

32002R2091

2002.11.27.

AZ EURÓPAI KÖZÖSSÉGEK HIVATALOS LAPJA

L 322/11

A BIZOTTSÁG 2091/2002 RENDELETE**(2002. november 26.)****a szeszes italok elemzésére vonatkozó közösségi referencia-módszerek megállapításáról szóló
2870/2000/EK rendelet módosításáról**

AZ EURÓPAI KÖZÖSSÉGEK BIZOTTSÁGA,

tekintettel az Európai Közösséget létrehozó szerződésre,

tekintettel az Ausztria, Finnország és Svédország csatlakozási okmányával módosított, a szeszesitalok meghatározására, megnevezésére és kiszerezésére vonatkozó általános szabályok megállapításáról szóló, 1989. május 29-i 1576/89/EGK tanácsi rendeletre ⁽¹⁾, és különösen annak 4. cikke (8) bekezdésére,

mivel:

- (1) A szeszesitalok elemzésére szolgáló közösségi referencia-módszerek megállapításáról szóló, 2000. december 19-i 2870/2000/EK bizottsági rendelet ⁽²⁾ a mellékletben mutatja be ezeket a módszereket.
- (2) A Bizottság által támogatott kutatási projekt részeként nemzetközileg elismert eljárások szerint került sor négy, a következő anyagok meghatározására szolgáló elemzési módszer validálására: transz-anetol ánizzsal ízesített szeszesitalokban, glycyrrhizin-sav és kalkonok pastisban, valamint tojássárgája tojáslikőrben és tojásalapú likőrben.

(3) Ezt a négy módszert közösségi referencia-módszernek lehet elismerni, és a 2870/2000/EK rendelet melléklete ezzel kiegészül.

(4) Az e rendeletben előírt intézkedések összhangban vannak a Szeszesital Végrehajtási Bizottság véleményével,

ELFOGADTA EZT A RENDELETET:

1. cikk

A 2870/2000/EK rendelet melléklete a következőképpen módosul:

1. A melléklet összefoglalójában az V., VI., VII. és IX. pont alatt szereplő „(p.m.)” megjegyzést el kell hagyni.
2. A III. fejezet után az e rendelet mellékletében szereplő V., VI., VII. és IX. fejezettel egészül ki.

2. cikk

Ez a rendelet az *Európai Közösségek Hivatalos Lapjában* való kihirdetését követő hetedik napon lép hatályba.

Ez a rendelet teljes egészében kötelező és közvetlenül alkalmazandó valamennyi tagállamban.

Kelt Brüsszelben, 2002. november 26-án.

a Bizottság részéről

Franz FISCHLER

a Bizottság tagja

⁽¹⁾ HL L 160., 1989.6.12., 1. o.

⁽²⁾ HL L 333., 2000.12.29., 20. o.

MELLÉKLET

V. ANETOL. A SZESZESITALOKBAN TALÁLHATÓ TRANSZANETOL MEGHATÁROZÁSA GÁZKROMATOGRÁFIÁVAL

1. Alkalmazási terület

Ez a módszer az ánizsízésítésű szeszesitalokban található transzanetol kapilláris gázkromatográfiával történő meghatározására szolgál.

2. Rendelkező hivatkozások

ISO 3696: 1987 Víz: analitikai laboratóriumi használatra. Meghatározások és vizsgálati módszerek.

3. Elv

A szeszesitalok transzanetol-koncentrációjának meghatározása gázkromatográfiával (GC) történik. Egyforma mennyiségű belső standardot – pl. 4-allil-anisol (esztragol), amennyiben a minta nem tartalmaz természetes előfordulású esztragolt – kell adni a vizsgálati mintához és egy ismert koncentrációjú transzanetol referenciaoldathoz, majd mindkettőt 45 %-os etanol oldattal kell felhígítani és közvetlenül a gázkromatográfiás rendszerbe injektálni. A nagy mennyiségű cukrot tartalmazó likőrök esetében a minta elkészítése és az elemzés elvégzése előtt extrahálásra van szükség.

4. Reagensok és anyagok

Az elemzés során csak minimum 98 %-os tisztaságú reagenset szabad használni. Az ISO 3696 szerinti legalább 3-as tisztasági fokozatú vizet kell használni.

A referenciaanyagokat hűvös (4 °C) helyen, fénytől védve, alumínium tárolóedényben vagy színezett üvegű (borostyánüveg) reagensüvegekben kell tárolni. A dugókat lehetőség szerint alumíniumtömítéssel kell ellátni. Használat előtt a transzanetolt ki kell „olvasztani” kristályos állapotából, de ebben az esetben a hőmérséklet soha nem haladhatja meg a 35 °C-ot.

4.1. 96 % (V/V) etanol (CAS 64-17-5)

4.2. 1-metoxi-4-(1-propenil) benzol; (transzanetol) (CAS 4180-23-8)

4.3. 4-allil-anisol (esztragol) (CAS 140-67-0), javasolt belső standard (IS)

4.4. 45 % (V/V) etanol

Adjunk 560 g desztillált vizet 378 g 96 % (V/V) etanolhoz.

4.5. Standardoldatok készítése

Valamennyi standardoldatot szobahőmérsékleten (15–35 °C), fénytől védve, alumínium tárolóedényben vagy színezett üvegű (borostyánüveg) reagensüvegekben kell tárolni. A dugót lehetőség szerint alumíniumtömítéssel kell ellátni.

Mivel a transzanetol és a 4-allil-anisol vízben gyakorlatilag oldhatatlan, így azokat a 45 % (V/V) etanol (4.4.) hozzáadása előtt 96 % (V/V) etanolban (4.1.) kell feloldani.

A törzsoldatokat minden héten frissen kell elkészíteni.

4.5.1. „A” standardoldat

Transzanetol törzsoldat (koncentráció: 2 g/l)

Mérjünk be 40 mg transzanetolt (4.2.) egy 20 ml-es mérőlombikba (vagy 400 mg-ot egy 200 ml-esbe stb.). Adjunk hozzá 96 % (V/V) etanolt (4.1.), majd töltsük fel jelig 45 % (V/V) etanollal (4.4.), és alaposan keverjük össze.

4.5.2. „B” belső standardoldat

Belső standard törzsoldat, pl. esztragol (koncentráció: 2 g/l)

Mérjünk be 40 mg esztragolt (4.3.) egy 20 ml-es mérőlombikba (vagy 400 mg-ot egy 200 ml-esbe stb.). Adjunk hozzá 96 % (V/V) etanolt (4.1.), majd töltsük fel jelig 45 % (V/V) etanollal (4.4.), és alaposan keverjük össze.

