Šis dokumentas yra skirtas tik informacijai, ir institucijos nėra teisiškai atsakingos už jo turinį

►**B**

KOMISIJOS REGLAMENTAS (EB) Nr. 2870/2000

2000 m. gruodžio 19 d.

nustatantis spiritinių gėrimų analizės Bendrijos etaloninius metodus

(OL L 333, 29.12.2000, p. 20)

iš dalies keičiamas:

		Oficialusis leidinys		
		Nr.	puslapis	data
►**M1**	Komisijos reglamentas (EB) Nr. 2091/2002 2002 m. lapkričio 26 d.	L 322	11	27.11.2002

▼B

KOMISIJOS REGLAMENTAS (EB) Nr. 2870/2000

2000 m. gruodžio 19 d.

nustatantis spiritinių gėrimų analizės Bendrijos etaloninius metodus

EUROPOS BENDRIJŲ KOMISIJA,

atsižvelgdama į Europos bendrijos steigimo sutartį,

atsižvelgdama į 1989 m. gegužės 29 d. Tarybos reglamentą (EEB) Nr. 1576/89, nustatantį bendrąsias spiritinių gėrimų apibrėžimo, apibūdinimo ir pateikimo taisykles [1], su pakeitimais, padarytais Austrijos, Suomijos ir Švedijos Stojimo aktu, ypač į jo 4 straipsnio 8 dalį,

kadangi:

(1) Reglamento (EEB) Nr. 1576/89 4 straipsnio 8 dalyje numatyta patvirtinti spiritinių gėrimų analizės metodus. Siekiant užtikrinti, kad būtų laikomasi Reglamento (EEB) Nr. 1576/89 ir 1990 m. balandžio 24 d. Komisijos reglamento (EEB) Nr. 1014/90, nustatančio išsamias spiritinių gėrimų apibrėžimo, apibūdinimo ir pateikimo įgyvendinimo taisykles [2], su paskutiniais pakeitimais, padarytais Reglamentu (EB) Nr. 2140/98 [3], turėtų būti taikomi etaloniniai metodai, kai atliekamas oficialus patikrinimas arba jei kyla ginčas.

(2) Kiek tai įmanoma, reikėtų priimti bendrai pripažintus metodus ir juos apibūdinti kaip Bendrijos analizės etaloninius metodus.

(3) Siekiant atsižvelgti į oficialiųjų laboratorijų mokslinę pažangą ir jų įrangos skirtumus, laboratorijos vadovo atsakomybe reikėtų leisti taikyti metodus, pagrįstus kitais, nei šio dokumento priede išdėstyti etaloniniai metodai, matavimo principais, jei tie metodai garantuoja tokius pačius rezultatus ir visų pirma atitinka 1985 m. gruodžio 20 d. Tarybos direktyvos 85/591/EEB dėl Bendrijos ėminių ėmimo ir analizės metodų įdiegimo tiriant žmonių vartojimui skirtus maisto produktus [4] priede išdėstytus kriterijus, ir jei galima įrodyti, kad gautų rezultatų tikslumas, pakartojamumas ir atkuriamumas atitinka rezultatų, gautų taikant šiame reglamente apibūdintus etaloninius metodus, tikslumo, pakartojamumo ir atkuriamumo ribines vertes. Turėtų būti leidžiama taikyti kitus analizės metodus, jei vykdoma ši sąlyga. Tačiau svarbu pabrėžti, kad kilus ginčui etaloninių metodų negalima keisti kitais metodais.

(4) Šiame reglamente numatytos priemonės atitinka Spiritinių gėrimų naudojimo komiteto nuomonę,

PRIĖMĖ ŠĮ REGLAMENTĄ:

1 straipsnis

Spiritinių gėrimų analizės Bendrijos etaloniniai metodai, kurie taikomi siekiant užtikrinti, kad būtų laikomasi Reglamento (EEB) Nr. 1576/89 ir Reglamento (EEB) Nr. 1014/90:

— vykdant oficialiąją kontrolę arba

— kilus ginčui,

---

[1] OL L 160, 1989 6 12, p. 1.
[2] OL L 105, 1990 4 25, p. 9.
[3] OL L 270, 1998 10 7, p. 9.
[4] OL L 372, 1985 12 31, p. 50.

▼B

yra nustatyti šio dokumento priede.

2 straipsnis

Nepaisant 1 straipsnio 1 įtraukos, laboratorijos vadovo atsakomybe leidžiama taikyti kitus analizės metodus, jei jų tikslumas (pakartojamumas ir atkuriamumas) atitinka priede pateiktų atitinkamų etaloninių analizės metodų tikslumą (pakartojamumą ir atkuriamumą).

3 straipsnis

Jei nėra patvirtintų Bendrijos analizės etaloninių metodų tam tikrame spiritiniame gėrime esančioms medžiagoms rasti ir jų kiekiui nustatyti, taikomi šie metodai:

a) analizės metodai, kurie yra patvirtinti taikant tarptautiniu mastu pripažintas metodikas ir kurie visų pirma atitinka Direktyvos 85/591/EEB priede išdėstytus kriterijus;

b) analizės metodai, kurie atitinka Tarptautinės standartizacijos organizacijos (ISO) rekomenduojamus standartus;

c) analizės metodai, kuriuos patvirtino ir paskelbė Tarptautinės vynuogių ir vyno organizacijos (OIV) Generalinė asamblėja;

d) jei nėra a, b arba c punktuose nurodytų metodų atsižvelgiant į tikslumą, pakartojamumą ir atkuriamumą:

   — suinteresuotos valstybės narės patvirtintas analizės metodas,

   — prireikus kitas tinkamas analizės metodas.

4 straipsnis

Šiame reglamente:

a) „pakartojamumo ribinė vertė“: tai vertė, už kurią su 95 % tikimybe dviejų atskirų bandymų rezultatų, gautų tai pačiai tiriamajai medžiagai pakartojamumo sąlygomis (tas pats vykdytojas, ta pati aparatūra, ta pati laboratorija bei trumpas laiko intervalas), absoliutusis skirtumas yra mažesnis {ISO 3534-4};

b) „atkuriamumo ribinė vertė“: tai vertė, už kurią su 95 % tikimybe dviejų atskirų bandymų rezultatų, gautų tai pačiai tiriamajai medžiagai atkuriamumo sąlygomis (skirtingi vykdytojai, skirtinga aparatūra ir skirtingos laboratorijos), absoliutusis skirtumas yra mažesnis {ISO 3534-1};

c) „tikslumas“: bandymo rezultato ir patvirtintos etaloninės vertės artumas {ISO 3534–1}.

5 straipsnis

Šis reglamentas įsigalioja septintą dieną po jo paskelbimo *Europos Bendrijų oficialiajame leidinyje*.

Jis taikomas nuo 2001 m. sausio 1 d.

Šis reglamentas yra privalomas visas ir tiesiogiai taikomas visose valstybėse narėse.

▼B

PRIEDAS

ETALONINIŲ ANALIZĖS METODŲ APRAŠYMAS

I. Alkoholio tūrinės koncentracijos nustatymas

I. priedėlis.: Distiliato ruošimas

II. priedėlis.: Distiliato tankio matavimas

— A metodas. = Tankio nustatymas piknometru

— B metodas. = Elektroninė densimetrija

— C metodas. = Densimetrija, naudojant hidrostatines svarstykles

II. Suminio sausojo ekstrakto kiekio nustatymas gravimetrinės analizės metodu

III. Lakiųjų cheminių medžiagų ir metanolio nustatymas

III.1. Bendrosios pastabos

III.2. Šalutiniai lakieji junginiai: aldehidai, aukštesnieji alkoholiai, etilacetatas ir metanolis (dujų chromatografija)

III.3. Lakiosios rūgštys (p.m.)

IV. Vandenilio cianido rūgštis (p.m.)

V. Anetolas ►M1 ——————— ◄

VI. Glicirizo rūgštis ►M1 ——————— ◄

VII. Chalkonai ►M1 ——————— ◄

VIII. Suminis cukrų kiekis (p.m.)

IX. Kiaušinio trynys ►M1 ——————— ◄

▼B

I. SPIRITINIŲ GĖRIMŲ ALKOHOLIO KONCENTRACIJOS TŪRIO PROCENTAIS NUSTATYMAS

Įvadas

Etaloninį metodą sudaro dvi dalys:

I priedėlis.: Distiliato ruošimas

II priedėlis.: Distiliato tankio matavimas

1. **Taikymo sritis**

Metodas yra taikomas faktinei spiritinių gėrimų alkoholio koncentracijai tūrio proc. nustatyti.

2. **Normatyvinės nuorodos**

ISO 3696:1987: Analizės laboratorijų naudojamas vanduo. Specifikacijos ir bandymo metodai.

3. **Terminai ir apibrėžimai**

3.1. Etaloninė temperatūra:

20 °C temperatūra yra etaloninė temperatūra spiritinių gėrimų alkoholio koncentracijai tūrio proc., tankiui ir savitajam tankiui nustatyti.

1 pastaba. Terminas „esant t °C temperatūrai“ skirtas visiems matavimams (tankio arba alkoholio koncentracijos tūrio proc.), daromiems esant ne etaloninei 20 °C temperatūrai.

3.2. Tankis:

Spiritinio gėrimo tankis – spiritinio gėrimo tūrio vieneto masė vakuume esant 20 °C. Skaičiuojamas kilogramais kubiniam metrui ir užrašomas $\rho_{20\ °C}$ arba ρ_{20}.

3.3. Savitasis tankis:

Savitasis tankis – spiritinio gėrimo ir vandens tankių, nustatytų esant 20 °C temperatūrai, santykis. Savitasis tankis žymimas $d_{20\ °C/20\ °C}$ arba $d_{20/20}$, arba tiesiog d, jei nėra galimybės supainioti. Analizės sertifikate matuojamas parametras turi būti užrašomas vartojant tik pirmiau minėtus simbolius.

2 pastaba. Žinant tankį ρ_{20} esant 20 °C temperatūrai, galima gauti savitąjį tankį ρ20 20 °C temperatūrai:

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

čia 998,203 = vandens tankis esant 20 °C temperatūrai.

3.4. Faktinė alkoholio koncentracija tūrio proc.:

Faktinė spiritinių gėrimų alkoholio koncentracija tūrio proc. yra lygi etilo alkoholio litrų skaičiui 100 l vandens ir alkoholio mišinio, turinčio tokį patį tankį kaip ir alkoholis arba spiritinis gėrimas po distiliavimo. Įvairių vandens ir alkoholio mišinių etaloninės alkoholio koncentracijos tūrio proc. ir tankio esant 20 °C temperatūrai vertės yra pateiktos tarptautinėje lentelėje, kurią Tarptautinė teisinės metrologijos organizacija priėmė kaip Rekomendaciją Nr. 22.

Bendroji lygtis, kuri susieja alkoholio koncentraciją tūrio proc. su vandens ir alkoholio mišinio tankiu esant tam tikrai temperatūrai, yra pateikta Komisijos reglamento (EEB) Nr. 2676/90 (OL L 272, 1990 10 3, 1 p.) priedo 3 skyriaus „Alkoholio koncentracija tūrio procentais“ 40 puslapyje arba OIV analizės metodų vadove (1994 m.) (p. 17).

3 pastaba. Likerių ir kremo likerio, kurių alkoholio koncentraciją tūrio proc. tiksliai išmatuoti sunku, ėminiai turi būti sveriami, o alkoholio koncentracija iš pradžių skaičiuojama masės %.

▼B

Perskaičiavimo formulė:

$$\text{Alkoholio koncentracija turio procentais (turio proc.)} = \frac{\text{ASM (masės \%)} \times P_{20}\text{ (ėminio)}}{P_{20}\text{ (alkoholio)}}$$

čia

ASM= alkoholio koncentracija masės procentais,

ρ_{20} *(alkoholio)*= 789,24 kg/m^3.

4. **Principas**

Po distiliavimo alkoholio koncentracija tūrio proc. distiliate nustatoma piknometru, elektroninės densimetrijos metodu arba densimetrijos metodu naudojant hidrostatines svarstykles.

▼B

I PRIEDĖLIS. DISTILIATO RUOŠIMAS

1. **Taikymo sritis**

Metodas tinka ruošti distiliatus, skirtus faktinei spiritinių gėrimų alkoholio koncentracijai tūrio proc. nustatyti.

2. **Principas**

Spiritiniai gėrimai distiliuojami etilo alkoholiui bei kitiems lakiesiems junginiams ir ekstrahuojamoms medžiagoms (medžiagos, kurios nedistiliuojamos) atskirti.

3. **Reagentai ir medžiagos**

3.1. Granulės tolygiam virimui užtikrinti.

3.2. Koncentruota priešpučio emulsija (kremo likeriams).

4. **Įranga ir priemonės**

Įprasta laboratorinė įranga, konkrečiai ši aparatūra.

4.1. 4.1. Vandens vonia, galinti užtikrinti 10–15 °C temperatūrą.

Vandens vonia, galinti užtikrinti 20 °C (± 0,2) °C temperatūrą.

4.2. 4.2. A klasės matavimo kolbos, 100 ml ir 200 ml talpos, sertifikuotos 0,1 % ir 0,15 %.

4.3. 4.3. Distiliavimo aparatūra:

4.3.1. 4.3.1. Pagrindiniai reikalavimai

Distiliavimo aparatūra turi atitikti šiuos reikalavimus:

— sistemos sandarumui užtikrinti jungčių skaičius turi būti kiek įmanoma mažesnis,

— turi būti įtaisas, kuris neleistų verdančiam skysčiui išlėkti (pernešti verdantį skystį garais), ir reguliuotų alkoholiu prisotintų garų distiliavimo greitį,

— greita ir visiška alkoholio garų kondensacija,

— pirmąsias distiliavimo frakcijas rinkti į vandeninę terpę.

Turi būti naudojama kaitinimo priemonė su tinkamu šilumos sklaidytuvu, kuri neleistų vykti terminiam ekstrahuojamų medžiagų skilimui.

4.3.2. 4.3.2. Tinkamos distiliavimo aparatūros pavyzdys pateiktas 1 paveiksle, ją sudaro šios dalys:

— 1 litro talpos apvaliadugnė kolba su standartine šlifo jungtimi,

— rektifikavimo kolona, ne mažesnė kaip 20 cm aukščio (pvz., Vigreux kolona),

— lenktoji jungtis ir 10 cm ilgio kondensatorius su stačius kraštus turinčiu apvalkalu (West tipo kondensatorius),

— gyvatukinis kondensatorius, 40 cm ilgio,

— ištemptas vamzdis distiliatui rinkti į matavimo kolbą su nedideliu kiekiu vandens.

Pastaba. Pirmiau aprašytas aparatas skirtas ne mažesnio kaip 200 ml tūrio ėminiui. Tačiau mažesnio tūrio (100 ml) ėminį galima distiliuoti mažesnėje kolboje, jei naudojamas apsauginis antgalis arba kitas nuo skysčio išnešimo apsaugantis įtaisas.

5. **Tiriamų ėminių laikymas**

Prieš analizę ėminiai laikomi kambario temperatūros sąlygomis.

6. **Darbo eiga**

Įžanginė pastaba:

Distiliuoti galima taikant metodiką, paskelbtą IUPAC (1968 m.).

6.1. Distiliavimo aparatūros tikrinimas

▼B

Naudojamu aparatu turi būti įmanoma:

distiliuojant 200 ml vandens ir alkoholio tirpalo, kurio koncentracija būtų žinoma ir arti 50 tūrio proc., gauti ne didesnį kaip 0,1 tūrio proc. alkoholio nuostolį.

6.2. Spiritiniai gėrimai, kuriuose alkoholio koncentracija mažesnė negu 50 tūrio proc.

Į matavimo kolbą įpilama 200 ml spiritinio gėrimo.

Išmatuojama šio tirpalo temperatūra arba užtikrinama etaloninė temperatūra (20 °C).

Ėminys supilamas į distiliavimo aparato apvaliadugnę kolbą, o matavimo kolba tris kartus skalaujama maždaug 20 ml distiliuoto vandens. Visos plovimo vandens alikvotinės dalys supilamos į distiliavimo kolbą.

Pastaba. Skiedimui pakanka 60 ml vandens, jei sausojo ekstrakto spiritiniame gėrime yra mažiau kaip 250 g/l. Kitais atvejais pirolizei išvengti plovimo vandens tūris turi būti bent 70 ml, jei sausojo ekstrakto kiekis 300 g/l, 85 ml, jei sausojo ekstrakto kiekis 400 g/l, ir 100 ml, jei sausojo ekstrakto kiekis 500 g/l (kai kurie vaisiniai likeriai arba kremo likeriai). Vandens tūris nustatomas proporcingai skirtingiems ėminio tūriams.

Į distiliavimo kolbą įdedamos tolygiam virimui užtikrinti skirtos granulės (3.1) (kremo likerių atveju papildomai dedamas priešputis).

Distiliatas renkamas į tą pačią 200 ml talpos matavimo kolbą, į kurią įpilama 20 ml distiliuoto vandens. Kolba turi būti dedama į šalto vandens vonią (4.1) (10–15 °C temperatūros spiritiniams gėrimams su anyžiumi).

Distiliuojama, vengiant skysčio išnešimo ir suanglėjimo, kolbos turinys retkarčiais maišomas. Baigiama distiliuoti, kai matavimo kolboje surinkto distiliato meniskas yra keliais milimetrais žemiau matavimo kolbos žymės.

Distiliatui atvėsus iki pradinės temperatūros 0,5 °C tikslumu, jis skiedžiamas distiliuotu vandeniu iki žymės ir gerai sumaišomas.

