Dit document vormt slechts een documentatiehulpmiddel en verschijnt buiten de verantwoordelijkheid van de instellingen

►**B** **VERORDENING (EG) Nr. 2870/2000 VAN DE COMMISSIE**

van 19 december 2000

tot vaststelling van communautaire referentiemethoden voor de analyse van gedistilleerde dranken

(PB L 333 van 29.12.2000, blz. 20)

Gewijzigd bij:

		Publicatieblad		
		nr.	blz.	datum
►**M1**	Verordening (EG) nr. 2091/2002 van de Commissie van 26 november 2002	L 322	11	27.11.2002

▼B

VERORDENING (EG) Nr. 2870/2000 VAN DE COMMISSIE

van 19 december 2000

tot vaststelling van communautaire referentiemethoden voor de analyse van gedistilleerde dranken

DE COMMISSIE VAN DE EUROPESE GEMEENSCHAPPEN,

Gelet op het Verdrag tot oprichting van de Europese Gemeenschap,

Gelet op Verordening (EEG) nr. 1576/89 van de Raad van 29 mei 1989 tot vaststelling van de algemene voorschriften betreffende de definitie, de aanduiding en de aanbiedingsvorm van gedistilleerde dranken ([1]), laatstelijk gewijzigd bij de Akte van Toetreding van Oostenrijk, Finland en Zweden, en met name op artikel 4, lid 8,

Overwegende hetgeen volgt:

(1) Krachtens artikel 4, lid 8, van Verordening (EEG) nr. 1576/89 moeten methoden worden vastgesteld die voor de analyse van gedistilleerde dranken worden gebruikt. Wanneer een officiële controle wordt uitgevoerd of bij betwisting dienen referentiemethoden te worden gebruikt om te waarborgen dat Verordening (EEG) nr. 1576/89 en Verordening (EEG) nr. 1014/90 van de Commissie van 24 april 1990 houdende uitvoeringsbepalingen voor de definitie, de aanduiding en de aanbiedingsvorm van gedistilleerde dranken ([2]), laatstelijk gewijzigd bij Verordening (EG) nr. 2140/98 ([3]), in acht zijn genomen.

(2) Zo veel mogelijk dienen algemeen erkende methoden als communautaire referentieanalysemethoden te worden vastgesteld en beschreven.

(3) Teneinde rekening te houden met de wetenschappelijke vooruitgang en de verschillen in de uitrusting van de officiële laboratoria, moet onder verantwoordelijkheid van de directeur van het laboratorium worden toegestaan dat methoden worden toegepast die op andere meetprincipes gebaseerd zijn dan de in de bijlage van deze verordening beschreven referentiemethoden, mits die methoden voldoende garanties ten aanzien van de resultaten bieden en met name voldoen aan de criteria als bedoeld in de bijlage van Richtlijn 85/591/EEG van de Raad van 20 december 1985 betreffende de invoering van communautaire bemonsteringswijzen en analysemethoden voor de controle van voor menselijke voeding bestemde levensmiddelen ([4]) en indien kan worden aangetoond dat de spreiding in de nauwkeurigheid, de herhaalbaarheid en de reproduceerbaarheid van de verkregen resultaten binnen de grenzen ligt van de spreiding in de resultaten die met de in deze verordening beschreven referentiemethoden worden verkregen. Als aan deze voorwaarde wordt voldaan, moet de toepassing van andere analysemethoden worden toegestaan. Evenwel moet worden gepreciseerd dat bij betwisting de referentiemethoden niet door andere methoden kunnen worden vervangen.

(4) De in deze verordening vervatte maatregelen zijn in overeenstemming met het advies van het Uitvoeringscomité voor gedistilleerde dranken,

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

▼B

HEEFT DE VOLGENDE VERORDENING VASTGESTELD:

Artikel 1

In de bijlage van deze verordening worden de communautaire referentiemethoden voor de analyse van gedistilleerde dranken vastgesteld die:

— bij de uitvoering van elke officiële controle en

— bij elke betwisting

dienen te worden gebruikt om na te gaan of aan Verordening (EEG) nr. 1576/89 en Verordening (EEG) nr. 1014/90 wordt voldaan.

