

Warszawa, dnia 12 lipca 2022 r.

Poz. 1469

**ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI¹⁾**

z dnia 25 czerwca 2022 r.

w sprawie metod analiz fermentowanych napojów winiarskich wykonywanych w ramach nadzoru nad jakością handlową tych napojów²⁾

Na podstawie art. 6 pkt 3 ustawy z dnia 2 grudnia 2021 r. o wyrobach winiarskich (Dz. U. z 2022 r. poz. 24) zarządza się, co następuje:

§ 1. 1. Analizy fermentowanych napojów winiarskich do celów kontroli w zakresie jakości handlowej wykonuje się przy użyciu następujących metod:

- 1) oznaczania gęstości w temperaturze 20°C, która jest określona w załączniku nr 1 do rozporządzenia;
- 2) oznaczania zawartości alkoholu w % objętościowych, która jest określona w załączniku nr 2 do rozporządzenia;
- 3) oznaczania zawartości ekstraktu ogólnego, która jest określona w załączniku nr 3 do rozporządzenia;
- 4) oznaczania zawartości cukrów redukujących oraz cukrów redukujących po inwersji, które są określone w załączniku nr 4 do rozporządzenia;
- 5) oznaczania zawartości popiołu, która jest określona w załączniku nr 5 do rozporządzenia;
- 6) oznaczania kwasowości ogólnej, która jest określona w załączniku nr 6 do rozporządzenia;
- 7) oznaczania kwasowości lotnej, która jest określona w załączniku nr 7 do rozporządzenia.

2. Analizy, o których mowa w ust. 1, mogą być również wykonywane przy użyciu metod innych niż wymienione w ust. 1, pod warunkiem że uzyskane wyniki zapewniają porównywalną powtarzalność i odtwarzalność wyników tych analiz, przy czym za ostateczne uznaje się wyniki uzyskane z analiz wykonanych przy użyciu metod określonych w ust. 1.

§ 2. Rozporządzenie wchodzi w życie z dniem następującym po dniu ogłoszenia.³⁾

Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi: *H. Kowalczyk*

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej – rynki rolne, na podstawie § 1 ust. 2 pkt 3 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 27 października 2021 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. poz. 1950).

²⁾ Niniejsze rozporządzenie zostało notyfikowane Komisji Europejskiej w dniu 10 marca 2022 r. pod numerem 2022/144/PL, zgodnie z § 4 rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie sposobu funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. poz. 2039 oraz z 2004 r. poz. 597), które wdraża dyrektywę (UE) 2015/1535 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 9 września 2015 r. ustanawiającą procedurę udzielania informacji w dziedzinie przepisów technicznych oraz zasad dotyczących usług społeczeństwa informacyjnego (ujednolicenie) (Dz. Urz. UE L 241 z 17.09.2015, str. 1).

³⁾ Niniejsze rozporządzenie było poprzedzone rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 21 maja 2013 r. w sprawie szczegółowego sposobu wyrobu fermentowanych napojów winiarskich oraz metod analiz tych napojów do celów urzędowej kontroli w zakresie jakości handlowej (Dz. U. poz. 624), które utraciło moc z dniem 7 marca 2022 r. w związku z wejściem w życie ustawy z dnia 2 grudnia 2021 r. o wyrobach winiarskich (Dz. U. z 2022 r. poz. 24).

OZNACZANIE GĘSTOŚCI W TEMPERATURZE 20°C

Oznaczenie gęstości w temperaturze 20°C przy użyciu gęstościomierza oscylacyjnego polega na pomiarze okresu drgań kapilary napełnionej badaną próbką fermentowanego napoju winiarskiego. Okres drgań kapilary jest zależny od gęstości badanej próbki.

1. Sprzęt

Do oznaczenia gęstości używa się gęstościomierza oscylacyjnego umożliwiającego odczyt gęstości w gramach na mililitr, o rozdzielczości nie mniejszej niż 0,0001 grama na mililitr.

2. Wykonanie oznaczenia gęstości

Oznaczenie gęstości wykonuje się przy użyciu skalibrowanego w temperaturze 20°C gęstościomierza oscylacyjnego zgodnie z instrukcją obsługi. Następnie odczytuje się gęstość fermentowanego napoju winiarskiego. Wynik podaje się z dokładnością do 0,0001 grama na mililitr.

3. Powtarzalność metody

Powtarzalność metody (r) jest to wartość, poniżej której powinna, z określonym prawdopodobieństwem, znajdować się wartość bezwzględna różnicy między wynikami 2 pojedynczych oznaczeń uzyskanych dla tej samej próbki w tych samych warunkach pomiarowych (przez tego samego analityka, w tym samym laboratorium, przy użyciu tej samej aparatury i w krótkim odstępie czasu).

W przypadku oznaczania gęstości przy użyciu gęstościomierza oscylacyjnego powtarzalność metody (r) wynosi 0,0001 grama na mililitr ($r = 0,0001$ grama na mililitr).

OZNACZANIE ZAWARTOŚCI ALKOHOLU W % OBJĘTOŚCIOWYCH

Oznaczenie zawartości alkoholu w % objętościowych, polegające na wykonaniu destylacji fermentowanego napoju winiarskiego uprzednio zalkalizowanego przy użyciu zawiesiny wodorotlenku wapnia i oznaczeniu gęstości destylatu, wykonuje się przy użyciu gęstościomierza oscylacyjnego. Zawartość alkoholu odczytuje się z tabel alkoholometrycznych.

1. Aparatura i sprzęt

Do oznaczenia zawartości alkoholu używa się sprzętu laboratoryjnego, w tym:

- 1) zestawu do destylacji składającego się z litrowej kolby okrągłodennej ze szlifem, nasadki destylacyjnej o wysokości około 20 centymetrów lub innego urządzenia zapobiegającego rozpryskiwaniu cieczy, źródła ciepła i chłodnicy zakończonej przedłużaczem doprowadzającym destylat na dno kolby miarowej;
- 2) zestawu do destylacji z parą wodną składającego się z wytwornicy pary, przewodu pary, nasadki destylacyjnej i chłodnicy;
- 3) gęstościomierza oscylacyjnego o rozdzielczości nie mniejszej niż 0,0001 grama na mililitr;
- 4) ultratermostatu lub innego urządzenia utrzymującego stałą temperaturę próbek na poziomie 20°C (+/-0,2°C).

Można użyć dowolnego rodzaju aparatu do destylacji bez pary wodnej lub z parą wodną, jeżeli spełnia on wymagania testu polegającego na wykonaniu 5 kolejnych destylacji mieszaniny alkoholowo-wodnej o zawartości alkoholu 10% objętościowych, przy czym zawartość alkoholu w destylacie po 5 destylacjach powinna wynosić co najmniej 9,9% objętościowych.

2. Odczynniki

Zawiesina wodorotlenku wapnia, którą otrzymuje się przez stopniowe dodawanie do 120 gramów wapnia niegaszonego (CaO) 1 litra wody o temperaturze od 60 do 70°C.

Można również użyć gotowych odczynników.

3. Przygotowanie próbki

Z fermentowanego napoju winiarskiego usuwa się większość dwutlenku węgla przez mieszanie próbki fermentowanego napoju winiarskiego o objętości od 250 do 300 mililitrów w kolbie o pojemności 500 mililitrów lub umieszczenie na łaźni ultradźwiękowej.

Następnie w kolbie miarowej o pojemności 200 mililitrów umieszcza się około 1 mililitr ponad kreskę miarową fermentowanego napoju winiarskiego, wstawia do ultratermostatu ustawionego na 20°C na około 10 minut w celu uzyskania stałej temperatury próbki, po czym zlewa się nadmiar tego napoju ponad kreski i przenosi się do kolby destylacyjnej. Kolbę miarową przemywa się 4-krotnie 5-mililitrowymi porcjami wody, zlewając każdą z tych porcji do kolby destylacyjnej lub przewodu pary. Do kolby destylacyjnej wprowadza się przewód pary zestawu do destylacji z parą wodną. Następnie dodaje się 10 mililitrów zawiesiny wodorotlenku wapnia i kilka odłamków pumeksu lub innego obojętnego materiału porowatego.

