

32003R0440

11.3.2003

ОФИЦИАЛЕН ВЕСТНИК НА ЕВРОПЕЙСКИЯ СЪЮЗ

L 66/15

РЕГЛАМЕНТ (ЕО) № 440/2003 НА КОМИСИЯТА**от 10 март 2003 година****за изменение на Регламент (ЕИО) № 2676/90 за определяне на методи на Общността за анализ на вината**

КОМИСИЯТА НА ЕВРОПЕЙСКИТЕ ОБЩНОСТИ,

като взе предвид Договора за създаване на Европейската общност,

като взе предвид Регламент (ЕО) № 1493/1999 на Съвета от 17 май 1999 г. за общата организация на пазара на вино ⁽¹⁾, последно изменен с Регламент (ЕО) № 2585/2001 г. ⁽²⁾ и по-специално първа алинея от член 46, параграф 3 от него,

като има предвид, че:

- (1) В приложението към Регламент (ЕИО) № 2676/90 на Комисията ⁽³⁾, последно изменен с Регламент (ЕО) № 1622/2000 ⁽⁴⁾, са описани методите за анализ.
- (2) Метод за анализ на D-ябълчна киселина, подходящ за измерване на ниските нива, открити във вината, е разработен и утвърден в съответствие с признати международни критерии. Международната организация по лозята и виното прие описанието на този нов метод на своето Общо събрание през юни 2002 г.
- (3) Нов метод за определяне на съотношението на въглеродния изотоп на етанола във виното или на етанола, получен чрез ферментация на гроздова шира, концентрирана гроздова шира или пречистена концентрирана гроздова шира е разработен и утвърден в съответствие с признати международни критерии. Описанието на този нов метод е прието от Международната организация по лозята и виното на нейното Общо събрание през 2001 г.
- (4) Използването на тези методи може да осигури по-добър контрол на качеството и автентичността на вината, и да предотврати спорове, причинени от прилагането на по-неточни методи за проверка, по-специално по отношение-

ние на обогатяването със смеси от захар с различен произход и повишаване киселинността на вината, като се използва ябълчена киселина.

- (5) Съществуващият метод за дозирането на D-ябълчена киселина, описан в приложението към Регламент (ЕИО) № 2676/90, трябва да бъде допълнен чрез описанието на процедурата за определяне на ниски нива и описание на новия изотопен метод за въглерод в етанола трябва да бъде допълнен.
- (6) Мерките, предвидени в настоящия регламент са в съответствие със становището на Управителния комитет по виното,

ПРИЕ НАСТОЯЩИЯ РЕГЛАМЕНТ:

Член 1

Приложението към Регламент (ЕИО) № 2676/90 се изменя, както следва:

1. В глава 20, „D-ябълчена киселина“, точка 8 се заменя с приложение 1 към настоящия регламент.
2. Глава 45, съдържаща се в приложение II към настоящия регламент, се добавя.

Член 2

Настоящият регламент влиза в сила на седмия ден след публикуването му в Официален вестник на Европейските общности.

Настоящият регламент е задължителен в своята цялост и се прилага пряко във всички държави-членки.

Съставено в Брюксел на 10 март 2003 година.

За Комисията

Franz FISCHLER

Член на Комисията

⁽¹⁾ ОВ L 179, 14.7.1999 г., стр. 1.⁽²⁾ ОВ L 345, 29.12.2001 г., стр. 10.⁽³⁾ ОВ L 272, 3.10.1990 г., стр. 1.⁽⁴⁾ ОВ L 194, 31.7.2000 г., стр. 1.

ПРИЛОЖЕНИЕ I

„8. ДОЗИРАНЕ НА D-ЯБЪЛЧЕНА КИСЕЛИНА (D(+)-ЯБЪЛЧЕНА КИСЕЛИНА) ВЪВ ВИНА С НИСКИ НИВА

8.1. ОБЛАСТ НА ПРИЛОЖЕНИЕ

Описаният метод се прилага за дозирането, посредством ензими, на D-ябълчената киселина на вината с нива под 50 mg/l.

8.2. ПРИНЦИП

Принципът на метода е описан в точка 1. Образуването на NADH след внасянето в епруетка на 50 mg/l D-ябълчена киселина е пропорционално на наличното количество D-malate и се измерва въз основа на нарастването на абсорбцията при дължина на вълната 340 nm.

