

Ta dokument je mišljen zgolj kot dokumentacijsko orodje in institucije za njegovo vsebino ne prevzemajo nobene odgovornosti

► **B**

UREDBA KOMISIJE (ES) št. 2870/2000
z dne 19. decembra 2000,
o določitvi referenčnih metod Skupnosti za analizo žganih pijač
(EGT L 333, 29.12.2000, s. 20)

spremenjena z:

Uradni list

št.	stran	datum
-----	-------	-------

► <u>M1</u>	Uredba Komisije (ES) št. 2091/2002 z dne 26. novembra 2002	L 322	11	27.11.2002
--------------------	--	-------	----	------------



UREDBA KOMISIJE (ES) št. 2870/2000

z dne 19. decembra 2000,

o določitvi referenčnih metod Skupnosti za analizo žganih pijač

KOMISIJA EVROPSKIH SKUPNOSTI JE

ob upoštevanju Pogodbe o ustanovitvi Evropskih skupnosti,

ob upoštevanju Uredbe Sveta (EGS) št. 1576/89 z dne 29. maja 1989 o določitvi splošnih pravil za opredelitev, opis in predstavitev žganih pijač ⁽¹⁾, kakor je bila spremenjena z aktom o pristopu Avstrije, Finske in Švedske, in zlasti člena 4(8) Uredbe,

ob upoštevanju naslednjega:

- (1) Člen 4(8) Uredbe (EGS) št. 1576/89 predvideva sprejetje metod, ki naj se uporabljajo za analizo žganih pijač. Referenčne metode naj se uporabljajo zaradi zagotavljanja skladnosti z Uredbo (EGS) št. 1576/89 in Uredbo Komisije (EGS) št. 1014/90 z dne 24. aprila 1990 o določitvi podrobnih izvedbenih pravil za opredelitev, opis in predstavitev žganih pijač ⁽²⁾, kakor sta bili nazadnje spremenjeni z Uredbo (ES) št. 2140/98 ⁽³⁾, kadar ob sporu nastopi uradni nadzor.
- (2) Koristno bi bilo, kolikor je to mogoče, kot referenčne analizne metode Skupnosti sprejeti in opisati splošno priznane metode.
- (3) Zaradi upoštevanja znanstvenega napredka in razlik v opremljenosti uradnih laboratorijev ter ob odgovornosti direktorja laboratorija mora biti dovoljena uporaba metod, ki temeljijo na drugačnih načelih merjenja in se razlikujejo od referenčnih metod iz Priloge k tej uredbi, če te metode dajejo zadovoljiva jamstva glede rezultatov in zlasti izpolnjujejo merila, določena v Prilogi k Direktivi Sveta št. 85/591/EGS z dne 20. decembra 1985 glede uvedbe metod Skupnosti za vzorčenje in analize pri monitoringu živil, namenjenih za prehrano ljudi ⁽⁴⁾, in če je mogoče dokazati, da so odmiki v točnosti, ponovljivosti in obnovljivosti dobljenih rezultatov v mejah tistih, ki so dobljeni z referenčnimi metodami, opisanimi v tej uredbi. Če je ta pogoj izpolnjen, mora biti dovoljena uporaba drugih analiznih metod. Kljub temu se navede, da druge metode ob sporu ne morejo nadomestiti referenčnih metod.
- (4) Ukrepi, predvideni s to uredbo, so v skladu z mnenjem Odbora za izvajanje določb o žganih pijačah –

SPREJELA NASLEDNJO UREDBO:

Člen 1

Referenčne metode Skupnosti za analizo žganih pijač, s katerimi se zagotavlja skladnost z Uredbo (EGS) št. 1576/89 in Uredbo (EGS) št. 1014/90:

— ko se opravlja kateri koli uradni nadzor ali

— ob sporu,

so tiste, ki so navedene v Prilogi k tej uredbi.

⁽¹⁾ UL L 160, 12.6.1989, str. 1.

⁽²⁾ UL L 105, 25.4.1990, str. 9.

⁽³⁾ UL L 270, 7.10.1998, str. 9.

⁽⁴⁾ UL L 372, 31.12.1985, str. 50.

▼B*Člen 2*

Ne glede na prvo alineo člena 1 so ob odgovornosti direktorja laboratorija dovoljene druge analizne metode pod pogojem, da sta točnost in natančnost (ponovljivost in obnovljivost) metod vsaj enaki kakor pri ustreznih referenčnih analiznih metodah, danih v Prilogi.

Člen 3

Kadar za določanje in ugotavljanje vsebnosti snovi v žgani pijači niso predpisane referenčne analizne metode Skupnosti, se uporabljajo naslednje metode:

- (a) analizne metode, ki so validirane kot mednarodno priznani postopki in ki zlasti izpolnjujejo merila iz Priloge k Direktivi 85/591/EGS;
- (b) analizne metode, ki ustrezajo priporočenim standardom Mednarodne organizacije za standardizacijo (ISO);
- (c) analizne metode, ki jih je priznala generalna skupščina Mednarodnega urada za trto in vino (OIV) in jih je objavil ta urad;
- (d) če zaradi točnosti, ponovljivosti in obnovljivosti ni metode, kakor je navedeno pod (a), (b) ali (c):
 - analizna metoda, ki jo potrdi zadevna država članica,
 - kadar je potrebno, katera koli ustrezna analizna metoda.

Člen 4

V tej uredbi pomeni:

- (a) „meja ponovljivosti“: vrednost, manjšo ali enako vrednosti, ki se kot absolutna razlika med dvema preskusnima rezultatoma, dobljenima pod pogoji ponovljivosti (isti izvajalec, ista oprema, isti laboratorij in kratek časovni presledek) lahko pričakuje s 95-odstotno verjetnostjo {ISO 3534-1};
- (b) „meja obnovljivosti“: vrednost, manjšo ali enako vrednosti, ki se kot absolutna razlika med dvema preskusnima rezultatoma, dobljenima pod pogoji obnovljivosti (različna izvajalca, različna oprema, različna laboratorija) lahko pričakuje s 95-odstotno verjetnostjo {ISO 3534-1};
- (c) „točnost“: doseženo ujemanje med rezultatom preskusa in sprejeto referenčno vrednostjo {ISO 3534-1}.

Člen 5

Ta uredba začne veljati sedmi dan po objavi v *Uradnem listu Evropskih skupnosti*.

Uporablja se od 1. januarja 2001.

Uredba je v celoti zavezujoča in se neposredno uporablja v vseh državah članicah.

▼B*PRILOGA***OPIS REFERENČNIH ANALIZNIH METOD**

- I. Dodatek I: Priprava destilata
 Dodatek II: Merjenje gostote destilata
 - Metoda A = piknometrija
 - Metoda B = elektronska denzimetrija
 - Metoda C = hidrostatska tehnika
- II. Določanje skupnega suhega ekstrakta z gravimetrijo
- III. Določanje hlapnih snovi in metanola
- III.1 Splošne opombe
- III.2 Hlapne snovi: aldehidi, višji alkoholi, etilacetat in metanol (plinska kromatografija)
- III.3 Hlapne kisline (p.m.)
- IV. Cianovodikova kislina (p.m.)
- V. Anetol ► **M1** ————— ◀
- VI. Glicirizinska kislina ► **M1** ————— ◀
- VII. Halkoni ► **M1** ————— ◀
- VIII. Skupni sladkorji (p.m.)
- IX. Jajčni rumenjaki ► **M1** ————— ◀

▼B**I. DOLOČANJE VSEBNOSTI ALKOHOLA V VOLUMSKIH
ODSTOTKIH V ŽGANIH PIJAČAH****Uvod**

Referenčna metoda vključuje dva dodatka:

Dodatek I: Priprava destilata

Dodatek II: Merjenje gostote destilata

1. Področje uporabe

Metoda je primerna za določanje dejanske volumske vsebnosti alkohola v žganih pijačah.

2. Normativne reference

ISO 3696:1987: Voda za laboratorijske analize – specifikacije in preskusne metode.

3. Izrazi in opredelitev pojmov**3.1 Referenčna temperatura:**

Referenčna temperatura za določanje volumske vsebnosti alkohola v žganih pijačah, gostote in relativne gostote je 20 °C.

Opomba 1: Izraz „pri t °C“ je namenjen za vsa določanja (gostote ali volumske vsebnosti alkohola), izražena s temperaturo, ki ni referenčna temperatura 20 °C.

3.2 Gostota:

Gostota je masa žganih pijač na enoto prostornine pri 20 °C v vakuumu. Izraža se v kilogramih na kubični meter, njen simbol pa je $\rho_{20\text{ °C}}$ ali ρ_{20} .

3.3 Relativna gostota:

Relativna gostota je z decimalnim številom izraženo razmerje med gostoto žgane pijače pri 20 °C in gostoto vode pri isti temperaturi. Označuje se z oznako $d_{20\text{ °C}/20\text{ °C}}$ ali $d_{20/20}$ ali preprosto z d, kadar ni možnosti zamenjave. Izmerjeni parameter je v certifikatu lahko naveden samo z zgoraj opredeljenimi simboli.

Opomba 2: Relativno gostoto je mogoče dobiti iz gostote ρ_{20} pri 20 °C:

$$\rho_{20} = 998,203 \text{ kg/m}^3 d_{20/20} \text{ ali } d_{20/20} = \rho_{20}/998,203$$

pri čemer je 998,203 kg/m³ gostota vode pri 20 °C.

3.4 Dejanska volumska vsebnost alkohola:

Dejanska volumska vsebnost alkohola žganih pijač je enaka številu litrov etilnega alkohola v 100 litrih vodno-alkoholne zmesi, ki ima isto gostoto kakor alkohol ali žganje po destilaciji. Uporabiti je treba referenčne vrednosti za razmerje med volumsko vsebnostjo alkohola (vol %) pri 20 °C in gostoto različnih vodno-alkoholnih zmesi pri 20 °C, danih v mednarodni tabeli, ki jo je sprejela Mednarodna organizacija za zakonsko meroslovje v Priporočilu št. 22.

Splošna enačba, ki zadeva volumsko vsebnost alkohola in gostoto vodno-alkoholne zmesi pri dani temperaturi, je dana na strani 40 v poglavju 3 „Volumska vsebnost alkohola“ Priloge k Uredbi Komisije (EGS) št. 2676/90 (UL L 272, 3.10.1990, str. 1) ali v Priročniku analiznih metod Mednarodnega urada za vinsko trto in vino (1994) (str. 17).

Opomba 3: Za likerje in kremne pijače, pri katerih je težko točno izmeriti prostornino, je treba vzorec stehitati in najprej izračunati masno vsebnost alkohola.

▼B

Formula za pretvorbo:

$$\text{volumska vsebnost alkohola (vol \%)} = \frac{\text{AMS (\% mase)} \cdot \rho_{20}(\text{vzorec})}{\rho_{20}(\text{alkohol})}$$

pri čemer je

AMS = masna vsebnost alkohola,

$\rho_{20}(\text{alkohol}) = 789,23 \text{ kg/m}^3$

4.

Princip

Po pripravi destilata se volumska vsebnost alkohola v destilatu določa s piknometrijo, elektronskim denzimetrom ali hidrostatsko tehniko.

▼B**DODATEK I: PRIPRAVA DESTILATA****1. Področje uporabe**

Metoda je primerna za pripravo destilatov, pri katerih se določa dejanska volumska vsebnost alkohola v žganih pijačah.

2. Princip

Žgane pijače se destilirajo tako, da se etilni alkohol in druge hlapne spojine ločijo od ekstrakcijske snovi (snovi, ki se ne destilirajo).

3. Reagenti in materiali**3.1 Vrelni kamenčki.****3.2 Koncentrirana emulzija proti penjenju (za kremne likerje).****4. Aparatura in oprema**

Običajna laboratorijska aparatura in zlasti naslednje.

4.1 Vodna kopel, ki jo je mogoče vzdrževati pri 10 °C do 15 °C.

Vodna kopel, ki jo je mogoče vzdrževati pri 20 °C ($\pm 0,2$ °C).

4.2 Merilne bučke (100 ml in 200 ml) razreda A, certificirane za 0,1 % in 0,15 % natančnost.**4.3 Aparatura za destilacijo:****4.3.1 Splošne zahteve**

Aparatura za destilacijo mora izpolnjevati naslednje zahteve:

- število spojev ne sme presegati strogega minimuma, ki je potreben za neprepustnost sistema,
- vključevati mora sestavni del, ki preprečuje kipenje (izguba vrelnih tekočin) in uravnava hitrost destilacije z alkoholom nasičenih hlapov,
- hitro in popolno mora kondenzirati alkoholne hlape,
- prve destilacijske frakcije mora zbrati v vodi.

Vir toplote je treba opremiti s primernim pripomočkom za razporejanje toplote, ki naj prepreči vsakršno pirogeno reakcijo nepredestiliranih snovi.

4.3.2 Primer ustrezne destilacijske aparature je prikazan na sliki 1, vključeni pa so naslednji deli:

- bučka, 1 liter, z okroglim dnom in s standardiziranim obrušom,
- rektifikacijska kolona, visoka vsaj 20 cm (na primer Vigreuxova kolona),
- upognjeni konektor s približno 10-centimetrskim ravnim hladilnikom (tipa West), nameščenim navpično,
- vijačni hladilnik, dolg 40 cm,
- cevasti nastavek, po katerem steče destilat na dno umerjene zbiralne bučke z malo vode.

Opomba: Zgoraj opisana aparatura je namenjena vzorcem s prostornino vsaj 200 ml. Manjši vzorec (100 ml) pa se lahko destilira v manjši destilacijski bučki pod pogojem, da se uporabi sredstvo, ki preprečuje kipenje, ali kak drug ustrezen pripomoček.

5. Hranjenje preskusnih vzorcev

Vzorci se pred analizo hranijo pri sobni temperaturi.

6. Postopek

Uvodna pripomba:

Destilirati je mogoče tudi po postopku, ki ga je objavil IUPAC (1968).

▼B

- 6.1 Preverjanje destilacijske aparature.
- Aparatura mora izpolnjevati naslednje zahteve:
- Destilacija 200 ml vodno-alkoholne zmesi z znano koncentracijo blizu 50 vol % ne sme povzročiti izgube alkohola za več kakor 0,1 vol %.
- 6.2 Žgane pijače z volumnsko vsebnostjo alkohola pod 50 vol %.
- V merilno bučko odmerimo 200 ml žganja.
- Zapišemo temperaturo te tekočine ali vzdržujemo stalno temperaturo (20 °C).
- Vzorec nalijemo v bučko, ki ima okroglo dno, destilacijskega aparata in splaknemo merilno bučko s tremi alikvotnimi deli po približno 20 ml destilirane vode. Vsak odmerek vode za splakovanje dodamo vsebini destilacijske bučke.
- Opomba: Teh 60 ml raztopine zadošča za žganja, ki vsebujejo manj kakor 250 g suhega ekstrakta na liter. Če je koncentracija suhega ekstrakta 300 g/l, mora biti vode za splakovanje zaradi preprečevanja pirolize vsaj 70 ml, za 400 g/l suhega ekstrakta 85 ml in za 500 g/l suhega ekstrakta (nekateri sadni ali kremni likerji) 100 ml. Prostornino sorazmerno prilagodimo različnim prostorninam vzorca.
- Dodamo nekaj vrelnih kamenčkov (3.1) (kremnim likerjem tudi sredstvo proti penjenju).
- Nalijemo 20 ml destilirane vode v pripravljeno 200-mililitrsko merilno bučko, v kateri se bo nabiral destilat. Bučko potem postavimo v hladno vodno kopel (4.1) (10 do 15 °C za žgane pijače, odišavljene z janežem).
- Destiliramo in pazimo, da ne nastopi škropljenje in zогlenitev, občasno premešamo vsebino, dokler ne sega destilat nekaj milimetrov pod oznako merilne bučke.
- Ko se temperatura destilata približa začetni temperaturi na najmanj 0,5 °C, dopolnimo do oznake z destilirano vodo in temeljito premešamo.
- Ta destilat se uporablja za določanje volumnske vsebnosti alkohola (Dodatek II)
- 6.3 Žgane pijače z volumnsko vsebnostjo alkohola nad 50 vol %.
- Odmerimo 100 ml žgane pijače v 100-mililitrsko merilno bučko in izlijemo v destilacijsko bučko z okroglim dnom.
- Merilno bučko večkrat splaknemo z destilirano vodo in to dodamo vsebini destilacijske bučke. Uporabimo dovolj vode, da bo v bučki približno 230 ml vsebine.
- V 200-mililitrsko bučko, v katero se bo stekal destilat, nalijemo 20 ml destilirane vode. Potem jo postavimo v mrzlo vodno kopel (4.1) (10 do 15 °C za žganja, odišavljena z janežem).
- Destiliramo, občasno premešamo vsebino bučke, dokler ne sega destilat nekaj milimetrov pod oznako 200-mililitrske merilne bučke.
- Ko se temperatura destilata približa začetni temperaturi na najmanj 0,5 °C, dopolnimo do oznake z destilirano vodo in dobro premešamo.
- Ta destilat se uporablja za določanje volumnske vsebnosti alkohola (Dodatek II)
- Opomba: Volumnska vsebnost alkohola žgane pijače je enaka dvakratni vrednosti alkoholne vsebnosti v destilatu.