Šis distiliatas naudojamas alkoholio koncentracijai tūrio proc. nustatyti (II priedėlis).

6.3. Spiritiniai gėrimai, kurių alkoholio koncentracija didesnė kaip 50 tūrio proc.

100 ml talpos matavimo kolba matuojama 100 ml spiritinio gėrimo, kuris supilamas į distiliavimo aparato apvaliadugnę kolbą.

Matavimo kolba keletą kartų skalaujama distiliuotu vandeniu, plovimo vanduo supilamas į distiliavimo kolbą. Naudojama tiek vandens, kad kolbos turinys būtų maždaug 230 ml tūrio.

Į 200 ml talpos matavimo kolbą, kurioje surenkamas distiliatas, įpilama 20 ml distiliuoto vandens. Kolba dedama į šalto vandens vonią (4.1) (10–15 °C temperatūros spiritiniams gėrimams su anyžiumi).

Retkarčiais maišant kolbos turinį, distiliuojama tol, kol į 200 ml matavimo kolbą surenkamo distiliato meniskas bus keliais milimetrais žemiau žymės.

Distiliatui atvėsus iki pradinės temperatūros 0,5 °C tikslumu, jis skiedžiamas distiliuotu vandeniu iki žymės ir gerai sumaišomas.

Šis distiliatas naudojamas alkoholio koncentracijai tūrio proc. nustatyti (II priedėlis).

Pastaba. Alkoholio koncentracija tūrio proc. spiritiniame gėrime yra du kartus didesnė už alkoholio koncentraciją distiliate.

▼B

II PRIEDĖLIS. DISTILIATO TANKIO MATAVIMAS

A METODAS: FAKTINĖS SPIRITINIŲ GĖRIMŲ ALKOHOLIO KONCENTRACIJOS TŪRIO PROCENTAIS NUSTATYMAS. MATAVIMAS PIKNOMETRU

A.1. **Principas**

Alkoholio koncentracija tūrio proc. nustatoma distiliato tankį matuojant piknometru.

A.2. **Reagentai ir tirpalai**

Jei kitaip nenurodyta, analizei naudojami tik patvirtinto analizinio grynumo reagentai ir bent 3 kategorijos vanduo, kaip apibrėžta ISO 3696:1987.

A.2.1. Natrio chlorido tirpalas (2 % m/V)

1 litrui tirpalo paruošti pasveriama 20 g natrio chlorido ir ištirpinama 1 litre vandens.

A.3. **Įranga ir priemonės**

Įprasta laboratorinė aparatūra, ir konkrečiai ši:

A.3.1. Analizinės svarstyklės, kurių padalos vertė 0,1 mg.

A.3.2. Termometras su šlifo mova, sukalibruotas dešimtosiomis laipsnio dalimis intervale nuo 10 iki 30 °C. Termometras turi būti sertifikuotas arba patikrintas pagal sertifikuotą termometrą.

A.3.3. Maždaug 100 ml talpos piknometras iš pirekso stiklo su šlifo įmova termometrui su šlifo mova (A.3.2) įstatyti. Piknometro šone yra 25 mm ilgio ir (ne daugiau) kaip 1 mm vidinio skersmens vamzdelis, užsibaigiantis kūgine šlifo mova. Galima naudoti kitus piknometrus, aprašytus ISO 3507, pvz., 50 ml talpos, jei reikia.

A.3.4. Taros butelis, kurio išorinis tūris (1 ml tikslumu) ir masė atitinka piknometro tūrį ir masę, pripildytas 1,0l tankio skysčiu (natrio chlorido tirpalas A.2.1).

A.3.5. Termiškai izoliuotas apvalkalas, tiksliai atitinkantis piknometro korpusą.

1 pastaba. Spiritinių gėrimų tankiui *vakuume* nustatyti reikia turėti dviejų lėkščių svarstykles, piknometrą ir taros butelį, kurio išorinis tūris būtų toks pat kaip piknometro, kad būtų galima panaikinti plūdrumo ore (oro išstūmimo) kiekvienu konkrečiu momentu reiškinį. Šį paprastą metodą galima taikyti naudojant vienos lėkštės svarstykles, jei plūdrumo ore pokyčiams kontroliuoti taros butelis būtų sveriamas kiekvieną kartą.

A.4. **Darbo eiga**

Pradinės pastabos

Aprašyta alkoholio koncentracijos nustatymo metodika naudojant 100 ml talpos piknometrą; tai užtikrina geriausią tikslumą. Tačiau galima naudoti ir mažesnį piknometrą, pvz., 50 ml.

A.4.1. Piknometro kalibravimas

Piknometras kalibruojamas, nustatant šiuos parametrus:

— tuščio piknometro masė,

— piknometro tūris esant 20 °C temperatūrai,

— vandeniu pripildyto piknometro masė esant 20 °C temperatūrai.

A.4.1.1. Kalibravimas naudojant dviejų lėkščių svarstykles:

Nustatoma:

— švaraus sauso piknometro masė (P),

— vandeniu pripildyto piknometro masė esant t °C temperatūrai (P1),

— taros butelio masė (T0).

A.4.1.1.1. Pasveriamas švarus, sausas piknometras (P).

▼B

A.4.1.1.2. Piknometras atsargiai pripildomas kambario temperatūros distiliuotu vandeniu ir įstatomas termometras.

Piknometras kruopščiai nusausinamas ir dedamas į termiškai izoliuotą apvalkalą. Distiliuotas vanduo piknometre maišomas apverčiant rezervuarą tol, kol nebesikeičia temperatūros rodmuo.

Vandens lygis piknometre sulyginamas su šoninio vamzdelio viršutiniu kraštu. Tiksliai matuojama temperatūra t °C ir, jei reikia, daromos pataisos dėl temperatūros skalės netikslumo.

Pasveriamas piknometras su vandeniu (P1).

A.4.1.1.3. Pasveriamas taros butelis (T0).

A.4.1.1.4. Apskaičiavimas

— Tuščio piknometro masė = P – m,

čia m = oro piknometre masė.

$m = 0{,}0012 \times (P1 - P)$

2 pastaba. 0,0012 – sauso oro tankis esant 20 °C temperatūrai ir 760 mm Hg stulpelio slėgiui.

— Piknometro tūris esant 20 °C temperatūrai:

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

čia F_t = faktorius temperatūrai t °C, paimtas iš Europos Komisijos reglamento (EEB) Nr. 2676/90 priedo I skyriaus „Tankis ir savitasis tankis“ I lentelės (p. 10).

$V_{20\,°C}$ turi būti žinomas 0,001 ml tikslumu.

— Vandens piknometre masė esant 20 °C temperatūrai:

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

čia 0,998203 = vandens tankis esant 20 °C temperatūrai.

3 pastaba. Jei būtina, gali būti naudojama tankio ore reikšmė 0,99715 ir alkoholio koncentracija skaičiuojama naudojant atitinkamą tankio ore reikšmę pateiktą *HM Customs and Excise* lentelėse.

A.4.1.2. Kalibravimo metodas naudojant dviejų lėkščių svarstykles:

A.4.1.2.1. Ant kairiosios svarstyklių lėkštės dedamas taros butelis, ant dešiniosios svarstyklių lėkštės – švarus ir sausas piknometras su kamščiu. Masės sulyginamos, ant lėkštės su piknometru dedant svarsčius: p gramų.

A.4.1.2.2. Į piknometrą atsargiai įpilamas kambario temperatūros distiliuotas vanduo ir įstatomas termometras; piknometras kruopščiai nusausinamas ir įdedamas į termiškai izoliuotą apvalkalą; maišomas apverčiant rezervuarą tol, kol nebesikeičia temperatūros rodmuo.

Vandens lygis tiksliai sulyginamas su šoninio vamzdelio viršutiniu kraštu. Šoninis vamzdelis nuvalomas, įstatomas kamštis; tiksliai matuojama temperatūra t °C ir, jei reikia, daromos pataisos dėl temperatūros skalės netikslumo.

Pasveriamas vandeniu pripildytas piknometras, masė p’ (gramais), reikalinga pusiausvyrai pasiekti.

A.4.1.2.3. Apskaičiavimas

— Tuščio piknometro masė = p + m,

čia m = oro piknometre masė.

▼B

$m = 0{,}0012 \times (p - p')$

— Piknometro tūris esant 20 °C temperatūrai:

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

čia F_t = faktorius temperatūrai t °C, paimtas iš Europos Komisijos reglamento (EEB) Nr. 2676/90 priedo I skyriaus „Tankis ir savitasis tankis“ I lentelės (p. 10).

$V_{20\,°C}$ turi būti žinomas 0,001 ml tikslumu.

— Vandens piknometre masė esant 20 °C temperatūrai:

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

čia 0,998203 = vandens tankis esant 20 °C temperatūrai.

A.4.2. Alkoholio koncentracijos ėminyje nustatymas

A.4.2.1. Naudojant vienos lėkštės svarstykles.

A.4.2.1.1. Pasveriamas taros butelis, masė T1.

A.4.2.1.2. Pasveriamas piknometras su paruoštu distiliatu (žr. I priedą), masė P2 esant t °C temperatūrai.

A.4.2.1.3. Apskaičiavimas

— $dT = T1 - T0$

— Tuščio piknometro masė matuojant

$= P - m + dT$

— Skysčio piknometre masė esant t °C temperatūrai

$= P2 - (P - m + dT)$

— Tankis esant t °C temperatūrai, g/ml

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

— Tankis esant t °C temperatūrai išreiškiamas kg/m^3, $\rho_{t\,°C}$ dauginant iš 1 000, gauta vertė žymima – ρ_t.

— Daroma ρ_t pataisa 20 °C temperatūrai, naudojant vandens ir alkoholio mišinių ρ_T tankių lentelę (OIV analizės metodų vadovo (1994 m.) II priedo II lentelė, p 17–29).

Lentelės eilutėje, atitinkančioje artimiausią už t °C mažesnę temperatūros T reikšmę, išreikštą sveiku skaičiumi, randama mažiausia už ρ_t didesnė tankio vertė. Po ta tankio verte lentelėje nurodytas skirtumas naudojamas apskaičiuoti alkoholio tankiui ρ_t esant tai temperatūrai T, išreikštai sveiku skaičiumi.

Naudojant sveikais skaičiais išreikštos temperatūros eilutę, apskaičiuojamas ρ vertės, kuri randama lentelėje iškart virš ρ_t vertės, ir apskaičiuotos tankio ρ_t vertės skirtumas. Gautas skirtumas dalinamas iš skirtumo, nurodyto lentelėje į dešinę nuo tankio ρ, vertės.

— Dalmuo yra alkoholio koncentracijos dalis po kablelio, o sveikas alkoholio koncentracijos skaičius nurodytas stulpelio, kuriame yra tankio ρ vertė, viršuje (Dt, alkoholio koncentracija).

4 pastaba. Kitas būdas būtų pildyti piknometrą iki žymės jį laikant 20 ± 0,2 °C temperatūros vonioje.

A.4.2.1.4. Rezultatas

Naudojant tankio ρ_{20} vertę, faktinė alkoholio koncentracija apskaičiuojama pagal toliau nurodytas alkoholio koncentracijos lenteles.

Lentelė, kurioje būtų nurodyta alkoholio tūrinė koncentracija (tūrio proc.) esant 20 °C kaip tankio esant 20 °C funkcija, yra tarptautinė lentelė, kurią Tarptautinė teisinės metrologijos organizacija priėmė Rekomendacijoje Nr. 22.

A.4.2.2. Metodas naudojant vienos lėkštės svarstykles

A.4.2.2.1. Pasveriamas piknometras su distiliatu (žr. I dalį), p’ – masė esant t °C.

A.4.2.2.2. Apskaičiavimas

▼B

— Piknometre esančio skysčio masė esant t °C

= p + m – p'

— Tankis esant t °C, g/ml

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

— Tankis esant t °C išreiškiamas kg/m^3 ir, norint apskaičiuoti alkoholio koncentraciją esant 20 °C, daroma pataisa, kaip aprašyta pirmiau naudojant vienos lėkštės svarstykles.

A.5. **Metodo efektyvumo charakteristikos (preciziškumas)**

A.5.1. Tarplaboratorinio tyrimo statistiniai rezultatai

Šie duomenys buvo gauti darant tarptautinį metodo efektyvumo charakteristikų tyrimą, vykdytą pagal tarptautines suderintas metodikas [1] [2].

Tarplaboratorinių bandymų metai	1997
Laboratorijų skaičius	20
Ėminių skaičius	6

Ėminiai	A	B	C	D	E	F
Laboratorijų, atmetus riktus, skaičius	19	20	17	19	19	17
Riktų skaičius (laboratorijų)	1	–	2	1	1	3
Priimtų rezultatų skaičius	38	40	34	38	38	34
Vidutinė vertė($\bar{x}$)tūrio proc.	23,77	40,04	40,29	39,20	42,24	57,03
	26,51 (*)			42,93 (*)	45,73 (*)	63,03 (*)
Pakartojamumo standartinis nuokrypis (Sr) tūrio proc.	0,106	0,176	0,072	0,103	0,171	0,190
Pakartojamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDr) %	0,42	0,44	0,18	0,25	0,39	0,32
Pakartojamumo ribinė vertė (r) tūrio proc.	0,30	0,49	0,20	0,29	0,48	0,53
Atkuriamumo standartinis nuokrypis (SR) tūrio proc.	0,131	0,236	0,154	0,233	0,238	0,322
Atkuriamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDR) %	0,52	0,59	0,38	0,57	0,54	0,53
Atkuriamumo ribinė vertė (R) tūrio proc.	0,37	0,66	0,43	0,65	0,67	0,90

Ėminių tipas
A Vaisių likeris; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).
B Brendis; aklieji dvigubi ėminiai.
C Viskis; aklieji dvigubi ėminiai.
D Grapa; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).
E Akvavitas; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).
F Romas; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).

B METODAS. FAKTINĖS SPIRITINIŲ GĖRIMŲ ALKOHOLIO KONCENTRACIJOS TŪRIO PROCENTAIS NUSTATYMAS – MATAVIMAS ELEKTRONINIU DENSIMETRU (ĖMINIO CELĖS REZONANSINIO VIRPESIŲ DAŽNIO MATAVIMO PRINCIPAS)

B.1. **Principas**

Skysčio tankis nustatomas elektroniniu būdu matuojant U vamzdelio virpesių dažnį. Tankiui išmatuoti ėminys pilamas į osciliatoriaus sistemą, kurios savitasis virpesių dažnis kinta atsižvelgiant į pridėtą masę.

B.2. **Reagentai ir tirpalai**

Jei kitaip nenurodyta, analizei naudojami tik patvirtinto analizinio grynumo reagentai ir bent 3 kategorijos vanduo, kaip apibrėžta ISO 3696:1987.

▼B

B.2.1. Acetonas (CAS 666-52-4) arba absoliutusis alkoholis.

B.2.2. Sausasis oras.

B.3. **Aparatūra ir įranga**

Įprasta laboratorinė aparatūra, ir konkrečiai ši:

B.3.1. Skaitmeninis densimetras

Tokiems matavimams skirtu elektroniniu densimetru turi būti įmanoma išreikšti tankio vertę bent 5 skaičių po kablelio tikslumu.

1 pastaba. Densimetras turi būti įrengtas visiškai stabilioje, nuo bet kokios vibracijos izoliuotoje vietoje.

B.3.2. Temperatūros reguliavimas

Matavimo densimetru duomenys galioja, jei matavimo celė yra sujungta su įmontuotu temperatūros reguliatoriumi, kuriuo būtų įmanoma pasiekti temperatūros ± 0,02 °C ir didesnį stabilumą.

2 pastaba. Labai svarbu tiksliai nustatyti ir kontroliuoti celės temperatūrą, nes dėl 0,1 °C paklaidos gali susidaryti 0,1 kg/m^3 tankio paklaida.

B.3.3. Ėminys įšvirkščiamas švirkštu arba automatiniu ėmikliu.

B.4. **Procedūra**

B.4.1. Densimetro kalibravimas

Prieš pirmąjį matavimą prietaisas turi būti kalibruojamas pagal jo gamintojo instrukciją. Prietaisas turi būti reguliariai kalibruojamas ir daroma jo patikra pagal sertifikuotą palyginamąjį etaloną arba pagal vidinį laboratorijos palyginamąjį tirpalą, patikrintą pagal sertifikuotą palyginamąjį etaloną.

B.4.2. Ėminio tankio nustatymas

B.4.2.1. Jei reikia, prieš matuojant celė plaunama ir išdžiovinama acetonu arba absoliučiuoju alkoholiu ir sausu oru. Celė skalaujama ėminiu.

B.4.2.2. Ėminys įšvirkščiamas į celę (naudojant švirkštą arba automatinį ėmiklį) visiškai ją užpildant. Užpildant reikia žiūrėti, kad būtų pašalinami visi oro burbuliukai. Ėminys turi būti vienalytis ir jame neturi būti jokių kietų dalelių. Prieš analizę visos suspenduotos dalelės turi būti filtruojamos.

B.4.2.3. Rodmeniui nusistovėjus, užrašoma densimetro ekrane rodomo tankio ρ_{20} arba alkoholio koncentracijos vertė.

B.4.3. Rezultatas

Jei naudojama tankio ρ_{20} vertė, faktinė alkoholio koncentracija apskaičiuojama pagal toliau nurodytas alkoholio koncentracijos lenteles.