Destylat zbiera się w tej samej kolbie miarowej o pojemności 200 mililitrów, której użyto do odmierzenia fermentowanego napoju winiarskiego. Destylat zbiera się w ilości około 150 mililitrów – w przypadku destylacji bez pary wodnej lub od 198 do 199 mililitrów – w przypadku destylacji z parą wodną. Następnie destylat uzupełnia się wodą destylowaną do pojemności 200 mililitrów, przy czym temperatura destylatu nie może odbiegać od temperatury początkowej o więcej niż $\pm 2^{\circ}\text{C}$. Destylat zebrany w kolbie miarowej miesza się bardzo ostrożnie kolistymi ruchami.

W przypadku fermentowanego napoju winiarskiego zawierającego bardzo duże ilości jonów amonowych destylat poddaje się powtórnej destylacji, zastępując zawiesinę wodorotlenku wapnia 0,1-molowym roztworem kwasu siarkowego.

Destylację fermentowanego napoju winiarskiego można również wykonać przy użyciu aparatu do szybkiej destylacji.

4. Wykonanie oznaczenia gęstości

Gęstość (ρ) destylatu oznacza się w sposób, który jest określony w załączniku nr 1 do rozporządzenia.

5. Obliczanie wyniku oznaczenia gęstości

Zawartość alkoholu w temperaturze 20°C odczytuje się przy użyciu podstawowych tabel alkoholometrycznych określonych w załączniku nr 3 do rozporządzenia Ministra Gospodarki z dnia 25 maja 2006 r. w sprawie liczbowych danych odniesienia dla mieszanin alkoholu etylowego i wody (Dz. U. poz. 716).

6. Powtarzalność metody

Powtarzalność metody (r) jest to wartość, poniżej której powinna, z określonym prawdopodobieństwem, znajdować się wartość bezwzględna różnicy między wynikami

2 pojedynczych oznaczeń uzyskanych dla tej samej próbki w tych samych warunkach pomiarowych (przez tego samego analityka, w tym samym laboratorium, przy użyciu tej samej aparatury i w krótkim odstępie czasu).

W przypadku oznaczania zawartości alkoholu powtarzalność metody (r) wynosi 0,10% objętościowych ($r = 0,10\%$ objętościowych).

7. Odtwarzalność metody

Odtwarzalność metody (R) jest to wartość, poniżej której powinna, z określonym prawdopodobieństwem, znajdować się wartość bezwzględna różnicy między wynikami 2 pojedynczych oznaczeń uzyskanych dla tej samej próbki w różnych warunkach pomiarowych (przez innego analityka, w innym laboratorium, przy użyciu innej aparatury i w innym czasie).

W przypadku oznaczania zawartości alkoholu odtwarzalność metody (R) wynosi 0,19% objętościowych ($R = 0,19\%$ objętościowych).

Zawartość alkoholu etylowego podaje się w % objętościowych z dokładnością do jednego miejsca po przecinku.

OZNACZANIE ZAWARTOŚCI EKSTRAKTU OGÓLNEGO

Ekstrakt ogólny jest to suma wszystkich substancji nielotnych, które przeszły do ekstraktu w wyniku procesu ekstrakcji.

Ekstrakt bezcukrowy jest to różnica zawartości ekstraktu ogólnego i sumy cukrów redukujących i sacharozy.

1. Wykonanie oznaczenia zawartości ekstraktu ogólnego

Zawartość ekstraktu ogólnego w gramach na litr oblicza się na podstawie gęstości fermentowanego napoju winiarskiego pozbawionego alkoholu, przy zastosowaniu wartości określonych w tabeli określonej w ust. 2.

2. Obliczanie wyniku gęstości

Gęstość względną (d_l) fermentowanego napoju winiarskiego pozbawionego alkoholu oblicza się według wzoru:

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

gdzie:

d_v – oznacza gęstość względną fermentowanego napoju winiarskiego w temperaturze 20°C (z poprawką na kwasowość lotną); $d_v = d_{20}^{20} - 0,0000086$ kwasowości lotnej wyrażonej w miligramorównoważnikach na litr,

d_a – oznacza gęstość w temperaturze 20°C mieszaniny wodno-alkoholowej o tej samej zawartości alkoholu co fermentowany napój winiarski.

d_v można obliczać również na podstawie gęstości w temperaturze 20°C fermentowanego napoju winiarskiego (ρ_v) i mieszaniny wodno-alkoholowej (ρ_a) o tej samej zawartości alkoholu według wzoru:

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

gdzie:

ρ_v – oznacza gęstość w temperaturze 20°C fermentowanego napoju winiarskiego,

ρ_a – oznacza gęstość w temperaturze 20°C mieszaniny wodno-alkoholowej o tej samej zawartości alkoholu co fermentowany napój winiarski.

Współczynnik 1,0018 zaokrągla się do jedności, gdy wartość ρ_v jest mniejsza od 1,05.

Do obliczenia zawartości ekstraktu ogólnego w gramach na litr na podstawie gęstości względnej d_t fermentowanego napoju winiarskiego pozbawionego alkoholu lub na podstawie ciężaru właściwego d_{20}^{20} fermentowanego napoju winiarskiego stosuje się wartości określone w tabeli, a zawartość ekstraktu ogólnego ustala się w gramach na litr z dokładnością do jednego miejsca po przecinku.

TABELA

OBLICZANIE ZAWARTOŚCI EKSTRAKTU OGÓLNEGO W GRAMACH NA LITR

Gęstość z dokładnością do drugiego miejsca po przecinku	Trzecie miejsce po przecinku wartości gęstości względnej									
	gramy ekstraktu na litr									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1,00	0,0	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	206,4	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	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	czwarte miejsce po przecinku wartości ciężaru właściwego									
	gramy ekstraktu na litr, które należy dodać									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	–	0,3	0,5	0,8	1,0	1,3	1,6	1,8	2,1	2,3

OZNACZANIE ZAWARTOŚCI CUKRÓW REDUKUJĄCYCH ORAZ CUKRÓW REDUKUJĄCYCH PO INWERSJI

Część I. Oznaczenie zawartości cukrów redukujących oraz cukrów redukujących po inwersji w fermentowanych napojach winiarskich, z wyłączeniem miodów pitnych (metoda Luff-Schoorla)

Metoda ilościowego oznaczenia cukrów redukujących i cukrów redukujących po inwersji w fermentowanych napojach winiarskich polega na redukcji soli miedziowej przez cukry redukujące.

Cukry redukujące – cukry zawierające wolne grupy karbonylowe zdolne do redukcji alkalicznych roztworów soli miedziowych.

Cukry redukujące po inwersji – suma cukrów redukujących i cukrów redukujących powstałych w wyniku hydrolizy kwasowej (inwersji).

Sacharoza – różnica między cukrami redukującymi po inwersji a cukrami redukującymi przeliczona na zawartość sacharozy.

1. Przygotowanie do analizy próbki z fermentowanego napoju winiarskiego:

- 1) próbkę pobiera się z fermentowanego napoju winiarskiego o temperaturze 20°C (+/-2°C);
- 2) z próbki usuwa się dwutlenek węgla przez silne, kilkukrotne wytrząsanie w kolbie lub przez umieszczenie tej kolby w łaźni ultradźwiękowej – w przypadku fermentowanych napojów winiarskich musujących lub musujących gazowanych;
- 3) próbkę przesącza się przez karbowany sącdek lub odwirowuje – w przypadku obecności osadu lub zmełnienia fermentowanego napoju winiarskiego;
- 4) pobrany do analizy fermentowany napój winiarski rozcieńcza się, tak aby zawartość cukru w badanym roztworze wynosiła nie więcej niż 2,4 grama na litr – w przypadku oznaczania cukrów redukujących lub cukrów redukujących po inwersji.

2. Przygotowanie roztworu cukru**2.1. Odczynniki:**

- 1) kwas chlorowodorowy (HCl), roztwór stężony (d = 1,19 grama na mililitr);
- 2) oranż metylowy – wodny roztwór o stężeniu 0,1%;
- 3) roztwór octanu ołowiu(II) przygotowany w następujący sposób: 200 gramów tlenku ołowiu (PbO) rozciera się w moździerzu z 600 gramami octanu ołowiu 3-wodnego

$\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COOH})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. Po dokładnym wymieszaniu całość przenosi się do zlewki o pojemności 1000 mililitrów, dodaje około 100 mililitrów wody destylowanej i podgrzewa na łaźni wodnej aż do uzyskania białoczerwonawej masy. Następnie uzyskaną masę przenosi się do zlewki o pojemności większej niż 2000 mililitrów, dodaje się 1900 mililitrów wody destylowanej i po dokładnym wymieszaniu pozostawia roztwór do odstania zawiesiny. Następnie dekantuje się płyn do szklanej butelki z korkiem na szlif;

- 4) siarczan sodu (Na_2SO_4), roztwór o stężeniu 200 gramów na litr;
- 5) wodorotlenek sodu (NaOH), roztwór o stężeniu $c(\text{NaOH}) = 1$ mol na litr i roztwór o stężeniu 200 gramów na litr.

