

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ОБРАЗОВАНИЮ
УРАЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ЛЕСОТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Кафедра химической технологии древесины

Т.М. Панова

ПОЛУЧЕНИЕ И АНАЛИЗ ЭТАНОЛА

Методические указания
по выполнению лабораторного практикума
для студентов очной и заочной формы обучения
специальности 240406 «Технология химической переработки древесины» и
направления 240100 «Химическая технология и биотехнология»

Екатеринбург

2008

Печатается по рекомендации методической комиссии ИЭФ
Протокол № 2 от 23.10.2006 г.

Рецензент – доцент каф. ТППМ, к.т.н. Н.И. Коршунова

Редактор Н.А. Майер
Оператор А.А. Сидорова

Подписано в печать 25.01.08.	Поз. 104
Плоская печать	Тираж 100 экз.
Заказ №	Цена 4р. 40к.
Формат 60×84 1/16	
Печ. л. 1,39	

Редакционно-издательский отдел УГЛТУ
Отдел оперативной полиграфии УГЛТУ

РОСТ ДРОЖЖЕЙ И ОБРАЗОВАНИЕ ИМИ ЭТАНОЛА

Среди дрожжей есть виды, способные к спиртовому брожению. Их давно используют для получения спирта, вина, пива, кваса, разрыхления теста. Спиртовое брожение протекает в несколько стадий. В начальный период, когда в среде содержится еще достаточное количество растворенного кислорода, дрожжи в основном окисляют сахар до углекислого газа и воды и интенсивно размножаются. Брожение в данный период протекает слабо. Затем в результате обеднения среды кислородом дыхание клеток постепенно ослабевает и начинается интенсивное брожение. Энергия брожения не обеспечивает высокий уровень размножения клеток, хотя синтез биомассы продолжается. В этот период может наблюдаться увеличение размеров клеток и накопление в них гликогена. В последней стадии брожения сахара в среде остается мало, дрожжи используют накопленный ранее гликоген, содержание которого в клетках падает.

Цели работы:

- сравнить скорости процессов брожения и размножения дрожжей;
- определить количество этанола, образуемого изучаемой расой;
- провести наблюдение за накоплением в клетках гликогена в динамике развития культуры;
- изучить влияние отдельных факторов на динамику процесса брожения и выход основного продукта – этилового спирта;
- провести анализ этилового спирта.

В качестве продуцента этилового спирта используют одну из рас *Saccharomyces cerevisiae*.

В качестве питательной среды для ферментации могут использоваться:

- сусло на основе древесного гидролизата;
- неохмеленное пивное сусло;
- синтетические среды (Ридер и др.)

1. АНАЛИЗ СРЕДЫ

Подготовленная среда анализируется на содержание сахаров следующими методами анализа:

- эбулиостатическим методом – для древесных гидролизатов;
- пикнометрическим методом – для пивного сусла.

Пикнометрическое определение

1.1. Пикнометр высушивают до постоянной массы.

1.2. Определяют массу пустого пикнометра на аналитических весах с точностью до 0,0001 г.

1.3. Заполняют пикнометр дистиллированной водой строго до метки (по нижнему мениску). Излишки воды и капли на внутренней и наружной стороне пикнометра удаляют фильтровальной бумагой.

1.4. Определяют массу пикнометра с дистиллированной водой.

1.5. Выливают воду и, промыв пикнометр небольшим количеством сусла, заполняют его средой, соблюдая требования п.1.3.

1.6. Определяют массу пикнометра со средой.

Примечание. Пикнометрическое определение проводится при $T=20^{\circ}\text{C}$.

Относительную плотность d (г/дм³) рассчитывают по формуле:

$$d = \frac{m_c - m_n}{m_b - m_n},$$

где m_c - масса пикнометра с анализируемой средой, г;

m_n – масса пустого пикнометра, г;

m_b – масса пикнометра с дистиллированной водой, г.

Далее по относительной плотности находят содержание сухих веществ (прил. 1), которое условно принимают за содержание сахара.

2. ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ БРОЖЕНИЯ

В среду для ферментации с известным содержанием сахара объемом 100 см^3 вносится в заданном количестве дрожжевая суспензия. После перемешивания, сохраняя равномерную концентрацию дрожжей (не допуская их осаждения), среда разливается в две колбы вместимостью 100 см^3 в объеме 50 см^3 в каждую.

Первая колба (рис.1) представляет собой сосуд 1, снабженный поглотительной трубкой 3, заполненной гранулами хлористого кальция для поглощения водяных паров, и резиновым клапаном с прорезью 4 для удаления углекислого газа.

Первую колбу предварительно необходимо взвесить с точностью до $0,01 \text{ г}$.

Вторая колба – колба вместимостью 100 см^3 с ватной пробкой.

Данные колбы помещаются в термостат, поддерживающий определенную (заданную преподавателем) температуру, где выдерживаются в течение заданной продолжительности.

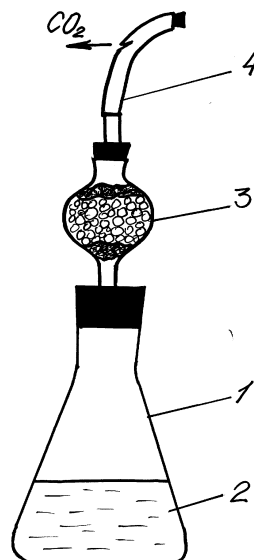


Рис. 1. Сосуд для ферментации:

- 1 – колба объемом 100 см^3 ; 2 – среда для ферментации;
- 3 – поглотительная трубка; 4 – резиновый клапан

Анализы

Для определения скорости размножения дрожжей и наблюдения за содержанием гликогена из колбы с ватной пробкой сразу после посева, а затем через 5, 24, 48 и 72 ч от начала опыта стерильными пипетками отбирают по 5 см³ пробы. Перед отбором проб содержимое сосуда тщательно перемешивают, чтобы перевести клетки дрожжей во взвешенное состояние.

В отобранных пробах определяют общее количество клеток, содержание в них гликогена и количество мертвых клеток.

Для наблюдений за скоростью брожения одновременно с отборами проб взвешивают колбу с затвором на технических весах с точностью до 0,01 г. В конце опыта в этой колбе определяют количество образовавшегося этанола.

2.1. Определение скорости размножения дрожжей

Скорость размножения (или удельная скорость роста) характеризуется коэффициентом K_p (ч⁻¹), который показывает, сколько новых клеток образовалось на каждую имеющуюся клетку в 1 ч.

$$K_p = \frac{2,303(\lg a_2 - \lg a_1)}{(\tau_2 - \tau_1)},$$

где a_1 – количество клеток в начале опыта;

a_2 – количество клеток в конце промежутка времени;

$(\tau_2 - \tau_1)$ – промежуток времени от начала опыта, ч;

2,303 – коэффициент перевода натуральных логарифмов в десятичные.

Определение количества клеток нефелометрическим методом

Микроорганизмы в большинстве случаев не окрашены и почти прозрачны, поэтому суспензия клеток поглощает свет в видимой области

спектра незначительно. Уменьшение интенсивности света после прохождения через суспензию клеток связано, главным образом, с его рассеиванием. В определенных пределах количество света, рассеиваемого суспензией микроорганизмов, пропорционально содержанию клеток. Необходимо также отметить, что общее количество рассеянного света пропорционально отношению размера частицы к длине волны падающего света. Следовательно, при данной длине волны падающего света рассеяние тем больше, чем крупнее клетки микроорганизмов, и для клеток данного размера светорассеяние тем больше, чем меньше длина волны падающего света. Поэтому определять количество клеток по интенсивности светорассеяния можно лишь для тех культур микроорганизмов, развитие которых вызывает равномерное помутнение среды и не сопровождается заметным изменением формы и размеров клеток, образованием пленок, мицелия или различных скоплений.

