Käesolev dokument on vaid dokumenteerimisvahend ja institutsioonid ei vastuta selle sisu eest

►**B** **KOMISJONI MÄÄRUS (EÜ) nr 2870/2000,**

19. detsember 2000,

millega sätestatakse ühenduse standardmeetodid piiritusjookide analüüsimiseks

(EÜT L 333, 29.12.2000, lk 20)

Muudetud:

		Euroopa Liidu Teataja		
		nr	lehekülg	kuupäev
►**M1**	Komisjoni määrus (EÜ) nr 2091/2002, 26. november 2002	L 322	11	27.11.2002

▼B

KOMISJONI MÄÄRUS (EÜ) nr 2870/2000,

19. detsember 2000,

millega sätestatakse ühenduse standardmeetodid piiritusjookide analüüsimiseks

EUROOPA ÜHENDUSTE KOMISJON,

võttes arvesse Euroopa Ühenduse asutamislepingut,

võttes arvesse nõukogu 29. mai 1989. aasta määrust (EMÜ) nr 1576/89, millega kehtestatakse piiritusjookide määratlemise, kirjeldamise ja esitlemise üldeeskirjad, ([1]) muudetud Austria, Soome ja Rootsi ühinemisaktiga, eriti selle artikli 4 lõiget 8,

ning arvestades järgmist:

(1) Määruse (EMÜ) nr 1576/89 artikli 4 lõikes 8 nähakse ette piiritusjookide analüüsimisel kasutatavate meetodite vastuvõtmine. Ametliku kontrolli või vaidluse korral tuleks kasutada standardmeetodeid, et tagada määruse (EMÜ) nr 1576/89 ja komisjoni 24. aprilli 1990. aasta määruse (EMÜ) nr 1014/90 (millega kehtestatakse piiritusjookide määratlemise, kirjeldamise ja esitlemise üldeeskirjad, ([2]) viimati muudetud määrusega (EÜ) nr 2140/98 ([3])) järgimine.

(2) Võimaluste piires tuleks ühenduse standardanalüüsimeetoditena kasutada ja kirjeldada üldtunnustatud meetodeid.

(3) Selleks, et võtta arvesse teaduse edusammude ja ametlike laborite seadmete erinevusi, tuleks laborijuhataja vastutusel lubada kasutada muudel mõõtmispõhimõtetel kui käesoleva määruse lisas kirjeldatud standardmeetoditel põhinevaid meetodeid, kui kõnealused meetodid annavad piisava tagatise tulemuste osas ning eelkõige vastavad nõukogu 20. detsembri 1985. aasta direktiivi 85/591/EMÜ (inimtarbimiseks ettenähtud toiduainete kontrolliks vajalike ühenduse proovivõtu- ja analüüsimeetodite kehtestamise kohta) ([4]) lisas kehtestatud kriteeriumidele ning kui on võimalik tõendada, et saadud tulemuste täpsuse, korratavuse ja reprodutseeritavuse kõikumine on samades piirides nagu käesolevas määruses kirjeldatud standardmeetodite kasutamisega saadud tulemuste korral. Kui see tingimus on täidetud, tuleks lubada kasutada muid analüüsimeetodeid. Siiski on oluline täpsustada, et vaidluse korral ei või standardmeetodite asemel kasutada muid meetodeid.

(4) Käesolevas määruses ettenähtud meetmed on kooskõlas piiritusjookide rakenduskomitee arvamusega,

ON VASTU VÕTNUD KÄESOLEVA MÄÄRUSE:

Artikkel 1

Piiritusjookide analüüsimisel kasutatavad ühenduse standardmeetodid määruse (EMÜ) nr 1576/89 ja määruse (EMÜ) nr 1014/90 järgimise tagamiseks:

— ametliku kontrolli, või

— vaidluse korral

([1]) EÜT L 160, 12.6.1989, lk 1.
([2]) EÜT L 105, 25.4.1990, lk 9.
([3]) EÜT L 270, 7.10.1998, lk 9.
([4]) EÜT L 372, 31.12.1985, lk 50.

▼B

on sätestatud käesoleva määruse lisas.

Artikkel 2

Olenemata artikli 1 esimesest taandest lubatakse laborijuhataja vastutusel kasutada muid analüüsimeetodeid, tingimusel et meetodite õigsus ja täpsus (korratavus ja reprodutseeritavus) on vähemalt samaväärsed lisas esitatud standardanalüüsimeetodite vastavate näitajatega.

Artikkel 3

Kui teatavas piiritusjoogis sisalduvate ainete avastamiseks ja kvantitatiivseks määramiseks ei ole ette nähtud ühenduse standardanalüüsimeetodeid, kasutatakse järgmisi meetodeid:

a) analüüsimeetodid, mis vastavad rahvusvaheliselt tunnustatud menetlustele ning eelkõige direktiivi 85/591/EMÜ lisas kehtestatud kriteeriumitele;

b) Rahvusvahelise Standardiorganisatsiooni (ISO) soovitatud standarditele vastavad analüüsimeetodid;

c) Rahvusvahelise Veiniameti (OIV) Üldkogu tunnustatud ja selle organisatsiooni avaldatud analüüsimeetodid;

d) punktides a, b või c nimetatud meetodite puudumise korral ning õigsuse, korratavuse ja reprodutseeritavuse huvides:

   — asjaomase liikmesriigi heakskiidetud analüüsimeetod,

   — vajaduse korral muu asjakohane analüüsimeetod.

Artikkel 4

Käesoleva määruse kohaldamisel kasutatakse järgmisi mõisteid:

a) *korratavuse piirnorm* – väärtus, mis on 95 % tõenäosusega suurem korratavatel tingimustel (sama sooritaja, samad seadmed, sama labor, sama aeg) tehtud kahe katse tulemuste absoluutsest erinevusest {ISO 3534-1};

b) *reprodutseeritavuse piirnorm* – väärtus, mis on 95 % tõenäosusega suurem reprodutseeritavuse tingimustel (eri sooritajad, eri seadmed ja eri laborid) tehtud kahe katse tulemuste absoluutsest erinevusest {ISO 3534-1};

c) *täpsus* – katse tulemuse ja heakskiidetud standardväärtuse kokkulangevus {ISO 3534-1}.

Artikkel 5

Käesolev määrus jõustub seitsmendal päeval pärast selle avaldamist *Euroopa Ühenduste Teatajas*.

Käesolevat määrust kohaldatakse alates 1. jaanuarist 2001.

Käesolev määrus on tervikuna siduv ja vahetult kohaldatav kõikides liikmesriikides.

▼B

LISA

STANDARDANALÜÜSIMEETODITE KIRJELDUS

I. Alkoholisisalduse määramine mahuprotsentides

I liide: Destillaadi valmistamine

II liide: Destillaadi tiheduse mõõtmine

— Meetod A = püknomeetria

— Meetod B = elektrooniline densimeetria

— Meetod C = densimeetria hüdrostaatilisi kaale kasutades

II. Kuivekstrakti üldsisalduse gravimeetriline määramine

III. Lenduvate ainete ja metanooli määramine

III.1 Üldised märkused

III.2 Lenduvad aromaatsed ühendid: aldehüüdid, kõrgemad alkoholid, etüülatsetaat ja metanool (gaasikromatograafia)

III.3 Lenduvate hapete sisaldus (p.m.)

IV. Vesiniktsüaniidhape (p.m.)

V. Anetool ►M1 ——————— ◄

VI. Glütsürritsiinhape ►M1 ——————— ◄

VII. Halkoonid ►M1 ——————— ◄

VIII. Üldsuhkur (p.m.)

IX. Munakollane ►M1 ——————— ◄

▼B

I. PIIRITUSJOOKIDE ALKOHOLISISALDUSE MÄÄRAMINE MAHUPROTSENTIDES

Sissejuhatus

Standardmeetod sisaldab kahte liidet:

I liide: Destillaadi valmistamine

II liide: Destillaadi tiheduse mõõtmine

1. **Rakendusala**

Meetod sobib piiritusjookide tegeliku alkoholisisalduse määramiseks mahuprotsentides.

2. **Viited normidele**

ISO 3696:1987: Vesi analüütiliseks kasutamiseks – Spetsifikatsioon ja katsemeetodid.

3. **Terminid ja määratlused**

3.1 Standardtemperatuur

Standardtemperatuur piiritusjookide alkoholisisalduse määramiseks mahuprotsentides ning tiheduse ja suhtelise tiheduse määramiseks on 20 °C.

Märkus 1: Väljendit "temperatuuril t °C" kasutatakse kõikide määramiste korral (tihedus või alkoholisisaldus mahuprotsentides), mida väljendatakse muul temperatuuril kui standardtemperatuur 20 °C.

3.2 Tihedus

Tihedus on piiritusjoogi mass mahuühiku kohta vaakumis 20 °C juures. Seda väljendatakse kilogrammides kuupmeetri kohta ning selle sümbol on ρ20 °C või ρ20.

3.3 Suhteline tihedus

Suhteline tihedus on 20 °C piiritusjoogi tiheduse ja samal temperatuuril oleva vee tiheduse suhe, mis on väljendatud kümnendmurruna. Seda tähistatakse sümboliga d20 °C/20 °C või d20/20, või lihtsalt d, kui ei teki arusaamatust. Mõõdetud näitaja tuleb märkida analüüsisertifikaadile, kasutades üksnes eespool esitatud sümboleid.

Märkus 2: Suhtelist tihedust on võimalik arvutada tiheduse ρ20 põhjal 20 °C juures:

$\rho_{20} = 998{,}203 \times d_{20/20}$ või $d_{20/20} = \rho_{20}/998{,}203$,

kus 998,203 on vee tihedus 20 °C juures.

3.4 Tegelik alkoholisisaldus mahuprotsentides

Piiritusjookide tegelik alkoholisisaldus mahuprotsentides võrdub etanooli liitrite arvuga 100 liitris vee ja alkoholi segus, mille tihedus on sama mis alkoholil või piiritusjoogil pärast destilleerimist. Erinevate vee ja alkoholi segude alkoholisisalduse (mahuprotsentides) või tiheduse kontrolliväärtustena 20 °C juures tuleb kasutada väärtusi, mis on esitatud Rahvusvahelise Legaalmetroloogia Organisatsiooni soovitusega nr 22 vastu võetud rahvusvahelises tabelis.

Üldvõrrand, mida kasutatakse vee ja alkoholi segu alkoholisisalduse ja tiheduse määramiseks teataval temperatuuril, on esitatud komisjoni määruse (EMÜ) nr 2676/90 (EÜT L 272, 3.10.1990, lk 1) lisa 3. peatükis "Alkoholisisaldus mahuprotsentides" leheküljel 40 või Rahvusvahelise Veiniameti analüüsimeetodite käsiraamatus (1994, lk 17).

Märkus 3: Kuna likööride ja koorelikööride puhul on ruumala väga raske täpselt mõõta, tuleb proov kaaluda ning alkoholisisaldus arvutada kõigepealt massiprotsentides.

▼B

Ümberarvestusvalem:

$$\text{alkoholisisaldus mahuprotsentides} = \frac{(\text{ASM massi\%}) \times P_{20}\ (\text{proov})}{P_{20}\ (\text{alkohol})}$$

kus ASM = alkoholisisaldus massiprotsentides,

ρ_{20} (alkohol) = 789,24 kg/m^3

4. **Põhimõte**

Pärast destilleerimist määratakse destillaadi alkoholisisaldus mahuprotsentides püknomeetria või elektroonilise densimeetria abil või densimeetria abil, kasutades hüdrostaatilisi kaale.

▼B

I LIIDE: DESTILLAADI VALMISTAMINE

1. **Rakendusala**

Meetod sobib selliste destillaatide valmistamiseks, mida kasutatakse piiritusjookide tegeliku alkoholisisalduse määramiseks mahuprotsentides.

2. **Põhimõte**

Piiritusjook destilleeritakse etanooli ning muude lenduvate ühendite eraldamiseks ekstraktiivainest (ained, mis ei destilleeru).

3. **Reaktiivid ja materjalid**

3.1 Keemistsentrid.

3.2 Kontsentreeritud vahutamisvastane emulsioon (kooreliööride jaoks).

4. **Seadmed ja aparatuur**

Tavalised, eelkõige järgmised laboratooriumiseadmed.

4.1 Veevann, milles saab hoida temperatuuri 10–15 °C.

Veevann, milles saab hoida temperatuuri 20 °C (±0,2 °C).

4.2 A-klassi mõõtekolbid (100 ml ja 200 ml), mille tagatud mõõtetäpsus on vastavalt 0,1 % ja 0,15 %.

4.3 Destilleerimisaparaat

4.3.1 Üldnõuded

Destilleerimisaparaat peab vastama järgmistele nõuetele:

— liigendeid peab olema nii vähe, kui on vaja süsteemi lekkekindluse tagamiseks,

— sellel peab olema seade, mis takistab keeva vedeliku piiskade kaasahaaramist auruga ning reguleerib alkoholirikka auru destilleerimiskiirust,

— alkoholiauru kondenseerumine peab olema kiire ja täielik,

— esimesed destillatsioonifraktsioonid tuleb koguda vesikeskkonnas.

Soojusallikat tuleb kasutada sobiva soojahajutajaga, et vältida ekstraktiivaine põhjakõrbemist.

4.3.2 Sobiva destilleerimisaparaadi näidis on esitatud joonisel 1 ning sellel on järgmised osad:

— standardse lihvühendusega 1-liitrine ümarkolb,

— vähemalt 20 cm kõrgune rektifikatsioonikolonn (näiteks “Vigreux” kolonn),

— ligikaudu 10 cm pikkuse vertikaalselt asetseva Westi tüüpi jahutiga põlvühendus,

— 40 cm pikkune jahutusspiraal,

— äravoolutoru, mis juhib destillaadi väheses koguses vett sisaldava gradueeritud kogumiskolbi põhja.

Märkus: Eespool kirjeldatud aparaat on mõeldud vähemalt 200 ml proovi jaoks. Väiksemaid proove (100 ml) saab siiski destilleerida väiksemat destillatsioonikolbi kasutades, tingimusel et kasutatakse kaitseotsakut või mõnda muud seadet piiskade kaasahaaramise vältimiseks.

5. **Uuritavate proovide hoidmine**

Enne analüüsimist säilitatakse proove toatemperatuuril.

6. **Töö käik**

Sissejuhatav märkus:

Destilleerida võib ka IUPACi (1968) avaldatud menetlust kasutades.

▼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 Piiritusjoogid, mille alkoholisisaldus on alla 50 mahu %

200 ml piiritusjooki valatakse mõõtekolbi.

Registreeritakse kõnealuse vedeliku temperatuur või hoitakse vedelikku standardtemperatuuril (20 °C).

Proov valatakse destilleerimisaparaadi ümarkolbi ning mõõtekolb pestakse kolm korda ligikaudu 20 ml destilleeritud veega. Iga pesuvee alikvoot lisatakse destillatsioonikolbi.

Märkus: Kõnealusest 60 ml lahjendusest piisab selliste piiritusjookide jaoks, mis sisaldavad alla 250 grammi kuivekstrakti liitri kohta. Muudel juhtudel peab pürolüüsi vältimiseks olema pesuvett vähemalt 70 ml, kui kuivekstrakti sisaldus on 300 g/l, 85 ml, kui kuivekstrakti sisaldus on 400 g/l, ning 100 ml, kui kuivekstrakti sisaldus on 500 g/l (teatavad puuvilja- või kooreliköörid). Kõnealuseid mahte kohandatakse võrdeliselt eri proovide mahuga.

Lisatakse mõned keemistsentrid (3.1) (ja vahutamisvastast emulsiooni koorelikööride puhul).

20 ml destilleeritud vett valatakse esialgsesse 200 ml mõõtekolbi, mida kasutatakse destillaadi hoidmiseks. Kolb asetatakse seejärel külma vee vanni (4.1) (aniisimaitseliste piiritusjookide puhul 10–15 °C).

Destilleeritakse, vältides piiskade kaasahaaramist ja söestumist ning segades kolvi sisu aeg-ajalt, kuni destillaadi tase on mõni millimeeter alla mõõtekolvi kalibreerimismärki.

Kui destillaadi temperatuur on langenud vedeliku esialgse temperatuurini ±0,5 °C, täidetakse kolb destilleeritud veega kuni märgini ja segatakse põhjalikult.

Saadud destillaati kasutatakse alkoholisisalduse määramiseks mahuprotsentides (II liide).

6.3 Piiritusjoogid, mille alkoholisisaldus on üle 50 mahu %

100 ml mõõtekolbiga mõõdetakse 100 ml piiritusjooki ja valatakse see destilleerimisaparaadi ümarkolbi.

Mõõtekolb pestakse mitu korda destilleeritud veega ning pesuvesi lisatakse destillatsiooniaparaadi ümarkolbi. Kasutatakse piisavalt vett, et kolvi sisu oleks ligikaudu 230 ml.

20 ml destilleeritud vett valatakse 200 ml mõõtekolbi, mida kasutatakse destillaadi hoidmiseks. Kolb asetatakse seejärel külma vee vanni (4.1) (aniisimaitseliste piiritusjookide puhul 10–15 °C).