2.2. Aparatura i sprzęt:

- 1) kolby miarowe o pojemności 100, 250, 500 i 1000 mililitrów;
- 2) łaźnia wodna;
- 3) minutnik;
- 4) moździerz;
- 5) parownice;
- 6) pipety jednomiarowe lub wielomiarowe o pojemności 5, 10, 20, 25, 50 i 100 mililitrów;
- 7) termometr laboratoryjny o zakresie pomiaru temperatury od 0 do 100°C ;
- 8) zlewki szklane o pojemności 1000 mililitrów;
- 9) zlewki szklane o pojemności 3000 mililitrów.

2.3. Usuwanie związków lotnych i klarowanie próbki

Aby usunąć związki lotne, wlewa się 25 mililitrów próbki do parownicy i zobojętnia się wodorotlenkiem sodu o stężeniu $c(\text{NaOH}) = 1$ mol na litr wobec papierka lakmusowego. Następnie próbkę odparowuje się na łaźni wodnej do uzyskania około połowy poprzedniej objętości. Uzyskaną próbkę przenosi się ilościowo do kolby miarowej o pojemności 100 mililitrów, popłukując cały czas parownicę wodą destylowaną (łączna ilość użytej wody destylowanej wynosi około 50 mililitrów). W celu sklarowania próbki dodaje się 2,5 mililitra roztworu octanu ołowiu(II) i dokładnie miesza. Następnie do kolby miarowej dodaje się kroplami 10 mililitrów siarczanu sodu i uzupełnia wodą destylowaną do uzyskania pojemności 100 mililitrów. Po wymieszaniu odstawia się na 30 minut. Następnie zawartość kolby miarowej przesącza się przez sączonek karbowany, a uzyskanego przesączu używa się do oznaczenia cukrów redukujących lub cukrów redukujących po inwersji.

2.4. Hydroliza kwasowa (inwersja)

W zależności od zastosowanego rozcieńczenia pobiera się przesącz uzyskany po sklarowaniu próbki i przenosi do kolby miarowej o pojemności 100, 200, 250 albo 500 mililitrów. Następnie dodaje się wodę destylowaną w taki sposób, aby na każde 5 mililitrów kwasu chlorowodorowego łączna objętość pobranego przesącza i dodanej wody destylowanej wynosiła 75 mililitrów. Do kolby miarowej wkłada się termometr, tak aby przez cały czas był zanurzony w próbce. Kolbę miarową wraz z termometrem umieszcza się w łaźni wodnej, podgrzewa do temperatury od 68 do 70°C i utrzymuje w tej temperaturze przez 5 minut. Następnie próbkę w kolbie miarowej szybko schładza się do temperatury 20°C, wyjmuje termometr, który dokładnie opłukuje się wodą destylowaną w taki sposób, aby trafiła ona do tej kolby. Do kolby miarowej ostrożnie dodaje się od 1 do 2 kropli oranżu metyloвого (zobojętnia się roztworem wodorotlenku sodu o stężeniu 200 gramów na litr) do czasu pojawienia się barwy żółtej (świadczącej o odczynie słabo alkalicznym), a następnie uzupełnia wodą destylowaną do kreski.

W przypadku próbek niewymagających klarowania lub próbek, w których oznacza się tylko cukry redukujące, pobiera się od 10 do 50 mililitrów fermentowanego napoju winiarskiego (w zależności od koniecznego rozcieńczenia) do kolby miarowej o pojemności 100, 200, 250 albo 500 mililitrów i dopełnia wodą destylowaną w zależności od jej pojemności do 100, 200, 250 albo 500 mililitrów.

3. Wykonanie oznaczenia

Oznaczenie polega na redukcji soli miedzi(II) roztworem cukru, a następnie jodometrycznym oznaczeniu miedzi.

3.1. Odczynniki:

- 1) roztwór Luff-Schoorla (zasadowy roztwór soli miedziowej); przygotowuje się 3 roztwory:
 - a) 25 gramów krystalicznego siarczanu(VI) miedzi(II) pięciowodnego ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) rozpuszczonego w 100 mililitrach wody destylowanej,
 - b) 388 gramów krystalicznego węglanu sodu dziesięciowodnego ($\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) lub 143,74 grama bezwodnego węglanu sodu (Na_2CO_3) rozpuszczonego w 350 mililitrach wody destylowanej o temperaturze 40°C,
 - c) 50 gramów kwasu cytrynowego ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$) rozpuszczonego w 50 mililitrach wody destylowanej – roztwory węglanu sodu i kwasu cytrynowego ostrożnie miesza się ze sobą w kolbie miarowej o pojemności 1000 mililitrów, dodaje

roztwór siarczanu(VI) miedzi(II), a następnie miesza i dopełnia wodą destylowaną do 1000 mililitrów. Po kilku dniach ciecz o barwie ciemnoniebieskiej przesącza się;

- 2) roztwór jodku potasu (KJ) o stężeniu 300 gramów na litr;
- 3) roztwór 25% kwasu siarkowego (VI) (H_2SO_4);
- 4) roztwór skrobi rozpuszczalnej o stężeniu 5 gramów na litr;
- 5) roztwór mianowany tiosiarczanu sodu o stężeniu $c(Na_2S_2O_3) = 0,1$ mol na litr.

Można również użyć gotowych odczynników.

3.2. Aparatura i sprzęt:

- 1) biurety o pojemności 50 mililitrów z podziałką elementarną o dokładności nie mniejszej niż 0,1 mililitra;
- 2) chłodnice zwrotne z korkiem gumowym;
- 3) kolby miarowe o pojemności 1000 mililitrów;
- 4) kolby stożkowe o pojemności 300 mililitrów;
- 5) lejki szklane;
- 6) pipety jednomiarowe lub wielomiarowe o pojemności 2, 10 i 25 mililitrów.

3.3. Oznaczenie próbki fermentowanego napoju winiarskiego (próbki właściwej)

Do kolby stożkowej o pojemności 300 mililitrów wlewa się pipetą 25 mililitrów roztworu Luff-Schoorla i 25 mililitrów roztworu cukru przygotowanego zgodnie z ust. 2, a następnie dodaje się kilka perełek szklanych albo odłamków porcelany lub pumeksu. Na kolbę stożkową nakłada się chłodnicę zwrotną i ogrzewa. Zawartość kolby stożkowej doprowadza się do wrzenia przez 2 minuty i utrzymuje się w tym stanie przez 10 minut. Następnie kolbę stożkową należy schłodzić w strumieniu zimnej wody. Do schłodzonego roztworu dodaje się 10 mililitrów roztworu jodku potasu i bardzo ostrożnie (z powodu silnego pienienia się roztworu) dodaje się 25 mililitrów roztworu kwasu siarkowego. Wydzielony jod miareczkuje się roztworem tiosiarczanu sodu do czasu pojawienia się żółtego zabarwienia. Następnie dodaje się 2 mililitry roztworu skrobi i dalej miareczkuje się tym samym roztworem tiosiarczanu sodu do uzyskania zmiany barwy z niebieskiej na kremową.

3.4. Oznaczenie próbki ślepej

Równocześnie z oznaczeniem próbki właściwej wykonuje się oznaczenie próbki ślepej. Do oznaczenia próbki ślepej zamiast próbki fermentowanego napoju winiarskiego pobiera się 25 mililitrów wody destylowanej. Oznaczenie próbki ślepej wykonuje się w taki sam sposób jak oznaczenie próbki właściwej.

4. Obliczanie wyniku oznaczenia

Ilość cukrów w miligramach zawarta w próbce ślepej w przeliczeniu na cukier inwertowany podana w tabeli określonej w ust. 6 jest funkcją ilości ($n' - n$) mililitrów zużytego tiosiarczanu sodu, gdzie:

n – oznacza ilość mililitrów zużytego tiosiarczanu sodu w badanej próbce,

n' – oznacza ilość mililitrów tiosiarczanu sodu zużytego w próbce ślepej.

