, in po eni minuti odstranimo odvečni jod z dodatkom približno 25 mg tiouree.

3.3.2 Nastajanje in ekstrakcija derivata bis(2,4-dinitrofenilhidrazona) iz diketogulonične kisline

Epruveto potopimo v vodno kopel, katere temperaturo ohranjamo pri 5 do 10 °C; dodamo 4 ml raztopine 2,4-dinitrofenilhidrazina (3.1.7). Vsebinsko previdno zmešamo in pazimo, da steklenega zamaška ne zmočimo. Epruveto nepredušno zapečatimo in jo potopimo v vodno kopel pri 20 °C za približno 16 ur (čez noč).

V epruveto za centrifugiranje nalijemo 15 ml etilnega acetata (3.1.8). Epruveto zamašimo s steklenim zamaškom z obrisom in močno stresamo 30 sekund. Centrifugiramo pet minut, pri čemer uporabimo centrifugalno silo 350 do 400 g. V erlenmajerico s steklenim zamaškom z obrisom odpipetiramo 10 ml ekstrakta etilnega acetata. Zamašek odstranimo in v epruveto za centrifugiranje dodamo še 5 ml etilnega acetata (3.1.8), ponovno stresamo 30 sekund in centrifugiramo 5 minut pri enaki hitrosti. V erlenmajerico odpipetiramo 5 ml ekstrakta etilnega acetata, ki vsebuje 10 ml iz prve ekstrakcije. Premešamo.

3.3.3 Ločevanje bis(2,4-dinitrofenilhidrazona) s kromatografijo; to je treba storiti v dveh urah po ekstrakciji (3.3.2).

0,2 ml ekstrakta etilnega acetata nanesemo na celo začetno črto 2 cm od roba plošče in pustimo 2 cm rob tudi pri straneh plošče. Mobilno fazo (3.1.11) nalijemo v kromatografsko posodo do višine 1 cm in pustimo, da se zrak v posodi nasiti s hlapi topila. Vstavimo ploščo, pri čemer pustimo, da topilo steče na zgornji konec plošče.

Ploščo sušimo eno uro pod ventilatorjem. Držimo jo v navpičnem položaju nad kosom glaziranega papirja in s spatulo (pod pravim kotom glede na površino) postrgamo rdeče obarvani predel (značilen za 2,4-dinitrofenilhidrazon). Tako dobljeni prah v celoti prenesemo v erlenmajerico s steklenim zamaškom z obrisom in dodamo 4 ml očetne kisline (3.1.12). Pustimo, da stoji 30 minut, in občasno premešamo. Prefiltriramo skozi nagubani filter papir neposredno v celico spektrofotometra (3.2.7). Dobljeni filtrat mora biti popolnoma čist. Izmerimo absorpcijo te raztopine pri 500 nm z uporabo očetne kisline (3.1.12) v referenčni celici, s čimer dobimo vrednost nič za meritve.

3.3.4 Umeritvena krivulja

V tri 100 ml merilne bučke nalijemo po 5, 10 in 15 ml raztopine L-askorbinske kisline (3.1.13) in dopolnimo do oznake z 1 % raztopino metafosforne kisline (3.1.3). Koncentracija tako dobljenih raztopin je v ustreznem vrstnem redu 50, 100 in 150 mg askorbinske kisline na liter.

Vsako od teh raztopin obdelamo v skladu s postopkom iz 3.3.1, 3.3.2 in 3.3.3. Izdelamo umeritveno krivuljo, ki poteka linearno skozi koordinatno izhodišče.

3.3.5 Izražanje rezultatov

Koncentracijo L-askorbinske kisline + dehidroaskorbinske kisline v vinu izrazimo v miligramih na liter.

3.3.5.1 Izračun

Na ravni umeritveni krivulji poiščemo vrednost absorpcije, izmerjene v 3.3.3, in tako določimo koncentracijo L-askorbinske kisline + dehidroaskorbinske kisline v raztopini za analizo.

Opomba: Če je koncentracija L-askorbinske kisline + dehidroaskorbinske kisline višja kakor 150 mg/liter, zmanjšamo prostornino testnega vzorca na 25, 20 ali 10 ml vina in dobljeni rezultat pomnožimo s faktorjem redčenja *F*.

24. pH

1. PRINCIP

Izmerimo razliko v potencialu med dvema elektrodama, potopljenima v analizirano tekočino. Ena od elektrod ima potencial, ki je funkcija pH tekočine, druga pa ima določen in znan potencial in se uporablja kot referenčna elektroda.

2. APARATURE

2.1 pH meter s skalo, umerjeno v pH enotah, ki omogoča merjenje z natančnostjo najmanj $\pm 0,05$ pH enote.

2.2 **Elektrode:**

2.2.1 Steklena elektroda, shranjena v destilirani vodi.

2.2.2 Referenčna kalomelova (nasičeni kalijev klorid) elektroda, shranjena v nasičeni raztopini kalijevega klorida.

2.2.3 Ali kombinirana elektroda, shranjena v destilirani vodi.

3. REAGENTI

3.1 **Puferske raztopine**

3.1.1 Nasičena raztopina kalijevega hidrogentartrata, ki vsebuje najmanj 5,7 g kalijevega hidrogentartrata na liter ($C_4H_5KO_6$) pri 20 °C. (To raztopino lahko hranimo do dveh mesecev, če dodamo 0,1 g timola na 200 ml.)

$$\text{pH} \begin{cases} 3,57 \text{ pri } 20^\circ\text{C} \\ 3,56 \text{ pri } 25^\circ\text{C} \\ 3,55 \text{ pri } 30^\circ\text{C} \end{cases}$$

3.1.2 Raztopina kalijevega hidrogenftalata, 0,05 M, ki vsebuje 10,211 g kalijevega hidrogenftalata ($C_8H_5KO_4$) na liter pri 20 °C. (Rok trajanja največ dva meseca.)

$$\text{pH} \begin{cases} 3,999 \text{ pri } 15^\circ\text{C} \\ 4,003 \text{ pri } 20^\circ\text{C} \\ 4,008 \text{ pri } 25^\circ\text{C} \\ 4,015 \text{ pri } 30^\circ\text{C} \end{cases}$$

3.1.3 Raztopina vsebuje:

monokalijev fosfat, KH_2PO_4 3,402 g

dikalijev fosfat, K_2HPO_4 4,354 g

voda do 1 000 ml

(Rok trajanja največ dva meseca.)

$$\text{pH} \begin{cases} 6,90 \text{ pri } 15^\circ\text{C} \\ 6,88 \text{ pri } 20^\circ\text{C} \\ 6,86 \text{ pri } 25^\circ\text{C} \\ 6,85 \text{ pri } 30^\circ\text{C} \end{cases}$$

Opomba: Lahko uporabimo tudi referenčne puferske raztopine, ki so na voljo na trgu.

4. POSTOPEK

4.1 **Priprava vzorca za analizo**

4.1.1 Za mošt in vino: uporabimo neposredno mošt ali vino.

4.1.2 Za rektificirani zgoščen mošt: rektificirani zgoščen mošt razredčimo z vodo, da dobimo koncentracijo $25 \pm 0,5 \%$ (m/m) skupnih sladkorjev (25° Brix).

Če je P odstotek koncentracije (m/m) skupnih sladkorjev v rektificiranem zgoščenem moštu, stehtamo maso

$$\frac{2500}{P}$$

in dopolnimo z vodo do 100 g. Elektroprevodnost uporabljene vode mora biti manj kakor 2 mikrosimena na cm.

4.2 **Nastavitev aparature na ničlo**

Nastavitev na ničlo opravimo pred vsakršnim merjenjem v skladu z navodili, ki so priložena aparaturi.

4.3 **Umerjanje pH metra**

pH meter umerimo pri 20 °C z uporabo pufrskih raztopin s pH vrednostjo 6,88 in 3,57 pri 20 °C.

Uporabimo pufrsko raztopino s pH 4,00 pri 20 °C, da preverimo umeritev skale.

4.4 **Določitev**

Elektrodo potopimo v vzorec za analizo, ki mora imeti temperaturo med 20 in 25 °C, vendar čim bližje 20 °C. Vrednost pH odčitamo neposredno na skali.

Na istem vzorcu opravimo vsaj dve določitvi.

Končni rezultat dobimo z aritmetično sredino dveh določitev.

5. **IZRAŽANJE REZULTATOV**

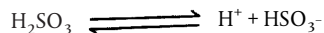
Vrednost pH mošta, vina ali 25 % (m/m) (25 °Brix) raztopine rektificiranega zgoščenega mošta izrazimo na dve decimalni mesti natančno.

25. ŽVEPLOV DIOKSID

1. OPREDELITEV POJMOV

Prosti žveplov dioksid opredelimo kot žveplov dioksid, ki je navzoč v moštu ali vinu v naslednjih oblikah: H_2SO_3 , HSO_3^-

Ravnotežje med tema oblikama je funkcija pH vrednosti in temperature:



H_2SO_3 pomeni molekularno obliko žveplovega dioksida.

Skupni žveplov dioksid je opredeljen kot vsota različnih oblik žveplovega dioksida, navzočih v vinu v prosti obliki ali vezanih s sestavinami vina.

2. PROSTI IN SKUPNI ŽVEPLOV DIOKSID

2.1 Princip metod

2.1.1 Referenčna metoda

2.1.1.1 Za vina in mošte

Žveplov dioksid odstranimo iz vina s tokom zraka oziroma dušika; fiksiramo in oksidiramo ga tako, da mehurčke vodimo skozi razredčeno in nevtravno raztopino vodikovega peroksida. Nastalo žveplovo kislino določimo s titracijo s standardno raztopino natrijevega hidroksida. Prosti žveplov dioksid odstranimo iz vina z vzdrževanjem nizke temperature (10 °C).

Skupni žveplov dioksid odstranimo iz vina s segrevanjem na visoke temperature (približno 100 °C).

2.1.1.2 Za rektificirane zgoščene mošte

Skupni žveplov dioksid odstranimo iz poprej razredčenega rektificiranega zgoščenega mošta s segrevanjem na visoke temperature (približno 100 °C).

2.1.2 Hitra metoda določanja (za vina in mošte)

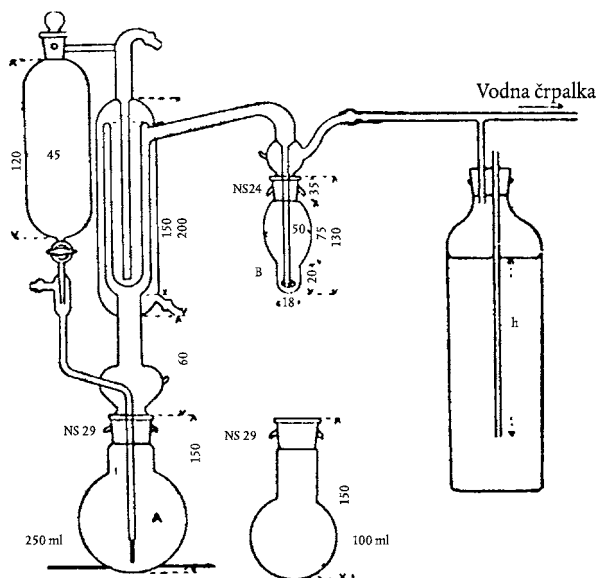
Prosti žveplov dioksid določimo z direktno jodometrično titracijo.

Vezani žveplov dioksid določimo z jodometrično titracijo po alkalni hidrolizi. Ta rezultat prištejemo k rezultatu za prosti žveplov dioksid, vsota pa pomeni skupni žveplov dioksid.

2.2 Referenčna metoda

2.2.1 Aparatura

2.2.1.1 Aparatura, ki jo uporabljamo, mora ustrezati spodnji sliki, zlasti glede kondenzatorja (hladilnika).



Dimenzije so dane v milimetrih. Notranji premeri štirih koncentričnih cev, ki sestavljajo kondenzator (hladilnik), so: 45, 34, 27 in 10 mm.

Cevka, po kateri izhaja iz vzorca plin, se v bučki B razširi v kroglico premera 1 cm z dvajsetimi luknjicami premera 0,2 mm okoli največjega vodoravnega obsega. Izjemoma se cevka lahko konča s stekleno porozno frito, ki ustvarja veliko število zelo majhnih mehurčkov in zagotavlja dober kontakt med plinsko in tekočo fazo.

Pretok plina skozi aparaturo naj bo približno 40 litrov na uro. Steklenica na desni strani slike je namenjena omejitvi padca tlaka, ki nastane zaradi vodne črpalke, na raven 20 do 30 cm vode. Za regulacijo pravilnega podtlaka moramo med bučko in steklenico vstaviti merilnik pretoka s polkapilarno cevko.

2.2.1.2 Mikrobireta.

2.2.2 Reagenti

2.2.2.1 Fosforna kislina, 85 % (H_3PO_4), $\rho_{20} = 1,71 \text{ g/ml}$.

2.2.2.2 Raztopina vodikovega peroksida, 9,1 g H_2O_2 /liter (tri prostornine).

2.2.2.3 Indikator:

metil rdeče	100 mg
metilen modro	50 mg
alkohol, 50 % vol	100 ml

2.2.2.4 0,01 M raztopina natrijevega hidroksida, NaOH

2.2.3 Postopek

2.2.3.1 Določitev prostega žveplovega dioksida

Vino moramo hraniti v polni in zamašeni steklenici pri 20 °C dva dni pred določanjem.

V bučko B damo 2 do 3 ml raztopine vodikovega peroksida (2.2.2.2) in dve kapljici indikatorja ter nevtraliziramo raztopino vodikovega peroksida z 0,01 M raztopino natrijevega hidroksida (2.2.2.4). Bučko B povežemo z aparaturo.

V bučko A aparature nalijemo 50 ml vzorca in 15 ml fosforne kisline (2.2.2.1). Bučko povežemo z aparaturo.

Tok zračnih mehurčkov (ali dušika) naj deluje 15 minut. Prosti žveplov dioksid, ki izhaja, oksidira v žveplovo kislino. Bučko B snamemo z aparature in titriramo nastalo kislino z 0,01 M raztopino natrijevega hidroksida (2.2.2.4). Porabljeni prostornino označimo z n ml.

2.2.3.2 Izražanje rezultatov

Sproščeni žveplov dioksid izrazimo v mg/l na najbližjo celo številko.

2.2.3.2.1 Izračun

Prosti žveplov dioksid v mg/l je $6,4 n$.

2.2.3.3 Določitev skupnega žveplovega dioksida

2.2.3.3.1 Pri rektificiranem zgoščenem moštu uporabimo raztopino, dobljeno z razredčitvijo vzorca za analizo do 40 % (m/v) po navodilih iz poglavja „Skupne kisline“, oddelek 5.1.2. V 250 ml bučko A aparature damo 50 ml te raztopine in 5 ml fosforne kisline (2.2.2.1). Bučko povežemo z aparaturo.

2.2.3.3.2 Vina in mošti

Če ocenjena koncentracija skupnega SO_2 v vzorcu ni večja od 50 mg/l, damo v 250 ml bučko A aparature 50 ml vzorca in 15 ml fosforne kisline (2.2.2.1). Bučko povežemo z aparaturo.

Vendar pa se najpozneje do 31. decembra 1992 za analizo vsebnosti žveplovega dioksida v grozdnem soku uporablja 5 ml 25 % raztopine (m/v) fosforne kisline (2.2.2.1).

Če ocenjena koncentracija skupnega SO_2 v vzorcu presega 50 mg/l, damo v 100 ml bučko A aparature 20 ml vzorca in 5 ml fosforne kisline (2.2.2.1). Bučko povežemo z aparaturo.

V bučko B damo 2 do 3 ml raztopine vodikovega peroksida (2.2.2.2), nevtraliziranega po prejšnjem postopku, in vino v bučki A zavremo z uporabo 4 do 5 cm visokega plamena, ki se neposredno dotika dna bučke. Bučke ne smemo postaviti na železno ploščo, ampak na disk s približno 30 mm luknjo v sredini. S tem se izognemo pregrevanju iz vina ekstrahiranih snovi, ki se nalagajo na steni bučke.

Med pretokom zraka (ali dušika) vzdržujemo vrenje. V 15 minutah izženemo in oksidiramo ves žveplov dioksid. Določimo nastalo žveplovo kislino s titracijo z 0,01 M raztopino natrijevega hidroksida (2.2.2.4).

Porabljeno prostornino označimo z n ml.

2.2.3.4 Izražanje rezultatov

Mošči in vina: Skupni žveplov dioksid izrazimo v mg/l.

Rektificirani zgoščeni mošt: Skupni žveplov dioksid izrazimo v mg/kg skupnega sladkorja.

2.2.3.4.1 Izračun

Za vina:

Skupni žveplov dioksid v miligramih na liter:

— če je vsebnost žveplovega dioksida v vzorcu nizka (50 ml testnega vzorca): $6,4 n$

— drugi vzorci (20 ml testni vzorec): $16 n$

Za rektificirani zgoščeni mošt:

Skupni žveplov dioksid v miligramih na kilogram skupnih sladkorjev (50 ml pripravljenega testnega vzorca (2.2.3.3.1)):

$$\frac{1600 \times n}{P}$$

pri čemer je P = koncentracija (m/m) skupnih sladkorjev v odstotkih

2.2.3.4.2 Ponovljivost (r)

50 ml testni vzorec < 50 mg/l; $r = 1$ mg/l.

20 ml testni vzorec > 50 mg/l; $r = 6$ mg/l.

2.2.3.4.3 Obnovljivost (R)

50 ml testni vzorec < 50 mg/l; $R = 9$ mg/l.

20 ml testni vzorec > 50 mg/l; $R = 15$ mg/l.

2.3 Hitra metoda določitve

2.3.1 Reagenti

2.3.1.1 EDTA komplekson III: dinatrijeva sol etilendiamintetraocetne kisline ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

2.3.1.2 Raztopina natrijevega hidroksida, NaOH, 4 M (160 g/l).

2.3.1.3 Žveplova kislina, H_2SO_4 ($\rho_{20} = 1,84 \text{ g/ml}$) (1: 10 v/v).

2.3.1.4 Raztopina škroba 5 g/l:

5 g škroba zmešamo s približno 500 ml vode. Segrevamo do vrenja in med nenehnim mešanjem vzdržujemo vrenje 10 minut. Dodamo 200 g natrijevega klorida (NaCl). Ohladimo in dopolnimo do enega litra.

2.3.1.5 0,025 M raztopina joda, I_2 .

2.3.2 *Aparature*

2.3.2.1 500 ml erlenmajerice.

2.3.2.2 Bireta.

2.3.2.5 1, 2, 5 in 50 ml pipete.

2.3.3 *Postopek*

2.3.3.1 Prosti žveplov dioksid

V 500 ml erlenmajerico nalijemo:

- 50 ml vina,
- 5 ml raztopine škroba (2.3.1.4),
- 30 mg EDTA kompleksona III (2.3.1.1),
- 3 ml 1/10 (v/v) H_2SO_4 (2.3.1.3).

Takoj titiramo z 0,025 M raztopino joda (2.3.1.5), dokler se ne pokaže modro obarvanje, ki je obstojno 10 do 15 sekund. Prostornino porabljenega joda označimo z n ml.

2.3.3.2 Žveplov dioksid

Dodamo 8 ml 4 M raztopine natrijevega hidroksida (2.3.1.2), mešanico enkrat stresemo in jo pustimo stati 5 minut. Hkrati in med močnim mešanjem dodamo vsebino manjše čaše, v kateri je 10 ml 1: 10 (v/v) žveplove kisline (2.3.1.3). Takoj titiramo z 0,025 M raztopino joda (2.3.1.5); porabljeno prostornino označimo z n' ml.

Dodamo 20 ml 4 M raztopine natrijevega hidroksida (2.3.1.2), enkrat stresemo in pustimo stati 5 minut. Razredčimo z 200 ml ledeno mrzle vode.

Hkrati in med močnim mešanjem dodamo vsebino epruvete, v kateri je 30 ml 1: 10 (v/v) žveplove kisline (2.3.1.3). Prosti žveplov dioksid takoj titiramo z 0,025 M joda (2.3.1.5), porabljeno prostornino pa označimo z n'' ml.

2.3.4 *Izražanje rezultatov*

2.3.4.1 Izračun:

Prosti žveplov dioksid v miligramih na liter: $32 n$.

Skupni žveplov dioksid v miligramih na liter: $32 (n + n' + n'')$.

Opombe:

(1) Za rdeča vina z nizko koncentracijo SO_2 je primernejša uporaba raztopine joda, ki je bolj razredčena kakor 0,025 M (npr. 0,01 M. Tedaj v zgornjih formulah faktor 32 zamenjamo z 12,8).

- (2) Za rdeča vina je priporočljiva uporaba osvetlitve od spodaj s snopom rumene luči iz navadne električne žarnice, ki gre skozi raztopino kalijevega kromata, ali pa uporabimo natrijevo žarnico. Določitev izvedemo v temni sobi, opazujemo pa transparentnost vina, ki v končni točki postane neprozorno.
- (3) Če je koncentracija žveplovega dioksida (H_2SO_3) blizu zakonsko dovoljene meje ali pa jo presega, koncentracijo skupnega žveplovega dioksida določimo z referenčno metodo.
- (4) Če je določitev prostega žveplovega dioksida posebej zahtevana, izvedemo analizo na vzorcu, ki je bil dva dni pred analizo hranjen v anaerobnih pogojih in pri temperaturi 20 °C. Tudi določitev izvedemo pri 20 °C.
- (5) Ker jod v kislem mediju oksidira nekatere snovi, to količino joda ugotovimo za bolj natančno določitev. Zato prosti žveplov dioksid vezemo s prebitno količino etanola ali propanala pred izvedbo titracije z jodom. V 300 ml erlenmajerico s 50 ml vina dodamo 5 ml raztopine etanola ($\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$) s koncentracijo 7 g/l ali 5 ml raztopine propanala ($\text{C}_3\text{H}_7\text{O}$) s koncentracijo 10 g/l.