Destilleeritakse, segades kolvi sisu aeg-ajalt, kuni destillaadi tase on mõni millimeeter alla 200 ml mõõtekolvi kalibreerimismärki.

▼B

Kui destillaadi temperatuur on langenud vedeliku esialgse temperatuurini ±0,5 °C, täidetakse kolb destilleeritud veega kuni märgini ja segatakse põhjalikult.

Saadud destillaati kasutatakse alkoholisisalduse määramiseks mahuprotsentides (II liide).

Märkus: Piiritusjoogi alkoholisisaldus mahuprotsentides on kaks korda suurem destillaadi alkoholisisaldusest.

▼B

II LIIDE: DESTILLAADI TIHEDUSE MÕÕTMINE

MEETOD A: PIIRITUSJOOKIDE TEGELIKU ALKOHOLISISALDUSE MÄÄRAMINE MAHUPROTSENTIDES – MÕÕTMINE PÜKNOMEETRIA ABIL

A.1 **Põhimõte**

Alkoholi sisaldus mahuprotsentides saadakse destillaadi tihedusest, mis mõõdetakse püknomeetria abil.

A.2 **Reaktiivid ja materjalid**

Kui ei ole sätestatud teisiti, kasutatakse analüüsimisel üksnes analüütiliselt puhtaid reaktiive ja vähemalt 3. klassi vett vastavalt ISO 3696:1987 standardile.

A.2.1 Naatriumkloriidi lahus (2 % w/v)

Ühe liitri valmistamiseks võetakse 20 g naatriumkloriidi kaalutis ja lahustatakse vees ühe liitrini.

A.3 **Seadmed ja aparatuur**

Tavalised, eelkõige järgmised laboratooriumiseadmed.

A.3.1 Analüütilised kaalud täpsusega 0,1 mg.

A.3.2 Lihvühendusega termomeeter, mis on kalibreeritud kümnendikkraadides vahemikus 10–30 °C. Kõnealune termomeeter peab olema sertifitseeritud või kontrollitud sertifitseeritud termomeetri põhjal.

A.3.3 Ligikaudu 100 ml Pyrex-klaasist püknomeeter, millel on eemaldatav lihvühendusega termomeeter (A.3.2). Püknomeetril on 25 mm pikkune külgtoru, mille sisediameeter on (kuni) 1 mm ja mille lõpus on kooniline klaaslihv. Vajaduse korral võib kasutada teisi ISO 3507 standardis kirjeldatud püknomeetreid, nt 50 ml.

A.3.4 Taarapudel, mis on täidetud 1,01 tihedusega vedelikuga (naatriumkloriidi lahus A.2.1) ja millel on püknomeetriga sama välismaht (±1 ml) ning mass.

A.3.5 Soojusisolatsiooniga ümbris, mis sobib täpselt püknomeetrile.

Märkus 1: Piiritusjookide tiheduse määramiseks vaakumis kasutatava meetodi korral on vaja kahe kaalukausiga kaalu, püknomeetrit ja sama välismahuga taarapudelit õhu üleslükkejõu tasakaalustamiseks mis tahes ajahetkel. Seda lihtsat meetodit võib kasutada ka ühe kaalukausiga kaalu puhul, tingimusel et taarapudelit kaalutakse uuesti, et kontrollida õhu üleslükkejõu muutusi aja jooksul.

A.4 **Töö käik**

Sissejuhatavad märkused

Järgnevalt kirjeldatakse töö käiku 100 ml püknomeetri kasutamise korral alkoholisisalduse määramiseks; sellega saadakse suurim täpsus. Siiski võib kasutada ka väiksemat püknomeetrit, nt 50 ml.

A.4.1 Püknomeetri kalibreerimine

Püknomeeter kalibreeritakse, määrates järgmised parameetrid:

— tühja püknomeetri mass,

— püknomeetri maht 20 °C juures,

— veega täidetud püknomeetri mass 20 °C juures.

A.4.1.1 Kalibreerimine ühe kaalukausiga kaalu kasutades

Määratakse kindlaks:

— puhta, kuiva püknomeetri mass (P),

— veega täidetud püknomeetri mass t °C juures (P1),

— taarapudeli mass (T0).

A.4.1.1.1 Puhas, kuiv püknomeeter kaalutakse (P).

▼B

A.4.1.1.2 Püknomeeter täidetakse ettevaatlikult ümbritseva õhu temperatuuril oleva destilleeritud veega ning paigaldatakse termomeeter.

Püknomeeter pühitakse ettevaatlikult kuivaks ning asetatakse soojusisolatsiooniga ümbrisesse. Segamiseks pööratakse mahutit, kuni termomeeter näitab püsivat temperatuuri.

Vedeliku pind püknomeetris viiakse täpselt kohakuti külgtoru ülemise äärega. Temperatuur t °C mõõdetakse täpselt ning vajadusel korrigeeritakse ebatäpsused temperatuuriskaalal.

Veega täidetud püknomeeter kaalutakse (P1).

A.4.1.1.3 Taarapudel kaalutakse (T0).

A.4.1.1.4 Arvutamine

— tühja püknomeetri mass = P – m,

kus m = püknomeetris oleva õhu mass.

m = 0,0012 × (P1 – P)

Märkus 2: 0,0012 on kuiva õhu tihedus temperatuuril 20 °C ja rõhu juures 760 mm Hg.

— püknomeetri maht 20 °C juures:

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

kus F_t on konstant temperatuuril t °C, mis on saadud määruse (EMÜ) nr 2676/90 1. peatüki “Tihedus ja suhteline tihedus” I tabelist (lk 10).

$V_{20\,°C}$ peab olema esitatud 0,001 ml täpsusega.

— vee mass püknomeetris 20 °C juures:

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

kus 0,998203 on vee tihedus 20 °C juures.

Märkus 3: Vajadusel võib kasutada õhu tiheduse väärtust 0,99715 ning arvutada alkoholisisalduse Ühendkuningriigi tolliameti tabelites esitatud vastava tiheduse põhjal õhus.

A.4.1.2 Kalibreerimine kahe kaalukausiga kaalu kasutades

A.4.1.2.1 Taarapudel asetatakse vasakpoolsele ning puhas ja kuiv püknomeeter koos korgiga parempoolsele kaalukausile. Kaalukausid viiakse tasakaalu, asetades püknomeetri poolele kaaluvihte, p grammi.

A.4.1.2.2 Püknomeeter täidetakse ettevaatlikult ümbritseva õhu temperatuuril oleva destilleeritud veega ning paigaldatakse termomeeter; püknomeeter pühitakse ettevaatlikult kuivaks ning asetatakse soojusisolatsiooniga ümbrisesse; segamiseks pööratakse mahutit, kuni termomeeter näitab püsivat temperatuuri.

Vedeliku pind püknomeetris viiakse täpselt kohakuti külgtoru ülemise äärega. Külgtoru puhastatakse ning paigaldatakse kork; temperatuur t °C mõõdetakse täpselt ning vajadusel korrigeeritakse ebatäpsused temperatuuriskaalal.

Veega täidetud püknomeeter kaalutakse, kusjuures p’ on mass grammides, mis on vajalik tasakaalu saavutamiseks.

A.4.1.2.3 Arvutamine

— tühja püknomeetri mass = p + m,

kus m = püknomeetris oleva õhu mass.

m = 0,0012 × (p – p’)

▼B

— püknomeetri maht 20 °C juures:

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

kus F_t on konstant temperatuuril t °C, mis on saadud määruse (EMÜ) nr 2676/90 1. peatüki "Tihedus ja suhteline tihedus" I tabelist (lk 10).

$V_{20\,°C}$ peab olema esitatud 0,001 ml täpsusega.

— vee mass püknomeetris 20 °C juures:

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

kus 0,998203 on vee tihedus 20 °C juures.

A.4.2 Uuritava proovi alkoholisisalduse määramine

A.4.2.1 Meetod ühe kaalukausiga kaalu puhul

A.4.2.1.1 Taarapudel kaalutakse, mass T1.

A.4.2.1.2 Kaalutakse valmis destillaadiga püknomeeter (vaata I liide), mille mass on P2 temperatuuril t °C.

A.4.2.1.3 Arvutamine

— dT = T1 – T0

— tühja püknomeetri mass mõõtmishetkel

= P – m + dT

— vedeliku mass püknomeetris temperatuuril t °C

= P2 – (P – m + dT)

— tihedus g/ml temperatuuril t °C

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

— Tihedus ρ_t temperatuuril t °C väljendatakse kilogrammides kuupmeetri kohta, korrutades $\rho_{t\,°C}$ arvuga 1 000,

— ρ_t arvestatakse ümber ρ_{20}-ks, kasutades tiheduse ρ_T väärtuste tabelit vee ja alkoholi segude jaoks (Rahvusvahelise Veiniameti analüüsimeetodite käsiraamatu (1994, lk 17–29) II lisa II tabel).

Mööda tabeli horisontaalset rida, mis vastab temperatuurile T täiskraadides vahetult alla t °C, leitakse väikseim tihedus üle ρ_t.

Kogu temperatuuriväärtuste rida kasutades arvutatakse tabelis ρ_t-st vahetult suurema tiheduse ρ' ning arvutatud tiheduse ρ_t vahe.

— Kõnealune vahe jagatakse tabelis tiheduse ρ' väärtusest paremal toodud vahega. Jagatis näitab alkoholisisalduse kümnendosa, alkoholisisaldus täisosa leitakse selle tulba algusest, kust leitakse tihedus ρ' (Dt – alkoholisisaldus).

Märkus 4: Soovi korral võib püknomeetrit hoida veevannis 20 °C juures (± 0,2 °C), kuni seda täiendatakse märgini.

A.4.2.1.4 Tulemus

Kasutades tiheduse ρ_{20} väärtust, arvutatakse tegelik alkoholisisaldus allpool esitatud alkoholisisalduse tabelite põhjal.

Tabel, milles on toodud alkoholisisalduse väärtused mahuprotsentides 20 °C juures vee ja alkoholi segude tiheduse funktsioonina 20 °C juures, on Rahvusvahelise Legaalmetroloogia Organisatsiooni soovitusega nr 22 vastu võetud rahvusvaheline tabel.

A.4.2.2 Meetod kahe kaalukausiga kaalu puhul

A.4.2.2.1 Kaalutakse valmis destillaadiga püknomeeter (vaata I osa), mille mass on p″ temperatuuril t °C.

A.4.2.2.2 Arvutamine

— vedeliku mass püknomeetris temperatuuril t °C

= p + m – p″

▼B

— tihedus g/ml temperatuuril t °C

$$P_{t\,°C} = (p + m - p'')/V_{20\,°C}$$

— Tihedus temperatuuril t °C väljendatakse kilogrammides kuupmeetri kohta ning temperatuur korrigeeritakse alkoholisisalduse arvutamiseks 20 °C juures vastavalt eespool toodud kirjeldusele ühe kaalukausiga kaalu puhul.

A.5 **Meetodi suutlikkuse näitajad (täpsus)**

A.5.1 Laboritevahelise katse statistilised tulemused

Vastavalt rahvusvaheliselt kokkulepitud menetlustele [1] [2] läbi viidud meetodi suutlikkuse rahvusvahelise uurimuse põhjal saadi järgmised andmed.

Laboritevahelise katse tegemise aeg	1 997
Laborite arv	20
Proovide arv	6

Proovid	A	B	C	D	E	F
Laborite arv pärast võõrväärtuste elimineerimist	19	20	17	19	19	17
Võõrväärtuste arv (laborid)	1	–	2	1	1	3
Tunnustatud tulemuste arv	38	40	34	38	38	34
Keskväärtus $(\bar{x})$(mahu%)	23,77	40,04	40,29	39,20	42,24	57,03
	26,51 (*)			42,93 (*)	45,73 (*)	63,03 (*)
Korratavuse standardhälve (Sr) (mahu%)	0,106	0,176	0,072	0,103	0,171	0,190
Korratavuse suhteline standardhälve (RSDr) (%)	0,42	0,44	0,18	0,25	0,39	0,32
Korratavuse piirnorm (r) (mahu%)	0,30	0,49	0,20	0,29	0,48	0,53
Reprodutseeritavuse standardhälve (SR) (mahu%)	0,131	0,236	0,154	0,233	0,238	0,322
Reprodutseeritavuse suhteline standardhälve (RSDR) (%)	0,52	0,59	0,38	0,57	0,54	0,53
Reprodutseeritavuse piirnorm (R) (mahu%)	0,37	0,66	0,43	0,65	0,67	0,90

Proovide liigid
A Puuviljalikööri; jaotustase. (*)
B Brändi; pime kordusproov.
C Viski; pime kordusproov.
D Grappa; jaotustase. (*)
E Akvaviit; jaotustase. (*)
F Rumm; jaotustase. (*)

MEETOD B: PIIRITUSJOOKIDE TEGELIKU ALKOHOLISISALDUSE MÄÄRAMINE MAHUPROTSENTIDES – MÕÕTMINE ELEKTROONILISE DENSIMEETRIA ABIL (PROOVI RESONANTSVÕNKESAGEDUSE PÕHJAL OSTSILLATSIOONIRAKUS)

B.1 **Põhimõte**

Vedeliku tihedus määratakse kindlaks vibreeriva U-toru võngete elektroonilisel mõõtmisel. Kõnealuseks mõõtmiseks lisatakse proov võnkesüsteemi, mille omavõnkesagedus muutub lisatud massi mõjul.

B.2 **Reaktiivid ja materjalid**

Kui ei ole sätestatud teisiti, kasutatakse analüüsimisel üksnes analüütiliselt puhtaid reaktiive ja vähemalt 3. klassi vett vastavalt ISO 3696:1987 standardile.

B.2.1 Atsetoon (CASi nr 666-52-4) või absoluutalkohol

B.2.2 Kuiv õhk

▼B

B.3 **Seadmed ja aparatuur**

Tavalised, eelkõige järgmised laboratooriumiseadmed.

B.3.1 Digitaalse näiduga densimeeter

Käesoleva mõõtmise puhul kasutatava elektroonilise densimeetriga peab saama väljendada tihedust grammides milliliitri kohta viie kümnendkohaga.

Märkus 1: Densimeeter tuleks asetada täiesti stabiilsele alusele, mis on isoleeritud igasuguse vibratsiooni vastu.

B.3.2 Temperatuuri reguleerimine

Densimeetri näidud kehtivad üksnes juhul, kui mõõteküvett on ühendatud seadmesse ehitatud termoregulaatori külge, millega saavutatakse temperatuuri püsivus ±0,02 °C täpsusega.

Märkus 2: Temperatuuri täpne reguleerimine ja kontroll mõõteküvetis on väga oluline, kuna 0,1 °C viga võib muuta tiheduse väärtust suurusjärgus 0,1 kg/m^3.

B.3.3 Proovi injektsioonisüstlad või automaatproovivõtja

B.4 **Töö käik**

B.4.1 Densimeetri kalibreerimine

Esimesel kasutuskorral tuleb aparaat kalibreerida vastavalt tootja juhendile. Seda tuleb korrapäraselt uuesti kalibreerida ning kontrollida sertifitseeritud tugietaloni järgi või sertifitseeritud tugietalonil põhineva laborisisese võrdluslahuse järgi.

B.4.2 Proovi tiheduse määramine

B.4.2.1 Vajaduse korral puhastatakse küvett enne mõõtmist atsetooniga või absoluutalkoholiga ning kuivatatakse kuiva õhu käes. Küvett pestakse prooviga.

B.4.2.2 Proov süstitakse küvetti (süstla või automaatproovivõtja abil), nii et küvett on täiesti täis. Täitmisel tuleb jälgida, et küvetti ei jääks õhumulle. Proov peab olema homogeenne ega tohi sisaldada tahkeid osakesi. Vajaduse korral tuleb heljum enne analüüsimist eemaldada filtrimise teel.

B.4.2.3 Kui näit on stabiliseerunud, registreeritakse densimeetri näidu põhjal tihedus ρ_{20} või alkoholisisaldus.

B.4.3 Tulemus

Kui kasutatakse tihedust ρ_{20}, arvutatakse tegelik alkoholisisaldus allpool esitatud alkoholisisalduse tabelite põhjal.

Tabel, milles on toodud alkoholisisalduse väärtused mahuprotsentides 20 °C juures vee ja alkoholi segude tiheduse funktsioonina 20 °C juures, on Rahvusvahelise Legaalmetroloogia Organisatsiooni soovitusega nr 22 vastu võetud rahvusvaheline tabel.

B.5 **Meetodi suutlikkuse näitajad (täpsus)**

B.5.1 Laboritevahelise katse statistilised tulemused

Vastavalt rahvusvaheliselt kokkulepitud menetlustele [1] [2] läbi viidud meetodi suutlikkuse rahvusvahelise uurimuse põhjal saadi järgmised andmed.