8.3. РЕАГЕНТИ

A 0,199 g/l разтвор на D-ябълчена киселина плюс реагентите, посочени в точка 2.

8.4. АПАРАТУРА

Апаратурата, посочена в точка 3.

8.5. ПРИГОТВЯНЕ НА ПРОБАТА

Както е посочено в точка 4.

8.6. ПРОЦЕДУРА

Процедурата е като описаната в точка 5, но с внасяне в измерителната епруетка на 50 mg/l D-ябълчена киселина. (Внасяне на 0,025 ml 0,199 g/l разтвор на D-ябълчена киселина, изместващ еквивалентен обем вода); получените стойности са намалени с 50 mg/l.

8.7. ВЪТРЕШНО УТВЪРЖДАВАНЕ

Таблицата по-долу обобщава документите с вътрешно утвърждаване относно метода за определяне на дозата D(+)-ябълчена киселина след добавянето на 50 mg/l от изомера.

Работен обхват	от 0 mg до 70 mg D-ябълчена киселина за литър. В тези граници методът е линеен с коефициент на корелация от 0,990 до 0,994
Граница на количествено определяне	24,4 mg/l
Граница на детекция	8,3 mg/l
Чувствителност	0,0015 abs/mg/l
Коефициент на възстановяване	от 87,5 до 115,0 % за бели вина и от 75 до 105 % за червени вина
Повтаряемост	= 12,4 mg/l за бели вина (съгласно метода OIV = 12,5 mg/l) = 12,6 mg/l за червени вина (съгласно метода OIV = 12,7 mg/l)
Коефициент на отклонение	от 4,2 % до 7,6 % (бели вина и червени вина)
Вътрешнолабораторна променливост	CV = 7,4 % (s = 4,4 mg/l; средно = 59,3 mg/l)“

ПРИЛОЖЕНИЕ II

„45. **ОПРЕДЕЛЯНЕ ЧРЕЗ СПЕКТРОМЕТРИЯ НА ИЗОТОПНАТА МАСА НА СЪОТНОШЕНИЕТО $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ В ЕТАНОЛ ВЪВ ВИНО ИЛИ ПОЛУЧЕН ЧРЕЗ ФЕРМЕНТАЦИЯТА НА ШИРА, КОНЦЕНТРИРАНА ШИРА ИЛИ ПРЕЧИСТЕНА КОНЦЕНТРИРАНА ШИРА**

1. ОБЛАСТ НА ПРИЛОЖЕНИЕ

Методът позволява измерване на съотношението $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в етанол във вино или получен чрез ферментацията на продукти от грозде (шира, концентрирана шира, пречистена концентрирана шира).

2. ДЕЙСТВАЩИ СТАНДАРТИ

ISO:

5725: 1994 г. „Точност (вярност и точност) на методи за измерване и резултати: Основен метод за определянето на повтаряемостта и репродуктивността на стандартен метод за измерване“.

V-PDB:

Vienna-Pee-Dee Belemnite ($R_{\text{PDB}} = 0,0112372$).

Метод 8 от приложението към настоящия регламент:

„Детекция на обогатяването на гроздова шира, пречистена концентрирана гроздова шира и вина чрез прилагане на ядрен магнитен резонанс на деутерий (SNIF-NMR).“

3. ТЕРМИНИ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$: съотношение на изотопите на въглерод 13 (^{13}C) към въглерод 12 (^{12}C) за дадена проба.

$\delta^{13}\text{C}$: съдържание на въглерод 13 (^{13}C), изразено в части на 1000 (‰).

SNIF-NMR: фракциониране на определен естествен изотоп, който се изследва чрез ядрен магнитен резонанс.

V-PDB: Vienna-Pee-Dee Belemnite. PDB е основният материал за измерване на естествени отклонения на съдържанието на изотопа на въглерод 13, състоящ се от калциев карбонат от запазени люспести останки от периода Креда при образуването на реката Pee-Dee в Южна Каролина (САЩ). Неговото изотопно съотношение $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ или R_{PDB} е 0,0112372. Резервите от PDB са изчерпани от дълго време, но той е останал най-важен при изразяване на естествени отклонения на съдържанието на изотопа на въглерод и за който съответният материал, наличен в Международната агенция за атомна енергия (IAEA) във Виена (Австрия) е разчетен. Изотопните индикации на естествено срещащ се въглерод 13 са обикновено изразени във връзка с V-PDB.

m/z : съотношение между масата към заряда.

