

4 octombrie
2011

Nr. 164-165



Anul XVIII
(3960-3961)

MONITORUL OFICIAL

AL REPUBLICII MOLDOVA

moldpres

MONITORUL OFICIAL AL REPUBLICII MOLDOVA este un produs protejat legal și dă dreptul MOLDPRES de a-i autoriza reproducerea ori crearea altor produse derivate numai de către abonați, potrivit contractului de abonament, cu obligația acestora de a-l folosi în limitele prevăzute de contract, de a nu-i distorsiona conținutul și de a menționa obligatoriu sursa „Monitorul Oficial al Republicii Moldova”. Orice altă formă de utilizare a produsului în scopuri de multiplicare și difuzare este interzisă. MOLDPRES își rezervă dreptul de a lua măsurile necesare în cazurile în care nu se respectă prevederile legale de utilizare a produselor sale.

EDITOR: Agenția Informațională de Stat “Moldpres”

Director general Vladimir DARIE

Monitorul Oficial al Republicii Moldova

Redactor-șef Simion ROPOT

Editorul și redacția: 2012, Chișinău, str. Pușkin, 22, Casa Presei, et. 3.

Numărul de înregistrare 475. Certificat de înregistrare a mărcii nr. 12578.

Abonamentele se pot contracta la orice oficiu poștal. Indicele de abonare 21128. Tirajul total 5783.

Telefoane: Editorul 23-34-28, fax 23-26-98; Secretarul general de redacție: 23-44-41; e-mail: monitor@moldpres.md

Redactorii: 23-23-09; Publicații ale agenților economici, avize, pierderi de acte: tel: 23-35-86, tel./fax 23-34-39; e-mail: mo@moldpres.md

Cont nr. 225139709, cod EXMMMD22436, BC “Eximbank-Gruppo Veneto Banca” S.A., filiala nr. 11.

Cont nr. 222472202165, cod BSOCMD2X722, BC “Banca Socială” S.A. interrațională.

Cont nr. 22516014983206, cod BECOMD2X609, Banca de Economii, filiala nr.1 Chișinău.

Chișinău, Agenția Informațională de Stat MOLDPRES.

Cod fiscal 1003600071952. Tiparul: Editura “Universul”, str. Vlaicu Pîrcălab, 45, mun. Chișinău. Comanda nr. 3342.

“Monitorul Oficial al Republicii Moldova” nu poartă răspundere pentru veridicitatea avizelor publicate.

Actele oficiale pot fi publicate în alte ediții periodice numai cu trimitere la “Monitorul Oficial al Republicii Moldova”.

PARTEA I**Legi, hotărâri ale Parlamentului Republicii Moldova, decrete ale
Președintelui Republicii Moldova**

477. Decret pentru promulgarea Legii cu privire la simbolurile publice (nr. 296-VI, 28 septembrie 2011).	5
478. Lege cu privire la simbolurile publice (nr. 86, 28 iulie 2011).	5
479. Decret privind promulgarea Legii pentru aprobarea Clasificatorului unic al funcțiilor publice (nr. 297-VI, 28 septembrie 2011).	8
480. Lege pentru aprobarea Clasificatorului unic al funcțiilor publice (nr. 155, 21 iulie 2011).	8
481. Decret privind promulgarea Legii pentru modificarea articolului 8 din Legea Curții de Conturi nr. 261-XVI din 5 decembrie 2008 (nr. 298-VI, 28 septembrie 2011).	27
482. Lege pentru modificarea articolului 8 din Legea Curții de Conturi nr. 261-XVI din 5 decembrie 2008 (nr. 183, 28 iulie 2011).	27

PARTEA II**Hotărâri ale Guvernului Republicii Moldova**

804. Hotărâre cu privire la aprobarea Reglementării tehnice „Metode de analiză în domeniul fabricării vinurilor” (nr. 708, 20 septembrie 2011).	28
---	----

PARTEA III**Acte ale ministerelor, departamentelor și ale Băncii Naționale
a Moldovei****Acte ale Ministerului Justiției al Republicii Moldova**

1504. Ordin cu privire la încetarea activității notarului public Botnari Viorica, cu teritoriul de activitate în mun. Chișinău (nr. 427, 28 septembrie 2011).	102
---	-----

Acte ale Agenției Naționale pentru Reglementare în Energetică

1505. Hotărâre privind Metodologia determinării, aprobării și aplicării tarifelor la producerea energiei electrice, energiei termice și la apa de adaos și Metodologia determinării, aprobării și aplicării tarifelor de livrare a energiei termice consumatorilor finali (nr. 424, 28 septembrie 2011).	102
--	-----

Acte ale Comisiei Electorale Centrale

1506. Hotărâre cu privire la atribuirea unui mandat de consilier în Consiliul comunal Step-Soci, raionul Orhei (nr. 695, 26 august 2011).	103
1507. Hotărâre cu privire la atribuirea unui mandat de consilier în Consiliul orășenesc Soroca, raionul Soroca (nr. 696, 26 august 2011).	103
1508. Hotărâre cu privire la atribuirea unor mandate de consilier în Consiliul orășenesc Bucovăț, raionul Strășeni (nr. 697, 26 august 2011).	103
1509. Hotărâre cu privire la atribuirea unui mandat de consilier în Consiliul comunal Ghelăuza, raionul Strășeni (nr. 698, 26 august 2011).	104
1510. Hotărâre cu privire la atribuirea unor mandate de consilier în Consiliul comunal Micăuți, raionul Strășeni (nr. 699, 26 august 2011).	104
1511. Hotărâre cu privire la atribuirea unor mandate de consilier în Consiliul orășenesc Șoldănești, raionul Șoldănești (nr. 700, 26 august 2011).	104
1512. Hotărâre cu privire la atribuirea unor mandate de consilier în Consiliul orășenesc Taraclia, raionul Taraclia (nr. 701, 26 august 2011).	105
1513. Hotărâre cu privire la atribuirea unui mandat de consilier în Consiliul comunal Albota de Jos, raionul Taraclia (nr. 702, 26 august 2011).	105
1514. Hotărâre cu privire la atribuirea unui mandat de consilier în Consiliul comunal Salcia, raionul Taraclia (nr. 703, 26 august 2011).	105
1515. Hotărâre cu privire la atribuirea unor mandate de consilier în Consiliul sătesc Valea Perjei, raionul Taraclia (nr. 704, 26 august 2011).	106
1516. Hotărâre cu privire la atribuirea unui mandat de consilier în Consiliul orășenesc Ungheni, raionul Ungheni (nr. 705, 26 august 2011).	106

PARTEA I

Legi, hotărâri ale Parlamentului Republicii Moldova,
decrete ale Președintelui Republicii Moldova**477 D E C R E T****pentru promulgarea Legii cu privire la simbolurile publice**

În temeiul art. 93 alin. (2) din Constituția Republicii Moldova,

Președintele Republicii Moldova d e c r e t e a z ă:

**PREȘEDINTELE INTERIMAR
AL REPUBLICII MOLDOVA**

Nr. 296-VI. Chișinău, 28 septembrie 2011.

Articol unic. – Se promulgă Legea nr. 86 din 28 iulie 2011 cu privire la simbolurile publice.

Marian LUPU

478 L E G E**cu privire la simbolurile publice**

În scopul promovării unei politici de stat unitare în domeniul simbolurilor publice,

Parlamentul adoptă prezenta lege organică.

Articolul 1. Domeniul de reglementare

Prezenta lege reglementează raporturile juridice care țin de înregistrarea, protecția juridică și utilizarea simbolurilor publice aferente domeniilor: heraldic, vexilologic, imnologic, sigilografic, faleristic și uniformistic.

Articolul 2. Cadrul juridic

(1) Cadrul juridic privind simbolurile publice îl constituie Constituția Republicii Moldova, prezenta lege, alte acte normative, precum și tratatele internaționale la care Republica Moldova este parte.

(2) Dacă tratatele internaționale la care Republica Moldova este parte stabilesc alte prevederi decât cele cuprinse în prezenta lege, se aplică prevederile tratatelor internaționale.

Articolul 3. Noțiuni principale

În sensul prezentei legi, următoarele noțiuni principale semnifică:

simboluri publice – totalitate a însemnelor heraldice, vexilologice, imnice, sigilografice, faleristice și uniformistice destinate identificării posesorului și etalate în acest scop;

simboluri naționale – simboluri de stat și alte însemne care indică identitatea Republicii Moldova ca stat sau ca entitate colectivă;

simboluri teritoriale – simboluri publice care indică identitatea unităților administrativ-teritoriale;

simboluri corporative – simboluri publice care indică identitatea persoanei juridice;

simboluri particulare – simboluri publice care indică identitatea persoanelor fizice (indivizi și familii);

însemne heraldice – steme, embleme și alte însemne de identificare publice concepute în conformitate cu știința și arta heraldică;

însemne vexilologice – drapele, stindarde, pavilioane, fanioane și alte însemne vexilare publice concepute în conformitate cu știința și arta vexilologică;

însemne imnice – imnuri și alte imagini auditive publice menite să indice identitatea;

însemne sigilografice – sigilii armoriate publice concepute în conformitate cu știința și arta sigilografică;

însemne faleristice – ordine, medalii, cruci, insigne și alte însemne publice cu caracter de distincție a meritelor personale sau colective;

însemne uniformistice – uniforme militare, paramilitare și civile cu caracter public; insigne, colane, eșarfe și alte însemne de funcție; epoleți, insigne, ecusoane, cocarde, galoane, culori, nasturi și alte însemne distinctive sau de

apartenență corporativă.

Articolul 4. Simbolurile naționale

(1) Simboluri naționale sint:

- a) stema de stat;
- b) drapelul de stat;
- c) imnul de stat;
- d) sigiliul de stat;
- e) pavilionul de stat;
- f) distincțiile de stat;
- g) drapelul civil;
- h) pavilionul civil;
- i) drapelul de război;
- j) pavilionul de război;
- k) drapelul de luptă;
- l) culorile naționale;

m) însemnele de apartenență statală pe transportul internațional;

n) emblemele naționale oficiale complementare (floristice, zoomorfe, avimorfe, monumentale etc.);

o) emblemele naționale oficiale cu caracter economic sau comercial (mărci, semne, branduri etc.);

p) semnele monedei naționale;

q) abrevierile și codurile oficiale internaționale ale denumirii statului;

r) însemnele de funcție (stindard, colan, eșarfă, sceptru etc.) ale Președintelui Republicii Moldova;

s) stindardul Președintelui Parlamentului Republicii Moldova;

t) stindardul Prim-ministrului Republicii Moldova;

u) stindardul ministrului apărării al Republicii Moldova.

(2) Simbolurile naționale prevăzute la alin. (1) lit. a)–j), actele descriptive și explicative însoțitoare, regulamentele conceptuale cu privire la acestea se adoptă, se aprobă și se modifică de Parlament, la propunerea Comisiei Naționale de Heraldică, prin lege organică.

(3) Modelul drapelului (sau drapelul-etalon) de luptă prevăzut la alin. (1) lit. k), actele descriptive și explicative însoțitoare se adoptă, se aprobă și se modifică de Parlament, la propunerea Comisiei Naționale de Heraldică, prin lege ordinară. Drapelele de luptă concrete elaborate în baza drapelului model de luptă prevăzut la alin. (1) lit. k), actele descriptive și explicative însoțitoare, regulamentele și instrucțiunile cu privire la acestea se aprobă și se modifică prin decret al Președintelui Republicii Moldova.

(4) Simbolurile naționale prevăzute la alin. (1) lit. l), m), n), p) și q), actele descriptive și explicative însoțitoare, regulamentele conceptuale cu privire la acestea se adoptă, se aprobă și se modifică de Parlament, la propunerea Comisiei Naționale de Heraldică, prin lege ordinară.

(5) Simbolurile naționale prevăzute la alin. (1) lit. o), actele descriptive și explicative însoțitoare, regulamentele conceptuale cu privire la acestea se adoptă, se aprobă și se modifică de Parlament, la propunerea Comisiei Naționale de Heraldică, prin lege ordinară, luându-se în considerare prevederile Legii nr. 38-XVI din 29 februarie 2008 privind protecția mărcilor.

(6) Însemnele de funcție ale Președintelui Republicii Moldova prevăzute la alin. (1) lit. r), actele descriptive și explicative însoțitoare se adoptă, se aprobă și se modifică de Parlament, la propunerea Comisiei Naționale de Heraldică, prin lege ordinară. Regulamentele și instrucțiunile referitoare la însemnele de funcție ale Președintelui Republicii Moldova prevăzute la alin. (1) lit. r) se aprobă prin decret al Președintelui Republicii Moldova.

(7) Stindardul Președintelui Parlamentului Republicii Moldova prevăzut la alin. (1) lit. s), actele descriptive și explicative însoțitoare se adoptă, se aprobă și se modifică de Parlament, la propunerea Comisiei Naționale de Heraldică, prin lege ordinară. Regulamentele și instrucțiunile referitoare la stindardul Președintelui Parlamentului Republicii Moldova prevăzut la alin. (1) lit. s) se aprobă prin hotărâre a Parlamentului.

(8) Stindardul Prim-ministrului Republicii Moldova prevăzut la alin. (1) lit. t), actele descriptive și explicative însoțitoare se adoptă, se aprobă și se modifică de Parlament, la propunerea Comisiei Naționale de Heraldică, prin lege ordinară. Regulamentul stindardului Prim-ministrului Republicii Moldova prevăzut la alin. (1) lit. t) se aprobă prin hotărâre de Guvern.

(9) Stindardul ministrului apărării al Republicii Moldova prevăzut la alin. (1) lit. u), actele descriptive și explicative însoțitoare, regulamentele și instrucțiunile cu privire la acesta se aprobă și se modifică, la propunerea Comisiei Naționale de Heraldică, prin decret al Președintelui Republicii Moldova.

(10) După adoptare și/sau aprobare, simbolurile naționale se înregistrează în Armorialul General al Republicii Moldova în baza actelor legale de adoptare/aprobare.

(11) Instrucțiunile tehnice de utilizare (de reproducere, de executare etc.) a simbolurilor naționale, exceptând pentru cele prevăzute la alin. (1) lit. k), r), s) și u), se aprobă de Guvern în temeiul legislației în vigoare, după avizarea lor de Comisia Națională de Heraldică.

(12) Simbolurile naționale fac parte din domeniul public al statului și sînt inalienabile, insesizabile și imprescriptibile.

(13) Reproducerea simbolurilor naționale și a elementelor acestora în simboluri corporative, teritoriale și particulare se admite în limitele regulamentului de utilizare a simbolului național respectiv.

Articolul 5. Simbolurile teritoriale

(1) Simboluri teritoriale sînt:

- a) stema;
- b) drapelul;
- c) imnul;
- d) sigiliul armoriat;
- e) însemnele faleristice;
- f) însemnele de funcție ale persoanelor oficiale: insigne, colane, eșarfe etc.;
- g) alte embleme vizuale sau auditive cu caracter oficial.

(2) Simbolurile teritoriale se aprobă prin decizii ale autorităților deliberative de nivelul întâi și, respectiv, de nivelul doi după avizarea lor de Comisia Națională de Heraldică. Simbolurile teritoriale ale unităților teritoriale autonome cu statut special se aprobă prin hotărâri ale autorităților reprezentative și deliberative ale acestora după avizarea lor de Comisia Națională de Heraldică.

(3) După aprobarea simbolurilor teritoriale și a simbolurilor teritoriale ale unităților teritoriale autonome cu statut special de către autoritățile prevăzute la alin. (2), Președintele Republicii Moldova emite decrete privind introducerea în uz și înregistrarea lor în Armorialul General al Republicii Moldova.

(4) Regulamentele și instrucțiunile de utilizare (de reproducere, de executare etc.) a simbolurilor teritoriale se elaborează de către beneficiar în baza documentelor-tip întocmite de Comisia Națională de Heraldică și se aprobă de autoritatea deliberativă a unității administrativ-teritoriale respective, după avizare în această comisie. Regulamentele și instrucțiunile de utilizare (de reproducere, de executare etc.) a simbolurilor teritoriale ale unităților teritoriale autonome cu statut special se aprobă prin hotărâri ale autorităților executive ale acestora după avizarea lor de Comisia Națională de Heraldică.

(5) Posesori ai simbolurilor teritoriale sînt unitățile administrativ-teritoriale respective. Dreptul de dispoziție asupra simbolurilor teritoriale aparține autorităților reprezentative ale acestor unități.

(6) Simbolurile teritoriale fac parte din domeniul public al statului și sînt inalienabile, insesizabile și imprescriptibile.

Articolul 6. Simbolurile corporative

(1) Simboluri corporative sînt:

- a) stema;
- b) drapelul;
- c) imnul;
- d) însemnele faleristice;
- e) insignele de apartenență la o corporație;
- f) uniformă;
- g) alte embleme vizuale sau auditive cu caracter de identificare a persoanei juridice.

(2) Simbolurile corporative ale organelor centrale de specialitate ale administrației publice și ale altor autorități administrative centrale se aprobă prin hotărâre de Guvern, în baza deciziei Comisiei Naționale de Heraldică.

(3) După aprobarea simbolurilor corporative menționate la alin. (2), Președintele Republicii Moldova emite decrete privind introducerea în uz și înregistrarea lor în Armorialul General al Republicii Moldova.

(4) Regulamentele și instrucțiunile de utilizare (de reproducere, de executare etc.) a simbolurilor corporative ale organelor centrale de specialitate ale administrației publice și ale altor autorități administrative centrale se elaborează de către beneficiar în baza documentelor-tip întocmite de Comisia Națională de Heraldică și se aprobă, după avizarea lor de către aceasta, prin hotărâre de Guvern.

(5) Simbolurile corporative ale Forțelor Armate se instituie de Președintele Republicii Moldova în baza deciziei Comisiei Naționale de Heraldică. Președintele Republicii emite decrete privind instituirea și înregistrarea lor în Armorialul General al Republicii Moldova.

(6) Regulamentele și instrucțiunile de utilizare (de reproducere, de executare etc.) a simbolurilor corporative ale Forțelor Armate se elaborează de beneficiar și se aprobă prin decret al Președintelui Republicii Moldova după avizarea lor în Comisia Națională de Heraldică.

(7) Simbolurile corporative, exceptînd cele menționate la alin. (2) și (5), se aprobă prin decizii ale organelor de conducere ale persoanelor juridice respective.

(8) Simbolurile corporative, exceptînd cele menționate la alin. (2) și (5), se recunosc oficial în calitate de simboluri publice și se înregistrează în Armorialul General al Republicii Moldova în baza cererilor persoanelor juridice respective și a deciziei Comisiei Naționale de Heraldică.

(9) Regulamentele și instrucțiunile de utilizare (de reproducere, de executare etc.) a simbolurilor corporative, exceptînd regulamentele și instrucțiunile la simbo-

lurile menționate la alin. (2) și (5), se aprobă, în funcție de forma juridică de organizare, prin decizie a organului suprem de conducere sau a conducătorului persoanei juridice respective, în baza deciziei Comisiei Naționale de Heraldică.

(10) Posesori ai simbolurilor corporative sînt persoane juridice.

Articolul 7. Simbolurile particulare

(1) Simboluri particulare sînt:

- a) stema personală sau de familie;
- b) stindardul și alte însemne vexilare personale sau de familie;
- c) imnul familiei;
- d) sigiliul armoriat personal sau de familie.

(2) Simbolurile particulare se recunosc oficial în calitate de simboluri publice și se înregistrează în Armorialul General al Republicii Moldova în baza cererii posesorului și a deciziei Comisiei Naționale de Heraldică.

(3) Simbolurile particulare se utilizează la discreția posesorilor acestora. La utilizarea simbolurilor particulare nu vor fi încălcate drepturile și interesele legitime ale cetățenilor și nici ordinea publică.

(4) Posesor al simbolului particular poate fi una sau pot fi mai multe persoane fizice nominalizate în cererea de înregistrare a simbolului.

Articolul 8. Comisia Națională de Heraldică

(1) Comisia Națională de Heraldică, instituită pe lângă Președintele Republicii Moldova, este autoritatea națională care promovează politica de stat unitară în domeniul simbolurilor publice în Republica Moldova.

(2) Comisia Națională de Heraldică stabilește normele naționale și condițiile teoretice, tehnice și practice de elaborare, de instituire, de înregistrare, de evidență, de confecționare, de utilizare, de păstrare și de promovare a simbolurilor publice, exercită controlul asupra respectării acestor norme și condiții.

(3) Comisia Națională de Heraldică organizează elaborarea simbolurilor naționale și pregătește propuneri legislative referitoare la ele.

(4) Comisia Națională de Heraldică exercită și alte atribuții prevăzute de regulamentul său, aprobat prin decret al Președintelui Republicii Moldova.

(5) Comisia Națională de Heraldică emite decizii privind expertizarea, avizarea și înregistrarea simbolurilor publice.

(6) Componenta numerică și componenta nominală ale Comisiei Naționale de Heraldică se stabilesc prin decret al Președintelui Republicii Moldova, în conformitate cu regulamentul comisiei.

(7) Membrii Comisiei Naționale de Heraldică își desfășoară activitatea pe baze obștești, cu excepția Heraldistului de Stat al Republicii Moldova, heraldistului secretar și pictorului heraldist.

(8) Arhiva Comisiei Naționale de Heraldică se păstrează în Cabinetul de heraldică, în conformitate cu Legea privind Fondul Arhivistic al Republicii Moldova.

(9) Deciziile de înregistrare a simbolurilor publice în Armorialul General al Republicii Moldova și deciziile de scoatere din uz a simbolurilor publice adoptate de Comisia Națională de Heraldică se publică în Monitorul Oficial al Republicii Moldova.

(10) Activitatea Comisiei Naționale de Heraldică este finanțată din mijloacele prevăzute la bugetul de stat pentru Aparatul Președintelui Republicii Moldova.

Articolul 9. Cabinetul de heraldică

(1) În cadrul Aparatului Președintelui Republicii Moldova se instituie Cabinetul de heraldică. Acesta asigură din punct de vedere tehnic și logistic activitatea Comisiei Naționale de Heraldică.

(2) În Cabinetul de heraldică activează Heraldistul de Stat al Republicii Moldova, heraldistul secretar și pictorul heraldist, care sînt membri de drept ai Comisiei Naționale de Heraldică și au statut de funcționar public. Atribuțiile acestora se stabilesc prin decret al Președintelui Republicii Moldova.

(3) Heraldistul de Stat al Republicii Moldova este expertul principal în domeniul simbolurilor publice și asigură din punct de vedere științific activitatea Cabinetului de heraldică și a Comisiei Naționale de Heraldică.

(4) Heraldistul de Stat al Republicii Moldova se numește în funcție și se eliberează din funcție prin decret al Președintelui Republicii Moldova, la propunerea Academiei de Științe a Moldovei.

(5) Heraldistul secretar asigură din punct de vedere documentar activitatea Cabinetului de heraldică și a Comisiei Naționale de Heraldică, ține lucrările de secretariat, arhiva lor curentă și Armorialul General al Republicii Moldova, administrează colecția de obiecte-etalon depuse la Comisia Națională de Heraldică, biblioteca acesteia.

(6) Pictorul heraldist asigură din punct de vedere grafic activitatea Cabinetului de heraldică și a Comisiei Naționale de Heraldică.

(7) Heraldistul secretar și pictorul heraldist se numesc în funcție și se eliberează din funcție prin decret al Președintelui Republicii Moldova, la propunerea Heraldistului de Stat al Republicii Moldova.

Articolul 10. Armorialul General al Republicii Moldova

(1) Armorialul General al Republicii Moldova este un registru de stat în care se înregistrează simbolurile publice, aprobate în conformitate cu prezenta lege.

(2) Armorialul General al Republicii Moldova cuprinde descrierile oficiale- etalon și desenele-etalon ale simbolurilor publice vizuale, versurile și partiturile muzicale ale simbolurilor publice auditive.

(3) Armorialul General al Republicii Moldova se ține în conformitate cu Legea cu privire la registre și se păstrează în Cabinetul de heraldică.

(4) Ținerea și păstrarea Armorialului General al Republicii Moldova fac parte din atribuțiile heraldistului secretar.

(5) Structura Armorialului General al Republicii Moldova, lista actelor necesare pentru înregistrarea simbolurilor publice și formularele acestor acte, modul de eliberare a diplomelor de înregistrare a simbolurilor publice și formularele acestor diplome, eliberate posesorilor și autorilor, modul de eliberare a copiilor și a extraselor din armorial și formularele acestor copii și extrase, eliberate persoanelor interesate în multiplicarea sau confecționarea simbolurilor înregistrate, se stabilesc prin decret al Președintelui Republicii Moldova, la propunerea Comisiei Naționale de Heraldică.

(6) La eliberarea diplomei de înregistrare a simbolului public, precum și a copiilor și extraselor din Armorialul General al Republicii Moldova, solicitantul achită o taxă. Cuantumul și modul de plată a taxei se stabilesc în Legea taxei de stat.

(7) Cheltuielile aferente eliberării copiilor și extraselor din Armorialul General al Republicii Moldova sînt suportate de solicitanți.

Articolul 11. Drepturile exclusive ale posesorului asupra simbolului public

(1) Posesorul își poate exercita drepturile exclusive asupra simbolului public numai după înregistrarea acestuia în Armorialul General al Republicii Moldova.

(2) Posesorul poate permite sau interzice utilizarea simbolului public de către alte persoane.

(3) În cazul încălcării drepturilor sale exclusive, posesorul simbolului public este în drept să se adreseze în instanță de judecată.

Articolul 12. Utilizarea simbolurilor publice

(1) Posesorul are dreptul să utilizeze simbolul public înregistrat în modul stabilit de actele normative în vigoare.

(2) Posesorul este în drept să utilizeze simbolul public și prin transmiterea drepturilor sale către terțe persoane, în conformitate cu prevederile Codului civil și ale Legii nr. 139 din 2 iulie 2010 privind dreptul de autor și drepturile conexe.

(3) Simbolurile publice pot fi utilizate fără acordul posesorilor numai în calitate de material ilustrativ sau informativ, inclusiv în ediții cu caracter științific, didactic sau informativ, cu condiția indicării obligatorii a posesorilor.

(4) Autorii și pictorii simbolurilor publice înregistrate în Armorialul General al Republicii Moldova le pot utiliza fără autorizarea posesorilor, în limita drepturilor de autor, pentru ilustrarea activității lor științifice sau de creație, cu condiția indicării obligatorii a posesorilor.

(5) Comisia Națională de Heraldică este în drept să utilizeze în edițiile sale, fără autorizarea posesorilor, descrierile și imaginile, textele și partiturile simbolurilor publice, înregistrate în Armorialul General al Republicii Moldova, cu condiția indicării obligatorii a posesorilor.

(6) Persoanele fizice și juridice care nu sînt rezidenți ai Republicii Moldova pot utiliza simbolurile lor publice numai după înregistrarea lor în Armorialul General al Republicii Moldova, în modul stabilit de prezenta lege.

Articolul 13. Scoaterea din uz a simbolului public

(1) Simbolul public se scoate din uz în cazul în care:

- a) posesorul lui își încetează existența;
- b) a fost modificat sau schimbat la cererea posesorului;
- c) a fost pronunțată, în conformitate cu legislația, o hotărîre judecătorească definitivă cu referire la el;
- d) actele în a căror bază a fost înregistrat au fost anulate sau declarate nevalabile.

(2) Succesorul de drept al simbolului public îl poate înregistra în numele său în modul prevăzut de prezenta

lege și de Comisia Națională de Heraldică.

(3) Scoaterea din uz a simbolului public se consemnează în Armorialul General al Republicii Moldova și se publică în Monitorul Oficial al Republicii Moldova.

Articolul 14. Protecția juridică a simbolurilor publice

(1) Simbolurile publice beneficiază de protecție juridică dacă sînt noi și individualizante din punct de vedere semantic.

(2) Simbolul public se consideră nou dacă nu a fost făcut public pînă la data înregistrării.

(3) Simbolul public se consideră individualizant dacă impresia generală pe care o produce este distinctă de impresia generală pe care o produce orice alt simbol public înregistrat.

(4) Beneficiază de protecție juridică numai simbolurile publice înregistrate în Armorialul General al Republicii Moldova.

(5) Profanarea simbolurilor publice atrage răspundere în conformitate cu legislația în vigoare.

Articolul 15. Dispoziții finale și tranzitorii

(1) Prezenta lege intră în vigoare la 1 ianuarie 2012.

(2) Simbolurile naționale în vigoare ale Republicii Moldova adoptate conform legislației vor fi înregistrate în Armorialul General în condițiile prezentei legi.

(3) Simbolurile publice teritoriale, corporative și particulare aprobate și înregistrate anterior de Comisia Națională de Heraldică vor fi incluse în Armorialul General al Republicii Moldova în termen de un an de la data intrării în vigoare a prezentei legi în cazul în care îndeplinesc condițiile acesteia.

(4) Președintele Republicii Moldova va aduce actele sale normative în concordanță cu prezenta lege.

(5) În termen de 6 luni de la data publicării prezentei legi, Guvernul:

- a) va prezenta Parlamentului propuneri privind aducerea legislației în vigoare în concordanță cu prezenta lege;
- b) va aduce actele sale normative în concordanță cu prezenta lege.

PREȘEDINTELE PARLAMENTULUI

Nr. 86. Chișinău, 28 iulie 2011.

479**D E C R E T****privind promulgarea Legii pentru aprobarea
Clasificatorului unic al funcțiilor publice**

În temeiul art. 93 alin. (1) din Constituția Republicii Moldova,

Președintele Republicii Moldova **d e c r e t e a z ă**:

**PREȘEDINTELE INTERIMAR
AL REPUBLICII MOLDOVA**

Nr. 297-VI. Chișinău, 28 septembrie 2011.

480**L E G E****pentru aprobarea Clasificatorului unic
al funcțiilor publice**

Parlamentul adoptă prezenta lege organică.

Art. 1. – Se aprobă Clasificatorul unic al funcțiilor publice, cuprins în anexă, care este parte integrantă a prezentei legi.

Art. 2. – Prezenta lege nu se extinde asupra funcțiilor publice ocupate de funcționarii publici cu statut special.

Art. 3. – Autoritățile publice vor utiliza, la aprobarea sau, după caz, la modificarea statelor de personal, exclusiv titlurile funcțiilor publice prevăzute de prezenta lege. În cazul în care, după aprobarea sau modificarea statelor de personal, titlurile funcțiilor publice deținute de unii funcționari publici se vor modifica fără schimbarea sarcinilor și

atribuțiilor de serviciu aferente funcțiilor respective, aceștia vor fi numiți în noile funcții în modul prevăzut la art. 69 lit. a) din Legea nr. 158-XVI din 4 iulie 2008 cu privire la funcția publică și statutul funcționarului public, în termen de 15 zile calendaristice de la data intrării în vigoare a statelor de personal corespunzătoare. Numirea se face prin actul administrativ al persoanei/organului care are competența legală de numire în funcție.

Art. 4. – Prezenta lege intră în vigoare la data punerii în aplicare a noului sistem de salarizare a funcționarilor publici, cu excepția prevederilor ce țin de cunoașterea unei limbi de circulație internațională (engleza, franceza,

germana, spaniola, italiana) la nivelul stabilit în rubrica „Cerințe specifice minime” din anexă, definit potrivit Cadrului european de cunoaștere a unei limbi străine, care vor intra în vigoare la 1 ianuarie 2014.

Art. 5. – Guvernul, în termen de 3 luni de la data publicării prezentei legi:

– va întreprinde măsurile necesare pentru realizarea prevederilor prezentei legi;

– va aproba lista autorităților publice care cad sub incidența prezentei legi;

– va aduce actele sale normative în concordanță cu prezenta lege.

PREȘEDINTELE PARLAMENTULUI

Marian LUPU

Nr. 155. Chișinău, 21 iulie 2011.

Anexă

CLASIFICATORUL UNIC AL FUNCȚIILOR PUBLICE

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
Capitolul I. Organe ale autorităților publice Secțiunea I. Secretariatul Parlamentului, Aparatul Președintelui Republicii Moldova, Cancelaria de Stat (inclusiv oficiile teritoriale) 1. Funcții publice de conducere de nivel superior			
A01	Secretar general/ secretar general adjunct al Parlamentului Secretar general/ secretar general adjunct al Aparatului Președintelui Republicii Moldova	- realizează managementul de nivel superior în autoritatea publică; - posedă competențe manageriale de planificare strategică și funcțională a activității autorității publice, de gestionare a resurselor financiare, umane, tehnice, materiale etc.; - reprezintă autoritatea publică în relațiile cu alte autorități publice din țară și de peste hotare	- 5 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B2); - abilități de utilizare a computerului
2. Funcții publice de conducere			
B01	Șef/șef adjunct direcție generală	- conduce activitatea unei subdiviziuni autonome care are un efectiv de cel puțin 18 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui sector complex de activitate în domeniul elaborării/coordonării elaborării politicilor și în alte domenii, în conformitate cu activitățile care implică exercitarea prerogativelor de putere publică; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile tactice și operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la sectorul gestionat	- 5 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B2); - abilități de utilizare a computerului
B02	Șef/șef adjunct direcție	- conduce activitatea unei subdiviziuni autonome care are un efectiv de cel puțin 5 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui sector de activitate în domeniul elaborării/coordonării elaborării	- 4 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
B05	Șef secție în cadrul direcției	- conduce activitatea unei subdiviziuni care are un efectiv de cel puțin 4 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui domeniu de activitate privind elaborarea/coordonarea elaborării politicilor și de gestionarea altor domenii, în conformitate cu activitățile care implică exercitarea prerogativelor de putere publică; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la domeniul gestionat	2 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B1); - abilități de utilizare a computerului
B06	Șef serviciu	- conduce activitatea unei subdiviziuni care are un efectiv de cel puțin 2 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui domeniu/subdomeniu de activitate privind elaborarea politicilor și de gestionarea altor domenii/subdomenii, în conformitate cu activitățile care implică exercitarea prerogativelor de putere publică; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la domeniul/subdomeniul gestionat	1 an de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
3. Funcții publice de execuție			
C01	Consultant principal	realizează sarcini de complexitate și importanță majoră în domeniul elaborării/coordonării elaborării politicilor, monitorizării și evaluării	2 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
B03	Șef direcție în cadrul direcției generale	- conduce activitatea unei subdiviziuni care are un efectiv de cel puțin 5 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui sector de activitate în domeniul elaborării/coordonării elaborării politicilor și în alte domenii, în conformitate cu activitățile care implică exercitarea prerogativelor de putere publică; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la sectorul gestionat	4 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B2); - abilități de utilizare a computerului
B04	Șef/șef adjunct secție	- conduce activitatea unei subdiviziuni autonome care are un efectiv de cel puțin 4 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui domeniu de activitate privind elaborarea/coordonarea elaborării politicilor și de gestionarea altor domenii, în conformitate cu activitățile care implică exercitarea prerogativelor de putere publică; - este direct responsabil de activitatea subdiviziunii conduse, raportează direct superiorului; - posedă abilități de planificare,	3 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B1); - abilități de utilizare a computerului

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
C04	Auditor intern principal	- realizează sarcini de complexitate înaltă în domeniul planificării, coordonării și organizării activității de audit intern, monitorizează implementarea recomandărilor în domeniu; - posedă cunoștințe aprofundate în domeniul legislației generale și speciale; - manifestă abilități de soluționare a problemelor complexe în domeniul de competență; - dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor	- 2 ani de experiență profesională în domeniu; - deținerea certificatului de calificare al auditorului în domeniul specializat; - abilități de utilizare a computerului
C05	Auditor intern superior	- realizează sarcini de complexitate medie în domeniul planificării, coordonării și organizării activității de audit intern, monitorizează implementarea recomandărilor în domeniu; - posedă cunoștințe aprofundate în domeniul legislației generale și speciale; - manifestă abilități de soluționare a problemelor de complexitate medie în domeniul de competență; - de regulă, dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor, urmînd instrucțiunile superiorului doar în cazul sarcinilor/problemelor de complexitate înaltă	- 1 an de experiență profesională în domeniu; - deținerea certificatului de calificare al auditorului; - abilități de utilizare a computerului
C06	Auditor intern	- realizează sarcini stabilite în domeniul planificării, coordonării și organizării activității de audit intern, monitorizează implementarea recomandărilor în domeniu; - aplică metode, tehnici și proceduri adecvate domeniului de competență în baza instrucțiunilor primite de la superior; - are limite clare de independență; necesită supervizare din partea superiorului	- abilități de utilizare a computerului
C07	Specialist principal	- realizează sarcini de complexitate înaltă, interdependente, în domeniul	- 1 an de experiență profesională în

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
C02	Consultant superior	- privind implementarea acestora; după caz, expertizează și definitivează proiectele de acte legislative/normative; - posedă cunoștințe aprofundate în mai multe arii de expertiză; - manifestă abilități de analiză și sinteză a datelor complexe, a fenomenelor și a proceselor, de soluționare a problemelor de complexitate înaltă în domeniul de competență; - dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor	- limbi de circulație internațională (nivel B1); - abilități de utilizare a computerului
C03	Consultant	- realizează sarcini de complexitate medie în domeniul elaborării/coordonării elaborării politiceilor; după caz, expertizează și definitivează proiectele de acte legislative/normative; - posedă cunoștințe aprofundate în 1-2 arii de expertiză; - manifestă abilități de analiză și sinteză a datelor, a fenomenelor și a proceselor, de soluționare a problemelor de complexitate medie în domeniul de competență; - dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor	- 1 an de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B1); - abilități de utilizare a computerului

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
2. Funcții publice de conducere			
B07	Șef/șef adjunct direcție generală Șef al Aparatului Comisiei Electorale Centrale	- conduce activitatea unei subdiviziuni autonome care are un efectiv de cel puțin 18 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui sector complex de activitate, în conformitate cu activitățile care implică exercitarea prerogativelor de putere publică; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile tactice și operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la sectorul gestionat	- 5 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B2); - abilități de utilizare a computerului
B08	Șef/șef adjunct direcție	- conduce activitatea unei subdiviziuni autonome care are un efectiv de cel puțin 5 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui sector de activitate, în conformitate cu activitățile care implică exercitarea prerogativelor de putere publică; - este direct responsabil de activitatea subdiviziunii conduse, raportează direct superiorului; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile tactice și operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la sectorul gestionat	- 4 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B2); - abilități de utilizare a computerului
B09	Șef direcție în cadrul direcției generale	- conduce activitatea unei subdiviziuni care are un efectiv de cel puțin 5 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui sector de activitate, în conformitate cu activitățile care implică exercitarea prerogativelor de putere publică;	- 4 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B2);

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
		implementării politicilor; - aplică cunoștințe teoretice și practice în domeniul de specializare, precum și proceduri, metode și tehnici profesionale adecvate; - manifestă abilități de soluționare a problemelor de complexitate medie în domeniul de competență; - dispune de independență în acțiune, cu excepția sarcinilor complexe ce necesită cunoștințe și experiență profesională suplimentare	domeniu; - abilități de utilizare a computerului
C08	Specialist superior	- realizează sarcini de complexitate medie, interdependente, în domeniul implementării politicilor; - aplică proceduri, metode și tehnici profesionale adecvate domeniului de competență; - manifestă abilități de soluționare a problemelor operaționale în domeniul de competență; - după caz, necesită supervizare din partea superiorului	- 6 luni de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
C09	Specialist	- realizează sarcini clar definite, de complexitate scăzută, în domeniul implementării politicilor; - aplică proceduri, metode și tehnici profesionale standardizate în domeniul de specializare în baza instrucțiunilor primite de la superior; - are limite clare de independență; necesită supervizare din partea superiorului	- abilități de utilizare a computerului
Secțiunea a II-a. Autoritățile publice autonome (aparatură centrală și subdiviziunile teritoriale)			
1. Funcții publice de conducere de nivel superior			
A02	Șef/șef adjunct al Aparatului Curții de Conturi	- realizează managementul de nivel superior în autoritatea publică; - posedă competențe manageriale de planificare strategică și funcțională a activității autorității publice, de gestionare a resurselor financiare,	- 5 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B2);

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
		putere publică; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la domeniul/subdomeniul gestionat	
B13	Șef/șef adjunct subdiviziune teritorială	- conduce activitatea unei subdiviziuni teritoriale a autorității autonome; - posedă competențe manageriale de planificare funcțională a activității, de gestionare a resurselor financiare, umane, tehnice, materiale etc.; - este responsabil de deciziile luate referitor la activitatea subdiviziunii teritoriale	- 2 ani de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
3. Funcții publice de execuție			
C10	Consultant principal	- realizează sarcini de complexitate majoră în domeniul elaborării politicilor, coordonării, monitorizării și evaluării privind implementarea acestora; după caz, expertizează și definitivează proiectele de acte legislative/normative; - posedă cunoștințe aprofundate în mai multe arii de expertiză; - manifestă abilități de analiză și sinteză a datelor complexe, a fenomenelor și a proceselor, de soluționare a problemelor de complexitate înaltă în domeniul de competență; - dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor	- 2 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B1); - abilități de utilizare a computerului
C11	Consultant superior	- realizează sarcini de complexitate înaltă în domeniul elaborării politicilor, coordonării, monitorizării și evaluării privind implementarea acestora; după caz, expertizează și definitivează proiectele de acte legislative/normative; - posedă cunoștințe aprofundate în 1-2 arii de expertiză; - manifestă abilități de analiză și sinteză	- 1 an de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B1); - abilități de utilizare a computerului

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
		- posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la sectorul gestionat	- abilități de utilizare a computerului
B10	Șef/șef adjunct secție	- conduce activitatea unei subdiviziuni autonome care are un efectiv de cel puțin 4 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui domeniu de activitate, în conformitate cu activitățile care implică exercitarea prerogativelor de putere publică; - este direct responsabil de activitatea subdiviziunii conduse, raportează direct superiorului; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile tactice și operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la domeniul gestionat	- 3 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B1); - abilități de utilizare a computerului
B11	Șef secție în cadrul direcției	- conduce activitatea unei subdiviziuni care are un efectiv de cel puțin 4 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui domeniu de activitate, în conformitate cu activitățile care implică exercitarea prerogativelor de putere publică; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la domeniul gestionat	- 2 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B1); - abilități de utilizare a computerului
B12	Șef serviciu	- conduce activitatea unei subdiviziuni care are un efectiv de cel puțin 2 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui domeniu/subdomeniu de activitate, în conformitate cu activitățile care implică exercitarea prerogativelor de	- 1 an de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
	superior	financiare publice și în domeniul monitorizării privind executarea hotărârilor emise; - posedă cunoștințe aprofundate în 1-2 arii de expertiză; - manifestă abilități de analiză și sinteză a datelor, a fenomenelor și a proceselor, de soluționare a problemelor complexe în domeniul de competență; - de regulă, dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor	- abilități de utilizare a computerului
C15	Controlor de stat/auditor public	- realizează sarcini de complexitate medie în domeniul controlului asupra modului de utilizare a resurselor financiare publice și în domeniul monitorizării privind executarea hotărârilor emise; - posedă cunoștințe teoretice și practice într-un domeniu de expertiză; - manifestă abilități de analiză a datelor, de soluționare a problemelor operaționale în domeniul de competență; - are limite clare de independență; necesită supervizare din partea superiorului	- abilități de utilizare a computerului
C16	Contabil-șef	- realizează sarcini de complexitate înaltă în domeniul analizei bugetare și managementului financiar; - posedă cunoștințe aprofundate în domeniul legislației generale și speciale; - manifestă abilități de soluționare a problemelor complexe în domeniul de competență; - dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor; - exercită atribuțiile de serviciu fără personal în subordine	- 3 ani de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
C17	Auditor intern principal	- realizează sarcini de complexitate înaltă în domeniul planificării, coordonării și organizării activității de audit intern, monitorizează implementarea recomandărilor în	- 2 ani de experiență profesională în domeniu; - deținerea

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
C12	Consultant	a datelor, a fenomenelor și a proceselor, de soluționare a problemelor de complexitate medie în domeniul de competență; - de regulă, dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor - realizează sarcini de complexitate medie în domeniul elaborării politicilor, coordonării, monitorizării și evaluării privind implementarea acestora; după caz, expertizează și definitivează proiectele de acte legislative/normative; - posedă cunoștințe teoretice și practice într-un domeniu de expertiză; - manifestă abilități de analiză a datelor, de soluționare a problemelor operaționale în domeniul de competență; - de regulă, dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor, urmînd instrucțiunile superiorului doar în cazul sarcinilor/problemelor de complexitate înaltă	- cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B1); - abilități de utilizare a computerului
C13	Controlor de stat principal/auditor public principal	- realizează sarcini de complexitate majoră în domeniul controlului asupra modului de utilizare a resurselor financiare publice și în domeniul monitorizării privind executarea hotărârilor emise; - posedă cunoștințe aprofundate în mai multe arii de expertiză; - manifestă abilități de analiză și sinteză a datelor complexe, a fenomenelor și a proceselor, de soluționare a problemelor de complexitate înaltă în domeniul de competență; - dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor; - după caz, reprezintă interesele autorității/statului în instanța de judecată	- 2 ani de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
C14	Controlor de stat superior/auditor public	- realizează sarcini de complexitate înaltă în domeniul controlului asupra modului de utilizare a resurselor	- 1 an de experiență profesională în domeniu;

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
		- manifestă abilități de soluționare a problemelor de complexitate medie în domeniul de competență; - dispune de independență în acțiune, cu excepția sarcinilor complexe ce necesită cunoștințe și experiență profesională suplimentare	- 6 luni de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
C21	Specialist superior	- realizează sarcini de complexitate medie, interdependente, în domeniul implementării politicilor; - aplică proceduri, metode și tehnici profesionale adecvate domeniului de competență; - manifestă abilități de soluționare a problemelor operaționale în domeniul de competență; - după caz, necesită supervizare din partea superiorului	
C22	Specialist	- realizează sarcini clar definite, de complexitate scăzută, în domeniul implementării politicilor; - aplică proceduri, metode și tehnici profesionale standardizate în domeniul de specializare în baza instrucțiunilor primite de la superior; - are limite clare de independență; necesită supervizare din partea superiorului	- abilități de utilizare a computerului
Secțiunea a III-a. Secretariatul Curții Constituționale și autoritatea judecătorească			
1. Funcții publice de conducere de nivel superior			
A03	Șef/șef adjunct al Secretariatului Curții Constituționale Șef/șef adjunct al Aparatului Consiliului Superior al Magistraturii Șef/șef adjunct al Aparatului Curții Supreme de Justiție	- realizează managementul de nivel superior în instituția publică; - posedă competențe manageriale de planificare funcțională a activității instituției publice, de gestionare a resurselor financiare, umane, tehnice, materiale etc.; - reprezintă instituția în relațiile cu alte autorități publice din țară și de peste hotare	- 5 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B2); - abilități de utilizare a computerului

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
		- domeniu; - posedă cunoștințe aprofundate în domeniul legislației generale și speciale; - manifestă abilități de soluționare a problemelor complexe în domeniul de competență; - dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor	- certificatul de calificare al auditorului în domeniul specializat; - abilități de utilizare a computerului
C18	Auditor intern superior	- realizează sarcini de complexitate medie în domeniul planificării, coordonării și organizării activității de audit intern, monitorizează implementarea recomandărilor în domeniu; - posedă cunoștințe aprofundate în domeniul legislației generale și speciale; - manifestă abilități de soluționare a problemelor de complexitate medie în domeniul de competență; - de regulă, dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor, urmînd instrucțiunile superiorului doar în cazul sarcinilor/problemelor de complexitate înaltă	- 1 an de experiență profesională în domeniu; - deținerea certificatului de calificare al auditorului; - abilități de utilizare a computerului
C19	Auditor intern	- realizează sarcini stabilite în domeniul planificării, coordonării și organizării activității de audit intern, monitorizează implementarea recomandărilor în domeniu; - aplică metode, tehnici și proceduri adecvate domeniului de competență în baza instrucțiunilor primite de la superior; - are limite clare de independență; necesită supervizare din partea superiorului	- abilități de utilizare a computerului
C20	Specialist principal	- realizează sarcini de complexitate înaltă, interdependente, în domeniul implementării politicilor; - aplică cunoștințe teoretice și practice în domeniul de specializare, precum și proceduri, metode și tehnici profesionale adecvate;	- 1 an de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului

16

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
C26	Referent al judecătoreștii	- realizează sarcini de complexitate înaltă în domeniul înfăptuirii justiției; - manifestă abilități de analiză și sinteză a datelor complexe, a fenomenelor și a proceselor, de soluționare a problemelor în domeniul dreptului; - dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor	- 3 ani de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
C27	Consultant al procurorului	- realizează sarcini de complexitate înaltă în elaborarea politicilor în domeniul dreptului penal; - manifestă abilități de analiză și sinteză a datelor complexe, a fenomenelor și a proceselor, de soluționare a problemelor de complexitate înaltă în domeniul de competență; - dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor	- 2 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B1); - abilități de utilizare a computerului
C28	Grefier	- îndeplinește atribuțiile prevăzute în Legea privind statutul și organizarea activității grefierilor din instanțele judecătorești	- abilități de utilizare a computerului
C29	Contabil-șef	- realizează sarcini de complexitate înaltă în domeniul analizei bugetare și managementului financiar; - posedă cunoștințe aprofundate în domeniul legislației generale și speciale; - manifestă abilități de soluționare a problemelor complexe în domeniul de competență; - dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor; - exercită atribuțiile de serviciu fără personal în subordine	- 3 ani de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
C30	Specialist principal	- realizează sarcini de complexitate înaltă, interdependente, într-un domeniu de competență; - aplică cunoștințe teoretice și practice în domeniul de specializare, precum și proceduri, metode și tehnici profesionale adecvate; - manifestă abilități de soluționare a problemelor de complexitate medie în	- 1 an de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
C24	Consultant superior	- realizează sarcini de complexitate înaltă în domeniul jurisdicției constituționale; după caz, avizează proiectele de acte legislative/normative; - posedă cunoștințe aprofundate în mai multe arii de expertiză; - manifestă abilități de analiză și sinteză a datelor complexe, a fenomenelor și a proceselor, de soluționare a problemelor de complexitate înaltă în domeniul de competență; - dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor	- cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B1); - abilități de utilizare a computerului
C25	Consultant	- realizează sarcini de complexitate medie în domeniul jurisdicției constituționale; după caz, avizează proiectele de acte legislative/normative; - posedă cunoștințe teoretice și practice într-un domeniu de expertiză; - manifestă abilități de analiză a datelor, de soluționare a problemelor operaționale în domeniul de competență; - de regulă, dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor, urmînd instrucțiunile superiorului doar în cazul sarcinilor/problemelor de complexitate înaltă	- cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B1); - abilități de utilizare a computerului

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
A06	Director general adjunct Vicepreședinte al Casei Naționale de Asigurări Sociale	- realizează managementul de nivel superior în autoritatea publică; - posedă competențe manageriale de planificare strategică și funcțională a activității autorității publice, de gestionare a resurselor financiare, umane, tehnice, materiale etc.; - reprezintă autoritatea publică în relațiile cu alte autorități publice din țară și de peste hotare	- 5 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B2); - abilități de utilizare a computerului
2. Funcții publice de conducere			
B19	Șef/șef adjunct direcție generală	- conduce activitatea unei subdiviziuni autonome care are un efectiv de cel puțin 18 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui sector complex de activitate în domeniul elaborării politicilor, coordonării, monitorizării și evaluării privind implementarea acestora, în conformitate cu activitățile care implică exercitarea prerogativelor de putere publică; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile tactice și operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la sectorul gestionat	- 5 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B2); - abilități de utilizare a computerului
B20	Șef/șef adjunct direcție	- conduce activitatea unei subdiviziuni autonome care are un efectiv de cel puțin 5 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui sector de activitate în domeniul elaborării politicilor, coordonării, monitorizării și evaluării privind implementarea acestora, în conformitate cu activitățile care implică exercitarea prerogativelor de putere publică; - este direct responsabil de activitatea subdiviziunii conduse, raportează direct superiorului; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare,	- 4 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B2); - abilități de utilizare a computerului

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
C31	Specialist superior	- domeniul de competență; - dispune de independență în acțiune, cu excepția sarcinilor complexe ce necesită cunoștințe și experiență profesională suplimentare - realizează sarcini de complexitate medie, interdependente, într-un domeniu de competență; - aplică proceduri, metode și tehnici profesionale adecvate domeniului de competență; - manifestă abilități de soluționare a problemelor operaționale în domeniul de competență; - după caz, necesită supervizare din partea superiorului	- 6 luni de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
C32	Specialist	- realizează sarcini clar definite, de complexitate scăzută, într-un domeniu de competență; - aplică proceduri, metode și tehnici profesionale standardizate în domeniul de specializare în baza instrucțiunilor primite de la superior; - are limite clare de independență; necesită supervizare din partea superiorului	- abilități de utilizare a computerului
Capitolul II. Autorități ale administrației publice centrale			
Secțiunea I. Organele centrale de specialitate ale administrației publice și alte autorități administrative centrale (aparatură centrală și subdiviziunile teritoriale)			
1. Funcții publice de conducere de nivel superior			
A05	Secretar de stat	- realizează managementul de nivel superior în autoritatea publică; - posedă competențe manageriale de planificare strategică și funcțională a activității autorității publice, de gestionare a resurselor financiare, umane, tehnice, materiale etc.; - reprezintă autoritatea publică în relațiile cu alte autorități publice din țară și de peste hotare	- 5 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B2); - abilități de utilizare a computerului

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
	direcției	4 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui domeniu de activitate privind elaborarea politicilor, coordonarea, monitorizarea și evaluarea implementării acestora, în conformitate cu activitățile care implică exercitarea prerogativelor de putere publică; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la domeniul gestionat	- domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B1); - abilități de utilizare a computerului
B24	Șef serviciu	- conduce activitatea unei subdiviziuni care are un efectiv de cel puțin 2 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui domeniu/subdomeniu de activitate privind elaborarea politicilor, coordonarea, monitorizarea și evaluarea implementării acestora, în conformitate cu activitățile care implică exercitarea prerogativelor de putere publică; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la domeniul/subdomeniul gestionat	- 1 an de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
3. Funcții publice de execuție			
C33	Consultant principal	- realizează sarcini de complexitate majoră în domeniul elaborării politicilor, monitorizării și evaluării privind implementarea acestora; după caz, avizează proiectele de acte legislative/normative; - posedă cunoștințe aprofundate în mai multe arii de expertiză; - manifestă abilități de analiză și sinteză a datelor complexe, a fenomenelor și a proceselor, de soluționare a	- 2 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B1); - abilități de utilizare a computerului

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
		control, evaluare;	
		- este responsabil de deciziile tactice și operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la sectorul gestionat	
B21	Șef direcție în cadrul direcției generale	- conduce activitatea unei subdiviziuni care are un efectiv de cel puțin 5 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui sector de activitate în domeniul elaborării politicilor, coordonării, monitorizării și evaluării privind implementarea acestora, în conformitate cu activitățile care implică exercitarea prerogativelor de putere publică; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la sectorul gestionat	- 4 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B2); - abilități de utilizare a computerului
B22	Șef/șef adjunct secție	- conduce activitatea unei subdiviziuni autonome care are un efectiv de cel puțin 4 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui domeniu de activitate privind elaborarea politicilor, coordonarea, monitorizarea și evaluarea implementării acestora, în conformitate cu activitățile care implică exercitarea prerogativelor de putere publică; - este direct responsabil de activitatea subdiviziunii conduse, raportează direct superiorului; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile tactice și operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la domeniul gestionat	- 3 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B1); - abilități de utilizare a computerului
B23	Șef secție în cadrul	- conduce activitatea unei subdiviziuni care are un efectiv de cel puțin	- 2 ani de experiență profesională în

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
		- manifestă abilități de soluționare a problemelor complexe în domeniul de competență; - dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor	- domeniul de activitate; - abilități de utilizare a computerului
C37	Auditor intern superior Controlor-revizor superior	- realizează sarcini de complexitate medie în domeniul planificării, coordonării și organizării activității de audit intern/extern, monitorizează implementarea recomandărilor în domeniu; - posedă cunoștințe aprofundate în domeniul legislației generale și speciale; - manifestă abilități de soluționare a problemelor de complexitate medie în domeniul de competență; - de regulă, dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor, urmînd instrucțiunile superiorului doar în cazul sarcinilor/problemelor de complexitate înaltă	- 1 an de experiență profesională în domeniu; - deținerea certificatului de calificare al auditorului; - specializare în domeniul de activitate; - abilități de utilizare a computerului
C38	Auditor intern Controlor-revizor	- realizează sarcini stabilite în domeniul planificării, coordonării și organizării activității de audit intern/extern, monitorizează implementarea recomandărilor în domeniu; - aplică metode, tehnici și proceduri adecvate domeniului de competență în baza instrucțiunilor primite de la superior; - are limite clare de independență; necesită supervizare din partea superiorului	- abilități de utilizare a computerului
C39	Contabil-șef	- realizează sarcini de complexitate înaltă în domeniul analizei bugetare și managementului financiar; - posedă cunoștințe aprofundate în domeniul legislației generale și speciale; - manifestă abilități de soluționare a problemelor complexe în domeniul de competență; - dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor;	- 3 ani de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
C34	Consultant superior	- realizează sarcini de complexitate înaltă în domeniul elaborării politicilor, monitorizării și evaluării privind implementarea acestora; după caz, avizează proiectele de acte legislative/normative; - posedă cunoștințe aprofundate în 1-2 arii de expertiză; - manifestă abilități de analiză și sinteză a datelor, a fenomenelor și a proceselor, de soluționare a problemelor de complexitate medie în domeniul de competență; - de regulă, dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor	- 1 an de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B1); - abilități de utilizare a computerului
C35	Consultant	- realizează sarcini de complexitate medie în domeniul elaborării politicilor, monitorizării și evaluării privind implementarea acestora; după caz, avizează proiectele de acte legislative/normative; - posedă cunoștințe teoretice și practice într-un domeniu de expertiză; - manifestă abilități de analiză a datelor, de soluționare a problemelor operaționale în domeniul de competență; - de regulă, dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor, urmînd instrucțiunile superiorului doar în cazul sarcinilor/problemelor de complexitate înaltă	- cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B1); - abilități de utilizare a computerului
C36	Auditor intern principal Controlor-revizor principal	- realizează sarcini de complexitate înaltă în domeniul planificării, coordonării și organizării activității de audit intern/extern, monitorizează implementarea recomandărilor în domeniu; - posedă cunoștințe aprofundate în domeniul legislației generale și speciale;	- 2 ani de experiență profesională în domeniu; - deținerea certificatului de calificare al auditorului în domeniul specializat; - specializare în

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
	adjunct	a altor autorități administrative centrale; - posedă competențe manageriale de planificare strategică și funcțională a activității autorității publice, de gestionare a resurselor financiare, umane, tehnice, materiale etc.; - este responsabil de deciziile luate referitor la activitatea autorității publice	- cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B2); - abilități de utilizare a computerului
B26	Șef/șef adjunct inspectorat/inspecție	- conduce activitatea unei autorități publice din subordinea ministerelor sau a altor autorități administrative centrale; - posedă competențe manageriale de planificare strategică și funcțională a activității autorității publice, de gestionare a resurselor financiare, umane, tehnice, materiale etc.; - este responsabil de deciziile luate referitor la activitatea autorității publice	- 4 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B2); - abilități de utilizare a computerului
B27	Șef/șef adjunct al Oficiului central de probațiune	- conduce activitatea unei autorități publice din subordinea ministerelor sau a altor autorități administrative centrale; - posedă competențe manageriale de planificare funcțională a activității autorității publice, de gestionare a resurselor financiare, umane, tehnice, materiale etc.; - este responsabil de deciziile luate referitor la activitatea autorității publice	- 4 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B2); - abilități de utilizare a computerului
B28	Șef/șef adjunct direcție generală	- conduce activitatea unei subdiviziuni autonome care are un efectiv de cel puțin 18 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui sector complex de activitate în domeniul implementării/coordonării implementării politicilor; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile tactice și	- 3 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B2); - abilități de utilizare a computerului

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
C40	Specialist principal	- exercită atribuțiile de serviciu fără personal în subordine - realizează sarcini de complexitate înaltă, interdependente, în domeniul implementării politicilor; - aplică cunoștințe teoretice și practice în domeniul de specializare, precum și proceduri, metode și tehnici profesionale adecvate; - manifestă abilități de soluționare a problemelor de complexitate medie în domeniul de competență; - dispune de independență în acțiune, cu excepția sarcinilor complexe ce necesită cunoștințe și experiență profesională suplimentare	- 1 an de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
C41	Specialist superior	- realizează sarcini de complexitate medie, interdependente, în domeniul implementării politicilor; - aplică proceduri, metode și tehnici profesionale adecvate domeniului de competență; - manifestă abilități de soluționare a problemelor operaționale în domeniul de competență; - după caz, necesită supervizare din partea superiorului	- 6 luni de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
C42	Specialist	- realizează sarcini clar definite, de complexitate scăzută, în domeniul implementării politicilor; - aplică proceduri, metode și tehnici profesionale standardizate în domeniul de specializare, în baza instrucțiunilor primite de la superior; - are limite clare de independență; necesită supervizare din partea superiorului	- abilități de utilizare a computerului
Secțiunea a II-a. Autoritățile din subordinea organelor centrale de specialitate ale administrației publice și din subordinea altor autorități administrative centrale (aparatul central și subdiviziunile teritoriale)			
1. Funcții publice de conducere			
B25	Director/director	- conduce activitatea unei autorități publice din subordinea ministerelor sau	- 4 ani de experiență profesională în

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
B32	Șef/șef adjunct secție	- conduce activitatea unei subdiviziuni autonome care are un efectiv de cel puțin 4 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui domeniu de activitate privind implementarea/coordonarea implementării politicilor; - este direct responsabil de activitatea subdiviziunii conduse, raportează direct superiorului; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile tactice și operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la domeniul gestionat	- 2 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B1); - abilități de utilizare a computerului
B33	Șef secție în cadrul direcției	- conduce activitatea unei subdiviziuni care are un efectiv de cel puțin 4 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui domeniu de activitate privind implementarea/coordonarea implementării politicilor; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la domeniul gestionat	- 2 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B1); - abilități de utilizare a computerului
B34	Șef serviciu	- conduce activitatea unei subdiviziuni care are un efectiv de cel puțin 2 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui domeniu/subdomeniu de activitate privind implementarea/coordonarea implementării politicilor; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la	- 1 an de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
B29	Custode principal de fonduri	- conduce activitatea arhivelor centrale, a serviciilor raionale (municipale) și departamentale de arhivă; - este responsabil de gestionarea unui sector complex de activitate, raportează direct superiorului; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile tactice și operaționale luate referitor la sectorul gestionat	- 4 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B2); - abilități de utilizare a computerului
B30	Șef/șef adjunct direcție	- conduce activitatea unei subdiviziuni autonome care are un efectiv de cel puțin 5 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui sector de activitate în domeniul implementării/coordonării implementării politicilor; - este direct responsabil de activitatea subdiviziunii conduse, raportează direct superiorului; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile tactice și operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la sectorul gestionat	- 3 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B2); - abilități de utilizare a computerului
B31	Șef direcție în cadrul direcției generale	- conduce activitatea unei subdiviziuni care are un efectiv de cel puțin 5 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui sector de activitate în domeniul implementării/coordonării implementării politicilor; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la sectorul	- 3 ani de experiență profesională în domeniu; - cunoașterea unei limbi de circulație internațională (nivel B2); - abilități de utilizare a computerului

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
	Auditor intern	a procesului de implementare a actelor normative în anumite domenii; - aplică metode, tehnici și proceduri adecvate domeniului de competență în baza instrucțiunilor primite de la superior; - are limite clare de independență; necesită supervizare din partea superiorului	
C46	Consilier de probațiune principal	- realizează sarcini de complexitate înaltă, interdependente, în domeniul evidenței și exercitării controlului asupra persoanelor condamnate; - aplică cunoștințe teoretice și practice în domeniul de specializare, precum și proceduri, metode și tehnici profesionale adecvate; - manifestă abilități de soluționare a problemelor de complexitate medie în domeniul de competență; - dispune de independență în acțiune, cu excepția sarcinilor complexe ce necesită cunoștințe și experiență profesională suplimentare	- 2 ani de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
C47	Consilier de probațiune superior	- realizează sarcini de complexitate medie, interdependente, în domeniul evidenței și exercitării controlului asupra persoanelor condamnate; - aplică proceduri, metode și tehnici profesionale adecvate domeniului de competență; - manifestă abilități de soluționare a problemelor operaționale în domeniul de competență; - după caz, necesită supervizare din partea superiorului	- 1 an de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
C48	Consilier de probațiune	- realizează sarcini clar definite, de complexitate scăzută, în domeniul evidenței și exercitării controlului asupra persoanelor condamnate în baza instrucțiunilor primite de la superior; - aplică proceduri, metode și tehnici profesionale adecvate domeniului de competență; - are limite clare de independență;	- abilități de utilizare a computerului

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
B35	Șef/șef adjunct subdiviziune teritorială Șef/șef adjunct inspectorat/inspecție teritorială	domeniul/subdomeniul gestionat - conduce activitatea unei subdiviziuni teritoriale din subordinea autorității administrative centrale; - posedă competențe manageriale de planificare funcțională a activității, de gestionare a resurselor financiare, umane, tehnice, materiale etc.; - este responsabil de deciziile luate referitor la activitatea subdiviziunii teritoriale	- 2 ani de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
2. Funcții publice de execuție			
C43	Inspector principal Controlor-revizor principal Auditor intern principal	- realizează sarcini de complexitate înaltă în domeniul executării activităților de control și de inspecție a procesului de implementare a actelor normative în anumite domenii; - posedă cunoștințe aprofundate în domeniul legislației generale și speciale; - manifestă abilități de soluționare a problemelor complexe în domeniul de competență; - dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor	- 2 ani de experiență profesională în domeniu; - specializare în domeniul de activitate; - deținerea certificatului de calificare al auditorului în domeniul specializat; - abilități de utilizare a computerului
C44	Inspector superior Controlor-revizor superior Auditor intern superior	- realizează sarcini de complexitate medie în domeniul executării activităților de control și de inspecție a procesului de implementare a actelor normative în anumite domenii; - posedă cunoștințe aprofundate în domeniul legislației generale și speciale; - manifestă abilități de soluționare a problemelor de complexitate medie în domeniul de competență; - de regulă, dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor, urmînd instrucțiunile superiorului doar în cazul sarcinilor/problemele de complexitate înaltă	- 1 an de experiență profesională în domeniu; - specializare în domeniul de activitate; - deținerea certificatului de calificare al auditorului; - abilități de utilizare a computerului
C45	Inspector Controlor-revizor	- realizează sarcini de complexitate scăzută în domeniul executării activităților de control și de inspecție	- abilități de utilizare a computerului

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
		- aplică proceduri, metode și tehnici profesionale standardizate în domeniul de specializare, în baza instrucțiunilor primite de la superior; - are limite clare de independență; necesită supervizare din partea superiorului	
Capitolul III. Autorități ale administrației publice locale Secțiunea I. Autoritățile administrației publice locale de nivel al doilea și cele ale municipiului Bălți			
1. Funcții publice de conducere			
B36	Secretar al consiliului raional/municipal	- îndeplinește atribuțiile prevăzute în Legea privind administrația publică locală	- conform prevederilor Legii privind administrația publică locală
B37	Pretor/vicepretor al sectorului	- îndeplinește atribuțiile prevăzute în Legea privind administrația publică locală	- conform prevederilor Legii privind administrația publică locală
B38	Secretar al preturii	- îndeplinește atribuțiile prevăzute în Legea privind administrația publică locală	- conform prevederilor Legii privind administrația publică locală
B39	Șef/șef adjuncț direcție generală	- conduce activitatea unei subdiviziuni autonome care are un efectiv de cel puțin 18 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui sector complex de activitate, în conformitate cu activitățile care implică exercitarea prerogativelor de putere publică; - este direct responsabil de activitatea subdiviziunii conduse, raportează direct superiorului; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile tactice și operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la sectorul gestionat	- 4 ani de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
C49	Contabil-șef	- necesită supervizare din partea superiorului - realizează sarcini de complexitate înaltă în domeniul analizei bugetare și managementului financiar; - posedă cunoștințe aprofundate în domeniul legislației generale și speciale; - manifestă abilități de soluționare a problemelor complexe în domeniul de competență; - dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor; - exercită atribuțiile de serviciu fără personal în subordine	- 3 ani de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
C50	Specialist principal	- realizează sarcini de complexitate înaltă, interdependente, în domeniul implementării/coordonării implementării politicilor; - aplică cunoștințe teoretice și practice în domeniul de specializare, precum și proceduri, metode și tehnici profesionale adecvate; - manifestă abilități de soluționare a problemelor de complexitate medie în domeniul de competență; - dispune de independență în acțiune, cu excepția sarcinilor complexe ce necesită cunoștințe și experiență profesională suplimentare	- 1 an de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
C51	Specialist superior	- realizează sarcini de complexitate medie, interdependente, în domeniul implementării politicilor; - aplică proceduri, metode și tehnici profesionale adecvate domeniului de competență; - manifestă abilități de soluționare a problemelor operaționale în domeniul de competență; - după caz, necesită supervizare din partea superiorului	- 6 luni de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
C52	Specialist	- realizează sarcini clar definite, de complexitate scăzută, în domeniul implementării politicilor;	- abilități de utilizare a computerului

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
B43	Șef secție în cadrul direcției	- conduce activitatea unei subdiviziuni care are un efectiv de cel puțin 4 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui domeniu de activitate, în conformitate cu activitățile care implică exercitarea prerogativelor de putere publică; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la domeniul gestionat	- 2 ani de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
B44	Șef serviciu	- conduce activitatea unei subdiviziuni care are un efectiv de cel puțin 2 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui domeniu/subdomeniu de activitate, în conformitate cu activitățile care implică exercitarea prerogativelor de putere publică; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la domeniul/subdomeniul gestionat	- 1 an de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
2. Funcții publice de execuție			
C53	Contabil-șef	- realizează sarcini de complexitate înaltă în domeniul analizei bugetare și managementului financiar; - posedă cunoștințe aprofundate în domeniul legislației generale și speciale; - manifestă abilități de soluționare a problemelor complexe în domeniul de competență; - dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor;	- 3 ani de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
B40	Șef/șef adjunct direcție	- conduce activitatea unei subdiviziuni autonome care are un efectiv de cel puțin 5 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui sector de activitate, în conformitate cu activitățile care implică exercitarea prerogativelor de putere publică; - este direct responsabil de activitatea subdiviziunii conduse, raportează direct superiorului; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile tactice și operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la sectorul gestionat	- 3 ani de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
B41	Șef direcție în cadrul direcției generale	- conduce activitatea unei subdiviziuni care are un efectiv de cel puțin 5 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui sector de activitate, în conformitate cu activitățile care implică exercitarea prerogativelor de putere publică; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile operaționale luate referitor la activitatea subdiviziunii și la sectorul gestionat	- 3 ani de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
B42	Șef/șef adjunct secție	- conduce activitatea unei subdiviziuni autonome care are un efectiv de cel puțin 4 unități de personal; - este responsabil de gestionarea unui domeniu de activitate, în conformitate cu activitățile care implică exercitarea prerogativelor de putere publică; - este direct responsabil de activitatea subdiviziunii conduse, raportează direct superiorului; - posedă abilități de planificare, organizare, coordonare, monitorizare, control, evaluare; - este responsabil de deciziile tactice și	- 2 ani de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
C57	Auditor intern	- realizează sarcini stabilite în domeniul planificării, coordonării și organizării activității de audit intern, monitorizează implementarea recomandărilor în domeniu; - aplică metode, tehnici și proceduri adecvate domeniului de competență în baza instrucțiunilor primite de la superior; - are limite clare de independență; necesită supervizare din partea superiorului	- abilități de utilizare a computerului
C58	Specialist principal	- realizează sarcini de complexitate înaltă, interdependente, în domeniul implementării politicilor; - aplică cunoștințe teoretice și practice în domeniul de specializare, precum și proceduri, metode și tehnici profesionale adecvate; - manifestă abilități de soluționare a problemelor de complexitate medie în domeniul de competență; - dispune de independență în acțiune, cu excepția sarcinilor complexe ce necesită cunoștințe și experiență profesională suplimentare	- 1 an de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
C59	Specialist superior	- realizează sarcini de complexitate medie, interdependente, în domeniul implementării politicilor; - aplică proceduri, metode și tehnici profesionale adecvate domeniului de competență; - manifestă abilități de soluționare a problemelor operaționale în domeniul de competență; - după caz, necesită supervizare din partea superiorului	- 6 luni de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
C60	Specialist	- realizează sarcini clar definite, de complexitate scăzută, în domeniul implementării politicilor; - aplică proceduri, metode și tehnici profesionale standardizate în domeniul de specializare în baza instrucțiunilor primite de la superior;	- abilități de utilizare a computerului

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
C54	Arhitect-șef	- exercită atribuțiile de serviciu fără personal în subordine - realizează sarcini de complexitate înaltă în domeniul arhitecturii și urbanismului; - posedă cunoștințe aprofundate în domeniul legislației generale și speciale; - manifestă abilități de soluționare a problemelor complexe în domeniul de competență; - dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor	- 3 ani de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
C55	Auditor intern principal	- realizează sarcini de complexitate înaltă în domeniul planificării, coordonării și organizării activității de audit intern, monitorizează implementarea recomandărilor în domeniu; - posedă cunoștințe aprofundate în domeniul legislației generale și speciale; - manifestă abilități de soluționare a problemelor complexe în domeniul de competență; - dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor	- 2 ani de experiență profesională în domeniu; - deținerea certificatului de calificare al auditorului în domeniul specializat; - abilități de utilizare a computerului
C56	Auditor intern superior	- realizează sarcini de complexitate medie în domeniul planificării, coordonării și organizării activității de audit intern, monitorizează implementarea recomandărilor în domeniu; - posedă cunoștințe aprofundate în domeniul legislației generale și speciale; - manifestă abilități de soluționare a problemelor de complexitate medie în domeniul de competență; - de regulă, dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor, urmînd instrucțiunile superiorului doar în cazul sarcinilor/problemelor de complexitate înaltă	- 1 an de experiență profesională în domeniu; - deținerea certificatului de calificare al auditorului; - abilități de utilizare a computerului

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
		- are limite clare de independență; necesită supraveghere din partea superiorului	
Secțiunea a II-a. Autoritățile administrației publice locale de nivel întâi			
1. Funcții publice de conducere			
B45	Secretar al consiliului local	- îndeplinește atribuțiile prevăzute în Legea privind administrația publică locală	- conform prevederilor Legii privind administrația publică locală
2. Funcții publice de execuție			
C61	Contabil-șef	- realizează sarcini de complexitate înaltă în domeniul analizei bugetare și managementului financiar; - posedă cunoștințe aprofundate în domeniul legislației generale și speciale; - manifestă abilități de soluționare a problemelor complexe în domeniul de competență; - dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor; - exercită atribuțiile de serviciu fără personal în subordine	- 1 an de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
C62	Arhitect-șef	- realizează sarcini de complexitate înaltă în domeniul arhitecturii și urbanismului; - posedă cunoștințe aprofundate în domeniul legislației generale și speciale; - manifestă abilități de soluționare a problemelor complexe în domeniul de competență; - dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor	- 1 an de experiență profesională în domeniu; - abilități de utilizare a computerului
C63	Auditor intern principal	- realizează sarcini de complexitate înaltă în domeniul planificării, coordonării și organizării activității de audit intern, monitorizează implementarea recomandărilor în domeniu; - posedă cunoștințe aprofundate în	- 2 ani de experiență profesională în domeniu; - deținerea certificatului de calificare al auditorului în

Cod	Titlul funcției publice	Descriere generică	Cerințe specifice minime
		domeniul legislației generale și speciale; - manifestă abilități de soluționare a problemelor complexe în domeniul de competență; - dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor	domeniul specializat; - abilități de utilizare a computerului
C64	Auditor intern superior	- realizează sarcini de complexitate medie în domeniul planificării, coordonării și organizării activității de audit intern, monitorizează implementarea recomandărilor în domeniu; - posedă cunoștințe aprofundate în domeniul legislației generale și speciale; - manifestă abilități de soluționare a problemelor de complexitate medie în domeniul de competență; - de regulă, dispune de autonomie în exercitarea sarcinilor, urmînd instrucțiunile superiorului doar în cazul sarcinilor/problemelor de complexitate înaltă	- 1 an de experiență profesională în domeniu; - deținerea certificatului de calificare al auditorului; - abilități de utilizare a computerului
C65	Auditor intern	- realizează sarcini stabilite în domeniul planificării, coordonării și organizării activității de audit intern, monitorizează implementarea recomandărilor în domeniu; - aplică metode, tehnici și proceduri adecvate domeniului de competență în baza instrucțiunilor primite de la superior; - are limite clare de independență; necesită supraveghere din partea superiorului	- abilități de utilizare a computerului
C66	Specialist	- realizează sarcini de complexitate medie, interdependente, în domeniul implementării politicilor (economice, fiscale, financiare, funciare, de tineret etc.); - aplică proceduri, metode și tehnici profesionale adecvate domeniului de competență; - manifestă abilități de soluționare a problemelor operaționale în domeniul de competență; - după caz, necesită supraveghere din partea superiorului	- abilități de utilizare a computerului

481 D E C R E T

privind promulgarea Legii pentru modificarea articolului 8 din Legea Curții de Conturi nr. 261-XVI din 5 decembrie 2008

În temeiul art. 93 alin. (1) din Constituția Republicii Moldova,
Președintele Republicii Moldova d e c r e t e a z ă:

Articol unic. – Se promulgă Legea nr. 183 din 28 iulie 2011 pentru modificarea articolului 8 din Legea Curții de Conturi nr. 261-XVI din 5 decembrie 2008.