Laboritevahelise katse tegemise aeg	1 997
Laborite arv	16
Proovide arv	6

▼B

Proovid	A	B	C	D	E	F
Laborite arv pärast võõrväärtuste elimineerimist	11	13	15	16	14	13
Võõrväärtuste arv (laborid)	2	3	1	–	1	2
Tunnustatud tulemuste arv	22	26	30	32	28	26
Keskväärtus ($\bar{x}$)(mahu%)	23,81	40,12	40,35	39,27	42,39	56,99
	26,52 (*)			43,10 (*)	45,91 (*)	63,31 (*)
Korratavuse standardhälve (Sr) (mahu%)	0,044	0,046	0,027	0,079	0,172	0,144
Korratavuse suhteline standardhälve (RSDr) (%)	0,17	0,12	0,07	0,19	0,39	0,24
Korratavuse piirnorm (r) (mahu%)	0,12	0,13	0,08	0,22	0,48	0,40
Reprodutseeritavuse standardhälve (SR) (mahu%)	0,054	0,069	0,083	0,141	0,197	0,205
Reprodutseeritavuse suhteline standardhälve (RSDR) (%)	0,21	0,17	0,21	0,34	0,45	0,34
Reprodutseeritavuse piirnorm (R) (mahu%)	0,15	0,19	0,23	0,40	0,55	0,58

Proovide liigid
A Puuviljalikööri; jaotustase. (*)
B Brändi; pime kordusproov.
C Viski; pime kordusproov.
D Grappa; jaotustase. (*)
E Akvaviit; jaotustase. (*)
F Rumm; jaotustase. (*)

MEETOD C: PIIRITUSJOOKIDE TEGELIKU ALKOHOLISISALDUSE MÄÄRAMINE MAHUPROTSENTIDES – MÕÕTMINE DENSIMEETRIA ABIL HÜDROSTAATILISI KAALE KASUTADES

C.1 **Põhimõte**

Piiritusjookide alkoholisisaldust saab mõõta densimeetria abil hüdrostaatilisi kaale kasutades Archimedese seaduse põhjal, mille kohaselt vedelikku asetatud kehale mõjub vedeliku üleslükkejõud, mis on võrdne väljatõrjutud vedeliku kaaluga.

C.2 **Reaktiivid ja materjalid**

Kui ei ole sätestatud teisiti, kasutatakse analüüsimisel üksnes analüütiliselt puhtaid reaktiive ja vähemalt 3. klassi vett vastavalt ISO 3696:1987 standardile.

C.2.1. Ujuki pesemislahus (naatriumkloriid, 30 % w/v)

100 ml valmistamiseks võetakse 30 g naatriumkloriidi kaalutis ja täiendatakse 96 %lise etanooliga.

C.3 **Seadmed ja aparatuur**

Tavalised, eelkõige järgmised laboratooriumiseadmed.

C.3.1 Ühe kaalukausiga hüdrostaatiline kaal, mille tundlikkus on 1 mg.

C.3.2 Vähemalt 20 ml ujuk, mis on spetsiaalselt kaalu jaoks kohandatud ning kinnitatud kuni 0,1 mm läbimõõduga niidiga.

C.3.3 Tasememärgiga mõõtesilinder. Ujukit peab olema võimalik asetada täielikult silindri sisse märgist allapoole; vedeliku pinda võib läbida üksnes riputusniit. Mõõtesilindri sisediameeter peab olema vähemalt 6 mm suurem kui ujukil.

C.3.4 Termomeeter (või temperatuuriandur), mis on reguleeritud kraadides ja kraadikümnendikes vahemikus 10–40 °C ja kalibreeritud 0,05 °C.

C.3.5 Kaal, mille on kalibreerinud tunnustatud sertifitseerimisasutus

▼B

Märkus 1: Võib kasutada ka kahe kaalukausiga kaalu; põhimõtet on kirjeldatud määruse (EMÜ) nr 2676/90 lisa 1. peatükis "Tihedus ja suhteline tihedus" (lk 7).

C.4 **Töö käik**

Ujuk ja mõõtesilinder tuleb iga mõõtmise vahepeal puhastada destilleeritud veega, kuivatada pehme tualettpaberiga, mis ei jäta kiude, ning pesta lahusega, mille tihedust määratakse. Mõõtmised tuleb teha kohe, kui aparaat on saavutanud stabiilsuse, et piirata alkoholikadu aurumisel.

C.4.1 Kaalu kalibreerimine

Kuigi kaaludel on tavaliselt sisemine kalibreerimissüsteem, peab hüdrostaatilist kaalu olema võimalik kalibreerida ametliku sertifitseerimisasutuse kontrollitud kaaluvihtidega.

C.4.2 Ujuki kalibreerimine

C.4.2.1 Mõõtesilinder täidetakse märgini kahekordselt destilleeritud veega (või samaväärse puhtusastmega veega, nt mikrofiltreeritud veega, mille elektrijuhtivus on 18,2 MΩ/cm) temperatuuril 15–25 °C, eelistatavalt 20 °C.

C.4.2.2 Ujuk ja termomeeter asetatakse vette, segatakse, aparaadilt loetakse vedeliku tiheduse näit ning vajaduse korral korrigeeritakse näitu, nii et see on võrdne vee tihedusega mõõtmistemperatuuril.

C.4.3 Kontrollimine vee ja alkoholi seguga

C.4.3.1 Mõõtesilinder täidetakse märgini teadaoleva kontsentratsiooniga vee ja alkoholi seguga temperatuuril 15–25 °C, eelistatavalt 20 °C.

C.4.3.2 Ujuk ja termomeeter asetatakse vette, segatakse ning aparaadilt loetakse vedeliku tiheduse (või võimaluse korral alkoholisisalduse) näit. Sel viisil saadud alkoholisisaldus peaks olema võrdne eelnevalt määratud alkoholisisaldusega.

Märkus 2: Kõnealust teadaoleva alkoholisisaldusega lahust võib kasutada ka ujuki kalibreerimiseks kahekordselt destilleeritud vee asemel.

C.4.4 Destillaadi tiheduse mõõtmine (või alkoholisisalduse mõõtmine, kui aparaat seda võimaldab)

C.4.4.1 Uuritav proov valatakse mõõtesilindrisse kuni tasememärgini.

C.4.4.2 Ujuk ja termomeeter asetatakse vette, segatakse ning aparaadilt loetakse vedeliku tiheduse (või võimaluse korral alkoholisisalduse) näit. Registreeritakse temperatuur, kui tihedust mõõdetakse temperatuuril t °C (ρ_t).

C.4.4.3 Väärtus ρ_t arvutatakse ümber ρ_{20}-ks, kasutades tiheduse ρ_t väärtuste tabelit vee ja alkoholi segude jaoks (Rahvusvahelise Veiniameti analüüsimeetodite käsiraamatu (1994, lk 17–29) II lisa II tabel).

C.4.5 Ujuki ja mõõtesilindri puhastamine.

C.4.5.1 Ujuk kastetakse mõõtesilindrisse ujuki puhastamise lahusesse.

C.4.5.2 Leotatakse üks tund ujukit aeg-ajalt keerutades.

C.4.5.3 Pestakse ohtra kraaniveega ja seejärel destilleeritud veega.

C.4.5.4 Kuivatatakse pehme tualettpaberiga, mis ei jäta kiude.

Kõnealust menetlust kasutatakse ujuki esmakordsel kasutamisel ning korrapäraselt vastavalt vajadusele.

C.4.6 Tulemus

Tiheduse ρ_{20} põhjal arvutatakse tegelik alkoholisisaldus, kasutades allpool esitatud alkoholisisalduse tabeleid.

Tabel, milles on toodud alkoholisisalduse väärtused mahuprotsentides 20 °C juures vee ja alkoholi segude tiheduse funktsioonina 20 °C juures, on Rahvusvahelise Legaalmetroloogia Organisatsiooni soovitusega nr 22 vastu võetud rahvusvaheline tabel.

▼B

C.5 **Meetodi suutlikkuse näitajad (täpsus)**

C.5.1 Laboritevahelise katse statistilised tulemused

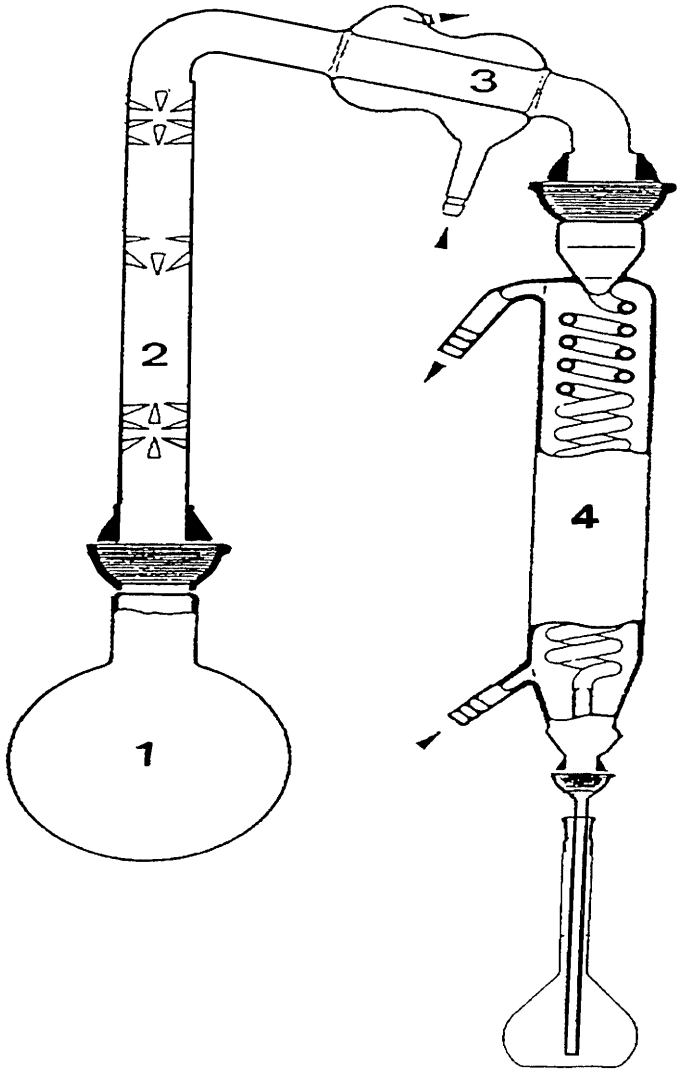
Vastavalt rahvusvaheliselt kokkulepitud menetlustele [1] [2] läbi viidud meetodi suutlikkuse rahvusvahelise uurimuse põhjal saadi järgmised andmed.

Laboritevahelise katse tegemise aeg	1 997
Laborite arv	12
Proovide arv	6

Proovid	A	B	C	D	E	F
Laborite arv pärast võõrväärtuste elimineerimist	12	10	11	12	11	9
Võõrväärtuste arv (laborid)	–	2	1	–	1	2
Tunnustatud tulemuste arv	24	20	22	24	22	18
Keskväärtus ($\bar{x}$)(mahu%)	23,80	40,09	40,29	39,26	42,38	57,16
	26,51 (*)			43,09 (*)	45,89 (*)	63,44 (*)
Korratavuse standardhälve (Sr) (mahu%)	0,048	0,065	0,042	0,099	0,094	0,106
Korratavuse suhteline standardhälve (RSDr) (%)	0,19	0,16	0,10	0,24	0,21	0,18
Korratavuse piirnorm (r) (mahu%)	0,13	0,18	0,12	0,28	0,26	0,30
Reprodutseeritavuse standardhälve (SR) (mahu%)	0,060	0,076	0,073	0,118	0,103	0,125
Reprodutseeritavuse suhteline standardhälve (RSDR) (%)	0,24	0,19	0,18	0,29	0,23	0,21
Reprodutseeritavuse piirnorm (R) (mahu%)	0,17	0,21	0,20	0,33	0,29	0,35

Proovide liigid
A Puuviljalikööri; jaotustase. (*)
B Brändi; pime kordusproov.
C Viski; pime kordusproov.
D Grappa; jaotustase. (*)
E Akvaviit; jaotustase. (*)
F Rumm; jaotustase. (*)

▼B



Joonis 1. Destilleerimisaparaat piiritusjookide tegeliku alkoholisisalduse määramiseks mahuprotsentides

1. Standardse sfäärilise lihvühendusega 1-liitrine ümarkolb.
2. 20 cm “Vigreux” rektifikatsioonikolonn.
3. 10 cm Westi tüüpi kondensaator.
4. 40 cm jahutusspiraal.

▼B

II. PIIRITUSJOOKIDE KUIVEKSTRAKTI ÜLDSISALDUSE GRAVIMEETRILINE MÄÄRAMINE

1. **Rakendusala**

Määrusega (EMÜ) nr 1576/89 nähakse kõnealune meetod ette üksnes akvaviidi jaoks, mille kuivekstrakti sisaldus on kuni 15 g/l.

2. **Viited on normidele**

ISO 3696:1987: Vesi analüütiliseks kasutamiseks – Spetsifikatsioon ja katsemeetodid.

3. **Määratlus**

Kuivekstrakti või kuivaine üldsisaldus hõlmab kõiki mittelenduvaid aineid teatavatel füüsikalistel tingimustel.

4. **Põhimõte**

Kaalutakse jäägid, mis tekivad piiritusjoogi aurustamisel keeva vee vanni kohal ja kuivatamisel kuivatuskapis.

5. **Seadmed ja aparatuur**

5.1 55 mm diameetriga lamedapõhjaline silindriline aurustuskauss

5.2 Keeva vee vann

5.3 A-klassi 25 ml pipett

5.4 Kuivatuskapp

5.5 Eksikaator

5.6 Analüütilised kaalud täpsusega 0,1 mg

6. **Proovivõtmine ja proovid**

Enne analüüsimist säilitatakse proove toatemperatuuril.

7. **Töö käik**

7.1 25 ml piiritusjooki, mis sisaldab alla 15 g/l kuivainet, pipetitakse eelnevalt kaalutud lamedapõhjalisse silindrilisse aurustuskaussi, mille diameeter on 55 mm. Esimese aurustamistunni jooksul asetatakse aurustuskauss keeva vee vanni kaanele nii, et vedelik ei keeks, kuna see võib põhjustada kadusid pritsimisel. Proov jäetakse veel üheks tunniks kontakti keeva vee vanni auruga.

7.2 Kuivatamiseks asetatakse aurustuskauss kaheks tunniks kuivatuskappi temperatuuril 105 °C ± 3 °C. Aurustuskausil lastakse eksikaatoris jahtuda ning aurustuskauss ja selle sisu kaalutakse.

8. **Arvutamine**

Jäägi mass korrutatuna 40ga võrdub piiritusjoogis sisalduva kuivekstrakti massiga ning seda väljendatakse grammides liitri kohta ühe kümnendkohaga.

▼B

9. **Meetodi suutlikkuse näitajad (täpsus)**

9.1 Laboritevahelise katse statistilised tulemused

Vastavalt rahvusvaheliselt kokkulepitud menetlustele [1] [2] läbi viidud meetodi suutlikkuse rahvusvahelise uurimuse põhjal saadi järgmised andmed.

Laboritevahelise katse tegemise aeg	1 997
Laborite arv	10
Proovide arv	4

Proovid	A	B	C	D
Laborite arv pärast võõrväärtuste elimineerimist	9	9	8	9
Võõrväärtuste arv (laborid)	1	1	2	–
Tunnustatud tulemuste arv	18	18	16	18
Keskväärtus ($\bar{x}$)(g/l)	9,0	9,1	10,0	11,8
		7,8	9,4	11,1
Korratavuse standardhälve (Sr) (g/l)	0,075	0,441	0,028	0,123
Korratavuse suhteline standardhälve (RSDr) (%)	0,8	5,2	0,3	1,1
Korratavuse piirnorm (r) (g/l)	0,2	1,2	0,1	0,3
Reprodutseeritavuse standardhälve (SR) (g/l)	0,148	0,451	0,058	0,210
Reprodutseeritavuse suhteline standardhälve (RSDR) (%)	1,6	5,3	0,6	1,8
Reprodutseeritavuse piirnorm (R) (g/l)	0,4	1,3	0,2	0,6

Proovide liigid
A Brändi; pime kordusproov.
B Rumm; jaotustase.
C Grappa; jaotustase.
D Akvaviit; jaotustase.

▼B

III. LENDUVATE AINETE JA METANOOLI MÄÄRAMINE PIIRITUSJOOKIDES

III.1. ÜLDISED MÄRKUSED

1. **Määratlused**

Määruses (EMÜ) nr 1576/89 on sätestatud lenduvate ühendite, v.a etanooli ja metanooli miinimumsisaldused teatavates piiritusjookides (rumm, viinamarjadest valmistatud alkohoolsed joogid, puuviljaviinad jne). Üksnes nende jookide puhul loetakse kõnealused sisaldused kokkuleppeliselt võrdseks järgmiste sisalduste summaga:

1) lenduvate hapete sisaldus, väljendatud äädikhappena;

2) aldehüüdide sisaldus, väljendatud etanaalina, mis on etanaali (atseetaldehüüdi) ning 1,1-dietoksüetaanis (atsetaalis) sisalduva etanaalifraktsiooni atsetaali summa;

3) järgmiste kõrgemate alkoholide sisaldus: 1-propanool, 1-butanool, 2-butanool, 2-metüül-1-propanool eraldi ning 2-metüül-1-butanool ja 3-metüül-1-butanool eraldi või koos;

4) etüülatsetaadi sisaldus.

