

32003R0440

11.3.2003

DZIENNIK URZĘDOWY UNII EUROPEJSKIEJ

L 66/15

ROZPORZĄDZENIE KOMISJI (WE) NR 440/2003**z dnia 10 marca 2003 r.****zmieniające rozporządzenie (EWG) nr 2676/90 określające wspólnotowe metody analizy wina**

KOMISJA WSPÓLNOT EUROPEJSKICH,

uwzględniając Traktat ustanawiający Wspólnotę Europejską,

uwzględniając rozporządzenie Rady (WE) nr 1493/1999 z dnia 17 maja 1999 r. w sprawie wspólnej organizacji rynku wina ⁽¹⁾, ostatnio zmienione rozporządzeniem (WE) nr 2585/2001 ⁽²⁾, w szczególności jego art. 46 ust. 3 akapit pierwszy,

a także mając na uwadze, co następuje:

- (1) Załącznik do rozporządzenia Komisji (EWG) nr 2676/90 ⁽³⁾, ostatnio zmienionego rozporządzeniem (WE) nr 1622/2000 ⁽⁴⁾, opisuje metody analizy.
- (2) Metoda analizy dla kwasu D-jabłkowego, odpowiednia dla pomiarów niskich poziomów wykrywanych w winie, rozwinęła się i była oceniana zgodnie z rozpoznanymi kryteriami międzynarodowymi. Międzynarodowe Biuro Winorośli i Wina przyjęło opis nowej metody podczas Zgromadzenia Ogólnego w czerwcu 2002 r.
- (3) Rozwinęła się nowa metoda oznaczania stosunku intensywności izotopów węgla w winnym alkoholu etylowym lub alkoholu etylowym uzyskanym poprzez fermentację moszczu gronowego, moszczu gronowego zagęszczonego lub rektyfikowanego zagęszczonego moszczu gronowego; została ona zatwierdzona zgodnie z rozpoznanymi kryteriami międzynarodowymi. Międzynarodowe Biuro Winorośli i Wina przyjęło opis tej nowej metody podczas Zgromadzenia Ogólnego w 2001 r.
- (4) Wykorzystanie tych metod może zapewnić lepszą kontrolę jakości wina i autentyczności oraz zapobiec dyskusjom spowodowanym stosowaniem mniej dokład-

nych metod badania, w szczególności odnośnie do wzbogacania mieszanek cukrów różnego pochodzenia i zakwaszenia win przy wykorzystaniu kwasu jabłkowego.

- (5) Istniejąca metoda dozowania kwasu D-jabłkowego opisana w Załączniku do rozporządzenia (EWG) nr 2676/90 powinna zostać uzupełniona opisem procedury dla oznaczania niskich poziomów oraz opisem nowej metody izotopowej dla węgla w alkoholu etylowym.
- (6) Środki przewidziane w niniejszym rozporządzeniu są zgodne z opinią Komitetu Zarządzającego ds. Wina,

PRZYJMUJE NINIEJSZE ROZPORZĄDZENIE:

Artykuł 1

W Załączniku do rozporządzenia (EWG) nr 2676/90 wprowadza się następujące zmiany:

- 1) W rozdziale 20 „D-kwas jabłkowy” pkt 8 zastępuje się tekstem znajdującym się w załączniku I do niniejszego rozporządzenia.
- 2) W załączniku II dodaje się rozdział 45.

Artykuł 2Niniejsze rozporządzenie wchodzi w życie siódmego dnia po jego opublikowaniu w *Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej*.

Niniejsze rozporządzenie wiąże w całości i jest bezpośrednio stosowane we wszystkich Państwach Członkowskich.

Sporządzono w Brukseli, dnia 10 marca 2003 r.