**PREȘEDINTELE INTERIMAR
AL REPUBLICII MOLDOVA**

Marian LUPU

Nr. 298-VI. Chișinău, 28 septembrie 2011.

482 L E G E

pentru modificarea articolului 8 din Legea Curții de Conturi nr. 261-XVI din 5 decembrie 2008

Parlamentul adoptă prezenta lege organică.

Articol unic. – La articolul 8 alineatul (1) litera b) din Legea Curții de Conturi nr. 261-XVI din 5 decembrie 2008

(Monitorul Oficial al Republicii Moldova, 2008, nr. 237–240, art. 864), cu modificările ulterioare, textul „către 15 iulie” se substituie cu textul „către 10 octombrie”.

PREȘEDINTELE PARLAMENTULUI

Marian LUPU

Nr. 183. Chișinău, 28 iulie 2011.

PARTEA II
Hotărîri ale Guvernului Republicii Moldova**804 H O T Ă R Î R E**
cu privire la aprobarea Reglementării tehnice „Metode de analiză în domeniul fabricării vinurilor”

În conformitate cu Legea nr. 420-XVI din 22 decembrie 2006 privind activitatea de reglementare tehnică (Monitorul Oficial al Republicii Moldova, 2007, nr.36-38, art.141), cu modificările și completările ulterioare, precum și în scopul realizării prevederilor Legii viei și vinului nr. 57-XVI din 10 martie 2006 (Monitorul Oficial al Republicii Moldova, 2006, nr. 75-78, art. 314), cu modificările și completările ulterioare, Guvernul HOTĂRĂȘTE:

PRIM-MINISTRU

Contrasemnează:
Viceprim-ministru,
ministrul economiei
Ministrul agriculturii
și industriei alimentare

Nr. 708. Chișinău, 20 septembrie 2011.

Vladimir FILAT

Valeriu Lazăr

Vasile Bumacov

Aprobată
prin Hotărîrea Guvernului nr. 708
din 20 septembrie 2011

REGLEMENTAREA TEHNICĂ
“Metode de analiză în domeniul fabricării vinurilor”

Reglementarea tehnică “Metode de analiză în domeniul fabricării vinurilor” creează cadrul necesar aplicării art.15 și anexei IV la Regulamentul (CE) nr. 606/2009 al Comisiei din 10 iulie 2009 de stabilire a anumitor norme de aplicare a Regulamentului (CE) nr. 479/2008 al Consiliului în privința categoriilor de produse vitivinicole, a practicilor oenologice și a restricțiilor care se aplică acestora, publicat în jurnalul Oficial al Uniunii Europene (JO) L 193 din 24 iulie 2009.

1. Reglementarea tehnică “Metode de analiză în domeniul fabricării vinurilor” stabilește metodele de analiză pentru determinarea compoziției fizico-chimice a vinurilor, specificate în Reglementarea tehnică “Sistemul de organizare a pieței vitivinicole și trasabilitatea produselor”, aprobată prin Hotărîrea Guvernului nr. 356 din 11 mai 2009 (Monitorul Oficial al Republicii Moldova, 2009, nr.92-93, art.408).

2. În sensul prezentei Reglementări tehnice, noțiunile și termenii utilizați se definesc după cum urmează:

1) *repetabilitatea* – valoarea sub care se situează cu o probabilitate specificată, diferența absolută dintre rezultatele a două teste unice obținute pe material identic de testare și în condiții identice - același operator, aceeași aparatură, același laborator și un interval scurt de timp;

2) *reproductibilitatea* – valoarea sub care se situează, cu o probabilitate specificată, diferența absolută dintre rezultatele a două teste unice obținute pe material identic dar în condiții diferite – operatori diferiți, aparate diferite și/sau laboratoare diferite și/sau momente diferite;

3) *rezultatul unui test unic* – valoarea obținută atunci cînd se aplică integral și o singură dată metoda standardizată, pe o singură probă;

4) *metode de referință criter* – metode, care asigură o repetabilitate înaltă și sînt recunoscute ca cele mai exacte; se utilizează la stabilirea valorilor acceptabile pentru principalii parametri de compoziție a vinului – titrul volumului alcoolmetric, aciditatea titrabilă, aciditatea

volatilă, extractul total și sec, zaharurile reducătoare. Se utilizează, în caz de litigiu, la efectuarea cercetărilor științifice de talie internațională, pentru analiza mostrelor de referință pentru metodele uzuale sau la etalonarea metodelor automate;

5) *metode uzuale* – metode, destinate pentru efectuarea analizelor uzuale la întreprinderile vinicole;

6) *metode analitice automatizate* – metode relative, care sînt admise pentru utilizare în cazul în care exactitatea, repetabilitatea și reproductibilitatea rezultatelor acestor metode sînt echivalente cu rezultatele obținute prin metodele de referință.

3. În sensul prezentei Reglementări tehnice abrevierile utilizate se definesc după cum urmează:

- 1) MA-MD-AS
 - (MA) – Metoda de analiză;
 - (MD) – Moldova; (AS) – distinc-
 - tivele capitolului și subcapitolului
 - dun „Culegerea de metode inter-
 - naționale de analiză a vinurilor
 - și musturilor” a OIV (Organizația
 - Internațională a Viei și Vinului)
 - masa volumică
 - titrul alcoolmetric volumic
 - extract total și sec nereducător
 - zaharuri reducătoare
 - zaharuri, metoda refractome-
 - trică
 - aciditatea totală
 - aciditatea volatilă
 - dioxidul de sulf
 - zaharurile reducătoare, metoda
 - HPLC (cromatografia lichidă de
 - înaltă performanță)
 - glucoza și fructoza
 - acizi organici
 - acidul citric, metoda enzimatică
- 2) MAS VOL
- 3) TAL VOL
- 4) EXTSEC
- 5) SUCRED
- 6) SUCREF
- 7) ACITOT
- 8) ACIVOL
- 9) DIOSU
- 10) SUCRES
- 11) GLUFRU
- 12) ACIORG
- 13) ACIENZ

14) ACITAR	- acidul tartric
15) ALACHI	- acidul lactic, metoda chimică
16) AMALTO	- acidul malic total
17) ALMENZ	- acidul L-malic, metoda enzimatică
18) ADMENZ	- acidul D-malic, metoda enzimatică
19) ACISOR	- acidul sorbic
20) ALASCO	- acidul L-ascorbic
21) DIOCAR	- dioxidul de carbon
22) METHAN	- metanolul
23) GLYBUT	- glicerolul, butan-2,3-diol
24) GLYENZ	- glicerolul, metoda enzimatică
25) FER	- fierul
26) CUIVRE	- cuprul
27) ZINCUL	- zincul
28) CADMIU	- cadmiul
29) PLOMB	- plumbul
30) ASSAA	- arseniul
31) MERCUR	- mercurul
32) SODIUM	- sodiul
33) POTASS	- potasiul
34) CALCIUL	- calciul
35) MAGNES	- magneziul
36) ETHANA	- ațetaldehid
37) ANCYAN	- antociani
38) HYDMFF	- hidroximetilfurfuralul
39) DERCYA	- derivații cianici
40) DIGMAL	- malvidol-3.5-diglucosid
41) DIEGLY	- dietilenglicolul

42) INDVOL	- indicele Folin-Ciocalteu
43) OCHRAT	- ocratoxina-A
44) COLSYN	- coloranți sintetici
45) EDUSYN	- edulcoranți sintetici
46) ANMICR	- analiza microbiologică.

4. Metodele de analiză în domeniul fabricării vinurilor cuprinse în anexa la prezenta Reglementare tehnică se aplică de laboratoarele acreditate din ramura vitivinicolă la eliberarea certificatelor VI-1.

5. Metodele de analiză în domeniul fabricării vinurilor fac posibilă:

1) determinarea compoziției producției vitivinicole, prevăzute în Legea viei și vinului nr. 57-XVI din 10 martie 2006;

2) verificarea produselor pentru constatarea utilizării practicilor oenologice neautorizate.

6. La determinarea substanțelor, pentru care sînt prevăzute atît metode de referință cît și metode uzuale, prioritate au rezultatele obținute prin metodele de referință.

7. În cazuri de litigiu metodele prevăzute în anexă nu pot fi înlocuite cu metode automatizate.

8. În cazul în care nu se stabilește altfel, eroarea de măsurare a valorii parametrului se determină cu intervalul de încredere de 95 %.

9. Ori de cîte ori se face referire la apă, utilizată pentru prepararea soluțiilor, diluări sau spălare, aceasta înseamnă apă distilată sau apă demineralizată cu o puritate echivalentă. Toate substanțele chimice trebuie să fie de calitate unui reactiv analitic.

Anexă
la Reglementarea tehnică
„Metode de analiză în domeniul
fabricării vinurilor”

1. Densitatea la 20 °C și densitatea relativă 20 °C/20 °C

1.1 MA-MD-AS 2-01-MASVOL

1. Definiții

Densitatea reprezintă masa pe unitate de volum de vin sau must la 20 °C. Se exprimă în grame pe mililitru și este reprezentată prin simbolul $\rho_{20^\circ\text{C}}$.

Densitatea relativă 20 °C/20 °C reprezintă raportul exprimat în număr zecimal dintre densitatea unui anumit volum de vin sau must la 20 °C și densitatea aceluiași volum de apă la aceeași temperatură. Se exprimă prin simbolul $d_{20^\circ\text{C}}^{20^\circ\text{C}}$.

2. Principiul metodelor

Densitatea și densitatea relativă se determină pe o probă de testare:

- prin picnometrie : metoda de referință;
- prin areometrie sau densimetrie cu balanță hidrostatică: metodele uzuale.

Pentru determinări foarte precise, densitatea trebuie corectată pentru efectul bioxidului de sulf:

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

unde,

- $\rho_{20^\circ\text{C}}$ - densitatea corectată
- $\rho'_{20^\circ\text{C}}$ - densitatea observată
- S - cantitatea totală de bioxid de sulf, în grame pe litru, g/l.

3. Tratarea preliminară a probei

Dacă vinul sau mustul conțin cantități apreciabile de bioxid de carbon, acesta se elimină în cea mai mare parte prin agitarea a 250 ml de vin într-un balon de 1000 ml sau prin filtrarea la presiune redusă prin 2 g de vată plasată într-un tub prelungitor.

4. Metoda de referință

4.1. Aparatura

Echipament de laborator normal, în special:

4.1.1. Un picnometru Pyrex (sau orice picnometru cu caracteristici echivalente) cu o capacitate de aproximativ 100 ml, cu un termometru detașabil cu îmbinare din sticlă șlefuită, calibrat cu mărimea diviziunii 0,1°C°, de la 10 la 30 °C (figura 1). Termometrul trebuie să fie etalonat.

4.1.2. O balanță cu două talere cu o plată de cel puțin 300 g, cu o sensibilitate de 0,1 mg sau o balanță cu un taler cu o plată de cel puțin 200 g și cu o sensibilitate de 0,1 mg.

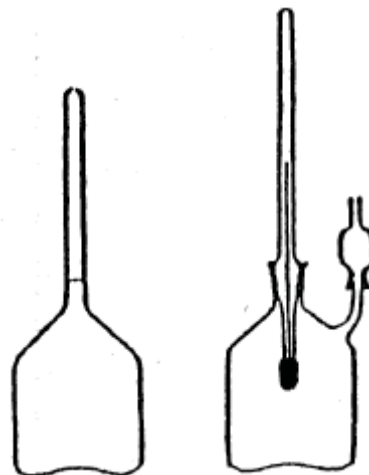


Fig. 1.

Picnometru și tară

Picnometru are un tub lateral de 25 mm lungime și un diametru interior cel puțin de 1 mm, care se termină printr-o îmbinare conică șlefuită. Pe tubul lateral poate fi etanșat un „dop rezervor” format dintr-un tub conic din sticlă șlefuită și terminat cu o secțiune ascuțită. Dopul se folosește drept cameră de expansiune. Ambele capete ale aparatului trebuie să fie șlefuite minuțios.

Recipientul tară cu același volum ca și picnometru (devierea sub 1 ml, cu aproximație) și cu masa egală cu a picnometrului umplut cu un lichid cu densitatea de 1,01 (soluție de clorură de sodiu 2,0 % (m/v). Un recipient izolat termic, bine ajustat pe corpul picnometrului.

4.2. Etalonarea picnometrului

Etalonarea picnometrului implică determinarea următoarelor caracteristici:

- masa picnometrului vid;
- volumul picnometrului la 20 °C;
- masa picnometrului, umplut cu apă la 20 °C.

4.2.1. Metoda utilizării balanței cu două talere

Recipientul tară, fiind așezat pe talerul stâng al balanței, iar picnometru curat, uscat și prevăzut cu „dopul rezervor” pe talerul drept, se realizează echilibrarea prin adăugarea de greutate, p grame, pe talerul pe care se află picnometru.

Se umple picnometru cu apă distilată la temperatura ambiantă și se fixează termometru; se șterge minuțios picnometru și se așază în recipientul izolat termic; se amestecă prin rotirea recipientului, până când temperatura arătată de termometru este constantă.

Se reglează cu precizie nivelul, până la nivelul superior al tubului lateral. Se usucă tubul lateral, se așază „dopul rezervor”, se citește temperatura t °C, corectând-o, când e cazul, în funcție de imprecizia scalei termometrului. Se cîntărește picnometru, umplut cu apă, notînd greutatea p' , în grame, necesară stabilirii echilibrului.

Calculare:

Tararea picnometrului vid:

Masa picnometrului vid - $p + m$, unde

m - masa aerului conținut în picnometru, $m=0,0012(p-p')$

Volumul la 20 °C:

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

unde, F_t - un factor luat din tabelul I pentru temperatura t °C.

$V_{20^{\circ}\text{C}}$ se determină cu precizia $\pm 0,001$ ml.

Masa apei la 20 °C:

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

unde, 0,998203 - densitatea apei la 20 °C.

4.2.2. Metoda utilizării balanței cu un taler

Se determină:

- masa picnometrului curat și uscat, P ;
- masa picnometrului umplut cu apă la t °C, P_t , urmînd metoda descrisă la punctul 4.2.1;
- masa balonului tară, T_0 .

Calculare (Exemplu de calculare în punctul 5 al prezentei capitole):

Tararea picnometrului vid:

Masa picnometrului vid - $P - m$, unde,

m - masa aerului din picnometru, $m=0,0012(P_1 - P)$

Volumul la 20 °C:

$$V_{20^{\circ}\text{C}} = [P_t - (P - m)] \times F_{t'}, \text{ unde,}$$

$F_{t'}$ = un factor luat din tabelul I pentru temperatura t °C.

$V_{20^{\circ}\text{C}}$ se determină cu precizia de $\pm 0,001$ ml.

Masa apei la 20 °C:

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

unde, 0,998203 - densitatea apei la 20 °C.

4.3. Metoda de determinare

4.3.1. Metoda utilizării balanței cu două talere

Picnometru, umplut cu proba de testare, se cîntărește conform procedurii de la punctul 4.2.1.

p'' - greutatea în grame necesară stabilirii echilibrului la t °C.

Masa lichidului, conținut în picnometru - $p + m - p''$

Densitatea aparentă la t °C:

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

Densitatea la 20 °C se calculează, utilizînd unul din tabelele de corecție prezentate mai jos, în funcție de natura lichidului măsurat: vin sec (tabelul II), must natural sau concentrat (tabelul III), vin dulce (tabelul IV).

Densitatea relativă a vinului 20 °C/20 °C se calculează prin împărțirea la 0,998203 a densității lui la 20 °C.

4.3.2. Metoda utilizării balanței cu un taler.

Se cîntărește recipientul tară și se notează masa cu T_t .

Se calculează $dT = T_t - T_0$.

Masa picnometrului vid în momentul măsurării = $P - m + dT$.

Se cîntărește picnometru umplut cu proba de testare, urmîndu-se procedura descrisă la punctul 4.2.1. Se notează masa la t °C cu P_2 .

Masa lichidului din picnometru la

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

Densitatea aparentă la t °C:

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

Se calculează densitatea la 20 °C a lichidului testat - vin sec, must natural sau concentrat sau vin dulce, în conformitate cu punctul 4.3.1.

Densitatea relativă 20 °C/20 °C se calculează prin împărțirea densității la temperatura de 20 °C la 0,998203.

4.3.3. Repetabilitatea determinărilor de densitate:

pentru vinuri seci, demiseci și demidulci $r = 0,00010$
 pentru vinuri dulci $r = 0,00018$

4.3.4. Reproducibilitatea determinărilor de densitate:

pentru vinuri seci, demiseci și demidulci $R = 0,00037$
 pentru vinuri dulci $R = 0,00045$

5. Exemplu de calculare a densității la 20 °C și densității relative 20 °C/20 °C (metoda de referință)

5.1. Picnometria prin utilizarea balanței cu două talere

5.1.1. Stabilirea constantelor picnometrului.

Cîntărirea picnometrului curat și uscat:

masa = picnometru + p

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

Cîntărirea picnometrului umplut cu apă la t °C:

masa = picnometru + apă + p'

$$p' = 1,2396 \text{ g la } t = 20,5^{\circ}\text{C}$$

Calcularea masei aerului din picnometru:

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

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

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

Valori caracteristice necesare:

Masa picnometrului vid, $p + m$:

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

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

Volumul la 20 °C = $(p + m - p') F_{t^{\circ}\text{C}}$, unde

Tabelul III

Corecția c de temperatură a densității musturilor naturale și concentrate măsurate cu un picnometru
 Pvrex la t °C pentru exprimarea rezultatului la 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000}, \text{ unde } "-" \text{ dacă } t^{\circ}\text{C} \text{ este sub } 20^{\circ}\text{C}, \text{ "+" dacă } t^{\circ}\text{C} \text{ este peste } 20^{\circ}\text{C}$$

		Densitatea																							
		1.05	1.06	1.07	1.08	1.09	1.10	1.11	1.12	1.13	1.14	1.15	1.16	1.18	1.20	1.22	1.24	1.26	1.28	1.30	1.32	1.34	1.36		
Temperatura (°C)	10°	2.31	2.48	2.66	2.82	2.99	3.13	3.30	3.44	3.59	3.73	3.88	4.01	4.28	4.52	4.76	4.98	5.18	5.42	5.56	5.73	5.90	6.05		
	11°	2.12	2.28	2.42	2.57	2.72	2.88	2.99	3.12	3.25	3.37	3.50	3.62	3.85	4.08	4.28	4.48	4.67	4.84	5.00	5.16	5.31	5.47		
	12°	1.92	2.06	2.19	2.32	2.45	2.56	2.70	2.82	2.94	3.04	3.15	3.26	3.47	3.67	3.85	4.03	4.20	4.36	4.51	4.65	4.78	4.91		
	13°	1.72	1.84	1.95	2.06	2.17	2.27	2.38	2.48	2.58	2.69	2.78	2.88	3.05	3.22	3.39	3.55	3.68	3.84	3.98	4.11	4.24	4.36		
	14°	1.52	1.62	1.72	1.81	1.90	2.00	2.09	2.17	2.26	2.34	2.43	2.51	2.66	2.82	2.96	3.09	3.22	3.34	3.45	3.56	3.67	3.76		
	15°	1.28	1.36	1.44	1.52	1.60	1.67	1.75	1.82	1.89	1.96	2.04	2.11	2.24	2.36	2.48	2.59	2.69	2.79	2.88	2.97	3.03	3.10		
	16°	1.05	1.12	1.18	1.25	1.31	1.37	1.43	1.49	1.55	1.60	1.66	1.71	1.81	1.90	2.00	2.08	2.16	2.24	2.30	2.37	2.43	2.49		
	17°	0.80	0.86	0.90	0.95	1.00	1.04	1.09	1.13	1.18	1.22	1.26	1.30	1.37	1.44	1.51	1.57	1.62	1.68	1.72	1.76	1.80	1.84		
	18°	0.56	0.59	0.62	0.66	0.68	0.72	0.75	0.77	0.80	0.83	0.85	0.88	0.93	0.98	1.02	1.05	1.09	1.12	1.16	1.19	1.21	1.24		
	19°	0.29	0.31	0.32	0.34	0.36	0.37	0.39	0.40	0.42	0.43	0.44	0.45	0.48	0.50	0.52	0.54	0.56	0.57	0.59	0.60	0.61	0.62		
	20°																								
	21°	0.29	0.30	0.32	0.34	0.35	0.37	0.38	0.40	0.41	0.42	0.44	0.46	0.48	0.50	0.53	0.56	0.58	0.59	0.60	0.61	0.62	0.63		
	22°	0.58	0.61	0.64	0.67	0.70	0.73	0.76	0.79	0.81	0.84	0.87	0.90	0.96	1.00	1.05	1.09	1.12	1.15	1.18	1.20	1.22	1.23		
	23°	0.89	0.94	0.99	1.03	1.08	1.12	1.16	1.20	1.25	1.29	1.33	1.37	1.44	1.51	1.57	1.63	1.67	1.73	1.77	1.80	1.82	1.84		
	24°	1.20	1.25	1.31	1.37	1.43	1.49	1.54	1.60	1.66	1.71	1.77	1.82	1.92	2.01	2.10	2.17	2.24	2.30	2.36	2.40	2.42	2.44		
	25°	1.51	1.59	1.66	1.74	1.81	1.88	1.95	2.02	2.09	2.16	2.23	2.30	2.42	2.53	2.63	2.72	2.82	2.89	2.95	2.99	3.01	3.05		
26°	1.84	1.92	2.01	2.10	2.18	2.26	2.34	2.42	2.50	2.58	2.65	2.73	2.87	3.00	3.13	3.25	3.36	3.47	3.57	3.65	3.72	3.79			
27°	2.17	2.26	2.36	2.46	2.56	2.66	2.75	2.84	2.93	3.01	3.10	3.18	3.35	3.50	3.66	3.80	3.93	4.06	4.16	4.26	4.35	4.42			
28°	2.50	2.62	2.74	2.85	2.96	3.07	3.18	3.28	3.40	3.50	3.60	3.69	3.87	4.04	4.21	4.36	4.50	4.64	4.75	4.86	4.94	5.00			
29°	2.86	2.98	3.10	3.22	3.32	3.43	3.57	3.69	3.82	3.93	4.03	4.14	4.34	4.53	4.72	4.89	5.05	5.20	5.34	5.46	5.56	5.64			
30°	3.20	3.35	3.49	3.64	3.77	3.91	4.05	4.17	4.30	4.43	4.55	4.67	4.90	5.12	5.39	5.51	5.68	5.84	5.96	6.08	6.16	6.22			

Tabelul poate fi utilizat pentru transformarea densității d'_{20} în densitate d_{20}^{20} .

Tabelul IV

Corecția c de temperatură a densității vinurilor cu tăria 13 % vol. și mai mult, cu conținut de zahăr rezidual, măsurată cu un picnometru Pyrex la t °C pentru exprimarea rezultatului la 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000}, \text{ unde } \text{ " - " } \text{ dac\u0103 } t^{\circ}\text{C este sub } 20^{\circ}\text{C}, \text{ " + " } \text{ dac\u0103 } t^{\circ}\text{C este peste}$$

20 °C

Temperature (°C)	Vin_cu 15 %												Vin_cu 15 %												Vin_cu 15 %											
	Denatantes												Denatantes												Denatantes											
	Vin_cu 15 %												Vin_cu 15 %												Vin_cu 15 %											
	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															
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	3.29	3.39	3.65	4.30	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	2.47	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	2.35	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	2.16	2.35	2.53	2.70	2.74	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°	3.48	3.80	4.08	4.38	4.68	4.90	5.10	3.70	4.00	4.29	4.58	4.87	5.16	5.45	4.00	4.30	4.59	4.88	5.17	5.46	5.75															

		Vin cu 19 % vol.							Vin cu 21 % vol.						
		Densitatea							Densitatea						
		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	

Tabelul VII

Corecții c de temperatură a densității vinurilor licoroase, măsurate
 cu un picnometru sau areometru din sticlă obișnuită la t °C pentru exprimarea rezultatului la 20 °C

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000}, \text{ unde „-“ dacă } t \text{ °C este sub } 20 \text{ °C, „+” dacă } t \text{ °C este peste } 20 \text{ °C}$$

		Vin cu 13 % vol.							Vin cu 15 % vol.							Vin cu 17 % vol.						
		Densitatea							Densitatea							Densitatea						
		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

		Vin cu 19 % vol.							Vin cu 21 % vol.						
		Densitatea							Densitatea						
		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	2,96	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. Concentrația alcoolică la 20 °C
2.1 MA-MD-AS 312-01-TALVOL**1. Definiție**

Concentrația alcoolică este numărul de litri de etanol din 100 litri de vin, ambele volume fiind măsurate la o temperatură de 20 °C. Se exprimă prin simbolul „% vol.”.

Omologii etanolului, precum și etanolul și omologii acestuia legați în esteri etilici, sint incluși în tăria alcoolică, întrucât se regăsesc în distilat.

2. Principiul metodelor

2.1. Distilarea vinului alcalinizat cu o suspensie de hidroxid de calciu. Se determină concentrația alcoolică a distilatului.

2.2. Metode de referință

2.2.1. *Determinarea densității distilatului prin picnometrie.*

2.3. Metodă uzuală.

2.3.1. *Determinarea concentrației alcoolice a distilatului cu areometrul.*

Pentru obținerea concentrației alcoolice din densitatea distilatului se utilizează tabelele I, II și III din prezentul capitol.

Acestea au fost întocmite în baza “*Tabelelor Internaționale ale Tăriei Alcoolice*” publicate în 1972 de Organizația Internațională de Metrologie Legală în Recomandarea nr. 22 și adoptate de OIV (Adunarea generală din 1974).

Tabelul I prezintă ecuația generală dintre concentrația alcoolică și densitatea amestecurilor hidroalcoolice, în funcție de temperatură.

3. Obținerea distilatului**3.1. Aparat****3.1.1. Aparat de distilare alcătuit din:**

- balon cu fund rotund de 1 litru, cu gît din sticlă slefuit;

- coloană de rectificare cu o înălțime de aproximativ 20 cm sau orice aparat, care evită pierderile;

- sursă de căldură, la utilizarea căreia nu se produce arderea vinului;

- condensator terminat cu un tub subțire, care ajunge aproape de baza balonului receptor, în care se află cîtiva mililitri de apă.

3.1.2. *Aparat de distilare prin antrenare cu vapori de apă alcătuit din:*

- generator de aburi;

- barbotor;

- coloană de rectificare;

- agent de refrigerare.

Se poate utiliza orice tip de aparat de distilare sau de distilare prin antrenare cu vapori de apă, dacă trece următorul test: se distilează de cinci ori consecutiv un amestec de etanol și apă cu o tărie alcoolică de 10 % vol. Distilatul trebuie să aibă o tărie alcoolică de cel puțin 9,9 % vol., după a cincea distilare, adică pierderea de alcool în timpul fiecărei distilări să nu fie mai mare de 0,02 % vol.

3.2. Reactivi

3.2.1. O suspensie de hidroxid de calciu 2 M, obținută prin adăugarea cu grijă a 1 l de apă la (60-70) °C pe 120 g de var nestins (CaO).

3.3. Prepararea probei

Se îndalătură majoritatea bioxidului de carbon din vinul tînăr și vinul spumant prin agitarea a 250-300 ml de vin într-un balon de 500 ml.

3.4. Metodă de lucru

Se măsoară 200 ml de vin, utilizînd un balon cotate. Se înregistrează temperatura vinului.

Se transferă vinul în balonul aparatului de distilare sau în barbotorul de antrenare cu vapori de apă. Se clătește balonul cotate de patru ori succesiv cu cîte 5 ml de apă

adăugată balonului de distilare sau conductei de abur. Se adaugă 10 ml de hidroxid de calciu 2M (punctul 3.2.1.) și cîteva bucăți de material poros inert (piatră ponce etc.).

Se colectează distilatul în balonul cotate de 200 ml utilizat pentru măsurarea vinului. Se colectează un volum de trei părți din volumul inițial dacă este utilizată distilarea și un volum de 198-199 ml de distilat, dacă este utilizată distilarea cu abur. Se completează la 200 ml prin adăugarea de apă distilată, păstrînd distilatul la o temperatură în intervalul ± 2 °C față de temperatura inițială. Se amestecă cu mare grijă, cu mișcări circulare.

În cazul vinurilor, care conțin concentrații deosebit de mari de ioni amoniu, distilatul se redistilează corespunzător condițiilor de mai sus, înlocuind suspensia de hidroxid de calciu cu 1 ml acid sulfuric diluat 10:100 (vol./vol.).

4. Metoda de referință. Determinarea concentrației alcoolice a distilatului prin picnometrie**4.1. Aparatura**

Se utilizează picnometru standard descris în metoda

1.1. MA-MD-AS 2-01-MASVOL.**4.2. Metoda de lucru**

Se determină densitatea aparentă a distilatului (punctul 3.4) la t °C conform descrierii din metoda **1.1. MA-MD-AS 2-01-MASVOL**, punctele 4.3.1. și 4.3.2. Se notează densitatea cu ρ_t .

4.3. Explicarea rezultatelor**4.3.1. Metoda de calcul**

Se calculează concentrația alcoolică la 20°C, utilizînd tabelul 1. Pe linia orizontală a acestui tabel corespunzătoare temperaturii T (exprimată ca număr întreg), imediat sub t °C, se caută cea mai mică densitate, superioară ρ_t . Densitatea ρ la această temperatură T se calculează utilizînd diferența tabelară imediat de sub această densitate.

Pe linia temperaturii T se caută densitatea ρ' imediat superioară ρ și se calculează diferența dintre aceste două densități ρ și ρ' . Această densitate se împarte cu densitatea tabelară din dreapta densității ρ' . Partea de după virgulă dă zecimalele concentrației alcoolice, în timp ce partea întreagă a concentrației este situată la începutul coloanei în care este situată densitatea ρ' .

Un exemplu de calculare a concentrației alcoolice este prezentat mai jos.

Corecția de temperatură poate fi introdusă într-un program de calculator și în așa caz există posibilitatea efectuării automate a acesteia.

4.3.2. *Repetabilitatea (r):* $r = 0,10$ % vol.

4.3.3. *Reproductibilitatea (R):* $R = 0,19$ % vol.

5. Metodă uzuală. Determinarea concentrației alcoolice a distilatului cu areometrul**5.1. Aparat**

Alcoolmetrul

Alcoolmetrul trebuie să corespundă cerințelor față de aparatele de clasa I sau II definite în Recomandările Internaționale nr. 44 ale O.I.M.L. (Organizația Internațională de Metrologie Legală) «*Alcoolmetre și aerometre pentru alcool*».

Termometrul cu scara $1/10$ °C, de la 0 pînă la 40 °C, verificat cu precizia de $1/20$ grade.

Cilindrul cu diametrul de 36 mm și înălțimea de 320 mm, fixat vertical cu ajutorul unui suport reglat cu șuruburi speciale.

5.2. Modul de lucru

Se toarnă distilatul (punctul 3.4.) în cilindru. Se fixează strict în poziție verticală. Se introduce termometrul și alcoolmetrul. Se citesc indicațiile de pe termometru după 1 minut după amestecarea lichidului, pentru a se realiza egalitatea temperaturii termometrului, alcoolmetrului și distilatului. Se scoate termometrul și după 1 minut se

citesc indicațiile de pe alcoolmetru. Indicațiile se citesc cel puțin de 3 ori, utilizând lupa. La indicațiile alcoolmetrului la temperatura reală t °C se face corecție la temperatură, folosind tabelul II.

Temperatura lichidului nu trebuie să difere mult de temperatura ambiantă (cel mult cu 5 °C).

6. Exemplu de calculare a concentrației alcoolice a unui vin

6.1. Măsurarea cu un picnometru pe o balanță cu două talere

6.1.1. Constantele picnometrului au fost determinate și calculate conform descrierii din metoda **1.1. MA-MD-AS2-01-MASVOL** (punctul 6.1.1.).

Calculul	Exemplu numeric
1. Masa picnometrului umplut cu distilat	
Tara = picnometru + distilat la t °C + p''	$\left\{ \begin{array}{l} t \text{ °C} = 18,90 \text{ °C} \\ t \text{ °C corectat} = 18,70 \text{ °C} \\ p'' = 2,8074 \text{ g} \end{array} \right.$
$p + m - p''$ = masa distilatului la t °C	$105,0698 - 2,8074 = 102,2624 \text{ g}$

Densitatea aparentă la t °C

$$\rho_t = \frac{p + m - p''}{V_{\text{picn}}} \text{ la } 20^\circ \text{C} \quad \left\{ \rho_{18,70^\circ \text{C}} = \frac{102,2624}{104,0229} = 0,983076 \right.$$

2. Calcularea tăriei alcoolice

Se face referire la tabelul densităților aparente ale amestecurilor de alcool și apă la temperaturi diferite, conform indicațiilor de mai sus.	Pe linia 18 °C a tabelului densităților aparente, cea mai mică densitate mai mare decât densitatea 0,983076 este 0,98398 în coloana 11 % vol. Densitatea la 18 °C este: $(98307,6 + 0,7 \times 22) \cdot 10^{-5} = 0,98323$ $0,98398 - 0,98323 = 0,00075$ Partea zecimală a % din concentrația alcoolică este $75/114 = 0,65$ Concentrația alcoolică este 11,65 % vol.
--	--

6.2. Măsurarea cu picnometru pe o balanță cu un taler

6.2.1. Constantele picnometrului au fost determinate și calculate conform descrierii din metoda **1.1. MA-MD-AS2-01-MASVOL** (punctul 6.2.1.).

1. Masa picnometrului umplut cu distilat

Masa picnometrului tară în momentul măsurării, în grame: $P_1 = 171,9178$

Masa picnometrului, umplut cu distilat la 20,50 °C, în grame: $P_2 = 167,8438$

Variația în forța de ascensiune a aerului:

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

Masa distilatului la 20,50 °C:

$$L_1 = 167,8438 - (67,6695 + 0,0018) = 100,1725$$

Densitatea aparentă a distilatului:

$$\rho_{20,50^\circ \text{C}} = \frac{100,1725}{100,8794} = 0,983825$$

2. Calcularea tăriei alcoolice

Se face referire la tabelul densităților aparente ale amestecurilor de alcool și apă la temperaturi diferite, conform indicațiilor de mai sus	Pe linia 20 °C a tabelului densităților aparente, cea mai mică densitate mai mare decât 0,983076 este 0,98471 în coloana 10 % vol. Densitatea la 20 °C constituie : $(98382,5 + 0,5 \times 24) \cdot 10^{-5} = 0,983945$ $0,98471 - 0,983945 = 0,000765$ Partea zecimală a % vol. din concentrația alcoolică este $76,5/119 = 0,64$ Concentrația alcoolică este 10,64 % vol.
---	--

Formula de calcul pentru tabelele cu concentrații alcoolice ale amestecurilor de etanol – apă

Densitatea ρ , în kilograme pe metru cub (kg/m^3) ale amestecului de etanol – apă la temperatura t , în grade Celsius, este prezentată în formula de mai jos, ca funcție a:

- tăriei alcoolice în părți de greutate p , exprimată până la sutimi (exemplu: pentru concentrația alcoolică 12 % vol $p = 0,12$);
- temperaturii t , în grade Celsius;
- coeficienții de mai jos.

Formula este valabilă pentru intervalul de temperaturi de la - 20 până la + 40 °C.

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

$$n = 5 \quad m_3 = 9$$

$$m_1 = 11 \quad m_4 = 4$$

$$m_2 = 10 \quad m_5 = 2$$

Coeficienții din formulă

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	$-8,829\,278\,388 \cdot 10^{-6}$	$-9,973\,923\,1 \cdot 10^{-11} \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot ^\circ \text{C}^6)$
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	$-5,411\,227\,621\,436\,812 \cdot 10^{-1}$		

Tabelul I

TĂRIA ALCOOLICĂ INTERNAȚIONALĂ LA 20 °C
 Tabelul densităților aparente ale amestecurilor de etanol și apă – picnometru Pyrex
 Densitatea la t °C corectată pentru forța de ascensiune a aerului

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

Concentrații alcoolice, % vol.																								
t °	10		11		12		13		14		15		16		17		18		19		20		21	
0	986,93	1,00	985,93	0,95	984,98	0,92	984,06	0,88	983,18	0,84	982,34	0,80	981,54	0,78	980,76	0,75	980,01	0,73	979,28	0,72	978,56	0,70	977,86	0,70
1	-0,02		-0,01		0,01		0,01		0,03		0,04		0,07		0,08		0,10		0,12		0,14		0,17	
	986,95	1,01	985,94	0,97	984,97	0,92	984,05	0,90	983,15	0,85	982,30	0,83	981,47	0,79	980,68	0,77	979,91	0,75	979,16	0,74	978,42	0,73	977,69	0,72
2	-0,01		0,00		0,01		0,03		0,04		0,07		0,08		0,10		0,12		0,14		0,16		0,18	
	986,96	1,02	985,94	0,98	984,96	0,94	984,02	0,91	983,11	0,88	982,23	0,84	981,39	0,81	980,58	0,79	979,79	0,77	979,02	0,76	978,26	0,75	977,51	0,74
3	0,01		0,02		0,04		0,05		0,06		0,07		0,09		0,11		0,13		0,15		0,17		0,19	
	986,95	1,03	985,92	1,00	984,92	0,95	983,97	0,92	983,05	0,89	982,16	0,86	981,30	0,83	980,47	0,81	979,66	0,79	978,87	0,78	978,09	0,77	977,32	0,77
4	0,03		0,04		0,06		0,06		0,07		0,09		0,10		0,12		0,14		0,16		0,18		0,20	
	986,92	1,04	985,88	1,00	984,88	0,97	983,91	0,93	982,98	0,91	982,07	0,87	981,20	0,85	980,35	0,83	979,52	0,81	978,71	0,80	977,91	0,79	977,12	0,79
5	0,04		0,05		0,06		0,07		0,09		0,10		0,12		0,14		0,15		0,17		0,19		0,22	
	986,88	1,05	985,83	1,01	984,82	0,98	983,84	0,95	982,89	0,92	981,97	0,89	981,08	0,87	980,21	0,84	979,37	0,83	978,54	0,82	977,72	0,82	976,90	0,80
6	0,05		0,06		0,08		0,09		0,10		0,12		0,13		0,14		0,17		0,19		0,21		0,22	
	986,83	1,06	985,77	1,03	984,74	0,99	983,75	0,96	982,79	0,94	981,85	0,90	980,95	0,88	980,07	0,87	979,20	0,85	978,35	0,84	977,51	0,83	976,68	0,83
7	0,08		0,09		0,10		0,10		0,12		0,13		0,15		0,16		0,18		0,19		0,21		0,23	
	986,75	1,07	985,68	1,03	984,65	1,00	983,65	0,98	982,67	0,95	981,72	0,92	980,80	0,89	979,91	0,89	979,02	0,86	978,16	0,86	977,30	0,85	976,45	0,85
8	0,08		0,09		0,11		0,13		0,13		0,14		0,15		0,18		0,19		0,21		0,23		0,25	
	986,67	1,08	985,59	1,05	984,54	1,02	983,52	0,98	982,54	0,96	981,58	0,93	980,65	0,92	979,73	0,90	978,83	0,88	977,95	0,88	977,07	0,87	976,20	0,87
9	0,10		0,11		0,12		0,12		0,14		0,16		0,18		0,19		0,21		0,22		0,24		0,26	
	986,57	1,09	985,48	1,06	984,42	1,02	983,40	1,00	982,40	0,98	981,42	0,95	980,47	0,93	979,54	0,92	978,62	0,89	977,73	0,90	976,83	0,89	975,94	0,89
10	0,11		0,12		0,14		0,14		0,16		0,17		0,18		0,20		0,20		0,23		0,24		0,26	
	986,46	1,10	985,36	1,06	984,30	1,04	983,26	1,02	982,24	0,99	981,25	0,96	980,29	0,95	979,34	0,92	978,42	0,92	977,50	0,91	976,59	0,91	975,68	0,91
11	0,12		0,13		0,14		0,16		0,16		0,17		0,19		0,20		0,23		0,25		0,27		0,29	
	986,34	1,11	985,23	1,07	984,16	1,06	983,10	1,02	982,08	1,00	981,08	0,98	980,10	0,96	979,14	0,95	978,19	0,94	977,25	0,93	976,32	0,93	975,39	0,92
12	0,13		0,14		0,16		0,16		0,18		0,19		0,21		0,22		0,24		0,25		0,27		0,28	
	986,21	1,12	985,09	1,09	984,00	1,06	982,94	1,04	981,90	1,01	980,89	1,00	979,89	0,97	978,92	0,97	977,95	0,95	977,00	0,95	976,05	0,94	975,11	0,95
13	0,15		0,16		0,16		0,18		0,19		0,20		0,21		0,23		0,24		0,26		0,28		0,30	
	986,06	1,13	984,93	1,09	983,84	1,08	982,76	1,05	981,71	1,02	980,69	1,01	979,68	0,99	978,69	0,98	977,71	0,97	976,74	0,97	975,77	0,96	974,81	0,96
14	0,16		0,16		0,18		0,18		0,20		0,22		0,23		0,24		0,26		0,27		0,28		0,30	
	985,90	1,13	984,77	1,11	983,66	1,08	982,58	1,07	981,51	1,04	980,47	1,02	979,45	1,00	978,45	1,00	977,45	0,98	976,47	0,98	975,49	0,98	974,51	0,98
15	0,17		0,18		0,19		0,20		0,21		0,22		0,24		0,25		0,26		0,28		0,30		0,32	
	985,73	1,14	984,59	1,12	983,47	1,09	982,38	1,08	981,30	1,05	980,25	1,04	979,21	1,01	978,20	1,01	977,19	1,00	976,19	1,00	975,19	1,00	974,19	1,00
16	0,18		0,19		0,20		0,22		0,22		0,24		0,24		0,27		0,28		0,30		0,31		0,32	
	985,55	1,15	984,40	1,13	983,27	1,11	982,16	1,08	981,08	1,07	980,01	1,04	978,97	1,04	977,93	1,02	976,91	1,02	975,89	1,01	974,88	1,01	973,87	1,02
17	0,19		0,20		0,21		0,22		0,23		0,24		0,26		0,27		0,29		0,30		0,32		0,33	
	985,36	1,16	984,20	1,14	983,06	1,12	981,94	1,09	980,85	1,08	979,77	1,06	978,71	1,05	977,66	1,04	976,62	1,03	975,59	1,03	974,56	1,02	973,54	1,04
18	0,21		0,22		0,23		0,23		0,25		0,26		0,27		0,28		0,29		0,31		0,32		0,35	
	985,15	1,17	983,98	1,14	982,84	1,13	981,71	1,11	980,60	1,09	979,51	1,07	978,44	1,06	977,38	1,05	976,33	1,05	975,28	1,04	974,24	1,05	973,19	1,05
19	0,21		0,22		0,24		0,24		0,25		0,26		0,28		0,29		0,31		0,32		0,34		0,35	
	984,94	1,18	983,76	1,16	982,60	1,13	981,47	1,12	980,35	1,10	979,25	1,09	978,16	1,07	977,09	1,07	976,02	1,06	974,96	1,06	973,90	1,06	972,84	1,06
20	0,23		0,24		0,24		0,26		0,27		0,28		0,29		0,30		0,31		0,33		0,34		0,36	
	984,71	1,19	983,52	1,16	982,36	1,15	981,21	1,13	980,08	1,11	978,97	1,10	977,87	1,08	976,79	1,08	975,71	1,08	974,63	1,07	973,56	1,08	972,48	1,08
21	0,24		0,24		0,26		0,26		0,27		0,28		0,29		0,31		0,33		0,34		0,36		0,37	
	984,47	1,19	983,28	1,18	982,10	1,15	980,95	1,14	979,81	1,12	978,69	1,11	977,58	1,10	976,48	1,10	975,38	1,09	974,29	1,09	973,20	1,09	972,11	1,09
22	0,24		0,26		0,28		0,29		0,30		0,31		0,33		0,33		0,35		0,35		0,36		0,37	
	984,23	1,21	983,02	1,18	981,84	1,17	980,67	1,15	979,52	1,13	978,39	1,12	977,27	1,12	976,15	1,10	975,05	1,11	973,94	1,10	972,84	1,10	971,74	1,12
23	0,26		0,26		0,27		0,28		0,29		0,31		0,32		0,33		0,35		0,35		0,37		0,39	
	983,97	1,20	982,77	1,20	981,57	1,18	980,39	1,16	979,23	1,15	978,08	1,13	976,95	1,13	975,82	1,12	974,70	1,11	973,59	1,12	972,47	1,12	971,36	1,12
24	0,27		0,29		0,29		0,30		0,30		0,31		0,33		0,33		0,35		0,37		0,38		0,40	
	983,70	1,22	982,48	1,20	981,28	1,18	980,10	1,17	978,93	1,16	977,77	1,15	976,62	1,13	975,49	1,14	974,35	1,13	973,22	1,13	972,09	1,14	970,95	1,14
25	0,28		0,28		0,29		0,31		0,32		0,33		0,33		0,35		0,36		0,37		0,39		0,40	

r°	Concentrația alcoolică, % vol.																							
	20		21		22		23		24		25		26		27		28		29		30		31	
0	978,56	0,70	977,86	0,70	977,16	0,69	976,47	0,71	975,76	0,71	975,05	0,72	974,33	0,75	973,58	0,77	972,81	0,80	972,01	0,83	971,18	0,87	970,31	0,90
1	0,14		0,17		0,19		0,22		0,24		0,26		0,29		0,31		0,34		0,36		0,39		0,41	
	978,42	0,73	977,69	0,72	976,97	0,72	976,25	0,73	975,52	0,73	974,79	0,75	974,04	0,77	973,27	0,80	972,47	0,82	971,65	0,86	970,79	0,89	969,90	0,92
2	0,16		0,18		0,20		0,23		0,25		0,28		0,30		0,32		0,34		0,37		0,39		0,41	
	978,26	0,75	977,51	0,74	976,77	0,75	976,02	0,75	975,27	0,76	974,51	0,77	973,74	0,79	972,95	0,82	972,13	0,85	971,28	0,88	970,40	0,91	969,49	0,95
3	0,17		0,19		0,22		0,23		0,26		0,28		0,31		0,33		0,36		0,38		0,40		0,42	
	978,09	0,77	977,32	0,77	976,55	0,76	975,79	0,78	975,01	0,78	974,23	0,80	973,43	0,81	972,62	0,85	971,77	0,87	970,90	0,90	970,00	0,93	969,07	0,98
4	0,18		0,20		0,22		0,25		0,27		0,29		0,31		0,34		0,36		0,38		0,40		0,43	
	977,91	0,79	977,12	0,79	976,33	0,79	975,54	0,80	974,94	0,80	973,94	0,82	973,12	0,84	972,28	0,87	971,41	0,89	970,52	0,92	969,60	0,96	968,64	1,00
5	0,19		0,22		0,23		0,26		0,27		0,30		0,33		0,35		0,37		0,39		0,42		0,44	
	977,72	0,82	976,90	0,80	976,10	0,82	975,28	0,81	974,47	0,83	973,64	0,85	972,79	0,86	971,93	0,89	971,04	0,91	970,13	0,95	969,18	0,98	968,20	1,01
6	0,21		0,22		0,25		0,26		0,29		0,31		0,33		0,35		0,37		0,40		0,42		0,44	
	977,51	0,83	976,68	0,83	975,85	0,83	975,02	0,84	974,18	0,85	973,33	0,87	972,46	0,86	971,58	0,91	970,67	0,94	969,73	0,97	968,76	1,00	967,76	1,03
7	0,21		0,23		0,25		0,28		0,30		0,32		0,34		0,36		0,38		0,40		0,42		0,44	
	977,30	0,85	976,45	0,85	975,60	0,86	974,74	0,86	973,88	0,87	973,01	0,89	972,12	0,90	971,22	0,93	970,29	0,96	969,33	0,99	968,34	1,02	967,32	1,06
8	0,23		0,25		0,27		0,28		0,31		0,33		0,35		0,37		0,40		0,42		0,43		0,46	
	977,07	0,87	976,20	0,87	975,33	0,87	974,46	0,89	973,57	0,89	972,68	0,91	971,77	0,92	970,85	0,96	969,89	0,98	968,91	1,00	967,91	1,05	966,86	1,07
9	0,24		0,26		0,28		0,30		0,31		0,34		0,35		0,38		0,39		0,41		0,44		0,46	
	976,83	0,89	975,94	0,89	975,05	0,89	974,16	0,90	973,26	0,92	972,34	0,92	971,42	0,95	970,47	0,97	969,50	1,00	968,50	1,03	967,47	1,07	966,40	1,09
10	0,24		0,26		0,28		0,30		0,33		0,34		0,37		0,39		0,41		0,43		0,45		0,46	
	976,59	0,91	975,68	0,91	974,77	0,91	973,86	0,93	972,93	0,93	972,00	0,95	971,05	0,97	970,08	0,99	969,09	1,02	968,07	1,05	967,02	1,08	965,94	1,12
11	0,27		0,29		0,30		0,33		0,34		0,36		0,38		0,40		0,42		0,44		0,46		0,47	
	976,32	0,93	975,39	0,92	974,47	0,94	973,53	0,94	972,59	0,95	971,64	0,97	970,67	0,99	969,68	1,01	968,67	1,04	967,63	1,07	966,56	1,09	965,47	1,13
12	0,27		0,28		0,31		0,32		0,34		0,36		0,38		0,40		0,42		0,44		0,45		0,48	
	976,05	0,94	975,11	0,95	974,16	0,95	973,21	0,96	972,25	0,97	971,28	0,99	970,29	1,01	969,28	1,03	968,25	1,06	967,19	1,08	966,11	1,12	964,99	1,15
13	0,28		0,30		0,31		0,33		0,35		0,37		0,39		0,41		0,43		0,45		0,47		0,49	
	975,77	0,96	974,81	0,96	973,85	0,97	972,88	0,98	971,90	0,99	970,91	1,01	969,90	1,03	968,87	1,05	967,82	1,08	966,74	1,10	965,64	1,14	964,50	1,17
14	0,28		0,30		0,32		0,34		0,36		0,38		0,40		0,41		0,43		0,45		0,47		0,49	
	975,49	0,98	974,51	0,98	973,53	0,99	972,54	1,00	971,54	1,01	970,53	1,03	969,50	1,04	968,46	1,07	967,39	1,10	966,29	1,12	965,17	1,16	964,01	1,19
15	0,30		0,32		0,34		0,35		0,37		0,39		0,40		0,42		0,44		0,46		0,48		0,49	
	975,19	1,00	974,19	1,00	973,19	1,00	972,19	1,02	971,17	1,03	970,14	1,04	969,10	1,06	968,04	1,09	966,95	1,12	965,83	1,14	964,69	1,17	963,52	1,21
16	0,31		0,32		0,34		0,36		0,37		0,39		0,41		0,43		0,45		0,46		0,48		0,51	
	974,88	1,01	973,87	1,02	972,85	1,02	971,83	1,03	970,80	1,05	969,75	1,06	968,69	1,08	967,61	1,11	966,50	1,13	965,37	1,16	964,21	1,20	963,01	1,22
17	0,32		0,33		0,35		0,37		0,39		0,40		0,42		0,44		0,45		0,48		0,50		0,50	
	974,56	1,02	973,54	1,04	972,50	1,04	971,46	1,05	970,41	1,06	969,35	1,08	968,27	1,10	967,17	1,12	966,05	1,16	964,89	1,18	963,71	1,20	962,51	1,24
18	0,32		0,35		0,36		0,37		0,39		0,41		0,43		0,45		0,47		0,48		0,49		0,52	
	974,24	1,05	973,19	1,05	972,14	1,05	971,09	1,07	970,02	1,08	968,94	1,10	967,84	1,12	966,72	1,14	965,58	1,17	964,41	1,19	963,22	1,23	961,99	1,25
19	0,34		0,35		0,36		0,39		0,40		0,42		0,43		0,45		0,47		0,48		0,50		0,52	
	973,90	1,06	972,84	1,06	971,78	1,08	970,70	1,08	969,62	1,10	968,52	1,11	967,41	1,14	966,27	1,16	965,11	1,18	963,93	1,21	962,72	1,25	961,47	1,27
20	0,34		0,36		0,38		0,39		0,41		0,42		0,44		0,45		0,47		0,49		0,51		0,52	
	973,56	1,08	972,48	1,08	971,40	1,09	970,31	1,10	969,21	1,11	968,10	1,14	966,96	1,15	965,81	1,17	964,64	1,20	963,44	1,23	962,21	1,26	960,95	1,29
21	0,36		0,37		0,38		0,40		0,42		0,44		0,45		0,46		0,49		0,50		0,52		0,53	
	973,20	1,09	972,11	1,09	971,02	1,11	969,91	1,12	968,79	1,13	967,66	1,15	966,51	1,16	965,35	1,20	964,15	1,21	962,94	1,25	961,69	1,27	960,42	1,31
22	0,36		0,37		0,40		0,41		0,42		0,44		0,45		0,48		0,49		0,51		0,52		0,54	
	972,84	1,10	971,74	1,12	970,62	1,12	969,50	1,13	968,37	1,15	967,22	1,16	966,06	1,19	964,87	1,21	963,66	1,23	962,43	1,26	961,17	1,29	959,88	1,32
23	0,37		0,39		0,40		0,42		0,43		0,45		0,47		0,48		0,49		0,51		0,53		0,55	
	972,47	1,12	971,35	1,13	970,22	1,14	969,08	1,14	967,94	1,17	966,77	1,18	965,59	1,20	964,39	1,22	963,17	1,25	961,92	1,28	960,64	1,31	959,33	1,33
24	0,38		0,40		0,41		0,42		0,44		0,45		0,47		0,49		0,51		0,52		0,54		0,55	
	972,09	1,14	970,95	1,14	969,81	1,15	968,66	1,16	967,50	1,18	966,32	1,20	965,12	1,22	963,90	1,24	962,66	1,26	961,40	1,30	960,10	1,32	958,78	1,35
25	0,39		0,40		0,42		0,43		0,45		0,47		0,48		0,49		0,51		0,53		0,54		0,55	
	971,70	1,15	970,55	1,16	969,39	1,16	968,23	1,18	967,05	1,20	965,85	1,21	964,64	1,23	963,41	1,26	962,15	1,28	960,87	1,31	959,56	1,33	958,23	1,37
26	0,40		0,41		0,42		0,44		0,46		0,47		0,49		0,50		0,51		0,53		0,54		0,57	
	971,30	1,16	970,14	1,17	968,97	1,18	967,79	1,20	966,59	1,21	965,38	1,23	964,15	1,24	962,91	1,27	961,64	1,30	960,34	1,32	959,02	1,36	957,66	1,38
27	0,40		0,42		0,43		0,45		0,46		0,48		0,49		0,51		0,53		0,54		0,56		0,56	
	970,90	1,18	969,72	1,18	968,54	1,20	967,34	1,21	966,13	1,23	964,90	1,24	963,66	1,26	962,40	1,29	961,11	1,31	959,80	1,34	958,46	1,36	957,10	1,40
28	0,41		0,43		0,45		0,46		0,47		0,49		0,50		0,52		0,54		0,56		0,57		0,59	
	970,49	1,20	969,29	1,20	968,09	1,21	966,88	1,22	965,66	1,24	964,42	1,26	963,16	1,28	961,88	1,31	960,57	1,33	959,24	1,35	957,89	1,38	956,51	1,41
29	0,42		0,43		0,45		0,47		0,49		0,50		0,52		0,53		0,55		0,56		0,58		0,58	
	970,07	1,21	968,86	1,22	967,64	1,23	966,41	1,24	965,17	1,25	963,92	1,28	962,64	1,29	961,35	1,31	960,04	1,35	958,69	1,36	957,33	1,40		

Tabelul II

TĂRIA ALCOOLICĂ INTERNAȚIONALĂ LA 20 °C

Tabelul corecțiilor care se aplică tăriei alcoolice aparente pentru corectarea efectului temperaturii

Corecțiile indicate mai jos se adună sau se scad din tăria alcoolică aparentă la t °C (alcoholmetru din sticlă obișnuită)

		Concentrația alcoolică aparentă la t °C																
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Temperatura, °C	0 ⁰	0,76	0,77	0,82	0,87	0,95	1,04	1,16	1,31	1,49	1,70	1,95	2,26	2,62	3,03	3,49	4,02	4,56
	1 ⁰	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	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	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	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	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	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	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	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	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	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	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	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	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	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	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	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	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	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	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	
Temperatura, °C	21 ⁰		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		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		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		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		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		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 ⁰			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 ⁰			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 ⁰			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 ⁰			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 ⁰			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 ⁰			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 ⁰				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 ⁰				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 ⁰				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 ⁰				2,83	2,91	3,00	3,09	3,19	3,29	3,41	3,53	3,65	3,78	3,91	4,05	4,21	4,37
37 ⁰					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 ⁰					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 ⁰					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 ⁰					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	

		Concentrația alcoolică aparentă la t °C																
		14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Temperatura, °C	0 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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
Temperatura, °C	16 ⁰	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	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	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	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	0,41	0,41
	21 ⁰	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	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	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	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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 ⁰	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

Tabelul III

TĂRIA ALCOOLICĂ INTERNAȚIONALĂ LA 20 °C
 Tabelul densităților aparente ale amestecurilor de etanol și apă – aparate din sticlă obișnuită
 Densități la t °C corectate pentru forța de ascensiune a aerului

t°	Concentrația alcoolică, % vol.																							
	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
	-0,06		-0,06		-0,06		-0,06		-0,06		-0,05		-0,05		-0,04		-0,03		-0,02		-0,02		-0,01	
2	999,49	1,52	997,97	1,40	996,52	1,40	995,12	1,35	993,77	1,30	992,47	1,25	991,22	1,21	990,01	1,16	988,85	1,11	987,74	1,06	986,68	1,02	985,66	0,98
	-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
3	-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
	-0,02		-0,02		-0,02		-0,02		-0,02		-0,01		0,00		0,00		0,00		0,01		0,02		0,03	
5	999,59	1,52	998,07	1,46	996,61	1,40	995,21	1,36	993,85	1,31	992,54	1,27	991,27	1,22	990,05	1,17	988,88	1,14	987,74	1,09	986,65	1,05	985,60	1,02
	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
6	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
	0,03		0,03		0,03		0,03		0,04		0,04		0,05		0,05		0,06		0,07		0,07		0,08	
8	999,55	1,52	998,03	1,46	996,57	1,41	995,16	1,37	993,79	1,32	992,47	1,28	991,19	1,23	989,96	1,20	988,76	1,16	987,60	1,11	986,49	1,09	985,40	1,05
	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
9	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
	0,07		0,06		0,06		0,07		0,07		0,07		0,07		0,08		0,09		0,10		0,10		0,11	
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
	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
12	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

№	Concentrația alcoolică, % vol.											
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
14	0,11 999,09 0,12	0,11 997,58 0,12	0,11 996,12 0,12	0,11 994,70 0,12	0,11 993,32 0,12	0,12 991,98 0,12	0,12 990,68 0,13	0,13 989,41 0,13	0,13 988,18 0,14	0,14 986,98 0,14	0,15 985,81 0,15	0,16 984,67 0,16
15	0,13 998,97 0,13	0,13 997,46 0,14	0,13 996,00 0,14	0,13 994,58 0,14	0,14 993,20 0,14	0,14 991,86 0,15	0,14 990,55 0,15	0,15 989,28 0,15	0,15 988,04 0,16	0,17 986,84 0,17	0,17 985,66 0,18	0,18 984,51 0,18
16	0,14 998,84 0,14	0,14 997,33 0,15	0,14 995,87 0,16	0,14 994,45 0,16	0,14 993,06 0,16	0,15 991,72 0,16	0,15 990,41 0,17	0,15 989,13 0,17	0,16 987,89 0,18	0,17 986,67 0,18	0,17 985,49 0,19	0,18 984,33 0,19
17	0,15 998,70 0,15	0,15 997,19 0,16	0,16 995,73 0,16	0,16 994,31 0,16	0,16 992,92 0,16	0,16 991,57 0,17	0,17 990,26 0,17	0,17 988,98 0,18	0,18 987,73 0,18	0,18 986,50 0,19	0,19 985,32 0,20	0,19 984,15 0,20
18	0,17 998,55 0,17	0,16 997,04 0,18	0,16 995,57 0,18	0,16 994,15 0,18	0,16 992,76 0,19	0,16 991,41 0,19	0,17 990,09 0,20	0,18 988,81 0,20	0,18 987,55 0,21	0,19 986,32 0,22	0,20 985,13 0,22	0,20 983,96 0,23
19	0,18 998,38 0,18	0,18 996,88 0,19	0,18 995,41 0,19	0,18 993,99 0,19	0,19 992,60 0,20	0,19 991,25 0,20	0,20 989,92 0,21	0,20 988,63 0,21	0,21 987,37 0,22	0,22 986,13 0,22	0,22 984,93 0,23	0,23 983,75 0,23
20	0,19 998,20 0,20	0,19 996,70 0,20	0,19 995,23 0,20	0,19 993,81 0,20	0,20 992,41 0,21	0,20 991,06 0,21	0,21 989,73 0,22	0,21 988,43 0,22	0,22 987,16 0,23	0,22 985,92 0,24	0,23 984,71 0,24	0,23 983,52 0,24
21	0,20 998,01 0,20	0,20 996,51 0,21	0,20 995,04 0,21	0,20 993,62 0,21	0,21 992,22 0,22	0,21 990,86 0,22	0,22 989,53 0,23	0,22 988,22 0,23	0,23 986,95 0,24	0,23 985,70 0,25	0,24 984,48 0,25	0,24 983,29 0,26
22	0,21 997,81 0,21	0,21 996,31 0,22	0,21 994,85 0,22	0,21 993,42 0,22	0,22 992,02 0,23	0,22 990,66 0,23	0,23 989,32 0,24	0,23 988,01 0,24	0,24 986,73 0,25	0,24 985,48 0,26	0,25 984,25 0,27	0,25 983,05 0,28
23	0,22 997,60 0,22	0,22 996,10 0,23	0,22 994,64 0,23	0,22 993,21 0,24	0,23 991,81 0,24	0,23 990,44 0,25	0,24 989,10 0,26	0,24 987,79 0,27	0,25 986,50 0,28	0,25 985,24 0,29	0,26 984,01 0,30	0,26 982,80 0,31
24	0,23 997,39 0,23	0,23 995,89 0,24	0,23 994,42 0,24	0,24 992,99 0,25	0,24 991,59 0,25	0,25 990,22 0,26	0,25 988,87 0,27	0,26 987,56 0,28	0,26 986,27 0,29	0,27 985,00 0,30	0,27 983,76 0,31	0,28 982,54 0,32
25	0,24 997,16 0,24	0,24 995,66 0,25	0,24 994,19 0,25	0,25 992,76 0,26	0,25 991,35 0,26	0,26 989,98 0,27	0,26 988,63 0,28	0,27 987,31 0,29	0,27 986,02 0,30	0,28 984,75 0,31	0,28 983,50 0,32	0,29 982,27 0,33
26	0,25 996,93 0,25	0,25 995,43 0,26	0,25 993,96 0,26	0,26 992,52 0,27	0,26 991,11 0,27	0,27 989,74 0,28	0,27 988,39 0,29	0,28 987,06 0,30	0,28 985,76 0,31	0,29 984,48 0,32	0,29 983,23 0,33	0,30 981,99 0,34
27	0,26 996,68 0,26	0,26 995,18 0,27	0,26 993,71 0,27	0,27 992,27 0,28	0,27 990,86 0,28	0,28 989,48 0,29	0,28 988,13 0,30	0,29 986,80 0,31	0,29 985,49 0,32	0,30 984,20 0,33	0,30 982,94 0,34	0,31 981,70 0,35
28	0,27 996,43 0,27	0,27 994,93 0,28	0,27 993,45 0,28	0,28 992,01 0,29	0,28 990,60 0,29	0,29 989,22 0,30	0,29 987,86 0,31	0,30 986,52 0,32	0,30 985,21 0,33	0,31 983,92 0,34	0,31 982,65 0,35	0,32 981,40 0,36
29	0,28 996,17 0,28	0,28 994,66 0,29	0,28 993,18 0,29	0,29 991,74 0,30	0,29 990,33 0,31	0,30 988,94 0,32	0,30 987,58 0,33	0,31 986,24 0,34	0,31 984,92 0,35	0,32 983,63 0,36	0,32 982,35 0,37	0,33 981,09 0,38
30	0,29 995,90 0,29	0,29 994,39 0,30	0,29 992,91 0,30	0,30 991,46 0,31	0,30 990,05 0,32	0,31 988,66 0,33	0,31 987,29 0,34	0,32 985,95 0,35	0,32 984,63 0,36	0,33 983,33 0,37	0,33 982,04 0,38	0,34 980,77 0,39
31	0,30 995,61 0,30	0,30 994,10 0,31	0,30 992,62 0,31	0,31 991,17 0,32	0,31 989,75 0,33	0,32 988,36 0,34	0,32 986,99 0,35	0,33 985,64 0,36	0,33 984,31 0,37	0,34 983,01 0,38	0,34 981,72 0,39	0,35 980,45 0,40
32	0,31 995,32 0,31	0,31 993,81 0,32	0,31 992,33 0,32	0,32 990,88 0,33	0,32 989,45 0,34	0,33 988,05 0,35	0,33 986,68 0,36	0,34 985,33 0,37	0,34 984,00 0,38	0,35 982,69 0,39	0,35 981,39 0,40	0,36 980,11 0,41
33	0,32 995,02 0,32	0,32 993,50 0,33	0,32 992,02 0,33	0,33 990,57 0,34	0,33 989,14 0,35	0,34 987,74 0,36	0,34 986,37 0,37	0,35 985,03 0,38	0,35 983,67 0,39	0,36 982,36 0,40	0,36 981,05 0,41	0,37 979,77 0,42
34	0,33 994,72 0,33	0,33 993,19 0,34	0,33 991,71 0,34	0,34 990,26 0,35	0,34 988,83 0,36	0,35 987,42 0,37	0,35 986,04 0,38	0,36 984,68 0,39	0,36 983,34 0,40	0,37 982,02 0,41	0,37 980,71 0,42	0,38 979,42 0,43
35	0,34 994,40 0,34	0,34 992,87 0,35	0,34 991,39 0,35	0,35 989,93 0,36	0,35 988,50 0,37	0,36 987,09 0,38	0,36 985,71 0,39	0,37 984,35 0,40	0,37 983,01 0,41	0,38 981,68 0,42	0,38 980,37 0,43	0,39 979,07 0,44
36	0,35 994,08 0,35	0,35 992,55 0,36	0,35 991,06 0,36	0,36 989,60 0,37	0,36 988,17 0,38	0,37 986,76 0,39	0,37 985,37 0,40	0,38 984,01 0,41	0,38 982,66 0,42	0,39 981,33 0,43	0,39 980,01 0,44	0,40 978,70 0,45
37	0,36 993,75 0,36	0,36 992,21 0,37	0,36 990,72 0,37	0,37 989,26 0,38	0,37 987,82 0,39	0,38 986,41 0,40	0,38 985,02 0,41	0,39 983,65 0,42	0,39 982,30 0,43	0,40 980,97 0,44	0,40 979,65 0,45	0,41 978,33 0,46
38	0,37 993,41 0,37	0,37 991,87 0,38	0,37 990,37 0,38	0,38 988,90 0,39	0,38 987,46 0,40	0,39 986,05 0,41	0,39 984,66 0,42	0,40 983,29 0,43	0,40 981,93 0,44	0,41 980,59 0,45	0,41 979,27 0,46	0,42 977,95 0,47
39	0,38 993,06 0,38	0,38 991,52 0,39	0,38 990,01 0,39	0,39 988,54 0,40	0,39 987,10 0,41	0,40 985,68 0,42	0,40 984,29 0,43	0,41 982,92 0,44	0,41 981,56 0,45	0,42 980,22 0,46	0,42 978,89 0,47	0,43 977,56 0,48
40	0,39 992,71 0,39	0,39 991,16 0,40	0,39 989,65 0,40	0,40 988,17 0,41	0,40 986,72 0,42	0,41 985,30 0,43	0,41 983,91 0,44	0,42 982,54 0,45	0,42 981,18 0,46	0,43 979,83 0,47	0,43 978,50 0,48	0,44 977,17 0,49