Lenduvate ühendite mõõtmise tavapärased meetodid:

— lenduvate hapete sisalduse määramine,

— aldehüüdide (etanaali ja atsetaali), etüülatsetaadi ja alkoholide sisalduse määramine gaasikromatograafia abil.

2. **Lenduvate ühendite gaasikromatograafiline analüüs**

Muude lenduvate ühendite kui eespool nimetatud ühendite gaasikromatograafiline analüüs võib osutuda eriti huvitavaks vahendiks nii destilleerimisel kasutatava tooraine päritolu kui ka tegelike destilleerimistingimuste kindlaksmääramisel.

Mõned piiritusjoogid sisaldavad muid lenduvaid ühendeid, näiteks aromaatseid ühendeid, mis on iseloomulikud alkoholi saamisel kasutatavale toorainele, piiritusjoogi aroomile ning piiritusjoogi valmistamise omapärale. Kõnealused ühendid on olulised määruses (EMÜ) nr 1576/89 sätestatud nõuete hindamisel.

III.2. LENDUVATE AROMAATSETE AINETE GAASIKROMATOGRAAFILINE MÄÄRAMINE: ALDEHÜÜDID, KÕRGEMAD ALKOHOLID, ETÜÜLATSETAAT JA METANOOL

1. **Rakendusala**

Käesolev meetod sobib 1,1-dietoksüetaani (atsetaali), 2-metüül-1-butanooli (aktiivse amüülalkoholi), 3-metüül-1-butanooli (isoamüülalkoholi), metanooli (metüülalkoholi), etüületanoaadi (etüülatsetaadi), 1-butanooli (n-butanooli), 2-butanooli (sec-butanooli), 2-metüül-1-propanooli (isobutüülalkoholi), 1-propanooli (n-propanooli) ja etanaali (atseetaldehüüdi) määramiseks piiritusjookides gaasikromatograafia abil. Selle meetodi puhul kasutatakse sisestandardit, näiteks 3-pentanooli. Analüütide kontsentratsiooni väljendatakse grammides 100 liitri absoluutalkoholi kohta; toote alkoholisisaldus tuleb kindlaks määrata enne analüüsimist. Piiritusjoogid, mida saab käesoleva meetodiga analüüsida, on viski, brändi, rumm, veinipiiritus, puuviljaviin ja viinamarjade pressimisjääkidest valmistatud piiritusjook.

2. **Viited normidele**

ISO 3696:1987: Vesi analüütiliseks kasutamiseks – Spetsifikatsioon ja katsemeetodid.

3. **Määratlus**

Aromaatsed ühendid on lenduvad ained, mis moodustavad koos etanooliga piiritusjoogi kääritamise, destilleerimise ja küpsemise ajal.

▼B

4. **Põhimõte**

Aromaatsete ühendite määramiseks piiritusjookides injekteeritakse piiritusjooki või nõuetekohaselt lahjendatud piiritusjooki otse gaasikromatograafi. Enne injekteerimist lisatakse piiritusjoogile sobiv sisestandard. Aromaatsed ühendid eraldatakse temperatuuri reguleerimisega sobivas kolonnis ning määratakse kindlaks leekionisatsioonidetektori abil. Iga aromaatse ühendi kontsentratsioon määratakse kindlaks sisestandardi suhtes nende kaliibrimistegurite põhjal, mis saadakse kalibreerimisel samades kromatograafilistes tingimustes mis piiritusjoogi analüüsimisel.

5. **Reaktiivid ja materjalid**

Kui ei ole sätestatud teisiti, tuleb kasutada üksnes üle 97 % puhtusastmega reaktiive, mis on ostetud ISO järgi akrediteeritud tarnijalt, kellel on puhtusetunnistus, ning mille testlahuses ei ole teisi aromaatseid ühendeid (seda on võimalik kontrollida, injekteerides üksikute aromaatsete ühendite standardeid testlahuses punktis 6.4 sätestatud gaasikromatograafia tingimustel), ning üksnes vähemalt 3. klassi vett vastavalt ISO 3696 standardile. Atsetaali ja atseetaldehüüdi tuleb säilitada pimedas temperatuuril < 5 °C; kõiki teisi reaktiive võib säilitada toatemperatuuril.

5.1 Absoluutne alkohol (CASi nr 64-17-5).

5.2 Metanool (CASi nr 67-56-1).

5.3 1-propanool (CASi nr 71-23-8).

5.4 2-metüül-1-propanool (CASi nr 78-33-1).

5.5 Lubatud sisestandardid: 3-pentanool (CASi nr 584-02-1), 1-pentanool (CASi nr 71-41-0), 4-metüül-1-pentanool (CASi nr 626-89-1) või metüülnonanoaat (CASi nr 1731-84-6).

5.6 2-metüül-1-butanool (CASi nr 137-32-6).

5.7 3-metüül-1-butanool (CASi nr 123-51-3).

5.8 Etüülatsetaat (CASi nr 141-78-6).

5.9 1-butanool (CASi nr 71-36-3).

5.10 2-butanool (CASi nr 78-92-2).

5.11 Atseetaldehüüd (CASi nr 75-07-0).

5.12 Atsetaal (CASi nr 105-57-7).

5.13 40 % (v/v) etanoolilahus.

400 ml/l etanoolilahuse valmistamiseks valatakse 400 ml etanooli (5.1) üheliitrisse mõõtekolbi, täidetakse kolb destilleeritud veega kuni märgini ja segatakse.

5.14 Standardlahuste valmistamine ja säilitamine (kinnitatud meetodi korral kasutatav menetlus).

Kõiki standardlahuseid tuleb säilitada temperatuuril < 5 °C ning valmistada värskelt iga kuu. Komponentide ja lahuste massid tuleb registreerida 0,1 mg täpsusega.

5.14.1 Standardlahus – A

Järgmised reaktiivid pipetitakse 100 ml mõõtekolbi, mis sisaldab ligikaudu 60 ml etanoolilahust (5.13) koostisosade aurumise minimeerimiseks, kolb täidetakse etanoolilahusega (5.13) ja segatakse hoolikalt. Registreeritakse kolvi ja iga lisatava komponendi mass ning kolvi sisu lõplik kogumass.

▼B

Komponent	Maht (ml)
Metanool (5.2)	3,0
1-propanool (5.3)	3,0
2-metüül-1-propanool (5.4)	3,0
2-metüül-1-butanool (5.6)	3,0
3-metüül-1-butanool (5.7)	3,0
Etüülatsetaat (5.8)	3,0
1-butanool (5.9)	3,0
2-butanool (5.10)	3,0
Atseetaldehüüd (5.11)	3,0
Atsetaal (5.12)	3,0

Märkus 1: Soovitatav on lisada atsetaal ja atseetaldehüüd viimasena, et minimeerida kadusid aurumisel.

5.14.2 Standardlahus – B

3 ml 3-pentanooli või muud sobivat sisestandardit (5.5) pipetitakse 100 ml mõõtekolbi, mis sisaldab ligikaudu 80 ml etanoolilahust (5.13), kolb täidetakse etanoolilahusega (5.13) ja segatakse hoolikalt.

Registreeritakse kolvi, 3-pentanooli või muu lisatava sisestandardi mass ja kolvi sisu lõplik kogumass.

5.14.3 Standardlahus – C

1 ml lahust A (5.14.1) ja 1 ml lahust B (5.14.2) pipetitakse 100 ml mõõtekolbi, mis sisaldab ligikaudu 80 ml etanoolilahust (5.13), kolb täidetakse etanoolilahusega (5.13) ning segatakse hoolikalt.

Registreeritakse kolvi ja iga lisatava komponendi mass ning kolvi sisu lõplik kogumass.

5.14.4 Standardlahus – D

Analüütilise jätkuvuse säilitamiseks valmistatakse kvaliteedikontrollistandard, kasutades eelnevalt valmistatud standardlahust A (5.14.1). 1 ml lahust A (5.14.1) pipetitakse 100 ml mõõtekolbi, mis sisaldab ligikaudu 80 ml etanoolilahust (5.13), kolb täidetakse etanoolilahusega (5.13) ja segatakse hoolikalt.

Registreeritakse kolvi ja iga lisatava komponendi mass ning kolvi sisu lõplik kogumass.

5.14.5 Standardlahus – E

10 ml lahust B (5.14.2) pipetitakse 100 ml mõõtekolbi, mis sisaldab ligikaudu 80 ml etanoolilahust (5.13), kolb täidetakse etanoolilahusega (5.13) ja segatakse hoolikalt.

Registreeritakse kolvi ja iga lisatava komponendi mass ning kolvi sisu lõplik kogumass.

5.14.6 Leekionisatsioonidetektori näitude lineaarsuse kontrollimiseks kasutatavad standardlahused

0, 0,1, 0,5, 1,0 ja 2,0 ml lahust A (5.14.1) ja 1 ml lahust B (5.14.2) pipetitakse erinevatesse 100 ml mõõtekolbidesse, kolvid täidetakse etanoolilahusega (5.13) ja segatakse hoolikalt.

Registreeritakse kolvi ja iga lisatava komponendi mass ning kolvi sisu lõplik kogumass.

5.14.7 Kvaliteedikontrollistandard

9 ml standardlahust D (5.14.4) ja 1 ml standardlahust E (5.14.5) pipetitakse kaalukausile ning segatakse hoolikalt.

Registreeritakse kolvi ja iga lisatava komponendi mass ning kolvi sisu lõplik kogumass.

6. **Seadmed ja aparatuur**

6.1 Seade, millega saab mõõta tihedust ja alkoholisisaldust.

▼B

6.2 Analüütilised kaalud, millega on võimalik kaaluda nelja kümnendkoha täpsusega.

6.3 Temperatuuriregulaatoriga gaasikromatograaf, millel on leekionisatsioonidetektor ja integraator või muu andmekäitlussüsteem, millega on võimalik mõõta piigipindalasid või piigikõrgusi.

6.4 Gaasikromatograafi kolonn(id), millega on võimalik eraldada analüüte nii, et minimaalne resolutsioon üksikute komponentide vahel (v.a 2-metüül-1-butanool ja 3-metüül-1-butanool) oleks vähemalt 1.3.

Märkus 2: Sobivad näiteks järgmised kolonnid ja gaasikromatograafia tingimused:

1) Retentsiooninihe 1 m × 0,32 mm (sisediameeter), mis on ühendatud CP-WAX 57 CB kolonni külge mõõtmetega 50 m × 0,32 mm (sisediameeter), statsionaarse faasi kile paksus 0,2 μm (stabiliseeritud polüetüleenglükool), millele järgneb Carbowax 400 kolonn mõõtmetega 50 m × 0,32 mm (sisediameeter), statsionaarse faasi kile paksus 0,2 μm. (Kolonnid on ühendatud hermeetiliste ühendustega.)

Kandegaas ja rõhk:	heelium (135 kPa)
Kolonni temperatuur:	35 °C 17 minutit, 12 °C/min temperatuurini 70 °C, hoida 25 minutit temperatuuril 70 °C.
Injektori temperatuur:	150 °C
Detektori temperatuur:	250 °C
Süstitav maht:	1 μl, jaotatud 20 kuni 100 : 1

2) Retentsiooninihe 1 m × 0,32 mm (sisediameeter), mis on ühendatud CP-WAX 57 CB kolonni külge mõõtmetega 50 m × 0,32 mm (sisediameeter), statsionaarse faasi kile paksus 0,2 μm (stabiliseeritud polüetüleenglükool). (Retentsiooninihe on ühendatud hermeetilise ühendusega.)

Kandegaas ja rõhk:	heelium (65 kPa)
Kolonni temperatuur:	35 °C 10 minutit, 5 °C/min temperatuurini 110 °C, 30 °C/min temperatuurini 190 °C, hoida 2 minutit temperatuuril 190 °C.
Injektori temperatuur:	260 °C
Detektori temperatuur:	300 °C
Süstitav maht:	1 μl, jaotatud 55 : 1

3) Täidetud kolonn (5 % CW 20 M, Carbopak B), 2 m × 2 mm (sisediameeter).

Kolonni temperatuur:	65 °C 4 minutit, 10 °C/min temperatuurini 140 °C, hoida 5 minutit temperatuuril 140 °C, 5 °C/min temperatuurini 150 °C, hoida 3 minutit temperatuuril 150 °C.
Injektori temperatuur:	65 °C
Detektori temperatuur:	200 °C
Süstitav maht:	1 μl

7. **Proovivõtmine ja proovid**

7.1 Laboriproov

Vastuvõtmisel mõõdetakse iga proovi alkoholisisaldus (6.1).

▼B

8. **Töö käik (kasutatakse kinnitatud meetodi puhul)**

8.1 Katsekogus

8.1.1 Sobiv pitseeritud kaalukauss kaalutakse ja selle mass registreeritakse.

8.1.2 9 ml laboriproovi pipetitakse kaalukaussi ja registreeritakse mass (M_{PROOV}).

8.1.3 Lisatakse 1 ml standardlahust E (5.14.5) ja registreeritakse mass (M_{IS}).

8.1.4 Katsematerjali loksutatakse intensiivselt (pööratakse vähemalt 20 korda). Proove tuleb enne analüüsi säilitada temperatuuril alla 5 °C, et minimeerida lenduvate ainete kadu.

8.2 Pimekatse

8.2.1 Sobiv pitseeritud kaalukauss kaalutakse nelja kümnendkoha täpsusega kaalul (6.2) ja mass registreeritakse.

8.2.2 9 ml 400ml/l etanoolilahust (5.13) pipetitakse kaalukaussi ja registreeritakse mass.

8.2.3 Lisatakse 1 ml standardlahust E (5.14.5) ja registreeritakse mass.

8.2.4 Katsematerjali loksutatakse intensiivselt (pööratakse vähemalt 20 korda). Proove tuleb enne analüüsi säilitada temperatuuril alla 5 °C, et minimeerida lenduvate ainete kadu.

8.3 Esialgne katse

Injekteeritakse standardlahust C (5.14.3), et tagada kõikide analüütide eraldumine miinimumresolutsiooniga 1,3 (v.a 2-metüül-1-butanool ja 3-metüül-1-butanool).

8.4 Kalibreerimine

Kalibreerimist tuleb kontrollida järgmise menetlusega. Näitude lineaarsuse tagamiseks analüüsitakse järjest kolmes eksemplaris kõiki sisestandardit (IS) sisaldavaid lineaarsuse kontrollimiseks ettenähtud standardlahuseid (5.14.6). Iga injektsiooni puhul arvutatakse integraatori piigipindalade või piigikõrguste põhjal suhe R iga aromaatse ühendi jaoks ning koostatakse graafik, kus R on esitatud aromaatse ühendi ja sisestandardi (IS) kontsentratsioonide suhte C funktsioonina. Peaks tekkima sirgjoon, mille korrelatsioonikordaja on vähemalt 0,99.

$$R = \frac{\text{Aromaatse ühendi piigi pindala või piigi kõrgus}}{\text{IS piigi pindala või piigi kõrgus}}$$

$$C = \frac{\text{Aromaatse ühendi kontsentratsioon (µg/g)}}{\text{IS kontsentratsioon (µg/g)}}$$

8.5 Määramine

Injekteeritakse standardlahust C (5.14.3) ja kaks kvaliteedikontrollistandardit (5.14.7). Seejärel injekteeritakse uuritavad proovid (valmistatud vastavalt punktidele 8.1 ja 8.2) ja lisatakse üks kvaliteedikontrollistandard iga 10 proovi kohta analüütilise stabiilsuse tagamiseks. Injekteeritakse üks standardlahus C (5.14.3) iga 5 proovi järel.

9. **Arvutamine**

Võib kasutada automaatset andmekäitlussüsteemi, tingimusel et andmeid saab allpool toodud meetodis kirjeldatud põhimõtete abil kontrollida.

Mõõdetakse aromaatse ühendi piigi pindalad või piigi kõrgused ning sisestandardi piigid.

9.1 Kaliibrimisteguri arvutamine

Standardlahuse C (5.14.3) injektsiooni kromatogrammi põhjal arvutatakse iga aromaatse ühendi kaliibrimistegur, kasutades võrrandit (1).

$$\text{Kaliibrimistegur} = \frac{\text{IS piigi pindala või piigi kõrgus}}{\text{Aromaatse ühendi piigi pindala või piigi kõrgus}} \times \frac{\text{Aromaatse ühendi kontsentratsioon (µg/g)}}{\text{IS kontsentratsioon (µg/g)}}$$

▼B

kus:

IS = sisestandard

Aromaatse ühendi kontsentratsioon = aromaatse ühendi kontsentratsioon lahuses C (5.14.3)

IS kontsentratsioon = sisestandardi kontsentratsioon lahuses C (5.14.3).

9.1.2 Proovi analüüs

Kasutades võrrandit (2), arvutatakse iga aromaatse ühendi kontsentratsioon proovides.