W imieniu Komisji

Franz FISCHLER

Członek Komisji

⁽¹⁾ Dz.U. L 179 z 14.7.1999, str. 1.⁽²⁾ Dz.U. L 345 z 29.12.2001, str. 10.⁽³⁾ Dz.U. L 272 z 3.10.1990, str. 1.⁽⁴⁾ Dz.U. L 194 z 31.7.2000, str. 1.

ZAŁĄCZNIK I

„8. DOZOWANIE KWASU D-JABŁKOWEGO (D(+)-KWAS JABŁKOWY) W WINACH O NISKIM POZIOMIE KWASU D-JABŁKOWEGO

8.1. ZAKRES ZASTOSOWANIA

Opisana metoda jest stosowana do dozowania, środkami enzymatycznymi, kwasu D-jabłkowego w winach o poziomie poniżej 50 mg/l.

8.2. ZASADA

Zasadę tej metody opisano w pkt 1. Powstawanie NADH po wprowadzeniu do celki 50 mg/l kwasu D-jabłkowego jest proporcjonalne do ilości D-jabłczanu obecnego i jest mierzone na podstawie wzrostu chłonności przy długości fali 340 nm.

8.3. ODCZYNNIKI

0,199 g/l roztworu kwas D-jabłkowego plus odczynniki wskazane w pkt 2.

8.4. APARATURA

Aparatura określona w pkt 3.

8.5. PRZYGOTOWANIE PRÓBK

Jak określono w pkt 4.

8.6. PROCEDURA

Procedura jest taka, jaką opisano w pkt 5, ale łącznie z wprowadzeniem do celki pomiarowej 50 mg/l kwasu D-jabłkowego. (Wprowadzenie 0,025 ml roztworu 0,199 g/l kwasu D-jabłkowego, zastępując równoważną ilość wody; uzyskane wartości pomniejsza się o 50 mg/l).

8.7. WEWNĘTRZNA OCENA

Poniższa tabela podsumowuje informacje dotyczące wewnętrznej oceny metody określania dozowania kwasu D(+)-jabłkowego po dodaniu 50 mg/l izomeru.

Zakres pomiarowy	0 mg do 70 mg kwasu D- jabłkowego na litr. W tych granicach metoda jest linearna ze współczynnikiem korelacji między 0,990 a 0,994
Limit kwantyfikacji	24,4 mg/l
Limit wykrywania	8,3 mg/l
Czułość	0,0015 abs/mg/l
Stopień regeneracji	87,5–115,0 % dla białych win i 75–105 % dla czerwonych win
Powtarzalność	= 12,4 mg/l dla białych win (zgodnie z metodą OIV = 12,5 mg/l) = 12,6 mg/l dla czerwonych win (zgodnie z metodą OIV = 12,7 mg/l)
Współczynnik zmienności	4,2–7,6 % (białe wina i czerwone wina)
Zmienność wewnątrzlaboratoryjna	CV = 7,4 % (s = 4,4 mg/l; średnia = 59,3 mg/l)”

ZAŁĄCZNIK II

„45. OZNACZANIE INTENSYWNOŚCI $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ METODĄ SPEKTOMETRII MASOWEJ IZOTOPÓW W ALKOHOLU ETYLOWYM WINA LUB ALKOHOLU ETYLOWYM UZYSKANYM W WYNIKU FERMENTACJI MOSZCZU, ZAGĘSZCZONEGO MOSZCZU LUB REKTYFIKOWANEGO MOSZCZU ZAGĘSZCZONEGO

1. ZAKRES ZASTOSOWANIA

Ta metoda umożliwia pomiar stosunku intensywności izotopów $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ w winnym alkoholu etylowym i alkoholu etylowym uzyskanym z fermentacji produktów z winorośli (moszczu, moszczu zagęszczonego, rektyfikowanego moszczu zagęszczonego).

2. NORMY REFERENCYJNE

ISO: 5725:1994 „Dokładność (prawdziwość i precyzja) metod pomiarowych oraz wyników: Podstawowa metoda oznaczania powtarzalności i odtwarzalności standardowej metody pomiarowej”.