4.5.3. A lángionizációs detektor lineáris érzékenységének ellenőrzésére szolgáló oldatok

Ellenőrizni kell a lángionizációs detektor lineáris érzékenységét a szeszesitalok különböző transz-anetolkoncentrációjának (0 g/l és 2,5 g/l között) elemzése érdekében. Az elemzési eljárás során az elemzendő szeszesitalvakpróbák tízszeres hígításra kerülnek (8.3.). A módszerben leírt elemzési körülmények alapján az elemzendő mintában levő transz-anetol 0, 0,05, 0,1, 0,15, 0,2 és 0,25 g/l koncentrációjának megfelelő törzsoldatokat kell készíteni a következők szerint: vegyünk az „A” törzsoldatból (4.5.1.) 0,5, 1, 1,5, 2 és 2,5 ml-t, majd pipettázzuk be ezeket egy-egy 20 ml-es mérőlombikba; mindegyik lombikba pipettázzunk be 2 ml-t a „B” belső standardoldatból (4.5.2.), majd töltsük fel jelig 45 térfogatszázalékos etanollal (4.4.), és alaposan keverjük össze.

A vakoldat (8.4.) lesz a 0 g/l koncentrációjú oldat.

4.5.4. „C” standardoldat

Vegyünk az „A” törzsoldatból (4.5.1.) 2 ml-t, és pipettázzuk be ezt egy 20 ml-es mérőlombikba, majd adjunk hozzá 2 ml-t a „B” belső standardoldatból (4.5.2.), majd töltsük fel jelig 45 % (V/V) etanollal (4.4.), és alaposan keverjük össze.

5. Készülékek és berendezések

5.1. Kapilláris gázkromatográf lángionizációs detektorral és integrátorral, illetve a csúcsmagasságok vagy területek mérésére képes egyéb adatkezelő rendszerrel, valamint egy automata mintavevővel vagy a kézi mintainjektáláshoz szükséges berendezéssel kiegészítve.

5.2. Split/splitless injektor

5.3. Kapilláris kolonna, például:

Hosszúság: 50 m

Belső átmérő: 0,32 mm

Filmvastagság: 0,2 µm

Állófázis: FFAP – módosított TPA, polietilén-glikol típusú térhálós porózus polimer.

5.4. Általános laboratóriumi berendezés: precíziós mérőüvegek, analitikai mérleg (mérési pontosság: $\pm 0,1$ mg).

6. Kromatográfiás körülmények

A kolonna típusának és méreteinek, valamint a gázkromatográfiás körülményeknek olyanoknak kell lenniük, hogy az anetol és a belső standard elváljanak egymástól és minden egyéb zavaró anyagtól. Az 5.3. pontban példaként megadott kolonnával kapcsolatos tipikus körülmények a következők:

6.1. Vivőgáz: analitikai tisztaságú hélium

6.2. Áramlási sebesség: 2 ml/perc

6.3. Injektor hőmérséklet: 250 °C

6.4. Detektor hőmérséklet: 250 °C

6.5. Szárítóegység hőmérséklet: izotermikus, 180 °C, időtartam: 10 perc

6.6. Injektálási volumen: µl, split: 1:40.

7. Minták

A mintákat szobahőmérsékleten, fénytől és hidegtől védve kell tárolni.

8. Eljárás

8.1. Mintavizsgálat az esztragol jelenlétének meghatározása céljából

Belső standard hozzáadása nélküli vakpróbát kell végezni, hogy meggyőződjünk arról, hogy a mintában nem fordul elő természetes esztragol. Ha a mintában természetes esztragol fordul elő, akkor egy másik belső standardot kell választani (például mentolt).

Pipettázzunk be 2 ml mintát egy 20 ml-es mérőlombikba, majd töltsük fel jelig 45 % (V/V) etanollal (4.4.), és alaposan keverjük össze.

8.2. Ismeretlen minták készítése

Pipettázzunk be 2 ml mintát egy 20 ml-es mérőlombikba, adjunk hozzá 2 ml-t a „B” belső standardoldatból (4.5.2.), majd töltsük fel jelig 45 % (V/V) etanollal (4.4.), és alaposan keverjük össze.

8.3. Vakoldat

Pipettázzunk be 2 ml-t a „B” belső standardoldatból (4.5.2.) egy 20 ml-es mérőlombikba, majd töltsük fel jelig 45 % (V/V) etanollal (4.4.), és alaposan keverjük össze.

8.4. Lineáris érzékenységteszt

Az elemzés megkezdése előtt ellenőrizzük a lángionizációs detektor lineáris érzékenységét úgy, hogy egymás után háromszor elvégezzük minden egyes lineáris standardoldat (4.5.3.) elemzését.

Az integrátor által az egyes injektálásokra vonatkozóan adott csúcsterületek vagy csúcsmagasságok alapján ábrázoljuk grafikonon az anyaoldat-koncentrációt (g/l) az egyes R-arányok függvényében.

R = a transzanetol csúcsmagassága vagy területe osztva az esztragol csúcsmagasságával vagy területével.

Eredményként egy lineáris grafikont kell kapnunk.

8.5. Meghatározás

Injektáljuk be a vakoldatot (8.3.), majd a „C” standardoldatot (4.5.4.), majd az egyik lineáris standardoldatot (4.5.3.) – ami minőségellenőrző mintaként funkcionál (ennek kiválasztása az ismeretlen mintában levő transzanetol valószínűsíthető koncentrációjának figyelembevételével történhet), majd az öt ismeretlen mintát (8.2.); az analitikai stabilitás biztosítása érdekében minden öt ismeretlen minta után iktassunk be egy lineáris (minőségellenőrző) mintát.

9. Az érzékenységi tényező kiszámítása

Mérjük meg vagy a csúcsterületeket (integrátor vagy más adatkezelő rendszer segítségével) vagy a csúcsmagasságokat (manuális integrálás) a transzanetolra és a belső standardra vonatkozóan.

9.1. Az érzékenységi tényező (RF_i) kiszámítása

Az érzékenységi tényező kiszámítása az alábbiak szerint történik:

$$RF_i = (C_i/\text{terület vagy magasság}_i) \times (\text{terület vagy magasság}_{is}/C_{is})$$

ahol:

C_i a transzanetol koncentrációja az „A” standardoldatban (4.5.1.)

C_{is} a belső standard koncentrációja a „B” standardoldatban (4.5.2.)

terület_i a transzanetol csúcsának területe (vagy magassága)

terület_{is} a belső standard csúcsának területe (vagy magassága)

Az RF_i kiszámítása a „C” oldat öt mintájából (4.5.4.) történik.

9.2. A lineárisérzékenység-tesztoldatok elemzése

Injektáljuk be a lineárisérzékenység-tesztoldatokat (4.5.3.).

9.3. A minta elemzése

Injektáljuk be az ismeretlen mintaoldatot (8.2.).

10. Az eredmények kiszámítása

A transzanetol-koncentráció kiszámítása az alábbi képlettel történik:

$$c_i = C_{is} \times (\text{terület vagy magasság}_i/\text{terület vagy magasság}_{is}) \times RF_i,$$

ahol:

c_i az ismeretlen transzanetol-koncentráció

C_{is} a belső standard koncentrációja az ismeretlen mintában (4.5.2.)