Zawartość cukrów redukujących lub cukrów redukujących po inwersji (X) w gramach na litr fermentowanego napoju winiarskiego, wyrażoną jako cukier inwertowany, oblicza się według wzoru:

$$X = \frac{C \cdot B \cdot A}{1000} = \frac{C \cdot A}{25}$$

gdzie:

A – oznacza stopień rozcieńczenia fermentowanego napoju winiarskiego,

B – oznacza stopień rozcieńczenia badanej próbki,

C – oznacza masę cukru inwertowanego podaną w tabeli określonej w ust. 6 (wyrażoną w miligramach),

1000 – oznacza współczynnik do przeliczenia masy cukru inwertowanego z miligramów na gramy.

5. Obliczanie zawartości sacharozy

Zawartość sacharozy (Y) w gramach na litr oblicza się według wzoru:

$$Y = 0,95 (C_i - C_r)$$

gdzie:

C_i – oznacza zawartość cukrów redukujących po inwersji w gramach na litr,

C_r – oznacza zawartość cukrów redukujących w gramach na litr.

6. Wyrażanie wyniku oznaczenia

Wynikiem oznaczenia jest średnia arytmetyczna 2 równoległych oznaczeń, między którymi różnica nie powinna być większa niż:

- 1) 5% – dla fermentowanych napojów winiarskich o zawartości cukrów poniżej 50 gramów na litr;

- 2) 2% – dla fermentowanych napojów winiarskich o zawartości cukrów co najmniej 50 gramów na litr.

Wynik podaje się z dokładnością do jednego miejsca po przecinku.

TABELA

**ZUŻYCIE TIOSIARCZANU SODU ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) I ODPOWIADAJĄCE MU ILOŚCI CUKRU –
GLUKOZY LUB FRUKTOZY W MILIGRAMACH W METODZIE LUFF-SCHOORLA**

Ilość 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, w mililitrach	Dziesiętne części mililitra 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	2,40	2,64	2,88	3,12	3,36	3,60	3,84	4,08	4,32	4,56
2	4,80	5,04	5,28	5,52	5,76	6,00	6,24	6,48	6,72	6,96
3	7,20	7,45	7,70	7,95	8,20	8,45	8,70	8,95	9,20	9,45
4	9,70	9,95	10,20	10,45	10,70	10,95	11,20	11,45	11,70	11,95
5	12,20	12,45	12,70	12,95	13,20	13,45	13,70	13,95	14,20	14,45
6	14,70	14,95	15,20	15,45	15,70	15,95	16,20	16,45	16,70	16,95
7	17,20	17,45	17,72	17,98	18,24	18,50	18,76	19,02	19,28	19,54
8	19,80	20,06	20,32	20,58	20,84	21,10	21,36	21,62	21,88	22,14
9	22,40	22,66	22,92	23,18	23,44	23,70	23,96	24,22	24,48	24,74
10	25,00	25,26	25,52	25,78	26,04	26,30	26,56	26,82	27,08	27,34
11	27,60	27,86	28,12	28,38	28,64	28,90	29,16	29,42	29,68	29,94
12	30,30	30,57	30,84	31,11	31,38	31,65	31,92	32,19	32,46	32,73
13	33,00	33,27	33,34	33,81	34,03	34,35	34,62	34,89	35,16	35,43
14	35,70	35,97	36,24	36,51	36,78	37,05	37,32	37,59	37,86	38,13
15	38,50	38,78	39,06	39,34	39,62	39,90	40,18	40,46	40,74	41,02
16	41,30	41,58	41,86	42,14	42,42	42,70	42,98	43,26	43,54	43,82
17	44,20	44,49	44,78	45,07	45,36	45,65	45,94	46,23	46,52	46,81
18	47,10	47,39	47,68	47,97	48,26	48,55	48,84	49,13	49,42	49,71
19	50,00	50,29	50,58	50,87	51,16	51,45	51,74	52,03	52,32	52,61

20	53,00	53,30	53,60	53,90	54,20	54,50	54,80	55,10	55,40	55,70
21	56,00	56,30	56,60	56,90	57,20	57,50	57,80	58,10	58,40	58,70
22	59,10	59,41	59,72	60,03	60,34	60,65	60,96	61,27	61,58	61,89
23	62,20	62,51	62,92	63,13	63,44	63,75	64,06	64,37	64,68	64,99

Część II. Oznaczenie zawartości cukrów redukujących oraz cukrów redukujących po inwersji w miodach pitnych (metoda Lane-Eynona)

Metoda Lane-Eynona polega na bezpośrednim miareczkowaniu określonej ilości soli miedziowej badanym roztworem cukru wobec błękitu metylenowego jako wskaźnika końca reakcji.

Cukry bezpośrednio redukujące – suma zawartych w miodzie pitnym cukrów zawierających wolne grupy karbonylowe redukujące zasadowe roztwory soli miedziowych.

Cukry redukujące po inwersji – suma cukrów bezpośrednio redukujących zawartych w miodzie pitnym i cukrów redukujących wytworzonych w procesie hydrolizy kwasowej (inwersji).

Sacharoza – różnica zawartych w miodzie pitnym cukrów redukujących po inwersji i cukrów bezpośrednio redukujących.

1. Aparatura i sprzęt:

- 1) biureta szklana do miareczkowania na gorąco o dokładności co najmniej 0,1 mililitra;
- 2) cylindry miarowe o pojemności 50 i 100 mililitrów;
- 3) kolby miarowe o pojemności 100, 200, 250, 500 i 1000 mililitrów;
- 4) pipety jednomiarowe lub wielomiarowe o pojemności 1, 5, 10, 20, 25, 50 i 100 mililitrów;
- 5) zlewki szklane laboratoryjne o pojemności 1000 mililitrów i powyżej 2000 mililitrów;
- 6) maszynka elektryczna umożliwiająca utrzymanie próbki w stanie wrzenia podczas miareczkowania;
- 7) pH-metr o dokładności 0,01 jednostki;
- 8) waga analityczna umożliwiająca zważenie z dokładnością do 1 miligrama i odczyt z dokładnością do 0,1 miligrama;
- 9) łaźnia wodna;
- 10) termometr o zakresie pomiaru temperatury od 0 do 100°C;
- 11) moździerz;
- 12) parownice o wielkości dostosowanej do wielkości otworów łaźni wodnej;
- 13) kolby stożkowe o pojemności 100 mililitrów;
- 14) minutnik.

2. Odczynniki:

- 1) kwas chlorowodorowy (HCl), roztwór stężony (d = 1,19 grama na mililitr);
- 2) oranż metylowy – wodny roztwór o stężeniu 0,1%;

- 3) octan ołowiu(II) $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COOH})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, który przygotowuje się w następujący sposób: 200 gramów tlenku ołowiu(II) rozciera się w moździerzu z 600 gramami octanu ołowiu(II) trójwodnego $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COOH})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. Mieszanę przenosi się do zlewki o pojemności 1000 mililitrów, dodaje 100 mililitrów wody destylowanej i podgrzewa na łaźni wodnej do uzyskania białoczerwonawej masy. Uzyskaną masę przenosi się do zlewki o pojemności większej niż 2000 mililitrów, dodaje 1900 mililitrów wody destylowanej, dokładnie miesza i po odstaniu się zawiesiny dekantuje się płyn do naczynia szklanego z korkiem na szlif;
- 4) siarczan sodowy (Na_2SO_4), roztwór o stężeniu 200 gramów na litr;
- 5) wodorotlenek sodowy (NaOH), roztwór o stężeniu $c(\text{NaOH}) = 1$ mol na litr i roztwór o stężeniu 200 gramów na litr;
- 6) roztwór Fehlinga I, który przygotowuje się w następujący sposób: 69,28 grama siarczynu miedziowego pięciowodnego ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) rozpuszcza się w około 600 mililitrach wody destylowanej w kolbie miarowej o pojemności 1000 mililitrów i uzupełnia objętość roztworu wodą destylowaną do kreski. Sprawdza się stężenie uzyskanego roztworu. Sprawdzenie wykonuje się w następujący sposób: odmierza się pipetą 10 mililitrów roztworu Fehlinga I, dodaje 50 mililitrów wody destylowanej, 1 mililitr roztworu kwasu siarkowego o stężeniu $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1$ mol na litr i 20 mililitrów roztworu jodku potasowego o stężeniu 100 gramów na litr. Całość miareczkuje się mianowanym roztworem tiosiarczynu sodu o stężeniu $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,1$ mol na litr w obecności skrobi jako wskaźnika. Miareczkowanie kończy się, gdy zanika niebieska barwa. 1 mililitr mianowanego roztworu tiosiarczynu sodowego odpowiada 24,968 miligrama siarczynu miedziowego ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). Badany roztwór Fehlinga I jest prawidłowy, jeżeli do miareczkowania zostanie zużyte 27,7 mililitra roztworu tiosiarczynu sodu o stężeniu $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,1$ mol na litr.