V-PDB: Vienna-Pee-Dee Belemnite (RPDB = 0,0112372).

Metoda 8 załącznika do niniejszego rozporządzenia: „Wykrywanie wzbogacania moszczu gronowych, zagęszczonych moszczu gronowych, rektyfikowanych zagęszczonych moszczu gronowych i win metodą magnetycznego rezonansu jądrowego deuteru (SNIF-NMR)”.

3. TERMINY I DEFINICJE

$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$: stosunek intensywności izotopów węgla 13 (^{13}C) do węgla 12 (^{12}C) dla danej próbki.

$\delta^{13}\text{C}$: zawartość węgla 13 (^{13}C) wyrażona w częściach na 1000 (‰).

SNIF-NMR: frakcjonowanie poszczególnego badanego izotopu naturalnego poprzez magnetyczny rezonans jądrowy.

V-PDB: Vienna-Pee-Dee Belemnite. PDB jest pierwotnym materiałem odniesienia dla pomiaru naturalnej zmienności zawartości izotopu węgla 13, składającą się z węglanu wapnia formacji belemnitowej z okresu kredowego z Południowej Karoliny (USA). Jego stosunek intensywności izotopów $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ lub RPDB wynosi 0,0112372. Zasoby PDB są od dawna wyczerpane, lecz pozostają pierwotnym odniesieniem dla wyrażania naturalnej zmienności zawartości izotopu węgla 13, według którego kalibrowany jest materiał odniesienia dostępny w Międzynarodowej Agencji Energii Atomowej (MAEA) w Wiedniu (Austria). Wskazania izotopowe naturalnie występującego węgla 13 są zwyczajowo wyrażane w stosunku do V-PDB.

m/z: stosunek masy do ładunku.

4. ZASADA

Podczas fotosyntezy asymilacja ditlenku węgla przez rośliny odbywa się na zasadzie dwóch głównych rodzajów metabolizmu, metabolizmu C_3 (cykl Calvina) i metabolizmu C_4 (Hatch i Slack). Te dwa mechanizmy fotosyntezy powodują różny typ frakcjonowania izotopów. Produkty roślin C_4 , takie jak cukry i alkohol powstające w wyniku fermentacji, mają wyższe poziomy węgla 13 niż podobne produkty roślin C_3 . Większość roślin, włączając winorośl i buraki cukrowe, należą do grupy roślin C_3 . Trzcina cukrowa i kukurydza należą do grupy C_4 . Pomiar zawartości węgla 13 umożliwia wykrywanie i ocenę cukrów pochodzenia z grupy C_4 (trzcina cukrowa lub izoglukoza z kukurydzy) dodanych do produktów winogronowych (moszczu gronowego, win itp.). Informacje na temat zawartości węgla 13 powiązane z tymi otrzymanymi w wyniku SNIF-NMR umożliwiają ustalenie dodanych ilości mieszanin cukrów lub alkoholi pochodzących z roślin typu C_3 i C_4 .

Zawartość węgla 13 ustalana jest na ditlenku węgla wyprodukowanym podczas całkowitego spalania próbki. Rozpowszechnienie głównych izotopomerów o masach 44 ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}_2$), 45 ($^{13}\text{C}^{16}\text{O}_2$ i $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$) oraz 46 ($^{13}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$), wynikających z różnych możliwych kombinacji izotopów ^{18}O , ^{17}O , ^{16}O , ^{13}C i ^{12}C , ustala się na podstawie prądów jonowych mierzonych przez trzy różne kolektory spektrometru mas izotopów. Udział izotopomerów $^{13}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$ i $^{12}\text{C}^{17}\text{O}_2$ może być pominięty pod warunkiem ich niskich poziomów. Prąd jonowy m/z = 45 koryguje się dla składu $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$, który jest obliczany zgodnie z natężeniem prądu dla m/z = 46, przy uwzględnieniu względnego rozpowszechnienia ^{18}O i ^{17}O (poprawka Craiga). Porównanie z odniesieniem kalibrowanym względem międzynarodowego odniesienia V-PDB pozwala na obliczenie zawartości węgla 13 na skali względnej $\delta^{13}\text{C}$.