Artikel 2

In afwijking van artikel 1, eerste streepje, mogen onder verantwoordelijkheid van de directeur van het laboratorium andere analysemethoden worden gebruikt, mits de nauwkeurigheid en de precisie (herhaalbaarheid en reproduceerbaarheid) van de methoden minimaal gelijkwaardig zijn aan die van de desbetreffende in de bijlage vermelde referentieanalysemethoden.

Artikel 3

Wanneer voor de detectie en kwantificering van stoffen in een bepaalde gedistilleerde drank geen communautaire referentieanalysemethoden zijn vastgesteld, worden de volgende methoden gebruikt:

a) analysemethoden die volgens internationaal erkende procedures zijn gevalideerd en met name voldoen aan de in de bijlage van Richtlijn 85/591/EEG vastgestelde criteria;

b) analysemethoden die voldoen aan de door de Internationale Organisatie voor Normalisatie (ISO) aanbevolen normen;

c) analysemethoden die door de algemene vergadering van het „Office international de la vigne et du vin” (OIV — Internationaal Wijnbureau) zijn erkend en door dit bureau zijn gepubliceerd;

d) wanneer geen methode als bedoeld onder a), b) of c) beschikbaar is, op grond van haar nauwkeurigheid, herhaalbaarheid en reproduceerbaarheid:

   — een door de betrokken lidstaat goedgekeurde analysemethode,

   — indien nodig een andere geschikte analysemethode.

Artikel 4

In de zin van deze verordening wordt verstaan onder:

a) „herhaalbaarheidgrens”: de waarde waarvan met een waarschijnlijkheid van 95 % mag worden verwacht dat het absolute verschil tussen de resultaten van twee bepalingen die onder herhaalbare omstandigheden (dezelfde medewerker, dezelfde apparatuur, hetzelfde laboratorium en kort na elkaar) zijn uitgevoerd, deze niet zal overschrijden {ISO 3534-1};

b) „reproduceerbaarheidgrens”: de waarde waarvan met een waarschijnlijkheid van 95 % mag worden verwacht dat het absolute verschil tussen de resultaten van twee bepalingen die onder reproduceerbare omstandigheden (verschillende medewerkers, verschillende apparatuur en verschillende laboratoria) zijn uitgevoerd, deze niet zal overschrijden {ISO 3534-1};

c) „nauwkeurigheid”: de mate van overeenstemming tussen het resultaat van een bepaling en de erkende referentiewaarde {ISO 3534-1}.

Artikel 5

Deze verordening treedt in werking op de zevende dag volgende op die van haar bekendmaking in het *Publicatieblad van de Europese Gemeenschappen*.

Zij is van toepassing met ingang van 1 januari 2001.

▼B

Deze verordening is verbindend in al haar onderdelen en is rechtstreeks toepasselijk in elke lidstaat.

▼**B**

BIJLAGE

BESCHRIJVING VAN DE REFERENTIEANALYSEMETHODEN VOOR:

I. Bepaling van het alcoholvolumegehalte

Aanhangsel I: Bereiding van het destillaat

Aanhangsel II: Meting van de dichtheid van het destillaat

— Methode A: Pyknometrie

— Methode B: Elektronische densimetrie

— Methode C: Densimetrie met een hydrostatische balans

II. Bepaling van de totale hoeveelheid droge stof (gravimetrische methode)

III. Bepaling van de vluchtige stoffen en methanol

III.1. Algemene opmerkingen

III.2. Vluchtige congeneren: aldehyden, hogere alcoholen, ethylacetaat en methanol (gaschromatografie)

III.3. Vluchtige zuren (p.m.)