▼B

DODATEK II: MERJENJE GOSTOTE DESTILATA

METODA A: DOLOČANJE DEJANSKE VSEBNOSTI ALKOHOLA V ŽGANIH PIJAČAH – MERJENJE S PIKNOMETRIJO**A.1 Princip**

Volumska vsebnost alkohola se izračuna iz gostote destilata, izmerjene s piknometrijo.

A.2 Reagenti in materiali

Če ni drugače navedeno, uporabljamo za analizo samo reagente priznane analizne kakovosti in vodo najmanj kakovostne stopnje 3, kakor je to opredeljeno v ISO 3696:1987.

A.2.1 Raztopina natrijevega klorida (2 % w/v)

Za pripravo 1 litra odtehtamo 20 g natrijevega klorida in ga raztopimo v vodi, da dobimo 1 l raztopine.

A.3 Aparatura in oprema

Običajna laboratorijska aparatura in zlasti naslednje:

A.3.1 Analitska tehtnica z natančnostjo 0,1 mg.**A.3.2 Termometer z obrisom in merilno skalo v desetinah stopinje od 10 do 30 °C. Ta thermometer mora biti certificiran ali preverjen s certificiranim termometrom.****A.3.3 Pireks piknometer s približno 100 ml prostornine, opremljen z odstranljivim termometrom z obrisom (A.3.2). Piknometer ima 25-milimetrsko stransko cevko z notranjim premerom (največ) 1 mm, ki se konča s koničnim obrisom. Drugi piknometri so opisani v standardu ISO 3507, če je to primerno, se lahko uporabi na primer 50-mililitrski.****A.3.4 Primerjalna (tara) steklenička z enako zunanjo prostornino (do 1 ml razlike) kakor piknometer in z enako maso, kakor jo ima piknometer, ki je napolnjen s tekočino gostote 1,01 (raztopina natrijevega klorida A.2.1).****A.3.5 Termoizolirana obloga, ki se točno prilega piknometru.**

Opomba 1: Metoda določanja gostote žganih pijač v vakuumu zahteva uporabo dvoročne tehtnice, piknometra in primerjalne (tara) stekleničke z enako zunanjo prostornino, da se v katerem koli danem trenutku izloči učinek vzgona zraka. Ta preprosta tehnika se lahko uporabi z enoročno tehtnico pod pogojem, da se primerjalna (tara) steklenička ponovno steha in se tako spremljajo spremembe vzgona zraka.

A.4 Postopek

Uvodne opombe:

Naslednji postopek opisuje uporabo 100-mililitrskega piknometra za določanje volumnske vsebnosti alkohola; s tem se dosega največja točnost. Lahko se uporabi tudi manjši piknometer, na primer 50-mililitrski.

A.4.1 Umerjanje piknometra

Piknometer se umeri z določitvijo naslednjih osnovnih parametrov:

- masa praznega piknometra,
- prostornina piknometra pri 20 °C,
- masa z vodo napolnjenega piknometra pri 20 °C.

A.4.1.1 Umerjanje z uporabo enoročne tehtnice:

Določimo:

- maso čistega, suhega piknometra (P),
- maso z vodo napolnjenega piknometra pri t °C (P1),
- maso prazne primerjalne (tara) stekleničke (T0).

A.4.1.1.1 Stehtamo čisti, suhi piknometer (P).

▼B

- A.4.1.1.2 Piknometar pazljivo napolnimo z destilirano vodo sobne temperature in vanj vstavimo termometer.

Piknometar skrbno obrišemo do suhega in ga vstavimo v toplotno izolirano oblogo. Obračamo oblogo, dokler termometer ne pokaže stalne temperature.

Poravnamo raven v piknometru z zgornjim robom stranske cevke. Skrbno odčitamo temperaturo t °C, in če je to potrebno, popravimo morebitno netočnost na temperaturni skali.

Z vodo napolnjeni piknometar stehamo (P1).

- A.4.1.1.3 Stehamo primerjalno (tara) stekleničko (T0).

- A.4.1.1.4 Izračun

— Masa praznega piknometra = $P - m$

pri čemer je m masa zraka v piknometru.

$$m = 0,0012 (P1 - P)$$

Opomba 2: 0,0012 je gostota suhega zraka pri 20 °C pri tlaku 760 mm Hg

— Prostornina piknometra pri 20 °C:

$$V_{20\text{ °C}} = [P1 - (P - m)] \times F_{v,1}$$

pri čemer je F_t koeficient za temperaturo t °C po tabeli 1 v poglavju 1 z naslovom „Gostota in relativna gostota“ Priloge k Uredbi (EGS) št. 2676/90 (str. 10).

Prostornina $V_{20\text{ °C}}$ mora biti znana na 0,001 ml natančno.

— Masa vode v piknometru pri 20 °C:

$$M_{20\text{ °C}} = V_{20\text{ °C}} \times 0,998203$$

pri čemer je 0,998203 gostota vode pri 20 °C.

Opomba 3: Če je treba, se lahko uporabi vrednost gostote v zraku 0,99715, volumska vsebnost alkohola pa se izračuna glede na ustrezno gostoto v zraku po uradnih (britanskih) carinskih in trošarinskih tabelah.

- A.4.1.2 Umerjanje z uporabo dvoročne tehtnice:

- A.4.1.2.1 Postavimo primerjalno (tara) stekleničko na levo skodelico in čist suh piknometar s pokrovčkom na desno skodelico. Uravnovesimo ju z dodajanjem p gramov uteži k piknometru.

- A.4.1.2.2 Piknometar pazljivo napolnimo z destilirano vodo sobne temperature in vstavimo termometer; piknometar skrbno obrišemo do suhega in vstavimo v toplotno izolirano oblogo; obračamo jo, dokler termometer ne pokaže stalne temperature.

Raven v piknometru natančno poravnamo z zgornjim robom stranske cevi. Očistimo stransko cev, naravnamo pokrovček, skrbno odčitamo temperaturo t °C in po potrebi popravimo vse netočnosti na temperaturni skali.

Stehamo z vodo napolnjeni piknometar, tako da masa p' v gramih pomeni ravnotežje.

- A.4.1.2.3 Izračun

— Masa praznega piknometra = $p + m$

pri čemer je m masa zraka v piknometru.

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

— Prostornina piknometra pri 20 °C:

$$V_{20\text{ °C}} = (p + m - p') \times F_{v,1}$$

▼B

pri čemer je F_t faktor za temperaturo t °C po tabeli I iz poglavja 1 „Gostota in relativna gostota“ Priloge k Uredbi (EGS) št. 2676/90 (str. 10).

Prostornina $V_{20\text{ °C}}$ mora biti znana do 0,001 ml natančno.

— Masa vode v piknometru pri 20 °C:

$$M_{20\text{ °C}} = V_{20\text{ °C}} \times 0,998203$$

pri čemer je 0,998203 gostota vode pri 20 °C.

A.4.2 Določanje volumske vsebnosti alkohola preskusnega vzorca

A.4.2.1 Z uporabo enoročne tehtnice.

A.4.2.1.1 Določimo maso T_1 primerjalne (tara) stekleničke.

A.4.2.1.2 Stehtamo piknometar s pripravljenim destilatom (glej Dodatek I), P_2 je njegova masa pri t °C.

A.4.2.1.3 Izračun

— $dT = T_1 - T_0$

— Masa praznega piknometra v trenutku merjenja

$$= P - m + dT$$

— Masa tekočine v piknometru pri t °C

$$= P_2 - (P - m + dT)$$

— Gostota pri t °C v g/ml

$$\rho_{t\text{ °C}} = [P_2 - (P - m + dT)] / V_{20\text{ °C}}$$

$$\rho_{t\text{ °C}} = [P_2 - (P - m + dT)] / V_{20\text{ °C}}$$

— Gostoto pri t °C v kilogramih na m^3 izrazimo tako, da $\rho_{t\text{ °C}}$ pomnožimo s 1 000, ta vrednost je znana kot ρ_t .

Popravimo ρ_t do 20 z uporabo tabele gostot ρ_T za vodno-alkoholne zmesi (tabela II Dodatek II k Priročniku analiznih metod OIV (1994), str. 17–29).

V tabeli poiščemo vodoravno vrsto, ki ustreza najbližji temperaturi T pod t °C v celih stopinjah in najmanjšo gostoto nad ρ_t . Razliko, ki jo najdemo pod to gostoto, uporabimo za izračun gostote ρ_t zganja pri temperaturi T v celih stopinjah.

— Z uporabo celotne temperaturne vrste izračunamo razliko med gostoto ρ' v tabeli takoj nad ρ_t in izračunano gostoto ρ_t . Dobljeno razliko delimo z razliko iz tabele, ki jo najdemo desno od gostote ρ' . Količnik pomeni decimalni delež volumske vsebnosti alkohola, medtem ko je s celimi števili izražena volumska vsebnost alkohola na vrhu stolpca za gostoto ρ' (D_t , alkoholna stopnja).

Opomba 4: Piknometar, ki ga napolnimo do oznake, naj bo v vodni kopeli s stalno temperaturo 20 °C ($\pm 0,2$ °C).

A.4.2.1.4 Rezultat

Za izračun dejanske volumske vsebnosti alkohola uporabimo gostoto ρ_{20} in si pri tem pomagamo s spodaj navedenimi tabelami za volumsko vsebnost alkohola:

Tabela, ki izraža vrednost volumske vsebnosti alkohola z volumnom (vol %) pri 20 °C kot funkcijo gostote vodno-alkoholnih zmesi pri 20 °C, je mednarodna tabela, ki jo je sprejela Mednarodna organizacija za zakonsko meroslovje v Priporočilu št. 22.

A.4.2.2 Metoda z uporabo enoročne tehtnice

A.4.2.2.1 Stehtamo piknometar s pripravljenim destilatom (glej del I), p'' je masa pri temperaturi t °C.

▼B**A.4.2.2.2 Izračun**

— Masa tekočine v piknometru pri t °C

$$= p + m - p''$$

— Gostota pri t °C v g/ml

$$P_{t^{\circ}\text{C}} = (p + m - p'') / V_{20^{\circ}\text{C}}$$

— Gostoto pri t °C izrazimo v kilogramih na m³ in popravimo temperaturno skalo, da lahko izračunamo koncentracijo alkohola pri 20 °C, kakor je opisano zgoraj za uporabo enoročne tehtnice.

A.5 Učinkovitost metode (natančnost)**A.5.1 Statistični rezultati medlaboratorijskega preskusa**

Naslednji podatki izvirajo iz mednarodne študije o učinkovitosti metode, ki je opravljena po mednarodno priznanih postopkih [1] [2].

Leto medlaboratorijskega preskusa 1 997

Število laboratorijev 20

Število vzorcev 6

Vzorci	A	B	C	D	E	F
Število laboratorijev po izločitvi	19	20	17	19	19	17
Število izločenih (laboratorijev)	1	—	2	1	1	3
Število sprejetih rezultatov	38	40	34	38	38	34
Srednja vrednost($\bar{x}$) v vol %	23,77	40,04	40,29	39,20	42,24	57,03
	26,51(*)			42,93(*)	45,73(*)	63,03(*)
Standardni odmik ponovljivosti (Sr) v vol %	0,106	0,176	0,072	0,103	0,171	0,190
Relativni standardni odmik ponovljivosti (RSD _r) (%)	0,42	0,44	0,18	0,25	0,39	0,32
Meja ponovljivosti (r) v vol %	0,30	0,49	0,20	0,29	0,48	0,53
Stand. odmik obnovljivosti (SR) v vol %	0,131	0,236	0,154	0,233	0,238	0,322
Relativni standardni odmik obnovljivosti (RSDR) (%)	0,52	0,59	0,38	0,57	0,54	0,53
Meja obnovljivosti (R) v vol %	0,37	0,66	0,43	0,65	0,67	0,90

Vrste vzorcev

A Sadni liker; dvojna raven*.

B Vinjak; slepi vzorci.

C Viski; slepi vzorci.

D Grappa; dvojna raven*.

E Aquavit; dvojna raven*.

F Rum; dvojna raven*.

METODA B: DOLOČANJE DEJANSKE VOLUMSKE VSEBNOSTI ALKOHOLA V ŽGANIH PIJAČAH – ELEKTRONSKA DENZIMETRIJA (NA PODLAGI REZONANČNEGA NIHANJA VZORCA V OSCILACIJSKI CELICI)

B.1 Princip

Gostota tekočine se določa z elektronskim merjenjem oscilacije resonančne U cevke. To je oscilacijski sistem, katerega frekvenca nihanja je odvisna od mase vzorca.

B.2 Reagenti in materiali

Če ni navedeno drugače, se med analizo uporabljajo samo reagenti priznane analizne kakovosti in voda vsaj kakovostne stopnje 3, kakor je to opredeljeno v ISO 3696:1987.

B.2.1 Aceton (CAS 666-52-4) ali absolutni alkohol.

B.2.2 Suhi zrak.

▼B**B.3 Aparatura in oprema**

Običajna laboratorijska oprema in zlasti naslednje:

B.3.1 Elektronski denzimeter z digitalnim prikazom

Za takšne meritve mora elektronski denzimeter omogočati prikaz gostote v g/ml na 5 decimalnih mest natančno.

Opomba 1: Denzimeter mora biti na popolnoma stabilnem stojalu, zaščitenem pred vsemi tresljaji.

B.3.2 Nastavitev temperature

Merjenje z elektronskim denzimetrom je veljavno le, če je merilna celica povezana z vgrajenim regulatorjem temperature, ki zadržuje temperaturo z odstopanji $\pm 0,02$ °C ali manj.

Opomba 2: Natančna nastavitev in spremljanje temperature v merilni celici sta zelo pomembna, kajti napaka 0,1 °C lahko privede do odstopanja gostote za kar 0,1 kg/m³.

B.3.3 Brizgalke ali avtomatski vzorčevalec.**B.4 Postopek****B.4.1 Umerjanje denzimetra**

Aparaturo je treba ob prvi uporabi umeriti v skladu z navodili njenega izdelovalca. Umerjanje se redno ponavlja in preverja s certificiranim referenčnim standardom ali interno referenčno laboratorijsko raztopino, pripravljeno na podlagi certificiranega referenčnega standarda.

B.4.2 Določanje gostote vzorca**B.4.2.1** Če je treba, pred merjenjem celico očistimo in osušimo z acetonom ali absolutnim alkoholom in suhim zrakom. Celico splaknemo z vzorcem.**B.4.2.2** Vzorec vbrizgamo v celico (za to uporabimo brizgalko ali avtomatski vzorčevalec), tako da je celica v celoti polna. Med polnjenjem pazimo, da odstranimo prav vse zračne mehurčke. Vzorec mora biti homogen in ne sme vsebovati nobenih trdnih delcev. Vse suspendirane snovi je treba pred analizo odstraniti s filtriranjem.**B.4.2.3** Ko se izmerjena vrednost ustali, zabeležimo gostoto ρ_{20} ali koncentracijo alkohola, ki jo izpiše denzimeter.**B.4.3 Rezultat**

Kadar se uporabi gostota ρ_{20} , izračunamo dejansko volumsko vsebnost alkohola iz tabel za volumsko vsebnost alkohola, ki so dane spodaj:

Tabela, ki daje volumsko vsebnost alkohola pri 20 °C (vol %) kot funkcijo gostote vodno-alkoholnih zmesi pri 20 °C, je mednarodna tabela, ki jo je prevzela tudi Mednarodna organizacija za zakonsko meroslovje v Priporočilu št. 22.