(2) Aromaatse ühendi kontsentratsioon, (μg/g) =

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

kus:

M_{PROOV} = proovi mass (8.1.2)

M_{IS} = sisestandardi mass (8.1.3)

$Conc._{IS}$ = sisestandardi kontsentratsioon lahuses E (5.14.5)

RF = võrrandi (1) abil arvutatud kaliibrimistegur.

9.1.3 Kvaliteedikontrollistandardi analüüs

Kasutades võrrandit (3), arvutatakse iga aromaatse ühendi sihtväärtuse saagise protsent kvaliteedikontrollistandardis (5.14.7):

$$\text{kvaliteedikontrollistandardi proovi saagise protsent} = \frac{\text{analüüdi kontsentratsioon kvaliteedikontrollistandardis}}{\text{analüüdi kontsentratsioon lahuses D}} \times 100$$

Analüüdi kontsentratsioon kvaliteedikontrollistandardis arvutatakse eespool toodud võrrandite (1) ja (2) abil.

9.2 Tulemuste lõplik esitamine

Tulemused mg-des grammi kohta arvestatakse ümber grammidesse 100 liitri absoluutalkoholi kohta proovis, kasutades võrrandit (4):

(4) Kontsentratsioon (μg/g) 100 liitri alkoholi kohta =

Kontsentratsioon (μg/g) x ρ x 10/(sisaldus mahu% × 1 000)

kus ρ = tihedus kg/m^3.

Tulemused esitatakse kolme tüvenumbriga ning maksimaalselt ühe kümnendkohaga, nt 11,4 g 100 l absoluutalkoholi kohta.

10. **Kvaliteedi tagamine ja kontroll (kasutatakse kinnitatud meetodi puhul)**

Kasutades võrrandit (2), arvutatakse iga aromaatse ühendi kontsentratsioon kvaliteedikontrollistandardis, mis on valmistatud punktides 8.1.1–8.1.4 esitatud menetlusega. Kasutades võrrandit (3), arvutatakse sihtväärtuse saagise protsent. Kui analüüsitulemused on iga aromaatse ühendi puhul vahemikus ± 10 % nende teoreetilisest väärtusest, võib analüüsi jätkata. Vastasel korral tuleks läbi viia uuring ebatäpsuste leidmiseks ning teha vajaduse korral parandused.

▼B

11. **Meetodi suutlikkuse näitajad (täpsus)**

Laboritevahelise katse statistilised tulemused: järgmistes tabelites on esitatud järgmiste ühendite väärtused: etanaal, etüülatsetaat, atsetaal, üldetanaal, metanool, 2-butanool, 1-propanool, 1-butanool, 2-metüül-1-propanool, 2-metüül-1-butanool, 3-metüül-1-butanool.

Vastavalt rahvusvaheliselt kokkulepitud menetlustele läbi viidud meetodi suutlikkuse rahvusvahelise uurimuse põhjal saadi järgmised andmed.

Laboritevahelise katse tegemise aeg	1 997
Laborite arv	32
Proovide arv	5
Analüüt	etanaal

Proovid	A	B	C	D	E
Laborite arv pärast võõrväärtuste elimineerimist	28	26	27	27	28
Võõrväärtuste arv (laborid)	2	4	3	3	2
Tunnustatud tulemuste arv	56	52	54	54	56
Keskväärtus ($\bar{x}$)(µg/g)	63,4	71,67	130,4	38,4 13,8 (*)	28,6 52,2 (*)
Korratavuse standardhälve (Sr) (µg/g)	3,3	1,9	6,8	4,1	3,6
Korratavuse suhteline standardhälve (RSDr) (%)	5,2	2,6	5,2	15,8	8,9
Korratavuse piirnorm (r) (µg/g)	9,3	5,3	19,1	11,6	10,1
Reprodutseeritavuse standardhälve (SR) (µg/g)	12	14	22	6,8	8,9
Reprodutseeritavuse suhteline standardhälve (RSDR) (%)	18,9	19,4	17,1	26,2	22,2
Reprodutseeritavuse piirnorm (R) (µg/g)	33,5	38,9	62,4	19,1	25,1

Proovide liigid
A Brändi; pime kordusproov.
B Kirsiviin; pime kordusproov.
C Grappa; pime kordusproov.
D Viski; jaotustase. (*)
E Rumm; jaotustase. (*)

Laboritevahelise katse tegemise aeg	1 997
Laborite arv	32
Proovide arv	5
Analüüt	etüülatsetaat

Proovid	A	B	C	D	E
Laborite arv pärast võõrväärtuste elimineerimist	24	24	25	24	24
Võõrväärtuste arv (laborid)	2	2	1	2	2
Tunnustatud tulemuste arv	48	48	50	48	48
Keskväärtus ($\bar{x}$)(µg/g)	96,8	1 046	120,3	112,5 91,8 (*)	99,1 117,0 (*)
Korratavuse standard (Sr) (µg/g)	2,2	15	2,6	2,1	2,6
Korratavuse suhteline standardhälve (RSDr) (%)	2,3	1,4	2,1	2,0	2,4
Korratavuse piirnorm (r) (µg/g)	6,2	40,7	7,2	5,8	7,3

▼B

Proovid	A	B	C	D	E
Reprodutseeritavuse standardhälve (SR) (µg/g)	6,4	79	8,2	6,2	7,1
Reprodutseeritavuse suhteline standardhälve (RSDR) (%)	6,6	7,6	6,8	6,2	6,6
Reprodutseeritavuse piirnorm (R) (µg/g)	17,9	221,9	22,9	17,5	20,0

Proovide liigid
A Brändi; pime kordusproov
B Kirsiviin; pime kordusproov.
C Grappa; pime kordusproov.
D Viski; jaotustase. (*)
E Rumm; jaotustase. (*)

Laboritevahelise katse tegemise aeg	1 997
Laborite arv	32
Proovide arv	5
Analüüt	atsetaal

Proovid	A	B	C	D	E
Laborite arv pärast võõrväärtuste elimineerimist	20	21	22	17	21
Võõrväärtuste arv (laborid)	4	3	2	4	3
Tunnustatud tulemuste arv	40	42	44	34	42
Keskväärtus ($\bar{x}$)(µg/g)	35,04	36,46	68,5	20,36 6,60 (*)	15,1 28,3 (*)
Korratavuse standardhälve (Sr) (µg/g)	0,58	0,84	1,6	0,82	1,9
Korratavuse suhteline standardhälve (RSDr) (%)	1,7	2,3	2,3	6,1	8,7
Korratavuse piirnorm (r) (µg/g)	1,6	2,4	4,4	2,3	5,3
Reprodutseeritavuse standardhälve (SR) (µg/g)	4,2	4,4	8,9	1,4	3,1
Reprodutseeritavuse suhteline standardhälve (RSDR) (%)	12,1	12,0	13,0	10,7	14,2
Reprodutseeritavuse piirnorm (R) (µg/g)	11,8	12,2	25,0	4,0	8,7

Proovide liigid
A Brändi; pime kordusproov.
B Kirsiviin; pime kordusproov.
C Grappa; pime kordusproov.
D Viski; jaotustase. (*)
E Rumm; jaotustase. (*)

Laboritevahelise katse tegemise aeg	1 997
Laborite arv	32
Proovide arv	5
Analüüt	üldetanaal

Proovid	A	B	C	D	E
Laborite arv pärast võõrväärtuste elimineerimist	23	19	22	21	22
Võõrväärtuste arv (laborid)	1	5	2	3	2
Tunnustatud tulemuste arv	46	38	44	42	44
Keskväärtus (ñ)(µg/g)	76,5	85,3	156,5	45,4 15,8 (*)	32,7 61,8 (*)
Korratavuse standardhälve (Sr) (µg/g)	3,5	1,3	6,5	4,4	3,6

▼B

Proovid	A	B	C	D	E
Korratavuse suhteline standardhälve (RSDr) (%)	4,6	1,5	4,2	14,2	7,6
Korratavuse piirnorm (r) (µg/g)	9,8	3,5	18,3	12,2	10,0
Reprodutseeritavuse standardhälve (SR) (µg/g)	13	15	24,1	7,3	9,0
Reprodutseeritavuse suhteline standardhälve (RSDR) (%)	16,4	17,5	15,4	23,7	19,1
Reprodutseeritavuse piirnorm (R) (µg/g)	35,2	41,8	67,4	20,3	25,2

Proovide liigid
A Brändi; pime kordusproov.
B Kirsiviin; pime kordusproov.
C Grappa; pime kordusproov.
D Viski; jaotustase. (*)
E Rumm; jaotustase. (*)

Laboritevahelise katse tegemise aeg	1 997
Laborite arv	32
Proovide arv	5
Analüüt	metanool

Proovid	A	B	C	D	E
Laborite arv pärast võõrväärtuste elimineerimist	26	27	27	28	25
Võõrväärtuste arv (laborid)	4	3	3	1	4
Tunnustatud tulemuste arv	52	54	54	56	50
Keskväärtus ($\bar{x}$) (µg/g)	319,8	2 245	1 326	83,0 61,5 (*)	18,6 28,9 (*)
Korratavuse standardhälve (Sr) (µg/g)	4,4	27	22	1,5	1,3
Korratavuse suhteline standardhälve (RSDr) (%)	1,4	1,2	1,7	2,1	5,6
Korratavuse piirnorm (r) (µg/g)	12,3	74,4	62,5	4,3	3,8
Reprodutseeritavuse standardhälve (SR) (µg/g)	13	99	60	4,5	2,8
Reprodutseeritavuse suhteline standardhälve (RSDR) (%)	3,9	4,4	4,6	6,2	11,8
Reprodutseeritavuse piirnorm (R) (µg/g)	35,2	278,3	169,1	12,5	7,9

Proovide liigid
A Brändi; pime kordusproov.
B Kirsiviin; pime kordusproov.
C Grappa; pime kordusproov.
D Viski; jaotustase. (*)
E Rumm; jaotustase. (*)

Laboritevahelise katse tegemise aeg	1 997
Laborite arv	32
Proovide arv	5
Analüüt	2-butanool

Proovid	A	B	C	E
Laborite arv pärast võõrväärtuste elimineerimist	21	27	29	22
Võõrväärtuste arv (laborid)	4	3	1	3

▼B

Proovid	A	B	C	E
Tunnustatud tulemuste arv	42	54	58	44
Keskväärtus ($\bar{x}$)(µg/g)	5,88	250,2	27,57	5,83 14,12 (*)
Korratavuse standardhälve (SR) (µg/g)	0,40	2,2	0,87	0,64
Korratavuse suhteline standardhälve (RSDR) (%)	6,8	0,9	3,2	6,4
Korratavuse piirnorm (r) (µg/g)	1,1	6,1	2,5	1,8
Reprodutseeritavuse standardhälve (Sr) (mahu%)	0,89	13	3,2	0,87
Reprodutseeritavuse suhteline standardhälve (RSDr) (%)	15,2	5,1	11,5	8,7
Reprodutseeritavuse piirnorm (R) (µg/g)	2,5	35,5	8,9	2,4

Proovide liigid
A Brändi; pime kordusproov.
B Kirsiviin; pime kordusproov.
C Grappa; pime kordusproov.
E Rumm; jaotustase. (*)

Laboritevahelise katse tegemise aeg	1 997
Laborite arv	32
Proovide arv	5
Analüüt	1-propanool

Proovid	A	B	C	D	E
Laborite arv pärast võõrväärtuste elimineerimist	29	27	27	29	29
Võõrväärtuste arv (laborid)	2	4	3	2	2
Tunnustatud tulemuste arv	58	54	54	58	58
Keskväärtus ($\bar{x}$)(µg/g)	86,4	3 541	159,1	272,1 229,3 (*)	177,1 222,1 (*)
Korratavuse standardhälve (Sr) (µg/g)	3,0	24	3,6	2,3	3,3
Korratavuse suhteline standardhälve (RSDr) (%)	3,4	0,7	2,3	0,9	1,6
Korratavuse piirnorm (r) (µg/g)	8,3	68,5	10,0	6,4	9,1
Reprodutseeritavuse standardhälve (SR) (µg/g)	5,3	150	6,5	9,0	8,1
Reprodutseeritavuse suhteline standardhälve (RSDR) (%)	6,1	4,1	4,1	3,6	4,1
Reprodutseeritavuse piirnorm (R) (µg/g)	14,8	407,2	18,2	25,2	22,7

Proovide liigid
A Brändi; pime kordusproov.
B Kirsiviin; pime kordusproov.
C Grappa; pime kordusproov.
D Viski; jaotustase. (*)
E Rumm; jaotustase. (*)

Laboritevahelise katse tegemise aeg	1 997
Laborite arv	32
Proovide arv	5
Analüüt	1-propanool

▼B

Proovid	A	B	C
Laborite arv pärast võõrväärtuste elimineerimist	20	22	22
Võõrväärtuste arv (laborid)	4	4	6
Tunnustatud tulemuste arv	40	44	44
Keskväärtus ($\bar{x}$)(µg/g)	3,79	5,57	7,54
Korratavuse standardhälve (Sr) (µg/g)	0,43	0,20	0,43
Korratavuse suhteline standardhälve (RSDr) (%)	11,2	3,6	5,6
Korratavuse piirnorm (r) (µg/g)	1,1	0,6	1,2
Reprodutseeritavuse standardhälve (SR) (µg/g)	0,59	0,55	0,82
Reprodutseeritavuse suhteline standardhälve (RSDR) (%)	15,7	9,8	10,8
Reprodutseeritavuse piirnorm (R) (µg/g)	1,7	1,5	2,3

Proovide liigid
A Brändi; pime kordusproov.
B Kirsiviin; pime kordusproov.
C Grappa; pime kordusproov. (*)

Laboritevahelise katse tegemise aeg	1 997
Laborite arv	32
Proovide arv	5
Analüüt	2-metüül-1-propanool

Proovid	A	B	C	D	E
Laborite arv pärast võõrväärtuste elimineerimist	28	31	30	26	25
Võõrväärtuste arv (laborid)	3	0	1	5	6
Tunnustatud tulemuste arv	56	62	60	52	50
Keskväärtus ($\bar{x}$)(µg/g)	174,2	111,7	185,0	291,0 246,8 (*)	115,99 133,87 (*)
Korratavuse standardhälve (Sr) (µg/g)	2,3	1,6	2,5	1,8	0,74
Korratavuse suhteline standardhälve (RSDr) (%)	1,3	1,4	1,3	0,7	0,6
Korratavuse piirnorm (r) (µg/g)	6,4	4,5	6,9	5,0	2,1
Reprodutseeritavuse standardhälve (SR) (µg/g)	8,9	8,9	9,7	6,0	6,2
Reprodutseeritavuse suhteline standardhälve (RSDR) (%)	5,1	8,0	5,2	2,2	5,0
Reprodutseeritavuse piirnorm (R) (µg/g)	24,9	24,9	27,2	16,9	17,4

Proovide liigid
A Brändi; pime kordusproov.
B Kirsiviin; pime kordusproov.
C Grappa; pime kordusproov.
D Viski; jaotustase. (*)
E Rumm; jaotustase. (*)

Laboritevahelise katse tegemise aeg	1 997
Laborite arv	32
Proovide arv	5
Analüüt	2-metüül-1-butanool

▼B

Proovid	A	B	C	D	E
Laborite arv pärast võõrväärtuste elimineerimist	25	26	25	27	25
Võõrväärtuste arv (laborid)	3	2	3	1	2
Tunnustatud tulemuste arv	50	52	50	54	50
Keskväärtus ($\bar{x}$)(µg/g)	113,0	48,3	91,6	72,1 45,2 (*)	39,5 61,5 (*)
Korratavuse standardhälve (Sr) (µg/g)	2,1	1,5	1,7	2,3	2,3
Korratavuse suhteline standardhälve (RSDr) (%)	1,9	3,1	1,8	3,9	4,5
Korratavuse piirnorm (r) (µg/g)	6,0	4,2	4,7	6,4	6,3
Reprodutseeritavuse standardhälve (SR) (µg/g)	7,4	3,8	6,6	4,7	4,5
Reprodutseeritavuse suhteline standardhälve (RSDR) (%)	6,6	7,9	7,2	8,1	8,8
Reprodutseeritavuse piirnorm (R) (µg/g)	20,8	10,7	18,4	13,3	12,5

Proovide liigid
A Brändi; pime kordusproov.
B Kirsiviin; pime kordusproov.
C Grappa; pime kordusproov.
D Viski; jaotustase. (*)
E Rumm; jaotustase. (*)

Laboritevahelise katse tegemise aeg	1 997
Laborite arv	32
Proovide arv	5
Analüüt	3-metüül-1-butanool

Proovid	A	B	C	D	E
Laborite arv pärast võõrväärtuste elimineerimist	23	23	24	27	21
Võõrväärtuste arv (laborid)	5	5	4	1	6
Tunnustatud tulemuste arv	46	46	48	54	42
Keskväärtus ($\bar{x}$)(µg/g)	459,4	242,7	288,4	142,2 120,4 (*)	212,3 245,6 (*)
Korratavuse standardhälve (Sr) (µg/g)	5,0	2,4	3,4	2,4	3,2
Korratavuse suhteline standardhälve (RSDr) (%)	1,1	1,0	1,2	1,8	1,4
Korratavuse piirnorm (r) (µg/g)	13,9	6,6	9,6	6,6	9,1
Reprodutseeritavuse standardhälve (SR) (µg/g)	29,8	13	21	8,5	6,7
Reprodutseeritavuse suhteline standardhälve (RSDR) (%)	6,5	5,2	7,3	6,5	2,9
Reprodutseeritavuse piirnorm (R) (µg/g)	83,4	35,4	58,8	23,8	18,7

Proovide liigid
A Brändi; pime kordusproov.
B Kirsiviin; pime kordusproov.
C Grappa; pime kordusproov.
D Viski; jaotustase. (*)
E Rumm; jaotustase. (*)

▼M1

V. ANETOOL. TRANS-ANETOOLI MÄÄRAMINE PIIRITUSJOOKIDES GAASIKROMATOGRAAFIA ABIL

1. **Reguleerimisala**

Käesolev meetod sobib trans-anetooli määramiseks aniisimaitselistes piiritusjookides kapillaargaasikromatograafia abil.