$\text{terület vagy magasság}_i$ a transzanetol csúcsának területe vagy magassága

$\text{terület vagy magasság}_{is}$ a belső standard csúcsának területe vagy magassága

RF_i az érzékenységi koefficiens (a 9.1. szerint számítva)

A transzanetol-koncentráció kifejezése gramm/literben történik, egy tizedesjegy pontossággal.

11. Minőségbiztosítás és -ellenőrzés

A kromatogramoknak olyanoknak kell lenniük, hogy az anetol és a belső standard elváljanak egymástól és minden egyéb zavaró anyagtól. Az RF_i érték kiszámítása a „C” oldat (4.5.4.) öt injektálására kapott eredményekből történik. Ha a szórási koefficiens ($CV\% = (\text{standard eltérés/középtérték}) \cdot 100$) $\pm 1\%$ -on belül van, akkor az RF_i átlagértéke elfogadható.

A fenti számítást a lineárisérzékenység-tesztoldatokból (4.5.3.) minőség-ellenőrzés céljából vett mintában található transzanetol koncentrációjának a kiszámításához kell alkalmazni.

Ha a belső minőség-ellenőrzéshez kiválasztott lineáris oldat elemzéséből számított középtértékek az elméleti értékük $\pm 2,5\%$ -án belül vannak, akkor az ismeretlen mintákra vonatkozó eredmények elfogadhatók.

12. A nagy mennyiségű cukrot tartalmazó szeszesitalminták és a likőrminták gázkromatográfias elemzés előtti kezelése

Alkohol extrahálása a magas cukortartalmú szeszesitalból annak érdekében, hogy kapilláris gázkromatográfia segítségével meghatározható legyen a transzanetol-koncentráció.

12.1. Elv

A likőrminta aliquot mennyiségéhez hozzáadjuk a belső standardot, méghozzá a likőrben levő analit (transzanetol) koncentrációjához hasonló koncentrációban. Ehhez nátrium-foszfát-dodekahidrátot és vízmentes ammónium-szulfátot adunk. Az így kapott elegyet jól felrázzuk és lehűtjük, majd hagyjuk két réteg kialakulását, amelyek közül a felső alkoholréteget eltávolítjuk. Ennek az alkoholrétegnek az aliquot mennyiségét 45 térfogatszázalékos etanol oldattal (4.4.) hígítjuk. (Megjegyzés: ekkor nem adunk hozzá belső standardot, mert annak hozzáadása már megtörtént.) Az így kapott oldatot gázkromatográfias úton elemezzük.

12.2. Reagensek és anyagok

Az extrahálás során csak minimum 99 %-os tisztaságú reagenseket szabad használni.

12.2.1. Ammónium-szulfát, vízmentes (CAS 7783-20-2).**12.2.2. Kétfázisú nátrium-foszfát-dodekahidrát (CAS 10039-32-4).****12.3. Készülékek és berendezések**

Erlenmeyer-lombikok, választólombikok, hűtőszekrény.

12.4. Eljárás**12.4.1. Mintavizsgálat az esztragnol jelenlétének meghatározása céljából**

Belső standard hozzáadása nélküli vak extrahálást (12.6.2.) és elemzést kell elvégezni, hogy meggyőződjünk arról, hogy a mintában nem fordul elő természetes esztragnol. Ha a mintában természetes esztragnol fordul elő, akkor egy másik belső standardot kell választani.

12.4.2. Extrahálás

Pipetázzunk 5 ml 96 % (V/V) etanolt (4.1.) egy Erlenmeyer-lombikba, mérjünk be ebbe a lombikba 50 mg belső standardot (4.3.), majd adjunk hozzá 50 ml mintát. Adjunk hozzá 12 g vízmentes ammónium-szulfátot (12.2.1.) és 8,6 g kétfázisú nátrium-foszfát-dodekahidrátot (12.2.2.). Zárjuk le dugóval az Erlenmeyer-lombikot.

Rázzuk a lombikot legalább 30 percen keresztül. Ehhez használható valamilyen mechanikus rázóeszköz, kivéve a teflonbevonatú mágneses keverőrudat, mivel a teflon felszívja az analit egy részét. Megjegyzendő, hogy a hozzáadott sók nem oldódnak fel maradéktalanul.

A dugóval lezárt lombikot helyezzük legalább két órára hűtőszekrénybe ($T < 5^\circ\text{C}$).

Ezt követően két jól elkülönülő folyadékrétegnek és egy szilárd maradéknak kell látszania. Az alkoholrétegnek tisztának kell lennie; ellenkező esetben addig kell a hűtést folytatni, amíg a szeparálódás maradéktalanul végbe nem megy.

Amikor az alkoholréteg már tiszta, vegyünk ki abból aliquot mennyiséget (pl. 10 ml) a vizes réteg felzavarása nélkül, tegyük azt egy borostyánüveg fiolába, és jól zárjuk le.

12.4.3. Az elemzendő extrahált minta elkészítése

Hagyjuk, hogy az extraktum (12.4.2.) szobahőmérsékletűvé váljon.

Vegyünk ki 2 ml-t a szobahőmérsékletűvé vált extrahált minta alkoholrétegéből, pipetázzuk azt be egy 20 ml-es mérőlombikba, majd töltsük fel jelig 45 térfogatszázalékos etanollal (4.4.), és alaposan keverjük össze.

12.5. Meghatározás

Kövessük a 8.5. pontban leírt eljárást.

12.6. Az eredmények kiszámítása

Az eredmények kiszámítása az alábbi képlettel történik:

$$C_i = (m_{is}/V) * (\text{terület}_i/\text{terület}_{is}) * RF_i,$$

ahol:

m_{is} a kivett (12.4.2.) belső standard (4.3.) tömege (mg)

V az ismeretlen minta térfogata (50 ml)

RF_i az érzékenységi tényező (9.1.)

terület_i a transzanetol csúcsának területe

terület_{is} a belső standard csúcsának területe

Az eredmények kifejezése gramm/literben történik, egy tizedesjegy pontossággal.

12.7. Minőség-ellenőrzés és -biztosítás

Kövessük a fenti 11. pontban leírt eljárást.

13. A módszer teljesítőképességi jellemzői (pontossága)

A laboratóriumok közötti körvizsgálatok statisztikai eredményei:

az anetolra vonatkozó értékeket az alábbi táblázatok tartalmazzák.

Az alábbi adatok egy a módszer teljesítőképességi jellemzőire vonatkozó, nemzetközileg egyeztetett eljárások szerint elvégzett körvizsgálatból származnak.