IV. Blauwzuur (p.m.)

V. Anethool ►**M1** ——————— ◄

VI. Glycyrrizinezuur ►**M1** ——————— ◄

VII. Chalconen ►**M1** ——————— ◄

VIII. Totale hoeveelheid suikers (p.m.)

IX. Eidooier ►**M1** ——————— ◄

▼B

I. BEPALING VAN HET ALCOHOLVOLUMEGEHALTE VAN GEDISTILLEERDE DRANKEN

Inleiding

In de referentiemethode zijn twee aanhangsels opgenomen:

Aanhangsel I: Bereiding van het destillaat

Aanhangsel II: Meting van de dichtheid van het destillaat

1. Toepassingsgebied

De methode is geschikt voor de bepaling van het effectieve alcoholvolumegehalte van gedistilleerde dranken.

2. Referentienormen

ISO 3696:1987: Water voor analyses — Specificaties en testmethoden

3. Termen en definities

3.1. *Referentietemperatuur:*

De referentietemperatuur voor de bepaling van het alcoholvolumegehalte, de dichtheid en de relatieve dichtheid van gedistilleerde dranken is 20 ºC.

Opmerking 1: De term „bij t ºC" wordt gebruikt voor alle bepalingen (van de dichtheid of het alcoholvolumegehalte) waarvan het resultaat wordt uitgedrukt bij een andere temperatuur dan de referentietemperatuur van 20 ºC.

3.2. *Dichtheid:*

De dichtheid is de massa per volume-eenheid in vacuüm van gedistilleerde dranken bij 20 ºC. De dichtheid wordt uitgedrukt in kilogram per kubieke meter en het symbool is $\rho_{20\,°C}$ of ρ_{20}.

3.3. *Relatieve dichtheid:*

De relatieve dichtheid is de verhouding, uitgedrukt als een decimaal getal, tussen de dichtheid van een gedistilleerde drank bij 20 ºC en de dichtheid van water bij dezelfde temperatuur. Als symbool wordt $d_{20\,°C/20\,°C}$ of $d_{20/20}$ gebruikt of d zonder meer wanneer verwarring niet mogelijk is. De karakteristiek die gemeten is, mag op het bepalingscertificaat alleen met bovengenoemde symbolen worden aangeduid.

Opmerking 2: De relatieve dichtheid kan worden berekend uit ρ_{20} (de dichtheid bij 20 ºC):

$\rho_{20} = 998{,}203 \times d_{20/20}$ of $d_{20/20} = \rho_{20}/998{,}203$ waarbij 998,203 de dichtheid van water bij 20 ºC is.

3.4. *Effectief alcoholvolumegehalte:*

Het effectieve alcoholvolumegehalte van een gedistilleerde drank is gelijk aan het aantal liter ethylalcohol in 100 liter van een alcohol/watermengsel met dezelfde dichtheid als de gedistilleerde drank na destillatie. Voor de correlatie tussen het alcoholvolumegehalte in % (v/v) bij 20 ºC en de dichtheid bij 20 ºC voor verschillende alcohol/watermengsels dient gebruik te worden gemaakt van de internationale tabel die door de Internationale Organisatie voor Wettelijke Metrologie in haar aanbeveling nr. 22 is vastgesteld.

De algemene vergelijking voor het verband tussen het alcoholvolumegehalte en de dichtheid van een alcohol/watermengsel bij een bepaalde temperatuur is vermeld op blz. 40 in hoofdstuk 3 („Alcoholvolumegehalte") van de bijlage bij Verordening (EEG) nr. 2676/90 van de Commissie (PB L 272 van 3.10.1990, blz. 1) of in het handboek van analysemethoden van het OIV (1994) (blz. 17).

Opmerking 3: Voor likeuren en crèmes waarvoor het heel moeilijk is het volume nauwkeurig te meten, moet het monster worden gewogen en wordt het alcoholgehalte eerst als massagehalte berekend.

▼B

Omrekeningsformule:

$$\text{Alcoholvolumegehalte in \% (v/v)} = \frac{\text{AMG in \% (m/m)} \times \rho_{20}\ \text{(monster)}}{\rho_{20}\ \text{(alcohol)}}$$

Hierbij is: AMG = alcoholmassagehalte

ρ_{20} (alcohol) = 789,24 kg/m^3

4. **Principe**

Na destillatie wordt het alcoholvolumegehalte van het destillaat bepaald door pyknometrie, elektronische densimetrie of densimetrie met een hydrostatische balans.