Питательная среда для микроорганизмов, в которой предполагается определять число клеток (биомассу) по светорассеянию, должна быть оптически прозрачной. Если помутнение среды связано с выпадением в осадок солей, чаще всего фосфатов, то перед измерением светорассеяния среду подкисляют несколькими каплями концентрированной серной кислоты.

Для измерения светорассеяния выбирают светофильтр, обеспечивающий максимум пропускания света данной суспензией (для дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* около 630 нм). При высоких концентрациях клеток в культуральной среде рассеяние света усиливается, что приводит к получению заниженных результатов. Поэтому суспензии с высокой плотностью клеток перед измерением светорассеяния следует разводить средой или водой. Разбавление проб одной и той же культуры разными жидкостями недопустимо, так как набухание и сжатие клеток влияет на величину светорассеяния.

Построение калибровочной кривой. Готовят 6 суспензий дрожжей разной плотности. Светорассеяние суспензий измеряют на фотоэлектронкалориметре в кювете с длиной светового пути 0,5 см. Результаты измерений вносят в табл. 2.

В каждой суспензии определяют количество клеток дрожжей методом подсчета в счетной камере Тома-Горяева. Счетная камера представляет собой толстое предметное стекло, разделенное бороздками на части. Центральная часть стекла ниже боковых на 1/10 мм, на ней нанесена сетка. Площадь большого квадрата сетки равна 1/25 мм², площадь малого – 1/400 мм². Каплю исследуемой суспензии наносят на сетку и покрывают шлифованным плоскопараллельным покровным стеклом. Затем покровное стекло притирают к сторонам камеры путем смещения его в противоположные стороны несколько раз. Пространство, заключенное между покровным стеклом и центральной частью предметного стекла с сеткой, представляет собой, таким образом, камеру. Клетки дрожжей подсчитывают с объективом 8× над большими квадратами сетки. Объем столба жидкости над каждым таким квадратом соответствует 1/250 мм³. Подсчитывают количество клеток в 8...10 больших квадратах. При подсчете учитывают все клетки, лежащие в квадрате сетки, а также пересекающие верхнюю и правую стороны квадрата. Поскольку точность определения зависит от того, насколько плотно покровное стекло пришлифовано к поверхности камеры, процедуру установки стекла лучше повторить несколько раз, например, четыре, подсчитывая каждый раз по 150...200 клеток. Общее количество подсчитанных клеток должно быть не менее 600.

Подсчет клеток рекомендуется начинать не ранее, чем через 3...5 мин после заполнения камеры, чтобы клетки осели и при микроскопировании были бы видны в одной плоскости. Результаты подсчета записывают в табл. 1.

Таблица 1 - Количество клеток дрожжей в квадратах счетной камеры

$(\tau_2 - \tau_1)$, ч от начала	Квадраты счетной камеры								Сумма клеток	M	a
	1	2	3	4	5	6	7	8			
0											
5											
24											
48											
72											

Количество клеток в 1 см^3 культуральной жидкости a (млн клеток в 1 см^3) вычисляют по формуле

$$a = \frac{M \cdot 1000n}{hS},$$

где M – среднее число клеток в квадрате сетки;

h – глубина камеры в мм ($1/10$ мм);

S – площадь квадрата сетки в мм^2 ($1/25 \text{ мм}^2$);

$1000 \text{ мм}^3 = 1 \text{ см}^3$;

n – степень разбавления.

Полученные данные выражают в $\text{млн}/\text{см}^3$ и вносят в табл. 1.

Таблица 2 – Количество клеток дрожжей в суспензиях и соответствующие показания фотокалориметра

Показатели	Суспензии дрожжей					
	1	2	3	4	5	6
Количество клеток, $\text{млн}/\text{см}^3$						
Показания фотокалориметра						

На основании данных таблицы строят калибровочную кривую: на оси абсцисс откладывают оптическую плотность суспензии, на оси ординат – количество клеток.