A körvizsgálat éve	1 998
Laboratóriumok száma	16
Minták száma	10
Analit	anetol

Pastis:

Minták	A	B	C	D	E	F
Laboratóriumok száma a kiesők nélkül	15	15	15	13	16	16
A kiesők száma (laboratóriumok)	1	1	1	3	–	–
Az elfogadott eredmények száma	30	30	30	26	16	16
Középérték, g/l	1,477	1,955	1,940	1,833	1,741	1,754
Az ismételhetőség szórása (S_r), g/l	0,022	0,033	0,034	0,017	–	–
Az ismételhetőség relatív szórása (RSD_r), %	1,5	1,7	1,8	0,9	–	–
Ismételhetőségi határ (r), g/l	0,062	0,093	0,096	0,047	–	–
A reprodukálhatóság szórása (S_R), g/l	0,034	0,045	0,063	0,037	0,058	0,042
A reprodukálhatóság relatív szórása (RSD_R), %	2,3	2,3	3,2	2,0	3,3	2,4
Reprodukálhatósági határ (R), g/l	0,094	0,125	0,176	0,103	0,163	0,119

Mintatípusok:

A pastis, kettős vakpróba

B pastis, kettős vakpróba

C pastis, kettős vakpróba

D pastis, kettős vakpróba

E pastis, egyszeres

F pastis, egyszeres

Egyéb ánizsízésítésű szeszecskák:

Minták	G	H	I	J
Laboratóriumok száma a kiesők nélkül	16	14	14	14
A kiesők száma (laboratóriumok)	–	2	1	1
Az elfogadott eredmények száma	32	28	28	28
Középérték, g/l	0,778 0,530 (*)	1,742	0,351	0,599
Az ismételhetőség szórása (S_r), g/l	0,020	0,012	0,013	0,014
Az ismételhetőség relatív szórása (RSD_r), %	3,1	0,7	3,8	2,3
Ismételhetőségi határ (r), g/l	0,056	0,033	0,038	0,038
A reprodukálhatóság szórása (S_R), g/l	0,031	0,029	0,021	0,030
A reprodukálhatóság relatív szórása (RSD_R), %	4,8	1,6	5,9	5,0
Reprodukálhatósági határ (R), g/l	0,088	0,080	0,058	0,084

Mintatípusok:

G ouzo, osztott*

H ánizs, kettős vakpróba

I ánizsízésítésű likőr, kettős

J ánizsízésítésű likőr, kettős.

VI. GLYCYRRHIZIN-SAV. A GLYCYRRHIZIN-SAV MEGHATÁROZÁSA NAGY TELJESÍTMÉNYŰ FOLYADÉK-KROMATOGRÁFIÁVAL

1. Alkalmazási terület

Ez a módszer az ánizsízésítésű szeszecskákban található glycyrrhizin-sav nagy teljesítményű folyadék-kromatográfiával (HPLC) történő meghatározására szolgál. A 1576/89/EGK rendelet előírja, hogy a „pastis” néven ismert valamennyi ánizsízésítésű szeszecskának literenként 0,05 és 0,5 g közötti mennyiségű glycyrrhizin-savat kell tartalmaznia.

2. Rendelkező hivatkozások

ISO 3696: 1987: Víz: analitikai laboratóriumi használatra. Követelmények és vizsgálati módszerek.

3. Elv

A glycyrrhizin-sav koncentrációjának meghatározása nagy teljesítményű folyadékkromatográfiával történik, UV-detektálás mellett. A standardoldatot és a vizsgálati mintát szűrjük, majd külön-külön injektáljuk be közvetlenül a HPLC rendszerbe.

4. Reagensek és anyagok

Az elemzés során csak HPLC minőségű reagenseket, abszolút etanolt és az ISO 3696 szerinti 3-as tisztasági fokozatú vizet szabad használni.

- 4.1. 96 % (V/V) etanol (CAS 64-17-5).
- 4.2. Ammónium-glycyrrhizinát, $C_{42}H_{62}O_{16} \cdot NH_3$ (A glycyrrhizin-sav ammóniumsója)
(Molekulasúly: 839,98) (CAS 53956-04-0): legalább 90 %-os tisztaság
(A glycyrrhizin-sav molekulasúlya: 822,94)
- 4.3. Jégecet, CH_3COOH (CAS 64-19-7).
- 4.4. Metanol, CH_3OH (CAS 67-56-1).
- 4.5. 50 % (V/V) etanol
1 000 ml térfogathoz 20 °C-on:
– 96 % (V/V) etanol (4.1.): 521 ml
– Víz (2.0): 511 ml.
- 4.6. A HPLC elúciós oldatok elkészítése
- 4.6.1. „A” elúciós oldat (példa)
80 (térfogat)rész víz (2.0)
20 (térfogat)rész ecetsav (4.3.)
Gáztalanítsuk az elúciós oldatot öt percen keresztül.
- Megjegyzés: Ha az alkalmazott víz nem esett át mikroszűrőn, akkor ajánlatos az elkészült elúciós oldatot minimum 0,45 µm pórusméretű, szerves oldószerekhez használt szűrőn átszűrni.
- 4.6.2. „B” elúciós oldat
Metanol (4.4.)
- 4.7. Standardoldatok készítése
Két hónap elteltével valamennyi standardoldatból frisset kell készíteni.
- 4.7.1. „C” referenciaoldat
Mérjünk be 0,1 mg pontossággal 25 mg ammónium-glycyrrhizinátot (4.2.) egy 100 ml-es mérőlombikba. Adjunk hozzá 50 % (V/V) etanolt (4.5.) és oldjuk fel az ammónium-glycyrrhizinátot. Ezt követően töltsük fel jelig 50 % (V/V) etanollal (4.5.).
Szűrjük át szerves oldószerekhez használt szűrőn.
- 4.7.2. Standardoldat a műszerek lineáris érzékenysége ellenőrzéséhez
Készítsünk 1,0 g/l töménységű törzsoldatot úgy, hogy 100 mg ammónium-glycyrrhizinátot 0,1 mg pontossággal bemérünk egy 100 ml-es mérőlombikba. Adjunk hozzá 50 % (V/V) etanolt (4.5.) és oldjuk fel az ammónium-glycyrrhizinátot. Ezt követően töltsük fel jelig 50 % (V/V) etanollal (4.5.).
Készítsünk legalább négy másik oldatot – amelyek az ammónium-glycyrrhizinát 0,05, 0,1, 0,25 és 0,5 g/l koncentrációjának felelnek meg – úgy, hogy az 1,0 g/l töménységű törzsoldatból rendre 5 ml-t, 10 ml-t, 25 ml-t és 50 ml-t pipetázunk be egy-egy 100 ml-es mérőlombikba. Ezt követően töltsük fel jelig 50 % (V/V) etanollal (4.5.), és alaposan keverjük össze.
Valamennyi oldatot szűrjük át szerves oldószerekhez használt szűrőn.

5. Készülékek és berendezések

- 5.1. Elválasztó rendszer
- 5.1.1. Nagy teljesítményű folyadék-kromatográf.
- 5.1.2. Állandó vagy programozott áramlási sebesség elérését és fenntartását biztosító nagy pontosságú szivattyúrendszer.
- 5.1.3. UV spektrofotometriás detektáló rendszer: 254 nm hullámhosszra állítandó.
- 5.1.4. Oldószer-gáztalanító rendszer.
- 5.2. Számításra alkalmas integrátor vagy adatrögzítő, amelynek teljesítménye illeszkedik a rendszer többi részéhez.