B.5 Učinkovitost metode (natančnost)**B.5.1 Statistični rezultati medlaboratorijskih preskusov**

Naslednji podatki izvirajo iz mednarodne študije o učinkovitosti metode, ki je opravljena po mednarodno priznanih postopkih [1] [2].

Leto medlaboratorijskega preskusa	1 997
Število laboratorijev	16
Število vzorcev	6

Vzorci	A	B	C	D	E	F
Število laboratorijev po izločitvi	11	13	15	16	14	13
Število izločenih (laboratorijev)	2	3	1	—	1	2
Število sprejetih rezultatov	22	26	30	32	28	26
Srednja vrednost($\bar{x}$)v vol %	23,81	40,12	40,35	39,27	42,39	56,99
	26,52(*)			43,10(*)	45,91(*)	63,31(*)

▼B

Standard. odklik ponovljivosti (Sr) v vol %	0,044	0,046	0,027	0,079	0,172	0,144
Relativni standardni odklik ponovljivosti (RSD _r) (%)	0,17	0,12	0,07	0,19	0,39	0,24
Meja ponovljivosti (r) v vol %	0,12	0,13	0,08	0,22	0,48	0,40
Stand. odklik obnovljivosti (SR) v vol %	0,054	0,069	0,083	0,141	0,197	0,205
Relativni standardni odklik obnovljivosti (RSDR) (%)	0,21	0,17	0,21	0,34	0,45	0,34
Meja obnovljivosti (R) v vol %	0,15	0,19	0,23	0,40	0,55	0,58

Vrste vzorcev

A Sadni liker; dvojna raven*.

B Vinjak; slepi vzorci.

C Viski; slepi vzorci.

D Grappa; dvojna raven*.

E Aquavit; dvojna raven*.

F Rum; dvojna raven*.

METODA C: DOLOČANJE DEJANSKE VOLUMSKE VSEBNOSTI ALKOHOLA V ŽGANIH PIJAČAH – MERJENJE Z UPORABO HIDROSTATSKE TEHTNICE

C.1 Princip

Volumsko vsebnost alkohola v žganih pijačah je mogoče določiti z merjenjem gostote destilata s hidrostatsko tehtnico na podlagi Arhimedovega načela, v skladu s katerim na telo, potopljeno v tekočino, ta tekočina deluje z navpično silo vzgona, ki je enaka teži izpodrinjene tekočine.

C.2 Reagenti in materiali

Če ni drugače navedeno, se za analizo uporabljajo samo reagenti priznane analizne kakovosti in voda kakovostne stopnje 3, kakor je to opredeljeno v ISO 3696:1987.

C.2.1 Rastopina za čiščenje plovca (natrijev hidroksid, 30 % w/v)

Za pripravo 100 ml odtehtamo 30 g natrijevega hidroksida in dopolnimo do 100 ml s 96 vol % etanolom.

C.3 Aparatura in oprema

Običajna laboratorijska aparatura in zlasti naslednje:

C.3.1 Enoročna hidrostatska tehtnica z občutljivostjo 1 mg.

C.3.2 Plovec s prostornino najmanj 20 ml, posebej prilagojen tehtnici, obešen na žico s premerom, manjšim od 0,1 mm.

C.3.3 Merilni valj z oznako ravni. Plovec mora biti potopljen v del valja, ki je pod oznako; površino tekočine lahko predira le nosilna žica. Notranji premer merilnega valja mora biti za vsaj 6 mm večji od premera plovca.

C.3.4 Termometer (ali sonda za merjenje temperature) z označenimi stopnjami, razdeljenimi na desetine, od 10 do 40 °C, in umerjen na 0,05 °C.

C.3.5 Uteži, ki jih je umeril priznan organ za certificiranje.

Opomba 1: Možna je tudi uporaba dvoročne tehtnice; princip je opisan v poglavju 1 „Gostota in relativna gostota“ Priloge k Uredbi (EGS) št. 2676/90 (str. 7).

C.4 Postopek

Plovec in merilni valj je treba pred vsakim merjenjem sprati z destilirano vodo, osušiti z mehkim laboratorijskim papirjem, ki ne pušča vlaken, in splakniti z rastopino, kateri se določa gostota. Merjenja je treba opraviti takoj, ko aparatura doseže stabilnost, da se tako omeji izguba alkohola zaradi izparevanja.

C.4.1 Umerjanje tehtnice

▼B

Čeprav imajo tehtnice navadno notranji sistem umerjanja, mora imeti hidrostatska tehtnica možnost umerjanja z utežmi, ki jih je preveril uradni organ za certificiranje.

C.4.2 Umerjanje plovca

C.4.2.1 Napolnimo merilni valj do oznake z dvakrat destilirano vodo (ali vodo enakovredne čistote, npr. mikrofiltrirano vodo s prevodnostjo 18,2 M Ω /cm) pri temperaturi med 15 °C in 25 °C, toda najbolje pri 20 °C.

C.4.2.2 Potopimo plovec in termometer v vodo, premešamo, z aparata odčitamo gostoto tekočine, in če je treba, popravimo izmerjeno gostoto tako, da je enaka gostoti vode pri temperaturi merjenja.

C.4.3 Preverjanje z vodno-alkoholno raztopino

C.4.3.1 Merilni valj napolnimo do oznake z vodno-alkoholno raztopino z znano volumsko vsebnostjo alkohola, pri temperaturi med 15 °C in 20 °C, toda najbolje pri 20 °C.

C.4.3.2 Plovec in termometer potopimo v tekočino, premešamo, z aparature odčitamo gostoto tekočine (ali volumsko vsebnost alkohola, če aparatura to omogoča). Tako ugotovljena volumska vsebnost alkohola mora biti enaka poprej določeni.

Opomba 2: Ta raztopina z znano volumsko vsebnostjo alkohola se lahko uporabi namesto dvakrat destilirane vode za umerjanje plovca.

C.4.4 Merjenje gostote destilata (ali volumske vsebnosti alkohola, če aparatura to omogoča)

C.4.4.1 Preskusni vzorec nalijemo v merilni valj do oznake.

C.4.4.2 Vanj potopimo plovec in termometer, premešamo, z aparature odčitamo gostoto tekočine (ali volumsko vsebnost alkohola, če aparatura to omogoča). Če se gostota meri pri t °C (ρ_1), si zapišemo temperaturo.

C.4.4.3 Popravimo ρ_1 pri 20 z uporabo tabele gostot ρ_T za vodno-alkoholne zmesi (tabela II Priloge II k Priročniku analiznih metod OIV (1994), str. 17–29).

C.4.5 Spiranje plovca in merilnega valja

C.4.5.1 Potopimo plovec v raztopino za čiščenje plovca v merilnem valju.

C.4.5.2 Pustimo, da se namaka eno uro, in plovec občasno zavrtimo.

C.4.5.3 Dobro splaknemo pod pipo in nazadnje še z destilirano vodo.

C.4.5.4 Osušimo z mehkim laboratorijskim papirjem, ki ne pušča vlaken.

Ta postopek opravimo ob prvi uporabi plovca in potem redno glede na uporabo.

C.4.6 Rezultat

Iz gostote ρ_{20} izračunamo dejansko volumsko vsebnost alkohola po spodaj navedenih tabelah za volumsko vsebnost alkohola.

Tabela, ki daje vrednost volumske vsebnosti alkohola (vol %) pri 20 °C kot funkcijo gostote pri 20 °C vodno-alkoholnih zmesi, je mednarodna tabela, ki jo je sprejela Mednarodna organizacija za zakonsko meroslovje v Priporočilu št. 22.

C.5 Učinkovitost metode (natančnost)

C.5.1 Statistični rezultati medlaboratorijskega preskusa

Naslednji podatki izvirajo iz mednarodne študije o učinkovitosti metode, ki je opravljena po mednarodno priznanih postopkih [1] [2].

Leto medlaboratorijskega preskusa 1 997

Število laboratorijev 12

Število vzorcev 6

Vzorci	A	B	C	D	E	F
--------	---	---	---	---	---	---

▼B

Število laboratorijev po izločitvi	12	10	11	12	11	9
Število izločenih (laboratorijev)	—	2	1	—	1	2
Število sprejetih rezultatov	24	20	22	24	22	18
Srednja vrednost($\bar{x}$) v vol %	23,80	40,09	40,29	39,26	42,38	57,16
	26,51(*)			43,09(*)	45,89(*)	63,44(*)
Standard. odmik ponovljivosti (Sr) v vol %	0,048	0,065	0,042	0,099	0,094	0,106
Relativni standardni odmik ponovljivosti (RSD _p) (%)	0,19	0,16	0,10	0,24	0,21	0,18
Meja ponovljivosti (r) v vol %	0,13	0,18	0,12	0,28	0,26	0,30
Stand. odmik obnovljivosti (SR) v vol %	0,060	0,076	0,073	0,118	0,103	0,125
Relativni standardni odmik obnovljivosti (RSDR) (%)	0,24	0,19	0,18	0,29	0,23	0,21
Meja obnovljivosti (R) v vol %	0,17	0,21	0,20	0,33	0,29	0,35

Vrste vzorcev

A Sadni liker; dvojna raven*.

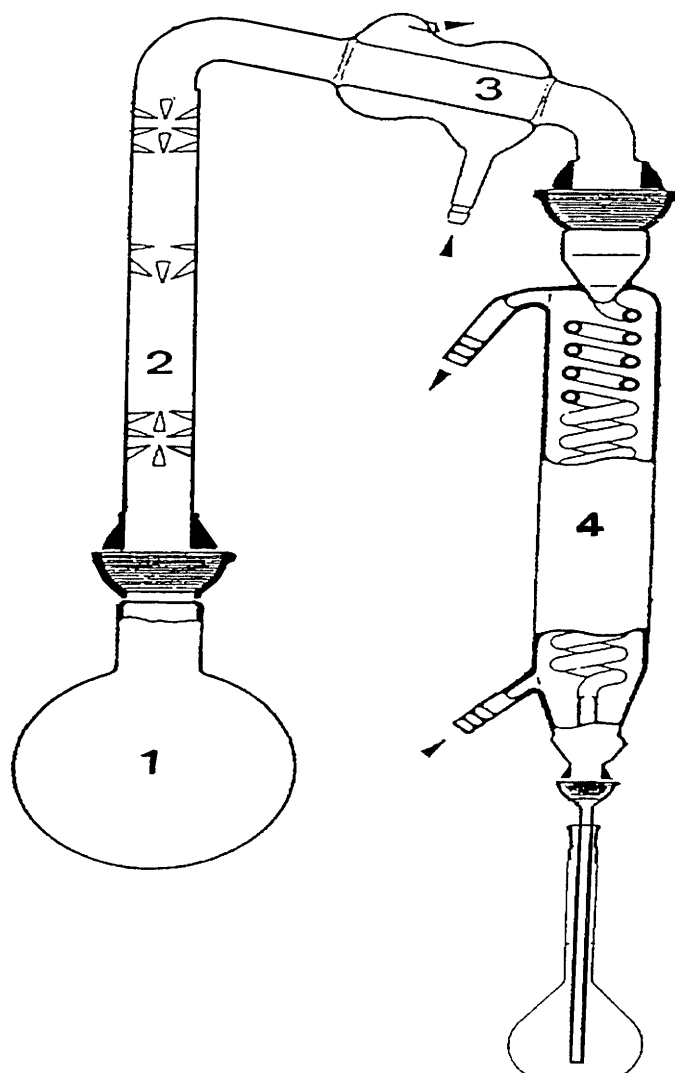
B Vinjak; slepi vzorci.

C Viski; slepi vzorci.

D Grappa; dvojna raven*.

E Aquavit; dvojna raven*.

F Rum; dvojna raven*.

▼B

Slika 1. Destilacijska aparatura za merjenje dejanske volumske vsebnosti alkohola v žganih pijačah

1. 1-litrška bučka z okroglim dnom in standardiziranim sferičnim obrusom.
2. Vigreuxova destilacijska (rektifikacijska) kolona (20 cm).
3. Ravni Westov hladilnik (10 cm).
4. Vijačna hladilna cev (40 cm).

▼B**II. DOLOČANJE SKUPNEGA EKSTRAKTA ŽGANIH PIJAČ Z GRAVIMETRIJO****1. Področje uporabe**

Uredba (EGS) št. 1576/89 predvideva to metodo samo za aquavit, pri katerem suhi ekstrakt ne presega 15 g/l.

2. Normativne reference

ISO 3696:1987: Voda za laboratorijske analize – specifikacije in preskusne metode.

3. Opredelitev

Skupni suhi ekstrakt ali skupna suha snov obsega vso snov, ki v določenih fizikalnih pogojih ni hlapna.

4. Princip

Tehtanje ostanka po izparevanju alkohola nad vrelo vodno kopeljo in po sušenju v sušilniku.

5. Aparatura in oprema

5.1 Valjasta izparilna posoda z ravnim dnom in premerom 55 mm.

5.2 Vrela vodna kopel.

5.3 25-mililitrska pipeta, razreda A.

5.4 Sušilnik.

5.5 Eksikator.

5.6 Analitska tehtnica s točnostjo 0,1 mg.

6. Vzorčenje in vzorci

Vzorci se pred analizo hranijo pri sobni temperaturi.

7. Postopek

7.1 Odpipetiramo 25 ml žganja z manj kakor 15 g/l suhe snovi v poprej stehano valjasto izparilno posodo z ravnim dnom in premerom 55 mm. Prvo uro izparevanja je izparilna posoda na pokrovu vrele vodne kopeli, tako da tekočina ne vre, saj bi to lahko povzročilo izgube zaradi škropljenja. Posodo pustimo še eno uro v neposrednem stiku s paro vrele vodne kopeli.

7.2 Sušenje končamo tako, da postavimo izparilno posodo za dve uri v sušilnik, segret na $105\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$. Pustimo posodo v eksikatorju, da se ohladi, potem pa jo skupaj z vsebino stehamo.

8. Izračun

Masa ostanka, pomnožena s 40, je enaka suhemu ekstraktu, vsebovanemu v žganju, izražena pa mora biti v g/l na eno decimalno mesto natančno.

9. Učinkovitost metode (natančnost)

9.1 Statistični rezultati medlaboratorijskega preskusa

Naslednji podatki izvirajo iz mednarodne študije o učinkovitosti metode, ki je opravljena po mednarodno priznanih postopkih [1] [2].

Leto medlaboratorijskega preskusa 1 997

Število laboratorijev 10

Število vzorcev 4

Vzorci	A	B	C	D
Število laboratorijev po izločitvi	9	9	8	9
Število izločenih (laboratorijev)	1	1	2	–
Število sprejetih rezultatov	18	18	16	18

▼B

Srednja vrednost($\bar{x}$) v g/l	9,0	9,1	10,0	11,8
		7,8	9,4	11,1
Standardni odmik ponovljivosti (Sr) v g/l	0,075	0,441	0,028	0,123
Relativni standardni odmik ponovljivosti (RSDr) (%)	0,8	5,2	0,3	1,1
Meja ponovljivosti (r) v g/l	0,2	1,2	0,1	0,3
Stand. odmik primerljivosti (SR) v g/l	0,148	0,451	0,058	0,210
Rel. stand. odmik primerljivosti (RSD _R) (%)	1,6	5,3	0,6	1,8
Meja obnovljivosti (R) v g/l	0,4	1,3	0,2	0,6

Vrste vzorcev

- A Vinjak; slepi vzorci.
 B Rum; dvojna raven.
 C Grappa; dvojna raven.
 D Aquavit; dvojna raven.



III. DOLOČANJE HLAPNIH SNOVI IN METANOLA V ŽGANIH PIJAČAH

III.1 SPLOŠNE OPOMBE

1. Opredelitve

Uredba (EGS) št. 1576/89 predpisuje minimalne vsebnosti hlapnih sestavin, razen etanola in metanola, za vrsto žganih pijač (rum, žganja iz grozdja, sadna žganja itd.) Po dogovoru se le za vsebnosti v teh pijačah upošteva, da so enake vsoti koncentracij:

1. hlapnih kislin, izraženih kot očetna kislina;
2. aldehydov, izraženih kot etanal z vsoto etanala (acetaldehida) in frakcije etanala v 1,1-dietoksietanu (acetal);
3. naslednjih višjih alkoholov: propan-1-ola, butan-1-ola, butan-2-ola, 2-metilpropan-1-ola, določenih kot posamezni alkoholi, ter 2-metilbutan-1-ola in 3-metilbutan-1-ola, določenih posamezno ali kot vsota obeh;
4. etilacetata.