Определение количества клеток в культуре дрожжей и расчет K_p

Светорассеяние проб, отобранных в динамике развития изучаемой культуры дрожжей, измеряют на фотоэлектрокалориметре в тех же условиях, в которых измеряли ее у суспензий клеток при построении калибровочной кривой. Затем, пользуясь этой кривой, определяют количество клеток в млн/ см³ культуры и рассчитывают удельную скорость роста дрожжей K_p . Пробы с высокими концентрациями клеток разводят стерильным осветленным сушлом или дистиллированной водой. Разведение учитывают при расчетах. Полученные данные вносят в табл. 3.

Таблица 3 – Количество клеток дрожжей и скорость их размножения в динамике развития культуры

Продолжительность ферментации, ч	Показания ФЭК	Количество клеток, млн/ см ³	Скорость размножения, K_p , 1/ч
0			
5			
24			
48			
72			

2.2. Определение скорости спиртового брожения

О скорости брожения судят по количеству углекислого газа, выделившегося за единицу времени из определенного объема среды:



Количество углекислого газа устанавливают по убыли массы колбы, снабженной поглотительной трубкой. Рассчитывают, сколько граммов CO_2 выделилось за каждый интервал времени (в 1 ч) между взвешиваниями сосуда.

По уравнению брожения рассчитывают количество спирта в г/л и объемных % и концентрацию утилизованного сахара. Результаты представляют в табл. 4.

По конечному значению количества этилового спирта определяют выход спирта в мл из 100 г исходного сахара.

Таблица 4 – Динамика выделения CO_2 в процессе брожения, осуществляемого дрожжами

Продолжительность, ч	Вес колбы, г	Количество углекислого газа				Количество спирта			
		От начала опыта		За интервал времени		От начала опыта		За интервал времени	
		г/50мл	г/л	г/л	г/(л·ч)	г/л	% об.	г/л	% об.
0									
5									
24									
48									
72									

2.3. Определение гликогена в клетках дрожжей и мертвых клетках

Гликоген – одно из резервных веществ дрожжевых клеток. Он накапливается в цитоплазме и окрашивается раствором Люголя в коричневый цвет. Для определения мертвых клеток препарат обрабатывают раствором метиленового голубого. При этом мертвые клетки окрашиваются в голубой цвет. Наблюдения за содержанием гликогена в клетках дрожжей и мертвых клетках проводят в динамике развития культуры. Готовят препарат «раздавленная капля» в растворе Люголя и в растворе метиленового голубого и в нескольких полях зрения под-

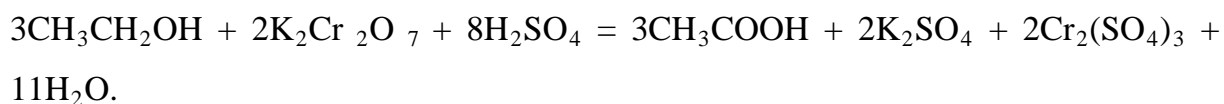
считывают общее количество клеток, количество клеток, содержащих гликоген (имеющих коричневый цвет), и мертвых клеток, окрашенных в голубой цвет. Общее число подсчитанных клеток должно быть не менее 100. Данные приводят в табл. 5.

Таблица 5 - Количество мертвых и дрожжевых клеток, содержащих гликоген, в зависимости от возраста культуры

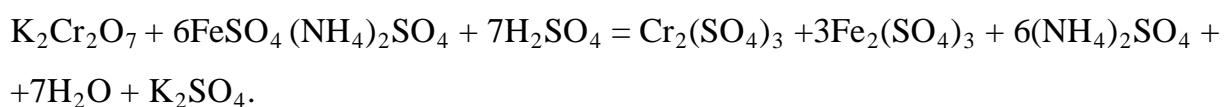
Продолжительность, ч	Число клеток				% клеток с гликогеном	% мертвых клеток
	всего	в т.ч. с гликогеном	всего	в т.ч. мертвых клеток		
0						
5						
24						
48						
72						

2.4. Определение количества этанола

Количество этанола, образовавшегося при брожении, определяют оксидиметрическим методом, основанным на окислении этилового спирта до уксусной кислоты и воды смесью бихромата калия с серной кислотой:



По окончании окисления спирта избыток бихромата калия оттитровывают раствором соли Мора:



По количеству бихромата, израсходованного на окисление, вычисляют концентрацию спирта. Наиболее точные результаты метод дает при содержании спирта в пределах 1...2 %. При более высоких концентрациях спирта разбавляют культуральную жидкость, а при меньших – растворы соли Мора и бихромата.