Lentelė, kurioje būtų nurodyta alkoholio tūrinė koncentracija (tūrio proc.) esant 20 °C kaip tankio esant 20 °C funkcija, yra tarptautinė lentelė, kurią Tarptautinė teisinės metrologijos organizacija priėmė Rekomendacijoje Nr. 22.

B.5. **Metodo efektyvumo charakteristikos (preciziškumas)**

B.5.1. Tarplaboratorinio tyrimo statistiniai rezultatai

Šie duomenys buvo gauti darant tarptautinį metodo efektyvumo charakteristikų tyrimą, vykdytą pagal tarptautines suderintas metodikas [1] [2].

Tarplaboratorinių bandymų metai	1997
Laboratorijų skaičius	16
Ėminių skaičius	6

▼B

Ėminiai	A	B	C	D	E	F
Laboratorijų, atmetus riktus, skaičius	11	13	15	16	14	13
Riktų skaičius (laboratorijų)	2	3	1	–	1	2
Priimtų rezultatų skaičius	22	26	30	32	28	26
Vidutinė vertė($\bar{x}$)tūrio proc.	23,81	40,12	40,35	39,27	42,39	56,99
	26,52 (*)			43,10 (*)	45,91 (*)	63,31 (*)
Pakartojamumo standartinis nuokrypis (Sr) tūrio proc.	0,044	0,046	0,027	0,079	0,172	0,144
Pakartojamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDr) %	0,17	0,12	0,07	0,19	0,39	0,24
Pakartojamumo ribinė vertė (r) tūrio proc.	0,12	0,13	0,08	0,22	0,48	0,40
Atkuriamumo standartinis nuokrypis (SR) tūrio proc.	0,054	0,069	0,083	0,141	0,197	0,205
Atkuriamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDR) %	0,21	0,17	0,21	0,34	0,45	0,34
Atkuriamumo ribinė vertė (R) tūrio proc.	0,15	0,19	0,23	0,40	0,55	0,58

Ėminių tipas
A Vaisių likeris; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).
B Brendis; aklieji dvigubi ėminiai.
C Viskis; aklieji dvigubi ėminiai.
D Grapa; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).
E Akvavitas; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).
F Romas; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).

C METODAS. FAKTINĖS SPIRITINIŲ GĖRIMŲ ALKOHOLIO KONCENTRACIJOS TŪRIO PROCENTAIS NUSTATYMAS – MATAVIMAS DENSIMETRIJOS METODU NAUDOJANT HIDROSTATINES SVARSTYKLES

C.1. **Principas**

Spiritinių gėrimų alkoholio koncentracija gali būti matuojama densimetrijos metodu naudojant hidrostatines svarstykles, pagrįstu Archimedo dėsniu, pagal kurį kūną skystyje vertikaliai kelianti jėga yra lygi išstumto skysčio sunkio jėgai.

C.2. **Reagentai ir tirpalai**

Jei kitaip nenurodyta, analizei naudojami tik patvirtinto analizinio grynumo reagentai ir bent 3 kategorijos vanduo, kaip apibrėžta ISO 3696:1987.

C.2.1. Tirpalas plūdei plauti (natrio hidroksidas, 30 % m/V)

100 ml tirpalo pagaminti sveriama 30 g natrio hidroksido ir iki žymės praskiedžiama 96 % etanoliu.

C.3. **Įranga ir priemonės**

Įprasta laboratorinė aparatūra, ir konkrečiai ši:

C.3.1. Vienos lėkštės svarstyklės, sveriančios 1 mg tikslumu.

C.3.2. Specialiai prie svarstyklių pritvirtinta bent 20 ml tūrio plūdė, pakabinta ant siūlo, kurio skersmuo ne didesnis kaip 0,1 mm.

C.3.3. Matavimo cilindras su lygio žyme. Turi būti įmanoma plūdę visiškai panardinti į matuojamą skystį cilindre žemiau atžymos; matuojamo skysčio paviršių gali kirsti tik pakabinamasis siūlas. Vidinis cilindro skersmuo turi būti 6 mm didesnis už plūdės skersmenį.

C.3.4. Termometras (arba temperatūros matavimo zondas) su laipsnių ir dešimtųjų laipsnio padalomis nuo 10 iki 40 °C, kalibravimo tikslumas 0,05 °C.

C.3.5. Svarsčiai, kalibruoti patvirtintoje sertifikavimo institucijoje.

▼B

1 pastaba. Nustatymui galima naudoti dviejų lėkščių svarstykles; darbo principai aprašyti Komisijos reglamento (EEB) Nr. 2676/90 priedo 1 skyriuje „Tankis ir savitasis tankis“ (p. 7).

C.4. **Darbo eiga**

Plūdė ir matavimo cilindras po kiekvieno matavimo plaunami distiliuotu vandeniu, valomi švelniu, nepaliekančiu plaušelių filtruojamuoju popieriumi ir skalaujami tiriamuoju tirpalu. Siekiant išvengti alkoholio garavimo, matavimai turi būti daromi iš karto, kai tik nusistovi prietaiso parodymai.

C.4.1. Svarstyklių kalibravimas

Nors svarstyklės paprastai turi vidinę kalibravimo sistemą, hidrostatines svarstykles turi būti įmanoma kalibruoti metrologijos laboratorijoje patikrintais svarsčiais.

C.4.2. Plūdės kalibravimas

C.4.2.1. Į matavimo cilindrą. iki žymės pilamas dukart distiliuotas 15–25 °C, geriausia 20 °C temperatūros, vanduo (arba lygiaverčio grynumo vanduo, pvz., mikrofiltru filtruotas vanduo, turintis 18,2 MΩ/cm elektrinį laidumą).

C.4.2.2. Plūdė ir termometras panardinami į skystį, pamaišoma, užrašomas aparatu rodomas skysčio tankio rodmuo ir, jei reikia, daroma jo pataisa, kad jis atitiktų matuojamo vandens temperatūrą.

C.4.3. Kontrolė, naudojant vandens ir alkoholio mišinį

C.4.3.1. Į matavimo cilindrą iki žymės įpilama žinomos koncentracijos 15–25 °C, geriausiai 20 °C temperatūros, vandens ir alkoholio mišinio.

C.4.3.2. Plūdė ir termometras panardinami į tiriamą tirpalą, pamaišoma, užrašomas prietaiso skysčio tankio (arba alkoholio koncentracijos, jei įmanoma) rodmuo. Taip nustatyta alkoholio koncentracija turėtų būti lygi pirmiau nustatytai alkoholio koncentracijai.

2 pastaba. Plūdei kalibruoti vietoj dukart distiliuoto vandens galima naudoti žinomos alkoholio koncentracijos tirpalą.

C.4.4. Distiliato tankio (arba alkoholio koncentracijos, jei tai įmanoma daryti aparatu) matavimas.

C.4.4.1. Į matavimo cilindrą iki žymės įpilama ėminio.

C.4.4.2. Plūdė ir termometras panardinami į distiliatą, pamaišoma, užrašomas prietaiso skysčio tankio arba alkoholio koncentracijos rodmuo. Užrašoma temperatūra, jei tankis matuojamas esant t °C temperatūrai (ρ_t).

C.4.4.3. Daroma ρt pataisa 20 °C temperatūrai, naudojant vandens ir alkoholio mišinių ρ_T tankių lentelę (OIV analizės metodų vadovo (1994 m.) II priedo II lentelė, p. 17–29).

C.4.5. Plūdės ir matavimo cilindro plovimas

C.4.5.1. Plūdė panardinama į matavimo cilindrą su plovimo tirpalu.

C.4.5.2. Mirkoma vieną valandą, periodiškai sukant plūdę.

C.4.5.3. Plaunama dideliu kiekiu vandentiekio vandens, vėliau distiliuotu vandeniu.

C.4.5.4. Nuvaloma švelniu, plaušelių nepaliekančiu filtravimo popieriumi.

Ši procedūra daroma plūdę naudojant pirmą kartą, vėliau reguliariai, jei reikia.

C.4.6. Rezultatas

Naudojant tankio ρ_{20} vertę, faktinė alkoholio koncentracija apskaičiuojama pagal toliau nurodytas alkoholio koncentracijos lenteles.

Lentelė, kurioje būtų nurodyta alkoholio tūrinė koncentracija (tūrio proc.) esant 20 °C kaip tankio esant 20 °C funkcija, yra tarptautinė lentelė, kurią Tarptautinė teisinės metrologijos organizacija priėmė Rekomendacijoje Nr. 22.

▼B

C.5. **Metodo efektyvumo charakteristikos (preciziškumas)**

C.5.1. Tarplaboratorinio tyrimo statistiniai rezultatai

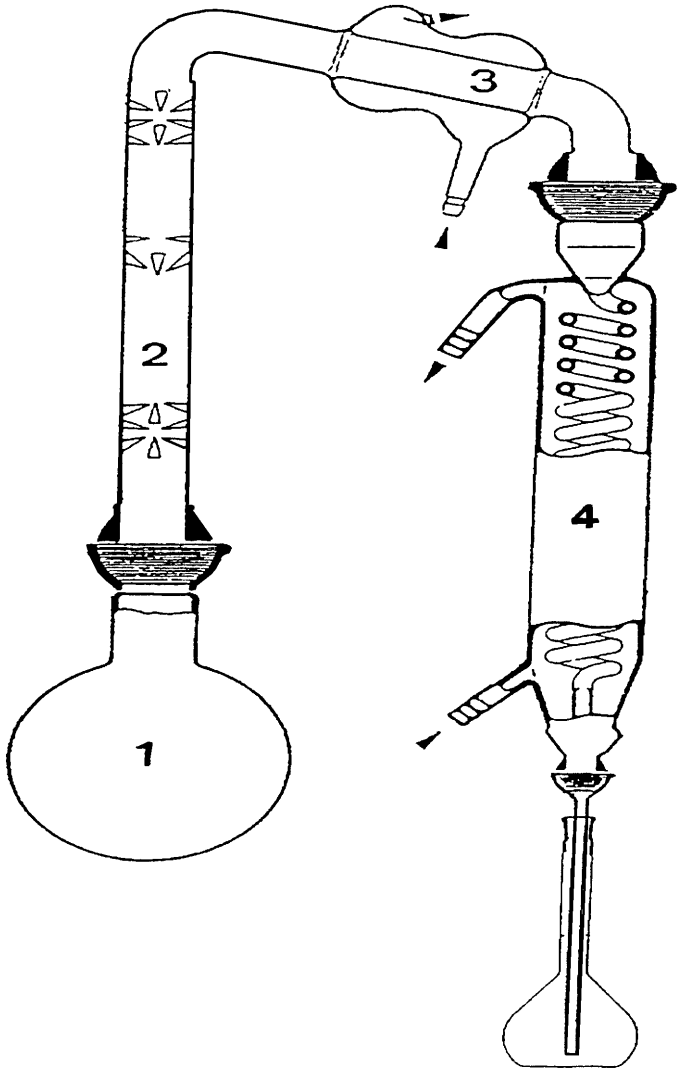
Šie duomenys buvo gauti darant tarptautinį metodo efektyvumo charakteristikų tyrimą, vykdytą pagal tarptautines suderintas metodikas [1] [2].

Tarplaboratorinių bandymų metai	1997
Laboratorijų skaičius	12
Ėminių skaičius	6

Ėminiai	A	B	C	D	E	F
Laboratorijų, atmetus riktus, skaičius	12	10	11	12	11	9
Riktų skaičius (laboratorijų)	–	2	1	–	1	2
Priimtų rezultatų skaičius	24	20	22	24	22	18
Vidutinė vertė($\bar{x}$)tūrio proc.	23,80	40,09	40,29	39,26	42,38	57,16
	26,51 (*)			43,09 (*)	45,89 (*)	63,44 (*)
Pakartojamumo standartinis nuokrypis (Sr) tūrio proc.	0,048	0,065	0,042	0,099	0,094	0,106
Pakartojamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDr) %	0,19	0,16	0,10	0,24	0,21	0,18
Pakartojamumo ribinė vertė (r) tūrio proc.	0,13	0,18	0,12	0,28	0,26	0,30
Atkuriamumo standartinis nuokrypis (SR) tūrio proc.	0,060	0,076	0,073	0,118	0,103	0,125
Atkuriamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDR) %	0,24	0,19	0,18	0,29	0,23	0,21
Atkuriamumo ribinė vertė (R) tūrio proc.	0,17	0,21	0,20	0,33	0,29	0,35

Ėminių tipas
A Vaisių likeris; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).
B Brendis; aklieji dvigubi ėminiai.
C Viskis; aklieji dvigubi ėminiai.
D Grapa; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).
E Akvavitas; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).
F Romas; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).

▼B



1 paveikslas. Distiliavimo įranga faktinei spiritinių gėrimų alkoholio koncentracijai tūrio proc. nustatyti

1. 1 litro talpos apvaliadugnė kolba su rutulio formos šlifo jungtimi.

2. 20 cm aukščio Vigreux tipo rektifikavimo kolona.

3. 10 cm ilgio kondensatorius su stačius kraštus turinčiu apvalkalu (*West* tipo kondensatorius).

4. 40 cm aukščio gyvatukinis kondensatorius.

▼B

II. GRAVIMETRINIS SPIRITINIŲ GĖRIMŲ BENDROJO EKSTRAKTO NUSTATYMAS

1. **Taikymo sritis**

Reglamente (EEB) Nr. 1576/89 numatyta, kad šis metodas taikomas tik *aquavit* tipo alkoholiniams gėrimams, kuriuose sauso ekstrakto kiekis ribojamas 15 g/l.

2. **Normatyvinės nuorodos**

ISO 3696:1987: Analizės laboratorijų naudojamas vanduo. Specifikacijos ir bandymo metodai.

3. **Apibrėžimas**

Suminis sausojo ekstrakto arba suminis sausosios medžiagos kiekis – visų nelakiųjų medžiagų, esant tam tikroms fizikinėms sąlygoms, kiekių suma.

4. **Principas**

Sveriamas likutis, susidaręs spiritinį gėrimą išgarinus ant vandens vonios ir išdžiovinus džiovinimo spintoje.

5. **Aparatūra ir įranga**

5.1. Plokščiadugnė cilindrinė 55 mm skersmens garinimo lėkštelė.

5.2. Verdančio vandens vonia.

5.3. A klasės 25 ml pipetė.

5.4. Džiovinimo spinta.

5.5. Eksikatorius.

5.6. Analizinės svarstyklės, kurių tikslumas 0,1 mg.

6. **Ėminių ėmimas ir ėminiai**

Prieš analizę ėminiai laikomi kambario temperatūros sąlygomis.

7. **Darbo eiga**

7.1. Į iš anksto pasvertą plokščiadugnę cilindrinę garinimo lėkštelę pipete įpilama 25 ml spiritinio gėrimo, turinčio mažiau kaip 15 g/l sausų medžiagų. Pirmą garinimo valandą lėkštelė laikoma ant verdančio vandens vonios dangčio, kad skystis neužvirtų, nes taip galėtų būti nuostolių dėl taškymosi. Dar vieną valandą lėkštelė paliekama tiesiog verdančio vandens vonioje.

7.2. Džiovinimas baigiamas garinimo lėkštelę dviem valandom įdėjus į 105 ± 3 °C temperatūros džiovinimo spintą. Garinimo lėkštelė atvėsinama eksikatoriuje ir sveriama kartu su turiniu.

8. **Apskaičiavimas**

Likučio masė, padauginta iš 40, yra lygi spiritiniame gėrime esančio sausojo ekstrakto kiekiui, kuris turi būti išreikštas g/l vienos dešimtosios tikslumu.

▼B

9. **Metodo efektyvumo charakteristikos (preciziškumas)**

9.1. Tarplaboratorinio tyrimo statistiniai rezultatai

Šie duomenys buvo gauti darant tarptautinį metodo efektyvumo charakteristikų tyrimą, vykdytą pagal tarptautines suderintas metodikas [1] [2].

Tarplaboratorinių bandymų metai	1997
Laboratorijų skaičius	10
Ėminių skaičius	6

Ėminiai	A	B	C	D
Laboratorijų, atmetus riktus, skaičius	9	9	8	9
Riktų skaičius (laboratorijų)	1	1	2	–
Priimtų rezultatų skaičius	18	18	16	18
Vidutinė vertė($\bar{x}$)g/l	9,0	9,1	10,0	11,8
		7,8	9,4	11,1
Pakartojamumo standartinis nuokrypis (Sr) g/l	0,075	0,441	0,028	0,123
Pakartojamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDr) %	0,8	5,2	0,3	1,1
Pakartojamumo ribinė vertė (r) g/l	0,2	1,2	0,1	0,3
Atkuriamumo standartinis nuokrypis (SR) g/l	0,148	0,451	0,058	0,210
Atkuriamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDR) %	1,6	5,3	0,6	1,8
Atkuriamumo ribinė vertė (R) g/l	0,4	1,3	0,2	0,6

Ėminių tipas
A Brendis; aklieji dvigubi ėminiai.
B Romas; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai.
C Grapa; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai.
D Akvavitas; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai.

