Šis dokuments ir izveidots vienīgi dokumentācijas nolūkos, un iestādes neuzņemas nekādu atbildību par tā saturu

►**B**

KOMISIJAS REGULA (EK) Nr. 2870/2000

(2000. gada 19. decembris),

ar ko nosaka Kopienas etalonmetodes alkoholisko dzērienu analīzei

(OV L 333, 29.12.2000, lpp. 20)

Grozīta ar:

		Oficiālais Vēstnesis		
		Nr.	Lappuse	Datums
►**M1**	Komisijas Regula (EK) Nr. 2091/2002 (2002. gada 26. novembris)	L 322	11	27.11.2002

▼B

KOMISIJAS REGULA (EK) Nr. 2870/2000

(2000. gada 19. decembris),

ar ko nosaka Kopienas etalonmetodes alkoholisko dzērienu analīzei

EIROPAS KOPIENU KOMISIJA,

ņemot vērā Eiropas Kopienas dibināšanas līgumu,

ņemot vērā Padomes 1989. gada 29. maija Regulu (EEK) Nr. 1576/89 par vispārīgajiem noteikumiem alkoholisko dzērienu definīcijai, aprakstam un noformējumam [1], kura grozīta ar Austrijas, Somijas un Zviedrijas Pievienošanās aktu, un jo īpaši tās 4. panta 8. punktu,

tā kā:

(1) Regulas (EEK) Nr. 1576/89 4. panta 8. punktā ir paredzēts pieņemt metodes, kas izmantojamas, analizējot alkoholiskos dzērienus. Analīzes etalonmetodes vajadzētu izmantot, lai, veicot jebkādu oficiālu pārbaudi, vai gadījumā, ja radušās domstarpības, nodrošinātu atbilstību Regulai (EEK) Nr. 1576/89 un Komisijas 1990. gada 24. aprīļa Regulai (EEK) Nr. 1014/90, ar ko noteiktas sīki izstrādātas īstenošanas normas alkoholisko dzērienu definīcijai, aprakstam un noformējumam [2], kurā jaunākie grozījumi izdarīti ar Regulu (EK) Nr. 2140/98 [3].

(2) Ciktāl iespējams, būtu lietderīgi kā Kopienas analīzes etalonmetodes pieņemt un aprakstīt vispārēji atzītas metodes.

(3) Lai ņemtu vērā jaunākās zinātnes atziņas un atšķirības oficiālo laboratoriju aprīkojumā, tādu metožu izmantošana, kas balstās uz tādiem mērījumu principiem, kas nav šā dokumenta pielikumā aprakstītās analīzes etalonmetodes, būtu jāatļauj, par to atbildot laboratorijas vadītājam, ja šādas metodes sniedz adekvātas garantijas attiecībā uz rezultātiem un jo īpaši atbilst tādiem kritērijiem, kas noteikti pielikumā Padomes 1985. gada 20. decembra Direktīvai 85/591/EEK par kopienas metožu ieviešanu attiecībā uz paraugu ņemšanu un analīzi cilvēku uzturā lietojamo pārtikas produktu kontrolei [4], un ja var parādīt, ka iegūto rezultātu svārstības attiecībā uz to precizitāti, pašatkārtojamību un citatkārtojamību atrodas tādu rezultātu robežās, ko iegūst, izmantojot šajā regulā aprakstītās analīzes etalonmetodes. Ja ir izpildīts šis nosacījums, citu metožu izmantošana būtu jāatļauj. Tomēr ir svarīgi norādīt uz to, ka domstarpību gadījumā analīzes etalonmetodes nevar tikt aizstātas ar citām metodēm.

(4) Šajā regulā paredzētie pasākumi ir saskaņā ar Alkoholisko dzērienu aprites komitejas atzinumu,

IR PIEŅĒMUSI ŠO REGULU.

1. pants

Kopienas etalonmetodes alkoholisko dzērienu analīzei atbilstīgi Regulas (EEK) Nr. 1576/89 un Regulas (EEK) Nr. 1014/90 noteikumiem:

— veicot jebkādu oficiālu pārbaudi, vai

— gadījumā, ja radušās domstarpības,

---

[1] OV L 160, 12.6.1989., 1. lpp.
[2] OV L 105, 25.4.1990., 9. lpp.
[3] OV L 270, 7.10.1998., 9. lpp.
[4] OV L 372, 31.12.1985., 50. lpp.

▼B

ir šīs regulas pielikumā izklāstītās metodes.

2. pants

Atkāpjoties no 1. panta pirmajā ievilkumā noteiktajām prasībām, būtu jāatļauj, par to atbildot laboratorijas vadītājam, izmantot arī citas analīzes metodes, ar nosacījumu, ka šo metožu precizitāte un ticamība (to pašatkārtojamība un citatkārtojamība) ir vismaz ekvivalenta tādai precizitātei un ticamībai, kāda piemīt attiecīgajām analīzes etalonmetodēm, kas sniegtas šīs regulas pielikumā.

3. pants

Gadījumā, kad nav pieņemtas Kopienas analīzes etalonmetodes kādā konkrētā alkoholiskajā dzērienā ietilpstošo vielu atklāšanai un to daudzuma noteikšanai, izmanto šādas metodes:

a) tādas analīzes metodes, kas ir apstiprinātas par starptautiski atzītām procedūrām un konkrēti atbilst tiem kritērijiem, kas noteikti Direktīvas 85/591/EEK pielikumā;

b) tādas analīzes metodes, kas atbilst standartiem, ko ieteikusi Starptautiskā standartizācijas organizācija (*ISO*);

c) tādas analīzes metodes, ko atzinusi Starptautiskā vīna dārzu un vīnu biroja (SVB) Ģenerālā asambleja un ko šis birojs ir publicējis;

d) gadījumā, ja nav tādu metožu, kā norādīts a), b) vai c) punktā, tad, ievērojot apsvērumus attiecībā uz tālāk minētās konkrētās metodes precizitāti, pašatkārtojamību un citatkārtojamību, izmanto:

   — kādu dalībvalsts apstiprinātu analīzes metodi,

   — vajadzības gadījumā – jebkuru citu piemērotu analīzes metodi.

4. pants

Šajā regulā:

a) "pašatkārtojamības robeža": ir tāda vērtība, par kuru mazākas vai ar kuru vienādas vērtības gadījumā absolūto starpību starp diviem testa rezultātiem, kas iegūti pašatkārtojamības apstākļos (tas pats laborants, tā pati iekārta, tā pati laboratorija un īss starplaiks), var sagaidīt ar varbūtību 95 % {ISO 3534-1};

b) "citatkārtojamības robeža": ir tāda vērtība, par kuru mazākas vai ar kuru vienādas vērtības gadījumā absolūto starpību starp diviem testa rezultātiem, kas iegūti citatkārtojamības apstākļos (dažādi laboranti, dažādas iekārtas un dažādas laboratorijas), var sagaidīt ar varbūtību 95 % {ISO 3534-1};

c) "precizitāte": ir precizitātes pakāpe, kādā testa rezultāts saskan ar apstiprināto atsauces vērtību {ISO 3534-1}.

5. pants

Šī regula stājas spēkā septītajā dienā pēc tās publicēšanas *Eiropas Kopienu Oficiālajā Vēstnesī*.

To piemēro no 2001. gada 1. janvāra.

Šī regula uzliek saistības kopumā un ir tieši piemērojama visās dalībvalstīs.

▼B

PIELIKUMS

ANALĪZES ETALONMETOŽU APRAKSTS

I	Spirta tilpumkoncentrācijas noteikšana
	I papildinājums: Destilāta sagatavošana
	II papildinājums: Destilāta blīvuma mērīšana
	— Metode "A" = piknometrija
	— Metode "B" = elektroniskā densimetrija
	— Metode "C" = hidrostatiskā svēršana
II	Kopējā sausā ekstrakta noteikšana ar gravimetrijas palīdzību
III	Gaistošo vielu un metanola noteikšana
III.1.	Vispārīgie norādījumi
III.2.	Radniecīgas gaistošās vielas: aldehīdi, augstākie spirti, etilacetāts un metanols (gāzu hromatogrāfija)
III.3.	Gaistošo skābju saturs (p.m.)
IV	Zilskābe (p.m.)
V	Anetols ►M1 ——————— ◄
VI	Glicirizīnskābe ►M1 ——————— ◄
VII	Halkons ►M1 ——————— ◄
VIII	Kopējie cukuri (p.m.)
IX	Olas dzeltenums ►M1 ——————— ◄

▼B

I SPIRTA TILPUMKONCENTRĀCIJAS NOTEIKŠANA ALKOHOLISKAJOS DZĒRIENOS

Ievads

Analīzes etalonmetode ietver sevī divus papildinājumus:

I papildinājums: Destilāta sagatavošana

II papildinājums: Destilāta blīvuma mērīšana

1. **Joma**

Šī metode ir piemērota, lai noteiktu faktisko spirta tilpumkoncentrāciju alkoholiskajos dzērienos.

2. **Normatīvās atsauces**

ISO 3696:1987: Ūdens laboratorijas analīzēm – Specifikācijas un testu metodes.

3. **Termini un definīcijas**

3.1. *Standarta temperatūra*:

Standarta temperatūra, kurā nosaka alkoholisko dzērienu spirta tilpumkoncentrāciju, blīvumu un īpatnējo masu, ir 20 °C.

1. piezīme: Formulējums "°C grādu temperatūrā" tiek rezervēts visa veida (blīvuma vai spirta tilpumkoncentrācijas) noteikšanai, kas izteikta kādā temperatūrā, kura nav standarta temperatūra 20 °C grādi.

3.2. *Blīvums*:

Blīvums ir alkoholisko dzērienu masa uz tilpuma vienību vakuumā 20 °C temperatūrā. To izsaka kilogramos uz kubikmetru un apzīmē ar simbolu $\rho_{20\ °C}$ vai ρ_{20}.

3.3. *Īpatnējā masa*:

Īpatnējā masa ir decimālskaitļa veidā izteikta attiecība starp alkoholisko dzērienu blīvumu 20 °C temperatūrā pret ūdens blīvumu tādā pat temperatūrā. To apzīmē ar simbolu $d_{20\ °C/20\ °C}$ vai $d_{20/20}$, vai vienkārši d, ja tas nevar izraisīt neskaidrības. Pārbaudes sertifikātā jānorāda uz izmērītajiem raksturlielumiem, izmantojot vienīgi iepriekš definētos simbolus.

2. piezīme: Īpatnējo masu var iegūt no blīvuma ρ_{20}, kāds ir 20 °C temperatūrā:

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

kur 998,203 ir ūdens blīvums 20°C temperatūrā.

3.4. *Faktiskā spirta tilpumkoncentrācija*:

Faktiskā spirta tilpumkoncentrācija alkoholiskajos dzērienos atbilst etilspirta litru daudzumam, kādu satur 100 l ūdens un spirta maisījuma ar tādu pat blīvumu, kāds piemīt alkoholam vai spirtam pēc destilācijas. Par standarta lielumiem, kas izsaka spirta tilpumkoncentrāciju (% tilp.) 20 °C temperatūrā dažādos ūdens un spirta maisījumos attiecībā pret to blīvumu 20 °C temperatūrā, lietojami tie lielumi, kas sniegti starptautiskajā tabulā, ko Starptautiskā reglamentētās metroloģijas organizācija ir pieņēmusi savā ieteikumā Nr. 22.

Vispārējā formula attiecībā uz ūdens un spirta maisījuma spirta tilpumkoncentrāciju un blīvumu kādā noteiktā temperatūrā ir dota 40. lappusē Komisijas Regulas (EEK) Nr. 2676/90 pielikuma 3. sadaļā "Spirta tilpumkoncentrācija" (OV L 272, 3.10.1990., 1. lpp.) vai Starptautiskā vīna dārzu un vīnu biroja analīzes metožu 1994. gada rokasgrāmatā (17. lpp.).

3. piezīme: Attiecībā uz liķieriem un krēmiem, kam ir ļoti grūti precīzi izmērīt tilpumu, paraugs jānosver, un vispirms tiek noteikta spirta masas koncentrācija.

▼B

Pārrēķina formula:

$$\text{Spirta koncentrācija (\% tilp.)} = \frac{\text{ASM(\% mass)} \times P_{20}\,\text{(sample)}}{P_{20}\,\text{(alcohol)}}$$

kur

ASM = spirta masas koncentrācija,

ρ_{20} *(spirtam)* = 789,24 kg/m^3

4. **Princips**

Pēc destilācijas pabeigšanas spirta tilpumkoncentrāciju destilātā nosaka, pielietojot piknometriju, elektronisko densimetriju vai hidrostatisko svēršanu.

▼B

I PAPILDINĀJUMS: DESTILĀTA sSAGATAVOŠANA

1. **Joma**

Šī metode ir piemērota, lai sagatavotu destilātu, kas lietojams faktiskās spirta tilpumkoncentrācijas noteikšanai alkoholiskajos dzērienos.

2. **Princips**

Spirtus destilē nolūkā atdalīt etilspirtu un citus viegli gaistošus savienojumus no nedestilējamām ekstraktvielām (vielām, kuras nepārtvaicējas).

3. **Reaģenti un materiāli**

3.1. Viršanas ķermenīšu granulas.

3.2. Koncentrēta emulsija putu novēršanai (krēma liķieriem).

4. **Iekārtas un aprīkojums**

Parastās laboratorijas iekārtas un jo īpaši šādas:

4.1. Ūdens vanna, kurā var uzturēt temperatūru no 10 °C līdz 15 °C.

Ūdens vanna, kurā var uzturēt temperatūru 20 °C (± 0,2 °C).

4.2. "A" klases 100 ml un 200 ml tilpuma mērkolbas, kas sertificētas attiecībā uz precizitāti līdz 0,1 % un, attiecīgi, 0,15 %.

4.3. Destilācijas iekārta:

4.3.1. Vispārīgas prasības.

Destilācijas iekārtai jāatbilst šādām prasībām:

— savienojumu skaits nedrīkst pārsniegt mazāko daudzumu, kāds obligāti vajadzīgs, lai nodrošinātu sistēmas hermētiskumu,

— iekļaujama ierīce, kas paredzēta, lai novērstu putošanos (tvaikiem uztverot verdošo šķidrumu) un noregulētu pārtvaices līmeni augsta spirta satura tvaikiem,

— strauja un pilnīga spirta tvaiku kondensācija,

— pirmo destilāta frakciju savākšana ūdens vidē.

Siltuma avots jālieto ar piemērotu siltuma difuzoru, lai novērstu jebkādu aizdegšanos, kurā varētu tikt iesaistītas nedestilējamās ekstraktvielas.

4.3.2. Piemērotas destilācijas iekārtas paraugs parādīts 1. zīmējumā, un tā sastāv no šādām daļām:

— apaļkolba, 1 litra tilpuma, ar standartizētu pieslīpēta stikla savienojumu,

— rektifikācijas kolonna, vismaz 20 cm augsta (piemēram, Vigrē kolonna),

— līkuma savienotājcaurule ar apmēram 10 cm garu taisnmalu dzesētāju (Vesta dzesētājs), kas uzkārtots stateniski,

— dzesēšanas spirāle, 40 cm gara,

— stobriņš ar nosmailinātu galu, kurš aizvada destilātu uz uztvērēju mērkolbu, kurā atrodas neliels daudzums ūdens.

Piezīme: Iepriekš aprakstītā iekārta ir paredzēta vismaz 200 ml lielam paraugam. Tomēr var destilēt arī mazāka apjoma paraugu (100 ml), lietojot mazāku destilācijas kolbu, ar noteikumu, ka lieto šļakatu uzmavu vai kādu citu ietaisi, lai novērstu satura zudumu.

5. **Analizējamo paraugu glabāšana**

Paraugus pirms analīzes veikšanai glabā istabas temperatūrā.

6. **Procedūra**

Iepriekšēja piezīme:

▼B

Destilāciju var veikt arī ar metodi, ko 1968. gadā publicējusi Starptautiskā teorētiskās un praktiskās ķīmijas apvienība.

6.1. Destilācijas iekārtas verificēšana.

Iekārtai jāatbilst šādiem kritērijiem:

Destilējot 200 ml ūdens un spirta šķīduma ar zināmu koncentrāciju tuvu 50 % tilp., nedrīkst rasties spirta zudumi, kas pārsniedz 0,1 % tilp.

6.2. Alkoholiskie dzērieni, kuru spirta tilpumkoncentrācija ir mazāka par 50 % tilp.

Iemēra 200 ml alkohola mērkolbā.

Reģistrē šā šķidruma temperatūru vai uztur to standarta temperatūrā (20 °C).

Iepilda paraugu destilācijas iekārtas apaļkolbā un izskalo mērkolbu ar trim alikvotu porcijām, katrai no tām sastāvot no apmēram 20 ml destilēta ūdens. Pievieno visas skalojamā ūdens alikvotu porcijas destilācijas kolbas saturam.

Piezīme: Šis 60 ml atšķaidījums ir pietiekams alkoholam, kas satur mazāk nekā 250 g sausā ekstrakta uz litru. Pārējos gadījumos, lai novērstu pirolīzi, skalojamā ūdens tilpumam jābūt vismaz 70 ml, ja sausā ekstrakta koncentrācija ir 300 g/l, 85 ml – attiecībā uz 400 g/l sausā ekstrakta un 100 ml – attiecībā uz 500 g/l sausā ekstrakta (dažiem augļu liķieriem vai krēmiem). Koriģē šos tilpumus proporcionāli atšķirīgo paraugu tilpumiem.

Pievieno dažas viršanas ķermenīšu granulas (3.1. punkts) (un krēma liķieriem - emulsiju putu novēršanai).

Iepilda 20 ml destilēta ūdens oriģinālā 200 ml tilpuma mērkolbā, kurā atradīsies destilāts. Pēc tam šī kolba jāievieto auksta ūdens vannā (4.1. punkts) (10 līdz 15 °C temperatūrā – alkoholiskajiem dzērieniem, kas aromatizēti ar anīsu).