ρ^0	Concentrația alcoolică, % vol.																																
	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	976.83	0,68	976.11	0,66	975.39	0,64			
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		0.17		0.19		0.21				
	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	976.68	0,69	975.95	0,67	975.22	0,65			
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		0.19		0.21		0.23				
	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	976.49	0,73	975.74	0,72	975.00	0,70			
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		0.20		0.22		0.24				
	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	976.29	0,75	975.52	0,74	974.75	0,73			
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		0.20		0.22		0.24				
	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	976.08	0,78	975.29	0,77	974.50	0,75			
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		0.22		0.24		0.26				
	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	975.87	0,80	975.06	0,79	974.25	0,77			
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		0.23		0.25		0.27				
	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	975.64	0,82	974.81	0,81	973.98	0,80			
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		0.24		0.26		0.28				
	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	975.40	0,84	974.55	0,83	973.70	0,82			
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		0.25		0.27		0.29				
	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	975.15	0,86	974.28	0,85	973.41	0,84			
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		0.26		0.28		0.30				
	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	974.89	0,88	974.00	0,87	973.11	0,86			
10	0.10		0.11		0.12		0.13		0.14		0.16		0.17		0.19		0.21		0.23		0.25		0.27		0.29		0.31		0.33				
	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	974.62	0,90	973.71	0,89	972.80	0,88			
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		0.29		0.31		0.33				
	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	974.33	0,91	973.40	0,90	972.47	0,89			
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		0.30		0.32		0.34				
	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	974.04	0,93	973.09	0,92	972.14	0,91			
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		0.30		0.32		0.34				
	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	973.74	0,95	972.77	0,94	971.80	0,93			
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		0.31		0.33		0.35				
	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	973.44	0,97	972.46	0,96	971.48	0,95			
15	0.15		0.16		0.17		0.18		0.19		0.20		0.22		0.24		0.26		0.27		0.29		0.31		0.33		0.35		0.37				
	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	973.12	0,99	972.12	0,98	971.12	0,97			
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		0.33		0.35		0.37				
	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	972.80	1,01	971.79	1,00	970.78	0,99			
	0.17		0.18		0.19		0.20		0.21		0.23		0.24		0.25		0.27		0.29		0.30		0.31		0.33		0.35		0.37				

ρ^0	Concentrația alcoolică, % vol.																							
	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21												
17	985,32 0,19	1,17 0,19	984,15 0,19	1,14 0,20	983,01 0,20	1,11 0,22	981,90 0,22	1,09 0,24	980,81 0,25	1,08 0,25	979,73 0,26	1,06 0,26	978,67 0,26	1,05 0,27	977,62 0,27	1,04 0,28	976,58 0,29	1,04 0,29	975,54 0,30	1,02 0,30	974,52 0,31	1,02 0,32	973,50 0,32	1,04 0,34
18	985,13 0,20	1,17 0,21	983,96 0,21	1,15 0,22	982,81 0,22	1,13 0,23	981,68 0,23	1,11 0,24	980,57 0,25	1,09 0,25	979,48 0,26	1,07 0,26	978,41 0,26	1,06 0,27	977,35 0,27	1,05 0,29	976,30 0,29	1,05 0,30	975,25 0,30	1,04 0,31	974,21 0,32	1,04 0,32	973,17 0,32	1,05 0,34
19	984,93 0,22	1,18 0,23	983,75 0,23	1,16 0,24	982,59 0,24	1,14 0,24	981,45 0,24	1,12 0,25	980,33 0,25	1,10 0,26	979,23 0,26	1,08 0,26	978,15 0,28	1,07 0,28	977,08 0,29	1,07 0,29	976,01 0,30	1,06 0,31	974,94 0,31	1,05 0,31	973,89 0,33	1,06 0,33	972,83 0,35	1,06 0,35
20	984,71 0,23	1,19 0,23	983,52 0,23	1,17 0,23	982,35 0,23	1,14 0,25	981,21 0,25	1,13 0,26	980,08 0,26	1,11 0,28	978,97 0,28	1,10 0,29	977,87 0,29	1,08 0,31	976,79 0,31	1,08 0,32	975,71 0,32	1,08 0,33	974,63 0,33	1,07 0,35	973,56 0,35	1,08 0,35	972,48 0,36	1,08 0,36
21	984,48 0,23	1,19 0,24	983,29 0,24	1,17 0,25	982,12 0,25	1,16 0,26	980,96 0,26	1,14 0,27	979,82 0,27	1,13 0,28	978,69 0,28	1,11 0,29	977,58 0,29	1,10 0,31	976,48 0,31	1,09 0,32	975,39 0,32	1,09 0,33	974,30 0,33	1,09 0,35	973,21 0,35	1,09 0,35	972,12 0,36	1,09 0,36
22	984,25 0,24	1,20 0,25	983,05 0,25	1,18 0,26	981,97 0,26	1,17 0,27	980,70 0,27	1,15 0,28	979,55 0,28	1,14 0,29	978,41 0,29	1,12 0,30	977,29 0,30	1,12 0,31	976,17 0,31	1,10 0,33	975,07 0,33	1,10 0,34	973,97 0,34	1,10 0,35	972,86 0,35	1,10 0,35	971,76 0,37	1,11 0,37
23	984,01 0,25	1,21 0,26	982,80 0,26	1,19 0,27	981,61 0,27	1,18 0,28	980,43 0,28	1,16 0,29	979,27 0,29	1,15 0,30	978,12 0,30	1,13 0,31	976,99 0,31	1,13 0,32	975,86 0,32	1,12 0,33	974,74 0,33	1,11 0,35	973,63 0,35	1,12 0,36	972,51 0,36	1,12 0,36	971,39 0,38	1,13 0,38
24	983,76 0,26	1,22 0,27	982,54 0,27	1,20 0,28	981,34 0,28	1,19 0,29	980,15 0,29	1,17 0,30	978,98 0,30	1,16 0,31	977,82 0,31	1,14 0,32	976,68 0,32	1,14 0,33	975,54 0,33	1,13 0,35	974,41 0,35	1,13 0,36	973,28 0,36	1,13 0,38	972,15 0,38	1,14 0,39	971,01 0,39	1,14 0,39
25	983,50 0,27	1,23 0,28	982,27 0,28	1,21 0,29	981,06 0,29	1,20 0,29	979,86 0,30	1,18 0,30	978,68 0,30	1,17 0,31	977,51 0,31	1,16 0,33	976,36 0,33	1,15 0,34	975,21 0,34	1,15 0,35	974,06 0,35	1,14 0,37	972,92 0,37	1,15 0,38	971,77 0,38	1,15 0,39	970,62 0,39	1,15 0,39
26	983,23 0,29	1,24 0,29	981,99 0,29	1,22 0,30	980,77 0,30	1,20 0,31	979,57 0,31	1,19 0,32	978,38 0,32	1,18 0,33	977,20 0,33	1,17 0,34	976,03 0,34	1,16 0,36	974,87 0,36	1,16 0,37	973,71 0,37	1,16 0,38	972,55 0,38	1,16 0,39	971,39 0,39	1,16 0,41	970,23 0,41	1,17 0,41
27	982,94 0,29	1,24 0,30	981,70 0,30	1,23 0,30	980,47 0,30	1,21 0,31	979,26 0,31	1,20 0,32	978,06 0,32	1,19 0,33	976,87 0,33	1,18 0,35	975,69 0,35	1,18 0,36	974,51 0,36	1,17 0,38	973,34 0,38	1,17 0,39	972,17 0,39	1,17 0,40	971,00 0,40	1,18 0,41	969,82 0,41	1,18 0,41
28	982,65 0,30	1,25 0,31	981,40 0,31	1,23 0,32	980,17 0,32	1,22 0,33	978,95 0,33	1,21 0,34	977,74 0,34	1,20 0,35	976,54 0,35	1,20 0,36	975,34 0,36	1,19 0,37	974,15 0,37	1,19 0,38	972,96 0,38	1,18 0,39	971,78 0,39	1,18 0,40	970,60 0,40	1,19 0,42	969,41 0,42	1,20 0,42
29	982,35 0,31	1,26 0,32	981,09 0,32	1,24 0,33	979,85 0,33	1,23 0,34	978,62 0,34	1,22 0,35	977,40 0,35	1,21 0,36	976,19 0,36	1,21 0,37	974,98 0,37	1,20 0,38	973,78 0,38	1,20 0,38	972,58 0,38	1,19 0,40	971,39 0,40	1,19 0,42	970,20 0,42	1,21 0,43	969,99 0,43	1,21 0,43
30	982,04 0,32	1,27 0,32	980,77 0,32	1,25 0,33	979,52 0,33	1,24 0,34	978,28 0,34	1,23 0,35	977,05 0,35	1,22 0,36	975,83 0,36	1,21 0,37	974,62 0,37	1,21 0,38	973,41 0,38	1,21 0,39	972,20 0,39	1,21 0,40	970,99 0,40	1,21 0,42	969,78 0,42	1,22 0,43	968,56 0,43	1,23 0,43
31	981,72 0,33	1,27 0,34	980,45 0,34	1,26 0,35	979,19 0,35	1,25 0,36	977,94 0,36	1,24 0,37	976,70 0,37	1,23 0,38	975,47 0,37	1,22 0,39	974,25 0,38	1,22 0,39	973,03 0,39	1,22 0,40	971,81 0,40	1,22 0,42	970,59 0,42	1,23 0,43	969,36 0,43	1,23 0,45	968,13 0,45	1,24 0,45
32	981,39 0,34	1,28 0,34	980,11 0,35	1,26 0,35	978,85 0,35	1,26 0,36	977,59 0,36	1,25 0,37	976,34 0,37	1,24 0,38	975,10 0,37	1,23 0,39	973,87 0,39	1,23 0,40	972,64 0,40	1,23 0,41	971,41 0,41	1,24 0,42	970,17 0,42	1,24 0,43	968,93 0,43	1,25 0,45	967,68 0,45	1,26 0,45
33	981,05 0,34	1,28 0,35	979,77 0,35	1,27 0,36	978,50 0,36	1,26 0,37	977,24 0,37	1,26 0,38	975,98 0,38	1,25 0,39	974,73 0,39	1,25 0,40	973,48 0,40	1,24 0,41	972,24 0,41	1,24 0,42	971,00 0,42	1,25 0,43	969,75 0,43	1,25 0,45	968,50 0,45	1,27 0,47	967,23 0,47	1,27 0,47
34	980,71 0,34	1,29 0,35	979,42 0,35	1,28 0,36	978,14 0,36	1,27 0,37	976,87 0,37	1,27 0,38	975,60 0,38	1,26 0,39	974,34 0,39	1,26 0,40	973,08 0,40	1,25 0,41	971,83 0,41	1,25 0,43	970,58 0,43	1,26 0,44	969,32 0,44	1,27 0,45	968,05 0,45	1,27 0,47	966,78 0,47	1,29 0,47
35	980,37 0,36	1,30 0,37	979,07 0,37	1,29 0,37	977,78 0,37	1,28 0,38	976,50 0,38	1,28 0,39	975,22 0,39	1,27 0,40	973,95 0,40	1,27 0,41	972,68 0,40	1,26 0,42	971,42 0,42	1,27 0,43	970,15 0,43	1,27 0,44	968,88 0,44	1,28 0,45	967,60 0,45	1,29 0,47	966,31 0,47	1,30 0,47
36	980,01 0,36	1,31 0,37	978,70 0,37	1,29 0,38	977,41 0,38	1,29 0,39	976,12 0,39	1,28 0,40	974,84 0,40	1,28 0,41	973,56 0,41	1,28 0,42	972,28 0,42	1,28 0,43	971,00 0,43	1,28 0,44	969,72 0,44	1,28 0,45	968,44 0,45	1,29 0,46	967,15 0,46	1,31 0,47	965,84 0,47	1,31 0,47
37	979,65 0,38	1,32 0,38	978,33 0,38	1,30 0,39	977,03 0,39	1,30 0,39	975,73 0,39	1,29 0,40	974,44 0,40	1,29 0,41	973,15 0,41	1,29 0,42	971,86 0,42	1,29 0,43	970,57 0,43	1,29 0,44	969,28 0,44	1,29 0,46	967,99 0,46	1,30 0,47	966,69 0,47	1,32 0,48	965,37 0,48	1,32 0,48
38	979,27 0,38	1,32 0,39	977,95 0,39	1,31 0,39	976,64 0,39	1,30 0,40	975,34 0,40	1,30 0,41	974,04 0,41	1,30 0,42	972,74 0,42	1,30 0,43	971,44 0,43	1,30 0,44	970,14 0,44	1,30 0,45	968,84 0,45	1,31 0,46	967,53 0,46	1,31 0,48	966,22 0,48	1,33 0,49	964,89 0,49	1,34 0,49
39	978,89 0,39	1,33 0,39	977,56 0,39	1,31 0,40	976,25 0,40	1,31 0,41	974,94 0,41	1,31 0,42	973,63 0,42	1,31 0,42	972,32 0,42	1,31 0,43	971,01 0,43	1,31 0,45	969,70 0,45	1,31 0,47	968,39 0,47	1,32 0,48	967,07 0,48	1,33 0,49	965,74 0,49	1,34 0,50	964,40 0,50	1,36 0,50
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

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

r°	Concentrația alcoolică, % vol.											
	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
17	974,52	1,02	973,50	1,04	972,46	1,05	971,42	1,08	969,31	1,08	968,23	1,10
18	974,21	1,04	973,17	1,05	972,12	1,06	971,06	1,07	969,99	1,08	968,91	1,10
19	973,89	1,06	972,83	1,06	971,77	1,07	970,70	1,09	969,61	1,10	968,51	1,11
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
21	973,21	1,09	972,12	1,09	971,03	1,11	969,92	1,11	968,81	1,13	967,68	1,15
22	972,86	1,10	971,76	1,11	970,65	1,12	969,53	1,13	968,40	1,15	967,25	1,16
23	972,51	1,12	971,39	1,13	970,26	1,13	969,13	1,15	967,98	1,16	966,82	1,18
24	972,15	1,14	971,01	1,14	969,87	1,15	968,72	1,16	967,56	1,18	966,38	1,20
25	971,77	1,15	970,62	1,15	969,47	1,17	968,30	1,18	967,12	1,19	965,93	1,21
26	971,39	1,16	970,23	1,17	969,06	1,18	967,88	1,20	966,68	1,21	965,47	1,23
27	971,00	1,18	969,82	1,18	968,64	1,20	967,44	1,21	966,23	1,22	965,01	1,25
28	970,60	1,19	969,41	1,20	968,21	1,21	967,00	1,23	965,77	1,24	964,53	1,26
29	970,20	1,21	969,00	1,21	967,78	1,23	966,55	1,24	965,31	1,26	964,05	1,27
30	969,78	1,22	968,56	1,23	967,33	1,24	966,09	1,25	964,84	1,27	963,57	1,29
31	969,36	1,23	968,13	1,24	966,89	1,25	965,64	1,27	964,37	1,29	963,08	1,31
32	968,93	1,25	967,68	1,25	966,43	1,27	965,16	1,28	963,88	1,30	962,58	1,32
33	968,50	1,27	967,23	1,27	965,96	1,28	964,68	1,30	963,38	1,31	962,07	1,33
34	968,05	1,27	966,78	1,29	965,49	1,30	964,19	1,31	962,88	1,32	961,56	1,34
35	967,60	1,29	966,31	1,30	965,01	1,31	963,70	1,32	962,38	1,34	961,04	1,36
36	967,15	1,31	965,84	1,31	964,53	1,32	963,21	1,34	961,87	1,36	960,51	1,37
37	966,69	1,32	965,37	1,32	964,05	1,34	962,71	1,36	961,35	1,37	959,98	1,39
38	966,22	1,33	964,89	1,34	963,55	1,35	962,20	1,37	960,83	1,39	959,44	1,40
39	965,74	1,34	964,40	1,36	963,04	1,36	961,68	1,38	960,30	1,40	958,90	1,42
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
41												
42												
43												
44												
45												
46												
47												
48												
49												
50												
51												
52												
53												
54												
55												
56												
57												
58												
59												
60												
61												
62												
63												
64												
65												
66												
67												
68												
69												
70												
71												
72												
73												
74												
75												
76												
77												
78												
79												
80												
81												
82												
83												
84												
85												
86												
87												
88												
89												
90												
91												
92												
93												
94												
95												
96												
97												
98												
99												
100												

3. Extractul total și sec nereducător

3.1. MA-MD-AS 2-03-EXTSEC

1. Definiție

Extractul total include toată materia nevolatilă în condițiile fizice specificate. Condițiile fizice trebuie să fie de așa natură, încât materia, care formează extractul, să fie alterată cât mai puțin posibil în timpul îndeplinirii testului.

Extractul sec nereducător reprezintă diferența dintre extractul total și totalul zaharurilor.

Extractul sec este diferența între extractul total și totalul zaharurilor care depășesc 1 g/l, sulfatul de potasiu care depășește de 1 g/l, manitolul prezent în orice concentrație și orice alte substanțe chimice care au fost adăugate vinului.

Extractul rezidual este extractul sec nereducător minus aciditatea fixă exprimată ca acid tartric.

Conținutul de extract se exprimă în grame pe litru și trebuie determinat cu o precizie de 0,5 g.

2. Principiul metodei

Metoda de măsurare cu un densimetru.

Extractul total este calculat indirect din densitatea relativă a mustului și pentru vin din densitatea relativă a vinului dezalcoolizat.

Extractul total este exprimat prin cantitatea de zaharoză care, dizolvată în apă pînă la volumul de un litru, oferă o soluție cu aceeași densitate relativă ca și mustul sau vinul dezalcoolizat. Această cantitate este prezentată în tabelul de mai jos.

3. Metoda de calcul

Se determină densitatea relativă d_r 20/20 a mustului sau a vinului. În cazul vinului se calculează d_r , în cazul vinului dezalcoolizat se utilizează formula:

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

unde,

d_v - densitatea relativă a vinului la 20 °C (corectată pentru aciditatea volatilă);

d_a - densitatea relativă la 20 °C a amestecului hidroalcoolic cu aceeași tărie alcoolică ca a vinului;

d_r poate fi calculat, de asemenea, utilizînd densitățile la 20 °C, ρ_v - pentru vin și ρ_a - pentru amestecurile de alcool și apă cu aceeași tărie alcoolică ca a vinului, utilizînd formula:

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

unde, coeficientul 1,0018 aproximează la 1 cînd ρ_v este sub 1,05, care este cazul cel mai frecvent.

Înainte de efectuarea acestui calcul densitatea relativă a vinului, măsurată conform specificației de mai sus, trebuie corectată pentru efectul acidității volatile, utilizînd formula:

$$d_v = d_{20}^{20} - 0,0000086a,$$

$$\text{sau } \rho_v = \rho_{20} - 0,0000086a,$$

unde, a - este aciditatea volatilă exprimată în miliechivalenți pe litru.

4. Exprimarea rezultatelor

Utilizînd densitatea d_{20}^{20} a vinului dezalcoolizat sau a mustului din tabelul de mai jos se determină extractul total în grame pe litru.

Extractul total este exprimat în grame pe litru (g/l), cu o cifră zecimală.

Calcularea conținutului extractului total, g/l

Tabel

Greutatea specifică, cu două zecimale	A treia cifră zecimală a greutății specifice									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Gramme de extract pe litru										
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	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabel de interpolare

A patra cifră zecimală a greutății specifice	Gramme de extract pe litru	A patra cifră zecimală a greutății specifice	Gramme de extract pe litru	A patra cifră zecimală a greutății specifice	Gramme de extract pe litru
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

4. Zaharurile

4.1 MA-MD-AS 311-01- SUCRED

1. Definiție

Zaharuri reduse - toate zaharurile, care conțin funcții aldehidice și cetonice și sînt determinate de acțiunea lor de reducere a soluției alcaline de sulfat de cupru.

2. Principiul metodei

2.1. Limpezirea.

2.1.1. *Metoda de referință:* după neutralizare și înlăturarea alcoolului, vinul este trecut printr-o coloană de schimbare a ionilor în formă de acetat, urmat de limpezirea cu acetat de plumb.

2.1.2. *Metode uzuale:* vinul este tratat cu unul dintre următorii reactivi:

acetat neutru de plumb;
hexacianoferat (II) de zinc.

2.2. Determinarea

2.2.1. *Metoda unică:* vinul sau mustul reacționează cu o cantitate determinată de soluție alcalină de sulfat de cupru și ionii de cupru în exces sînt determinați prin iodometrie.

3. Limpezirea

Conținutul de zahăr al lichidului, în care este determinat, trebuie să fie cuprins între 0,5 și 5,0 g/l.

Vinul sec nu trebuie diluat în timpul limpezirii; în așa fel, ca nivelul zahărului să fie cuprins în limitele precizate în tabelul următor:

Denumirea produsului	Conținutul în zahăruri, g/l	Densitatea	Diluarea necesară, %
Must și mistel	>125	>1,038	1
Vinuri dulci, alcoolizate sau nealcoolizate	25-125	1,005-1,038	4
Vinuri demidulci	5-25	0,997-1,005	20
Vinuri seci	<5	<0,997	fără diluare

3.1. Metoda de referință

3.1.1. Aparat și reactivi

soluție de acid clorhidric 1M, (HCl);
soluție de hidroxid de sodiu 1M, (Na OH);

soluție de acid acetic, 4M (CH₃COOH);
soluție de hidroxid de sodiu 2M, (Na OH);
rășină de schimb anionic (Dowex 3 [20-50 mesh] sau rășină echivalentă);

pregătirea coloanei de schimb cu rășină anionică: în biuretă se fixează un dop de vată de sticlă și se iau 15 ml de rășină de schimb anionic. Rășina se activează prin două cicluri complete de regenerare cu trecerea succesivă a soluțiilor de acid clorhidric 1M și hidroxid de sodiu 1M. După spălarea cu 50 ml de apă distilată rășina se trece într-un vas cilindric, se adaugă 50 ml soluție 1M de acid acetic și se agită timp de 5 minute.

Se reumple din nou biureta și se trece prin coloană 100 ml soluție molară 1M de acid acetic. Este preferabil de avut un stoc de rășină în soluție de acid acetic de 4M păstrată într-un balon cu dop rotat. Se spală coloana cu apă distilată pînă la reacția neutră a apei de spălare.

Regenerarea rășinei: se trec 150 ml soluție de 2M hidroxid de sodiu prin coloană pentru a înlătura acizii și substanțele colorante reținute pe rășină. Se clătește cu 100 ml de apă, se trec 100 ml soluție de acid acetic de 4M. Se spală coloana pînă la reacția neutră a apei de spălare.

Soluția de acetat de plumb neutru (aproximativ saturată):

acetat neutru de plumb
Pb (CH₃COO)₂ × 2H₂O 250g;
apă fierbinte 500 ml;

se agită pînă la dizolvare
carbonat de calciu CaCO₃.

3.1.2 Metoda de lucru

Vinuri seci

50 ml de vin se toarnă într-un vas cilindric cu diametrul de 10-12 cm și se adaugă 0,5 (n-0,5) ml soluție 1M de hidroxid de sodiu (n- volumul de hidroxid de sodiu de 0,1M utilizat la determinarea acidității totale a 10 ml de vin). Se evaporă pe o baie de apă, îndreptînd un curent de aer cald, pînă volumul lichidului nu se va reduce aproximativ pînă la 20 ml.

Se face ca lichidul să traverseze o coloană cu rășină schimbătoare de anioni sub formă de acetat, cu viteza de 3 ml în 2 minute. Se culege apa de spălare într-un balon cotat de 100 ml.

Se spală de 6 ori vasul și coloana cu cîte 10 ml de apă distilată, se adaugă agitînd 2,5 ml soluție saturată de acetat de plumb și 0,5g carbonat de calciu; se agită în mai multe reprize și se lasă pentru limpezire cel puțin pe 15 minute. Se aduce la semn cu apă distilată și se filtrează. 1 ml de filtrat corespunde cu 0,5 ml de vin.

Must, mistele, vinuri dulci și demidulci

Produsele se diluează în felul următor:

Must și mistele. Se diluează lichidul supus analizei de 10 ori. Din proba diluată se iau 10 ml.

Vinuri dulci alcoolizate și nealcoolizate, cu densitatea 1,005-1,038. Se diluează lichidul supus analizei de 5 ori. Din proba diluată se iau 20 ml.

Vinuri densitatea cărora constituie 0,997-1,005. Se iau 20 ml de vin fără diluare.

Volumul de vin sau de must indicat mai sus se trece printr-o coloană cu rășină schimbătoare de anioni sub formă de acetat, cu viteza de 3 ml în 2 minute. Se culege apa de spălare într-un balon cotat de 100 ml, se spală de 6 ori vasul și coloana cu cîte 10 ml de apă distilată.

Se adaugă 1 ml soluție saturată de acetat de plumb și 0,5g carbonat de calciu; se agită și se lasă în repaus cel puțin pe 15 minute, agitînd periodic. Se aduce la semn cu apă distilată și se filtrează.

1 ml de filtrat corespunde cu 0,01 ml de must sau mistel;

1 ml de filtrat corespunde cu 0,04 ml de vin dulce;
 1 ml de filtrat corespunde cu 0,2 ml de vin demidulce.

4. Determinarea

4.1. Reactivi

4.1.1. Soluție alcalină de sare de cupru:

sulfat de cupru pur ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$) 25 g;
 acid citric 50 g;
 carbonat de sodiu cristalizat ($\text{Na}_2\text{CO}_3 \times 10\text{H}_2\text{O}$) 388 g;
 apă distilată până la 1000 ml.

Se dizolvă sulfatul de cupru în 100 ml apă, acidul citric în 300 ml apă și carbonatul de sodiu în 300-400 ml apă fierbinte. Se amestecă soluția de acid citric și soluția de carbonat de sodiu. Se adaugă soluția de sulfat de cupru și se aduce volumul la un litru.

4.1.2. Soluție de iodură de potasiu de 30g/100ml.

Iodură de potasiu (KI) 30 g
 Apă distilată până la 100 ml.

Soluția se păstrează într-un flacon de sticlă întunecată.

4.1.3. Acid sulfuric, 25g/100ml.

Acid sulfuric pur (H_2SO_4),
 $\rho_{20} = 1,84 \text{ g/ml}$ 25 g
 Apă distilată până la 100 ml

Se toarnă acidul în apă, se lasă să se răcească și se aduce volumul la 100 ml.

4.1.4. Soluție de amidon, 5 g/l.

Se dizolvă 5 g de amidon în aproximativ 500 ml de apă. Se fierbe agitând timp de 10 minute. Se adaugă 200 g de clorură de sodiu. După răcire volumul se aduce la un litru.

4.1.5. Tiosulfat de sodiu, soluție de 0,1 M.

4.1.6. Soluție de zahăr invertit de 5 g/l, soluția se utilizează pentru verificarea tehnicii de determinare.

Într-un balon cotelat de 200 ml se iau:

Zaharoză pură și uscată ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$) 4,75 g
 Apă (aproximativ) 100 ml
 Acid clorhidric pur ($\rho_{20} = 1,16 - 1,19 \text{ g/ml}$) 5 ml.

Se plasează balonul pe o baie de apă cu temperatura de 60°C, până când temperatura soluției atinge 50°C și se menține la această temperatură exact 15 minute. Balonul se lasă timp de 30 minute la răcire lentă, apoi se răcește prin imersie la o baie de apă rece. Se trece soluția într-un balon cotelat de 1 l și se aduce la semn cu apă distilată. Această soluție poate fi păstrată timp de o lună. Înainte de utilizare cantitatea necesară pentru analiză se neutralizează (aciditatea acestei soluții este de aproximativ 0,06 M) cu soluție de hidroxid de sodiu.

4.2. Metoda de lucru

Într-un balon conic de 300 ml se iau 25 ml soluție cuproalcalină, 15 ml de apă și 10 ml soluție limpezită. Acest volum de soluție de zahăr nu trebuie să conțină mai mult de 60 mg zahăr invertit.

Se adaugă câteva granule de piatră ponce. Balonul se adaptează la un frigider în reflux și se pune la fierbere, care trebuie să se înceapă peste 2 minute. Se fierbe exact 10 minute. Îndată se răcește sub un flux de apă rece. După răcirea completă se adaugă 10 ml soluție de iodură de potasiu (30g/100ml), 25 ml de acid sulfuric (25g/100ml) și 2 ml soluție de amidon.

Se titrează cu soluție de 0,1 M de tiosulfat de sodiu. n - numărul de ml utilizați. Paralel se efectuează o determinare martor în care 10 ml soluție de zahăr sint înlocuite cu 10 ml de apă. n - volumul de tiosulfat utilizat.

4.3. Explicarea rezultatelor

4.3.1. Calcule

Conținutul de zahăr exprimat în zahăr invertit, care se conține în soluția luată pentru analiză conform tabelului de mai jos, unde este prezentat în funcție de numărul n - mililitri de tiosulfat utilizați.

Conținutul de zahăr invertit în vin se exprimă în grame la litru (g/l) cu precizie până la o zecimală, ținând cont de diluarea efectuată la limpezire și de volumul soluției luat pentru analiză.

Tabel

Relația dintre volumul soluției de tiosulfat de sodiu 0,1 M, (n -n) ml și cantitatea de zahăruri reducătoare în miligrame (mg)

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (ml soluție 0,1 M)	Zahăruri reducătoare (mg)	Diferența	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (ml soluție 0,1 M)	Zahăruri reducătoare (mg)	Diferența
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			

4.3.2. Repetabilitatea

$r = 0,015 x_i$

x_i - concentrația de zahăr invertit, g/l de probă

4.3.3. Reproducibilitatea

$R = 0,058 x_i$

x_i - concentrația de zahăr invertit, g/l de probă.

4.2. MA-MD-AS 2-02 SUCREF

1. Principiul metodei

Indicele de refracție la 20°C, exprimat fie ca valoare absolută, fie ca procent din masa de zaharoză se raportează pe un tabel corespunzător, pentru a obține conținutul zahărurilor în grame pe litru și în grame pe kilogram pentru mustul de struguri, mustul de struguri concentrat și mustul de struguri concentrat rectificat.

2. Aparatură

2.1. Refractometru Abbe

Refractometrul utilizat trebuie să fie prevăzut cu o scară ce indică:

- procentajul din masa de zaharoză cu precizie de 0,1 %;
- indicii de refracție cu patru zecimale.

Refractometrul trebuie să fie prevăzut, de asemenea, cu un termometru pentru măsurări la temperatura de + (15 - 25) °C și un dispozitiv de circulație a apei, care să permită efectuarea determinărilor la o temperatură de (20 ± 5) °C.

Instrucțiunea de operare a instrumentului trebuie strict respectată în special referitor la calibrare și la sursa de lumină.

3. Pregătirea probei

3.1. Must și must concentrat

Dacă este necesar, mustul se trece printr-un tifon împăturit în patru și, după ce primele picături de lichid au fost eliminate, se efectuează determinarea acestuia.

3.2. Must de struguri concentrat rectificat

În funcție de concentrație, se utilizează fie mustul concentrat rectificat, fie o soluție obținută prin diluarea a 200 g must concentrat rectificat și completarea până la 500 g cu apă distilată. Toate cântăririle fiind efectuate cu exactitate.

4. Modul de operare

Se aduce proba la temperatura apropiată de 20°C. Pe prisma inferioară a refractometrului se pune un volum mic din proba de testare, având grijă ca lichidul testat să acopere uniform suprafața sticlei. Determinările se efectuează în conformitate cu instrucțiunile de funcționare ale instrumentului utilizat.

Se citește procentul de zaharoză din masă cu o precizie de 0,1 % sau se citește indicele de refracție cu patru zecimale.

Se efectuează cel puțin două măsurări pe aceeași probă pregătită. Se notează temperatura t °C.

5. Calcule

5.1. Corecții de temperatură

5.1.1. La utilizarea instrumentelor gradate în % pe masă de zaharoză, pentru obținerea corecțiilor de temperatură se utilizează tabelul I.

5.1.2. La utilizarea instrumentelor gradate în indicele de refracție se află indicele măsurat la t °C în tabelul II (coloana I) pentru a se obține valoarea corespunzătoare a procentului din masa de zaharoză la t °C. Această valoare este corectată pentru temperatură și este exprimată sub formă de concentrație la 20 °C cu ajutorul tabelului I.

5.2. Concentrația de zahăr din must și must concentrat

Se află din tabelul II procentul din masa de zaharoză la 20 °C și se determină concentrația de zahăr în grame pe

litru și grame pe kilogram. Concentrația de zahăr este exprimată cu o zecimală, ca zahăr invertit.

5.3 Concentrația de zahăr din must concentrat rectificat

Se află din tabelul III procentul din masa de zaharoză la 20 °C și se citește pe același rând concentrația de zahăr în grame pe litru și grame pe kilogram. Concentrația de zahăr este exprimată cu o zecimală.

În cazul în care determinarea a fost efectuată pe must concentrat rectificat și diluat, rezultatul se înmulțește cu factorul de diluție.

5.4. Indicele de refracție al mustului, mustului concentrat și mustului concentrat rectificat

Se află din tabelul II procentul din masa de zaharoză la 20 °C și se citește pe același rând indicele de refracție la 20 °C. Acest indice este exprimat cu patru zecimale.

Tabelul I

Corecții, ce trebuie operate, cînd procentul de masă de zaharoză a fost determinat la o altă temperatură decît la 20 °C

Temperatura °C	Zaharoză, în grame/100 g produs									
	5	10	15	20	30	40	50	60	70	75
Scădere										
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
Adunare										
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	0,22	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

Temperaturile nu trebuie să se abată de la 20 °C cu mai mult de ± 5 °C.

Tabelul II

Conținutul de zahăr (exprimat ca zahăr invertit) din must și must concentrat în g/l și g/kg, determinat cu ajutorul refractometrelui gradat, fie în procente din masa de zaharoză la 20 °C, fie în indice de refracție la 20 °C. Este prezentată, de asemenea, densitatea la 20 °C

Zaharoză % (m/m)	Indicele de refracție la 20 °C	Densitatea la 20 °C	Zahăr în g/l	Zahăr în g/kg
10.0	1.34781	1.0390	82.3	79.2
10.1	1.34798	1.0394	83.4	80.2
10.2	1.34814	1.0398	84.5	81.3
10.3	1.34830	1.0402	85.6	82.2
10.4	1.34845	1.0406	86.6	83.2
10.5	1.34860	1.0410	87.6	84.1
10.6	1.34875	1.0414	88.6	85.1
10.7	1.34890	1.0419	89.7	86.1
10.8	1.34906	1.0423	90.8	87.1
10.9	1.34921	1.0427	91.8	88.1
11.0	1.34936	1.0431	92.9	89.1
11.1	1.34952	1.0435	94.0	90.0
11.2	1.34968	1.0439	95.0	91.0
11.3	1.34984	1.0443	96.1	92.0
11.4	1.34999	1.0447	97.1	92.9
11.5	1.35015	1.0452	98.2	94.0
11.6	1.35031	1.0456	99.3	95.0
11.7	1.35046	1.0460	100.3	95.9
11.8	1.35062	1.0464	101.4	96.9
11.9	1.35077	1.0468	102.5	97.9
12.0	1.35092	1.0473	103.6	98.9
12.1	1.35108	1.0477	104.7	99.9
12.2	1.35124	1.0481	105.7	100.8
12.3	1.35140	1.0485	106.8	101.9
12.4	1.35156	1.0489	107.9	102.9
12.5	1.35172	1.0494	109.0	103.8
12.6	1.35187	1.0498	110.0	104.8
12.7	1.35203	1.0502	111.1	105.8
12.8	1.35219	1.0506	112.2	106.8
12.9	1.35234	1.0510	113.2	107.8
13.0	1.35249	1.0514	114.3	108.7
13.1	1.35266	1.0519	115.4	109.7
13.2	1.35282	1.0523	116.5	110.7
13.3	1.35298	1.0527	117.6	111.7
13.4	1.35313	1.0531	118.6	112.6
13.5	1.35329	1.0536	119.7	113.6
13.6	1.35345	1.0540	120.8	114.6
13.7	1.35360	1.0544	121.8	115.6
13.8	1.35376	1.0548	122.9	116.5
13.9	1.35391	1.0552	124.0	117.5
14.0	1.35407	1.0557	125.1	118.5
14.1	1.35424	1.0561	126.2	119.5
14.2	1.35440	1.0565	127.3	120.5
14.3	1.35456	1.0569	128.4	121.5
14.4	1.35472	1.0574	129.5	122.5
14.5	1.35488	1.0578	130.6	123.4
14.6	1.35503	1.0582	131.6	124.4
14.7	1.35519	1.0586	132.7	125.4
14.8	1.35535	1.0591	133.8	126.3
14.9	1.35551	1.0595	134.9	127.3

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

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

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

Zaharoză % (m/m)	Indicele de refracție la 20 °C	Densitatea la 20 °C	Zahăr în g/l	Zahăr în g/kg
20.0	1.36383	1.0817	191.9	177.4
20.1	1.36400	1.0822	193.1	178.4
20.2	1.36417	1.0826	194.2	179.4
20.3	1.36434	1.0831	195.3	180.4
20.4	1.36451	1.0835	196.5	181.4
20.5	1.36468	1.0840	197.7	182.3
20.6	1.36484	1.0844	198.8	183.3
20.7	1.36501	1.0849	200.0	184.3
20.8	1.36518	1.0853	201.1	185.3
20.9	1.36534	1.0857	202.2	186.2
21.0	1.36550	1.0862	203.3	187.2
21.1	1.36568	1.0866	204.5	188.2
21.2	1.36585	1.0871	205.7	189.2
21.3	1.36601	1.0875	206.8	190.2
21.4	1.36618	1.0880	207.9	191.1
21.5	1.36635	1.0884	209.1	192.1
21.6	1.36652	1.0889	210.3	193.1
21.7	1.36669	1.0893	211.4	194.1
21.8	1.36685	1.0897	212.5	195.0
21.9	1.36702	1.0902	213.6	196.0
22.0	1.36719	1.0906	214.8	196.9
22.1	1.36736	1.0911	216.0	198.0
22.2	1.36753	1.0916	217.2	199.0
22.3	1.36770	1.0920	218.3	199.9
22.4	1.36787	1.0925	219.5	200.9
22.5	1.36804	1.0929	220.6	201.8
22.6	1.36820	1.0933	221.7	202.8
22.7	1.36837	1.0938	222.9	203.8
22.8	1.36854	1.0943	224.1	204.8
22.9	1.36871	1.0947	225.2	205.8
23.0	1.36888	1.0952	226.4	206.7
23.1	1.36905	1.0956	227.6	207.7
23.2	1.36922	1.0961	228.7	208.7
23.3	1.36939	1.0965	229.9	209.7
23.4	1.36956	1.0970	231.1	210.7
23.5	1.36973	1.0975	232.3	211.6
23.6	1.36991	1.0979	233.4	212.6
23.7	1.37008	1.0984	234.6	213.6
23.8	1.37025	1.0988	235.8	214.6
23.9	1.37042	1.0993	237.0	215.6
24.0	1.37059	1.0998	238.2	216.6
24.1	1.37076	1.1007	239.3	217.4
24.2	1.37093	1.1011	240.3	218.2
24.3	1.37110	1.1016	241.6	219.4
24.4	1.37128	1.1022	243.0	220.5
24.5	1.37145	1.1026	244.0	221.3
24.6	1.37162	1.1030	245.0	222.1
24.7	1.37180	1.1035	246.4	223.2
24.8	1.37197	1.1041	247.7	224.4
24.9	1.37214	1.1045	248.7	225.2

Zaharoză % (m/m)	Indicele de refracție la 20 °C	Densitatea la 20 °C	Zahăr în g/l	Zahăr în g/kg
35.0	1.39031	1.1537	370.5	321.1
35.1	1.39050	1.1543	371.8	322.1
35.2	1.39069	1.1548	373.0	323.0
35.3	1.39087	1.1553	374.3	324.0
35.4	1.39106	1.1558	375.6	325.0
35.5	1.39125	1.1563	376.9	325.9
35.6	1.39144	1.1568	378.1	326.9
35.7	1.39163	1.1573	379.4	327.8
35.8	1.39181	1.1579	380.7	328.8
35.9	1.39200	1.1584	381.9	329.7
36.0	1.39219	1.1589	383.2	330.7
36.1	1.39238	1.1594	384.5	331.6
36.2	1.39257	1.1599	385.8	332.6
36.3	1.39276	1.1604	387.0	333.5
36.4	1.39295	1.1610	388.3	334.5
36.5	1.39314	1.1615	389.6	335.4
36.6	1.39332	1.1620	390.9	336.4
36.7	1.39351	1.1625	392.2	337.3
36.8	1.39370	1.1630	393.4	338.3
36.9	1.39389	1.1635	394.7	339.2
37.0	1.39408	1.1641	396.0	340.2
37.1	1.39427	1.1646	397.3	341.1
37.2	1.39446	1.1651	398.6	342.1
37.3	1.39465	1.1656	399.8	343.0
37.4	1.39484	1.1661	401.1	344.0
37.5	1.39504	1.1666	402.4	344.9
37.6	1.39523	1.1672	403.7	345.9
37.7	1.39542	1.1677	405.0	346.8
37.8	1.39561	1.1682	406.2	347.7
37.9	1.39580	1.1687	407.5	348.7
38.0	1.39599	1.1692	408.8	349.6
38.1	1.39618	1.1698	410.1	350.6
38.2	1.39637	1.1703	411.3	351.5
38.3	1.39657	1.1708	412.6	352.4
38.4	1.39676	1.1713	413.9	353.4
38.5	1.39695	1.1718	415.2	354.3
38.6	1.39714	1.1723	416.4	355.2
38.7	1.39733	1.1728	417.7	356.1
38.8	1.39753	1.1733	419.0	357.1
38.9	1.39772	1.1739	420.2	358.0
39.0	1.39791	1.1744	421.5	358.9
39.1	1.39810	1.1749	422.8	359.8
39.2	1.39830	1.1754	424.1	360.8
39.3	1.39849	1.1759	425.3	361.7
39.4	1.39869	1.1764	426.6	362.6
39.5	1.39888	1.1770	427.9	363.6
39.6	1.39907	1.1775	429.2	364.5
39.7	1.39927	1.1780	430.5	365.4
39.8	1.39946	1.1785	431.7	366.3
39.9	1.39966	1.1790	433.0	367.3

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

Zaharoză % (m/m)	Indicele de refracție la 20 °C	Densitatea la 20 °C	Zahăr în g/l	Zahăr în g/kg
45.0	1.40977	1.2064	500.7	415.0
45.1	1.40997	1.2070	502.1	416.0
45.2	1.41018	1.2076	503.5	417.0
45.3	1.41038	1.2081	504.9	417.9
45.4	1.41058	1.2087	506.3	418.9
45.5	1.41079	1.2093	507.8	419.9
45.6	1.41099	1.2098	509.2	420.9
45.7	1.41119	1.2104	510.6	421.8
45.8	1.41139	1.2110	512.0	422.8
45.9	1.41160	1.2115	513.4	423.7
46.0	1.41180	1.2121	514.8	424.7
46.1	1.41200	1.2127	516.1	425.6
46.2	1.41221	1.2132	517.5	426.5
46.3	1.41241	1.2137	518.8	427.5
46.4	1.41262	1.2143	520.2	428.4
46.5	1.41282	1.2148	521.5	429.3
46.6	1.41302	1.2154	522.8	430.2
46.7	1.41323	1.2159	524.2	431.1
46.8	1.41343	1.2165	525.5	432.0
46.9	1.41364	1.2170	526.9	432.9
47.0	1.41384	1.2175	528.2	433.8
47.1	1.41405	1.2181	529.6	434.8
47.2	1.41425	1.2187	531.0	435.7
47.3	1.41446	1.2192	532.4	436.7
47.4	1.41466	1.2198	533.8	437.6
47.5	1.41487	1.2204	535.3	438.6
47.6	1.41508	1.2210	536.7	439.5
47.7	1.41528	1.2215	538.1	440.5
47.8	1.41549	1.2221	539.5	441.4
47.9	1.41569	1.2227	540.9	442.4
48.0	1.41590	1.2232	542.3	443.3
48.1	1.41611	1.2238	543.6	444.2
48.2	1.41632	1.2243	545.0	445.1
48.3	1.41652	1.2249	546.3	446.0
48.4	1.41673	1.2254	547.7	446.9
48.5	1.41694	1.2260	549.1	447.8
48.6	1.41715	1.2265	550.4	448.7
48.7	1.41736	1.2271	551.8	449.7
48.8	1.41756	1.2276	553.1	450.6
48.9	1.41777	1.2282	554.5	451.4
49.0	1.41798	1.2287	555.8	452.3
49.1	1.41819	1.2293	557.2	453.3
49.2	1.41840	1.2298	558.6	454.2
49.3	1.41861	1.2304	560.0	455.1
49.4	1.41882	1.2310	561.4	456.1
49.5	1.41903	1.2315	562.8	457.0
49.6	1.41924	1.2321	564.2	457.9
49.7	1.41945	1.2327	565.6	458.8
49.8	1.41966	1.2332	567.0	459.8
49.9	1.41987	1.2338	568.4	460.7

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

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

Zaharozi % (m/m)	Indicele de refracție la 20 °C	Densitatea la 20 °C	Zahăr în g/l	Zahăr în g/kg
50.0	1.42008	1.2344	569.8	461.6
50.1	1.42029	1.2349	571.2	462.5
50.2	1.42050	1.2355	572.6	463.5
50.3	1.42071	1.2361	574.0	464.4
50.4	1.42092	1.2366	575.4	465.3
50.5	1.42114	1.2372	576.9	466.2
50.6	1.42135	1.2378	578.3	467.2
50.7	1.42156	1.2384	579.7	468.1
50.8	1.42177	1.2389	581.1	469.0
50.9	1.42198	1.2395	582.5	469.9
51.0	1.42219	1.2401	583.9	470.9
51.1	1.42240	1.2407	585.4	471.8
51.2	1.42261	1.2413	586.9	472.8
51.3	1.42283	1.2419	588.3	473.8
51.4	1.42304	1.2425	589.8	474.7
51.5	1.42325	1.2431	591.3	475.7
51.6	1.42346	1.2437	592.8	476.6
51.7	1.42367	1.2443	594.3	477.6
51.8	1.42389	1.2449	595.7	478.6
51.9	1.42410	1.2455	597.2	479.5
52.0	1.42431	1.2461	598.7	480.5
52.1	1.42452	1.2466	600.1	481.4
52.2	1.42474	1.2472	601.5	482.3
52.3	1.42495	1.2478	602.9	483.2
52.4	1.42517	1.2483	604.3	484.1
52.5	1.42538	1.2489	605.8	485.0
52.6	1.42559	1.2495	607.2	485.9
52.7	1.42581	1.2500	608.6	486.8
52.8	1.42602	1.2506	610.0	487.7
52.9	1.42624	1.2512	611.4	488.6
53.0	1.42645	1.2518	612.8	489.6
53.1	1.42666	1.2524	614.3	490.5
53.2	1.42688	1.2530	615.8	491.4
53.3	1.42707	1.2536	617.2	492.4
53.4	1.42727	1.2542	618.7	493.3
53.5	1.42748	1.2548	620.2	494.3
53.6	1.42769	1.2554	621.7	495.2
53.7	1.42789	1.2560	623.2	496.2
53.8	1.42810	1.2566	624.6	497.1
53.9	1.42830	1.2571	626.1	498.0
54.0	1.42851	1.2577	627.6	499.0
54.1	1.42874	1.2583	629.0	499.9
54.2	1.42897	1.2589	630.4	500.8
54.3	1.42919	1.2595	631.8	501.7
54.4	1.42942	1.2600	633.2	502.6
54.5	1.42965	1.2606	634.7	503.5
54.6	1.42988	1.2612	636.1	504.3
54.7	1.43011	1.2617	637.5	505.2
54.8	1.43033	1.2623	638.9	506.1
54.9	1.43056	1.2629	640.3	507.0

Tabelul III

Conținutul de zahăr (exprimat ca zahăr invert) din mustul concentrat rectificat, în g/l și g/kg, determinat cu ajutorul refractometului gradat, fie în % din masa de zaharoză la 20 °C, fie în indice de refracție la 20 °C. Este prezentată, de asemenea, densitatea la 20 °C

Zaharoză % (m/m)	Indicele de refracție la 20 °C	Densitatea la 20 °C	Zahăr în g/l	Zahăr în g/kg
65.0	1.4347	1.3251	794.0	599.2
65.1	1.4357	1.3257	795.6	600.1
65.2	1.4394	1.3264	797.2	601.1
65.3	1.4518	1.3270	798.8	602.0
65.4	1.4541	1.3277	800.4	602.9
65.5	1.4545	1.3283	802.1	603.8
65.6	1.4589	1.3290	805.7	604.7
65.7	1.4552	1.3296	808.3	605.6
65.8	1.4536	1.3303	806.9	606.6
65.9	1.4559	1.3309	808.5	607.5
66.0	1.4553	1.3316	810.1	608.4
66.1	1.4567	1.3322	811.6	609.3
66.2	1.4560	1.3328	813.2	610.1
66.3	1.4563	1.3335	814.8	611.9
66.4	1.4568	1.3341	816.3	613.6
66.5	1.4570	1.3347	817.9	615.4
66.6	1.4572	1.3353	819.4	616.2
66.7	1.4574	1.3360	820.9	617.1
66.8	1.4573	1.3366	822.5	618.0
66.9	1.4576	1.3372	824.1	618.9
67.0	1.4580	1.3378	825.6	619.8
67.1	1.4584	1.3385	827.2	620.7
67.2	1.4586	1.3391	828.8	621.6
67.3	1.4589	1.3398	830.4	622.5
67.4	1.4591	1.3404	832.0	623.4
67.5	1.4594	1.3411	833.7	624.3
67.6	1.4596	1.3418	835.3	625.2
67.7	1.4598	1.3424	836.9	626.1
67.8	1.4601	1.3431	838.5	627.0
67.9	1.4603	1.3437	840.1	627.9
68.0	1.4606	1.3444	841.7	628.8
68.1	1.4608	1.3450	843.4	629.7
68.2	1.4610	1.3457	845.1	630.6
68.3	1.4613	1.3464	846.7	631.5
68.4	1.4616	1.3471	848.4	632.4
68.5	1.4618	1.3478	850.1	633.3
68.6	1.4620	1.3484	851.8	634.2
68.7	1.4623	1.3491	853.5	635.1
68.8	1.4625	1.3498	855.1	636.0
68.9	1.4627	1.3505	856.8	636.9
69.0	1.4630	1.3512	858.5	637.8
69.1	1.4632	1.3518	860.1	638.7
69.2	1.4635	1.3525	861.7	639.6
69.3	1.4637	1.3531	863.3	640.5
69.4	1.4639	1.3538	864.9	641.4
69.5	1.4642	1.3544	866.6	642.3
69.6	1.4644	1.3551	868.2	643.2
69.7	1.4647	1.3557	869.8	644.1
69.8	1.4649	1.3564	871.4	645.0
69.9	1.4652	1.3570	873.0	645.9

Zaharoză % (m/m)	Indicele de refracție la 20 °C	Densitatea la 20 °C	Zahăr în g/l	Zahăr în g/kg
70.0	1.4654	1.3577	874.6	646.2
70.1	1.4656	1.3583	876.2	647.1
70.2	1.4659	1.3590	877.8	648.0
70.3	1.4661	1.3596	879.4	648.9
70.4	1.4664	1.3603	881.0	649.8
70.5	1.4667	1.3609	882.7	650.7
70.6	1.4669	1.3616	884.3	651.6
70.7	1.4671	1.3622	885.9	652.5
70.8	1.4674	1.3629	887.5	653.4
70.9	1.4676	1.3635	889.1	654.3
71.0	1.4678	1.3642	890.7	655.2
71.1	1.4681	1.3649	892.4	656.1
71.2	1.4683	1.3655	894.1	657.0
71.3	1.4686	1.3662	895.7	657.9
71.4	1.4688	1.3669	897.4	658.8
71.5	1.4691	1.3676	899.1	659.7
71.6	1.4693	1.3683	900.8	660.6
71.7	1.4696	1.3689	902.5	661.5
71.8	1.4698	1.3696	904.1	662.4
71.9	1.4701	1.3703	905.8	663.3
72.0	1.4703	1.3710	907.5	664.2
72.1	1.4706	1.3717	909.2	665.1
72.2	1.4708	1.3723	910.8	666.0
72.3	1.4711	1.3730	912.5	666.9
72.4	1.4713	1.3737	914.2	667.8
72.5	1.4716	1.3744	915.9	668.7
72.6	1.4718	1.3750	917.5	669.6
72.7	1.4720	1.3757	919.2	670.5
72.8	1.4723	1.3764	920.9	671.4
72.9	1.4725	1.3771	922.5	672.3
73.0	1.4728	1.3777	924.2	673.2
73.1	1.4730	1.3784	925.9	674.1
73.2	1.4733	1.3791	927.6	675.0
73.3	1.4735	1.3798	929.2	675.9
73.4	1.4738	1.3804	930.9	676.8
73.5	1.4740	1.3811	932.6	677.7
73.6	1.4743	1.3818	934.3	678.6
73.7	1.4745	1.3825	936.0	679.5
73.8	1.4748	1.3832	937.6	680.4
73.9	1.4750	1.3838	939.3	681.3
74.0	1.4753	1.3845	941.0	682.2
74.1	1.4755	1.3852	942.7	683.1
74.2	1.4758	1.3859	944.4	684.0
74.3	1.4760	1.3866	946.0	684.9
74.4	1.4763	1.3872	947.7	685.8
74.5	1.4766	1.3879	949.4	686.7
74.6	1.4768	1.3886	951.1	687.6
74.7	1.4770	1.3893	952.8	688.5
74.8	1.4773	1.3900	954.4	689.4
74.9	1.4776	1.3906	956.1	690.3

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

Zaharoză % (m/m)	Indicele de refracție la 20 °C	Densitatea la 20 °C	Zahăr în g/l	Zahăr în g/kg
60.0	1.44192	1.2936	791.7	612.0
60.1	1.44215	1.2942	793.3	613.0
60.2	1.44238	1.2949	795.2	614.1
60.3	1.44260	1.2956	796.9	615.1
60.4	1.44283	1.2962	798.6	616.1
60.5	1.44305	1.2969	800.5	617.2
60.6	1.44328	1.2976	802.2	618.2
60.7	1.44351	1.2981	803.9	619.3
60.8	1.44374	1.2986	805.5	620.3
60.9	1.44397	1.2991	807.1	621.3
61.0	1.44421	1.2996	808.7	622.3
61.1	1.44442	1.3002	810.5	623.4
61.2	1.44465	1.3009	812.3	624.4
61.3	1.44488	1.3016	814.2	625.5
61.4	1.44511	1.3022	815.8	626.5
61.5	1.44534	1.3029	817.7	627.6
61.6	1.44557	1.3036	819.4	628.6
61.7	1.44580	1.3042	821.3	629.7
61.8	1.44603	1.3049	823.0	630.7
61.9	1.44626	1.3056	824.8	631.7
62.0	1.44648	1.3062	826.6	632.8
62.1	1.44672	1.3068	828.3	633.8
62.2	1.44695	1.3075	830.0	634.8
62.3	1.44718	1.3080	831.8	635.9
62.4	1.44741	1.3085	833.4	636.9
62.5	1.44764	1.3090	835.1	638.0
62.6	1.44787	1.3095	836.8	639.0
62.7	1.44810	1.3101	838.5	640.0
62.8	1.44833	1.3108	840.2	641.0
62.9	1.44856	1.3115	842.1	642.1
63.0	1.44879	1.3121	843.8	643.1
63.1	1.44902	1.3128	845.7	644.2
63.2	1.44926	1.3135	847.5	645.2
63.3	1.44949	1.3141	849.3	646.3
63.4	1.44972	1.3148	851.1	647.3
63.5	1.44995	1.3155	853.0	648.4
63.6	1.45019	1.3161	854.7	649.4
63.7	1.45042	1.3168	856.4	650.4
63.8	1.45065	1.3175	858.4	651.5
63.9	1.45088	1.3180	860.0	652.5
64.0	1.45112	1.3185	861.6	653.5
64.1	1.45135	1.3190	863.4	654.6
64.2	1.45158	1.3195	865.1	655.6
64.3	1.45181	1.3201	866.9	656.7
64.4	1.45205	1.3208	868.7	657.7
64.5	1.45228	1.3215	870.6	658.8
64.6	1.45252	1.3221	872.3	659.8
64.7	1.45275	1.3228	874.1	660.8
64.8	1.45299	1.3235	876.0	661.9
64.9	1.45322	1.3241	877.8	662.9

Zaharoză % (m/m)	Indicele de refracție la 20 °C	Densitatea la 20 °C	Zahăr în g/l	Zahăr în g/kg
65.0	1.45347	1.3248	879.7	664.0
65.1	1.45369	1.3255	881.5	665.0
65.2	1.45393	1.3261	883.2	666.0
65.3	1.45416	1.3268	885.0	667.0
65.4	1.45440	1.3275	886.9	668.1
65.5	1.45463	1.3281	888.8	669.2
65.6	1.45487	1.3288	890.6	670.2
65.7	1.45510	1.3295	892.4	671.2
65.8	1.45534	1.3301	894.2	672.3
65.9	1.45557	1.3308	896.0	673.3
66.0	1.45583	1.3315	898.0	674.4
66.1	1.45609	1.3320	899.6	675.4
66.2	1.45629	1.3325	901.3	676.4
66.3	1.45652	1.3330	903.1	677.5
66.4	1.45676	1.3335	904.8	678.5
66.5	1.45700	1.3341	906.7	679.6
66.6	1.45724	1.3348	908.5	680.6
66.7	1.45747	1.3355	910.4	681.7
66.8	1.45771	1.3361	912.2	682.7
66.9	1.45795	1.3367	913.9	683.7
67.0	1.45820	1.3374	915.9	684.8
67.1	1.45843	1.3380	917.6	685.8
67.2	1.45867	1.3387	919.6	686.9
67.3	1.45890	1.3395	921.4	687.9
67.4	1.45914	1.3400	923.1	688.9
67.5	1.45938	1.3407	925.1	689.0
67.6	1.45962	1.3415	927.0	690.1
67.7	1.45986	1.3420	928.8	691.1
67.8	1.46010	1.3427	930.6	692.1
67.9	1.46034	1.3434	932.6	693.1
68.0	1.46060	1.3440	934.4	694.2
68.1	1.46082	1.3447	936.2	695.2
68.2	1.46106	1.3454	938.0	696.2
68.3	1.46130	1.3460	939.9	697.2
68.4	1.46154	1.3466	941.8	698.3
68.5	1.46178	1.3473	943.7	699.4
68.6	1.46202	1.3479	945.4	700.4
68.7	1.46226	1.3486	947.4	701.4
68.8	1.46251	1.3493	949.2	702.5
68.9	1.46275	1.3499	951.1	703.5
69.0	1.46301	1.3506	953.0	704.6
69.1	1.46323	1.3513	954.8	705.6
69.2	1.46347	1.3519	956.7	706.6
69.3	1.46371	1.3526	958.6	707.7
69.4	1.46396	1.3533	960.6	708.7
69.5	1.46420	1.3539	962.4	709.8
69.6	1.46444	1.3546	964.3	710.8
69.7	1.46468	1.3553	966.2	711.9
69.8	1.46493	1.3560	968.2	712.9
69.9	1.46517	1.3566	970.0	714.0
				715.0

(continuare)
 Tabelul III

Zaharoză % (m/m)	Indicele de refracție la 20 °C	Densitatea la 20 °C	Zahăr în g/l	Zahăr în g/kg
70.0	1.46544	1.3573	971.8	716.0
70.1	1.46565	1.3579	973.8	717.1
70.2	1.46590	1.3586	975.6	718.1
70.3	1.46614	1.3593	977.6	719.2
70.4	1.46639	1.3599	979.4	720.2
70.5	1.46663	1.3606	981.3	721.2
70.6	1.46688	1.3613	983.3	722.3
70.7	1.46712	1.3619	985.2	723.4
70.8	1.46737	1.3626	987.1	724.4
70.9	1.46761	1.3633	988.9	725.4
71.0	1.46789	1.3639	990.9	726.5
71.1	1.46810	1.3646	992.8	727.5
71.2	1.46835	1.3653	994.8	728.6
71.3	1.46859	1.3659	996.6	729.6
71.4	1.46884	1.3665	998.5	730.7
71.5	1.46908	1.3672	1 000.4	731.7
71.6	1.46933	1.3678	1 002.2	732.7
71.7	1.46957	1.3685	1 004.2	733.8
71.8	1.46982	1.3692	1 006.1	734.8
71.9	1.47007	1.3698	1 008.0	735.9
72.0	1.47036	1.3705	1 009.9	736.9
72.1	1.47056	1.3712	1 012.0	738.0
72.2	1.47081	1.3718	1 013.8	739.0
72.3	1.47106	1.3725	1 015.7	740.0
72.4	1.47131	1.3732	1 017.7	741.1
72.5	1.47155	1.3738	1 019.5	742.1
72.6	1.47180	1.3745	1 021.5	743.2
72.7	1.47205	1.3752	1 023.4	744.2
72.8	1.47230	1.3758	1 025.4	745.3
72.9	1.47254	1.3765	1 027.3	746.3
73.0	1.47284	1.3772	1 029.3	747.4
73.1	1.47304	1.3778	1 031.2	748.4
73.2	1.47329	1.3785	1 033.2	749.5
73.3	1.47354	1.3792	1 035.1	750.5
73.4	1.47379	1.3798	1 037.1	751.6
73.5	1.47404	1.3805	1 039.0	752.6
73.6	1.47429	1.3812	1 040.9	753.6
73.7	1.47454	1.3818	1 042.8	754.7
73.8	1.47479	1.3825	1 044.8	755.7
73.9	1.47504	1.3832	1 046.8	756.8
74.0	1.47534	1.3838	1 048.6	757.8
74.1	1.47554	1.3845	1 050.7	758.9
74.2	1.47579	1.3852	1 052.6	759.9
74.3	1.47604	1.3858	1 054.6	761.0
74.4	1.47629	1.3865	1 056.5	762.0
74.5	1.47654	1.3871	1 058.5	763.1
74.6	1.47679	1.3878	1 060.4	764.1
74.7	1.47704	1.3885	1 062.3	765.1
74.8	1.47730	1.3892	1 064.4	766.2
74.9	1.47755	1.3898	1 066.3	767.2
75.0	1.47785	1.3905	1 068.3	768.3

5. Aciditatea totală

5.1 MA-MD-AS 313-01-ACITOT

1. Definiție

Prin aciditate totală a vinului se înțelege suma acizilor titrabili adusă la pH 7 prin adăugarea unei soluții alcaline titrată. Dioxidul de carbon nu este inclus în aciditatea totală.

2. Principiul metodei

Titrare potențimetrică sau titrare în prezența bromtimolului albastru, care servește ca indicator al finisării reacției la compararea cu un standard de culoare.

3. Reactivi

3.1. Soluție tampon cu pH 7:

fosfat monofosfatic (KH_2PO_4) 107,3 g;
 soluție de hidroxid de sodiu 1M (NaOH) 500 ml;
 apă distilată pînă la 1000 ml.

Se pot utiliza la fel soluții tampon gata preparate.

3.2. Soluție de hidroxid de sodiu 0,1 M (NaOH).

3.3. Soluție indicatoare de bromtimol albastru, 4 g/l:

bromtimol albastru ($\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{Br}_2\text{O}_5\text{S}$) 4 g;
 etanol neutru 96 % vol. 200 ml.

Se dizolvă și se adaugă:

apă lipsită de CO_2 200 ml;
 soluție de hidroxid de sodiu 1M pînă la apariția culorii albastru-verde (pH 7) 7,5 ml;
 apă distilată pînă la 1000 ml.

4. Aparatura:

pompă de vid cu apă;
 balon de vid de 500 ml;

potențiomtru cu scală gradată pentru valori pH și electrozi. Electrocul de sticlă trebuie păstrat în apă distilată, electrocul de calomel – în soluție saturată de clorură de potasiu. Electrocul combinat, folosit cel mai des, trebuie păstrat în apă distilată;

cilindri gradați de 50 ml (pentru analiza vinului) și 100 ml (pentru analiza mustului concentrat rectificat).

5. Metoda de lucru

5.1. Pregătirea probei

5.1.1. Vinuri

Eliminarea dioxidului de carbon: se iau aproximativ 50 ml de vin într-un balon de vid, se face vid în balon cu pompa de vid cu apă timp de 1-2 minute, agitînd continuu.

5.1.2. Must concentrat rectificat

Se introduc 200 g must concentrat rectificat într-un balon cotat de 500 ml. Se completează pînă la cotă cu apă. Se omogenizează.

5.2. Titrarea potențimetrică

5.2.1. Calibrarea pH-metrului

pH-metrul este calibrat cu soluție tampon pH 7,00 la 20°C, conform instrucțiunilor de utilizare a aparatului.

5.2.2. Metoda de determinare

Într-un cilindru gradat se introduce o cantitate din probă, preparată în conformitate cu punctul 5.1., cantitate egală cu 10 ml (vin) și 50 ml (must concentrat rectificat). Se adaugă circa 10 ml apă distilată și apoi se adaugă soluție de hidroxid de sodiu 0,1 M (punctul 3.2.) din biuretă pînă cînd pH-ul este egal cu 7 la 20 °C. Hidroxidul de sodiu trebuie adăugat încet și soluția trebuie amestecată continuu. Se notează cu n ml volumul de Na OH 0,1 M adăugat.

5.3. Titrarea cu indicator (albastru de bromtimol)

5.3.1. Test preliminar: determinarea culorii etalon.

Într-un cilindru gradat se iau 25 ml apă distilată fiartă, 1 ml soluție de bromtimol albastru (punctul 3.3.) și proba preparată în conformitate cu punctul 5.1., egală cu 10 ml (vin) și 50 ml (must concentrat rectificat). Se adaugă soluție de hidroxid de sodiu 0,1 M (punctul 3.2.) pînă cînd culoarea devine albastru-verde. Se adaugă 5 ml soluție tampon pH 7 (punctul 3.1.).

5.3.2. Titrarea

Într-un cilindru gradat se iau 25 ml apă distilată fiartă, 1 ml soluție de bromtimol albastru (punctul 3.3.) și proba preparată în conformitate cu punctul 5.1., egală cu 10 ml (vin) și 50 ml (must concentrat rectificat). Se adaugă soluție de hidroxid de sodiu 0,1 M (punctul 3.2.) pînă cînd se obține aceeași culoare ca în testul preliminar de mai sus (punctul 5.3.1.). Se notează cu n ml volumul de hidroxid de sodiu 0,1 M adăugat.

6. Exprimarea rezultatelor

6.1. Metoda de calcul

6.1.1. Vinuri

Aciditatea totală exprimată în miligram-echivalenți pe litru:

$$A = 10 n,$$

se notează cu o cifră zecimală.

Aciditatea totală exprimată în grame de acid tartric pe litru este prezentată în formula:

$$A' = 0,075 A$$

se notează cu o cifră zecimală.

6.1.2. Must concentrat rectificat

Aciditatea totală exprimată în miligram-echivalenți pe kilogram de must concentrat rectificat,

$$a = 5 n;$$

Aciditatea totală exprimată în miligram-echivalenți pe kilogram de zaharuri totale,

$$a' = \frac{500n}{P}$$

în care, P- conținutul procentual (m/m) a zaharurilor totale. Se notează cu o cifră zecimală.

6.2. Repetabilitatea (r) pentru titrare cu indicator:

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

$$r = 0,04 \text{ g acid sulfuric/l}$$

$$r = 0,07 \text{ g acid tartric / l.}$$

6.3. Reproducibilitatea (R) pentru titrare cu indicator

Pentru vinurile albe și roze:

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

$$R = 0,2 \text{ g acid sulfuric/l}$$

$$R = 0,3 \text{ g acid tartric / l.}$$

Pentru vinurile roșii:

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

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

$$R = 0,4 \text{ g acid tartric / l.}$$

6. Aciditatea volatilă

6.1 MA-MD-AS 313-02-ACIVOL

1. Definiție

Acizii volatili sînt constituiți din acizii aparținînd seriilor acetice, în principal acidul acetic, prezenți în vin în stare liberă și sub formă de săruri.

2. Principiul metodei

Titrare acidizilor volatili separați din vin printr-o distilare cu vapori de apă. Mai întîi se elimină bioxidul de carbon din vin.

Aciditatea bioxidului de sulf liber și combinat, a acidului sorbic distilate în aceste condiții, se scad din aciditatea produsului rezultat în urma distilării.

Trebuie scăzută, de asemenea, aciditatea acidului sorbic, adăugat eventual în vin.

O parte din acidul salicilic, folosit în unele țări pentru a stabili vinurile, este prezentă în produsul rezultat în urma distilării. Acesta trebuie determinat și scăzut din aciditatea volatilă. Metoda de determinare este descrisă în punctul 7 din prezentul capitol.