▼B

III. SPIRITINIŲ GĖRIMŲ LAKIŲJŲ MEDŽIAGŲ IR METANOLIO NUSTATYMAS

III.1. BENDROSIOS PASTABOS

1. **Apibrėžimai**

Reglamente (EEB) Nr. 1576/89 nustatyta mažiausia lakiųjų junginių, išskyrus etanolį ir metanolį, koncentracija spiritiniuose gėrimuose (rome, vynuoginių spiritiniuose gėrimuose, vaisiniuose spiritiniuose gėrimuose ir t. t.). Tik šiems gėrimams yra priimta nuostata, kad lakiųjų junginių koncentracija atitinka šių medžiagų koncentracijos verčių sumą:

1) lakiųjų rūgščių, perskaičiuotų į acto rūgštį;

2) aldehidų, perskaičiuotų į etanalį kaip etanalio (acetaldehido) ir 1,1-dietoksietane (acetalyje) esančios etanalio dalies suma;

3) aukštesniųjų alkoholių: propan-1-olio, butan-1-olio, butan-2-olio, 2-metilpropan-1-olio, paimtų atskirai, 2-metilbutan-1-olio ir 3-metilbutan-1-olio, paimtų atskirai arba kaip abiejų suminis kiekis;

4) etilacetato.

Taikomi šie įprastiniai lakiųjų junginių nustatymo metodai:

— lakiųjų rūgščių nustatymas taikant lakiojo rūgštingumo nustatymo metodą,

— aldehidų (etanalio ir acetalio), etilacetato ir alkoholių nustatymas taikant dujų chromatografijos metodą (GPC).

2. **Lakiųjų junginių analizė dujų chromatografiniu metodu**

Kitų nei pirmiau minėti lakiųjų junginių analizė dujų chromatografiniu metodu gali būti ypač įdomi kaip priemonė nustatyti distiliuojamos žaliavos šaltinį ir faktines distiliavimo sąlygas.

Kai kuriuose spiritiniuose gėrimuose yra aromatinių lakiųjų junginių, būdingų žaliavai, naudojamai alkoholiui gauti, spiritinių gėrimų aromatui ir spiritinio gėrimo gamybos būdui. Šie junginiai yra svarbūs įvertinant reikalavimus, nustatytus Reglamente (EEB Nr. 1576/89.)

III.2. ŠALUTINIŲ LAKIŲJŲ JUNGINIŲ: ALDEHIDŲ, AUKŠTESNIŲJŲ ALKOHOLIŲ, ETILACETATO IR METANOLIO NUSTATYMAS DUJŲ CHROMATOGRAFIJOS METODU

1. **Taikymo sritis**

Šis metodas taikomas 1,1-dietoksimetanui (acetaliui), 2-metilbutan-1-oliui (laisvajam amilo alkoholiui), 3-metilbutan-1-oliui (izoamilo alkoholiui), metanoliui (metilo alkoholiui), etiletanoatui (etilacetatui), butan-1-oliui (n-butanoliui), butan-2-oliui (antriniam butanoliui), 2-metilpropan-1-oliui (izobutilo alkoholiui), propan-1-oliui (n-propanoliui) ir etanaliui (acetaldehidui) spiritiniuose gėrimuose nustatyti dujų chromatografijos metodu. Metode naudojamas vidinis etalonas, pvz., pentan-3-olis. Analičių koncentracija išreiškiama g/100 litrų absoliučiojo alkoholio; produkto alkoholio koncentracija turi būti nustatyta prieš analizę. Šiuo metodu analizuojami šie spiritiniai gėrimai: viskis, brendis, romas, vyno spiritas, vaisių spiritas, vynuogių išspaudų spiritas.

2. **Normatyvinės nuorodos**

ISO 3696:1987: Analizės laboratorijų naudojamas vanduo. Specifikacijos ir bandymo metodai.

3. **Apibrėžimas**

Šalutinėmis medžiagos – lakiosios medžiagos, kurios susidaro kartu su etanoliu vykstant spiritinių gėrimų rūgimui, distiliavimui ir brendimui.

4. **Principas**

Šalutinės spiritinių gėrimų lakiosios medžiagos nustatomos tiesiogiai įšvirkščiant spiritinį gėrimą arba atitinkamai praskiestą spiritinį tirpalą į dujų chromatografijos sistemą (GC). Prieš įšvirkštimą, į spiritinį gėrimą pridedamas atitinkamas vidinis etalonas. Šalutinės lakiosios medžiagos yra atskiriamos programuojant tinkamos kolonėlės temperatūrą ir randamos naudojant liepsnos jonizacijos detektorių (FID).

▼B

Kiekvienos šalutinės lakiosios medžiagos koncentracija nustatoma pagal vidinį etaloną ir atsako faktorius, kurie gaunami kalibruojant tomis pačiomis chromatografavimo sąlygomis, kurios naudojamos analizuojant spiritinį gėrimą.

5. **Reagentai ir medžiagos**

Jei kitaip nenurodyta, naudojami didesnio kaip 97 % grynumo klasės reagentai, pirkti iš ISO patvirtinto tiekėjo, turintys grynumo sertifikatus ir neturintys kitų šalutinių junginių, esant bandyme taikomam praskiedimui (tai galima patvirtinti įšvirkštus atskirų šalutinių junginių etalonus, esant bandyme taikomam praskiedimui ir analizuojant GC sąlygomis, aprašytomis 6.4) ir bent 3 kategorijos vanduo, kaip apibrėžta ISO 3696. Acetalis ir acetaldehidas turi būti laikomi tamsoje, esant < 5 °C temperatūrai, visi kiti reagentai laikomi kambario temperatūros sąlygomis.

5.1. Absoliutusis etanolis (CAS 64-17-5).

5.2. Metanolis (CAS 67-56-1).

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

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

5.5. Tinkami vidiniai etalonai: pentan-3-olis (CAS 584-02-1), pentan-1-olis (CAS 71-41-0), 4-metilpentan-1-olis (CAS 626-89-1) arba metilnonanoatas (CAS 1731-84-6).

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

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

5.8. Etilacetatas (CAS 141-78-6).

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

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

5.11. Acetaldehidas (CAS 75-07-0).

5.12. Acetalis (CAS 105-57-7).

5.13. 40 % V/V etanolio tirpalas

400 ml/l etanolio tirpalui paruošti į 1 litro talpos matavimo kolbą įpilama 400 ml etanolio (5.1) ir skiedžiama distiliuotu vandeniu iki žymės ir sumaišoma.

5.14. Etaloninių tirpalų ruošimas ir laikymas (metodika taikoma patvirtintam metodui).

Visi etaloniniai tirpalai laikomi esant < 5 °C temperatūrai ir turi būti iš naujo ruošiami kas mėnesį. Komponentų ir tirpalų masė turėtų būti užrašoma 0,1 mg tikslumu.

5.14.1. Etaloninis tirpalas A

Garavimui kiek įmanoma sumažinti į 100 ml matavimo kolbą iš pradžių įpilama apie 60 ml etanolio tirpalo (5.13), pipete įpilami lentelėje nurodyti tirpalai, mišinys iki žymės skiedžiamas etanolio tirpalu (5.13) ir gerai sumaišomas. Užrašoma tuščios kolbos, pridėtų komponentų ir suminė galutinė kolbos turinio masė.

Junginiai	Tūris (ml)
Metanolis (5.2)	3,0
Propan-1-olis (5.3)	3,0
2-metilpropan-1-olis (5.4)	3,0
2-metilbutan-1-olis (5.6)	3,0
3-metilbutan-1-olis (5.7)	3,0
Etilacetatas (5.8)	3,0
Butan-1-olis (5.9)	3,0
Butan-2-olis (5.10)	3,0
Acetaldehidas (5.11)	3,0
Acetalis (5.12)	3,0

▼B

1 pastaba. Siekiant kiek įmanoma sumažinti nuostolius dėl garavimo, acetalį ir acetaldehidą būtų geriau pilti paskutinius.

5.14.2. Etaloninis tirpalas B

Į 100 ml talpos matavimo kolbą, įpilama apie 80 ml etanolio tirpalo (5.13), pipete įpilama 3 ml pentan-3-olio arba kito tinkamo vidinio etalono (5.5), iki žymės skiedžiama etanolio tirpalu (5.13) ir gerai sumaišoma.

Užrašoma kolbos, įpilto pentan-3-olio arba kito vidinio etalono ir suminė kolbos turinio masė.

5.14.3. Etaloninis tirpalas C

Į 100°ml talpos matavimo kolbą įpilama apie 80°ml etanolio tirpalo (5.13). Pipete įpilama 1 ml tirpalo A (5.14.1) ir 1 ml tirpalo B (5.14.2). Iki žymės skiedžiama etanolio tirpalu (5.13) ir gerai sumaišoma.

Užrašoma kolbos, kiekvieno pridėto komponento ir suminė galutinė kolbos turinio masė.

5.14.4. Etaloninis tirpalas D

Analizės tęstinumui užtikrinti, ruošiamas kokybės kontrolės etalonas, naudojant pirmiau paruoštą etaloną A (5.14.1). Į 100 ml talpos kolbą įpilama apie 80 ml etanolio tirpalo (5.13) ir pipete įpilama 1 ml tirpalo A (5.14.1). Iki žymės skiedžiama etanolio tirpalu (5.13) ir gerai sumaišoma.

Užrašoma kolbos, kiekvieno pridėto komponento ir suminė galutinė kolbos turinio masė.

5.14.5. Etaloninis tirpalas E

Į 100 ml talpos kolbą įpilama apie 80 ml etanolio (5.13), pipete pripilama 10 ml tirpalo B (5.14.2), iki žymės skiedžiama etanolio tirpalu (5.13) ir gerai sumaišoma.

Užrašoma kolbos, kiekvieno pridėto komponento ir suminė galutinė kolbos turinio masė.

5.14.6. Etaloniniai tirpalai FID atsako tiesiškumui tikrinti.

Atskirai į 100 ml talpos kolbas įpilama apie 80 ml etanolio tirpalo (5.13), pipete pilama 0, 0,1, 0,5, 1,0, 2,0 ml tirpalo A (5.14.1) ir po 1 ml tirpalo B (5.14.2), iki žymės skiedžiama etanolio tirpalu (5.13) ir gerai sumaišoma.

Užrašoma kolbos, kiekvieno pridėto komponento ir suminė galutinė kolbos turinio masė.

5.14.7. Kokybės kontrolės (QC) etaloninis tirpalas

Į svėrimo indą pipete įpilama 9 ml etaloninio tirpalo D (5.14.4) ir 1 ml etaloninio tirpalo E (5.14.5), gerai sumaišoma.

Užrašoma kolbos, kiekvieno pridėto komponento ir suminė galutinė kolbos turinio masė.

6. **Aparatūra ir įranga**

6.1. Aparatūra tankiui ir alkoholio koncentracijai matuoti.

6.2. Analizinės svarstyklės, kuriomis būtų galima sverti keturių ženklų po kablelio tikslumu.

6.3. Dujų chromatografas su programuojama temperatūra, sujungtas su liepsnos jonizacijos detektoriumi ir integratoriumi arba kita duomenų apdorojimo įranga, tinkama smailių plotui arba aukščiui matuoti.

6.4. Dujų chromatografijos kolonėlė (-ės), galinti (-ios) atskirti analites taip, kad individualių junginių (išskyrus 2-metilbutan-1-olį ir 3-metilbutan-1-olį) mažiausias atskyrimas būtų ne mažesnis kaip 1,3.

2 pastaba. Tinkamų kolonėlių ir GC sąlygų pavyzdžiai:

1. Prieškolonėlė 1 m × 0,32 mm vidinio skersmens (v.s.) prijungiama prie CP-WAX 57 CB tipo kolonėlės 50 m × 0,32 mm v.s., padengtos 0,2 μm storio plėvele (stabi-

▼B

lizuotas polietilenglikolis), toliau Carbowax 400 tipo kolonėlė 50 m × 0,32 mm v.s., padengta 0,2 μm storio plėvele. (Kolonėlės jungiamos suspaudžiama jungtimi).

Nešiklis ir jo slėgis:	helis (135 kPa)
Kolonėlės temperatūra:	17 min. laikoma 35 °C, nuo 35 °C iki 70 °C didinama 12 °C/min., 25 min. laikoma 70 °C
Inžektoriaus temperatūra:	150 °C
Detektoriaus temperatūra:	250 °C
Įšvirkščiamas tūris:	1 μl, padalinimas nuo 20:1 iki 100:1

2. Prieškolonėlė 1 m × 0,32 mm v.s. prijungiama prie CP-WAX 57 CB tipo kolonėlės 50 m × 0,32 mm v.s., padengtos 0,2 μm storio plėvele (stabilizuotas polietilenglikolis). (Prieškolonėlė prijungiama suspaudžiama jungtimi).

Nešiklis ir jo slėgis:	helis (65 kPa)
Kolonėlės temperatūra:	10 min. laikoma 35 °C, nuo 35 °C iki 110 °C didinama 5 °C/min., nuo 110 °C iki 190 °C didinama 30 °C/min., 2 min. laikoma 190 °C.
Inžektoriaus temperatūra:	260 °C.
Detektoriaus temperatūra:	300 °C.
Įšvirkščiamas tūris:	1 μl, padalinimas 55:1

3. Įkrautinė kolonėlė (5 % CW 20M, Carbopak B), 2 m × 2 mm v.s.

Kolonėlės temperatūra:	4 min. laikoma 65 °C, nuo 65 °C iki 140 °C didinama 10 °C/min., nuo 140 °C iki 150 °C didinama 5 °C/min., 3 min. laikoma 150 °C.
Inžektoriaus temperatūra:	65 °C.
Detektoriaus temperatūra:	200 °C.
Įšvirkščiamas tūris:	1 μl

7. **Ėminio ėmimas ir ėminiai**

7.1. Laboratorinis ėminys

Gavus ėminius, nustatoma kiekvieno jų alkoholio koncentracija (6.1).

8. **Darbo eiga (naudojama patvirtintam metodui)**

8.1. Bandinys

8.1.1. Pasveriamas tinkamas uždengtas svėrimo indas ir užrašoma jo masė.

8.1.2. Į kolbą pipete įpilama 9 ml laboratorinio ėminio ir užrašoma masė (MSAMPLE).

8.1.3. Įpilama 1 ml etaloninio tirpalo E (5.14.5) ir užrašoma masė (MIS).

8.1.4. Tiriamasis tirpalas gerai supurtomas (apverčiant mažiausiai 20 kartų). Siekiant sumažinti galimus lakiųjų medžiagų nuostolius, prieš analizę ėminiai turi būti laikomi esant mažesnei kaip 5 °C temperatūrai.

8.2. Tuščiasis bandymas

▼B

8.2.1. Svarstyklėmis keturių skaičių po kablelio tikslumu (6.2) pasveriamas tinkamas uždengtas svėrimo indas ir užrašoma jo masė.

8.2.2. Į kolbą pipete įpilama 9 ml 400 ml/l koncentracijos etanolio tirpalo (5.13) ir užrašoma masė.

8.2.3. Į kolbą pipete įpilama 1 ml etaloninio tirpalo E (5.14.5) ir užrašoma masė.

8.2.4. Tiriamasis tirpalas gerai supurtomas (apverčiant mažiausiai 20 kartų). Siekiant sumažinti galimus lakiųjų medžiagų nuostolius, prieš analizę ėminiai turi būti laikomi esant mažesnei kaip 5 °C temperatūrai.

8.3. Pradinis tyrimas

Etaloninis tirpalas C (5.14.3) įpurškiamas taip, kad visų analičių atskyrimo faktorius būtų ne mažesnis kaip 1,3 (išskyrus 2-metil-butan-1-olį ir 3-metilbutan-1-olį).

8.4. Kalibravimas

Kalibravimas turėtų būti tikrinamas pagal toliau pateiktą metodiką. Reikia užtikrinti, kad atsakas būtų tiesinis nuosekliai analizuojant tris kartus kiekvieną iš tiesiškumo etaloninių tirpalų (5.14.6), turinčių vidinio etalono (IS). Pagal kiekvienam įpurškimui integratoriumi gautą smailių plotą arba jų aukštį apskaičiuojamas kiekvieno šalutinio junginio santykis R ir braižomas grafikas, vaizduojantis R ir šalutinio junginio bei vidinio etalono (IS) koncentracijos verčių santykio funkciją. Gautas grafikas turėtų būti tiesė, kurios koreliacijos koeficientas mažiausiai 0,99.

$$R = \frac{\text{Šalutinio junginio smailės plotas arba aukštis}}{\text{IS smailės plotas arba aukštis}}$$

$$C = \frac{\text{Šalutinio junginio koncentracija } (\mu g/g)}{\text{IS koncentracija } (\mu g/g)}$$

8.5. Nustatymas

Įšvirkščiama etaloninio tirpalo C (5.14.3) ir 2 QC etaloniniai tirpalai (5.14.7). Toliau įšvirkščiami nežinomos koncentracijos ėminiai (paruošti pagal 8.1 ir 8.2), ir analizės stabilumui užtikrinti kas 10 ėminių įšvirkščiamas vienas QC etalonas. Kas 5 ėminius įšvirkščiamas vienas etaloninis tirpalas C (5.14.3).

9. **Apskaičiavimas**

Galima naudoti duomenų automatizuoto gavimo sistemą, jei duomenis galima patikrinti taikant toliau aprašyto metodo principus.

Matuojami šalutinio junginio ir vidinio etalono smailių plotai arba aukščiai.

9.1. Atsako faktoriaus skaičiavimas.

Pagal etaloninio tirpalo C (5.14.3) įpurškimo chromatogramą, kiekvieno šalutinio junginio atsako faktoriai apskaičiuojami taikant 1 lygtį:

$$\text{Atsako faktorius} = \frac{\text{IS smailės plotas arba aukštis}}{\text{Šalutinio junginio smailės plotas arba aukštis}} \times \frac{\text{Šalutinio junginio koncentracija } (\mu g/g)}{\text{IS koncentracija } (\mu g/g)}$$

čia:

IS = vidinis etalonas,

Šalutinio junginio koncentracija = šalutinio junginio koncentracija tirpale C (5.14.3),

IS koncentracija = vidinio etalono koncentracija tirpale C (5.14.3).