- 5.3. Kolonna (példa):
 Anyag: rozsdamentes acél vagy üveg
 Belső átmérő: 4–5 mm
 Hosszúság: 100–250 mm
 Állófázis: oktadecillel módosított kereszttekőű szilikagél (C18), (lehetőség szerint gömb alakú) maximális szemcseméret: 5 µm.
- 5.4. Laboratóriumi berendezés
- 5.4.1. 0,1 mg mérési pontosságú analitikai mérleg
- 5.4.2. Precíziós mérőüvegek, A pontossági fokú
- 5.4.3. Mikromembrános szűrő kis volumenek esetén.

6. Kromatográfiás körülmények

- 6.1. Elúció jellemzők: (példa)
- áramlási sebesség: 1 ml/perc,
 - „A” oldószer = 30 %
 - „B” oldószer = 70 %.

- 6.2. Detektálás:
- UV = 254 nm

7. Eljárás

- 7.1. A szeszesital-minta elkészítése
- Szükség esetén szűrjük át 0,45 µm pórusméretű, szerves oldószerekhez használt szűrőn.
- 7.2. Meghatározás
- A kromatográfiás körülmények stabilizálását követően,
- injektáljunk be 20 µl „C” referenciaoldatot (4.7.1.),
 - injektáljunk be 20 µl mintaoldatot,
 - hasonlítsuk össze a két kromatogramot. A retenciós idők alapján határozzuk meg a glycyrrhizin-sav csúcsait. Mérjük meg a területüket (vagy magasságukat) és az alábbi egyenlet segítségével két tizedesjegyre pontossággal számítsuk ki a koncentrációt (g/l):

$$C = c \times \frac{h \times P \times 823}{H \times 100 \times 840}$$

ahol:

- c az elemzett szeszesitalban levő glycyrrhizin-sav koncentrációja (g/l)
- C a referenciaoldatban levő ammónium-glycyrrhizin koncentrációja (g/l)
- h az elemzett szeszesitalban levő glycyrrhizin-sav csúcsának területe (vagy magassága)
- H a referenciaoldatban levő glycyrrhizin-sav csúcsának területe (vagy magassága)
- P a referencia ammónium-glycyrrhizin tisztasága (%)
- 823 a glycyrrhizin-sav mólsúlya
- 840 az ammónium-glycyrrhizinát mólsúlya.

8. A módszer teljesítőképességi jellemzői (pontossága)

A körvizsgálatok statisztikai eredményei:

a glycyrrhizin-savra vonatkozó értékeket az alábbi táblázat tartalmazza.

Az alábbi adatok egy a módszer teljesítőképességi jellemzőire vonatkozó, nemzetközileg egyeztetett eljárások szerint elvégzett körvizsgálatból származnak.

A körvizsgálat éve	1 998
Laboratóriumok száma	16
Minták száma	5
Analit	glycyrrhizin-sav

Minták	A	B	C	D	E
Laboratóriumok száma a kiesők nélkül	13	14	15	16	16
A kiesők száma (laboratóriumok)	3	2	1	–	–
Az elfogadott eredmények száma	26	28	30	32	32
Közéérték, g/l	0,046	0,092 0,099 (*)	0,089	0,249	0,493
Az ismételhetőség szórása (S_r), g/l	0,001	0,001	0,001	0,002	0,003
Az ismételhetőség relatív szórása (RSD_r), %	1,5	1,3	0,7	1,0	0,6
Ismételhetőségi határ (r), g/l	0,002	0,004	0,002	0,007	0,009
A reprodukálhatóság szórása (S_R), g/l	0,004	0,007	0,004	0,006	0,013
A reprodukálhatóság relatív szórása (RSD_R), %	8,6	7,2	4,0	2,5	2,7
Reprodukálhatósági határ (R), g/l	0,011	0,019	0,010	0,018	0,037

Mintatípusok:

- A pastis, kettős vakpróba
- B pastis, osztott*
- C pastis, kettős vakpróba
- D pastis, kettős vakpróba
- E pastis, kettős vakpróba

VII. KALKONOK. NAGY TELJESÍTMÉNYŰ FOLYADÉK-KROMATOGRÁFIÁS MÓDSZER A PASTIS KALKON-TARTALMÁNAK MEGHATÁROZÁSÁHOZ

1. Alkalmazási terület

Ez a módszer annak meghatározására alkalmas, hogy az ánizsízésítésű szeszes italokban található-e kalkonok vagy nem. A kalkonok a flavonoidok közé tartozó olyan természetes színezőanyagok, amelyek az édesgyökérben (*Glycyrrhiza glabra*) fordulnak elő.

Ahhoz, hogy egy ánizsízésítésű szeszes ital a „pastis” nevet kapja, tartalmaznia kell kalkonokat (1576/89/EGK).

2. Rendelkező hivatkozások

ISO 3696: 1987: Víz: analitikai laboratóriumi használatra – Követelmények és vizsgálati módszerek.

3. Elv

Az édesgyökér extraktumából referenciaoldatot készítünk. A kalkonok jelenlétének vagy hiányának a meghatározása nagy teljesítményű folyadék-kromatográfiával (HPLC) történik, UV-detektorral.

4. Reagensok és anyagok

Az elemzés során csak HPLC minőségű reagenseket szabad használni. Az etanolnak 96 térfogatszázalékosnak kell lennie. Kizárólag az ISO 3696 szerinti 3-as tisztasági fokozatú vizet szabad használni.

- 4.1. 96 % (V/V) etanol (CAS 64-17-5).
- 4.2. Acetonitril, CH_3CN , (CAS 75-05-8)