3. Reactivi:

acid tartric cristalizat ($C_4H_6O_6$);

hidroxid de sodiu (NaOH), soluție de 0,1 M;

fenolftaleină, soluție de 1% în alcool neutru 96 % vol;

acid clorhidric diluat 1/4 (v/v) ($\rho_{20} = 1,18 - 1,19 \text{ g/ml}$);

iod (I_2), soluție de 0,005 M;

iodură de potasiu (KI) cristalizat;

amidon, soluție de 5 g/l: se amestecă 5 g amidon cu aproximativ 500 ml apă. Se aduce la punctul de fierbere, amestecînd continuu, și se fierbe timp de 10 minute; se adaugă 200 g clorură de sodiu. După răcire se completează pînă la un litru.

Soluție saturată de tetraborat de sodiu ($Na_2B_4O_7 \cdot 10 H_2O$), aproximativ 55 g/l la 20 °C.

4. Aparatura

4.1. Aparat de distilare în vapori de apă format din generator de abur (aburul nu trebuie să conțină bioxid de carbon), barbotor de sticlă, coloană de rectificare, refrigerent.

Această instalație trebuie să treacă următoarele trei teste:

a) se pun în barbotor 20 ml apă fiartă. Se colectează 250 ml de produs distilat și se adaugă 0,1 ml soluție de hidroxid de sodiu 0,1 M și două picături de soluție de fenolftaleină. Nuanța roz trebuie să se păstreze cel puțin 10 secunde (aceasta indică că aburul nu conține bioxid de carbon);

b) se pun în barbotor 20 ml soluție de acid acetic 0,1 M. Se colectează 250 ml de distilat. Se titrează cu soluție de hidroxid de sodiu 0,1 M: volumul utilizat trebuie să fie de cel puțin 19,9 ml (în acest caz cel puțin 99,95 % din acidul acetic a fost antrenat de vapori);

c) se pun în barbotor 20 ml soluție de acid lactic 1 M. Se colectează 250 ml de distilat. Se titrează cu soluție de hidroxid de sodiu 0,1 M: volumul de soluție de hidroxid de sodiu adăugat trebuie să fie mai mic de 1,0 ml (în acest caz nu se distilează mai mult de 0,5 % din acidul lactic).

Aparatul care trece aceste teste în mod satisfăcător îndeplinește condițiile oficiale internaționale.

4.2. Pompă de vid cu apă

4.3. Balon de vid

5. Metoda de lucru

5.1. Pregătirea probei

Eliminarea bioxidului de carbon: se pun circa 50 ml vin în balonul de vid; se face vid în balon cu pompa de vid cu apă timp de 1-2 minute, agitîndu-se continuu.

5.2. Distilarea cu vapori de apă

Se pun în barbotor 20 ml vin fără bioxid de carbon, se adaugă aproximativ 0,5 g acid tartric. Se colectează cel puțin 250 ml de produs distilat.

5.3. Titrare

Se titrează cu soluție de hidroxid de sodiu 0,1M, în prezența a 2 picături de fenolftaleină ca indicator, se notează cu n ml cantitatea de hidroxid de sodiu folosită.

Se adaugă patru picături de acid clorhidric diluat 1/4, 2 ml soluție de amidon și cîteva cristale de iodură de potasiu. Se titrează dioxidul de sulf liber cu o soluție de iod 0,005 M. Se notează cu n' cantitatea folosită.

Se adaugă soluție saturată de borax pînă cînd nuanța roz reapare. Se titrează dioxidul de sulf combinat cu o soluție de iod 0,005 M, se notează cu n'' cantitatea soluției de iod folosită.

6. Exprimarea rezultatelor

6.1. Metoda de calcul

Conținutul de acizi volatili exprimați cu o cifră zecimală, în miligram-echivalenți pe litru este prezentat în formula:

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

Conținutul de acizi volatili exprimați cu două zecimale, în grame de acid acetic pe litru este prezentat în formula:

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

6.2. Repetabilitatea (r)

$$r = 0,7 \text{ mg-echv/l}$$

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

6.3. Reproducibilitatea (R)

$$R = 1,3 \text{ mg-echv/l}$$

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

6.4. Vin în care se conține acid sorbic

Deoarece 96 % din acidul sorbic este antrenat de vapori într-un volum distilat de 250 ml, aciditatea trebuie scăzută din aciditatea volatilă, știind că 100 mg acid sorbic corespunde unei acidități de 0,89 mg sau 0,053 g acid acetic și cunoscînd concentrația de acid sorbic exprimată în mg/l determinată prin alte metode.

7. Determinarea acidului salicilic, trecut în distilatul acizilor volatili

7.1. Principiul metodei

După determinarea acizilor volatili și corecția la dioxidul de sulf, la acidularea ulterioară a distilatului și adăugarea unei sări de fier trivalent, apariția culorii violetă demonstrează prezența acidului salicilic.

Determinarea acidului salicilic, antrenat în produsul distilat cu acizii volatili, se realizează pe un al doilea produs distilat, cu același volum asupra căruia s-a făcut determinarea acidității volatile. În acest produs, acidul salicilic se determină printr-o metodă colorimetrică comparativă.

Aciditatea obținută în al doilea produs se scade din aciditatea volatilă a produsului.

7.2. Reactivi:

acid clorhidric (HCl) ($\rho_{20} = 1,18-1,19$ g/ml);
 tiosulfat de sodiu, ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$), soluție de 0,1 M;
 sulfat de amoniu și fier (III) (alaun de fier și amoniu) [$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \times (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \times 24\text{H}_2\text{O}$], soluție de 10% (m/v);
 salicilat de sodiu ($\text{NaC}_7\text{H}_5\text{O}_3$), soluție de 0,01 M. Soluția conține 1,60 g/l salicilat de sodiu.

7.3. Metoda de lucru

7.3.1. Identificarea acidului salicilic în distilatul cu acizi volatili

Imediat după determinarea acidității volatile și corecția pentru dioxidul de sulf liber și combinat, într-un balon conic se pun 0,5 ml acid clorhidric, 3 ml soluție de tiosulfat de sodiu 0,1M și 1 ml soluție de alaun de fier și amoniu. Apariția unei culori violet demonstră prezența acidului salicilic.

7.3.2. Determinarea acidului salicilic

Pe balonul conic se notează cantitatea produsului distilat printr-un semn de referință. Se golește și se spală balonul cu apă distilată.

O nouă probă de 20 ml vin se supune distilării cu vapori de apă și se colectează produsul distilat în balonul conic până la cota de referință. Se adaugă 0,3 ml acid clorhidric pur și 1 ml soluție de alaun de fier și amoniu. Conținutul balonului se colorează violet.

Într-un balon conic, identic cu acela care are semnul de referință, se pune apă distilată până la același nivel cu acela al produsului distilat. Se adaugă 0,3 ml acid clorhidric pur și 1 ml soluție de alaun de fier și amoniu. Din biuretă se pune soluție de salicilat de sodiu 0,01 M până când nuanța de violet obținută are aceeași intensitate cu aceea din balonul conic care conține vinul distilat. Se notează cu n'' cantitatea de soluție adăugată din biuretă.

7.4. Rectificarea acidității volatile

Se scade volumul $0,1n''$ ml din volumul de n ml soluție de hidroxid de sodiu 0,1 M folosită pentru titrarea produsului distilat în timpul determinării acidității volatile.

7. Dioxidul de sulf

7.1 MA-MD-AS 323-04-DIOSU

1. Definiții

Dioxidul de sulf liber este definit de dioxidul de sulf prezent în must sau vin în următoarele forme: H_2SO_3 , HSO_3^- . Echilibrul dintre aceste forme este o funcție a pH și temperaturii:



H_2SO_3 reprezintă dioxidul de sulf molecular.

Dioxidul de sulf total este definit ca totalul tuturor formelor de bioxid de sulf prezente în vin, fie în stare liberă, fie combinat cu constituenții sai.

2. Dioxidul de sulf liber și total

2.1. Principiul metodelor

2.1.1. Metoda de referință

Pentru vinuri și must

Dioxidul de sulf este extras de un curent de aer sau azot, apoi este fixat și oxidat, fiind trecut printr-o soluție diluată și neutră de apă oxigenată. Acidul sulfuric format este determinat prin titrarea cu o soluție standard de hidroxid de sodiu.

Dioxidul de sulf liber este separat de vin la o temperatură scăzută de 10°C.

Pentru mustul concentrat rectificat

Dioxidul de sulf total se extrage din mustul concentrat rectificat, preventiv diluat, prin antrenare la temperaturi înalte, până la 100°C.

2.1.2. Metoda rapidă de determinare (pentru vinuri și musturi)

Dioxidul de sulf liber este determinat prin titrare iodometrică directă. Dioxidul de sulf combinat este determinat prin titrare iodometrică după hidroliza alcalină. Adunând valorile căpătate obținem dioxidul de sulf total.

2.2. Metoda de referință

2.2.1. Aparatura

Aparatul utilizat trebuie să fie conform cu schema prezentată în figura 2, în special, cu privire la refrigerant.

Tubul de alimentare cu gaz a barbotorului B se termină într-o mică sferă cu diametrul de 1 cm cu 20 de orificii și diametrul de 0,2 mm pe circumferința orizontală cea mai mare. Alternativ, acest tub se poate termina cu o placă de sticlă, care produce un număr mare de bule foarte mici, care asigură contactul dintre fazele lichidă și gazoasă.

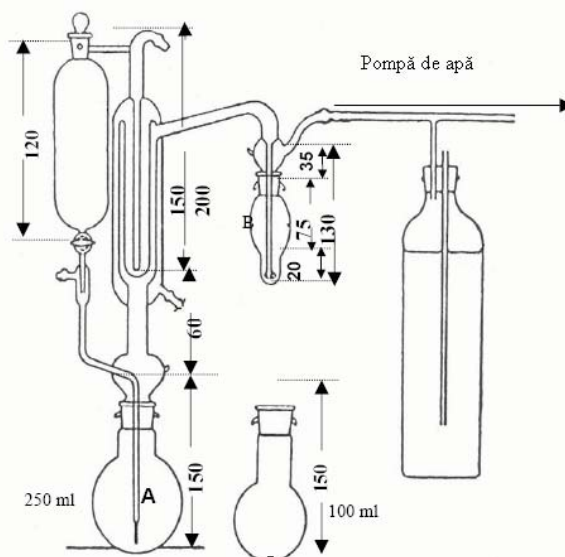


Figura 2. Schema aparatului

Diametrele interioare ale celor patru tuburi concentrice care formează condensatorul sînt 45, 34, 27 și 10 mm.

Curentul de gaz ce traversează aparatele ar trebui să fie de aproximativ 40 litri pe oră. Vasul din dreapta diagramei are rolul de a limita reducerea presiunii, produse de pompa de apă, la 20-30 cm. Pentru reglarea vidului la valoarea corectă, trebuie instalat un debit - metru, cu un tub semicapilar, între barbotor și vas.

2.2.2. Reactivi:

acid fosforic 85% (H_3PO_4 , $\rho_{20} = 1,71$ g/ml), soluție de 25% (m/v);

apă oxigenată, soluție de 9,1 g H_2O_2 /litru;

reactivul indicator:

roșu de metil 100 mg;

albastru de metilen 50 mg;

alcool, 50 % vol 100 ml.

hidroxid de sodiu (NaOH), soluție de 0,01M

2.2.3. Metoda de lucru

Determinarea dioxidului de sulf liber

Vinul se pastrează în sticlă plină și închisă cu dop, la 20°C, timp de două zile înainte de determinare.

În balonul A de 250 ml a aparatului se introduc 50 ml din probă și 15 ml de acid fosforic. Se conectează balonul la loc.

Se pun 2-3 ml de soluție de apă oxigenată și 2 picături din reactivul indicator în barbotorul B și se neutralizează soluția de apă oxigenată cu soluție de hidroxid de sodiu 0,01M. Se conectează balonul la aparat.

Se barbotează cu aer (sau azot) timp de 15 minute.

Dioxidul de sulf eliberat este oxidat în acid sulfuric. Se îndepărtează barbotorul de aparat și se titrează acidul format cu soluție de hidroxid de sodiu 0,01M. Se notează cu n ml volumul utilizat.

Exprimarea rezultatelor

Dioxidul de sulf liber este exprimat în miligrame pe litru (mg/l), rotunjit la cel mai apropiat număr întreg.

Dioxidul de sulf liber, în miligrame pe litru (mg/l), este 6,4 n .

Determinarea dioxidului de sulf total

Pentru mustul concentrat rectificat, se folosește soluția obținută prin diluarea probei analizate la 40% (m/v), conform capitolului „Aciditatea titrabilă”, punctul 5.1.2. Se introduc 50 ml din această soluție și 5 ml de acid fosforic în balonul A de 250 ml al aparatului de antrenare. Se conectează balonul la aparat.

Pentru vinuri și musturi când concentrația estimată în probă nu depășește 50 mg de SO_2 total pe litru, se iau 50 ml din probă și 15 ml de acid fosforic în balonul de 250 ml al aparatului de antrenare. Se conectează balonul la aparat.

Pentru determinarea dioxidului de sulf în suc de struguri trebuie să se utilizeze 5 ml de soluție 25% (m/v) de acid fosforic.

Când concentrația estimată în probă depășește 50 mg de SO_2 total pe litru, se iau 20 ml din probă și 5 ml de acid fosforic în balonul de 100 ml al aparatului de antrenare. Se conectează balonul la aparat.

În barbotorul B se pun 2-3 ml soluție de apă oxigenată, 2 picături din reactivul indicator și se neutralizează soluția de perhid de oxigen, cum e descris mai sus; se aduce vinul din balon la fierbere, utilizând o flăcără mică de 4-5 cm înălțime, care trebuie să atingă direct fundul balonului. Nu se pune balonul pe o plasă de metal, ci pe un disc cu o deschizătură de aproximativ 30 mm diametru. Acest lucru este necesar pentru a evita supraîncălzirea substanțelor extractive, care se depozitează pe pereții balonului.

Se menține la fierbere în timp ce trece un curent de aer (sau azot). În 15 minute dioxidul de sulf total se antrenează în întregime și se oxidează. Acidul sulfuric format se determină prin titrarea cu soluție de hidroxid de sodiu 0,01M. Se notează cu n ml volumul utilizat.

Exprimarea rezultatelor

Must și vinuri: conținutul de dioxid de sulf total este exprimat în miligrame pe litru (mg/l);

Must concentrat rectificat: conținutul de dioxid de sulf total este exprimat în miligrame pe kilogram (mg/kg) din zaharurile totale, rotunjit la cel mai apropiat număr întreg.

Calculare

Pentru vinuri

Dioxidul de sulf total în miligrame per litru: probe cu conținut scăzut de bioxid de sulf (50 ml proba testată)

$$\frac{6,4 n}{16 n}$$

alte probe (20 ml probă testată)

Pentru mustul concentrat rectificat

Dioxidul de sulf total în miligrame pe kilogram (mg/kg) din zaharurile totale (50ml probă testată):

$$\frac{1600 \times n}{P}$$

unde,

P- procentajul concentrației (m/m) a zaharurilor totale.

Repetabilitatea (r)

50 ml probă testată < 50 mg/l;

$r = 1$ mg/l

20 ml probă testată > 50 mg/l;

$r = 6$ mg/l.

Reproductibilitate (R)

50 ml probă testată < 50 mg/l;

$R = 9$ mg/l

20 ml probă testată > 50 mg/l;

$R = 15$ mg/l.

3. Dioxidul de sulf molecular

3.1. Principiul metodei

Procentajul de bioxid de sulf molecular, H_2SO_3 în dioxidul de sulf liber, se calculează ca o funcție a pH, a concentrației alcoolice și a temperaturii.

Pentru o temperatură și concentrația alcoolică cunoscută:



$$[H_2SO_3] = \frac{L}{10^{(pH - pK_M) + 1}} \quad (1)$$

$$pK_M = pK_T - \frac{A\sqrt{I}}{I + B\sqrt{I}}$$

$$L = [H_2SO_3] + [HSO_3^-]$$

unde,

I - puterea ionică;

A și B - coeficienți care variază în funcție de temperatură și concentrația alcoolică;

K_T - constanta de disociere termodinamică: în tabelul I sînt date valori ale pK_T pentru diferite temperaturi și țării alcoolice;

K_M - constanta de disociere mixtă.

Luînd o valoare medie de 0,038 pentru forța ionică I, tabelul II prezintă valori ale lui pK_M pentru diferite temperaturi și concentrații alcoolice.

Conținutul de dioxid de sulf molecular calculat, folosind expresia (1) este prezentat în tabelul III, pentru diferite valori ale pH-ului, temperaturii și concentrației alcoolice.

3.2. Calculare

Dacă este cunoscut pH-ul vinului și concentrația alcoolică, procentul dioxidului de sulf molecular este prezentat în tabelul III, pentru o temperatură de $T^\circ C$. Se notează cu X, %.

Dioxidul de sulf molecular în miligrame pe litru (mg/l) constituie: $X \times C$,

unde C - conținutul de dioxid de sulf liber în mg/l.

Valori ale constantei de disociere termodinamică, pK_T

Tabelul I

Concentrația alcoolică % vol.	Temperatura ($^\circ C$)				
	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

Valori ale constantei de disociere mixtă pK_M ($I = 0,038$)

Tabelul II

Concentrația alcoolică % vol.	Temperatura ($^\circ C$)				
	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

Tabelul III
 Dioxidul de sulf molecular ca procent din dioxidul de sulf liber (I=0,038) funcție de pH,
 T°C și concentrația alcoolică

SO ₂ molecular SO ₂ liber (%)		T=20 °C		I=0,038	
pH	Concentrația alcoolică, (% 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

T=35 °C					
	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

8. Determinarea zaharurilor în vinuri prin metoda HPLC

8.1. MA-MD-AS 311-03-SUCRES

1. Domeniu de aplicare

Determinarea conținutului de fructoză, glucoză și zaharoză în vinuri și musturi prin metoda cromatografiei lichide de înaltă performanță (HPLC).

2. Principiul

Zaharurile și glicerina sînt determinate direct în vin prin metoda cromatografiei lichide de înaltă performanță cu detector refractometric.

3. Reactivi. Prepararea soluțiilor de reactivi:

apă demineralizată;

acetonitril – minimum de transmisie la

200 nm,

metanol -

etanol -

fructoză -

glucoză -

zaharoză D(+) -

glicerină -

azot -

helium -

puritate >99%;

puritate >99%;

95-96%;

puritate >99%;

puritate >99%;

puritate >99%;

puritate >99%;

puritate >99%;

puritate >99%.

3.1. Apa demineralizată filtrată pe o membrană de celuloză 0,45 μm cu ajutorul sistemului de filtrare.

3.2. Eluentul: cu ajutorul unui cilindru gradat se iau 800 ml de acetonitril într-un flacon de 1 litru, se adaugă 200 ml de apă, se degazează în permanentă cu heliu. În cazul sistemelor cu circuit închis (reîntoarcerea eluentului în flacon), amestecul este reînnoit săptămînal.

4. Echipamente:

baloane conice de 100 ml;

vase cilindrice de 100 ml;

vase cilindrice de 50 ml;

pipete automate de 10 ml;

con de ajustaj;

baloane cotate de 100 ml;

cilindru cu capacitatea de 1 l;

flacon de 1 l;

seringă de 20 ml;

sistem de filtrare;

portfiltre;

membrane de 0,45 μm din celuloză;

membrane de 0,8 μm din celuloză;

membrane de 1,2 μm din celuloză;

membrane de 5,0 μm din celuloză;

prefiltre din celuloză;

cartuș de filtrare din silice grefată cu grupări de octadecil (spre exemplu: Seppack C18);

peliculă, spre exemplu, Parafilm;

baloane conice de 10 ml;

cromatograf HPLC;

coloană alchilaminică de 5 μm și 250×4 mm.

Condiționarea coloanei: coloana este umplută și testată cu hexan. Se spală cu 50 ml de etanol, apoi cu 50 ml metanol, înainte de trecerea amestecului acetonitril:apă 80/20. Debitul inițial este de 0,1 ml/minută, ulterior acesta crește progresiv pînă la 1 ml/min.

Detectorul refractometric – se clătește celula de referință odată sau de două ori în zi cu eluent, se lasă pe aproximativ un sfert de oră pentru a stabili linia de fond. Se reglează la zero refractometrul.

Baie cu ultrasunete.

5. Pregătirea probelor

Probele supuse degazării cu azot sau într-o baie cu ultrasunete.

6. Modul de lucru

6.1. Pregătirea mostrei

6.1.1. Filtrarea

Se prelevează cu ajutorul unei seringi 25 ml de produs și se filtrează:

- vinul, printr-o membrană de 0,45 μm;

- mustul și vinul brut – prin prefiltre și printr-o serie de filtre.

Mustul se diluează de 5 ori. Se iau 20 ml din vinul sau mustul filtrat (diluat) cu ajutorul unei pipete automate de 10 ml, dotată cu con de ajustaj, se transferă cantitativ într-un balon cotate de 100 ml. Se aduce volumul la cotă cu apă demineralizată, se învelește balonul cu peliculă, se omogenizează.

6.1.2. Eliminarea compuşilor fenolici

Proba de vin sau must este trecută printr-un cartuș de filtrare C18.

Pregătirea cartușului C18 pentru filtrare: se trec în contrasens 10 ml de metanol, apoi 10 ml de apă demineralizată.

Trecerea probei prin cartușul C18: se clătește seringă de 10 ml cu aproximativ 2 ml de probă. Apoi se iau aproximativ 9 ml din proba de analizat, se unește cartușul cu capătul îngust al seringii și se trece proba prin cartuș; primii 3 ml se elimină, iar următorii 6 ml se plasează într-un balon conic de 10 ml.

După fiecare filtrare cartușul se clătește în contrasens cu 10 ml de metanol, apoi 10 ml de apă demineralizată. În acest caz, el poate fi reutilizat.

6.1.3. Curățarea veselei

Seringile și acul se clătesc cu apă demineralizată după fiecare probă. Portfiltrul se clătește cu apă caldă, apoi cu metanol. Se usucă în condiții de cameră.

6.2. Metoda de lucru

6.2.1. Condiții analitice:

faza mobilă acetonitril:apă 80:20, v/v;
debit 1 ml/minut;
volum injectat 20 µl.
detectorul reglat conform instrucțiunii aparatului.

6.2.2. Etalonare externă

Se prepară un amestec etalon sintetic din:

fructoză 10 g/l $\pm 0,01$ g/l;

glucoză 10 g/l $\pm 0,01$ g/l;

zaharoză 10 g/l $\pm 0,01$ g/l;

dacă este necesar de determinat și glicerina, se adaugă:

glicerină 10 g/l $\pm 0,01$ g/l.

Calculul factorilor de răspuns:

$$RF_i = S_i/C_i,$$

unde S_i - este suprafața picului componentului în soluția de calibrare;

C_i - concentrația componentului în soluția de calibrare.

7. Exprimarea rezultatelor

Calcularea concentrației în proba de analizat:

$$C_{pr.} = S_{pr.}/RF_i,$$

unde, $S_{pr.}$ - suprafața picului componentului în proba de analizat. Rezultatele se exprimă în g/l. Trebuie de luat în considerare diluțiile efectuate.

8. Controlul rezultatelor

Se efectuează o testare prin metoda de referință, cu introducerea probelor de referință printre cele de analizat.

9. Performanța metodei

Durata unei analize este de aproximativ 50 minute. Influența diferitor constituenți ai vinului: glicerina se separă în aceleași condiții ca și zaharurile. Astfel, se recomandă a o doză în cadrul aceleași reprize. Nici unul dintre componentii vinului nu eluează concomitent cu glucoza, fructoza și zaharoza.

Analiza este sensibilă la variația temperaturii, coloanele trebuie protejate cu un înveliș.

9.1. Limite de detectare și de cuantificare

$LD_{fructoza} = 0,12$ g/l

$LD_{glucoza} = 0,18$ g/l

$LC_{fructoza} = 0,4$ g/l

$LC_{glucoza} = 0,6$ g/l

9.2. Fidelitatea metodei

9.2.1. Repetabilitatea

Diferența absolută între două rezultate individuale pe același vin efectuate de același operator într-un interval scurt de timp nu va depăși valoarea repetabilității în mai mult de 5% de cazuri ($P=0,95$).

Pentru glucoză +fructoză: $G+F > 5$ g/l:

RSDr = 1%

Limita de repetabilitate $r=3\%$ (2,8 RSDr).

Pentru glucoză +fructoză: $G+F$ cuprins între 2 și 5 g/l:

RSDr = 3%

Limita de repetabilitate $r=8\%$ (2,8 RSDr).

9.2.2. Reproducibilitatea

Diferența absolută între două rezultate individuale pe același vin, obținute în două laboratoare, nu va depăși valoarea reproducibilității în mai mult de 5% de cazuri ($P=0,95$).

Pentru glucoză +fructoză: $G+F > 5$ g/l:

RSDr = 4%

Limita de reproductibilitate $R=10\%$ (2,8 RSDr)

Pentru glucoză +fructoză: $G+F$ cuprins între 2 și 5 g/l:

RSDr = 10%

Limita de reproductibilitate $r=30\%$ (2,8 RSDr).

9. Glucoza și fructoza

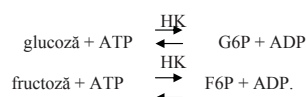
9.1. MA-MD-AS 311-02-GLUFRU

1. Definiție

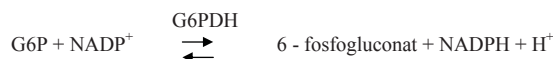
Glucoza și fructoza pot fi determinate individual printr-o metodă enzimatică, avînd ca unic obiectiv calcularea raportului glucoză/fructoză.

2. Principiul metodei

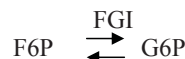
Glucoza și fructoza sint fosforilate cu adenosin trifosfat (ATP) printr-o reacție enzimatică catalizată de hexochinază (HK) și produce glucoză 6-fosfat (G6P) și fructoză 6-fosfat (F6P):



Glucoză 6-fosfat este oxidat într-o primă etapă în gluconat 6-fosfat de către nicotinamid adenin dinucleotid fosfat (NADPH) în prezența enzimei glucoză 6-fosfat dehidrogenază (G6PDH). Cantitatea de NADPH redus corespunde celei de glucoză 6-fosfat și, astfel, glucozei.



Cantitatea de nicotinamid adenin denucleotid fosfat redusă se determină din absorbția la 340 nm. La sfîrșitul acestei reacții fructoza 6-fosfat este transformată în glucoză 6-fosfat (G6P) prin acțiunea fosfoglucozei izomerizate



Glucoza 6-fosfat reacționează din nou cu nicotinamid adenin dinucleotid fosfat, pentru a rezulta gluconatul 6-fosfat și nicotinamid adenin dinucleotid fosfat redus care, în cele din urmă, se determină.

3. Aparatura

Spectrofotometru pentru determinări la 340 nm, lungimea de undă la care absorbția de NADPH redus este maximă. Deoarece sînt incluse măsurători absolute (adică nu sînt folosite diagrame de calibrare, dar standardizarea se efectuează în baza coeficientului de extincție a NADPH redus) trebuie controlate scala lungimilor de undă și valorile puterii de absorbție obținute de la aparat. În cazul în care nu este disponibil un astfel de spectrofotometru, se poate folosi un spectrofotometru cu o sursă cu spectru discontinuu pentru determinări la 334 nm sau la 365 nm.

Cuve de sticlă cu lungimea drumului optic de 1 cm sau cuve de unică folosință.

Pipete pentru soluțiile testului enzimatic de 0,02; 0,05; 0,1; 0,2 ml.

4. Reactivi

4.1. Soluția 1: soluție-tampon (trietanolamină 0,3 M, pH 7,6, $\text{Mg}^{2+} \times 4 \times 10^{-3}$ M): se dizolvă 11,2 g de clorhidrat de trietanolamină $[(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N HCl}]$ și 0,2 g $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ în 150 ml de apă bidistilată. Se adaugă aproximativ 4 ml de soluție de hidroxid de sodiu 5 M (NaOH) pentru a obține o valoare a pH-lui de 7,6 și se completează pînă la 200 ml. Soluția-tampon obținută poate fi păstrată timp de patru săptămîni la o temperatură de + 4 °C.

4.2. Soluția 2: soluție de NADPH (aproximativ $11,5 \times 10^{-3}$ M): se dizolvă 50 mg de sare disodică de nicotinamid adenin dinucleotidfosfat în 5 ml de apă bidistilată. Această soluție poate fi păstrată timp de patru săptămîni

la o temperatură de + 4 °C.

4.3. **Soluția 3:** soluție adenosin – 5'- trifosfat (aproximativ 81×10^{-3} M): se dizolvă 250 mg de sare disodică a adenosin – 5'- trifosfat și 250 mg bicarbonat de sodiu (NaHCO_3) în 5 ml de apă bidistilată. Această soluție poate fi păstrată patru săptămâni la o temperatură de + 4 °C.

4.4. **Soluția 4:** soluție hexochinază/glucoză 6-fosfat dehidrogenază: se amestecă 0,5 ml de hexochinază (2 mg de proteină/ml) cu 0,5 ml glucoză 6-fosfat dehidrogenază (1 mg de proteină/ml). Acest amestec se poate păstra timp de patru săptămâni la o temperatură de + 4 °C.

4.5. **Soluția 5:** soluție fosfoglucoză-izomerază (2 mg de proteină/ml). Suspensia este folosită nediluată. Această soluție poate fi păstrată timp de un an la o temperatură de + 4 °C.

Toate soluțiile indicate mai sus sînt disponibile în comerț.

5. Metoda de lucru

5.1. Pregătirea probei

În funcție de cantitatea estimată (de glucoză + fructoză) gram pe litru, proba se diluează după cum urmează:

Măsurare la 340 și 334 nm	Măsurare la 365 nm	Diluție cu apă	Factorul de diluție F
pînă la 4,0 g/l	0,8 g/l	-	1
pînă la 0,4 g/l	8,0 g/l	1+9	10
pînă la 10,0 g/l	20,0 g/l	1+24	25
pînă la 20,0 g/l	40,0 g/l	1+49	50
pînă la 40,0 g/l	80,0 g/l	1+99	100
peste 40,0 g/l	80,0 g/l	1 + 999	1000

5.2. Determinarea

Cu ajutorul spectrofotometrului reglat la o lungime de undă de 340 nm se efectuează măsurări folosind aerul (fără cuvă pe drumul optic) sau apa ca referință. Temperatura de la 20 pînă la 25 °C.

În două cuve cu drumul optic de 1 cm se introduc următoarele:

Soluții	Cuva de referință	Cuva cu probă
Soluția 1 (la 20 °C)	2,50 ml	2,50 ml
Soluția 2	0,10 ml	0,10 ml
Soluția 3	0,10 ml	0,10 ml
Probă pentru măsurare	-	0,20 ml
Apă bidistilată	0,20 ml	-

Se amestecă și, după aproximativ 3 minute, se citește absorbția soluției (A_1). Pentru a se declanșa reacția se adaugă:

Soluția 4 0,02 ml 0,02 ml

Se amestecă și se așteaptă 1 minută; se citește absorbția și se verifică dacă reacția s-a oprit în următoarele 2 minute (A_2). Se adaugă imediat:

Soluția 5 0,02 ml 0,02 ml

Se amestecă, se citește absorbția după 10 minute și se verifică după două minute dacă reacția s-a oprit (A_3).

Se calculează diferențele de absorbții:

$A_2 - A_1$ corespunzătoare conținutului glucozei,

$A_3 - A_2$ corespunzătoare conținutului fructozei,

pentru cuvele de referință și probe.

Se calculează diferențele de absorbție pentru cuva de referință (ΔA_r) și cuva probă (ΔA_p) se obține:

pentru glucoză: $\Delta A_g = \Delta A_p - \Delta A_r$

pentru fructoză: $\Delta A_f = \Delta A_p - \Delta A_r$

Timpul necesar pentru reacțiunea enzimelor, poate varia de la un lot la altul. Datele prezentate mai sus sînt informative. Se recomandă determinarea acestui timp pentru fiecare lot în parte.

5.3. Explicarea rezultatelor

5.3.1. Calculul

Formula generală pentru calculul concentrației C :

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

în care V- volumul de reactiv, ml (test), v – volumul de probă, ml, PM – masa moleculară a substanței determinate, d – drumul optic al cuvei, cm, ε – coeficientul de absorbție al NADPH, la 340 nm $\varepsilon = 6,3 \text{ (mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1})$; V= 2,92

ml pentru determinarea glucozei, V= 2,94 ml pentru determinarea fructozei, v = 0,20 ml, PM = 180, d = 1.

Se obține :

pentru glucoză : $C, \text{ g/l} = 0,417 \Delta A_g$

pentru fructoză: $C, \text{ g/l} = 0,420 \Delta A_f$

Dacă la prepararea probei s-au efectuat diluări, atunci rezultatul se multiplică cu factorul de diluție F.

Dacă măsurările s-au efectuat la lungimea de undă 334 sau 365 nm, atunci se obține:

- 334 nm: $\varepsilon = 6,2 \text{ (mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1})$;

pentru glucoză $C, \text{ g/l} = 0,425 \Delta A_g$

pentru fructoză $C, \text{ g/l} = 0,428 \Delta A_f$

- 365 nm: $\varepsilon = 3,4 \text{ (mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1})$;

pentru glucoză $C, \text{ g/l} = 0,773 \Delta A_g$

pentru fructoză $C, \text{ g/l} = 0,778 \Delta A_f$

5.3.2. Repetabilitatea (r)

$r = 0,056 x_i$

5.3.3. Reproducibilitatea (R)

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

x_i - conținutul de glucoză și fructoză în grame pe litru.

10. Acizii organici

10.1. MA-MD-AS 313-04-ACIORG

Acizii organici din vinuri pot fi separați simultan și determinați cantitativ prin cromatografia lichidă de înaltă performanță (HPLC).

1. Principiul metodei

Acizii organici din vin pot fi separați pe două tipuri de faze staționare: silice grefată cu octil și rășini schimbătoare de ioni. Acizii sînt detectați cu ajutorul detectorului spectrofotometric UV/VIS.

Pentru dozarea acizilor tartric și malic este preferabilă separarea pe coloană cu silice grefată cu octil, iar pentru separarea acizilor citric și lactic – separarea pe o coloană cu rășini schimbătoare de ioni. Analizele se efectuează în raport cu un etalon intern, care se analizează în aceleași condiții.

Metoda permite de a efectua concomitent analiza conținutului de acizi sîchimic, acetic, succinic și fumaric.

Pentru analiză pot fi luate diferite tipuri de coloane. Condițiile operatorii și modul de lucru de mai jos sînt prezentate în calitate de exemplu.

2. Echipamente

2.1. Dispozitiv de filtrare pe membrană de celuloză cu diametrul porilor de 0,45 μm

2.2. Coloană umplută cu silice grefată cu octadecil (exemplu.: Sep Pak WATERS ASS.)

2.3. Cromatograf HPLC echipat cu:

- injector cu buclă de 10 μl ;
- dispozitiv de termostatare;
- detector spectrofotometric pentru măsurarea absorbției la 210 nm;

- sistem de înregistrare cu integrator.

Condiții operaționale

2.3.1. Separarea acizilor citric, lactic și acetic:

- coloană cu rășini schimbătoare de cationit (H^+), puternice (exemplu: HPX-87 H BIO-RAD, lungimea de 300 mm, diametrul intern 7,8 mm, particule de 9 μm);

- faza mobilă - soluție de acid sulfuric 0,0125 M;

- debitul fazei mobile - 0,6 ml/minut;

- temperatura - 60-65°C (conform caracteristicilor cationitului).

2.3.2. Separarea acizilor tartric, malic, lactic, sîchimic, succinic și fumaric:

- două coloane (lungimea – 250 mm; diametrul intern – 4 mm) unite în serie, umplute cu silice grefată cu octil, în formă de particule sferice cu diametrul de 5 μm ;

- faza mobilă: soluție ce conține 70 g/l dihidrogenofosfat de potasiu, 14 g/l sulfat de amoniu, ajustată la pH 2,1 cu ajutorul acidului ortofosforic;

- debitul fazei mobile - 0,8 ml/minut;

- temperatura - 20 °C.

3. Reactivi:

apă distilată sau de calitate HPLC;
 metanol distilat;
 acid tartric;
 acid malic;
 lactat de sodiu;
 acid șichimic;
 acetat de sodiu;
 acid succinic;
 acid citric;
 acid fumaric;
 acid sulfuric ($\rho_{20}=1,84$ g/ml) ;
 soluție de acid sulfuric 0,0125 M;
 dihidrogenofosfat de potasiu KH_2PO_4 ;
 sulfat de amoniu $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$;
 acid ortofosforic, 85% ($\rho_{20}=1,71$ g/ml) ;
 soluție de referință: acid tartric (5 g/l), acid malic (5 g/l),
 lactat de sodiu (6,22 g/l), acid șichimic (0,05 g/l), acetat
 de sodiu (6,83 g/l), acid succinic (5 g/l), acid fumaric (0,01
 g/l) și acid citric (5 g/l).

4. Metoda de lucru

4.1. Prepararea probelor

Se spală în prealabil un cartuș cu 10 ml de metanol,
 apoi cu 10 ml de apă. Se degazează proba de vin sau
 must. Se filtrează pe o membrană cu diametrul porilor de
 0,45 μm .

Se prelevă 8 ml de eșantion filtrat cu o seringă clătită
 în prealabil cu proba de analizat; se transferă această
 cantitate în cartuș. Primii 3 ml se elimină, următorii 5 ml
 se selectează (se evită aducerea cartușului la sec).

4.2. Cromatografierea

Se injectează succesiv în cromatograf 10 μl soluție de
 referință și 10 μl de probă, preparată conform punctului 4.1.
 Injectarea probelor se repetă de 3 ori în aceeași succesiune.
 Se înregistrează cromatograma.

5. Calculul

5.1. Analiza calitativă

Se determină timpii de retenție pentru fiecare compus.
 Acizii organici din soluția de referință sînt separați în
 următoarea ordine:

- citric, tartric, malic, succinic + șichimic, lactic, fumaric,
 acetic, conform metodei descrise în punctul 2.3.1.;
- tartric, malic, șichimic, lactic, acetic, citric, succinic și
 fumaric conform metodei descrise în punctul 2.3.2.

5.2. Analiza cantitativă

Se măsoară suprafața fiecărui pic și se calculează
 media din trei măsurări pentru soluția de referință și proba
 de analizat. Se calculează conținutul acizilor organici în
 proba de analizat.

6. Exprimarea rezultatelor

Concentrația acizilor organici se exprimă prin următoarele
 modalități:

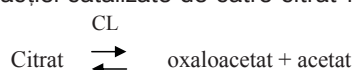
- în g/l cu decimale pentru acizii tartric, malic, lactic
 și succinic;
- în mg/l pentru acizii citric, acetic și fumaric.

11. Acidul citric

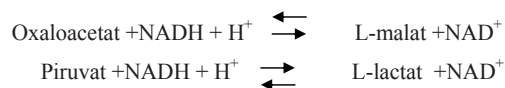
11.1 MA-MD-AS 313-09-ACIENZ

1. Principiul metodei

Acidul citric este transformat în oxaloacetat și acetat în
 rezultatul reacției catalizate de către citrat-liaza (CL):



În prezența malat-deshidrogenazei (MDH) și a lactat-
 deshidrogenazei (LDH) oxaloacetatul și derivatul său obținut
 în urma decarboxilării, piruvatul, sînt reduși în L-malat și
 L-lactat de către nicotinamid adenin dinucleotidă în formă
 redusă (NADH):



Cantitatea de NADH oxidat în NAD^+ în aceste reacții
 este proporțională conținutului de citrat prezent în probă.
 Oxidarea nicotinamid adenin dinucleotidei (NADH) este
 măsurată prin diminuarea absorbantei măsurate la 340
 nm.

2. Echipamente

2.1. Spectrofotometru pentru determinări la 340 nm,
 lungimea de undă la care absorbția NADH este maximă.
 Deoarece sînt incluse măsurători absolute (adică nu sînt
 folosite diagrame de calibrare, dar standardizarea se
 efectuează în baza coeficientului de extincție a NADH redus)
 trebuie controlate scala lungimilor de undă și valorile puterii
 de absorbție obținute de la aparat. În cazul în care nu
 este disponibil de spectrofotometru, se poate folosi un
 spectrofotometru cu o sursă cu spectru discontinuu pentru
 determinări la 334 nm sau la 365 nm.

2.2. Cuve din sticlă cu parcursul optic de 1cm sau cuve
 de unică folosință.

2.3. Micropipete care permit prelevarea volumelor de
 la 0,02 pînă la 2 ml.

3. Reactivi

3.1. Soluție tampon cu pH 7,8 (glicilglicină 0,51 M;
 Zn^{2+} : $0,6 \times 10^{-3}$ M): se dizolvă 7,13 g de glicilglicină în 70
 ml de apă bidistilată. Valoarea pH se ajustează la 7,8 cu
 aproximativ 13 ml soluție de hidroxid de sodiu 5 M.

Se adaugă 10 ml soluție de clorură de zinc ce conține
 80 mg ZnCl_2 în 100 ml și se aduce la volumul de 100 ml
 cu apă bidistilată. Soluția rămîne stabilă la o temperatură
 de +4°C timp de patru săptămîni.

3.2. Soluția de nicotinamid adenin dinucleotidă în formă
 redusă (NADH) aproximativ 6×10^{-3} M: se dizolvă 30 mg
 de NADH și 60 mg de NaHCO_3 cu 6 ml de apă bidistilată.
 Soluția este stabilă la o temperatură de +4°C timp de
 patru săptămîni.

3.3. Soluție de malat-deshidrogenază/lactat-deshidro-
 genază (MDH/LDH), (0,5 g MDH + 2,5 mg LDH/ml): se
 prepară un amestec din 0,1 ml MDH (5 g MDH/ml), 0,4
 ml soluție de sulfat de amoniu (3,2 M) și 0,5 ml LDH (5
 mg/ml). Suspensia obținută este stabilă timp de un an la
 o temperatură +4°C.

3.4. Soluție de citrat-liază CL (5 mg de proteină/ml).
 Se dizolvă 168 mg de liofilizat în 1 ml de apă cu gheață.
 Soluția obținută este stabilă timp de o săptămînă la o tempe-
 ratură de +4°C, iar în formă congelată poate fi păstrată 4
 săptămîni.

Se recomandă de a verifica activitatea enzimei înainte
 de dozare.

3.5. Polivinilpolipirrolidon (PVPP)

Setul de reactivi necesari pentru această dozare se
 poate procura din comerț.

4. Pregătirea probelor

Determinarea conținutului de acid citric se efectuează
 direct în vin, fără decolorare prealabilă și fără diluție, în
 caz dacă conținutul total de acid citric este inferior de 400
 mg/l. În caz contrar, vinul se diluează în proporție care să
 asigure un conținut de acid citric situat între 20 și 400
 mg/l (cantitatea de acid citric într-o alicuotă este cuprinsă
 între 5 - 80 μg).

În cazul vinurilor roșii, bogate în polifenoli, se recomandă
 tratarea prealabilă a probelor cu PVPP: se prepară o
 suspensie amestecînd cu apă circa 0,2 g de PVPP, se
 lasă să se limpezească timp de 15 minute, se filtrează
 printr-un filtru de hirtie.

Într-un balon conic de 50 ml, la 10 ml de vin se adaugă
 PVPP umed, strîns cu o spatulă de pe hîrtia de filtru. Se

agită 2-3 minute. Se filtrează.

5. Metoda de lucru

Se reglează spectrofotometrul la 340 nm. Măsurarea absorbantei se efectuează în cuve de 1 cm, cu reglarea absorbantei la zero față de aer (fără a plasa cuva în calea traiectoriei luminii).

În cuvele de 1 cm se introduc:

	Proba martor, ml	Proba de analizat, ml
Soluție tampon, punctul 3.1.	1,00	1,00
Soluție NADH, punctul 3.2.	0,10	0,10
Proba de analizat	-	0,20
Apă bidistilată	2,00	1,80
Soluție MDH/LDH, punctul 3.3.	0,02	0,02

Se agită minuțios; după 5 minute se măsoară absorbanta soluției martor și a soluției de analizat (A₁). Apoi se adaugă:

Soluție de citrat liază,
punctul 3.4 0,02 ml 0,02 ml

Se agită minuțios, după 5 minute se măsoară absorbanta soluției martor și a soluției de analizat (A₂).

Se determină diferența absorbantei $A_2 - A_1$ pentru martor (ΔA_T) și pentru probă (ΔA_p) și se calculează:

$$\Delta A = (\Delta A_p) - (\Delta A_T)$$

Timpul necesar pentru acțiunea enzimelor poate să varieze de la un lot de reactivi la altul, astfel indicațiile de mai sus au titlu indicativ. Se recomandă de a determina durata de timp optimă pentru fiecare lot în parte.

6. Exprimarea rezultatelor

Conținutul acidului citric se exprimă, de regulă, în miligrame pe litru (mg/l) fără zecimale.

6.1. Modul de calcul

Concentrația în miligrame pe litru (mg/l) este calculată conform formulei următoare:

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

unde, V - volumul probei martor (aici 3,14 ml);

v - volumul probei de analizat (aici 0,2 ml);

M - masa moleculară a substanței analizate (aici $M_{\text{acid citric}} = 192,1$);

δ - parcursul optic al cuvei (aici 1 cm);

ε - coeficientul molar de absorbție al NADH la 340 nm (aici $\varepsilon = 6,3 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$).

Obținem:

$$C = 479 \Delta A$$

Dacă a fost efectuată vreo diluție în timpul pregătirii probei, rezultatul se multiplică cu factorul de diluție.

Pentru măsurările efectuate la 334 nm: $C = 488 \Delta A$ ($\varepsilon = 6,3 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$)

Pentru măsurările efectuate la 365 nm: $C = 887 \Delta A$ ($\varepsilon = 3,4 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$)

6.2. Repetabilitatea (r)

Pentru un conținut de acid citric inferior de 400 mg/l $r = 14 \text{ mg/l}$.

Pentru un conținut de acid citric superior de 400 mg/l $r = 28 \text{ mg/l}$.

6.3. Reproducibilitatea (R)

Pentru un conținut de acid citric inferior de 400 mg/l $R = 39 \text{ mg/l}$.

Pentru un conținut de acid citric superior de 400 mg/l $R = 65 \text{ mg/l}$.

12. Acidul tartric

12.1. MA-MD-AS 313-05-ACITAR

1. Principiul metodei

1.1. Metoda de referință

Acidul tartric, precipitat în formă de racemat de calciu, se determină prin metoda gravimetrică. Analiza poate fi completată printr-o dozare volumetrică de comparație. Condițiile de precipitare: pH, volumul total de probă și concentrația ionilor precipitanți sînt selectate astfel încît

precipitarea racematului de calciu este totală, în timp ce D(-) tartratul de calciu rămîne în soluție.

Dacă la vin a fost adăugat acidul metatartric, care cauzează precipitarea incompletă a racematului de calciu, este necesar un tratament prealabil prin hidroliză.

1.2. Metoda uzuală

Acidul tartric, separat la trecere printr-o coloană de anionit, este dozat colorimetric din eluat, în care la adăugarea acidului vanadic se formează o culoare roșie. Prezența în eluat a acizilor lactic și malic nu genează dozarea acidului tartric.

2. Metoda de referință

2.1. Metoda gravimetrică

2.1.1. Reactivi

Soluție de acetat de calciu care conține 10 g/l de calciu: carbonat de calciu CaCO_3 25 g
acid acetic (CH_3COOH) ($\rho_{20} = 1,05 \text{ g/ml}$) 40 ml
apă distilată pînă la 1000 ml

Racemat de calciu cristalohidrat $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$: într-un pahar cilindric de 400 ml se introduc 20 ml soluție de acid L(+) tartric (5 g/l), 20 ml soluție de D(-) tartrat de amoniu (6,126 g/l) și 6 ml soluție de acetat de calciu (10 g/l). Se lasă să se precipite pentru 2 ore. Se separă precipitatul cu ajutorul unui creuzet filtrant de porozitate nr. 4, se spală în trei reprize cu aproximativ 30 ml de apă distilată. Se usucă la o temperatură de 70 °C pînă la o masă constantă. Masa racematului de calciu cristalizat obținut din cantitățile de reactivi indicate este de aproximativ 340 mg. Substanța obținută se păstrează într-un vas de sticlă închis.

Soluție precipitant (pH 4,75):

D(-) tartrat de amoniu 150 mg;
soluție de acetat de calciu 8,8 ml;
care conține 10 g/l de calciu pînă la 1000 ml.
apă distilată pînă la 1000 ml.

Se dizolvă D(-) tartratul de amoniu în 900 ml de apă; se adaugă 8,8 ml de soluție de acetat de calciu și se aduce la 1 litru. Se adaugă 5 mg de racemat de calciu la litru, se agită soluția timp de 12 ore, apoi se filtrează.

2.1.2. Metoda de lucru

Pentru vinuri fără adaos de acid metatartric

Într-un vas cilindric de 600 ml se introduc 500 ml de soluție precipitant și 10 ml de vin. Se agită, apoi se inițiază precipitarea prin acțiunea unei baghete de sticlă asupra pereților vasului. Soluția este lăsată să se precipite pentru 12 ore (pe noapte).

Se separă precipitatul cu ajutorul unui creuzet filtrant de porozitate nr. 4, preventiv cîntărit, cu spălarea minuțioasă a vasului, în care s-a efectuat precipitarea, pentru a diminua pierderile.

După uscarea pînă la o masă constantă (70°C), precipitatul se cîntărește (p - masa racematului de calciu cristalizat $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$).

Pentru vinuri cu adaos de acid metatartric

Pentru un vin cu un adaos de acid metatartric, sau este bănuie acest fapt, se efectuează hidroliza acestui acid în modul următor: într-un balon conic de 50 ml se introduc 10 ml de vin și 0,4 ml acid acetic pur. Balonul este închis cu un dop traversat de un tub de evacuare a vaporilor, și se fierbe timp de 30 minute. După răcire, lichidul se trece cantitativ în două reprize cu cîte 5 ml apă din balonul conic într-un vas cilindric și supus analizei conform punctului 2.1.2 „Modul de lucru”. Acidul metatartric este considerat în rezultatele dozării drept acid tartric.

2.1.3. Exprimarea rezultatelor

O moleculă de racemat de calciu corespunde la 0,5 molecule de acid L(+) tartric din vin.

Cantitatea de acid tartric dintr-un litru de vin, exprimată în miliechivalenți, este egală cu $384,5 p$, se exprimă cu zecimale.

Cantitatea de acid tartric dintr-un litru de vin, exprimată în grame de acid tartric, este egală cu $28,84 p$, se exprimă cu zecimale.

Cantitatea de acid tartric dintr-un litru de vin, exprimată

în grame de tartar acid de potasiu, este egală cu 36,15 p , se exprimă cu zecimale.

2.2. Dozarea volumetrică de comparație

2.2.1. Reactivi:

Acid clorhidric (HCl) ($\rho_{20}=1,18 - 1,19$ g/ml), diluat 1/5 (v/v)

Soluție EDTA 0,05 M:

EDTA ($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \times 2H_2O$) 18,61 g
 apă distilată pînă la 1000 ml

Soluție de hidroxid de sodiu de 40% (m/v):

hidroxid de sodiu (NaOH) 40 g

apă distilată, pînă la 100 ml

Indicator:

acid calcon carbonic sau acid 2-hydroxy-4-sulfo-1-naftylazo-3-naphtoic ($C_{21}H_{14}H_2O_7S \times H_2O$) 1 g

sulfat de sodiu anhidru (Na_2SO_4) 100 g

2.2.2. Metoda de lucru

După cîntărire se dizolvă precipitatul de racemat de calciu cu 10 ml de acid clorhidric diluat. Se spală creuzetul cu 50 ml de apă distilată. Se adaugă 5 ml soluție de hidroxid de sodiu de 40% și aproximativ 30 mg de indicator. Se titrează cu soluție EDTA 0,05 M. Se notează, n numărul de ml consumați la titrare.

2.2.3. Exprimarea rezultatelor

Cantitatea de acid tartric dintr-un litru de vin, exprimată în miliechivalenți: $5n$, se exprimă cu zecimale.

Cantitatea de acid tartric dintr-un litru de vin, exprimată în grame de acid tartric: $0,375n$, se exprimă cu zecimale.

Cantitatea de acid tartric dintr-un litru de vin, exprimată în grame de tartar acid de potasiu: $0,470 n$, se exprimă cu zecimale.

3. Metoda uzuală

3.1. Echipamente

3.1.1. Coloană de sticlă de 300 mm lungime cu diametrul interior de 10-11 mm cu robinet.

3.1.2. Spectrofotometru care permite măsurarea absorbantei la 490 nm, cu cuve de 10 mm.

3.2. Reactivi

3.2.1. Pentru tratarea preliminară a vinului

Acid acetic ($\rho_{20}=1,05$ g/ml) diluat la 30 % (v/v).

Anionit bazic forte în formă de acetat (de exemplu, anionit III după Merck 20-50 mes). Se prepară o suspensie de anionit (aproximativ 100g) în 200 ml de acid acetic diluat la 30% (v/v). Se lasă pentru cel puțin 24 de ore înainte de utilizare; pentru testările ulterioare anionitul se păstrează în soluție de acid acetic de 30% (v/v).

Acid acetic ($\rho_{20}=1,05$ g/ml) diluat la 0,5% (v/v).

Soluție de sulfat de sodiu cu un conținut de 7,1 g/100 ml (0,5 M): se dizolvă 71 g de Na_2SO_4 anhidru în apă distilată și se aduce la 1 l.

3.2.2. Pentru determinarea acidului tartric

Soluție de acetat de sodiu ($NaCH_3COO$), de 27% (m/v): se dizolvă 270 g acetat de sodiu anhidru ($NaCH_3COO$) în apă distilată și se aduce la 1 l.

Reactiv vanadic: se dizolvă 10 g metavanadat de amoniu (NH_4VO_3) în 150 ml soluție de hidroxid de sodiu 1 M. Soluția se transferă într-un balon cotate de 500 ml, se adaugă 200 ml acetat de sodiu de 27 %. Se aduce la 500 ml cu apă distilată.

Soluție de acid sulfuric, 1M.

Soluție de acid sulfuric, 0,5M.

Soluție de acid sulfuric, 0,05M.

Soluție de acid periodic 0,05M: într-un balon cotate de 1000 ml se plasează 10,696 g de metaperiodat de sodiu $NaIO_4$, 50 ml de acid sulfuric 0,5 M și se completează pînă la 1 l cu apă distilată.

Soluție de glicerină, 10% (m/v): într-un balon cotate de 100 ml se plasează 10 g de glicerină, se completează pînă

la cotă cu apă distilată.

Soluție de sulfat de sodiu cu un conținut de 7,1 g/100 ml (0,5 M).

Soluție de acid tartric, 1 g/l: într-un balon cotate de 500 ml se introduc 0,5 g acid tartric, 6,66 ml soluție de hidroxid de sodiu 1M și se completează pînă la cota cu soluție de sulfat de sodiu 7,1 g/100 ml (0,5 M)

Soluție de hidroxid de sodiu, NaOH, 1M.

3.3. Metoda de lucru

3.3.1. Pregătirea coloanei de anionit

Într-o coloană de sticlă se introduce un tampon din vată de sticlă. Se impregnează cu apă distilată. În coloană se toarnă 10 ml de suspensie de anionit în formă de acetat. Se decantează. Se introduce un tampon din vată de sticlă pe suprafața anionitului pentru a evita trecerea lui în suspensie la spălarea ulterioară. Anionitul servește doar pentru o singură operație.

3.3.2. Separarea acizilor organici

Se deschide robinetul și se lasă să se scurgă soluția de acid acetic pînă ce nivelul lichidului este cu 2-3 mm mai sus de tamponul din vată de sticlă superior.

Se adaugă 10 ml de soluție de acid acetic de 0,5 %. Se lasă să se scurgă lichidul pînă la nivelul indicat. Se repetă operația de 4 ori.

După ultima operație de spălare, se închide robinetul, se toarnă în coloană 10 ml de vin sau must. Se deschide robinetul și se lasă să se scurgă lichidul (1 picătură pe secundă) pînă ce nivelul lichidului este cu 2-3 mm mai sus de nivelul anionitului. Se adaugă în coloană 10 ml 0,5 % acid acetic, se lasă să se scurgă ca și în cazul precedent, repetind spălarea de 7 ori, utilizînd de fiecare dată cîte 10 ml apă.

După ultima spălare se închide robinetul îndată ce nivelul lichidului se află puțin mai sus de nivelul de sus al tamponului.

Se eluează acizii fixați pe anionit cu ajutorul soluției de sulfat de sodiu de 7,1%; eluatul se colectează într-un balon cotate de 100 ml pînă la cotă.

3.3.3. Determinarea acidului tartric

În două baloane conice a și b se iau cîte 20 ml de eluat. Balonul a servește pentru dozarea acidului tartric, iar balonul b , în care acidul tartric se distruge cu acidul periodic, constituie martorul.

În balonul a se introduc: 2 ml de acid sulfuric 1M, 5 ml de acid sulfuric 0,05 M, 1 ml soluție de glicerină de 10%.

În balonul b se introduc: 2 ml de acid sulfuric 1M, 5 ml soluție de acid periodic 0,05 M. După 15 minute se adaugă 1 ml 10 % glicerina pentru a distruge excesul de acid periodic. Se lasă pe 2 minute.

După 2 minute, se toarnă prin agitare, inițial în proba b , apoi în proba a , cîte 5 ml de reactiv vanadic. Imediat se introduce cronometrul, iar soluțiile sînt plasate în cuvele spectrofotometrului. Exact peste 90 secunde se măsoară absorbanta probei a în raport cu martorul (proba b) la 490 nm.

În cazul în care cantitatea de acid tartric este în exces și valoarea absorbantei este prea mare, se diluează eluatul cu soluție de sulfat de sodiu de 7,1%, apoi se efectuează măsurările pe soluția diluată.

Pentru vinuri cu adaos de acid metatartric

Cînd este cunoscut că la un vin s-a adăugat acid metatartric, sau este bănuie acest fapt, se efectuează hidroliza acestui acid, conform procedurii descrise în metoda de referință.

După răcire, proba, precum și apa folosită la clătirea vasului (cîte 5 ml de două ori) sînt trecute cantitativ în coloana de anionit, urmînd procedura descrisă mai sus.

Acidul metatartric este considerat în rezultatele dozării drept acid tartric.

3.3.4. Trasarea curbei de etalonare

În baloane cotate de 100 ml se introduc, respectiv, 10, 20, 30, 40 și 50 ml soluție de acid tartric cu concentrația de 1 g/l, se aduc la cotă cu soluție de sulfat de sodiu de 7,1%. Concentrațiile acestor soluții corespund eluatelor obținute din vinuri cu conținut respectiv de 1,2,3,4 și 5 g/l de acid tartric.

În două baloane conice *a* și *b* se introduc câte 20 ml de aceste soluții și se efectuează analiza conform procedurii descrise pentru eluatul de vin.

Curba de etalonare a dependenței absorbantei de conținutul acidului tartaric prezintă o dreaptă, care poate fi extrapolată către zero. În caz de necesitate, se repetă procedura pentru probe cu un conținut de acid tartric inferior de 1,0 g/l.

3.4. Exprimarea rezultatelor

Pentru a determina conținutul de acid tartric se folosește curba de etalonare. Conținutul de acid tartric în vin se exprimă în grame pe litru (g/l), cu o zecimală.

13. Acidul lactic

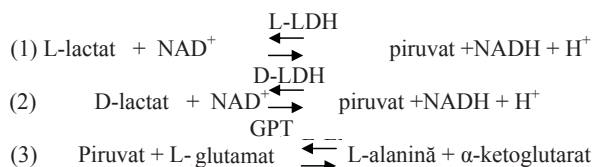
13.1. MA-MD-AS 313-07-ALAENZ

1. Principiul metodei

1.1. Metoda de referință

În prezența nicotinamid adenin dinucleotidei (NAD) acidul lactic total (L-lactat și D-lactat) este oxidat în piruvat în urma reacției catalizate de L-lactat dehidrogenază (L-LDH) și D-lactat dehidrogenază (D-LDH). Echilibrul reacției este deplasat spre lactat. Eliminarea piruvatului din mediul de reacție deplasează echilibrul în direcția formării piruvatului.

În prezența L-glutamatului piruvatul este transformat în L-alanină; reacția este catalizată de către glutamat-piruvat-transaminaza (GPT).



Cantitatea de NADH, măsurată de creșterea absorbției la lungimea de undă de 340 nm, este proporțională cu cantitatea de lactat prezentă inițial.

Acidul L-lactic poate fi determinat independent utilizând reacțiile (1) și (3), iar acidul D-lactic poate fi determinat în mod similar, utilizând reacțiile (2) și (3).

1.2. Metoda uzuală

Acidul lactic se separă prin trecerea printr-o coloană cu rășină de schimb ionic, se oxidează la etanal și se determină prin colorimetrie după reacția cu nitroprusiat de sodiu și piperidină.

2. Metoda de referință

2.1. Reactivi

Apă bidistilată.

2.1.1. Soluție tampon, pH 10 (glicilglicină 0,6 mol/l; L-glutamat 0,1 mol/l): se dizolvă 4,75 g de glicilglicină și 0,88 g de acid L-glutamic în aproximativ 50 ml de apă bidistilată; se ajustează pH-ul la 10 cu cîțiva mililitri de hidroxid de sodiu 10 M și se aduce la volumul 60 ml cu apă bidistilată. Această soluție rămâne stabilă 12 săptămîni la o temperatură de +4 °C.

2.1.2. Soluție de nicotinamid adenin dinucleotidă (NAD), apoximativ 40×10^{-3} M: se dizolvă 900 mg NAD în 30 ml apă bidistilată. Această soluție rămâne stabilă 4 săptămîni la o temperatură de +4°C.

2.1.3. Soluție de glutamat piruvat transaminază (GPT)

20 mg/ml. Suspensia rămîne stabilă un an la o temperatură de +4°C.

2.1.4. Suspensie de L-lactat dehidrogenază (L-LDH), 5 mg/ml. Această suspensie rămîne stabilă un an la o temperatură de 4°C.

2.1.5. Suspensie de D-lactat dehidrogenază (D-LDH), 5 mg/ml. Această suspensie rămîne stabilă un an la o temperatură de +4°C.

Se recomandă înainte de determinare verificarea activității enzimei.

Toți reactivii sînt disponibili în comerț.

2.2. Echipamente

2.2.1. Spectrofotometru pentru determinări la 340 nm, lungimea de undă la care absorbția NADH redus este maximă. Deoarece sînt incluse măsurători absolute (adică nu sînt folosite diagrame de calibrare, dar standardizarea se efectuează în baza coeficientului de extincție a NADH redus) trebuie controlate scala lungimilor de undă și valorile puterii de absorbție obținute de la aparat. În cazul în care nu este disponibil spectrofotometru, se poate folosi un spectrofotometru cu o sursă cu spectru discontinuu pentru determinări la 334 nm sau la 365 nm.

2.2.2. Cuve din sticlă cu parcursul optic de 1 cm sau cuve de unică folosință.

2.2.3. Micropipete care permit prelevarea volumelor de la 0,02 pînă la 2 ml.

2.3. Pregătirea probei

Nici o parte a sticlăriei care intră în contact cu amestecul de reacție nu trebuie atinsă cu degetele, pentru că aceasta poate introduce acid L-lactic și poate astfel conduce la rezultate eronate.

Determinarea lactatului este efectuată în mod normal direct pe vin, fără decolorarea prealabilă și fără diluare în cazul în care conținutul acidului lactic este mai mică de 100 mg/l. Dacă concentrația acidului lactic se situează între: 100 mg/l și 1 g/l, vinul se diluează 1/10 cu apă bidistilată; 1 g/l și 2,5 g/l, se diluează 1/25 cu apă bidistilată; 2,5 g/l și 5 g/l, se diluează 1/50 cu apă bidistilată.

2.4. Metoda de lucru

2.4.1. Determinarea acidului lactic total

Soluția tampon trebuie să fie la o temperatură între 20 și 25 °C înainte de a trece la determinare.

Spectrofotometrul se reglează la lungimea de undă de 340 nm, se determină absorbția folosind cuve cu drum optic de 1 cm, cu aerul ca standart de absorbție zero (referință) (fără cuvă în drumul optic) sau cu apă.

În cuvă cu drum optic de 1 cm se pun:

	Cuvă de referință (ml)	Cuvă cu probă (ml)
soluția 2.1.1.	1,00	1,00
soluția 2.1.2.	0,20	0,20
apă bidistilată	1,00	0,80
suspensia 2.1.3.	0,02	0,02
proba de măsurat	-	0,20

Se amestecă folosind un agitator de sticlă sau o baghetă din material sintetic cu un capăt turtit; după cinci minute se măsoară absorbția soluțiilor din cuvele de referință și pentru probă (A_1).

Se adaugă 0,02 ml soluție 2.1.4 și 0,05 ml soluție de la punctul 2.1.5., se omogenizează, se așteaptă terminarea reacției (aproximativ 30 minute) și se determină puterea de absorbție a soluțiilor din cuvele de referință și pentru probă (A_2).

Se calculează diferențele ($A_2 - A_1$) dintre absorbțiile soluțiilor din cuvele de referință ΔA_r și pentru probă ΔA_D . La final se calculează diferența dintre ele:

$$\Delta A = \Delta A_D - \Delta A_r$$

2.4.2. Determinarea acidului L-lactic și a acidului D-lactic

Determinarea acidului L-lactic și a acidului D-lactic pot fi efectuate independent aplicând procedura pentru determinarea acidului lactic total, numai după ce a fost determinat A_1 și continuând apoi după cum urmează:

Se adaugă 0,02 ml de soluție 2.1.4., se omogenizează, se așteaptă pînă la terminarea reacției (aproximativ 20 minute) și se determină absorbția din cuvele de referință și pentru probă (A_2).

Se adaugă 0,05 ml de soluție 2.1.5., se omogenizează, se așteaptă pînă la terminarea reacției (aproximativ 30 minute) și se determină absorbția din cuvele de referință și pentru probă (A_3).

Se calculează diferențele ($A_2 - A_1$) pentru acid L-lactic și ($A_3 - A_2$) pentru acid D-lactic între absorbțiile soluțiilor din cuvele de referință ΔA_r și pentru probă ΔA_p .

La final se calculează diferența:

$$\Delta A = \Delta A_p - \Delta A_r$$

Timpul necesar pentru finalizarea acțiunii enzimelor poate varia de la un lot la altul. Valoarea de mai sus este dată numai orientativ și se recomandă determinarea ei pentru fiecare lot. Cînd se determină acidul L-lactic singur, timpul de incubare după adăugarea L-lactodehidrogenazei poate fi redus la 10 minute.

2.5. Expri m a r e a r e z u l t a t e l o r

Concentrația acidului lactic se exprimă în grame la litru (g/l), cu o cifră zecimală.

2.5.1. Metoda de calcul

Formula pentru calcularea concentrației în grame pe litru este:

$$C = \frac{V \times M}{\varepsilon \times \delta \times v \times 1000} \times \Delta A$$

unde:

V – volumul soluției test în ml ($V=2,24$ ml pentru acidul L-lactic, $V=2,29$ ml pentru acidul D-lactic și acidul lactic total);

v – volumul probei în ml (aici, 0,2 ml);

M – masa moleculară a substanței de determinat (aici, pentru acid DL-lactic, $M=90,08$);

δ – drumul optic în cuvă în cm (aici, 1 cm);

ε – coeficientul de absorbție a NADH (la 340 nm $\varepsilon = 6,3 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$);

Acidul lactic total și acidul D-lactic

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

Dacă proba a fost diluată în timpul pregătirii, rezultatul se înmulțește cu factorul de diluare:

- determinarea la 334 nm: $C=0,167 \times \Delta A$, ($\varepsilon = 6,2 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$);

- determinarea la 365 nm: $C=0,303 \times \Delta A$, ($\varepsilon = 3,4 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$);

Acidul L-lactic

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

Dacă proba a fost diluată în timpul pregătirii, rezultatul se înmulțește cu factorul de diluare:

- determinare la 334 nm: $C=0,163 \times \Delta A$, ($\varepsilon = 6,2 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$);

- determinare la 365 nm: $C=0,297 \times \Delta A$, ($\varepsilon = 3,4 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$).

2.5.2. Repetabilitatea (r)

$$r = 0,02 + 0,07 x_i$$

x_i – este concentrația acidului lactic în probă în g/l.

2.5.3. Reproducibilitatea (R)

$$R = 0,05 + 0,125 x_i$$

x_i – este concentrația acidului lactic în probă în g/l.

14. Acidul malic total

14.1. MA-MD-AS 313-10-AMALTO

1. Principiul metodei

Acidul malic, separat cu ajutorul unei coloane de anionit, se determină colorimetric. Determinarea conținutului de

acid malic se efectuează după intensitatea culorii galbene, obținute prin tratarea eluatului cu acid sulfuric de 96% și acid cromotrop. Pentru a exclude interferențele posibile, o probă similară celei analizate este tratată cu amestec de acid sulfuric (86%) și acid cromotrop, iar absorbanta obținută este sustrasă din absorbanta inițială, diferența fiind atribuită în exclusivitate acidului malic.

2. Echipamente

2.1. Coloană de sticlă de aproximativ 250 mm lungime și 35 mm diametrul interior, dotată cu robinet.

2.2. Coloană de sticlă de aproximativ 300 mm lungime și 10-15 mm diametrul interior, dotată cu robinet.

2.3. Baie de apă, 100 °C.

2.4. Spectrofotometru care permite măsurarea densității optice la 420 nm dotat cu cuve de 10 mm.

3. Reactivi:

anionit bazic forte (spre exemplu Merck III);

hidroxid de sodiu de 5% (m/v);

acid acetic de 30 % (m/v);

acid acetic de 0,5 % (m/v);

soluție de sulfat de sodiu de 10% (m/v);

acid sulfuric concentrat de 95-97% (m/m);

acid sulfuric de 86% (m/m).

Soluția de acid cromotrop de 5% (m/v): se pregătește înainte de fiecare dozare prin dizolvarea a 500 mg de cromotropat de sodiu ($\text{C}_{10}\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$) în 10 ml de apă distilată.

Soluția de acid DL-malic ce conține 0,5 g/l : se dizolvă 250 mg de acid malic ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_5$) într-o cantitate suficientă de soluție de sulfat de sodiu de 10% și se aduce volumul la 500 ml cu această soluție (sulfat de sodiu de 10%).

4. Metoda de lucru

4.1. Pregătirea anionitului

Se plasează în coloana de sticlă 35 × 250 mm deasupra robinetului un tampon din vată de sticlă impregnat cu apă distilată. Se toarnă anionitul în formă de suspensie în coloană astfel încît să rămînă un spațiu liber de 50 mm deasupra anionitului.

Se clătește anionitul cu 1000 ml de apă distilată. Se spală coloana cu soluție de hidroxid de sodiu de 5 % și se lasă să se scurgă pînă la 2-3 mm de la suprafața anionitului, se repetă cu 2 spălări ulterioare cu hidroxizi de sodiu de 5%, se lasă în contact anionitul cu soluția pentru 1 oră. Ulterior se spală anionitul cu 1000 ml de apă distilată.

Ulterior, se umple coloana cu soluție de acid acetic de 30%, se lasă să se scurgă lichidul pînă la 2-3 mm de la suprafața anionitului. Se repetă operația de 2 ori, apoi se lasă în contact pentru 24 ore înainte de utilizarea coloanei. Coloana utilizată se păstrează în soluție de 30% de acid acetic pînă la dozările ulterioare.

4.2. Pregătirea coloanei de anionit

Se plasează în coloana de sticlă 11 × 300 mm deasupra robinetului un tampon din vată de sticlă impregnat cu apă distilată. Se toarnă în coloană anionit pregătit conform punctului 4.1., la o înălțime de 10 cm. Se lasă să se scurgă acidul acetic de 30% pînă la 2-3 mm deasupra anionitului, apoi se spală anionitul cu 50 ml de acid acetic de 0,5%.