2. **Viited normidele**

ISO 3696: 1987 Vesi analüütiliseks kasutamiseks – Spetsifikatsioon ja katsemeetodid.

3. **Põhimõte**

Piiritusjoogi trans-anetooli kontsentratsioon määratakse kindlaks gaasikromatograafia abil. Kui uuritavas proovis ei leidu estragooli looduslikul kujul, lisatakse proovile ja teadaoleva kontsentratsiooniga trans-anetooli võrdluslahusele sama kogus sisestandardit, nt 4-allüülanisooli (estragooli), lahjendatakse mõlemad lahused 45 % etanoolilahusega ja süstitakse otse gaasikromatograafi. Suures koguses suhkrut sisaldavad likööorid tuleb enne proovide ettevalmistamist ja analüüsimist ekstraheerida.

4. **Reaktiivid ja materjalid**

Analüüsil tuleb kasutada üksnes vähemalt 98 % puhtusega reaktiive. Kasutada tuleb vähemalt 3. klassi vett vastavalt ISO 3696 standardile.

Võrdlusaineid tuleks säilitada külmas (4 °C), valguse eest kaitstult, alumiiniumist anumates või toonitud (merevaigukollasest) klaasist reaktiivipudelites. Korgid peaksid soovitavalt olema alumiiniumtihendiga. Trans-anetool tuleb enne kasutamist "sulatada" kristallilisest olekust, kuid temperatuur ei tohi kunagi ületada 35 °C.

4.1. 96mahuprotsendiline etanool (CAS 64-17-5)

4.2. 1-metoksü-4-(1-propenüül)benseen; (trans-anetool) (CAS 4180-23-8)

4.3. 4-allüülanisool (estragool) (CAS 140-67-0), soovitatav sisestandard

4.4 45mahuprotsendiline etanool

378 g 96mahuprotsendilisele etanoolile lisatakse 560 g destilleeritud vett.

4.5. Standardlahuste valmistamine

Kõiki standardlahused tuleks säilitada toatemperatuuril (15–35 °C), valguse eest kaitstult, alumiiniumist anumates või toonitud (merevaigukollasest) klaasist reaktiivipudelites. Kork peaks soovitavalt olema alumiiniumtihendiga.

Trans-anetool ja 4-allüülanisool on vees praktiliselt lahustumatud ning tuleb seepärast enne 45protsendilise etanooli (4.4) lisamist lahustada 96protsendilises etanoolis (4.1).

Põhilahused tuleb valmistada värskelt iga nädal.

4.5.1. Standardlahus A

Trans-anetooli põhilahus (kontsentratsioon: 2 g/l)

40 mg trans-anetooli (4.2) kaalutakse 20 ml mõõtekolbi (või 400 mg 200 ml mõõtekolbi jne). Lisatakse veidi 96protsendilist etanooli (4.1) ja täiendatakse kuni märgini 45protsendilise etanooliga (4.4) ning segatakse hoolikalt.

4.5.2. Sisestandardi lahus B

Sisestandardi põhilahus, näiteks estragool (kontsentratsioon: 2 g/l)

40 mg estragooli (4.3) kaalutakse 20 ml mõõtekolbi (või 400 mg 200 ml mõõtekolbi jne). Lisatakse veidi 96protsendilist etanooli (4.1) ja täiendatakse kuni märgini 45protsendilise etanooliga (4.4) ning segatakse hoolikalt.

▼M1

4.5.3. Leekionisatsioonidetektori näitude lineaarsuse kontrollimiseks kasutatavad lahused

Leekionisatsioonidetektori näitude lineaarsust tuleb analüüsi jaoks kontrollida piiritusjookide trans-anetooli kontsentratsiooni vahemikus 0–2,5 g/l. Analüüsimisel lahjendatakse piiritusjookide uuritavaid proove 10 korda. Meetodis kirjeldatud analüüsitingimusteks vajalikud põhilahused, mis vastavad uuritava proovi trans-anetooli kontsentratsioonile 0, 0,05, 0,1, 0,15, 0,2 ja 0,25 g/l, valmistatakse ette järgmiselt: võetakse 0,5, 1, 1,5, 2 ja 2,5 ml põhilahust A (4.5.1) ja pipetitakse eraldi 20 ml mõõtekolbidesse; igasse kolbi pipetitakse 2 ml sisestandardi lahust B (4.5.2) ja täiendatakse kuni märgini 45protsendilise etanooliga (4.4) ning segatakse hoolikalt.

Pimelahust (8.4) kasutatakse 0 g/l lahusena.

4.5.4. Standardlahus C

20 ml mõõtekolbi pipetitakse 2 ml standardlahust A (4.5.1), lisatakse 2 ml sisestandardi lahust B (4.5.2) ja täiendatakse kuni märgini 45protsendilise etanooliga (4.4) ning segatakse hoolikalt.

5. **Seadmed ja aparatuur**

5.1. Kapillaargaasikromatograaf, millel on leekionisatsioonidetektor ja integraator või muu andmekäitlussüsteem, millega on võimalik mõõta piigikõrgusi või piigipindalasid, ja automaatne proovivõtuvahend või vajalikud seadmed proovi sisestamiseks süstlaga.

5.2. Jaotatud/jaotamata vooluga injektor

5.3. Kapillaarkolonn, näiteks:

pikkus: 50 m

siseläbimõõt: 0,32 mm

statsionaarse faasi kile paksus: 0,2 μm

statsionaarne faas: FFAP – muundatud TPA-polüetüleenglükooli võrkstruktuuriga poorne polümeer.

5.4. Tavapärased laboriseadmed: A-täpsusklassiga klaasist mõõtekolvid (täpsus: ± 0,1 mg).

6. **Kromatograafia tingimused**

Kolonni tüüp ja mõõtmed ning gaasikromatograafia tingimused peaksid olema sellised, et anetool ja sisestandard on eraldatud teineteisest ja kõikidest määramist segavatest ainetest. Punktis 5.3 näidisena esitatud kolonni tüüpilised tingimused on järgmised.

6.1. Kandegaas: heelium, analüütiliselt puhas

6.2. Voolukiirus: 2 ml/min

6.3. Injektori temperatuur: 250 °C

6.4. Detektori temperatuur: 250 °C

6.5. Ahju temperatuuri tingimused: isotermiline, 180 °C, läbijooksuaeg 10 minutit

6.6. Süstitav maht: 1 μl, jaotatud 1: 40.

7. **Proovid**

Proove tuleks hoida toatemperatuuril, valguse ja külma eest varjatult.

8. **Menetlus**

8.1. Estragooli esinemise uurimine proovis

Tagamaks, et proovis ei esine estragooli loomulikul kujul, tuleks teha pimekatse ilma sisestandardit lisamata. Kui proovis esineb estragooli loomulikul kujul, tuleb valida mõni teine sisestandard (näiteks mentool).

2 ml proovi pipetitakse 20 ml mõõtekolbi ja täiendatakse kuni märgini 45protsendilise etanooliga (4.4) ning segatakse hoolikalt.

▼M1

8.2. Uuritavate proovide ettevalmistamine

2 ml proovi pipetitakse 20 ml mõõtekolbi, lisatakse 2 ml sisestandardi lahust B (4.5.2) ja täiendatakse kuni märgini 45protsendilise etanooliga (4.4) ning segatakse hoolikalt.

8.3 Pimekatse

2 ml sisestandardi lahust B (4.5.2) pipetitakse 20 ml mõõtekolbi ja täiendatakse kuni märgini 45protsendilise etanooliga (4.4) ning segatakse hoolikalt.

8.4. Lineaarsuse kontroll

Enne analüüsi alustamist tuleks kontrollida leekionisatsioonidetektori näitude lineaarsust, analüüsides iga lineaarsuse standardlahust (4.5.3) järjest kolm korda.

Iga injektsiooni puhul koostatakse integraatori piigipindalade või piigikõrguste põhjal graafik, mis väljendab emalahuse kontsentratsiooni (g/l) ja suhtarvu R suhet.

R trans-anetooli piigikõrgus või pindala jagatud estragooli piigikõrguse või pindalaga.

Peaks tekkima sirgjoon.

8.5. Määramine

Süstitakse pimelahus (8.3), seejärel standardlahus C (4.5.4), üks lineaarsuse standardlahus (4.5.3), mis toimib kvaliteedikontrolli proovina (selle võib valida uuritava proovi tõenäolise trans-anetooli kontsentratsiooni alusel), ja viis uuritavat lahust (8.2); analüütilise stabiilsuse tagamiseks süstitakse lineaarsuse (kvaliteedikontrolli) standard iga 5 uuritava proovi järel.

9. **Kaliibrimisteguri arvutamine**

Mõõdetakse trans-anetooli ja sisestandardi piikide pindala (integraatori või muu andmekäitlussüsteemi abil) või piikide kõrgus (käsitsi integreerimise teel).

9.1. Kaliibrimisteguri (RFi) arvutamine

Kaliibrimistegur arvutatakse järgmiselt:

$RF_i = (C_i/\text{pindala või kõrgus}_i)*(\text{pindala või kõrgus}_{iš}/C_{iš})$

kus

C_i on trans-anetooli kontsentratsioon standardlahuses A (4.5.1)

C_{is} on sisestandardi kontsentratsioon standardlahuses B (4.5.2)

pindala_i on trans-anetooli piigi pindala (või kõrgus)

pindala_{is} on sisestandardi piigi pindala (või kõrgus)

RF_i arvutatakse viie lahuse C (4.5.4) proovi põhjal.

9.2. Lineaarsuse kontrollimise lahuste analüüs

Süstitakse lineaarsuse kontrollimise lahus (4.5.3).

9.3. Proovi analüüs

Süstitakse uuritava proovi lahus (8.2).

10. **Tulemuste arvutamine**

Trans-anetooli kontsentratsiooni arvutamise valem on järgmine:

$c_i = C_{iš} * (\text{pindala või kõrgus}_i/\text{pindala või kõrgus}_{iš})*RF_i$

▼M1

kus

c_i	on uuritav trans-anetooli kontsentratsioon
$C_{iš}$	on sisestandardi kontsentratsioon uuritavas lahuses (4.5.2)
Pindala või kõrgus$_i$	on trans-anetooli piigi pindala või kõrgus
Pindala või kõrgus$_{iš}$	on sisestandardi piigi pindala või kõrgus
RF_i	on kaliibrimistegur (arvutatud vastavalt punktile 9.1)

Trans-anetooli kontsentratsioon väljendatakse grammides liitri kohta ühe kümnendkoha täpsusega.

11. **Kvaliteedi tagamine ja kontroll**

Kromatogrammid peaksid olema sellised, et anetool ja sisestandard on eraldatud teineteisest ning kõikidest määramist segavatest ainetest. RF_i väärtus arvutatakse lahuse C (4.5.4) viie süstimise tulemuste põhjal. Kui variatsioonikordaja (CV % = (standardhälve/keskmine)*100)) on vahemikus ± 1 %, on RF_i keskmine väärtus aktsepteeritav.

Eespool esitatud arvutust tuleks kasutada trans-anetooli kontsentratsiooni arvutamisel lineaarsuse kontrollimise lahustest (4.5.3) kvaliteedikontrolliks valitud proovis.

Kui sisemise kvaliteedikontrolli prooviks valitud lineaarsuslahuse analüüsi tulemuste keskmine jääb ± 2,5 % piiresse nende teoreetilisest väärtusest, on uuritavade proovide tulemused aktsepteeritavad.

12. **Suures koguses suhkrut sisaldava piiritusjoogiproovi ja likööriproovi töötlemine enne gaasikromatograafiaanalüüsi**

Alkoholi ekstraheerimine suures koguses suhkrut sisaldavast piiritusjoogist, et määrata kindlaks trans-anetooli sisaldus kapillaargaasikromatograafia abil.

12.1. Põhimõte

Võetakse likööriproovi alikvoot ja lisatakse sellele sisestandardit, mille kontsentratsioon sarnaneb analüüdi (trans-anetool) kontsentratsioonile likööris. Lisatakse naatriumfosfaatdodekahüdraati ja veevaba ammooniumsulfaati. Saadud segu loksutatakse hoolikalt ning jahutatakse, misjärel moodustub kaks kihti; ülemine alkoholikiht eemaldatakse. Võetakse selle alkoholikihi alikvoot ja lahjendatakse 45protsendilise etanoolilahusega (4.4) (Märkus: selles etapis ei lisata sisestandardit, kuna see on juba lisatud). Saadud lahust analüüsitakse gaasikromatograafia abil.

12.2. Reaktiivid ja materjalid

Ekstraheerimise ajal tuleb kasutada üksnes vähemalt 99 % puhtusega reaktiive.

12.2.1. Ammooniumsulfaat, veevaba (CAS 7783-20-2).

12.2.2. Naatriumfosfaat, kahealuseline, dodekahüdraat (CAS 10039-32-4).

12.3. Seadmed ja aparatuur

Erlenmeyeri kolvid, jaotuskolvid, külmik.

12.4. Menetlus

12.4.1. Estragooli esinemise uurimine proovis

Tagamaks, et proovis ei esine estragooli loomulikul kujul, tuleks teha pimeekstraheerimine (12.6.2) ja katse ilma sisestandardit lisamata. Kui proovis esineb estragooli loomulikul kujul, tuleb valida mõni teine sisestandard.

12.4.2. Ekstraheerimine

5 ml 96 % etanooli (4.1) pipetitakse Erlenmeyeri kolbi, kuhu kaalutakse seejärel 50 mg sisestandardit (4.3) ja lisatakse 50 ml proovi. Lisatakse 12 g veevaba ammooniumsulfaati (12.2.1) ja 8,6 g kahealuselist naatriumfosfaatdodekahüdraati (12.2.2). Kolb suletakse korgiga.

▼M1

Kolbi loksutatakse vähemalt 30 minutit. Kasutada võib mehaanilist loksutit, kuid mitte tefloniga kaetud magnetseguri varrast, kuna teflon absorbeerib osa analüüdist. Tuleb arvesse võtta, et lisatud soolad ei lahustu täielikult.

Korgiga suletud kolb asetatakse vähemalt kaheks tunniks külmikusse (T < 5 °C).

Selle aja möödudes peaks olema tekkinud kaks selgelt eristuvat vedelikukihti ja tahke jääk. Alkoholikiht peaks olema selge; kui see nii ei ole, asetatakse kolb tagasi külmikusse, kuni tekib selgelt eristuv kiht.

Kui alkoholikiht on selge, eemaldatakse alikvoot (nt 10 ml) ettevaatlikult ilma veekihti segamata, asetatakse merevaigukollasesse pudelisse ja suletakse kindlalt.

12.4.3. Uuritava ekstraheeritud proovi ettevalmistamine

Ekstraktil (12.4.2) lastakse soojeneda toatemperatuurini.

Võetakse 2 ml toatemperatuurini viidud ekstraheeritud proovi alkoholikihti ja pipetitakse 20 ml mõõtekolbi, täiendatakse kuni märgini 45 % etanooliga (4.4) ja segatakse hoolikalt.

12.5. Määramine

Järgitakse punktis 8.5 kirjeldatud menetlust.

12.6. Tulemuste arvutamine

Tulemuste arvutamiseks kasutatakse järgmist valemit:

$C_i = (m_{iš}/V)^* (pindala_i/pindala_{iš}) ^*RF_i$

kus

$m_{iš}$ on kasutatud (12.4.2) sisestandardi (4.3) mass (milligrammides)

V on uuritava proovi ruumala (50 ml)

RF_i on kaliibrimistegur (9.1)

$pindala_i$ on trans-anetooli piigi pindala

$pindala_{iš}$ on sisestandardi piigi pindala

Tulemused väljendatakse grammides liitri kohta ühe kümnendkoha täpsusega.

12.7. Kvaliteedi kontroll ja tagamine

Järgitakse eespool punktis 11 kirjeldatud menetlust.