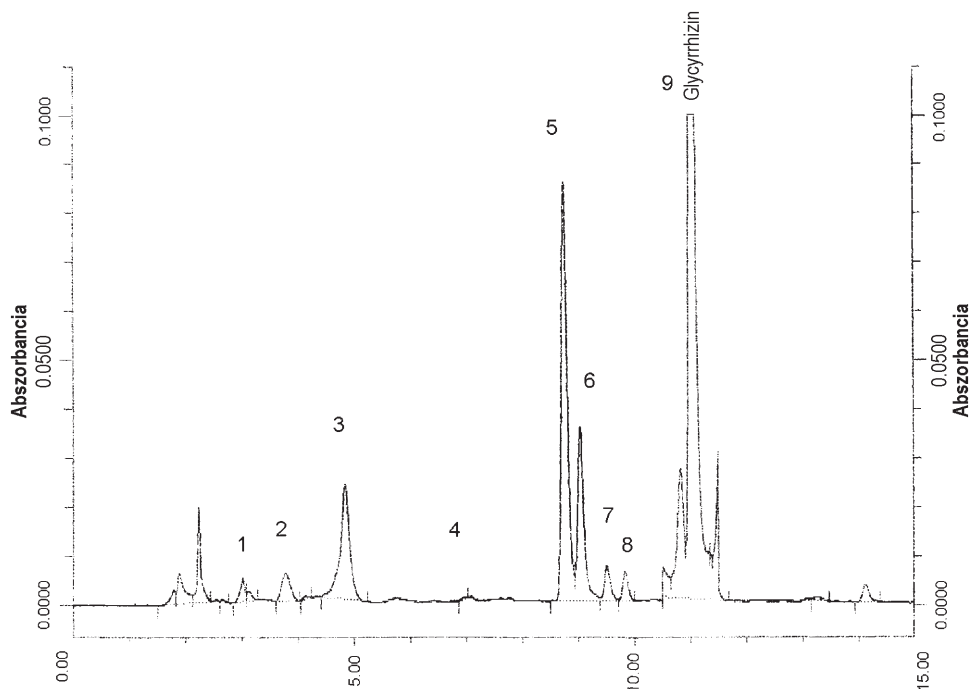
- 4.3. Referenciaanyag: *Glycyrrhiza glabra*: „édesgyökér”
Durvára őrölt édesgyökér (*Glycyrrhiza glabra*). Pálcika alakú, átlagos méretű részecskék: hosszúság: 10–15 mm, vastagság: 1–3 mm.
- 4.4. Nátrium-acetát, CH₃COONa, (CAS 127-09-3)
- 4.5. Jégecet, CH₃COOH, (CAS 64-19-7)
- 4.6. Oldatok készítése
- 4.6.1. 50 % (V/V) etanol
1 000 ml térfogathoz 20 °C-on:
– 96 % (V/V) etanol (4.1.): 521 ml,
– Víz (2.0): 511 ml.
- 4.6.2. „A” oldószer: acetonitril
HPLC analitikai minőségű acetonitril (4.2.).
Gáztalanítani.
- 4.6.3. „B” oldószer: 0,1 M nátrium-acetát pufferoldat, pH 4,66.
Mérjünk egy mérőlombikban 8,203 g nátrium-acetátot (4.4.), adjunk hozzá 6,005 g jégecetet (4.5.), majd vízzel (2) töltsük fel 1 000 ml-re.
5. **A *Glycyrrhiza glabra* referenciaextraktumának (4.3.) elkészítése**
- 5.1. Mérjünk le 10 g őrölt édesgyökér (4.3.), és tegyük desztilláló gömblombikba
– adjunk hozzá 100 ml 50 % (V/V) etanolt (4.6.1.),
– forraljuk visszafolyó hűtőn egy órán keresztül,
– szűrjük le,
– tegyük el a szűrletet a későbbi használatához.
- 5.2. Vegyük ki a szűrőből az édesgyökér extraktumát
– tegyük egy desztilláló gömblombikba,
– adjunk hozzá 100 ml 50 % (V/V) etanolt (4.6.1.),
– forraljuk visszafolyó hűtőn egy órán keresztül,
– szűrjük le és tegyük el a filtrátumot a későbbi használatához.
- 5.3. Az édesgyökér extrahálását egymás után háromszor kell elvégezni.
- 5.4. Egyesítsük a három filtrátumot.
- 5.5. Párolgassuk el az elegy (5.4.) oldószerfázisát körforgó evaporátorral.
- 5.6. Vegyük fel az elegy (5.4.) maradék extraktumát 100 ml 50 % (V/V) etanollal (4.6.1.).
6. **Készülékek és berendezések**
- 6.1. Elválasztó rendszer
- 6.1.1. Nagy teljesítményű folyadék-kromatográf.
- 6.1.2. Állandó vagy programozott áramlási sebesség nagy nyomás melletti elérését és fenntartását biztosító szivattyú-rendszer.
- 6.1.3. Spektrofotometriás detektálórendszer UV-/látható tartományban, amely 254 és 370 nm közötti hullámhosszra állítható be.
- 6.1.4. Oldószer-gáztalanító rendszer:
- 6.1.5. 40 ± 0,1 °C hőmérsékletűre állítható kolonna szárító.
- 6.2. Számításra alkalmas integrátor vagy adatrögzítő, amelynek teljesítménye illeszkedik az elválasztó rendszer többi részéhez.

- 6.3. Kolonna
- Anyag: rozsdamentes acél vagy üveg
- Belső átmérő: 4–5 mm
- Állófázis: oktadecillel módosított keresztkötésű szilikagél (lehetőség szerint gömb alakú) (C18), maximális szemcseméret: 5 µm (keresztkötésű fázis).
- 6.4. Általános laboratóriumi berendezés, különösen:
- 6.4.1. analitikai mérleg (pontosság: $\pm 0,1$ mg);
- 6.4.2. desztilláló készülék visszafolyós hűtővel és – például – az alábbi elemekkel:
- 250 ml-es gömblombik normál üvegcsiszolattal,
 - 30 cm hosszúságú visszafolyós hűtő, és
 - hőforrás (megfelelő eszköz alkalmazásával kell elkerülni azt, hogy az extraktum tüzet fogjon).
- 6.4.3. Rotációs párologtató készülék.
- 6.4.4. Szűrőeszköz (pl. Büchner-tölcsér).
- 6.5. Kromatográfiás körülmények (példa).
- 6.5.1. Az „A” (4.6.2.) és „B” (4.6.3.) oldószer elúciós jellemzői:
- gradiens elmozdulása 20/80 (v/v) értékről 50/50 (v/v) értékre 15 perc alatt,
 - gradiens elmozdulása 50/50 (v/v) értékről 75/25 (v/v) értékre öt perc alatt,
 - egyenlő erősség 75/25 (v/v) értéken öt percen keresztül,
 - kolonnastabilizálás az injektálások között,
 - egyenlő erősség 20/80 (v/v) értéken öt percen keresztül.
- 6.5.2. Áramlási sebesség: 1 ml/perc.
- 6.5.3. Az UV-detektor beállításai:
- A detektort 370 nm hullámhosszra kell beállítani a kalkonok, majd 254 nm hullámhosszra a glycyrrhizin-sav jelenlétének detektálásához.
- Megjegyzés: a hullámhossz megváltoztatását (370 nm-ről 254 nm-re) a glycyrrhizin-sav elúciós csúcsának kezdete előtt 30 másodperccel kell elvégezni.
7. **Eljárás**
- 7.1. A próbaminta elkészítése
- Szűrjük át szerves oldószerekhez használt szűrőn (pórusátmérő: 0,45 µm).
- 7.2. A maradék édesgyökér-extraktum (5.6.) elkészítése
- Az elemzés előtt készítsünk 1:10 arányú hígítást 50 % (V/V) etanollal (4.6.1.).
- 7.3. Meghatározás
- 7.3.1. Injektáljunk be 20 µl-t az elkészített édesgyökér-extraktumból (7.2.). Az elemzést a fenti (6.5.) kromatográfiás körülmények között végezzük el.
- 7.3.2. Injektáljunk be 20 µl-t a mintából (7.1.) (ánizsízésítésű szeszesisital-minta). Az elemzést a fenti (6.5.) kromatográfiás körülmények között végezzük el.
- 7.3.3. Hasonlítsuk össze a két kromatogramot. A kalkonkilépési zónában nagy hasonlóságnak kell lennie a két kromatogram között (a fenti elemzési körülmények között 370 nm-es hullámhossznál végzett detektálás során) (lásd az 1. ábrát).