4.3. Separarea acidului DL-malic

În coloana pregătită conform punctului 4.2., se toarnă 10 ml de vin sau must. Se lasă să se scurgă vinul sau mustul (debitul mediu – 1 picătură/secundă) pînă la 2-3 mm deasupra anionitului, apoi se spală anionitul cu 50 ml de acid acetic de 0,5% și cu 50 ml de apă distilată (debitul mediu – 1 picătură/secundă).

Eluarea acizilor fixați pe coloană se efectuează cu soluție de sulfat de sodiu de 10% (debitul mediu – 1 picătură/secundă). Eluatul se colectează într-un balon cotat de 100 ml, volumul fiind adus la cotă.

Regenerarea anionitului se efectuează conform procedurii descrise în punctul 4.1.

4.4. Dozarea DL - acidului malic

Se iau două eprubete de 30 ml cu dop rodat A și B. Se introduc în fiecare din eprubete câte 1,0 ml de eluat, câte 1,0 ml soluție de acid cromotropic de 5%. Se adaugă în eprubeta A 10,0 ml soluție de acid sulfuric de 86% (martor), iar în eprubeta B - 10,0 ml de acid sulfuric concentrat (proba de analizat). Se închid și se agită soluțiile pentru a obține omogenitate perfectă, dar fără a înmuia rodajul.

Se plasează eprubetele pe 10 minute în baia preventiv adusă la fierbere. Se răcesc eprubetele până la 20 °C într-un loc întunecos. Exact peste 90 minute de la începutul răcirii se măsoară absorbanta soluției din eprubeta B în raport cu soluția din eprubeta A la lungimea de undă de 420 nm în cuve de 1 cm.

4.5. Trasarea curbei de etalonare

Se iau, respectiv, 5, 10, 15 și 20 ml soluție de acid malic de 0,5 g/l, se plasează în baloane cotate de 50 ml și se aduce volumul la cotă cu soluție de sulfat de sodiu de 10%. Soluțiile astfel preparate corespund conținutului de acid malic în vin de, respectiv, 0,5 ; 1,0 ; 1,5 și 2,0 g/l. Analiza se efectuează conform indicațiilor din punctul 4.4.

Valorile absorbantei obținute în funcție de concentrația acidului malic formează o dreaptă care se extrapolează la origine.

Deoarece intensitatea culorii depinde esențial de concentrația acidului sulfuric, este necesar de a verifica cel puțin un punct de pe curba de etalonare pentru fiecare serie de măsurări, pentru a scoate în evidență posibilele modificări parvenite din cauza acestui factor.

5. Exprimarea rezultatelor

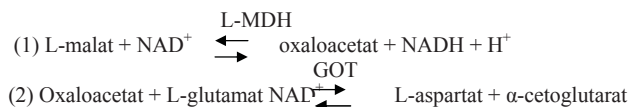
Conținutul de acid DL-malic din eluat este obținut din curba de etalonare în g/l cu zecimale.

14.2. MA-MD-AS 313-11-ALMENZ

1. Principiul metodei

În prezența nicotinamid adenin dinucleotidei (NAD) acidul L-malic (L-malat) este oxidat în oxaloacetat în urma reacției catalizate de L- malatdehidrogenaza (L-MDH).

Echilibrul reacției este deplasat spre malat. Eliminarea oxaloacetatului din mediul de reacție deplasează echilibrul în sensul formării oxaloacetatului. În prezența L- glutamatului oxaloacetatul este transformat în L-aspartat, în urma reacției catalizată de glutamat-oxaloacetat-transaminaza (GOT):



Conținutul de NADH format care se măsoară spectrofotometric la lungimea de undă de 340 nm este proporțională cantității de L-malat prezent în probă.

2. Echipamente

2.1. Spectrofotometru ce permite de a efectua măsurări la 340 nm maximum de absorbție a NADH.

În lipsa unui asemenea echipament măsurările pot fi efectuate cu ajutorul unui fotometru cu spectru discontinuu ce permite de a efectua măsurări la 334 nm și 365 nm.

2.2. Cuve cu drumul optic de 1 cm din sticlă sau de unică folosință.

2.3. Micropipete ce permit de a preleva volume cuprinse între 0,01 și 2 ml.

3. Reactivi

Apă bidistilată

3.1. Soluție tampon cu pH 10 (glicilglicină 0,6 mol/l, L-glutamat 0,1 mol/l): se dizolvă 4,75 g de glicilglicină și 0,88 g de acid L-glutamic în aproximativ 50 ml de apă bidistilată; se aduce pH la 10 cu aproximativ 4,6 ml soluție

de hidroxid de sodiu 10 M, se aduce volumul la 60 ml cu apă bidistilată. Soluția este stabilă 12 săptămâni la o temperatură de +4°C.

3.2. Soluție de nicotinamid-adenin-dinucleotidă (NAD) aproximativ 0,047 M: se dizolvă 420 mg de NAD în 12 ml de apă bidistilată. Soluția este stabilă 4 săptămâni la o temperatură de +4°C.

3.3. Suspensie de glutamat-oxaloacetat-transaminază (GOT) de concentrația 2 mg/ml. Suspensia este stabilă un an la o temperatură de +4°C.

3.4. Soluție de L-malat-dehidrogenază (L-MDH) de concentrația 5 mg/ml. Soluția este stabilă un an la o temperatură de +4°C.

Reactivii necesari pentru dozare sînt disponibili în comerț.

4. Pregătirea probelor

Testarea D-malatului se efectuează direct în vin, fără decolorare prealabilă și fără diluție, în cazul în care conținutul de acid L-malic este inferior de 350 mg/l (pentru măsurări efectuate la 365 nm). În cazul depășirii acestei limite vinul se diluează cu apă bidistilată astfel încît concentrația L-malatului să fie cuprinsă între 30 și 350 mg/l (cantitatea de L-malat prezent în proba analizată 3-35 μg).

În cazul în care concentrația L-malatului în vin este mai mică de 30 mg/l, volumul probei prelevate poate fi mărit la 1 ml. Volumul apei adăugate este astfel încît volumele totale să fie identice în ambele cuve.

5. Metoda de lucru

Spectrofotometrul se reglează la 340 nm, se măsoară absorbanta în cuve cu drumul optic de 1 cm, absorbanta zero fiind reglată în raport cu aerul (fără cuvă) sau în raport cu apa distilată. În cuve cu drumul optic de 1 cm se introduc:

	Martor, ml	Proba, ml
Soluție 3.1	1,00	1,00
Soluție 3.2	0,20	0,20
Apă bidistilată	1,00	0,90
Suspensie 3.3	0,01	0,01
Proba	-	0,10

Se omogenizează, după aproximativ 3 minute, se măsoară absorbanta soluțiilor martor și probă (A_1). Se adaugă în ambele probe câte 0,01 ml soluție 3.4. Se omogenizează; se așteaptă sfîrșitul reacției (aproximativ 5-10 minute) și se măsoară absorbanta soluțiilor martor și probă (A_2).

Se determină diferența absorbantelor ($A_2 - A_1$) pentru probă (ΔA_D) și pentru martor (ΔA_T).

Se calculează:

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

Timpul necesar pentru reacționarea enzimelor poate varia de la un lot la altul. În metodă nu este dat decît ca un titru indicativ. Se recomandă de a fi determinat timpul pentru fiecare lot.

6. Exprimarea rezultatelor

Concentrația de acid L-malic se exprimă în grame pe litru (g/l) cu o zecimală.

6.1. Modul de calcul

Concentrația în grame pe litru este calculată cu formula generală:

$$C = \frac{V \times M}{e \times d \times v \times 1000} \times \Delta A$$

V - volumul testului în ml (aici 2,22 ml);

v - volumul probei în ml (aici 0,1 ml);

M - masa moleculară a substanței determinate (aici acidul L-malic = 134,09);

d - drumul optic al cuvei în centimetri (aici 1 cm);

e - coeficientul de absorbție al NADH la 340 nm,

$$\varepsilon = 6,3 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}.$$

Astfel, se obține pentru l-malat:

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

Dacă în timpul preparării probei s-a efectuat diluții, în acest caz, rezultatul se înmulțește la factorul de diluție.

Pentru măsurări la 334 nm, $\varepsilon = 6,2 \text{ (mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1})$

$$C = 0,482 \times \Delta A$$

Pentru măsurări la 365 nm, $\varepsilon = 3,4 \text{ (mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1})$

$$C = 0,876 \times \Delta A$$

6.2. Repetabilitatea (r)

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

unde, x_i - concentrația de acid L-malic în probă, în g/l.

6.3. Reproducibilitatea (R)

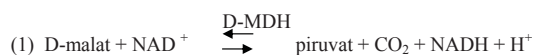
$$R = 0,05 + 0,071 x_i$$

x_i - concentrația de acid L-malic în probă în g/l.

14.3. MA-MD-AS 313-12-ADMENZ

1. Principiul metodei

În prezența D-malat-dehidrogenazei (D-MDH), acidul D-malic (D-malat) este oxidat de către nicotinamid adenin dinucleotidă (NAD) în oxaloacetat. Oxaloacetatul format se transformă în piruvat și dioxid de carbon, conform ecuației:



Cantitatea de NADH format, care se măsoară spectrofotometric la lungimea de undă de 334, 340 nm, sau 365 nm, este proporțională cantității de D-malat prezent în probă

2. Reactivi

Reactivii pentru efectuarea a 30 determinări se află în comerț în formă de seturi, care includ:

flaconul 1 care conține 30 ml de soluție tampon Hepes (N-hidroxietil)-piperazin-N¹-2 etan sulfonic), pH = 9,0 și stabilizatori;

flaconul 2 care conține aproximativ 210 mg de liofilizat de NAD;

flaconul 3 (trei bucăți), fiecare conținând liofilizat de D-MDH, pentru titrarea a aproximativ 8 unități.

Prepararea soluțiilor:

Se utilizează flaconul 1 fără diluare. Soluția este adusă la o temperatură de (20-25) °C înainte de a fi folosită; se dizolvă conținutul flaconului 2 în 4 ml de apă bidistilată;

se dizolvă conținutul flaconului 3 (unul dintre 3 flacoane) în 0,6 ml de apă bidistilată. Înainte de a fi folosită soluția este adusă la o temperatură de (20-25) °C.

Stabilitatea soluțiilor:

Conținutul flaconului 1 se păstrează cel mult un an la o temperatură de +4 °C; soluția 2 se păstrează aproximativ 3 săptămâni la o temperatură de +4 °C, iar la (-20)°C se păstrează 2 luni; soluția 3 se păstrează 5 zile la o temperatură de +4 °C.

3. Echipamente

3.1. Spectrofotometru ce permite de a efectua măsurări la 340 nm, maximum de absorbție a NADH.

În lipsa unui asemenea echipament, măsurările pot fi efectuate cu ajutorul unui fotometru cu spectru discontinuu la 334 nm și 365 nm.

3.2. Cuve cu parcursul optic de 1 cm din sticlă sau de o singură folosință.

3.3. Micropipete ce permit de a preleva volume cuprinse între 0,01 și 2 ml.

4. Pregătirea mostrelor

Testarea D-malatului se efectuează, de regulă, direct în vin, fără decolorare prealabilă.

Cantitatea de D-malat prezentă în cuvă trebuie să fie cuprinsă între 2 μg și 50 μg deoarece este necesar de a dilua vinul astfel, încât concentrația de D-malat să varieze

între 0,02 și 0,5 g/l sau 0,02 și 0,3 g/l (în funcție de echipamentul utilizat).

Tabelul de diluție:

Cantitatea estimată de D-malat, g /l		Diluarea cu apă	Factorul de diluție, F
Măsurări la :			
340 sau 334 nm	365 nm		
≤ 0,3	≤ 0,5	-	1
0,3 – 3,0	0,5 – 5,0	1+9	10

5. Metoda de lucru

Spectrofotometrul se reglează la lungimea de undă 340 nm, absorbanta se măsoară în cuve cu traseul optic de 1 cm. Absorbanta zero se reglează în raport cu aerul (nu se pune cuva) sau în raport cu apa bidistilată.

În cuvele cu traseul optic de 1 cm se introduc:

Soluții	Martor, ml	Proba, ml
Soluția 1	1,00	1,00
Soluția 2	0,10	0,10
Apă bidistilată	1,80	1,70
Proba	-	0,10

Se agită minuțios. După aproximativ 6 minute se măsoară absorbanta soluției martor și a probei (A_1).

Se adaugă:

Soluții	Martor, ml	Proba, ml
Soluția 3	0,05	0,05

Se agită minuțios. După aproximativ 20 minute (sfârșitul reacției) se măsoară absorbanta soluției martor și a probei (A_2).

Se calculează diferența absorbantelor ($A_2 - A_1$) martorului (ΔA_T) și probei (ΔA_P). Se deduce diferența lor:

$$\Delta A = \Delta A_P - \Delta A_T$$

Timpul necesar pentru acțiunea enzimelor poate varia de la un lot la altul. Se recomandă de a fi determinat timpul pentru fiecare lot de reactivi. Acidul D-malic reacționează rapid. O activitate suplimentară a enzimei, care poate să transforme acidul L-tartric, poate fi înregistrată, deși viteza acestei reacții este cu mult mai redusă. Această contribuție poate fi corectată prin extrapolarea datelor.

6. Exprimarea rezultatelor

Concentrația acidului D-malic în miligrame per litru (mg/l) fără zecimale se calculează cu formula:

$$C = \frac{V \times M}{\varepsilon \times \delta \times v \times 1000} \times \Delta A,$$

unde: V este volumul testului în ml (aici 2,95 ml);

v - volumul probei în ml (aici 0,1 ml);

M - masa molară a substanței de analizat (aici acidul D-malic, $M=134,09$);

δ - lungimea drumului optic, cm (aici 1 cm);

ε - coeficientul molar de absorbție al NADH:

la 340 nm $\varepsilon = 6,3 \text{ (mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1})$;

la 365 nm $\varepsilon = 3,4 \text{ (mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1})$;

la 334 nm $\varepsilon = 6,18 \text{ (mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1})$.

Dacă a fost efectuată vreo diluție la pregătirea probelor se multiplică rezultatul cu factorul de diluție.

7. Fidelitate

7.1. Repetabilitatea (r):

Diferența absolută între două rezultate individuale, obținute pe materiale identice, de către același operator, cu aceleași echipamente, la intervale de timp scurte, nu va depăși valoarea repetabilității r în mai mult de 5% din cazuri.

$$r = 11 \text{ mg/l}$$

7.2. Reproducibilitatea:

Diferența absolută între două rezultate individuale,

obținute pe materiale identice, în două laboratoare diferite, nu va depăși valoarea reproductibilității R în mai mult de 5% din cazuri.

$$R = 20 \text{ mg/l}$$

8. Remarcă:

Luând în considerare precizia metodei, se recomandă pentru valori ale acidului D-malic inferioare de 50 mg/l să se confirme concentrația printr-o altă metodă de analiză.

Valori ale acidului D-malic inferioare de 100 mg/l nu trebuie interpretate ca o aditie a acidului D,L-malic în vin.

Volumul probei de vin prelevate în cuvă nu trebuie să depășească 0,1 ml, pentru a evita o eventuală inhibare a activității enzimatică de către polifenoli.

15. Acidul sorbic

15.1 MA-MD-AS 313-14-ACISOR

1. Principiul metodelor

1.1. Metoda de dozare prin spectrofotometrie cu absorbție în ultraviolet

Acidul sorbic (acid trans-2,4-hexadienic) se extrage prin antrenarea cu vapori de apă și se dozează în distilatul de vin prin spectrofotometrie cu absorbție în ultraviolet. Substanțele interferente la măsurarea absorbției în ultraviolet sunt eliminate prin evaporare până la uscat a probei de distilat ușor alcalizat în o soluție de hidroxid de calciu.

Conținutul a mai puțin de 20 mg/l trebuie să se confirme prin metoda cromatografică în strat subțire (sensibilitatea: 1 mg/l).

1.2. Metoda de dozare prin cromatografie gazoasă

Acidul sorbic se extrage cu eter dietilic și se determină prin gaz cromatografie în prezența unui etalon intern.

1.3. Metoda de dozare cu ajutorul cromatografiei în strat subțire

Acidul sorbic se extrage cu eter dietilic; se separă prin cromatografie în strat subțire; concentrația se evaluează semicantitativ.

2. Metoda de dozare prin spectrofotometrie cu absorbție în ultraviolet

2.1. Echipamente:

aparat de antrenare cu vapori de apă (Capitolul "Aciditatea volatilă");

baie de apă, 100 °C;

spectrofotometru ce permite măsurarea la lungimea de undă de 256 nm cu cuve de cuarț cu grosimea stratului de 1 cm.

2.2. Reactivi:

acid tartric cristalin;

soluție de hidroxid de calciu, aproximativ 0,02 M.

soluție de referință de acid sorbic ($C_6H_8O_2$) de 20 mg/l: se dizolvă 20 mg acid sorbic în 2 ml soluție de hidroxid de sodiu de 0,1 M; se toarnă într-un balon cotat de 1000 cm³ și se aduce până la cotă cu apă distilată. La fel se poate dizolva 26,8 mg sorbat de potasiu în apă; se trec într-un balon de 1000 cm³ și se aduce până la cotă cu apă distilată.

2.3. Metoda de operare

2.3.1. Distilarea

În barbotorul aparatului de antrenare cu vapori de apă se introduc 10 cm³ de vin, se adaugă aproximativ 1-2 g de acid tartric. Se recoltează 250 ml de distilat.

2.3.2. Curba de etalonare

Se prepară prin diluare cu apă patru soluții de referință, cu conținutul de acid sorbic corespunzător: 0,5; 1,0; 2,5 și 5,0 mg/l; se măsoară absorbția la spectrofotometru la lungimea de undă 256 nm în raport cu apa distilată. Se trasează o curbă a absorbției în funcție de concentrația soluțiilor.

2.3.3. Dozarea

Într-o capsulă cu diametrul de 55 mm se introduc 5 ml de distilat, se adaugă 1 ml de soluție de hidroxid de calciu. Se evaporă până la uscat la o baie de apă. Apoi restul se trece cantitativ cu câțiva mililitri de apă distilată într-o fiolă de 20 ml. Se clătește cu apă distilată până la cotă.

Se măsoară absorbția acidului sorbic, la spectrofotometru la lungimea de undă $\lambda = 256 \text{ nm}$, în comparație cu o soluție tampon obținută prin diluarea până la 20 ml cu apă distilată a 1 ml soluție de hidroxid de calciu. Valoarea absorbției se raportează pe curba de etalonare și se determină concentrația acidului sorbic în soluție.

În practică evaporarea până la uscat poate fi neglijată. Măsurările absorbției se pot efectua în distilatul, diluat de 1/4, în raport cu apa distilată.

2.4. Explicarea rezultatelor

2.4.1. Calculul

Concentrația acidului sorbic în vin, exprimată în miligrame pe litru, este egală cu:

$$100 \times C,$$

unde, C - concentrația acidului sorbic în soluția analizată la spectrofotometru, exprimată în miligrame pe litru.

3. Metoda de dozare prin gaz-cromatografie

3.1. Echipamente

Cromatograf cu fază gazoasă, înzestrat cu detector de ionizare cu flacără și cu o coloană de oțel inoxidabil [4 m x 1/8 țoli (25,4 mm/8)] tratat cu dimetildiclorosil.

Fază staționară, constituie un amestec de deitilenglicol succinic (5%) și acid fosforic (1%) ($DEGS - H_3PO_4$) sau un amestec de deitilenglicol adipos (7%) și acid fosforic (1%) ($DEGS - H_3PO_4$) fixat în Gaschrom Q 80-100 mesh.

Pentru tratarea cu dimetildiclorosil (DMDCS), prin coloană se trece toluol, în care sunt dizolvate 2-3 g DMDCS. Coloana imediat se spală cu metanol, se trece un curent de azot, apoi hexan și din nou azot, după ce se umple.

Condițiile de operare:

temperatura cuptorului 175 °C;

temperatura injectorului și detectorului: 230 °C;

gaz purtător azot (debit 20 ml/minută).

Microseringă de 10 microlitri, gradată în 0,1 microlitri.

3.2. Reactivi:

eter dietilic (C_2H_5)₂O, distilat la momentul de utilizare;

soluție de etalon intern: soluție de acid undecanoic,

$C_{11}H_{22}O_2$, în etanol de 95 % vol., 1 g/l;

soluție apoasă de acid sulfuric H_2SO_4 , ($\rho_{20} = 1,84 \text{ g/ml}$)

diluarea 1/3 (v/v).

3.3. Metoda de determinare

3.3.1. Pregătirea probei pentru analiză.

Într-un cilindru de 40 ml cu dop rodat se introduc 20 ml de vin, se adaugă 2 ml soluție de etalon intern și 1 ml soluție de acid sulfuric. După ce se agită, se adaugă 10 ml eter dietilic.

Se extrage acidul sorbic prin scuturarea tubului timp de 5 minute. Se lasă să se așeze.

3.3.2. Prepararea soluției de referință

Se selectează un vin pentru care cromatograma extractului cu eter nu arată nici un vîrf corespunzător eluției acidului sorbic. În vin se adaugă acid sorbic în concentrație de 100 mg pe litru; 20 ml de mostră se tratează în conformitate cu punctul 3.3.1.

3.3.3. Cromatografierea

Se injectează succesiv în cromatograf cu microseringă 2 μ l din faza extrasă cu eter obținută conform punctului 3.3.2. și 2 μ l a fazei extrase cu eter, obținută conform punctului 3.3.1.

Se înregistrează cromatogramele respective, se verifică identitatea timpilor de reținere a acidului sorbic și

a etalotului intern. Se măsoară înălțimea (sau suprafața) picurilor înregistrate.

3. 4. Explicarea rezultatelor

3.4.1. Calculul

Concentrația de acid sorbic C în vinul analizat, exprimată în miligrame pe litru (mg/l) se calculează cu formula:

$$C = 100 \times \frac{h}{H} \times \frac{I}{i}$$

unde, H - înălțimea picului acidului sorbic în soluția de referință;

h - înălțimea picului acidului sorbic în mostra analizată;

I - înălțimea picului etalotului intern în soluția de referință;

i - înălțimea picului etalonului intern în mostra analizată.

Concentrația acidului sorbic poate fi determinată analogic în baza măsurării suprafețelor picurilor corespunzătoare.

4. Identificarea urmelor de acid sorbic prin cromatografia în strat subțire

4.1. Echipamente:

plăci 20x20 cm pentru cromatografie în strat subțire, acoperite cu gel de poliamidă (grosimea 0,15 mm), cu adăugarea unui indicator fluorescent;

cuve pentru cromatografie în strat subțire;

micropipete și microsiringi cu volumul de $5 \mu\text{l} \pm 0,1 \mu\text{l}$;

lampă ultravioletă (254 nm).

4.2. Reactivi:

eter dietilic ($\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$;

soluție apoasă de acid sulfuric H_2SO_4 ($\rho_{20} = 1,84 \text{ g/ml}$) diluarea 1/3 (v/v);

soluție de referință a acidului sorbic într-un amestec de apă-etanol de 10% vol., aproximativ 20 mg pe litru;

faza mobilă: hexan-pentan-acid acetic ($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{-C}_5\text{H}_{12}\text{-CH}_3\text{COOH}$, $\rho_{20} = 1,05 \text{ g/ml}$) (20:20:3).

4.3. Metoda de determinare

4.3.1. Pregătirea probei pentru analiză

Într-un tub din sticlă cu o capacitate de aproximativ 25 ml cu dop rodat se pun 10 ml de vin, se adaugă 1 ml soluție de acid sulfuric și 5 ml eter etilic. Se amestecă prin rotirea tubului. Se lasă să se așeze.

4.3.2. Pregătirea soluțiilor de referință

Din soluția de referință se prepară cinci soluții diluate conținând 2,4,6,8 și 10 mg acid sorbic pe litru.

4.3.3. Cromatografierea

Folosind o microsiringă sau micropipetă, se depun 5 μl din faza extrasă cu eter obținut conform punctului 4.3.1 și cîte 5 μl din fiecare din soluțiile de referință diluate la 2 cm de marginea inferioară a plăcii și 2 cm distanță una față de alta.

Se pune faza mobilă în cuva pentru cromatografie la o înălțime de 0,5 cm și se permite saturarea atmosferei din cuvă cu vaporii solventului. Se pune placa în cuvă. Se permite cromatogramei să migreze 12-15 cm (timp de migrare aproximativ 30 minute). Se usucă placa cu un curent de aer rece. Se examinează cromatograma sub o lampă cu ultraviolet de 254 nm.

Spoturile indicind prezența acidului sorbic apar violet închis pe fondul galben fluorescent al plăcii.

4.4. Explicarea rezultatelor

Compararea intensităților spoturilor produse de proba analizată și de soluțiile de referință, permite evaluarea semicantitativă a concentrației acidului sorbic între 2 și 10 mg pe litru. O concentrație de 1 mg/l poate fi determinată cu depunerea a 10 μl din soluția analizată.

Concentrații de peste 10 mg/l pot fi determinate cu depunerea a cel mult de 5 μl din soluția analizată (se

măsoară cu ajutorul unei microsiringi).

16. Acidul L-ascorbic

16.1 MA-MD-AS 313-13-ALASCO

1. Principiul metodelor

Metodele propuse permit de a determina conținutul de acid L-ascorbic și acid dehidroascorbic prezent în vin și în must.

1.1. Metoda de referință

Acidul L-ascorbic este oxidat prin acțiunea cărbunelui activ în acid dehidroascorbic. Acesta formează un compus fluorescent prin reacția cu ortofenilendiamina (OPDA). O probă martor în prezența acidului boric permite de a determina fluorescența de fond (prin formarea unui complex acid boric – acid dehidroascorbic) și de a o sustrage din rezultatul dozării fluorimetrice.

1.2. Metoda uzuală

Acidul L-ascorbic este oxidat prin acțiunea iodului în acid dehidroascorbic. Acidul dehidroascorbic este precipitat cu 2,4 – dinitro-fenilhidrazină în bis (2,4 – dinitrofenilhidrazină). După separarea prin cromatografie în strat subțire și solubilizarea în mediu acetic, acest compus colorat în roșu este dozat prin spectrofotometrie, la lungimea de undă de 500 nm.

2. Metoda de referință (metoda fluorimetrică)

2.1. Echipamente

Fluorimetru. Se utilizează un spectrofluorimetru, echipat cu lampă ce emite un spectru continuu, plasat la puterea minimă a lampei. Lungimile de undă de excitare și emisie optime se determină în prealabil în funcție de aparatul folosit. În general, lungimea de undă pentru excitare se află în apropiere de 350 nm, iar pentru emisie – în apropiere de 430 nm.

Cuve cu drumul optic de 1 cm.

Filtre din sticlă cu gradul 3 de porozitate.

Eprubete (diametrul 10 mm).

Agitator pentru eprubete.

2.2. Reactivi:

soluție de dihidroclorură de orto-fenilendiamină ($\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2$), de 0,02%, preparată înaintea experimentului;

soluție de acetat de sodiu trihidrat ($\text{CH}_3\text{COONa} \times 3\text{H}_2\text{O}$), 500 g/l;

soluție mixtă de acid boric și acetat de sodiu: se dizolvă 3 g de acid boric (H_3BO_3) în 100 ml soluție de acetat de sodiu de 500 g/l. Soluția trebuie preparată înaintea experimentului;

soluție de acid acetic CH_3COOH ($\rho_{20} = 1,05 \text{ g/ml}$) diluat la 56% (v/v), cu un pH aproximativ de 1,2;

soluție de referință de acid L-ascorbic cu concentrația de 1 g/l: se dizolvă, la momentul analizei, 50 mg de acid L-ascorbic, prealabil deshidratat într-un excicator ferit de lumină, în 50 ml soluție de acid acetic;

cărbune activ extrapur pentru analiză: se plasează 100 g de cărbune activ într-un balon conic cu volumul de 2 l, se adaugă 500 ml soluție de acid clorhidric ($\rho_{20} = 1,19 \text{ g/ml}$) de 10% (v/v). Se aduce la fierbere, apoi se filtrează printr-un filtru de sticlă cu gradul 3 de porozitate.

Cărbunele tratat în așa fel se plasează într-un balon conic de 2 l, se adaugă 1 l de apă, se agită și se filtrează prin filtrul de sticlă cu gradul 3 de porozitate. Operația se repetă de două ori. Ulterior cărbunele se plasează într-o etuvă ventilată la $115 \pm 5^\circ\text{C}$ pentru 12 ore (pentru o noapte, spre exemplu).

2.3. Metoda de lucru

2.3.1. Pregătirea probei de vin sau de must

Într-un balon cotelat se prelevează o alicotă de vin sau must și se diluează pînă la 100 ml cu soluție de acid acetic de 56%, pentru a obține o soluție cu concentrația de acid L-ascorbic în intervalul 0 - 60 mg/l.

Conținutul balonului se omogenizează. Se adaugă 2 g de

cărbune activ și se lasă în contact pentru 15 minute, agitând periodic. Se filtrează printr-un filtru de hîrtie, înlăturînd primii mililitri de filtrat.

În două baloane cotate de 100 ml se introduc cîte 5 ml de filtrat, apoi în primul se adaugă 5 ml soluție mixtă de acid boric și acetat de sodiu (proba martor), iar în al doilea – 5 ml soluție de acetat de sodiu (proba de analizat). Se lasă în contact timp de 15 minute, agitînd periodic, apoi se aduce la cotă cu apă distilată.

Se iau cîte 2 ml din fiecare balon, se plasează în eprubete, apoi se adaugă cîte 5 ml soluție de orto-fenilendiamină și se amestecă cu ajutorul agitatorului, se lasă pentru ca reacția să decurgă timp de 30 de minute într-un loc ferit de lumină, apoi se efectuează măsurările spectrofluorimetrice.

2.3.2. Curba de etalonare

În trei baloane cotate de 100 ml se plasează respectiv 2, 4 și 6 ml soluție de referință de acid L-ascorbic, se aduce la cotă cu soluție de acid acetic. Se omogenizează minuțios.

Soluțiile de referință preparate conțin, respectiv, 2, 4 și 6 mg de acid L-ascorbic în 100 ml. Se adaugă cîte 2 g de cărbune activ în fiecare balon și se lasă în contact timp de 15 minute, agitînd periodic. Se filtrează printr-un filtru de hîrtie, înlăturînd primii mililitri de filtrat.

Se plasează, respectiv, cîte 5 ml din fiecare filtrat în trei baloane cotate de 100 ml (prima serie, martor). Se repetă operația pentru a doua serie. În baloanele cu soluții din prima serie se introduc cîte 5 ml de soluție mixtă de acid boric și acetat de sodiu, iar în cele din seria a doua – cîte 5 ml soluție de acetat de sodiu. Se lasă în contact timp de 15 minute, agitînd periodic, apoi se aduce la cota cu apă distilată.

Se ia cîte 2 ml din fiecare balon, se plasează în eprubete, apoi se adaugă cîte 5 ml soluție de orto-fenilendiamină și se amestecă cu ajutorul agitatorului, se lasă reacția să decurgă timp de 30 minute într-un loc ferit de lumină, apoi se efectuează măsurările spectrofluorimetrice.

2.3.3. Determinările fluorimetrice

Pentru fiecare din probele, fie pentru curba de etalonare, fie pentru testări pe vin sau must, se stabilește scara de măsurare la "zero", folosind soluția martor respectivă. Ulterior se efectuează măsurarea intensității fluorescenței.

Curba de etalonare trebuie să fie lineară și să treacă prin origine. Concentrația sumară a acidului L-ascorbic și dehidroascorbic (C) în probele de analizat se determină din curba de etalonare.

2.4. Expriarea rezultatelor

Concentrația sumară de acid L-ascorbic și acid dehidroascorbic în vin sau must, exprimată în miligrame pe litru, se calculează cu formula:

$$C \times F,$$

unde F - factorul de diluție.

3. Metoda uzuală (colorimetrică)

3.1. Echipamente:

centrifugă de laborator și eprubete de 50 ml cu dop rotat;

baie de apă pentru răcire și termostatare între 5 și 10 °C;

baie de apă pentru răcire și termostată la 20 °C;

plăci pentru cromatografia în strat subțire de 20 × 20 cm, acoperite cu gel de silice G (grosimea 0,25 - 0,3 mm);

cuve pentru cromatografie;

micropipete cu volumul de 0,2 ml;

spectrofotometru care permite de a măsura absorbanta la 500 nm în cuve de 1 cm.

3.2. Reactivi:

soluție de acid metafosforic de 30% (m/v). Se cîntăresc

30 g de acid metafosforic, în prealabil mărunțit într-un mojar. Se spală rapid cu apă distilată, apoi se dizolvă într-un balon cota de 100 ml, se duce la cotă cu apă distilată. Soluția obținută conține aproximativ 30 % (m/v) de acid metafosforic;

soluție de acid metafosforic de 3 % (m/v). Se prepară înaintea experienței prin diluare 1/10 cu apă distilată a soluției de 30%;

soluție de acid metafosforic de 1% (m/v). Se prepară înaintea experienței prin diluare 1/30 cu apă distilată a soluției de 30%;

suspensie de poliamidă. Se prepară o suspensie din 10 g de poliamidă pentru cromatografie și 60 ml de apă distilată, se lasă în contact pentru 2 ore. Cantitatea astfel preparată este suficientă pentru 4 determinări;

tiouree (H_2NCSNH_2);

soluție de iod, 0,05 M;

soluție de 2,4-dinitrofenilhidrazină de 6 % (m/v). Se prepară o suspensie din 6 g de 2,4-dinitrofenilhidrazină în 50 ml de acid acetic glacial ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml), se adaugă 50 ml de acid sulfuric ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml), 2,4-dinitrofenilhidrazina se dizolvă prin agitare;

acetat de etil, ($C_4H_8O_2$), pregătît cu acid acetic glacial de 2% (v/v) ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml);

cloroform, ($CHCl_3$);

soluție apoasă de amidon de 0,5 % (m/v);

faza mobilă – acetat de etil, cloroform, acid acetic glacial (50:60:5). Amestecul de solvenți se lasă înainte de a fi utilizat pentru 12 ore;

acid acetic glacial (CH_3COOH) ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml);

soluție de acid L-ascorbic cu concentrația de 1,0 g pe litru de soluție de acid metafosforic de 1%.

3.3. Metoda de lucru

3.3.1. Oxidarea acidului L- ascorbic în acid dehidro- ascorbic

Într-un balon cota de 100 ml se plasează 50 ml de vin, se adaugă 15 ml suspensie de poliamidă și se aduce la cotă cu soluție de acid metafosforic de 3%. Se lasă în contact pentru o oră, agitînd periodic. Se filtrează printr-un filtru de hîrtie. Se colectează 20 ml de filtrat într-o eprubetă pentru centrifugare, se adaugă 1 ml soluție 0,05 M de iod. Se omogenizează prin agitarea eprubetei cu dopul închis. Peste 1 minută se reduce excesul de iod prin adăugarea a aproximativ 25 mg de tiouree.

3.3.2. Formarea și extracția bis (2,4- dinitrofenilhidrazinei) și acidului dicetogulononic

Eprubeta se introduce într-o baie de apă, răcită la o temperatură de (5-10) °C, se adaugă 4 ml soluție de 2,4- dinitrofenilhidrazină. Se omogenizează conținutul eprubetei, fără a înmuia dopul de sticlă. Eprubeta închisă cu atenție este lăsată într-o baie de apă la 20 °C pentru aproximativ 16 ore (pe noapte, spre exemplu). Se adaugă la conținutul eprubetei 15 ml soluție de acetat de etil, se închide, se agită timp de 30 secunde, apoi se centrifugheză 5 minute prin aplicarea unei forțe centrifuge de 300-400 g.

Într-un balon conic cu dop rotat se iau cu ajutorul unei pipete 10 ml de acetat de etil de extracție. Se adaugă la conținutul eprubetei pentru centrifugare 5 ml de acetat de etil. Se închide și se agită 30 secunde și se centrifugheză 5 minute în aceleași condiții. Apoi se iau 5 ml de acetat de etil de extracție și se adaugă acest volum la soluția de la prima extracție din balonul conic. Amestecul se omogenizează prin agitare.

3.3.3. Separarea prin cromatografie a bis (2,4- dinitrofenilhidrazinei)

Se efectuează într-un interval de timp ce nu depășește 2 ore după extracție. Se lasă o margine de 2 cm în partea de jos și laterală a plăcii, și se depune linear pe toată suprafața plăcii cîte 0,2 ml acetat de etil de extracție.

Faza mobilă se toarnă în cuva pentru cromatografie într-un strat de 1 cm și se lasă un timp pentru ca atmosfera din cuvă să fie saturată cu vapori de solvenți. Se introduce placa în cuvă, se lasă să migreze solventul pînă la marginea superioară a plăcii. Placa se usucă timp de o oră într-un dulap ventilat.

Se separă substanța cu ajutorul unei spatule cu mișcări perpendiculare zonei de migrare a solventului, zona de culoare roșie, caracteristică pentru *bis* (2,4-dinitrofenilhidrazină). Substanța este trecută cantitativ într-un balon conic cu dop rodat. Se adaugă 4 ml de acid acetic, se lasă în contact pentru 30 minute, agitînd frecvent. Se filtrează printr-un filtru de hîrtie direct în cuva spectrofotometrului. Filtratul obținut trebuie să fie limpede.

Scara spectrofotometrului se reglează la zero cu acid acetic, apoi se măsoară absorbanta soluțiilor supuse analizei.

3.3.4. Curba de etalonare

În trei baloane cotate de 100 ml se plasează respectiv cîte 5, 10 și 15 ml soluție de acid L-ascorbic de 1 g/l, se aduce la cotă cu soluție de acid metafosforic de 1%. Soluțiile obținute astfel conțin, respectiv, 50, 100 și 150 mg acid L-ascorbic /litru. Se tratează cîte 50 ml din fiecare soluție, conform modului operator descris în punctele 3.3.1., 3.3.2. și 3.3.3. Se trasează curba de etalonare, aceasta trebuie să fie lineară și să treacă prin origine.

3.3.5. Exprimarea rezultatelor

Conținutul sumar de acid L-ascorbic + acid dehidroascorbic în vin sau must (*C*), se determină din curba de etalonare și se exprimă în miligrame pe litru, (mg/l).

În cazul în care concentrația sumară de acid L-ascorbic + acid dehidroascorbic depășește 150 mg/l, volumul vinului se reduce la 25, 20 sau 10 ml și se multiplică rezultatul obținut cu factorul de diluție *F*.

17. Aciditatea ionică (pH)

17.1. MA-MD-AS 313-15-pH

1. Principiul metodei

Măsurarea diferenței de potențial între doi electrozi cufundați în must sau vin. Un electrod are un potențial în funcție de valoarea pH în lichid, celălalt are un potențial fix, cunoscut și constituie un electrod de referință.

2. Aparatură

2.1. pH metru etalonat în unități pH, care permite măsurarea cu o eroare de 0,05 unități și mai puțin.

2.2. Electrozi:

electrod de sticlă, se păstrează în apă distilată;
electrod de referință, colomel-clorură de potasiu saturată, se păstrează în soluție saturată de clorură de potasiu;

electrod combinat, se păstrează în apă distilată.

3. Reactive

3.1. Soluții tampon

Soluție saturată de tartrat acid de potasiu. Soluția conține cel puțin 5,7 g/l de hidrogenotartrat de potasiu (HOOC, C₂H₄O₂, COOK) la 20 °C. Această soluție poate fi păstrată 2 luni în prezența a 0,1 g timol în 200 ml.

	3,57 la 20 °C
pH	3,56 la 25 °C
	3,55 la 30 °C

Soluție de ftalat acid de potasiu de 0,05 M. Soluția conține 10,211 g/l de hidrogenoftalat de potasiu (HOOC, C₆H₄COOK) la 20 °C. Durata maximală de păstrare 2 luni.

	3,999 la 15 °C
pH	4,003 la 20 °C
	4,008 la 25 °C
	4,015 la 30 °C

Soluție cu conținut de:

dihidrogenofosfat de potasiu KH₂PO₄ 3,402 g

hidrogenofosfat de potasiu K₂HPO₄ 4,354 g
apă distilată 1 l

Durata maximală de păstrare 2 luni

	6,90 la 15 °C
pH	6,88 la 20 °C
	6,86 la 25 °C
	6,85 la 30 °C

La fel pot fi utilizate soluțiile tampon de referință din comerț.

4. Metoda de lucru

4.1. Pregătirea probei pentru analiză

4.1.1. Pentru must și vin: se folosește must sau direct vinul

4.1.2. Pentru must concentrat rectificat

Se diluează mustul concentrat rectificat cu apă pentru a ajusta concentrația la 25±0,5 % a totalului zaharurilor (25° Brix).

Dacă *P* reprezintă procentajul concentrației (m/m) a totalului zaharurilor în mustul concentrat rectificat, se măsoară o masă de $\frac{2500}{P}$ și se completează pînă la 100 g cu apă.

Apa utilizată trebuie să aibă o conductibilitate sub 2 microsiemens pe centimetru.

4.2. Stabilirea punctului zero al aparatului

Această operație se realizează înaintea oricărei determinări, în conformitate cu instrucțiunile furnizate o dată cu aparatul utilizat.

4.3. Calibrarea pH-metrului

Calibrarea pH-metrului se efectuează la 20 °C, utilizînd soluții tampon cu pH 6,88 și 3,57. Soluția tampon cu pH 4,00 la 20 °C se utilizează pentru verificarea calibrării scalei.

4.4. Determinarea

Se cufundă electrodul în proba de analiză, a cărei temperatură trebuie să se situeze între 20 și 25 °C și cit mai aproape posibil de 20 °C. Se citește valoarea pH direct de pe scală.

Se realizează cel puțin două determinări pentru aceeași probă. Media aritmetică a două determinări este considerată rezultatul final.

5. Exprimarea rezultatelor

pH-ul mustului, vinului sau al mustului concentrat rectificat de 25 % (m/m) (25 ° Brix) este exprimat cu două zecimale.

18. Dioxidul de carbon

18.1 MA-MD-AS 314-01-DIOCAR

1. Principiul metodei

1.1. Metoda de referință

1.1.1. Vinuri nespumoase (CO₂ suprapresiune ≤ 0,5 × 10⁵ Pa). Volumul de vin luat din probă se aduce la temperatura de aproximativ 0°C și se amestecă cu o cantitate suficientă de hidroxid de sodiu pentru a obține un pH de 10-11. Se titrează cu o soluție acidă în prezența anhidrazei carbonice. Conținutul de bioxid de carbon este calculat din volumul de acid necesar schimbării pH de la 8,6 (forma bicarbonat) la 4,0 (acid carbonic). În aceleași condiții se efectuează și o titrare test, pe o probă de vin decarbonat, în scopul de a ține cont de volumul de soluție de hidroxid de sodiu consumat de acizii din vin.

1.1.2. Vinuri spumante și petiante

Proba de vin supuse analizei este răcită aproape de punctul de îngheț. După înlăturarea unei cantități utilizate ca blanc după decarbonare, restul conținutului sticlei este alcalinizat, pentru a fixa tot CO₂ sub forma Na₂CO₃. Se titrează cu o soluție acidă, în prezența anhidrazei carbonice. Conținutul de bioxid de carbon este calculat din volumul soluției acide necesară pentru schimbarea pH de la 8,6

(formă bicarbonat) la 4,0 (acid carbonic). În aceleași condiții se întreprinde și o titrare blanc, pe vin decarbonat, în scopul de a ține cont de volumul de soluție de hidroxid de sodiu absorbit de acizii din vin.

1.2. **Metoda uzuală:** pentru vinurile spumante și petiante

Metoda manometrică - măsurarea subpresiunii bioxidului de carbon direct în sticlă cu ajutorul afrometrului.

2. Metoda de referință

2.1. Vinuri nespumoase (CO_2 suprapresiune $\leq 0,5 \times 10^5 \text{ Pa}$).

2.1.1. Aparatura

Agitator magnetic.

pH metru

2.1.2. Reactivi:

soluție de hidroxid de sodiu NaOH, 0,1 M;

soluție acid sulfuric, H_2SO_4 0,05 M;

soluție anhidrază carbonică 1 g/l.

2.1.3. Metoda de lucru

Se răcește proba de vin la aproximativ 0°C împreună cu pipeta utilizată pentru eșantionare. Se pun 25 ml de soluție de hidroxid de sodiu într-un pahar de laborator de 100 ml; se adaugă două picături de soluție apoasă de anhidrază carbonică. Se introduc 10 ml de vin, utilizând pipeta răcită la 0°C . Se pune paharul pe agitator magnetic, se instalează electrodul pH și se agită moderat. Când lichidul a ajuns la temperatura camerei, se titrează încet cu soluția de acid sulfuric până când pH-ul ajunge 8,6. Se notează valoarea volumului adăugat.

Se continuă titrarea până la pH 4,0. Se notează cu n ml volumul utilizat între pH 8,6 și 4,0.

Se înlătură CO_2 din aproximativ 50 ml de probă de vin prin agitarea în vid timp de trei minute, încălzind balonul pe o baie de apă la aproximativ 25°C . Se repetă procedura de mai sus cu 10 ml de vin decarbonat și se notează cu n' ml, volumul utilizat.

2.1.4. Exprimarea rezultatelor

1 ml de soluție de hidroxid de sodiu 0,1 M titrată corespunde la 4,4 mg de CO_2 . Cantitatea de CO_2 din vin, în grame pe litru, este dată de formula:

$$0,44 (n - n')$$

Se evaluează cu două zecimale.

Când vinurile conțin puțin CO_2 ($\text{CO}_2 < 1 \text{ g/l}$) nu este necesară adăugarea anhidrazei carbonice pentru catalizarea hidratării CO_2 .

2.2. Vinuri spumante și petiante

2.2.1. Aparatura

Agitator magnetic.

pH metru

2.2.2. Reactivi:

soluție de hidroxid de sodiu NaOH, 50 % (m/m);

soluție de acid sulfuric H_2SO_4 , 0,05 M;

soluție de anhidrază carbonică 1 g/l.

2.2.3. Metoda de lucru

Se notează nivelul vinului în sticlă și se răcește până când începe să înghețe. Se lasă sticla să se încălzească ușor, agitând-o, până când dispar cristalele de gheață. Se scoate dopul rapid și se iau 45-50 ml de vin în cilindru pentru titrarea blanc. Volumul exact luat, v ml, este determinat prin citirea pe scala cilindrilor gradat după ce vinul a ajuns la temperatura camerei.

Imediat după ce proba blanc a fost luată, se adaugă 20 ml de soluție de hidroxid de sodiu în sticla cu capacitatea de 750 ml. Se așteaptă până când vinul ajunge la temperatura camerei.

Se iau 30 ml de apă distilată fiartă și două picături de soluție de anhidrază carbonică într-un pahar de laborator de 100 ml. Se adaugă 10 ml de vin care a fost alcalinizat. Se pune paharul pe agitator magnetic, se instalează

electrodul și tija magnetică și se agită ușor.

Se titrează atent cu soluție de acid sulfuric, până la pH și se notează valoarea volumului adăugat. Se continuă titrarea cu acid sulfuric, până la pH 4,0. Se notează cu n ml, volumul utilizat între pH 8,6 și 4,0.

Se înlătură CO_2 din v ml de vin prin agitarea 3 minute în vid, încălzind balonul la aproximativ 25°C pe o baie de apă. 10 ml de vin decarbonat se adaugă la 30 ml de apă distilată fiartă; se adaugă 2-3 picături de soluție de hidroxid de sodiu pentru aducerea pH la 10-11. Se urmează apoi procedura de mai sus. Se notează cu n' ml, volumul de acid sulfuric 0,05 M adăugat.

2.2.4. Exprimarea rezultatelor

1 ml soluție de acid sulfuric 0,05 M corespunde cu 4,4 mg de CO_2 .

Se golește sticla de vin care a fost alcalinizat și se determină, cu precizie de 1 ml, volumul inițial de vin prin completarea cu apă până la cotă. Se notează cu V ml.

Cantitatea de CO_2 , exprimată în grame pe litru (g/l) de vin, este dată de următoarea formulă:

$$0,44(n - n') \frac{(V - v + 20)}{V - v}$$

Rezultatul obținut se notează cu două zecimale.

2.3. Calculul suprapresiunii teoretice

Presiunea în exces la 20°C ($P_{\text{aph}_{20}}$), exprimată în pascali, se determină cu formula:

$$P_{\text{aph}_{20}} = \frac{Q}{1,951 \times 10^{-5} (0,86 - 0,01A)(1 - 0,00144S)} - P_{\text{atm}}$$

unde:

Q - conținutul de CO_2 în vin, în grame pe litru, (g/l);

A - tăria alcoolică a vinului la 20°C , % vol.;

S - conținutul în zahăr al vinului, în grame pe litru, (g/l);

P_{atm} - presiunea atmosferică, exprimată în pascali.

19. Metanolul

19.1 MA-MD-AS 312-03-METHAN

1. Principiul metodei

Metoda de referință

Metanolul se determină prin cromatografie în fază gazoasă în distilatul de vin cu adaos de etalon intern.

Metoda uzuală

Metanolul se oxidează în aldehidă formică în prezența permanganatului de potasiu din distilatul de vin, diluat până la tăria de 5 % vol., acidulat cu acid fosforic. Aldehida formică se colorează în violet în prezența acidului sulfuric și acidului cromotrop. Intensitatea culorii se determină la spectrofotometru la lungimea de undă de 575 nm.

2. Metoda de referință

2.1. Aparatură:

cromatograf în fază gazoasă cu detector de ionizare în flacăra;

coloane: coloană din oțel inoxidabil cu lungimea de 7,5 m și diametrul intern 1/8 țol cu Carbowax 1540, îmbibat cu Chromosorb W 10 %, 60-80 mesh;

coloană din oțel inoxidabil cu lungimea de 7,5 m și diametrul intern 1/8 țol cu Carbowax 400, 5% și Hallcomid M.18 OL, 1%, îmbibat Chromosorb W, 60-70 mesh.

În ambele cazuri Chromosorb W în prealabil se activează prin încălzire în soba de mufel până la $750-800^\circ\text{C}$ timp de 4 ore.

Alte tipuri de coloane la fel pot asigura o separare bună. Metoda descrisă mai jos este dată în calitate de exemplu.

Condiții de operare (ca exemplu): temperatura injectării -280°C , temperatura detectorului -270°C , gaz-purtător-hidrogen; debit de hidrogen - 2 ml/minut; eșire -30 ml/minut; injectare "splitless"; volumul probei injectate -

2 µkl; injectare la 35 °C- eşirea închisă timp de 40 secunde, programarea temperaturii – de la 120 °C până la 170 °C, 3 °C/minut.

2.2. Metoda de determinare

Se prepară o soluție de etalon intern (4-metilpentanol-2) de 1 g/l, în soluție hidroalcoolică de 10% vol.

Se prepară o soluție în care se adaugă 5 ml de soluție hidroalcoolică de etalon intern în 50 ml de distilat de vin, obținut cum este indicat în capitolul 2 „Concentrația alcoolică la 20 °C”.

Se prepară o soluție de referință de metanol cu concentrația 100 mg/l în soluție hidroalcoolică de 10% vol. Se adaugă 5 ml soluție de etalon intern în 50 ml de soluție de referință de metanol.

Apoi se injectează în cromatograf câte 2 µl soluție de referință și proba cu distilat.

Temperatura în cuptor - 90 °C, consumul de gaz purtător este de 25 ml/minut.

2.3. Expriarea rezultatului:

Concentrația de metanol C , exprimată în miligrame pe litru (mg/l), se calculează cu formula:

$$C = 100 \frac{I \times S_x}{i \times S}$$

unde,

S și S_x – suprafața picului de metanol în soluția de referință și în soluția dozată;

i și i – suprafața picului de etalon intern în soluția de referință și soluția dozată.

3. Metoda uzuală

3.1. Reactivi

Acid chromatropic: acid 4,5-dihidroxi-naftalin-2,7-disulfuric 2,7 ($C_{10}H_8O_8S_2 \times 2H_2O$) cu greutatea moleculară 356,34 g. Un praf alb sau cafeniu deschis, solubil în apă. Se întrebuintează la fel și sarea disodică a acestui acid, sub forma unui praf galben sau cafeniu deschis foarte solubil în apă.

Acidul chromatropic trebuie să formeze o colorație neînsemnată în proba de control cu utilizarea reactivului. În caz contrar, este necesară purificarea acestuia în felul următor: se dizolvă 10 g acid chromatropic sau sarea lui în 25 ml apă distilată. În cazul utilizării repetate a sării, se adaugă 2 ml acid sulfuric concentrat ($\rho_{20}=1,84$ g/ml) pentru eliberarea acidului chromatropic. Se adaugă 50 ml metanol, se încălzește până la fierbere, apoi se filtrează. Se adaugă 100 ml 2-propanol pentru precipitarea acidului liber în formă de cristale, se lasă să se usuce la frig.

Reacție – adăugarea clorurei de fer III (1 picătură) în 10 ml de soluție cu 0,1 g/1000 ml dă o culoare verde.

Sensibilitatea determinării – se diluează 0,5 ml soluție farmaceutică de formaldehidă în 1000 ml și se aduce la cotă cu apă distilată. La 5 ml soluție cu 0,05 % acid chromatropic în acid sulfuric de 75% (v/v), se adaugă 0,1 ml soluție de formaldehidă și se încălzește la 70 °C timp de 20 minute. Soluția trebuie să se coloreze în violet.

Soluție de acid chromatropic 0,05 % în acid sulfuric de 75% (v/v). Se dizolvă 50 mg acid chromatropic sau sarea de sodiu în 35 ml apă distilată. Se plasează soluția obținută la o baie de apă cu gheață și se adaugă cu precauție, agitând, în mici porții 75 ml acid sulfuric concentrat ($\rho_{20}=1,84$ g/ml). Această soluție este necesară de a fi preparată în momentul utilizării.

Soluție etalon de metanol de 5 g/l în alcool de 5% vol.

metanol pur ($E_{760} = 64,7 \pm 0,2$ °C)	0,5 g
alcool absolut (fără metanol)	50 ml
apă distilată până la	1 l
Soluție pentru diluări	
alcool absolut (fără metanol)	50 ml

apă distilată

1000 ml

Soluție de acid fosforic, 50 g/100 ml;

Soluție de permanganat de potasiu, 5g/100ml;

Soluție de sulfat de sodiu neutru, 2 g/100 ml. Soluția se oxidează repede în aer. Se verifică titrul prin titrare cu iod.

3.2. Metoda de determinare

Distilatul de vin se diluează până la tăria de 5 % vol. Într-un balon cu dop rodat se introduce 0,5 ml de acest distilat diluat, se adaugă o picătură de acid fosforic, două picături de soluție permanganat de potasiu, se agită și se lasă pentru 10 minute.

Se decolorează permanganatul de potasiu cu 4 picături de soluție de sulfat de sodiu neutru (se va evita excesul). Se adaugă 5 ml soluție sulfurică a acidului cromotropic de 0,05 %. Se încălzește la o baie de apă la 70 °C timp de 20 minute. Se lasă să se răcească.

Se determină absorbanta A_s la 570 nm, reglind absorbanta la zero cu soluția de control, preparată cu 0,5 ml soluție de diluare.

Construirea curbei de etalonare.

Într-o serie de baloane cotate de 50 ml se iau 2,5, 5, 10, 15, 20 și 25 ml soluție etalon de metanol. Se aduc la semn cu soluție pentru diluări. Aceste soluții etalon conțin, respectiv, 25, 50, 100, 150, 200 și 250 mg de metanol la litru.

Se tratează 0,5 ml de soluție de diluare și 0,5 ml soluție etalon de fiecare concentrație și se repetă tehnica ca și la distilatul de vin, diluat până la conținutul de alcool de 5 % vol. Se determină absorbanta în aceste soluții la 570 nm.

Curba de etalonare a dependenței absorbantei soluțiilor etalon de concentrație trebuie să fie liniară și să treacă prin origine.

3.3. Calculul

Pe curba de etalonare se determină conținutul de metanol, exprimat în miligram pe litru în distilatul de vin diluat până la tăria de 5 % vol.

20. Glicerol, butan-2,3 -diol

20.1.MA-MD-AS 312-04 GLYBUT

1. Principiul metodei

Metoda de referință

După tratarea prealabilă a vinului pe o coloană de anionit în scopul de a fixa zaharurile, manitolul și sorbitolul, glicerolul și butan-2,3-dioli sunt oxidate cu acid periodic. Compusul format prin acțiunea floroglucinei asupra aldehidei formice, formate la oxidarea glicerolului este testat colorimetric la 480 nm. Compusul piperidinei și nitroprusiatului de sodiu cu aldehida acetică, obținut la oxidarea butan-2,3-dioliului se determină colorimetric la 570 nm.

2. Echipamente

Spectrofotometru, care permite efectuarea măsurărilor în diapazonul 300-700 nm cu cuve cu traseul optic de 1 cm.

Coloană din sticlă cu lungimea de aproximativ 300 mm și diametrul interior de 10-11 mm, dotat cu un robinet.

3. Reactivi:

Glicerol $C_3H_8O_3$;

Butan-2,3-dioli;

anionit puternic bazic, spre exemplu, anionit III de Merck sau Amberlit IRA 400;

polivinilpirolidon polimerizat (PVPP);

soluție de acid periodic 0,1 M în acid sulfuric 0,05 M: se cântăresc 10,696 g de metaperiodat de sodiu (NaO_4); se dizolvă într-un balon cotat de 500 ml cu 50 ml de acid sulfuric 0,5 M; se aduce la cotă cu apă distilată;

soluție de acid periodic 0,05 M în acid sulfuric 0,025 M: se diluează soluția precedentă cu apă distilată în proporție (1:1);

soluție de acid sulfuric 0,5 M;

soluție de hidroxid de sodiu 1 M;

soluție de hidroxid de sodiu 5% (m/v);

alcool de 96% vol.

soluție de floroglucină de 2% (m/v), preparată înainte de utilizare;

soluție de acetat de sodiu anhidru $\text{Na CH}_3\text{COO}$ de 27% (m/v);

soluție de nitropentacianoferrat II (nitroprusiat) de sodiu de 2% (m/v), preparată înainte de utilizare;

soluție de piperidină 25% (v/v), preparat înainte de utilizare;

soluție etalon de glicerol: se prepară o soluție de glicerol de 250 mg /100 ml și se stabilește titrul glicerol în proba astfel pregătită prin metoda enzimatică sau periodimetrică (conform punctului 6 al prezentului capitol). Ulterior se pregătește soluția etalon de glicerol prin cântărirea într-un balon cotelat de 100 ml a masei m ce corespunde la 250 mg de glicerol pur, se aduce la cotă cu apă distilată;

soluție etalon de butan-2,3-diol: se prepară o soluție de butan-2,3-diol ce conține 250 mg/100 ml și se stabilește titrul butan-2,3-diolului în proba astfel pregătită prin metoda enzimatică sau periodimetrică (conform punctului 6 al prezentului capitol). Ulterior se pregătește soluția etalon de butan-2,3-diol prin cântărirea într-un balon cotelat de 100 ml a masei m ce corespunde cu 250 mg de butan-2,3-diol pur; se aduce la cotă cu apă distilată;

soluție cupro-alcalină

soluție cuprică A:

sulfat de cupru, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 40 g

acid sulfuric ($\rho_{20}=1,84$ g/mL) 2 ml

apă distilată, până la 1000 ml

soluție tartrato-alcalină B:

tartrat de sodiu și de potasiu, $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 200 g

hidroxid de sodiu 150 g

apă distilată, până la 1000 ml

Soluția cupro-alcalină se obține prin amestecare, la momentul utilizării a soluțiilor A și B în părți egale.

4. Metoda de lucru

4.1. Pregătirea coloanei de anionit

Anionitul, care se află, de regulă, în forma Cl^- trebuie păstrat într-un recipient cu apă distilată decarbonizată.

Se plasează 30 ml de anionit în coloană. În partea superioară a coloanei se introduce un tampon din vată de sticlă, pentru a evita nimerirea bulelor de aer în stratul de rășină. Se trec 150 ml de hidroxid de sodiu de (5%) cu un debit de 3,5-5 ml/minută, urmat de trecerea unui debit similar de apă distilată decarbonizată până la reacția neutră sau slab alcalină a fenolfthaleinei. Anionitul astfel tratat este pregătit pentru lucru.

Anionitul astfel pregătit servește doar pentru un ciclu. Ulterior anionitul se regenerează cu soluție de acid clorhidric de 5% timp de câteva ore, apoi se spală cu apă până la înlăturarea clorurilor (filtratul se verifică la prezența clorurilor, cu soluție de AgNO_3 de 1%).

4.2. Pregătirea probei

Se diluează de 5 ori 10 ml de vin - până la 50 ml. Pentru vinul colorat intens, se efectuează în prealabil decolorarea cu polivinilpirolidon (PVPP): se introduc 10 ml de vin într-un balon cotelat de 50 ml, se diluează cu 20 ml de apă apoi se adaugă 300 mg de PVPP, agitând periodic timp de 20 minute; se aduce la cotă apoi se filtrează printr-un filtru din hirtie plisat.

Se prelevează 10 ml de vin diluat (tratată sau nu cu PVPP) și se introduc în coloana de anionit. Vinul se trece prin coloană cu un debit ce nu depășește 2 ml pe minută. Când nivelul vinului diluat atinge 5-10 mm deasupra tamponului din vată de sticlă, se adaugă apă distilată decarbonizată și se lasă să treacă prin coloană cu un debit de 2-3 ml pe minută până ce volumul eluatului atinge 100 ml.

Este necesar de a verifica absența zaharurilor în eluat.

Pentru aceasta, 5 ml de eluat se aduce rapid la fierbere cu 5 ml soluție cupro-alcalină. Lipsa precipitatului și a culorii atestă lipsa zaharurilor în soluție.

4.3. Determinarea glicerolului

4.3.1. Determinarea fotometrică

Într-un balon conic de 100 ml cu dop rodat se introduc 10 ml de eluat și se adaugă succesiv 10 ml de apă distilată, apoi 10 ml de soluție 0,05 M de acid periodic. Se agită atent și se lasă pentru exact 5 minute să se oxideze, apoi se adaugă 10 ml soluție de hidroxid de sodiu 1M și 5 ml de alcool rectificat (96% vol.). Se agită după adăugarea fiecărui reagent, apoi se adaugă 10 ml soluție de floroglucină. Se agită rapid și se tranvazează soluția în cuva spectrofotometrică cu drumul optic de 1 cm.

Culoarea violetă obținută variază rapid, intensitatea culorii trece prin maximum la 50-60 secunde, apoi scade. Se notează valoarea maximă a absorbantei, măsurată la 480 nm în raport cu aerul.

4.3.2. Trasarea curbei de etalonare

În baloane cotate de 100 ml se iau respectiv 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0 și 8,0 ml soluție etalon de glicerol, se aduce la cotă cu apă distilată. Soluțiile corespund, conform condițiilor descrise în punctul 4.2., concentrațiilor următoare: 3,75, 5,00, 6,25, 7,50, 8,75 și 10,00 g/l de glicerol.

Se efectuează măsurările, conform punctului 4.3.1., înlocuind de fiecare dată eluatul cu soluția etalon respectivă. Dreapta de etalonare nu trece prin origine.

4.4. Determinarea butan-2,3-diolului

4.4.1. Determinarea fotometrică

Într-un balon conic de 100 ml cu dop rodat se introduc 20 ml de eluat și se adaugă succesiv 5 ml de soluție de acetat de sodiu și apoi 5 ml de soluție 0,1M de acid periodic.

Se agită minuțios și se lasă pentru exact 2 minute să se oxideze, apoi se adaugă 5 ml soluție de nitroprusiat de sodiu și 5 ml soluție de piperidină. Se agită și rapid se tranvazează soluția în cuva spectrofotometrică cu traseul optic de 1 cm.

Culoarea violetă obținută variază foarte rapid. Intensitatea culorii trece prin maximum la 30-40 secunde, apoi scade. Se notează valoarea maximă a absorbantei, măsurată la 570 nm în raport cu aerul.

4.4.2. Trasarea curbei de etalonare

Într-un balon cotelat de 100 ml se iau 10 ml soluție etalon de butan - 2,3-diol și se aduce la cotă cu apă distilată. Din această soluție se prepară soluții etalon, introducând în baloane cotate de 100 ml respectiv: 2,0, 4,0, 6,0, 8,0 și 10,0 ml din soluția pregătită. Se aduce la cota cu apă distilată.

Aceste soluții corespund, conform condițiilor descrise în punctul 4.2., concentrațiilor următoare: 0,25, 0,50, 0,75, 1,00 și 1,25 g/l de butan-2,3-diol.

Se efectuează măsurările absorbantei conform condițiilor descrise în punctul 4.4.1., înlocuind eluatul de fiecare dată cu soluția etalon respectivă. Curba de etalonare nu trece prin origine.

5. Calculul și exprimarea rezultatelor

Valoarea conținutului de glicerol și butan-2,3-diol se determină din curbele de etalonare. Rezultatul se exprimă în grame pe litru (g/l) cu o zecimală pentru glicerol și cu două zecimale pentru butan-2,3-diol.

6. Titrare periodimetrică a glicerolului și butan-2,3-diolului

6.1. Reactivi

Soluții:

hidroxid de sodiu 1 M;

acid sulfuric 0,5 M;

acid periodic 0,025 M;

hidrogenocarbonat de sodiu NaHCO_3 de 8% (m/v);

arsenit de sodiu 0,025 M: într-un balon cotat de 1000 ml se dizolvă 2,473 g de anhidridă arsenoasă (As_2O_3) cu 30 ml de hidroxid de sodiu 1 M, se adaugă 35 ml de acid sulfuric 0,5 M și se aduce la cotă cu apă distilată;

iod, 0,025 M;
iodură de potasiu, 10% (m/v);
amidon, 2% (m/v).

6.2. Modul de lucru.

Într-un balon conic de 300 ml se plasează 5 ml din soluția probei de glicerol și 45 ml de apă distilată sau 25 ml din soluția probei de butan-2,3-diol și 25 ml de apă distilată. Apoi se adaugă 20 ml soluție de acid periodic 0,025 M, se lasă pentru 15 minute, agitând din timp în timp; se adaugă 10-20 ml de soluție hidrogenocarbonat de sodiu și 20 ml de soluție de arsenit de sodiu. Se lasă pentru 15 minute, agitând din timp în timp. Se adaugă 5 ml soluție de iodură de potasiu și 2 ml soluție de amidon. Se titrează excesul de arsenit de sodiu cu soluția de iod 0,025 M.

În paralel se efectuează o titrare oarbă, folosind 50 ml de apă distilată și aceleași cantități de reagenți.

6.3. Modul de calcul

6.3.1. Glicerolul:

1 ml de acid periodic 0,025 M oxidează 1,151 mg de glicerol. Conținutul glicerolului în grame pe litru (g/l) în soluțiile probei de glicerol va fi:

$$G = \frac{(X - B) \times 1,151}{\alpha}$$

Conținutul în procente (%) a glicerinei:

$$\frac{G}{2,5} \times 100,$$

unde:

X - volumul de soluție de iod 0,025 M, consumat pentru titrarea soluției probei de glicerol, ml;

B - volumul de soluție de iod 0,025 M, consumat pentru titrarea oarbă, ml;

α - volumul soluției probei de glicerol, $\alpha = 5$ ml.

6.3.2. Butan-2,3-diol

1 ml de acid periodic 0,025 M oxidează 2,253 mg de butan-2,3-diol. Conținutul de 2,3-butandiol în grame pe litru (g/l) a soluției probei de 2,3-butandiol va fi:

$$BD = \frac{(X' - B') \times 2,253}{b}$$

Conținutul în procente (%) a butan-2,3-diului:

$$\frac{BD}{2,5} \times 100,$$

unde:

X' - volumul de soluție de iod 0,025 M, consumat pentru titrarea soluției probei de butan-2,3-diol, ml;

B' - volumul de soluție de iod 0,025 M, consumat pentru titrarea oarbă, ml;

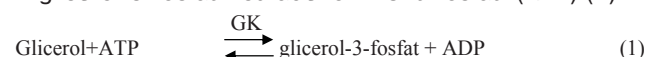
b - volumul soluției probei de butan-2,3-diol, b = 25 ml.

20.2 MA-F-AS 312-05-GLYENZ

1. Principiul metodei

Metoda uzuală

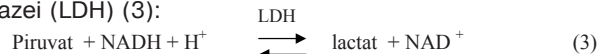
Glicerocinaza (GK) catalizează fosforilarea glicerol în glicerol-3-fosfat cu adozin-5'-trifosfat (ATP) (1):



Adozin-5'-difosfatul (ADP) format din nou este transformat în ATP de fosfoenol-piruvat (PEP) în prezența piruvat-kinazei (PK) cu formarea de piruvat (2):



Piruvatul este redus în lactat de nicotinamid adenin dinucleotid redus (NADH) în prezența lactat-dehidrogenazei (LDH) (3):



Cantitatea formată de NAD^+ în timpul reacției este proporțională cu cantitatea de glicerol. Oxidarea NADN este măsurată prin diminuarea extincției la lungimea de undă 334, 340 sau 365 nm.

2. Aparat

2.1. Spectrofotometru, care permite de a efectua măsurările la lungimea de undă 340 nm, maximum de absorbție a NADH. În lipsa spectrofotometrului se poate utiliza fotometru cu spectru discontinuu, care permite de a efectua măsurările la lungimea de undă 334 nm și 365 nm.

2.2. Cuvă de sticlă cu grosimea stratului de 1 cm sau cuve de folosință unică.

2.3. Micropipete cu volum de la 0,02 până la 2,0 ml.

3. Reactivi

3.1. Soluție tampon (glicilglicină 0,75 M, Mg^{2+} 10^{-3} M, pH=7,4): se dizolvă 10,0 g de glicilglicină și 0,25 g sulfat de magneziu, $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ în aproximativ 80 ml de apă bidistilată; se adaugă aproximativ 2,4 ml de hidroxid de sodiu de 5M până a obține un pH=7,4 și se aduce la volumul de 100 ml. Această soluție poate fi păstrată până la trei luni la o temperatură de +4°C.

3.2. (NADH $8,2 \times 10^{-3}$ M, ATP 33×10^{-3} M, PEP 46×10^{-3} M): se dizolvă în 6 ml de apă bidistilată 42 mg de sare redusă de nicotinamid-adenin-dinucleotid -disodic, 120 mg adozin-5' - trifosfat- $\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$, 60 mg fosfoenolpiruvat de sodiu și 300 mg hidrogenocarbonat de sodiu (NaHCO_3). Această soluție poate fi păstrată 2-3 zile la o temperatură de +4°C.

3.3. Piruvat-kinază/lactat-dehidrogenază (PK/LDH) (PK 3 mg/ml, LDH 1 mg/ml). Se utilizează suspensia fără diluare. Amestecul poate fi păstrat până la un an la o temperatură de +4°C.

3.4. Glicerocinaza (GK 1 mg/l). Suspensia poate fi păstrată până la un an la o temperatură de +4°C.

Toți reactivii necesari pentru determinarea glicerolului sînt disponibili în comerț.

4. Pregătirea probei

Determinarea glicerolului în general se efectuează direct în vinul diluat cu apă bidistilată în așa fel ca concentrația glicerolului să fie între 30 și 500 mg/l. (cantitatea de glicerol luată în probă trebuie să fie în intervalul de 3 -50 μg). Factorul de diluție 50 (2 ml în 100 ml) în general este suficient.

5. Metoda de lucru

La spectrofotometru se selectează lungimea de undă de 340 nm. Se măsoară absorbanta în cuve din sticlă optică cu grosimea stratului de 1 cm. Absorbanta zero se reglează în comparație cu aerul.