Проведение испытания

10 см³ отфильтрованной бражки помещают в мерную колбу емкостью 200 см³ и доводят до метки дистиллированной водой. Раствор перемешивают и отбирают 20 см³ для отгонки в круглодонную колбу вместимостью 50 ...100 см³, куда добавляют около 2 г сернокислого гидразина и 10 см³ дистиллированной воды.

В цилиндр, который служит приемником паров спирта, вносят 10 см³ 0,343 моль/дм³ раствора бихромата калия с серной кислотой. Колбу закрывают резиновой пробкой, в которую вставлен каплеуловитель, соединенный с отводной стеклянной трубкой диаметром 5 мм и длиной 500 мм, изогнутой под углом 30 °С. Конец трубки заканчивается капилляром диаметром 1,5 мм и должен доходить почти до дна приемника.

Нагрев колбы ведут в колбонагревателе медленно в течение 30 ... 35 мин, за это время должно быть отогнано не менее 2/3 содержимого колбы. Раствор бихромата за это время меняет окраску от оранжевой до грязно-бурой. После отгонки во избежание перебрасывания жидкости из приемника, вначале убирают приемник и только потом отставляют нагреватель. Содержимое приемника количественно переносят в колбу вместимостью 500 см³, добавляют еще 200 см³ воды, 1 см³ фосфорной кислоты плотностью 1,7 г/см³, 2...3 капли индикатора дифениламина и титруют 0,343 моль/дм³ раствором соли Мора до перехода фиолетовой окраски в зеленую.

Одновременно проводят контрольное титрование, для которого берут 10 см³ 0,343 моль/дм³ бихромата калия с серной кислотой,

добавляют около 250 см³ дистиллированной воды, фосфорную кислоту и индикатор.

Обработка результатов

Содержание спирта вычисляют по формуле:

$$X = \frac{10 \cdot 0,005 \cdot 100 (V_1 - KV_2)}{V_1 \cdot V_4 \cdot V_5} \cdot 3,$$

где X – содержание спирта в бражке, % об.;

V_1 – объем соли Мора, пошедший на титрование бихромата калия в холостом опыте, см³;

V_2 – объем соли Мора, пошедший на титрование в рабочем опыте, мл;

0,005 – количество этилового спирта, эквивалентное 1 см³ 0,343 моль/дм³ раствора бихромата калия, см³;

K – поправочный коэффициент 0,343 моль/дм³ раствора бихромата калия;

V_3 – объем раствора бражки, полученной после разведения исходной бражки, см³;

V_4 – объем бражки, взятой для разведения, см³;

V_5 – объем бражки, взятой для окисления, см³.

2.5 Определение динамики брожения

После проведения эксперимента на основании полученных результатов графически выражают зависимость концентрации дрожжевых клеток, концентрации этилового спирта и концентрации углеводов в культуральной жидкости от продолжительности брожения. В соответствии с поставленными целями делаются выводы по работе.

3. АНАЛИЗ ЭТИЛОВОГО СПИРТА

Для анализа спирта используют готовые пробы этилового спирта. После проведения экспериментов, полученные результаты сравнивают с требованиями ГОСТ и делается вывод о качестве испытуемого спирта.

3.1. Проба на чистоту

Метод основан на реакции посторонних органических примесей в спирте с концентрированной серной кислотой.