Naslednje metode so standardne za merjenje hlapnih spojin:

- hlapne kisline z določanjem hlapne kislosti,
- aldehydi (etanal in acetal), etilacetat in alkoholi s plinsko kromatografijo (*GPC*).

2. Analiza hlapnih spojin s plinsko kromatografijo

Analiziranje hlapnih spojin, razen zgoraj navedenih, s plinsko kromatografijo se lahko izkaže za posebej zanimivo kot sredstvo ugotavljanja izvora surovine, uporabljene pri destilaciji, pa tudi dejanskih pogojev destilacije.

Nekatera žganja vsebujejo še druge hlapne sestavine, na primer aromatične spojine, značilne za surovine, iz katerih se pridobiva alkohol, za aromo žganih pijač in za posebnosti priprave žganja. Te spojine so pomembne za ocenjevanje zahtev, določenih v Uredbi (EGS) št. 1576/89.

III.2 DOLOČANJE HLAPNIH SNOVI S PLINSKO KROMATOGRAFIJO: ALDEHIDOV, VIŠJIH ALKOHOLOV, ETILACETATA IN METANOLA

1. Področje uporabe

Ta metoda je primerna za določanje 1,1 dietoksietana (acetal), 2-metilbutan-1-ola (aktivni amilni alkohol) 3-metilbutan-1-ola (izoamilni alkohol), metanola (metilni alkohol), etiletanoata (etilacetat), butan-1-ola (n-butanol), butan-2-ola (sekundarni butanol), 2-metilpropan-1-ola (izobutilni alkohol), propan -1-ola (n-propanol) in etanala (acetaldehid) v žganih pijačah z uporabo plinske kromatografije. Metoda uporablja interni standard, na primer pentan-3-ol. Koncentracije analiziranih snovi so izražene v gramih na 100 litrov absolutnega alkohola; vsebnost alkohola v izdelku pa je treba določiti pred analizo. Žgane pijače, ki jih je mogoče analizirati s to metodo, so viski, vinjak, rum, vinsko žganje, sadno žganje in žganje iz grozdnih tropin.

2. Normativne reference

ISO 3696:1987: Voda za uporabo pri laboratorijskih analizah – specifikacije in preskusne metode.

3. Opredelitev

Hlapne snovi nastajajo skupaj z etanolom med vrenjem, destiliranjem in zorenjem žganih pijač.

4. Princip

Hlapne snovi v žganih pijačah se določajo z neposrednim injiciranjem žgane pijače ali primerno razredčene žgane pijače v sistem plinske kromatografije (GC). Pred injiciranjem se žgani pijači doda primeren interni standard. Hlapne snovi se ločujejo s programiranjem temperature na primerni koloni, odkrivajo pa se z detektorjem FID. Koncentracija vsake hlapne snovi se določa glede na interni standard iz faktorjev odziva, ki jih dobimo med umerjanjem pri istih kromatografskih nastavitvah kakor za analizo žgane pijače.

▼B**5. Reagenti in materiali**

Če ni drugače navedeno, uporabljamo samo reagente s čistočo nad 97 %, nabavljene pri dobaviteljih s certifikatom *ISO*, s certifikatom o čistoči, brez drugih hlapnih snovi pri testnem redčenju (to se lahko potrdi z injiciranjem posameznih standardov pri testnem redčenju in nastavitvah plinske kromatografije kakor pri točki 6.4), in le vodo najmanj kakovostne stopnje 3, kakor je to opredeljeno v *ISO* 3696. Acetal in acetaldehid morata biti shranjena v temi pri $< 5^{\circ}\text{C}$, vsi drugi reagenti pa se lahko hranijo pri sobni temperaturi.

5.1 Absolutni etanol (CAS 64-17-5).

5.2 Metanol (CAS 67-56-1).

5.3 Propan-1-ol (CAS 71-23-8).

5.4 2-metilpropan-1-ol (CAS 78-33-1).

5.5 Sprejemljivi interni standardi: pentan-3-ol (CAS 584-02-1), pentan-1-ol (CAS 71-41-0), 4-metilpentan-1-ol (CAS 626-89-1) ali metilnonanoat (CAS 1731-84-6).

5.6 2-metilbutan-1-ol (CAS 137-32-6).

5.7 3-metilbutan-1-ol (CAS 123-51-3).

5.8 Etilacetat (CAS 141-78-6).

5.9 Butan-1-ol (CAS 71-36-3).

5.10 Butan-2-ol (CAS 78-92-2).

5.11 Acetaldehid (CAS 75-07-0).

5.12 Acetal (CAS 105-57-7).

5.13 Raztopina etanola 40 % v/v

Za pripravo 400 ml/l raztopine etanola nalijemo 400 ml etanola (5.1) v 1-litrsko merilno bučko, dopolnimo do oznake z destilirano vodo in premešamo.

5.14 Priprava in hranjenje standardnih raztopin (postopek, ki se uporablja za validirano metodo).

Vse standardne raztopine moramo hraniti pri $< 5^{\circ}\text{C}$ in vsak mesec sveže pripraviti. Mase sestavin in raztopin zapišemo na 0,1 mg natančno.

5.14.1 Standardna raztopina – A

V 100-mililitrsko merilno bučko, ki zaradi hlapnosti reagentov že vsebuje približno 60 ml raztopine etanola (5.13), odpipetiramo spodaj našteje reagente, dopolnimo do oznake z raztopino etanola (5.13) in dobro premešamo. Zapišemo maso bučke, vsake dodane sestavine in skupno končno maso vsebine.

Sestavina	Prostornina (ml)
Metanol (5.2)	3,0
Propan-1-ol (5.3)	3,0
2-metilpropan-1-ol (5.4)	3,0
2-metilbutan-1-ol (5.6)	3,0
3-metilbutan-1-ol (5.7)	3,0
Etilacetat (5.8)	3,0
Butan-1-ol (5.9)	3,0
Butan-2-ol (5.10)	3,0
Acetaldehid (5.11)	3,0
Acetal (5.12)	3,0

Opomba 1: Acetal in acetaldehid je bolje dodati nazadnje, da so izgube zaradi izhlapevanja čim manjše.

5.14.2 Standardna raztopina – B

▼B

Odpipetiramo 3 ml pentan-3-ola ali drugega primernege internega standarda (5.5) v 100-mililitrsko merilno bučko, v kateri je približno 80 ml raztopine etanola (5.13), dopolnimo do oznake z raztopino etanola (5.13) in dobro premešamo.

Zapišemo maso bučke, maso pentan-3-ola ali drugega dodanega internega standarda, potem pa še skupno končno maso.

5.14.3 Standardna raztopina – C

Odpipetiramo 1 ml raztopine A (5.14.1) in 1 ml raztopine B (5.14.2) v 100-mililitrsko merilno bučko, v kateri je približno 80 ml raztopine etanola (5.13), dopolnimo do oznake z raztopino etanola (5.13) in dobro premešamo.

Zapišemo maso bučke, vsake dodane sestavine, potem pa še skupno končno maso.

5.14.4 Standardna raztopina – D

Da bi ohranili ponovljivost analiz, pripravimo standard za kontrolo kakovosti in zanj uporabimo že pripravljeni standard A (5.14.1). 1 ml raztopine A (5.14.1) odpipetiramo v 100-mililitrsko merilno bučko, v kateri je približno 80 ml raztopine etanola (5.13), dopolnimo do oznake z raztopino etanola (5.13) in dobro premešamo.

Zapišemo maso bučke, vsake dodane sestavine, potem pa še skupno končno maso.

5.14.5 Standardna raztopina – E

Odpipetiramo 10 ml raztopine B (5.14.2) v 100-mililitrsko merilno bučko, v kateri je približno 80 ml raztopine etanola (5.13), dopolnimo do oznake z raztopino etanola (5.13) in dobro premešamo.

Zapišemo maso bučke, vsake dodane sestavine, potem pa še skupno končno maso.

5.14.6 Standardne raztopine, s katerimi se preverja linearnost odziva detektorja *FID*

V ločene 100-mililitrske merilne bučke, v katerih je približno 80 ml raztopine etanola (5.13), odpipetiramo 0, 0,1, 0,5, 1,0 in 2,0 ml raztopine A (5.14.1) in 1 ml raztopine B (5.14.2), dopolnimo do oznake z raztopino etanola (5.13) in dobro premešamo.

Zapišemo maso bučke, vsake dodane sestavine, potem pa še skupno končno maso.

5.14.7 Standardna raztopina QC

Odpipetiramo 9 ml standardne raztopine D (5.14.4) in 1 ml standardne raztopine E (5.14.5) v posodo za tehtanje in dobro premešamo.

Zapišemo maso bučke, vse dodane sestavine, potem pa še skupno končno maso.

6. Aparatura in oprema

6.1 Aparatura, s katero je mogoče meriti gostoto in vsebnost alkohola.

6.2 Analitska tehnica, s katero je mogoče meriti na štiri decimalna mesta natančno.

6.3 Plinski kromatograf z nastavlljivo temperaturo, opremljen z detektorjem *FID* in integratorjem ali drugim sistemom za obdelavo podatkov, ki lahko meri območje ali višino vrha.

6.4 Kolona(-e) plinskega kromatografa, ki lahko loči(-jo) analizirane snovi, tako da je najmanjša ločljivost med posameznimi sestavinami (razen 2-metilbutan-1-ola in 3-metilbutan-1-ola) vsaj 1,3.

Opomba 2: Ustrezni primeri so naslednje kolone in nastavitve plinske kromatografije:

1. Predkolona 1m 0,32 mm i.d., povezana s kolono CP-VAX 57 CB 50 m 0,32 mm i.d. z debelino nanosa 0,2 µm (stabilizirani polietilenglikol), ki ji sledi kolona *Carbowax* 400 50 m 0,32 mm i.d. z debelino nanosa 0,2 µm. (Koloni sta povezani s spojko na stik.)

▼B

Nosilni plin in tlak: Helij (135 kPa)
 Temperatura kolone: 17 minut 35 °C, od 35 do 70 °C po 12 °C na minuto, 25 minut zadržimo pri 70 °C
 Temperatura injektorja: 150 °C
 Temperatura detektorja: 250 °C
 Injicirana prostornina: 1 µl, v razmerju 20 do 100:1

2. Predkolona 1 m 0,32 mm i.d., povezana s kolono CP-VAX 57 CB 50 m 0,32 mm i.d. z debelino nanosa 0,2 µm (stabilizirani polietilenglikol). (Koloni sta povezani s spojko na stik.)

Nosilni plin in tlak: Helij (65 kPa)
 Temperatura kolone: 10 minut 35 °C, od 35 do 110 °C po 5 °C na minuto, od 110 do 190 °C po 30 °C na minuto, 2 minuti zadržimo pri 190 °C
 Temperatura injektorja: 260 °C
 Temperatura detektorja: 300 °C
 Injicirana prostornina: 1 µl, v razmerju 55:1

3. Polnjena kolona (5 % *CW* 20 M, *Carbopak* B), 2 m 2 mm i.d.

Temperatura kolone: 4 minute 65 °C, od 65 do 140 °C po 10 °C na minuto, 5 minut zadržimo pri 140 °C, od 140 do 150 °C po 5 °C na minuto, 3 minute zadržimo pri 150 °C
 Temperatura injektorja: 65 °C
 Temperatura detektorja: 200 °C
 Injicirana prostornina: 1 µl

7. **Vzorčenje in vzorci**

7.1 Laboratorijski vzorec

Ob sprejetju se vsakemu vzorcu izmeri vsebnost alkohola (6.1).

8. **Postopek (ki se uporablja za validirano metodo)**

8.1 Odmerek vzorca

8.1.1 Stehnamo primerno zaprto posodo za tehtanje in maso zapišemo.

8.1.2 Odpipetiramo 9 ml laboratorijskega vzorca v posodo in zapišemo maso (M_{VZOREC}).

8.1.3 Dodamo 1 ml standardne raztopine E (5.14.5) in zapišemo maso (M_{IS}).

8.1.4 Preskusno snov temeljito pretresemo (vsaj 20 zasukov). Vzorce je treba pred analizo hraniti pri manj kakor 5 °C, da zmanjšamo izgube zaradi hlapnosti komponent.

8.2 Slepi preskus

8.2.1 S tehtnico z natančnostjo štirih decimalnih mest (6.2) stehnamo ustrezno zaprto posodo za tehtanje in maso zapišemo.

8.2.2 Odpipetiramo 9 ml raztopine etanola 400 ml/l (5.13) v posodo in zapišemo maso.

▼B

- 8.2.3 Dodamo 1 ml standardne raztopine E (5.14.5) in zapišemo maso.
- 8.2.4 Temeljito premešamo preskusni material (vsaj 20 zasukov). Vzorce je treba pred analizo hraniti pri manj kakor 5 °C, da zmanjšamo izgube zaradi hlapnosti komponent.

8.3 Poprejšnji preskus

Injiciramo standardno raztopino C (5.14.3), da preverimo, ali imajo vse analizirane snovi ločljivost vsaj 1,3 (razen 2-metilbutan-1-ola in 3-metilbutan-1-ola).

8.4 Umerjanje

Umerjanje se izvede po naslednjem postopku. Linearnost odziva zagotovimo tako, da zaporedoma opravimo trojno analizo vsake od standardnih raztopin za preverjanje linearnosti (5.14.6), ki vsebujejo interni standard (IS). Iz območij ali višin vrha v integratorju je treba za vsako injiciranje izračunati razmerje R vsake hlapne snovi in grafično predstaviti R glede na razmerje koncentracij hlapnih snovi in internega standarda (IS). Rezultat naj bi bil grafični prikaz s korelacijskim koeficientom najmanj 0,99.

$$R = \frac{\text{območje ali višina hlapne snovi}}{\text{območje ali vrha IS}}$$

$$C = \frac{\text{koncentracija hlapne snovi } (\mu\text{g/g})}{\text{koncentracija IS } (\mu\text{g/g})}$$

8.5 Določanje

Injiciramo standardno raztopino C (5.14.3) in 2 odmerka standardne raztopine QC za kontrolo kakovosti (5.14.7). Nadaljujemo z neznanimi vzorci (pripravljenimi v skladu z 8.1 in 8.2) in vključimo po en QC standard na vsakih 10 vzorcev, da zagotovimo ponovljivost analiz. Injiciramo odmerek standardne raztopine C (5.14.3) na vsakih 5 vzorcev.

9. **Izračun**

Uporabimo lahko avtomatizirani sistem obdelave podatkov, če je podatke mogoče preveriti po načelih, opisanih v spodnji metodi.

Izmerimo območje ali višino vrhov za hlapno snov in vrhove internega standarda.

9.1 Izračun faktorja odziva.

Faktorje odziva za vsako hlapno snov izračunamo iz kromatograma injicirane standardne raztopine C (5.14.3) z uporabo enačbe (1).

$$(1) \text{faktor odziva} = \frac{\text{območje ali vrha IS}}{\text{območje ali vrha hlapne snovi}} \times \frac{\text{konc. hlapne snovi } (\mu\text{g/g})}{\text{konc. IS } (\mu\text{g/g})}$$

pri čemer je:

IS = interni standard

konc. hlapne snovi = koncentracija hlapne snovi v raztopini C (5.14.3)

konc. IS = koncentracija internega standarda v raztopini C (5.14.3).

9.1.2 Analiza vzorca

Z uporabo spodnje enačbe (2) izračunamo koncentracijo vsake od hlapnih snovi v vzorcih.

▼B

(2) koncentracije hlapnih snovi ($\mu\text{g/g}$) =

$$(2) \text{ koncentracije hlapnih snovi } (\mu\text{g/g}) = \frac{\text{območje ali vrha hlapne snovi}}{\text{območje ali vrha IS}} \times \frac{M_{\text{IS}}(\text{g})}{M_{\text{VZOREC}}(\text{g})} \times \text{konc. IS}(\mu\text{g/g}) \times \text{RF}$$

pri čemer je:

M_{VZOREC} = masa vzorca (8.1.2);

M_{IS} = masa internega standarda (8.1.3);

konc. IS = koncentracija notranjega standarda v raztopini E (5.14.5);

RF = faktor odziva, izračunan z enačbo 1.