În cuvă din sticlă cu grosimea stratului de 1 cm se iau:

	Martor	Proba
Soluția 3.1	1,00 ml	1,00 ml
Soluția 3.2	0,10 ml	10,10 ml
Proba	-	0,10 ml
Apă	2,00 ml	1,90 ml
Suspensie 3.3	0,01 ml	0,01 ml

Se amestecă, aproximativ după 5 minute se citește absorbanta (A_{340}). Apoi se adaugă:

Suspensie 3.4 0,01 ml 0,01 ml

Se amestecă, se așteaptă sfârșitul reacției (aproximativ 5 -10 minute) și se citește absorbanta soluțiilor (A_2). Dacă reacția nu s-a terminat după 10 minute, se citește absorbanta din două în două minute până nu se constată o descreștere constantă timp de 2 minute.

Se determină diferența absorbantei $A_2 - A_1$ pentru martor (ΔA_T) și pentru probă (ΔA_D) și se calculează:

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

6. Exprimarea rezultatelor

Concentrația în grame pe litru (g/l) se calculează cu formula:

$$C = \frac{V \times PM}{\varepsilon \times a \times v \times 1000} \times \Delta A,$$

unde,

V – volumul matorului în ml (aici 3,12 ml);

v – volumul probei în ml (aici 0,1 ml);

PM – greutatea moleculară a substanței determinate (aici glicerolul = 92,1);

a – grosimea stratului cuvei (aici 1 cm);

ε – coeficientul de absorbție al NADH la 340 nm:

$$\varepsilon = 6,3 \text{ (mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}\text{)}.$$

Se obține:

$$C = 0,456 \times \Delta A \times F$$

unde, F – factorul de diluare

Pentru măsurările efectuate la 334 nm:

$$\varepsilon = 6,2 \text{ (mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}\text{)}$$

$$C = 0,463 \times \Delta A \times F$$

Pentru măsurările efectuate la 365 nm:

$$\varepsilon = 3,4 \text{ (mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}\text{)}$$

$$C = 0,845 \times \Delta A \times F$$

21. Fierul

21.1. MA-MD-AS 322-05-FER

1. Principiul metodei

Metoda de referință

După diluarea corespunzătoare a vinului și eliminarea alcoolului, conținutul de fier este determinat direct prin spectrofotometria de absorbție atomică.

Metoda uzuală

După mineralizarea vinului cu apă oxigenată, fierul, aflat în stare de Fe (III) se reduce până la Fe (II) și este determinat prin colorația roșie în prezența ortofenantrolinei.

2. Metoda de referință

2.1. Aparatura:

evaporator rotativ, cu baie de apă termostată; spectrometru de absorbție atomică, înzestrat cu arzător aer-acetilenă;

lampă catodică pentru fier.

2.2. Reactivi:

soluție standard concentrată de fier (III), 1 g/l. Se utilizează soluție standard (1 g/l) din comerț. Această soluție poate fi preparată prin dizolvarea a 8,6341 g de sulfat de fier (III) și amoniu $[\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}]$ în apă distilată, acidifiată ușor cu acid clorhidric de 1M, și completând volumul până la 1 litru;

soluție standard de fier diluată, 100 mg/l.

2.3. Metoda de lucru

2.3.1. Pregătirea probei

Se elimină alcoolul din vin prin concentrarea probei la jumătate din volumul inițial, utilizând un evaporator rotativ la o temperatură de (50-60)°C. Se readuce până la volumul inițial cu apă distilată. Dacă este cazul, se diluează înainte de determinare.

2.3.2. Calibrarea

În 5 baloane cotate de 100 ml se iau 1, 2, 3, 4 și 5 ml soluție de fier de 100 mg/l și se aduce până la 100 ml cu apă distilată. Soluțiile preparate conțin respectiv 1, 2, 3, 4 și 5 miligrame de fier pe litru. Soluțiile preparate

se păstrează în flacoane de polietilenă.

2.3.3. Modul de operare

Se selectează lungimea de undă 248,3 nm. Se reglează pe scara absorbantei valoarea zero cu apă distilată. Se aspiră proba diluată direct în arzătorul spectrofotometrului, urmată succesiv de cele cinci soluții standard. Se citesc valorile absorbantei. Măsurările se efectuează în două repetări.

2.4. Exprimarea rezultatelor

2.4.1. Modul de calcul

Se trasează curba de calibrare - absorbanta în funcție de concentrația de fier în soluțiile standard. Se raportează pe această curbă valoarea medie a absorbantei vinului diluat și se determină concentrația de fier C .

Concentrația de fier în miligrame pe litru (mg /l) în vin se calculează până la zecimale cu formula:

$$F \times C,$$

unde, F - factorul de diluare.

22. Cuprul

22.1. MA-MD-AS 322-06-CUIVRE

1. Principiul metodei

Metoda se bazează pe utilizarea spectrofotometriei de absorbție atomică.

2. Aparatura:

capsulă de platină;

spectrofotometru de absorbție atomică;

lampă catodică pentru cupru;

surse de gaz: aer-acetilenă sau oxid azot-acetilenă.

3. Reactivi:

cupru metalic;

acid azotic, concentrat, 65 %, HNO_3 , ($\rho_{20} = 1,38 \text{ g/ml}$);

acid azotic diluat 1:2 (v/v).

Soluție de cupru, 1 g/l.

Se utilizează o soluție standard de cupru. Această soluție poate fi preparată prin cântărirea a 1,000 g cupru metalic și transferarea, fără pierderi, într-un balon cotat de 1000 ml. Se adaugă acid azotic diluat 1:2 în cantitate suficientă pentru dizolvarea metalului, 10 ml acid azotic concentrat și se completează până la cotă cu apă bidistilată.

Soluție de cupru, 100 mg/l.

Se introduc 10 ml de soluție de cupru de 1 g/l într-un balon cotat de 100 ml și se completează până la cotă cu apă bidistilată.

4. Metoda de lucru

4.1. Pregătirea probei și determinarea cuprului

Dacă este necesar, se prepară soluții diluate corespunzător, utilizând apă bidistilată.

4.2. Calibrarea

Se pipetează 0,5; 1,0 și 2,0 ml de soluție de cupru 100 mg/l, în baloane cotate de 100 ml și se completează volumul cu apă bidistilată; soluțiile astfel obținute conțin cupru 0,5, 1,0 și 2,0 mg/l.

4.3. Măsurările

Se măsoară absorbția la 324,8 nm. Se reglează valoarea zero cu apă bidistilată. Se măsoară direct absorbția soluțiilor standard. Se execută două determinări pentru fiecare soluție.

5. Exprimarea rezultatelor

Metoda de calcul

Se trasează un grafic al variațiilor absorbției în funcție de concentrațiile de cupru în soluțiile standard.

Se raportează pe această curbă valoarea medie a absorbantei vinului diluat și se determină concentrația de cupru C .

Concentrația de cupru în miligrame pe litru (mg /l) în vin se calculează cu două zecimale cu formula:

$$F \times C,$$

unde, F - factorul de diluare.

Soluțiile pentru trasarea curbei de calibrare și factorul de diluție a probei se aleg în funcție de sensibilitatea aparatului utilizat și concentrația cuprului în probă.

Cînd concentrația de cupru în proba analizată este foarte scăzută, modul de operare este următorul: se pun 100 ml de probă într-o capsulă de platină și se evaporază într-o baie de apă la 100 °C pînă la consistență siropoasă; se adaugă 2,5 ml de acid azotic concentrat, picătură cu picătură, pînă cînd se acoperă complet fundul capsulei. Se arde cu grijă reziduul pe o placă cu încălzire electrică sau la o flacără mică; apoi capsula se pune într-o sobă de mufel, setată la o temperatură de 500 ± 25 °C și se lasă aproximativ o oră. După răcire, cenușa se umezește cu 1 ml de acid azotic concentrat, se amestecă cu un mojar de sticlă; se evaporă și se incinerează din nou, cum e indicat mai sus. Se pune din nou capsula în soba de mufel pe 15 minute, se repetă tratamentul cu acid azotic concentrat cel puțin de trei ori. Se dizolvă cenușa prin adăugarea în capsulă a 1 ml de acid azotic concentrat și 2 ml de apă bidistilată, apoi se transferă într-un balon cotat de 10 ml. Se spală capsula de trei ori, utilizînd de fiecare dată 2 ml de apă bidistilată, se completează pînă la cotă cu apă bidistilată.

23. Zincul

23.1. MA-MD-AS 322-08-ZINCUL

1. Principiul metodei

După înlăturarea alcoolului, zincul se determină direct în vin prin spectrofotometria de absorbție atomică.

2. Reactivi:

apa utilizată pentru analize trebuie să fie bidistilată în aparate din sticlă borosilicat sau cu un grad echivalent de puritate;

soluție standard de zinc, 1 g/l: se utilizează o soluție de zinc standard din comerț. Această soluție poate fi preparată dizolvînd 4,3975 g de sulfat de zinc ($\text{ZnSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$) în apă și completînd volumul pînă la un litru;

soluție standard de zinc diluată, 100 mg/l.

3. Aparatura:

evaporator rotativ cu baie de apă reglată termostatic; spectrometru de absorbție atomică, echipat cu arzător aer-acetilenă;

lampă catodică pentru zinc.

4. Metoda de lucru

4.1. Pregătirea probei

Se înlătură alcoolul din 100 ml de vin prin reducerea volumului probei la jumătate din volumul inițial, utilizînd un evaporator rotativ la o temperatură de (50-60) °C. Se completează volumul inițial de 100 ml cu apă bidistilată.

4.2. Calibrarea

În 4 baloane cotate de 100 ml se iau 0,5, 1,0, 1,5 și 2,0 ml de soluție de zinc de 100 mg/l și se completează pînă la cotă cu apă bidistilată. Soluțiile preparate conțin 0,5, 1,0, 1,5 și 2,0 mg de zinc pe litru.

4.3. Modul de operare

Se reglează lungimea de undă la 213,9 nm. Se reglează absorbția la zero, utilizînd apă bidistilată. Se aspiră vinul direct în arzătorul spectrofotometrului, urmat succesiv de cele patru soluții standard. Se citesc valorile absorbției. Se repetă fiecare măsurare.

5. Exprimarea rezultatelor

5.1. Metoda de calcul

Se trasează grafic variației absorbției în funcție de concentrația de zinc din soluțiile standard. Se raportează pe grafic valoarea medie a absorbției obținută cu proba de vin diluat și se determină concentrația de zinc în miligrame pe litru (mg/l) cu precizie de o zecimală.

24. Cadmiul

24.1. MA-MD-AS 322-10-CADMIU

1. Principiul metodei

Cadmiul se determină direct în vin prin spectrofotometrie de absorbție atomică fără flacără.

2. Aparatura

spectrofotometru de absorbție atomică, înzestrat cu un cuptor de grafit, corector de linie de bază și multipotențiometrul; lampă cu catod tubular pentru cadmiu; micropipete de 5 μ l, dotate cu un vîrf special pentru determinarea prin metoda absorbției atomice.

Toată aparatura din sticlă, înainte de utilizare, trebuie spălată în acid azotic concentrat, încălzit la o temperatură de 70-80 °C, și clătită cu apă bidistilată.

2. Reactivi:

apa utilizată trebuie să fie bidistilată în aparat din sticlă borosilicată sau apă de puritate echivalentă. Toți reactivii trebuie să aibă calitatea analitică pură și, în special, să nu conțină cadmiu;

acid fosforic 85 % ($\rho_{20} = 1,71$ g/ml);

soluție de acid fosforic, obținută prin diluarea a 8 ml de acid fosforic cu apă, pînă la 100 ml;

soluție de sare disodică a acidului etilendiaminotetraacetic (EDTA) de 0,02 M;

soluție tampon pH 9: într-un balon cotat de 100 ml, se dizolvă 5,4 g clorură de amoniu în cîțiva mililitri de apă, se adaugă 35 ml de soluție de hidroxid de amoniu ($\rho_{20} = 0,92$ g/ml) diluată la 25 % (v/v) și se aduce la semn cu apă;

eriocrom negru T: 1 % (m/m) soluție solidă în clorură de sodiu;

sulfat de cadmiu ($3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$). Titrul sulfatului de cadmiu trebuie verificat în felul următor: se cîntăresc exact 102,6 mg de probă de sulfat de cadmiu, se trec cantitativ într-un vas cilindric cu puțină apă, se agită pînă la dizolvare; se adaugă 5 ml de soluție tampon pH 9 și aproximativ 20 mg de eriocrom negru T. Se titrează cu soluția de EDTA pînă cînd indicatorul începe să vireze în albastru.

Volumul de EDTA adăugat trebuie să fie de 20 ml. Dacă volumul este puțin diferit, se corectează în mod corespunzător cantitatea sulfatului de cadmiu, utilizat pentru prepararea soluției de referință;

soluție de referință de cadmiu, 1 g/l. Se utilizează o soluție standard din comerț. Această soluție poate fi obținută prin dizolvarea a 2,2820 g de sulfat de cadmiu în apă și completarea pînă la un litru. Soluția se păstrează într-un recipient de sticlă borosilicată cu dop rodat.

4. Metoda de lucru

4.1. Pregătirea probei

Se diluează vinul 1:2 (v/v) cu soluție de acid fosforic.

4.2. Prepararea soluțiilor pentru domeniul de calibrare

Utilizînd soluție de referință de cadmiu, se prepară prin diluare succesivă a soluțiilor cu concentrația de 2,5; 5,0; 10 și 15 μ g de cadmiu pe litru.

4.3. Determinarea

4.3.1. Program pentru cuptor (doar cu caracter informativ):

uscarea la 100 °C	timp de 30 de secunde;
mineralizarea la 900 °C	timp de 20 de secunde;
atomizarea la 2 250 °C	timp de 2-3 secunde;
fluxul de azot (gazul de antrenare):	6 litri/minut.

La finalul analizei se ridică temperatura la 2 700 °C pentru curățirea cuptorului.

4.3.2. Determinarea prin spectrofotometrie de absorbție atomică

Se selectează lungimea de undă 228,8 nm. Se reglează valoarea zero pe scara absorbției cu apă bidistilată. Cu micropipeta se aspiră în cuptor trei alicote de 5 μ l

din fiecare soluție din domeniul de calibrare și din soluția de analizat. Se înregistrează valorile absorbantei. Se calculează valoarea medie a absorbantei din rezultatele celor trei alicote.

5. Exprimarea rezultatelor

5.1. Mod de calcul

Se trasează curba de etalonare –absorbanta în funcție de concentrația de cadmiu din soluțiile din domeniul de calibrare. Variația este liniară. Se raportează pe curba de etalonare valoarea medie a absorbantei soluției probei și se citește concentrația de cadmiu C .

Concentrația de cadmiu, exprimată în micrograme pe litru de vin, este egală cu:

$$2 \times C.$$

25. Plumbul

25.1. MA-MD-AS 322-11-PLOMB

1. Principiul metodei

Plumbul este determinat direct în vin, utilizând spectrofotometria de absorbție atomică fără flacără.

2. Aparatura:

spectrofotometru de absorbție atomică, echipat cu cuptor de grafit, corector de absorbție nespecifică și un multi-potențiomtru;

lampă catodică pentru plumb;

micropipete de 5 μ l, dotate cu un vîrf special pentru determinarea absorbției atomice.

Toată aparatura de sticlă trebuie spălată înaintea utilizării cu acid azotic concentrat încălzit la 70-80 °C și clătită cu apă bidistilată.

3. Reactivi:

acid fosforic 85 % ($\rho_{20} = 1,71$ g/ml);

soluție de acid fosforic, obținută prin diluarea a 8 ml de acid fosforic cu apă, pînă la 100 ml;

acid azotic ($\rho_{20} = 1,38$ g/ml);

soluție standard de plumb 1 g/l. Se utilizează o soluție standard în comerț. Această soluție poate fi obținută prin dizolvarea a 1,600 g de nitrat de plumb (II), $Pb(NO_3)_2$ în acid azotic de 1 % (v/v) și completată pînă la un litru. Soluția se păstrează într-un flacon de sticlă borosilicat, cu dop de sticlă șlefuit.

Apa utilizată trebuie să fie bidistilată în aparat din sticlă borosilicată sau apă de puritate echivalentă. Toți reactivii trebuie să aibă calitatea analitică pură și, în special, să nu conțină plumb.

4. Metoda de lucru

4.1. Pregătirea probei

Se diluează vinul 1:2 sau 1:3 cu soluție de acid fosforic, în funcție de concentrația de plumb presupusă.

4.2. Prepararea soluțiilor pentru calibrare

Utilizînd soluția standard de plumb, se pregătesc prin diluarea succesivă cu apă bidistilată, soluții cu concentrația de 2,5, 5,0, 10,0 și 15,0 μ g plumb la litru,

4.3. Determinarea

4.3.1. Program pentru cuptor (doar cu caracter informativ):

uscarea la 100 °C	timp de 30 de secunde;
mineralizare la 900 °C	timp de 20 de secunde;
atomizare la 2250 °C	timp de 2-3 secunde;
flux de azot (gazul de antrenare):	6 litri/minut.

La finalul analizei se ridică temperatura la 2700 °C pentru curățarea cuptorului.

4.3.2. Determinări

Se reglează lungimea de undă la 217 nm. Se reglează scala absorbției la zero cu apă bidistilată. Utilizînd o micropipetă, se introduc în cuptor trei alicote de 5 μ l de fiecare soluție de calibrare și de soluție probă. Se înregistrează valorile absorbției. Se calculează valoarea medie a absorbției din rezultatele pentru cele trei alicote.

5. Exprimarea rezultatelor

5.1. Metoda de calcul

Se trasează curba variației absorbției în funcție de concentrațiile de plumb în intervalul de calibrare. Variația este liniară. Se plasează valoarea medie a absorbției soluției probă, pe curba de calibrare, derivînd din aceasta concentrația de plumb C . Concentrația de plumb, exprimată în micrograme pe litru de vin, este egală cu:

$$C \times F,$$

unde, F - factorul de diluare.

26. Arseniul

26.1 MA-MD-AS 323-01-ASSAA

1. Principiul metodei

După evaporarea alcoolului etilic și reducerea arseniului V în arseniu III, arseniul din vin se transformă în hidrură și se determină prin spectrofotometrie de absorbție atomică.

2. Aparatura

Veselă:

- baloane cotate de 50, 100 ml;

- pipete gradate de 1, 5, 10 și 25 ml.

Baie de apă la o temperatură de 100°C.

Filtre fără cenușă.

Spectrofotometru de absorbție atomică cu parametrii:

arzător aer-acetilenă;

lampă cu catod tubular pentru arseniu;

lungimea de undă 193,7 nm;

lățimea fantei 1,0 nm;

intensitatea lămpii cu catod tubular 7 mA;

corecția absorbției nespecifice cu lampă de deuterium.

2.5. Accesorii:

celulă de absorbție, plasată pe arzător aer-acetilenă;

generator de vapori (separator gaz-lichid);

gaz neutru (argon);

generator de hidrură (figura 3).

3. Reactivi:

apă demineralizată, ultrapură;

acid azotic, 65%, ultrapur;

iodură de potasiu;

iodură de potasiu, 10 % (m/v);

acid clorhidric concentrat;

acid clorhidric, 10 %;

borohidru de sodiu;

hidroxid de sodiu;

borhidru de sodiu, 0,6 % (conținutul de hidroxid de sodiu 0,5 % (m/v);

clorură de calciu (se utilizează ca deshidratant);

soluție de arseniu pur, 1 g/l: se dizolvă 1,5339g de As_2O_5 într-un balon cota de 1000 ml și se aduce la semn cu apă demineralizată;

soluție de arseniu de 10 mg/l: se ia 1 ml de soluție de arseniu pur (1 g/l) într-un balon cota de 100 ml; se adaugă 1 % de acid azotic, se aduce la semn cu apă demineralizată;

soluție etalon de arseniu de 100 μ g/l: se ia 1 ml de soluție de arseniu de (10 mg/l) într-un balon cota de 100 ml și se aduce la semn cu apă demineralizată;

soluție pentru etalonare: 0; 5; 10 și 25 μ g/l: se iau succesiv 0, 5, 10 și 25 ml soluție de arseniu de 100 μ g/l în patru baloane cotate de 100 ml, se adaugă în fiecare balon 10 ml iodură de potasiu de 10 % și 10 ml de acid clorhidric concentrat, se lasă în repaus timp de 1 oră, se aduce la semn cu apă demineralizată.

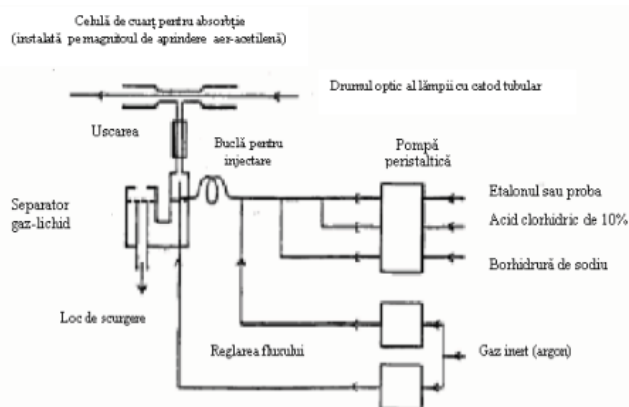


Figura 3. Generator de hidrură.

4. Pregătirea probei

25 ml de vin se evaporă pe baie de apă la o temperatură de 100°C și se aduce la 50 ml în prezența a 5 ml iodură de potasiu de 10 % și 5 ml acid clorhidric concentrat, se lasă în repaus timp de 1 oră; se filtrează printr-un filtru fără cenușă.

Paralel se pregătește o soluție martor.

5. Măsurarea

Pompa peristaltică aspiră soluția de borhidru de sodiu, soluția de acid clorhidric de 10 % și etalonul sau proba.

Succesiv se aspiră soluțiile pentru etalonare, se citește absorbanta timp de 10 secunde.

Se efectuează două repetări; se trasează curba de etalonare (absorbanta în funcție de concentrația de arseniu în $\mu\text{g/l}$).

Se aspiră probele conform punctului 4, se determină concentrația de arseniu în probe în $\mu\text{g/l}$, se calculează concentrația de arseniu în probe, luând în considerare factorul de diluare 1:2.

27. Mercurul

27.1 MA-MD-AS 323-06-MERCUR

1. Domeniul de aplicare

Metoda se aplică pentru determinarea mercurului în vin cu concentrația de 0-10 $\mu\text{g/l}$

2. Descrierea metodei

2.1. Principiul metodei

Mineralizarea vinului se efectuează în mediu acid, prin încălzire în flux de argon și se finalizează cu adăugarea de permanganat de potasiu; reducerea permanganatului de caliu în exces se efectuează cu clorhidrat-hidroxilamină; reducerea mercurului II până la mercur metalic – cu clorură de staniu II; antrenarea mercurului cu un curent de argon, la temperatura mediului ambiant.

Determinarea mercurului în stare de vapori monoatomici prin spectrofotometrie de fluorescență atomică, la lungimea de undă de 254 nm: atomii de mercur sunt excitați de o lampă de vapori de mercur; atomii astfel excitați emit o radiație fluorescentă, care permite determinarea mercurului cu ajutorul unui detector fonic, situat sub un unghi de 90° în raport cu fluxul de excitație; determinarea prin metoda de fluorescență atomică permite de a obține o linearitate suficientă și exclude efectul de memorie.

2.2. Schema analizei (figura 4)

Pompa peristaltică aspiră soluția de clorură de staniu II, soluția de referință (apă demineralizată ce conține 1 % de acid azotic) și etalonul sau proba de vin mineralizată.

Mercurul metalic este trecut printr-un separator gaz-lichid cu ajutorul unui curent de argon. După deplasarea printr-o capsulă a unui uscător, mercurul se determină prin fluorescență. Apoi, pentru a antrena mercurul, curentul gazos se trece printr-o soluție de permanganat de potasiu.

3. Reactivi:

apă demineralizată ultrapură;

acid azotic 65%, ultrapur;

blanc: apă demineralizată cu conținut de acid azotic de 1%;

soluție de acid azotic, 5,6 M: într-un balon cotat de 1000 ml se iau 400 ml acid azotic ultra-pur și se completează cu apă demineralizată;

acid sulfuric ($\rho_{20}=1,84 \text{ g/ml}$);

soluție de acid sulfuric, 9M: într-un balon cotat de 1000 ml se iau 200 ml apă demineralizată, apoi 500 ml acid sulfuric concentrat, după răcire se completează cu apă demineralizată;

permanganat de potasiu KMnO_4 ;

soluție de permanganat de potasiu 5% (m/v): într-un balon cotat de 1000 ml se dizolvă în apă demineralizată 50g de permanganat de potasiu. Volumul se completează cu apă demineralizată;

clorhidrat de hidroxilamină NH_2OH , HCl ;

soluție reducătoare: se dizolvă 12 g clorhidrat de hidroxilamină în 100 ml apă demineralizată;

clorură de staniu II ($\text{SnCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$);

acid clorhidric concentrat;

soluție de clorură de staniu II: se dizolvă 40 g clorură de staniu II în 50 ml de acid clorhidric concentrat și se completează cu apă demineralizată;

soluție de mercur pur, 1 g/l: se prepară dizolvând într-un balon cotat de 1000 ml a 1,708 g de $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \times \text{H}_2\text{O}$ în soluție de acid azotic de 12 %;

soluție-etalon de mercur de 10 mg/l: într-un balon cotat de 100 ml se ia 1 ml soluție de mercur pur, se adaugă 5 ml de acid azotic, se completează volumul cu apă demineralizată;

soluție de mercur de 50 $\mu\text{g/l}$: într-un balon cotat de 200 ml se ia 1 ml soluție de mercur de 10 mg/l, se adaugă 2 ml acid azotic, se completează volumul cu apă demineralizată.

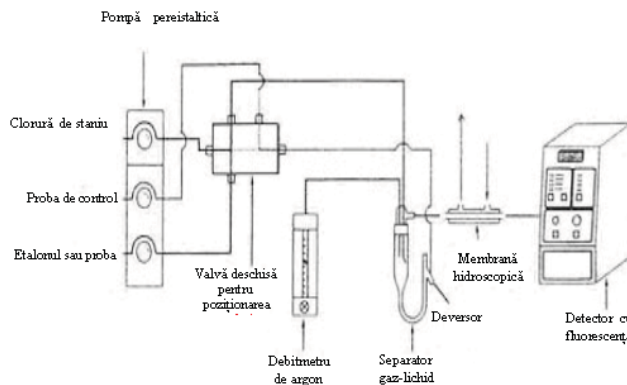


Figura 4. Schema analitică pentru determinarea mercurului

4. Echipament

4.1. V e s e l ă:

baloane 100, 200 și 1000 ml;

pipete gradate de 0,5, 1, 2, 5, 10 și 20 ml.

Înainte de utilizare, vesela trebuie să fie spălată cu acid azotic de 10%, lăsată în contact pentru 24 de ore, apoi spălată cu apă demineralizată;

aparat pentru mineralizare (figura 5);

balon pentru încălzire cu temperatură controlată;

pompă peristaltică;

generator de abur rece cu separator gazolichid;

desicant: membrană hidroscopice traversată de un curent de aer de la un compresor, și plasată înainte de detector;

spectrofluorimetru;

lampă de vapori de mercur, reglată la lungimea de undă de 254 nm;

detector specific de fluorescență atomică;

microcalculator: reglarea logică a parametrilor generatorului de vapori și a detectorului de fluorescență atomică, calibrarea și operarea rezultatelor;

imprimantă pentru arhivarea rezultatelor;

butelie cu gaz inert (argon).

5. Prepararea probelor și trasarea curbei de calibrare

5.1. Curba de etalonare: 0, 0,25, 0,5 și 1,0 mg/l

În 4 baloane de 100 ml se iau 0, 0,5, 1,0 și 2,0 ml soluție de mercur de 50 mg/l, se adaugă 1% de acid azotic, se completează cu apă demineralizată.

5.2. Pregătirea probelor (figura 5)

Vinul se mineralizează într-un aparat de sticlă Pyrex, format din trei elemente unite între ele prin rodaj sferic: un balon cu fund rotund de 250 ml, o cameră de recuperare a vaporilor și un agent frigorific.

Se iau cu pipeta 20 ml de vin în balonul de reacție de 250 ml și se assemblează la aparatul de mineralizare. Se adaugă foarte încet 5 ml de acid sulfuric și 10 ml de acid azotic, se lasă pe noapte.

Se încălzește încet, până la dispariția vaporilor de azot, se lasă să se răcească. Se recuperează vaporii condensati în balonul de reacție. Se clătește aparatul cu apă demineralizată. Se transferă conținutul balonului de reacție într-un balon cotelat de 100 ml. Se adaugă soluție de permanganat de potasiu până la o culoare persistentă.

Se dizolvă precipitatul (MnO_2) cu soluție de reducere. Se completează cu apă demineralizată.

Se prepară o probă albă cu apă demineralizată.

6. Metoda de lucru

6.1. Determinarea analitică

Se conectează fluorometerul: aparatul se stabilizează în timp de 15 minute. Cu pompa peristaltică se aspiră proba martor, soluția de clorură de staniu II și soluțiile etalon sau probele.

Se verifică dacă apare barbotarea în separatorul gaz lichid. Se introduc succesiv soluțiile de calibrare, se declanșează programa generatorului de vapori. Software-ul de la calculator stabilește curba de etalonare (procentul de fluorescență, în funcție de concentrația de mercur în $\mu g/l$). Apoi se introduc probele.

6.2. Autocontrolul

Toate cele cinci determinări, martorul și standardele sunt analizate pentru a corecta o posibilă derivă a spectrofluorimetrului.

7. Exprimarea rezultatelor

Rezultatele sunt date de programele calculatorului și exprimate în micrograme pe litru ($\mu g/l$). Concentrația de mercur în vin se exprimă în $\mu g/l$, luând în considerare diluarea 1 : 5.

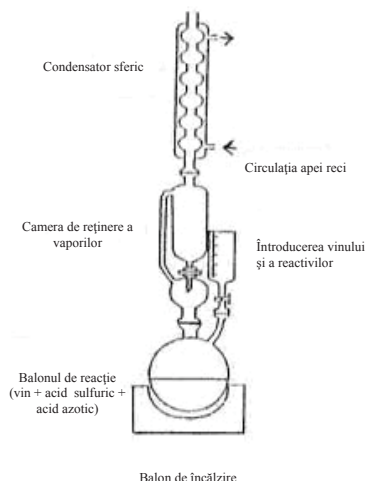


Figura 5. Aparat pentru mineralizarea vinului

28. Sodiul

28.1 MA-MD-AS 322-03-SODIUM

1. Principiul metodelor

1.1. Metoda de referință: spectrofotometrie de absorbție atomică

Sodiul se determină direct în vin prin spectrofotometrie de absorbție atomică după adăugarea soluției tampon de clorură de ceziu pentru evitarea ionizării sodiului.

1.2. Metoda uzuală: fotometrie cu flacără

Sodiul se determină prin fotometrie cu flacără direct în vinul diluat nu mai puțin de 10 ori.

2. Metoda de referință

2.1. Aparat:

spectrofotometru de absorbție atomică înzestrat cu arzător cu flacără aer-acetilenă;

lampă cu catod tubular pentru sodiu.

2.2. Reactivi

Soluție de sodiu cu concentrația 1 g/l.

Se utilizează soluție standard de sodiu de 1 g/l din comerț. Această soluție se poate prepara dizolvând 2,542 g clorură de sodiu uscată ($NaCl$) într-un litru apă distilată.

Soluția se păstrează în flacon de polietilenă.

Soluție model:

acid citric	3,5 g
zaharoză	1,5 g
glicerol	5,0 g
clorură de calciu anhidră	50 mg
clorură de magneziu anhidră	50 mg
alcool absolut	50 ml
apă	până la 500 ml

Soluție de clorură de ceziu 5 % (recalculat în ceziu)

Se dizolvă 6,330 g clorură de ceziu ($CsCl$) în 100 ml apă distilată.

2.3. Metoda de lucru

2.3.1. Pregătirea probei.

Într-un balon cotelat de 50 ml se iau 2,5 ml de vin, 1 ml soluție clorură de ceziu și se aduce la cotă cu apă distilată.

2.3.2. Calibrarea

Într-o serie de baloane cotate cu capacitatea de 100 ml se iau 5 ml soluție model și se adaugă 0, 2,5, 5,0, 7,5, 10,0 ml soluție de sodiu cu concentrația de 1 g/l în prealabil diluată 1:100. În toate baloanele se adaugă cite 2 ml soluție de clorură de ceziu și se aduce volumul până la 100 ml cu apă distilată.

Soluțiile etalon preparate conțin respectiv 0, 0,25, 0,50, 0,75 și 1,00 mg sodiu și 1 g ceziu la litru. Aceste soluții se păstrează în flacoane de polietilenă.

2.3.3. Determinarea.

Se selectează lungimea de undă de 589 nm. Pe scara absorbantei se reglează zero cu soluția model cu conținutul în ceziu de 1 g/l. Se aspiră direct în arzătorul spectrofotometrului vinul diluat, apoi succesiv soluțiile etalon. Se notează absorbanta. Determinările se repetă de două ori.

2.4. Exprimarea rezultatelor

2.4.1. Calculul

Se trasează curba de etalonare a variației absorbantei în funcție de concentrația de sodiu a soluțiilor etalon.

Se raportează la această curbă valoarea medie a absorbantei obținute pentru probă și se determină concentrația de sodiu C în miligrame pe litru (mg/l).

Concentrația de sodiu exprimată în miligrame la litru de vin, fără zecimale, va fi:

$$20 \times C$$

2.4.2. Repetabilitatea (r)

$$r = 1 + 0,024 \times X_i,$$

unde,

X_i - concentrația sodiului în probă, mg/l.

2.4.3. Reproducibilitatea (R)

$$R = 2,5 + 0,05 \times X_i, \text{ unde}$$

X_i - concentrația sodiului în probă, mg/l.

3. Metoda uzuală

3.1. Aparat

fotometru cu flacără alimentat cu un amestec aer-butan.

3.2. Reactivi:

3.2.1. Soluție etalon de sodiu, 20 g/l

alcool absolut	10 ml
acid citric	700 mg
zaharoză	300 mg
glicerol	1000 mg
tartrat acid de potasiu	481,3 mg
clorură de calciu anhidră	10 mg
clorură de magneziu anhidră	10 mg
clorură de sodiu uscat	50,84 mg
apă	până la 1000 ml

3.2.2. Soluție pentru diluare:

alcool absolut	10 ml
acid citric	700 mg
zaharoză	300 mg
glicerol	1000 mg
tartrat acid de potasiu	481,3 mg
clorură de calciu anhidră	10 mg
clorură de magneziu anhidră, (Mg Cl ₂)	10 mg
apă	până la 1000 ml

Pentru prepararea soluțiilor 3.2.1. și 3.2.2. se dizolvă tartratul acid de potasiu în aproximativ 500 ml de apă distilată fierbinte, se amestecă soluția cu restul componentelor dizolvați în prealabil în 400 ml apă distilată și se aduce la volumul de 1 l.

La aceste soluții se adaugă câte 2 picături de izotiocianat de alil și se păstrează în flacoane de polietilenă.

3.3. Metoda de lucru

3.3.1. Etalonarea

În 5 baloane cotate cu capacitatea de 100 ml se iau 5, 10, 15, 20 și 25 ml soluție de sodiu de 20 mg/l, se aduc la semn cu soluție de diluare. În așa fel se obțin soluții cu conținutul de sodiu, respectiv 1, 2, 3, 4 și 5 mg de sodiu la litru.

3.3.2. Determinarea

Măsurările se efectuează la lungimea de undă de 589,0 nm. Se reglează emisia spectrală de 100 % cu apă distilată. Se aspiră direct în arzătorul fotometrului succesiv soluțiile-etalon, apoi vinul, diluat cu apă distilată în proporție de 1:10, și se măsoară procentul emisiei spectrale. Dacă este necesar, vinul se diluează în proporție de 1:10 cu soluție de diluare.

3.4. Explicarea rezultatelor

3.4.1. Calculul

Se trasează curba de etalonare a variației procentului emisiei spectrale, în funcție de concentrația de sodiu a soluțiilor etalon.

Se raportează la această curbă valoarea medie a emisiei spectrale obținute pentru probă și se determină concentrația de sodiu C.

Concentrația de sodiu, exprimată în miligrame la litru de vin (mg/l), fără zecimale, va fi:

$$C \times F,$$

unde,

F - factorul de diluare

3.4.2. Repetabilitatea (r)

Vinuri licoroase

$$r = 2,0 \text{ mg/l}$$

Cu excepția vinurilor licoroase

$$r = 1,4 \text{ mg/l}$$

3.4.3. Reproducibilitatea (R)

$$R = 4,7 + 0,08 \times X_i,$$

unde, X_i - concentrația sodiului în probă, mg/l.

29. Potasiul

29.1 MA-MD-AS 322-02-POTAS

1. Principiul metodelor

1.1. Metoda de referință: spectrofotometrie de absorbție atomică

Conținutul de potasiu se determină direct în vinul diluat prin spectrofotometrie de absorbție atomică după adăugarea soluției tampon de clorură de ceziu pentru evitarea ionizării potasiului.

1.2. Metoda uzuală: fotometrie cu flacără

Conținutul de potasiu se determină prin fotometrie cu flacără direct în vinul diluat în proporție cel puțin de 1:10.

2. Metoda de referință

2.1. Aparat:

spectrofotometru de absorbție atomică înzestrat cu arzător cu flacără aer-acetilenă;

lampă cu catod tubular pentru potasiu.

2.2. Reactivi:

soluție de potasiu cu concentrația 1 g/l; se utilizează soluție standard de potasiu de 1 g/l din comerț. Această soluție se poate prepara dizolvând 4,813 g de tartrat acid de potasiu într-un litru apă distilată. Soluția se păstrează în flacon de polietilenă;

soluție model:

acid citric	3,5 g;
zaharoză	1,5 g;
glicerol	5,0 g;
clorură de calciu anhidră	50 mg;
clorură de magneziu anhidră	50 mg;
alcool absolut	50 ml;
apă	până la 500 ml;

soluție de clorură de ceziu 5 % (recalculat în ceziu): se dizolvă 6,330 g clorură de ceziu (CsCl) în 100 ml apă distilată.

2.3. Metoda de lucru

2.3.1. Pregătirea probei

Într-un balon cotate de 50 ml se iau 2,5 ml de vin, preventiv diluat în proporție de 1:10, se adaugă 1 ml soluție clorură de ceziu și se aduce la semn cu apă distilată.

2.3.2. Calibrarea

Într-o serie de baloane cotate de 100 ml se iau 5 ml soluție model și se adaugă 0, 2,0, 4,0, 6,0 și 8,0 ml soluție de potasiu cu concentrația de 1 g/l, în prealabil diluată în proporție de 1:10, în toate baloanele se adaugă câte 2 ml soluție de clorură de ceziu și se aduce volumul până la 100 ml cu apă distilată.

Soluțiile etalon preparate conțin respectiv 0, 2, 4, 6 și 8 mg de potasiu și 1 g de ceziu la litru. Aceste soluții se păstrează în flacoane de polietilenă.

2.3.3. Determinarea

Se selectează lungimea de undă de 769,9 nm. Pe scara absorbantei se reglează zero cu soluția model cu conținutul de ceziu de 1 g/l. Se aspiră direct vinul diluat în arzătorul spectrofotometrului, apoi succesiv soluțiile etalon. Se notează absorbanta. Toate determinările se repetă de două ori.

2.4. Explicarea rezultatelor

2.4.1. Calculul

Se trasează curba de etalonare a variației absorbantei în funcție de concentrația de potasiu a soluțiilor etalon.

Se raportează la această curbă valoarea medie a absorbantei obținute pentru proba diluată și se determină concentrația de potasiu C în miligrame la litru (mg/l).

Concentrația de potasiu, exprimată în miligrame la litru de vin fără zecimale va fi:

$$F \times C,$$

unde, F - factorul de diluție (aici 200)

2.4.2. Repetabilitatea (r)

$$r = 35 \text{ mg/l}$$

2.4.3. Reproducibilitatea (R)

$$R = 66 \text{ mg/l}$$

2.4.4. Alte exprimări ale rezultatelor

în miliechivalenți la litru: $0,0256 \times F \times C$

în tartrat acid de potasiu în miliechivalenți la litru: $4,813 \times F \times C$

3. Metoda uzuală

3.1. Aparat:

fotometru cu flacără alimentat cu un amestec aer-butan.

3.2. Reactivi

3.2.1. Soluție etalon de potasiu, 100 mg/l:

alcool absolut	10 ml;
acid citric	700 mg;
zaharoză	300 mg;
glicerol	1000 mg;
clorură de sodiu uscată	50,84 mg;
clorură de calciu anhidră	10 mg;
clorură de magneziu anhidră	10 mg;
tartrat acid de potasiu uscat	481,3 mg;
apă	pină la 1000 ml.

3.2.2. Soluție pentru diluare:

alcool absolut	10 ml;
acid citric	700 mg;
zaharoză	300 mg;
glicerol	1000 mg;
clorură de sodiu anhidră	50,84 mg;
clorură de calciu anhidră	10 mg;
clorură de magneziu anhidră	10 mg;
tartrat acid de potasiu uscat	383 mg;
apă	pină la 1000 ml.

Pentru prepararea soluțiilor 3.2.1 și 3.2.2 tartratul acid de potasiu se dizolvă în aproximativ 500 ml de apă distilată fierbinte, se amestecă soluția cu restul componentelor, dizolvați în prealabil în 400 ml apă distilată, și se aduce la volumul de 1 l. La aceste soluții se adaugă câte 2 picături de izotiocianat de etil și se păstrează în flacoane de polietilenă.

3.3. Metoda de lucru

3.3.1. Etalonarea

În 4 baloane cotate cu capacitatea de 100 ml se iau 25, 50, 75 și 100 ml soluție etalon de potasiu și se aduc la semn cu soluție de diluare. În așa fel se obțin soluții cu conținutul de potasiu respectiv 25, 50, 75, 100 mg la litru.

3.3.2. Determinarea

Măsurările se efectuează la lungimea de undă 766,0 nm. Se reglează emisia spectrală de 100 % cu apă distilată. Se aspiră direct în arzătorul fotometrului succesiv soluțiile etalon, apoi vinul, diluat cu apă distilată în proporție de 1:10 și se măsoară procentul emisiei spectrale. Dacă este necesar, vinul de acum diluat se diluează în proporție de 1:10 cu soluție de diluare.

3.4. Exprimarea rezultatelor

3.4.1. Calculul

Se trasează curba de etalonare a variației procentului emisiei spectrale în funcție de concentrația de potasiu a soluțiilor etalon.

Se raportează la această curbă valoarea medie a emisiei spectrale, obținute pentru proba de vin diluată și se determină concentrația de potasiu C .

Concentrația de potasiu, exprimată în miligrame la litru (mg/l) de vin, fără zecimale, va fi:

$$C \times F,$$

unde, F - factorul de diluare

$$3.4.2. \text{ Repetabilitatea } (r) \quad r = 17 \text{ mg/l}$$

$$3.4.3. \text{ Reproducibilitatea } (R) \quad R = 66 \text{ mg/l}$$

3.4.4. Alte exprimări ale rezultatelor:

în miliechivalenți la litru: $0,0256 \times F \times C$

în tartrat acid de potasiu în miliechivalenți la litru: $4,813 \times F \times C$

30. Calciul

30.1 MA-MD-AS 322-04-CALCIU

1. Principiul metodei

Calciul se determină direct în vinul, diluat corespunzător, prin spectrofotometrie de absorbție atomică, după adăugarea unei soluții tampon specială.

2. Aparat:

spectrofotometru de absorbție atomică, înzestrat cu arzător cu flacără aer-acetilenă;

lampă cu catod tubular pentru calciu.

3. Reactivi

3.1. Soluție etalon de calciu cu concentrația 1 g/l

Se utilizează soluție standard de sodiu de 1 g/l din comerț. Această soluție se poate prepara dizolvând 2,5 g carbonat de calciu (CaCO_3), într-o cantitate suficientă pentru dizolvare de acid clorhidric diluat 1/10 (v/v) și aducerea la volumul de 1 l cu apă distilată.

Această soluție se păstrează în flacon de polietilenă.

3.2. Soluție etalon de calciu diluată, 50 mg/l

Soluția etalon de calciu se păstrează în flacoane de polietilenă.

3.3. Soluție de clorură de lantan, 50 g/l (recalculată în lantan)

Se dizolvă 13,369 g de clorură de lantan $\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ în apă distilată; se adaugă 1 ml HCl diluat 1:10 (v/v) și se aduce la 100 ml cu apă distilată.

4. Metoda de lucru

4.1. Pregătirea probei

Într-un balon cotat cu capacitatea de 20 ml se iau 1 ml de vin, 2 ml soluție de clorură de lantan și se aduce la semn cu apă distilată. Vinul, diluat 1:20 conține 5 g lantan la litru.

Pentru vinurile dulci, concentrația de 5 g la litru de lantan este suficientă cu condiția că după diluare conținutul de zahăr constituie cel mult 2,5 g/l. Pentru vinurile cu conținutul de zahăr mai mare este necesar de mărit conținutul de lantan la 10 g/l.

4.2. Calibrarea

În 5 baloane cotate cu capacitatea de 100 ml se iau 0, 5, 10, 15 și 20 ml soluție etalon de calciu diluată, se adaugă în toate baloanele câte 10 ml soluție de clorură de lantan și se aduce la semn cu apă distilată. Soluțiile etalon preparate conțin respectiv 0, 2,5, 5,0, 7,5 și 10,0 mg calciu și 5 g lantan la litru. Aceste soluții se păstrează în flacoane de polietilenă.

4.3. Determinarea

Se selectează lungimea de undă de 422,7 nm. Pe scara absorbției se reglează zero cu soluția model cu conținutul de lantan de 5 g/l. Se aspiră direct în arzătorul spectrofotometrului vinul diluat, apoi succesiv soluțiile etalon, preparate conform punctului 4.2. Se notează valorile absorbției. Determinările se repetă de două ori.

5. Exprimarea rezultatelor

5.1. Calculul

Se trasează curba de etalonare a variației absorbției în funcție de concentrația de calciu în soluțiile etalon.

Se raportează la această curbă valoarea medie a absorbției obținute pentru proba de vin diluată și se determină concentrația de calciu C în miligrame pe litru (mg/l).

Concentrația de calciu exprimată în miligrame la litru de vin fără zecimale va fi:

$$20 \times C$$

5.2. Repetabilitatea (r)

conținut < 60 mg/l $r = 2,7 \text{ mg/l}$

conținut > 60 mg/l $r = 4,0 \text{ mg/l}$

5.3. Reproducibilitatea (R)

$$R, \text{ mg/l} = 0,114 \times X_i - 0,5,$$

unde, X_i - concentrația de calciu în probă, mg/l.

31. Magneziul

31.1 MA-MD-AS 322-07-MAGNES

1. Principiul metodei

Magneziul se determină prin spectrofotometrie de absorbție atomică direct în vinul diluat.

2. Aparatură:

spectrofotometru de absorbție atomică, înzestrat cu arzător cu flacără aer-acetilenă;

lampă cu catod tubular pentru magneziu.

3. Reactivi

3.1. Soluție etalon de magneziu cu concentrația 1 g/l.

Se utilizează soluție etalon de magneziu de 1 g/l din comerț. Această soluție se poate prepara prin dizolvarea a 8,3646 g clorură de magneziu ($\text{MgCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$) în apă distilată și aducerea volumului la 1 l.

3.2. Soluție etalon de magneziu, diluată, cu concentrația 5 mg/l.

Soluția etalon de magneziu se păstrează în flacoane de polietilenă.

4. Metoda de lucru

4.1. Pregătirea probei

Vinul se diluează în proporție de 1:100 cu apă distilată.

4.2. Calibrarea

Într-o serie de baloane cotate cu capacitatea de 100 ml se iau 5, 10, 15 și 20 ml soluție 3.2. și se aduce la semn cu apă distilată. Soluțiile etalon preparate conțin, respectiv, 0,25, 0,50, 0,75 și 1,0 mg magneziu la litru. Aceste soluții se păstrează în flacoane de polietilenă.

4.3. Determinarea

Se selectează lungimea de undă de 285 nm. Pe scara absorbantei se reglează zero cu apă distilată. Se aspiră direct în arzătorul spectrofotometrului vinul diluat, apoi succesiv soluțiile etalon preparate, conform punctului 4.2. Se notează valorile absorbantei. Determinările se repetă de două ori.

5. Exprimarea rezultatelor

5.1. Calculul

Se trasează curba de etalonare a variației absorbantei în funcție de concentrația de magneziu în soluțiile etalon.

Se raportează la această curbă valoarea medie a absorbantei obținute pentru proba de vin diluată și se determină concentrația de magneziu C în miligrame pe litru (mg/l).

Concentrația de magneziu exprimată în miligrame la litru de vin va fi:

$$100 \times C$$

5.2. Repetabilitatea (r) $r = 2,7 \text{ mg/l}$

5.3. Reproducibilitatea (R) $R = 8 \text{ mg/l}$

32. Acetaldehidă

32.1. MA-MD-AS 315-01-ETHANA

1. Principiul metodei

Acetaldehida se determină din vinul, decolorat cu cărbune activ, datorită culorii, care variază de la verde la violet, care ea o formează cu nitropentacianoferatul (II) de sodiu și cu piperidina. Intensitatea culorii se măsoară la 570 nm.

2. Aparatură

Spectrofotometru care permite măsurarea absorbantei

la lungimea de undă la 570 nm în cuve cu drumul optic de 1 cm.

3. Reactivi:

Soluție de piperidină ($\text{C}_5\text{H}_{11}\text{N}$), 10 % (v/v).

Se prepară înaintea fiecărei determinări, amestecând 2 ml de piperidină cu 18 ml apă distilată.

Soluție de nitropentacianoferat (II) de sodiu, 0,4 % (m/v).

Într-un balon cotate de 250 ml se dizolvă 1 g de praf nitropentacianoferatul (II) de sodiu $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \times 2\text{H}_2\text{O}$. Se completează până la cota cu apă distilată.

Cărbune activ

Acid clorhidric diluat, 25 % (v/v), (aproximativ 102 g/l).

Soluție alcalină: se dizolvă 8,75 g acid boric în 400 ml soluție de 1M de hidroxid de sodiu. Se completează până la 1 l cu apă distilată.

4. Metoda de lucru

4.1. Determinarea

Într-un balon conic de 100 ml se iau aproximativ 25 ml de vin, se adaugă 2g de cărbune activ. Se amestecă timp de câteva secunde, se lasă în repaus 2 minute, se filtrează printr-un filtru gofrat pentru a obține un filtrat limpede.

Într-un balon conic de 100 ml se iau 2 ml de filtrat incolor, agitând se adaugă 5 ml de nitroprusiat de sodiu și 5 ml soluție de piperidină, se amestecă și imediat se trece în cuva spectrofotometrului cu drumul optic de 1 cm. Culoarea obținută variază de la verde la violet; intensitatea culorii se măsoară în raport cu un drum echivalent de aer la lungimea de undă de 570 nm. Intensitatea culorii mai întâi repede crește, iar apoi brusc scade. Se ia ca valoare finală a absorbantei, valoarea maximală obținută după aproximativ 50 secunde.

Conținutul de acetaldehidă în lichidul analizat se citește de pe curba de etalonare.

În cazuri excepționale, dacă în lichidul analizat se conține acetaldehidă liberă e necesar de a o combina cu dioxid de sulf, înainte de determinarea acetaldehidei totale. În acest scop într-o parte de lichid de analizat se adaugă un mic surplus de dioxid de sulf și se lasă pe câteva ore înainte de determinare.

4.2. Trasarea curbei de etalonare

4.2.1. Soluție etalon de bază de acetaldehidă combinată cu dioxid de sulf.

Se prepară o soluție de 5-6 % de dioxid de sulf și i se determină concentrația exactă titrând cu o soluție de iod de 0,05M.

Într-un balon cotate de 1l se ia un volum de această soluție, care corespunde la 1500 mg de dioxid de sulf. Se introduce în balon cu ajutorul unei pînii apoximativ 1 de ml de acetaldehidă, proaspăt distilată și colectată într-un amestec răcit. Volumul se completează până la un litru și se lasă în repaus pe o noapte.

Conținutul exact de acetaldehidă combinată în soluția etalon de bază se determină în felul următor: într-un balon conic de 500 ml se iau 50 ml soluție etalon de bază de acetaldehidă, se adaugă 20 ml acid clorhidric diluat și 100 ml de apă. Se oxidează dioxidul de sulf liber cu soluție de iod de 0,05 M în prezența amidonului până la apariția culorii albastru deschis.

Se adaugă 100 ml de soluție alcalină până dispare culoarea albastră. Dioxidul de sulf combinat cu acetaldehida se titrează până la culoarea albastru deschis cu soluție de iod de 0,05 M. Se notează cu n mililitrii folosiți la titrare.

Soluția de acetaldehidă combinată cu SO_2 conține 44,05 n mg de acetaldehidă la litru.

4.2.2. Prepararea soluțiilor etalon de acetaldehidă de diferite concentrații

În baloane cotate de 100 ml se iau succesiv 5, 10, 15, 20 și 25 ml de soluție etalon de acetaldehidă. Se aduc la cotă cu apă distilată. În aceste soluții concentrația de acetaldehidă corespunde 40, 60, 120, 160 și 200 mg/l. Concentrația exactă de acetaldehidă în soluțiile etalon se calculează în funcție de concentrația ei în soluția etalon de bază.

Se determină conținutul de acetaldehidă în 2 ml din fiecare soluție, după cum e descris mai sus. Reprezentarea grafică a dependenței absorbantei acestor soluții de concentrația acetaldehidei este o dreaptă care trece prin origine.

33. 5-Hidroximetilfurfural (oximetilfurfural)

33.1 MA-MD-AS 315-05-HYDMFF

1. Principiul metodelor

1.1. Metoda colorimetrică

Aldehidele, derivate ale furanului, principala fiind 5-hidroximetilfurfuralul, reacționează cu acidul barbituric și p-toluidina, formînd compusi de culoare roșie, care se determină prin colorimetrie la 550 nm.

Acidul sulfuros liber împiedică determinarea dacă conținutul lui depășește 10 mg/l de aceea este necesară eliminarea lui prin combinarea cu aldehida acetică, excesul căreia nu împiedică determinarea.

1.2. Metoda prin cromatografie lichidă de înaltă performanță

Separarea se efectuează cu coloană cu fază inversă și se determină la 280 nm. Condițiile de operare descrise mai jos sînt date în calitate de exemplu.

2. Metoda colorimetrică

2.1. Aparatura:

spectrofotometru, care permite măsurări între 300 și 700 nm;

cuve de sticlă, cu drumul optic de 1 cm.

2.2. Reactivi

2.2.1. Acid barbituric, soluție, 0,5 % (m/v).

Se dizolvă 500 mg de acid barbituric $C_4O_3N_2H_4$ în apă distilată, încălzită pe o baie de apă la o temperatură de 100 °C, se aduce la volumul de 100 ml cu apă distilată. Soluția se poate păstra aproximativ 1 săptămînă.

2.2.2. p-toluidină, soluție, 10 % (m/v).

10 g de p-toluidină, $C_6H_4(CH_3)NH_2$ sînt plasate într-un balon de 100 ml, se adaugă 50 ml izopropanol și 10 ml de acid acetic glacial, ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml), se completează pînă la 100 ml cu izopropanol. Soluția se prepară în fiecare zi.

2.2.3. Acetaldehidă, soluție apoasă, 1 % (m/v). Se prepară imediat înainte analizei.

2.2.4. Soluția de bază de 5-hidroximetilfurfural, $C_6O_3H_6$, 1 g/l.

Într-un balon de 1000 ml se dizolvă în apă distilată 1 g de 5-hidroximetilfurfural și se aduce la cotă cu apă distilată.

Din soluția de bază de 1 g/l prin diluare se prepară succesiv soluții etalon care conțin 5, 10, 20, 30 și 40 mg/l.

Toate soluțiile trebuie să fie proaspăt preparate.

2.3. Metoda de lucru

2.3.1. Prepararea probei

Dacă conținutul de dioxid de sulf liber este mai mic de 10 mg/l, determinarea se efectuează direct în 2 ml de vin sau must, dacă este necesar probele se filtrează.

Dacă conținutul de dioxid de sulf liber depășește 10 mg/l, atunci 15 ml de probă de analizat sînt plasate într-un balon cotate de 25 ml, se adaugă 2 ml soluție de acetaldehidă. Se amestecă. Se lasă pe 15 minute. Se completează pînă la semn cu apă distilată, se filtrează, dacă este necesar. Pentru determinare se iau 2 ml soluție.

2.3.2. Măsurări colorimetrice

În 2 baloane de 25 ml cu dop rodat a și b se iau cîte 2 ml de probă preparată cum e descris în punctul 2.3.1. În fiecare balon se adaugă cîte 5 ml soluție de p-toluidină, se amestecă. Se adaugă în balonul b (de control) 1 ml de apă distilată, iar în balonul a – 1 ml soluție de acid barbituric, se amestecă. Se trece conținutul baloanelor în cuvele spectrofotometrului cu drumul optic de 1 cm. Se reglează pe scara de absorbantă valoarea zero cu soluția din balonul b la lungime de undă de 550 nm, variația absorbantei - cu soluția din balonul a, se notează valoarea maximă a absorbantei A în intervalul de 2 - 5 minute.

Probele cu conținutul de 5-hidroximetilfurfural mai mare de 30 mg/l, înainte de analiză, se diluează.

2.3.3. Trasarea curbei de calibrare

În 2 baloane a și b de 25 ml se iau cîte 2 ml de fiecare dintre soluțiile de 5-hidroximetilfurfural cu concentrația de 5, 10, 20, 30 și 40 mg/l și se tratează conform punctului 2.3.2.

Reprezentarea grafică a absorbantei în funcție de conținutul de 5-hidroximetilfurfural în soluțiile standard, în mg/l, este o dreaptă care trece prin origine.

2.4. Calculul

Se raportează la această curbă valoarea medie a absorbantei obținute pentru proba de vin diluată și se determină concentrația 5-hidroximetilfurfural C în miligrame pe litru (mg/l), cu o zecimală. După necesitate se ține cont de factorul de diluare.

3. Metoda prin cromatografie lichidă de înaltă performanță

3.1. Aparatura:

cromatograf în fază lichidă de înaltă performanță, echipat cu:

- injector cu buclă de 5 sau 10 μ l;

- detector spectrofotometric, care permite măsurători la 280 nm;

- coloană umplută cu silice sferice, modificată cu octadecil;

- sistem de înregistrare cu integrator;

- debitul fazei mobile - 1,5 ml/minut; dispozitiv pentru filtrare cu membrane de 0,45 μ m.

3.2. Reactivi:

apă bidistilată;

metanol distilat sau de calitate HPLC.;

acid acetic ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml);

faza mobilă: apă-metanol-acid acetic 40:9:1 (v/v), în prealabil filtrată prin membrană (0,45 μ m). Faza mobilă se pregătește în fiecare zi și se degazează înainte de utilizare;

soluție etalon de 5-hidroximetilfurfural, 25 mg/l: într-un balon de 100 ml se iau 25 mg de 5-hidroximetilfurfural, cîntărite cu precizie și se completează volumul cu metanol. Soluția preparată se diluează în proporție de 1:10 cu metanol și se filtrează printr-o membrană (0,45 μ m). Soluția se păstrează în frigider într-o sticlă brună 2-3 luni.

3.3. Metoda de lucru

Se injectează succesiv în cromatograf 5 (sau 10) μ l de probă de analizat și 5 (sau 10) μ l de soluție etalon de 5-hidroximetilfurfural. Se înregistrează cromatograma. Timpul de reținere al 5-hidroximetilfurfuralului este aproximativ de 6-7 minute.

3.4. Explicarea rezultatelor

Conținutul de 5-hidroximetilfurfural este exprimat în miligrame pe litru (mg/l), cu zecimale.

34. Derivații cianici

34.1 MA-MD-AS 315-06-DERCYA

1. Principiul metodei

Acidul cianhidric liber și total în vin este eliberat prin hidroliza acidă și separat prin distilare. După reacția cu cloramina T și piridina, dialdehidele glutaconice formate se determină prin colorimetrie după culoarea albastră, care o formează cu acidul dimetil-1,3 barbituric.

2. Aparat:

aparat de distilare, descrierea căruia este prezentată în capitolul „Concentrația alcoolică la 20 °C”;
balon cotat cu capacitatea de 500 ml;
baie de apă, termostată la 20 °C;
spectrofotometru ce permite măsurarea absorbantei la lungimea de undă 590 nm;
cuve de sticlă sau cuve de unică folosință, cu lungimea drumului optic de 20 mm.

3. Reactive:

acid fosforic (H_3PO_4), 25 %, (m/v).
soluție de cloramin T ($C_7H_7ClNNa O_2S \times 3H_2O$), 3 %, (m/v);

soluție de acid 1,3-dimetilbarbituric: se diluează 3,658 g de acid 1,3-dimetilbarbituric ($C_6H_8N_2O_3$) în 15 ml piridină și 3 ml acid clorhidric ($\rho_{20} = 1,19$ g/ml), apoi se trece într-un balon cotat cu capacitatea de 50 ml și se aduce până la cota cu apă distilată;

cianură de potasiu, (KCN);

soluție de iodură de potasiu, (KI) 10 %, (m/v);

soluție de azotat de argint ($AgNO_3$), 0,1 M.

4. Metoda de determinare

4.1. Distilarea

Într-un balon cotat cu capacitatea de 500 ml se iau 25 ml vin, 50 ml apă distilată, 1 ml acid fosforic și câteva bile de sticlă. Apoi balonul se așază imediat pe aparatul de distilare. Distilatul se colectează printr-un tub de sticlă conic și capătul scufundat într-un balon cotat de 50 ml, care conține 10 ml apă. Balonul cotat se scufundă în apă cu gheață. Se colectează 30-35 ml de distilat (sau apoximativ 45 ml de lichid total în balonul cotat). Capătul tubului de sticlă al condensatorului se clătește cu câțiva mililitri de apă distilată, se aduce distilatul la temperatura de 20°C și se umple cu apă distilată până la cotă.

4.2. Măsurarea

Se introduc 25 ml de distilat într-un balon conic de 50 ml cu dop rotat, se adaugă 1 ml soluție de cloramin T și se închide ermetic. După exact 60 secunde se adaugă 3 ml soluție de acid dimetil-1,3 barbituric, se închide ermetic și se lasă pe 10 minute. Apoi se măsoară absorbanta în raport cu martorul (25 ml de apă distilată în loc de 25 ml de distilat) la lungimea de undă de 590 nm în cuvă cu drumul optic de 20 mm.

5. Trasarea curbei de etalonare

5.1. Titrare argentimetrică a cianurii de potasiu.

Într-un balon de 300 ml se dizolvă apoximativ 0,2g, cântărite precis, de KCN în 100 ml de apă distilată. Se adaugă 0,2 ml soluție de iodură de potasiu și se titrează cu o soluție de azotat de argint de 0,1 M până se obține o culoare galbenă stabilă.

1 ml soluție de azotat de argint corespunde cu 13,2 mg KCN. Se calculează titrul soluției de cianură de potasiu.

5.2. Curba de etalonare

5.2.1. Prepararea soluțiilor etalon

Cunoscând titrul soluției etalon de bază de KCN, determinat conform punctului 5.1., se prepară soluția etalon de lucru, care conține 30 mg/l acid cianhidric (30 mg HCN $\equiv$ 72,3 mg KCN). Soluția etalon de bază se diluează cu apă distilată 1:10.

Etaloanele se pregătesc în 5 baloane cotate de 100 ml, în care se adaugă următoarele volume din soluția etalon de lucru: 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 și 5,0 ml. Se aduc până la cotă cu apă distilată. Soluțiile preparate conțin 30, 60, 90, 120 și

150 μ g/l acid cianhidric.

5.2.2. Determinarea

Se prelevează câte 25 ml soluții obținute conform punctelor 4.1. și 4.2. În baza valorilor absorbantelor și a concentrațiilor cunoscute ale acidului cianhidric din fiecare etalon se trasează curba de etalonare, care trece prin origine.

6. Exprimarea rezultatelor

Acidul cianhidric se exprimă în micrograme pe litru (μ g/l) fără zecimale.

6.1. Calculul

Absorbanta probei de vin se raportează la curba de etalonare și se stabilește conținutul în acid cianhidric total. Se ia în considerare factorul de diluție, când e cazul.

Repetabilitatea (r) și reproductibilitatea (R):

Vinurile albe:

repetabilitatea

$r = 3,1 \mu\text{g/l HCN}$, respectiv $6\% \times X_i$;

reproductibilitatea

$R = 12 \mu\text{g/l HCN}$, respectiv $25\% \times X_i$

Vinurile roșii:

repetabilitatea

$r = 6,4 \mu\text{g/l HCN}$, respectiv $8\% \times X_i$;

reproductibilitatea

$R = 23 \mu\text{g/l HCN}$, respectiv $29\% \times X_i$.

X_i – concentrația medie de HCN din vin.

35. Diglucozidul malvidolului 35.1 MA-F-AS 315-03-DIGMAL

1. Principiul metodei

Diglicozidul malvidolului se oxidează în prezența acidului azotic și se transformă într-o substanță, care în mediul amoniacal la lumina ultravioletă, formează o fluorescență de culoare verde. Intensitatea fluorescenței compusului format se măsoară prin compararea cu fluorescența soluției titrate de sulfat de chinină, care corespunde etalonului de diglicozid al malvidolului.

Întrucât dioxidul de sulf liber atenuează intensitatea fluorescenței, el trebuie în prealabil combinat cu acetaldehidă în exces.

2. Determinarea calitativă

2.1. Aparat:

lampă de radiație ultravioletă de 365 nm.

2.2. Reactive:

soluție de acetaldehidă:

paraldehidă cristalizată 10 g;

alcool etilic de 96% vol. 100 ml;

soluție de acid clorhidric, 1M

soluție de azotat de sodiu, 10 g/l

alcool de 96% vol., ce conține 5% amoniac concentrat ($\rho_{20} = 0,92$ g/ml);

vin martor, care conține 15 mg/l diglicozid malvidol.

2.3. Metoda de determinare

Într-un balon se iau 10 ml de vin și 1,5 ml soluție de aldehidă acetică. Se agită și se lasă pe 20 minute.

Într-o eprubetă de centrifugat de 20 ml se iau 1 ml de vin, tratat cu acetaldehidă, o picătură de acid clorhidric de 1M și 1 ml soluție de azotat de sodiu. Se agită conținutul eprubetei și se lasă pe 2 minute (maximum 5 minute), apoi se adaugă 10 ml de alcool cu amoniac.

Într-o altă eprubetă de centrifugat se tratează 10 ml de vin martor care conține 15 mg/l diglicozid malvidol. Se agită, se lasă pe 10 minute și se centrifughează.

Se decantează lichidul limpede din cele două eprubete în două eprubete calibrate cu dop rotat. Se compară fluorescența în lumina ultravioletă la 365 nm, a probei de vin analizate cu fluorescența vinului martor.

Pentru vinurile roze, care conțin mai puțini antociani, se poate mări sensibilitatea metodei, luând:

5 ml de vin tratat cu acetaldehidă;
 0,2 ml de acid clorhidric 1 M;
 1 ml soluție de nitrit de sodiu;
 5,8 ml alcool cu amoniac;
 Se tratează în paralel proba de vin martor.

2.4. Interpretare

Vinul, care nu dă fluorescență sau dă o fluorescență inferioară vinului martor, este considerat ca fiind lipsit de diglicozid malvidol, în cazul unei fluorescențe ușor inferioare, egale sau superioare celei a vinului martor, se impune determinarea cantitativă a diglicozid malvidolului.

3. Determinarea cantitativă

3.1. Aparatură

Aparat pentru măsurarea fluorescenței:
 lungimea de undă de excitație 365 nm;
 lungimea de undă a radiației fluorescente 490 nm;
 cuve de cuarț cu drumul optic de 1 cm.

3.2. Reactivi:

martor cantitativ;
 soluție de sulfat de chinină, 2 mg/l: 10 mg de sulfat de chinină se dizolvă în 100 ml de acid sulfuric de 0,1 M. Se diluează 20 ml de această soluție într-un balon cotelat cu capacitatea de 1 litru și se aduce la semn cu soluție de 0,1 M acid sulfuric.

3.3. Modul de determinare

Proba de vin se pregătește în același mod ca la punctul 2 al prezentului capitol, în toate cazurile (vinuri roșii sau roze), se tratează 1 ml de probă de vin cu acetaldehidă.

Se introduce soluție de sulfat de chinină (2 mg/l) în cuva de cuarț, pentru reglarea fluorimetrului și acționând asupra fantei sau a sensibilității, se reglează transmisia T egală cu 100 %. Apoi cuva se înlocuiește cu cuva care conține proba de vin și se citește valoarea transmisiei T_1 .

Dacă valoarea T_1 este mai mare de 35%, proba de vin trebuie diluată cu un vin lipsit de diglicozid malvidol, fluorescența căruia nu depășește 6 % (se determină pe o probă preliminară).

Acidul salicilic (sau salicilatul de sodiu), adăugat pînă la analiză în proba de vin, pentru stabilizare, produce o fluorescență suplimentară. Aceasta se elimină prin extracția acidului salicilic din vin cu eter.

O fluorescență suplimentară poate apărea în cazul în care în vin a fost adăugat caramelul.

3.4. Calculul

Intensitatea fluorescenței egală cu 1 pentru un vin lipsit de SO_2 , în condițiile de determinare descrise mai sus, cu excepția tratării cu aldehydă acetică, corespunde 0,426 mg de diglicozid malvidol într-un litru de vin.

Vinurile roșii și roze, care nu conțin diglicozid malvidol, pot da o fluorescență ce corespunde $T = 6\%$.

Conținutul de diglicozid malvidol C în vinuri, în miligrame pe litru (mg/l):

$$C = (T_1 - 6) \times 0,426 \times \frac{11,5}{10} = (T_1 - 6) \times 0,49$$

în care, T_1 – transmisia citită pentru proba de vin, %;
 0,426 – constanta intensității fluorescenței, egală cu 1 (corespunde 0,426 mg diglicozid malvidol pe litru);

6 – transmisia T a vinului roz sau roșu, lipsit de diglicozid malvidol, %.

Dacă proba de vin a fost diluată, rezultatul se înmulțește cu factorul de diluție.

3.5. Explicarea rezultatelor

Conținutul diglicozid malvidolului este exprimat în miligrame pe litru (mg/l) de vin, fără zecimale.

35.2. MA-MD-AS315-11-ANCYAN

Metoda analitică include determinarea conținutului relativ al antocianilor din vinuri roșii și roze. Separarea este realizată pe o coloană (cromatografia lichidă de

înaltă performanță – HPLC) în fază inversată și detector UV- VIS. Deoarece compoziția antocianilor din vinuri este complexă, metoda prevede o procedură simplă, care permite identificarea și determinarea a nouă compuși principali ai antocianilor din vinuri.

1. Principiul metodei

Metoda este bazată pe separarea directă a antocianilor în formă neesterificată de antocianii în formă de esteri acilici prin metoda HPLC pe coloană în fază inversată, prin eluție cu gradient apă/acid formic/acetonitril cu detectare spectrofotometrică la 518 nm (figura 6).