5. ODCZYNNIKI

Materiał oraz paliwo zależą aparatury (pkt 6) używanej w laboratorium. Układy zwykle stosowane opierają się na analizatorach elementarnych. Te układy mogą być wyposażone tak, aby umożliwić wprowadzenie próbki umieszczonej w zabezpieczonych metalowych kapsułach lub wstrzyknięcie strzykawką przez korek próbek płynnych.

W zależności od rodzaju stosowanych przyrządów następujące materiały odniesienia, odczynniki oraz paliwa mogą być użyte:

- materiały odniesienia
- dostępne z MAEA:

Nazwa	Materiał	$\delta^{13}\text{C}$ w stosunku do V-PDB (9)
— IAEA-CH-6	Sacharoza	- 10,4 ‰
— IAEA-CH-7	Polietylen:	- 31,8 ‰
— NBS22	Olej	- 29,7 ‰
— USGS 24	Grafit	- 16,1 ‰

- dostępne z IRMM w Geel (B) (Instytutu Materiałów Odniesienia i Pomiarów):

Nazwa	Materiał	$\delta^{13}\text{C}$ w stosunku do V-PDB (9)
— CRM/BCR 656	Alkohol winny	- 26,93 ‰
— CRM/BCR 657	Głukoza	- 10,75 ‰
— CRM/BCR 660	Roztwór wodno-alkoholowy (ASV 12 ‰)	- 26,72 ‰

- standardowa próbka robocza o znanym stosunku $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ kalibrowana względem międzynarodowych materiałów odniesienia,
- poniżej znajduje się wskazany wykaz paliw do układów o ciągłym przepływie:
 - hel do analizy (CAS 07440–59–7),
 - tlen do analizy (CAS 07782–44–7),
 - ditlenek węgla do analizy, używany jako wtórny gaz odniesienia, zawartości węgla 13 (CAS 00124–38–9),
 - odczynnik utleniający do pieców należących do układów spalania, np. tlenek miedzi (II) do analizy elementarnej (CAS 1317–38–0),
 - ekzykator w celu eliminowania wody wytworzonej podczas spalania, np. anhydryn do analizy elementarnej (nadtlenek magnezu) (CAS 10034–81–8). (Nie jest on niezbędny w przypadku aparatury wyposażonej w układ usuwania wody wykorzystujący łapacze kriogeniczne lub częściowo przepuszczalne rurki kapilarne).

6. APARATURA I WYPOSAŻENIE

6.1. Spektrometr masowy do określania składu izotopowego (IRMS)

Spektrometr mas do określania stosunku izotopów (IRMS) posiadający możliwość określania względnej zawartości ^{13}C w naturalnie występującym gazie CO_2 z wewnętrzną dokładnością do 0,05 ‰ lub lepiej wyrażoną jako wartość względną (pkt 9). Wewnętrzną dokładność określa się tutaj jako różnicę między dwoma pomiarami tej samej próbki CO_2 . Spektrometr mas wykorzystywany do pomiaru stosunków intensywności izotopów jest na ogół wyposażony w potrójny kolektor do równoczesnych pomiarów natężeń dla $m/z = 44, 45$ oraz 46 . Spektrometr mas do określania stosunku intensywności izotopów musi być wyposażony w podwójny wlot, aby przemiennie mierzyć nieznaną próbkę i próbkę odniesienia, lub wykorzystywać zintegrowany układ, który przeprowadza ilościowe spalanie próbek i oddziela ditlenek węgla od pozostałych produktów spalania przed pomiarem w spektrometrze mas.