Destilēšanu, izvairoties no šķidruma uztveršanas ar tvaikiem un pārdedzināšanas, ik pa laikam sakratot kolbas saturu, veic tik ilgi, līdz destilāta līmenis atrodas dažus milimetrus zemāk par mērkolbas kalibra atzīmi.

Pēc tam, kad šā destilāta temperatūra ir tikusi pazemināta līdz šķidruma sākotnējai temperatūrai 0,5 °C ietvaros, to papildina līdz atzīmei ar destilētu ūdeni un kārtīgi samaisa.

Šo destilātu lieto spirta tilpumkoncentrācijas noteikšanai (II papildinājums).

▼B

6.3. Alkoholiskie dzērieni, kuru spirta tilpumkoncentrācija pārsniedz 50 % tilp.

Iemēra 100 ml alkoholiskā dzēriena 100 ml tilpuma mērkolbā un iepilda destilācijas iekārtas apaļkolbā.

Izskalo mērkolbu vairākas reizes ar destilētu ūdeni un saskalas pievieno destilācijas apaļkolbas saturam. Lieto tik daudz ūdens, lai kolbas saturs sasniegtu apmēram 230 ml.

Iepilda 20 ml destilēta ūdens 200 ml tilpuma mērkolbā, kurā atradīsies destilāts. Pēc tam šī kolba jāievieto auksta ūdens vannā (4.1. punkts) (10 līdz 15 °C temperatūrā – alkoholiskajiem dzērieniem, kas aromatizēti ar anīsu).

Destilēšanu, ik pa laikam sakratot kolbas saturu, veic tik ilgi, līdz destilāta līmenis atrodas dažus milimetrus zemāk par 200 ml tilpuma mērkolbas kalibra atzīmi.

Pēc tam, kad šā destilāta temperatūra ir tikusi pazemināta līdz šķidruma sākotnējai temperatūrai 0,5 °C ietvaros, to papildina līdz atzīmei ar destilētu ūdeni un kārtīgi samaisa.

Šo destilātu lieto spirta tilpumkoncentrācijas noteikšanai (II papildinājums).

Piezīme: Alkoholiskā dzēriena spirta tilpumkoncentrācija ir divreiz lielāka par destilāta spirta tilpumkoncentrāciju.

▼B

II PAPILDINĀJUMS: DESTILĀTA BLĪVUMA MĒRĪŠANA

A METODE: FAKTISKĀS SPIRTA TILPUMKONCENTRĀCIJAS NOTEIKŠANA ALKOHOLISKAJOS DZĒRIENOS – PIKNOMETRIJAS MĒRĪJUMI

A.1. **Princips**

Spirta tilpumkoncentrāciju iegūst no destilāta blīvuma, kas noteikts, pielietojot piknometriju.

A.2. **Reaģenti un materiāli**

Veicot analīzi, ja vien nav noteikts citādi, pielieto vienīgi atzītas analītiskas kvalitātes reaģentus un ūdeni, kam piemīt vismaz 3. tīrības pakāpe, kā noteikts *ISO* 3696:1987.

A.2.1. Nātrija hlorīda šķīdums (2 % m/V).

Lai sagatavotu 1 litru, iesver 20 g nātrija hlorīda un izšķīdina līdz 1 litram, izmantojot ūdeni.

A.3. **Iekārtas un aprīkojums**

Parastās laboratorijas iekārtas un jo īpaši šādas:

A.3.1. Analītiskie svari, ar kuriem iespējams veikt nolasījumu 0,1 mg.

A.3.2. Termometrs ar pieslīpēta stikla savienojumu, kalibrēts grāda desmitdaļās no 10 līdz 30 °C. Šim termometram jābūt sertificētam vai pārbaudītam, salīdzinot ar sertificētu termometru.

A.3.3. *Pyrex* stikla piknometrs ar apmēram 100 ml ietilpību, kas aprīkots ar noņemamu pieslīpēta stikla termometru (A.3.2.). Piknometram ir nozarojuma caurule ar garumu 25 mm un iekšējo diametru 1 mm (maksimāli), kas beidzas ar konisku pieslīpēta stikla savienojumu. Attiecīgā gadījumā var lietot arī cita veida piknometrus, kas aprakstīti *ISO* 3507, piem., 50 ml tilpuma piknometrus.

A.3.4. Taras pudele ar tādu pat ārējo apjomu (līdz 1 ml) kā piknometram un ar tādu masu, kāda piemīt piknometram, kas pildīts ar šķidrumu, kura blīvums ir 1,01 (nātrija hlorīda šķīdums A.2.1.).

A.3.5. Termiski izolēts apvalks, kurš precīzi piekļaujas piknometra korpusam.

1. piezīme: Lietojot metodi alkoholisko dzērienu blīvuma noteikšanai vakuumā, jāizmanto divkausu svari, piknometrs un taras pudele ar tādu pat ārējo apjomu, lai jebkurā brīdī novērstu sekas, kādas izraisa gaisa pūslīšu peldspēja. Šo vienkāršo metodi var lietot, izmantojot vienkausa svarus, ar noteikumu, ka atkārtoti tiek nosvērta taras pudele, lai procesa gaitā kontrolētu gaisa pūslīšu peldspējas izmaiņas.

A.4. **Procedūra**

Iepriekšējas piezīmes:

Šajā procedūrā ir aprakstīta 100 ml tilpuma piknometra lietošana spirta koncentrācijas noteikšanai; tai piemīt vislielākā precizitāte. Tomēr ir iespējams lietot arī kādu mazāku piknometru, piemēram, 50 ml piknometru.

A.4.1. Piknometra kalibrēšana.

Piknometrs tiek kalibrēts, nosakot šādus parametrus:

— tukša piknometra tara,

— piknometra tilpums 20 °C temperatūrā,

— ar ūdeni uzpildīta piknometra masa 20 °C temperatūrā.

A.4.1.1. Kalibrēšana, izmantojot vienkausa svarus.

Tiek noteikta:

— tīra, sausa piknometra masa (P),

— ar ūdeni uzpildīta piknometra masa t°C temperatūrā (P1),

— taras pudeles masa (T0).

▼B

A.4.1.1.1. Nosver tīru, sausu piknometru (P).

A.4.1.1.2. Rūpīgi uzpilda piknometru ar destilētu ūdeni istabas temperatūrā un iestāda termometru.

Rūpīgi nosusina piknometru, to noslaukot, un ievieto termiski izolētajā apvalkā. Sakrata trauku, apgriežot to otrādi, līdz termometra temperatūras rādītāju nolasījumi kļuvuši konstanti.

Iestāda piknometru vienā līmenī ar nozarojuma caurules augšējo malu. Rūpīgi nolasa temperatūru t °C un vajadzības gadījumā koriģē visas neprecizitātes temperatūras skalā.

Nosver ar ūdeni uzpildīto piknometru (P1).

A.4.1.1.3. Nosver taras pudeli (T0).

A.4.1.1.4. Aprēķināšana.

— Tukšā piknometra tara = P – m

kur m ir gaisa masa piknometrā.

m = 0,0012 × (P1 – P)

2. piezīme: 0,0012 ir sausa gaisa blīvums 20 °C temperatūrā 760 mm Hg spiedienā

— Piknometra tilpums 20 °C temperatūrā:

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

kur F_t ir temperatūras t°C koeficients, ko sniedz I tabula Komisijas Regulas (EEK) Nr. 2676/90 pielikuma 1. sadaļā "Blīvums un īpatnējā masa" (10. lpp.).

$V_{20\,°C}$ jābūt zināmam ar precizitāti līdz 0,001 ml.

— Ūdens masa piknometrā 20 °C temperatūrā:

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

kur 0,998203 ir ūdens blīvums 20 °C temperatūrā.

3. piezīme: Vajadzības gadījumā var lietot lielumu 0,99715, ar ko izteikts blīvums gaisā, un aprēķināt spirta koncentrāciju, atsaucoties uz atbilstīgiem datiem, kurus sniedz "*HM* Muitas un akcīzes tabulas blīvumam gaisā".

A.4.1.2. Kalibrēšana, izmantojot divkausu svarus.

A.4.1.2.1. Novieto taras pudeli svaru kreisajā kausā un tīro, sauso piknometru ar tā uztvērēju aizbāzni – labajā kausā. Līdzsvaro tos, liekot atsvarus piknometra pusē: p grami.

A.4.1.2.2. Rūpīgi uzpilda piknometru ar destilētu ūdeni istabas temperatūrā un iestāda termometru; rūpīgi nosusina piknometru, to noslaukot, un ievieto termiski izolētajā apvalkā; sakrata trauku, apgriežot to otrādi, līdz termometra temperatūras rādītāju nolasījumi kļuvuši konstanti.

Precīzi pielāgo līmeni līdz ar nozarojuma caurules augšējo malu. Notīra nozarojuma cauruli, iestāda uztvērēju aizbāzni; rūpīgi nolasa temperatūru t °C un vajadzības gadījumā koriģē visas neprecizitātes temperatūras skalā.

Nosver ar ūdeni uzpildīto piknometru, pie kam p′ masa gramos veido līdzsvaru.

A.4.1.2.3. Aprēķināšana.

— Tukšā piknometra tara = p + m

kur m ir gaisa masa piknometrā.

m = 0,0012 × (p – p′)

▼B

— Piknometra tilpums 20 °C temperatūrā:

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

kur F_t ir temperatūras t °C koeficients, ko sniedz I tabula Regulas (EEK) Nr. 2676/90 pielikuma 1. sadaļā "Blīvums un īpatnējā masa" (10. lpp.).

$V_{20\,°C}$ jābūt zināmam ar precizitāti līdz 0,001 ml.

— Ūdens masa piknometrā 20 °C temperatūrā:

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

kur 0,998203 ir ūdens blīvums 20 °C temperatūrā.

A.4.2. Spirta koncentrācijas noteikšana analīzes paraugā.

A.4.2.1. Izmantojot vienkausa svarus.

A.4.2.1.1. Nosver taras pudeli, svars T1.

A.4.2.1.2. Nosver piknometru ar sagatavoto destilātu (skat. I papildinājumu), P2 ir tā svars t °C temperatūrā.

A.4.2.1.3. Aprēķināšana.

— dT = T1 – T0

— Tukša piknometra masa mērīšanas brīdī

= P – m + dT

— Šķidruma masa piknometrā t °C temperatūrā

= P2 – (P – m + dT)

— Blīvums t °C temperatūrā izteikts g/ml

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

— Izsaka blīvumu t °C temperatūrā kilogramos uz m^3, reizinot $\rho_{t\,°C}$ ar 1 000 un šo lielumu apzīmējot ar ρ_t.

— Koriģē ρ_t līdz 20, izmantojot blīvuma ρ_T tabulu ūdens un spirta maisījumiem (II tabula II papildinājumā Starptautiskā vīna dārzu un vīnu biroja analīzes metožu 1994. gada rokasgrāmatai, 17. - 29. lpp.).

Tabulā atrod līmenisko rindu, kas atbilst temperatūrai T veselos grādos uzreiz zem t °C temperatūras, mazāko blīvumu, kas pārsniedz ρ_t.

Izmanto tabulas starpību, kas atrasta zem šā blīvuma, lai aprēķinātu alkohola blīvumu ρ_t šajā temperatūrā T veselos grādos.

— Izmantojot visu temperatūras rindu, aprēķina starpību starp blīvumu ρ' tabulā tieši virs ρ_t un aprēķināto blīvumu ρ_t. Izdala šo starpību ar tabulas starpību, kas atrodama pa labi no blīvuma ρ'. Dalījumā iegūst spirta koncentrācijas decimālo daļu, savukārt spirta koncentrācijas veselais skaitlis atrodams tās slejas augšējā ailē, kurā atrasts blīvums ρ' (Dt, spirta koncentrācija).

4. piezīme: Alternatīvā kārtā tur piknometru ūdens vannā, kurā tiek uzturēta 20 °C temperatūra (± 0,2 °C), kamēr tiek sasniegta atzīme.

A.4.2.1.4. Rezultāts.

Izmantojot blīvumu ρ_{20}, aprēķina faktisko spirta saturu ar to spirta satura tabulu palīdzību, kas norādītas turpmāk:

Tabula, kurā sniegta spirta tilpumkoncentrācijas (% tilp.) vērtība 20 ° C temperatūrā kā ūdens un spirta maisījumu blīvuma funkcija 20 °C temperatūrā, ir tā starptautiskā tabula, ko Starptautiskā reglamentētās metroloģijas organizācija ir pieņēmusi savā ieteikumā Nr. 22.

A.4.2.2. Metode, izmantojot vienkausa svarus.

A.4.2.2.1. Nosver piknometru ar sagatavotu destilātu (skat. I daļu), p′ ir masa t ° C temperatūrā.

A.4.2.2.2. Aprēķināšana.

▼B

— Šķidruma masa piknometrā t °C temperatūrā

$= p + m - p'$

— Blīvums t°C temperatūrā izteikts g/ml

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

— Izsaka blīvumu t °C temperatūrā kilogramos uz m^3 un veic temperatūras korekcijas, lai aprēķinātu spirta koncentrāciju 20 °C temperatūrā, kā norādīts iepriekš attiecībā uz vienkausa svaru izmantošanu.

A.5. **Metodes darbības rādītāji (precizitāte)**

A.5.1. Starplaboratoriju pārbaudes statistikas rezultāti.

Šādi dati tika iegūti starptautiskā metodes darbības pētījumā, kas veikts attiecībā uz starptautiski pieņemtām procedūrām [1] [2].

Starplaboratoriju pārbaudes gads	1 997
Laboratoriju skaits	20
Paraugu skaits	6

Paraugi	A	B	C	D	E	F
Laboratoriju skaits, kas atlicis pēc novēroto galējo noviržu likvidēšanas	19	20	17	19	19	17
Novēroto galējo noviržu skaits (laboratorijas)	1	—	2	1	1	3
Apstiprināto rezultātu skaits	38	40	34	38	38	34
Vidējā vērtība ($\bar{x}$) % tilp.	23,77	40,40	40,29	39,20	42,24	57,03
	26,51(*)			42,93(*)	45,73(*)	63,03(*)
Pašatkārtojamības standarts (S_r) % tilp.	0,106	0,176	0,072	0,103	0,171	0,190
Pašatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_r) (%)	0,42	0,44	0,18	0,25	0,39	0,32
Pašatkārtojamības robeža (r) % tilp.	0,30	0,49	0,20	0,29	0,48	0,53
Citatkārtojamības standarta novirze (S_R) % tilp.	0,131	0,236	0,154	0,233	0,238	0,322
Citatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_R) (%)	0,52	0,59	0,38	0,57	0,54	0,53
Citatkārtojamības robeža (R) % tilp.	0,37	0,66	0,43	0,65	0,67	0,90

Paraugu veidi
A Augļu liķieris: sašķelšanās līmenis (*).
B Brendijs: aizklātas dublēšanās.
C Viskijs: aizklātas dublēšanās.
D Grapa: sašķelšanās līmenis (*).
E Aromatizēts degvīns: sašķelšanās līmenis (*).
F Rums: sašķelšanās līmenis (*).

B metode: Faktiskās spirta tilpumkoncentrācijas noteikšana alkoholiskajos dzērienos – Elektroniskās densimetrijas mērījumi (balstoties uz parauga rezonējošo svārstību frekvenci oscilācijas elementā)

B.1. **Princips**

Šķidruma blīvumu nosaka, elektroniski izmērot vibrējošas U veida caurules svārstības. Lai veiktu šo mērījumu, paraugu pievieno oscilācijas sistēmai, kuras īpatnējo svārstību frekvenci tādējādi maina pievienotā masa.

B.2. **Reaģenti un materiāli**

Veicot analīzi, ja vien nav noteikts citādi, pielieto vienīgi atzītas analītiskas kvalitātes reaģentus un ūdeni, kam piemīt vismaz 3. tīrības pakāpe, kā noteikts *ISO* 3696:1987.

▼B

B.2.1. Acetons (CAS 666-52-4) vai tīrs spirts.

B.2.2. Sauss gaiss.

B.3. **Iekārtas un aprīkojums**

Parastās laboratorijas iekārtas un jo īpaši šādas:

B.3.1. Blīvummērs ar digitālu displeju.

Elektroniskajam blīvummēram šādu mērījumu veikšanai jānodrošina blīvuma noteikšana g/ml līdz 5 zīmēm aiz komata.

1. piezīme: Blīvummērs būtu jānovieto uz absolūti stabila statīva, kurš ir izolēts no jebkāda veida vibrācijām.

B.3.2. Temperatūras regulēšana.

Blīvummēra rādījums ir derīgs vienīgi tad, ja mērkivete ir savienota ar iebūvētu temperatūras regulatoru, ar ko var panākt tādu pat temperatūras stabilitāti ± 0,02 °C vai lielāku.

2. piezīme: Temperatūras precīza uzstādīšana un kontrole mērkivetē ir ļoti svarīga, jo kļūda par 0,1 °C temperatūras var izraisīt novirzes blīvuma noteikšanā par kārtu 0,1 kg/m^3.

B.3.3. Šļirces parauga injicēšanai vai automātiskās paraugu ņemšanas ierīces.

B.4. **Procedūra**

B.4.1. Blīvummēra kalibrēšana

Iekārta jākalibrē saskaņā ar ierīces ražotāja instrukcijām, pirmo reizi uzsākot ekspluatāciju. Tā atkārtoti jākalibrē un jāpārbauda pret sertificētu etalona standartu vai pret pašas laboratorijas standarta šķīdumu, kas balstās uz sertificētu etalona standartu.

B.4.2. Parauga blīvuma noteikšana.

B.4.2.1. Nepieciešamības gadījumā pirms mērījuma notīra un nosusina kiveti ar acetonu vai tīru spirtu un sausu gaisu. Izskalo kiveti ar paraugu.

B.4.2.2. Iešpricē paraugu kivetē (izmantojot šļirci vai automātisko paraugu ņemšanas ierīci), tā lai kivete būtu pilnīgi piepildīta. Pildīšanas laikā pārliecinās par to, lai visi gaisa burbuļi būtu pilnībā izzuduši. Paraugam jābūt homogēnam un tajā nedrīkst būt nekādu cieto daļiņu. Pirms analīzes veikšanas jebkādas suspendētās vielas jāatdala ar filtrēšanas palīdzību.