Ход анализа. 10 см³ испытуемого спирта помещают в колбу и быстро приливают в три-четыре приема при постоянном перемешивании 10 см³ концентрированной серной кислоты (ос.ч. или х.ч.а., выдерживающая пробу Савалля). Полученную смесь тотчас же нагревают на электроплитке при постоянном вращении колбы до тех пор, пока не появятся пузырьки, выходящие на поверхность жидкости с образованием пены. Этот процесс должен длиться 30...40 с с момента начала нагревания. Для этого размер обогреваемой части электроплитки должен быть около 3 см³, а остальная обогреваемая часть должна быть покрыта асбестом.

Содержимое колбы охлаждают, переливают в пробирку с пришлифованной пробкой и, пользуясь штативом-камерой, сравнивают окраску смеси с окраской спирта, а затем с окраской серной кислоты, которые помещены в пробирки одинакового диаметра, цвета и качества стекла в равных количествах.

Результат анализа считают положительным, если окраска смеси совпадает с окраской испытуемого спирта и серной кислоты.

3.2. Проба на окисляемость

Метод основан на реакции окисления посторонних органических примесей в спирте раствором марганцовокислого калия.

Ход анализа. Испытуемый спирт наливают в пробирку с пришлифованной пробкой в объеме 10 см³. Пробирку погружают в водяную баню с постоянно поддерживаемой температурой воды 20°С с таким

расчетом, чтобы уровень воды превышал уровень спирта в пробирке, и выдерживают не менее 10 мин, чтобы спирт принял температуру 20°C. Затем к спирту приливают 0,1 см³ раствора марганцовокислого калия с массовой долей КМnО₄ 0,02 %, закрывают пробирку пробкой и содержимое перемешивают.

Пробирку снова погружают в водяную баню температурой 20°C и выдерживают до тех пор, пока красновато-фиолетовая окраска смеси, постепенно изменяясь, не достигнет окраски этанола. После этого пробирку вынимают из водяной бани и визуально сравнивают в проходящем свете окраску испытуемого спирта с окраской этанола, помещенного в пробирку одинакового размера и качества стекла, подложив под пробирку лист белой бумаги. Время совпадения окраски принимают за окончание реакции окисления и выражают в минутах.

3.3. Определение содержания кислот

Отмеряют пипеткой 100 см³ анализируемого спирта и помещают в круглодонную колбу емкостью 500 см³ с пришлифованным шариковым холодильником. В колбу добавляют 100 см³ дистиллированной воды и кипятят в течение 15 мин. Затем содержимое колбы охлаждают до комнатной температуры, закрывая верхнюю часть холодильника трубкой с натронной известью для предотвращения поглощения углекислоты воздуха раствором спирта. Затем в колбу добавляют 10 капель индикатора бромтимолового синего и титруют 0,05 моль/дм³ раствором едкого натра до появления не исчезающей в течение 1...2 мин голубой окраски.

После окончания титрования отнейтрализованную пробу спирта не выливают, а оставляют для определения сложных эфиров.

Содержание кислот определяют по формуле

$$X = \frac{Vf \cdot 3,0 \cdot 100 \cdot 10}{C},$$

где X – концентрация кислот в спирте в пересчете на уксусную кислоту, мг/ дм³;

V – объем 0,05 моль/дм³ раствора едкого натра, пошедшего на титрование, см³;

f – коэффициент нормальности 0,05 моль/дм³ раствора едкого натра;

10 – коэффициент пересчета на 1 дм³ спирта;

3,0 – количество уксусной кислоты, эквивалентное 1 см³ 0,05 моль/дм³ раствора едкого натра;

$\frac{100}{C}$ - коэффициент пересчета на безводный спирт;

C – концентрация анализируемого спирта, % об.

3.4. Определение сложных эфиров

После определения содержания кислот в спирте в ту же колбу с отнейтрализованной пробой приливают 10 см³ 0,1 моль/дм³ раствора едкого натра и смесь кипятят в течение 1 ч на водяной бане, соединив колбу с обратным холодильником. После кипячения содержимое колбы охлаждают до комнатной температуры (при этом прикрывают верхнее отверстие холодильника трубкой с натронной известью), а затем в колбу добавляют 10 см³ 0,1 моль/дм³ раствора серной кислоты для нейтрализации избыточной щелочи, не пошедшей на омыление эфиров. Избыток же введенной кислоты оттитровывают 0,1 моль/дм³ раствором едкого натра.