W przypadku gdy podczas sprawdzenia zostanie zużyta inna objętość roztworu tiosiarczynu sodu o stężeniu $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,1$ mol na litr niż 27,7 mililitra, postępuje się w następujący sposób: przygotowuje się roztwór Fehlinga III (5 mililitrów roztworu Fehlinga I + 5 mililitrów roztworu Fehlinga II) odmierza się dokładnie pipetą i miesza bezpośrednio przed użyciem. Następnie wykonuje się sprawdzenie roztworu Fehlinga III (5+5): odważa się 0,6045 grama z dokładnością do 0,0002 grama czystej, zmielonej sacharozy, która została wysuszona przez 3 dni w eksykatorze. Odważkę sacharozy rozpuszcza się w niewielkiej ilości wody destylowanej i przenosi ilościowo do kolby miarowej o pojemności 250 mililitrów,

dodaje tyle wody, aby objętość roztworu w tej kolbie wynosiła około 50 mililitrów, a następnie wykonuje się hydrolizę kwasową (inwersję) zgodnie z ust. 3 pkt 2 lit. c. Uzyskanym po hydrolizie kwasowej (inwersji) roztworem wzorcowym cukrów miareczkuje się roztwór Fehlinga III (5+5), w sposób analogiczny jak przy wykonywaniu oznaczeń właściwych zgodnie z ust. 3 pkt 4. Roztwór Fehlinga III jest dokładnie przygotowany, jeżeli do jego miareczkowania zostanie zużyte 20 mililitrów przyrządzonego wzorcowego roztworu cukrów. Jeżeli do zmiareczkowania roztworu Fehlinga III (5+5) zużyto mniej lub więcej niż 20 mililitrów roztworu wzorcowego cukrów, poprawkę (*K*) oblicza się według wzoru:

$$K = \frac{20}{n}$$

gdzie:

n – objętość wzorcowego roztworu cukrów zużytego do zmiareczkowania roztworu Fehlinga III (5+5) w mililitrach.

Wartość poprawki powinna mieścić się w granicach od 0,9 do 1,1. Podczas wykonywania oznaczeń przez otrzymaną wartość poprawki mnoży się liczbę mililitrów roztworu cukrów badanych, zużytych do zmiareczkowania roztworu Fehlinga III (5+5). Prawidłowość wyników oznaczenia zależy od ściśle określonej zawartości siarczanu miedziowego w roztworze Fehlinga I. W przypadku gdy wartość poprawki nie mieści się w podanym zakresie, przygotowuje się nowy roztwór Fehlinga I. Można użyć gotowego odczynnika Fehlinga I, który sprawdza się w podany wyżej sposób;

- 7) roztwór Fehlinga II, który przygotowuje się w następujący sposób: 346,0 gramów winianu sodowo-potasowego czterowodnego ($\text{NaKC}_4\text{H}_6\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) rozpuszcza się w około 700 mililitrach wody destylowanej w kolbie miarowej o pojemności 1000 mililitrów, dodaje się 100 gramów wodorotlenku sodowego (NaOH) rozpuszczonego w około 200 mililitrach wody destylowanej i zawartość tej kolby uzupełnia wodą destylowaną do kreski. Można użyć odczynnika Fehlinga II;
- 8) błękit metylenowy, roztwór o stężeniu 10 gramów na litr. Jeżeli w opisie metody nie określono innych wymagań dla odczynników, stosuje się odczynniki o czystości cz.d.a.;
- 9) 1% roztwór skrobi rozpuszczalnej przygotowany w następujący sposób: odważa się 1 gram skrobi z dokładnością do 0,01 grama, dodaje się około 20 mililitrów wody, miesza, a następnie przygotowany roztwór przenosi się ilościowo do zlewki z około 50 mililitrami wrzącej wody. Całość gotuje się około 2 minut. Po ostudzeniu zawartość zlewki

przenosi się ilościowo do kolby miarowej o pojemności 100 mililitrów, uzupełnia wodą destylowaną do kreski i dokładnie miesza.

3. Wykonanie oznaczenia:

- 1) przygotowanie próbki do oznaczenia – butelkę z miodem pitnym poddaje się ocenie wizualnej. W przypadku stwierdzenia osadu na dnie butelki lub zmętnienia produktu przesącza się go przez karbowany sączeek z bibuły lub odwirowuje. Informacje o wykonaniu tych czynności umieszcza się w opisie analizy. Temperatura próbek miodu pitnego przeznaczonych do analiz fizykochemicznych powinna wynosić 20°C (+/-2°C);
- 2) przygotowanie roztworu cukru stosowanego do wykonania próby orientacyjnej i oznaczenia właściwego:
 - a) rozcieńczenie próbki – podczas wykonywania oznaczenia cukrów bezpośrednio redukujących i cukrów redukujących po inwersji pobraną do analizy próbkę miodu pitnego rozcieńcza się, tak aby zawartość cukrów w badanym roztworze wynosiła od 1 grama do 4 gramów na litr.

Przykładowe rozcieńczenie próbki:

$25\text{ml miodu pitnego}$ $\xrightarrow{\text{klarowanie } \times 4}$ 100ml $\xrightarrow{\text{pobranie}}$ 20ml $\xrightarrow{\text{hydroliza } \times 10}$ 200ml $\xrightarrow{\text{do miareczkowania}}$
($c=80\text{ g/l}$) ($c=20\text{ g/l}$) ($c=20\text{ g/l}$) ($c=2\text{ g/l}$)

- b) usuwanie związków lotnych i klarowanie próbki – w celu usunięcia związków lotnych przenosi się 25 mililitrów próbki do parownicy i dodaje się wodorotlenek sodu o stężeniu $c(\text{NaOH}) = 1$ mol na litr, aby uzyskać roztwór o pH od 6 do 7, który określa się przy użyciu pH-metru. W celu uniknięcia strat próbki po zobojętnieniu elektrodę przepłukuje się wodą destylowaną. Następnie tak przygotowaną próbkę odparowuje się na wrzącej łaźni wodnej do uzyskania około połowy jej poprzedniej objętości. Potem próbkę przenosi się ilościowo do kolby miarowej o pojemności 100 mililitrów, popłukując parownicę wodą destylowaną. Łączna ilość użytej do tego celu wody destylowanej wynosi około 50 mililitrów. Następnie próbkę klaruje się, dodając 2,5 mililitra roztworu octanu ołowiu(II) i kroplami 10 mililitrów siarczanu sodu. Uzupełnia się wodą destylowaną do kreski, miesza i odstawia na około 30 minut. Następnie zawartość kolby miarowej przesącza przez sączeek karbowany. Uzyskaną w ten sposób przesącz używa się do oznaczenia cukrów redukujących lub cukrów redukujących po inwersji,
- c) hydroliza kwasowa (inwersja) – w zależności od spodziewanej zawartości cukrów pobiera się 5, 10, 20 lub 40 mililitrów cieczy otrzymanej po sklarowaniu, uzyskując

odpowiednio rozcieńczenia 20, 40, 80 lub 160 razy, przenosi się do kolby miarowej o pojemności 200 mililitrów, uzupełnia wodą destylowaną do 80 mililitrów oraz dodaje 5 mililitrów kwasu chlorowodorowego stężonego. W kolbie umieszcza się termometr w ten sposób, aby cały czas był zanurzony w cieczy. Kolbę wraz z termometrem umieszcza się w łaźni wodnej, podgrzewa do temperatury od 68 do 70°C i utrzymuje w tej temperaturze przez 5 minut. Ciecz w kolbie szybko schładza się do temperatury 20°C i wyjmuje termometr, który dokładnie spłukuje się wodą destylowaną. Do kolby dodaje się od 1 do 2 kropli oranżu metyloвого, ostrożnie zobojętnia roztworem wodorotlenku sodu o stężeniu 200 gramów na litr do odczynu słabo alkalicznego (barwa żółta) i ciecz zawartą w kolbie uzupełnia się wodą destylowaną do kreski;