9.1.2. Ėminio analizė

Taikant toliau pateiktą 2 lygtį apskaičiuojama kiekvieno šalutinio junginio koncentracija ėminiuose.

▼B

(2) Šalutinio junginio koncentracija

$$\frac{\text{Šalutinio junginio smailės plotas arba aukštis}}{\text{IS smailės plotas arba aukštis}} \times \frac{M_{IS}(g)}{M_{SAMPLE}\ (g)} \times \text{IS koncentracija } (\mu g/g) \times RF$$

čia:

M_{SAMPLE} = ėminio masė (8.1.2),

M_{IS} = vidinio etalono masė (8.1.3),

IS koncentracija = vidinio etalono koncentracija tirpale E (5.14.5),

RF = atsako faktorius, gautas pagal (1) lygtį.

9.1.3. Kokybės kontrolės etaloninio tirpalo analizė

Naudojant toliau pateiktą 3 lygtį, apskaičiuojama kiekvieno šalutinio junginio, esančio kokybės kontrolės etalonuose (5.14.7), regeneravimo ieškomosios vertės procentinė dalis:

$$\%\ \text{QC ėminio regeneravimo} = \frac{\text{QC etalono analitės koncentracija}}{\text{D tirpalo analitės koncentracija}} \times 100$$

QC etalono analitės koncentracija skaičiuojama naudojant 1 ir 2 lygtis.

9.2. Galutinė rezultatų išraiška

Rezultatai iš µg/g perskaičiuojami į g/100 litrų absoliučiojo alkoholio perskaičiuojami taikant 4 lygtį:

(4) Koncentracija g/100 litrų absoliutaus alkoholio =

koncentracija (µg/g) × ρ × 10/(koncentracija (tūrio proc.)) × 1 000,

čia ρ = tankis kg/m^3.

Rezultatai pateikiami 3 reikšmingais skaitmenimis ir bent vienos dešimtosios tikslumu, pvz., 11,4 g/100 litrų absoliutaus alkoholio.

10. **Kokybės užtikrinimas ir kontrolė (naudojama patvirtintam metodui)**

Taikant (2) lygtį, apskaičiuojama kiekvieno šalutinio junginio, esančio kokybės kontrolės etaloniniuose tirpaluose, paruoštuose taikant 8.1.1–8.1.4 metodikas, koncentracija. Naudojant (3) lygtį, apskaičiuojama ieškomosios vertės regeneravimo procentinė dalis. Jei kiekvieno šalutinio junginio analizės rezultatas yra lygus teorinei vertei ± 10 %, analizę galima tęsti. Priešingu atveju, turėtų būti daromas tyrimas, siekiant nustatyti netikslumo priežastį, ir prireikus taikomas taisomasis veiksmas.

11. **Metodo efektyvumo charakteristikos (preciziškumas)**

Tarplaboratorinio bandymo statistiniai rezultatai. Lentelėse pateikiamos šių junginių vertės: etanalio, etilacetato, acetalio, viso etanalio, metanolio, butan-2-olio, propan-1-olio, butan-1-olio, 2-metilbutan-1-olio, 3-metilbutan-2-olio.

Šie duomenys buvo gauti darant tarptautinį metodo efektyvumo charakteristikų tyrimą, vykdytą pagal tarptautines suderintas metodikas.

Tarplaboratorinių bandymų metai	1997
Laboratorijų skaičius	32
Ėminių skaičius	5
Analitė	etanalis

Ėminiai	A	B	C	D	E
Laboratorijų, atmetus riktus, skaičius	28	26	27	27	28
Riktų skaičius (laboratorijų)	2	4	3	3	2
Priimtų rezultatų skaičius	56	52	54	54	56

▼B

Vidutinė vertė($\bar{x}$)µg/g	63,4	71,67	130,4	38,4 13,8 (*)	28,6 52,2 (*)
Pakartojamumo standartinis nuokrypis (Sr) µg/g	3,3	1,9	6,8	4,1	3,6
Pakartojamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDr) %	5,2	2,6	5,2	15,8	8,9
Pakartojamumo ribinė vertė (r) µg/g	9,3	5,3	19,1	11,6	10,1
Atkuriamumo standartinis nuokrypis (SR) µg/g	12	14	22	6,8	8,9
Atkuriamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDR) %	18,9	19,4	17,1	26,2	22,2
Atkuriamumo ribinė vertė (R) µg/g	33,5	38,9	62,4	19,1	25,1

Ėminių tipas
A Brendis; aklieji dvigubi ėminiai.
B Vyšninė; aklieji dvigubi ėminiai.
C Grapa; aklieji dvigubi ėminiai.
D Viskis; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).
E Romas; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).

Tarplaboratorinių bandymų metai	1997
Laboratorijų skaičius	32
Ėminių skaičius	5
Analitė	etilacetatas

Ėminiai	A	B	C	D	E
Laboratorijų, atmetus riktus, skaičius	24	24	25	24	24
Riktų skaičius (laboratorijų)	2	2	1	2	2
Priimtų rezultatų skaičius	48	48	50	48	48
Vidutinė vertė($\bar{x}$)µg/g	96,8	1 046	120,3	112,5 91,8 (*)	99,1 117,0 (*)
Pakartojamumo standartinis nuokrypis (Sr) µg/g	2,2	15	2,6	2,1	2,6
Pakartojamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDr) %	2,3	1,4	2,1	2,0	2,4
Pakartojamumo ribinė vertė (r) µg/g	6,2	40,7	7,2	5,8	7,3
Atkuriamumo standartinis nuokrypis (SR) µg/g	6,4	79	8,2	6,2	7,1
Atkuriamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDR) %	6,6	7,6	6,8	6,2	6,6
Atkuriamumo ribinė vertė (R) µg/g	17,9	221,9	22,9	17,5	20,0

Ėminių tipas
A Brendis; aklieji dvigubi ėminiai.
B Vyšninė; aklieji dvigubi ėminiai.
C Grapa; aklieji dvigubi ėminiai.
D Viskis; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).
E Romas; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).

Tarplaboratorinių bandymų metai	1997
Laboratorijų skaičius	32
Ėminių skaičius	5
Analitė	acetalis

Ėminiai	A	B	C	D	E
Laboratorijų, atmetus riktus, skaičius	20	21	22	17	21

▼B

Ėminiai	A	B	C	D	E
Riktų skaičius (laboratorijų)	4	3	2	4	3
Priimtų rezultatų skaičius	40	42	44	34	42
Vidutinė vertė($\bar{x}$)µg/g	35,04	36,46	68,5	20,36 6,60 (*)	15,1 28,3 (*)
Pakartojamumo standartinis nuokrypis (Sr) µg/g	0,58	0,84	1,6	0,82	1,9
Pakartojamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDr) %	1,7	2,3	2,3	6,1	8,7
Pakartojamumo ribinė vertė (r) µg/g	1,6	2,4	4,4	2,3	5,3
Atkuriamumo standartinis nuokrypis (SR) µg/g	4,2	4,4	8,9	1,4	3,1
Atkuriamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDR) %	12,1	12,0	13,0	10,7	14,2
Atkuriamumo ribinė vertė (R) µg/g	11,8	12,2	25,0	4,0	8,7

Ėminių tipas
A Brendis; aklieji dvigubi ėminiai.
B Vyšninė; aklieji dvigubi ėminiai.
C Grapa; aklieji dvigubi ėminiai.
D Viskis; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).
E Romas; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).

Tarplaboratorinių bandymų metai	1997
Laboratorijų skaičius	32
Ėminių skaičius	5
Analitė	visas etanalis

Ėminiai	A	B	C	D	E
Laboratorijų, atmetus riktus, skaičius	23	19	22	21	22
Riktų skaičius (laboratorijų)	1	5	2	3	2
Priimtų rezultatų skaičius	46	38	44	42	44
Vidutinė vertė($\bar{x}$)µg/g	76,5	85,3	156,5	45,4 15,8 (*)	32,7 61,8 (*)
Pakartojamumo standartinis nuokrypis (Sr) µg/g	3,5	1,3	6,5	4,4	3,6
Pakartojamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDr) %	4,6	1,5	4,2	14,2	7,6
Pakartojamumo ribinė vertė (r) µg/g	9,8	3,5	18,3	12,2	10,0
Atkuriamumo standartinis nuokrypis (SR) µg/g	13	15	24,1	7,3	9,0
Atkuriamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDR) %	16,4	17,5	15,4	23,7	19,1
Atkuriamumo ribinė vertė (R) µg/g	35,2	41,8	67,4	20,3	25,2

Ėminių tipas
A Brendis; aklieji dvigubi ėminiai.
B Vyšninė; aklieji dvigubi ėminiai.
C Grapa; aklieji dvigubi ėminiai.
D Viskis; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).
E Romas; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).

Tarplaboratorinių bandymų metai	1 997
Laboratorijų skaičius	32
Ėminių skaičius	5
Analitė	met ano lis

▼B

Ėminiai	A	B	C	D	E
Laboratorijų, atmetus riktus, skaičius	26	27	27	28	25
Riktų skaičius (laboratorijų)	4	3	3	1	4
Priimtų rezultatų skaičius	52	54	54	56	50
Vidutinė vertė($\bar{x}$)µg/g	319,8	2 245	1 326	83,0 61,5 (*)	18,6 28,9 (*)
Pakartojamumo standartinis nuokrypis (Sr) µg/g	4,4	27	22	1,5	1,3
Pakartojamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDr) %	1,4	1,2	1,7	2,1	5,6
Pakartojamumo ribinė vertė (r) µg/g	12,3	74,4	62,5	4,3	3,8
Atkuriamumo standartinis nuokrypis (SR) µg/g	13	99	60	4,5	2,8
Atkuriamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDR) %	3,9	4,4	4,6	6,2	11,8
Atkuriamumo ribinė vertė (R) µg/g	35,2	278,3	169,1	12,5	7,9

Ėminių tipas
A Brendis; aklieji dvigubi ėminiai.
B Vyšninė; aklieji dvigubi ėminiai.
C Grapa; aklieji dvigubi ėminiai.
D Viskis; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).
E Romas; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).

Tarplaboratorinių bandymų metai	1 997
Laboratorijų skaičius	32
Ėminių skaičius	4
Analitė	but an- 2-o lis

Ėminiai	A	B	C	E
Laboratorijų, atmetus riktus, skaičius	21	27	29	22
Riktų skaičius (laboratorijų)	4	3	1	3
Priimtų rezultatų skaičius	42	54	58	44
Vidutinė vertė($\bar{x}$)µg/g	5,88	250,2	27,57	5,83 14,12 (*)
Pakartojamumo standartinis nuokrypis (Sr) µg/g	0,40	2,2	0,87	0,64
Pakartojamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDr) %	6,8	0,9	3,2	6,4
Pakartojamumo ribinė vertė (r) µg/g	1,1	6,1	2,5	1,8
Atkuriamumo standartinis nuokrypis (SR) µg/g	0,89	13	3,2	0,87
Atkuriamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDR) %	15,2	5,1	11,5	8,7
Atkuriamumo ribinė vertė (R) µg/g	2,5	35,5	8,9	2,4

Ėminių tipas
A Brendis; aklieji dvigubi ėminiai.
B Vyšninė; aklieji dvigubi ėminiai.
C Grapa; aklieji dvigubi ėminiai.
E Romas; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).

Tarplaboratorinių bandymų metai	1997
Laboratorijų skaičius	32
Ėminių skaičius	5
Analitė	propan-1-olis

▼B

Ėminiai	A	B	C	D	E
Laboratorijų, atmetus riktus, skaičius	29	27	27	29	29
Riktų skaičius (laboratorijų)	2	4	3	2	2
Priimtų rezultatų skaičius	58	54	54	58	58
Vidutinė vertė($\bar{x}$)µg/g	86,4	3 541	159,1	272,1 229,3 (*)	177,1 222,1 (*)
Pakartojamumo standartinis nuokrypis (Sr) µg/g	3,0	24	3,6	2,3	3,3
Pakartojamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDr) %	3,4	0,7	2,3	0,9	1,6
Pakartojamumo ribinė vertė (r) µg/g	8,3	68,5	10,0	6,4	9,1
Atkuriamumo standartinis nuokrypis (SR) µg/g	5,3	150	6,5	9,0	8,1
Atkuriamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDR) %	6,1	4,1	4,1	3,6	4,1
Atkuriamumo ribinė vertė (R) µg/g	14,8	407,2	18,2	25,2	22,7

Ėminių tipas
A Brendis; aklieji dvigubi ėminiai.
B Vyšninė; aklieji dvigubi ėminiai.
C Grapa; aklieji dvigubi ėminiai.
D Viskis; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).
E Romas; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).

Tarplaboratorinių bandymų metai	1997
Laboratorijų skaičius	32
Ėminių skaičius	5
Analitė	propan-1-olis

Ėminiai	A	B	C
Laboratorijų, atmetus riktus, skaičius	20	22	22
Riktų skaičius (laboratorijų)	4	4	6
Priimtų rezultatų skaičius	40	44	44
Vidutinė vertė($\bar{x}$)µg/g	3,79	5,57	7,54
Pakartojamumo standartinis nuokrypis (Sr) µg/g	0,43	0,20	0,43
Pakartojamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDr) %	11,2	3,6	5,6
Pakartojamumo ribinė vertė (r) µg/g	1,1	0,6	1,2
Atkuriamumo standartinis nuokrypis (SR) µg/g	0,59	0,55	0,82
Atkuriamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDR) %	15,7	9,8	10,8
Atkuriamumo ribinė vertė (R) µg/g	1,7	1,5	2,3

Ėminių tipas
A Brendis; aklieji dvigubi ėminiai.
B Vyšninė; aklieji dvigubi ėminiai.
C Grapa; aklieji dvigubi ėminiai.

Tarplaboratorinių bandymų metai	1997
Laboratorijų skaičius	32
Ėminių skaičius	5
Analitė	2-metilpropan-1-olis

▼B

Ėminiai	A	B	C	D	E
Laboratorijų, atmetus riktus, skaičius	28	31	30	26	25
Riktų skaičius (laboratorijų)	3	0	1	5	6
Priimtų rezultatų skaičius	56	62	60	52	50
Vidutinė vertė($\bar{x}$)µg/g	174,2	111,7	185,0	291,0	115,99
				246,8 (*)	133,87 (*)
Pakartojamumo standartinis nuokrypis (Sr) µg/g	2,3	1,6	2,5	1,8	0,74
Pakartojamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDr) %	1,3	1,4	1,3	0,7	0,6
Pakartojamumo ribinė vertė (r) µg/g	6,4	4,5	6,9	5,0	2,1
Atkuriamumo standartinis nuokrypis (SR) µg/g	8,9	8,9	9,7	6,0	6,2
Atkuriamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDR) %	5,1	8,0	5,2	2,2	5,0
Atkuriamumo ribinė vertė (R) µg/g	24,9	24,9	27,2	16,9	17,4

Ėminių tipas
A Brendis; aklieji dvigubi ėminiai.
B Vyšninė; aklieji dvigubi ėminiai.
C Grapa; aklieji dvigubi ėminiai.
D Viskis; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).
E Romas; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).

Tarplaboratorinių bandymų metai	1997
Laboratorijų skaičius	32
Ėminių skaičius	5
Analitė	2-metilbutan-1-olis

Ėminiai	A	B	C	D	E
Laboratorijų, atmetus riktus, skaičius	25	26	25	27	25
Riktų skaičius (laboratorijų)	3	2	3	1	2
Priimtų rezultatų skaičius	50	52	50	54	50
Vidutinė vertė($\bar{x}$)µg/g	113,0	48,3	91,6	72,1	39,5
				45,2 (*)	61,5 (*)
Pakartojamumo standartinis nuokrypis (Sr) µg/g	2,1	1,5	1,7	2,3	2,3
Pakartojamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDr) %	1,9	3,1	1,8	3,9	4,5
Pakartojamumo ribinė vertė (r) µg/g	6,0	4,2	4,7	6,4	6,3
Atkuriamumo standartinis nuokrypis (SR) µg/g	7,4	3,8	6,6	4,7	4,5
Atkuriamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDR) %	6,6	7,9	7,2	8,1	8,8
Atkuriamumo ribinė vertė (R) µg/g	20,8	10,7	18,4	13,3	12,5

Ėminių tipas
A Brendis; aklieji dvigubi ėminiai.
B Vyšninė; aklieji dvigubi ėminiai.
C Grapa; aklieji dvigubi ėminiai.
D Viskis; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).
E Romas; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).

Tarplaboratorinių bandymų metai	1997
Laboratorijų skaičius	32

▼B

Ėminių skaičius 5

Analitė 3-metilbutan-1-olis

Ėminiai	A	B	C	D	E
Laboratorijų, atmetus riktus, skaičius	23	23	24	27	21
Riktų skaičius (laboratorijų)	5	5	4	1	6
Priimtų rezultatų skaičius	46	46	48	54	42
Vidutinė vertė($\bar{x}$)µg/g	459,4	242,7	288,4	142,2	212,3
				120,4 (*)	245,6 (*)
Pakartojamumo standartinis nuokrypis (Sr) µg/g	5,0	2,4	3,4	2,4	3,2
Pakartojamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDr) %	1,1	1,0	1,2	1,8	1,4
Pakartojamumo ribinė vertė (r) µg/g	13,9	6,6	9,6	6,6	9,1
Atkuriamumo standartinis nuokrypis (SR) µg/g	29,8	13	21	8,5	6,7
Atkuriamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDR) %	6,5	5,2	7,3	6,5	2,9
Atkuriamumo ribinė vertė (R) µg/g	83,4	35,4	58,8	23,8	18,7

Ėminių tipas
A Brendis; aklieji dvigubi ėminiai.
B Vyšninė; aklieji dvigubi ėminiai.
C Grapa; aklieji dvigubi ėminiai.
D Viskis; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).
E Romas; dviejų skirtingų koncentracijos verčių ėminiai (*).