2. Reactivi și materiale:

acid formic, 98%;
 apă (grad de puritate HPLC);
 acetonitril (grad de puritate HPLC);
 solvenți HPLC:
 A – apă/acid formic/acetonitril 87 : 10 : 3 (v/v/v);
 B – apă/acid formic/acetonitril 40 : 10 : 50 (v/v/v);
 filtru cu membrană pentru degazarea solvenților HPLC și pentru prepararea probelor de analizat;
 materiale de referință pentru identificarea picurilor:
 Cianidol-3-glucozid; $M = 484,84$ g/mol.
 Peonidol-3-glucozid; $M = 498,84$ g/mol.
 Malvidol-3-glucozid; $M = 528,84$ g/mol.
 Malvidol-3,5-diglucozid; $M = 691,04$ g/mol.

3. Echipamente

Pentru efectuarea testărilor sunt necesare următoarele echipamente:

sistemul HPLC dotat cu:
 pompă binară cu gradient;
 sistem de injectare a probelor în volume de la 10 pînă la 200 μ l;
 detector UV- VIS;
 integrator sau calculator cu program special;
 termostat pentru coloane (40°C);
 sistemă de degazare a solvenților;
 coloană de separare, de exemplu: LiChrospher 100 RP 18 (5 μ m) sau LiChroCart 250-4;
 precoloană: de exemplu, RP18 (30-40 mm) cu diametrul cartușului de 2 mm și lungimea de 20 mm.

4. Metoda de determinare

4.1. Pregătirea probelor

Vinurile limpezi pot fi testate direct, iar probele tulburi necesită filtrare preventivă cu ajutorul unui filtru cu membrană de 0,45 μ m. Prima parte a filtratului se înlătură.

Deoarece intervalul de linearitate a absorbției în funcție de concentrația antocianilor este foarte larg, volumul de probă injectată poate varia de la 10 pînă la 200 μ l, în funcție de intensitatea culorii vinului. Nici o diferență semnificativă nu este înregistrată pentru volume diferite de probe injectate.

4.2. Determinarea

Separarea antocianelor se efectuează în următoarele condiții HPLC:

volumul probei injectată:
 50 μ l (vin roșu) pînă la 200 μ l (vin roz);
 debitul: 0,8 ml/minut;
 temperatura coloanei: 40°C;
 durata de tranziție: 45 minute;
 revenirea la condițiile inițiale: 5 minute;
 detectare la lungimea de undă 518 nm.
 gradientii de eluție:

Time (minute)	Solvent A (% v/v)	Solvent B (% v/v)
0	94	6
15	70	30
30	50	50
35	40	60
41	94	6

Pentru a asigura eficacitatea coloanei, numărul de talere teoretice (N), calculat în raport cu malvidol-3-glicozid nu trebuie să fie inferior de 20000, iar rezoluția (Rs) între peonidol-3-cumaril glicozid și malvidin-3-cumaril glicozid nu trebuie să fie mai mică de 1,5. Sub limita acestor valori se utilizează altă coloană.

În figura 6 este prezentată o cromatogramă tipică, unde sînt separați antociani:

Grupa 1: antociane-3-glicozide neacilate:	nr. picului:
Delfinidol-3-glicozid	1
Ciainidol-3-glicozid	2
Petunidol-3-glicozid	3
Peonidol-3-glicozid	4
Malvidol-3-glicozid	5
Grupa 2: antociane-3-glicozide acilate:	
Peonidol-3-acetilg lucozid	6
Malvidol-3-acetilg lucozid	7
Grupa 3: antociane-3-glicozide cumarine:	
Peonidol-3-cumaril glucozid	8
Malvidol-3-cumaril glucozid	9

5. Exprimarea rezultatelor

Valorile sînt exprimate în unități relative în raport cu totalitatea antocianilor, determinați prin această metodă.

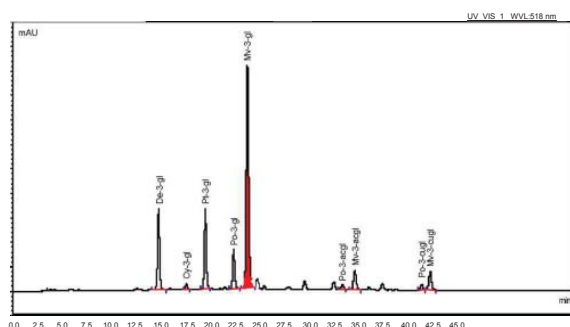


Figura 6. Separarea a 9 antociane în vin roșu.

36. Dietilenglicolul

36.1 MA-MD-AS 315-09-DIEGLY

1. Principiul metodei

Dietilenglicolul se separă prin cromatografie în fază gazoasă pe coloană capilară după extragerea cu ester. Metoda permite determinarea dietilenglicolului în vinuri cu o concentrație egală sau mai mare decât 10 mg/l.

2. Aparatură:

cromatograf în fază gazoasă dotat cu:
detector cu ionizare în flacără,
coloană capilară de separare cu polietilenglicol (Carbowax 20M), lungimea de 50 m și diametrul de 0,32mm.

Condițiile de lucru:

temperatura la injector 280°C;
temperatura la detector 270°C;
gaz purtător hidrogen;
debitul gazului purtător 2 ml/minut;
flux 30 ml/minut;
injectarea "splitless";
volumul de injectare 2 μl;
injectarea la 35°C ieșirea închisă timp de 40 secunde;
programarea temperaturii 120°C - 170 °C , 3 °C/minută.

3. Reactivi:

soluție de propan – 1,3-diol , 1 g/l în alcool de 20 % vol. (etalon intern);
soluție apoasă de dietilenglicol, HOCH₂CH₂OCH₂CH₂OH, 20 mg/l.

4. Metoda de determinare

Într-un balon cotat de 50 ml se iau 10 ml vin, 1 ml de soluție de propan – 1,3-diol și 25 ml ester. Se agită și se adaugă o cantitate de carbonat de potasiu neutru suficientă pentru saturarea amestecului. Se agită. Se

separă în două faze prin centrifugare.

Se efectuează a doua extracție. Se elimină eterul prin evaporare și se dizolvă sedimentul cu 5 ml de etanol.

Randamentul extragerii trebuie să fie nu mai puțin de 90 %.

Cromatografierea se efectuează în condițiile descrise mai sus.

5. Exprimarea rezultatelor

Identificarea dietilenglicolului se face după timpul de reținere comparativ cu soluția de referință, analizată în aceleași condiții ca și vinul.

Determinarea se efectuează comparativ cu soluția etalon prin metoda utilizării etalonului intern.

Cînd conținutul de dietilenglicol este egal sau mai mic de 20 mg/l se recomandă confirmarea prezenței acestuia prin spectrometria în masă.

37. Indicile Folin-Ciocalteu

37.1. MA-MD-AS 2-10 INDFOL

1. Definiție

Indicele Folin-Ciocalteu este rezultatul obținut din aplicarea metodei descrise mai jos.

2. Principiul metodei

Toți compușii fenolici, conținuți în vin se oxidează de reactivul Folin-Ciocalteu. Acest reactiv este format dintr-un amestec de acid fosfowolframic (H₃PW₁₂O₄₀) și acidul fosfomolibdinic (H₃PMo₁₂O₄₀) care, după oxidarea fenolilor, se reduc la un amestec de oxizi de tungsten (W₈O₂₃) și molibden (Mo₈O₂₃), colorați în culoare albastră.

Colorația albastră are o absorbție maximă la 750 nm și este proporțională cu totalul cantității de compuși fenolici prezenți inițial.

3. Reactivi

Reactivii trebuie să fie de calitate analitică. Se utilizează apă distilată sau apă de puritate echivalentă.

Reactivul Folin-Ciocalteu

Se utilizează reactivul disponibil în comerț. Acest reactiv poate fi preparat după cum urmează: se dizolvă 100 g de wolframat de sodiu (Na₂WO₄ × 2H₂O) și 25 g de molibdat de sodiu (Na₂MoO₄ × 2H₂O) în 700 ml de apă distilată. Se adaugă 50 ml de acid fosforic 85 % (ρ₂₀ = 1,71 g/ml) și 100 ml de acid clorhidric concentrat (ρ₂₀ = 1,19 g/ml). Se aduce la temperatura de fierbere și se fierbe 10 ore la reflux, apoi se adaugă 150 g de sulfat de litiu (Li₂SO₄ × H₂O) și câteva picături de brom și se fierbe din nou 15 minute. Se lasă să se răcească și se completează pînă la un litru cu apă distilată.

Carbonat de sodiu anhidru, Na₂CO₃, soluție de 20 % (m/v).

4. Aparatură:

baloane cotate de 100 ml;
spectrofotometru, care permite măsurări la 750 nm.

5. Metoda de lucru

5.1. Vinuri roșii

Într-un balon cotat de 100 ml se introduc succesiv 1 ml de vin, diluat în prealabil 1:5, 50 ml apă distilată, 5 ml reactiv Folin-Ciocalteu și 20 ml de soluție de carbonat de sodiu. Se completează pînă la 100 ml cu apă distilată. Se amestecă. Se lasă 30 minute pentru stabilizarea reacției. Se determină absorbția la 750 nm în cuvă cu drumul optic de 1 cm față de un blank pregătit cu apă distilată în locul vinului.

Dacă absorbția radical diferă de 0,3, trebuie efectuată o diluare corespunzătoare.

5.2. Vinuri albe

Toate procedurile se efectuează în aceleași condiții, luînd ca probă 1 ml de vin alb nediluat.

5.3. Must concentrat rectificat

5.3.1. Pregătirea probei

Se utilizează soluția cu o concentrație a zaharurilor de 25% (m/m) (25 °Brix), pregătită conform descrierii din

capitolul „17. Aciditatea ionică (pH)” punctul 4.1.2.

5.3.2. Determinarea

Toate măsurările se efectuează în aceleași condiții ca și în cazul vinului roșu (punctul 5.1. din prezentul capitol), dar se utilizează 5 ml de probă preparată conform descrierii de la punctul 5.3.1. Se măsoară absorbția față de blanc, pregătit cu 5 ml de soluție de zahăr invertit 25 % (m/m).

6. Exprimarea rezultatelor

6.1. Metoda de calcul

Rezultatul este exprimat sub forma unui indice, obținut prin înmulțirea absorbției cu 100 pentru vinurile roșii diluate 1:5 (sau cu factorul corespunzător pentru alte diluții) și cu 20 pentru vinurile albe. Pentru mustul concentrat rectificat, absorbția se înmulțește cu 16.

6.2. Repetabilitatea

Diferența dintre rezultatele a două determinări întreprinse simultan sau foarte repede una după cealaltă, de același analist, nu trebuie să depășească 1.

O bună repetabilitate a rezultatelor este asigurată de curățenia corespunzătoare a veselei de laborator (baloanele cotate și cuvele spectrometrice).

38. Ochrotoxina-A

38.1 MA-F-AS 315-10-OCHRAT

1. Domeniu de aplicare

Metoda se aplică la determinarea ochrotoxinei-A (OTA) în vinurile roșii, roze și albe (inclusiv în vinurile speciale), la concentrații de până la 10 µg/l, folosind o coloană de „immunoafinitate” și cromatografia lichidă de înaltă performanță (HPLC).

Metoda poate fi aplicată la vinurile spumante și la vinurile petiante, cu condiția că probele vor fi preventiv degazate.

2. Principiul metodei

Proba de vin se diluează cu o soluție, care conține polietilenglicol și bicarbonat de sodiu, se filtrează și se trece prin coloana „immunoafinitate”. OTA se eluează cu metanol și se separă prin metoda HPLC cu detector fluorimetric.

3. Reactivi:

clorură de sodiu (NaCl);

hidrogenocarbonat de sodiu (NaHCO₃);

polietilenglicol (PEG 8000);

metanol (CH₃OH);

acetonitril (CH₃CN);

apă purificată de laborator, calitatea EN ISO 3696;

acid acetic, 85% (CH₃COOH);

soluție diluată (1 % PEG + 5 % NaHCO₃): se dizolvă 10 g de PEG și 50g NaHCO₃ în 950 ml apă și se aduce până la un litru cu apă distilată;

soluție de spălare (2,5 % NaCl + 0,5% NaHCO₃): se dizolvă 25g de NaCl și 5 g NaHCO₃ în 950 ml apă și se aduce până la un litru cu apă distilată;

faza mobilă HPLC (apă: acetonitril: acid acetic glacial, 99:99:2, v/v/v): se amestecă 990 ml apă cu 990 ml de acetonitril și 20 ml de acid acetic glacial. Se filtrează printr-un filtru cu membrană cu diametrul porilor de 0,45µm și se degazează (de exemplu, cu heliu);

toluen;

amestec de solvenți (toluen: acid acetic glacial- 99:1, v/v): se amestecă 99 părți în volum de toluen cu o parte de volum de acid acetic glacial;

soluție etalon de OTA: se dizolvă 1 mg de OTA sau conținutul unei fiole (în cazul în care OTA este obținut sub forma unei pelicule după evaporare) în amestecul de solvenți pentru a obține o soluție cu conținutul de aproximativ 20 sau 30 µg/l de OTA.

Pentru determinarea concentrației exacte, se înregistrează spectrul de absorbție al soluției între 300 și 370 nm, în cuva de cuarț cu drumul optic de 1 cm, folosind amestecul de solvenți ca blanc. Se identifică absorbanta

maximă și se calculează concentrația de OTA (C) în µg/ml cu ecuația:

$$C = A_{\max} \times M \times 100 / \varepsilon \times \delta$$

unde, $A_{\max}$ - absorbanta la lungimea de undă maximă (aproximativ 333 nm);

M - masa moleculară a OTA = 403,8 g/mol;

ε - coeficientul de extincție molară a OTA în amestecul de solvenți, ε = 544/mol;

δ - drumul optic (cm).

Această soluție este stabilă la o temperatură de -18°C timp de 4 ani;

soluție standard de OTA (2µg/ml în amestec toluen: acid acetic- 99:1,v/v): se diluează soluția etalon cu amestecul de solvenți pentru a obține o soluție standard de OTA cu concentrația de 2 µg / ml.

Soluția se păstrează la o temperatură de + 4 °C în frigider. Stabilitatea trebuie să fie testată cu regularitate.

4. Echipament:

flacoane din sticlă (4 ml);

pompă în vid pentru pregătirea coloanelor „immunoafinitate”;

rezervor și tub de scurgere adaptate la coloanele „immunoafinitate”;

filtre cu fibre de sticlă (de exemplu, Whatman GE / A);

coloana „immunoafinitate” specială pentru OTA. Coloana trebuie să aibă o capacitate totală de legare de cel puțin 100 ng de OTA și să permită ca randamentul de purificare să fie egal cu 85%, atunci când se face să treacă o soluție diluată de vin ce conține 100 ng OTA;

evaporator rotativ;

cromatograf lichid, dotat cu pompă capabilă de a atinge un flux constant de 1ml/minut;

sistemă de injectare de 100 µl;

coloană analitică HPCL din oțel inoxidabil 150 x 4,6 mm, umplută cu fază staționară C₁₈(5 µm), cu precoloană sau prefiltu (0,5 µm), care conține o fază corespunzătoare. Coloanele de alte dimensiuni pot fi folosite dacă asigură o bază bună și zgomotul de fundal pentru a detecta picul de OTA, printre alte picuri;

detector de fluorescență cu lungimea de undă de excitație, fixată la 333 nm și lungimea de undă de emisie 460 nm;

sisteme Acquisition;

spectrometru UV.

5. Modul de determinare

5.1. Pregătirea probelor

Se toarnă 10 ml de vin într-un balon conic de 100 ml. Se adaugă 10 ml de soluție diluată. Se amestecă bine. Se filtrează prin filtru cu fibră de sticlă (filtrarea este necesară pentru vinuri turburi sau cu precipitat).

5.2. Purificarea în coloana „immunoafinitate”

Se montează coloana „immunoafinitate” la pompa în vid și se fixează rezervorul de scurgere. Se adaugă 10 ml (echivalentul a 5 ml de vin) de soluție diluată în balon și se trece prin coloana „immunoafinitate” cu un debit de aproximativ 1 picătură pe secundă. Se spală coloana „immunoafinitate” cu 5 ml de soluție de spălare, apoi cu 5 ml de apă cu un debit de 1 picătură pe secundă.

Se usucă coloana cu aer uscat. Se eluează OTA într-un balon de sticlă cu 2 ml de metanol cu un debit de 1 picătură pe secundă. Eluatul se evaporă până la sec la o temperatură de 50 °C cu azot. Se dizolvă imediat în 250 µl fază mobilă HPLC și se păstrează la 4 °C până la analiza prin HPLC.

5.3. Metoda HPLC

Se injectează 100 µl de extract (echivalent a 2 ml de vin) în bucla de injectare a cromatografului.

Condiții de operare:

debit 1 ml/minut;
faza mobilă acetoneitril: apă: acid acetic glacial
(99:99:2, v / v / v);

fluorescență de detectare:

lungimea de undă, stare de excitație 333 nm;
lungimea de undă de emisie 460 nm;
volumul de injecție 100 µl.

6. Determinarea cantitativă a ochratoxinei - A (OTA)

Calculul conținutului OTA trebuie să se efectueze prin măsurarea ariei sau înălțimii picului corespunzător timpului de retenție a OTA, utilizând curba de calibrare preventiv trasată.

6.1. Curba de calibrare

Se trasează curba de etalonare în fiecare zi înainte de analiză și ori de câte ori se schimbă condițiile de cromatografiere. Într-un flacon de sticlă se iau 0,5 ml soluție standard de OTA cu concentrația de 2 µg / ml, și se evaporă solventul cu azot. Se dizolvă în 10 ml de fază mobilă HPLC, anterior filtrată prin filtru cu diametrul porilor 0,45µm. Aceasta asigură concentrația de OTA a soluției de 100 µg/ml.

Se prepară 5 soluții de calibrare pentru HPLC în 5 baloane de 5 ml conform tabelului de mai jos. Se completează fiecare standard până la 5 ml cu faza mobilă HPLC. Se injectează în HPLC câte 100 µl din fiecare soluție.

Tabel

	Std 1	Std 2	Std 3	Std 4	Std 5
Fază mobilă HPLC, filtrată, µl	4970	4900	4700	4000	2000
Soluție OTA, 100 ng/ml, µl	30	100	300	1000	3000
Concentrația OTA, ng / ml	0,6	2,0	6,0	20	60
Injectarea OTA, ng	0,06	0,20	0,60	2,00	6,00

Dacă cantitatea de OTA în probe este în afara intervalului de calibrare, se face o diluție corespunzătoare sau se injectează volume mai mici. În acest caz, calculul final (7) trebuie să fie reanalizat de la caz la caz.

Se recomandă, ca curba de calibrare să treacă prin zero, pentru evaluarea cantitativă precisă a concentrației OTA mai puțin de 0,1 µg / l.

7. Calculul

Calcularea conținutului de OTA se efectuează cu curbele de calibrare, trasate preventiv cu ajutorul soluțiilor standard.

Se calculează concentrația de OTA (C_{ota}), în ng / ml (echivalent cu µg/l), cu formula:

$$C_{ota} = M_a \times 2/V_1 \times V_3/V_2$$

unde: M_a – masa de ochratoxină - A (ng) în conformitate cu matricea, injectată în coloană, și determinată pe curba de calibrare;

2 – factorul de diluție;

V_1 – volumul de probă (10 ml);

V_2 – volumul soluției testate, injectate în coloană (100 µl);

V_3 – volumul de soluție, folosită pentru dizolvarea eluatului uscat (250 ml).

39. Prezența coloranților sintetici

39.1 MA-MD-AS 315-08- COLSYN

1. Principiul metodei

Vinul se concentrează până la 1/3 din volumul inițial, se alcalinizează cu o soluție de hidroxid de sodiu și se supune extracției cu eter. Faza eterică, spălată cu apă se supune extracției cu soluție de acid acetic. Această soluție acetică se alcalinizează cu amoniac, se aduce la fierbere în prezența unor fibre proteice, tratate cu sulfat de aluminiu și tartrat acid de potasiu. Colorantul posibil prezent se fixează pe fibra proteică. Colorantul este readus în soluție prin tratarea fibrei cu soluție de acid acetic. După evaporarea soluției de acid acetic, reziduul se dizolvă într-o soluție hidroalcoolică și se analizează prin cromatografie în strat subțire pentru a identifica coloranții.

Faza apoasă, rămasă după extracția în eter, posibil conține coloranți cu caracter acid. Extracția coloranților se bazează pe afinitatea lor cu fibrele de origine animală, pe care ei le colorează puternic: se tratează cu acizi minerali și se fixează pe fibre proteice.

Pentru a concentra coloranții, se efectuează o dublă sau o multiplă fixare succesivă a coloranților pe fibrele proteice, care se iau din ce în ce mai mici. Dacă fibrele se colorează, rezultă că în vin a fost adăugat un colorant sintetic, care poate fi determinat ulterior prin cromatografia în strat subțire.

2. Aparataj:

plăci de sticlă 20x20 cm acoperite cu praf de celuloză;

cuve pentru cromatografie.

3. Reactivi:

eter sulfuric;

soluție de hidroxid de sodiu de 5%;

acid acetic (glacial) ($p_{20}=1,05$ g/ml);

acid acetic glacial diluat cu apă distilată în proporție de 1:18;

acid clorhidric ($p_{20}=1,19$ g/ml) diluat cu apă distilată în proporție de 1:10;

amoniac ($p_{20}=0,92$ g/ml) ;

fibre proteice albe, în prealabil spălate, degresate în eter și uscate;

fibre proteice albe, în prealabil spălate, degresate în eter, uscate și îmbibate în felul următor: se dizolvă 1 g de sulfat de aluminiu cristalin $Al_2(SO_4)_3 \times 18 H_2O$ și 1,2 g de tartrat acid de potasiu în 500 ml de apă. Se plasează în soluția obținută 10 g de fibre proteice albe, în prealabil spălate, degresate în eter și uscate, se agită timp de 1 oră, apoi se lasă pe 2-3 ore, după ce se usucă la temperatură ambiantă;

solventul nr. 1 pentru analiza cromatografică a coloranților cu caracter bazic:

n-butanol 50 ml;

etanol 25 ml;

acid acetic glacial ($p_{20}=1,05$ g/ml) 10 ml;

apă distilată 25 ml;

solventul nr.2 pentru analiza cromatografică a coloranților cu caracter acid:

n-butanol 50 ml;

etanol 25 ml;

amoniac ($p_{20}=0,92$ g/ml) 10 ml;

apă distilată 25 ml.

4. Metoda de lucru

4.1. Analiza coloranților sintetici de origine alcalină

4.1.1. Extracția coloranților

Într-un balon conic de 500 ml se iau 200 ml de vin, se fierb până ce volumul se reduce la 1/3 din volumul inițial. După răcire, vinul concentrat se neutralizează cu o soluție de hidroxid de sodiu de 5% până la modificarea culorii naturale a vinului.

Se efectuează extracția în eter în două reprize, a câte 30 ml de eter. Fazele cu eter, care posibil conțin coloranți de origine alcalină se combină; reziduul vinului după extragere trebuie păstrat pentru determinarea coloranților sintetici de origine acidă.

Extractul eteric este spălat de două ori cu 5 ml de apă, pentru a elimina hidroxidul de sodiu, apoi se agită atent cu 5 ml soluție de acid acetic diluat.

Dacă faza apoasă acidă obținută este colorată, acest lucru atestă prezența în vin a unui colorant sintetic de origine alcalină.

Prezența colorantului sintetic cu caracter alcalin poate fi confirmată prin fixarea lui pe fibre proteice îmbibate. Pentru aceasta, faza apoasă acidă, obținută conform proce-

durii sus-indicate este alcalinizată cu soluție de amoniac de 5%, apoi se adaugă 0,5g fibre proteice îmbibate și se fierbe 5 minute. Fibrele se clătesc sub un get de apă curgătoare. Dacă fibrele se colorează, atunci vinul conține colorant sintetic de origine alcalină.

4.1.2. Determinarea cromatografică în strat subțire

Faza acidă apoasă, care conține colorant sintetic de origine alcalină, se concentrează până la 0,5 ml. Dacă colorantul a fost fixat pe fibrele proteice, acestea sunt tratate la fierbere cu 10 ml de apă distilată și 10 picături de acid acetic ($p_{20}=1,05$ g/ml). După înlăturarea fibrelor, soluția este concentrată până la un volum de 0,5 ml.

Pe suprafața unei plăci de sticlă, acoperită cu celuloză, se depun 20 μ l de această soluție concentrată la 3 cm de marginea laterală și la 2 cm de marginea inferioară a plăcii. Placa se introduce în cuvă cu solventul nr.1, în așa mod, încât marginea inferioară a plăcii să fie scufundată în solvent de 1 cm. Când frontul solventului migrează la 15-20 cm de înălțime, placa se retrage și se lasă să se usuce la aer.

Colorantul se identifică după soluțiile coloranților sintetici de origine alcalină, depuse succesiv pe placa cromatografică.

4.2. Analiza coloranților sintetici de origine acidă

4.2.1. Extracția coloranților

Pentru testare se folosește reziduul de vin rămas de la determinarea coloranților de origine alcalină. În cazul în care testarea coloranților de origine alcalină nu a fost efectuată, într-un balon conic de 500 ml se iau 200 ml de vin, se fierb și se concentrează până la 1/3 din volumul inițial.

În ambele cazuri, după răcirea reziduului sau a vinului concentrat, se adaugă 3 ml soluție diluată de acid clorhidric și 0,5g de fibre proteice albe, se fierbe timp de 5 minute. Lichidul se decantează, iar fibrele se spală sub un get de apă.

Fibrele spălate sunt plasate într-un balon conic, se adaugă 100 ml de apă și 2 ml de acid clorhidric diluat, se fierb timp de 5 minute. Se decantează lichidul acid, apoi procedura se repetă până ce se obține un lichid incolor.

Fibrele după ce au fost bine spălate, pentru a elimina complet lichidul acid, se plasează într-un balon conic cu 50 ml de apă distilată și 10 picături de amoniac ($p_{20}=0,92$ g/ml), se fierb lent 10 minute, pentru dizolvarea coloranților sintetici de origine acidă, care posibil au fost fixați pe fibră. Apoi se înlătură fibrele, volumul se aduce până la 100 ml și se fierbe lichidul pentru a evapora amoniacul. După răcire se acidulează cu 2 ml de acid clorhidric diluat (se verifică cu ajutorul indicatorului – 1 picătură de lichid se plasează pe hîrtia indicator).

În lichidul acidulat se plasează 60 mg (aproximativ 20 cm) de fibră proteică albă și se fierbe timp de 5 minute, se extrage firul și se clătește minuțios sub un get de apă. În cazul în care fibrele s-au colorat în roșu (vin roșu) sau în galben (vin alb), se consideră demonstrată prezența colorantului sintetic de origine acidă.

Dacă colorația fibrei nu este clară, se efectuează tratamentul cu amoniac și se repetă procedura cu altă fibră de 30 mg (aproximativ 10 cm de fibră). Apariția unei culori slabe, dar clare, demonstrează prezența colorantului sintetic de origine acidă.

Dacă este necesară o fixare mai completă, se repetă procedura de fixare-eluție de 4-5 ori, până când colorația roză nu va fi distinctă.

Fibrele proteice colorate se tratează la fierbere cu 10 ml de apă distilată și 10 picături de amoniac ($p_{20}=0,92$ g/ml). Se scot fibrele, iar soluția amoniacală se concentrează până la volumul de 0,5 ml.

4.2.2. Analiza cromatografică în strat subțire

Pe o placă de sticlă, acoperită cu celuloză, se depun 20 μ l de această soluție concentrată la 3 cm de marginea laterală și la 2 cm de marginea inferioară a plăcii. Se introduce placa în cuva cu solventul nr.2 în așa mod, încât marginea inferioară a plăcii să fie scufundată în solvent de 1 cm. Când frontul solventului migrează la 15-20 cm de înălțime, se scoate placa și se lasă să se usuce la aer.

Colorantul este identificat după soluțiile coloranților sintetici de origine acidă, depuse succesiv pe placa cromatografică.

40. Prezența îndulcitorilor sau edulcoranților sintetici

40.1. MA-MD-AS 315-07 EDUSYN

1. Principiul metodelor

1.1. Metoda de referință

Determinarea saharinei (sulfamidei benzoice) a dulcinei (p-etoxifenilureei), a ciclamatului (ciclohexilsulfamatului) și a P-4000 (2N propoxi-2-amino-4-nitrobenzenului).

După concentrarea vinului, saharina, dulcina și P-4000 sunt extrase în mediu acid cu benzol; apoi este extras ciclamatul din vin cu acetat de etil (este necesar de a respecta ordinea extracției). Reziduurile după evaporarea solventilor se analizează prin cromatografia în strat subțire.

Saharina și ciclamatul sunt identificate prin cromatografia cu placa de celuloză (solvent: acetonă-acetat de etil-amoniac), prima în extract benzonc, al doilea în extract de acetat de etil după purificare cu eter.

Acești îndulcitori se evidențiază după pulverizarea cu o soluție de benzidin-anilin-acetat de cupru și separarea la următoarele valori Rf: 0,29 pentru ciclamat, 0,46 pentru saharină.

P-4000 și dulcina se identifică prin cromatografia în strat de poliamidă, în extract benzenic (solvent: toluen-metanol-acid acetic glacial). Acești îndulcitori, puși în evidență prin pulverizarea cu soluție de p-dimetilaminobenzaldehidă, se separă la următoarele valori Rf: 0,60 pentru dulcină, 0,80 pentru P-4000.

1.2. Metoda uzuală

Determinarea saharinei, dulcinei și a ciclamatului.

Acești îndulcitori se extrag din vin cu un schimbător de ioni lichid, apoi din nou se extrag cu amoniac diluat, se identifică prin cromatografia în strat subțire de un amestec de praf de celuloză și praf de poliamidă (solvent: xilen-propanol- n-acid acetic glacial-acid formic). Ei se manifestă datorită fluorescenței lor albastre pe fon galben, care se observă în raze ultraviolete după pulverizare cu soluție de 2,7-diclorfluorosceină.

O pulverizare ulterioară cu soluție de 1,4-dimetilaminobenzaldehidă permite diferențierea dulcinei, care dă un spot oranj spre deosebire de vanilină și esterii acidului p-hidroxibenzoic care migrează la același Rf.

2. Metoda de referință

Determinarea saharinei, ciclamatului, dulcinei și P-4000

2.1. Utilaj:

cuvă cromatografică;
seringi micrometrice sau micropipete;
pîlnie de decantare cu diametrul de 15mm și înălțimea de 180mm, înzestrată cu un robinet.

baie de apă la 100°C;

etuvă cu temperatura reglabilă, până la 125°C.

2.2. Reactivi:

solvenți de extracție:

benzen;

acetat de etil.

solvenți pentru cromatografie:

solventul nr. 1 – acetonă: acetat de etil: amoniac concentrat ($p_{20}=0,92$ g/ml), 60:30:10;

solventul nr. 2 – toluen: metanol: acid acetic glacial

(ρ_{20} =1.05g/ml) 90:10:10;

plăci pentru cromatografie 20x20cm:

cu strat de praf de celuloză (exemplu Watman CC 41 sau Macherey-Nagel MN300);

cu strat de praf de poliamidă (de exemplu Merck);

reactiv de dezvoltare a saharinei și ciclamatului: se prepară soluție alcoolică de benzidină: 250 mg la 100ml etanol; soluție saturată de acetat de cupru și anilină recent distilată. Se amestecă 15 ml soluție de benzidină, 1 ml anilină și 0,75ml soluție saturată de acetat de cupru. Această soluție trebuie să fie pregătită imediat înaintea analizei. Ea corespunde volumului necesar pentru dezvoltarea unei plăci de 20x20cm;

acid clorhidric diluat, 1:1 (v/v);

soluție de acid azotic, 25 %;

reactiv pentru dezvoltarea P-4000 și a dulcinei: se dizolvă 1g de 1,4-p-dimetilaminobenzaldehidă în 50 ml de metanol, se adaugă 10 ml de acid azotic, se aduce nivelul la 100 ml cu metanol. Pentru o placă de 20x20 cm se utilizează 15 ml de reactiv;

soluție hidroalcoolică de ciclamat, 0,1 %: se dizolvă 100 mg de sare de sodiu sau de calciu a acidului ciclohexilsulfamic în 100ml de amestec din părți egale de apă și etanol;

soluție apoasă de saharină, 0,05 %;

soluție de dulcină, 0,05g în 100 ml de metanol;

soluție de P-4000, 0,05g în 100 ml de metanol.

2.3. Metoda de lucru

2.3.1 Extracția

100 ml de vin se toarnă într-un vas cilindric, se evaporă rapid la fierbere până la volumul de 30 ml, permanent îndreptînd un jet de aer rece la suprafața recipientului. Se lasă să se răcească.

Se acidulează cu 3 ml de acid clorhidric diluat la 1:2. Se transvazează într-un balon conic de 500 ml cu dop rodat, se adaugă 40 ml benzen și se agită cu un agitator mecanic timp de 30 minute. Se trece într-o pîlnie de decantare pentru a separa faza organică, care se centrifughează în caz de formare a emulsiei.

Faza organică se pune într-un balon conic cu dop rodat. Vinul extras cu benzen, care corespunde stratului inferior în pîlnia de decantare, se toarnă într-un balon conic de 500 ml cu dop rodat, în care preventiv se iau 40 ml de acetat de etil. Se agită 30 minute și se separă faza organică în modul descris anterior. Se va avea grijă să fie separată doar faza organică fără vin.

Pe o baie de apă la 100 °C se evaporă fiecare solvent de extracție, în cantități mici, în capsule de 50-60 mm în diametru, trecînd un curent de aer rece pe suprafața capsulelor. Se continuă evaporarea pînă ce reziduul va avea o consistență siropoasă.

Se dizolvă reziduul din capsula, unde s-a evaporat extractul benzenic, cu 0,5 ml soluție etanol-apă (1:1). (0,25 ml de soluție sînt suficiente pentru dizolvarea reziduului, restul 0,25 ml - pentru spălarea capsulei). Extractul hidroalcoolic obținut se trece într-o eprubetă mică cu dop rodat (extractul B).

Reziduul din capsulă după evaporarea extractului de acetat de etil (care conține ciclamatul), se dizolvă cu 0,5 ml de apă și se trece într-o pîlnie de decantare. Se spală capsula cu 10 ml eter etilic, apoi eterul se adaugă la conținutul din pîlnia de decantare. Se agită energic timp de 2 minute și se separă stratul inferior într-o eprubetă în care în prealabil au fost luate 0,5 ml etanol. Se obține în total 1 ml soluție hidroalcoolică, care posibil conține ciclamat (extractul A).

2.3.2. Cromatografierea.

Saharina și ciclamatul

Pentru a determina saharina și ciclamatul se utilizează o

placă de celuloză: o jumătate din placă pentru a determina ciclamatul, cealaltă jumătate pentru saharină.

Pentru aceasta pe o jumătate din placă se depun 5-10 μ l extract A și 5 μ l soluție etalon de ciclamat, pe a doua parte a plăcii se depun 5-10 μ l extract B și 5 μ l soluție etalon de saharină. Placa astfel pregătită se pune în cuva cromatografică, conținînd solventul nr. 1 (acetona-acetat de etil-amoniac), se lasă să migreze pînă la o înălțime de 10 -12 cm.

Se scoate placa din cuvă și se usucă cu aer cald, cu atenție și uniform se pulverizează, cu reactiv cu benzidină (17-18 ml pentru fiecare placă). Se usucă placa cu aer rece. Apoi placa se pune într-o etuvă la 120-125 °C timp de 3 minute. Spoturile apar cenușiu închis pe fon maro deschis; culoarea spoturilor se intensifică în timp.

P-4000 și dulcina

Se depun 5 μ l de extract B și cîte 5 μ l de soluții etalon de dulcină și P-4000 pe placa de poliamidă. Placa astfel pregătită se plasează în cuva cromatografică, care conține solventul nr. 2 (toluen-metanol -acid acetic). Se lasă să migreze pînă la o înălțime de 10-12 cm.

Se scoate placa din cuvă, se usucă cu aer rece, se pulverizează cu 15 ml de reactiv cu p-dimetilaminobenzaldehidă, după aceea se usucă cu aer rece pînă ce apar spoturile de culoare galben-oranj care corespund dulcinei și P-4000.

Sensibilitate

Reactivul cu benzidină permite de a dezvolta spoturile, care corespund la 2 μ g de saharină și la 5 μ g de ciclamat.

Reactivul cu p-dimetilaminobenzaldehidă permite de a dezvolta spoturile, care corespund 0,3 μ g de dulcină și 0,5 μ g de P-4000.

Această metodă permite de a determina, ținînd cont de randamentul anumitor tipuri de extracții:

saharină	2-3 mg/l;
ciclamat	40-50 mg/l;
dulcină	1,0 mg/l;
P-4000	1 - 1,5 mg/l.

3. Metoda uzuală

3.1. Aparatură:

dispozitiv pentru expunerea în strat subțire;

plăci de sticlă 20x20 cm: se amestecă ușor 9g praf de celuloză și 6 g praf de poliamidă. Se adaugă agitînd 60 ml de metanol. Se expune pe plăci un strat cu grosimea de 0,25 mm. Se usucă timp de 10 minute la 70°C. Această cantitate este suficientă pentru a pregăti 5 plăci;

baie de apă cu temperatură reglabilă sau evaporator rotativ;

lampă UV pentru examinarea plăcilor cromatografice.

3.2. Reactivi:

ester de petrol (40-60°);

schimbător de ioni în formă lichidă, de exemplu, amberlite LA-2;

acid acetic diluat, 1:5 (v/v);

soluție de schimbător de ioni: 5 ml de schimbător de ioni sînt amestecați minuțios cu 95 ml eter de petrol și 20 ml acid acetic diluat la 1:5 (v/v). Se utilizează stratul de sus;

acid azotic în soluție, 1 M;

acid sulfuric, 10 %. (v/v);

amoniac diluat, 1:4 (v/v);

praf de poliamidă, de exemplu, Macherey-Nagel sau Merck;

praf de celuloză, de exemplu, Macherey-Nagel MN 300AC;

solvent pentru cromatografie: xilen: n-propanol: acid acetic glacial (ρ_{20} =1,05 g/ml): acid formic (98-100%) în proporție 45:6:7:2;

soluție pentru dezvoltare:

soluție de 0,2 % de 2,7-diclorfluorosceină în etanol;

soluție de p-dimetilaminobenzaldehidă: se dizolvă 1g de p-dimetilaminobenzaldehidă plasat într-un balon cotat de 100 ml cu aproximativ 50 ml etanol. Se adaugă 10 ml acid azotic de 25 % și se aduce la cotă cu etanol;

soluții etalon:

soluție de dulcină, 0,1 % în metanol;

soluție de saharină, 0,1 % în amestec de metanol și apă în proporție de 1:1;

soluție de ciclamat: soluția conține 1g de sare de sodiu sau de calciu al acidului

ciclohexilsulfamic în 100 ml de amestec de metanol și apă în proporție 1:1;

soluție de vanilină, 1 % într-un amestec de metanol și apă în proporție de 1:1;

soluție de ester al acidului p-hidroxibenzoic, 1 % în metanol.

3.3. Metoda de lucru

50 ml de vin se trec într-o pîlnie de decantare, se acidulează cu 10 ml acid sulfuric diluat și se extrage în 2 reprize cu câte 25 ml de soluție de schimbător de ioni lichid. 50 ml soluție obținută se spală în 3 etape cu câte 50 ml de apă distilată, care se lasă să se scurgă, apoi în 3 etape cu câte 15 ml de amoniac diluat. Soluțiile amoniacale se unesc, apoi se evaporă atent pînă la sec la 50 °C pe o baie de apă sau într-un evaporator rotativ. Reziduul se dizolvă cu 5 ml acetonă și două picături de acid azotic, se filtrează și din nou se evaporă la sec la o temperatură de 70°C pe baie de apă. Se evită încălzirea îndelungată și la temperaturi mai mari de 70°C. Reziduul se dizolvă cu 1 ml metanol; 5 -10μl de această soluție și 2 μl de soluții etalon sînt depuse pe placă. Se lasă să migreze solventul (xilen-n-propanol- acid acetic-acid formic) la o înălțime în jur de 15 cm (aproximativ 1 oră).

După uscarea la aer, placa se pulverizează cu soluție de diclorfluorosceină. Saharina și ciclamatul apar imediat sub formă de spoturi deschise pe un fond roz. La examenul în raze UV (254 sau 360 nm), cei trei îndulcitori se manifestă în culoare albastră pe fon galben.

Îndulcitorii se separă, de jos în sus, în ordinea următoare: ciclamat, saharină, dulcină.

Vanilina și esterii acidului p-hidroxibenzoic au aceeași valoare a R_f ca și dulcina. Pentru a identifica dulcina în prezența acestor compuși, placa trebuie pulverizată cu o soluție de p-dimetilaminobenzaldehidă. Dulcina apare sub forma de spot oranj, în timp ce ceilalți compuși nu reacționează.

Sensibilitatea – cantitatea limită determinată pe placa cromatografică este de 5 μg pentru toate trei substanțe.

Această metodă permite a determina: saharina 10 mg/l, ciclamat 50 mg/l și dulcină 10 mg/l.

41. Analiza microbiologică a musturilor și vinurilor

41.1. MA-MD-AS4-01-ANMICR Scopul

Analiza microbiologică are ca scop urmărirea fermentării alcoolice și/sau malolactice, depistarea riscurilor de contaminare microbiană, ceea ce permite a detecta toate anomaliiile nu numai în produsul finit, dar și pe parcursul diferitelor etape de fabricare.

Toate operațiile se execută cu respectarea condițiilor aseptice obișnuite la lucrările de microbiologie, utilizînd materiale sterilizate, în apropierea flăcării unui arzător Bunsen sau într-o cameră cu flux laminar și prin flamarea orificiilor pipetelor, țăvilor, flacoanelor etc.

Înainte de a efectua analiza microbiologică, este necesar a preleva corect probele pentru analiză.

Domeniul de aplicare

Analiza microbiologică poate fi aplicată vinurilor, musturilor, mistelilor și în cazurile în care aceste produse sînt alterate de o activitate microbiană.

Tehnicile de analiză microbiologică

În funcție de informația necesară să o obținem, analiza microbiologică se efectuează, recurgînd la următoarele tehnici:

1. Analize cu menținere:

analize cu menținere la aer;

analize cu menținere în etuve.

2. Identificarea microorganismelor și numărarea directă a drojdiilor:

examenul microscopic al lichidului și al sedimentului;

colorarea cu albastru de metilen;

colorarea Gram;

cercetarea catalazelor;

numărarea directă a drojdiilor la microscop.

3. Numărarea microorganismelor

3.1. Culturi în/și pe mediu solid sau pe suport solid:

culturi pe placă;

culturi pe membrane filtrante.

3.2. Culturi în medii lichide – „Numărul Probabil” (NPP).

Materiale:

cameră cu flux laminar;

microscop;

etuvă pentru incubare la o temperatură 20-35°C, echipată cu un termometru;

etuvă pentru sterilizare la o temperatură de 180°C, echipată cu un termometru;

incubator de CO₂ sau vase, închise ermetic, echipate cu un generator de CO₂, sau alte dispozitive care asigură o atmosferă îmbogățită de CO₂;

pH-metru, etalonat în unități de pH, care permite măsurări cu ± 0,1 unități;

autoclavă, care permite sterilizarea potrivită cu vapori a materialelor și a mediilor de cultură;

centrifugă;

baie de apă;

aragaz;

balanță cu exactitatea de zecime de miligrame;

hematimetru-numărător de celule Neubauer sau echivalent;

dispozitiv pentru filtrare sterilă cu membrane filtrante cu diametru de 13 sau 25 mm, porozitate de 0,22 μm, din esteri de celuloză sau fluorid de polivinilidină sau echivalente cu margini hidrofoabe;

arzător Bunsen;

baloane cotate de 100 și de 1000 ml;

baloane Erlenmeier de 100, 150, 300 și 1000 ml închise cu dop din vată de bumbac sterilizat.

eprubete de 50, 100, 300, 500 și 1000 ml;

pipete de 1, 10, 15, 20 și 25 ml, sterilizate;

eprubete sterile pentru centrifugă;

eprubete din sticlă pentru autoclave, fără margine, cu dimensiunile 160 x 16 mm și 180 x 18 mm, închise cu dop din vată de bumbac, în prealabil sterilizate, sau dispozitiv echivalent;

lame;

lamele;

pipete Pasteur, sterilizate;

ansă sterilizată;

hîrtie de filtru;

ulei de imersiune;

alcool de 70 și 95 % vol.

Se pot folosi și alte echipamente cu condiția că ele vor avea caracteristici echivalente.

Tehnici de prelevare a probelor

Este necesar ca probele să fie reprezentative. Se utilizează pipete pentru butoi și tuburi lungi de sticlă pentru putini. Trebuie efectuate prelevările în locuri în prealabil sterilizate, pentru a evita contaminările exterioare, care ar da rezultate fals pozitive. Pentru a efectua prelevările cu „robinetul degustător” din butoaie, este necesar de a lăsa să curgă cîtiva litri de probă. Trebuie de dezinfectat suprafețele de contact, de exemplu, cu alcool de 70 % vol. sau cu flacăra de gaz.

Analiza probelor trebuie efectuată cît e posibil de rapid după prelevare. În timpul transportării și stocării probele trebuie plasate la rece (4 – 5)°C, pentru a stabiliza flora microbiană.

1. Experiențe cu menținere*Scopul*

Aceste experiențe se efectuează cu scopul de a preîntîmpina riscurile de alterare microbiană.

Principiul

Această tehnică este bazată pe modificările vizuale (tulbureli, opalescență, sedimente, culori nedorite) în vin care au loc sub acțiunea oxigenului din aer sau a temperaturii. Natura modificărilor verificate trebuie confirmată printr-un examen microscopic.

*Metoda de lucru***1.1. Probe cu menținere la aer**

O mostră de 50 ml de vin după filtrare grosieră prin hîrtie de filtru sterilă este plasată într-un balon Erlenmeyer steril de 150 ml, astupat cu dop din vată de bumbac și se lasă la o temperatură ambiantă în decurs de 3 zile. Limpezimea, culoarea, prezența unei tulbureli, a unui sediment, a unei opalescențe sînt examinate în funcție de timp. Un examen microscopic este efectuat în cazul unei tulbureli, unui sediment, unei opalescențe sau unei culori nedorite.

1.2. Probe cu menținere în etuvă

O mostră de 100 ml de vin după filtrare grosieră prin hîrtie de filtru sterilă este plasată într-un balon Erlenmeyer steril, astupat cu dop din vată de bumbac, este plasată într-o etivă la 30°C și se examinează după cel puțin 72 ore. Modificările organoleptice pot servi ca indice de alterare microbiană. În așa caz este necesar de efectuat un examen microscopic.

2. Identificarea microorganismelor și numărarea directă a drojdiilor**2.1. Examenul microscopic al lichidelor și al sedimentelor***Scopul*

Examenul microscopic este necesar de efectuat cu scopul de a detecta și de a diferenția drojdiile de bacteriile eventual prezente.

Totodată, examenul microscopic nu permite a deosebi microorganismele vii de cele moarte. Cu o colorare vitală se poate de efectuat o estimare a drojdiilor vii.

Principiul

Această tehnică este bazată pe mărirea efectuată la microscop, care permite de a observa microorganismele, mărirea cărora este de ordinea micronilor.

Metoda de lucru

Examenul microscopic poate fi efectuat direct asupra lichidelor sau a sedimentelor.

Examinarea directă a lichidelor prezintă interes doar cînd populația microbiană este suficient de mare (mai mult de 5×10^5 celule/ml).

Cînd în vin este prezentă o populație de microorganisme mai mică, este necesar de efectuat o concentrare. Astfel, se centrifughează circa 10 ml de vin la 3000 – 5000 rotații pe minută timp de 5 – 15 minute. Apoi se decantează lichidul de la suprafață și se efectuează o omogenizare a sedimentului cu lichidul care a rămas la fundul tubului de

cerntifugă.

Pentru a realiza examenul microscopic, pe o lamă de sticlă se plasează, cu o pipetă Pasteur sterilă, o picătură de lichid sau de sediment omogenizate, se acoperă cu o lamelă și se plasează sub platina microscopului. Se examinează în cîmp clar sau faze contraste, care permit observarea elementelor de structură a microorganismelor. Ca regulă, se utilizează o mărirea de 400-1000 ori.

2.2. Colorarea microorganismelor cu albastru de metilen*Scopul*

Colorarea microorganismelor cu albastru de metilen permite diferențierea drojdiilor vii de cele moarte.

Principiul

Această colorare este bazată pe prezența în celulele vii a enzimelor, care reduc colorantul. Drept exemplu, albastrul de metilen este redus de celulele vii, care rămîn incolore. Celulele moarte absorb colorantul și se colorează în albastru.

Reactivi:

soluție de albastru de metilen, 0,1 %: într-un balon Erlenmeyer se dizolvă 0,1 g de albastru de metilen în 100 ml de apă distilată. Se filtrează prin filtru de hîrtie. Soluția trebuie să fie proaspăt preparată.

Metoda de lucru

Se plasează pe o lamă o picătură de probă și o picătură de colorant. Se amestecă cu ajutorul ansei și după 5 minute se studiază la microscop în cîmp luminos.

Rezultatele

Celulele vii rămîn incolore, iar celulele moarte se colorează în albastru.

Aceste metode de colorare nu sînt cu siguranță și se utilizează doar pentru numărări aproximative, ele nu sînt recomandate pentru bacterii. Pentru efectuarea diferențierilor între microorganisme – drojdiile și bacteriile – vii și moarte, se aplică tehnici mai avansate, de exemplu, microscopie depifluorescență.

2.3. Colorare după metoda Gram*Scopul*

Colorarea după metoda Gram se efectuează în scopul diferențierii bacteriilor lactice (Gram-pozitive) de bacteriile acetice (Gram-negative) și studierea morfologiei acestora.

Trebuie ținut cont de faptul că colorarea după metoda Gram nu este concludivă, deoarece în sedimentele cu bacterii lactice și bacterii acetice pot fi prezente și alte bacterii.

Principiul

Această colorare se bazează pe diferența între bacteriile Gram-pozitive și Gram-negative, datorată structurii și compoziției chimice diverse a pereților celulari. La bacteriile Gram-negative pereții celulari sînt bogați în lipide și au o cantitate foarte redusă de peptidoglucoză, ceea ce permite pătrunderea alcoolului și dizolvarea complexului violet de gențiană-iod format, lăsînd celulele incolore, care apoi se recolorează în roșu de către safranină, pe cînd, pereții celulelor de bacterii Gram-pozitive au o cantitate mare de peptidoglucoză și o concentrație mică de lipide. Grosimea pereților de peptidoglucoză și dehidratarea produsă de alcool nu permite pătrunderea alcoolului în celulă, de aceea colorarea violetă sau albastru-închis a complexului violet de gențiană-iod se păstrează.

Există mai multe modificări ale tehnicii de colorare după Gram. Colorarea după metoda Gram pierde semnificația sa, dacă este realizată pe o cultură prea veche. Tulpina analizată trebuie să se afle în faza de creștere exponențială în decurs de 24 – 48 ore.

Soluții

Se utilizează doar apa distilată.

1. *Soluție de violet de gențiană:* 2 g de violet de gențiană se trec într-un balon Erlenmeyer de 100 ml și se dizolvă în 20 ml de alcool de 95% vol.; 0,8 g oxalat de amoniu se dizolvă în 80 ml de apă distilată. Se amestecă aceste două soluții și se utilizează după 24 ore. Se filtrează prin hîrtie înainte de utilizare. Se păstrează la întuneric într-un flacon închis.

2. *Soluție de lugol:* 2 g de iodură de potasiu se dizolvă într-o cantitate mică de apă (4-5 ml) și în această soluție saturată se dizolvă 1 g de iod. Volumul se completează pînă la 300 ml cu apă distilată. Se păstrează la întuneric într-un flacon închis.

3. *Soluție de safranină:* 0,5 g de safranină se trec într-un balon Erlenmeyer de 100 ml, se dizolvă în 10 ml de alcool de 95 % vol. și se adaugă 90 ml de apă. Se agită. Se păstrează la întuneric într-un flacon închis.

Metoda de lucru

Pregătirea preparatelor microscopice.

Se efectuează o însămînțare de bacterii pe mediu lichid sau solid. Se colectează cu ansa sau cu o sîrmă cultura tînără de bacterii din sediment (după centrifugarea culturii lichide) sau direct din mediul solid și se amestecă cu o picătură de apă sterilizată.

Se prepară pe o placă un frotiu, întinzîndu-se o picătură de suspensie microbiană într-un strat subțire și uniform. Se lasă să se usuce frotiul. Apoi, pentru fixarea frotiului, se plasează repede placa de 3 ori în interiorul unui arzător Bunsen sau printr-o tehnică echivalentă. După răcire se efectuează colorarea.

Colorarea:

se picură pe frotiul fixat cîteva picături de soluție violet de gențiană. Se lasă să reacționeze 2 minute și se spală cu apă;

se picură una sau două picături de soluție de lugol. Se lasă să reacționeze 30 secunde. Se spală cu apă și se usucă pe hîrtie de filtru;

se picură alcool de 95 % vol., se lasă să reacționeze 15 secunde. Se spală cu apă și se usucă pe hîrtie de filtru;

se picură cîteva picături de soluție de safranină, se lasă să reacționeze 10 secunde. Se spală cu apă și se usucă pe hîrtie de filtru;

pe frotiul colorat se picură o picătură de ulei de imersie. Se examinează la microscop cu obiectivul de imersie în cîmp luminos.

Rezultatele:

bacteriile lactice rămîn colorate în violet sau în albastru-închis (Gram- pozitive);

bacteriile acetice se colorează în roșu (Gram-negative).

2.4. Examinarea catalazei

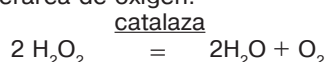
Scopul

Scopul examinării este de a diferenția bacteriile acetice de cele lactice. Levurile și bacteriile acetice au o reacție pozitivă la catalază, bacteriile lactice – negativă.

Trebuie ținut cont de faptul că cercetarea catalazei nu este concludentă, deoarece în afara bacteriilor lactice și acetice pot fi prezente și alte bacterii.

Principiul

Reacția cu catalaza este bazată pe proprietatea microorganismelor aerobe de a descompune peroxidul de hidrogen cu eliberarea de oxigen:



Reactivi

Soluție de peroxid de hidrogen, 3% : se iau 10 ml de peroxid de hidrogen de 30% într-un balon cotat de 100 ml și se completează volumul cu apă distilată proaspăt pregătită. Se agită și se păstrează în frigider într-un flacon

închis. Soluția trebuie să fie proaspăt preparată.

Metoda de lucru

Pe o lamă se ia o picătură de soluție de peroxid de hidrogen de 3 % vol., apoi pe această picătură se adaugă puțină colonie tînără. Dacă se eliberează gaze, deducem că cultura conține catalaze. Uneori este dificil de a observa degajarea de gaze, îndeosebi de coloniile de bacterii, de aceea, în acest caz, este necesar de a examina preparatul la microscop (obiectiv x 10).

2.5. Numărarea directă a levurilor la microscop

Scopul

Numărarea directă la microscop are drept scop evaluarea populației totale de levuri (vii și moarte). Această tehnică este indicată numai pentru numărarea levurilor.

Numărarea bacteriilor este dificilă și aproximativă din cauza dimensiunilor lor mici și, în principal, din cauza prezenței de particule coloidale. Se poate de folosit această tehnică pentru estimarea aproximativă a celulelor vii, recurgînd la colorarea vitală cu albastru de metilen.

Principiul

Tehnica este bazată pe numărarea cu ajutorul microscopului a microorganismelor într-un volum de probă cunoscut. Dispozitivele de măsurare a acestui volum sînt lamelele speciale de tipul hematimetre sau numărătoare de celule. Lamelele includ o suprafață delimitată, care, acoperită cu o lamelă groasă plată, reține un volum cunoscut de probă.

Există diverse numărătoare de celule. Ca exemplu, numărătoare de celule *Neubauer*, care include o cavitate centrală de 0,1 mm adîncime și o suprafață de 1 mm². Fundul cavității este împărțit în 400 mici pătrate. Astfel, volumul probei care corespunde unui pătrat mic este de 1/400 mm³.

Metoda de lucru

Pe planul central al lamelei se plasează, evitînd revărsarea, o picătură de probă omogenizată. Se acoperă cu o lamelă groasă cu evitarea formării bulelor de gaz. Se lasă în repaus cîteva minute pentru a se fixa.

Concentrația trebuie să fie nici prea concentrată și nici prea diluată. Cînd este vorba de o concentrație foarte densă, proba trebuie diluată. Din contra, cînd numărul celulelor este mic, trebuie de efectuat o concentrare prin centrifugare.

Numărarea cu microscopul a microorganismelor se efectuează cînd numărul acestora este cuprins între 200 și 500 de celule. Trebuie de evitat numărarea aceluiași celule de două ori. În scopul obținerii unei cifre mai precise, trebuie de efectuat numărarea în diferite cîmpuri. Drept exemplu se poate de numărat 5 pătrate mari (fiecare conținînd 16 pătrate mici), 1 din centru și 4 din extremitățile planului cadrilat sau 5 pătrate mari pe diagonală. Se recomandă efectuarea numărării de 2 ori. Se calculează media aritmetică a două numărări, rezultatul se împarte la 400 pătrate mici și se înmulțește la 10⁴ pentru a-l exprima în celule pe mililitru. Dacă, eventual au fost efectuate diluări sau concentrări, se ține cont de factorul de diluare sau de concentrare.

3. Numărarea microorganismelor în cultură

Scopul

Numărarea microorganismelor în cultură are ca scop evaluarea nivelului de contaminare a probei, adică de a estima stabilitatea ei microbiană, deoarece microorganismele vii sînt capabile să altereze produsul.

În funcție de mediul de cultură utilizat și condițiile de cultură, se poate de evidențiat trei tipuri de microorganisme: levuri, bacterii lactice și bacterii acetice.

3.1. Cultură în mediul solid

Principiul

Această metodă este bazată pe presupunerea că un

microorganism viu, cultivat în/sau pe mediu sau suport solid nutritiv specific și în condiții convenabile, se multiplică formînd o colonie vizibilă cu ochiul liber.

3.1.1. *Cultură pe suport*

Scopul

Această tehnică de numărare a microorganismelor se utilizează cînd concentrația microbiană este mare și se efectuează diluări.

Materiale

Pe lîngă materialele precedent indicate se utilizează: cutia Petri (plăci) de 57 cm² (plastică) sau de 65 cm² (sticlă Pyrex); diluanți și medii solide de cultură (vezi anexele nr.4 și nr. 5).

Metoda de lucru

Numărarea coloniilor în cutia Petri poate fi realizată prin incorporare în masă sau pe suprafața mediului corespunzător a probei după incubarea convenabilă.

Diluarea

Deoarece nu se știe concentrația microbiană preventivă, se realizează diluări succesive, decimale și în creștere, în așa mod, pentru a obține numărul coloniilor cel mai favorabil (între 30 și 300 colonii) pentru numărarea coloniilor.

Se poate de efectuat la microscop o estimare aproximativă a diluărilor. În acest scop, din lotul unei probe omogenizate, se prepară o serie de diluări zecimale (1:10) în dizolvant.

În primul tub se prelevă 1 ml de probă și se adaugă 9 ml de dizolvant. Se omogenizează. În al doilea tub se prelevă 1 ml din diluarea precedentă și se adaugă 9 ml de dizolvant. Se continuă diluarea pînă ce ultima diluare este convenabilă, corespunzător populației microbiene presupuse, cu utilizarea de pipete sterile pentru fiecare diluare (vezi schemele din anexa nr.1).

Prepararea inoculărilor prin incorporare în agar

Se prepară cutii Petri astfel încît să putem obține o diluare care dă un număr între 30 și 300 colonii.

Se inoculează 1 ml de probă și 1 ml din fiecare diluare preparată în două cutii Petri, diluările se aleg corespunzător populației microbiene presupuse și imediat se omogenizează; se utilizează diferite pipete sterile sau pipete automate cu conuri hidrofobice. Apoi, se introduc 15 ml de mediu de cultură agar, la o temperatură de aproximativ 42 - 45°C, în prealabil lichifiată pe o baie de apă în fierbere sau într-un cuptor cu microunde, cu evitarea unei încălziri îndelungate. Se omogenizează imediat și atent, efectuînd mișcări circulare în două direcții, cu evitarea formării bulelor de aer și revărsărilor. Se răcesc pe o suprafață plată pînă la solidificare.

Prepararea inoculărilor pe o suprafață de mediu de agar

Se iau 0,1 - 0,2 ml de probă din diluările selectate, astfel încît pe suprafața de agar să nu fie o cantitate excesivă de lichid, care ar putea influența calitatea distribuiri. Se recomandă utilizarea diluțiilor de 10 ori mai concentrate decît în metoda de incorporare în agar. Pe suprafața mediului nutritiv se efectuează o distribuire omogenă a probei selectate, cu ajutorul unui distribuitor de sticlă, spălat cu alcool și trecut prin flacăra.

Cutiile Petri se incubează în etuve în poziție inversată:

levurile – la o temperatură 20 - 25°C, timp de 3 - 10 zile, în condiții de aerobioză (Pentru numărarea levurilor, este suficient incubarea timp de 3 zile. Dacă se presupune prezența de *Dekkera Brettanomyces*, incubarea trebuie efectuată 7 - 10 zile);

bacteriile lactice – la o temperatură de 25°C timp de 4 - 10 zile în condiții de anaerobioză sau microaerofilie;

bacteriile acetice – la o temperatură de 25 - 30°C timp de 2-4 zile în condiții de aerobioză.

Se efectuează numărarea coloniilor dezvoltate cu ochiul liber sau cu ajutorul unei lupe sau cu un numărător de colonii. Dacă există îndoieli, se confirmă identitatea coloniilor (levuri sau bacterii) la microscop.

Se testează sterilitatea mediului, diluantului și a materialului, efectuînd o probă în alb cu un eșantion de apă sterilă pentru fiecare serie de probe.

Rezultatele

Rezultatele se exprimă în unități formătoare de colonii/ml – UFC/ml (în loc de microorganisme/ml, deoarece fiecare colonie poate fi rezultată dintr-un microorganism sau dintr-un conglomerat de microorganisme), cu notarea științifică cu o zecimală (de exemplu, 1100 raportată cum „1,1×10³ UFC/ml”).

Cînd numărul coloniilor este evaluat vizual rezultatele se exprimă în UFCE/ml (E – estimativ).

Se efectuează numărarea pe suporturile care conțin între 30 și 300 colonii. Se calculează UFC/ml înmulțind media aritmetică a numărului coloniilor cu factorul de diluare. Se indică durata incubăției.

Reguli pentru calcularea UFC prin numărare și estimare

1. Se efectuează numărarea precisă a coloniilor fiecărei diluări care conține între 30 și 300 colonii și se calculează media aritmetică.

2. Dacă nici una din cutiile unei diluări nu conține între 30-300 colonii, se calculează media aritmetică a numărului coloniilor din ambele cutii corespunzătoare acestei diluări.

3. Dacă două diluări consecutive conțin între 30 și 300 colonii, se calculează media aritmetică pentru a calcula, cu condiția că cel mai mare număr nu depășește cea mai mică valoare de două ori. În cazul în care depășește dubla valoare, se utilizează cea mai mică valoare. De exemplu, 150 (diluarea 10⁻¹) și 350 (diluarea 10⁻²), raportul 350/150 este mai mare de 2. Astfel, se utilizează cel mai mic număr, adică 150, și se calculează UFC/ml, înmulțind cu factorul de diluare.

4. În cazul în care toate cutiile au mai puțin de 30 colonii, se ia în considerare numai cutiile unde diluarea este cea mai mică. Se determină media aritmetică și se prezintă rezultatele cu aproximație.

5. În cazul în care cutiile cu toate diluările nu conțin colonii și nu sînt prezente substanțe inhibitoare, se consideră numărul ca „< 1,0”, cel mai mic factor de diluare (se înmulțește la factorul de diluare și se exprimă rezultatul cu aproximație). De exemplu, dacă nu sînt colonii în diluarea 10⁻² (cea mai mică), rezultatele trebuie raportate ca „<1,0 × 10⁻² UFCE/ml”).

6. Dacă toate cutiile conțin mai mult de 300 colonii, se consideră numărarea mai aproape de 300. Astfel, se iau în considerare numai cutiile cu cea mai mare diluare și se prezintă rezultatele cu aproximație.

7. Dacă numărul coloniilor în cutie depășește cu mult 300, rezultatul nu se va raporta ca fiind „TNTC” (*too numerous to count*). Dacă sînt mai puțin de 10 colonii/cm², se numără 13 pătrate (cu numărătorul de colonii). Se calculează media aritmetică pentru pătrat și se multiplică cu factorul necesar pentru a calcula coloniile cutiei. În mod similar, cînd sînt mai mult de 10 colonii/cm³, se numără 4 pătrate reprezentative, se calculează media aritmetică pentru fiecare pătrat și se face calculul cum e indicat mai sus. Pentru cutia cu suprafața de 57 cm² factorul este 57, iar pentru cutia cu suprafața de 65 cm² – 65.

8. Cînd este o suprapopulație în cutii, mai mult de 100 colonii/cm², se raportează rezultatele estimativ. Pentru a calcula, se înmulțește 5700 sau 6500 cu cel mai mare

factor de diluare. Drept exemplu, pentru o diluare de 10^{-3} , UFCE sînt raportate ca „ $> 5,7 \times 10^6$ UFCE/ml” sau ca „ $> 6,5 \times 10^6$ UFCE/ml”.

3.1.2. Metode de filtrare prin membrane

Scopul

Scopul prezentei metode constă în efectuarea numărării microorganismelor cînd populația microbiană este mică. Se efectuează concentrarea microorganismelor care sînt reținute pe o membrană de filtrare cu o porozitate convenabilă după filtrarea unui volum determinat de eșantion.

Materiale

Pe lîngă materialele precedent indicate:
pompa în vid sau un dispozitiv echivalent;
sistem pentru filtrare (filtru și pilnie) pentru membrane de 47 mm în diametru. Poate fi din oțel inox, din Pyrex, din plastic autoclavabil sau steril nonautoclavabil;

rampă pentru filtrare sau balon în vid;

capcană pentru inserare între balon și pompa de vid;

clește pentru fixare;

clește cu margini rotunjite pentru membrane;

clește pentru introducerea ansamblului pentru filtrare atunci cînd se sterilizează (prin flacăra, imersie în apă clocotindă);

vas din inox pentru sterilizarea în apă în fierbere a sistemului pentru filtrare;

membrane filtrante din esteri de celuloză de 47 mm în diametru, cu marginile hidrofobe, de preferință albe, cadrilate de 0,2 μ m, 0,45 μ m sau 0,8 μ m porozitate. De preferință, se utilizează membrane sterile în ambalaj individual, furnizate în comerț. În caz contrar, se sterilizează în autoclav timp de 10 minute la 121°C; cutii Petri din sticlă Pyrex sau plastic – 60 minute;

tampoane absorbante sterile.

1. Medii de cultură (a se vedea anexa nr. 5)

Metoda de lucru

1. Prepararea plăcilor

Se prepară un număr necesar de cutii Petri cu mediu de cultură potrivit. Membranele filtrante pot fi plasate pe mediu de gelatină adecvat sau pe un suport solid – tampon absorbant îmbibat cu mediu nutritiv lichid potrivit.

a) Cutii Petri cu mediu de gelatină potrivit (a se vedea anexa nr.5);

se introduc în cutiile Petri cu diametrul de 60 mm circa 6 ml de mediu solid, în prealabil lichefiat pe baia de apă și răcit pînă la 45 °C. Se lasă să se solidifice pe o suprafață plată. Se răstoarnă cutiile, pentru a le utiliza peste 2-3 ore. Se vor putea utiliza cutiile deja preparate cu condiția că ele nu sînt contaminate și nu sînt uscate.

b) Cutii Petri cu mediu lichid potrivit (a se vedea anexa nr.5);

Dacă se va utiliza mediu nutritiv lichid- membranele sînt instalate în cutiile Petri pe un tampon absorbant, îmbibat cu mediu lichid.

Pentru prepararea cutiilor cu mediu nutritiv lichid se deschide cutia Petri și se introduce un tampon absorbant steril (sînt necesare cutii sterile și tampoane absorbante sterile). Se utilizează, în general, fiole de 2 ml cu mediu nutritiv lichid potrivit, furnizate în comerț, sau echivalentul acestora. Din fiola de 2 ml se toarnă aproximativ 1,8 ml pe tamponul absorbant, cu repartizare uniformă pe toată suprafața.

2. Filtrarea probei

Înainte de a se începe filtrarea, dispozitivele de filtrare se sterilizează în autoclave. Între filtrări, dispozitivele din oțel sau sticlă Pyrex se clătesc cu alcool și se trec prin flacăra arzătorului Bunsen sau se scufundă în apă clocotindă timp de 5 minute. Pentru utilajele din plastic se pot utiliza mijloace de sterilizare alternative ca, de exemplu, o

radiație ultravioletă cu o expunere de 2 minute sau alți agenți chimici sau fizici potriviți.

Se instalează o capcană între balon pentru vid și pompă de vid. Se adaptează ansamblu pentru filtrare pe balonul de vid. Se fixează pilnia pe suportul pentru filtrare cu un clește de fixare. Se introduc cîtiva mililitri de apă sterilă pentru a provoca o bună aderență a membranei cu suportul de filtrare și se lasă să se scurgă complet.

Cu ajutorul unei pensete, preventiv trecută prin flacăra și răcită, se retrage din ambalajul steril membrana filtrantă de porozitatea corespunzătoare. Membrana se plasează pe baza suportului de filtrare, în centru, cu cadrilajul în sus.

Se introduce un volum convenabil de probă omogenizată cu o populație presupusă. Cifrele considerate pentru numărarea coloniilor se găsesc între 20 și 200. Ideal ar fi valoarea de la 60 pînă la 80 colonii, ca să fie posibilă o bună diferențiere.

După filtrare, vidul se întrerupe cu grijă pentru a evita refluxul (Volumul de filtrare variază, în general, între 25 și 500 ml. Trebuie de fiecare dată de turnat un volum cunoscut de probă. Dacă volumul de probă este mai mic de 20 ml, cu ajutorul unei pilnii sterile se adaugă un volum de apă sterilă ca să acopere membrana și apoi cu pipeta sterilă se toarnă proba pentru filtrare).

Se scoate pilnia, cu o pensetă trecută prin flacăra și răcită se scoate membrana și se așază pe mediul de cultură din cutia Petri, cu cadrilajul în sus. Se evită formarea bulelor de aer între membrană și mediu, care pot împiedica contactul omogen și, ca urmare, dezvoltarea microbiană corectă.

Se răstoarnă cutia și se incubează în etuvă pentru un timp și în condiții convenabile pentru acele microorganisme, pe care vrem să le detectăm.

Pentru drojdii

Se utilizează membrane filtrante cu porozitate 0,45 μ m sau 0,8 μ m, mediu agar YEPD (a se vedea anexa nr.5) și se incubează în condiții aerobioze la o temperatură de 20 - 25 °C, timp de la 3 - 10 zile (Pentru numărarea drojdiilor este suficientă incubarea de 3 zile. Dacă se presupune o prezență de *Dekkera Brettanomyces*, incubarea trebuie să fie efectuată timp de 7 - 10 zile).

Pentru bacterii lactice

Se utilizează membrane filtrante cu porozitatea de 0,2 μ m sau 0,45 μ m, mediu de cultură de agar corespunzător (vezi anexa nr. 5), se incubează în condiții anaerobioze sau microaerofilie la 25°C. Durata incubării poate atinge 10 zile.

Pentru bacterii acetice

Se utilizează membrane filtrante cu porozitate de 0,2 μ m sau 0,45 μ m, mediu de cultură de agar corespunzător (vezi anexa nr.5), se incubează în condiții aerobioze la 25 - 30 °C, timp de 2 - 4 zile.