- 3) próba orientacyjna – do kolby stożkowej o pojemności 100 mililitrów odmierza się pipetą po 5 mililitrów roztworów Fehlinga I i II, a następnie dodaje z biurety 15 mililitrów roztworu cukru przygotowanego w sposób określony w pkt 2. Ciecz zawartą w kolbie ogrzewa się do wrzenia i, utrzymując w stanie wrzenia, miareczkuje roztworem cukru z biurety do miareczkowania na gorąco. Kiedy ciecz nad osadem uzyska zabarwienie jasnoniebieskie, dodaje się od 1 do 2 kropli roztworu błękitu metylenowego i miareczkuje dalej do zaniku barwy niebieskiej;
- 4) oznaczenie właściwe – do kolby stożkowej o pojemności 100 mililitrów odmierza się po 5 mililitrów roztworów Fehlinga I i II. Dodaje się z biurety objętość roztworu cukru przygotowanego w sposób określony w pkt 2, o 0,5 mililitra mniejszą od łącznej objętości próbki zużytej do zmiareczkowania próbki orientacyjnej. Szybko ogrzewa się do wrzenia i łagodnie gotuje przez 2 minuty. Dodaje się od 1 do 2 kropli roztworu błękitu metylenowego i, utrzymując roztwór w stanie wrzenia, kończy się miareczkowanie wrzącego płynu roztworem cukru z biurety przed upływem 1 minuty.

4. Obliczanie wyniku oznaczenia

Z tabeli określonej w ust. 5 odczytuje się równoważną masę cukru inwertowanego w badanym roztworze odpowiadającą ilości roztworu cukru zużytego do miareczkowania. Zawartość cukrów bezpośrednio redukujących lub cukrów redukujących po inwersji (X) w g/l miodu pitnego, wyrażoną jako cukier inwertowany, oblicza się według wzoru:

$$X = \frac{C \cdot A \cdot \frac{1000}{V}}{1000} = \frac{C \cdot A}{V}$$

gdzie:

V – oznacza ilość mililitrów roztworu cukru zużytą do miareczkowania,

C – oznacza odczytaną z tabeli określonej w ust. 5 masę cukru inwertowanego w miligramach zredukowaną przez 10 mililitrów roztworu Fehlinga (5+5 mililitrów) przy użyciu V badanego roztworu cukru,

A – oznacza rozcieńczenie,

$\frac{1000}{V}$ – oznacza współczynnik uwzględniający przeliczenie wyniku na 1 litr badanego roztworu cukru,

1000 – oznacza współczynnik uwzględniający przeliczenie miligramów cukru inwertowanego na gram.

5. Sposób wyrażenia wyniku i powtarzalność

Za wynik końcowy przyjmuje się średnią arytmetyczną z 2 oznaczeń wykonanych równoległe, przy czym dopuszczalne rozbieżności między tymi oznaczeniami nie powinny przekraczać:

- 1) 5% – dla miodów pitnych z zawartością cukrów poniżej 50 gramów na litr;
- 2) 2% – dla miodów pitnych z zawartością cukrów co najmniej 50 gramów na litr.

Wynik podaje się z dokładnością do jednego miejsca po przecinku.

TABELA

MASA CUKRU INWERTOWANEGO W MILIGRAMACH REDUKUJĄCEGO
10 MILILITRÓW ROZTWORU FEHLINGA (5+5 MILILITRÓW) ODPOWIADAJĄCA
OBJĘTOŚCI BADANEGO ROZTWORU UŻYTEGO DO MIARECZKOWANIA (V)

V (mililitry)	Masa cukru inwertowanego w miligramach									
	0,00	0,10	0,20	0,30	0,40	0,50	0,60	0,70	0,80	0,90
15	50,50	50,51	50,52	50,53	50,54	50,54	50,55	50,56	50,57	50,58
16	50,59	50,60	50,61	50,62	50,63	50,64	50,65	50,66	50,67	50,68
17	50,70	50,70	50,71	50,71	50,72	50,72	50,73	50,73	50,74	50,74
18	50,75	50,75	50,76	50,76	50,77	50,77	50,78	50,78	50,79	50,79
19	50,80	50,81	50,82	50,83	50,84	50,84	50,85	50,86	50,87	50,88
20	50,89	50,90	50,91	50,92	50,93	50,94	50,95	50,96	50,97	50,98
21	51,00	51,00	51,01	51,01	51,02	51,02	51,03	51,03	51,04	51,04
22	51,05	51,05	51,06	51,06	51,07	51,07	51,08	51,08	51,09	51,09
23	51,10	51,10	51,11	51,11	51,12	51,12	51,13	51,13	51,14	51,14

OZNACZANIE ZAWARTOŚCI POPIOŁU

Popiół to wszystkie substancje pozostające po spalaniu pozostałości po odparowaniu fermentowanego napoju winiarskiego. Spalanie wykonuje się w taki sposób, aby wszystkie kationy (z wyjątkiem kationów amonowych) przeszły w formę węglanów lub innych bezwodnych soli nieorganicznych.

Pozostałość po odparowaniu fermentowanego napoju winiarskiego spala się w temperaturze od 500 do 550°C.

1. Aparatura i sprzęt:

- 1) ekcykator;
- 2) elektryczny piec muflowy o kontrolowanej temperaturze;
- 3) łaźnia z wrzącą wodą;
- 4) płyta grzejna lub promiennik podczerwieni;
- 5) tygiel o średnicy 70 milimetrów i wysokości 25 milimetrów;
- 6) waga z podziałką elementarną o dokładności nie mniejszej niż 0,1 miligramy.

2. Wykonanie oznaczenia

Wypraża się co najmniej 2-krotnie tygiel w elektrycznym piecu muflowym w temperaturze od 500 do 550°C przez godzinę do uzyskania stałej masy, czyli 2 ważeń pustego tygla, których różnica nie będzie większa niż 0,0005 grama. Do tak przygotowanego tygla odmierza się 20 mililitrów fermentowanego napoju winiarskiego. Próbkę odparowuje się na wrzącej łaźni wodnej, a następnie ogrzewa pozostałość na płycie grzejnej o temperaturze 200°C lub w promienniku w podczerwieni aż do rozpoczęcia zwęglania próbki. Gdy z próbki przestanie wydzielać się dym, tygiel umieszcza się w elektrycznym piecu muflowym o temperaturze od 500 do 550°C. Po 15 minutach zwęglania tygiel wyjmuje się z pieca, dodaje 5 mililitrów wody destylowanej i odparowuje wodę na łaźni wodnej lub w promienniku w podczerwieni, a następnie ponownie ogrzewa w temperaturze od 500 do 550°C przez 10 minut. Jeżeli nie nastąpiło całkowite spalanie zwęglonych cząsteczek, powtarza się przemywanie, odparowywanie wody i prażenie. W przypadku fermentowanych napojów winiarskich o wysokiej zawartości cukrów do wyciągu, przed jego pierwszym spopieleniem, można dodać kilka kropli czystego oleju roślinnego w celu zapobieżenia nadmiernemu pienieniu się próbki. Po zakończeniu spalania tygiel wraz z próbką przenosi się do ekcykatora. Po ochłodzeniu w ekcykatorze tygiel waży się.

3. Obliczanie wyniku oznaczenia

Zawartość popiołu (P) w badanej próbce w gramach na litr oblicza się według wzoru:

$$P = 50 \cdot (P_1 - P_0)$$

gdzie:

P_0 – oznacza masę pustego tygla,

P_1 – oznacza masę tygla ze spopieloną próbką (popiołem),

50 – oznacza współczynnik do przeliczenia ilości badanej próbki z 20 mililitrów na litr.

Wynik podaje się z dokładnością do jednego miejsca po przecinku.

OZNACZANIE KWASOWOŚCI OGÓLNEJ

Kwasowość ogólna to suma kwasów zawartych w fermentowanym napoju winiarskim wyrażona w gramach kwasu jabłkowego na litr lub w miligramorównoważnikach na litr.

Dwutlenek węgla nie wchodzi w skład kwasowości ogólnej.

Metoda oznaczenia kwasowości ogólnej polega na miareczkowaniu potencjometrycznym lub miareczkowaniu z błękitem bromotymolowym jako wskaźnikiem i porównaniu ze wzorcem o barwie odpowiadającej punktowi końcowemu miareczkowania.