B.4.2.3. Tiklīdz nolasījums ir stabilizējies, reģistrē blīvumu ρ_{20} vai spirta koncentrāciju, kas uzrādīta blīvummērā.

B.4.3. Rezultāts.

Izmantojot blīvumu ρ_{20}, aprēķina faktisko spirta saturu ar to spirta satura tabulu palīdzību, kas šeit tālāk norādītas:

Tabula, kurā sniegta spirta tilpumkoncentrācijas (% tilp.) vērtība 20 ° C temperatūrā kā ūdens un spirta maisījumu blīvuma funkcija 20 °C temperatūrā, ir tā starptautiskā tabula, ko Starptautiskā reglamentētās metroloģijas organizācija ir pieņēmusi savā ieteikumā Nr. 22.

B.5. **Metodes darbības rādītāji (precizitāte)**

B.5.1. Starplaboratoriju pārbaudes statistikas rezultāti.

Šādi dati tika iegūti starptautiskā metodes darbības pētījumā, kas veikts attiecībā uz starptautiski pieņemtām procedūrām [1] [2].

Starplaboratoriju pārbaudes gads	1 997
Laboratoriju skaits	16
Paraugu skaits	6

Paraugi	A	B	C	D	E	F
Laboratoriju skaits, kas atlicis pēc novēroto galējo noviržu likvidēšanas	11	13	15	16	14	13

▼B

Novēroto galējo noviržu skaits (laboratorijas)	2	3	1	—	1	2
Apstiprināto rezultātu skaits	22	26	30	32	28	26
Vidējā vērtība ($\bar{x}$) % tilp	23,81	40,12	40,35	39,27	43,39	56,99
	26,52(*)			43,10 (*)	45,91 (*)	63,31 (*)
Pašatkārtojamības standarts (S_r) % tilp.	0,044	0,046	0,027	0,079	0,172	0,144
Pašatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_r) (%)	0,17	0,12	0,07	0,19	0,39	0,24
Pašatkārtojamības robeža (r) % tilp.	0,12	0,13	0,08	0,22	0,48	0,40
Citratkārtojamības standarta novirze (S_R) % tilp.	0,054	0,069	0,083	0,141	0,197	0,205
(RSD_R) (%)	0,21	0,17	0,21	0,34	0,45	0,34
Citatkārtojamības robeža (R) % tilp.	0,15	0,19	0,23	0,40	0,55	0,58

Paraugu veidi
A Augļu liķieris: sašķelšanās līmenis (*).
B Brendijs: aizklātas dublēšanās.
C Viskijs: aizklātas dublēšanās.
D Grapa: sašķelšanās līmenis (*).
E Aromatizēts degvīns: sašķelšanās līmenis (*).
F Rums: sašķelšanās līmenis (*).

C metode: Faktiskās spirta tilpumkoncentrācijas noteikšana alkoholiskajos dzērienos – Mērījumi izmantojot hidrostatisko svēršanu

C.1. **Princips**

Spirta koncentrāciju alkoholā var izmērīt, lietojot hidrostatisko svēršanu, kas balstīta uz Arhimēda likumu, saskaņā ar kuru uz šķidrumā iegremdētu ķermeni iedarbojas šķidruma vertikāli vērsts cēlējspēks, kas vienāds ar izspiestā šķidruma svaru.

C.2. **Reaģenti un materiāli**

Veicot analīzi, ja vien nav noteikts citādi, pielieto vienīgi atzītas analītiskas kvalitātes reaģentus un ūdeni, kam piemīt vismaz 3. tīrības pakāpe, kā noteikts *ISO* 3696:1987.

C.2.1. Šķīdums pludiņa tīrīšanai (nātrija hidroksīds, 30 % m/v)

Lai sagatavotu 100 ml, nosver 30 g nātrija hidroksīda un papildina līdz uzdotajam tilpumam, izmantojot 96 % tilpuma etanola.

C.3. **Iekārtas un aprīkojums**

Parastās laboratorijas iekārtas un jo īpaši šādas:

C.3.1. Vienkausa hidrostatiskie svari ar jutību 1 mg.

C.3.2. Pludiņš ar vismaz 20 ml tilpumu, īpaši pielāgots svariem, iekārts pavedienā, kura diametrs nepārsniedz 0,1 mm.

C.3.3. Mērcilindrs ar līmeņa atzīmi. Pludiņam jābūt pilnībā ievietojamam cilindra apjomā, kas atrodas zemāk par atzīmi; šķidruma virsmu var šķērsot vienīgi noturošais pavediens. Mērcilindram jābūt ar tādu iekšējo diametru, kas vismaz par 6 mm pārsniedz pludiņa diametru.

C.3.4. Termometrs (vai temperatūras mērīšanas zonde), graduēta grādos un grāda desmitdaļās no 10 līdz 40 °C, kalibrēta 0,05 °C.

C.3.5. Atsvari, ko kalibrējusi atzīta sertificēšanas iestāde.

1. piezīme: Iespējams izmantot arī divkausu svarus; princips ir aprakstīts Regulas (EEK) Nr. 2676/90 pielikuma 1. sadaļā "Blīvums un īpatnējā masa" (7. lpp.).

C.4. **Procedūra**

Pludiņu un mērcilindru starplaikā starp katru mērījumu ir jātīra ar destilētu ūdeni, jānosusina ar mīkstu laboratorijas papīru, kurš neizdala šķiedras, un jāskalo ar šķīdumu, kura blīvums ir jānosaka. Mērī-

▼B

jumi jāveic, tiklīdz iekārtas ir nonākušas līdzsvarā, tā lai nepieļautu spirta zudumus, ko rada iztvaikošana.

C.4.1. Svaru kalibrēšana.

Lai gan svariem parasti pastāv starptautiska kalibrēšanas sistēma, hidrostatiskajiem svariem jānodrošina kalibrēšana ar atsvariem, ko pārbaudījusi oficiāla sertificēšanas iestāde.

C.4.2. Pludiņa kalibrēšana.

C.4.2.1. Mērcilindru uzpilda līdz atzīmei ar bidestilātu (vai līdzvērtīgas tīrības pakāpes ūdeni, piem., mikrofiltrētu ūdeni, kura vadītspēja ir 18,2 MΩ/cm) temperatūrā no 15 līdz 25 °C, bet vēlams 20 °C temperatūrā.

C.4.2.2. Iegremdē pludiņu un termometru, apmaisa, aparātā nolasa šķidruma blīvumu un vajadzības gadījumā koriģē nolasījumu, tā lai tas būtu vienāds ar ūdens nolasījumu mērījuma temperatūrā.

C.4.3. Kontrole, izmantojot ūdens un spirta šķīdumu.

C.4.3.1. Mērcilindru uzpilda līdz atzīmei ar ūdens un spirta maisījumu ar zināmu spirta koncentrāciju temperatūrā no 15 līdz 25 °C, bet vēlams 20 °C temperatūrā.

C.4.3.2. Iegremdē pludiņu un termometru, apmaisa, aparātā nolasa šķidruma blīvumu (vai spirta koncentrāciju, ja tas iespējams). Spirta koncentrācijai, kas šādi noteikta, būtu jābūt vienādai ar iepriekš noteikto spirta koncentrāciju.

2. piezīme: Šo šķīdumu ar zināmu spirta koncentrāciju var izmantot arī bidestilāta vietā pludiņa kalibrēšanai.

C.4.4. Destilāta blīvuma (vai tā spirta satura, ja to pieļauj iekārtas) mērīšana.

C.4.4.1. Iepilda analizējamo paraugu mērcilindrā līdz gradācijas atzīmei.

C.4.4.2. Iegremdē pludiņu un termometru, apmaisa, aparātā nolasa šķidruma blīvumu (vai spirta koncentrāciju, ja tas iespējams). Atzīmē temperatūru, ja blīvumu izmēra t °C temperatūrā ρ_t).

C.4.4.3. Koriģē ρ_t līdz 20, izmantojot blīvuma ρ_T tabulu ūdens un spirta maisījumiem (II tabula II papildinājumā Starptautiskā vīna dārzu un vīnu biroja analīzes metožu 1994. gada rokasgrāmatai, 17. – 29. lpp.).

C.4.5. Pludiņa un mērcilindra tīrīšana.

C.4.5.1. Pludiņu iegremdē pludiņa tīrīšanas šķīdumā mērcilindrā.

C.4.5.2. Ļauj iegremdēties vienu stundu, periodiski savērpjot pludiņu.

C.4.5.3. Skalo ar bagātīgu krāna ūdens daudzumu, pēc tam – ar destilētu ūdeni.

C.4.5.4. Nosusina ar mīkstu laboratorijas papīru, kurš neizdala šķiedras.

Veic šo procedūru, izmantojot pludiņu pirmo reizi, un pēc tam to veic regulāri atbilstoši vajadzībai.

C.4.6. Rezultāts.

Izmantojot blīvumu ρ_{20}, aprēķina faktisko spirta saturu ar to spirta satura tabulu palīdzību, kas šeit tālāk norādītas.

Tabula, kurā sniegta spirta tilpumkoncentrācijas (% tilp.) vērtība 20 °C temperatūrā kā ūdens un spirta maisījumu blīvuma funkcija 20 °C temperatūrā, ir tā starptautiskā tabula, ko Starptautiskā reglamentētās metroloģijas organizācija ir pieņēmusi savā ieteikumā Nr. 22.

C.5. **Metodes darbības rādītāji (precizitāte)**

C.5.1. Starplaboratoriju pārbaudes statistikas rezultāti.

Šādi dati tika iegūti starptautiskā metodes darbības pētījumā, kas veikts attiecībā uz starptautiski pieņemtām procedūrām [1] [2].

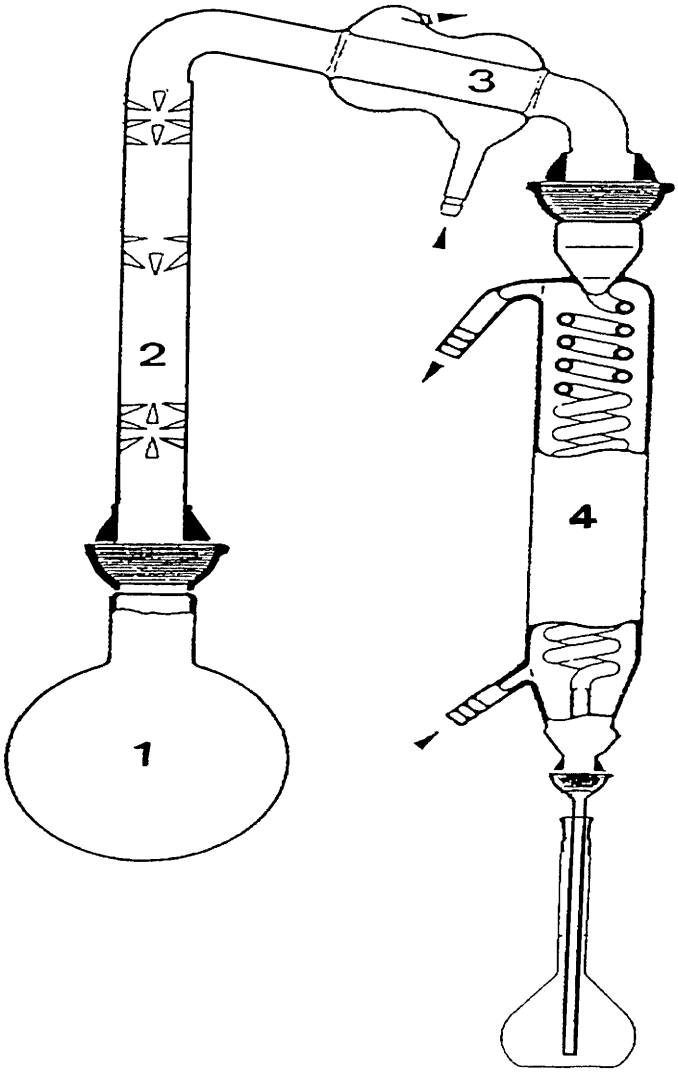
Starplaboratoriju pārbaudes gads	1 997
Laboratoriju skaits	12
Paraugu skaits	6

▼B

Paraugi	A	B	C	D	E	F
Laboratoriju skaits, kas atlicis pēc novēroto galējo noviržu likvidēšanas	12	10	11	12	11	9
Novēroto galējo noviržu skaits (laboratorijas)	—	2	1	—	1	2
Apstiprināto rezultātu skaits	24	20	22	24	22	18
Vidējā vērtība ($\bar{x}$) % tilp.	23,80	40,09	40,29	39,26	42,38	57,16
	26,51 (*)			43,09 (*)	45,89 (*)	63,44 (*)
Pašatkārtojamības standarts (S_r) % tilp.	0,048	0,065	0,042	0,099	0,094	0,106
Pašatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_r) (%)	0,19	0,16	0,10	0,24	0,21	0,18
Pašatkārtojamības robeža (r) % tilp.	0,13	0,18	0,12	0,28	0,26	0,30
Citratkārtojamības standarta novirze (S_R) % tilp.	0,060	0,076	0,073	0,118	0,103	0,125
Citatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_R) (%)	0,24	0,19	0,18	0,29	0,23	0,21
Citatkārtojamības robeža (R) % tilp.	0,17	0,21	0,20	0,33	0,29	0,35

Paraugu veidi
A Augļu liķieris: sašķelšanās līmenis (*).
B Brendijs: aizklātas dublēšanās.
C Viskijs: aizklātas dublēšanās.
D Grapa: sašķelšanās līmenis (*).
E Aromatizēts degvīns: sašķelšanās līmenis (*).
F Rums: sašķelšanās līmenis (*).

▼B



1. attels. Destilācijas iekārta faktiskās spirta tilpumkoncentrācijas izmērīšanai alkoholiskajos dzērienos

1 Apaļkolba, 1 litra tilpuma, ar standartizētu sfērisku pieslīpēta stikla savienojumu.

2 Vigre rektifikācijas kolonna, 20 cm augsta.

3 Taisnmalu Vesta dzesētājs, 10 cm garš.

4 Dzesēšanas spirāle, 40 cm gara.

▼B

II KOPĒJĀ SAUSĀ EKSTRAKTA NOTEIKŠANA AR GRAVIMETRIJAS PALĪDZĪBU

1. **Joma**

Regulā (EEK) Nr. 1576/89 šī metode ir paredzēta vienīgi attiecībā uz aromatizētu degvīnu, kuram sausais ekstrakts ir ierobežots līdz 15 g/l.

2. **Normatīvās atsauces**

ISO 3696:1987: Ūdens laboratorijas analīzēm – Specifikācijas un testu metodes.

3. **Definīcija**

Kopējā sausajā ekstraktā vai kopējā sausnē ietilpst visas noteiktajos fiziskajos apstākļos negaistošās vielas.

4. **Princips**

Nosver alkoholiskā dzēriena neiztvaikojušo atlikumu uz verdoša ūdens vannas un izžāvē žāvēšanas skapī.

5. **Iekārtas un aprīkojums**

5.1. Plakandibena cilindriska ietvaicēšanas bļoda ar 55 mm diametrā.

5.2. Verdoša ūdens vanna.

5.3. 25 ml pipete, A klase.

5.4. Žāvēšanas skapis.

5.5. Eksikators.

5.6. Analītiskie svari ar precizitāti līdz 0,1 mg.

6. **Paraugu ņemšana un paraugi**

Paraugus pirms analīzes veikšanai glabā istabas temperatūrā.

7. **Procedūra**

7.1. Iepilina 25 ml alkohola, kurš satur mazāk nekā 15 g/l sausā atlikuma, iepriekš nosvērtā plakandibena cilindriskā ietvaicēšanas bļodā ar 55 mm diametrā. Ietvaicēšanas pirmajā stundā ietvaicēšanas bļoda atrodas uz verdošas ūdens vannas vāka, tā lai šķidrums nevārītos, jo tas varētu izraisīt zudumus izšļakstīšanās rezultātā. Nākamo stundu to atstāj tiešā saskarē ar verdošās ūdens vannas tvaikiem.

7.2. Pabeidz žāvēšanu, ievietojot ietvaicēšanas bļodu uz divām stundām žāvēšanas skapī 105 °C temperatūrā ± 3 °C. Ļauj ietvaicēšanas bļodai atdzist eksikatorā un nosver ietvaicēšanas bļodu un tās saturu.

8. **Aprēķins**

Atlikuma masa reizināta ar 40 ir vienāda ar sauso ekstraktu alkoholiskajā dzērienā un tā ir izsakām g/l ar precizitāti līdz vienai zīmei aiz komata.

9. **Metodes darbības rādītāji (precizitāte)**

9.1. Starplaboratoriju pārbaudes statistikas rezultāti.

Šādi dati tika iegūti starptautiskā metodes darbības pētījumā, kas veikts attiecībā uz starptautiski pieņemtām procedūrām [1] [2].

Starplaboratoriju pārbaudes gads	1 997
Laboratoriju skaits	10
Paraugu skaits	4

Paraugi	A	B	C	D
Laboratoriju skaits, kas atlicis pēc novēroto galējo noviržu likvidēšanas	9	9	8	9
Novēroto galējo noviržu skaits (laboratorijas)	1	1	2	—

▼B

Apstiprināto rezultātu skaits	18	18	16	18
Vidējā vērtība ($\bar{x}$) g/l.	9,0	9,1	10,0	11,8
		7,8	9,4	11,1
Pašatkārtojamības standarts (S_r) g/l.	0,075	0,441	0,028	0,123
Pašatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_r) (%)	0,8	5,2	0,3	1,1
Pašatkārtojamības robeža (r) g/l.	0,2	1,2	0,1	0,3
Citratkārtojamības standarta novirze (S_R) g/l.	0,148	0,451	0,058	0,210
Citatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_R) (%)	1,6	5,3	0,6	1,8
Citatkārtojamības robeža (R) g/l.	0,4	1,3	0,2	0,6

Paraugu veidi
A Brendijs: aizklātas dublēšanās.
B Rums: sašķelšanās līmenis.
C Grapa: sašķelšanās līmenis.
D Aromatizēts degvīns: sašķelšanās līmenis.