Erlenmajerico zamašimo in pustimo stati vsaj 30 minut. Dodamo 3 ml 1:10 v/v žveplove kisline (2.3.1.3) in dovolj 0,025 M joda (2.3.1.5), da se barva škroba spremeni. Porabljeno prostornino joda označimo z n''' ml. Odšteti jo moramo od n (prosti žveplov dioksid) in od $n + n' + n''$ (skupni žveplov dioksid).

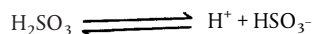
n''' je ponavadi majhen, od 0,2 do 0,3 ml 0,025 M joda. Če pa je bila vinu dodana askorbinska kislina, je vrednost n''' mnogo večja in obstaja možnost vsaj približnega merjenja količine te kisline z uporabo vrednosti n''' , saj 1 ml 0,025 M joda oksidira 4,4 mg askorbinske kisline. Z določanjem n''' se dokaj preprosto ugotavlja navzočnost preostale askorbinske kisline v količinah nad 20 mg/l v vinih, katerim je bila dodana.

3. MOLEKULARNA OBLIKA ŽVEPLOVEGA DIOKSIDA

3.1 Princip metode

Odstotek molekularne oblike žveplovega dioksida, H_2SO_3 , v prostem žveplovem dioksidu izračunamo kot funkcijo vrednosti pH, alkoholne stopnje in temperature.

Za dano temperaturo in alkoholno stopnjo:



$$[\text{H}_2\text{SO}_3] = \frac{L}{10^{(pH - pK_M) + 1}} \quad (1)$$

z

$$pK_M = pK_T - \frac{A\sqrt{I}}{1 + B\sqrt{I}}$$

$$L = [\text{H}_2\text{SO}_3] + [\text{HSO}_3^-]$$

pri čemer je

I = ionska moč,

A in B = koeficienta, ki se spreminjata s temperaturo in alkoholno stopnjo,

K_T = konstanta termodinamičnega razpada: vrednosti pK_T za različne alkoholne stopnje in temperature so dane v tabeli 1,

K_M = konstanta mešanega razpada.

Če vzamemo srednjo vrednost 0,038 za ionsko moč I , v tabeli 2 dobimo vrednosti pK_M za različne temperature in alkoholne stopnje.

Vsebnost molekularne oblike žveplovega dioksida, ki jo izračunamo z uporabo izraza (1), je dana v tabeli 3 za različne vrednosti pH, temperaturo in alkoholne stopnje.

3.2 Izračun

Če poznamo vrednost pH vina in alkoholno stopnjo, odstotek molekularne oblike žveplovega dioksida dobimo v tabeli 3 za temperaturo T °C. Označimo ga z $X\%$.

Vsebnost molekularne oblike žveplovega dioksida v mg/l je:

$$X \times C$$

pri čemer je C = vsebnost prostega žveplovega dioksida v mg/l.

TABELA 1

Vrednosti konstante termodinamičnega razpada pK_T

Alkoholna stopnja (% vol)	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

Vrednosti konstante mešanega razpada pK_M ($I = 0,038$)

Alkoholna stopnja (% vol)	Temperatura (°C)				
	20	25	30	35	40
0	1,723	1,925	2,143	2,257	2,416
5	1,819	2,020	2,220	2,317	2,446
10	1,916	2,116	2,311	2,405	2,522
15	2,014	2,216	2,417	2,520	2,640
20	2,114	2,317	2,538	2,663	2,803

TABELA 3

Molekularna oblika žveplovega dioksida kot odstotek v prostem žveplovem dioksidu

Molekularna oblika SO ₂ /prosti SO ₂ (%)		T = 20 °C			I = 0,038
pH	Alkoholna stopnja (% vol)				
	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

TABELA 3
(Nadaljevanje)

pH	T = 35 °C				
	Alkoholna stopnja (% vol)				
	0	5	10	15	20
2,8	22,27	24,75	28,71	34,42	42,18
2,9	18,53	20,71	24,24	29,42	36,69
3,0	15,31	17,18	20,26	24,88	31,52
3,1	12,55	14,15	16,79	20,83	26,77
3,2	10,24	11,58	13,82	17,28	22,51
3,3	8,31	9,42	11,30	14,23	18,74
3,4	6,71	7,63	9,19	11,65	15,49
3,5	5,44	6,16	7,44	9,48	12,71
3,6	4,34	4,95	6,00	7,68	10,36
3,7	3,48	3,98	4,88	6,20	8,41
3,8	2,78	3,18	3,87	4,99	6,80
T = 40 °C					
2,8	29,23	30,68	34,52	40,89	50,14
2,9	24,70	26,01	29,52	35,47	44,74
3,0	20,67	21,83	24,96	30,39	38,85
3,1	17,15	18,16	20,90	25,75	33,54
3,2	14,12	14,98	17,35	21,60	28,62
3,3	11,55	12,28	14,29	17,96	24,15
3,4	9,40	10,00	11,70	14,81	20,19
3,5	7,61	8,11	9,52	12,13	16,73
3,6	6,14	6,56	7,71	9,88	13,77
3,7	4,94	5,28	6,22	8,01	11,25
3,8	3,97	4,24	5,01	6,47	9,15

26. NATRIJ

1. PRINCIP METOD

1.1 Referenčna metoda: atomska absorpcijska spektrofotometrija

Natrij določamo neposredno v vinu z atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo, potem ko dodamo sredstvo za zaviranje ionizacije (cezijev klorid), s čimer preprečimo ionizacijo natrija.

1.2 Običajna metoda: plamenska fotometrija

Natrij določimo s plamensko fotometrijo neposredno v razredčenem vinu (najmanj 1 : 10).

2. REFERENČNA METODA

2.1 Reagenti

2.1.1 Raztopina, ki vsebuje 1 g natrija na liter:

Uporabimo standardno raztopino, ki je na voljo na trgu, vsebujočo 1 g natrija na liter. To raztopino lahko pripravimo tako, da raztopimo 2,542 g brezvodnega natrijevega klorida, NaCl, v destilirani vodi in dopolnimo do 1 litra.

To raztopino hranimo v polietilenski steklenici.

2.1.2 Matična (modelna) raztopina:

citronska kislina, $C_6H_8O_7 \times H_2O$	3,5 g
saharoza, $C_{12}H_{22}O_{11}$	1,5 g
glicerol, $C_3H_8O_3$	5,0 g
brezvodni kalcijev klorid, $CaCl_2$	50 mg
brezvodni magnezijev klorid, $MgCl_2$	50 mg
absolutno čisti alkohol, C_2H_5OH	50 ml
deionizirana voda do	500 ml

2.1.3 Raztopina cezijevega klorida, ki vsebuje 5 % cezija:

V 100 ml destilirane vode raztopimo 6,330 g cezijevega klorida, CsCl.

2.2 Aparature

2.2.1 Atomski absorpcijski spektrofotometer z gorilcem na zmes zraka in acetilena.

2.2.2 Žarnica z natrijevo votlo katodo.

2.3 Postopek

2.3.1 Priprava vzorca

2,5 ml vina odpipetiramo v 50 ml merilno bučko, dodamo 1 ml raztopine cezijevega klorida (2.1.3) in dopolnimo do oznake z destilirano vodo.

2.3.2 *Umerjanje*

V vsako od kompleta 100 ml merilnih bučk nalijemo po 5,0 ml matične raztopine in vanje ustrezno dodamo po 0, 2,5, 5,0, 7,5 in 10 ml 1 g/l raztopine natrija (2.1.1), poprej razredčene 1: 100. V vsako bučko dodamo po 2 ml raztopine cezijevega klorida (2.1.3) in dopolnimo do 100 ml z destilirano vodo.

Tako pripravljene standardne raztopine po vrsti vsebujejo po 0, 0,25, 0,50, 0,75 in 1,00 mg natrija na liter in vsaka tudi po 1 g cezija na liter. Te raztopine hranimo v polietilenskih steklenicah.

2.3.3 *Določitev*

Valovno dolžino nastavimo na 589,0 nm. Skalo absorpcije nastavimo na ničlo z uporabo matične raztopine, ki vsebuje 1 g cezija na liter (2.3.2). Razredčeno vino prečrpamo neposredno v gorilec spektrofotometra, po vrsti pa mu sledijo še standardne raztopine (2.3.2). Odčitamo absorpcijo. Ponovimo vsako meritev.

2.4 **Izražanje rezultatov**2.4.1 *Izračun*

Izdelamo graf, ki nam kaže absorpcijo kot funkcijo koncentracije natrija v standardnih raztopinah.

Na grafu zabeležimo absorpcijo iz razredčenega vina in določimo koncentracijo natrija C v miligramih na liter.

Koncentracija natrija C v miligramih na liter vina je tako $20 C$ in je izražena z najbližjo celo številko.

2.4.2 *Ponovljivost (r)*

$$r = 1 + 0,024 x_i \text{ mg/l.}$$

x_i = koncentracija natrija v vzorcu v mg/l.

2.4.3 *Obnovljivost (R)*

$$R = 2,5 + 0,05 x_i \text{ mg/l.}$$

x_i = koncentracija natrija v vzorcu v mg/l.

3. **OBIČAJNA METODA**3.1 **Reagenti**3.1.1 *Referenčna raztopina, ki vsebuje 20 mg natrija na liter*

absolutno čisti alkohol (C_2H_5OH)	10	ml
citronska kislina ($C_6H_8O_7 \times H_2O$)	700	mg
saharoza ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	300	mg
glicerol ($C_3H_8O_3$)	1 000	mg
kalijev hidrogentartrat ($C_4H_5KO_6$)	481,3	mg
brezvodni kalcijev klorid ($CaCl_2$)	10	mg
brezvodni magnezijev klorid ($MgCl_2$)	10	mg
suhi natrijev klorid ($NaCl$) ...	50,84	mg
voda do	1	liter

3.1.2 *Raztopina za redčenje*

absolutno čisti alkohol (C_2H_5OH)	10 ml
citronska kislina ($C_6H_8O_7 \times H_2O$)	700 mg
saharoza ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	300 mg
glicerol ($C_3H_8O_3$)	1 000 mg
kalijev hidrogentartrat ($C_4H_5KO_6$)	481,3 mg
brezvodni kalcijev klorid ($CaCl_2$)	10 mg
brezvodni magnezijev klorid ($MgCl_2$)	10 mg
voda do	1 liter

Za pripravo raztopine 3.1.1 in 3.1.2 raztopimo kalijev hidrogentartrat v približno 500 ml zelo vroče destilirane vode, raztopino zmešamo s 400 ml destilirane vode, v kateri so že raztopljene druge kemikalije, in dopolnimo do enega litra.

Raztopine hranimo v polietilenskih steklenicah, tako da jim dodamo dve kapljici alil izotiocianata.

3.2 **Aparatura**

3.2.1 Plamenski fotometer na zmes zraka in butana.

3.3 **Postopek**3.3.1 *Umerjanje*

V 100 ml merilne bučke nalijemo po 5, 10, 15, 20 in 25 ml referenčne raztopine (3.1.1) in dopolnimo do 100 ml z raztopino za redčenje (3.1.2). Tako dobimo raztopine, ki vsebujejo ustrezno po 1, 2, 3, 4 in 5 mg natrija na liter.

3.3.2 *Določitev*

Meritve izvajamo pri 589,0 nm. Opravimo prilagoditev na 100 % prepustnost z uporabo destilirane vode. Standardne raztopine (3.3.1) zaporedno prečrpamo neposredno v gorilec fotometra, zatem pa še vino, ki ga razredčimo z destilirano vodo v razmerju 1 : 10, in zabeležimo odčitane vrednosti prepustnosti v odstotkih. Po potrebi lahko vino, ki je že bilo razredčeno 1 : 10, še nadalje redčimo z raztopino za redčenje (3.1.2).

3.4 **Izražanje rezultatov**3.4.1 *Izračun*

Izdelamo graf, ki prikazuje spremembe v odstotkih prepustnosti koncentracije natrija v standardnih raztopinah. Na grafu zabeležimo prepustnost, dobljeno iz vzorca razredčenega vina, in določimo ustrezno koncentracijo C natrija.

Koncentracija natrija v mg natrija na liter je $F \times C$, pri čemer je F faktor redčenja.

3.4.2 *Ponovljivost (r)*

$r = 1,4 \text{ mg/l}$ (razen likerskega vina).

$r = 2,0 \text{ mg/l}$ za likersko vino.

3.4.3 *Obnovljivost (R)*

$R = 4,7 + 0,08 x_i \text{ mg/l}$.

x_i = koncentracija natrija v vzorcu v mg/l.

27. KALIJ

1. PRINCIP METOD

1.1 Referenčna metoda

Kalij določamo neposredno v razredčenem vinu z atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo, potem ko dodamo sredstvo za zaviranje ionizacije (cezijev klorid), s čimer preprečimo ionizacijo kalija.

1.2 Običajna metoda

Kalij določimo neposredno v razredčenem vinu s plamensko fotometrijo.

2. REFERENČNA METODA

2.1 Reagenti

2.1.1 Raztopina, ki vsebuje 1 g kalija na liter:

Uporabimo standardno raztopino, ki je na voljo na trgu, vsebujočo 1 g kalija na liter. To raztopino lahko pripravimo tako, da raztopimo 4,813 g kalijevega hidrogenatratata ($C_4H_5KO_6$) v destilirani vodi in dopolnimo do 1 litra.

2.1.2 Matična (modelna) raztopina:

citronska kislina ($C_6H_8O_7 \times H_2O$)	3,5 g
saharoza ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	1,5 g
glicerol ($C_3H_8O_3$)	5,0 g
brezvodni kalcijev klorid ($CaCl_2$)	50 mg
brezvodni magnezijev klorid ($MgCl_2$)	50 mg
absolutno čisti alkohol (C_2H_5OH)	50 ml
voda do	500 ml

2.1.3 Raztopina cezijevega klorida, ki vsebuje 5 % cezija:

Raztopimo 6,33 g cezijevega klorida, CsCl, v 100 ml destilirane vode.

2.2 Aparature

2.2.1 Atomski absorpcijski spektrofotometer z gorilcem na zmes zraka in acetilena.

2.2.2 Žarnica s kalijevo votlo katodo.

2.3 Postopek

2.3.1 Priprava vzorca

2,5 ml vina (poprej razredčenega 1 : 10) odpipetiramo v 50 ml merilno bučko, dodamo 1 ml raztopine cezijevega klorida (2.1.3) in dopolnimo do oznake z destilirano vodo.

2.3.2 Umerjanje

V vsako od kompleta 100 ml merilnih bučk nalijemo po 5,0 ml matične raztopine (2.1.2) in vanje ustrezno dodamo po 0, 2,0, 4,0, 6,0 in 8,0 ml 1 g/l raztopine kalija (2.1.1) (poprej razredčene 1 : 10). V vsako bučko dodamo po 2 ml raztopine cezijevega klorida (2.1.3) in dopolnimo do 100 ml z destilirano vodo.

Tako pripravljene standardne raztopine vsebujejo po 0, 2, 4, 6 in 8 mg kalija na liter in vsaka tudi po 1 g cezija na liter. Te raztopine hranimo v polietilenskih steklenicah.

2.3.3 Določitev

Valovno dolžino nastavimo na 769,9 nm. Skalo absorpcije nastavimo na ničlo z uporabo matične raztopine, ki vsebuje 1 g cezija na liter (2.3.2). Razredčeno vino (2.3.1) prečrpamo neposredno v gorilec spektrofotometra, po vrsti pa mu sledijo še standardne raztopine (2.3.2). Odčitamo absorpcijo. Ponovimo vsako meritev.

2.4 Izražanje rezultatov

2.4.1 Izračun

Izdelamo graf, ki nam kaže spremembe absorpcije kot funkcijo koncentracije kalija v standardnih raztopinah.

Na grafu zabeležimo srednjo vrednost absorpcije iz vzorca razredčenega vina in določimo koncentracijo kalija C v miligramih na liter.

Koncentracija kalija, izražena v miligramih na liter vina z najbližjo celo številko, je tako $F \times C$, pri čemer je F faktor redčenja (tukaj 200).

2.4.2 Ponovljivost (r)

$r = 35 \text{ mg/l}$.

2.4.3 Obnovljivost (R)

$R = 66 \text{ mg/l}$.

2.4.4 Drugi načini izražanja rezultatov

V tisočinkah enote na liter: $0,0256 \times F \times C$.

V mg kalijevega hidrogentartrata na liter: $4,813 \times F \times C$.

3. OBIČAJNA METODA: PLAMENSKA FOTOMETRIJA

3.1 Reagenti

3.1.1 Referenčna raztopina, ki vsebuje 100 mg kalija na liter

absolutno čisti alkohol (C_2H_5OH)	10	ml
citronska kislina ($C_6H_8O_7 \times H_2O$)	700	mg
saharoza ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	300	mg
glicerol ($C_3H_8O_3$)	1 000	mg
natrijev klorid ($NaCl$)	50,8	mg
brezvodni kalcijev klorid ($CaCl_2$)	10	mg
brezvodni magnezijev klorid ($MgCl_2$)	10	mg
suhi kalijev hidrogentartrat ($C_4H_5KO_6$)	481,3	mg
voda do	1 000	ml

Kalijev hidrogentartrat raztopimo v 500 ml zelo vroče destilirane vode, to raztopino zmešamo s 400 ml destilirane vode, v kateri so bile raztopljene že druge kemikalije, in dopolnimo do enega litra.

3.1.2 *Raztopina za redčenje*

absolutno čisti alkohol (C_2H_5OH)	10	ml
citronska kislina ($C_6H_8O_7 \times H_2O$)	700	mg
saharoza ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	300	mg
glicerol ($C_3H_8O_3$)	1 000	mg
natrijev klorid (NaCl)	50,8	mg
brezvodni kalcijev klorid ($CaCl_2$)	10	mg
brezvodni magnezijev klorid ($MgCl_2$)	10	mg
vinska kislina ($C_4H_6O_6$)	383	mg
voda do	1 000	ml

Raztopine ohranimo v polietilenskih steklenicah, tako da jim dodamo dve kapljici alil izotiocianata.

3.2 **Aparatura**

3.2.1 Plamenski fotometer na zmes zraka in butana.

3.3 **Postopek**3.3.1 *Umerjanje*

V komplet 100 ml merilnih bučk nalijemo po 25, 50, 75 in 100 ml referenčne raztopine (3.1.1) in dopolnimo do 100 ml z raztopino za redčenje (3.1.2). Tako dobimo raztopine, ki vsebujejo po 25, 50, 75 in 100 mg kalija na liter.

3.3.2 *Določitev*

Meritve izvajamo pri 766 nm. Opravimo prilagoditev na 100 % prepustnost z uporabo destilirane vode. Standardne raztopine (3.3.1) zaporedno prečrpamo neposredno v gorilec fotometra, zatem pa še vino, ki ga 1 : 10 razredčimo z destilirano vodo, in zabeležimo odčitane vrednosti. Po potrebi lahko vino, ki je že bilo razredčeno 1 : 10, še nadalje redčimo z raztopino za redčenje (3.1.2).

3.4 **Izražanje rezultatov**3.4.1 *Izračun*

Izdelamo graf spremembe v odstotkih prepustnosti kot funkcijo koncentracije kalija v standardnih raztopinah. Na grafu zabeležimo prepustnost, dobljeno iz vzorca razredčenega vina, in določimo ustrezno koncentracijo C kalija.

Koncentracija kalija v mg kalija na liter, izražena z najbližjo celo številko, je $F \times C$, pri čemer je F faktor redčenja.

3.4.2 *Ponovljivost (r)*

$r = 17 \text{ mg/l}$.

3.4.3 *Obnovljivost (R)*

$R = 66 \text{ mg/l}$.

3.4.4 *Drugi načini izražanja rezultatov:*

V tisočinkah enote na liter: $0,0256 \times F \times C$.

Kalijev hidrogentartrat v mg na liter: $4,813 \times F \times C$.

28. MAGNEZIJ

1. PRINCIP METODE

Magnezij določimo z atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo neposredno v ustrezno razredčenem vinu.

2. REAGENTI

2.1 **Koncentrirana standardna raztopina, ki vsebuje 1 g magnezija na liter**

Uporabimo standardno raztopino magnezija (1 g/l), ki je na voljo na trgu. Pripravimo jo tako, da 8,3646 g magnezijevega klorida ($\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$) raztopimo v destilirani vodi in dopolnimo do 1 litra.

2.2 **Razredčena standardna raztopina, ki vsebuje 5 mg magnezija na liter**

Opomba: Standardne raztopine magnezija hranimo v polietilenskih steklenicah.

3. APARATURI

3.1 Atomski absorpcijski spektrofotometer z gorilcem na zmes zraka in acetilena.

3.2 Žarnica z magnezijevo votlo katodo.

4. POSTOPEK

4.1 **Priprava vzorca**

Vino razredčimo z destilirano vodo v razmerju 1 : 100.

4.2 **Umerjanje**

V vsako od kompleta 100 ml merilnih bučk nalijemo po 5, 10, 15 in 20 ml razredčene standardne raztopine magnezija (2.2) in dopolnimo do 100 ml z destilirano vodo. Tako pripravljene standardne raztopine vsebujejo po 0,25, 0,50, 0,75 in 1,0 mg magnezija na liter. Te raztopine hranimo v polietilenskih steklenicah.

4.3 **Določitev**

Valovno dolžino nastavimo na 285 nm. Skalo absorpcije nastavimo na ničlo z uporabo destilirane vode. Razredčeno vino prečrpamo neposredno v gorilec spektrofotometra, po vrsti pa mu sledijo še standardne raztopine (4.2).

Odčitamo absorpcije. Ponovimo vsako meritev.

5. IZRAŽANJE REZULTATOV

5.1 **Izračun**

Izdelamo graf spremembe absorpcije kot funkcijo koncentracije magnezija v standardnih raztopinah. Na grafu zabeležimo srednjo vrednost absorpcije, dobljene iz razredčenega vzorca vina, in določimo koncentracijo magnezija C v miligramih na liter.

Koncentracija magnezija v miligramih na liter vina, zaokrožena na najbližjo celo število, je 100 C.