8. Egy pastis jellemző kromatogramja

1. ábra

A fenti módszerrel kapott kromatogram, amely jelzi a kalkonok jelenlétét egy „pastis”-ban. Az 1–8. csúcs a kalkonokat, míg a 9. csúcs a glycyrrhizin-savat jelenti.



9. A módszer teljesítőképességi jellemzői (pontossága)

A körvizsgálatok eredményei:

az alábbi táblázat a kalkonok pastisban és ánizsízesítésű szeszesitalokban való jelenlétét vagy hiányát kimutató módszer teljesítményét tartalmazza.

Az alábbi adatok egy, a módszer teljesítőképességi jellemzőire vonatkozó, nemzetközileg egyeztetett eljárások szerint elvégzett körvizsgálatból származnak.

A körvizsgálatok éve 1 998

Laboratóriumok száma 14

Minták száma 11

Analit kalkonok

Minták	A	B	C	D	E	F
Laboratóriumok száma a kiesők nélkül	14	14	14	14	14	13
A kiesők száma (laboratóriumok)	–	–	–	–	–	1 (*)
Az elfogadott eredmények száma	28	14	14	28	28	26
A kalkonok jelenlétére utaló eredmények száma	28	14	14	0	28	0
A kalkonok hiányára utaló eredmények száma	0	0	0	28	0	26
A helyes eredmények százalékos aránya (%)	100	100	100	100	100	100

(*) A két ismétlés közötti eredmények ellentmondása a mintavétel során történt hiba miatt

Minták	G	H	I	J	K
Laboratóriumok száma a kiesők nélkül	14	14	14	14	14
A kiesők száma (laboratóriumok)	–	–	–	–	–
Az elfogadott eredmények száma	28	14	14	28	28
A kalkonok jelenlétére utaló eredmények száma	0	0	0	0	0
A kalkonok hiányára utaló eredmények száma	28	14	14	28	28
A helyes eredmények százalékos aránya (%)	100	100	100	100	100

Mintatípusok:

- A pastis, kettős vakpróba
- B pastis, egyszeres
- C pastis, egyszeres
- D „pastis” (kalkonokat nem tartalmaz), kettős vakpróba
- E „pastis” (kalkonokat nem tartalmaz), kettős vakpróba
- F ánizsízésítésű likőr (kalkonokat nem tartalmaz), kettős vakpróba
- G ánizsízésítésű likőr (kalkonokat nem tartalmaz), kettős vakpróba
- H ouzo (kalkonokat nem tartalmaz), egyszeres
- I ouzo (kalkonokat nem tartalmaz), egyszeres
- J ánizs (kalkonokat nem tartalmaz), kettős vakpróba
- K „pastis” (kalkonokat nem tartalmaz), kettős vakpróba.

IX. TOJÁSSÁRGÁJA. A SZESZESITALOKBAN TALÁLHATÓ TOJÁSSÁRGÁJA KONCENTRÁCIÓJÁNAK MEGHATÁROZÁSA – FOTOMETRIÁS MÓDSZER

1. Alkalmazási terület

Ez a módszer a tojáslikőrben és a tojásalapú likőrben található tojássárgája koncentrációjának 40 és 250 g/l közötti tartományban való meghatározására alkalmas.

2. Rendelkező hivatkozások

ISO 3696: 1987: Víz: analitikai laboratóriumi használatra – Meghatározások és vizsgálati módszerek.

3. Elv

A tojássárgájában található, etanolban oldható foszforvegyületeket extraháljuk és foszfor-molibdát komplexként fotometriásan mérjük.

4. Reagensek és anyagok

- 4.1. Kétszer desztillált víz
- 4.2. Kovaföld
- 4.3. 96 % (V/V) etanol (CAS 64-17-5)
- 4.4. 15 %-os magnézium-acetát (CAS 16674-78-5) oldat
- 4.5. 10 %-os kénsav (CAS 7664-93-9)

- 4.6. 1 N kénsav
- 4.7. 0,16 g/l töménységű kálium-dihidrogén-foszfát (CAS 778-77-0), KH_2PO_4 oldat
- 4.8. Reagens a foszfát meghatározásához:
- oldjunk fel 20 g ammónium-molibdátot (CAS 12054-85-2), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 400 ml vízben, 50 °C hőmérsékleten;
- egy másik edényben oldjunk fel 1 g ammónium-vanadátot (CAS 7803-55-6), NH_4VO_3 300 ml forró vízben, hagyjuk kihűlni, majd adjunk hozzá 140 ml tömény salétromsavat (CAS 7697-37-2). Egyesítsük a kihűlt oldatokat egy 1 000 ml-es mérőlombikban, és töltsük fel az 1 000 ml-es jelig.

5. Készülékek és berendezések

- 5.1. 100 ml-es Erlenmeyer-lombik
- 5.2. Ultrahangos fürdő (vagy mágneses keverő)
- 5.3. 100 ml-es mérőlombik
- 5.4. 20 °C-os vízfürdő
- 5.5. Szűrő (4. sz. Whatman vagy ezzel egyenértékű)
- 5.6. Porcelán (vagy platina) tégely
- 5.7. Forró vízfürdő
- 5.8. Főzőlap
- 5.9. Tokos kemence
- 5.10. 50 ml-es mérőlombik
- 5.11. 20 ml-es mérőlombik
- 5.12. 420 nm-es hullámhosszra beállított spektrofotométer
- 5.13. 1 cm-es küvette.

6. Minták

Elemzésük előtt a minták tárolása szobahőmérsékleten történik.