▼B

III **Gaistošo vielu un metanola noteikšana alkoholiskajos dzērienos**

III.1. Vispārīgie norādījumi

1. **Definīcijas**

Regulā (EEK) Nr. 1576/89 tiek noteikti minimālie gaistošo savienojumu, kas nav etanols un metanols, daudzumi virknei alkoholisko dzērienu (rums, vīnkopības izcelsmes alkoholiskie dzērieni, augļu alkohols utt.). Vienīgi attiecībā uz šo dzērienu virkni šos daudzumus parasti uzskata par vienādiem ar šādu koncentrāciju summu:

1. Gaistošas skābes, kas izteiktas kā etiķskābe;

2. Aldehīdi, kas izteikti kā etanāls summas veidā, ko veido etanāls (acetaldehīds) un etanāla frakcija 1,1-dietoksietānā (acetālā);

3. Šādi augstākie spirti: 1-propanols, 1-butanols, 2-butanols, 2-metil-1-propanols, ko izvērtē kā atsevišķus spirtus, un 2-metil-1-butanols un 3-metil-1-butanols, ko izvērtē kā atsevišķus spirtus vai kā abu summu;

4. Etilacetāts.

Standarta metodes gaistošo savienojumu mērīšanai ir šādas:

— gaistošās skābes – ar gaistošā skābuma palīdzību,

— aldehīdus (etanālu un acetālu), etilacetātu un spirtus - ar gāzu hromatogrāfijas (*GPC*) palīdzību.

2. **Gaistošo savienojumu gāzu hromatogrāfijas analīze**

Gaistošu savienojumu, kas nav iepriekš noteiktie, izvērtēšana ar gāzu hromatogrāfijas palīdzību var būt jo īpaši interesanta kā līdzeklis, lai noteiktu gan destilācijā izmantotās izejvielas izcelsmi, gan faktiskos destilācijas apstākļus.

Daži alkoholiskie dzērieni satur citas gaistošas sastāvdaļas, tādas kā aromātiskie savienojumi, kas raksturīgi alkohola iegūšanā izmantotajām izejvielām, alkoholisko dzērienu aromātiem un citām specifiskām alkoholisko dzērienu sagatavošanas iezīmēm. Šie savienojumi ir nozīmīgi, lai izvērtētu prasības, kas izklāstītas Regulā (EEK) Nr. 1576/89.

III.2. Gāzu hromatogrāfijas metode, nosakot radniecīgas gaistošās vielas: aldehīdus, augstākos spirtus, etilacetātu un metanolu

1. **Joma**

Šī metode ir piemērota, lai noteiktu 1,1-dietoksietānu (acetālu), 2-metil-1-butanolu (aktīvo amilspirtu), 3-metil-1-butanolu (izoamilspirtu), metanolu (metilspirtu), etiletanoātu (etilacetātu), 1-butanolu (n-butanolu), 2-butanolu (sauso butanolu), 2-metil-1-propanolu (izobutilspirtu), 1-propanolu (n-propanolu) un etanālu (acetaldehīdu) alkoholiskajos dzērienos, izmantojot gāzu hromatogrāfiju. Metodē izmanto iekšējo standartu, piemēram, 3-pentanolu. Nosakāmo vielu koncentrāciju izsaka gramos uz 100 litriem tīra spirta; pirms analīzes veikšanas jānosaka spirta koncentrācija produktā. Izmantojot šo metodi, var analizēt alkoholiskos dzērienus, to skaitā viskiju, brendiju, rumu, vīna spirtu, augļu alkoholu un vīnogu čagu spirtu.

2. **Normatīvās atsauces**

ISO 3696:1987: Ūdens laboratorijas analīzēm – Specifikācijas un testu metodes.

3. **Definīcija**

Radniecīgās vielas ir gaistošas vielas, kas kopā ar etanolu veidojas alkoholisko dzērienu raudzēšanas, destilēšanas un nobriešanas gaitā.

4. **Princips**

Radniecīgās vielas alkoholiskajos dzērienos nosaka ar alkoholiskā dzēriena vai pienācīgi atšķaidīta alkoholiskā dzēriena tiešu injicēšanu gāzu hromatogrāfijas (GH) sistēmā. Pirms injicēšanas alkoholiskajam dzērienam pievieno piemērotu iekšējo standartu. Radniecīgās vielas ar ieprogrammētas temperatūras palīdzību atdala piemērotā kolonnā un tās nosaka, izmantojot liesmas jonizācijas detektoru (LJD). Katras radniecīgās vielas koncentrāciju nosaka attiecībā uz iekšējo standartu

▼B

atbilstības faktoriem, kas iegūti kalibrēšanas laikā tādos pat hromatogrāfijas apstākļos, kādos notiek alkoholisko dzērienu analīze.

5. **Reaģenti un materiāli**

Ja vien nav ticis noteikts citādi, lieto vienīgi tādus reaģentus, kuru tīrības pakāpe pārsniedz 97 % un kuri ir iegādāti pie *ISO* akreditēta piegādātāja ar tīrības sertifikātu, ir brīvi no citām radniecīgām vielām kontroles atšķaidījumā (to var apstiprināt, injicējot atsevišķus radniecīgo vielu standartus kontroles atšķaidījumā, izmantojot GH nosacījumus saskaņā ar 6.4. punktu), un vienīgi tādu ūdeni, kuram piemīt vismaz 3. pakāpe saskaņā ar *ISO* 3696. Acetāls un acetaldehīds jāuzglabā tumšā vietā temperatūrā < 5 °C, visus pārējos reaģentus var uzglabāt istabas temperatūrā.

5.1. Absolūtais etanols (CAS 64-17-5).

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

5.3. 1-propanols (CAS 71-23-8).

5.4. 2-metil-1-propanols (CAS 78-33-1).

5.5. Pieņemami iekšējie standarti: 3-pentanols (CAS 584-02-1), 1-pentanols (CAS 71-41-0), 4-metil-1-pentanols (CAS 626-89-1) vai metilnonanoāts (CAS 1731-84-6).

5.6. 2-metil-1-butanols (CAS 137-32-6).

5.7. 3-metil-1-butanols (CAS 123-51-3).

5.8. Etilacetāts (CAS 141-78-6).

5.9. 1-butanols (CAS 71-36-3).

5.10. 2-butanols (CAS 78-92-2).

5.11. Acetaldehīds (CAS 75-07-0).

5.12. Acetāls (CAS 105-57-7).

5.13. Etanola šķīdums, 40 % v/v.

Lai pagatavotu 400 ml/l etanola šķīduma, ielej 400 ml etanola (5.1.) mērkolbā ar tilpumu 1 litrs, uzpilda līdz uzdotajam tilpumam ar destilētu ūdeni un samaisa.

5.14. Standarta šķīdumu sagatavošana un uzglabāšana (procedūra, ko izmanto apstiprinātajai metodei).

Visi standarta šķīdumi jāglabā temperatūrā < 5 °C un tiem jābūt svaigi pagatavotiem katru mēnesi. Sastāvdaļu un šķīdumu masa jāreģistrē ar precizitāti līdz 0,1 mg.

5.14.1. Standarta šķīdums – A.

Iepilina šādus reaģentus 100 ml tilpuma mērkolbā, kurā ir apmēram 60 ml etanola šķīduma (5.13.), lai samazinātu sastāvdaļas iztvaikošanu, uzpilda līdz uzdotajam tilpumam ar etanola šķīdumu (5.13.) un kārtīgi samaisa. Reģistrē kolbas, katras pievienotās sastāvdaļas svaru un kopīgo galīgo satura svaru.

Sastāvdaļa	Apjoms (ml)
Metanols (5.2.)	3,0
1-propanols (5.3.)	3,0
2-metil-1-propanols (5.4.)	3,0
2-metil-1-butanols (5.6.)	3,0
3-metil-1-butanols (5.7.)	3,0
Etilacetāts (5.8.)	3,0
1-butanols (5.9.)	3,0
2-butanols (5.10.)	3,0
Acetaldehīds (5.11.)	3,0
Acetāls (5.12.)	3,0

▼B

1. piezīme: Vēlams pievienot acetālu un acetaldehīdu kā pēdējos, lai samazinātu līdz minimumam zaudējumus, ko rada iztvaikošana.

5.14.2. Standarta šķīdums – B.

Iepilina 3 ml 3-pentanola, vai cita piemērota iekšējā standarta (5.5.), mērkolbā ar tilpumu 100 ml, kurā ir apmēram 80 ml etanola šķīduma (5.13.), papildina līdz uzdotajam tilpumam ar etanola šķīdumu (5.13.) un kārtīgi samaisa.

Reģistrē kolbas svaru, 3-pentanola vai cita pievienotā iekšējā standarta svaru un kopīgo galīgo satura svaru.

5.14.3. Standarta šķīdums – C.

Iepilina 1 ml A šķīduma (5.14.1.) un 1 ml B šķīduma (5.14.2.) mērkolbā ar tilpumu 100 ml, kurā ir apmēram 80 ml etanola šķīduma (5.13.), papildina līdz uzdotajam tilpumam ar etanola šķīdumu (5.13.) un kārtīgi samaisa.

Reģistrē kolbas, katras pievienotās sastāvdaļas svaru un kopīgo galīgo satura svaru.

5.14.4. Standarta šķīdums – D.

Lai saglabātu analītisko nepārtrauktību, sagatavo kvalitātes kontroles standartu, izmantojot iepriekš sagatavoto standartu A (5.14.1.). Iepilina 1 ml A šķīduma (5.14.1.) mērkolbā ar tilpumu 100 ml, kurā ir apmēram 80 ml etanola šķīduma (5.13.), papildina līdz uzdotajam tilpumam ar etanola šķīdumu (5.13.) un kārtīgi samaisa.

Reģistrē kolbas, katras pievienotās sastāvdaļas svaru un kopīgo galīgo satura svaru.

5.14.5. Standarta šķīdums – E.

Iepilina 10 ml B šķīduma (5.14.2.) mērkolbā ar tilpumu 100 ml, kurā ir apmēram 80 ml etanola šķīduma (5.13.), papildina līdz uzdotajam tilpumam ar etanola šķīdumu (5.13.) un kārtīgi samaisa.

Reģistrē kolbas, katras pievienotās sastāvdaļas svaru un kopīgo galīgo satura svaru.

5.14.6. Standarta šķīdumi, ko izmanto, lai pārbaudītu *FID* atbildes linearitāti.

Atsevišķā mērkolbā ar tilpumu 100 ml, kurā ir apmēram 80 ml etanola (5.13.), iepilina 0, 0,1, 0,5, 1,0, 2,0 ml A šķīduma (5.14.1.) un 1 ml B šķīduma (5.14.2.), papildina līdz uzdotajam tilpumam ar etanola šķīdumu (5.13.) un kārtīgi samaisa.

Reģistrē kolbas, katras pievienotās sastāvdaļas svaru un kopīgo galīgo satura svaru.

5.14.7. Kvalitātes kontroles standarta šķīdums.

Iepilina 9 ml D standarta šķīduma (5.14.4.) un 1 ml E standarta šķīduma (5.14.5.) svēršanas traukā un kārtīgi samaisa.

Reģistrē kolbas, katras pievienotās sastāvdaļas svaru un kopīgo galīgo satura svaru.

6. **Iekārtas un aprīkojums**

6.1. Iekārtas, ar kurām var izmērīt blīvumu un spirta koncentrāciju.

6.2. Analītiskie svari, ar kuriem iespējams veikt mērījumus ar četrām zīmēm aiz komata.

6.3. Programmējamas temperatūras gāzu hromatogrāfs, kas aprīkots ar liesmu jonizācijas detektoru un integratoru vai cita veida datu apstrādes sistēmu, ar kuru var izmērīt maksimuma laukumus vai pīķu augstumu.

▼B

6.4. Gāzu hromatogrāfijas kolonna(-s), ar ko var atdalīt nosakāmās vielas, tā lai mazākā izšķirtspēja starp atsevišķajām sastāvdaļām (kas nav 2-metil-1-butanols un 3-metil-1-butanols,) būtu vismaz 1.3.

2. piezīme: Šādas kolonnas un GH nosacījumi ir atbilstīgi piemēri:

1. Fiksācijas atstarpe 1 m × 0,32 mm i.d. pievienota CP-WAX 57 CB kolonnai 50 m × 0,32 mm i.d. ar slāņa biezumu 0,2µm (stabilizēts polietilēnglikols), kam seko *Carbowax* 400 kolonna 50 m × 0,32 mm i.d. ar slāņa biezumu 0,2µm. (Kolonnas ir savienotas ar nospiežamajiem savienojumiem.)

Nesējgāze un spiediens:	Hēlijs (135 kPa)
Kolonnas temperatūra:	35 °C uz 17 min., 35 līdz 70 C pie 12 °C/min, notur 70 °C temperatūrā 25 min.
Inžektora temperatūra:	150 °C
Detektora temperatūra:	250 °C
Iesmidzināmais tilpums:	1 µl sadalīts 20 līdz 100: 1

2. Fiksācijas atstarpe 1 m × 0,32 mm i.d. pievienota CP-WAX 57 CB kolonnai 50 m × 0,32 mm i.d. ar slāņa biezumu 0,2µm (stabilizēts polietilēnglikols). (Fiksācijas atstarpe ir pievienota ar nospiežamo savienojumu.)

Nesējgāze un spiediens:	Hēlijs (65 kPa)
Kolonnas temperatūra:	35 °C uz 10 min., 35 līdz 110 °C pie 5 °C/min, 110 līdz 190 °C pie 30 °C/min., notur 190 °C temperatūrā 2 min.
Inžektora temperatūra:	260 °C
Detektora temperatūra:	300 °C
Iesmidzināmais tilpums:	1 µl sadalīts 55: 1

3. Pildīta kolonna (5 % *CW* 20M, *Carbopak* B), 2 m × 2 mm i.d.

Kolonnas temperatūra:	65 °C uz 4 min., 65 līdz 140 °C pie 10 °C/min, notur 140 °C temperatūrā 5 min., 140 līdz 150 °C pie 5 °C/min., notur 150 °C temperatūrā 3 min.
Inžektora temperatūra:	65 °C
Detektora temperatūra:	200 °C
Iesmidzināmais tilpums:	1 µl

7. **Paraugu ņemšana un paraugi**

7.1. Laboratorijas paraugs.

Saņemot tiek izmērīta spirta koncentrācija katrā paraugā (6.1.).

8. **Procedūra (izmantota apstiprinātajai metodei)**

8.1. Analīzes paraugs.

8.1.1. Nosver piemērotu hermētiski noslēgtu svēršanas trauku un reģistrē tā svaru.

8.1.2. Iepilina 9 ml laboratorijas parauga traukā un reģistrē tā svaru ($M_{PARAUGS}$).

▼B

8.1.3. Pievieno 1 ml standarta šķīduma E (5.14.5.) un reģistrē tā svaru (M_{IS}).

8.1.4. Spēcīgi sakrata analīzes materiālu (apgriežot vismaz 20 reizes). Paraugiem pirms analīzes jābūt uzglabātiem temperatūrā, kas zemāka par 5 °C, lai samazinātu līdz minimumam jebkādus gaistošo vielu zaudējumus.

8.2. Tukšā parauga analīze.

8.2.1. Izmantojot svarus ar precizitāti līdz ceturtajai zīmei aiz komata (6.2.), nosver piemērotu hermētiski noslēgtu svēršanas trauku un reģistrē tā svaru.

8.2.2. Iepilina 9 ml 400 ml/l etanola šķīduma (5.13.) traukā un reģistrē tā svaru.

8.2.3. Pievieno 1 ml standarta šķīduma E (5.14.5.) un reģistrē tā svaru.

8.2.4. Spēcīgi sakrata analīzes materiālu (apgriežot vismaz 20 reizes). Paraugiem pirms analīzes jābūt uzglabātiem temperatūrā, kas zemāka par 5 °C, lai samazinātu līdz minimumam jebkādus gaistošo vielu zaudējumus.

8.3. Iepriekšējs tests.

Injicē standarta šķīdumu C (5.14.3.), lai nodrošinātu, ka visas nosakāmās vielas ir atdalītas ar mazāko izšķirtspēju 1.3. (izņemot 2-metil-1-butanolu un 3-metil-1-butanolu).

8.4. Kalibrēšana.

Kalibrāciju vajadzētu pārbaudīt, lietojot šādu procedūru. Nodrošina, lai atbilstība būtu lineāra, secīgi analizējot trīs reizes katru linearitātes standarta šķīdumu (5.14.6.), kurš satur iekšējo standartu (IS). No integratora maksimuma laukumiem vai pīķu augstumiem katrai injekcijai aprēķina koeficientu R katrai radniecīgajai vielai un izveido R grafika līkni pret radniecīgās vielas koncentrācijas attiecības koeficientu pret iekšējo standartu (IS), C. Rezultātā būtu jāiegūst lineāra līkne, kuras korelācijas koeficients ir vismaz 0,99.

$$R = \frac{\text{Radniec. vielas pīķa lauk. vai augstums}}{\text{IS pīķa lauk. vai augst.}}$$

$$C = \frac{\text{Radniecīgas vielas koncentrācija } (\mu g / g)}{\text{IS koncentrācija } (\mu g / g)}$$

8.5. Noteikšana.

Injicē standarta šķīdumu C (5.14.3.) un 2 kvalitātes kontroles standarta šķīdumus (5.14.7.). Procedūru turpina ar nepazīstamiem paraugiem (kas sagatavoti saskaņā ar 8.1. punktu un 8.2. punktu), ievietojot vienu kvalitātes kontroles standartu ik 10 paraugiem, lai nodrošinātu analītisko stabilitāti. Injicē vienu standarta šķīdumu C (5.14.3.) ik pēc katriem 5 paraugiem.

9. **Aprēķins**

Var lietot automatizētu datu apstrādes sistēmu, ar noteikumu, ka datus var pārbaudīt, lietojot principus, kas aprakstīti šeit tālāk sniegtajā metodē.

Izmēra vai nu radniecīgās vielas maksimuma laukumus vai pīķu augstumus un iekšējā standarta pīķus.