9.1.3 Analiza standardne raztopine za kontrolo kakovosti

Za vsako hlapno snov v standardih kontrole kakovosti (5.14.7) s spodnjo enačbo izračunamo doseženi delež ciljne koncentracije:

$$(3) \% \text{ doseženega QC vzorca} = \frac{\text{koncentracija analizirane snovi v QC standardu}}{\text{koncentracija analizirane snovi v raztopini D}} \times 100$$

Koncentracija analizirane snovi v QC standardu se izračuna z enačbama (1) in (2) zgoraj.

9.2 Končna predstavitev rezultatov

Rezultati vzorcev se pretvorijo iz μg v g na 100 litrov absolutnega alkohola z enačbo (4):

(4) koncentracija v g na 100 l absolutnega alkohola =

$\text{konc. } (\mu\text{g/g}) \rho \cdot 10 / (\text{volumska vsebnost (vol \%)} \times 1\,000)$

pri čemer je ρ = gostota v kg/m^3 .

Rezultati se dajejo s trimestnimi števili in največ enim decimalnim mestom, npr. 11,4 g na 100 litrov čistega alkohola.

10. Zagotavljanje kakovosti in kontrola (za validirano metodo)

Z gornjo enačbo (2) izračunamo koncentracijo vsake hlapne snovi v standardnih raztopinah za kontrolo kakovosti, pripravljenih po postopku, opisanem od 8.1.1 do 8.1.4. Z enačbo (3) izračunamo doseženi delež ciljne koncentracije. Če so analizni rezultati za vsako hlapno snov znotraj $\pm 10\%$ svojih teoretičnih vrednosti, lahko nadaljujemo analizo. Če to niso, je treba poiskati vzrok netočnosti in narediti ustrezne popravke.

11. Učinkovitost metode (natančnost)

Statistični rezultati medlaboratorijskih preskusov: naslednje tabele dajejo vrednosti za naslednje spojine: etanal, etilacetat, acetal, skupni etanal, metanol, butan-2-ol, propan-1-ol, butan-1-ol, 2-metil-propan-1-ol, 2-metil-butan-1-ol, 3-metil-butan-1-ol.

Naslednji podatki so pridobljeni iz mednarodne študije o učinkovitosti metode, ki je opravljena po mednarodno priznanih postopkih.

Leto medlaboratorijskega preskusa	1 997
Število laboratorijev	32
Število vzorcev	5
Analizirana snov	Etanal

Vzorci	A	B	C	D	E
Število laboratorijev po izločitvi	28	26	27	27	28
Število izločenih (laboratorijev)	2	4	3	3	2
Število sprejetih rezultatov	56	52	54	54	56
Srednja vrednost($\bar{x}$) v $\mu\text{g/g}$	63,4	71,67	130,4	38,4	28,6
				13,8(*)	52,2(*)

▼B

Standardni odmik ponovljivosti (Sr) v µg/g	3,3	1,9	6,8	4,1	3,6
Rel. stand. odmik ponovljivosti (RSDr) (%)	5,2	2,6	5,2	15,8	8,9
Meja ponovljivosti (r) v µg/g	9,3	5,3	19,1	11,6	10,1
Stand. odmik obnovljivosti (SR) v µg/g	12	14	22	6,8	8,9
Rel. stand. odmik obnovljivosti (RSDR) (%)	18,9	19,4	17,1	26,2	22,2
Meja obnovljivosti (R) v µg/g	33,5	38,9	62,4	19,1	25,1

Vrste vzorcev

A Vinjak; slepi vzorci.

B Kirsch; slepi vzorci.

C Grappa; slepi vzorci.

D Viski; dvojna raven*.

E Rum; dvojna raven*.

Leto medlaboratorijskega preskusa	1 997
Število laboratorijev	32
Število vzorcev	5
Analizirana snov	Etilacetat

Vzorci	A	B	C	D	E
Število laboratorijev po izločitvi	24	24	25	24	24
Število izločenih (laboratorijev)	2	2	1	2	2
Število sprejetih rezultatov	48	48	50	48	48
Srednja vrednost($\bar{x}$) v µg/g	96,8	1 046	120,3	112,5 91,8(*)	99,1 117,0(*)
Standardni odmik ponovljivosti (Sr) v µg/g	2,2	15	2,6	2,1	2,6
Rel. stand. odmik ponovljivosti (RSDr) (%)	2,3	1,4	2,1	2,0	2,4
Meja ponovljivosti (r) v µg/g	6,2	40,7	7,2	5,8	7,3
Stand. odmik obnovljivosti (SR) v µg/g	6,4	79	8,2	6,2	7,1
Rel. stand. odmik obnovljivosti (RSDR) (%)	6,6	7,6	6,8	6,2	6,6
Meja obnovljivosti (R) v µg/g	17,9	221,9	22,9	17,5	20,0

Vrste vzorcev

A Vinjak; slepi vzorci.

B Kirsch; slepi vzorci.

C Grappa; slepi vzorci.

D Viski; dvojna raven*.

E Rum; dvojna raven*.

Leto medlaboratorijskega preskusa	1 997
Število laboratorijev	32
Število vzorcev	5
Analizirana snov	Acetal

Vzorci	A	B	C	D	E
Število laboratorijev po izločitvi	20	21	22	17	21
Število izločenih (laboratorijev)	4	3	2	4	3
Število sprejetih rezultatov	40	42	44	34	42

▼B

Vzorci	A	B	C	D	E
Srednja vrednost($\bar{x}$) v $\mu\text{g/g}$	35,04	36,46	68,5	20,36 6,60(*)	15,1 28,3(*)
Standardni odmik ponovljivosti (Sr) v $\mu\text{g/g}$	0,58	0,84	1,6	0,82	1,9
Rel. stand. odmik ponovljivosti (RSDr) (%)	1,7	2,3	2,3	6,1	8,7
Meja ponovljivosti (r) v $\mu\text{g/g}$	1,6	2,4	4,4	2,3	5,3
Stand. odmik obnovljivosti (SR) v $\mu\text{g/g}$	4,2	4,4	8,9	1,4	3,1
Rel. stand. odmik obnovljivosti (RSDR) (%)	12,1	12,0	13,0	10,7	14,2
Meja obnovljivosti (R) v $\mu\text{g/g}$	11,8	12,2	25,0	4,0	8,7

Vrste vzorcev

A Vinjak; slepi vzorci.

B Kirsch; slepi vzorci.

C Grappa; slepi vzorci.

D Viski; dvojna reven*.

E Rum; dvojna raven*.

Leto medlaboratorijskega preskusa 1 997

Število laboratorijev 32

Število vzorcev 5

Analizirana snov Skupni etanal

Vzorci	A	B	C	D	E
Število laboratorijev po izločitvi	23	19	22	21	22
Število izločenih (laboratorijev)	1	5	2	3	2
Število sprejetih rezultatov	46	38	44	42	44
Srednja vrednost($\bar{x}$) v $\mu\text{g/g}$	76,5	85,3	156,5	45,4 15,8(*)	32,7 61,8(*)
Standardni odmik ponovljivosti (Sr) v $\mu\text{g/g}$	3,5	1,3	6,5	4,4	3,6
Rel. stand. odmik ponovljivosti (RSDr) (%)	4,6	1,5	4,2	14,2	7,6
Meja ponovljivosti (r) v $\mu\text{g/g}$	9,8	3,5	18,3	12,2	10,0
Stand. odmik obnovljivosti (SR) v $\mu\text{g/g}$	13	15	24,1	7,3	9,0
Rel. stand. odmik obnovljivosti (RSDR) (%)	16,4	17,5	15,4	23,7	19,1
Meja obnovljivosti (R) v $\mu\text{g/g}$	35,2	41,8	67,4	20,3	25,2

Vrste vzorcev

A Vinjak; slepi vzorci.

B Kirsch; slepi vzorci.

C Grappa; slepi vzorci.

D Viski; dvojna reven*.

E Rum; dvojna raven*.

Leto medlaboratorijskega preskusa 1 997

Število laboratorijev 32

Število vzorcev 5

Analizirana snov Metanol

Vzorci	A	B	C	D	E
--------	---	---	---	---	---

▼B

Vzorci	A	B	C	D	E
Število laboratorijev po izločitvi	26	27	27	28	25
Število izločenih (laboratorijev)	4	3	3	1	4
Število sprejetih rezultatov	52	54	54	56	50
Srednja vrednost($\bar{x}$) v $\mu\text{g/g}$	319,8	2 245	1 326	83,0 61,5(*)	18,6 28,9(*)
Standardni odmik ponovljivosti (Sr) v $\mu\text{g/g}$	4,4	27	22	1,5	1,3
Rel. stand. odmik ponovljivosti (RSDr) (%)	1,4	1,2	1,7	2,1	5,6
Meja ponovljivosti (r) v $\mu\text{g/g}$	12,3	74,4	62,5	4,3	3,8
Stand. odmik obnovljivosti (SR) v $\mu\text{g/g}$	13	99	60	4,5	2,8
Rel. stand. odmik obnovljivosti (RSDR) (%)	3,9	4,4	4,6	6,2	11,8
Meja obnovljivosti (R) v $\mu\text{g/g}$	35,2	278,3	169,1	12,5	7,9

Vrste vzorcev

- A Vinjak; slepi vzorci.
 B Kirsch; slepi vzorci.
 C Grappa; slepi vzorci.
 D Viski; dvojna reven*.
 E Rum; dvojna raven*.

Leto medlaboratorijskega preskusa	1 997
Število laboratorijev	32
Število vzorcev	5
Analizirana snov	Metanol

Vzorci	A	B	C	E
Število laboratorijev po izločitvi	21	27	29	22
Število izločenih (laboratorijev)	4	3	1	3
Število sprejetih rezultatov	42	54	58	44
Srednja vrednost($\bar{x}$) v $\mu\text{g/g}$	5,88	250,2	27,57	5,83 14,12(*)
Standardni odmik ponovljivosti (Sr) v $\mu\text{g/g}$	0,40	2,2	0,87	0,64
Rel. stand. odmik ponovljivosti (RSDr) (%)	6,8	0,9	3,2	6,4
Meja ponovljivosti (r) v $\mu\text{g/g}$	1,1	6,1	2,5	1,8
Stand. odmik obnovljivosti (SR) v $\mu\text{g/g}$	0,89	13	3,2	0,87
Rel. stand. odmik obnovljivosti (RSDR) (%)	15,2	5,1	11,5	8,7
Meja obnovljivosti (R) v $\mu\text{g/g}$	2,5	35,5	8,9	2,4

Vrste vzorcev

- A Vinjak; slepi vzorci.
 B Kirsch; slepi vzorci.
 C Grappa; slepi vzorci.
 E Rum; dvojna raven*.

Leto medlaboratorijskega preskusa	1 997
Število laboratorijev	32
Število vzorcev	5
Analizirana snov	Propan-1-ol

▼B

Vzorci	A	B	C	D	E
Število laboratorijev po izločitvi	29	27	27	29	29
Število izločenih (laboratorijev)	2	4	3	2	2
Število sprejetih rezultatov	58	54	54	58	58
Srednja vrednost($\bar{x}$) v $\mu\text{g/g}$	86,4	3 541	159,1	272,1 229,3(*)	177,1 222,1(*)
Standardni odmik ponovljivosti (Sr) v $\mu\text{g/g}$	3,0	24	3,6	2,3	3,3
Rel. stand. odmik ponovljivosti (RSDr) (%)	3,4	0,7	2,3	0,9	1,6
Meja ponovljivosti (r) v $\mu\text{g/g}$	8,3	68,5	10,0	6,4	9,1
Stand. odmik obnovljivosti (SR) v $\mu\text{g/g}$	5,3	150	6,5	9,0	8,1
Rel. stand. odmik obnovljivosti (RSDR) (%)	6,1	4,1	4,1	3,6	4,1
Meja obnovljivosti (R) v $\mu\text{g/g}$	14,8	407,2	18,2	25,2	22,7

Vrste vzorcev

A Vinjak; slepi vzorci.

B Kirsch; slepi vzorci.

C Grappa; slepi vzorci.

D Viski; dvojna reven*.

E Rum; dvojna raven*.

Leto medlaboratorijskega preskusa 1 997

Število laboratorijev 32

Število vzorcev 5

Analizirana snov Propan – 1-ol

Vzorci	A	B	C
Število laboratorijev po izločitvi	20	22	22
Število izločenih (laboratorijev)	4	4	6
Število sprejetih rezultatov	40	44	44
Srednja vrednost($\bar{x}$) v $\mu\text{g/g}$	3,79	5,57	7,54
Standardni odmik ponovljivosti (Sr) v $\mu\text{g/g}$	0,43	0,20	0,43
Rel. stand. odmik ponovljivosti (RSDr) (%)	11,2	3,6	5,6
Meja ponovljivosti (r) v $\mu\text{g/g}$	1,1	0,6	1,2
Stand. odmik obnovljivosti (SR) v $\mu\text{g/g}$	0,59	0,55	0,82
Rel. stand. odmik obnovljivosti (RSDR) (%)	15,7	9,8	10,8
Meja obnovljivosti (R) v $\mu\text{g/g}$	1,7	1,5	2,3

Vrste vzorcev

A Vinjak; slepi vzorci.

B Kirsch; slepi vzorci.

C Grappa; slepi vzorci.

Leto medlaboratorijskega preskusa 1 997

Število laboratorijev 32

Število vzorcev 5

Analizirana snov 2-metilpropan-1-ol

Vzorci	A	B	C	D	E
--------	---	---	---	---	---

▼B

Vzorci	A	B	C	D	E
Število laboratorijev po izločitvi	28	31	30	26	25
Število izločenih (laboratorijev)	3	0	1	5	6
Število sprejetih rezultatov	56	62	60	52	50
Srednja vrednost($\bar{x}$) v $\mu\text{g/g}$	174,2	111,7	185,0	291,0 246,8(*)	115,99 133,87(*)
Standardni odmik ponovljivosti (Sr) v $\mu\text{g/g}$	2,3	1,6	2,5	1,8	0,74
Rel. stand. odmik ponovljivosti (RSDr) (%)	1,3	1,4	1,3	0,7	0,6
Meja ponovljivosti (r) v $\mu\text{g/g}$	6,4	4,5	6,9	5,0	2,1
Stand. odmik obnovljivosti (SR) v $\mu\text{g/g}$	8,9	8,9	9,7	6,0	6,2
Rel. stand. odmik obnovljivosti (RSDR) (%)	5,1	8,0	5,2	2,2	5,0
Meja obnovljivosti (R) v $\mu\text{g/g}$	24,9	24,9	27,2	16,9	17,4

Vrste vzorcev

- A Vinjak; slepi vzorci.
 B Kirsch; slepi vzorci.
 C Grappa; slepi vzorci.
 D Viski; dvojna reven*.
 E Rum; dvojna reven*.

Leto medlaboratorijskega preskusa	1 997
Število laboratorijev	32
Število vzorcev	5
Analizirana snov	2-metil-butan-1-ol

Vzorci	A	B	C	D	E
Število laboratorijev po izločitvi	25	26	25	27	25
Število izločenih (laboratorijev)	3	2	3	1	2
Število sprejetih rezultatov	50	52	50	54	50
Srednja vrednost($\bar{x}$) v $\mu\text{g/g}$	113,0	48,3	91,6	72,1 45,2(*)	39,5 61,5(*)
Standardni odmik ponovljivosti (Sr) v $\mu\text{g/g}$	2,1	1,5	1,7	2,3	2,3
Rel. stand. odmik ponovljivosti (RSDr) (%)	1,9	3,1	1,8	3,9	4,5
Meja ponovljivosti (r) v $\mu\text{g/g}$	6,0	4,2	4,7	6,4	6,3
Stand. odmik obnovljivosti (SR) v $\mu\text{g/g}$	7,4	3,8	6,6	4,7	4,5
Rel. stand. odmik obnovljivosti (RSDR) (%)	6,6	7,9	7,2	8,1	8,8
Meja obnovljivosti (R) v $\mu\text{g/g}$	20,8	10,7	18,4	13,3	12,5

Vrste vzorcev

- A Vinjak; slepi vzorci.
 B Kirsch; slepi vzorci.
 C Grappa; slepi vzorci.
 D Viski; dvojna reven*.
 E Rum; dvojna reven*.