5.2 Ponovljivost (r) $r = 3 \text{ mg/l.}$ **5.3 Obnovljivost (R)** $R = 8 \text{ mg/l.}$

29. KALCIJ

1. PRINCIP METODE

Kalcij določimo z atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo neposredno v ustrezno razredčenem vinu, potem ko smo mu dodali sredstvo za zaviranje ionizacije.

2. REAGENTI

2.1 Standardna raztopina, ki vsebuje 1 g kalcija na liter

Uporabimo standardno raztopino kalcija 1 g/l, ki je na voljo na trgu. To raztopino lahko pripravimo tako, da raztopimo 2,5 g kalcijevega karbonata, CaCO_3 , v količini 1 : 10 (v/v) HCl, ki zadostuje za popolno raztapljanje, in dopolnimo do enega litra z destilirano vodo.

2.2 Razredčena standardna raztopina, ki vsebuje 50 mg kalcija na liter

Opomba: Standardne raztopine kalcija hranimo v polietilenskih steklenicah.

2.3 Raztopina lantanovega klorida, ki vsebuje 50 g lantana na liter

V destilirani vodi raztopimo 13,369 g lantanovega klorida, $\text{LaCl}_3 \times 7\text{H}_2\text{O}$; dodamo 1 ml HCl, razredčene 1 : 10 (v/v), in dopolnimo do 100 ml.

3. APARATURI

3.1 Atomski absorpcijski spektrofotometer z gorilcem na zmes zraka in acetilena.

3.2 Žarnica s kalcijevo votlo katodo.

4. POSTOPEK

4.1 Priprava vzorca

V 20 ml merilno bučko nalijemo 1 ml vina, 2 ml raztopine lantanovega klorida (2.3) in dopolnimo do oznake z destilirano vodo. Vino, ki ga razredčimo v razmerju 1 : 20, vsebuje 5 g lantana na liter.

Opomba: Pri sladkih vinih zadostuje koncentracija 5 g lantana na liter, pod pogojem, da raztopina ne zmanjša vsebnosti sladkorja pod 2,5 g na liter. Za vina z višjo koncentracijo sladkorja je treba koncentracijo lantana povečati na 10 g na liter.

4.2 Umerjanje

V komplet 100 ml merilnih bučk nalijemo po 0, 5, 10, 15 in 20 ml razredčene standardne raztopine kalcija (2.2) in vsaki bučki dodamo po 10 ml raztopine lantanovega klorida (2.3) ter dopolnimo z destilirano vodo do 100 ml. Tako pripravljene raztopine vsebujejo po 0, 2,5, 5,0, 7,5 in 10 mg kalcija na liter in vsaka vsebuje po 5 g lantana na liter. Te raztopine hranimo v polietilenskih steklenicah.

4.3 Določitev

Valovno dolžino nastavimo na 422,7 nm. Skalo absorpcije nastavimo na ničlo z uporabo raztopine, ki vsebuje 5 g lantana na liter (4.2). Razredčeno vino prečrpamo neposredno v gorilec spektrofotometra, za njim pa se zvrsti še pet standardnih raztopin (4.2). Odčitamo absorpcije. Ponovimo vsako meritev.

5. IZRAŽANJE REZULTATOV

5.1 **Izračun**

Izdelamo graf spremembe absorpcije kot funkcijo koncentracije kalcija v standardnih raztopinah.

Na grafu zabeležimo srednjo vrednost absorpcije, dobljene iz razredčenega vzorca vina, in določimo koncentracijo kalcija C . Koncentracija kalcija v miligramih na liter vina, zaokrožena na najbližjo celo število, je $20 C$.

5.2 **Ponovljivost (r)**

Koncentracija < 60 mg/l: $r = 2,7$ mg/l.

Koncentracija > 60 mg/l: $r = 4$ mg/l.

5.3 **Obnovljivost (R)**

$R = 0,114 x_i - 0,5$.

x_i = koncentracija v vzorcu v mg/l.

30. **ŽELEZO**

1. PRINCIP METOD

Referenčna metoda

Po ustrezni razredčitvi vina in odstranitvi alkohola železo določimo neposredno z atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo.

Običajna metoda

Po razkroju v 30 % raztopini vodikovega peroksida se skupno železo, ki je v obliki Fe(III), skrči na obliko Fe(II) in ga določimo z obarvanjem, ki ga povzroči orto-fenantrolin.

2. REFERENČNA METODA

2.1 **Reagenti**

2.1.1 Koncentrirana standardna raztopina železa, ki vsebuje 1 g Fe(III) na liter.

Uporabimo standardno raztopino (1 g/l), ki je na voljo na trgu. Pripravimo jo tako, da 8,6341 g železovega amonijevega sulfata ($\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \times 12\text{H}_2\text{O}$) raztopimo v destilirani vodi, ki ji rahlo povečamo kislost z 1 M klorovodikovo kislino, in dopolnimo do enega litra.

2.1.2 Razredčena standardna raztopina železa, ki vsebuje 100 mg železa na liter.

2.2 **Aparature**

2.2.1 Rotacijski izparilnik s termostatsko nadzorovano vodno kopeljo.

2.2.2 Atomski absorpcijski spektrofotometer z gorilcem na zmes zraka in acetilena.

2.2.3 Žarnica z železovo votlo katodo.

2.3 **Postopek**2.3.1 *Priprava vzorca*

Alkohol odstranimo iz vina tako, da zmanjšamo prostornino vzorca na polovico prvotne prostornine z uporabo rotacijskega izparilnika (50 do 60 °C). Dopolnimo do prvotne prostornine z destilirano vodo.

Pred določanjem po potrebi razredčimo.

2.3.2 *Umerjanje*

V komplet 100 ml merilnih bučk nalijemo po 1, 2, 3, 4 in 5 ml raztopine, ki vsebuje 100 mg železa na liter (2.1.2), in dopolnimo do 100 ml z destilirano vodo. Tako pripravljene raztopine vsebujejo po 1, 2, 3, 4 in 5 mg železa na liter.

Te raztopine moramo hraniti v polietilenskih steklenicah.

2.3.3 *Določitev*

Valovno dolžino nastavimo na 248,3 nm. Skalo absorpcije nastavimo na ničlo z uporabo destilirane vode. Razredčeno vino prečrpamo neposredno v gorilec spektrofotometra, po vrsti pa mu sledi še pet standardnih raztopin (2.3.2). Odčitamo absorpcije. Ponovimo vsako meritev.

2.4 Izražanje rezultatov**2.4.1 Izračun**

Izdelamo graf spremembe absorpcije kot funkcijo koncentracije železa v standardnih raztopinah. Na grafu zabeležimo srednjo vrednost absorpcije, dobljene iz razredčenega vzorca vina, in določimo koncentracijo železa C.

Koncentracija železa v miligramih na liter vina, izražena na eno decimalno mesto natančno, je F. C, pri čemer je F faktor redčenja.

3. OBIČAJNA METODA**3.1 Reagenti**

3.1.1 Vodikov peroksid, H_2O_2 , 30 % (m/v) raztopina, brez železa.

3.1.2 1 M klorovodikova kislina, brez železa.

3.1.3 Amonijev hidroksid ($\rho_{20} = 0,92$ g/ml).

3.1.4 Vrelni kamenčki, obdelani z vrelo klorovodikovo kislino, razredčeno 1 : 2, in izprani z destilirano vodo.

3.1.5 Raztopina hidrokinona, $C_6H_6O_2$, 2,5 %, ki ji povečamo kislost z 1 ml koncentrirane žveplove kisline ($\rho_{20} = 1,84$ mg/l) na 100 ml raztopine. To raztopino moramo hraniti v rumeni steklenici v hladilniku in jo zavreči ob najmanjšem znaku potemnitve.

3.1.6 Raztopina natrijevega sulfita, Na_2SO_3 , 20 %, pripravljena iz nevtralnega brezvodnega natrijevega sulfita.

3.1.7 Raztopina ortofenantrolina, $C_{12}H_8N_2$, 0,5 % v 96 % vol alkoholu.

3.1.8 Raztopina amonijevega acetata, CH_3COONH_4 , 20 % (m/v).

3.1.9 Raztopina Fe(III) z 1 g železa na liter. Priporočljiva je uporaba raztopine, ki je na voljo na trgu. Po izbiri lahko pripravimo tudi 1 000 mg/l Fe(III) raztopino, tako da raztopimo 8,6341 g železovega amonijevega sulfata ($FeNH_4(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$) v 100 ml 1 M klorovodikove kisline (3.1.2) in dopolnimo do enega litra z 1 M klorovodikovo kislino (3.1.2).

3.1.10 Razredčimo standardno železovo raztopino, ki vsebuje 100 miligramov železa na liter.

3.2 Aparaturi

3.2.1 Kjeldahlova bučka, 100 ml.

3.2.2 Spektrofotometer za merjenje pri valovni dolžini 508 nm.

3.3 Postopek**3.3.1 Razkroj**

3.3.1.1 Za vina z vsebnostjo sladkorja pod 50 g/l:

V 100 ml Kjeldahlovo bučko nalijemo 25 ml vina, 10 ml raztopine vodikovega peroksida (3.1.1) in nekaj vrelnih kamenčkov (3.1.4). Mešanico skoncentriramo na prostornino 2 do 3 ml.

Pustimo, da se ohladi, in ostanku dodamo dovolj amonijevega hidroksida (3.1.3), da tekočina postane alkalna in se hidroksidi oborijo, pri čemer pa pazimo, da ne zmočimo sten bučke.

Po ohlajanju v alkalno tekočino dodamo dovolj 1 M klorovodikove kisline (3.1.2), da se obarjeni hidroksidi raztopijo, in dobljeno raztopino prelijemo v 100 ml merilno bučko. Kjeldahlovo bučko izplaknemo z 1 M klorovodikovo kislino (3.1.2) in dodamo to kislino v merilno bučko, da prostornino povečamo na 100 ml.

3.3.1.2 Za mošte in vina z vsebnostjo sladkorja nad 50 g/l:

3.3.1.2.1 Če je vsebnost sladkorja med 50 in 200 mg/l, 25 ml vzorec vina obdelamo z 20 ml raztopine vodikovega peroksida (3.1.1).

Nadaljujemo v skladu s 3.3.1.1.

3.3.1.2.2 Če je vsebnost sladkorja nad 200 g/l, moramo vzorce vina ali mošta razredčiti v razmerju 1 : 2 ali po možnosti 1 : 4, preden jih obdelamo v skladu s 3.3.1.2.1.

3.3.2 Slepi poskus

Slepi poskus izvedemo z destilirano vodo, pri čemer uporabimo enako prostornino raztopine vodikovega peroksida (3.1.1), kakor smo jo uporabili za razkroj, in enak postopek, kakor je opisano v 3.3.1.1.

3.3.3 Določitev

V dve ločeni 50 ml merilni bučki nalijemo po 20 ml raztopine klorovodikove kisline, ki je nastala pri postopku razkroja (3.3.1.1), in 20 ml raztopine klorovodikove kisline iz „slepega poskusa“ (3.3.2). V vsako bučko dodamo po 2 ml raztopine hidrokinona (3.1.5), 2 ml raztopine sulfita (3.1.6) in 1 ml raztopine ortofenantrolina (3.1.7). Pustimo stati 15 minut in v tem času se Fe(III) skrči na Fe(II). Dodamo 10 ml raztopine amonijevega acetata (3.1.8), dopolnimo do 50 ml z destilirano vodo in obe merilni bučki stresemo. Raztopino iz slepega poskusa uporabimo za nastavitev ničle na skali absorpcije pri 508 nm in izmerimo absorpcijo raztopine pri enaki valovni dolžini.

3.3.4 Umerjanje

V komplet 50 ml merilnih bučk nalijemo po 0,5, 1, 1,5 in 2 ml raztopine, ki vsebuje železo v količini 100 mg na liter (3.1.10), in v vsako dodamo po 20 ml destilirane vode. S postopkom, opisanim v 3.3.3, izmerimo absorpcijo vsake od teh pripravljenih standardnih raztopin, ki v enakem zaporedju vsebujejo po 50, 100, 150 in 200 mikrogramov železa.

3.4 Izražanje rezultatov

3.4.1 Izračun

Izdelamo graf spremembe absorpcije kot funkcijo koncentracije železa v standardnih raztopinah. Zabeležimo absorpcijo raztopine za analizo in izračunamo koncentracijo železa C v 20 ml vzorcu klorovodikove kisline, ki je nastala pri postopku razkroja, tj. v 5 ml vzorca vina za analizo.

Koncentracija železa v miligramih na liter vina, izražena na eno decimalno mesto natančno, je 200 C.

Če je bilo vino (ali mošt) razredčeno, je koncentracija železa v miligramih na liter vina, izražena na eno decimalno mesto natančno, $200 \times F \times C$, pri čemer je F faktor redčenja.

31. **BAKER**1. **PRINCIP METODE**

Metoda temelji na uporabi atomske absorpcijske spektrofotometrije.

2. **APARATURE**

2.1 Platinska posoda.

2.2 Atomski absorpcijski spektrofotometer.

2.3 Žarnica z bakrovo votlo katodo.

2.4 Pogonski plin: zmes zraka in acetilena ali dušikovega oksida in acetilena.

3. **REAGENTI**

3.1 Čisti baker.

3.2 Dušikova kislina, HNO_3 , koncentrirana 65 %, $\rho_{20} = 1,38 \text{ g/ml}$.

3.3 Razredčena dušikova kislina, 1 : 2 (v/v).

3.4 Raztopina, ki vsebuje baker pri 1 g/l.

Uporabimo standardno raztopino bakra, ki je na voljo na trgu. Pripravimo jo lahko tako, da stehamo 1,000 g čistega bakra in ga v celoti prenesemo v 1 000 ml merilno bučko. Dodamo ravno pravšnjo količino 1 : 2 (v/v) razredčene dušikove kisline (3.3), da se kovina raztopi, dodamo 10 ml koncentrirane dušikove kisline (3.2) in dopolnimo do oznake z dvakrat destilirano vodo.

3.5 Raztopina, ki vsebuje baker pri 100 mg/l.

V 100 ml merilno bučko vlijemo 10 ml raztopine, pripravljene kakor v 3.4, in dopolnimo do oznake z dvakrat destilirano vodo.

4. **POSTOPEK**4.1 **Priprava vzorca in določitev bakra**

Po potrebi pripravimo raztopino, ki je ustrezno razredčena z dvakrat destilirano vodo.

4.2 **Umerjanje**

V 100 ml merilno bučko odpipetiramo 0,5, 1 in 2 ml raztopine 3.5 (100 mg bakra na liter) in dopolnimo do prostornine z dvakrat destilirano vodo: tako dobljene raztopine ustrezno vsebujejo po 0,5, 1 in 2 mg bakra na liter.

4.3 Izmerimo absorpcijo pri 324,8 nm. Nastavimo na ničlo z uporabo dvakrat destilirane vode. Absorpcijo izmerimo neposredno v standardnih raztopinah, pripravljenih v skladu s 4.2. Izvedemo dvakratno.

5. IZRAŽANJE REZULTATOV

5.1 **Izračun**

Izdelamo graf spremembe absorpcije kot funkcijo koncentracije bakra v standardnih raztopinah.

Z uporabo izmerjene absorpcije vzorcev na umeritveni krivulji odčitamo koncentracijo C v mg/l.

Če je F faktor redčenja, je koncentracija navzočega bakra dana v miligramih na liter s $F \times C$. Izrazimo jo na dve decimalni mesti natančno.

Opombi:

- (a) Izberemo raztopine za določitev umeritvene krivulje in razredčitve vzorca glede na občutljivost uporabljene aparature in koncentracije bakra, navzočega v vzorcu.
- (b) Kadar v vzorcu za analizo pričakujemo zelo nizke koncentracije bakra, izvedemo spodnji postopek. V platinsko posodo damo 100 ml vzorca in izparevamo na vodni kopeli pri 100 °C, dokler ne postane sirupasto. Po kapljicah dodamo 2,5 ml koncentrirane dušikove kisline (3.2), tako da popolnoma prekrijemo dno posode. Ostanek previdno žarimo na električni grelni plošči ali nad nizkim plamenom; nato posodo postavimo v električno žarilno peč pri 500 ± 25 °C in jo v njej pustimo eno uro. Po ohlajanju navlažimo pepel z 1 ml koncentrirane dušikove kisline (3.2) in ga medtem tremo s stekleno palčko; pustimo, da mešanica izhlapi, in ponovno žarimo. Posodo zopet postavimo v žarilno peč za 15 minut; postopek z dušikovo kislino ponovimo najmanj trikrat. Pepel raztopimo tako, da v posodo dodamo 1 ml koncentrirane dušikove kisline (3.2) in 2 ml dvakrat destilirane vode, in prenesemo v 10 ml bučko. Posodo operemo trikrat, pri čemer vsakič uporabimo 2 ml dvakrat destilirane vode. Na koncu dopolnimo do prostornine z dvakrat destilirano vodo.

32. KADMIJ

1. Princip

Kadmij določimo z neplamensko atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo neposredno v vinu.

2. APARATURE

Pred uporabo vso stekleno opremo operemo s koncentrirano dušikovo kislino, segreto na 70 do 80 °C, in jo izplaknemo z dvakrat destilirano vodo.

2.1 Atomski absorpcijski spektrofotometer z grafitno pečico, korekcijo ozadja in multipotenciometrom.

2.2 Žarnica s kadmijevo votlo katodo.

2.3 5 µl mikropipete s posebnimi konicami za merjenje atomske absorpcije.

3. REAGENTI

Uporabimo vodo, ki je bila dvakrat destilirana prek aparature iz borosilikatnega stekla, ali vodo podobne čistosti. Vsi reagenti morajo imeti priznano kakovost analitičnega reagenta in zlasti ne smejo vsebovati kadmija.

3.1 85 % fosforna kislina ($\rho_{20} = 1,71$ g/ml).

3.2 Raztopina fosforne kisline, ki jo dobimo tako, da 8 ml fosforne kisline razredčimo z vodo do 100 ml.

3.3 0,02 M raztopina dinatrijeve soli etilendiamintetraocetne kisline (EDTA).

3.4 Puferska raztopina pH 9: v 100 ml merilni bučki v nekaj mililitrih vode raztopimo 5,4 g amonijevega klorida, dodamo 35 ml raztopine amonijevega hidroksida ($\rho_{20} = 0,92$ g/ml), razredčenega na 25 % (v/v), in dopolnimo do 100 ml z vodo.

3.5 Eriokrom črni T: 1 % (w/w) trdna raztopina v natrijevem kloridu.

3.6 Kadmijev sulfat ($\text{CdSO}_4 \times 8\text{H}_2\text{O}$).

Titer kadmijevega sulfata moramo preveriti z naslednjo metodo:

Natehnamo natanko 102,6 mg vzorca kadmijevega sulfata in ga damo v cilindrično posodo skupaj z vodo ter stresamo, dokler se ne raztopi; dodamo 5 ml puferske raztopine pH 9 in približno 20 mg eriokrom črnega T. Titiramo z raztopino EDTA, dokler se indikator ne obarva modro.

Prostornina dodanega EDTA mora biti 20 ml. Če se prostornina nekoliko razlikuje, korigiramo stehtano testno količino kadmijevega sulfata, ki smo ga uporabili za pripravo referenčne raztopine.

3.7 Referenčna kadmijeva raztopina pri 1 g/l.

Uporabimo standardno raztopino, ki je na voljo na trgu. Dobimo jo tako, da raztopimo 2,2820 g kadmijevega sulfata v vodi in dopolnimo do enega litra. Raztopino hranimo v steklenici iz borosilikatnega stekla s steklenim zamaškom z obrusom.

4. POSTOPEK

4.1 Priprava vzorca

Razredčimo vino 1 : 2 (v/v) z raztopino fosforne kisline.

4.2 **Priprava umeritvenega razpona raztopin**

Z uporabo referenčne kadmijeve raztopine pripravimo razredčitve s titri po 2,5, 5, 10 in 15 µg kadmija na liter.

4.3 **Določitev**

4.3.1 *Programiranje peči (le kot napotek):*

Sušenje pri 100 °C: 30 sekund

Mineralizacija pri 900 °C: 20 sekund

Atomizacija pri 2 250 °C: 2 do 3 sekunde

Pretok dušika (plin za odplakovanje): 6 litrov/minuto

Opomba: Na koncu postopka temperaturo zvišamo na 2 700 °C, da očistimo peč.

4.3.2 *Meritve atomske absorpcije:*

Valovno dolžino nastavimo na 228,8 nm. Na skali absorpcije nastavimo ničlo z uporabo dvakrat destilirane vode. Z mikropipeto naneseemo v peč tri 5 µl količine vsake raztopine v umeritvenem razponu in količino vzorca raztopine za analizo. Zabeležimo izmerjene absorpcije. Izračunamo srednjo vrednost absorpcije iz rezultatov za tri količine.

5. **IZRAŽANJE REZULTATOV**

5.1 **Izračun**

Narišemo krivuljo spremembe absorpcije kot funkcijo koncentracij kadmija v raztopinah v umeritvenem razponu. Sprememba je linearna. V umeritveno krivuljo vnesemo srednjo vrednost absorpcije vzorčne raztopine in iz nje dobimo koncentracijo kadmija C. Koncentracija kadmija, izražena v mikrogramih na liter vina, je enaka:

2 C

33. SREBRO**1. PRINCIP METODE**

Metoda temelji na atomski absorpcijski spektrofotometriji po žarenju vzorca.

2. APARATURE

2.1 Platinska posoda.

2.2 Vodna kopel s termostatsko nadzorovano temperaturo 100 °C.

2.3 Peč, naravnana na 500 do 525 °C.

2.4 Atomski absorpcijski spektrofotometer.

2.5 Žarnica s srebrovo votlo katodo.

2.6 Pogonski plin: zrak, aceten.

3. REAGENTI

3.1 Srebrov nitrat, AgNO₃.

3.2 Dušikova kislina, HNO₃, koncentrirana 65 %, $\rho_{20} = 1,38$ g/ml.

3.3 Razredčena dušikova kislina, 1 : 10 (v/v).

3.4 Raztopina, ki vsebuje 1 g/l srebra.

Uporabimo standardno raztopino srebra, ki je na voljo na trgu.