▼B

9.1. Atbilstības koeficienta aprēķināšana.

No iekšējā standarta šķīduma C (5.14.3.) injekcijas hromatogrammas aprēķina atbilstības koeficientus katrai radniecīgajai vielai, izmantojot vienādojumu (1).

$$\text{Atbilstības koeficients} = \frac{\text{IS pīķa laukums vai augstums}}{\text{Radniec. vielas pīķa lauk. vai augst.}} \times \frac{\text{Konc. radniec. } (\mu g / g)}{\text{Konc. IS } (\mu g / g)}$$

kur

IS = iekšējais standarts

Konc. radn. v. = radniecīgās vielas koncentrācija šķīdumā C (5.14.3.)

Konc. IS = iekšējā standarta koncentrācija šķīdumā C (5.14.3.).

9.1.2. Parauga analīze.

Izmantojot turpmāk sniegto vienādojumu (2), aprēķina katras radniecīgās vielas koncentrāciju paraugos.

2)Radniecīgās vielas koncentrācija

$$(\mu g / g) = \frac{\text{Radniec. vielas pīķa lauk. vai augst.}}{\text{IS pīķa lauk. vai augst.}} \times \frac{M_{IS}\ (g)}{M_{PARAUGA}\ (g)} \times \text{Konc. IS } (\mu g / g) \times \text{RF}$$

kur

$M_{PARAUGS}$ = parauga masa (8.1.2.);

M_{IS} = iekšējā standarta masa (8.1.3.);

Konc. IS = iekšējā standarta koncentrācija šķīdumā E (5.14.5.);

RF = atbilstības koeficients, aprēķināts ar 1. vienādojuma palīdzību.

9.1.3. Kvalitātes kontroles standarta šķīduma analīze.

Izmantojot turpmāk sniegto vienādojumu (3), aprēķina atlases vērtības neizmantotos procentus attiecībā uz katru radniecīgo vielu kvalitātes kontroles standartos (5.14.7.):

$$\text{(3) Kvalitātes kontroles QC parauga neizmantotie \%} = \frac{\text{Nosakamas vielas konc. QC standartā}}{\text{Nosakamas vielas konc. skiduma D}} \times 100$$

Nosakāmās vielas koncentrāciju kvalitātes kontroles *QC* standartā aprēķina, izmantojot iepriekš sniegto 1. un 2. vienādojumu.

9.2. Rezultātu galīgā noformēšana.

Paraugu rezultātus no µg pārrēķina g uz 100 litriem tīra spirta, izmantojot 4. vienādojumu:

(4) Koncentrācija g uz 100 litriem tīra spirta =

Konc. 10/(koncentrāc. (% tilp.) × 1 000)

kur ρ = blīvums izteikts kg/m^3.

Rezultātus uzdod līdz 3 nozīmīgiem cipariem un ar lielāko pieļaujamo daudzumu viena zīme aiz komata, piem., 11,4 g uz 100 l tīra spirta.

10. **Kvalitātes nodrošināšana un kontrole (izmantota apstiprinātajai metodei)**

Izmantojot iepriekš sniegto vienādojumu (2), aprēķina katras radniecīgās vielas koncentrāciju kvalitātes kontroles standarta šķīdumos, kas sagatavoti, izpildot 8.1.1. līdz 8.1.4. punktā noteikto procedūru. Izmantojot vienādojumu (3), aprēķina atlases vērtības neizmantotos procentus. Ja analizētie rezultāti atrodas to teorētisko vērtību robežās ± 10 % attiecībā uz katru radniecīgo vielu, tad analīze var notikt. Pretējā gadījumā būtu jāveic izmeklēšana, lai atklātu neprecizitātes cēloni, un jāveic pienācīgas korektīvās darbības.

11. **Metodes darbības rādītāji (precizitāte)**

Starplaboratoriju pārbaudes statistikas rezultāti: tālāk dotajās tabulās ir sniegtas vērtības attiecībā uz šādām sastāvdaļām: etanāls, etilacetāts,

▼B

acetāls, kopējais etanāls, metanols, 2-butanols, 1-propanols, 1-butanols, 2-metil-1-propanols, 2-metil-1-butanols, 3-metil-1-butanols.

Šādi dati tika iegūti starptautiskā metodes darbības pētījumā, kas veikts attiecībā uz starptautiski pieņemtām procedūrām.

Starplaboratoriju pārbaudes gads	1 997
Laboratoriju skaits	32
Paraugu skaits	5
Nosakāmā komponente	e tan āls

Paraugi	A	B	C	D	E
Laboratoriju skaits, kas atlicis pēc novēroto galējo noviržu likvidēšanas	28	26	27	27	28
Novēroto galējo noviržu skaits (laboratorijas)	2	4	3	3	2
Apstiprināto rezultātu skaits	56	52	54	54	56
Vidējā vērtība ($\bar{x}$)µg/g.	63,4	71,67	130,4	38,4 13,8 (*)	28,6 52,2 (*)
Pašatkārtojamības standarts (S_r) µg/g.	3,3	1,9	6,8	4,1	3,6
Pašatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_r) (%)	5,2	2,6	5,2	15,8	8,9
Pašatkārtojamības robeža (r) µg/g	9,3	5,3	19,1	11,6	10,1
Citatkārtojamības standarta novirze (S_R) µg/g	12	14	22	6,8	8,9
Citatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_R) (%)	18,9	19,4	17,1	26,2	22,2
Citatkārtojamības robeža (R) µg/g.	33,5	38,9	62,4	19,1	25,1

Paraugu veidi
A Brendijs: aizklātas dublēšanās.
B Ķiršu liķieris: aizklātas dublēšanās.
C Grapa: aizklātas dublēšanās.
D Viskijs: sašķelšanās līmenis (*).
E Rums: sašķelšanās līmenis (*).

Starplaboratoriju pārbaudes gads	1 997
Laboratoriju skaits	32
Paraugu skaits	5
Nosakāmā komponente	et ila cet āts

Paraugi	A	B	C	D	E
Laboratoriju skaits, kas atlicis pēc novēroto galējo noviržu likvidēšanas	24	24	25	24	24
Novēroto galējo noviržu skaits (laboratorijas)	2	2	1	2	2
Apstiprināto rezultātu skaits	48	48	50	48	48
Vidējā vērtība ($\bar{x}$) µg/g.	96,8	1 046	120,3	112,5 91,8 (*)	99,1 117,0 (*)
Pašatkārtojamības standarts (S_r) µg/g.	2,2	15	2,6	2,1	2,6
Pašatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_r) (%)	2,3	1,4	2,1	2,0	2,4
Pašatkārtojamības robeža (r) µg/g	6,2	40,7	7,2	5,8	7,3
Citatkārtojamības standarta novirze (S_R) µg/g	6,4	79	8,2	6,2	7,1
Citatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_R) (%)	6,6	7,6	6,8	6,2	6,6

▼B

Paraugi	A	B	C	D	E
Citatkārtojamības robeža (R) µg/g	17,9	221,9	22,9	17,5	20,0

Paraugu veidi
A Brendijs: aizklātas dublēšanās.
B Ķiršu liķieris: aizklātas dublēšanās.
C Grapa: aizklātas dublēšanās.
D Viskijs: sašķelšanās līmenis (*).
E Rums: sašķelšanās līmenis (*).

Starplaboratoriju pārbaudes gads	1 997
Laboratoriju skaits	32
Paraugu skaits	5
Nosakāmā komponente	a cet āls

Paraugi	A	B	C	D	E
Laboratoriju skaits, kas atlicis pēc novēroto galējo noviržu likvidēšanas	20	21	22	17	21
Novēroto galējo noviržu skaits (laboratorijas)	4	3	2	4	3
Apstiprināto rezultātu skaits	40	42	44	34	42
Vidējā vērtība ($\bar{x}$) µg/g.	35,04	36,46	68,5	20,36 6,60 (*)	15,1 28,3 (*)
Pašatkārtojamības standarts (S_r) µg/g.	0,58	0,84	1,6	0,82	1,9
Pašatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_r) (%)	1,7	2,3	2,3	6,1	8,7
Pašatkārtojamības robeža (r) µg/g	1,6	2,4	4,4	2,3	5,3
Citatkārtojamības standarta novirze (S_R) µg/g	4,2	4,4	8,9	1,4	3,1
Citatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_R) (%)	12,1	12,0	13,0	10,7	14,2
Citatkārtojamības robeža (R) µg/g.	11,8	12,2	25,0	4,0	8,7

Paraugu veidi
A Brendijs: aizklātas dublēšanās.
B Ķiršu liķieris: aizklātas dublēšanās.
C Grapa: aizklātas dublēšanās.
D Viskijs: sašķelšanās līmenis (*).
E Rums: sašķelšanās līmenis (*).

Starplaboratoriju pārbaudes gads	1 997
Laboratoriju skaits	32
Paraugu skaits	5
Nosakāmā komponente	kop ā e tan āls

Paraugi	A	B	C	D	E
Laboratoriju skaits, kas atlicis pēc novēroto galējo noviržu likvidēšanas	23	19	22	21	22
Novēroto galējo noviržu skaits (laboratorijas)	1	5	2	3	2
Apstiprināto rezultātu skaits	46	38	44	42	44
Vidējā vērtība ($\bar{x}$) µg/g.	76,5	85,3	156,5	45,4 15,8 (*)	32,7 61,8 (*)
Pašatkārtojamības standarts (S_r) µg/g.	3,5	1,3	6,5	4,4	3,6
Pašatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_r) (%)	4,6	1,5	4,2	14,2	7,6

▼B

Paraugi	A	B	C	D	E
Pašatkārtojamības robeža (r) µg/g	9,8	3,5	18,3	12,2	10,0
Citatkārtojamības standarta novirze (S_R) µg/g	13	15	24,1	7,3	9,0
Citatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_R) (%)	16,4	17,5	15,4	23,7	19,1
Citatkārtojamības robeža (R) µg/g.	35,2	41,8	67,4	20,3	25,2

A Brendijs: aizklātas dublēšanās.
B Ķiršu liķieris: aizklātas dublēšanās.
C Grapa: aizklātas dublēšanās.
D Viskijs: sašķelšanās līmenis (*).
E Rums: sašķelšanās līmenis (*).

Starplaboratoriju pārbaudes gads	1 997
Laboratoriju skaits	32
Paraugu skaits	5
Nosakāmā komponente	metanols

Paraugi	A	B	C	D	E
Laboratoriju skaits, kas atlicis pēc novēroto galējo noviržu likvidēšanas	26	27	27	28	25
Novēroto galējo noviržu skaits (laboratorijas)	4	3	3	1	4
Apstiprināto rezultātu skaits	52	54	54	56	50
Vidējā vērtība ($\bar{x}$) µg/g.	319,8	2 245	1 326	83,0 61,5 (*)	18,6 28,9 (*)
Pašatkārtojamības standarts (S_r) µg/g	4,4	27	22	1,5	1,3
Pašatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_r) (%)	1,4	1,2	1,7	2,1	5,6
Pašatkārtojamības robeža (r) µg/g	12,3	74,4	62,5	4,3	3,8
Citatkārtojamības standarta novirze (S_R) µg/g	13	99	60	4,5	2,8
Citatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_R) (%)	3,9	4,4	4,6	6,2	11,8
Citatkārtojamības robeža (R) µg/g	35,2	278,3	169,1	12,5	7,9

A Brendijs: aizklātas dublēšanās.
B Ķiršu liķieris: aizklātas dublēšanās.
C Grapa: aizklātas dublēšanās.
D Viskijs: sašķelšanās līmenis (*).
E Rums: sašķelšanās līmenis (*).

Starplaboratoriju pārbaudes gads	1 997
Laboratoriju skaits	32
Paraugu skaits	4
Nosakāmā komponente	2-butanols

Paraugi	A	B	C	E
Laboratoriju skaits, kas atlicis pēc novēroto galējo noviržu likvidēšanas	21	27	29	22
Novēroto galējo noviržu skaits (laboratorijas)	4	3	1	3
Apstiprināto rezultātu skaits	42	54	58	44

▼B

Paraugi	A	B	C	E
Vidējā vērtība ($\bar{x}$) µg/g	5,88	250,2	27,57	5,83 14,12 (*)
Pašatkārtojamības standarts (S_r) µg/g	0,40	2,2	0,87	0,64
Pašatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_r) (%)	6,8	0,9	3,2	6,4
Pašatkārtojamības robeža (r) µg/g	1,1	6,1	2,5	1,8
Citratkārtojamības standarta novirze (S_R) µg/g	0,89	13	3,2	0,87
Citatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_R) (%)	15,2	5,1	11,5	8,7
Citatkārtojamības robeža (R) µg/g	2,5	35,5	8,9	2,4

A Brendijs: aizklātas dublēšanās.
B Ķiršu liķieris: aizklātas dublēšanās.
C Grapa: aizklātas dublēšanās.
E Rums: sašķelšanās līmenis (*).

Starplaboratoriju pārbaudes gads	1 997
Laboratoriju skaits	32
Paraugu skaits	5
Nosakāmā komponente	1-propanols

Paraugi	A	B	C	D	E
Laboratoriju skaits, kas atlicis pēc novēroto galējo noviržu likvidēšanas	29	27	27	29	29
Novēroto galējo noviržu skaits (laboratorijas)	2	4	3	2	2
Apstiprināto rezultātu skaits	58	54	54	58	58
Vidējā vērtība($\bar{x}$)µg/g.	86,4	3 541	159,1	272,1 229,3 (*)	177,1 222,1 (*)
Pašatkārtojamības standarts (S_r) µg/g.	3,0	24	3,6	2,3	3,3
Pašatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_r) (%)	3,4	0,7	2,3	0,9	1,6
Pašatkārtojamības robeža (r) µg/g	8,3	68,5	10,0	6,4	9,1
Citatkārtojamības standarta novirze (S_R) µg/g	5,3	150	6,5	9,0	8,1
Citatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_R) (%)	6,1	4,1	4,1	3,6	4,1
Citatkārtojamības robeža (R) µg/g.	14,8	407,2	18,2	25,2	22,7

A Brendijs: aizklātas dublēšanās.
B Ķiršu liķieris: aizklātas dublēšanās.
C Grapa: aizklātas dublēšanās.
D Viskijs: sašķelšanās līmenis (*).
E Rums: sašķelšanās līmenis (*).

Starplaboratoriju pārbaudes gads	1 997
Laboratoriju skaits	32
Paraugu skaits	5
Nosakāmā komponente	1-propanols

Paraugi	A	B	C
Laboratoriju skaits, kas atlicis pēc novēroto galējo noviržu likvidēšanas	20	22	22

▼B

Paraugi	A	B	C
Novēroto galējo noviržu skaits (laboratorijas)	4	4	6
Apstiprināto rezultātu skaits	40	44	44
Vidējā vērtība ($\bar{x}$) µg/g.	3,79	5,57	7,54
Pašatkārtojamības standarts (S_r) µg/g.	0,43	0,20	0,43
Pašatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_r) (%)	11,2	3,6	5,6
Pašatkārtojamības robeža (r) µg/g	1,1	0,6	1,2
Citratkārtojamības standarta novirze (S_R) µg/g	0,59	0,55	0,82
Citatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_R) (%)	15,7	9,8	10,8
Citatkārtojamības robeža (R) µg/g.	1,7	1,5	2,3

A Brendijs: aizklātas dublēšanās.
B Ķiršu liķieris: aizklātas dublēšanās.
C Grapa: aizklātas dublēšanās (*).

Starplaboratoriju pārbaudes gads	1 997
Laboratoriju skaits	32
Paraugu skaits	5
Nosakāmā komponente	2-metil– 1-propanols

Paraugi	A	B	C	D	E
Laboratoriju skaits, kas atlicis pēc novēroto galējo noviržu likvidēšanas	28	31	30	26	25
Novēroto galējo noviržu skaits (laboratorijas)	3	0	1	5	6
Apstiprināto rezultātu skaits	56	62	60	52	50
Vidējā vērtība ($\bar{x}$) µg/g.	174,2	111,7	185,0	291,0	115,99
				246,8 (*)	133,87 (*)
Pašatkārtojamības standarts (S_r) µg/g.	2,3	1,6	2,5	1,8	0,74
Pašatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_r) (%)	1,3	1,4	1,3	0,7	0,6
Pašatkārtojamības robeža (r) µg/g	6,4	4,5	6,9	5,0	2,1
Citatkārtojamības standarta novirze (S_R) µg/g	8,9	8,9	9,7	6,0	6,2
Citatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_R) (%)	5,1	8,0	5,2	2,2	5,0
Citatkārtojamības robeža (R) µg/g.	24,9	24,9	27,2	16,9	17,4

A Brendijs: aizklātas dublēšanās.
B Ķiršu liķieris: aizklātas dublēšanās.
C Grapa: aizklātas dublēšanās.
D Viskijs: sašķelšanās līmenis (*).
E Rums: sašķelšanās līmenis (*).

Starplaboratoriju pārbaudes gads	1 997
Laboratoriju skaits	32
Paraugu skaits	5
Nosakāmā komponente	1-metil-1-butanols

Paraugi	A	B	C	D	E

▼B

Paraugi	A	B	C	D	E
Laboratoriju skaits, kas atlicis pēc novēroto galējo noviržu likvidēšanas	25	26	25	27	25
Novēroto galējo noviržu skaits (laboratorijas)	3	2	3	1	2
Apstiprināto rezultātu skaits	50	52	50	54	50
Vidējā vērtība ($\bar{x}$) µg/g.	113,0	48,3	91,6	72,1	39,5
				45,2 (*)	61,5 (*)
Pašatkārtojamības standarts (S_r) µg/g.	2,1	1,5	1,7	2,3	2,3
Pašatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_r) (%)	1,9	3,1	1,8	3,9	4,5
Pašatkārtojamības robeža (r) µg/g	6,0	4,2	4,7	6,4	6,3
Citatkārtojamības standarta novirze (S_R) µg/g	7,4	3,8	6,6	4,7	4,5
Citatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RS_R) (%)	6,6	7,9	7,2	8,1	8,8
Citatkārtojamības robeža (R) µg/g.	20,8	10,7	18,4	13,3	12,5

Paraugu veidi
A Brendijs: aizklātas dublēšanās.
B Ķiršu liķieris: aizklātas dublēšanās.
C Grapa: aizklātas dublēšanās.
D Viskijs: sašķelšanās līmenis (*).
E Rums: sašķelšanās līmenis (*).