4. ПРИЦИП

По време на фотосинтеза, приемането на въглероден двуокис от растения става чрез две основни форми на метаболизъм, метаболизъм C_3 (цикълът на Calvin) и метаболизъм C_4 (Hatch и Slack). Тези два механизма за фотосинтез представят различен вид изотопно фракциониране. Продукти от растения C_4 , например захар и алкохол, получен от ферментация, имат по-високи нива на въглерод 13 отколкото подобни продукти от растения C_3 . Повечето растения, включително лози и захарно цвекло, принадлежат към групата C_3 . Захарната тръстика и царевичата принадлежат към групата C_4 . Измерването на съдържанието на въглерод 13 позволява детекцията и измерването на захар с произход C_4 (захарна тръстика или царевична изоглюкоза), прибавена към продукти от грозде (гроздова шира, вина и др.). Информацията за съдържанието на въглерод 13, съчетана с получената от SNIF-NMR позволява да бъдат определени прибавените количества захарни или алкохолни смеси, получени от растения C_3 и C_4 .

Съдържанието на въглерод 13 се определя чрез въглероден двуокис, произведен по време на пълното изгаряне на пробата. Изобилието от основни изотопомери с маси 44 ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}_2$), 45 ($^{13}\text{C}^{16}\text{O}_2$ и $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$) и 46 ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$), в резултат на различни възможни комбинации на изотопи ^{18}O , ^{17}O , ^{16}O , ^{13}C и ^{12}C , се определят от йонните потоци, измерени с три различни колектора на изотопен спектрометър на масата. Приносът на изотопомерите $^{13}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$ и $^{12}\text{C}^{17}\text{O}_2$ може да бъде пренебрегнат, като се имат предвид техните ниски нива. Йонният поток за $m/z = 45$ се коригира за приноса на $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$, което се изчислява съобразно текущия интензитет, измерен за $m/z = 46$, докато се взима предвид относителното изобилие на ^{18}O и ^{17}O (корекция на Craig). Сравнение с разчетен за международния V-PDB позволява изчисление на съдържанието на въглерод 13 по относителната скала $\delta^{13}\text{C}$.

5. РЕАГЕНТИ

Материалът и храните зависят от апаратурата (точка 6), използвана от лабораторията. Системите, които се използват обикновено, се основават на анализатори на елементи. Тези системи могат да бъдат оборудвани така че да позволяват внасянето на проби, поставени в запечатани метални капсули или инжектирането на течни проби чрез спринцовка.

В зависимост от вида на използвания инструмент могат да бъдат използвани следните материали, реагенти и храни:

— материали

— налични от IAEA:

Име	Материал	$\delta^{13}\text{C}$ отнесено към V-PDB (9)
— IAEA-CH-6	Захароза	- 10,4 ‰
— IAEA-CH-7	Полиетилен	- 31,8 ‰
— NBS22	Олио	- 29,7 ‰
— USGS24	Графит	- 16,1 ‰

— налични от IRMM в Geel (B) (Институт за материали и измервания):

Име	Материал	$\delta^{13}\text{C}$ отнесено към V-PDB (9)
— CRM/BCR 656	Винен алкохол	- 26,93 ‰
— CRM/BCR 657	Глюкоза	- 10,75 ‰
— CRM/BCR 660	Хидроалкохолен разтвор (ASV 12 ‰)	- 26,72 ‰

— стандартна работна проба с известно съотношение $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, разчетена за международни материали,

— индикативен списък на храни за системи с постоянен поток:

— хелий за анализ (CAS 07440-59-7),

— кислород за анализ (CAS 07782-44-7),

— въглероден двуокис за анализ, използван като втори газ за съдържанието на въглерод 13 (CAS 00124-38-9),

— реагент за окисляване за пещта на системата за изгаряне, например меден (II) окис за анализ на елементите (CAS 1317-38-0),

— изсушител за отстраняване на водата, отделяща се при изгаряне, например анхидрон за анализ на елементите (магнезиев перхлорат) (CAS 10034-81-8) (Това не е необходимо за апарати, оборудвани със система за отстраняване на водата чрез използване на криогенни сифони или пропускливи избираемо капиляри).