To raztopino lahko pripravimo tako, da raztopimo 1,575 g srebrovega nitrata v razredčeni dušikovi kislini in dopolnimo do prostornine 1 000 ml z razredčeno dušikovo kislino (3.3).

3.5 Raztopina, ki vsebuje 10 mg/l srebra.

10 ml raztopine, pripravljene v skladu s 3.4, razredčimo na 1 000 ml z razredčeno dušikovo kislino.

4. POSTOPEK**4.1 Priprava vzorca**

20 ml vzorca nalijemo v platinsko posodo in izparimo do suhega nad vrelo vodno kopeljo. Žarimo v peči pri 500 do 525 °C. Beli pepel ovlažimo z 1 ml koncentrirane dušikove kisline (3.2). Izparimo nad vrelo vodno kopeljo, ponovno dodamo 1 ml dušikove kisline (3.2) in izparimo drugič. Dodamo 5 ml razredčene dušikove kisline (3.3) in nekoliko segrejemo, dokler se ne raztopi.

4.2 Umerjanje

V komplet 100 ml merilnih bučk odpipetiramo po 2, 4, 6, 8, 10 in 20 ml raztopine 3.5 (10 mg srebra na liter) in dopolnimo do oznake z razredčeno dušikovo kislino (3.3): tako dobljene raztopine vsebujejo po 0,20, 0,40, 0,60, 0,80, 1,0 in 2,0 mg srebra na liter.

4.3 Valovno dolžino nastavimo na 328,1 nm. Ničlo nastavimo z uporabo dvakrat destilirane vode. Izmerimo absorpcijo neposredno v zaporednih standardnih raztopinah, pripravljenih v skladu s 4.2. Izvedemo dvakratno.

5. IZRAŽANJE REZULTATOV

5.1 **Izračun**

Izdelamo graf spremembe absorpcije kot funkcijo koncentracije srebra v standardnih raztopinah.

Z uporabo izmerjene absorpcije vzorca na umeritveni krivulji odčitamo koncentracijo C v mg/l.

Koncentracija srebra v vinu je dana v miligramih na liter z 0,25 C . Izrazimo jo na dve decimalni mesti natančno.

Opomba: Izberemo koncentracijo raztopin za izdelavo umeritvene krivulje, pri čemer naj prostornina vzetega vzorca in končna prostornina tekočine ustrezata občutljivosti uporabljene aparature.

34. CINK

1. PRINCIP METODE

Po odstranitvi alkohola določimo cink z atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo neposredno v vinu.

2. REAGENTI

Voda, uporabljena v aparaturi iz borosilikatnega stekla, mora biti dvakrat destilirana ali imeti enakovredno stopnjo čistosti.

2.1 Standardna raztopina, ki vsebuje 1 g cinka na liter:

Uporabimo standardno raztopino cinka, ki je na voljo na trgu. To raztopino lahko pripravimo tako, da raztopimo 4,3975 g cinkovega sulfata ($\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$) v vodi in dopolnimo do 1 litra.

2.2 Razredčena standardna raztopina, ki vsebuje 100 mg cinka na liter.

3. APARATURE

3.1 Rotacijski izparilnik s termostatsko nadzorovano vodno kopeljo.

3.2 Atomski absorpcijski spektrofotometer z gorilcem na zmes zraka in acetilena.

3.3 Žarnica s cinkovo votlo katodo.

4. POSTOPEK

4.1 Priprava vzorca

Iz 100 ml vina odstranimo alkohol, tako da z uporabo rotacijskega evaporatorja (50 to 60 °C) prostornino vzorca zmanjšamo na polovico prvotne prostornine. Dopolnimo do prvotne prostornine 100 ml z dvakrat destilirano vodo.

4.2 Umerjanje

V vsako od kompleta 100 ml merilnih bučk nalijemo po 0,5, 1, 1,5 in 2 ml raztopine, ki vsebuje 100 mg cinka na liter (2.2), in dopolnimo do oznake z dvakrat destilirano vodo. Tako pripravljene raztopine vsebujejo po 0,5, 1, 1,5 in 2 mg cinka na liter.

4.3 Določitev

Valovno dolžino nastavimo na 213,9 nm. Skalo absorpcije nastavimo na ničlo z uporabo dvakrat destilirane vode. Vino prečrpamo neposredno v gorilec spektrofotometra, po vrsti pa mu sledijo še štiri standardne raztopine. Odčitamo absorpcije. Ponovimo vsako meritev.

5. IZRAŽANJE REZULTATOV

5.1 Izračun

Izdelamo graf, ki nam kaže spremembo absorpcije kot funkcijo koncentracije cinka v standardnih raztopinah. Na grafu zabeležimo srednjo vrednost absorpcije, dobljene iz razredčenega vzorca vina, in določimo koncentracijo cinka na eno decimalno mesto natančno.

35. SVINEC

1. PRINCIP

Svinec določimo neposredno v vinu z neplamensko atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo.

2. APARATURE

Pred uporabo vso stekleno opremo operemo s koncentrirano dušikovo kislino, segreto na 70 do 80 °C, in jo izplaknemo z dvakrat destilirano vodo.

2.1 Atomski absorpcijski spektrofotometer z grafitno pečico, nespecifično korekcijo absorpcije in multipotencijometrom.

2.2 Žarnica s svinčevo votlo katodo.

2.3 5 µl mikropipete s posebnimi konicami za merjenje atomske absorpcije.

3. REAGENTI

Vsi reagenti morajo imeti priznano kakovost analitičnega reagenta in zlasti ne smejo vsebovati svinca. Uporabimo vodo, ki je bila dvakrat destilirana prek aparature iz borosilikatnega stekla, ali vodo podobne čistosti.

3.1 85 % fosforna kislina ($\rho_{20} = 1,71 \text{ g/ml}$).

3.2 Raztopina fosforne kisline, ki jo dobimo tako, da 8 ml fosforne kisline razredčimo z vodo do 100 ml.

3.3 Dušikova kislina ($\rho_{20} = 1,38 \text{ g/ml}$).

3.4 Raztopina, ki vsebuje 1 g svinca na liter.

Uporabimo standardno raztopino, ki je na voljo na trgu. Dobimo jo lahko tako, da raztopimo 1,600 g svinčevega (II) nitrata, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, v dušikovi kislini, razredčeni na 1 % (v/v), in dopolnimo do enega litra. Raztopino hranimo v steklenici iz borosilikatnega stekla s steklenim zamaškom z obrušom.

4. POSTOPEK

4.1 Priprava vzorca

Vino razredčimo z raztopino fosforne kisline v razmerju 1 : 2 ali 1 : 3, odvisno od predpostavljene koncentracije svinca.

4.2 Priprava umeritvenega razpona raztopin

Z uporabo referenčne svinčeve raztopine pripravimo raztopine s titri po 2,5, 5, 10 in 15 µg svinca na liter, tako da jih razredčimo z dvakrat destilirano vodo.

4.3 Določitev

4.3.1 Programiranje peči (le kot napotek):

Sušenje pri 100 °C: 30 sekund

Mineralizacija pri 900 °C: 20 sekund

Atomizacija pri 2 250 °C: 2 do 3 sekunde

Pretok dušika (plin za odplakovanje): 6 litrov/minuto

Opomba: Na koncu postopka temperaturo zvišamo na 2 700 °C, da očistimo peč.

4.3.2 Meritve

Valovno dolžino nastavimo na 217 nm. Na skali absorpcije nastavimo ničlo z uporabo dvakrat destilirane vode. Z mikropipeto nanesemo v programirano peč tri 5 µl količine vsake raztopine v umeritvenem razponu in količino vzorca raztopine za analizo. Zabeležimo izmerjene absorpcije. Izračunamo srednjo vrednost absorpcije iz rezultatov za tri količine.

5. IZRAŽANJE REZULTATOV

5.1 Izračun

Narišemo krivuljo spremembe absorpcije kot funkcijo koncentracij svinca v raztopinah v umeritvenem razponu. Sprememba je linearna. V umeritveno krivuljo vnesemo srednjo vrednost absorpcije vzorčne raztopine in iz nje dobimo koncentracijo svinca C . Koncentracija svinca, izražena v mikrogramih na liter vina, je enaka:

$$C \times F$$

pri čemer je F = faktor redčenja.

36. FLUORIDI

1. PRINCIP

Vsebnost fluorida v vinu, ki ga dodamo puferski raztopini, določimo z uporabo trdne membranske selektivne elektrode. Izmerjeni potencial je sorazmeren z logaritmom aktivnosti fluoridovih ionov v analiziranem mediju, v skladu s spodnjo enačbo:

$$E = E_o \pm S \log a_F \quad (1)$$

pri čemer je

E = potencial ionsko-selektivne elektrode, merjen glede na referenčno elektrodo v analiziranem mediju;

E_o = standardni potencial senzorja;

S = naklon ionsko-selektivne elektrode (faktor Nernst). Pri 25 °C je teoretični naklon enak 59,2 mV;

a_F = aktivnost fluoridnih ionov v raztopini za analizo.

2. APARATURE

2.1 Fluorid-ionsko selektivna kristalno membranska elektroda.

2.2 Referenčna elektroda (kalomelova ali Ag/AgCl).

2.3 Milivoltmeter (pH meter z razširjeno skalo v milivoltih), natančen na 0,1 mV.

2.4 Magnetno mešalo z izolirno ploščo, ki ščiti raztopino za analizo pred toploto motorja. Mešalna posoda, pokrita s plastiko (politen ali enakovredna snov).

2.5 30 ali 50 ml plastične čaše in plastične steklenice (politen ali enakovredna snov).

2.6 Precizne pipete (pipete, umerjene v mikrolitrih, ali katere koli enakovredne pipete).

3. REAGENTI

3.1 Osnovna raztopina fluorida 1 g/l.

Uporabimo standardno raztopino 1 g/l, ki je na voljo na trgu. Pripravimo jo tako, da 2,210 g natrijevega fluorida (sušenega tri do štiri ure pri 105 °C) raztopimo v destilirani vodi. Dopolnimo do enega litra z destilirano vodo. Raztopino hranimo v plastični steklenici.

3.2 Standardne raztopine fluorida z ustrežno koncentracijo pripravimo tako, da razredčimo osnovno raztopino z destilirano vodo in jo hranimo v plastičnih steklenicah. Raztopin, katerih vsebnost fluorida je izražena v mg/l, ne smemo pripravljati vnaprej.

3.3 Puferska raztopina, pH 5,5

10 g *trans*-1,2-dikmiaocikloheksantetra-ocetne kisline (CDTA) dodamo vodi (približno 50 ml); dodamo raztopino, ki vsebuje 58 g natrijevega klorida in 29,4 g trinatrijevega citrata v 700 ml destilirane vode. CDTA raztopimo z dodajanjem približno 6 ml 32 % (m/v) raztopine natrijevega hidroksida.

Na koncu dodamo 57 ml očetne kisline ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml) in prilagodimo vrednost pH na 5,5 z 32 % raztopino natrijevega hidroksida (približno 45 ml). Pustimo, da se ohladi, in dopolnimo do enega litra z destilirano vodo.

4. POSTOPEK

Uvodna opomba:

Poskrbeti moramo, da vse raztopine med merjenjem ohranijo temperaturo 25 °C (± 1 °C). (Odstopanje za več kakor 1 °C povzroči spremembo za približno 0,2 mV.)

4.1 **Neposredna metoda**

Določeno prostornino vina nalijemo v plastično čašo, v kateri je enaka prostornina puferske raztopine.

Raztopino mešamo enakomerno in z zmerno hitrostjo. Ko je indikator stabilen (stabilnost dosežemo, ko potencial ne variira za več kakor 0,2 do 0,3 mV/tri minute), odčitamo vrednost potenciala v mV.

4.2 **Metoda z znanimi dodanimi količinami**

Ob nenehnem mešanju v analizni medij s precizno pipeto dodamo znano prostornino standardne raztopine fluorida. Ko je indikator stabilen, odčitamo vrednost potenciala v mV.

Koncentracijo standardne raztopine za dodajanje določimo z naslednjim postopkom:

- (a) podvojimo ali potrojimo koncentracijo fluorida v analiznem mediju;
- (b) prostornina analiznega medija mora ostati praktično enaka (povečanje prostornine za 1 % ali manj).

(Pogoj (b) poenostavi izračune, glej 5.)

Približno koncentracijo analiznega medija odčitamo na umeritveni črti, ki poteka na pollogaritemski skali s standardnimi raztopinami fluorida s titri po 0,1, 0,2, 0,5, 1,0, 2,0 mg/l.

Opomba: Če približna koncentracija analiznega medija leži zunaj koncentracijskega razpona standardnih raztopin, vzorec razredčimo.

Primer:

Če je približna vsebnost fluorida v analiznem mediju (prostornina 20 ml) 0,25 mg/l F^- , je treba koncentracijo povišati za 0,25 mg/l. Pri tem uporabimo ustrezno pipeto za dodajanje, s katero dodamo npr. 0,20 ml (= 1 %) standardne raztopine, ki vsebuje 25 mg/l F^- , ali 0,050 ml standardne raztopine s 100 mg/l F^- .

5. IZRAČUNI

Vsebnost fluorida v analiznem mediju, izraženo v mg/l, dobimo z uporabo naslednje formule:

$$C_F = \frac{V_a \times C_a}{V_o} \times \frac{1}{(\text{antilog } \Delta E/S) - 1}$$

C_F = koncentracija fluorida v analiznem mediju (mg/l);

C_a = koncentracija dodanega fluorida (mg/l) v analiznem mediju (V_a);

V_o = začetna prostornina analiznega medija pred zasičenjem (ml);

V_a = prostornina zasičene raztopine (ml);

ΔE = razlika med potencialoma E_1 in E_2 , dobljenima v 4.1 in 4.2 (mV);

S = naklon elektrode v analizni raztopini.

Če je V_a zelo blizu V_o (glej 4.2), uporabimo naslednjo poenostavljeno formulo :

$$C_F = C_a \times \frac{1}{(\text{antilog } \Delta E/S) - 1}$$

Dobljeno vrednost pomnožimo s faktorjem redčenja, ki ga dobimo z dodajanjem puferske raztopine.

37. OGLJIKOV DIOKSID

1. PRINCIP METOD

1.1 Referenčna metoda

1.1.1 *Mirna vina* (nadtakl $\text{CO}_2 \leq 0,5 \times 10^5 \text{ Pa}$) ⁽¹⁾

Prostornino vina, vzetega iz vzorca, ohladimo na približno 0 °C in zmešamo z zadostno količino natrijevega hidroksida, da dobimo pH 10 do 11. Titracijo izvedemo s kislo raztopino v navzočnosti karbonske anhidraze. Vsebnost ogljikovega dioksida izračunamo iz prostornine kisline, ki jo potrebujemo, da spremenimo pH z 8,6 (bikarbonatna oblika) na 4,0 (ogljikova kislina). Pod enakimi pogoji izvedemo slepo titracijo na razplinjenem vinu, da upoštevamo prostornino raztopine natrijevega hidroksida, ki jo sprejmejo vinske kisline.

1.1.2 *Peneča in biser vina*

Vzorec vina za analizo ohladimo skoraj do ledišča. Ko odvzamemo količino, ki jo bomo uporabili kot slepi vzorec po dekarbonizaciji, preostalo količino v steklenici napravimo alkalno, da se ves ogljikov dioksid veže v obliki Na_2CO_3 . Titracijo izvedemo s kislo raztopino v navzočnosti karbonske anhidraze. Vsebnost ogljikovega dioksida izračunamo iz prostornine kisle raztopine, ki je potrebna, da se pH spremeni z 8,6 (bikarbonatna oblika) na 4,0 (ogljikova kislina). Pod enakimi pogoji izvedemo slepo titracijo na razplinjenem vinu, da upoštevamo prostornino natrijevega hidroksida, ki jo sprejmejo vinske kisline.

1.2 Običajna metoda: peneča in biser vina

Manometriška metoda: z afrometrom se nadtakl ogljikovega dioksida meri neposredno v steklenici.

2. REFERENČNA METODA

2.1 *Mirna vina* (nadtakl $\text{CO}_2 \leq 0,5 \times 10^5 \text{ Pa}$)2.1.1 *Aparaturi*

2.1.1.1 Magnetno mešalo.

2.1.1.2 pH meter.

2.1.2 *Reagenti*

2.1.2.1 Raztopina natrijevega hidroksida, NaOH, 0,1 M.

2.1.2.2 Raztopina žveplove kisline, H_2SO_4 , 0,05 M.

2.1.2.3 Raztopina karbonske anhidraze, 1 g/l.

2.1.3 *Postopek*

Vzorec vina ohladimo na približno 0 °C skupaj z 10 ml pipeto, ki je bila uporabljena za odvzem vzorca.

25 ml raztopine natrijevega hidroksida (2.1.2.1) damo v 100 ml čašo; dodamo dve kapljici vodne raztopine ogljikove anhidraze (2.1.2.3). S pipeto, ohlajeno na 0 °C, dodamo 10 ml vina.

⁽¹⁾ 10^5 paskalov (Pa) = 1 bar.

Čašo postavimo na magnetno mešalo, namestimo pH elektrodo in počasi mešamo.

Ko tekočina doseže sobno temperaturo, jo počasi titriramo z raztopino žveplove kisline (2.1.2.2), dokler pH ne doseže 8,6. Odčitamo prostornino na bireti.

Nadaljujemo titracijo z žveplovo kislino (2.1.2.2), dokler pH ne doseže 4,0. Z n ml označimo porabljeno prostornino med pH vrednostjo 8,6 in 4,0.

Iz približno 50 ml vzorca vina odstranimo CO_2 , tako da ga tri minute stresamo v vakuumu, pri čemer se bučka greje v vodni kopeli pri približno 25 °C.

Ponovimo gornji postopek na 10 ml razplinjenega vina. Z n' označimo porabljeno prostornino.

2.1.4 Izražanje rezultatov

1 ml titrirane 0,1 M raztopine natrijevega hidroksida ustreza 4,4 mg CO_2 .

Količina CO_2 v gramih na liter vina je dana s formulo:

$$0,44 (n - n')$$

Izražena je na dve decimalni mesti natančno.

Opomba: Če vino vsebuje malo CO_2 ($\text{CO}_2 < 1 \text{ g/l}$), ni treba dodati encima karbonska anhidraza, ki katalizira hidracijo CO_2 .

2.2 Peneča in biser vina

2.2.1 Aparaturi

2.2.1.1 Magnetno mešalo.

2.2.1.2 pH meter.

2.2.2 Reagenti

2.2.2.1 Natrijev hidroksid, NaOH, 50 % (m/m).

2.2.2.2 Raztopina žveplove kisline, H_2SO_4 , 0,05 M.

2.2.2.3 Raztopina karbonske anhidraze, 1 g/l.

2.2.3 Postopek

Označimo raven vina v steklenici in ga nato ohlajamo, dokler ne začne zmrzovati. Nato pustimo, da se steklenica nekoliko ogreje, in jo pri tem stresamo, da ledeni kristalčki zginijo. Hitro odstranimo zamašek in 45 do 50 ml vina damo v merilni valj za slepo titracijo. Točno prostornino odvzetega vina v ml določimo tako, da jo odčitamo na valju, ko se ponovno segreje na sobno temperaturo.

Takoj po odvzemu slepega vzorca v steklenico s prostornino 750 ml dodamo 20 ml raztopine natrijevega hidroksida (2.2.2.1).

Počakamo, da se vino segreje na sobno temperaturo.

V 100 ml čašo damo 30 ml prevrete destilirane vode in dve kapljici raztopine karbonske anhidraze (2.2.2.3). Dodamo 10 ml vina, potem ko smo napravili, da je postalo alkalno. Čašo postavimo na magnetno mešalo, namestimo elektrodo in magnet in počasi mešamo.

Počasi titriramo z raztopino žveplove kisline (2.2.2.2), dokler pH ne doseže 8,6. Odčitamo prostornino na bireti.

Počasi nadaljujemo titracijo z žveplovo kislino (2.2.2.2), dokler pH ne doseže 4,0. Z n ml označimo porabljeno prostornino med vrednostima pH 8,6 in 4,0.

Iz v ml vina, ki smo ga dali na stran za slepo titracijo, odvzamemo CO_2 , tako da ga tri minute stresamo pod vakuumom v bučki, ki se greje v vodni kopeli pri približno 25 °C. Odvzamemo 10 ml razplinjenega vina in dodamo 30 ml prevrete destilirane vode, dodamo dve do tri kapljice raztopine natrijevega hidroksida (2.2.2.1), da dobimo pH od 10 do 11. Nato izvedemo zgoraj opisani postopek. Z n' označimo prostornino dodane 0,5 M žveplove kisline.

2.2.4 Izražanje rezultatov

1 ml 0,05 M žveplove kisline ustreza 4,4 mg CO_2 .

Izpraznimo steklenico vina, potem ko smo napravili, da je postalo alkalno, in določimo na približno 1 ml natančno začetno prostornino vina, tako da do oznake dopolnimo z vodo; zabeležimo z V ml.

Količina CO_2 v gramih na liter vina je dana s formulo:

$$0,44(n - n') \times \frac{(V - v + 20)}{V - v}$$

Rezultat izrazimo na dve decimalni mesti natančno.

2.3 Izražanje rezultatov

Nadtlak pri 20 °C ($P_{\text{aph}_{20}}$), izražen v paskalih, je dan z naslednjo formulo:

$$P_{\text{aph}_{20}} = \frac{Q}{1,951 \times 10^{-5}(0,86 - 0,01A)(1 - 0,00144S)} - P_{\text{atm}}$$

pri čemer je:

Q = vsebnost CO_2 v g/l vina,

A = alkoholna stopnja vina pri 20 °C,

S = vsebnost sladkorja v vinu v g/l,

P_{atm} = zračni tlak v atmosferi, izražen v Pa.