▼B

AANHANGSEL I: BEREIDING VAN HET DESTILLAAT

1. **Toepassingsgebied**

De methode is geschikt voor de bereiding van destillaten die worden gebruikt voor de bepaling van het effectieve alcoholvolumegehalte van gedistilleerde dranken.

2. **Principe**

De gedistilleerde drank wordt gedestilleerd om de ethylalcohol en andere vluchtige verbindingen te scheiden van het residu (de stoffen die niet gedestilleerd worden).

3. **Reagentia en materialen**

3.1. Kooksteentjes.

3.2. Geconcentreerde schuimwerende emulsie (voor crème-likeur).

4. **Apparatuur**

Gebruikelijke laboratoriumapparatuur en met name:

4.1. Waterbad dat op 10 ºC tot 15 ºC kan worden gehouden.

Waterbad dat op 20 ºC (± 0,2 ºC) kan worden gehouden.

4.2. Maatkolven klasse A, 100 ml en 200 ml, met een gewaarmerkte nauwkeurigheid van respectievelijk ± 0,1 % en 0,15 %.

4.3. Destillatieopstelling:

4.3.1. Algemene vereisten

Er moet een destillatieopstelling worden gebruikt die aan de volgende specificaties voldoet:

— het aantal verbindingen moet tot een minimum worden beperkt teneinde ervoor te zorgen dat het systeem lekdicht is;

— er moet een component worden opgenomen om voorlopen (meesleuren van de kokende vloeistof door de damp) te voorkomen en de destillatiesnelheid van alcoholrijke dampen te regulariseren;

— de alcoholdamp moet snel en volledig condenseren;

— de eerste destillatiefracties moeten in een waterig medium worden opgevangen.

De warmtebron moet van een geschikte warmteverdeler worden voorzien om eventuele pyrogene reacties met het residu te voorkomen.

4.3.2. Figuur 1 bevat een voorbeeld van een geschikte destillatieopstelling, die uit de volgende onderdelen bestaat:

— rondbodemkolf, 1 liter, met glazen normaalslijpstuk,

— rectificeerkolom, lengte ten minste 20 cm (bv. een Vigreux-kolom),

— bocht met buiskoeler, ongeveer 10 cm lang met rechte rand (volgens West), verticaal aangesloten,

— spiraalkoeler, 40 cm lang,

— allonge die het destillaat naar de bodem van een maatkolf met een kleine hoeveelheid water leidt, waar het wordt opgevangen.

Opmerking: De hier beschreven opstelling is bedoeld voor een monster van ten minste 200 ml. Met behulp van een kleinere destillatiekolf kunnen echter ook kleinere monstervolumes worden gedestilleerd, mits een spatbol of een andere component om meeslepen te voorkomen wordt gebruikt.

5. **Bewaring van het monster**

De monsters worden vóór de analyse bij kamertemperatuur bewaard.

6. **Werkwijze**

Inleidende opmerking:

De destillatie mag ook worden uitgevoerd volgens de procedure die door de IUPAC (in 1968) is gepubliceerd.

6.1. Controle van de destillatieopstelling:

▼B

De te gebruiken opstelling moet aan de volgende eis voldoen:

Bij de destillatie van 200 ml alcohol/watermengsel met een bekende concentratie in de buurt van 50 % (v/v) mag niet meer dan 0,1 % (v/v) alcohol verloren gaan.

6.2. Gedistilleerde dranken met een alcoholgehalte van minder dan 50 % (v/v):

Meet 200 ml van de gedistilleerde drank af in een maatkolf.

Registreer de temperatuur van deze vloeistof of houdt deze op de standaardtemperatuur (20 ºC).