6. АПАРАТУРА И ОБОРУДВАНЕ

6.1. Спектрометър за изотопно съотношение на масата (IRMS)

Спектрометърът за изотопно съотношение на масата (IRMS) може да определя относителното съдържание на ^{13}C на газа CO_2 , който се среща в природата с вътрешна точност 0,05 ‰ или по-добре изразено като относителна стойност (точка 9). Вътрешна точност в този случай се определя като разликата между две измервания на една и съща проба CO_2 . Спектрометърът на масата, използван за измерване на изотопните съотношения по принцип е оборудван с троен колектор за едновременно измерване на интензитети за $m/z = 44, 45$ и 46 . Спектрометърът за изотопно съотношение на масата трябва или да бъде снабден с двоен вход, за да измерва алтернативно неизвестната проба и референтната проба, или да използва интегрирана система, която извършва квантово изгаряне на проби и разделя въглеродния двуокис от другите продукти за изгаряне преди измерване в спектрометърът на масата.

6.2. Апаратура за изгаряне

Апаратурата за изгаряне може квантово да преобразува етанол във въглероден двуокис и да отстранява всички други продукти за изгаряне, включително вода, без никакво изотопно фракциониране. Апаратурата може да бъде както система с постоянен поток, интегрирана с апаратурата за спектрометрия на масата (точка 6.2.1), така и отделна система за изгаряне (точка 6.2.2). Апаратурата трябва да позволява точност най-малко колкото посочената в (точка 11).

6.2.1. Системи с постоянен поток

Те включват или анализатор на елементите, или газов хроматограф с включена система за изгаряне.

Следното лабораторно оборудване е необходимо за системи, оборудвани за внасянето на проби, съхранявани в метални капсули:

- калибрирана микроспринцовка или микропипета с подходящи накрайници,
- везна с точност до μg или по-голяма,
- пинсети за капсулиране,
- калаени капсули за течни проби,
- калаени капсули за твърди проби.

Забележка: за да се намали риска от изпаряване на етанолните проби, в капсулите може да бъде поставен абсорбиращ материал (например Chromosorb водопоглъщаемост 45-60 отвора), който първо е бил проверен чрез измерване без проба, че не съдържа значително количество въглерод, което би могло да повлияе на резултатите.

Следното лабораторно оборудване е необходимо при използването на анализатор на елементите, оборудван с инжектор на течности или в случаите на изгаряне хроматографична система за подготвяне:

- спринцовка за течности,
- колби, снабдени с херметични системи за затваряне и инертни прегради.

Лабораторното оборудване, посочено в списъците по-горе е примерно и може да бъде заменено с друго оборудване със същите възможности в зависимост от вида на апаратурата за изгаряне и спектрометрия на масата, използвани от лабораторията.

6.2.2. Отделна система за подготовка

Пробите на въглероден двуокис, получени от изгарянето на пробите, които ще се анализират и референтната проба се събират в колби, които след това се поставят в двойния вход на спектрометъра за изотопен анализ. Могат да се използват няколко апаратури за изгаряне, описани в литературата:

- затворена система за изгаряне, пълна с циркулиращ кислород,
- анализатор на елементите с поток от хелий и кислород,
- запечатана стъклена колба, пълна с меден (II) оксид за оксидация.

7. ПОДГОТВЯНЕ НА ПРОБИТЕ ЗА ТЕСТВАНЕ

Етанолът трябва да бъде извлечен от виното преди изотопното тестване. Това се извършва чрез дестилиране на виното, както е описано в точка 3.1 на метод № 8 (SNIF-NMR).

В случай на гроздова шира, концентрирана гроздова шира и пречистена концентрирана гроздова шира, захарта трябва първо да бъде ферментирала в етанол, както е описано в точка 3.2 на метод № 8.

8. ПРОЦЕДУРА

Всички етапи на подготовката трябва да бъдат извършени без значителни загуби на етанол от изпаряване, което може да промени изотопния състав на пробата.