13. **Meetodi suutlikkuse näitajad (täpsus)**

Laboritevahelise katse statistilised tulemused:

järgmistes tabelites on esitatud anetooli väärtused.

Vastavalt rahvusvaheliselt kokkulepitud menetlustele läbi viidud meetodi suutlikkuse rahvusvahelise uurimuse põhjal saadi järgmised andmed.

Laboritevahelise katse tegemise aeg	1 998
Laborite arv	16
Proovide arv	10
Analüüt	anetool

▼**M1**

Pastis:

Proovid	A	B	C	D	E	F
Laborite arv pärast võõrväärtuste elimineerimist	15	15	15	13	16	16
Võõrväärtuste arv (laborid)	1	1	1	3	–	–
Tunnustatud tulemuste arv	30	30	30	26	16	16
Keskväärtus (g/l)	1,477	1,955	1,940	1,833	1,741	1,754
Korratavuse standardhälve (S_r) (g/l)	0,022	0,033	0,034	0,017	–	–
Korratavuse suhteline standardhälve (RSD_r) (%)	1,5	1,7	1,8	0,9	–	–
Korratavuse piirnorm (r) (g/l)	0,062	0,093	0,096	0,047	–	–
Reprodutseeritavuse standardhälve (S_R) (g/l)	0,034	0,045	0,063	0,037	0,058	0,042
Reprodutseeritavuse suhteline standardhälve (RSD_R) (%)	2,3	2,3	3,2	2,0	3,3	2,4
Reprodutseeritavuse piirnorm (R) (g/l)	0,094	0,125	0,176	0,103	0,163	0,119

Proovide liigid:

A *pastis*, pimedad kordusproovid

B *pastis*, pimedad kordusproovid

C *pastis*, pimedad kordusproovid

D *pastis*, pimedad kordusproovid

E *pastis*, üksikud kordusproovid

F *pastis*, üksikud kordusproovid

Muud aniisimaitselised piiritusjoogid:

Proovid	G	H	I	J
Laborite arv pärast võõrväärtuste elimineerimist	16	14	14	14
Võõrväärtuste arv (laborid)	–	2	1	1
Tunnustatud tulemuste arv	32	28	28	28
Keskväärtus (g/l)	0,778 0,530 (*)	1,742	0,351	0,599
Korratavuse standardhälve (S_r) (g/l)	0,020	0,012	0,013	0,014
Korratavuse suhteline standardhälve (RSD_r) (%)	3,1	0,7	3,8	2,3
Korratavuse piirnorm (r) (g/l)	0,056	0,033	0,038	0,038
Reprodutseeritavuse standardhälve (S_R) (g/l)	0,031	0,029	0,021	0,030
Reprodutseeritavuse suhteline standardhälve (RSD_R) (%)	4,8	1,6	5,9	5,0
Reprodutseeritavuse piirnorm (R) (g/l)	0,088	0,080	0,058	0,084

Proovide liigid:

G *ouzo*, jaotustase (*)

H *anis*, pimedad kordusproovid

I aniisimaitseline liköör, kordusproovid

J aniisimaitseline liköör, kordusproovid

▼M1

VI. GLÜTSÜRRITSIINHAPE. GLÜTSÜRRITSIINHAPPE MÄÄRAMINE KÕRGEFEKTIIVSE VEDELIKKROMATOGRAAFIA ABIL

1. **Reguleerimisala**

Käesolev meetod sobib glütsürritsiinhappe määramiseks aniisimaitselistes piiritusjookides kõrgefektiivse vedelikkromatograafia abil. Määruses (EMÜ) nr 1576/89 täpsustatakse, et aniisimaitseline piiritusjook nimetusega "*pastis*" peab sisaldama 0,05–0,5 g glütsürritsiinhapet liitri kohta.

2. **Viited normidele**

ISO 3696: 1987 Vesi analüütiliseks kasutamiseks – Spetsifikatsioon ja katsemeetodid.

3. **Põhimõte**

Glütsürritsiinhappe kontsentratsioon määratakse kindlaks kõrgefektiivse vedelikkromatograafia (HPLC) abil UV-detektoriga. Standardlahus ja uuritav proov filtreeritakse ning süstitakse eraldi otse HPLC-süsteemi.

4. **Reaktiivid ja materjalid**

Analüüsimisel kasutatakse ainult HPLC-puhtaid reaktiive, absoluutset alkoholi ja 3. klassi vett vastavalt ISO 3696 standardile.

4.1. 96mahuprotsendiline etanool (CAS 64-17-5).

4.2 Ammooniumglütsürritsinaat, $C_{42}H_{62}O_{16}.NH3$ (glütsürritsiinhappe ammooniumsool)

(molekulmass 839,98) (CAS 53956-04-0): puhtus vähemalt 90 %

(glütsürritsiinhappe molekulmass 822,94).

4.3. Jää-äädikas, CH_3COOH, (CAS 64-19-7).

4.4. Metanool, CH_3OH (CAS 67-56-1).

4.5. 50mahuprotsendiline etanool

1 000 ml saamiseks temperatuuril 20 °C:

— 96mahuprotsendilist etanooli (4.1): 521 ml

— vett (2.0): 511 ml.

4.6. HPLC eluentide valmistamine

4.6.1. Eluent A (näide)

80 mahuosa vett (2.0)

20 mahuosa äädikhapet (4.3).

Eluenti degaseeritakse viis minutit.

Märkus: kui kasutatavat vett ei ole mikrofiltreeritud, on soovitatav valmistatud eluenti filtreerida orgaaniliste lahustite filtriga, mille poori suurus on kuni 0,45 μm.

4.6.2. Eluent B

Metanool (4.4).

4.7. Standardlahuste valmistamine

Kõik standardlahused tuleb valmistada värskelt iga kahe kuu järel.

4.7.1. Võrdluslahus C

25 mg ammooniumglütsürritsinaati (4.2) kaalutakse 0,1 mg täpsusega 100 ml mõõtekolbi. Lisatakse veidi 50protsendilist etanooli (4.5) ja ammooniumglütsürritsinaat lahustatakse. Kui see on lahustunud, täiendatakse kuni märgini 50protsendilise etanooliga (4.5).

Filtreeritakse läbi orgaaniliste lahustite filtri.

▼M1

4.7.2. Mõõteriistade näitude lineaarsuse kontrollimiseks kasutatavad standardlahused

Valmistatakse 1,0 g/l põhilahus, kaaludes 100 mg ammooniumglütsürritsinaati 0,1 mg täpsusega 100 ml mõõtekolbi. Lisatakse veidi 50protsendilist etanooli (4.5) ja ammooniumglütsürritsinaat lahustatakse. Kui see on lahustunud, täiendatakse kuni märgini 50protsendilise etanooliga (4.5).

Valmistatakse veel vähemalt neli lahust, mis vastavad 0,05, 0,1, 0,25 ja 0,5 g ammooniumglütsürritsinaadile liitri kohta, pipettides vastavalt 5, 10, 25 ja 50 ml 1,0 g/l põhilahust eraldi 100 ml mõõtekolbidesse. Täiendatakse kuni märgini 50protsendilise etanooliga (4.5) ja segatakse hoolikalt.

Kõik lahused filtreeritakse läbi orgaaniliste lahustite filtri.

5. **Seadmed ja aparatuur**

5.1. Lahutamissüsteem

5.1.1. Kõrgefektiivne vedelikkromatograafia

5.1.2. Pumbasüsteem, mis võimaldab saavutada ja säilitada püsivat või programmeeritud voolukiirust suure täpsusega.

5.1.3. UV spektrofotomeetriline detektorsüsteem: seadistatakse väärtusele 254 nm.

5.1.4. Lahusti degaseerimise süsteem.

5.2. Arvutisüsteem või meerik, mille funktsioonivõime on kooskõlas ülejäänud süsteemiga.

5.3. Kolonn (näide)

Materjal: roostevaba teras või klaas

Siseläbimõõt: 4–5 mm

Pikkus: 100–250 mm

Statsionaarne faas: võrkstruktuuriga ränidioksiid (soovitavalt sfäärilise) oktadetsüüli funktsionaalrühmaga (C18), osakeste maksimumsuurus: 5 μm.

5.4. Laboriseadmed

5.4.1. Analüütilised kaalud 0,1 mg täpsusega

5.4.2. A-täpsusklassiga klaasist mõõtekolvid

5.4.3. Mikromembraanfiltreerimisseade väikeste koguste jaoks.

6. **Kromatograafia tingimused**

6.1. Elutsiooninäitajad: (näide)

— voolukiirus: 1 ml/min,

— lahusti A = 30 %,

— lahusti B = 70 %.

6.2. Määramine:

— UV = 254 nm

7. **Menetlus**

7.1. Alkohoolse joogi proovi ettevalmistamine

Vajaduse korral filtreeritakse läbi orgaaniliste lahustite filtri (poori läbimõõt 0,45 μm)

▼M1

7.2. Määramine

Pärast kromatograafia tingimuste stabiliseerumist

— süstitakse 20 µl võrdluslahust C (4.7.1),

— süstitakse 20 µl proovilahust,

— võrreldakse kahte kromatogrammi. Peetumisaja põhjal tehakse kindlaks glütsürritsiinhappe piigid. Mõõdetakse piikide pindala (või kõrgus) ja arvutatakse kontsentratsioon (g/l) kahe kümnendkoha täpsusega järgmise valemi abil:

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

kus

c on glütsürritsiinhappe kontsentratsioon uuritavas alkohoolses joogis (g/l)

C on ammooniumglütsürritsinaadi kontsentratsioon võrdluslahuses (g/l)

h on uuritava alkohoolse joogi glütsürritsiinhappe piigi pindala (või kõrgus)

H on võrdluslahuse glütsürritsiinhappe piigi pindala (või kõrgus)

P on võrdlusainena kasutatava ammooniumglütsürritsinaadi puhtusaste (%)

823 on glütsürritsiinhappe molaarmass

840 on ammooniumglütsürritsinaadi molaarmass.

8. **Meetodi suutlikkuse näitajad (täpsus)**

Laboritevahelise katse statistilised tulemused:

järgmises tabelis on esitatud glütsürritsiinhappe väärtused.

Vastavalt rahvusvaheliselt kokkulepitud menetlustele läbi viidud meetodi suutlikkuse rahvusvahelise uurimuse põhjal saadi järgmised andmed.

Laboritevahelise katse tegemise aeg	1 998
Laborite arv	16
Proovide arv	5
Analüüt	glütsürritsiinhape

Proovid	A	B	C	D	F
Laborite arv pärast võõrväärtuste elimineerimist	13	14	15	16	16
Võõrväärtuste arv (laborid)	h . 5w>	2	1	–	–
Tunnustatud tulemuste arv	26	28	30	32	32
Keskväärtus (g/l)	0,046	0,092 (*) 0,099	0,089	0,249	0,493
Korratavuse standardhälve (S_r) (g/l)	0,001	0,001	0,001	0,002	0,003
Korratavuse suhteline standardhälve (RSD_r) (%)	1,5	1,3	0,7	1,0	0,6
Korratavuse piirnorm (r) (g/l)	0,002	0,004	0,002	0,007	0,009
Reprodutseeritavuse standardhälve (S_R) (g/l)	0,004	0,007	0,004	0,006	0,013
Reprodutseeritavuse suhteline standardhälve (R_SD_R) (%)	8,6	7,2	4,0	2,5	2,7
Reprodutseeritavuse piirnorm (R) (g/l)	0,011	0,019	0,010	0,018	0,037

▼**M1**

Proovide liigid

A pastis, pimedad kordusproovid

B pastis, jaotustase (*)

C pastis, pimedad kordusproovid

D pastis, pimedad kordusproovid

E pastis, pimedad kordusproovid

▼M1

VII. **HALKOONID. HALKOONIDE ESINEMISE KONTROLL *PASTISES* KÕRGEFEKTIIVSE VEDELIKKROMATOGRAAFIA ABIL**

1. **Reguleerimisala**

Käesolev meetod sobib halkoonide esinemise kontrollimiseks aniisimaitselistes piiritusejookides. Halkoonid on flavonoidide perekonda kuuluvad looduslikud värvained, mis esinevad lagritsajuures (*Glyxyrrhiza glabra*).

Selleks, et aniisimaitselist alkohoolset jooki võiks nimetada "*pastiseks*", peab see sisaldama halkoone (määrus (EMÜ) nr 1576/89).

2. **Viited normidele**

ISO 3696: 1987, Vesi analüütiliseks kasutamiseks – Spetsifikatsioon ja katsemeetodid.

3. **Põhimõte**

Valmistatakse lagritsaekstrakti võrdluslahus. Halkoonide esinemine tehakse kindlaks kõrgefektiivse vedelikkromatograafia (HPLC) abil UV-detektoriga.

4. **Reaktiivid ja materjalid**

Analüüsimisel kasutatakse ainult HPLC-puhtaid reaktiive. Etanool peaks olema 96protsendiline. Kasutada tohib üksnes 3. klassi vett vastavalt ISO 3696 standardile.

4.1. 96mahuprotsendiline etanool (CAS 64-17-5)

4.2. Atsetonitriil, CH3CN (CAS 75-05-8)

4.3. Võrdlusmaterjal: *Glycyrrhiza glabra*: lagrits, magusjuur

Jämedalt jahvatud lagritsajuur (*Glycyrrhiza glabra*). Pulgakujuliste osakeste keskmised mõõtmed: pikkus: 10–15 mm, paksus: 1–3 mm.

4.4. Naatriumatsetaat, CH3COONa (CAS 127-09-3)

4.5. Jää-äädikas, CH3COOH (CAS 64-19-7)

4.6. Lahuste valmistamine

4.6.1. 50mahuprotsendiline etanool

1 000 ml saamiseks temperatuuril 20 °C:

— 96mahuprotsendilist etanooli (4.1): 521 ml,

— vett (2.0): 511 ml

4.6.2. Lahusti A: atsetonitriil

Atsetonitriil (4.2) HPLC analüütilise puhtusega.

Degaseeritakse.

4.6.3. Lahusti B: 0,1 M naatriumatsetaadi puhverlahus, pH 4,66.

Mõõtekolbi kaalutakse 8,203 g naatriumatsetaati (4.4), lisatakse 6,005 g jää-äädikat (4.5) ning täiendatakse veega (2) 1 000 ml lahuse saamiseni.

5. **Võrdlusekstrakti valmistamine *Glycyrrhiza glabra*'st (4.3)**

5.1. Ümarapõhjalisse destillatsioonikolbi kaalutakse 10 g peenestatud lagritsajuurt (*Glycyrrhiza glabra*) (4.3).

— Lisatakse 100 ml 50mahuprotsendilist etanooli (4.6.1).

— Keedetakse püstjahutiga kolvis üks tund.

— Filtreeritakse.

— Filtraat säilitatakse hilisemaks kasutamiseks.

5.2. Lagritsaekstrakt võetakse filtrist välja.

— Ekstrakt pannakse ümarapõhjalisse destillatsioonikolbi.

— Lisatakse 100 ml 50mahuprotsendilist etanooli (4.6.1).

— Keedetakse püstjahutiga kolvis üks tund.

▼M1

— Filtreeritakse. Filtraat säilitatakse hilisemaks kasutamiseks.

5.3. Lagritsajuure ekstraheerimine tuleb läbi viia kolm korda järjest.

5.4. Kolm filtraati valatakse kokku.

5.5. Lahusti faas (5.4) aurustatakse vaakumpöördaurustil.

5.6. Jääkekstrakt (5.5) valatakse üle 100 ml 50mahuprotsendilise etanooliga (4.6.1).

6. **Seadmed ja aparatuur**

6.1. Lahutamissüsteem.

6.1.1. Kõrgefektiivne vedelikkromatograafia.

6.1.2. Pumbasüsteem, mis võimaldab saavutada ja säilitada püsivat või programmeeritud voolukiirust kõrgel rõhul.

6.1.3. UV/nähtava kiirguse spektrofotomeetriline detektorsüsteem, mida on võimalik seadistada 254 ja 370 nm-le.

6.1.4. Lahusti degaseerimise süsteem.

6.1.5. Kolonnahi, mida on võimalik seadistada temperatuurile 40 ± 0,1 °C.

6.2. Arvutisüsteem või meerik, mille töönäitajad on kooskõlas ülejäänud lahutamissüsteemiga.

6.3. Kolonn

Materjal: roostevaba teras või klaas

Siseläbimõõt: 4–5 mm

Statsionaarne faas: võrkstruktuuriga ränidioksiid (soovitavalt sfäärilise) oktadetsüüli funktsionaalrühmaga (C18), osakeste suurus: kuni 5 μm (vorkstruktuuriga faas).

6.4. Tavapärased laboriseadmed, sealhulgas:

6.4.1. Analüütilised kaalud. (täpsus: ± 0,1 mg).

6.4.2. püstjahutiga destilleerimisaparaat, mis koosneb näiteks järgmistest osadest:

— standardse klaasist lihvkorgiga 250 ml ümarkolb,

— 30 cm püstjahuti, ja

— soojusallikas (ekstraktiivaine põhjakõrbemist tuleb asjakohasel viisil vältida).