Breng het monster in de rondbodemkolf van de destillatieopstelling en spoel de maatkolf met drie porties van elk 20 ml gedestilleerd water. Voeg elke portie spoelwater toe aan de inhoud van de destillatiekolf.

Opmerking: Deze verdunning met 60 ml is voldoende voor gedistilleerde dranken die minder dan 250 g droge stof per liter bevatten. Voor andere dranken moet het volume van het spoelwater om pyrolyse te voorkomen minstens 70 ml zijn als ze 350 g droge stof/l bevatten, 85 ml als ze 400 g droge stof/l bevatten en 100 ml als ze 500 g droge stof/l bevatten (sommige vruchtenlikeuren of crèmes de fruits). Pas deze hoeveelheden evenredig aan voor andere monstervolumes.

Voeg enkele kooksteentjes (3.1) toe (en schuimwerende emulsie voor crème-likeur).

Breng 20 ml gedestilleerd water in de maatkolf van 200 ml die voor het opvangen van het destillaat zal worden gebruikt. Plaats deze kolf vervolgens in een koud waterbad (4.1) (10 tot 15 ºC voor met anijs gearomatiseerde dranken).

Destilleer totdat het niveau van het destillaat enkele millimeters onder de maatstreep van de maatkolf staat. Zorg er hierbij voor dat meesleuren en pyrolyse worden voorkomen en schud nu en dan de inhoud van de kolf.

Vul, wanneer de temperatuur van het destillaat is gedaald tot op hoogstens ± 0,5 ºC van de oorspronkelijke temperatuur van de vloeistof, met gedestilleerd water aan tot de maatstreep en meng zorgvuldig.

Dit destillaat wordt gebruikt voor de bepaling van het alcoholvolumegehalte (aanhangsel II).

6.3. Gedistilleerde dranken met een alcoholgehalte van meer dan 50 % (v/v):

Meet 100 ml van de gedistilleerde drank af in een maatkolf van 100 ml en breng het monster in de rondbodemkolf van de destillatieopstelling.

Spoel de maatkolf verschillende keren met gedestilleerd water en voeg het spoelwater toe aan de inhoud van de rondbodemdestillatiekolf. Gebruik zoveel water dat de kolf ongeveer 230 ml vloeistof bevat.

Breng 20 ml gedestilleerd water in een maatkolf van 200 ml, die voor het opvangen van het destillaat zal worden gebruikt. Plaats deze kolf vervolgens in een koud waterbad (4.1) (10 tot 15 ºC voor met anijs gearomatiseerde dranken).

Destilleer totdat het niveau van het destillaat enkele millimeters onder de maatstreep van de maatkolf van 200 ml staat. Schud hierbij nu en dan de inhoud van de kolf.

Vul, wanneer de temperatuur van het destillaat is gedaald tot op hoogstens ± 0,5 ºC van de oorspronkelijke temperatuur van de vloeistof, met gedestilleerd water aan tot de maatstreep en meng zorgvuldig.

Dit destillaat wordt gebruikt voor de bepaling van het alcoholvolumegehalte (aanhangsel II).

Opmerking: Het alcoholvolumegehalte van de gedistilleerde drank is twee keer zo hoog als het alcoholgehalte van het destillaat.

▼B

AANHANGSEL II: METING VAN DE DICHTHEID VAN HET DESTILLAAT

METHODE A: BEPALING VAN HET EFFECTIEVE ALCOHOLVOLUMEGEHALTE VAN GEDISTILLEERDE DRANKEN — METINGEN MET BEHULP VAN PYKNOMETRIE

A.1. **Principe**

Het alcoholvolumegehalte wordt bepaald op basis van de dichtheid van het destillaat, gemeten met behulp van pyknometrie.

A.2. **Reagentia en materialen**

Gebruik bij de analyse, tenzij anders wordt vermeld, uitsluitend reagentia waarvan bekend is dat ze chemisch zuiver zijn en water van minimaal klasse 3, zoals gedefinieerd in ISO 3696:1987.