Следното описание се отнася до процедурите, които по принцип се използват за изгаряне на проба от етанол, като се използват комерсиални автоматични системи за изгаряне. Всички други методи, които гарантират, че цялата проба от етанол е преобразувана във въглероден двуокис без никакви загуби на етанол от изпаряване могат да бъдат използвани за приготвянето на въглероден двуокис за изотопен анализ.

Експериментална процедура, основана на използването на анализатор на елементи:

а) поставяне на проби в капсули:

- използват се капсули, пинсети и плосък съд, всеки един от които трябва да бъде чист,
- взима се капсула с подходящ размер, като се използват пинсетите,
- внася се подходящо количество течност в капсулата като се използва микропипета,
- **Забележка:** 3,84 mg чист етанол или 4,17 mg дестилат с алкохол, силен 92 % m/m са необходими, за да се получат 2 mg въглерод. Подходящото количество дестилат трябва да бъде изчислено на тази основа, в зависимост от необходимото количество въглерод при дадена чувствителност на апаратурата за спектрометрия на масата,
- капсулата се затваря с пинсетите,

- всяка капсула трябва да бъде напълно запечатана. В случай, че не е, тя трябва да се изхвърли и да се приготви нова капсула,
 - за всяка проба трябва да бъдат приготвени две капсули,
 - капсулите се поставят на подходящото място върху плоския съд на автоматичния пробатор на анализатора на елементи. Всяка капсула трябва да бъде внимателно идентифицирана чрез пореден номер,
 - систематично се поставят капсули, които ще се използват в работата в началото и в края на поредицата от проби,
 - регулярно се внасят контролни проби в поредицата от проби;
- б) проверка и настройка на апаратурата за анализ на елементите и спектрометрия на масата:
- настройва се температурата на пещите за анализатор на елементи и потоците от хелий и кислород за оптимално изгаряне на пробата,
 - проверява се системата за анализ на елементи и спектрометрия на масата за течове (например чрез проверка на йонния поток, където $m/z = 28$ за N_2),
 - настройва се спектрометърът на масата за измерване на йонните потоци, където $m/z = 44, 45$ и 46 ,
 - проверява се системата като се използват известни контролни проби преди да започне измерването на пробите;
- в) извършват се поредица измервания

Пробите, поставени на автоматичния пробатор на анализатора на елементи (или на хроматографа) се внасят последователно. Въглеродният двуокис от изгарянето на всяка проба се отстранява чрез разтворител в посока на спектрометъра на масата, който измерва йонните потоци. Интерфейсният компютър записва йонните потоци и изчислява стойността δ за всяка проба (точка 9).

9. ИЗЧИСЛЕНИЕ

Целта на метода е да измери изотопното съотношение $^{13}C/^{12}C$ на етанол, извлечен от вино или от продукти, получени от грозде след ферментация. Изотопното съотношение $^{13}C/^{12}C$ може да бъде изразено чрез неговото отклонение от работните стойности. Изотопното отклонение на въглерод 13 ($\delta^{13}C$) се изчислява след това в машаб делта към хиляда ($\delta/1000$) чрез сравняване на резултатите, получени за пробата — предмет на измервания с работните такива, които преди са калибрирани въз основа на основния международен материал (V-PDB). Стойностите на $\delta^{13}C$ се изразяват по отношение на работните стойности както следва:

$$\delta^{13}C_{sam/ref}‰ = 1000 \times (R_{sam} - R_{ref})/R_{ref}$$

където R_{sam} и R_{ref} са съответно $^{13}C/^{12}C$ изотопните съотношения на пробата и на въглеродния двуокис, използван като референтен газ.

Стойностите на $\delta^{13}C$ се изразяват по отношение на V-PDB както следва:

$$\delta^{13}C_{sam/V-PDB}‰ = \delta^{13}C_{sam/ref} + \delta^{13}C_{ref/V-PDB} + (\delta^{13}C_{sam/ref} \times \delta^{13}C_{ref/V-PDB})/1000,$$

където $\delta^{13}C_{ref/V-PDB}$ е предварително определеното изотопно отклонение на работните стойности от V-PDB.