▼M1

V. ANETOLAS. *TRANS*-ANETOLO NUSTATYMAS SPIRITINIUOSE GĖRIMUOSE DUJŲ CHROMATOGRAFIJOS METODU

1. **Taikymo sritis**

Šis metodas tinka nustatyti *trans*-anetolą anyžių skonio spiritiniuose gėrimuose, taikant kapiliarinės dujų chromatografijos metodą.

2. **Normatyvinės nuorodos**

ISO 3696: 1987 Analizės laboratorijų naudojamas vanduo. Specifikacijos ir bandymo metodai.

3. **Metodo esmė**

Trans-anetolo koncentracija spiritiniuose gėrimuose nustatoma dujų chromatografijos (DC) metodu. Į mėginį ir į žinomos koncentracijos *trans*-anetolo etaloninį tirpalą dedamas vienodas kiekis vidinio standarto, pvz., 4-alilanizolo (estragolo), jei estragolo natūraliai nėra mėginyje, abu tirpalai praskiedžiami 45 % etanolio tirpalu ir tiesiogiai įpurškiami į DC sistemą. Likeriai, turintys didelius cukrų kiekius, prieš mėginio ruošimą ir analizę turi būti ekstrahuojami.

4. **Reagentai ir medžiagos**

Analizei naudojami cheminiai reagentai, kurių grynumas būtų ne mažesnis nei 98 %. Naudojamas vanduo turėtų būti bent 3 kategorijos, kaip apibrėžta ISO 3696.

Etaloninės medžiagos turi būti laikomos šaltai (esant 4 °C), apsaugotos nuo šviesos, aliuminio induose arba dažyto stiklo (gintaro spalvos) cheminių reagentų buteliuose. Būtų gerai, jei kamščiai turėtų sandarinantį dangtelį iš aliuminio. Prieš naudojant kristalinis *trans*-anetolas turi būti „išlydytas“, tai darant temperatūra niekuomet neturi būti didesnė kaip 35 °C.

4.1. 96 % tūrio etanolis (CAS 64-17-5)

4.2. 1-metoksi-4-(1-propenil benzenas; (*trans*-anetolas) (CAS 4180-23-8)

4.3. 4-alilanizolas, (estragolas) (CAS 140-67-0), pasiūlytas vidinis standartas (VS)

4.4. 45 % tūrio etanolis

Įpilkite 560 g distiliuoto vandens į 378 g 96 % tūrio etanolio.

4.5. Etaloninių tirpalų ruošimas

Visi etaloniniai tirpalai turi būti laikomi esant kambario temperatūrai (15–35 °C), apsaugoti nuo šviesos, aliuminio induose arba dažyto stiklo (gintaro spalvos) cheminių reagentų buteliuose. Būtų gerai, jei kamščiai turėtų sandarinantį dangtelį iš aliuminio.

Trans-anetolas ir 4-alilanizolas beveik netirpsta vandenyje, todėl prieš pilant į juos 45 % etanolį (4.4), *trans*-anetolą ir 4-alilanizolą reikia ištirpinti nedideliame kiekyje 96 % etanolio (4.1).

Pradiniai tirpalai turi būti gaminami iš naujo kiekvieną savaitę.

4.5.1. Etaloninis A tirpalas

Pradinis *trans*-anetolo tirpalas (koncentracija: 2 g/l)

Į 20 ml matavimo kolbą pasverkite 40 mg *trans*-anetolo (4.2) (arba 400 mg į 200 ml ir t. t.). Įpilkite nedidelį tūrį 96 % etanolio (4.1) ir praskieskite iki žymės 45 % tūrio etanoliu (4.4), gerai sumaišykite.

4.5.2. Vidinio standarto B tirpalas

Pradinis vidinio standarto, pvz., estragolo, tirpalas (koncentracija: 2 g/l)

Į 20 ml matavimo kolbą pasverkite 40 mg estragolo (4.3) (arba 400 mg į 200 ml ir t. t.). Įpilkite nedidelį tūrį 96 % etanolio (4.1) ir praskieskite iki žymės 45 % tūrio etanoliu (4.4), gerai sumaišykite.

▼M1

4.5.3. Tirpalai, naudojami liepsnos jonizacinio detektoriaus (FID) atsako tiesiškumui tikrinti

Prieš analizę turi būti patikrintas FID atsako tiesiškumas, atsižvelgiant į tai, kad *trans*-anetolo koncentracijos spiritiniuose gėrimuose verčių intervalas yra 0 g/l–2,5 g/l. Pagal analizės metodiką analizei skirti nežinomi spiritinių gėrimų mėginiai skiedžiami 10 kartų (8.3). Esant metode aprašytoms analizės sąlygoms, pradiniai tirpalai, atitinkantys 0, 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, ir 0,25 g/l *trans*-anetolo koncentracijos analizuojamame mėginyje vertes, ruošiami taip: pipete paimkite 0,5, 1, 1,5, 2 ir 2,5 ml pradinio A tirpalo (4.5.1) ir supilkite į atskiras 20 ml matavimo kolbas; į kiekvieną kolbą pipete įpilkite 2 ml vidinio standarto B tirpalo (4.5.2) ir praskieskite iki žymės 45 % tūrio etanoliu (4.4), gerai sumaišykite.

Kaip tuščiojo bandymo tirpalas (8.4) naudojamas 0 g/l koncentracijos tirpalas.

4.5.4. Etaloninis C tirpalas

Pipete paimkite 2 ml etaloninio A tirpalo (4.5.1) ir supilkite į 20 ml matavimo kolbą, įpilkite 2 ml vidinio standarto B tirpalo (4.5.2) ir praskieskite iki žymės 45 % tūrio etanoliu (4.4), gerai sumaišykite.

5. **Aparatūra ir įranga**

5.1. Kapiliarinis dujų chromatografas su liepsnos jonizaciniu detektoriumi (FID) ir integratoriumi arba kita duomenų apdorojimo sistema, galinčia matuoti smailių aukštį arba plotą, ir automatiniu mėginių tiekėju arba su įranga, reikalinga mėginiui įpurkšti rankiniu būdu.

5.2. Dalijantis/nedalijantis inžektorius

5.3. Kapiliarinė kolonėlė, pvz.:

ilgis – 50 m,

vidinis skersmuo – 0,32 mm,

plėvelės storis – 0,2 μm,

nejudančioji fazė: FFAP – TPA (tereftalio rūgštimi) modifikuoto polietilenglikolio tinklinės struktūros akytas polimeras.

5.4. Įprasta laboratorijos įranga: A markės tūrio matavimo stikliniai indai, analizinės svarstyklės (preciziškumas: ± 0,1 mg).

6. **Chromatografinės analizės sąlygos**

Kolonėlės tipas bei matmenys ir DC sąlygos turi būti tokios, kad anetolas ir vidinis standartas būtų atskirti vienas nuo kito ir nuo visų trukdančių medžiagų. Tipinės sąlygos, naudojant 5.3 pavyzdžio kolonėlę, yra tokios:

6.1. Nešiklis: analiziškai grynas helis

6.2. Srautas – 2 ml/min

6.3. Inžektoriaus temperatūra – 250 °C

6.4. Detektoriaus temperatūra – 250 °C

6.5. Krosnies temperatūros sąlygos: izoterminės, 180 °C, trukmė 10 min

6.6. Įpurškiamas tūris: 1 μl, srauto dalijimas – 1:40.

7. **Mėginiai**

Mėginiai turi būti laikomi esant kambario temperatūrai, apsaugoti nuo šviesos ir šalčio.

8. **Darbo eiga**

8.1. Mėginio atranka dėl estragolo

Siekiant patikrinti, ar mėginyje nėra natūralios kilmės estragolo, turi būti daroma tuščiojo bandinio analizė, nepridedant jokio vidinio standarto. Jei yra natūralios kilmės estragolo, turi būti pasirinktas kitas vidinis standartas (pvz., mentolis).

Į 20 ml matavimo kolbą pipete paimkite 2 ml mėginio ir praskieskite iki žymės 45 % tūrio etanoliu (4.4), gerai sumaišykite.

▼M1

8.2. Nežinomų mėginių ruošimas

Į 20 ml matavimo kolbą pipete paimkite 2 ml mėginio, įpilkite 2 ml vidinio standarto B tirpalo (4.5.2) ir praskieskite iki žymės 45 % tūrio etanoliu (4.4), gerai sumaišykite.

8.3. Tuščiasis bandymas

Į 20 ml matavimo kolbą pipete paimkite 2 ml vidinio standarto B tirpalo B (4.5.2) ir praskieskite iki žymės 45 % tūrio etanoliu (4.4), gerai sumaišykite.

8.4. Tiesiškumo tikrinimas

Prieš analizės pradžią turi būti patikrintas FID atsako tiesiškumas, tris kartus paeiliui analizuojant kiekvieną tiesiškumo tikrinimo etalono tirpalą (4.5.3).

Pagal smailių ploto arba aukščio vertes, gautas kiekvienam įpurškimui, nubraižykite grafiką, vaizduojantį pradinio tirpalo koncentraciją g/l kaip R santykio funkciją.

R – *trans*-anetolo ir estragolo smailių aukščio arba ploto santykis.

Gautas grafikas turi būti tiesė.

8.5. Nustatymas

Įšvirkškite tuščiojo bandinio tirpalą (8.3), po jo etaloninį C tirpalą (4.5.4), vieną iš etalonų tiesiškumui nustatyti (4.5.3), kuris būtų kokybės kontrolės mėginys (jis gali būti pasirinktas atsižvelgiant į numanomą *trans*-anetolo koncentracija nežinomame mėginyje), ir penkis nežinomos koncentracijos tirpalus (8.2); norint užtikrinti analizės stabilumą, po penkių nežinomos koncentracijos mėginių įšvirkškite tiesiškumo (kokybės kontrolės) mėginį.

9. **Atsako faktoriaus apskaičiavimas**

Išmatuokite *trans*-anetolo ir vidinio standarto smailių plotą (naudodami integratorių arba kitą duomenų apdorojimo sistemą) arba smailių aukštį (rankinis integravimas).

9.1. Atsako faktoriaus (RFi) apskaičiavimas

Atsako faktorius apskaičiuojamas taip:

RFi = (Ci/plotas arba aukštisi)*(plotas arba aukštisis/Cis)

čia:

Ci *trans*-anetolo koncentracija etaloniniame A tirpale (4.5.1)

Cis vidinio standarto koncentracija etaloniniame B tirpale (4.5.2)

plotasi *trans*-anetolo smailės plotas (arba aukštis)

plotasis vidinio standarto smailės plotas (arba aukštis)

RFi apskaičiuojamas pagal penkis C tirpalo mėginius (4.5.4).

9.2. Atsako tiesiškumo tikrinimo tirpalų analizė

Įšvirkškite atsako tiesiškumo tikrinimo tirpalus (4.5.3).

9.3. Mėginio analizė

Įšvirkškite nežinomo mėginio tirpalą (8.2).

10. **Rezultatų apskaičiavimas**

Trans-anetolo koncentracijai apskaičiuoti naudojama ši formulė:

ci = Cis * (plotas arba aukštisi/plotas arba aukštisis)*RFi

čia:

ci nežinoma *trans*-anetolo koncentracija

Cis vidinio standarto nežinomame tirpale koncentracija (4.5.2)

plotas arba aukštisi *trans*-anetolo smailės plotas arba aukštis

▼M1

plotas arba aukštisis	vidinio standarto smailės plotas arba aukštis
RFi	atsako faktorius (apskaičiuotas kaip 9.1)

Trans-anetolo koncentracija išreiškiama gramais litre vieno ženklo po kablelio tikslumu.

11. **Kokybės užtikrinimas ir kontrolė**

Chromatogramos turėtų būti tokios, kad anetolas ir vidinis standartas būtų atskirti vienas nuo kito ir nuo kitų trukdančių medžiagų. RFi vertė apskaičiuojama pagal rezultatus, gautus penkis kartus įpurškiant C tirpalą C (4.5.4). Jei variacijos koeficiento (CV % = (standartinis nuokrypis/vidutinė vertė)*100)) vertė skiriasi ne daugiau kaip ± 1 %, RFi vidutinė vertė yra priimtina.

Šis skaičiavimas turi būti naudojamas apskaičiuoti *trans*-anetolo koncentraciją mėginyje, kuris kokybės kontrolei buvo pasirinktas iš tiesiškumo kontrolės tirpalų (4.5.3).

Jei vidutiniai rezultatai, gauti analizuojant tiesiškumo tikrinimo tirpalą, pasirinktą kokybės kontrolės vidiniu standartu, ir jų teorinės vertės skiriasi ne daugiau kaip ± 2,5 %, nežinomiems mėginiams gauti rezultatai gali būti priimti.

12. **Spiritinio gėrimo, turinčio didelį cukraus kiekį, ir likerio mėginių apdorojimas prieš DC analizę**

Alkoholio ekstrahavimas iš spiritinio gėrimo, turinčio didelį cukraus kiekį, kad būtų galima nustatyti *trans*-anetolo koncentraciją, taikant kapiliarinės dujų chromatografijos metodą.

12.1. Metodo esmė

Paimama likerio mėginio alikvotinė dalis ir į ją įdedama vidinio standarto, kurio koncentracija būtų panaši į analitės (*trans*-anetolo) koncentraciją likeryje. Į šį tirpalą įdedama natrio fosfato dodekahidrato ir amonio sulfato. Gautas mišinys gerai supurtomas ir atšaldomas, susidaro du sluoksniai, viršutinis alkoholinis sluoksnis nupilamas. Paimama alikvotinė šio alkoholinio tirpalo dalis ir praskiedžiama 45 % etanolio tirpalu (4.4). (*Pastaba:* šioje stadijoje vidinio standarto nededama, nes jis jau yra įdėtas.) Gautas tirpalas analizuojamas dujų chromatografijos metodu.

12.2. Reagentai ir medžiagos

Ekstrahuodami naudokite cheminius reagentus, kurių grynumas yra didesnis kaip 99 %.

12.2.1. Amonio sulfatas, bevandenis (CAS 7783-20-2).

12.2.2. Natrio dihidrofosfato dodekahidratas (CAS 10039-32-4).

12.3. Aparatūra ir įranga

Kūginės kolbos, šaldytuvas.

12.4. Darbo eiga

12.4.1. Mėginio atranka dėl estragolo

Siekiant patikrinti, ar mėginyje nėra natūralios kilmės estragolo, turi būti daromas tuščiojo bandinio ekstrahavimas (12.6.2) ir analizė, nepridedant jokio vidinio standarto. Jei yra natūralios kilmės estragolo, turi būti pasirinktas kitas vidinis standartas.

12.4.2. Ekstrahavimas

Į kūginę kolbą pipete įpilkite 5 ml 96 % etanolio (4.1), pasverkite į šią kolbą 50 mg vidinio standarto (4.3), ir įpilkite 50 ml mėginio. Įdėkite 12 g bevandenio amonio sulfato (12.2.1) ir 8.6 g natrio dihidrofosfato dodekahidrato (12.2.2). Kūginę kolbą užkimškite.

Purtykite kolbą bent 30 min. Galima naudoti mechaninę purtyklę, bet ne teflonu dengtą magnetinės maišyklės strypą, kadangi teflonas absorbuos tam tikrą analitės dalį. Atkreipkite dėmesį,, kad įdėtos druskos visiškai neištirpsta.

Užkimštą kolbą bent dviem valandom padėkite į šaldytuvą (T < 5 °C).

▼M1

Pasibaigus šiam laikui turi būti du atskiri skysčio sluoksniai ir kietos nuosėdos. Alkoholinis sluoksnis turėtų būti skaidrus; jei neskaidrus, padėkite vėl į šaldytuvą tol, kol sluoksniai aiškiai atsiskirs.

Kai alkoholinis sluoksnis pasidaro skaidrus, atsargiai paimkite alikvotinę jo dalį (pvz., 10 ml), nepajudindami vandeninio sluoksnio, supilkite ją į gintarinės spalvos buteliuką, kurį gerai užkimškite.

12.4.3. Ekstrahuoto mėginio ruošimas analizei

Leiskite ekstraktui (12.4.2) sušilti iki kambario temperatūros.

Į 20 ml matavimo kolbą pipete paimkite 2 ml kambario temperatūros ekstrahuoto mėginio alkoholinio sluoksnio tirpalo, praskieskite iki žymės 45 % etanoliu (4.4) ir gerai sumaišykite.

12.5. Nustatymas

Darykite pagal metodiką, nurodytą 8.5 punkte.

12.6. Rezultatų apskaičiavimas

Rezultatams apskaičiuoti naudokite šią formulę:

Ci = (mis/V)* (plotasi/plotasis) *RFi

čia:

mis	paimta vidinio standarto (4.3) masė (miligramais) (12.4.2)
V	nežinomo mėginio tūris (50 ml)
RFi	atsako faktorius (9.1)
plotasi	*trans*-anetolo smailės plotas
plotasis	vidinio standarto smailės plotas

Rezultatai išreiškiami gramais litre vieno ženklo po kablelio tikslumu.