A.2.1. Natriumchlorideoplossing, 2 % (g/v)

Weeg voor de bereiding van 1 liter oplossing 20 g natriumchloride af en los dit op in 1 liter water.

A.3. **Apparatuur**

Gebruikelijke laboratoriumapparatuur en met name:

A.3.1. Analytische balans die tot op 0,1 mg nauwkeurig kan worden afgelezen.

A.3.2. Thermometer met glazen slijpstuk, van 10 tot 30 ºC gekalibreerd in tienden van een graad. Deze thermometer moet gecertificeerd zijn of met behulp van een gecertificeerde thermometer worden gecontroleerd.

A.3.3. Pyknometer van Pyrex glas met een inhoud van ongeveer 100 ml, voorzien van een te verwijderen ingeslepen thermometer (A.3.2). De pyknometer heeft een opstijgbuisje met een lengte van 25 mm en een inwendige diameter van (maximaal) 1 mm, eindigend in een konisch slijpstuk. Ook andere pyknometers als beschreven in ISO 3507, bijvoorbeeld van 50 ml, kunnen indien nodig worden gebruikt.

A.3.4. Een tarreerflesje met hetzelfde uitwendige volume (tot op 1 ml) als de pyknometer en waarvan de massa gelijk is aan de massa van de pyknometer, gevuld met een vloeistof met een dichtheid van 1,01 (natriumchloride-oplossing: A.2.1).

A.3.5. Thermisch geïsoleerde mantel die precies om het huis van de pyknometer past.

Opmerking 1: Bij de methode voor de bepaling van de dichtheid van gedistilleerde dranken in vacuüm moet een tweeschalige balans met een pyknometer en een tarreerflesje met hetzelfde uitwendige volume worden gebruikt om op elk moment het effect van de opwaartse druk van de lucht uit te schakelen. Deze eenvoudige techniek kan met een éénschalige balans worden gebruikt, mits het tarreerflesje opnieuw wordt gewogen om na te gaan of de opwaartse druk van de lucht in de loop der tijd is veranderd.

A.4. **Werkwijze**

Inleidende opmerkingen:

In de hier beschreven methode wordt het alcoholgehalte bepaald met behulp van een pyknometer van 100 ml; dit levert een optimale nauwkeurigheid op. Het is echter ook mogelijk een kleinere pyknometer, bijvoorbeeld van 50 ml, te gebruiken.

A.4.1. Kalibratie van de pyknometer

De pyknometer wordt gekalibreerd door de volgende parameters te bepalen:

— de massa van de lege pyknometer,

— het volume van de pyknometer bij 20 ºC,

— de massa van de met water gevulde pyknometer bij 20 ºC.

A.4.1.1. Kalibratie met een éénschalige balans:

▼B

Bepaal:

— de massa van de schone droge pyknometer (P),

— de massa van de met water gevulde pyknometer bij t ºC (P1),

— de massa van het tarreerflesje (T0).

A.4.1.1.1. Weeg de schone droge pyknometer (P).

A.4.1.1.2. Vul de pyknometer zorgvuldig met gedestilleerd water bij kamertemperatuur en breng de thermometer aan.

Droog de pyknometer zorgvuldig af en plaats hem in de thermisch geïsoleerde mantel. Schud door het geheel om te keren totdat de thermometer een constante temperatuur aangeeft.

Stel de pyknometer in op gelijke hoogte met de bovenste rand van het opstijgbuisje. Lees de temperatuur (t ºC) zorgvuldig af en corrigeer indien nodig voor onnauwkeurigheden in de temperatuurschaal.

Weeg de met water gevulde pyknometer (P1).

A.4.1.1.3. Weeg het tarreerflesje (T0).

A.4.1.1.4. Berekening:

— Massa van de lege pyknometer = P - m

Hierbij is: m = de massa van de lucht in de pyknometer:

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

Opmerking 2: 0,0012 is de dichtheid van droge lucht bij 20 ºC en 760 mm Hg.