Leto medlaboratorijskega preskusa	1 997
Število laboratorijev	32

▼B

Število vzorcev

5

Analizirana snov

3-metil-butan-1-ol

Vzorci	A	B	C	D	E
Število laboratorijev po izločitvi	23	23	24	27	21
Število izločenih (laboratorijev)	5	5	4	1	6
Število sprejetih rezultatov	46	46	48	54	42
Srednja vrednost($\bar{x}$) v $\mu\text{g/g}$	459,4	242,7	288,4	142,2 120,4(*)	212,3 245,6(*)
Standardni odmik ponovljivosti (Sr) v $\mu\text{g/g}$	5,0	2,4	3,4	2,4	3,2
Rel. stand. odmik ponovljivosti (RSDr) (%)	1,1	1,0	1,2	1,8	1,4
Meja ponovljivosti (r) v $\mu\text{g/g}$	13,9	6,6	9,6	6,6	9,1
Stand. odmik obnovljivosti (SR) v $\mu\text{g/g}$	29,8	13	21	8,5	6,7
Rel. stand. odmik obnovljivosti (RSDR) (%)	6,5	5,2	7,3	6,5	2,9
Meja obnovljivosti (R) v $\mu\text{g/g}$	83,4	35,4	58,8	23,8	18,7

Vrste vzorcev

A Vinjak; slepi vzorci.

B Kirsch; slepi vzorci.

C Grappa; slepi vzorci.

D Viski; dvojna reven*.

E Rum; dvojna raven*.

▼ **M1****V. ANETOL. DOLOČITEV TRANS-ANETOLA V ŽGANIH PIJAČAH S PLINSKO KROMATOGRAFIJO****1. Področje uporabe**

Ta metoda je ob uporabi plinske kromatografije primerna za določitev trans-anetola v žganih pijačah z janežem.

2. Normativne reference

ISO 3696: 1987 Voda za analitično laboratorijsko uporabo – specifikacija in testne metode.

3. Načelo

Vsebnost trans-anetola v žganju določimo s plinsko kromatografijo (GC). Enako količino internega standarda (npr.: 4-alinasola (estragola), kadar estragol ni naravno prisoten v vzorcu) dodamo testnemu vzorcu in referenčni raztopini znane koncentracije in oba raztopimo v 45-odstotni raztopini etanola ter neposredno vbrizgnemo v sistem GC. Pred pripravo vzorca in analizo likerjev, ki vsebujejo velike količine sladkorja, je potrebna ekstrakcija.

4. Reagenti in materiali

Za analizo uporabljamo samo reagente s čistostjo vsaj 98 %. Uporabimo vodo vsaj 3. razreda, kakor je opredeljena v standardu ISO 3696.

Referenčne kemikalije je treba hraniti v hladnem (pri 4 °C) in temnem prostoru v aluminijastih posodah ali v pobarvanih (rumenkastorjavih) steklenicah za reagente. Zamaške je po možnosti treba opremiti z aluminijasto folijo. Trans-anetol je treba pred uporabo „odtaliti“ iz njegovega kristaliziranega stanja, vendar v tem primeru njegova temperatura ne bi smela nikoli presegati 35 °C.

4.1 Etanol, 96 vol % (CAS 64-17-5)**4.2 1-metoksi-4-(1-propenil) benzol; (trans-anetol) (CAS 4180-23-8)****4.3 4-alilanisole, (estragol) (CAS 140-67-0), priporočeni interni standard (IS)****4.4 Etanol, 45 vol %.**

Dodamo 560 g destilirane vode 378 gramom etanola 96 vol %.

4.5 Priprava standardnih raztopin

Vse standardne raztopine je treba hraniti v temnem prostoru pri sobni temperaturi (15 do 35 °C) v aluminijastih posodah ali v pobarvanih (rumenkastorjavih) steklenicah za reagente. Zamaške je treba po možnosti opremiti z aluminijasto folijo.

Trans-anetol in 4-alilanol sta praktično netopljiva v vodi, zato je treba trans-anetol in 4-alilanol raztopiti v delu 96-odstotnega etanola (4.1), preden dodamo 45-odstotni etanol (4.4).

Osnovne raztopine je treba na novo pripraviti tedensko.

4.5.1 Standardna raztopina A

Osnovne raztopine trans-anetola (koncentracija: 2 g/l)

Stehtamo 40 mg trans-anetola (4.2) v 20-mililitrsko merilno bučko (ali 400-mg v 200- mililitrsko, itn.). Dodamo nekaj 96-odstotnega etanola (4.1) in dopolnimo s 45-odstotnim etanolom (4.4) ter temeljito premešamo.

4.5.2 Interni standard B

Osnovna raztopina internega standarda, npr. estragola (koncentracija: 2 g/l)

Stehtamo 40 mg estragola (4.3) v 20-mililitrsko merilno bučko (ali 400-mg v 200- mililitrsko, itn.). Dodamo nekaj 96-odstotnega etanola (4.1) in dopolnimo s 45-odstotnim etanolom (4.4) ter temeljito premešamo.

▼ M1

- 4.5.3 Raztopine, ki se uporabljajo za preverjanje linearnosti odziva plamensko-ionizacijskega detektorja (FID)

Linearni odziv FID-a se mora preverjati pri analizi, upoštevajoč razpon koncentracij trans-anetola v žganju od 0 g/l do 2,5 g/l. V postopku analize se neznani vzorci žganja 10-krat razredčijo (8.3). Da bi ustvarili analizne pogoje, opisane v metodi, se osnovne raztopine koncentracij 0, 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, in 0,25 g/l trans-anetola pripravijo tako: vzamemo 0,5, 1, 1,5, 2, in 2,5 ml osnovne raztopine A (4.5.1) in jih odpipetiramo v ločene 20-mililitrske merilne bučke; v vsako merilno bučko dodamo 2 ml interne standardne raztopine B (4.5.2) in dopolnimo s 45-odstotnim etanolom (4.4) ter temeljito premešamo.

Kot slepa proba (8.4) se uporablja raztopina koncentracije 0 g/l. (8.4).

- 4.5.4 Standardna raztopina C

2 ml standardne raztopine A (4.5.1) odpipetiramo v ločeno 20-mililitrsko merilno bučko, dodamo 2 ml internega standarda B (4.5.2) ter dopolnimo s 45-odstotnim etanolom (4.4) ter temeljito premešamo.

5. **Aparature in oprema**

- 5.1 Plinska kromatografija, opremljena s plamensko-ionizacijskim detektorjem (FID) in integratorjem ali drugim sistemom za obdelavo podatkov, ki lahko meri višine ali površine pikov, ter avtomatskim vzorčevalcem ali potrebno opremo za ročno vbrizgavanje vzorcev.

- 5.2 Injektor tipa split/splitless

- 5.3 Kapilarna kolona, npr.:

Dolžina: 50 m

Notranji premer: 0,32 mm

Debelina prevleke: 0,2 µm

Stacionarna faza: FFAP – modificiran TPA zamrežen polietilen glikol.

- 5.4 Laboratorijska oprema: Steklene merilne posode razreda A, analitska tehnika (natančnost: ± 0,1 mg).

6. **Kromatografski pogoji**

Tip in dimenzije kolone ter pogoji delovanja plinske kromatografije morajo biti taki, da sta anetol in interni standard ločena eden od drugega ter od drugih motečih snovi. Tipične razmere za kolono, ki je dana kot primer v 5.3, so:

- 6.1 Nosilni plin: analitski helij

- 6.2 Pretok: 2 ml/min

- 6.3 Temperatura injektorja: 250 °C

- 6.4 Temperatura detektorja: 250 °C

- 6.5 Temperaturne razmere pečice: izotermne, 180 °C, čas delovanja 10 minut

- 6.6 Prostornina vbrizga: 1 µl, split 1:40.

7. **Vzorci**

Vzorce hranimo pri sobni temperaturi v hladnem in temnem prostoru.

8. **Postopek**

- 8.1 Preverjanje prisotnosti estragola

Za potrditev odsotnosti estragola v vzorcu je treba opraviti slepo analizo brez dodatka internega standarda. Če je estragol naravno prisoten, moramo uporabiti drug interni standard (na primer mentol).

Odipetiramo 2 ml vzorca v 20-mililitrsko bučko in dopolnimo s 45-odstotnim etanolom (4.4) ter temeljito premešamo.

▼M1

- 8.2 Priprava neznanih vzorcev
- Odipetiramo 2 ml vzorca v 20-mililitrsko merilno bučko, nato dodamo 2 ml internega standarda B (4.5.2) in dopolnimo s 45-odstotnim etanolom (4.4) ter temeljito premešamo.
- 8.3 Slepi poskus
- Odipetiramo 2 ml internega standarda B (4.5.2) v 20-mililitrsko merilno bučko in jo dopolnimo s 45-odstotnim etanolom (4.4) ter temeljito premešamo.
- 8.4 Test linearnosti
- Pred začetkom analize je treba preveriti linearnost odziva FID z zaporedno trikratno analizo linearnosti standardnih raztopin (4.5.3).
- Na podlagi največjih površin ali višin integratorja izdelamo za vsak vbrizg graf koncentracije izvornih raztopin v g/l proti razmerju R za vsako raztopino.
- $$R = \text{površina ali višina trans-anetola, deljena s površino ali višino estragola.}$$
- Dobiti moramo linearno odvisnost.
- 8.5 Določitev
- Vbrizgamo slepi poskus (8.3), nato standardno raztopino C (4.5.4), nato enega od standardov linearnosti (4.5.3), ki delujejo kot kontrolni vzorec kakovosti (tega lahko izberemo s sklicevanjem na verjetno koncentracijo trans-etanola v neznani vzorcu), nato pet neznanih vzorcev (8.2). Standardni vzorec (kontrolni vzorec) vbrizgamo po petih neznanih vzorcih, da zagotovimo analitično stabilnost.
9. **Izračun faktorja odzivnosti**
- Merimo bodisi površino pika (z uporabo integratorja ali drugega podatkovnega sistema) bodisi višino (ročna integracija) trans-anetola in internega standarda.
- 9.1 Izračun faktorja odzivnosti (RF_i)
- Faktor odzivnosti se izračuna:
- $$RF_i = (C_i / \text{površina ali višina}_i) * (\text{površina ali višina}_{is} / C_{is}),$$
- pri čemer je:
- C_i koncentracija trans-anetola v standardni raztopini A (4.5.1)
- C_{is} koncentracija internega standarda v standardni raztopini B (4.5.2)
- površina_i površina (ali višina) trans-anetola
- površina_{is} površina (ali višina) internega standarda
- RF_i se izračuna na podlagi petih vzorcev raztopine C (4.5.4).
- 9.2 Analiza linearnosti odziva testnih vzorcev
- Vbrizgamo testne vzorce linearnosti odziva (4.5.3).
- 9.3 Analiza vzorca
- Vbrizgamo neznane vzorce (8.2).
10. **Izračun rezultatov**
- Formula za izračun koncentracije trans-anetola je:
- $$c_i = C_{is} * (\text{površina ali višina}_i / \text{površina ali višina}_{is}) * RF_i,$$
- pri čemer je:
- c_i neznana koncentracija trans-anetola
- C_{is} koncentracija internega standarda v neznani raztopini (4.5.2)
- $\text{površina ali višina}_i$ površina (ali višina) trans-anetola
- $\text{površina ali višina}_{is}$ površina (ali višina) internega standarda

▼ **M1**

RF_i odzivnost koeficienta (izračunanega kakor v 9.1)

Koncentracija trans-anetola se izraža v gramih na liter, zaokroženih na eno decimalno mesto.

11. **Zagotovitev kakovosti in nadzora**

Kromatogrami morajo biti taki, da sta anetol in interni standard ločena drug od drugega ter od katere koli moteče snovi. Vrednost RF_i se izračuna na podlagi rezultatov petih vbrizgov raztopine C (4.5.4). Če je koeficient variacije ($CV \% = (\text{standardni odmik/srednja vrednost}) * 100$) v intervalu plus ali minus 1 %, je srednja vrednost RF_i sprejemljiva.

Zgornji izračun uporabimo za koncentracijo trans-anetola v vzorcu, izbranem za nadzor kakovosti na podlagi linearnosti kontrolnih raztopin (4.5.3).

Če je srednja vrednost rezultatov izračunana na podlagi vzorcev linearnosti, izbrana za interni kontrolni vzorec kakovosti (IQC), v intervalu plus ali minus 2,5 % od teoretične vrednosti, so rezultati za neznani vzorec sprejemljivi.

12. **Ravnanje z vzorci žganih pijač z veliko vsebnostjo sladkorja in vzorci likerjev pred analizo s plinsko kromatografijo**

Ekstrakcija alkohola iz žgane pijače z veliko vsebnostjo sladkorja, zato da bi se omogočila določitev koncentracije trans-anetola, uporabljajoč plinsko kromatografijo (GC).

12.1 Načelo

Vzamemo alikvot vzorca likerja in mu dodamo interni standard v podobni koncentraciji kakor analitu (trans-anetola) v likerju. Nato dodamo natrijev fosfat dodekahidrat in brezvodni amonijev sulfat. Mešanico dobro pretresemo in ohladimo, razvijeta se dve plasti, nato odstranimo zgornjo plast alkohola. Vzamemo alikvot te plasti alkohola in razredčimo s 45-odstotno raztopino etanola (4.4) (Opomba: v tej fazi se ne dodaja noben interni standard, ker je že dodan). Pridobljeno raztopino analiziramo s plinsko kromatografijo.

12.2 Reagenti in materiali

Med ekstrakcijo uporabimo samo reagente čistosti 99 % in več.

12.2.1 Amonijev sulfat, brezvodni (CAS 7783-20-2).

12.2.2 Natrijev fosfat dodekahidrat, dvobazni (CAS 10039-32-4).

12.3 Aparature in oprema

Erlenmajerice, liji ločniki, hladilnik.

12.4 Postopek

12.4.1 Preverjanje prisotnosti estragola

Za preverjanje odsotnosti estragola Č v vzorcu, je treba izvesti slepo ekstrakcijo (12.6.2) in analizo brez dodajanja internega standarda. Če je estragol naravno prisoten, uporabimo drug interni standard.

12.4.2 Ekstrakcija

Od Pipetiramo 5 ml 96-odstotnega etanola (4.1) v erlenmajerico in vanjo stehtamo 50 mg internega standarda (4.3) ter dodamo 50 ml vzorca. Dodamo 12 g brezvodnega amonijevega sulfata (12.2.1) in 8,6 g dvobaznega natrijevega fosfatadodekahidrata (12.2.2). Zamašimo erlenmajerico.

Erlenmajerico stresamo vsaj 30 minut. Lahko uporabimo mehanski stresalnik, vendar ne magnetnega mešala, prevlečenega s teflonom, ker bi teflon absorbiral nekaj analita. Upoštevamo, da se dodane soli ne bodo raztopile v celoti.

Zamašeno erlenmajerico damo v hladilnik ($T < 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) za vsaj dve uri.

Medtem se morajo ustvariti dve ločeni plasti in trdni ostanek. Plast alkohola mora biti čista, če ni, damo erlenmajerico ponovno v hladilnik, dokler ne dosežemo jasne ločitve.

▼ **M1**

Ko je plast alkohola čista, previdno odvezamemo alikvot (npr. 10 ml) brez dotikanja vodne plasti, damo v temno stekleničko in trdno zapremo.

12.4.3 Priprava ekstrahiranega vzorca

Pustimo, da ekstrakt (12.4.2) doseže sobno temperaturo.

Vzamemo 2 ml alkoholne plasti vzorca pri sobni temperaturi in ga odpipetiramo v 20-mililitrsko merilno bučko, dopolnimo s 45-odstotnim etanolom (4.4) in temeljito premešamo.

12.5 Določitev

Sledimo postopku, kakor je opisan v 8.5.

12.6 Izračun rezultatov

Uporabimo naslednjo formulo za izračun rezultatov:

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

pri čemer je:

m_{is} masa internega standarda (4.3), ki je uporabljen (12.4.2) (v miligramih),

V prostornina neznanega vzorca (50 ml)

RF_i faktor odzivnosti (9.1)

površina_i površina trans-anetola

površina_{is} površina internega standarda

Rezultate izrazimo v gramih na liter, zaokroženih na eno decimalno mesto.