Se face numărarea coloniilor dezvoltate cu ochiul liber sau cu ajutorul unei lupe sau cu un numărător de colonii. Dacă sînt îndoieli, se face confirmarea identității coloniilor (drojdii sau bacterii) la microscop.

Se testează sterilitatea mediilor, membranelor filtrante și materialelor, efectuînd o mostră în alb pe o probă de apă sterilă, pentru fiecare serie.

Rezultatele

Se exprimă rezultatele în unități formatoare de colonii / ml-UFC/ml (în loc de microorganisme/ml, deoarece fiecare colonie poate fi rezultată dintr-un microorganism sau dintr-un conglomerat de microorganisme). Cînd se filtrează un volum mare de vin și numărul de colonii dezvoltate este foarte mic, rezultatele se pot prezenta raportate la volumul utilizat.

Dacă nu a avut loc dezvoltarea coloniilor și dacă nu sînt prezente substanțe inhibitoare, se atribuie rezultatele ca

„<1,0 UFC ” către un volum de vin mai mare filtrat.

Se numără toate coloniile pe membrană, când pe un pătrat se regăsesc 1-2 colonii. Când se obține un număr excesiv de colonii pe membrane, se repetă analiza probei cu utilizarea unei cantități mai mici de probă. Dacă numărul coloniilor este foarte mare, depășește 200, numărările se fac când coloniile nu se ating și repartizarea lor poate fi considerată reprezentativă. Dacă aceasta nu este posibil, se raportează rezultatele ca „TNTC” (*too numerous to count*).

Se face referire la porozitatea membranelor utilizate și la durata incubăției.

3.2. Cultură în mediu lichid – „cel mai probabil număr” (NPP):

Scopul

Scopul metodei constă în evaluarea numărului de microorganisme viabile în vinuri, cu un conținut mărit de particule solide în suspensie și/sau indici măriți de colmatare.

Principiul

Prezența tehnică este bazată pe evaluarea numărului de microorganisme vii în mediu lichid, reieșind din principiul repartizării normale în probă.

Diluanți și medii lichide de cultură (vezi anexele nr.4 și nr. 5).

Metoda de lucru

Se prepară câteva diluții cantitative și succesive. După incubarea acestei serii de diluări, o oarecare parte din diluări nu va da creștere microorganismelor (probe negative), o altă parte se află în stadiul de dezvoltare a microorganismelor (probe pozitive).

Dacă eșantionul și diluțiile sunt omogene și numărul de diluții este suficient de mare, este posibil a face calculul statistic al rezultatelor, utilizând tabelele corespunzătoare (tabele bazate pe calculul probabilităților McCrady) și se generalizează acest rezultat la proba inițială.

Prepararea diluțiilor

Din proba de vin omogenizată, se prepară o serie de diluții decimale (1:10) cu un diluant. În prima eprubetă se ia 1 ml de vin și se adaugă 9 ml de diluant. Se omogenizează. În a doua eprubetă se iau 1 ml din prima eprubetă și 9 ml de diluant. Se continuă acest mod de diluții până la ultima diluție convenabilă, conform populației microbiene dorite, utilizând pipete sterile pentru fiecare diluție. Diluțiile trebuie să fie realizate până la lipsa dezvoltării microorganismelor în ultima diluție (vezi schema din anexa nr.2).

Prepararea inoculațiilor

Se inoculează 1 ml de vin și 1 ml din fiecare diluție preparată la momentul dat, în trei eprubete cu mediu de cultură respectiv (a se vedea anexa nr.5). Se omogenizează. Se incubează eprubetele inoculate în etuvă la o temperatură de 25°C, pentru drojdii (de la 3 până la 10 zile), în condiții aerobioze, pentru bacteriile lactice, în condiții anaerobioze sau microaerofilie (de la 8 până la 10 zile), efectuând observații periodice până în ultima zi de incubare.

Rezultatele

Se consideră pozitive toate eprubetele care prezintă o dezvoltare microbiană, caracteristică prin formarea unui sediment albiu și/sau cu o turbureală. Rezultatele se confirmă la microscop. Se face referire la durata incubăției.

Se notează numărul eprubetelor pozitive și negative de fiecare combinație în trei eprubete (de fiecare diluție). Ca exemplu „3-1-0” semnifică: trei eprubete pozitive în diluția 10^0 (vin), una în diluția 10^{-1} și zero în diluția 10^{-2} .

Pentru un număr de diluții mai mare de trei, numai trei din aceste rezultate sunt semnificative. Pentru selectarea rezultatelor adoptate la determinarea „NPP” este necesar de a determina „numărul caracteristic”, conform exemplor din tabelul de mai jos.

Calcularea celui mai probabil număr (NPP)

Ținând cont de numărul caracteristic obținut, se determină NPP cu ajutorul tabelului A (anexa nr. 3), în baza teoriei probabilităților McCrady, luând în considerare diluțiile efectuate. Dacă concentrațiile sunt de 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , se citește direct. Dacă concentrațiile sunt de 10^1 , 10^0 , 10^{-1} , rezultatul se înmulțește cu 0,1, dacă concentrațiile sunt de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} rezultatul se înmulțește cu 10.

Dacă este necesar de a mări nivelul de detecție, se poate folosi concentrația de 10^1 de vin. Pentru a obține această concentrație de microorganisme la 1 ml, se centrifughează 10 ml de vin și se prelevă 1 ml de sediment (după extragerea a 9 ml de lichid de la suprafață), apoi se inoculează în modul descris mai sus.

Exprimarea rezultatelor

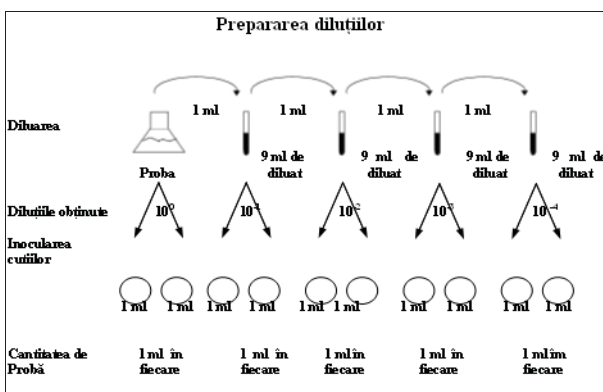
Conținutul de microorganisme în vin trebuie prezentat în germeni la mililitru, cu notarea cu o zecimală. Dacă conținutul este inferior de 1,0 germeni la mililitru, rezultatul trebuie de prezentat ca „< 1,0 germeni /ml”.

Tabel

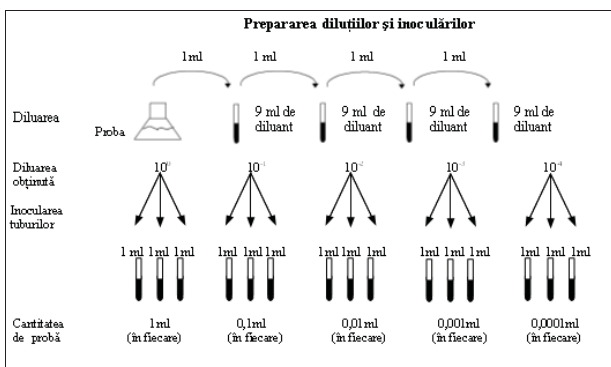
Numărul eprubetelor pozitive în fiecare diluție						Numărul caracteristic
Exemple	10	10	10	10	10	3-1-0
a	3	3	3	1	0	3-2-0
a	3	3	3	0	0	3-2-1
a	3	2	1	0	0	3-0-1
a	3	0	1	0	0	3-2-3
b	3	2	2	1	0	3-2-3
b	3	2	1	1	0	3-2-2
c	2	2	2	2	0	2-2-2
d	0	1	0	0	0	0-1-0

exemplu a) se ia cea mai mare diluție la care toate tuburile sunt pozitive și în următoarele două;
exemplu b) dacă un rezultat pozitiv este observat pentru o diluție mai mare decât în următoarele, este necesar de a adăuga;
exemplu c) în cazul, în care diluția nu dă trei tuburi pozitive se ia diluția corespunzătoare pentru ultimele trei tuburi pozitive;
exemplu d) în cazul în care numărul de tuburi pozitiv este foarte mic, se selectează numărul caracteristic astfel încât diluarea pozitivă deține rangul zecimal

Anexa nr.1 – (OENO 8/95)



Anexa nr.2 (OENO 8/95)-2



Anexa nr.3 (OENO 8/95)

Tabelul A

Numărul cel mai probabil (NPP) pentru 1 ml de probă folosind 3 tuburi
cu 1 ml, 0,1 ml și 0,01 ml

Tuburile pozitive				Tuburile pozitive				Tuburile pozitive			
1	0,1	0,01	NPP	1	0,1	0,01	NPP	1	0,1	0,01	NPP
(ml)	(ml)	(ml)	(ml)	(ml)	(ml)	(ml)	(ml)	(ml)	(ml)	(ml)	(ml)
0	0	0	0,0	2	0	2	2,0	1	1	1	7,5
0	0	1	0,3	2	1	0	1,5	3	1	2	11,5
0	1	0	0,3	2	3	3	2,0	3	1	3	16,0
0	1	1	0,6	2	1	2	3,0	3	2	0	9,5
0	2	0	0,6	2	2	3	2,0	3	2	1	15,0
1	0	0	0,4	2	2	1	3,0	3	2	2	20,0
1	0	1	0,7	2	2	2	3,5	3	2	3	30,0
1	0	2	1,1	2	2	3	4,0	3	3	0	25,0
1	1	0	0,7	2	3	0	3,0	3	3	1	45,0
1	1	1	1,1	2	3	1	3,5	3	3	2	110,0
1	2	0	1,1	2	3	2	4,0	3	3	3	>140
1	2	1	1,5	3	0	0	2,5				
1	3	0	1,6	3	0	1	4,0				
2	0	0	0,9	3	0	2	6,5				
2	0	1	1,4	3	1	0	4,5				

Anexa nr.4 -(OENO 8/95)

Diluanți

Diluanții sînt indicați în calitate de exemple.

Apa utilizată trebuie să fie distilată, bidistilată sau deionizată, fără urme de metale, inhibitori sau alte substanțe antimicrobiene.

1. *Apă fiziologică*: într-un balon de 1000 ml se iau 8,5 g de clorură de sodiu. După dizolvarea în apă, se ajustează pînă la volumul de referință. Se omogenizează. Se filtrează. Se repartizează cîte 9 ml în eprubete. Se închide cu dop de bumbac și se autoclavează 20 minute la 121°C.

2. *Soluția de clătire de 1/4*: într-un balon de 1000 ml se iau 2 250 g clorură de sodiu, 0,105 g clorură de potasiu, 0,120 g clorură de calciu ($\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$), 0,050 g hidrogenocarbonat de sodiu. După dizolvare în apă, se ajustează pînă la volumul de referință. Se omogenizează. Se repartizează cîte 9 ml în eprubete. Se închide cu dop de bumbac și se autoclavează 15 minute la 121°C.

Anexa nr.5 – (OENO 8/95)

Medii de cultură

Mediile de cultură și antimicrobiene sînt indicate în calitate de exemplu.

Apa utilizată trebuie să fie distilată, bidistilată sau deionizată, fără urme de metale, inhibitori sau alte substanțe antimicrobiene.

1. Medii de cultură solide

1.1. Pentru drojdii:

Mediu YEPD (Extract de drojdie, peptonă, dextroză, geloze + cloramfenicol)

Preparare: într-un balon Erlenmeyer de 1000 ml se cîntărește 10 g extract de drojdie (Difco sau echivalent), 20 g de peptonă, 20 g de glucoză și 100 mg de cloramfenicol. Se dizolvă în 450 ml de apă.

Separat, se dizolvă 20 g de geloză cu 500 ml de apă, într-un balon de 1000 ml, se plasează într-o baie fierbinte, agitînd frecvent și evitînd o încălzire prelungită. După dizolvarea totală, se adaugă soluția precedentă, volumul se completează pînă la 1000 ml cu apă și se amestecă. Se distribuie în eprubete Boucher cîte 15 ml (pentru enumerare pe suport) și cîte 6 ml (pentru enumerare cu filtrare prin membrane). Se închid cu dop de bumbac și se autoclavează timp de 15 minute la 121°C.

În locul cloramfenicolului, pe suprafață în momentul distribuției mediului, se poate adăuga penicilină 20U/ml și streptomycină 40 U/ml.

1.2. Pentru bacterii lactice

Mediu Lafon-Lafurcade și al. geloză + actidion

Preparare: într-un vas Erlenmeyer de 1000 ml se cîntăresc 5 g de extract de drojdie, 10 g de extract de carne, 15 g de pepton tripsic, 5 g de acetat de sodiu, 2 g de citrat de amoniu, 0,05 g de sulfat de magneziu, 0,2 g de sulfat de mangan, 20 g de glucoză și 50 mg de actidion. Se

dizolvă în 400 ml de apă și se corectează pH pînă la 5,4 cu o soluție de hidroxid de sodiu 1 N sau cu o soluție de acid clorhidric de 1 N. Se adaugă 1 ml de Tween 80.

Separat, într-un balon de 1000 ml, se dizolvă 20 g de geloză cu 500 ml de apă, se plasează într-o baie fierbinte, agitînd frecvent și evitînd o încălzire prelungită. După dizolvarea totală, se adaugă soluția precedentă și volumul se completează pînă la 1000 ml cu apă. Se amestecă și se distribuie în eprubete Boucher cîte 15 ml (pentru enumerare pe suport) și cîte 6 ml (pentru enumerare cu filtrare prin membrane). Se închid cu dop de bumbac și se autoclavează timp de 20 minute la 121°C.

Mediu Dubois (mediu 104), geloză + actidion

Preparare: într-un balon Erlenmeyer de 1000 ml se cîntăresc 5 g de extract de drojdie (Difco), 5 g de peptonă, 3 g de acid L-malic, 0,05 g de sulfat de magneziu, 0,05 g de sulfat de mangan, 50 mg de actidion. Se dizolvă în 200 ml de apă. Se adaugă 250 ml de suc de tomate și se corectează pH la 4,8 cu o soluție de hidroxid de sodiu 1 N sau de acid clorhidric de 1N. Se adaugă o picătură de Tween 80.

Separat, într-un balon de 1000 ml se dizolvă 20 g de geloză cu 500 ml de apă, se plasează într-o baie fierbinte, agitînd frecvent, evitînd o încălzire prelungită. După dizolvarea totală, se adaugă soluția precedentă și se completează pînă la 1000 ml cu apă. Se amestecă și se distribuie în eprubete Boucher cîte 15 ml (pentru enumerare pe suport) și cîte 6 ml (pentru enumerare cu filtrare prin membrane). Se închid cu un dop de bumbac și se autoclavează timp de 20 minute la 121°C.

Mediu TJB (Tomato Luice Broth), geloză + actidion

Preparare: într-un balon Erlenmeyer de 1000 ml se cîntăresc, 5 g de glucoză, 2 g de triptonă (Difco), 5 g de peptonă (Difco), 5 g extract de drojdie (Difco), 1 g de extract de ficat și 50 mg de actidion. Se dizolvă în 400 ml de suc de tomate. Se corectează pH la 5,5 cu o soluție de hidroxid de sodiu 1 N sau cu acid clorhidric de 1 N. Se adaugă o picătură de Tween 80.

Separat, într-un balon de 1000 ml se dizolvă 20 g de geloză cu 500 ml de suc de tomate, se plasează într-o baie fierbinte, agitînd frecvent și evitînd o încălzire prelungită. După dizolvarea totală, se adaugă soluția precedentă și se completează pînă la 1000 ml cu suc de tomate.

Se amestecă și se distribuie în eprubete Boucher cîte 15 ml (pentru enumerare pe suport) și cîte 6 ml (pentru enumerare cu filtrare prin membrane). Se închid cu dop de bumbac și se autoclavează timp de 20 minute la 121°C.

Sucul de tomate se diluează de 4,2 ori și se filtrează prin Watman nr.1 (1000 ml).

1.3. Pentru bacteriile acetice

Mediu G2, geloză + actidion

Preparare: într-un balon Erlenmeyer 1000 ml se cîntăresc 1,2 g de extract de drojdie, 2 g de fosfat de amoniu, 50 mg de actidion. Se adaugă 500 ml de cidru și se corectează pH pînă la 5 cu o soluție de hidroxid de sodiu 1 N sau cu o soluție de acid clorhidric de 1 N.

Separat, într-un balon de 1000 ml, se dizolvă 20 g de geloză cu 450 ml de apă, se plasează într-o baie fierbinte, agitînd frecvent și evitînd o încălzire prelungită. După dizolvarea totală se adaugă soluția precedentă și se completează pînă la 1000 ml cu apă. Se amestecă și se distribuie în eprubete Boucher cîte 15 ml (pentru enumerare pe suport) și cîte 6 ml (pentru enumerare cu filtrare prin membrane). Se închid cu dop de bumbac și se autoclavează timp de 20 minute la 121°C.

Mediu Carr, geloză + actidion

Preparare: într-un balon Erlenmeyer de 1000 ml se cîntăresc 30 g de extract de drojdie (Difco), 50 mg de actidion. Se dizolvă în 500 ml de apă, se adaugă 1 ml de

verde de bromcrezol de 2,2 %.

Separat, într-un balon de 1000 ml, se dizolvă 20 g de geloză cu 450 ml de apă, se plasează într-o baie fierbinte, agitând frecvent și evitând o încălzire prelungită. După dizolvarea totală, se adaugă soluția precedentă și se completează până la 1000 ml cu apă. Se amestecă și se distribuie în eprubete Boucher câte 15 ml (pentru enumerare pe suport) și câte 6 ml (pentru enumerare cu filtrare prin membrane). Se închid cu dop de bumbac și se autoclavează timp de 20 minute la 121°C.

După lichefiere și răcire până la 45°C, la mediu se adaugă 20 ml de alcool la litru, se sterilizează prin filtrare (membrană de fluorură de poliviniliden) și se amestecă.

2. Medii lichide de cultură

2.1. Pentru levuri

Mediu YEPD (Extract de drojdie, Peptonă, Dextroză) + cloramfenicol

Preparare: într-un balon Erlenmeer de 1000 ml se cântăresc 10 g de extract de drojdie (Difco sau echivalent), 20 g de peptonă, 20 g de glucoză și 100 mg de cloramfenol. Se dizolvă, se completează până la 1000 ml cu apă și se amestecă.

Se distribuie câte 5 ml în eprubete și se autoclavează timp de 15 minute la 121 °C.

2.2. Pentru bacterii lactice

Mediu MTJ (50 % mediu MRS „Lactobacilli Man Rogosa and Sharpe Broth” + 50 % mediu TJB „Tomato Luice Broth”) + actidion

Preparare: într-un balon Erlenmeer de 1000 ml se cântăresc 27,5 g de MRS „Lactobacilli Man Rogosa and Sharpe Broth”, se adaugă 500 ml de apă, se încălzește până la fierbere pentru dizolvarea totală, se adaugă 20,5 g de mediu TJB „Tomato Luice Broth” și 50 mg de actidion. Se completează cu apă până la 1000 ml și după ce se corectează pH până la 5,5 cu soluție de acid clorhidric de 1N, se amestecă. Se distribuie în eprubete câte 10 ml și se autoclavează timp de 15 minute la 121 °C.

Se utilizează 10 ml în loc de 5 ml (în cazul drojdiilor) din cauza sensibilității mai mari a bacteriilor lactice la oxigen.

42. Izotiocianat de alil

42.1. Izotiocianat de alil

1. Principiul metodei

Izotiocianatul de alil, posibil prezent în vin, este separat prin distilare și identificat prin gaz cromatografie.

2. Reactivi:

etanol absolut;
 soluție standard: soluție de izotiocianat de alil în alcool absolut, conținând 15 mg de izotiocianat de alil pe litru;
 amestec de răcire, constând din etanol și gheață carbonică, temperatura (- 60°C).

3. Aparatura:

aparat de distilare, figura 7. Prin aparat trece un flux continuu de azot;
 manta de încălzire, controlată termostatic;
 debitmetru;
 gaz-cromatograf cu detector spectrofotometric, echipat cu filtru-selector pentru compuși sulfuroși (lungimea de undă $\lambda = 394$ nm) sau orice detector potrivit;
 coloană cromatografică din oțel inoxidabil cu diametrul intern de 3 mm și lungimea de 3 m, umplută cu Carbowax 20 M 10 % pe Cromosorb WHP, 80-100 mesh;
 microseringă de 10 μ l.

4. Metoda de lucru

Se pun 2 litri de vin în balonul de distilare, se introduc câțiva mililitri de etanol în cele două tuburi colectoare, astfel încât părțile poroase ale inelelor dispersoare de gaz să fie complet scufundate. Se răcesc cele două tuburi din exterior, utilizând amestecul de răcire. Se conectează balonul la tuburile colectoare și se alimentează aparatul

cu azot la un debit de trei litri pe oră. Se încălzește vinul la 80 °C stabilind temperatura cu manta de încălzire, se distilează și se colectează 45-50 ml de distilat.

Este recomandată utilizarea următoarelor condiții:

temperatura injectorului – 200 °C;

temperatura coloanei – 130 °C;

fluxul gazului purtător de heliu – 20 ml /minut.

Se introduce, cu microseringa, un volum de soluție standard suficient pentru identificarea ușoară pe cromatogramă a picului corespunzător izotiocianatului de alil. În același mod se introduce în cromatograf proba de distilat. Se verifică dacă timpul de retenție al picului obținut corespunde cu acela al picului soluției standard de izotiocianat de alil.

În condițiile descrise mai sus, nici unul din compuși prezenți în vin în mod natural nu vor produce picuri cu timpul de reținere, analogic timpului de reținere al izotiocianatului de alil.

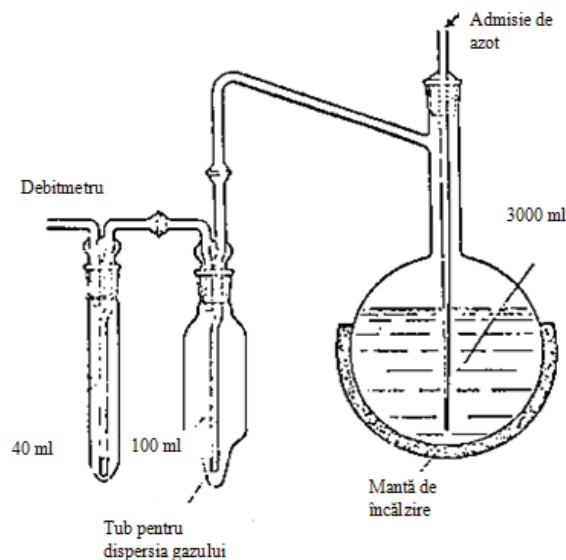


Figura 7. Aparat pentru distilare cu curent de azot

43.1. Metode speciale pentru analiza mustului concentrat rectificat

Conținutul de cationi totali

1. Principiul metodei

Proba este tratată cu un schimbător de cationi puternic acid. Cationii sînt schimbați cu H^+ . Cationii totali sînt exprimați de diferența dintre aciditatea totală a efluentului și a probei.

2. Aparatura:

coloană de sticlă avînd diametrul intern 10-11 mm și lungimea de aproximativ 300 mm, cu robinet;
 pH metru, cu scala gradată cel puțin în unități 0,1 pH;
 Electrozi:
 electrod din sticlă, ținut în apă distilată;
 electrod de referință calomel/clorură de potasiu, ținut în soluție saturată de clorură de potasiu;
 electrod combinat, ținut în apă distilată.

3. Reactivi:

rășină de schimb cationic puternic acidă, în formă H^+ umflată prin scufundarea în apă în timpul nopții;
 soluție de hidroxid de sodiu 0,1 M;
 hîrtie indicatoare pH.

4. Metoda de lucru

4.1. Pregătirea probei

Se utilizează soluția obținută prin diluarea mustului concentrat rectificat la 40% (m/v), în conformitate cu capitolul „Aciditatea totală” punctul 5.1.2.

Tabel

 Corecțiile aduse conductivității pentru temperaturi diferite de 20 °C ($\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$)

Conductivitatea	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	2	3	3	4	4
150	1	1	2	3	3	3	5	5	6	7
200	1	2	3	4	4	4	6	7	8	9
250	1	2	3	4	5	5	8	9	10	11
300	1	3	4	5	7	7	9	11	12	13
350	1	3	5	6	8	8	11	12	14	15
400	2	3	5	7	9	9	12	14	16	18
450	2	3	6	8	10	10	14	16	18	20
500	2	4	7	9	11	11	15	18	20	22
550	2	5	7	10	12	12	17	19	22	24
600	3	5	8	11	13	13	18	21	24	26

1) Corecția se scade.

2) Corecția se adună.

Hidroximetilfurfural (HMF)

1. Principiul metodelor

1.1. Metoda colorimetrică

Aldehidele derivate din furan, componenta principală fiind hidroximetilfurfuralul, reacționează cu acidul barbituric și paratoluidina și dau un compus roșu, care este determinat prin colorimetrie la 550 nm.

1.2. Cromatografia lichidă de înaltă performanță (HPLC)

Se separă într-o coloană cromatografică de fază inversă și se determină la 280 nm.

2. Metoda colorimetrică

2.1. Aparatura:

spectrofotometru care permite efectuarea de măsurători între 300 - 700 nm;

cuve din sticlă, cu drum optic de 1 cm.

2.2. Reactivi:

soluție de acid barbituric 0,5 % (m/v): se dizolvă 500 mg de acid barbituric ($\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_3$) în apă distilată și se încălzește ușor deasupra unei băi de apă la 100 °C. Se completează volumul până la 100 ml cu apă distilată. Soluția se păstrează aproximativ o săptămână;

soluție de paratoluidină, 10 % (m/v): se iau 10 g de paratoluidină, $\text{C}_6\text{H}_4(\text{CH}_3)\text{NH}_2$, într-un balon cotat de 100 ml; se adaugă 50 ml de izopropanol $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ și 10 ml de acid acetic glacial CH_3COOH ($\rho_{20} = 1,05 \text{ g/ml}$). Se completează volumul până la 100 ml cu izopropanol. Această soluție trebuie reînnoită zilnic;

soluție apoasă de acetaldehidă, CH_3CHO , 1 % (m/v). Se prepară imediat înainte de utilizare.

soluție etalon apoasă de hidroximetilfurfural $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3$, 1 g/l.

Se prepară diluții succesive, conținând 5, 10, 20, 30 și 40 mg/l prin diluarea soluției de 1 g/l. Toate soluțiile trebuie să fie proaspăt preparate.

2.3. Metoda de lucru

2.3.1. Pregătirea probei

Se utilizează soluția obținută prin diluarea mustului concentrat rectificat la 40 % (m/v), conform descrierii din capitolul „Aciditatea totală”. Pentru determinare se utilizează 2 ml din această soluție.

2.3.2. Determinarea colorimetrică

Se iau în două baloane cotate a) și b) de 25 ml fiecare, prevăzute cu dopuri rotative, 2 ml de probă preparată în conformitate cu punctul 2.3.1. Se iau în fiecare balon câte 5 ml de soluție de paratoluidină; se amestecă. Se adaugă 1 ml de apă distilată în balonul b) (control) și 1 ml de acid barbituric în balonul a) (proba de analizat). Se agită pentru omogenizare. Se transferă conținutul baloanelor în cuvele spectrofotometrului cu drumuri optice de 1 cm. Se reglează scala absorbției la zero, utilizând conținutul balonului b), la lungimea de undă de 550 nm. Se urmărește variația puterii de absorbție a conținutului balonului a); se înregistrează valoarea maximă A, care este atinsă după 2-5 minute.

Probele cu un conținut de hidroximetilfurfural de peste 30 mg/l trebuie diluate înainte de analiză.

2.3.3. Curba de calibrare

Se iau 2 ml din fiecare soluție de hidroximetilfurfural cu

4.2. Pregătirea coloanei de schimbare a ionilor

Se introduc în coloană aproximativ 10 ml de rășină schimbătoare de ioni în formă H^+ . Se clătește coloana cu apă distilată până când aciditatea a fost înlăturată, utilizând hîrtia indicator.

4.3. Schimbarea ionilor

Se trece prin coloană 100 ml soluție de must concentrat rectificat, pregătită în conformitate cu punctul 4.1., cu un flux de o picătură pe secundă. Se colectează efluentul într-un pahar de laborator. Se spală coloana cu 50 ml de apă distilată. Se titrează aciditatea din efluent (incluzînd apa de clătire) cu soluție de hidroxid de sodiu 0,1 M, pînă cînd pH este 7 la 20 °C. Soluția alcalină trebuie adăugată încet cu agitare continuă. Se notează cu n ml volumul de hidroxid de sodiu 0,1 M utilizat.

5. Exprimarea rezultatelor

Conținutul de cationii totali sînt exprimați în miliechivalenți pe kilogram de zahăr total, cu o cifră zecimală.

5.1. Calculare

Aciditatea efluentului se exprimă în miliechivalenți pe kilogram de must concentrat rectificat:

$$E = 2,5 n$$

Aciditatea totală a mustului concentrat rectificat, în miliechivalenți pe kilogram (vezi „Aciditatea totală” punctul 6.1.2):

cationii totali, în miliechivalenți pe kilogram de zaharuri totale:

$$(2,5n - a) / P \times 100,$$

unde P - concentrația procentuală de zaharuri totale (m/m).

Conductivitatea

1. Principiul metodei

Conductivitatea electrică a coloanei de lichid definită de doi electrozi din platină paraleli este măsurată la capete prin incorporarea într-o punte Wheatstone. Conductivitatea variază cu temperatura. Mai jos conductivitatea se exprimă la 20 °C.

2. Aparatura:

conductimetru pentru determinarea conductivității într-un interval de 1-1000 micro-siemens pe centimetru ($\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$);

baie de apă pentru termostatarea probelor de analizat la aproximativ 20 °C (20 ± 2 °C).

3. Reactivi:

apă demineralizată, cu o conductivitate specifică sub 2 $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$ la 20 °C;

soluție de referință de clorură de potasiu: se dizolvă 0,581 g de clorură de potasiu (KCl), uscată în prealabil pînă la o masă constantă la o temperatură de 105 °C, în apă demineralizată. Se completează volumul pînă la un litru cu apă demineralizată. Această soluție are o conductivitate de 1000 $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$ la 20 °C. Soluția nu trebuie păstrată mai mult de 3 luni.

4. Metoda de lucru

4.1. Pregătirea probei de analizat
Se utilizează soluția cu o concentrație totală a zahărului de 25 % (m/m) (25° Brix), conform descrierii din capitolul „Aciditatea ionică (pH)” punctul 4.1.2.

4.2. Determinarea conductivității

Se aduce proba analizată la 20 °C prin scufundare în baie de apă. Se menține temperatura în intervalul $\pm 0,1$ °C. Se clătește de două ori celula conductimetrului cu soluția care trebuie analizată. Se măsoară conductivitatea și se exprimă rezultatul în $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$.

5. Exprimarea rezultatelor

Rezultatul pentru soluția de must concentrat rectificat 25% (m/m) (25° Brix) se exprimă în micro-siemens pe centimetru ($\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$) la 20 °C, rotunjit pînă la cel mai apropiat număr întreg.

5.1. Calculare

Dacă aparatul nu este prevăzut cu mijloace pentru controlul temperaturii, se corectează conductivitatea măsurată utilizînd tabelul de mai jos. Dacă temperatura este sub 20 °C, corecția se adună, dacă temperatura este peste 20 °C, corecția se scade.

5, 10, 20, 30 și 40 mg/l în două seturi de baloane de 25 ml a) și b) și se tratează conform descrierii de la punctul 2.3.2. Curba de calibrare reprezentând variația absorbției, în funcție de concentrația hidroximetilfurfuralului în miligrame pe litru (mg/l), este o linie dreaptă ce trece prin origine.

2.4. Explicarea rezultatelor

Conținutul de hidroximetilfurfural în mustul concentrat rectificat este exprimat în miligrame per kilogram (mg/kg) de zaharuri totale.

2.4.1. Metoda de calcul

Concentrația de hidroximetilfurfural C în miligrame pe litru (mg/l) în proba analizată este concentrația de pe curba de calibrare corespunzătoare absorbției A , măsurată pe probă.

Concentrația de hidroximetilfurfural, în miligrame pe kilogram (mg/kg) de zaharuri totale:

$$250 \times C/P,$$

unde, P - concentrația procentuală (m/m) de zaharuri totale în mustul concentrat rectificat.

3. Cromatografia lichidă de înaltă performanță (HPLC)

3.1. Aparatura:

cromatograf lichid, echipat cu:
injector cu buclă de 5 sau 10 μ l;
detector spectrofotometru pentru efectuarea măsurătorilor la 280 nm;

coloană de silice cu octodecil legat (de exemplu Bondapak C18 - Corasil, Waters Ass.).

Debitul fazei mobile, 1,5 ml/minut;

Aparat cu membrană filtrantă, diametrul porilor 0,45 μ m.

3.2. Reactivi:

apă bidistilată;

metanol distilat CH_3OH sau de calitate HPLC;

acid acetic CH_3COOH ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml);

faza mobilă: apă-metanol -acid acetic (40:9:1 v/v), filtrată în prealabil printr-o membrană filtrantă (0,45 μ m). Faza mobilă trebuie preparată zilnic și degazată înainte de utilizare;

soluție de referință de hidroximetilfurfural, 25 mg/l : într-un balon cotat de 100 ml se iau 25 mg de hidroximetilfurfural ($\text{C}_6\text{H}_3\text{O}_6$), cântărite cu precizie, și se completează până la cotă cu metanol. Se diluează această soluție 1:10 cu metanol și se filtrează printr-o membrană filtrantă (0,45 μ m). Soluția se păstrează 2-3 luni într-o sticlă maro în frigider.

3.3. Metoda de lucru

3.3.1. Pregătirea probei

Se utilizează soluția obținută prin diluarea mustului concentrat rectificat la 40% (m/v), conform descrierii din capitolul „Aciditatea totală” și se filtrează cu o membrană filtrantă de 0,45 μ m.

3.3.2. Determinarea cromatografică

Se injectează în cromatograf 5 (sau 10) μ l din proba preparată în conformitate cu punctul 3.3.1. și 5 (sau 10) μ l soluție etalon de hidroximetilfurfural. Se înregistrează cromatograma. Timpul de retenție al hidroximetilfurfuralului este de aproximativ 6-7 minute.

3.4. Explicarea rezultatelor

Conținutul de hidroximetilfurfural în mustul concentrat rectificat este exprimat în miligrame pe kilogram (mg/kg) de zaharuri totale.

3.4.1. Metoda de calcul

Se notează cu C concentrația de hidroximetilfurfural în soluție de 40 % (m/v) din mustul concentrat rectificat. Concentrația de hidroximetilfurfural, în miligrame pe kilogram (mg/kg) de zaharuri totale, este dată de:

$$250 \times C/P,$$

unde P - concentrația procentuală (m/m) de zaharuri totale din mustul concentrat rectificat.

Metale grele

1. Principiul metodelor

1.1. Metoda rapidă de evaluare a metalelor grele

Prezența metalelor grele în mustul concentrat rectificat, diluat corespunzător, se stabilește de colorația produsă la formarea de sulfuri. Conținutul metalelor grele se evaluează prin compararea cu o soluție standard de plumb, cores-

punzând concentrației maxime admisibile.

1.2. Determinarea conținutului de plumb prin spectrofotometria de absorbție atomică

Chelatul format de plumb cu pirolidinditiocarbamat de amoniu este extras cu metilizobutilcetonă și absorbția măsurată la 283,3 nm. Conținutul de plumb se determină, utilizând soluții de referință.

2. Metoda rapidă de evaluare a metalelor grele

2.1. Reactivi:

acid clorhidric diluat, 70 % (m/v): se iau 70 g de acid clorhidric HCl ($\rho_{20} = 1,16-1,19$ g/ml) și se completează până la 100 ml cu apă;

acid clorhidric diluat, 20 % (m/v): se iau 20 g de acid clorhidric HCl ($\rho_{20} = 1,16-1,19$ g/ml) și se completează până la 100 ml cu apă;

amoniac diluat: se iau 14 g de amoniac NH_3 ($\rho_{20} = 0,931-0,934$ g/ml) și se completează până la 100 ml cu apă;

soluție tampon pH 3,5: se dizolvă 25 g de acetat de amoniu $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ în 25 ml de apă și se adaugă 38 ml de acid clorhidric diluat (70 %). Se ajustează pH-ul necesar cu acid clorhidric diluat (20 %) sau amoniac diluat și se completează până la 100 ml cu apă;

soluție de tioacetamidă $\text{C}_2\text{H}_5\text{SN}$, 4 %, (m/v);

soluție de glicerol $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$, 85 %, (m/v), ($n_D^{20} = 1,449-1,455$);

reactiv de tioacetamidă: la 0,2 ml de soluție de tioacetamidă se adaugă 1 ml de amestec de 5 ml apă, 15 ml de soluție de hidroxid de sodiu 1 M și 20 ml de glicerol. Se încălzește 20 de secunde într-o baie de apă la 100 °C. Se prepară imediat înainte de utilizare;

soluție de plumb cu concentrația de 0,002 g/l: se prepară o soluție de plumb de 1 g/l dizolvând 0,400 g de nitrat de plumb $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ în apă și completând volumul până la 250 ml cu apă. Se diluează această soluție cu apă imediat înainte de utilizare: 2 ml la 1000 ml în scopul obținerii unei soluții de 0,002 g/l.

2.2. Metoda de lucru

În 10 ml de apă se dizolvă 10 g de must concentrat rectificat. Se adaugă 2 ml de soluție tampon pH 3,5, se amestecă. Se adaugă 1,2 ml de reactiv de tioacetamidă. Se amestecă din nou. Se prepară martorul în aceleași condiții, utilizând 10 ml de soluție de plumb 0,002 g/l. După 2 minute, soluția de must concentrat rectificat se colorează în maro. Colorația nu trebuie să fie mai intensă decât cea a martorului.

2.3. Calculul

În condiții analogice celor descrise mai sus, proba martor corespunde unei concentrații maxime admisibile de metale grele, exprimată ca plumb - 2 mg/kg de must concentrat rectificat.

3. Determinarea conținutului de plumb prin spectrofotometria de absorbție atomică

3.1. Aparatura:

spectrofotometru de absorbție atomică, echipat cu arzător cu aer-acetilenă;

3.2. Reactivi:

acid acetic diluat: se iau 12 g de acid acetic glacial ($\rho_{20} = 1,05$ g/ml) și se completează până la 100 ml cu apă;

soluție de pirolidinditiocarbamat de amoniu $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}_2\text{S}_2$, 1 % (m/v);

metilizobutilcetonă ($\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{COCH}_3$;

soluție de plumb, 0,010 g/l: soluția de plumb de 1 g/l se diluează în proporție 1:100 (v/v).

3.3. Metoda de lucru

3.3.1. Pregătirea soluției de analiză

Se diluează 10 g de must concentrat rectificat într-un amestec de volume egale de acid acetic diluat și apă și se completează până la 100 ml cu acest amestec. Se adaugă 2 ml de soluție de pirolidinditiocarbamat de amoniu și 10 ml de metilizobutilcetonă. Se agită 30 de secunde, se protejează de lumina puternică. Se lasă până la separarea în două straturi. Se utilizează stratul de metilizobutilcetonă.

3.3.2. Pregătirea soluțiilor de referință

Se prepară trei soluții de referință care conțin, în plus față de 10 g de must concentrat rectificat, 1, 2 și 3 ml de

soluție de plumb de 0,010 g/l. Se tratează identic ca soluția analizată.

3.3.3. Martorul

Martorul se pregătește în aceleași condiții ca și la punctul 3.3.1. pentru soluția de analizat, dar fără adăugarea mustului concentrat rectificat.

3.3.4. Determinarea

Se reglează lungimea de undă la 283,3 nm. Se atomizează la flacără metilzobutylcetonă din proba martor și se aduce scala absorbției la zero.

Se determină absorbanta soluției analizate și a soluțiilor de referință, utilizând soluții de extracție corespunzătoare.

3.4. Expriarea rezultatelor

Conținutul de plumb se exprimă în miligrame pe kilogram (mg/kg) de must concentrat rectificat, cu o zecimală.

3.4.1. Calculare

Se trasează curba variației absorbției în funcție de concentrația de plumb adăugată în soluțiile de referință, concentrația zero corespunzând soluției examinate.

Determinarea chimică a etanolului

Această metodă se utilizează pentru determinarea tăriei alcoolice a lichidelor slab alcoolizate, cum sînt mustul, mustul concentrat și mustul concentrat rectificat.

1. Principiul metodei

Simpla distilare a lichidului. Oxidarea etanolului în distilat cu dicromat de potasiu. Titarea excesului de dicromat cu o soluție de fier (II).

2. Aparatura

Se utilizează aparatura de distilare descrisă în capitolul 2 „Concentrația alcoolică la 20°C”.

3. Reactivi:

dicromat de potasiu se dizolvă 33,600 g de dicromat de potasiu $K_2Cr_2O_7$ într-o cantitate suficientă de apă pentru prepararea unui litru de soluție la 20°C. Un mililitru de soluție oxidează 7,8924 mg de alcool;

soluție de sulfat de fier (II) și amoniu: se dizolvă 135 g de sulfat de fier (II) și amoniu $FeSO_4 \cdot x(NH_4)_2SO_4 \cdot 6H_2O$ într-o cantitate suficientă de apă pentru a obține un litru de soluție și se adaugă 20 ml de acid sulfuric concentrat H_2SO_4 ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml). Ulterior, soluția se oxidează încet;

soluție de permanganat de potasiu: se dizolvă 1,088 g de permanganat de potasiu $KMnO_4$ într-o cantitate suficientă de apă pentru a prepara un litru de soluție;

acid sulfuric diluat: la 500 ml de apă se adaugă treptat, agitînd continuu, 500 ml de acid sulfuric H_2SO_4 ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml);

reactiv feros de ortofenantrolină: se dizolvă 0,695 g de sulfat feros $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ în 100 ml de apă și se adaugă 1,485 g de monohidrat de ortofenantrolină $C_{12}H_8N_2 \cdot xH_2O$. Se încălzește pentru a accelera dizolvarea. Această soluție de culoare roșu-aprins se păstrează bine.

4. Metoda de lucru

4.1. Distilarea

Se iau 100 g de must concentrat rectificat și 100 ml de apă în balonul de distilare. Se colectează distilatul într-un balon cotat de 100 ml și se completează pînă la cotă cu apă.

4.2. Oxidarea

Se ia un balon de 300 ml cu dop rodat și cu gît larg, care permite clătirea lui fără pierderi. Se iau în balon 20 ml de soluție de titrare de dicromat de potasiu și 20 ml de acid sulfuric diluat și se agită. Se adaugă 20 ml de distilat. Se astupă balonul și se așteaptă cel puțin 30 de minute, agitînd din cînd în cînd (balonul „pentru măsurat”). Se titreză soluția de sulfat de fier (II) și amoniu ținînd cont de soluția de dicromat de potasiu, prin punerea într-un balon identic a acelorași cantități de reactivi, dar înlocuind cei 20 ml de distilat cu 20 ml de apă distilată (balonul „martor”).

4.3. Titrare

Se adaugă patru picături de reactiv de ortofenantrolină conținutului balonului „pentru măsurat”. Se titrează excesul de dicromat de potasiu prin adăugarea de soluție de sulfat de fier (II) și amoniu. Titarea se oprește cînd amestecul își schimbă culoarea din gri-albăstrui în maro. Pentru a avea o precizie mai mare asupra punctului final, se schimbă culoarea din maro în gri-albăstrui cu permanganat de potasiu. Se scade o zecime din volumul soluției utilizate din

volumul soluției de fier (II) adăugate. Se notează diferența cu n ml. Se procedează analogic cu balonul „martor”. Se notează diferența cu n' ml.

5. Expriarea rezultatelor

Etanolul se exprimă în grame pe kilogram (g/kg) de zahăr total și se notează cu o zecimală.

5.1. Metoda de calcul

n' , ml de soluție ferică reduc 20 ml de soluție de dicromat, care oxidează 157,85 mg de etanol pur. Un mililitru de soluție ferică (II) are aceeași putere de reducere ca și 157, 85/ n' mg de etanol, ($n - n'$) ml de soluție ferică (II) are aceeași putere reducătoare ca și 157, 85($n - n'$)/ n' mg de etanol. Concentrația de etanol, în g/kg de must concentrat rectificat:

$$7,892 \times (n' - n) / n$$

concentrația de etanol, în grame pe kilogram (g/kg) de zaharuri totale :

$$789,2 \times (n' - n) / n \cdot P,$$

unde P - concentrația procentuală (m/m) de zaharuri totale.

Mezoinozitolul, scilo-inozitolul și zaharoza

1. Principiul

Cromatografia gazoasă a derivaților silanizați.

2. Reactivi:

etalon intern: xilitol (soluție apoasă de aproximativ 10 g/l, la care se adaugă un vîrf de spatulă de azid de sodiu),

Bi(trimetilsilil) trifluoroacetamidă - BSTFA-
($C_8H_{18}F_3NOSi_2$);

trimetilclorosilan (C_3H_9ClSi);

piridină analitic pură, (C_5H_5N);

mezoinozitol ($C_6H_{12}O_6$).

3. Aparatura:

gaz-cromatograf;

coloană capilară (de exemplu, din silice topită, învelit cu OV 1, grosimea peliculei de 0,15 μ m, lungimea 25 m și diametrul intern de 0,3 mm).

Condiții de lucru:

gaz purtător: hidrogen sau heliu;

debitul gazului purtător: în jur de 2 ml/minut;

temperatura injectorului și detectorului: 300°C;

programarea temperaturii: 1 minut la 160°C, 4°C per minut pînă la 260°C, temperatură constantă de 260°C timp de 15 minute;

raportul de divizare: în jur de 1:20;

integrator;

microseringă de 10 μ l;

micropipete de 50, 100 și 200 μ l;

balon de 2 ml cu dop din teflon;

etuvă.

4. Metoda de lucru

Se pun într-un balon de 50 ml aproximativ 5 g de must concentrat rectificat, cîntărite cu precizie. Se adaugă 1 μ l de soluție standard de xilitol și se completează pînă la cotă cu apă. După amestecare se iau 100 μ l de soluție și se pun în balonul cu dop de teflon și se usucă sub un curent ușor de aer. Pentru facilitarea evaporării se pot adăuga, dacă este cazul, 100 μ l de alcool etilic pur. Se dizolvă cu grijă reziduul în 100 μ l de piridină și se adaugă 100 μ l de bi(trimetilsilil) trifluoroacetamidă și 10 μ l de trimetilclorosilan, se închide balonul cu dopul din teflon și se încălzește timp de o oră, la 60 °C. Se extrag 0,5 μ l de lichid limpede și se injectează utilizînd un ac încălzit, în conformitate cu raportul de divizare specificat.

5. Calcularea rezultatelor

Se prepară o soluție conținînd: 60 g/l glucoza, 60 g/l fructoză, 1 g/l mezoinozitol și 1 g/l zaharoza. Se cîntăresc 5 g de soluție și se urmează procedura de la punctul 4. Rezultatele pentru mezoinozitol și zaharoza, ținînd cont de xilitol, sînt calculate din cromatogramă. În cazul scilo-inozitolului, care nu este disponibil în comerț și are un timp de retenție între ultimul pic al forme anomerice a glucozei și vîrful mezoinozitolului, este considerat același rezultat ca și pentru mezoinozitol.

6. Expriarea rezultatelor

Mezoinozitolul și scilo-inozitolul sînt exprimate în miligrame per kilogram de zahăr. Zaharoza este exprimată în grame per kilogram de must.

PARTEA III**Acte ale ministerelor, departamentelor și ale Băncii Naționale a Moldovei****Acte ale Ministerului Justiției al Republicii Moldova****1504 O R D I N**

**cu privire la încetarea activității
notarului public Botnari Viorica,
cu teritoriul de activitate în mun. Chișinău**

În temeiul art.16 alin.(1) lit.a), alin.(2) și (3), art.35 alin. (3) lit.d) din Legea nr.1453-XV din 8 noiembrie 2002 cu privire la notariat, cu modificările și completările ulterioare, pct.5, 7 din Regulamentul privind modul de evidență, pregătire, păstrare și predare la arhivă a actelor notariale, aprobat prin Hotărârea Guvernului nr.287 din 13 aprilie 2009, pct. 13 din Regulamentul Ministerului Justiției, aprobat prin Hotărârea Guvernului nr. 129 din 15 februarie 2000 cu privire la Ministerul Justiției al Republicii Moldova, cu modificările ulterioare, și în baza cererii personale din data de 26 septembrie 2011,

O R D O N:

1. Se încetează, în baza cererii, activitatea notarului public Botnari Viorica (teritoriul de activitate în mun. Chișinău) cu retragerea licenței pentru activitate notarială și radierea acestuia din Registrul de Stat al Notarilor.

2. Notarul public Botnari Viorica, în termen de 15 zile

din momentul aducerii la cunoștință a prezentului ordin, va transmite Ministerului Justiției licența pentru activitate notarială și va preda spre lichidare sigiliul, cu prezentarea ulterioară Ministerului Justiției a dovezii ce confirmă distrugerea acestuia.

3. Notarul public Moraru Natalia (teritoriul de activitate în mun. Chișinău) va păstra și gestiona în continuare arhiva activității notariale nepreluată de către notarul public Botnari Viorica, în temeiul Ordinului ministrului justiției nr. 45 din 10 februarie 2011.

4. Se învestește notarul public Moraru Natalia cu dreptul de a elibera duplicate și informații din arhiva transmisă la păstrare și gestionare.

5. Controlul asupra executării prezentului ordin se pune în sarcina Direcției notariat și avocatură.

6. Prezentul ordin se publică în Monitorul Oficial al Republicii Moldova.

MINISTRUL JUSTIȚIEI**Oleg EFRIM****Nr. 427. Chișinău, 28 septembrie 2011.****Acte ale Agenției Naționale pentru Reglementare în Energetică****1505 H O T Ă R Î R E**

**privind Metodologia determinării, aprobării și aplicării
tarifelor la producerea energiei electrice, energiei
termice și la apa de adaos și Metodologia determinării,
aprobării și aplicării tarifelor de livrare a energiei termice
consumatorilor finali**

Consiliul de administrație al Agenției Naționale pentru Reglementare în Energetică

HOTĂRĂȘTE:

1. Se extinde pînă la 31 decembrie 2012 termenul de valabilitate a Metodologiei determinării, aprobării și aplicării tarifelor la producerea energiei electrice, energiei termice și la apa de adaos, aprobată prin Hotărârea Consiliului de administrație al Agenției Naționale pentru Reglementare în Energetică nr. 147 din 25 august 2004 (Monitorul Oficial al

Republicii Moldova nr. 171-174/335 din 17.09.2004).

2. Se extinde pînă la 1 iulie 2012 termenul de valabilitate a Metodologiei determinării, aprobării și aplicării tarifelor de livrare a energiei termice consumatorilor finali, aprobată prin Hotărârea Consiliului de administrație al Agenției Naționale pentru Reglementare în Energetică nr. 147 din 25 august 2004 (Monitorul Oficial al Republicii Moldova nr. 171-174/335 din 17.09.2004).

**DIRECTORUL GENERAL AL CONSILIULUI
DE ADMINISTRAȚIE AL ANRE****Directori****Victor PARLICOV****Leonid Belinschi
Mariana Botezatu
Marin Profir
Nicolae Raileanu****Nr. 424. Chișinău, 28 septembrie 2011.****RECTIFICATE**

„În Hotărârea Consiliului de administrație al ANRE nr. 425 din 29 septembrie 2011 „Privind tarifele la gazele naturale” (Monitorul Oficial nr. 160-163/1459 din 30.09.2011), în Anexă la punctul 3 cifra „5137” se substituie cu „5237”, iar la punctul 6 expresia „Gazele naturale, furnizate altor consumatori finali, inclusiv centralelor termice pentru producerea și aprovizionarea cu energie termică a consumatorilor prin sisteme de alimentare locale” se substituie cu „Gazele naturale, furnizate altor consumatori, inclusiv centralelor termice pentru producerea și aprovizionarea cu energie termică a consumatorilor prin sisteme de alimentare locale, stațiilor de alimentare a automobilelor cu gaze comprimate”.

Acte ale Comisiei Electorale Centrale**1506 HOTĂRÎRE****cu privire la atribuirea unui mandat de consilier
în Consiliul comunal Step-Soci, raionul Orhei**

Consiliul comunal Step-Soci, prin decizia nr. 2.2 din 18 iulie 2011, a ridicat mandatul de consilier al dlui Bacioi Mihail, ales pe lista Partidului Democrat din Moldova, în legătură cu incompatibilitatea funcției. Astfel, a devenit vacant un mandat de consilier atribuit formațiunii nominalizate.

În baza documentelor electorale pe care le deține Comisia Electorală Centrală, mandatul de consilier în Consiliul comunal Step-Soci îi revine dlui Vidrașcu Ștefan, candidat supleant pe lista Partidului Democrat din Moldova, confirmată

prin hotărârea Judecătoriei Orhei din 20 iunie 2011.

În temeiul art. 133 alin. (12) din Codul electoral nr.1381-XIII din 21 noiembrie 1997, Comisia Electorală Centrală **HOTĂRĂȘTE:**

1. Se ia act de vacanța unui mandat de consilier în Consiliul comunal Step-Soci.

2. Se atribuie mandatul de consilier în Consiliul comunal Step-Soci, raionul Orhei, dlui Vidrașcu Ștefan, candidat supleant pe lista Partidului Democrat din Moldova.

3. Prezenta hotărâre intră în vigoare la data adoptării.

**PREȘEDINTELE
COMISIEI ELECTORALE CENTRALE**

Secretar

Nr. 695. Chișinău, 26 august 2011.

Iurie CIOCAN

Andrei Volentir

1507 HOTĂRÎRE**cu privire la atribuirea unui mandat de consilier
în Consiliul orășenesc Soroca, raionul Soroca**

Consiliul orășenesc Soroca, prin decizia nr. 3/3 din 10 august 2011, a ridicat mandatul de consilier al dlui Său Victor, ales pe lista Partidului Liberal Democrat din Moldova, în legătură cu incompatibilitatea funcției. Astfel, a devenit vacant un mandat de consilier atribuit formațiunii nominalizate.

În baza documentelor electorale pe care le deține Comisia Electorală Centrală, mandatul de consilier în Consiliul orășenesc Soroca, îi revine dlui Lesco Artur, candidat supleant pe lista Partidului Liberal Democrat din Moldova, confirmată prin hotărârea Judecătoriei Soroca

din 29 iunie 2011.

În temeiul art. 133 alin. (12) din Codul electoral nr.1381-XIII din 21 noiembrie 1997, Comisia Electorală Centrală **HOTĂRĂȘTE:**

1. Se ia act de vacanța unui mandat de consilier în Consiliul orășenesc Soroca.

2. Se atribuie mandatul de consilier în Consiliul orășenesc Soroca, raionul Soroca, dlui Lesco Artur, candidat supleant pe lista Partidului Liberal Democrat din Moldova.

3. Prezenta hotărâre intră în vigoare la data adoptării.

**PREȘEDINTELE
COMISIEI ELECTORALE CENTRALE**

Secretar

Nr. 696. Chișinău, 26 august 2011.

Iurie CIOCAN

Andrei Volentir

1508 HOTĂRÎRE**cu privire la atribuirea unor mandate de consilier
în Consiliul orășenesc Bucovăț, raionul Strășeni**

Consiliul orășenesc Bucovăț, prin deciziile nr.2/5/1 și 2/5 din 20 iulie 2011, a ridicat mandatele de consilier ale dlor Panuș Oleg, ales pe lista Partidului Democrat din Moldova, în legătură cu incompatibilitatea funcției și Gușan Iurie, la cerere, ales pe lista Partidului Liberal Democrat din Moldova. Astfel, au devenit vacante două mandate de consilier atribuite formațiunilor nominalizate.

În baza documentelor electorale pe care le deține Comisia Electorală Centrală, mandatele de consilier în Consiliul orășenesc Bucovăț le revin dlui Rotaru Ion, candidat supleant pe lista Partidului Democrat din Moldova și dnei Suciuz Elizaveta, candidat supleant pe lista Partidului Liberal Democrat din Moldova. Listele au fost confirmate

prin hotărârea Judecătoriei Strășeni din 24 iunie 2011.

În temeiul art. 133 alin. (12) din Codul electoral nr.1381-XIII din 21 noiembrie 1997, Comisia Electorală Centrală **HOTĂRĂȘTE:**

1. Se ia act de vacanța a două mandate de consilier în Consiliul orășenesc Bucovăț.

2. Se atribuie mandatele de consilier în Consiliul orășenesc Bucovăț, raionul Strășeni, dlui Rotaru Ion, candidat supleant pe lista Partidului Democrat din Moldova și dnei Suciuz Elizaveta, candidat supleant pe lista Partidului Liberal Democrat din Moldova.

3. Prezenta hotărâre intră în vigoare la data adoptării.

**PREȘEDINTELE
COMISIEI ELECTORALE CENTRALE**

Secretar

Nr. 697. Chișinău, 26 august 2011.

Iurie CIOCAN

Andrei Volentir

1509 HOTĂRÎRE
cu privire la atribuirea unui mandat de consilier
în Consiliul comunal Ghelăuza, raionul Strășeni

Consiliul comunal Ghelăuza, prin decizia nr.5/15 din 22 iulie 2011, a ridicat mandatul de consilier al dlui Mardari Efim, ales pe lista Partidului Comuniștilor din Republica Moldova, în legătură cu incompatibilitatea funcției. Astfel, a devenit vacant un mandat de consilier atribuit formațiunii nominalizate.

În baza documentelor electorale pe care le deține Comisia Electorală Centrală, mandatul de consilier în Consiliul comunal Ghelăuza îi revine dnei Bahmunteanu Tatiana, candidat supleant pe lista Partidului Comuniștilor din Republica Moldova, confirmată prin hotărârea Judecătorei

toriei Strășeni din 24 iunie 2011.

În temeiul art. 133 alin. (12) din Codul electoral nr.1381-XIII din 21 noiembrie 1997, Comisia Electorală Centrală **HOTĂRĂȘTE:**

1. Se ia act de vacanța unui mandat de consilier în Consiliul comunal Ghelăuza.

2. Se atribuie mandatul de consilier în Consiliul comunal Ghelăuza, raionul Strășeni, dnei Bahmunteanu Tatiana, candidat supleant pe lista Partidului Comuniștilor din Republica Moldova.

3. Prezenta hotărâre intră în vigoare la data adoptării.

PREȘEDINTELE
COMISIEI ELECTORALE CENTRALE

Secretar

Nr. 698. Chișinău, 26 august 2011.

Iurie CIOCAN

Andrei Volentir

1510 HOTĂRÎRE
cu privire la atribuirea unor mandate de consilier
în Consiliul comunal Micăuți, raionul Strășeni

Consiliul comunal Micăuți, prin deciziile nr.4/3 și 4/3.1 din 14 iulie 2011, a ridicat mandatele de consilier ale dlilor Dolghii Vasile, în legătură cu incompatibilitatea funcției, și Cavaliuc Ivan, la cerere, aleși pe lista Partidului Liberal Democrat din Moldova. Astfel, au devenit vacante două mandate de consilier atribuite formațiunii nominalizate.

În baza documentelor electorale pe care le deține Comisia Electorală Centrală, mandatele de consilier în Consiliul comunal Micăuți le revin dlui Boian Ruslan și dnei Curciubaș Antonina, candidați supleanți pe lista Partidului Liberal Democrat din Moldova, confirmată prin hotărârea

Judecătorei Strășeni din 24 iunie 2011.

În temeiul art. 133 alin. (12) din Codul electoral nr.1381-XIII din 21 noiembrie 1997, Comisia Electorală Centrală **HOTĂRĂȘTE:**

1. Se ia act de vacanța a două mandate de consilier în Consiliul comunal Micăuți.

2. Se atribuie mandatele de consilier în Consiliul comunal Micăuți, raionul Strășeni, dlui Boian Ruslan și dnei Curciubaș Antonina, candidați supleanți pe lista Partidului Liberal Democrat din Moldova.

3. Prezenta hotărâre intră în vigoare la data adoptării.

PREȘEDINTELE
COMISIEI ELECTORALE CENTRALE

Secretar

Nr. 699. Chișinău, 26 august 2011.

Iurie CIOCAN

Andrei Volentir

1511 HOTĂRÎRE
cu privire la atribuirea unor mandate de consilier
în Consiliul orășenesc Șoldănești, raionul Șoldănești

Consiliul orășenesc Șoldănești, prin decizia nr. 10/11 din 11 august 2011, a ridicat, la cerere, mandatele de consilier al dlui Mindru Nicolae, ales pe lista Partidului Popular Creștin Democrat, și al dlui Prodan Valeriu, ales pe lista Partidului Liberal Democrat din Moldova. Astfel, au devenit vacante două mandate de consilier atribuite formațiunilor nominalizate.

În baza documentelor electorale pe care le deține Comisia Electorală Centrală, mandatele de consilier în Consiliul orășenesc Șoldănești le revin dlui Babcinetchi Igor, candidat supleant pe lista Partidului Popular Creștin Democrat, și dnei Chihai Valentina, candidat supleant pe lista Partidului Liberal Democrat din Moldova, confirmate

prin hotărârea Judecătorei Șoldănești din 13 iunie 2011.

În temeiul art. 133 alin. (12) din Codul electoral nr.1381-XIII din 21 noiembrie 1997, Comisia Electorală Centrală **HOTĂRĂȘTE:**

1. Se ia act de vacanța a două mandate de consilier în Consiliul orășenesc Șoldănești.

2. Se atribuie mandatele de consilier în Consiliul orășenesc Șoldănești, raionul Șoldănești, dlui Babcinetchi Igor, candidat supleant pe lista Partidului Popular Creștin Democrat, și dnei Chihai Valentina, candidat supleant pe lista Partidului Liberal Democrat din Moldova.

3. Prezenta hotărâre intră în vigoare la data adoptării.

PREȘEDINTELE
COMISIEI ELECTORALE CENTRALE

Secretar

Nr. 700. Chișinău, 26 august 2011.

Iurie CIOCAN

Andrei Volentir

1512 HOTĂRÎRE**cu privire la atribuirea unor mandate de consilier
în Consiliul orășenesc Taraclia, raionul Taraclia**

Consiliul orășenesc Taraclia, prin decizia nr. 2/12 din 4 august 2011, a ridicat mandatele următorilor consilieri:

Garanovschii Alexandr, Filipov Serghei, Truhanov Feodor, aleși pe lista Partidului Comuniștilor din Republica Moldova, în legătură cu incompatibilitatea funcției;

Caieac Serghei, la cerere, ales pe lista Partidului Comuniștilor din Republica Moldova;

Gheorghiev Dmitrii, la cerere, ales pe lista Partidului Liberal Democrat din Moldova.

Astfel, au devenit vacante cinci mandate de consilier atribuite formațiunilor nominalizate.

În baza documentelor electorale pe care le deține Comisia Electorală Centrală, mandatele de consilier în Consiliul orășenesc Taraclia le revin dlor Burlacov Gheorghii, Caieac Ivan, Plagov Chirill, Tatarli Nicolai, candidați supleanți pe lista Partidului Comuniștilor din Republica

Moldova, și dlui Șagan Ivan, candidat supleant pe lista Partidului Liberal Democrat din Moldova. Listele candidaților supleanți sînt confirmate prin hotărîrea Judecătoriei Taraclia din 13 iunie 2011.

În temeiul art. 133 alin. (12) din Codul electoral nr.1381-XIII din 21 noiembrie 1997, Comisia Electorală Centrală **HOTĂRĂȘTE:**

1. Se ia act de vacanța a cinci mandate de consilier în Consiliul orășenesc Taraclia.

2. Se atribuie mandatele de consilier în Consiliul orășenesc Taraclia, raionul Taraclia, dlor Burlacov Gheorghii, Caieac Ivan, Plagov Chirill, Tatarli Nicolai, candidați supleanți pe lista Partidului Comuniștilor din Republica Moldova, și dlui Șagan Ivan, candidat supleant pe lista Partidului Liberal Democrat din Moldova.

3. Prezenta hotărîre intră în vigoare la data adoptării.

**PREȘEDINTELE
COMISIEI ELECTORALE CENTRALE**

Secretar

Nr. 701. Chișinău, 26 august 2011.

Iurie CIOCAN

Andrei Volentir

1513 HOTĂRÎRE**cu privire la atribuirea unui mandat de consilier
în Consiliul comunal Albota de Jos, raionul Taraclia**

Consiliul comunal Albota de Jos, prin decizia nr. 2/12 din 20 iulie 2011, a ridicat mandatul de consilier al dlui Dușcov Dmitrii, ales pe lista Partidului Liberal Democrat din Moldova, în legătură cu incompatibilitatea funcției. Astfel, a devenit vacant un mandat de consilier atribuit formațiunii nominalizate.

În baza documentelor electorale pe care le deține Comisia Electorală Centrală, mandatul de consilier în Consiliul comunal Albota de Jos îi revine dlui Popov Ștefan, candidat supleant pe lista Partidului Liberal Democrat din Moldova, confirmată prin hotărîrea Judecătoriei Taraclia

din 13 iunie 2011.

În temeiul art. 133 alin. (12) din Codul electoral nr.1381-XIII din 21 noiembrie 1997, Comisia Electorală Centrală **HOTĂRĂȘTE:**

1. Se ia act de vacanța unui mandat de consilier în Consiliul comunal Albota de Jos.

2. Se atribuie mandatul de consilier în Consiliul comunal Albota de Jos, raionul Taraclia, dlui Popov Ștefan, candidat supleant pe lista Partidului Liberal Democrat din Moldova.

3. Prezenta hotărîre intră în vigoare la data adoptării.

**PREȘEDINTELE
COMISIEI ELECTORALE CENTRALE**

Secretar

Nr. 702. Chișinău, 26 august 2011.

Iurie CIOCAN

Andrei Volentir

1514 HOTĂRÎRE**cu privire la atribuirea unui mandat de consilier
în Consiliul comunal Salcia, raionul Taraclia**

Consiliul comunal Salcia, prin decizia nr. 2/3 din 1 august 2011, a ridicat mandatul de consilier al dnei Sacali Svetlana, aleasă pe lista Partidului Democrat din Moldova, în legătură cu incompatibilitatea funcției. Astfel, a devenit vacant un mandat de consilier atribuit formațiunii nominalizate.

În baza documentelor electorale pe care le deține Comisia Electorală Centrală, mandatul de consilier în Consiliul comunal Salcia îi revine dlui Rezniceenco Serghei, candidat supleant pe lista Partidului Democrat din Moldova, confirmată prin hotărîrea Judecătoriei Taraclia din 13 iunie 2011.

În temeiul art. 133 alin. (12) din Codul electoral nr.1381-XIII din 21 noiembrie 1997, Comisia Electorală Centrală **HOTĂRĂȘTE:**

1. Se ia act de vacanța unui mandat de consilier în Consiliul comunal Salcia.

2. Se atribuie mandatul de consilier în Consiliul comunal Salcia, raionul Taraclia, dlui Rezniceenco Serghei, candidat supleant pe lista Partidului Democrat din Moldova.

3. Prezenta hotărîre intră în vigoare la data adoptării.

**PREȘEDINTELE
COMISIEI ELECTORALE CENTRALE**

Secretar

Nr. 703. Chișinău, 26 august 2011.

Iurie CIOCAN

Andrei Volentir

1515 HOTĂRÎRE
cu privire la atribuirea unor mandate de consilier
în Consiliul sătesc Valea Perjei, raionul Taraclia

Consiliul sătesc Valea Perjei, prin deciziile nr. 2/6 și nr. 2/7 din 7 iulie 2011, a ridicat mandatele de consilier ale dlui Popov Alexandr, ales pe lista Partidului Comunistilor din Republica Moldova, și al dlui Cioban Pavel, ales pe lista Partidului Democrat din Moldova, în legătură cu incompatibilitatea funcției. Astfel, au devenit vacante două mandate de consilier atribuite formațiunilor nominalizate.

În baza documentelor electorale pe care le deține Comisia Electorală Centrală, mandatele de consilier în Consiliul sătesc Valea Perjei le revin dlui Gocev Vasiliu, candidat supleant pe lista Partidului Comunistilor din Republica Moldova, și dlui Pancev Dmitrii, candidat supleant pe lista Partidului Democrat din Moldova. Listele au fost confirmate prin hotărîrea Judecătoriei Taraclia din 13 iunie 2011. La atribuirea mandatelor s-a ținut cont de refuzul

dnei Bădărău Lidia, candidat supleant pe lista Partidului Democrat din Moldova, prin care renunță la mandatul de consilier.

În temeiul art. 133 alin. (12) din Codul electoral nr.1381-XIII din 21 noiembrie 1997, Comisia Electorală Centrală **HOTĂRĂȘTE:**

1. Se ia act de vacanța a două mandate de consilier în Consiliul sătesc Valea Perjei.

2. Se atribuie mandatele de consilier în Consiliul sătesc Valea Perjei, raionul Taraclia, dlui Gocev Vasiliu, candidat supleant pe lista Partidului Comunistilor din Republica Moldova, și dlui Pancev Dmitrii, candidat supleant pe lista Partidului Democrat din Moldova.

3. Prezenta hotărîre intră în vigoare la data adoptării.

PREȘEDINTELE
COMISIEI ELECTORALE CENTRALE

Secretar

Nr. 704. Chișinău, 26 august 2011.

Iurie CIOCAN

Andrei Volentir

1516 HOTĂRÎRE
cu privire la atribuirea unui mandat de consilier
în Consiliul orășenesc Ungheni, raionul Ungheni

Consiliul orășenesc Ungheni, prin decizia nr. 6/7 din 26 iulie 2011, a ridicat mandatul de consilier al dlui Langa Petru, ales pe lista Partidului Democrat din Moldova, în legătură cu incompatibilitatea funcției. Astfel, a devenit vacant un mandat de consilier atribuit formațiunii nominalizate.

În baza documentelor electorale pe care le deține Comisia Electorală Centrală, mandatul de consilier în Consiliul orășenesc Ungheni, îi revine dlui Bolocan Valeriu, candidat supleant pe lista Partidului Democrat din Moldova, confirmată prin hotărîrea Judecătoriei Ungheni din 15 iunie 2011.

În temeiul art. 133 alin. (12) din Codul electoral nr.1381-XIII din 21 noiembrie 1997, Comisia Electorală Centrală **HOTĂRĂȘTE:**

1. Se ia act de vacanța unui mandat de consilier în Consiliul orășenesc Ungheni.

2. Se atribuie mandatul de consilier în Consiliul orășenesc Ungheni, raionul Ungheni, dlui Bolocan Valeriu, candidat supleant pe lista Partidului Democrat din Moldova.

3. Prezenta hotărîre intră în vigoare la data adoptării.

PREȘEDINTELE
COMISIEI ELECTORALE CENTRALE

Secretarul

Nr. 705. Chișinău, 26 august 2011.

Iurie CIOCAN

Andrei Volentir

6098. **F.P.C. "APROCOMTEH" S.R.L.** (nr. înregistrării de stat 1002600035188 din 1992) aduce la cunoștință schimbarea adresei juridice din: șos. Muncești 801, mun. Chișinău, pe: șos. Muncești 426 A, mun. Chișinău. Relații la adresa juridică nouă.

6099. **S.C. "DUOSAN" S.R.L.** (nr. înregistrării de stat 1005600029360 din 2005) aduce la cunoștință schimbarea adresei juridice din: bd Dacia 42/1, mun. Chișinău, pe: str. Cetatea Chilia 16, mun. Chișinău. Relații la adresa juridică nouă.