12.7. Kokybės užtikrinimas ir kontrolė

Darykite pagal metodiką, apibrėžta pirmiau 11 punkte.

13. **Metodo efektyvumo charakteristikos (preciziškumas)**

Statistiniai tarplaboratorinio tyrimo rezultatai:

šiose lentelėse pateiktos anetolui gautos vertės.

Šie duomenys buvo gauti darant tarptautinį metodo efektyvumo charakteristikų tyrimą, vykdytą pagal tarptautines suderintas metodikas.

Tarplaboratorinio tyrimo metai	1 998
Laboratorijų skaičius	16
Mėginių skaičius	10
Analitė	anetolas

▼**M1**

Pastis (anyžių likeris):

Mėginiai	A	B	C	D	E	F
Laboratorijų, atmetus riktus, skaičius	15	15	15	13	16	16
Riktų skaičius (laboratorijų)	1	1	1	3	-	-
Priimtų rezultatų skaičius	30	30	30	26	16	16
Vidutinė vertė g/l	1,477	1,955	1,940	1,833	1,741	1,754
Pakartojamumo standartinis nuokrypis (Sr) g/l	0,022	0,033	0,034	0,017	-	-
Pakartojamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDr) %	1,5	1,7	1,8	0,9	-	-
Pakartojamumo ribinė vertė (r) g/l	0,062	0,093	0,096	0,047	-	-
Atkuriamumo standartinis nuokrypis (SR) g/l	0,034	0,045	0,063	0,037	0,058	0,042
Atkuriamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDR) %	2,3	2,3	3,2	2,0	3,3	2,4
Atkuriamumo ribinė vertė (R) g/l	0,094	0,125	0,176	0,103	0,163	0,119

Mėginių tipas:

A *pastis*, aklieji (nežinomi) dvigubi mėginiai

B *pastis*, aklieji dvigubi mėginiai

C *pastis*, aklieji dvigubi mėginiai

D *pastis*, aklieji dvigubi mėginiai

E *pastis*, pavienis mėginys

F *pastis*, pavienis mėginys

Kiti spiritiniai gėrimai su anyžiumi:

Mėginiai	G	H	I	J
Laboratorijų, atmetus riktus, skaičius	16	14	14	14
Riktų skaičius (laboratorijų)	-	2	1	1
Priimtų rezultatų skaičius	32	28	28	28
Vidutinė vertė g/l	0,778 0,530*	1,742	0,351	0,599
Pakartojamumo standartinis nuokrypis (Sr) g/l	0,020	0,012	0,013	0,014
Pakartojamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDr) %	3,1	0,7	3,8	2,3
Pakartojamumo ribinė vertė (r) g/l	0,056	0,033	0,038	0,038
Atkuriamumo standartinis nuokrypis (SR) g/l	0,031	0,029	0,021	0,030
Atkuriamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDR) %	4,8	1,6	5,9	5,0
Atkuriamumo ribinė vertė (R) g/l	0,088	0,080	0,058	0,084

Mėginių tipas:

G *ouzo* (graikų anyžių spiritinis gėrimas), dviejų skirtingų koncentracijų mėginiai (*)

H *anis* (anyžių degtinė), aklieji dvigubi mėginiai

I likeris su anyžiaus skoniu, dvigubi mėginiai

J likeris su anyžiaus skoniu, dvigubi mėginiai.

▼M1

VI. GLICIRIZO RŪGŠTIS. GLICIRIZO RŪGŠTIES NUSTATYMAS TAIKANT EFEKTYVIOSIOS SKYSČIŲ CHROMATOGRAFIJOS METODĄ

1. **Taikymo sritis**

Šis metodas tinka nustatyti glicirizo rūgščiai spiritiniuose gėrimuose su anyžiumi, taikant efektyviosios skysčių chromatografijos metodą (HPLC). Reglamentas (EEB) Nr. 1576/89 nustato, kad visuose spiritiniuose gėrimuose su anyžiumi, vadinamuose *pastis*, turi būti 0,05–0,5 g/l glicirizo rūgšties.

2. **Normatyvinės nuorodos**

ISO 3696: 1987 Analizės laboratorijų naudojamas vanduo. Specifikacijos ir bandymo metodai.

3. **Metodo esmė**

Glicirizo rūgšties koncentracija nustatoma taikant efektyviosios skysčių chromatografijos metodą (HPLC) ir radimą UV detektoriumi. Etaloninis tirpalas ir mėginys filtruojami ir atskirai įšvirkščiami į HPLC sistemą.

4. **Reagentai ir medžiagos**

Analizei naudokite tik HPLC markės cheminius reagentus, absoliutųjį etanolį ir bent 3 kategorijos vandenį, kaip apibrėžta ISO 3696.

4.1. Etanolis 96 % tūrio (CAS 64-17-5).

4.2. Amonio glicirizatas, C42H62O16.NH3 (glicirizo rūgšties amonio druska)

(Mol. masė – 839,98) (CAS 53956-04-0) – grynumas ne mažesnis kaip 90 %

(Glicirizo rūgšties mol. masė – 822,94).

4.3. Ledinė acto rūgštis, CH3COOH (CAS 64-19-7).

4.4. Metanolis, CH3OH (CAS 67-56-1).

4.5. 50 % tūrio etanolis

Ruošiant 1 000 ml esant 20 °C:

— 96 % tūrio etanolio (4.1) – 521 ml

— vandens (2.0) – 511 ml.

4.6. HPLC eliuavimo tirpalų ruošimas

4.6.1. Eliuavimo tirpiklis A (pavyzdys)

80 dalių (tūrio) vandens (2.0)

20 dalių (tūrio) acto rūgšties (4.3).

Nudujinkite eliuavimo tirpiklį bent penkias minutes.

Pastaba:

Jei naudojamas vanduo nebuvo filtruojamas per mikrofiltrą, patartina paruoštąjį eliuavimo tirpiklį filtruoti per organiniams tirpikliams skirtą filtrą, kurio akučių dydis būtų 0,45 μm arba mažesnis.

4.6.2. Eliuavimo tirpiklis B

Metanolis (4.4).

4.7. Etaloninių tirpalų ruošimas

Po dviejų mėnesių visi etaloniniai tirpalai turi būti ruošiami iš naujo.

4.7.1. Etaloninis tirpalas C

Į 100 ml matavimo kolbą pasverkite 0,1 mg tikslumu 25 mg amonio glicirizato (4.2). Įpilkite truputį 50 % tūrio etanolio (4.5) ir ištirpinkite amonio glicirizatą. Jam ištirpus, praskieskite iki žymės 50 % tūrio etanoliu (4.5).

Filtruokite per organiniams tirpikliams skirtą filtrą.

▼M1

4.7.2. Etaloniniai tirpalai, naudojami prietaisų atsako tiesiškumui tikrinti

Paruošiamas 1,0 g/l pradinis tirpalas, į 100 ml matavimo kolbą 0,1 mg tikslumu pasveriant 25 mg amonio glicirizato. Įpilkite truputį 50 % tūrio etanolio (4.5) ir ištirpinkite amonio glicirizatą. Jam ištirpus, praskieskite iki žymės 50 % tūrio etanoliu (4.5).

Paruošiami bent keturi kiti tirpalai, atitinkantys 0,05, 0,1, 0,25 ir 0,5 g/l amonio glicirizato, į atskiras 100 ml matavimo kolbas pipete įpilant 5 ml, 10 ml, 25 ml ir 50 ml 1,0 g/l pradinio tirpalo. Praskieskite kolbų turinį iki žymės 50 % tūrio etanoliu (4.5) ir gerai sumaišykite.

Visus tirpalus filtruokite per organiniams tirpikliams skirtą filtrą.

5. **Aparatūra ir įranga**

5.1. Atskyrimo sistema

5.1.1. Efektyvusis skysčių chromatografas.

5.1.2. Pumpavimo sistema, kuri labai preciziškai galėtų užtikrinti nekintamo dydžio arba programuojamą srautą.

5.1.3. UV spektrofotometrinio radimo sistema, nustatyta 254 nm bangos ilgiui.

5.1.4. Tirpiklių nudujinimo sistema.

5.2. Skaičiuojamasis integratorius arba savirašis, kurio veikimas būtų suderintas su likusia sistemos dalimi.

5.3. Kolonėlė (pavyzdys):

medžiaga: nerūdijantis plienas arba stiklas,

vidinis skersmuo: 4–5 mm,

ilgis: 100–250 mm,

nejudamoji fazė: tinklinės struktūros silicio dioksido, skiepyto oktadecilo funkcine grupe (C18), dalelės (geriau sferinės), didžiausias dalelių dydis – 5 μm.

5.4. Laboratorijos įranga

5.4.1. Analizinės svarstyklės, preciziškumas – 0,1 mg

5.4.2. A markės tūrio matavimo stikliniai indai

5.4.3. Mažų tūrių filtravimo per mikromembraną įranga.

6. **Chromatografinės analizės sąlygos**

6.1. Eliuavimo charakteristikos: (pavyzdys)

— srautas: 1 ml/min,

— A tirpiklis = 30 %,

— B tirpiklis = 70 %.

6.2. Radimas:

— UV = 254 nm.

7. **Darbo eiga**

7.1. Spiritinio gėrimo mėginio ruošimas

Jei būtina, filtruokite per organiniams tirpikliams skirtą filtrą (akučių skersmuo – 0,45 μm).

7.2. Nustatymas

Nusistovėjus chromatografinės analizės sąlygoms:

— įšvirkškite 20 μl etaloninio C tirpalo C (4.7.1),

— įšvirkškite 20 μl mėginio tirpalo,

— palyginkite abi chromatogramas. Identifikuokite glicirizo rūgšties smailes pagal jų sulaikymo trukmę. Išmatuokite jų plotą (arba aukštį) ir koncentraciją g/l, dviejų skaičių po kablelio tikslumu, apskaičiuokite pagal šią formulę:

▼M1

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

čia:

c analizuojamo spiritinio gėrimo glicirizo rūgšties koncentracija gramais litre

C etaloninio amonio glicirizato tirpalo koncentracija gramais litre

h glicirizo rūgšties analizuojamame spiritiniame gėrime smailės plotas (arba aukštis)

H glicirizo rūgšties etaloniniame tirpale smailės plotas (arba aukštis)

P etaloninio amonio glicirizato grynumas %

823 glicirizo rūgšties molio masė

840 amonio glicirizato molio masė.

8. **Metodo efektyvumo charakteristikos (preciziškumas)**

Statistiniai tarplaboratorinio tyrimo rezultatai:

šioje lentelėje pateiktos glicirizo rūgščiai gautos vertės.

Šie duomenys buvo gauti darant tarptautinį metodo efektyvumo charakteristikų tyrimą, vykdytą pagal tarptautines suderintas metodikas.

Tarplaboratorinio tyrimo metai	1 998
Laboratorijų skaičius	16
Mėginių skaičius	5
Analitė	gl ici riz o r ūgš tis

Mėginiai	A	B	C	D	E
Laboratorijų, atmetus riktus, skaičius	13	14	15	16	16
Riktų skaičius (laboratorijų)	3	2	1	–	–
Priimtų rezultatų skaičius	26	28	30	32	32
Vidutinė vertė g/l	0,046	0,092 *0,099	0,089	0,249	0,493
Pakartojamumo standartinis nuokrypis (Sr) g/l	0,001	0,001	0,001	0,002	0,003
Pakartojamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDr) %	1,5	1,3	0,7	1,0	0,6
Pakartojamumo ribinė vertė (r) g/l	0,002	0,004	0,002	0,007	0,009
Atkuriamumo standartinis nuokrypis (SR) g/l	0,004	0,007	0,004	0,006	0,013
Atkuriamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDR) %	8,6	7,2	4,0	2,5	2,7
Atkuriamumo ribinė vertė (R) g/l	0,011	0,019	0,010	0,018	0,037

Mėginių tipas:

A *pastis*, aklieji dvigubi mėginiai

B *pastis*, dviejų skirtingų koncentracijų mėginiai (*)

C *pastis*, aklieji dvigubi mėginiai

D *pastis*, aklieji dvigubi mėginiai

E *pastis*, aklieji dvigubi mėginiai

▼M1

VII. **CHALKONAI. EFEKTYVIOSIOS SKYSČIŲ CHROMATOGRAFIJOS METODAS TIKRINANT CHALKONŲ BUVIMĄ ANYŽIŲ LIKERYJE**

1. **Taikymo sritis**

Šis metodas tinka nustatyti, ar gėrimuose su anyžiaus skoniu yra chalkonų. Chalkonai –natūralieji flavonoidų šeimos dažikliai, kurių yra saldymedžio šaknyje (*Glycyrrhiza glabra*).

Kad spiritinis gėrimas su anyžiumi galėtų vadintis *pastis*, jame turi būti chalkonų (Reglamentas (EEB) Nr. 1576/89).

2. **Normatyvinės nuorodos**

ISO 3696: 1987 Analizės laboratorijų naudojamas vanduo. Specifikacijos ir bandymo metodai.

3. **Metodo esmė**

Paruošiamas etaloninis saldymedžio šaknies ekstrakto tirpalas. Chalkonų buvimas arba nebuvimas nustatomas taikant efektyviosios skysčių chromatografijos metodą (HPLC) ir radimą UV detektoriumi.

4. **Reagentai ir medžiagos**

Analizei naudokite tik HPLC markės cheminius reagentus. Etanolis turi būti 96 % tūrio. Turi būti naudojamas bent 3 kategorijos vanduo, kaip apibrėžta ISO 3696

4.1. Etanolis 96 % tūrio (CAS 64-17-5)

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

4.3. Etaloninė medžiaga: *Glycyrrhiza glabra,*„saldymedžio šaknis“

Rupiai sumalkite saldymedžio šaknis (*Glycyrrhiza glabra*). Vidutiniai strypelių pavidalo dalelių matmenys: ilgis: 10–15 mm, storis: 1–3 mm.

4.4. Natrio acetatas, CH3COONa (CAS 127-09-3)

4.5. Ledinė acto rūgštis, CH3COOH (CAS 64-19-7)

4.6. Tirpalų ruošimas

4.6.1. 50 % tūrio etanolis

Ruošiant 1 000 ml esant 20 °C:

— 96 % tūrio etanolio (4.1) – 521 ml,

— vandens (2.0) – 511 ml.

4.6.2. A tirpiklis: acetonitrilas

HPLC analizinio grynumo acetonitrilas (4.2).

Nudujinkite.

4.6.3. B tirpiklis: 0,1 M natrio acetato buferinis tirpalas, pH 4,66

Pasverkite 8,203 g natrio acetato (4.4), įpilkite 6,005 g ledinės acto rūgšties (4.5) ir matavimo kolboje praskieskite vandeniu (2) iki 1 000 ml.

5. **Etaloninio *Glycyrrhiza glabra* ekstrakto ruošimas (4.3)**

5.1. Pasverkite 10 g sumaltų saldymedžio šaknų (*Glycyrrhiza glabra*) (4.3) ir supilkite į apvaliadugnę distiliavimo kolbą,

— įpilkite 100 ml 50 % tūrio etanolio (4.6.1),

— vieną valandą virinkite su grįžtamuoju šaldytuvu,

— filtruokite,

— – filtratą padėkite į šalį vėlesniam naudojimui.

5.2. Surinkite ekstrahuojamas saldymedžio šaknis nuo filtro,

— supilkite jas į apvaliadugnę distiliavimo kolbą,

— įpilkite 100 ml 50 % tūrio etanolio (4.6.1),

▼M1

— vieną valandą virinkite su grįžtamuoju šaldytuvu,

— filtruokite. Filtratą padėkite į šalį vėlesniam naudojimui.

5.3. Saldymedžio šaknys turi būti ekstrahuojamos tris kartus.

5.4. Sujunkite tris filtratus.

5.5. Išgarinkite tirpiklį (5.4) sukamuoju garintuvu.

5.6. Ekstrakto likutį (5.5) surinkite, sunaudodami 100 ml 50 % tūrio etanolio (4.6.1).

6. **Aparatūra ir įranga**

6.1. Atskyrimo sistema.

6.1.1. Efektyvusis skysčių chromatografas.

6.1.2. Pumpavimo sistema, kuri galėtų užtikrinti nekintamo dydžio arba programuojamą srautą esant dideliam slėgiui.

6.1.3. UV/regimosios šviesos spektrofotometrinio radimo sistema, kuri gali būti nustatyta 254 ir 370 nm bangos ilgiui.

6.1.4. Tirpiklių nudujinimo sistema.

6.1.5. Kolonėlės krosnis, kuri gali būti nustatyta 40 ± 0,1 °C temperatūrai.

6.2. Skaičiuojamasis integratorius arba savirašis, kurio veikimas būtų suderintas su likusia sistemos dalimi.

6.3. Kolonėlė:

medžiaga: nerūdijantis plienas arba stiklas,

vidinis skersmuo: 4–5 mm,

nejudamoji fazė: tinklinės struktūros silicio dioksido, skiepyto oktadecilo funkcine grupe (C18), dalelės (geriau sferinės), didžiausias dalelių dydis – 5 μm (tinklinės struktūros fazės).

6.4. Įprasta laboratorinė įranga, įskaitant:

6.4.1. analizines svarstykles (preciziškumas: ± 0,1 mg);

6.4.2. distiliavimo aparatą su grįžtamuoju kondensatoriumi, kurį sudaro, pvz.:

— 250 ml apvaliadugnė kolba su standartine šlifo jungtimi,

— 30 cm ilgio grįžtamasis kondensatorius ir

— šilumos šaltinis (naudojant tinkamą įrangą būtina išvengti bet kokios pirogeninės reakcijos, kurioje dalyvautų ekstrahuojama medžiaga).