Starplaboratoriju pārbaudes gads	1 997
Laboratoriju skaits	32
Paraugu skaits	5
Nosakāmā komponente	3-metil-1-butanols

Paraugi	A	B	C	D	E
Laboratoriju skaits, kas atlicis pēc novēroto galējo noviržu likvidēšanas	23	23	24	27	21
Novēroto galējo noviržu skaits (laboratorijas)	5	5	4	1	6
Apstiprināto rezultātu skaits	46	46	48	54	42
Vidējā vērtība ($\bar{x}$) µg/g.	459,4	242,7	288,4	142,2	212,3
				120,4 (*)	245,6 (*)
Pašatkārtojamības standarts (S_r) µg/g.	5,0	2,4	3,4	2,4	3,2
Pašatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_r) (%)	1,1	1,0	1,2	1,8	1,4
Pašatkārtojamības robeža (r) µg/g	13,9	6,6	9,6	6,6	9,1
Citatkārtojamības standarta novirze (S_R) µg/g	29,8	13	21	8,5	6,7
Citatkārtojamības relatīvā standarta novirze (RSD_R) (%)	6,5	5,2	7,3	6,5	2,9
Citatkārtojamības robeža (R) µg/g.	83,4	35,4	58,8	23,8	18,7

A Brendijs: aizklātas dublēšanās.
B Ķiršu liķieris: aizklātas dublēšanās.
C Grapa: aizklātas dublēšanās.
D Viskijs: sašķelšanās līmenis (*).
E Rums: sašķelšanās līmenis (*).

▼M1

V. ANETOLS. TRANS-ANETOLA NOTEIKŠANA ALKOHOLISKAJOS DZĒRIENOS, IZMANTOJOT GĀZU HROMATOGRĀFIJAS METODI

1. **Darbības joma**

Šī metode ir piemērota, lai alkoholiskajos dzērienos ar anīsu noteiktu trans-anetolu, izmantojot kapilāro gāzu hromatogrāfiju.

2. **Normatīvās atsauces**

ISO 3696: 1987 Ūdens laboratorijas analīzēm – Specifikācijas un testu metodes.

3. **Princips**

Trans-anetola koncentrāciju alkoholiskā dzērienā nosaka ar gāzu hromatogrāfiju (GH). Testa paraugam un zināmas koncentrācijas *trans*-anetola standarta šķīdumam pievieno vienādu daudzumu iekšējā standarta, piemēram, havikola metilētera (estragola), ja paraugā nav estragola dabīgā veidā, un abus atšķaida ar 45 % etanola šķīdumu un ievada tieši GH sistēmā. Liķieriem ar lielu cukura daudzumu pirms paraugu sagatavošanas un analīzes jāveic ekstrakcija.

4. **Reaģenti un materiāli**

Analīzē izmanto vienīgi tādus reaģentus, kuru tīrība ir vismaz 98 %. Jāizmanto vismaz 3. tīrības pakāpes ūdens atbilstoši *ISO* 3696.

Standarta ķīmiskās vielas jāglabā vēsumā (4 °C temperatūrā), tumšā vietā, alumīnija tvertnēs vai tumšā (brūnā) stikla reaģentu pudelēs. Ieteicams, lai aizbāžņi būtu ar alumīnija aizzīmogojumu. Pirms izmantošanas *trans*-anetols ir "jāatlaidina" no kristāliskā stāvokļa, tomēr šajā gadījumā tā temperatūra nedrīkst pārsniegt 35 °C.

4.1. Etanols, 96 % (pēc tilpuma) (CAS 64-17-5)

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

4.3. Havikola metilēteris, (estragols) (CAS 140-67-0), ieteiktais iekšējais standarts (IS)

4.4. Etanols, 45 % (pēc tilpuma)

378 gramiem 96 % (pēc tilpuma) etanola pievieno 560 gramus destilēta ūdens.

4.5. Standarta šķīdumu sagatavošana

Visi standarta šķīdumi jāglabā istabas temperatūrā (15 līdz 35 °C), tumšā vietā, alumīnija tvertnēs vai tumšā (brūnā) stikla reaģentu pudelēs. Ieteicams, lai aizbāznis būtu ar alumīnija aizzīmogojumu.

Trans-anetols un estragols praktiski nešķīst ūdenī, tādēļ pirms 45 % etanola (4.4) pievienošanas *trans*-anetols un estragols jāizšķīdina 96 % etanolā (4.1).

Rezerves šķīdumiem jābūt svaigi sagatavotiem katru nedēļu.

4.5.1. Standarta šķīdums A

Trans-anetola rezerves šķīdums (koncentrācija: 2 g/l):

Iesver 40 mg *trans*-anetola (4.2) mērkolbā ar tilpumu 20 ml (vai 400 mg mērkolbā ar tilpumu 200 ml, utt.). Pievieno nedaudz 96 % etanolu (4.1), uzpilda līdz atzīmei ar 45 % (pēc tilpuma) etanolu (4.4) un rūpīgi sajauc.

4.5.2. Iekšējā standarta šķīdums B

Iekšējā standarta, piem., estragola, rezerves šķīdums (koncentrācija: 2 g/l).

Iesver 40 mg estragola (4.3) mērkolbā ar tilpumu 20 ml (vai 400 mg mērkolbā ar tilpumu 200 ml, utt.). Pievieno nedaudz 96 % etanolu (4.1), uzpilda līdz atzīmei ar 45 % etanolu (4.4) un rūpīgi sajauc.

4.5.3. Šķīdumi, ko izmanto, lai pārbaudītu liesmas jonizācijas detektora (*FID*) atbildes linearitāti

Analīzei *FID* atbildes linearitāte jāpārbauda, ņemot vērā *trans*-anetola koncentrācijas diapazonu alkoholiskajos dzērienos no 0 g/l līdz 2,5 g/l. Veicot analīzi, analizējamo alkoholisko dzērienu nepazīstamos

▼M1

paraugus atšķaida desmitkārtīgi (8.3). Šajā metodē aprakstītajiem analīzes nosacījumiem rezerves šķīdumus ar *trans*-anetola koncentrācijām analizējamā paraugā 0, 0,05, 0,1, 0,15, 0,2 un 0,25 g/l sagatavo šādi: ņem 0,5, 1, 1,5, 2 un 2,5 ml rezerves šķīduma A (4.5.1) un ar pipeti iepilina atsevišķās 20 ml mērkolbās; ar pipeti iepilina katrā kolbā 2 ml iekšējā standarta šķīduma B (4.5.2), uzpilda līdz atzīmei ar 45 % (pēc tilpuma) etanolu (4.4) un rūpīgi sajauc.

Kā tukšo šķīdumu izmanto šķīdumu 0 g/l (8.4).

4.5.4. Standarta šķīdums C

Ņem 2 ml standarta šķīduma A (4.5.1) un ar pipeti iepilina 20 ml mērkolbā, pēc tam pievieno 2 ml iekšējā standarta šķīduma B (4.5.2), uzpilda līdz atzīmei ar 45 % etanolu (4.4) un rūpīgi sajauc.

5. **Iekārtas un aprīkojums**

5.1. Kapilārais gāzu hromatogrāfs, kas aprīkots ar liesmas jonizācijas detektoru (*FID*) un integratoru vai cita veida datu apstrādes sistēmu, ar kuru var izmērīt pīķu augstumus vai laukumus, un ar automātisko paraugu ņemšanas ierīci vai iekārtām, kas vajadzīgas parauga ievadīšanai manuāli.

5.2. Inžektors ar plūsmas dalīšanu vai bez tās

5.3. Kapilārā kolonna, piemēram:

garums: 50 m

iekšējais diametrs: 0,32 mm

slāņa biezums: 0,2 μm

nekustīgā fāze: FFAP – ar modificētu TPA polietilēnglikolu sašūts porains polimērs.

5.4. Parastais laboratorijas aprīkojums: A klases stikla trauki ar mēriedaļām, analītiskie svari (precizitāte: ± 0,1 mg).

6. **Apstākļi hromatogrāfijas veikšanai**

Jāizvēlas tāds kolonnas veids un lielums un tādi GH apstākļi, kas ļauj labi nošķirt anetolu un iekšējo standartu, kā arī kādas papildu vielas. Kolonnai, kas kā piemērs ir norādīta 5.3 punktā, raksturīgie apstākļi ir šādi:

6.1. Nesējgāze: laboratorijas hēlijs

6.2. Plūsmas ātrums: 2 ml/min

6.3. Inžektora temperatūra: 250 °C

6.4. Detektora temperatūra: 250 °C

6.5. Žāvēšanas skapja temperatūras nosacījumi: izotermiski, 180 °C, norises ilgums 10 minūtes

6.6. Ievadītais tilpums: 1 μl, sadalot 1:40

7. **Paraugi**

Paraugi jāglabā istabas temperatūrā, tumšā un pret aukstumu aizsargātā vietā.

8. **Procedūra**

8.1. Parauga izpēte attiecībā uz estragolu

Lai pārliecinātos, vai paraugs dabīgā veidā nesatur estragolu, jāveic tukšā analīze, nepievienojot iekšējo standartu. Ja konstatēts, ka paraugā dabīgā veidā ir estragols, tad jāizvēlas cits iekšējais standarts (piemēram, mentols).

Ar pipeti iepilina 2 ml parauga 20 ml mērkolbā, uzpilda līdz atzīmei ar 45 % etanolu (4.4) un rūpīgi sajauc.

8.2. Nepazīstamo paraugu sagatavošana

Ar pipeti iepilina 2 ml parauga 20 ml mērkolbā, pievieno 2 ml iekšējā standarta šķīduma B (4.5.2), uzpilda līdz atzīmei ar 45 % etanolu (4.4) un rūpīgi sajauc.

▼M1

8.3. Tukšā analīze

Ar pipeti iepilina 2 ml iekšējā standarta šķīduma B (4.5.2) mērkolbā ar tilpumu 20 ml, uzpilda līdz atzīmei ar 45 % etanolu (4.4) un rūpīgi sajauc.

8.4. Linearitātes tests

Pirms analīzes sākšanas *FID* atbildes linearitāte jāpārbauda, secīgi trīs reizes analizējot katru standarta šķīdumu linearitātes kontrolei (4.5.3).

Pēc integratora pīķa laukumiem vai pīķu augstumiem katrai injekcijai grafiski attēlo attiecīgā izejas šķīduma koncentrāciju g/l atkarībā no attiecības R.

R = *trans*-anetola pīķa augstums vai laukums, dalīts ar estragola pīķa augstumu vai laukumu.

Būtu jāiegūst lineāra līkne.

8.5. Noteikšana

Ievada tukšo šķīdumu (8.3), pēc tam standarta šķīdumu C (4.5.4), pēc tam vienu no linearitātes standartiem (4.5.3), kas darbosies kā kvalitātes kontroles paraugs (to var izvēlēties, ņemot vērā varbūtējo *trans*-anetola koncentrāciju nepazīstamajā paraugā), pēc tam piecus nepazīstamos paraugus (8.2); ik pēc pieciem nepazīstamajiem paraugiem ievada linearitātes (kvalitātes kontroles) paraugu, lai nodrošinātu analītisko stabilitāti.

9. **Signāla attiecības pret masas vienību aprēķināšana**

Izmēra vai nu pīķa laukumus (izmantojot integratoru vai cita veida datu apstrādes sistēmu), vai pīķa augstumus (manuāla integrēšana) *trans*-anetola un iekšējā standarta pīķiem.

9.1. Signāla attiecības pret masas vienību (RF_i) aprēķināšana

Signāla attiecību pret masas vienību aprēķina šādi:

$RF_i = (C_i/\text{laukums vai augstums}_i)*(\text{laukums vai augstums}_{is}/C_{is})$

kur

C_i ir *trans*-anetola koncentrācija standarta šķīdumā A (4.5.1)

C_{is} ir iekšējā standarta koncentrācija standarta šķīdumā B (4.5.2)

laukums_i ir *trans*-anetola pīķa laukums (vai augstums)

laukums_{is} ir iekšējā standarta pīķa laukums (vai augstums)

RF_i aprēķina no pieciem šķīduma C paraugiem (4.5.4).

9.2. Atbildes linearitātes testa šķīdumu analīze

Ievada atbildes linearitātes testa šķīdumus (4.5.3).

9.3. Parauga analīze

Ievada nepazīstamā parauga šķīdumu (8.2).

10. **Rezultātu aprēķināšana**

Trans-anetola koncentrāciju aprēķina ar šādu formulu:

$C_i = C_{is} * (\text{laukums vai augstums}_i/\text{laukums vai augstums}_{is})*RF_i$

kur

c_i ir nezināmā *trans*-anetola koncentrācija

C_{is} ir iekšējā standarta koncentrācija nepazīstamajā paraugā (4.5.2)

laukums vai augstums_i ir *trans*-anetola pīķa laukums vai augstums

laukums vai augstums_{is} ir iekšējā standarta pīķa laukums vai augstums

RF_i ir atbildes koeficients (aprēķināts saskaņā ar 9.1)

▼M1

Trans-anetola koncentrāciju izsaka gramos uz litru līdz vienai zīmei aiz komata.

11. **Kvalitātes nodrošināšana un kontrole**

Hromatogrammām jābūt tādām, kas skaidri nošķir anetolu un iekšējo standartu, kā arī kādas papildu vielas. RF_i vērtību aprēķina no rezultātiem attiecībā uz piecām šķīduma C (4.5.4) ievadīšanas reizēm. Ja variācijas koeficients (CV % = (standarta novirze/vidējais)*100)) nepārsniedz +/- 1 % robežas, RF_i vidējais lielums ir pieņemams.

Iepriekš norādītais aprēķins jāizmanto, lai aprēķinātu *trans*-anetola koncentrāciju paraugā, kas kvalitātes kontroles mērķiem atlasīts no linearitātes kontroles šķīdumiem (4.5.3).

Ja vidējie lielumi, kas aprēķināti, analizējot linearitātes kontroles šķīdumu, kas izvēlēts kā kvalitātes kontroles iekšējais standarts, nepārsniedz plus vai mīnus 2,5 % no to teorētiskās vērtības, tad nepazīstamo paraugu rezultāti ir pieņemami.

12. **Alkohola paraugu, kuros ir liels daudzums cukura, un liķiera paraugu apstrāde pirms GH analīzes**

Spirta ekstrakcija no alkoholiskajiem dzērieniem, kuros ir liels daudzums cukura, lai varētu noteikt *trans*-anetola koncentrāciju, izmantojot kapilāro gāzu hromatogrāfiju.

12.1. Princips

Liķiera parauga alikvotai daļai pievieno iekšējo standartu tādā koncentrācijā, kas līdzinās nosakāmās vielas (*trans*-anetola) koncentrācijai liķierī. Tam pievieno nātrija fosfāta dodekahidrātu un bezūdens amonija sulfātu. Radušos maisījumu rūpīgi sakrata un atvēsina, izveidojas divi slāņi, un noņem augšējo spirta slāni. Šā spirta slāņa alikvoto daļu atšķaida ar 45 % (pēc tilpuma) etanola šķīdumu (4.4). (Piezīme: šajā posmā nepievieno iekšējo standartu, jo tas jau ir ticis pievienots). Iegūto šķīdumu analizē ar gāzu hromatogrāfiju.

12.2. Reaģenti un materiāli

Ekstrakcijā izmanto vienīgi tādus reaģentus, kuru tīrība pārsniedz 99 %.

12.2.1. Amonija sulfāts, bezūdens, (CAS 7783-20-2)

12.2.2. Nātrija fosfāts, divbāzisks, dodekahidrāts, (CAS 10039-32-4)

12.3. Iekārtas un aprīkojums

Koniskās mēģenes, nošķiršanas mēģenes, ledusskapis.

12.4. Procedūra

12.4.1. Parauga izpēte attiecībā uz estragolu

Lai pārliecinātos, vai paraugs dabīgā veidā nesatur estragolu, jāveic tukšā ekstrakcija (12.6.2) un analīze, nepievienojot iekšējo standartu. Ja konstatēts, ka paraugā dabīgā veidā ir estragols, tad jāizvēlas cits iekšējais standarts.

12.4.2. Ekstrakcija

Ar pipeti iepilina 5 ml 96 % etanola (4.1) koniskā mēģenē, šajā mēģenē iesver 50 mg iekšējā standarta (4.3) un pievieno 50 ml parauga. Pievieno 12 g bezūdens amonija sulfāta (12.2.1) un 8,6 g divbāziskā nātrija fosfāta, dodekahidrātu (12.2.2). Noslēdz konisko mēģeni ar aizbāzni.

Mēģeni krata vismaz 30 minūtes. Var izmantot mehānisku kratīšanas ierīci, bet ne magnētisku maisītājstienīti ar teflona pārklājumu, jo teflons absorbē nosakāmo vielu. Jāievēro, ka pievienotie sāļi neizšķīst pilnīgi.

Ar aizbāzni noslēgto mēģeni ievieto ledusskapī (T < 5 C) vismaz uz divām stundām.

Paejot šim laikam, jābūt diviem skaidri atšķiramiem šķidruma slāņiem un cietajam atlikumam. Spirta slānim jābūt dzidram; ja tā nav, mēģeni ievieto atpakaļ ledusskapī, līdz panākta skaidra nošķiršanās.

▼M1

Kad spirta slānis ir dzidrs, uzmanīgi noņem alikvotu daļu (piem., 10 ml), nesakustinot ūdens slāni, ievieto tumša stikla stobriņā un cieši noslēdz.

12.4.3. Ekstrahētā parauga sagatavošana analīzei

Ļauj ekstraktam (12.4.2) sasniegt istabas temperatūru.

No istabas temperatūru ieguvušā ekstrahētā parauga spirta slāņa ņem 2 ml, ar pipeti iepilina 20 ml mērkolbā, uzpilda līdz atzīmei ar 45 % etanolu (4.4) un rūpīgi sajauc.