3. OBIČAJNA METODA: PENEČA IN BISER VINA

3.1 Aparatura

3.1.1 Afrometer

Aparatura, ki omogoča merjenje nadtlaka v steklenicah s penečim in biser vinom, se imenuje afrometer. Ima različno obliko glede na način, kako je steklenica zamašena (kovinska kronska zaporka, navojna zaporka, plutovinast zamašek ali plastični zamašek, glej slike 1 in 2).

Afrometri so umerjeni v paskalih (Pa) ⁽¹⁾, čeprav je bolj praktično kot enoto uporabljati 10^5 Pa ali kilopaskal (kPa).

⁽¹⁾ 1 Pa = 1 N/m² = 10^{-5} bar.

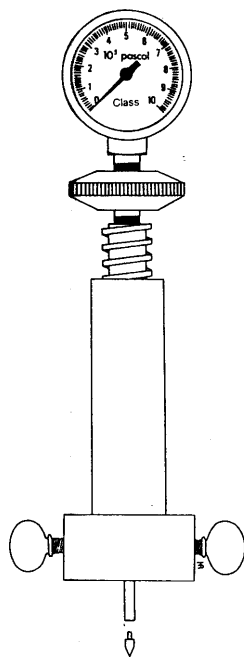
Sodijo v različne razrede. Razred manometra pomeni natančnost odčitavanja glede na celotno skalo, izraženo kot odstotek (npr. 1 000 kPa manometra razreda I pomeni, da se največji tlak 1 000 kPa lahko odčita na ± 10 kPa natančno.) Za natančna merjenja se priporočajo instrumenti razreda I.

Afrometre je treba redno pregledovati (najmanj enkrat na leto).

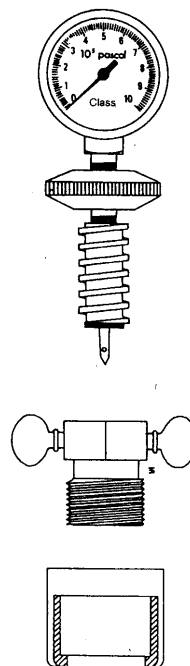
3.2 Postopek

Meritve je treba opraviti na steklenicah, ki imajo najmanj 24 ur konstantno temperaturo.

Ko predremo zaporko, plutovinasti ali plastični zamašek, moramo steklenico močno stresati, dokler tlak ne postane konstanten in lahko odčitamo vrednost.



Slika 1: Afrometer za navojne zaporce



Slika 2: Afrometer za plutovinaste in plastične zamaške

3.3 Izražanje rezultatov

Nadtlak pri 20 °C ($P_{aph_{20}}$) je izražen v paskalih (Pa) ali v kilopaskalih (kPa).

Izraziti ga je treba v obliki, ki je v skladu z natančnostjo manometra (npr. pri manometrih razreda I s celotno skalo 1 000 kPa kot $6,3 \times 10^5$ Pa ali 630 kPa in ne kot $6,33 \times 10^5$ Pa ali 633 kPa).

Če je temperatura, pri kateri se opravi meritev, drugačna od 20 °C, je potrebna korekcija, tako da se izmerjeni tlak pomnoži s koeficientom

$$\frac{P_{aph_{20}}}{P_{aph_t}}$$

iz tabele I. Tako dobimo rezultat pri 20 °C.

4. RAZMERJE MED TLAKOM IN KONCENTRACIJO OGLJIKOVEGA DIOKSIDA, KI GA VSEBUJE BISER VINO ⁽¹⁾

Iz nadtlaka pri 20 °C ($P_{aph_{20}}$) absolutni tlak pri 20 °C ($P_{abs_{20}}$) izračunamo po formuli:

$$P_{abs_{20}} = P_{atm} + P_{aph_{20}}$$

⁽¹⁾ Drugi plini (O_2 , N_2 itd.), ki so navzoči v tako majhnih količinah, da ne vplivajo na nadtlak, niso upoštevani.

pri čemer je P_{atm} zračni tlak v atmosferi, izražen v barih.

Količina ogljikovega dioksida v vinu je dana z naslednjimi razmerji:

— v litrih CO_2 na liter vina:

$$0,987 \times 10^{-5} P_{abs_{20}} (0,86 - 0,01 A) (1 - 0,00144 S),$$

— v gramih CO_2 na liter vina:

$$1,951 \times 10^{-5} P_{abs_{20}} (0,86 - 0,01 A) (1 - 0,00144 S),$$

pri čemer je A alkoholna stopnja v vinu pri 20 °C,

S je vsebnost sladkorja v vinu v gramih na liter.

Tabela I

Razmerje med nadtlakom $P_{aph_{20}}$ v penečem ali biser vinu pri 20 °C in nadtlakom P_{aph_t} pri temperaturi

0	1,85	13	1,24
1	1,80	14	1,20
2	1,74	15	1,16
3	1,68	16	1,13
4	1,64	17	1,09
5	1,59	18	1,06
6	1,54	19	1,03
7	1,50	20	1,00
8	1,45	21	0,97
9	1,40	22	0,95
10	1,36	23	0,93
11	1,32	24	0,91
12	1,28	25	0,88

38. DERIVATI CIANIDA

1. PRINCIP METOD

1.1 **Hitra testna metoda**

Testiranje vin, obdelanih s kalijevim 2-heksacianoferatom.

Testiranje na odsotnost železovega (III) heksacianoferata (II) v suspenziji v ostanku.

Testiranje na odsotnost železovega (III) heksacianoferata (II) z dodajanjem železove (III) soli v dokisano vino.

Testiranje na navzočnost železa, obarjenega z dodajanjem mešanice alkalnega heksacianoferata (II) in heksacianoferata (III) v dokisano vino.

1.2 **Običajna metoda**

Argentometrična določitev skupne cianovodikove kisline, ki se sprosti s hidrolizo kisline in loči z destilacijo.

2. HITRA TESTNA METODA

Preverjanje vin, obdelanih s kalijevim heksacianoferatom (II).

2.1 **Aparaturi**

Na voljo mora biti ena od navedenih oprem:

2.1.1 Centrifuga s centrifugalno silo od 1 200 do 1 500 g.

2.1.2 Priprava za membransko filtriranje (premer lukenj 0,45 µm).

2.2 **Reagenti**

2.2.1 Klorovodikova kislina, razredčena v razmerju 1 : 2 (v/v) in dobljena z redčenjem klorovodikove kisline, ki ne sme vsebovati železa, HCl ($\rho_{20} = 1,18$ do $1,19$ g/ml).

2.2.2 Železov (III) amonijev sulfat, $(\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3, (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4, 24\text{H}_2\text{O})$ 15 % (m/v) raztopina.

2.2.3 Kalijev 2-heksacianoferat (II), $(\text{K}_4 [\text{Fe}(\text{CN})_6], 3\text{H}_2\text{O})$ 10 % (m/v).

2.2.4 Kalijev 3-heksacianoferat (III), $(\text{K}_3 [\text{Fe}(\text{CN})_6])$ 10 % (m/v) raztopina. Pripravimo jo neposredno pred uporabo.

2.3 **Postopek**2.3.1 *Testiranje na navzočnost železovega (III) heksacianoferata (II) v suspenziji*

Vzorec dobro pretresemo in nato v 30 ml konično epruveto za centrifugiranje nalijemo 20 ml vina. Dodamo 1 ml razredčene klorovodikove kisline (2.2.1). Centrifugiramo 15 minut ali prefiltriramo prek membranskega filtra s premerom lukenj 0,45 µm. Po centrifugiranju ali filtriranju ostanek ne sme vsebovati nobenih modrih delcev.

2.3.2 *Testiranje na navzočnost heksacianoferatovih (II) ionov v raztopini*

Tekočini, zbrani na površju, ali filtratu iz testa 2.3.1 dodamo eno kapljico raztopine železovega (III) amonijevega sulfata (2.2.2). Mešamo in pustimo stati vsaj 24 ur. Centrifugiramo 15 minut ali prefiltriramo

prek membranskega filtra s premerom lukenj 0,45 µm. Ostanek po centrifugiranju ali filtriranju ne sme vsebovati nobenih modrih delcev železovega (III) heksacianoferata (II).

2.3.3 Testiranje na navzočnost železovih ionov v vinu

V epruveto nalijemo 20 ml vina, 1 ml klorovodikove kisline (2.2.1), eno kapljico raztopine kalijevega heksacianoferata (II) (2.2.3) in eno kapljico raztopine kalijevega heksacianoferata (III) (2.2.4). Modro obarvanje ali modra oborina se pokaže v manj kakor 30 minutah. Po centrifugiranju oziroma filtriranju prek membranskega filtra s premerom lukenj 0,45 µm in po dvakratnem izplakovanju s 5 ml vode se pokaže moder ostanek v epruveti za centrifugiranje ali na membranskem filtru.

3. OBIČAJNA METODA

3.1 Aparaturi

3.1.1 Destilator, sestavljen iz 500 ml bučke z okroglim dnom, ki je s cevko z obrusi povezana z zgornjim delom navpično postavljenega kondenzatorja, dolgega vsaj 350 mm.

Spodnji del kondenzatorja je pritrjen na adaptor, ki ima podaljšek, po katerem se destilat pretaka na dno 50 ml bučke, v celoti potopljene v ledeno vodo.

3.1.2 Vrela električna vodna kopel (termostatsko nadzorovana).

3.2 Reagenti

3.2.1 Žveplova kislina, razredčena v razmerju 1 : 5 (v/v).

200 ml žveplove kisline, H_2SO_4 , ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml), previdno dodamo v toliko vode, da dobimo 1 liter raztopine,

3.2.2 Kristalinični bakrov (II) klorid, $CuCl_2 \times 2H_2O$.

3.2.3 Raztopina rdečega fenola

Raztopimo 0,05 g rdečega fenola v 1,4 ml 0,1 M raztopine natrijevega hidroksida; dopolnimo do 1 000 ml.

3.2.4 Raztopina kalijevega jodida.

Raztopimo 250 g kalijevega jodida, KI, v toliko vode, da dobimo 1 liter raztopine.

3.2.5 Raztopina srebrovega nitrata 0,001 M

V 10 ml 0,1 M raztopine srebrovega nitrata, $AgNO_3$, dodamo 0,5 ml koncentrirane dušikove kisline, HNO_3 ($\rho_{20} = 1,40$ g/ml), in dopolnimo do enega litra z vodo.

3.2.6 Raztopina natrijevega hidroksida, 1 M, brez železa.

3.3 Postopek

Nalijemo 100 ml filtriranega vina (ali v nefiltriranem stanju, če je treba določiti tudi cianovodikovo kislino katere koli modre motnosti) in dodamo približno 5 mg bakrovega (II) klorida (3.2.2) in 10 ml razredčene žveplove kisline (3.2.1). V merilno bučko nalijemo 5 ml raztopine natrijevega hidroksida (3.2.6). Destiliramo, dokler ni 50 ml bučka polna.

Destilat prenesemo v 400 ml čašo, ki jo postavimo nad vrelo vodno kopel; izhlapevanje pospešimo tako, da precej močan tok mrzlega zraka iz ventilatorja usmerimo na površino alkalne tekočine. Prostornino

zmanjšamo na 5 do 7 ml, za kar potrebujemo približno 30 minut (zagotovimo, da se prostornina nikoli ne zmanjša na manj kakor 5 ml).

Če je potrebno, ohlajeno raztopino prefiltriramo in zberemo filtrat v cilindrični epruveti premera 20 mm in dolžine 180 mm ali pa prenesemo raztopino naravnost v to epruveto. Operemo čašo in po možnosti tudi filter z nekaj mililitri vode ter dodamo v epruveto.

Stekleno epruveto položimo na črno podlago in pustimo, da žarek bele svetlobe pade nanjo od strani. Tekočina mora biti popolnoma bistra ⁽¹⁾.

Dodamo dve kapljici raztopine rdečega fenola (3.2.3), s čimer si pomagamo pri opazovanju končne točke ⁽²⁾, in eno kapljico raztopine kalijevega jodida (3.2.4). Titriramo z 0,001 M raztopino srebrovega nitrata (3.2.5), dokler ne dobimo rahle, vendar trajne motnosti. Z n označimo prostornino titranta, ki smo ga uporabili.

Poleg tega pripravimo podobno epruveto za slepo titracijo, ki vsebuje 5 ml raztopine natrijevega hidroksida (3.2.6), dve kapljici raztopine rdečega fenola (3.2.3) ⁽²⁾, eno kapljico raztopine kalijevega jodida (3.2.4) in dovolj vode, da dobimo enako prostornino kakor zgoraj. Dodamo toliko raztopine srebrovega nitrata (3.2.5), da dobimo enako motnost kakor zgoraj. Uporabljena prostornina je n' ⁽³⁾.

3.4 Izražanje rezultatov

1 ml 0,001 M raztopine srebrovega nitrata ustreza 54 µg cianovodikove kisline, HCN.

Skupna cianovodikova kislina v enem litru vina je torej 0,54 ($n - n'$) mg. Rezultat izrazimo na dve decimalni mesti natančno.

Pomembni so samo rezultati, pri katerih je ($n - n'$) večji kakor 0,5 ml.

Če je $n - n'$ večji kakor 10 ml, ponovimo postopek z uporabo 0,01 M raztopine srebrovega nitrata.

⁽¹⁾ Nekatera vina, kakor npr. likersko vino itd., dajo destilat, ki ni bister niti po filtraciji; v teh primerih moramo destilat preliti v 200 ml destilacijsko bučko, dopolniti do 30 ml z destilirano vodo in destilirati, dokler je še alkalen, in prvih 15 ml destilata zavreči. Vsebino bučke ohladimo, nakisamo s približno 5 ml razredčene žveplove kisline in nadaljujemo destilacijo, destilat pa zberemo v 5 ml 1 M raztopine natrijevega hidroksida. Destiliramo približno 5 ml tekočine, ki se takrat zbistri.

⁽²⁾ Ta dodatek je neobvezen. Nekateri analitiki so mnenja, da je bolj preprosto opazovati pojav motnosti v rožnati raztopini kakor v brezbarvni.

⁽³⁾ n' je enak 0,05 ali 0,1 ml, če je prostornina uporabljene vode manjša kakor 10 ml. Da dobimo jasno končno točko, mora biti uporabljena prostornina čim manjša in zato se je treba izogibati kakršnim koli redčenjem med glavnim postopkom.

39. ALIL IZOTIOCIANAT

1. PRINCIP METODE

Če je alil izotiocianat navzoč v vinu, ga zberemo z destilacijo in določimo s plinsko kromatografijo.

2. REAGENTI

2.1 Etanol, absolutno čist.

2.2 Standardna raztopina: raztopina alil izotiocianata v absolutno čistem alkoholu vsebuje 15 mg alil izotiocianata na liter.

2.3 Mešanica za zamrzovanje iz etanola in suhega ledu (temperatura -60°C).

3. APARATURE

3.1 Destilator, kakor je prikazano na sliki spodaj. Skozi aparaturo se nepretrgoma pretaka dušik.

3.2 Grelna mrežica, termostatsko nadzorovana.

3.3 Merilnik pretoka.

3.4 Plinski kromatograf z detektorjem plamenskega spektrofotometra, opremljen s selektivnim filtrom za žveplove spojine (valovna dolžina = 394 nm), ali kateri koli drug primeren detektor.

3.5 Kromatografska kolona iz nerjavečega jekla z notranjim premerom 3 mm in dolžine 3 m, napolnjena s Carbowax 20M pri 10 % na Chromosorb WHP, 80 do 100 mesh.

3.6 Mikrobrizga, 10 μl .

4. POSTOPEK

Dva litra vina nalijemo v destilacijsko bučko, dolijemo nekaj mililitrov etanola (2.1) v dve zbiralni epruveti, tako da so porozni deli palic za razpršitev plinov v celoti potopljeni. Obe epruveti ohladimo z zunanje strani z mešanico za zamrzovanje. Bučko povežemo z zbiralnima epruvetama in aparaturo izplakujemo z dušikom pri hitrosti tri litre na uro. Vino z grelna mrežico segrejemo na 80°C , destiliramo in zberemo 45 do 50 ml destilata.

Stabiliziramo kromatograf. Priporočamo naslednje pogoje:

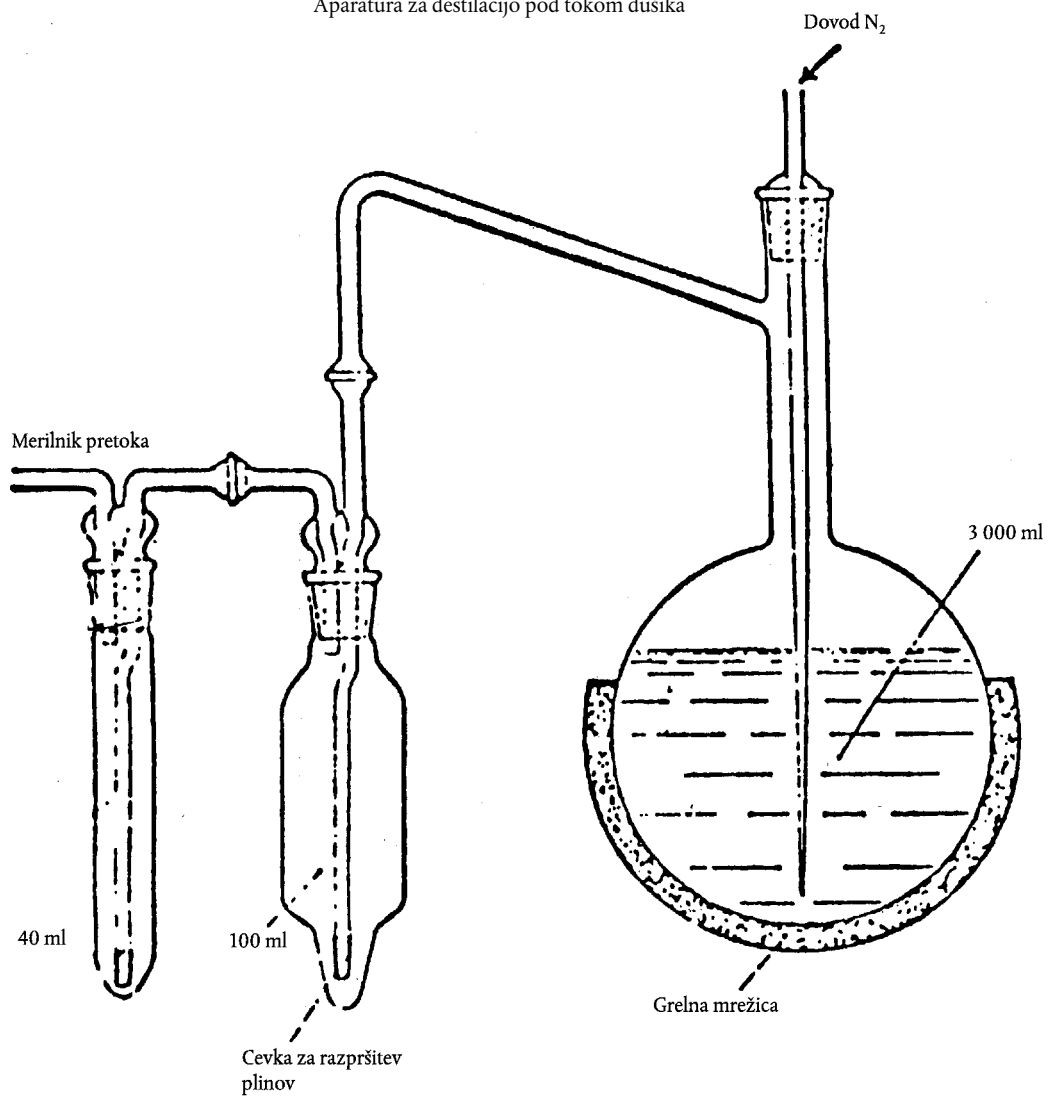
- temperatura injektorja: 200°C ,
- temperatura kolone: 130°C ,
- hitrost pretoka nosilnega plina helija: 20 ml na minuto.

Z mikrobrizgo nanesemo prostornino standardne raztopine, tako da moremo zlahka določiti vršno vrednost na plinskem kromatogramu, ki ustreza alil izotiocianatu.

Prav tako dodamo alikvot destilata v kromatograf. Preverimo, da retencijski čas dobljene vršne vrednosti ustreza vršni vrednosti alil izotiocianata.

V zgoraj opisanih pogojih spojine, ki so naravno navzoče v vinu, ne povzročijo interferenčnih vršnih vrednosti na kromatogramu vzorčne raztopine.

Aparatura za destilacijo pod tokom dušika



40. BARVNE LASTNOSTI

1. VINA IN MOŠTI

1.1 **Opredelitve pojmov**

Barvne lastnosti vina so opredeljene z osvetljenostjo in barvitostjo.

Osvetljenost je izražena s transmisijo in se spreminja nasprotno sorazmerno z intenzivnostjo barve vina.

Barvitost je izražena z dominantno valovno dolžino (ki določa ton barve) in čistostjo barve.

Navadno in zaradi prikladnosti so barvne lastnosti rdečega vina in vina rozé dane kot intenzivnost barve in ton barve, pri čemer se držimo postopka, ki je sprejet kot običajni postopek.

1.2 **Princip metod**1.2.1 *Referenčna metoda*

To je spektrofotometrična metoda, s katero lahko določimo vrednosti tristimulusa in tri koordinate barvitosti, ki so nujne za določitev barve v skladu z določitvijo Mednarodne komisije za osvetlitev (International Commission on Illumination, CIE).

1.2.2 *Običajna metoda (za rdeča in rozé vina)*

To je spektrofotometrična metoda, s katero so barvne lastnosti izražene na dogovorjeni način:

Intenzivnost barve dobimo z vsoto absorpcij pri valovnih dolžinah 420, 520 in 620 nm za sevanje prek 1 cm optične poti v vzorcu.

Ton barve dobimo z razmerjem absorpcije pri 420 nm in 520 nm.