Малки отклонения могат да се получат по време на измерването, които се дължат на промени в условията на инструментите. В този случай стойностите на $\delta^{13}C$ на пробите трябва да бъдат коригирани в съответствие с разликата в измерената стойност на $\delta^{13}C$ на стандартната работна проба и нейната действителна стойност, калибрирана преди това срещу V-PDB чрез сравнение с един от международните референтни материали. Между двете измервания на стандартната работна проба, отклонението и следователно корекцията, които ще се приложат към резултатите, получени от пробите, може да се допусне да бъдат линейни. Стандартната работна проба трябва да бъде измерена в началото и в края на всички поредици от проби. След това може да бъде изчислена корекция за всяка проба като се използва линейна интерполация.

10. КАЧЕСТВЕНО ОБЕЗПЕЧЕНИЕ И КОНТРОЛ

Проверява се, че стойността на ^{13}C за работните стойности не се различава с повече от 0,5 ‰ от допустимата стойност. В случай, че това не е изпълнено, трябва да бъдат проверени настройките на апаратурата за спектрометрия и при необходимост, коригирани.

За всяка проба се проверява, че разликата в резултатите за две капсули, измерени последователно е по-малка от 0,3 ‰. Окончателният резултат за дадена проба е средната стойност от двете капсули. В случай, че отклонението е по-голямо от 0,3 ‰, измерването трябва да бъде повторено.

Проверки за точност на измерването могат да се основават на йонния поток, където $m/z = 44$, който е пропорционален на количеството въглерод, инжектиран в анализатора на елементи. При стандартни условия, йонният поток трябва да бъде почти постоянен за анализираните проби. Значително отклонение може да бъде индикатор за изпаряване на етанола (например непълно запечатана капсула) или нестабилност на анализатора на елементи или спектрометъра на масата.

11. ХАРАКТЕРИСТИКИ НА РАБОТА НА МЕТОДА (точност)

Първоначално съвместно изследване (точка 11.1) беше извършено върху дестилати, съдържащи алкохол, получен от грозде и от захарна тръстика и цвекло, както и различни смеси от тях. Поради това, че това изследване не отчита дестилационната процедура, по-нататъшна информация от други вътрешнолабораторни изследвания на вино (точка 11.2) и в частност, поредица от тестове за качествено изпълнение (точка 11.3) за изотопни измервания също се разгледаха. Резултатите показват, че при задоволителни условия и в частност условията за измерване като се използва SNIF-NMR, различните системи за дестилация не дават значително отклонение при определянето на стойността на $\delta^{13}\text{C}$ на етанол във вино. Параметрите на точност, наблюдавани за виното са почти идентични на получените в съвместното изследване на дестилати (точка 11.1).

11.1 Съвместно изследване на дестилати

Година на вътрешнолабораторния тест: 1996 г.

Брой на лабораториите: 20

Брой на пробите: сравнение между шест еднакви двойни проби

Аналит: $\delta^{13}\text{C}$ етанол

Код на пробата	Алкохол, получен от грозде	Алкохол, получен от цвекло	Алкохол, получен от захарна тръстика
A & G	80 %	10 %	10 %
B & C	90 %	10 %	0 %
D & F	0 %	100 %	0 %
E & I	90 %	0 %	10 %
H & K	100 %	0 %	0 %
J & L	0 %	0 %	100 %

Проби	A/G	B/C	D/F	E/I	H/K	J/L
Брой на лабораториите, ангажирани след отстраняването на нетипични резултати	19	18	17	19	19	19
Брой на приетите резултати	38	36	34	38	38	38
Средна стойност ($\delta^{13}\text{C}$) ‰	- 25,32	- 26,75	- 27,79	- 25,26	- 26,63	- 12,54
S_r^2	0,0064	0,0077	0,0031	0,0127	0,0069	0,0041
Стандартно отклонение на повтаряемост (S_r) ‰	0,08	0,09	0,06	0,11	0,08	0,06
Лимит на повтаряемост r ($2.8 \times S_r$) ‰	0,22	0,25	0,16	0,32	0,23	0,18
S_R^2	0,0389	0,0309	0,0382	0,0459	0,0316	0,0584
Стандартно отклонение на възпроизвеждане (S_R) ‰	0,20	0,18	0,20	0,21	0,18	0,24
Лимит на възпроизвеждане (R) ($2.8 \times S_r$)	0,55	0,49	0,55	0,60	0,50	0,68

11.2. **Вътрешнолабораторно изследване на две вина и един алкохол**

Година на вътрешнолабораторния тест: 1996 г.