12.5. Noteikšana

Ievēro procedūru, kas izklāstīta punktā 8.5.

12.6. Rezultātu aprēķināšana

Rezultātus aprēķina pēc šādas formulas:

$C_i = (m_{is}/V)^* (laukums_i/laukums_{is}) *RF_i$

kur

m_{is} ir paņemtā (12.4.2) iekšējā standarta (4.3) svars (miligramos)

V ir nepazīstamā parauga tilpums (50 ml)

RF_i ir signāla attiecība pret masas vienību (9.1)

$laukums_i$ ir *trans*-anetola pīķa laukums

$laukums_{is}$ ir iekšējā standarta pīķa laukums.

Rezultātus izsaka gramos uz litru līdz vienai zīmei aiz komata.

12.7. Kvalitātes nodrošināšana un kontrole

Ievēro procedūru, kas jau izklāstīta 11. punktā.

13. **Metodes darbības rādītāji (precizitāte)**

Starplaboratoriju pārbaudes statistiskie rezultāti:

Tabulās še turpmāk ir vērtības attiecībā uz anetolu.

Šādi dati tika iegūti starptautiskā pētījumā attiecībā uz metodes darbību, kas veikts saskaņā ar starptautiski pieņemtām procedūrām.

Starplaboratoriju pārbaudes veikšanas gads	1 998
Laboratoriju skaits	16
Paraugu skaits	10
Nosakāmā komponente	anetols

Pastiss:

Paraugi	A	B	C	D	E	F
Laboratoriju skaits pēc neloģisko rezultātu atmešanas	15	15	15	13	16	16
Neloģisko rezultātu skaits (laboratorijas)	1	1	1	3	—	—
Pieņemto rezultātu skaits	30	30	30	26	16	16
Vidējā vērtība g/l	1,477	1,955	1,940	1,833	1,741	1,754
Atkārtojamības standartnovirze (S_r) g/l	0,022	0,033	0,034	0,017	—	—
Atkārtojamības relatīvā standartnovirze (RSD_r) (%)	1,5	1,7	1,8	0,9	—	—
Atkārtojamības robeža (r) g/l	0,062	0,093	0,096	0,047	—	—
Sakritības standartnovirze (S_R) g/l	0,034	0,045	0,063	0,037	0,058	0,042
Sakritības relatīvā standartnovirze (RSD_R) (%)	2,3	2,3	3,2	2,0	3,3	2,4

▼M1

Paraugi	A	B	C	D	E	F
Sakritības robeža (R) g/l	0,094	0,125	0,176	0,103	0,163	0,119

Paraugu veidi:

A pastiss, divkāršs paraugs

B pastiss, divkāršs paraugs

C pastiss, divkāršs paraugs

D pastiss, divkāršs paraugs

E pastiss, viens paraugs

F pastiss, viens paraugs

Citi alkoholiskie dzērieni ar anīsu:

Paraugi	G	H	I	J
Laboratoriju skaits pēc neloģisko rezultātu atmešanas	16	14	14	14
Neloģisko rezultātu skaits (laboratorijas)	—	2	1	1
Pieņemto rezultātu skaits	32	28	28	28
Vidējā vērtība g/l	0,778 0,530 (*)	1,742	0,351	0,599
Atkārtojamības standartnovirze (S_r) g/l	0,020	0,012	0,013	0,014
Atkārtojamības relatīvā standartnovirze (RSD_r) (%)	3,1	0,7	3,8	2,3
Atkārtojamības robeža (r) g/l	0,056	0,033	0,038	0,038
Sakritības standartnovirze (S_R) g/l	0,031	0,029	0,021	0,030
Sakritības relatīvā standartnovirze (RSD_R) (%)	4,8	1,6	5,9	5,0
Sakritības robeža (R) g/l	0,088	0,080	0,058	0,084

Paraugu veidi:

G ūzo, divkāršs paraugs, ar diviem koncentrācijas līmeņiem (*)

H anīss, divkāršs paraugs

I liķieris ar anīsu, divkāršs paraugs

J liķieris ar anīsu, divkāršs paraugs.

VI. GLICIRIZĪNSKĀBE. GLIZIRIZĪNSKĀBES NOTEIKŠANA, IZMANTOJOT AUGSTAS IZŠĶIRTSPĒJAS ŠĶIDRUMA HROMATOGRĀFIJU

1. Darbības joma

Šī metode ir piemērota, lai alkoholiskajos dzērienos ar anīsu noteiktu glicirizīnskābi, izmantojot augstas izšķirtspējas šķidruma hromatogrāfiju (*HPLC*). Regulā (EEK) Nr. 1576/89 ir noteikts, ka glicirizīnskābes daudzumam ar anīsu aromatizētā alkoholiskā dzērienā, kas saukts par "pastisu", jābūt robežās no 0,05 līdz 0,5 g uz litru.

2. Normatīvās atsauces

ISO 3696: 1987 Ūdens laboratorijas analīzēm – Specifikācijas un testu metodes.

3. Princips

Glicirizīnskābes koncentrāciju nosaka, izmantojot augstas izšķirtspējas šķidruma hromatogrāfiju (*HPLC*) ar UV staru detektoru. Standarta šķīdumu un analizējamo paraugu filtrē, un tos katru atsevišķi ievada tieši *HPLC* sistēmā.

▼M1

4. **Reaģenti un materiāli**

Analīzē izmanto vienīgi *HPLC* tīrības pakāpes reaģentus, absolūto spirtu un 3. tīrības pakāpes ūdeni atbilstoši *ISO* 3696.

4.1. Etanols, 96 % (pēc tilpuma) (CAS 64-17-5)

4.2. Amonja glicirizināts, $C_{42}H_{62}O_{16}.NH_3$ (glicirizīnskābes amonija sāls)

(molmasa: 839,98) (CAS 53956-04-0): tīrības pakāpe vismaz 90 %

(molmasa: glicirizīnskābe 822,94)

4.3. Ledus etiķskābe, CH_3COOH, (CAS 64-19-7)

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

4.5. Etanols, 50 % (pēc tilpuma)

Daudzumam 1 000 ml 20 °C temperatūrā:

— 96 % (pēc tilpuma) etanols (4.1): 521 ml,

— ūdens (2.0): 511 ml.

4.6. *HPLC* eluēšanas šķīdumu sagatavošana

4.6.1. Eluēšanas šķīdums A (piemērs):

80 (tilpuma) daļas ūdens (2.0)

20 (tilpuma) daļas etiķskābes (4.3).

Eluēšanas šķīdumu piecas minūtes degazē.

Piezīme: Ja izmantojamais ūdens nav mikrofiltrēts, sagatavoto eluēšanas šķīdumu ieteicams filtrēt organiskiem šķīdinātājiem paredzētā filtrā, kam poru izmērs ir mazāks vai vienāds ar 0,45 μm.

4.6.2. Eluēšanas šķīdums B

Metanols (4.4)

4.7. Standarta šķīdumu gatavošana

Visiem standarta šķīdumiem pēc diviem mēnešiem jābūt svaigi pagatavotiem no jauna.

4.7.1. Standartšķīdums C

Ar precizitāti līdz 0,1 mg 100 ml tilpuma mērkolbā iesver 25 mg amonija glicirizināta (4.2). Pievieno 50 % (pēc tilpuma) etanolu (4.5) un izšķīdina amonija glicirizinātu. Kad tas ir izšķīdis, uzpilda līdz atzīmei ar 50 % (pēc tilpuma) etanolu (4.5).

Filtrē caur organiskiem šķīdinātājiem paredzētu filtru.

4.7.2. Standarta šķīdumi, ko izmanto, lai pārbaudītu ierīču atbildes linearitāti

Rezerves šķīdumu ar koncentrāciju 1,0 g/l pagatavo, ar precizitāti līdz 0,1 mg iesverot 100 mg amonija glicirizināta 100 ml mērkolbā. Pievieno 50 % (pēc tilpuma) etanolu (4.5) un izšķīdina amonija glicirizinātu. Kad tas ir izšķīdis, uzpilda līdz atzīmei ar 50 % (pēc tilpuma) etanolu (4.5).

Pagatavo vismaz četrus citus šķīdumus, kas atbilst amonija glicirizināta koncentrācijām 0,05, 0,1, 0,25 un 0,5 g/l, ar pipeti iepilinot, attiecīgi, 5 ml, 10 ml, 25 ml un 50 ml rezerves šķīduma ar koncentrāciju 1,0 g/l atsevišķās 100 ml mērkolbās. Pēc tam tās uzpilda līdz atzīmei ar 50 % (pēc tilpuma) etanolu (4.5) un rūpīgi sajauc.

Visus šķīdumus filtrē caur organiskiem šķīdinātājiem paredzētu filtru.

5. **Iekārtas un aprīkojums**

5.1. Atdalīšanas sistēma

5.1.1. Augstas izšķirtspējas šķidruma hromatogrāfs

5.1.2. Sūknēšanas sistēma, kas ļauj sasniegt un uzturēt pastāvīgu vai ieprogrammētu caurplūdumu ar lielu precizitāti

▼M1

5.1.3. Ultravioleto staru spektrofotometriskā detektēšanas sistēma: noregulējama uz 254 nm

5.1.4. Šķīdinātāja degazēšanas sistēma

5.2. Datorizēts integrators vai reģistrēšanas iekārta, kuras darbība ir saderīga ar pārējo sistēmu

5.3. Kolonna (piemērs):

materiāls: nerūsējošais tērauds vai stikls

iekšējais diametrs: 4 līdz 5 mm

garums: 100 līdz 250 mm

nekustīgā fāze: ar oktadecila funkcionālo grupu (C 18) (vēlams, sfērisku) sašūts silīcija oksīds; daļiņu maksimālais izmērs 5 μm.

5.4. Laboratorijas aprīkojums

5.4.1. Analītiskie svari ar precizitāti 0,1 mg

5.4.2. A klases stikla trauki ar mēriedaļām

5.4.3. Mikromembrānas filtrēšanas iekārta nelieliem daudzumiem

6. **Apstākļi hromatogrāfijas veikšanai**

6.1. Eluēšanas raksturlielumi: (piemērs)

— plūsmas ātrums: 1 ml/minūtē,

— šķīdinātājs A = 30 %,

— šķīdinātājs B = 70 %.

6.2. Detektēšana:

— UV = 254 nm

7. **Procedūra**

7.1. Alkohola parauga sagatavošana

Vajadzības gadījumā filtrē caur organiskiem šķīdinātājiem paredzētu filtru (poru diametrs: 0,45 μm).

7.2. Noteikšana

Tiklīdz ir nostabilizējušies hromatogrāfijas apstākļi,

— ievada 20 μl standarta šķīduma C (4.7.1),

— ievada 20 μl parauga šķīduma,

— salīdzina abas hromatogrammas. Glicirizīnskābes pīķus identificē pēc to izdalīšanās laika. Izmēra to laukumus (vai augstumus) un aprēķina koncentrāciju g/l ar precizitāti līdz diviem cipariem aiz komata, izmantojot šādu vienādojumu:

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

kur

c ir glicirizīnskābes koncentrācija analizējamā alkoholā gramos uz litru

C ir amonija glicirizināta koncentrācija standarta šķīdumā gramos uz litru

h ir analizējamā alkohola glicirizīnskābes pīķa laukums (vai augstums)

H ir standarta šķīduma glicirizīnskābes pīķa laukums (vai augstums)

P ir standarta amonija glicirizināta tīrības pakāpe (%)

823 ir glicirizīnskābes viena mola masa

840 ir amonija glicirizināta viena mola masa.

▼M1

8. **Metodes darbības rādītāji (precizitāte)**

Starplaboratoriju pārbaudes statistikas rezultāti:

turpmāk dotajā tabulā sniegtas vērtības attiecībā uz glicirizīnskābi.

Šādi dati tika iegūti starptautiskā metodes darbības pētījumā, kas veikts pēc starptautiski pieņemtām procedūrām.

Starplaboratoriju pārbaudes veikšanas gads	1 998
laboratoriju skaits	16
paraugu skaits	5
nosakāmā komponente	glicirizīnskābe

Paraugi	A	B	C	D	E
Laboratoriju skaits pēc neloģisko rezultātu atmešanas	13	14	15	16	16
Neloģisko rezultātu skaits (laboratorijas)	3	2	1	—	—
Pieņemto rezultātu skaits	26	28	30	32	32
Vidējā vērtība g/l	0,046	0,092 (*)0,099	0,089	0,249	0,493
Atkārtojamības standartnovirze (S_r) g/l	0,001	0,001	0,001	0,002	0,003
Atkārtojamības relatīvā standartnovirze (RSD_r) (%)	1,5	1,3	0,7	1,0	0,6
Atkārtojamības robeža (r) g/l	0,002	0,004	0,002	0,007	0,009
Sakritības standartnovirze (S_R) g/l	0,004	0,007	0,004	0,006	0,013
Sakritības relatīvā standartnovirze (RSD_R) (%)	8,6	7,2	4,0	2,5	2,7
Sakritības robeža (R) g/l	0,011	0,019	0,010	0,018	0,037

Paraugu veidi:

A pastiss, divkāršs paraugs

B pastiss, divkāršs paraugs, divi dažādi koncentrācijas līmeņi (*)

C pastiss, divkāršs paraugs

D pastiss, divkāršs paraugs

E pastiss, divkāršs paraugs

▼M1

VII. **HALKONS. AUGSTAS IZŠĶIRTSPĒJAS ŠĶIDRUMA HROMATOGRĀFIJAS METODE, LAI NOTEIKTU HALKONA KLĀTBŪTNI PASTISĀ**

1. **Darbības joma**

Šī metode ir piemērota, lai noteiktu, vai alkoholiskie dzērieni satur vai nesatur halkonu. Halkons ir lakricas saknēs (*Glycyrrhiza glabra*) sastopama dabiska krāsviela, kas pieder pie flavonoīdiem.

Alkoholiskais dzēriens ar anīsu tikai tad ir saucams par "pastisu", ja tas satur halkonu (Regula (EEK) Nr. 1576/89).

2. **Normatīvās atsauces**

ISO 3696: 1987, Ūdens laboratorijas analīzēm – Specifikācijas un testu metodes.

3. **Princips**

Sagatavo standarta lakricas ekstrakta šķīdumu. Halkona klātbūtni nosaka, izmantojot augstas izšķirtspējas šķidruma hromatogrāfiju (*HPLC*) ar UV staru detektoru.

4. **Reaģenti un materiāli**

Analīzē izmanto vienīgi *HPLC* tīrības pakāpes reaģentus. Jāizmanto 96 % (pēc tilpuma) etanols. Jāizmanto vienīgi tāds ūdens, kuram piemīt vismaz 3. tīrības pakāpe atbilstoši *ISO* 3696.

4.1. Etanols, 96 % (pēc tilpuma) (CAS 64-17-5)

4.2. Acetonitrils, CH_3CN, (CAS 75-05-8)

4.3. Standarta izejmateriāls: *Glycyrrhiza glabra*: lakrica, "saldsaknīte"

Rupji samaltas lakricas saknes (*Glycyrrhiza glabra*). Nūjiņām līdzīgo daļiņu vidējie izmēri: garums: 10 līdz 15 mm, platums: 1 līdz 3 m

4.4. Nātrija acetāts, CH_3COONa, (CAS 127-09-3)

4.5. Ledus etiķskābe, CH_3COOH, (CAS 64-19-7)

4.6. Šķīdumu sagatavošana

4.6.1. Etanols, 50 % (pēc tilpuma)

Daudzumam 1 000 ml 20 °C temperatūrā:

— 96 % (pēc tilpuma) etanols (4.1): 521 ml,

— ūdens (2.0): 511 ml.

4.6.2. Šķīdinātājs A: acetonitrils

Acetonitrils (4.2) ar *HPLC* analītisko kvalitāti.

Degazē.

4.6.3. Šķīdinātājs B: 0,1 M nātrija acetāta buferšķīdums, pH 4,66

Mērkolbā iesver 8,203 g nātrija acetāta (4.4), pievieno 6,005 g ledus etiķskābes (4.5) un ar ūdeni (2) uzpilda līdz 1 000 ml tilpumam.

5. **Standarta ekstrakta pagatavošana no *Glycyrrhiza glabra* (4.3)**

5.1. Nosver 10 g maltas lakricas saknes (*Glycyrrhiza glabra*) (4.3) un ievieto pārtvaices apaļkolbā,

— pievieno 100 ml 50 % (pēc tilpuma) etanola (4.6.1),

— vāra vienu stundu, izmantojot atteces dzesinātāju,

— filtrē,

— filtrātu atliek malā vēlākai izmantošanai.

5.2. Ņem lakricas ekstraktu no filtra,

— ievieto pārtvaices apaļkolbā,

— pievieno 100 ml 50 % (pēc tilpuma) etanola (4.6.1),

— vāra vienu stundu, izmantojot atteces dzesinātāju,

▼M1

— filtrē. Filtrātu atliek malā vēlākai izmantošanai.

5.3. Lakricas saknes ekstrakcija jāveic trīs reizes pēc kārtas.

5.4. Visus trīs filtrātus apvieno.

5.5. Iztvaicē šķīdinātāja fāzi (no 5.4) ar rotācijas iztvaicētāju.

5.6. Noņem atlikuma ekstraktu (no 5.5), izmantojot 100 ml 50 % (pēc tilpuma) etanolu (4.6.1).

6. **Iekārtas un aprīkojums**

6.1. Atdalīšanas sistēma

6.1.1. Augstas izšķirtspējas šķidruma hromatogrāfs

6.1.2. Sūknēšanas sistēma, kas var sasniegt un uzturēt pastāvīgu vai ieprogrammētu caurplūdumu ar augstu spiedienu

6.1.3. Ultravioleto/redzamā spektra staru spektrofotometriskās detektēšanas sistēma, kuru var noregulēt uz 254 un 370 nm

6.1.4. Šķīdinātāja degazēšanas sistēma

6.1.5. Kolonnas termostats, kam var noregulēt temperatūru 40 ± 0,1 °C

6.2. Datorizēts integrators vai reģistrēšanas iekārta, kuras darbība ir saderīga ar pārējo atdalīšanas sistēmu.

6.3. Kolonna

Materiāls: nerūsējošais tērauds vai stikls

Iekšējais diametrs: 4 līdz 5 mm

Nekustīgā fāze: ar atvasinātu oktadecila funkcionālo grupu (C 18) sašūts silīcija oksīds; maksimālais daļiņu izmērs: 5 μm (sašūtā fāze).