1.3 **Referenčna metoda**1.3.1 *Aparature*

1.3.1.1 Spektrofotometer za meritve med 300 in 700 nm.

1.3.1.2 Steklene celice v parih, z optično potjo, *b*, enako 0,1, 0,2, 0,5, 1,2 in 4 cm.1.3.2 *Postopek*

1.3.2.1 Priprava vzorca

Motno vino prečistimo s centrifugiranjem. Glavnino ogljikovega dioksida v mladem in penočem vinu odstranimo s stresanjem pod vakuumom.

1.3.2.2 Meritve

Optična pot, *b*, v stekleni celici mora biti nastavljena tako, da je merjena absorpcija med 0,3 in 0,7.

Naslednje usmeritve so dane za pravilno izbiro optične poti: uporabimo celice z 2 (ali 4) cm optično potjo za bela vina, 1 cm za rozé vina in 0,1 cm (ali 0,2 cm) za rdeča vina.

Spektrofotometrične meritve opravimo z uporabo destilirane vode v celici z enako optično potjo, b , kakor referenčna tekočina, da določimo ničlo na skali absorpcije pri valovnih dolžinah 445, 495, 550 in 625 nm.

Štiri ustrezne absorpcije za vino nato izmerimo na tri decimalna mesta natančno za optično pot, b . Označimo jih z A_{445} , A_{495} , A_{550} , A_{625} .

1.3.3 Izračuni

Skupaj s tabelo I uporabimo te vrednosti absorpcije za optično pot, b cm, da dobimo ustrezne vrednosti transmisije (T %). Označimo jih s T_{445} , T_{495} , T_{550} in T_{625} .

— Izračunamo vrednosti tristimulusa X , Y in Z , izražene kot decimalni deli, z uporabo spodnjih formul:

$$X = 0,42 T_{625} + 0,35 T_{550} + 0,21 T_{445}$$

$$Y = 0,20 T_{625} + 0,63 T_{550} + 0,17 T_{495}$$

$$Z = 0,24 T_{495} + 0,94 T_{445}$$

— Izračunamo koordinati barvitosti x in y iz:

$$x = \frac{X}{X + Y + Z} \quad y = \frac{Y}{X + Y + Z}$$

1.3.4 Izražanje rezultatov

1.3.4.1 Relativno osvetljenje dobimo z vrednostjo Y , izraženo v odstotkih. (Za popolnoma temne tekočine je $Y = 0$ %; za brezbarvne je $Y = 100$ %.)

1.3.4.2 Barvitost izrazimo z dominantno valovno dolžino in čistostjo.

Z določitvijo teh dveh količin lahko uporabimo diagram barvitosti, ki je omejen z lokusom spektra, kakor kaže slika 1. Točka O na diagramu pomeni uporabljeni vir bele svetlobe in ima koordinate standardnega vira, C , $x_o = 0,3101$ in $y_o = 0,3163$, ki pomeni dnevno svetlobo povprečne jakosti.

— Dominantna valovna dolžina

Na diagram barvitosti vnesemo točko C s koordinatama x in y .

Če je C zunaj trikotnika AOB , potegnemo ravno črto od O do C in jo podaljšamo, tako da preseka lokus spektra v točki S , ki ustreza dominantni valovni dolžini.

Če je C znotraj trikotnika AOB , potegnemo ravno črto od O do C in jo podaljšamo, tako da preseka lokus spektra v točki, ki ustreza barvi, komplementarni barvi vina. Ta valovna dolžina je izražena z vrednostjo, ki ji sledi črka C .

— Čistost

Če je točka C zunaj trikotnika AOB , je čistost izražena v odstotkih z razmerjem:

$$100 \times \frac{\text{razdalja od } C \text{ do } O}{\text{razdalja od } O \text{ do } S}$$

Če je točka C znotraj trikotnika AOB , je čistost izražena v odstotkih z razmerjem:

$$100 \times \frac{\text{razdalja od } C \text{ do } O^{(1)}}{\text{razdalja od } O \text{ do } P}$$

⁽¹⁾ Razdalja mora biti podana v smeri od O proti C .

pri čemer je P točka, v kateri ravna črta OC preseka črto vijoličnega obarvanja (črta AB).

Čistost dobimo tudi neposredno iz diagramov barvitosti, če poznamo vrednosti x in y (slike 2, 3, 4, 5 in 6).

1.3.4.3 Rezultati

Barvo vina natančno opredelimo z osvetljenostjo, barvitostjo (izraženo z dominantno valovno dolžino) in čistostjo.

Te podatke navedemo tudi v poročilu o analizi, skupaj z dolžino optične poti, na kateri so bile opravljene meritve.

1.4 Običajna metoda

1.4.1 Aparature

1.4.1.1 Spektrofotometer, ki omogoča meritve pri 300 in 700 nm.

1.4.1.2 Steklene celice v parih, z dolžino optične poti, (b), 0,1, 0,2, 0,5 in 1 cm.

1.4.2 Poprejšnja priprava vzorca

Motno vino zbistrimo s centrifugo.

Glavnino ogljikovega dioksida v mladem in penečem vinu odstranimo s stresanjem pod vakuumom.

1.4.3 Postopek

Optično pot, b , v stekleni celici izberemo tako, da je merjena absorpcija A med 0,3 in 0,7.

Spektrofotometrične meritve opravimo z uporabo destilirane vode v celici z enako optično potjo, b , ki pomeni referenčno tekočino za določitev ničle na skali absorpcije pri valovnih dolžinah 420, 520 in 620 nm.

1.4.4 Izražanje rezultatov

1.4.4.1 Izračuni

Izračunamo absorpcije pri treh valovnih dolžinah za optično pot 1 cm, tako da delimo merjene absorpcije z b v cm. Označimo jih z A_{420} , A_{520} in A_{620} .

Intenzivnost barve I dogovorno dobimo z naslednjo formulo:

$$I = A_{420} + A_{520} + A_{620}$$

Izrazimo jo na tri decimalna mesta natančno.

Ton barve N dogovorno dobimo z naslednjo formulo:

$$N = \frac{A_{420}}{A_{520}}$$

Izrazimo jo na tri decimalna mesta natančno.

TABELA I
Pretvorba absorpcije v transmisijo (T %)

Metoda

V prvem navpičnem stolpcu najdemo prvo decimalno številko absorpcije in to vrsto poimenujemo R. V zgornji vodoravni vrstici najdemo drugo decimalno številko absorpcije in ta stolpec poimenujemo C. Odčitamo številko v polju, ki je presek vrste R in stolpca C. Za izračun transmisije to število delimo z 10, če je absorpcija manj kakor 1, s 100, če je med 1 in 2, in s 1 000, če je med 2 in 3.

Opomba:

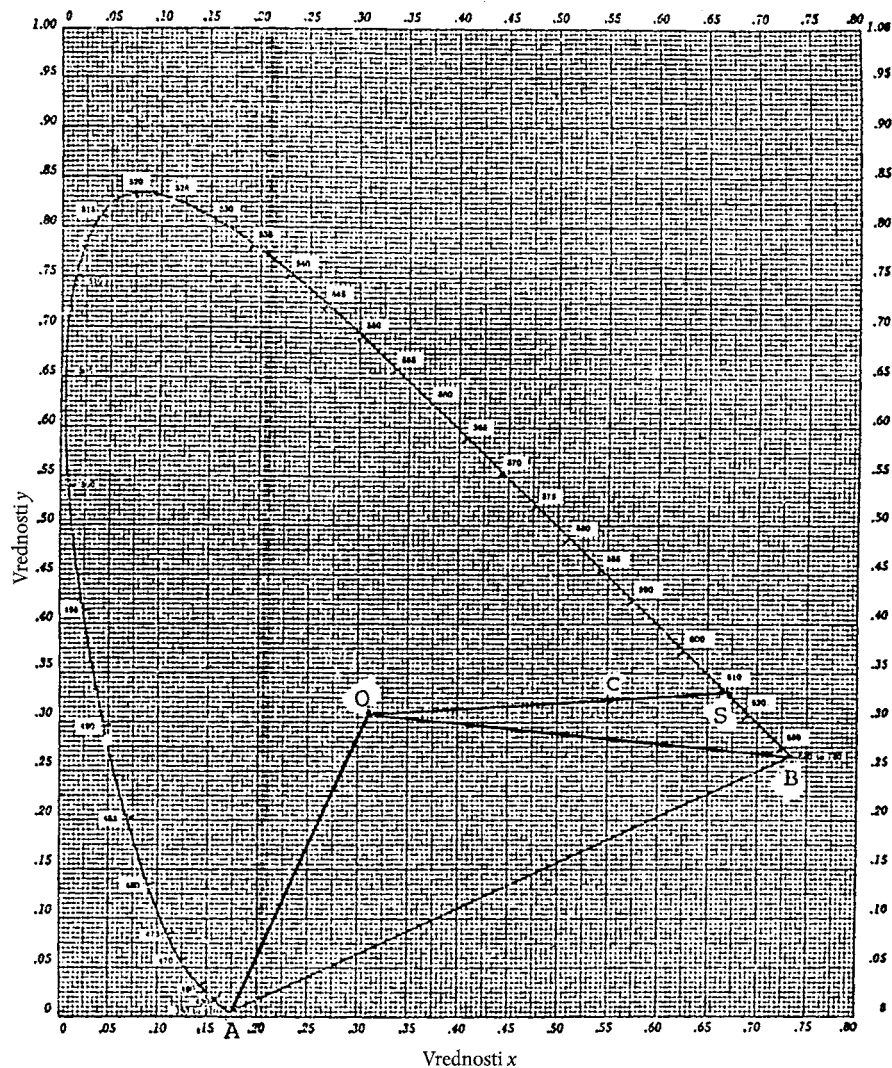
Številka v zgornjem desnem vogalu vsakega polja je tretja decimalna številka za absorpcijo, ki jo moramo upoštevati z interpolacijo.

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	1 000 ²³	977 ²²	955 ²²	933 ²¹	912 ²¹	891 ²⁰	871 ²⁰	851 ¹⁹	832 ¹⁹	813 ¹⁹
1	794 ¹⁸	776 ¹⁸	759 ¹⁷	741 ¹⁷	724 ¹⁶	708 ¹⁶	692 ¹⁶	676 ¹⁵	661 ¹⁵	646 ¹⁵
2	631 ¹⁴	617 ¹⁴	603 ¹⁴	589 ¹⁴	575 ¹³	562 ¹³	549 ¹³	537 ¹²	525 ¹²	513 ¹²
3	501 ¹¹	490 ¹¹	479 ¹¹	468 ¹¹	457 ¹⁰	447 ⁹	436 ⁹	427 ¹⁰	417 ¹⁰	407 ⁹
4	398 ⁹	389 ⁹	380 ⁹	371 ⁸	363 ⁸	355 ⁸	347 ⁸	339 ⁸	331 ⁷	324 ⁸
5	316 ⁷	309 ⁷	302 ⁷	295 ⁷	288 ⁶	282 ⁷	275 ⁶	269 ⁶	263 ⁶	257 ⁶
6	251 ⁶	245 ⁵	240 ⁶	234 ⁵	229 ⁵	224 ⁵	219 ⁵	214 ⁵	209 ⁵	204 ⁵
7	199 ⁴	195 ⁵	190 ⁴	186 ⁴	182 ⁴	178 ⁴	174 ⁴	170 ⁴	166 ⁴	162 ⁴
8	158 ³	155 ⁴	151 ³	148 ⁴	144 ⁴	141 ³	138 ³	135 ³	132 ³	129 ³
9	126 ³	123 ³	120 ³	117 ²	115 ³	112 ²	110 ³	107 ²	105 ³	102 ²

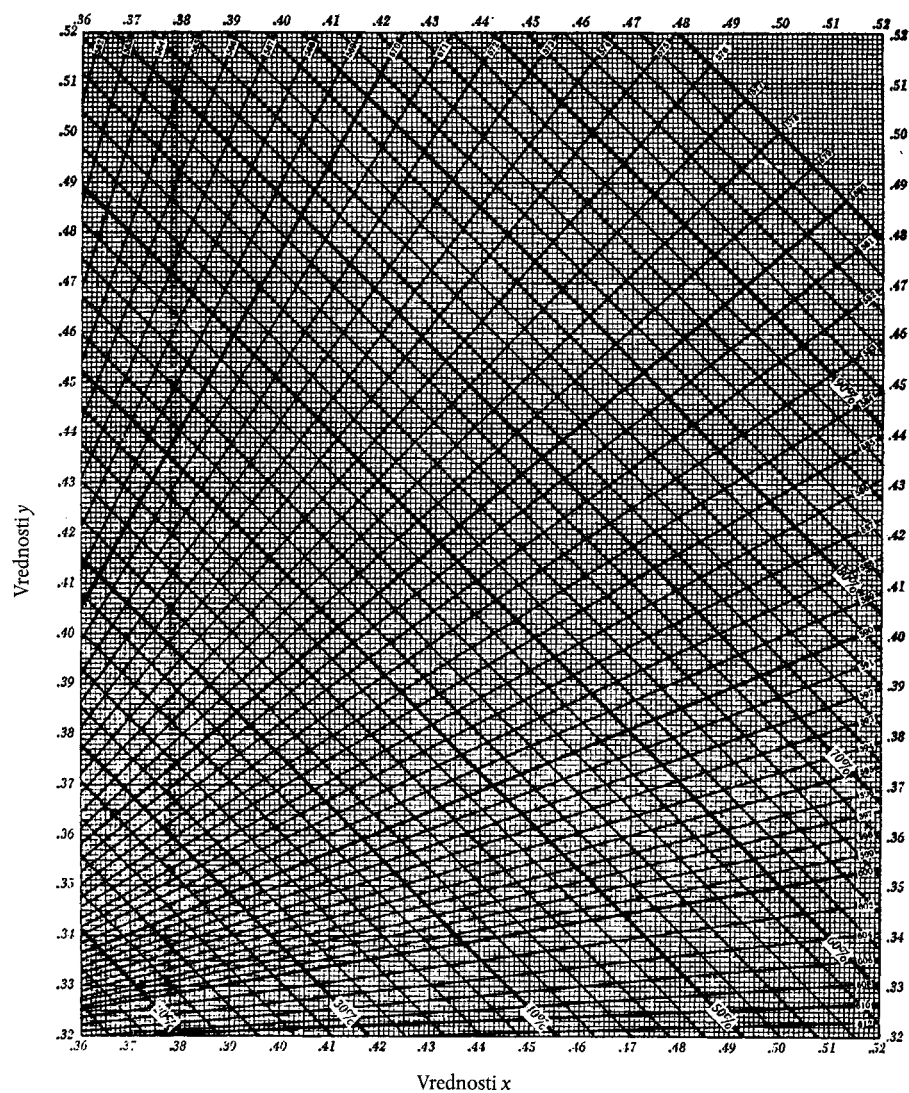
Primer:

Absorpcija	0,47	1,47	2,47	3,47
T %	33,9	3,4	0,3	0

Transmisijo T % zaokrožimo na najbližji 0,1 %.

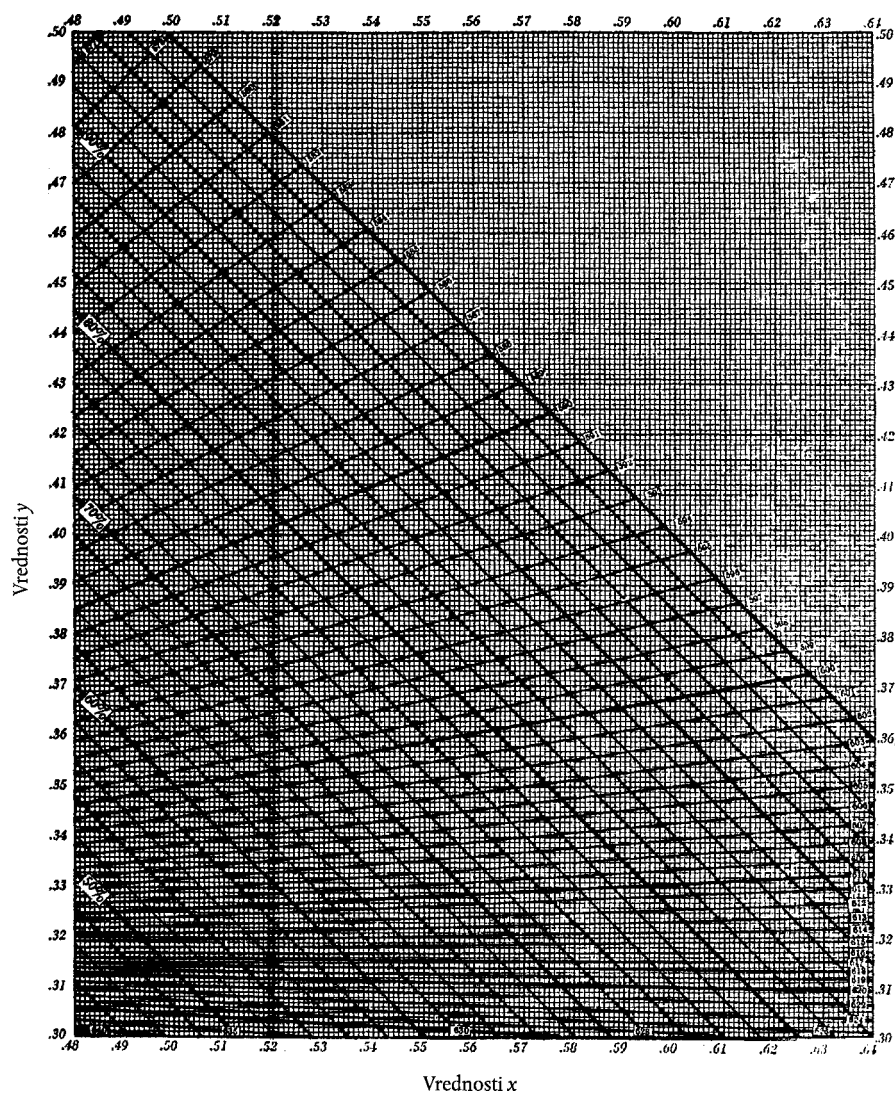


SLIKA 1
Diagram barvitosti z vsemi barvami spektra



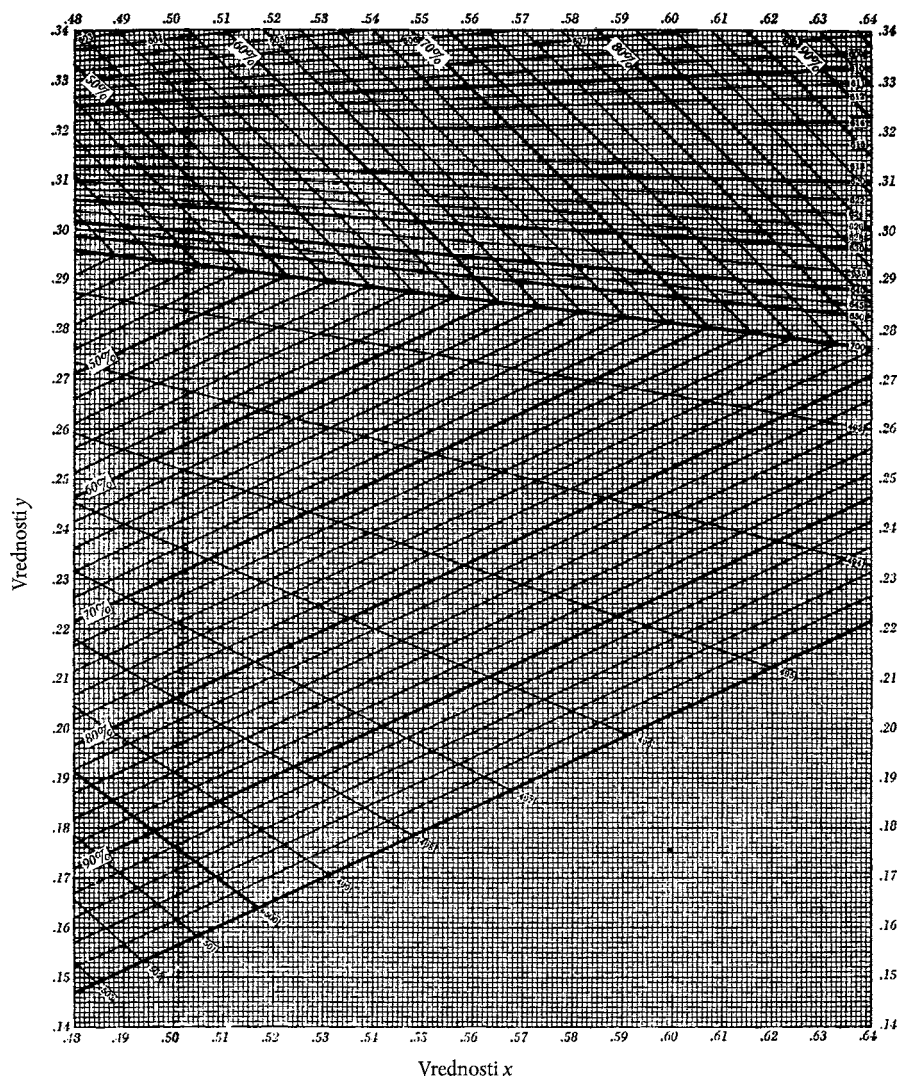
SLIKA 2

Diagram barvitosti za nespremenjena rdeča (svetlo rdeča) vina in rdeče rjava
(opečnato rdeča) vina



SLIKA 3

Diagram barvitosti za nespremenjena rdeča (svetlo rdeča) vina in rdeče rjava
(opečnato rdeča) vina