12.7 Nadzor in zagotovitev kakovosti

Sledimo postopku, kakor je opisan v 11 zgoraj.

13. **Značilnosti rezultatov metode (natančnost)**

Statistični rezultati medlaboratorijskega poskusa:

naslednje tabele vsebujejo vrednosti za anetol.

Naslednji podatki so pridobljeni na podlagi mednarodnega medlaboratorijskega preskusa, ki je opravljen v skladu z mednarodno priznanimi postopki.

Leto medlaboratorijskega poskusa	1 998
Število laboratorijev	16
Število vzorcev	10
Analit	anetol

Pastis:

Vzorci	A	B	C	D	E	F
Število preostalih laboratorijev po izločitvi	15	15	15	13	16	16
Število izločenih (laboratorijev)	1	1	1	3	—	—
Število sprejetih rezultatov	30	30	30	26	16	16
Srednja vrednost g/l	1,477	1,955	1,940	1,833	1,741	1,754
Standardni odklon ponovljivosti (S_r) g/l	0,022	0,033	0,034	0,017	—	—
Relativni standardni odklon ponovljivosti (RSD_r) (%)	1,5	1,7	1,8	0,9	—	—
Meja ponovljivosti (r) g/l	0,062	0,093	0,096	0,047	—	—
Standardni odklon obnovljivosti (S_R) g/l	0,034	0,045	0,063	0,037	0,058	0,042

▼ **M1**

Vzorci	A	B	C	D	E	F
Relativni standardni odklon obnovljivosti (RSD_R) (%)	2,3	2,3	3,2	2,0	3,3	2,4
Meja obnovljivosti (R) g/l	0,094	0,125	0,176	0,103	0,163	0,119

Vrste vzorcev:

- A pastis, slepi, duplikati
- B pastis, slepi, duplikati
- C pastis, slepi, duplikati
- D pastis, slepi, duplikati
- E pastis, posamezni, duplikati
- F pastis, posamezni, duplikati

Druge žgane pijače z janežem:

Vzorci	G	H	I	J
Število preostalih laboratorijev po izločitvi	16	14	14	14
Število izločenih (laboratorijev)	—	2	1	1
Število sprejetih rezultatov	32	28	28	28
Srednja vrednost g/l	0,778 0,530 (*)	1,742	0,351	0,599
Standardni odklon ponovljivosti (S_P) g/l	0,020	0,012	0,013	0,014
Relativni standardni odklon ponovljivosti (RSD_P) (%)	3,1	0,7	3,8	2,3
Meja ponovljivosti (r) g/l	0,056	0,033	0,038	0,038
Standardni odklon obnovljivosti (S_R) g/l	0,031	0,029	0,021	0,030
Relativni standardni odklon obonovljivosti (RSD_R) (%)	4,8	1,6	5,9	5,0
Meja obnovljivosti (R) g/l	0,088	0,080	0,058	0,084

Vrste vzorcev:

- G ouzo, split (*)
- H jane, slepi duplikati
- I liker z janežem, duplikati
- J liker z janežem, duplikati

▼ **M1****VI. GLICIRIZINSKA KISLINA. DOLOČITEV GLICIRIZINSKE KISLINE Z UPORABO TEKOČINSKE KROMATOGRAFIJE VISOKE LOČLJIVOSTI****1. Področje uporabe**

Ta metoda je primerna za določitev glicirizinske kisline v žganih pijačah z janežem z uporabo tekočinske kromatografije visoke ločljivosti (HPLC). Uredba (EGS) št. 1576/89 določa, da mora žgana pijača „pastis“ vsebovati med 0,05 in 0,5 g glicirizinske kisline na liter.

2. Normativne reference

ISO 3696: 1987 Voda za analitično laboratorijsko uporabo – specifikacija in testne metode.

3. Načelo

Koncentracijo glicirizinske kisline določimo z uporabo tekočinske kromatografije visoke ločljivosti (HPLC) z UV-detektorjem. Standardno raztopino in testni vzorec filtriramo in ju ločeno vbrizgamo neposredno v sistem tekočinske kromatografije.

4. Reagenti in materiali

Za analizo uporabljamo le reagente, ki ustrezajo zahtevam tekočinske kromatografije, absolutni etanol in vodo 3. razreda, kakor je definirana s standardom ISO 3696.

4.1 Etanol, 96 vol % (CAS 64-17-5).**4.2 Amonijev glicirizinat, $C_{42}H_{62}O_{16} \cdot NH_3$ (amonijeva sol glicirizinske kisline)**

(Mol. Wt.: 839,98)(CAS 53956-04-0): vsaj 90-odstotna čistost

(Mol. Wt.: glicirizinska kislina 822,94).

4.3 Ocetna kislina (ledocet), CH_3COOH , (CAS 64-19-7).**4.4 Metanol, CH_3OH (CAS 67-56-1).****4.5 Etanol, 50 vol %.**

Za 1 000 ml pri 20 °C:

— etanol, 96 vol. % (4.1): 521 ml

— voda (2.0): 511 ml.

4.6 Priprava elucijskih raztopin za visoko učinkovito tekoče izpiranje**4.6.1 Mobilna faza (topilo) A (primer)**

80 delov (prostornina) vode (2.0)

20 delov (prostornina) očetne kisline (4.3).

Razplinjujemo topilo pet minut.

Opomba: Če uporabljena voda ni mikrofiltrirana, je priporočljivo filtrirati pripravljeno topilo skozi filter za organska topila z velikostjo lukenj 0,45 μm ali manj.

4.6.2 Mobilna faza (topilo) B (primer)

Metanol (4.4).

4.7 Priprava standardnih raztopin

Vse standardne raztopine moramo sveže pripraviti po dveh mesecih.

4.7.1 Referenčna raztopina C

Z natančnostjo na 0,1 mg stehamo 25 mg amonijevega glicirizinata (4.2) v 100-mililitrsko merilno bučko. Dodamo nekaj 50 –odstotnega etanola (4.5) in raztopimo amonijev glicirizinat. Ko se raztopi, dopolnimo do oznake s 50-odstotnim etanolom. (4.5).

Filtriramo skozi filter za organska topila.

▼M1

- 4.7.2 Standardne raztopine, ki se uporabljajo za preverjanje linearnosti odziva instrumentov

Osnovno raztopino 1,0 g/l pripravimo s tehtanjem, z natančnostjo na 0,1 mg. 100 mg amonijevega glicirizinata stehtamo v 100-mililitrsko merilno bučko. Dodamo nekaj 50-odstotnega etanola (4.5) in raztopimo amonijev glicirizinat. Ko se raztopi, dopolnimo do oznake s 50-odstotnim etanolom (4.5).

Pripravimo vsaj štiri druge raztopine, ki ustrezajo koncentracijam amonijevega glicirizinata 0,05, 0,1, 0,25 in 0,5 g/l, s posamičnim pipetiranjem 5 ml, 10 ml, 25 ml in 50 ml osnovne raztopine s koncentracijo 1,0 g/l v ločene 100-mililitrske merilne bučke. Nato do oznake dopolnimo s 50-odstotnim etanolom (4.5) in temeljito premešamo.

Filtriramo vse raztopine skozi filter za organska topila.

5. **Aparature in oprema**

5.1 Separacijski sistem

5.1.1 Tekoča kromatografija visoke ločljivosti

5.1.2 Črpalni sistem, ki nam omogoča doseganje in ohranjanje stalnega programiranega pretoka z veliko natančnostjo.

5.1.3 UV-spektrofotometrični detekcijski sistem: nastavimo na 254 nm.

5.1.4 Sistem za razplinjanje topil.

5.2 Računalniški integrator ali registrator združljiv z drugim sistemom.

5.3 Kolona (primer):

Material: nerjaveče jeklo ali steklo

Notranji premer: 4 do 5 mm

Dolžina: 100 do 250 mm

Stacionarna faza: silika, oplaščena z oktadecilno skupino (C18), velikost delca: 5 µm.

5.4 Laboratorijska oprema

5.4.1 Analitska tehnika z natančnostjo 0,1 mg

5.4.2 Merilna posoda razreda A

5.4.3 Priprave za filtriranje za mikromembransko filtracijo majhnih prostornin

6. **Kromatografski pogoji**

6.1 Elucijske značilnosti: (primer)

— pretok: 1 ml/minuto,

— topilo A = 30 %,

— topilo B = 70 %,

6.2 Detekcija:

— UV = 254 nm

7. **Postopek**

7.1 Priprava vzorca žgane pijače

Po potrebi filtriramo skozi filter za organska topila (premer lukenj: 0,45 µm).

7.2 Določitev

Ko se ustalijo kromatografski pogoji,

— vbrizgamo 20 µl referenčne raztopine C (4.7.1),

— vbrizgamo 20 µl vzorčne raztopine,

▼ **M1**

— primerjamo oba kromatograma. Identificiramo pike glicirizinske kisline na podlagi njihovega retenzijskega časa. Izmerimo njihove površine (ali višine) in izračunamo koncentracijo v g/l, zaokroženo na dve decimalni mesti natančno, z naslednjo enačbo:

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

pri čemer je:

- c koncentracija v gramih na liter glicirizinske kisline v žgani pijači, ki jo analiziramo
- C koncentracija v gramih na liter amonijevega glicirizinata v referenčni raztopini
- h površina (ali višina) glicirizinske kisline v žgani pijači, ki jo analiziramo
- H površina (ali višina) glicirizinske kisline v referenčni raztopini
- P čistost referencnega amonijevega glicirizinata (v %)

823 masa enega mola glicirizinske kisline

840 masa enega mola amonijevega glicirizinata.

8. **Značilnosti rezultatov metode (natančnost)**

Statistični rezultati medlaboratorijskega preskusa:

naslednja tabela vsebuje vrednosti glicirizinske kisline.

Naslednji podatki so pridobljeni na podlagi mednarodnega medlaboratorijskega poskusa, opravljenega v skladu z mednarodno priznanimi postopki.

Leto medlaboratorijskega poskusa	1 998
Število laboratorijev	16
Število vzorcev	5
Analit	gli cir izi nsk a k isl ina

Vzorci	A	B	C	D	E
Število preostalih laboratorijev po izločitvi	13	14	15	16	16
Število izločenih (laboratorijev)	3	2	1	—	—
Število sprejetih rezultatov	26	28	30	32	32
Srednja vrednost g/l	0,046	0,092 (*) 0,099	0,089	0,249	0,493
Standardni odklon ponovljivosti (S_r) g/l	0,001	0,001	0,001	0,002	0,003
Relativni standardni odklon ponovljivosti (RSD_r) (%)	1,5	1,3	0,7	1,0	0,6
Meja ponovljivosti (r) g/l	0,002	0,004	0,002	0,007	0,009
Standardni odklon obnovljivosti (S_R) g/l	0,004	0,007	0,004	0,006	0,013
Relativni standardni odklon obnovljivosti (RSD_R) (%)	8,6	7,2	4,0	2,5	2,7
Meja obnovljivosti (R) g/l	0,011	0,019	0,010	0,018	0,037

Vrste vzorcev:

- A pastis, slepi, duplikati
- B pastis, split (*)
- C pastis, slepi, duplikati
- D pastis, slepi, duplikati

▼ M1

E pastis, slepi, duplikati

▼ **M1****VII. HALKONI. METODA TEKOCINSKE KROMATOGRAFIJE
VISOKE LOČLJIVOSTI ZA PREVERJANJE PRISOTNOSTI
HALKONOV V PASTISU****1. Področje uporabe**

Ta metoda je primerna za določitev prisotnosti halkonov v pijačah z janežem. Halkoni so naravna barvila iz družine flavonoidov, ki jih najdemo v koreninah sladkega golostebelnega korena (*Glycyrrhiza glabra*).

Žgana pijača z imenom „pastis“ mora vsebovati halkone (Uredba (EGS) št. 1576/89).

2. Normativne reference

ISO 3696: 1987 Voda za analitsko laboratorijsko uporabo – specifikacija in testne metode.

3. Načelo

Pripravimo referenčno raztopino ekstraktov iz sladkega golostebelnega korena. Prisotnost ali odsotnost halkonov določimo z uporabo tekoče kromatografije visoke ločljivosti (HPLC) z UV-detektorjem.

4. Reagenti in materiali

Za analizo uporabimo le reagente, ki ustrezajo zahtevam tekočinske kromatografije. Etanol mora biti vsaj 96-odstoten. Uporablja se voda 3. razreda, kakor je definirana v standardu ISO 3696.

4.1 Etanol, 96 vol % (CAS 64-17-5)**4.2 Acetonitril, CH₃CN, (CAS 75-05-8)****4.3 Referenčna snov: *Glycyrrhiza glabra*: sladki golostebelni koren**

Grobo zmlete korenine sladkega golostebelnega korena (*Glycyrrhiza glabra*). Povprečne dimenzije delcev: dolžina: 10 do 15 mm, debelina: 1 do 3 mm.

4.4 Natrijev acetat, CH₃COONa, (CAS 127-09-3)**4.5 Ocetna kislina (ledocet), CH₃COOH, (CAS 64-19-7)****4.6 Priprava raztopin****4.6.1 Etanol, 50 vol %**

Za 1 000 ml pri 20 °C:

— etanol, 96 vol. % (4.1): 521 ml,

— voda (2.0): 511 ml.

4.6.2 Topilo A: acetonitril

Acetonitril (4.2) z analitično čistostjo tekočinske kromatografije visoke ločljivosti.

Razplinimo.

4.6.3 Topilo B: 0,1 M pufer raztopina natrijevega acetata, pH 4,66.

V merilno bučko stehtamo 8,203 g natrijevega acetata (4.4), dodamo 6,005 g očetne kisline (ledocet) (4.5) in z vodo dopolnimo do 1 000 ml (2).

5. Priprava referenčnih ekstraktov iz *Glycyrrhiza glabra* (4.3)**5.1 Stehtamo 10 g zmletih korenin sladkega golostebelnega korena (*Glycyrrhiza glabra*) (4.3) in damo v destilacijsko bučko z okroglim dnom**

— dodamo 100 ml etanola z vsebnostjo 50 vol. % (4.6.1),

— vremo eno uro ob povratnem toku (refluksu),

— filtriramo,

— shranimo filtrat za kasnejšo uporabo.

5.2 Vzamemo ekstrakt korena iz filtra

▼ **M1**

- damo v destilacijsko bučko z okroglim dnom
- dodamo 100 ml 50-odstotnega etanola, (4.6.1),
- vremo eno uro ob povratnem toku (refluksu),
- filtriramo. Shranimo filtrat za kasnejšo uporabo.
- 5.3 Ekstrakcija korenine sladkega golostebelnega korena se opravi trikrat zaporedoma.
- 5.4 Združimo vse tri filtrate.
- 5.5 Pustimo, da topilna faza (iz 5.4) izhlapi na rotacijskem evaporatorju.
- 5.6 Preostali ekstrakt (iz 5.5) dopolnimo s 100 ml 50-odstotnega etanola. (4.6.1).
- 6. **Aparature in oprema**
- 6.1 Separacijski sistem.
- 6.1.1 Tekočinska kromatografija visoke ločljivosti
- 6.1.2 Črpalni sistem, ki lahko doseže in ohrani stalno ali programirano hitrost pretoka pri visokem pritisku.
- 6.1.3 UV/vidni spektrofotometrični detektor, ki se lahko nastavi na 254 in 370 nm.
- 6.1.4 Sistem za razplinjanje topil:
- 6.1.5 Termostat kolone, ki se lahko nastavi na temperaturo $40 \pm 0,1$ °C.
- 6.2 Računalniški integrator ali registrator združljiv z drugim separacijskim sistemom.
- 6.3 Kolona
 - Material: nerjaveče jeklo ali steklo
 - Notranji premer: 4 do 5 mm
 - Stacionarna faza: silika, oplasčena z oktadecilno skupino (C 18), velikost delca: 5 µm.
- 6.4 Običajna laboratorijska oprema:
- 6.4.1 analitska tehtnica (natančnost: $\pm 0,1$ mg)
- 6.4.2 destilacijska aparatura s kondenzatorjem povratnega toka (refluksa), vključujoč npr.:
 - 250-mililitrsko bučko z okroglim dnom s standardiziranim brusom iz brušenega stekla,
 - 30 cm dolgi kondenzator povratnega toka in
 - vir toplote (z uporabo ustrezne priprave moramo preprečiti vsako pirogeno reakcijo nepredestilirane snovi).
- 6.4.3 Rotacijski evaporator.
- 6.4.4 Filtracijski sistem (tj. Buchnerjevega lija).
- 6.5 Kromatografski pogoji (primer).
- 6.5.1 Elucijske značilnosti topil A (4.6.2) in B (4.6.3):
 - gradient iz 20/80 (v/v) na 50/50 (v/v) v 15 minutah,
 - gradient iz 50/50 (v/v) na 75/25 (v/v) v petih minutah,
 - izenačimo 75/25 (v/v) za pet minut,
 - stabilizacija kolone med vbrizgi,
 - izenačimo 20/80 (v/v) za pet minut,
- 6.5.2 Pretok: 1 ml/minuto.
- 6.5.3 Nastavitve UV-detektorja:
 - Detektor mora biti nastavljen na 370 nm za detekcijo halkanov in potem na 254 nm za detekcijo glicirizinske kisline.