6.4. Parastais laboratoriju aprīkojums, to skaitā:

6.4.1. Analītiskie svari (precizitāte: ± 0,1 mg)

6.4.2. Destilācijas aparāts ar atteces dzesinātāju, kurā ietilpst, piemēram:

— apaļkolba, 250 m1 tilpuma, ar standartizētu pieslīpēta stikla savienojumu,

— atteces dzesinātājs, 30 cm garš, un

— siltuma avots (veicot attiecīgus pasākumus, jānovērš jebkāda ekstraktvielu aizdegšanās).

6.4.3. Rotācijas iztvaicētājs

6.4.4. Filtrēšanas ierīce (piemēram, Bihnera piltuve)

6.5. Apstākļi hromatogrāfijas veikšanai (piemērs)

6.5.1. Šķīdinātāju A (4.6.2) un B (4.6.3) eluēšanas raksturlielumu vērtības:

— gradienta nobīde no 20/80 (v/v) uz 50/50 (v/v) 15 minūšu laikā,

— gradienta nobīde no 50/50 (v/v) uz 75/25 (v/v) piecu minūšu laikā,

— vienāds stiprums 75/25 (v/v) piecas minūtes,

— kolonnas nostabilizēšanās laikā starp divām ievadīšanas reizēm,

— vienāds stiprums 20/80 (v/v) piecas minūtes.

6.5.2. Plūsmas ātrums: 1 ml/minūtē

6.5.3. UV detektora iestatījumi:

detektors jānoregulē uz 370 nm, lai konstatētu halkonu, un – uz 254 nm, lai konstatētu glicirizīnskābi.

▼M1

Piezīme: viļņu garums jāmaina (no 370 nm uz 254 nm) 30 sekundes pirms glicirizīnskābes eluēšanas pīķa sākuma.

7. **Procedūra**

7.1. Alkohola parauga sagatavošana

Filtrē caur organiskiem šķīdinātājiem paredzētu filtru (poru diametrs: 0,45 μm).

7.2. Atlikuma lakricas ekstrakta pagatavošana (5.6)

Pirms analīzes atšķaida ar 50 % (pēc tilpuma) etanolu attiecībā "viens pret desmit".

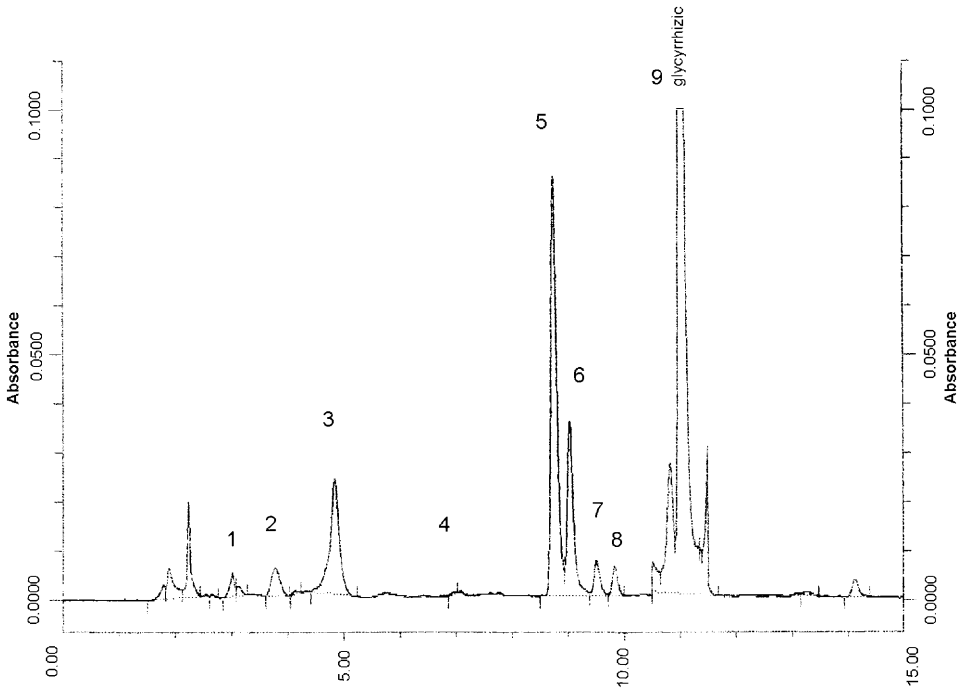
7.3. Noteikšana

7.3.1. Ievada 20 μl pagatavotā lakricas ekstrakta (7.2). Analīzi veic tādos hromatogrāfijas apstākļos, kas aprakstīti iepriekš (6.5).

7.3.2. Ievada 20 μl parauga (7.1) (ar anīsu aromatizēta alkohola paraugs). Analīzi veic tādos hromatogrāfijas apstākļos, kas aprakstīti iepriekš (6.5).

7.3.3. Salīdzina abas hromatogrammas. Starp abām hromatogrammām jābūt lielai līdzībai halkona izejas zonā (tad, kad veic detektēšanu pie 379 nm, iepriekš aprakstītajos analīzes apstākļos) (Skat. 1. attēlu).

8. **Pastisam raksturīga hromatogramma**



▼M1

9. **Metodes darbības rādītāji (precizitāte)**

Starplaboratoriju pārbaudes rezultāti:

turpmāk dotajā tabulā sniegti dati attiecībā uz izpildi, nosakot halkona klātbūtni vai neesamību pastisā un alkoholā ar anīsu.

Šādi dati tika iegūti starptautiskā metodes darbības pētījumā, kas veikts attiecībā pēc starptautiski pieņemtām procedūrām.

Starplaboratoriju pārbaudes veikšanas gads	1 998
laboratoriju skaits	14
paraugu skaits	11
nosakāmā komponente	halkons

Paraugi	A	B	C	D	E	F
Laboratoriju skaits pēc galējo rezultātu atmešanas	14	14	14	14	14	13
Neloģisko rezultātu skaits (laboratorijas)	—	—	—	—	—	10 (*)
Pieņemto rezultātu skaits	28	14	14	28	28	26
Rezultātu skaits attiecībā uz halkona klātbūtni	28	14	14	0	28	0
Rezultātu skaits attiecībā uz halkona neesamību	0	0	0	28	0	26
Pareizo rezultātu daudzums procentos (%)	100	100	100	100	100	100

(*) Pretrunīgi rezultāti attiecībā uz divkāršiem paraugiem sakarā ar paraugu ņemšanas kļūdu

Paraugi	G	H	I	J	K
Laboratoriju skaits pēc galējo rezultātu atmešanas	14	14	14	14	14
Neloģisko rezultātu skaits (laboratorijas)	–	–	–	–	–
Pieņemto rezultātu skaits	28	14	14	28	28
Rezultātu skaits attiecībā uz halkona klātbūtni	0	0	0	0	0
Rezultātu skaits attiecībā uz halkona neesamību	28	14	14	28	28
Pareizo rezultātu daudzums procentos (%)	100	100	100	100	100

Paraugu veidi:

A pastiss, divkāršs paraugs

B pastiss, viens paraugs

C pastiss, viens paraugs

D “pastiss” (nesatur halkonu), divkāršs paraugs

E “pastiss” (nesatur halkonu), divkāršs paraugs

F liķieris ar anīsu (nesatur halkonu), divkāršs paraugs

G liķieris ar anīsu (nesatur halkonu), divkāršs paraugs

H ūzo (nesatur halkonu), viens paraugs

I ūzo (nesatur halkonu), viens paraugs

J anīss (nesatur halkonu), divkāršs paraugs

K “pastiss” (nesatur halkonu), divkāršs paraugs

▼M1

IX. **OLU DZELTENUMS. OLU DZELTENUMA KONCENTRĀCIJAS NOTEIKŠANA ALKOHOLISKAJOS DZĒRIENOS – FOTOMETRISKĀ METODE**

1. **Darbības joma**

Šī metode ir piemērota, lai noteiktu olu dzeltenuma koncentrāciju olu liķierī un olas saturošā liķierī 40 līdz 250 g/l diapazonā.

2. **Normatīvās atsauces**

ISO 3696:1897 Ūdens laboratorijas analīzēm – Specifikācijas un testu metodes.

3. **Princips**

Olu dzeltenumā konstatētos etanolā šķīstošos fosfora savienojumus ekstrahē un nosaka fotometriski kā fosfora molibdāta kompleksu.

4. **Reaģenti un materiāli**

4.1. Divreiz destilēts ūdens

4.2. Diatomīta zeme

4.3. Etanols, 96 % (pēc tilpuma) (CAS 64-17-5)

4.4. Magnija acetāta (CAS 16674-78-5) 15 % šķīdums

4.5. Sērskābe (CAS 7664-93-9), 10 %

4.6. Sērskābe 1 N

4.7. Kālija dihidrogēnfosfāta (CAS 778-77-0) KH_2PO_4 šķīdums, 0,16 g/l

4.8. Reaģents fosfāta noteikšanai:

izšķīdina 20 g amonija molibdāta (CAS 12054-85-2), $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ ūdenī ar tilpumu 400 ml un temperatūru 50 °C,

citā traukā izšķīdina 1 g amonija vanadāta (CAS 7803-55-6), NH_4VO_3, karstā ūdenī ar tilpumu 300 ml, ļauj atdzist, pēc tam pievieno 140 ml koncentrētas slāpekļskābes (CAS 7697-37-2). Atdzesētos šķīdumus savieno 1 000 ml mērkolbā un uzpilda līdz 1 000 ml atzīmei.

5. **Iekārtas un aprīkojums**

5.1. Koniskā kolba ar tilpumu 100 ml

5.2. Ultraskaņas vanna (vai magnētiskais maisītājs)

5.3. Mērkolba ar tilpumu 100 ml

5.4. Ūdens vanna 20 °C

5.5. Filtrs (Vatmaņa papīrs Nr. 4 vai līdzvērtīgs)

5.6. Porcelāna (vai platīna) tīģelis

5.7. Verdoša ūdens vanna

5.8. Plītiņa

5.9. Mufeļkrāsns

5.10. Mērkolba ar tilpumu 50 ml

5.11. Mērkolba ar tilpumu 20 ml

5.12. Spektrofotometrs, noregulēts uz 420 nm

5.13. Kivete, 1 cm.

6. **Paraugi**

Paraugus pirms analīzes veikšanas glabā istabas temperatūrā.

7. **Procedūra**

7.1. Parauga gatavošana

7.1.1. Iesver 10 g parauga 100 ml apaļkolbā (5.1).

7.1.2. Pakāpeniski pievieno 70 ml etanola (4.3) nelielām devām, sajaucot pēc katras pievienošanas, un ievieto uz 15 minūtēm ultraskaņas

▼M1

vannā (5.2) (vai maisījumu 10 minūtes maisa ar magnētisko maisītāju istabas temperatūrā).

7.1.3. Pārvieto kolbas saturu uz 100 ml mērkolbu (5.3) ar etanola skalojumiem (4.3). Koriģē līdz kalibrēšanas atzīmei ar etanolu (4.3) un ievieto kolbas 20 °C ūdens vannā (5.4). Koriģē līdz 20 °C kalibrēšanas atzīmei.

7.1.4. Pievieno nelielu daudzumu diatomīta zemes (4.2) un filtrē (5.5), aizmetot pirmos 20 ml.

7.1.5. Pārvieto 25 ml filtrāta uz porcelāna (vai platīna) tīģeli (5.6). Pēc tam filtrāts ir jākoncentrē, viegli tvaicējot verdošā ūdens vannā (5.7), pievienojot 5 ml 15 % magnija acetāta šķīduma (4.4).

7.1.6. Tīģeļus novieto uz plītiņas (5.8) un karsē vienīgi līdz izžūšanai.

7.1.7. Atlikumu pārpelno, sakarsējot līdz kvēlei 600 °C mufeļkrāsnī (5.9), līdz pelni kļūst balti, vismaz pusotru stundu, bet var arī atstāt līdz rītam.

7.1.8. Noņem pelnus ar 10 ml 10 % sērskābes (4.5), pārvieto tos ar destilēta ūdens (4.1) skalojumiem uz 50 ml mērkolbu (5.10) un istabas temperatūrā uzpilda līdz atzīmei ar destilētu ūdeni (4.1). Lai pagatavotu fotometriskās fosfāta pārbaudes parauga šķīdumu, izmanto šā pelnu šķīduma alikvoto daļu 5 ml.

7.2. Fotometriskā fosfāta pārbaude

7.2.1. Salīdzināmais šķīdums

7.2.1.1. Ievieto 10 ml 10 % sērskābes (4.5) 50 ml mērkolbā (5.10) un uzpilda līdz atzīmei ar destilētu ūdeni (4.1).

7.2.1.2. Šā šķīduma alikvotajai daļai 5 ml (7.2.1.1), kas atrodas 20 ml mērkolbā (5.11), pievieno 1 ml 1 N sērskābes (4.6) un 2 ml fosfāta reaģenta (4.8) un uzpilda līdz 20 ml atzīmei ar destilētu ūdeni (4.1).

7.2.1.3. Aizver ar brīvi ievietotu aizbāzni, sakrata, 10 minūtes karsē verdoša ūdens vannā (5.7) un pēc tam 20 minūtes dzesē 20 °C ūdens vannā (5.4).

7.2.1.4. Uzpilda 1 cm kiveti (5.13) ar šo salīdzinošo šķīdumu.

7.2.2. Parauga šķīdums

7.2.2.1. Pelnu šķīduma alikvotajai daļai 5 ml (7.1.8), kas atrodas 20 ml mērkolbā (5.11), pievieno 1 ml 1 N sērskābes (4.6) un 2 ml fosfāta reaģenta (4.8) un uzpilda līdz 20 ml atzīmei ar destilētu ūdeni (4.1).

7.2.2.2. Aizver ar brīvi ievietotu aizbāzni, sakrata, 10 minūtes karsē verdoša ūdens vannā (5.7) un pēc tam 20 minūtes dzesē 20 °C ūdens vannā (5.4).

7.2.2.3. Dzelteno šķīdumu, kas izveidojas, tūlīt analizē spektrofotometriski (5.12) 1 cm kivetē (5.13) pie 420 nm attiecībā pret salīdzināmo šķīdumu (7.2.1.4).

7.2.3. Kalibrēšanas līkne

7.2.3.1. Lai izveidotu kalibrēšanas līkni, fosfāta reaģenta (4.8) alikvotās daļas 2 ml pievieno 20 ml mērkolbām (5.11), kurās katrā atrodas 1 ml 1 N sērskābes (4.6) un, attiecīgi, 0, 4, 6, 8 un 10 ml kālija dihidrogēnfosfāta šķīduma (4.7), un uzpilda līdz 20 ml atzīmei ar destilētu ūdeni (4.1).

7.2.3.2. Aizver ar brīvi ievietotu aizbāzni, sakrata, 10 minūtes karsē verdoša ūdens vannā (5.7), pēc tam 20 minūtes dzesē 20 °C ūdens vannā (5.4) un analizē spektrofotometriski (5.12) 1 cm kivetē (5.13) pie 420 nm attiecībā pret salīdzināmo šķīdumu (7.2.1.4).

7.2.3.3. Kalibrēšanas līknes izveide:

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

8. **Rezultātu izteikšana**

Olu dzeltenuma saturu g/l aprēķina pēc šādas formulas:

▼M1

$$\text{g/l olu dzeltenumi} = \text{mg}P_2O_5 \times \frac{110 \times \text{blīvums}}{E/40}$$

kur

110	pārrēķina koeficients attiecībā uz kopējo P_2O_5 daudzumu g 100 gramos olu dzeltenuma
mg P_2O_5	vērtība, kas iegūta kalibrēšanas līknē
blīvums	masas vienība tilpumā (g/ml) olu liķierim 20 °C temperatūrā
E	olu liķiera svars g
40	atšķaidījuma koeficients pelnu šķīduma alikvotajai daļai 5 ml.

9. **Metodes darbības rādītāji (precizitāte)**

Starplaboratoriju pārbaudes statistikas rezultāti:

turpmāk dotajā tabulā sniegti dati attiecībā uz olas dzeltenumu.

Šādi dati tika iegūti starptautiskā metodes darbības pētījumā, kas veikts pēc starptautiski pieņemtām procedūrām.

Starplaboratoriju pārbaudes veikšanas gads	1 998
laboratoriju skaits	24
Paraugu skaits	5
nosakāmā komponente	Olu dzeltenums

Paraugi	A	B	C	D	E
Laboratoriju skaits pēc neloģisko rezultātu atmešanas	19	20	22	20	22
Neloģisko rezultātu skaits (laboratorijas)	3	4	2	4	2
Pieņemto rezultātu skaits	38	40	44	40	44
Vidējā vērtība	147,3	241,1	227,4	51,90 (*) 72,8 (*)	191,1
Atkārtojamības standartnovirze (S_r) g/l	2,44	4,24	3,93	1,83	3,25
Atkārtojamības relatīvā standartnovirze (RSD_r) (%)	1,7	1,8	1,8	2,9	1,7
Atkārtojamības robeža (r) g/l	6,8	11,9	11,0	5,1	9,1
Sakritības standartnovirze (S_R) g/l	5,01	6,06	6,66	3,42	6,87
Sakritības relatīvā standartnovirze (RSD_R) (%)	3,4	2,5	2,9	5,5	3,6
Sakritības robeža (R) g/l	14,0	17,0	18,7	9,6	19,2

Paraugu veidi.

A Olu liķieris “Advocaat”, divkāršs paraugs

B Olu liķieris “Advocaat”, divkāršs paraugs

C Olu liķieris “Advocaat”, divkāršs paraugs

D Olu liķieris “Advocaat” (atšķaidīts), divkāršs paraugs, divi dažādi koncentrācijas līmeņi (*)

E Olu liķieris “Advocaat”, divkāršs paraugs