Брой на лабораториите: 14 за дестилация на вино, седем от които са измерили също $\delta^{13}\text{C}$ на етанола във виното,
Осем за измерване на $\delta^{13}\text{C}$ на алкохолна проба.

Брой на пробите: Три (бяло вино с 9,3 % ASV, бяло вино с 9,6 % ASV и алкохол със сила 93 % m/m).

Аналит: $\delta^{13}\text{C}$ етанол

Алкохол	Проби	Червено вино	Бяло вино
Брой на лабораториите	7	7	8
Брой на приетите резултати	7	7	8
Средна стойност ($\delta^{13}\text{C}$) ‰	- 26,20	- 26,20	- 25,08
Отклонение при възпроизвеждане S_R^2	0,0525	0,0740	0,0962
Стандартно отклонение на възпроизвеждане (S_R) ‰	0,23	0,27	0,31
Лимит на възпроизвеждане R ($2.8 \times S_R$) ‰	0,64	0,76	0,87

Различни системи за дестилация са използвани от участващите лаборатории. Определянето на изотопите ($\delta^{13}\text{C}$) е извършено в една лаборатория за всички дестилати, върнати от участниците, не показват нетипични стойности или стойности, които се различават значително от средните стойности. Отклоненията съгласно резултатите ($S^2 = 0,0059$) е сравнимо с отклоненията на повторемостта S_r^2 в съвместното изследване на дестилатите (точка 11.1).

11.3. **Резултати от наблюденията на качествено изпълнение на изотопните тестове**

От декември 1994 г. регулярно се организират международни тестове за качествено изпълнение на тестове за определяне на изотопни измервания на вино и алкохол (дестилати с 96 % ASV). Резултатите дават възможност участващите лаборатории да проверят качеството на своите анализи. Статистическите резултати позволяват оценка на отклоненията при измерванията при условия на възпроизвеждане и следователно изчисление на параметрите на отклонение и лимита на възпроизвеждане. Получените резултати за определянето на $\delta^{13}\text{C}$ за виното и дестилат етанол са обобщени в следната таблица:

Дата	Вина				Дестилати			
	N	S_R	S_R^2	R	N	S_R	S_R^2	R
Декември 1994 г.	6	0,210	0,044	0,59	6	0,151	0,023	0,42
Юни 1995 г.	8	0,133	0,018	0,37	8	0,147	0,021	0,41
Декември 1995 г.	7	0,075	0,006	0,21	8	0,115	0,013	0,32
Март 1996 г.	9	0,249	0,062	0,70	11	0,278	0,077	0,78
Юни 1996 г.	8	0,127	0,016	0,36	8	0,189	0,036	0,53
Септември 1996 г.	10	0,147	0,022	0,41	11	0,224	0,050	0,63
Декември 1996 г.	10	0,330	0,109	0,92	9	0,057	0,003	0,16
Март 1997 г.	10	0,069	0,005	0,19	8	0,059	0,003	0,16
Юни 1997 г.	11	0,280	0,079	0,78	11	0,175	0,031	0,49
Септември 1997 г.	12	0,237	0,056	0,66	11	0,203	0,041	0,57
Декември 1997 г.	11	0,127	0,016	0,36	12	0,156	0,024	0,44
Март 1998 г.	12	0,285	0,081	0,80	13	0,245	0,060	0,69
Юни 1998 г.	12	0,182	0,033	0,51	12	0,263	0,069	0,74
Септември 1998 г.	11	0,264	0,070	0,74	12	0,327	0,107	0,91
Средно претеглено		0,215	0,046	0,60		0,209	0,044	0,59

N: брой на участващите лаборатории.

11.4. Лимити на повторяемост и възпроизвеждане

Въз основа на данните от различните вътрешнолабораторни тестове, представени в горните таблици, следните лимити на повторяемост и възпроизводство могат да бъдат установени за този метод, включително за дестилационния етап:

Лимит на повторяемост r : 0.24

Лимит на възпроизводство R : 0.6.“