Содержание сложных эфиров определяют по формуле

$$X = \frac{(Vf - V_1 f_1) \cdot 8,8 \cdot 10 \cdot 100}{C},$$

где X – содержание сложных эфиров в спирте в пересчете на уксусноэтиловый эфир, мг/ дм³;

V – объем 0,1 моль/дм³ раствора едкого натра, взятого на омыление, плюс объем этого раствора щелочи, пошедшей на титрование избытка введенной кислоты, см³;

f – коэффициент нормальности 0,1 моль/дм³ раствора едкого натра;

V_1 – объем 0,1 моль/дм³ раствора серной кислоты, взятой для нейтрализации избыточной, не пошедшей на омыление щелочи, см³;

f_1 – коэффициент нормальности 0,1 моль/дм³ раствора серной кислоты;

8,8 – количество уксусноэтилового эфира, эквивалентное 1 мл 0,1 моль/дм³ раствора щелочи, см³;

10 – коэффициент пересчета на 1 дм³ спирта;

$\frac{100}{C}$ - коэффициент пересчета на безводный спирт;

C – концентрация анализируемого спирта, % об.

3.5. Определение качества спирта

После проведения анализа спирта делается вывод о качестве анализируемой пробы спирта на основании сравнения полученных результатов с требованиями, предъявляемыми ГОСТ на этиловый спирт (табл.6 и 7).

Таблица 6 - Требования ГОСТ 18300-87 на технический этиловый ректификованный спирт, вырабатываемый из непищевого растительного сырья

Наименование показателя	Значение		
	Высшая категория качества		Первый сорт ОКП 91 8213 2300
	Марка "Экстра" ОКП 91 8213 2100	Высший сорт ОКП 91 8213 2200	
1	2	3	4

1. Внешний вид	Прозрачная, бесцветная жидкость без посторонних частиц		
2. Запах	Характерный для этилового ректифицированного спирта, без запаха посторонних веществ		
3. Объемная доля этилового спирта, %, не менее	96,2	96,2	96
1	2	3	4
4. Проба на чистоту	Должен выдерживать испытание		
5. Проба на окисляемость, мин, не менее	15	15	10
6. Массовая концентрация альдегидов в безводном спирте, мг/дм ³ , не более	4	4	10
7. Массовая концентрация сивушного масла в безводном спирте, мг/дм ³ , не более	4	4	10
8. Массовая концентрация кислот в пересчете на уксусную кислоту в безводном спирте, мг/дм ³ , не более	10	15	20
9. Массовая концентрация сложных эфиров в безводном спирте, мг/дм ³ , не более	25	30	40
10. Проба на метиловый спирт	Должен выдерживать испытание		
11. Проба на фурфурол	Отсутствует		
12. Массовая концентрация сухого остатка, мг/дм ³ , не более	2	4	15
13. Массовая концентрация серы, мг/дм ³ , не более	Отсутствует		
14. Массовая концентрация щелочи в пересчете на NaOH, мг/дм ³ , не более	Отсутствует		15
15. Удельное объемное электрическое сопротивление Ом·см, не менее	1,3·10 ⁶	Не определяют	

Таблица 7 - Требования ГОСТ Р 51652-2000 на спирт этиловый ректифицированный из пищевого сырья

Наименование показателя	Норма для спирта					
	1-го сорта	Высшей очистки	«Базис»	«Экстра»	«Люкс»	«Альфа»
1	2	3	4	5	6	7
1. Объемная доля этилового спирта, %, не менее	96,0	96,2	96,0	96,3	96,3	96,3

2.Проба на чистоту с серной кислотой	Выдерживает					
3. Проба на окисляемость, мин, при 20 ⁰ С, не менее	10	15	20	20	22	20