6.4.3. Pöördaurusti.

6.4.4. Filtreerimisseade (st Büchneri lehter).

6.5. Kromatograafia tingimused (näide).

6.5.1. Lahustite A (4.6.2) ja B (4.6.3) elutsiooninäitajad:

— gradiendi muutus väärtuselt 20/80 (v/v) väärtusele 50/50 (v/v) 15 minuti jooksul,

— gradiendi muutus väärtuselt 50/50 (v/v) väärtusele 75/25 (v/v) viie minuti jooksul,

— võrdne tugevus väärtusel 75/25 (v/v) viie minuti jooksul,

— kolonn stabiliseeritakse süstide vahelisel ajal,

— võrdne tugevus väärtusel 20/80 (v/v) viie minuti jooksul.

6.5.2. Voolukiirus: 1 milliliiter minutis.

6.5.3. UV-detektori seaded:

halkoonide esinemise kindlakstegemiseks peaks detektor olema reguleeritud 370 nm-le ja glütsürritsiinhappe kindlakstegemiseks 254 nm-le.

▼M1

Märkus: lainepikkus tuleb muuta (370 nm-lt 254 nm-le) 30 sekundit enne glütsürritsiinhappe elueerimise piigi algust.

7. **Menetlus**

7.1. Alkohoolse joogi proovi ettevalmistamine

Vajaduse korral filtreeritakse läbi orgaaniliste lahustite filtri (poori läbimõõt: 0,45 μm).

7.2. Lagritsaekstrakti (5.6) jääkekstrakti ettevalmistamine

Enne analüüsi valmistatakse lahjendus 50mahuprotsendilise etanooliga (4.6.1) suhtes 1: 10.

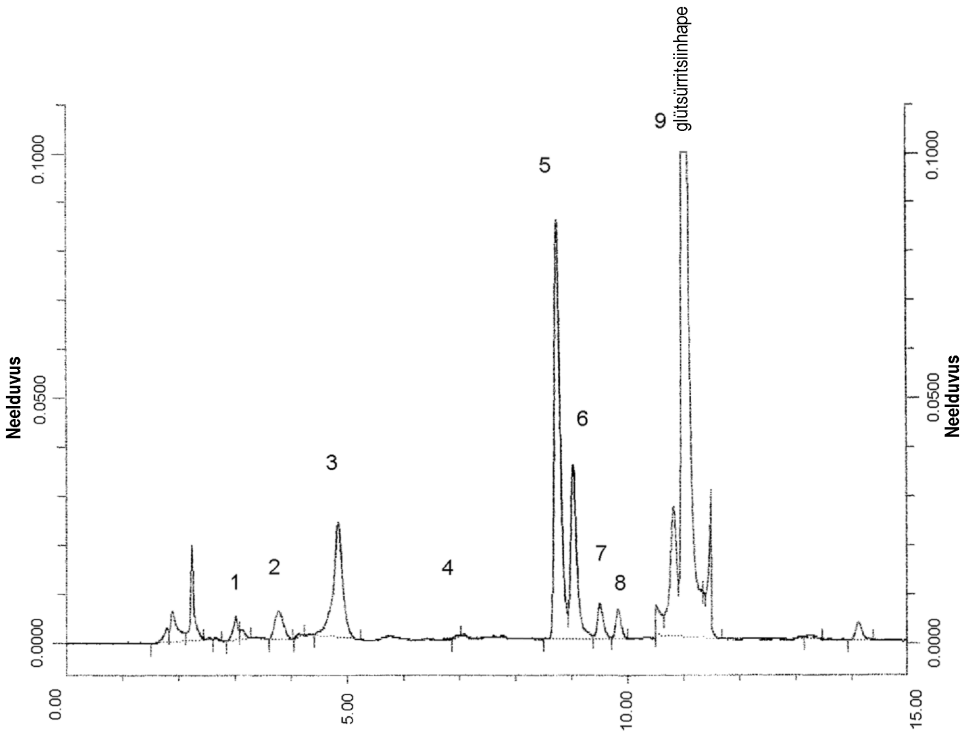
7.3. Määramine

7.3.1. Süstitakse 20 μl ettevalmistatud lagritsaekstrakti (7.2). Analüüsitakse, kasutades eespool kirjeldatud kromatograafia tingimusi (6.5).

7.3.2. Süstitakse 20 μl proovi (7.1) (aniisimaitselise alkohoolse joogi proov). Analüüsitakse, kasutades eespool kirjeldatud kromatograafia tingimusi (6.5).

7.3.3. Võrreldakse kahte kromatogrammi. Halkoonide väljumispiirkonnas peavad kaks kromatogrammi olema väga sarnased (määramisel 370 nm juures eespool kirjeldatud analüüsitingimustel) (vt joonis 1).

8. ***Pastise*** **tüüpiline kromatogramm**



▼M1

9. **Meetodi suutlikkuse näitajad (täpsus)**

Laboritevahelise katse tulemused:

järgmises tabelis on esitatud tulemuslikkuse näitajad halkoonide esinemise või puudumise määramisel *pastises* ja aniisimaitselistes piiritusjookides.

Vastavalt rahvusvaheliselt kokkulepitud menetlustele läbi viidud meetodi suutlikkuse rahvusvahelise uurimuse põhjal saadi järgmised andmed.

Laboritevahelise katse tegemise aeg	1 998
Laborite arv	14
Proovide arv	11
Analüüt	halkoonid

Proovid	A	B	C	D	E	F
Laborite arv pärast võõrväärtuste elimineerimist	14	14	14	14	14	13
Võõrväärtuste arv (laborid)	–	–	–	–	–	1 (*)
Tunnustatud tulemuste arv	28	14	14	28	28	26
Halkoonide esinemise tulemuste arv	28	14	14	0	28	0
Halkoonide puudumise tulemuste arv	0	0	0	28	0	26
Õigete tulemuste protsendimäär (%)	100	100	100	100	100	100

(*) Kahe kordusproovi tulemused on erinevad, mis on arvatavasti tingitud vigadest proovide võtmisel

Proovid	G	H	I	J	K
Laborite arv pärast võõrväärtuste elimineerimist	14	14	14	14	14
Võõrväärtuste arv (laborid)	–	–	–	–	–
Tunnustatud tulemuste arv	28	14	14	28	28
Halkoonide esinemise tulemuste arv	0	0	0	0	0
Halkoonide puudumise tulemuste arv	28	14	14	28	28
Õigete tulemuste protsendimäär (%)	100	100	100	100	100

Proovide liigid:

A *pastis*, pimedad kordusproovid

B *pastis*, üksikproov

C *pastis*, üksikproov

D "*pastis*" (ei sisalda halkoone), pimedad kordusproovid

E "*pastis*" (ei sisalda halkoone), pimedad kordusproovid

F aniisimaitseline likööor (ei sisalda halkoone), pimedad kordusproovid

G aniisimaitseline likööor (ei sisalda halkoone), pimedad kordusproovid

H *ouzo* (ei sisalda halkoone), üksikproov

I *ouzo* (ei sisalda halkoone), üksikproov

J *anis* (ei sisalda halkoone), pimedad kordusproovid

K "*pastis*" (ei sisalda halkoone), pimedad kordusproovid.

▼M1

IX. MUNAREBU. MUNAREBU KONTSENTRATSIOONI KINDLAKSMÄÄRAMINE PIIRITUSJOOKIDES – FOTOMEETRILINE MEETOD

1. **Reguleerimisala**

Käesolev meetod sobib munarebu kontsentratsiooni kindlaksmääramiseks vahemikus 40–250 g/l munalikköörides ja munasisaldusega likköörides.

2. **Viited normidele**

ISO 3696:1897 Vesi analüütiliseks kasutamiseks – Spetsifikatsioon ja katsemeetodid.

3. **Põhimõte**

Munarebus sisalduvad etanoolis lahustuvad fosforiühendid ekstraheeritakse ja määratakse fotomeetriliselt fosformolübdaatkompleksina.

4. **Reaktiivid ja materjalid**

4.1. Bidestilleeritud vesi

4.2. Kobediatomiit

4.3. 96mahuprotsendiline etanool (CAS 64-17-5)

4.4. 15 % magneesiumatsetaadi (CAS 16674-78-5) lahus

4.5. 10 % väävelhape (CAS 7664-93-9)

4.6. 1 N väävelhape.

4.7. 0,16 g/l kaaliumdivesinikfosfaadi (CAS 778-77-0), KH2PO4 lahus

4.8. Reaktiiv fosfaadi määramiseks:

20 g ammooniummolübdaati (CAS 12054-85-2), (NH4) 6Mo7O24•4H20 lahustakse 400 ml vees temperatuuril 50 °C; teises anumas lahustatakse 1 g ammooniumvandaati (CAS 7803-55-6), NH4VO3 300 ml kuumas vees, lastakse jahtuda ja lisatakse 140 ml kontsentreeritud lämmastikhapet (CAS 7697-37-2).

Jahutatud lahused valatakse kokku 1 000 ml mõõtekolbi ning täiendatakse kuni 1 000 ml märgini.

5. **Seadmed ja aparatuur**

5.1. 100 ml Erlenmeyeri kolb

5.2. Ultrahelivann (või magnetsegur)

5.3. 100 ml mõõtekolb

5.4. 20 °C veevann

5.5. Filter (Whatman nr 4 või samaväärne)

5.6. Portselan- (või plaatina-) tiigel

5.7. Keeva vee vann

5.8. Kuumutusplaat

5.9. Muhvelahi

5.10. 50 ml mõõtekolb

5.11. 20 ml mõõtekolb

5.12. Spektrofotomeeter, mis on reguleeritud 420 nm-le

5.13. 1 cm küvett.

6. **Proovid**

Enne analüüsimist säilitatakse proove toatemperatuuril.

7. **Menetlus**

7.1. Proovide ettevalmistamine

7.1.1. 100 ml Erlenmeyeri kolbi (5.1) kaalutakse 10 g proovi.

▼M1

7.1.2. Järk-järgult lisatakse väikeste kogustena 70 ml etanooli (4.3), loksutatakse pärast iga lisamist ja asetatakse 15 minutiks ultrahelivanni (5.2) (või segatakse segu 10 minutit magnetseguriga (5.2) toatemperatuuril).

7.1.3. Kolbi sisu viiakse 100 ml mõõtekolbi (5.3) ja lisatakse loputamiseks kasutatud etanool (4.3). Täiendatakse etanooliga (4.3) kuni kalibreerimismärgini ja asetatakse kolvid 20 °C veevanni (5.4). Temperatuuril 20 °C täiendatakse kuni kalibreerimismärgini.

7.1.4. Lisatakse väike kogus kobediatomiiti (4.2) ja filtreeritakse (5.5), esimesed 20 ml visatakse ära.

7.1.5. 25 ml filtraati viiakse portselanist (või plaatinast) tiiglisse (5.6). Seejärel tuleb filtraat kontsentreerida kerge aurustamise teel keeva vee vannis (5.7), lisades 5 ml 15 % magneesiumatsetaadi lahust (4.4).

7.1.6. Tiiglid asetatakse kuumutusplaadile (5.8) ja kuumutatakse täpselt kuivaks.

7.1.7. Jääk tuhastatakse muhvelahjus (5.9) temperatuuril 600 °C kuumutamisel hõõgumiseni, kuni tuhk on valge, vähemalt poolteist tundi, kuid selle võib jätta ahju ka ööseks.

7.1.8. Tuhk lahustatakse 10 ml 10 % väävelhappes (4.5), viiakse 50 ml mõõtekolbi (5.10) koos loputamiseks kasutatud destilleeritud veega (4.1) ja täiendatakse toatemperatuuril destilleeritud veega (4.1) kuni märgini. Selle tuhalahuse 5 ml alikvooti kasutatakse proovilahuse valmistamiseks fosfaadi fotomeetriliseks määramiseks.

7.2. Fosfaadi fotomeetriline määramine

7.2.1. Võrdluslahus

7.2.1.1. 10 ml 10 % väävelhapet (4.5) viiakse 50 ml mõõtekolbi (5.10) ja täiendatakse destilleeritud veega kuni märgini (4.1).

7.2.1.2. 5 ml selle lahuse alikvooti (7.2.1.1) viiakse 20 ml mõõtekolbi (5.11), lisatakse 1 ml 1 N väävelhapet (4.6) ja 2 ml fosfaadi reaktiivi (4.8) ning täiendatakse destilleeritud veega (4.1) kuni 20 ml-ni.

7.2.1.3. Kolb korgitakse kergelt, seda loksutatakse ja kuumutatakse keeva vee vannis (5.7) 10 minutit, seejärel jahutatakse 20 °C veevannis (5.4) 20 minutit.

7.2.1.4. 1 cm küvett (5.13) täidetakse selle võrdluslahusega.

7.2.2. Uuritav lahus

7.2.2.1. 5 ml tuhalahuse alikvooti (7.1.8) viiakse 20 ml mõõtekolbi (5.11), lisatakse 1 ml 1 N väävelhapet (4.6) ja 2 ml fosfaadi reaktiivi (4.8) ning täiendatakse destilleeritud veega (4.1) kuni 20 ml-ni.

7.2.2.2. Kolb korgitakse kergelt, seda loksutatakse ja kuumutatakse keeva vee vannis (5.7) 10 minutit, seejärel jahutatakse 20 °C veevannis (5.4) 20 minutit.

7.2.2.3. Tekkinud kollast lahust analüüsitakse kohe spektrofotomeetriliselt (5.12) 1 cm küvetis (5.13) 420 nm juures võrdluslahuse (7.2.1.4) taustal.

7.2.3. Kalibreerimiskõver

7.2.3.1. Kalibreerimiskõvera koostamiseks lisatakse 2 ml fosfaadi reaktiivi (4.8) alikvooti 20 ml mõõtekolbidesse (5.11), millest igaüks sisaldab 1 ml 1 N väävelhapet (4.6) ja vastavalt 0, 2, 4, 6, 8 ja 10 ml kaaliumdivesinikfosfaadi lahust (4.7) ning täiendatakse destilleeritud veega (4.1) kuni 20 ml märgini.

7.2.3.2. Kolvid korgitakse kergelt, neid loksutatakse ja kuumutatakse keeva vee vannis (5.7) 10 minutit, seejärel jahutatakse 20 °C veevannis (5.4) 20 minutit ja analüüsitakse spektrofotomeetriliselt (5.12) 1 cm küvetis (5.13) 420 nm juures võrdluslahuse (7.2.1.4) taustal.

▼M1

7.2.3.3. Kalibreerimiskõvera koostamine:

divesinikfosfaadi lahus (ml)	0	2	4	6	8	10
P_2O_5 (mg)	0	0,167	0,334	0,501	0,668	0,835

8. **Tulemuste esitamine**

Munarebusisaldus g/l arvutatakse järgmise valemi abil:

$$\text{munarebu g/l} = \text{mg } P_2O_5 \times \frac{110 \times \text{tihedus}}{(E/40)}$$

kus

110	100 g munarebus sisalduva P2O5 (grammides) ümberarvestuskoefitsient
P_2O_5 mg	kalibreerimiskõvera alusel määratud väärtus
tihedus	munalikööri mass ruumalaühiku kohta (g/ml) temperatuuril 20 °C
E	munalikööri mass grammides
40	5 ml tuhalahuse alikvoodi lahjendusaste.

9. **Meetodi suutlikkuse näitajad (täpsus)**

Laboritevahelise katse statistilised tulemused:

järgmises tabelis on esitatud väärtused munarebu puhul.

Vastavalt rahvusvaheliselt kokkulepitud menetlustele läbi viidud meetodi suutlikkuse rahvusvahelise uurimuse põhjal saadi järgmised andmed.

Laboritevahelise katse tegemise aeg:	1 998
Laborite arv:	24
Proovide arv:	5
Analüüt:	Munakollane

Proovid	A	B	C	D	E
Laborite arv pärast võõrväärtuste elimineerimist	19	20	22	20	22
Võõrväärtuste arv (laborid)	3	4	2	4	2
Tunnustatud tulemuste arv	38	40	44	40	44
Keskväärtus	147,3	241,1	227,4	51,9 (*) 72,8 (*)	191,1
Korratavuse standardhälve (S_r) (g/l)	2,44	4,24	3,93	1,83	3,25
Korratavuse suhteline standardhälve (RSD_r) (%)	1,7	1,8	1,8	2,9	1,7
Korratavuse piirnorm (r) (g/l)	6,8	11,9	11,0	5,1	9,1
Reprodutseeritavuse standardhälve (S_R) (g/l)	5,01	6,06	6,66	3,42	6,87
Reprodutseeritavuse suhteline standardhälve (RSD_R) (%)	3,4	2,5	2,9	5,5	3,6
Reprodutseeritavuse piirnorm (R) (g/l)	14,0	17,0	18,7	9,6	19,2

Proovide liigid

A munaliköör, pimedad kordusproovid

B munaliköör, pimedad kordusproovid

C munaliköör, pimedad kordusproovid

D munaliköör (lahjendatud), jaotustase (*)

E munaliköör, pimedad kordusproovid