7. Eljárás

- 7.1. Minta előkészítése
- 7.1.1. Mérjünk be 10 g mintát egy 100 ml-es Erlenmeyer-lombikba (5.1.).
- 7.1.2. Apró adagokban adjunk hozzá keverés mellett fokozatosan 70 ml etanolt (4.3.), és tegyük ultrahangos fürdőbe (5.2.) 15 percre (vagy keverjük az elegyet mágneses keverővel (5.2.) 10 percen keresztül szobahőmérsékleten).
- 7.1.3. Töltsük át a lombik tartalmát egy 100 ml-es mérőlombikba (5.3.), etanolos (4.3.) öblítés mellett. Töltsük fel jelig etanollal (4.3.), és tegyük a lombikokat 20 °C hőmérsékletű vízfürdőbe (5.4.). Töltsük fel jelig 20 °C-on.
- 7.1.4. Adjunk hozzá kis mennyiségű kovaföldet (4.2.), és szűrjük le (5.5.) úgy, hogy az első 20 ml-t eldobjuk.
- 7.1.5. Töltsünk át 25 ml-t a filtrátumból egy porcelán (vagy platina) tégelybe (5.6.). A filtrátumot ezután forró vízfürdőben (5.7.) végzett enyhe párologtatás mellett kell besűriteni 5 ml 15 %-os magnézium-acetát oldat (4.4.) hozzáadása mellett.
- 7.1.6. Tegyük a tégelyeket főzőlapra (5.8.), és megszáradásig melegítsük azokat.
- 7.1.7. Tokos kemencében (5.9.) 600 °C-ra izzítva hamvasszuk el a maradékot – amíg a hamu fehér színűvé nem válik – minimum másfél órán keresztül, vagy egy éjszakán át.
- 7.1.8. A hamut vegyük fel 10 ml 10 %-os kénsavval (4.5.), és desztillált vízzel (4.1.) kiöblítve töltsük át egy 50 ml-es mérőlombikba (5.10.), majd desztillált vízzel (4.1.) töltsük fel jelig szobahőmérsékleten. Ennek a hamuoldatnak 5 ml-es aliquot mennyiségét kell felhasználni a fotometriás foszfátmérés mintaoldatának az elkészítéséhez.
- 7.2. Fotometriás foszfátmérés
- 7.2.1. Összehasonlító oldat
- 7.2.1.1. Tegyük 10 ml 10 %-os kénsavat (4.5.) egy 50 ml-es mérőlombikba (5.10.), és töltsük fel jelig desztillált vízzel (4.1.).

- 7.2.1.2. Ennek az oldatnak (7.2.1.1.) egy 20 ml-es mérőlombikban (5.11.) levő, 5 ml-es aliquot részéhez adjunk 1 ml 1 N kénsavat (4.6.) és 2 ml foszfátreagenst (4.8.), majd töltsük fel 20 ml-re desztillált vízzel (4.1.).
- 7.2.1.3. Zárjuk le lazán behelyezett dugóval, rázzuk fel és melegítsük forró vízfürdőben (5.7.) 10 percen keresztül, majd hűtsük le 20 °C hőmérsékletű vízfürdőben (5.4.) 20 percen keresztül.
- 7.2.1.4. Töltsünk meg ezzel az összehasonlító oldattal egy 1 cm-es küvettát (5.13.).
- 7.2.2. Mintaoldat
- 7.2.2.1. A hamuoldatnak (7.1.8.) egy 20 ml-es mérőlombikban (5.11.) levő, 5 ml-es aliquot részéhez adjunk 1 ml 1 N kénsavat (4.6.) és 2 ml foszfát reagenst (4.8.), majd töltsük fel 20 ml-re desztillált vízzel (4.1.).
- 7.2.2.2. Zárjuk le lazán behelyezett dugóval, rázzuk fel és melegítsük forró vízfürdőben (5.7.) 10 percen keresztül, majd hűtsük le 20 °C hőmérsékletű vízfürdőben (5.4.) 20 percen keresztül.
- 7.2.2.3. A kapott sárga színű oldatot egy 1 cm-es küvettában (5.13.) azonnal vessük alá spektrofotometriás (5.12.) elemzésnek 420 nm-es hullámhosszon az összehasonlító oldattal (7.2.1.4.) szemben.
- 7.2.3. Kalibrációs görbe
- 7.2.3.1. A kalibrációs görbe elkészítése érdekében adjunk a foszfát reagensből (4.8.) 2 ml-es aliquot részeket olyan 20 ml-es mérőlombikokba (5.11.), amelyek 1 ml 1 N kénsavat (4.6.) és egyenként 0, 2, 4, 6, 8 és 10 ml kálium-dihidrogén-foszfát oldatot (4.7.) tartalmaznak, majd töltsük fel azokat jelig desztillált vízzel (4.1.).
- 7.2.3.2. Zárjuk le lazán behelyezett dugóval, rázzuk fel és melegítsük forró vízfürdőben (5.7.) 10 percen keresztül, majd hűtsük le 20 °C hőmérsékletű vízfürdőben (5.4.) 20 percen keresztül, és egy 1 cm-es küvettában (5.13.) vessük alá spektrofotometriás (5.12.) elemzésnek 420 nm-es hullámhosszon az összehasonlító oldattal (7.2.1.4.) szemben.
- 7.2.3.3. A kalibráló görbe elkészítése:

kálium-dihidrogén-foszfát oldat (ml)	0	2	4	6	8	10
P ₂ O ₅ (mg)	0	0,167	0,334	0,501	0,668	0,835

8. Az eredmények megadása

A tojássárgája tartalom (g/l) kiszámítása az alábbi képlettel történik:

$$\text{tojássárgája (g/l)} = (\text{mg}) \text{ P}_2\text{O}_5 \times \frac{110 \times \text{sűrűség}}{E/40}$$

ahol:

110 a 100 g tojássárgájában levő összes P₂O₅ (g) konverziós tényezője

P₂O₅ (mg) a kalibrációs görbéből meghatározott érték

sűrűség a tojásalapú likőr egységnyi térfogatra eső tömege (g/ml) 20 °C hőmérsékleten

E a tojásalapú likőr tömege (g)

40 az 5 ml-es aliquot mennyiségű hamuoldat hígítási tényezője.

9. A módszer teljesítőképeségi jellemzői (pontossága)

A körvizsgálat statisztikai eredményei:

a tojássárgájára vonatkozó értékeket az alábbi táblázat tartalmazza.

Az alábbi adatok egy a módszer teljesítményjellemzőire vonatkozó, nemzetközileg egyeztetett eljárások szerint elvégzett körvizsgálatokból származnak.

A körvizsgálat éve	1 998
Laboratóriumok száma	24
Minták száma	5
Analit	tojássárgája

Minták	A	B	C	D	E
Laboratóriumok száma a kiesők nélkül	19	20	22	20	22
A kiesők száma (laboratóriumok)	3	4	2	4	2
Az elfogadott eredmények száma	38	40	44	40	44
Középérték	147,3	241,1	227,4	51,9 (*) 72,8 (*)	191,1
Az ismételhetőség szórása (S_r), g/l	2,44	4,24	3,93	1,83	3,25
Az ismételhetőség relatív szórása (RSD_r), %	1,7	1,8	1,8	2,9	1,7
Ismételhetőségi határ (r), g/l	6,8	11,9	11,0	5,1	9,1
A reprodukálhatóság szórása (S_R), g/l	5,01	6,06	6,66	3,42	6,87
A reprodukálhatóság relatív szórása (RSD_R), %	3,4	2,5	2,9	5,5	3,6
Reprodukálhatósági határ (R), g/l	14,1	17,0	18,7	9,6	19,2

Mintatípusok:

A Advocaat, kettős vakpróba

B Advocaat, kettős vakpróba

C Advocaat, kettős vakpróba

D Advocaat (hígított), osztott*

E Advocaat, kettős vakpróba