6.2. Aparatura do spalania

Aparatura do spalania jest w stanie ilościowo przekonwertować alkohol etylowy w ditlenek węgla i usunąć pozostałe produkty spalania, w tym wodę, bez frakcjonowania izotopowego. Aparatura może być ciągłym układem przepływowym zintegrowanym z aparaturą spektrometrii masowej (ppkt 6.2.1) lub oddzielnym układem spalania (ppkt 6.2.2). Aparatura musi zapewniać przynajmniej wskazaną dokładność (ppkt 11).

6.2.1. Ciągłe układy przepływowe.

Na takie składają się analizator elementarny lub chromatograf z bezpośrednim układem spalania.

Następujący sprzęt laboratoryjny jest niezbędny dla układów tak wyposażonych, aby wprowadzać w nie próbki zawarte w metalowych kapsułach:

- kalibrowana mikrostrzykawka lub mikropipeta z odpowiednimi końcówkami,
- waga o dokładności do μg lub lepsza,
- szczypczyki do otoczkowania,
- blaszane kapsuły na próbki płynne,
- blaszane kapsuły na próbki stałe.

Uwaga: W celu zredukowania ryzyka wyparowania próbek alkoholu etylowego, substancja absorbująca (np. Chromosorb W 45–60 mesh) może zostać umieszczona w kapsułach, po uprzednim sprawdzeniu poprzez pomiar bez próbki, czy nie zawiera znaczących ilości węgla, który mógłby wpłynąć na wyniki.

Następujący sprzęt laboratoryjny jest niezbędny w przypadku korzystania z analizatora elementarnego wyposażonego we wtryskiwacz płynów lub w przypadku spalania chromatograficzny układ przygotowawczy:

- strzykawka do płynów,
- kolby wyposażone w szczelne zamknięcie oraz obojętne chemicznie i nieprzepuszczalne dla gazów korki.

Sprzęt laboratoryjny wskazany w powyższym wykazie jest przykładowy i może być zastąpiony przez urządzenia o podobnym działaniu w zależności od rodzaju aparatury do spalania i spektrometrii masowej używanej w danym laboratorium.

6.2.2. Oddzielny układ przygotowawczy

Próbki ditlenku węgla powstałe w wyniku spalania próbek do analizy i próbki odniesienia zbierane są w bańkach, które umieszcza się następnie w podwójnym wlocie spektrometru do analizy izotopów. Kilka aparatów do spalania opisanych w literaturze może być zastosowanych:

- zamknięty układ spalania wypełniony cyrkulującym tlenem,
- analizator elementarny z przepływem helu i tlenu,
- zapieczętowane kolby szklane wypełnione tlenkiem miedzi (II) jako utleniaczem.

7. PRZYGOTOWANIE PRÓBEK DO BADAŃ

Alkohol etylowy musi być ekstrahowany z wina przed badaniem izotopowym. Należy przeprowadzić to poprzez destylację wina jak opisano w ppkt 3.1 metody nr 8 (SNIF-NMR).

W przypadku moszczu gronowego, zagęszczonego moszczu gronowego i rektyfikowanego zagęszczonego moszczu gronowego cukry muszą być najpierw przefermentowane w alkoholu etylowym jak opisano w ppkt 3.2 metody nr 8.

8. PROCEDURA

Wszystkie kroki przygotowania należy przeprowadzić bez znacznej utraty alkoholu etylowego wskutek parowania, co zmieniłoby skład izotopowy próbek.

Następujący opis dotyczy procedur zwykle stosowanych dla spalania próbki alkoholu etylowego wykorzystujących zautomatyzowane przemysłowe układy spalania. Wszystkie pozostałe metody, które zapewniają, że całość próbki alkoholu etylowego zostaje przetworzona na ditlenek węgla bez żadnej utraty alkoholu etylowego w wyniku parowania, mogą być stosowane dla przygotowania ditlenku węgla do analizy izotopowej.