SLIKA 4

Diagram barvitosti za nespremenjena rdeča (svetlo rdeča) vina in škrlatna vina

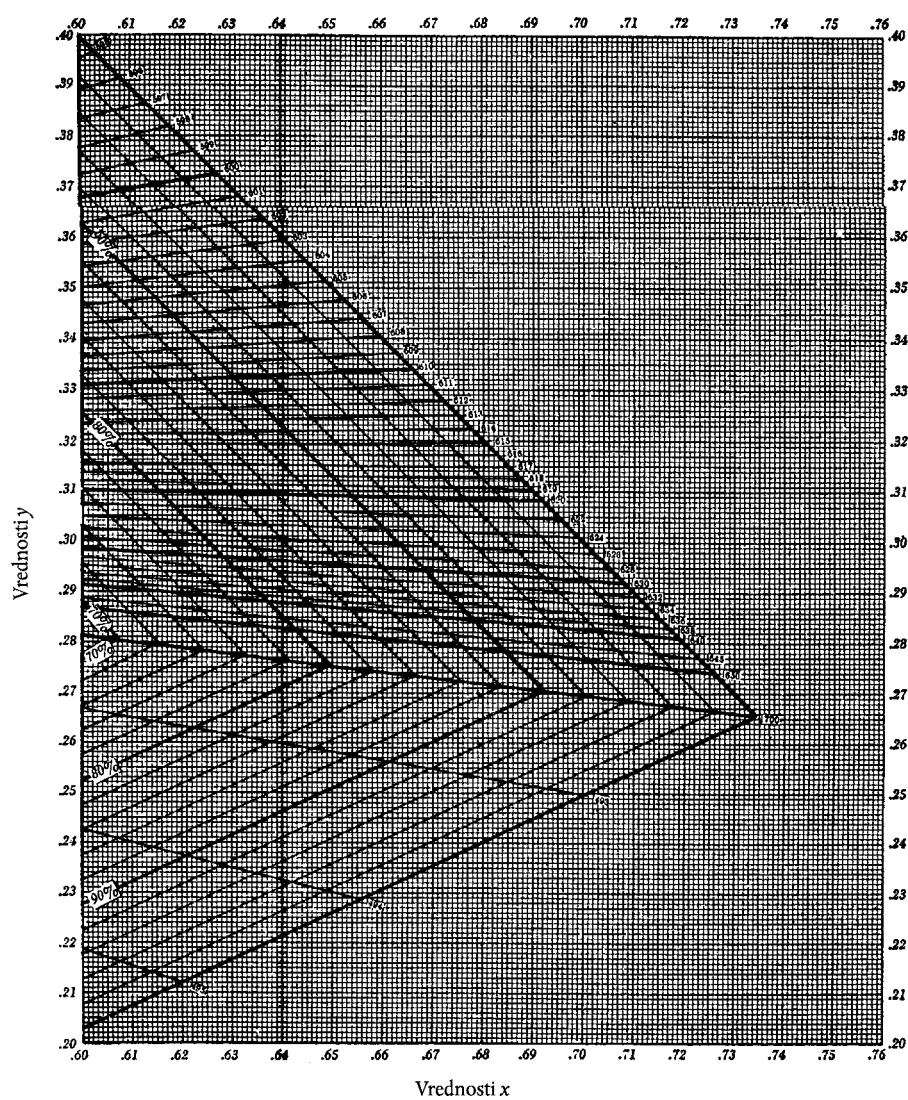
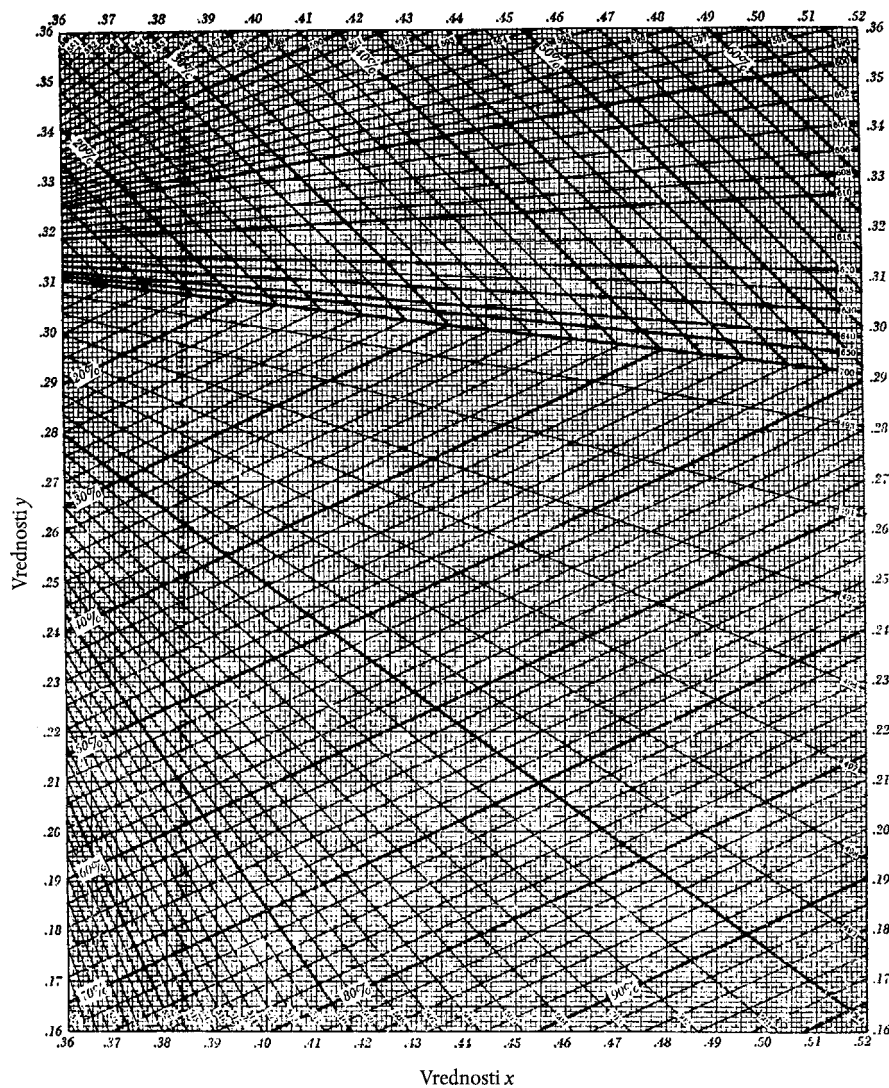


Diagram barvitosti za nespremenjena rdeča (svetlo rdeča) vina in škrlatna vina



2. REKTIFICIRANI ZGOŠČENI MOŠTI

2.1 Princip metode

Absorpcijo rektificiranega zgoščenega mošta merimo pri 425 nm skozi debelino 1 cm po redčenju, s katerim dobimo koncentracijo sladkorja 25 % (m/m) (25 °Brix).

2.2 Aparature

2.2.1 Spektrofotometer, ki omogoča meritve med 300 in 700 nm.

2.2.2 Steklene celice z dolžino optične poti 1 cm.

2.2.3 Membranski filter s premerom lukenj 0,45 µm.

2.3 Postopek

2.3.1 Priprava vzorca

Uporabimo raztopino s koncentracijo sladkorja 25 % (m/m) (25 °Brix), ki jo pripravimo v skladu z opisom v poglavju „pH“, oddelek 4.1.2. Filtriramo prek membranskega filtra s premerom lukenj 0,45 µm.

2.3.2 Določitev absorpcije

Skalo absorpcije nastavimo na ničlo pri valovni dolžini 425 nm, pri čemer uporabimo celico z optično potjo 1 cm, ki vsebuje destilirano vodo.

Pri enaki valovni dolžini izmerimo absorpcijo A raztopine s 25 % sladkorja (25 °Brix), ki jo pripravimo v skladu z 2.3.1 in damo v celico z optično potjo 1 cm.

2.4 Izražanje rezultatov

Absorpcijo rektificiranega zgoščenega mošta pri 425 nm v raztopini s 25 % sladkorja (25 °Brix) izrazimo na dve decimalni mesti natančno.

41. KAZALEC FOLIN-CIOCALTEU

1. OPREDELITEV POJMA

Kazalec Folin-Ciocalteu je rezultat, ki ga dobimo s spodaj opisano metodo.

2. PRINCIP METODE

Vse fenolne spojine v vinu oksidirajo z reagentom Folin-Ciocalteu. Ta reagent pripravimo iz mešanice fosfovolframove kisline ($H_3PW_{12}O_{40}$) in fosfomolibdične kisline ($H_3PMo_{12}O_{40}$), ki se po oksidaciji fenolov reducira v mešanico modrih oksidov volframa (W_8O_{23}) in molibdena (Mo_8O_{23}).

Nastalo modro obarvanje ima maksimalno absorpcijo v območju 750 nm in je sorazmerno s celotno količino fenolnih spojin, ki so navzoče od začetka.

3. REAGENTI

Imeti morajo kakovost analitičnega reagenta. Uporabimo destilirano vodo ali vodo enakovredne čistosti.

3.1 Reagent Folin-Ciocalteu

Reagent je na voljo na trgu in je že pripravljen za uporabo. Pripravimo ga lahko na naslednji način: v 700 ml destilirane vode raztopimo 100 g natrijevega volframata ($Na_2WO_4 \times 2H_2O$) in 25 g natrijevega molibdata ($Na_2MoO_4 \times 2H_2O$). Dodamo 50 ml 85 % fosforne kisline ($p_{20} = 1,71$ g/ml) in 100 ml koncentrirane klorovodikove kisline ($p_{20} = 1,19$ g/ml). Segrejemo do vrenja in vremo 10 ur v pogojih refluxa. Nato dodamo 150 g litijevega sulfata ($Li_2SO_4 \times H_2O$) in nekaj kapljic broma in pustimo vreti še 15 minut. Pustimo, da se ohladi, in dopolnimo do enega litra z destilirano vodo.

3.2 Brezvodni natrijev karbonat, Na_2CO_3 , pripravljen v 20 % raztopini m/v.

4. APARATURE

Običajna laboratorijska oprema, zlasti:

4.1 100 ml merilne bučke.

4.2 Spektrofotometer, ki deluje pri 750 nm.

5. POSTOPEK

5.1 Rdeče vino

V 100 ml merilno bučko (4.1) nalijemo dosledno v naslednjem vrstnem redu:

1 ml vina, poprej razredčenega v razmerju 1 : 5,

50 ml destilirane vode,

5 ml reagenta Folin-Ciocalteu (3.1),

20 ml raztopine natrijevega karbonata (3.2).

Dopolnimo do 100 ml z destilirano vodo.

Premešamo, da se tekočina homogenizira. Počakamo 30 minut, da se reakcija stabilizira. Določimo absorpcijo pri 750 nm prek dolžine poti 1 cm glede na slepi vzorec, v katerega smo namesto vina dali destilirano vodo.

Če absorpcija ni okrog 0,3, moramo ustrezno razredčiti.

5.2 Belo vino

Izvedemo enak postopek z 1 ml nerazredčenega vina.

5.3 Rektificirani zgoščeni mošt**5.3.1 Priprava vzorca**

Uporabimo raztopino s koncentracijo sladkorja 25 % (m/m) (25 °Brix), ki jo pripravimo, kakor je opisano v poglavju „pH“, oddelek 4.1.2.

5.3.2 Meritev

Nadaljujemo po postopku, opisanem za rdeče vino (5.1), pri čemer uporabimo 5 ml vzorec, ki je pripravljen v skladu s 5.3.1, in merimo absorpcijo glede na kontrolni vzorec, pripravljen s 5 ml 25 % (m/m) raztopine invertnega sladkorja.

6. IZRAŽANJE REZULTATOV**6.1 Izračun**

Rezultat izrazimo v obliki kazalca, ki ga dobimo s pomnožitvijo absorpcije s 100 pri rdečih vinih, razredčenih v razmerju 1 : 5 (ali z ustreznim faktorjem za druga redčenja), in z 20 pri belih vinih. Pri rektificiranih zgoščenih moštih ga pomnožimo s 16.

6.2 Ponovljivost

Razlika med rezultati dveh določitev, ki jih opravi isti analitik istočasno ali zelo hitro eno za drugo, ne sme biti večja od 1.

Dobro ponovljivost rezultatov dosežemo, če uporabljamo zelo čiste aparature (merilne bučke in celice spektrofotometra).

42. POSEBNE METODE ANALIZE ZA REKTIFICIRANI ZGOŠČENI GROZDNI MOŠT**(a) SKUPNI KATIONI****1. PRINCIP METODE**

Testni vzorec obdelamo z zelo kislim izmenjalcem kationov. Kationi se izmenjajo s H^+ . Skupni kationi so izraženi z razliko med skupno kislostjo eluata in skupno kislostjo testnega vzorca.

2. APARATURE

2.1 Steklena kolona z notranjim premerom 10 do 11 mm, dolga približno 300 mm, na kateri je odvod.

2.2 pH meter s skalo z razdelki vsaj 0,1 pH enot.

2.3 Elektrode:

— steklena elektroda, shranjena v destilirani vodi,

— kalomelova (nasičeni kalijev klorid) referenčna elektroda, shranjena v nasičeni raztopini kalijevega klorida,

— ali kombinirana elektroda, shranjena v destilirani vodi.

3. REAGENTI

3.1 Močno kisla kationska izmenjalna smola v obliki H^+ , ki smo jo pustili čez noč v vodi, da nabrekne.

3.2 Raztopina natrijevega hidroksida, 0,1 M.

3.3 Papirnati pH indikator.

4. POSTOPEK**4.1 Priprava vzorca**

Uporabimo raztopino, ki smo jo pripravili z redčenjem rektificiranega zgoščenega mošta na 40 % (m/v), kakor je opisano v poglavju „Skupne kisline“, oddelek 5.1.2.

4.2 Priprava ionske izmenjalne koloneV

kolono nalijemo približno 10 ml nabrekliga izmenjalca ionov v obliki H^+ . Kolono izperemo z destilirano vodo, dokler ne odstranimo vse kisline, pri čemer si pri spremljanju pomagamo s papirnim indikatorjem.

4.3 Izmenjava ionov

100 ml raztopine rektificiranega zgoščenega mošta, ki jo pripravimo v skladu s 4.1, prelijemo skozi kolono s hitrostjo ene kapljice na sekundo. Eluat zberemo v čaši. Kolono izplaknemo s 50 ml destilirane vode. Kislino v eluatu (vključno z vodo za izplakovanje) titriramo z 0,1 M raztopino natrijevega hidroksida, dokler ni pH 7 pri 20 °C. Alkalno raztopino moramo dodajati počasi in raztopino nepretrgoma stresati. Z n ml označimo prostornino uporabljenih 0,1 M raztopine natrijevega hidroksida.

5. IZRAŽANJE REZULTATOV

Skupne katione izrazimo v tisočinkah enote na kilogram skupnega sladkorja na eno decimalno mesto natančno.

5.1 Izračuni

- Kislost eluata, izražena v tisočinkah enote na kilogram rektificiranega zgoščenega mošta:

$$E = 2,5 n$$

- Skupne kisline rektificiranega zgoščenega mošta v tisočinkah enote na kilogram (glej „Skupne kisline“, oddelek 6.1.2): a

- Skupni kationi v tisočinkah enote na kilogram skupnih sladkorjev:

$$\frac{2,5n - a}{P} \times 100$$

pri čemer je P = odstotek koncentracije (m/m) skupnih sladkorjev.

(b) ELEKTROPREVODNOST

1. PRINCIP METODE

Elektroprevodnost tekočine v koloni, opredeljeno z dvema vzporednima platinskima elektrodama na obeh koncih, merimo tako, da jo priklopimo v eno vejo Wheatstonovega merilnega mostiča .

Elektroprevodnost se spreminja s temperaturo in jo izražamo pri 20 °C.

2. APARATURE

2.1 Merilec elektroprevodnosti, ki omogoča merjenje v razponu od 1 do 1 000 mikrosimensov na cm ($\mu\text{S cm}^{-1}$).

2.2 Vodna kopel za vzpostavitev temperature vzorcev za analizo pri približno 20 °C (20 ± 2 °C).

3. REAGENTI

3.1 Demineralizirana voda s specifično elektroprevodnostjo pod $2 \mu\text{S cm}^{-1}$ pri 20 °C.

3.2 Referenčna raztopina kalijevega klorida.

V demineralizirani vodi (3.1) raztopimo 0,581 g kalijevega klorida, KCl, ki je bil poprej posušen na konstantno maso pri temperaturi 105 °C. Doplnimo do enega litra z demineralizirano vodo (3.1). Ta raztopina ima elektroprevodnost $1\,000 \mu\text{S cm}^{-1}$ pri 20 °C. Ne smemo je hraniti dlje kakor tri mesece.

4. POSTOPEK

4.1 Priprava vzorca za analizo

Uporabimo raztopino s koncentracijo skupnega sladkorja 25 % (m/m) (25° Brix), kakor je opisano v poglavju „pH“, oddelek 4.1.2.

4.2 Določitev elektroprevodnosti

Vzorec za analizo segrejemo na 20 °C, tako da ga potopimo v vodno kopel. Temperaturo ohranjamo v okviru $\pm 0,1$ °C.

Elektroprevodnostno celico izplaknemo dvakrat z raztopino za analizo.

Izmerimo elektroprevodnost in rezultat izrazimo v $\mu\text{S cm}^{-1}$.

5. IZRAŽANJE REZULTATOV

Rezultat izrazimo v mikrosimensih na cm ($\mu\text{S cm}^{-1}$) pri 20 °C, zaokroženo na najbližjo celo številko za 25 % (m/m) (25° Brix) raztopino rektificiranega zgoščenega mošta.

5.1 Izračuni

Če aparatura nima termostata, korigiramo izmerjeno elektroprevodnost z uporabo tabele I. Če je temperatura pod 20 °C, korekcijo prištejemo, če je nad 20 °C, korekcijo odštejemo.

TABELA I

Korekcije za elektroprevodnost za temperature, ki se razlikujejo od 20 °C ($\mu\text{S} \times \text{cm}^{-1}$)

Elektro- prevodnost	Temperatura (°C)									
	20,2 19,8	20,4 19,6	20,6 19,4	20,8 19,2	21,0 19,0	21,2 18,8	21,4 18,6	21,6 18,4	21,8 18,2	22,0 ⁽¹⁾ 18,0 ⁽²⁾
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	1	1	1	1	1	2	2	2
100	0	1	1	2	2	3	3	3	4	4
150	1	1	2	3	3	4	5	5	6	7
200	1	2	3	3	4	5	6	7	8	9
250	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11
300	1	3	4	5	7	8	9	11	12	13
350	1	3	5	6	8	9	11	12	14	15
400	2	3	5	7	9	11	12	14	16	18
450	2	3	6	8	10	12	14	16	18	20
500	2	4	7	9	11	13	15	18	20	22
550	2	5	7	10	12	14	17	19	22	24
600	3	5	8	11	13	16	18	21	24	26

⁽¹⁾ Odštejemo korekcijo.

⁽²⁾ Prištejemo korekcijo.

(c) HIDROKSIMETILFURFURAL (HMF)

1. PRINCIP METOD

1.1 Kolorimetrična metoda

Aldehidi, pridobljeni iz furana, od katerih je glavni hidroksimetilfurfural, reagirajo z barbiturno kislino in paratoluidinom in dajo rdečo spojino, ki jo določimo s kolorimetrijo pri 550 nm.

1.2 Tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (HPLC)

Ločevanje skozi kolono s kromatografijo z nasprotno fazo in določitev pri 280 nm.

2. KOLORIMETRIČNA METODA

2.1 Aparature

2.1.1 Spektrofotometer za merjenje med 300 in 700 nm.

2.1.2 Steklene celice z dolžino optične poti 1 cm.

2.2 Reagenti

2.2.1 Barbiturna kislina, 0,5 % raztopina (m/v).

V destilirani vodi raztopimo 500 mg barbiturne kisline, $C_4O_3N_2H_4$, in počasi segrejemo nad vodno kopeljo pri 100 °C. Dopolnimo do 100 ml z destilirano vodo. Raztopina je stabilna približno en teden.

2.2.2 Raztopina paratoluidina, 10 % (m/v).

V 100 ml merilno bučko nalijemo 10 g paratoluidina, $C_6H_4(CH_3)NH_2$; dodamo 50 ml izopropanola, $CH_3CH(OH)CH_3$, in 10 ml očetne kisline (ledocet), CH_3COOH ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml). Dopolnimo do 100 ml z izopropanolom. To raztopino pripravljamo vsak dan sproti.

2.2.3 Etanal (acetaldehid), CH_3CHO , 1 % (m/v) vodna raztopina.

Pripravimo neposredno pred uporabo.

2.2.4 Hidroksimetilfurfural, $C_6O_3H_6$, 1 g/l vodna raztopina.

Pripravimo zaporedne razredčitve, ki vsebujejo po 5, 10, 20, 30 in 40 mg/l. Raztopina 1 g/l, pa tudi razredčene raztopine morajo biti sveže pripravljene.

2.3 Postopek

2.3.1 Priprava vzorca

Uporabimo raztopino, ki jo dobimo z redčenjem rektificiranega zgoščenega mošta na 40 % (m/v), kakor je opisano v poglavju „Skupne kisline“, oddelek 5.1.2. Določitev opravimo na 2 ml raztopine.

2.3.2 Kolorimetrična določitev

V obe 25 ml bučki *a* in *b*, ki imata steklen zamašek z obrušom, nalijemo 2 ml vzorca, pripravljenega v skladu z 2.3.1. V vsako bučko nalijemo po 5 ml raztopine paratoluidina (2.2.2); premešamo. V bučko *b* (kontrolna) dodamo 1 ml destilirane vode, v bučko *a* pa 1 ml barbiturne kisline (2.2.1). Stresamo, da homogeniziramo. Vsebine bučk prenesemo v celice spektrofotometra z optično potjo 1 cm. Skalo absorpcije nastavimo na ničlo z uporabo vsebine bučke *b* pri valovni dolžini 550 nm. Sledimo spremembi absorpcije vsebine bučke *a*; zabeležimo najvišjo vrednost *A*, ki je dosežena po dveh do petih minutah.

Vzorci s koncentracijo hidroksimetilfurfurala nad 30 mg/l pred analizo razredčimo.

2.3.3 Umeritvena krivulja

V dva kompleta 25 ml bučk *a* in *b* nalijemo 2 ml vsake raztopine hidroksimetilfurfurala s po 5, 10, 20, 30 in 40 mg/l (2.2.4) in jih obdelamo v skladu z 2.3.2.