▼ **M1**

Opomba: sprememba valovne dolžine (z 370 nm na 254 nm) mora biti opravljena 30 sekund prej, preden elucija glicirizinske kisline začne dosegati največje vrednosti.

7. Postopek

7.1 Priprava vzorca žgane pijače

Filtriramo skozi filter za organska topila (premer lukenj: 0,45 µm).

7.2 Priprava ekstrakta iz sladkega golostebelnega korena (5.6)

Naredimo raztopino ena proti deset s 50-odstotnim etanolom (4.6.1)

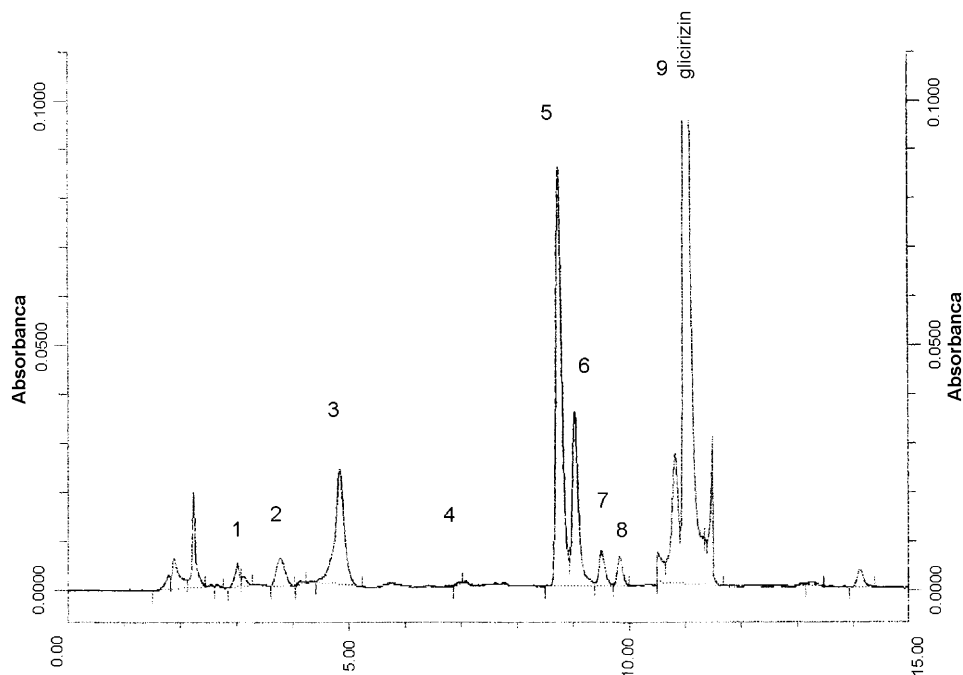
7.3 Določitev

7.3.1 Vbrizgamo 20 µl pripravljenega ekstrakta (7.2). Analizo izvedemo pri kromatografskih pogojih, ki so opisani zgoraj (6.5).

7.3.2 Vbrizgamo 20 µl vzorca (7.1) (vzorec žgane pijače z janežem). Analizo izvedemo pri kromatografskih pogojih, ki so opisani zgoraj (6.5).

7.3.3 Primerjamo oba kromatograma. Podobnost med dvema kromatogramoma mora biti velika v območju halkona (med ugotavljanjem pri 370 nm pri zgoraj opisanih pogojih analize.) (Glej Diagram 1)

8. Značilni kromatogram za pastis



▼ **M1**9. **Značilnosti rezultatov metode (natančnost)**

Rezultati medilaboratorijskega poskusa:

Naslednja tabela opisuje rezultate ugotavljanja halkona v pastisu in žganih pijačah z aromo janeža.

Naslednji podatki so pridobljeni na podlagi mednarodnega medlaboratorijskega poskusa, ki je opravljen v skladu z mednarodno sprejetimi postopki.

Leto medlaboratorijskega poskusa	1 998
Število laboratorijev	14
Število vzorcev	11
Analit	h alk oni

Vzorci	A	B	C	D	E	F
Število preostalih laboratorijev po izločitvi	14	14	14	14	14	13
Število izločenih (laboratorijev)	—	—	—	—	—	1 (*)
Število sprejetih rezultatov	28	14	14	28	28	26
Število rezultatov, ki kažejo na prisotnost halkona	28	14	14	0	28	0
Število rezultatov, ki kažejo na odsotnost halkonov	0	0	0	28	0	26
Odstotek pravih rezultatov (%)	100	100	100	100	100	100

(*) Neskladni rezultati med dvema duplikatoma, ki so pripisani napaki vzorčenja.

Vzorci	G	H	I	J	K
Število preostalih laboratorijev po izločitvi	14	14	14	14	14
Število izločenih (laboratorijev)	—	—	—	—	—
Število sprejetih rezultatov	28	14	14	28	28
Število rezultatov, ki kažejo prisotnost halkonov	0	0	0	0	0
Število rezultatov, ki kažejo na odsotnost halkonov	28	14	14	28	28
Odstotek pravih rezultatov (%)	100	100	100	100	100

Vrste vzorcev:

- A pastis, slepi, duplikati
- B pastis, posamezni vzorci
- C pastis, posamezni vzorci
- D „pastis“ (brez vsebnosti halkonov), slepi, duplikati
- E „pastis“ (brez vsebnosti halkonov), slepi, duplikati
- F liker z janežem (brez vsebnosti halkonov), slepi, duplikat
- G liker z janežem (brez vsebnosti halkonov), slepi, duplikat
- H ouzo (brez vsebnosti halkonov), posamezni vzorec
- I ouzo (brez vsebnosti halkonov), posamezni vzorec
- J jane (brez vsebnosti halkonov), slepi duplikati
- K „pastis“ (brez vsebnosti halkonov), slepi duplikati.

▼ M1**IX. RUMENJAK. DOLOČITEV KONCENTRACIJE RUMENJAKA V ŽGANIH PIJAČAH – FOTOMETRIČNA METODA****1. Področje uporabe**

Ta metoda je primerna za določitev koncentracije rumenjaka v razponu med 40 in 250 g/l v jajčnem likerju in likerju z jajci.

2. Normativne reference

ISO 3696:1897 Voda za analitično laboratorijsko uporabo – specifikacija in testne metode.

3. Načelo

Fosforne spojine, topne v etanolu, in jih najdemo v jajcu, se ekstrahirajo in ovrednotijo fotometrično kot fosfomolibdenski kompleks.

4. Reagenti in materiali

4.1 Dvakrat destilirana voda

4.2 Diatomejska zemlja

4.3 Etanol, 96 vol % (CAS 64-17-5)

4.4 15 % raztopina magnezijevega acetata (CAS 16674-78-5)

4.5 10 % žveplena kislina (CAS 7664-93-9)

4.6 1 N žveplena kislina

4.7 0,16 g/l raztopine kalijevega dihidrogen fosfata (CAS 778-77-0), KH_2PO_4

4.8 Reagenti za določitev fosfata:

20 g amonijevega molibdata (CAS 12054-85-2), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ raztopimo v 400 ml vode pri 50 °C;

v drugi posodi raztopimo 1 g amonijevega vanadata (CAS 7803-55-6) NH_4VO_3 v 300 ml vroče vode, pustimo, da se ohladi, in dodamo 140 ml koncentrirane dušikove kisline (CAS 7697-37-2). Združimo ohlajene raztopine v 1 000-mililitrski merilni bučki in dopolnimo do oznake.

5. Aparature in oprema

5.1 1 100-mililitrska erlenmajerica

5.2 Ultrazvočna kopel (ali magnetno mešalo)

5.3 3 100-mililitrska merilna bučka

5.4 Vodna kopel pri 25 °C

5.5 Filter (whatman št. 4 ali enakovreden)

5.6 Porcelanski (ali platinasti) lonček

5.7 Vodna kopel

5.8 Plošča za izparevanje

5.9 Talilna peč

5.10 50-mililitrska merilna bučka

5.11 20-mililitrska merilna bučka

5.12 Spektrofotometer, nastavljen na 420 nm.

5.13 1-centimetrska kiveta.

6. Vzorci

Vzorci se pred analizo hranijo na sobni temperaturi.

7. Postopek

7.1 Priprava vzorca

7.1.1 Stehmo 10 g vzorca v 100-mililitrsko erlenmajerico (5.1).

7.1.2 Postopno dodajamo 70 ml etanola (4.3) v majhnih količinah, obrabčamo erlenmajerico ob vsakem dodatku, nato damo v ultrazvočno

▼ **M1**

kopel (5.2) za 15 minut (ali mešamo z magnetnim mešalom (5.2) 10 minut na sobni temperaturi).

- 7.1.3 Vsebinsko erlenmajerice prenesemo v 100-mililitrsko merilno bučko (5.3) ob splakovanju z etanolom (4.3). Do oznake dopolnimo z etanolom (4.3) in damo bučko v vodno kopel pri 20 °C (5.4). Dopolnimo do oznake pri 20 °C.
- 7.1.4 Dodamo majhno količino diatomejske zemlje (4.2), filtriramo (5.5) in zavržemo prvih 20 ml.
- 7.1.5 Prenesemo 25 ml filtrata v porcelanasti (ali platinasti) lonček (5.6). Nato filtrat koncentriramo z izhlapevanjem v vreli vodni kopeli (5.7) ob dodatku 5 ml 15-odstotne raztopine magnezijevega acetata (4.4).
- 7.1.6 Lonček postavimo na ploščo za izparevanje (5.8) in segrevamo do izsušitve.
- 7.1.7 Preostanek sežgemo pri 600 °C v peči (5.9), dokler pepel ne pobeli. Postopek naj traja najmanj eno uro in pol, vendar lahko pustimo čez noč.
- 7.1.8 Pepel prelijemo z 10 ml 10-odstotne žveplene kisline in ga prenesemo ob spiranju z destilirano vodo (4.1) v 50-mililitrsko merilno bučko (5.10) in jo napolnimo do oznake pri sobni temperaturi z destilirano vodo (4.1). 5-milimetrski alikvot te raztopine pepela se uporabi za pripravo vzorčne raztopine za fotometrični preskus.
- 7.2 Fotometrični preskus
- 7.2.1 Primerjalne raztopine
- 7.2.1.1 10 ml 10-odstotne žveplene kisline (4.5) nalijemo v 50-mililitrsko merilno bučko (5.10) in napolnimo do oznake z destilirano vodo (4.1).
- 7.2.1.2 5 mililitrom alikvota raztopine (7.2.1.1) v 20-mililitrski merilni bučki (5.11) dodamo 1 ml 1N žveplene kisline (4.6) in 2 ml fosfatovega reagenta (4.8) ter dopolnimo do oznake z destilirano vodo (4.1).
- 7.2.1.3 Zamašimo z rahlo vstavljenim zamaškom, pretresemo in segrevamo v vreli vodni kopeli (5.7) 10 minut, nato hladimo 20 minut v vodni kopeli pri 20 °C (5.4).
- 7.2.1.4 Napolnimo 1-centimetrsko kiveto (5.13) s to primerjalno raztopino.
- 7.2.2 Raztopina vzorca
- 7.2.2.1 5 mililitrom alikvota raztopine pepela (7.1.8) v 20-mililitrski merilni bučki (5.11) dodamo 1 ml 1 N žveplene kisline (4.6) in 2 ml fosfatovega reagenta (4.8) in dopolnimo do oznake z destilirano vodo (4.1).
- 7.2.2.2 Zamašimo z rahlo vstavljenim zamaškom, pretresemo in segrevamo v vreli vodni kopeli (5.7) 10 minut, nato hladimo v vodni kopeli 20 minut pri 20 °C (5.4).
- 7.2.2.3 Rumeno raztopino, ki se razvije, nemudoma analiziramo s spektrofotometrično (5.12) v 1-centimetrski kiveti (5.13) pri 420 nm glede na primerjalne raztopine (7.2.1.4).
- 7.2.3 Umeritvena krivulja
- 7.2.3.1 Za izdelavo umeritvene krivulje dodamo 2 ml alikvota fosfatovega reagenta (4.8) v 20-mililitrsko merilno bučko (5.11), od katerih vsaka vsebuje 1 ml 1 N žveplene kisline (4.6) in 0, 2, 4, 6, 8, ter 10 ml raztopine kalijevega dihidrogenega fosfata (4.7). Dopolnimo do oznake z destilirano vodo (4.1).
- 7.2.3.2 Zamašimo z rahlo vstavljenim zamaškom, pretresemo in segrevamo na vreli vodni kopeli (5.7) 10 minut, nato hladimo v vodni kopeli pri 20 °C (5.4) 20 minut ter analiziramo s spektrofotometrom (5.12) v 1-centimetrski kiveti (5.13) pri 420 nm glede na primerjalno raztopino (7.2.1.4).
- 7.2.3.3 Izdelava kalibracijske krivulje
- | | | | | | | |
|--------------------------------------|---|-------|-------|-------|-------|-------|
| raztopina dihidrogenega fosfata (ml) | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 |
| P ₂ O ₅ (mg) | 0 | 0,167 | 0,334 | 0,501 | 0,668 | 0,835 |

▼ **M1**8. **Navajanje rezultatov**

Vsebnost rumenjaka v g/l se izračuna z naslednjo formulo:

$$\text{g/l rumenjak} = \text{mg P}_2\text{O}_5 \times \frac{110 \times \text{gostota}}{E/40}$$

pri čemer je:

- 110 faktor pretvorbe za celotni P₂O₅ v gramih v 100 g rumenjaka
- mg P₂O₅ na osnovi umeritvene krivulje ugotovljena vrednost
- gostota masa na enoto prostornine (g/ml) likerja na osnovi rumenjaka pri 20 °C
- E masa likerja na osnovi jajc v gramih
- 40 faktor razredčitve za 5 ml alikvota raztopine pepela.

9. **Značilnosti rezultatov metode (natančnost)**

Statistični rezultati medlaboratorijskega poskusa:

naslednja tabela vsebuje vrednosti za rumenjak.

Naslednji podatki so pridobljeni na podlagi mednarodnega medlaboratorijskega poskusa, ki je opravljen v skladu z mednarodno sprejetimi postopki.

Leto interlaboratorijskega testa:	1 998
Število laboratorijev:	24
Število vzorcev:	5
Analit:	rumenjak

Vzorci	A	B	C	D	E
Število preostalih laboratorijev po izločitvi	19	20	22	20	22
Število izločenih (laboratorijev)	3	4	2	4	2
Število sprejetih rezultatov	38	40	44	40	44
Srednja vrednost	147,3	241,1	227,4	51,9 (*) 72,8 (*)	191,1
Standardni odklon ponovljivosti (S _r) g/l	2,44	4,24	3,93	1,83	3,25
Relativni standardni odklon ponovljivosti (RSD _R) (%)	1,7	1,8	1,8	2,9	1,7
Meja ponovljivosti (r) g/l	6,8	11,9	11,0	5,1	9,1
Standardni odklon obnovljivosti (S _R) g/l	5,01	6,06	6,66	3,42	6,87
Relativni standardni odklon obnovljivosti (RSD _R) (%)	3,4	2,5	2,9	5,5	3,6
Meja obnovljivosti (R) g/l	14,0	17,0	18,7	9,6	19,2

Vrste vzorcev

- A Advocaat, slepi duplikati
- B Advocaat, slepi duplikati
- C Advocaat, slepi duplikati
- D Advocaat (razredčen), vrednosti split (*)
- E Advocaat, slepi duplikati