Metoda doświadczalna oparta na wykorzystaniu analizatora elementarnego:

a) umieszczanie próbek w kapsułach:

- użyć kapsuły, szczypczyków i tacy przygotowawczej, które muszą być czyste,
- pobrać szczypczykami kapsułę właściwych rozmiarów,
- wprowadzić mikropipetą właściwą ilość płynu do mikrostrzykawki,
- *Uwaga:* do otrzymania 2 mg węgla niezbędne jest 3,84 mg czystego alkoholu etylowego lub 4,17 mg destylatu o zawartości alkoholu 92 % m/m.,. Właściwa ilość destylatu musi zostać obliczona na tej podstawie, zgodnie z ilością potrzebnego węgla przy uwzględnieniu czułości aparatury do spektrometrii mas,
- przybliżyć kapsułę szczypczykami,

- każda kapsuła musi być całkowicie zapieczętowana. W przeciwnym razie musi być wyrzucona i należy przygotować nową kapsułę,
 - należy przygotować dwie kapsuły dla każdej próbki,
 - umieścić kapsuły we właściwym miejscu na tacy automatycznego próbnika analizatora elementarnego. Każdej kapsule należy nadać numer seryjny,
 - systematycznie umieszczać kapsuły zawierające robocze substancje odniesienia na początku i końcu serii próbek,
 - regularnie wprowadzać próbki kontrolne do serii próbek;
- b) sprawdzanie i przygotowanie aparatury do analizy elementarnej i spektrometrii masowej:
- dostosować temperaturę pieców analizatora elementarnego oraz przepływów helu i tlenu do optymalnego spalania próbki,
 - sprawdzić układy analizy elementarnej i spektrometrii masowej pod względem przecieków (np. poprzez sprawdzenie prądu jonowego, gdzie $m/z = 28$ dla N_2),
 - dostosować spektrometr mas, w celu pomiarów prądów jonowych $m/z = 44, 45$ i 46 ,
 - sprawdzić układ wykorzystując znane próbki kontrolne przed rozpoczęciem pomiaru próbek;
- c) przeprowadzanie serii pomiarów

Próbki umieszczone na automatycznym próbniku analizatora elementarnego (lub chromatografu) wprowadza się po kolei. Dytlenek węgla ze spalania każdej próbki jest eluowany do spektrometra mas, który mierzy prądy jonowe. Podłączony komputer rejestruje prądy jonowe i oblicza wartość δ dla każdej próbki (pkt 9).

9. OBLICZANIE

Celem metody jest pomiar $^{13}C/^{12}C$ stosunku intensywności izotopów alkoholu etylowego ekstrahowanego z wina lub produktów pochodzących z winogron w wyniku fermentacji. Stosunek intensywności izotopów $^{13}C/^{12}C$ można wyrazić poprzez jego odchylenie od wzorca roboczego. Odchylenie izotopowe węgla ^{13}C ($\delta^{13}C$) jest następnie obliczane na skali delta na tysiąc ($\delta/1000$) poprzez porównanie wyników uzyskanych dla próbki, którą się mierzy z tymi dla wzorca roboczego wcześniej skalibrowanego na podstawie pierwotnego międzynarodowego materiału odniesienia (V-PDB). Wartości $\delta^{13}C$ wyraża się w odniesieniu do wzorca roboczego jak podano:

$$\delta^{13}C_{\text{próbki/odniesienia}} \% = 1000 \times (R_{\text{próbki}} - R_{\text{odniesienia}}) / R_{\text{odniesienia}}$$

gdzie $R_{\text{próbki}}$ i $R_{\text{odniesienia}}$ są odpowiednio $^{13}C/^{12}C$ stosunkami izotopów próbki i ditlenku węgla użytego jako gaz odniesienia.