Graf, ki ponazarja spremembo absorpcije s koncentracijo hidroksimetilfurfurala v mg/l, je črta, ki gre linearno skozi koordinatno središče.

2.4 Izražanje rezultatov

Koncentracija hidroksimetilfurfurala v rektificiranem zgoščenem moštu je izražena v miligramih na kilogram skupnih sladkorjev.

2.4.1 *Izračun*

Koncentracija hidroksimetilfurfurala C mg/l v vzorcu za analizo je koncentracija na umeritveni krivulji, ki ustreza absorpciji A , merjeni v vzorcu.

Koncentracijo hidroksimetilfurfurala v miligramih na kilogram skupnih sladkorjev dobimo z:

$$250 \times \frac{C}{P}$$

pri čemer je P = odstotek (m/m) koncentracije skupnih sladkorjev v rektificiranem zgoščenem moštu.

3. TEKOČINSKA KROMATOGRAFIJA VISOKE LOČLJIVOSTI

3.1 **Aparaturi**3.1.1 *Tekočinski kromatograf visoke ločljivosti, ki ima:*

- injektor, 5 ali 10 μ l,
- spektrofotometrični detektor za merjenje pri 280 nm,
- kolono s silikagelom, na katerega je kemijsko vezan oktaedecil (npr. Bondapak C18 – Corasil, Waters Ass.),
- rekorder ali po možnosti integrator.

Počasni pretok mobilne faze: 1,5 ml/minuto.

3.1.2 Priprava za membransko filtriranje, premer lukenj 0,45 μ m.3.2 **Reagenti**

3.2.1 Dvakrat destilirana voda.

3.2.2 Metanol, CH_3OH , destiliran ali kakovosti HPLC.3.2.3 Ocetna kislina, CH_3COOH , ($\rho = 1,05$ g/ml).3.2.4 Mobilna faza: voda-metanol (3.2.2)-ocetna kislina (3.2.3), poprej prefiltrirana prek membranskega filtra (0,45 μ m), (40 : 9 : 1 v/v).

To mobilno fazo pripravimo vsak dan sproti in jo pred uporabo razplinimo.

3.2.5 Referenčna raztopina hidroksimetilfurfurala, 25 mg/l (v/v).

V 100-ml merilno bučko damo 25 mg natančno tehtanega hidroksimetilfurfurala, $\text{C}_6\text{H}_3\text{O}_6$, in dopolnimo do oznake z metanolom (3.2.2). Raztopino razredčimo 1 : 10 z metanolom (3.2.2) in prefiltriramo prek membranskega filtra (0,45 μ m).

Če raztopino hranimo v hladilniku v steklenici iz rjavega stekla, se ohrani dva do tri mesece.

3.3 **Postopek**3.3.1 *Priprava vzorca*

Uporabimo raztopino, ki jo dobimo z razredčitvijo rektificiranega zgoščenega mošta na 40 % (m/v), kakor je opisano v poglavju „Skupne kisline“, oddelek 5.1.2, in jo prefiltriramo prek 0,45 μ m membranskega filtra.

3.3.2 Kromatografska določitev

V kromatograf damo 5 (ali 10) µl vzorca, pripravljenega v skladu z opisom v 3.3.1, in 5 (ali 10) µl referenčne raztopine hidroksimetilfurfurala (3.2.5). Zabeležimo kromatogram.

Retencijski čas hidroksimetilfurfurala je približno šest do sedem minut.

3.4 Izražanje rezultatov

Koncentracija hidroksimetilfurfurala v rektificiranih zgoščenih moštih je izražena v miligramih na kilogram skupnih sladkorjev.

3.4.1 Izračun

Koncentracijo hidroksimetilfurfurala v 40 % (m/v) raztopini rektificiranega zgoščenega mošta označimo s C mg/l.

Koncentracija hidroksimetilfurfurala v miligramih na kilogram skupnih sladkorjev je dana z:

$$250 \times \frac{C}{P}$$

pri čemer je P = odstotek (m/m) koncentracije skupnih sladkorjev v rektificiranem zgoščenem moštu.

(d) TEŽKE KOVINE

1. PRINCIP METODE

I. Hitra metoda za analizo težkih kovin

Težke kovine se v primerno razredčenem rektificiranem zgoščenem moštu pokažejo z obarvanjem, ki ga povzroči tvorba sulfidov. Ocenimo jih s primerjavo s standardno raztopino svinca, ki ustreza največji dovoljeni koncentraciji.

II. Določitev vsebnosti svinca z atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo

Helat, ki nastane iz svinca z amonijevim pirolidinditiokarbamatom, ekstrahiramo z metilizobutylketonom in izmerimo absorpcijo pri 283,3 nm. Vsebnost svinca določimo z uporabo znanih dodatnih količin svinca v kompletu referenčnih raztopin.

2. HITRA METODA OCENJEVANJA TEŽKIH KOVIN

2.1 Reagenti

2.1.1 Razredčena klorovodikova kislina, 70 % (m/v).

Vzamemo 70 g klorovodikove kisline, HCl ($\rho_{20} = 1,16$ do $1,19$ g/ml), in dopolnimo do 100 ml z vodo.

2.1.2 Razredčena klorovodikova kislina, 20 % (m/v).

Vzamemo 20 g klorovodikove kisline, HCl ($\rho_{20} = 1,16$ to $1,19$ g/ml), in dopolnimo do 100 ml z vodo.

2.1.3 Razredčeni amonijak. Vzamemo 14 g amonijaka, NH₃ ($\rho_{20} = 0,931$ to $0,934$ g/ml), in dopolnimo do 100 ml z vodo.

2.1.4 Puferska raztopina pH 3,5.

Raztopimo 25 g amonijevega acetata, $\text{CH}_3\text{COONH}_4$, v 25 ml vode in dodamo 38 ml razredčene klorovodikove kisline (2.1.1). Po potrebi pH prilagodimo z uporabo razredčene klorovodikove kisline (2.1.2) ali razredčenega amonijaka (2.1.3) in dopolnimo do 100 ml z vodo.

2.1.5 Raztopina tioacetamida $\text{C}_2\text{H}_5\text{SN}$, 4 % (m/v).

2.1.6 Raztopina glicerola, $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$, 85 % (m/v), ($n_D^{20\text{ }^\circ\text{C}}$ = 1,449 do 1,455).

2.1.7 Reagent tioacetamida.

V 0,2 ml raztopine tioacetamida (2.1.5) dodamo 1 ml mešanice 5 ml vode, 15 ml 1 M raztopine natrijevega hidroksida in 20 ml glicerola (2.1.6). Na vodni kopeli grejemo 20 sekund pri 100 °C. Pripravimo neposredno pred uporabo.

2.1.8 Raztopina z 0,002 g/l svinca.

1 g/l raztopino svinca pripravimo tako, da v vodi raztopimo 0,400 g svinčevega nitrata, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, in dopolnimo do 250 ml z vodo. Kadar raztopino uporabimo, jo razredčimo z dvema deloma vode v 1 000 (v/v), tako da dobimo raztopino 0,002 g/l.

2.2 Postopek

Testni vzorec 10 g rektificiranega zgoščenega mošta raztopimo v 10 ml vode. Dodamo 2 ml puferske raztopine pH 3,5 (2.1.4); zmešamo. Dodamo 1,2 ml reagenta tioacetamida (2.1.7). Takoj zmešamo. Kontrolni vzorec pripravimo v enakih pogojih, tako da uporabimo 10 ml 0,002 g/l raztopine svinca (2.1.8).

Morebitno rjavo obarvanje raztopine rektificiranega zgoščenega mošta po dveh minutah ne sme biti intenzivnejše kakor obarvanje kontrolnega vzorca.

2.3 Izračuni

V enakih pogojih kakor v gornjem postopku kontrolni vzorec ustreza največji dovoljeni koncentraciji težkih kovin, izraženi kot 2 mg svinca na kg rektificiranega zgoščenega mošta.

3. DOLOČITEV VSEBNOSTI SVINCA Z ATOMSKO ABSORPCIJSKO SPEKTROFOTOMETRIJO

3.1 Aparaturi

3.1.1 Atomski absorpcijski spektrofotometer z gorilcem na zmes zraka in acetilena.

3.1.2 Žarnica s svinčevo votlo katodo.

3.2 Reagenti

3.2.1 Razredčena očetna kislina.

Vzamemo 12 g očetne kisline (ledocet) ($\rho = 1,05 \text{ g/ml}$) in dopolnimo do 100 ml z vodo.

3.2.2 Raztopina amonijevega pirolidinditiokarbamata, $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}_2\text{S}_2$, 1 % (m/v).

3.2.3 Metilizobutylketon, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{COCH}_3$.

3.2.4 Raztopina, ki vsebuje 0,010 g/l svinca.

Raztopimo 1 g/l raztopine svinca (iz 2.1.8) na 1 % (v/v).

3.3 Postopek

3.3.1 Priprava raztopine za analizo

Razredčimo 10 g rektificiranega zgoščenega mošta v mešanici enakih prostornin razredčene očetne kisline (3.2.1) in vode ter dopolnimo do 100 ml s to mešanico.

Dodamo 2 ml raztopine amonijevega pirolidinditiokarbamata (3.2.2) in 10 ml metilizobutylketona (3.2.3). Stresamo 30 sekund, zaščiteno pred močno svetlobo. Pustimo, da se izoblikujeta dva sloja. Uporabimo sloj metilizobutylketona.

3.3.2 Priprava referenčnih raztopin

Pripravimo tri referenčne raztopine, ki poleg 10 g rektificiranega zgoščenega mošta po vrsti vsebujejo po 1, 2 in 3 ml raztopine z 0,010 g/l svinca (3.2.4). Obdelamo enako kakor raztopino za analizo.

3.3.3 Kontrola

V enakih pogojih kakor v 3.3.1 pripravimo kontrolni vzorec, vendar mu ne dodamo rektificiranega zgoščenega mošta.

3.3.4 Določitev

Valovno dolžino nastavimo na 283,3 nm.

Metilizobutylketon iz kontrolnega vzorca atomiziramo v plamenu in skalo absorpcije nastavimo na ničlo.

Z uporabo ekstraktov iz ustreznih topil določimo absorpcijo raztopine za analizo in referenčnih raztopin.

3.4 Izražanje rezultatov

Vsebnost svinca izrazimo v miligramih na kilogram rektificiranega zgoščenega mošta, in to na eno decimalno mesto natančno.

3.4.1 Izračuni

Izdelamo krivuljo spremembe absorpcije kot funkcijo koncentracije svinca, dodanega referenčnim raztopinam, pri čemer koncentracija pri ničli ustreza raztopini za analizo.

Ekstrapoliramo linearno črto, ki povezuje točki, dokler ne preseka negativnega dela osi koncentracije. Razdalja med točko preseka in koordinatnim izhodiščem nam dá koncentracijo svinca v raztopini za analizo.

(e) KEMIČNA DOLOČITEV ETANOLA

To metodo uporabimo za določitev alkoholne stopnje tekočin z nizko vsebnostjo alkohola, kakor so mošti, zgoščeni mošti in rektificirani zgoščeni mošti.

1. PRINCIP METODE

Preprosta destilacija tekočine. Oksidacija etanola v destilatu s kalijevim dikromatom. Titracija odvečnega dikromata z raztopino železa (II).

2. APARATURA

- 2.1 Uporabimo destilator, opisan v poglavju „Volumenski delež alkohola“, oddelek 3.2.

3. REAGENTI

3.1 Raztopina kalijevega dikromata.

33,600 g kalijevega dikromata, $K_2Cr_2O_7$, raztopimo v zadostni količini vode, da dobimo en liter raztopine pri 20 °C.

En mililiter te raztopine oksidira 7,8924 mg alkohola.

3.2 Raztopina železovega (II) amonijevega sulfata.

Raztopimo 135 g železovega (II) amonijevega sulfata, $FeSO_4 \cdot (NH_4)_2SO_4 \cdot 6 H_2O$, v toliko vode, da dobimo en liter raztopine, in dodamo 20 ml koncentrirane žveplove kisline, H_2SO_4 ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml). 1 ml te sveže pripravljene raztopine ustreza 0,5 ml raztopine dikromata. Nato počasi oksidira.

3.3 Raztopina kalijevega permanganata.

Raztopimo 1,088 g kalijevega permanganata, $KMnO_4$, v toliko vode, da dobimo en liter raztopine.

3.4 Razredčena žveplova kislina, 1 : 2 (v/v).

V 500 ml vode postopoma in ob nenehnem mešanju dodajamo 500 ml žveplove kisline, H_2SO_4 ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml).

3.5 Reagent železovega ortofenantrolina.

V 100 ml vode raztopimo 0,695 g železovega sulfata, $FeSO_4 \times 7 H_2O$, in dodamo 1,485 g ortofenantrolinmonohidrata, $C_{12}H_8N_2 \times H_2O$. Segrejemo, da pospešimo raztapljanje. Ta svetlo rdeča raztopina je stabilna.

4. POSTOPEK

4.1 Destilacija

V destilacijsko bučko nalijemo 100 g rektificiranega zgoščenega mošta in 100 ml vode. V 100 ml merilni bučki zberemo destilat in dopolnimo z vodo do oznake.

4.2 Oksidacija

Vzamemo bučko s steklenim zamaškom z brusom in razširjenim vratom, ki omogoča izplakovanje vratu brez kakršne koli izgube. V bučko damo 20 ml titracijske raztopine kalijevega dikromata (3.1) in 20 ml 1 : 2 (v/v) raztopine žveplove kisline (3.4) ter stresemo. Dodamo 20 ml destilata. Bučko zamašimo, stresemo in počakamo vsaj 30 minut, pri čemer bučko stresemo občasno. (To je „meritvena“ bučka.)

Izvedemo titracijo raztopine železovega (II) amonijevega sulfata (3.2) glede na raztopino kalijevega dikromata, tako da v enako bučko damo enako količino reagentov, vendar pa 20 ml destilata nadomestimo z 20 ml destilirane vode. (To je „kontrolna“ bučka.)

4.3 Titracija

V „meritveno“ bučko dodamo štiri kapljice reagenta ortofenantrolina (3.5). Titriramo odvečni dikromat, tako da mu dodamo raztopino železovega (II) amonijevega sulfata (3.2). Ko se barva mešanice spremeni iz zeleno modre v rjavo, prenehamo dodajati železovo raztopino.

Da bi lahko končno točko natančneje ocenili, spremenimo barvo mešanice iz rjave nazaj v zeleno modro z uporabo raztopine kalijevega permanganata (3.3). Desetino prostornine te uporabljene raztopine odštejemo od prostornine dodane raztopine železa (II). Razliko označimo z n ml.

Enak postopek uporabimo pri „kontrolni“ bučki. Razliko označimo z n' ml.

5. IZRAŽANJE REZULTATOV

Etanol izrazimo v gramih na kilogram sladkorja na eno decimalno mesto natančno.

5.1 Izračun

n' ml železove raztopine reducira 20 ml raztopine dikromata, ki oksidira 157,85 mg čistega etanola.

En mililiter raztopine železa (II) ima enako moč reduciranja kakor

$$\frac{157,85}{n'} \text{ mg etanola.}$$

$n - n'$ ml raztopine železa (II) ima enako moč reduciranja kakor

$$\frac{157,85(n - n')}{n'} \text{ mg etanola}$$

Koncentracijo etanola v g/kg rektificiranega zgoščenega mošta dobimo z:

$$7,892 \times \frac{(n' - n)}{n}$$

Koncentracijo etanola v g/kg skupnih sladkorjev dobimo z:

$$789,2 \times \frac{(n' - n)}{n'P}$$

pri čemer je P = odstotek koncentracije (m/m) skupnih sladkorjev.

(f) MEZO-INOZITOL, SCILO-INOZITOL IN SAHAROZA

1. PRINCIP

Plinska kromatografija sililiranih derivatov.

2. REAGENTI

- 2.1 Interni standard: ksilitol (vodna raztopina približno 10 g/l, ki ji dodamo za konico spatule natrijevega azida).
- 2.2 Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamid – BSTFA – ($C_8H_{18}F_3NOSi_2$)
- 2.3 Trimetilklorosilan (C_3H_9ClSi)
- 2.4 Piridin p. A. (C_5H_5N)
- 2.5 Mezo-inozitol ($C_6H_{12}O_6$)

3. APARATURE

- 3.1 Plinski kromatograf, opremljen s:
- 3.2 kapilarno kolono (npr. v zlitim silicijevem dioksidu, prevlečen z OV 1, debeline filma 0,15 μm , dolžine 25 m in z notranjim premerom 0,3 mm)
- Delovni pogoji:
- nosilni plin: vodik ali helij,
 - hitrost pretoka nosilnega plina: približno 2 ml/minuto,
 - temperatura injektorja in detektorja: 300 °C,
 - programiranje temperature: 1 minuta pri 160 °C, naraščanje 4 °C na minuto do 260 °C, 15 minut pri stalni temperaturi 260 °C,
 - razmerje razcepljanja: približno 1 : 20.
- 3.3 Integrator.
- 3.4 Mikrobrizga, 10 μl .
- 3.5 Mikropipete, 50, 100 in 200 μl .
- 3.6 2 ml bučka s teflonskim zamaškom.
- 3.7 Peč.

4. METODA

Natančno stehtani vzorec s približno 5 g rektificiranega zgoščenega mošta nalijemo v 50 ml bučko. Dodamo 1 μl standardne raztopine ksilitola (2.1) in dopolnimo z vodo do vrha. Po mešanju vzamemo 100 μl raztopine in jo nalijemo v bučko (3.6), v kateri jo izparimo z rahlim tokom zraka. Po potrebi lahko dodamo 100 μl absolutno čistega etilalkohola, da pospešimo izhlapevanje.

Ostanek previdno raztopimo v 100 μl piridina (2.4) in 100 μl bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (2.2) in dodamo 10 μl trimetilklorosilana (2.3). Bučko zamašimo s teflonskim zamaškom in grejemo eno uro pri 60 °C.

Odvzamemo 0,5 μl bistre tekočine in injiciramo s segreto votlo iglo v skladu z navedenim razmerjem razcepljanja.

5. IZRAČUN REZULTATOV

- 5.1 Pripravimo raztopino, ki vsebuje:

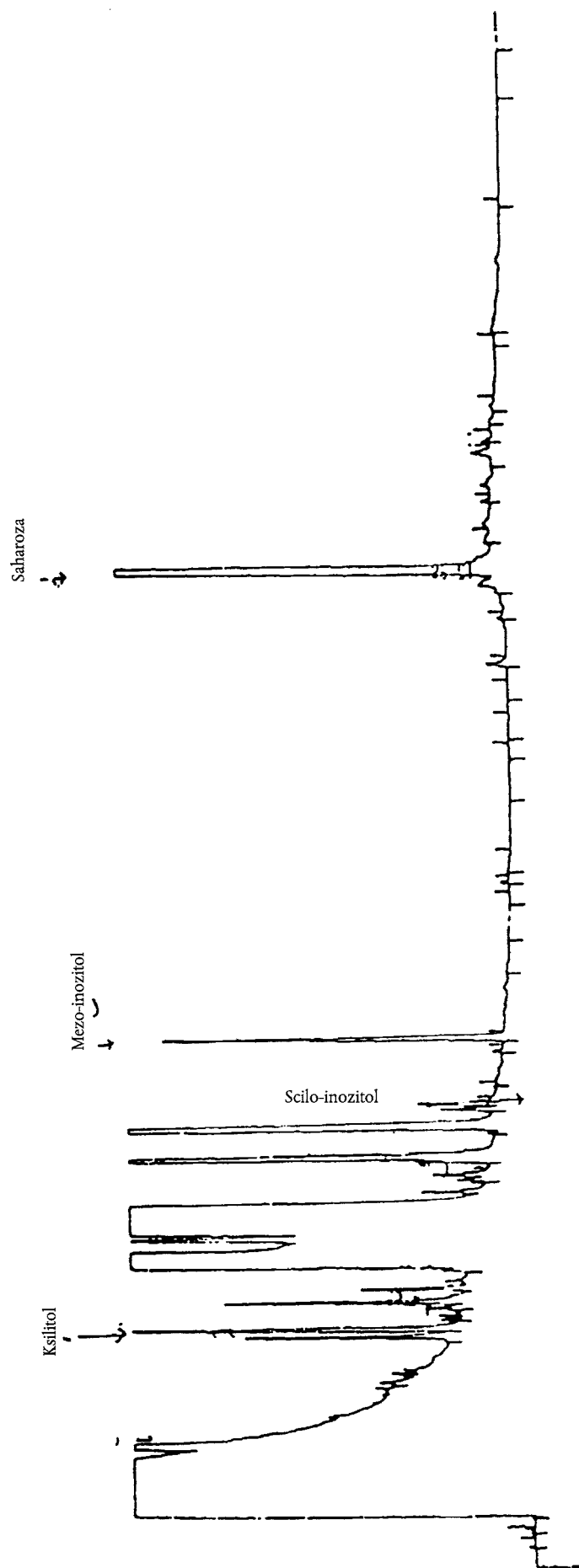
60 g/l glukoze, 60 g/l fruktoze, 1 g/l mezo-inozitola in 1 g/l saharoze.

Stehtamo 5 g raztopine in izvedemo postopek pod 4. Rezultati za mezo-inozitol in saharozo glede na ksilitol se izračunajo iz kromatograma.

Pri scilo-inozitolu, ki ni na voljo na trgu in pri katerem je čas retencije med zadnjo vršno vrednostjo anomerične oblike glukoze in vršno vrednostjo mezo-inozitola (glej diagram na drugi strani), vzamemo enak rezultat kakor za mezo-inozitol.

6. IZRAŽANJE REZULTATOV

- 6.1 Mezo-inozitol in scilo-inozitol sta izražena v miligramih na kilogram sladkorja. Saharoza je izražena v gramih na kilogram mošta.



Kromatogram v plinski fazi mezo-inozitola, scilo-inozitola in saharoze