1	2	3	4	5	6	7
4.Массовая концентрация уксусного альдегида в пересчете на безводный спирт, мг/дм ³ , не более	10	4	5	2	2	2
5. Массовая концентрация сивушного масла: 1-пропанол, 2-пропанол, спирт изобутиловый, 1-бутанол и спирт изоамиловый в пересчете на безводный спирт, мг/дм ³ , не более	35	6	5	5	5	5
6. Массовая концентрация свободных кислот (без СО ₂) в пересчете на безводный спирт, г/дм ³ , не более	20	15	15	12	8	12
7. Массовая концентрация сложных эфиров (метилацетат, этилацетат) в пересчете на безводный спирт, мг/дм ³ , не более	30	13	13	10	5	10
8. Массовая концентрация сухого остатка в пересчете на безводный спирт, мг/дм ³ , не более	-	-	15	-	-	-
9. Массовая концентрация азотистых летучих осно-						

ваний в пересчете на безводный спирт, мг/дм ³ , не более						
10. Объемная доля метилового спирта в пересчете на безводный спирт, %, не более	0,05	0,03	0,05	0,02	0,02	0,003

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Таблица зависимости относительной плотности сусла от массовой доли экстракта при 20°C

Относительная плотность сусла, г/см ³	Массовая доля экстракта, %	Относительная плотность сусла, г/см ³	Массовая доля экстракта, %	Относительная плотность сусла, г/см ³	Массовая доля экстракта, %
1	2	3	4	5	6
1,0260	6,572	1,0297	7,484	1,0334	8,391
1	6,597	8	7,509	5	8,415
2	6,621	9	7,533	6	8,439
3	6,646	1,0300	7,558	7	8,464
4	6,671	1	7,583	8	8,488
5	6,696	2	7,607	9	8,513
6	6,720	3	7,632	1,0340	8,537
7	6,745	4	7,656	1	8,561
8	6,770	5	7,681	2	8,586
9	6,794	6	7,705	3	8,610
1,0270	6,819	7	7,730	4	8,634
1	6,844	8	7,754	5	8,659
2	6,868	9	7,779	6	8,683
3	6,893	1,0310	7,803	7	8,707
4	6,918	1	7,828	8	8,732
5	6,943	2	7,868	9	8,756
6	6,967	3	7,877	1,0350	8,7818
7	6,992	4	7,901	1	8,805
8	7,017	5	7,926	2	8,830'
9	7,041	6	7,950	3	8,854
1,0280	7,066	7	7,975	4	8,878

1	7091	8	8,000	5	8,902
2	7,115	9	8,024	6	8,927
3	7,140	1,0320	8048	7	8,951
4	7,164	1	8073	8	8,975
5	7,189	2	8,098	9	9,000
1,0286	7,214	1,0323	8,122	1,0360	9,024
7	7,238	4	8,146	1	9,048
1	2	3	4	5	6
8	7,263	5	8,171	2	9,073
9	7,287	6	8,195	3	9,097
1,0290	7,312	7	8,220	4	9,121
1	7,337	8	6,244	5	9,145
2	7,361	9	8,269	6	9,170
3	7,386	1,0330	8,293	7	9,194
4	7,411	1	8,317	8	9,218
5	7,435	2	8,342	9	9,243
6	7,460	3	8,366		

Список используемой литературы

1. Практикум по микробиологии / под ред. Н.С. Егорова: учеб. пособие.- М.: Изд-во Моск. ун-та, 1976.-307с.
2. ГОСТ 5964-82. Спирт этиловый. Правила приемки и испытаний. ОКСТУ 9109. Введен 01.01.1983 г.
3. Емельянова, И.З. Химико-технический контроль гидролизных производств /И.З. Емельянова.- М.: Лесная промышленность, 1976.-328 с.
4. ГОСТ Р 51652-2000. Спирт этиловый ректифицированный из пищевого сырья. Технические условия. Введен с изменениями 01.07.2006г.
5. ГОСТ 18300-87. Спирт технический этиловый ректифицированный. Технические условия. Введен 01.07.88 г.