Wartości $\delta^{13}C$ wyrażane są względem V-PDB:

$$\delta^{13}C_{\text{próbki/V-PDB}} \% = \delta^{13}C_{\text{próbki/odniesienia}} + \delta^{13}C_{\text{odniesienia/V-PDB}} + (\delta^{13}C_{\text{próbki/odniesienia}} \times \delta^{13}C_{\text{odniesienia/V-PDB}}) / 1000,$$

gdzie $\delta^{13}C_{\text{odniesienia/V-PDB}}$ jest wcześniej określonym izotopowym odchyleniem wzorca roboczego od V-PDB.

Małe różnice mogą pojawić się podczas pomiaru bezpośredniego z uwagi na zmianę stanu przyrządów. W tym przypadku wartości $\delta^{13}C$ próbek należy skorygować zgodnie z różnicą mierzonej wartości $\delta^{13}C$ standardowej próbki roboczej i jej prawdziwą wartością, uprzednio skalibrowaną względem V-PDB poprzez porównanie z jedną z międzynarodowych substancji odniesienia. Między dwoma pomiarami standardowej próbki roboczej można założyć, że zmienność, a zatem poprawka, jaką należy zastosować do wyników uzyskanych z próbek, ma charakter liniowy. Standardową próbkę roboczą należy mierzyć na początku i na końcu wszystkich serii próbek. Poprawkę można obliczyć później dla każdej próbki wykorzystując interpolację liniową.

10. ZAPEWNIENIE I KONTROLA JAKOŚCI

Sprawdzić czy wartość ^{13}C dla wzorca roboczego nie różni się o nie więcej niż 0,5 % od dopuszczalnej wartości. W przeciwnym razie ustawienia aparatury spektrometrycznej należy sprawdzić i, jeśli to konieczne, dostosować.

Dla każdej próbki, sprawdzić czy różnica w wynikach dla dwóch kapsuł mierzonych kolejno jest mniejsza niż 0,3 %. Ostateczny wynik dla danej próbki jest średnią wartością dla dwóch kapsuł. Jeśli odchylenie jest większe niż 0,3 % pomiar należy powtórzyć.

Badania prawidłowości pomiarów mogą być oparte na prądzie jonowym gdzie $m/z = 44$, który jest proporcjonalny do ilości węgla wprowadzonego do analizatora elementarnego. W normalnych warunkach prąd jonowy powinien być prawie stały dla analizowanych próbek. Istotne odchylenie może wskazywać na parowanie alkoholu etylowego (np. wadliwe zapieczętowanie lub plomba na kapsule) lub niestabilność analizatora elementarnego lub spektrometra mas.

11. CHARAKTERYSTYKA WYKONANIA METODY (dokładność)

Przeprowadzono wspólne badanie wstępne (ppkt 11.1) na destylatach zawierających alkohol pochodzący z winorośli, trzciny cukrowej i buraka, jak również z różnych mieszanin alkoholi tego pochodzenia. Ponieważ to badanie nie uwzględniło procedury destylacyjnej, dalsze informacje z pozostałych badań międzylaboratoryjnych wina (ppkt 11.2) i, w szczególności, serii kontroli biegłości (ppkt 11.3) dla pomiarów izotopowych zostały również uwzględnione. Wyniki pokazują, że w odpowiednich warunkach, w szczególności tych dotyczących pomiaru wykorzystującego SNIF-NMR, różne układy destylacyjne nie wytwarzają znaczących zmienności w określaniu wartości $\delta^{13}\text{C}$ winnego alkoholu etylowego. Parametry dokładności obserwowane dla wina są niemal identyczne z tymi uzyskanymi we wspólnym badaniu destylatów (ppkt 11.1).