1. Odczynniki:

- 1) roztwór buforowy o pH 7;
- 2) 0,1-molowy roztwór wodorotlenku sodu (NaOH);
- 3) roztwór wskaźnika błękitu bromotymolowego o stężeniu 4 gramy na litr, przygotowany z:
 - a) 4 gramów błękitu bromotymolowego ($C_{27}H_{28}Br_2O_5S$) rozpuszczonego w 200 mililitrach obojętnego alkoholu 96% objętościowych,
 - b) 200 mililitrów wody pozbawionej CO_2 ,
 - c) 1-molowego roztworu wodorotlenku sodu w ilości potrzebnej do uzyskania barwy niebieskozielonej (pH 7) – około 7,5 mililitra,
 - d) wody w ilości potrzebnej do uzyskania 1000 mililitrów roztworu;
- 4) roztwór buforowy o pH 4.

Można również użyć gotowych odczynników.

2. Aparatura i sprzęt:

- 1) pH-metr;
- 2) kolba próżniowa o pojemności 500 mililitrów;
- 3) pompka wodna lub łaźnia ultradźwiękowa;
- 4) kolby stożkowe o pojemności 50 i 100 mililitrów;
- 5) pipety o pojemności 1, 5 i 10 mililitrów;
- 6) cylinder miarowy o pojemności 50 mililitrów.

3. Przygotowanie próbki do analizy

Do kolby próżniowej wlewa się około 50 mililitrów fermentowanego napoju winiarskiego. Następnie kolbę podłącza się do pompki wodnej na 1 do 2 minut, stale wstrząsając, albo stosuje się łaźnię ultradźwiękową przez 1 do 2 minut.

4. Wykonanie oznaczenia:

- 1) miareczkowanie potencjometryczne – przed przystąpieniem do miareczkowania kalibruje się pH-metr przy użyciu roztworu buforowego o pH 7 i roztworu buforowego o pH 4. Do kolby stożkowej wlewa się 10 mililitrów przygotowanej próbki. Następnie dodaje się około 10 mililitrów wody destylowanej i zanurza się elektrodę. Miareczkuje się roztworem wodorotlenku sodu do uzyskania pH 7 w temperaturze 20°C. Wodorotlenek sodu dodaje się powoli, stale mieszając;
- 2) miareczkowanie ze wskaźnikiem (błękit bromotymolowy):
 - a) próbka ślepa – do kolby stożkowej wlewa się 25 mililitrów przegotowanej wody destylowanej, 1 mililitr roztworu błękitu bromotymolowego oraz 10 mililitrów próbki fermentowanego napoju winiarskiego. Następnie miareczkuje się roztworem wodorotlenku sodu do zmiany barwy na niebieskozieloną. Następnie dodaje się 5 mililitrów roztworu buforowego o pH 7,
 - b) próbka właściwa – do kolby stożkowej wlewa się 30 mililitrów przegotowanej wody destylowanej, 1 mililitr roztworu błękitu bromotymolowego oraz 10 mililitrów próbki fermentowanego napoju winiarskiego. Następnie dodaje się roztwór wodorotlenku sodowego w ilości potrzebnej do uzyskania barwy identycznej z barwą uzyskaną w próbce ślepej.

5. Obliczanie wyniku oznaczenia:

- 1) kwasowość ogólną (A) w miligramorównoważnikach na litr oblicza się według wzoru:

$$A = 10 \cdot n$$

gdzie:

n – oznacza objętość zużytego roztworu wodorotlenku sodu.

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

- 2) kwasowość ogólną (A') w gramach na litr kwasu jabłkowego oblicza się według wzoru:

$$A' = 0,067 \cdot A$$

Wynik podaje się z dokładnością do jednego miejsca po przecinku.

6. Powtarzalność metody

Powtarzalność metody (r) jest to wartość, poniżej której powinna, z określonym prawdopodobieństwem, znajdować się wartość bezwzględna różnicy między wynikami 2 pojedynczych oznaczeń uzyskanych dla tej samej próbki w tych samych warunkach pomiarowych (przez tego samego analityka, w tym samym laboratorium, przy użyciu tej samej aparatury i w krótkim odstępie czasu).

W przypadku oznaczania kwasowości ogólnej powtarzalność metody (r) wynosi:

- 1) $r = 0,9$ miligramorównoważnika na litr;
- 2) $r = 0,07$ grama kwasu jabłkowego na litr.

7. Odtwarzalność metody

Odtwarzalność metody (R) jest to wartość, poniżej której powinna, z określonym prawdopodobieństwem, znajdować się wartość bezwzględna różnicy między wynikami 2 pojedynczych oznaczeń uzyskanych dla tej samej próbki w różnych warunkach pomiarowych (przez innego analityka, w innym laboratorium, przy użyciu innej aparatury i w innym czasie).

W przypadku oznaczania kwasowości ogólnej odtwarzalność metody (R) wynosi:

- 1) dla fermentowanych napojów winiarskich białych i różowych:
 - a) $R = 3,6$ miligramorównoważnika na litr,
 - b) $R = 0,3$ grama kwasu jabłkowego na litr;
- 2) dla fermentowanych napojów winiarskich czerwonych:
 - a) $R = 5,1$ miligramorównoważnika na litr,
 - b) $R = 0,4$ grama kwasu jabłkowego na litr.

OZNACZANIE KWASOWOŚCI LOTNEJ

Kwasowość lotna jest sumą kwasów lotnych w stanie wolnym lub związanym wyrażoną jako liczba kwasu octowego w gramach na litr lub w miligramorównoważnikach na litr. Zawartości kwasu węglowego i kwasu siarkawego nie zalicza się do kwasowości lotnej fermentowanego napoju winiarskiego.

Metoda oznaczenia kwasowości lotnej polega na zmiareczkowaniu oddestylowanych kwasów lotnych mianowanym roztworem wodorotlenku sodu. Z fermentowanego napoju winiarskiego usuwa się uprzednio dwutlenek węgla, natomiast kwasowość tworzoną przez wolny i związany dwutlenek siarki odejmuje się od kwasowości destylatu. Odejmuje się również kwasowość powstałą z kwasu sorbowego, który mógł być dodany do fermentowanego napoju winiarskiego.

1. Odczynniki:

- 1) krystaliczny kwas winowy ($C_4H_6O_6$);
- 2) 0,1-molowy roztwór wodorotlenku sodu (NaOH);
- 3) 1% roztwór fenoloftaleiny w alkoholu etylowym 96% objętościowych;
- 4) kwas chlorowodorowy (o gęstości $d = 1,19$ grama na mililitr) rozcieńczony w stosunku objętościowym 1:4;
- 5) 0,005-molowy roztwór jodu (I_2);
- 6) krystaliczny jodek potasu (KI);
- 7) roztwór skrobi o stężeniu 5 gramów na litr;
- 8) nasycony roztwór heptaokso-tetraboranu sodu ($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$), o stężeniu 55 gramów na litr w temperaturze $20^\circ C$.

2. Aparatura i sprzęt:

- 1) kolba próżniowa;
- 2) pompka wodna lub łaźnia ultradźwiękowa;
- 3) zestaw do destylacji z parą wodną składający się z:
 - a) chłodnicy,
 - b) kolby z przewodem pary,
 - c) kolumny destylacyjnej,
 - d) wytwornicy pary wodnej niezawierającej dwutlenku węgla.

3. Przygotowanie aparatury

W celu przygotowania zestawu do destylacji z parą wodną wykonuje się przynajmniej jeden z poniższych testów:

- 1) do kolby zestawu do destylacji z parą wodną wlewa się 20 mililitrów przegotowanej wody i wykonuje się destylację. Zbiera się 250 mililitrów destylatu i dodaje do niego 0,1 mililitra roztworu wodorotlenku sodu i 2 krople roztworu fenoloftaleiny. Barwa różowa powinna utrzymywać się co najmniej przez 10 sekund, co oznacza, że para wodna nie zawiera dwutlenku węgla;
- 2) do kolby zestawu do destylacji z parą wodną wlewa się 20 mililitrów 0,1-molowego roztworu kwasu octowego i wykonuje się destylację. Zbiera się 250 mililitrów destylatu, który miareczkuje się roztworem wodorotlenku sodu, przy czym objętość roztworu zużytego do miareczkowania nie może być mniejsza niż 19,9 mililitra, co oznacza, że co najmniej 99,5% kwasu octowego zostało oddestylowane z parą wodną;
- 3) do kolby zestawu do destylacji z parą wodną wlewa się 20 mililitrów 1-molowego roztworu kwasu mlekowego i wykonuje się destylację. Zbiera się 250 mililitrów destylatu i miareczkuje roztworem wodorotlenku sodowego, przy czym objętość zużytego do miareczkowania roztworu wodorotlenku sodowego nie może być większa niż 1 mililitr, co oznacza, że nie więcej niż 0,5% kwasu mlekowego zostało oddestylowane.