6.4.3. Sukamąjį garintuvą.

6.4.4. Filtravimo įranga (t. y. Biuchnerio piltuvas).

6.5. Chromatografinės analizės sąlygos (pavyzdys).

6.5.1. A (4.6.2) ir B (4.6.3) tirpiklių eliuavimo charakteristikos:

— gradientinis eliuavimas: kitimas nuo 20/80 (V/V) iki 50/50 (V/V) per 15 minučių,

— gradientinis eliuavimas: kitimas nuo 50/50 (V/V) iki 75/25 (V/V) per penkias minutes,

— eliuavimas esant nekintamai 75/25 (V/V) judančiosios fazės sudėčiai, trukmė penkios minutės,

— kolonėlės stabilizavimas tarp mėginių įšvirkštimo,

— eliuavimas esant nekintamai 20/80 (V/V) judančiosios fazės sudėčiai, trukmė penkios minutės.

6.5.2. Srautas – 1 ml/min

6.5.3. UV detektoriaus nustatomieji parametrai:

chalkonams rasti detektorius turi būti nustatytas 370 nm, vėliau glicirizo rūgščiai nustatomas 254 nm.

▼M1

Pastaba.

Bangos ilgis turi būti pakeistas (370 nm į 254 nm) 30 sekundžių prieš glicirizo rūgšties eliuavimo smailės atsiradimą.

7. **Darbo eiga**

7.1. Spiritinio gėrimo mėginio ruošimas

Filtruokite per organiniams tirpikliams skirtą filtrą (akučių skersmuo – 0,45 μm).

7.2. Saldymedžio šaknų ekstrakto likučio (5.6) ruošimas

Prieš analizę praskieskite santykiu vienas ir dešimt 50 % tūrio etanoliu (4.6.1).

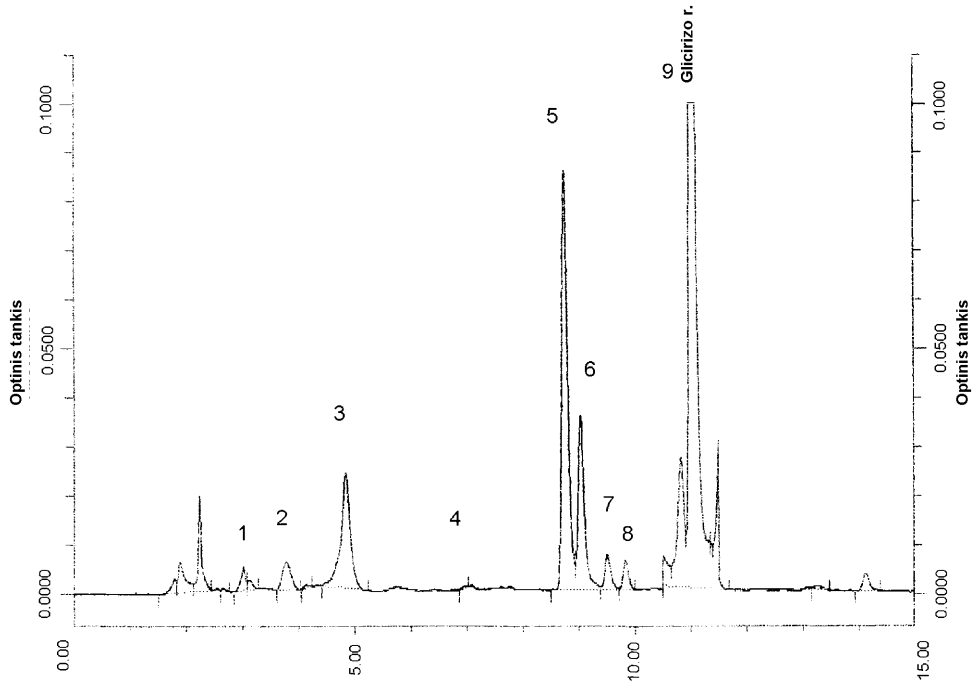
7.3. Nustatymas

7.3.1. Įšvirkškite 20 μl paruošto saldymedžio ekstrakto (7.2). Analizuokite, naudodami pirmiau aprašytas chromatografinės analizės sąlygas (6.5).

7.3.2. Įšvirkškite 20 μl mėginio (7.1) (spiritinio gėrimo su anyžiaus skoniu mėginys). Analizuokite, naudodami pirmiau aprašytas chromatografinės analizės sąlygas (6.5).

7.3.3. Palyginkite abi chromatogramas. Chromatogramos chalkonų išėjimo srityje turi būti labai panašios (nustatymas esant 370 nm ir pirmiau aprašytoms analizės sąlygoms) (žr. 1 paveikslą).

8. ***Pastis* gėrimui būdinga chromatograma**



9. **Metodo efektyvumo charakteristikos (preciziškumas)**

Tarplaboratorinio tyrimo rezultatai:

šioje lentelėje rodomas chalkonų buvimo arba nebuvimo *pastis* ir anyžių skonio spiritiniuose gėrimuose nustatymo metodo efektyvumas.

Šie duomenys buvo gauti darant tarptautinį metodo efektyvumo charakteristikų tyrimą, vykdytą pagal tarptautines suderintas metodikas.

Tarplaboratorinio tyrimo metai	1 998
Laboratorijų skaičius	14
Mėginių skaičius	11
Analitė	cha lko nai

▼**M1**

Mėginiai	A	B	C	D	E	F
Laboratorijų, atmetus riktus, skaičius	14	14	14	14	14	13
Riktų skaičius (laboratorijų)	-	-	-	-	-	1 (*)
Priimtų rezultatų skaičius	28	14	14	28	28	26
Rezultatų, rodančių chalkonų buvimą, skaičius	28	14	14	0	28	0
Rezultatų, rodančių chalkonų nebuvimą, skaičius	0	0	0	28	0	26
Teisingų rezultatų procentinė dalis %	100	100	100	100	100	100

(*) Prieštaraujantys dvigubo mėginio rezultatai, aiškinami klaida, padaryta imant mėginį.

Mėginiai	G	H	I	J	K
Laboratorijų, atmetus riktus, skaičius	14	14	14	14	14
Riktų skaičius (laboratorijų)	-	-	-	-	-
Patvirtintų rezultatų skaičius	28	14	14	28	28
Rezultatų, rodančių chalkonų buvimą, skaičius	0	0	0	0	0
Rezultatų, rodančių chalkonų nebuvimą, skaičius	28	14	14	28	28
Teisingų rezultatų procentinė dalis %	100	100	100	100	100

Mėginių tipas:

A *pastis*, aklieji dvigubi mėginiai

B *pasti*s, pavienis mėginys

C *pastis*, pavienis mėginys

D *pastis* (be chalkonų), aklieji dvigubi mėginiai

E *pastis* (be chalkonų), aklieji dvigubi mėginiai

F likeris su anyžiaus skoniu (be chalkonų), aklieji dvigubi mėginiai

G likeris su anyžiaus skoniu (be chalkonų), aklieji dvigubi mėginiai

H *ouzo* (be chalkonų), pavienis mėginys

I *ouzo* (be chalkonų), pavienis mėginys

J *anis* (be chalkonų), aklieji dvigubi mėginiai

K *pastis* (be chalkonų), aklieji dvigubi mėginiai.

▼M1

IX. **KIAUŠINIO TRYNYS. KIAUŠINIO TRYNIO KONCENTRACIJOS SPIRITINIUOSE GĖRIMUOSE NUSTATYMAS – FOTOMETRINIS METODAS**

1. **Taikymo sritis**

Šis metodas tinka nustatyti trynio koncentraciją kiaušininiame likeryje ir likeryje su kiaušiniu 40–250 g/l intervale.

2. **Normatyvinės nuorodos**

ISO 3696: 1987 Analizės laboratorijų naudojamas vanduo. Specifikacijos ir bandymo metodai.

3. **Metodo esmė**

Kiaušinio trynyje esantys etanolyje tirpūs fosforo junginiai ekstrahuojami ir analizuojami fotometriškai kaip fosforo molibdatinis kompleksas.

4. **Reagentai ir medžiagos**

4.1. Du kartus distiliuotas vanduo

4.2. Diatomitas

4.3. 96 % tūrio etanolis (CAS 64-17-5)

4.4. 15 % magnio acetato (CAS 16674-78-5) tirpalas

4.5. 10 % sieros rūgšties (CAS 7664-93-9) tirpalas

4.6. 1 N sieros rūgšties tirpalas

4.7. 0,16 g/l kalio dihidrofosfato (CAS 778-77-0), KH2PO4, tirpalas

4.8. Reagentas fosfatui nustatyti:

20 g amonio molibdato (CAS 12054-85-2), (NH4)6Mo7O24.4H2O, ištirpinkite 400 ml vandens esant 50 °C;

kitame inde 1 g amonio vanadato (CAS 7803-55-6), NH4VO3, ištirpinkite 300 ml karšto vandens, duokite tirpalui ataušti ir įpilkite į jį 140 ml koncentruotos azoto rūgšties (CAS 7697-37-2). Supilkite abu ataušintus tirpalus į vieną 1 000 ml matavimo kolbą ir praskieskite iki žymės.

5. **Aparatūra ir įranga**

5.1. 100 ml kūginė kolba

5.2. Ultragarso vonia (arba magnetinė maišyklė)

5.3. 100 ml matavimo kolba

5.4. 20 °C vandens vonia

5.5. Filtras (vatmanas Nr. 4 arba lygiavertis)

5.6. Porcelianinis (arba platininis) tiglis

5.7. Verdančio vandens vonia

5.8. Kaitinamoji plokštė

5.9. Mufelinė krosnis

5.10. 50 ml matavimo kolba

5.11. 20 ml matavimo kolba

5.12. Spektrofotometras, nustatytas 420 nm bangos ilgiui

5.13. 1 cm kiuvetė.

6. **Mėginiai**

Prieš analizę mėginiai laikomi esant kambario temperatūrai.

7. **Darbo eiga**

7.1. Mėginių ruošimas

7.1.1. 100 ml kūginę kolbą (5.1) pasverkite 10 g mėginio.

▼M1

7.1.2. Lėtai mažomis porcijomis įpilkite 70 ml etanolio (4.3), po kiekvieno pridėjimo sukiodami kolbą, ir 15 min pastatykite į ultragarso vonią (5.2) (arba 10 min maišykite magnetine maišykle (5.2) esant kambario temperatūrai).

7.1.3. Kūginės kolbos turinį perneškite į 100 ml matavimo kolbą (5.3), plaudami etanoliu (4.3). Praskieskite etanoliu (4.3) iki žymės ir pastatykite kolbas į 20 °C vandens vonią (5.4). Praskieskite iki tūrio kalibravimo žymės esant 20 °C.

7.1.4. Įdėkite truputį diatomito (4.2) ir filtruokite (5.5), išpildami pirmuosius 20 ml.

7.1.5. 25 ml filtrato įpilkite į porcelianinį (arba platininį) tiglį (5.6). Filtratas turi būti koncentruojamas, lėtai garinant verdančio vandens vonioje (5.7), pridėjus 5 ml 15 % magnio acetato tirpalo (4.4).

7.1.6. Pastatykite tiglius ant kaitinamosios plokštės (5.8) ir kaitinkite tol, kol susidaro sausas likutis.

7.1.7. Likutį iškaitinkite mufelinėje krosnyje (5.9) esant 600 °C tol, kol pelenai tampa baltais, bet ne trumpiau kaip pusantros valandos, tačiau galima palikti pernakt.

7.1.8. Pelenus ištirpinkite 10 ml 10 % sieros rūgšties (4.5), tirpalą perneškite į 50 ml matavimo kolbą (5.10), nuplaudami distiliuotu vandeniu (4.1), ir praskieskite distiliuotu vandeniu (4.1) iki žymės esant kambario temperatūrai. Šio pelenų tirpalo 5 ml alikvotinė dalis turi būti naudojama fotometrinei analizei skirto mėginio tirpalui paruošti.

7.2. Fotometrinis fosfato nustatymas

7.2.1. Palyginamasis tirpalas

7.2.1.1. 50 ml matavimo kolbą (5.10) įpilkite 10 ml 10 % sieros rūgšties (4.5) ir distiliuotu vandeniu (4.1) praskieskite iki žymės.

7.2.1.2. 20 ml matavimo kolbą (5.11) įpilkite 5 ml šio tirpalo (7.2.1.1), 1 ml 1 N sieros rūgšties (4.6), 2 ml fosfato reagento (4.8) ir iki 20 ml praskieskite distiliuotu vandeniu (4.1).

7.2.1.3. Užkimškite laisvai įstatytų kamščiu, supurtykite, 10 min šildykite verdančio vandens vonioje (5.7) ir 20 min aušinkite 20 °C vandens vonioje (5.4).

7.2.1.4. Šio palyginamojo tirpalo įpilkite į 1 cm kiuvetę (5.13).

7.2.2. Mėginio tirpalas

7.2.2.1. 20 ml matavimo kolbą (5.11) įpilkite pelenų tirpalo (7.1.8) 5 ml alikvotinę dalį, 1 ml 1 N sieros rūgšties (4.6), 2 ml fosfato reagento (4.8) ir iki 20 ml praskieskite distiliuotu vandeniu (4.1).

7.2.2.2. Užkimškite laisvai įstatytų kamščiu, supurtykite, 10 min šildykite verdančio vandens vonioje (5.7) ir 20 min aušinkite 20 °C vandens vonioje (5.4).

7.2.2.3. Gautą geltonos spalvos tirpalą iš karto analizuokite spektrofotometru (5.12) 1 cm storio kiuvetėje (5.13) esant 420 nm bangos ilgiui, palyginamuoju tirpalu naudodami (7.2.1.4) tirpalą.

7.2.3. Kalibravimo kreivė

7.2.3.1. Kalibravimo kreivei gauti į 20 ml matavimo kolbas (5.11) įpilkite 2 ml alikvotinę fosfato reagento tirpalo (4.8) dalį, į kiekvieną po 1 ml 1 N sieros rūgšties (4.6) ir 0, 2, 4, 6, 8, ir 10 ml kalio dihidrofosfato tirpalo (4.7) ir distiliuotu vandeniu (4.1) praskieskite iki 20 ml žymės.

7.2.3.2. Užkimškite laisvai įstatytų kamščiu, supurtykite, 10 min šildykite verdančio vandens vonioje (5.7), 20 min aušinkite 20 °C vandens vonioje (5.4) ir analizuokite spektrofotometru (5.12) 1 cm storio kiuvetėje (5.13) esant 420 nm bangos ilgiui, ir palyginamuoju tirpalu naudodami (7.2.1.4) tirpalą.

7.2.3.3. Kalibravimo kreivės gavimas:

Natrio dihidrofosfato tirpalas (ml)	0	2	4	6	8	10
P2O5 (mg)	0	0,167	0,334	0,501	0,668	0,835

▼M1

8. **Rezultatų apskaičiavimas**

Kiaušinio trynio kiekis g/l apskaičiuojamas pagal šią formulę:

$$\text{kiaušinio trynio kiekis g/l} = \text{mg } P_2O_5 \times \frac{110 \times \text{density}}{E/40}$$

čia:

110	suminio P2O5 kiekio g 100 g kiaušinio trynio perskaičiavimo faktorius
mg P2O5	vertė, gauta pagal kalibravimo kreivę
tankis	kiaušininio likerio tūrio vieneto masė (g/ml) esant 20 °C
E	kiaušininio likerio masė g
40	5 ml pelenų tirpalo alikvotinės dalies praskiedimo faktorius.

9. **Metodo efektyvumo charakteristikos (preciziškumas)**

Statistiniai tarplaboratorinio tyrimo rezultatai:

šioje lentelėje pateiktos kiaušinio tryniui gautos vertės.

Šie duomenys buvo gauti darant tarptautinį metodo efektyvumo charakteristikų tyrimą, vykdytą pagal tarptautines suderintas metodikas.

Tarplaboratorinio tyrimo metai	1 998
Laboratorijų skaičius	24
Mėginių skaičius	5
Analitė	kiaušinio trynys

Mėginiai	A	B	C	D	E
Laboratorijų, atmetus riktus, skaičius	19	20	22	20	22
Riktų skaičius (laboratorijų)	3	4	2	4	2
Priimtų rezultatų skaičius	38	40	44	40	44
Vidutinė vertė	147,3	241,1	227,4	51,9 (*) 72,8 (*)	191,1
Pakartojamumo standartinis nuokrypis (Sr) g/l	2,44	4,24	3,93	1,83	3,25
Pakartojamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDr) %	1,7	1,8	1,8	2,9	1,7
Pakartojamumo ribinė vertė (r) g/l	6,8	11,9	11,0	5,1	9,1
Atkuriamumo standartinis nuokrypis (SR) g/l	5,01	6,06	6,66	3,42	6,87
Atkuriamumo santykinis standartinis nuokrypis (RSDR) %	3,4	2,5	2,9	5,5	3,6
Atkuriamumo ribinė vertė (R) g/l	14,0	17,0	18,7	9,6	19,2

Mėginių tipai

A *Advocaat* (kiaušininis likeris), aklieji dvigubi mėginiai

B *Advocaat*, aklieji dvigubi mėginiai

▼**M1**

C *Advocaat*, aklieji dvigubi mėginiai

D *Advocaat* (praskiestas), dviejų skirtingų koncentracijų mėginiai (*)

E *Advocaat*, aklieji dvigubi mėginiai