11.1. Wspólne badanie destylatów

Rok badań międzylaboratoryjnych: 1996

Ilość laboratoriów: 20

Liczba próbek: Sześć próbek w podwójnym ślepych porównaniu

analit: $\delta^{13}\text{C}$ alkoholu etylowego

Kod próbki	Alkohol pochodzenia winnego	Alkohol z buraka	Alkohol z trzciny cukrowej
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 %

Próbki	A/G	B/C	D/F	E/I	H/K	J/L
Liczba laboratoriów pozostałych po eliminacji wartości skrajnych	19	18	17	19	19	19
Ilość akceptowanych wyników	38	36	34	38	38	38
Wartość średnia ($\delta^{13}\text{C}$) ‰	-25,32	-26,75	-27,79	-25,26	-26,63	-12,54
S_t^2	0,0064	0,0077	0,0031	0,0127	0,0069	0,0041
Odchylenie standardowe powtarzalności (S_t) ‰	0,08	0,09	0,06	0,11	0,08	0,06
Limit powtarzalności r ($2,8 \times S_t$) ‰	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
Odchylenie standardowe odtwarzalności (S_R) ‰	0,20	0,18	0,20	0,21	0,18	0,24
Limit odtwarzalności R ($2,8 \times S_R$) ‰	0,55	0,49	0,55	0,60	0,50	0,68

11.2. Międzylaboratoryjne badanie na dwóch winach i jednym alkoholu

Rok testów międzylaboratoryjnych: 1996

Liczba laboratoriów: 14 do destylacji wina, z których siedem również mierzyło $\delta^{13}\text{C}$ winnego alkoholu etylowego,

Osiem do pomiaru $\delta^{13}\text{C}$ próbek alkoholu,

Liczba próbek: Trzy (białe wino o 9,3 % ASV, białe wino o 9,6 % ASV i zawartości alkoholu 93 % m/m).

Analit: $\delta^{13}\text{C}$ alkoholu etylowego

Próbki	Czerwone wino	Białe wino	Alkohol
Liczba laboratoriów	7	7	8
Liczba akceptowanych wyników	7	7	8
Wartość średnia ($\delta^{13}\text{C}$) ‰	-26,20	-26,20	-25,08
Różnica odtwarzalności S_R^2	0,0525	0,0740	0,0962
Odchylenie standardowe odtwarzalności (S_R) ‰	0,23	0,27	0,31
Limit odtwarzalności R ($2,8 \times S_R$) ‰	0,64	0,76	0,87

Uczestniczące laboratoria wykorzystały różne układy destylacyjne. Oznaczania izotopowe ($\delta^{13}\text{C}$) przeprowadzone w jednym laboratorium na wszystkich destylatach zwróconych przez uczestników nie wykazują żadnych odchyleń lub wartości, które znacznie różnią się od przeciętnych wartości. Zróżnicowanie w wynikach ($S^2 = 0,0059$) jest porównywalne do średnich różnic powtarzalności S_r^2 w połączonym badaniu destylatów (ppkt 11.1).

11.3. Wyniki doświadczeń przeprowadzonych w celu monitorowania fachowości wykonywania badań izotopowych

Od grudnia 1994 r. organizowano regularne międzynarodowe badania biegłości dotyczące określania pomiarów izotopowych dla wina i alkoholu (destylaty 96 % ASV). Wyniki umożliwiają uczestniczącym laboratorium sprawdzenie jakości swoich analiz. Wyniki statystyczne pozwalają na ocenę zróżnicowania pomiarów w warunkach odtwarzalności, a także oszacowanie parametrów odchylenia i limitu odtwarzalności. Wyniki uzyskane dla oznaczania $\delta^{13}\text{C}$ dla wina i destylatu alkoholu etylowego są zebrane w poniższej tabeli:

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

N: liczba uczestniczących laboratoriów.

11.4. Limity powtarzalności i odtwarzalności

Na podstawie danych z różnych testów międzylaboratoryjnych poddanych w powyższych tabelach, następujące limit powtarzalności i odtwarzalności można ustanowić dla tej metody, włączając etap destylacji:

Limit powtarzalności r : 0,24

Limit odtwarzalności R : 0,6".