4. Wykonanie oznaczenia:

- 1) usuwanie dwutlenku węgla – do kolby próżniowej wlewa się około 50 mililitrów fermentowanego napoju winiarskiego i włącza pompkę wodną na 1 do 2 minut, stale wstrząsając, albo stosuje się łaźnię ultradźwiękową przez 1 do 2 minut;
- 2) destylacja z użyciem pary wodnej – 20 mililitrów fermentowanego napoju winiarskiego pozbawionego dwutlenku węgla wlewa się do kolby zestawu do destylacji z parą wodną, dodaje się około 0,5 grama kwasu winowego i wykonuje destylację. Zbiera się co najmniej 250 mililitrów destylatu;
- 3) miareczkowanie – destylat miareczkuje się roztworem wodorotlenku sodu o stężeniu 0,1-molowym wobec 2 kropli fenoloftaleiny jako wskaźnika. Miareczkowanie kończy się wraz z pojawieniem się różowej barwy roztworu niezanikającej przez 30 sekund;
- 4) wprowadzenie poprawki na dwutlenek siarki – destylat bezpośrednio po zmiareczkowaniu zakwasza się 4 kroplami kwasu chlorowodorowego. Następnie dodaje się 2 mililitry roztworu skrobi i kilka kryształów jodku potasu. Roztwór miareczkuje się

przy użyciu roztworu jodu do niebieskiego zabarwienia. Zużyta ilość jodu odpowiada zawartości wolnego dwutlenku siarki w destylacie. Następnie dodaje się nasycony roztwór heptaoksotetaboranu sodu do uzyskania barwy różowej i miareczkuje związany dwutlenek siarki przy użyciu roztworu jodu.

5. Obliczanie wyniku:

- 1) kwasowość lotną (A), wyrażoną w miligramorównoważnikach na litr z dokładnością do jednego miejsca po przecinku, oblicza się według wzoru:

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

gdzie:

n – oznacza objętość zużytego wodorotlenku sodu,

n' – oznacza objętość jodu zużytego do miareczkowania wolnego dwutlenku siarki,

n'' – oznacza objętość jodu zużytego do miareczkowania związanego dwutlenku siarki;

- 2) kwasowość lotną (A'), wyrażoną w gramach kwasu octowego na litr, z dokładnością do dwóch miejsc po przecinku, oblicza się według wzoru:

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

gdzie:

n – oznacza objętość zużytego wodorotlenku sodu,

n' – oznacza objętość jodu zużytego do miareczkowania wolnego dwutlenku siarki,

n'' – oznacza objętość jodu zużytego do miareczkowania związanego dwutlenku siarki.

Jeżeli fermentowany napój winiarski zawiera kwas sorbowy, kwasowość pochodzącą z kwasu sorbowego odejmuje się od oznaczonej kwasowości lotnej, przy założeniu, że 100 miligramów kwasu sorbowego odpowiada kwasowości 0,89 miligramorównoważnika na litr lub 0,053 grama na litr kwasu octowego oraz gdy jest znana zawartość kwasu sorbowego w miligramach na mililitr.

6. Powtarzalność metody

Powtarzalność metody (r) jest to wartość, poniżej której powinna, z określonym prawdopodobieństwem, znajdować się wartość bezwzględna różnicy między wynikami 2 pojedynczych oznaczeń uzyskanych dla tej samej próbki w tych samych warunkach pomiarowych (przez tego samego analityka, w tym samym laboratorium, przy użyciu tej samej aparatury i w krótkim odstępie czasu).

W przypadku oznaczania kwasowości lotnej powtarzalność metody (r) wynosi:

- 1) $r = 0,7$ miligramorównoważnika na litr;
- 2) $r = 0,04$ grama kwasu octowego na litr.

7. Odtwarzalność metody

Odtwarzalność metody (R) jest to wartość, poniżej której powinna, z określonym prawdopodobieństwem, znajdować się wartość bezwzględna różnicy między wynikami 2 pojedynczych oznaczeń uzyskanych dla tej samej próbki w różnych warunkach pomiarowych (przez innego analityka, w innym laboratorium, przy użyciu innej aparatury i w innym czasie).

W przypadku oznaczania kwasowości lotnej odtwarzalność metody (R) wynosi:

- 1) $R = 1,3$ miligramorównoważnika na litr;
- 2) $R = 0,08$ grama kwasu octowego na litr.

8. Oznaczanie kwasu salicylowego przechodzącego do destylatu otrzymywanego przy oznaczaniu kwasowości lotnej

Po oznaczeniu kwasowości lotnej i wprowadzeniu poprawki na zawartość dwutlenku siarki obecność kwasu salicylowego po zakwaszeniu stwierdza się, jeżeli po dodaniu soli żelaza (III) pojawi się fioletowe zabarwienie.

Oznaczenie kwasu salicylowego przechodzącego do destylatu wraz z kwasami lotnymi wykonuje się w drugim destylacie, przy czym używa się tej samej objętości destylatu, jaką wykorzystano do oznaczenia kwasowości lotnej. Kwas salicylowy oznacza się kolorymetryczną metodą porównawczą. Oznaczoną zawartość kwasu salicylowego odejmuje się od kwasowości lotnej oznaczonej w destylacie uzyskanym w wyniku pierwszej destylacji.

8.1. Odczynniki:

- 1) kwas chlorowodorowy (HCl) (o gęstości $r_{20} = 1,18$ do $1,19$ grama na litr);
- 2) 0,1-molowy roztwór tiosiarczanu sodu ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$);
- 3) 10% (m/v) roztwór siarczanu żelazo-amonowego ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$);
- 4) 0,01-molowy roztwór salicylanu sodowego;
- 5) roztwór salicylanu sodowego ($\text{NaC}_7\text{H}_5\text{O}_3$) o stężeniu $1,60$ grama na litr.

8.2. Wykonanie oznaczenia:

- 1) do kolby stożkowej natychmiast po oznaczeniu kwasowości lotnej i wprowadzeniu poprawki na zawartość wolnego i związanego dwutlenku siarki odmierza się $0,5$ mililitra kwasu solnego, 3 mililitry roztworu tiosiarczanu sodu i 1 mililitr roztworu siarczanu żelazo-amonowego. Pojawienie się barwy fioletowej świadczy o obecności w próbce kwasu salicylowego;
- 2) w przypadku stwierdzenia w próbce obecności kwasu salicylowego na kolbie stożkowej wykorzystanej przy wykrywaniu obecności kwasu salicylowego zaznacza się kreską

objętość destylatu, a następnie kolbę opróżnia się i przepłukuje. Następnie wykonuje się destylację z parą wodną drugiej próbki fermentowanego napoju winiarskiego o objętości 20 mililitrów, zbierając destylat do kolby stożkowej. Następnie dodaje się 0,3 mililitra czystego kwasu solnego i 1 mililitr roztworu siarczanu żelazo-amonowego. Zawartość kolby stożkowej zabarwi się na fioletowo. Do kolby stożkowej identycznej jak ww. kolba stożkowa z zaznaczoną kreską wlewa się wodę destylowaną w ilości równej ilości destylatu, a następnie dodaje 0,3 mililitra czystego kwasu solnego i 1 mililitr roztworu siarczanu żelazo-amonowego. Przy użyciu biurety wprowadza się roztwór salicylanu sodowego aż do uzyskania barwy fioletowej o natężeniu odpowiadającym barwie roztworu w kolbie zawierającej destylat fermentowanego napoju winiarskiego;

- 3) wprowadzanie poprawki do kwasowości lotnej – od objętości n mililitrów roztworu wodorotlenku sodu zużytego do miareczkowania kwasów w destylacie podczas oznaczania kwasowości lotnej odejmuje się objętość $0,1 \times n'''$, gdzie n''' oznacza objętość w mililitrach roztworu dodanego z biurety.