— Volume van de pyknometer bij 20 ºC:

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

Hierbij is: F_t = de factor voor de temperatuur t ºC uit tabel I van hoofdstuk 1 („Dichtheid en relatieve dichtheid”) van de bijlage bij Verordening (EEG) nr. 2676/90 (blz. 10).

$V_{20\,°C}$ moet tot op 0,001 ml nauwkeurig bekend zijn.

— Massa van het water in de pyknometer bij 20 ºC:

$M_{20\,°C} = V_{20\,°C} \times 0{,}998203$ Hierbij is: 0,998203 = de dichtheid van water bij 20 ºC

Opmerking 3: Indien nodig kan de waarde van 0,99715 voor de dichtheid in lucht worden gebruikt en kan het alcoholgehalte worden berekend met behulp van de tabellen voor de dichtheid in lucht van de dienst Douane en Accijnzen van het Verenigd Koninkrijk; in dit geval moet geen correctie worden uitgevoerd voor de massa van de verplaatste lucht in de pyknometer.

A.4.1.2. Kalibratie met een tweeschalige balans:

A.4.1.2.1. Plaats het tarreerflesje op de linkerschaal en de schone droge pyknometer met kapje op de rechterschaal. Breng de schalen in evenwicht door op de schaal met de pyknometer gewichten te plaatsen: p gram (p).

A.4.1.2.2. Vul de pyknometer zorgvuldig met gedestilleerd water bij kamertemperatuur en breng de thermometer aan. Droog de pyknometer zorgvuldig af en plaats hem in de thermisch geïsoleerde mantel. Schud door het geheel om te keren totdat de thermometer een constante temperatuur aangeeft.

Stel de pyknometer in op gelijke hoogte met de bovenste rand van het opstijgbuisje. Reinig het opstijgbuisje en breng het kapje aan. Lees de temperatuur (t ºC) zorgvuldig af en corrigeer indien nodig voor onnauwkeurigheden in de temperatuurschaal.

Weeg de met water gevulde pyknometer waarbij p′ het gewicht in grammen is, dat nodig is om de schalen in evenwicht te brengen (p′).

A.4.1.2.3. Berekening:

— Tarra van de lege pyknometer = p + m

Hierbij is: m = de massa van de lucht in de pyknometer:

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

▼B

— Volume van de pyknometer bij 20 ºC:

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

Hierbij is: F_t = de factor voor de temperatuur t ºC uit tabel I van hoofdstuk 1 („Dichtheid en relatieve dichtheid") van de bijlage bij Verordening (EEG) nr. 2676/90 (blz. 10).

$V_{20\,°C}$ moet tot op 0,001 ml nauwkeurig bekend zijn.

— Massa van het water in de pyknometer bij 20 ºC:

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

Hierbij is: 0,998203 = de dichtheid van water bij 20 ºC.

A.4.2. Berekening van het alcoholgehalte van het monster

A.4.2.1. Bij gebruik van een éénschalige balans:

A.4.2.1.1. Weeg het tarreerflesje: T1.

A.4.2.1.2. Weeg de pyknometer met het destillaat (zie aanhangsel I) bij t ºC: P2.

A.4.2.1.3. Berekening

— dT = T1 - T0

— Massa van de lege pyknometer op het meettijdstip

= P - m + dT

— Massa van de vloeistof in de pyknometer bij t ºC

= P2 – (P - m + dT)

— Dichtheid bij t ºC in g/ml:

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

— Druk de dichtheid bij t ºC uit in kilogram per m^3 door $\rho_{t\,°C}$ met 1 000 te vermenigvuldigen; het resultaat is ρ_t.

— Herleid ρ_t tot ρ_{20} met behulp van de tabel voor de dichtheid van alcohol/watermengsels ρT (tabel II van bijlage II van het Handboek van analysemethoden van de OIV (1994), blz. 17-29).

Zoek in de tabel de horizontale lijn die overeenkomt met de temperatuur T in hele graden die vlak boven t ºC ligt, de kleinste dichtheid boven ρ_t. Gebruik het onder deze dichtheid in de tabel gevonden verschil om de dichtheid ρ_t van de gedistilleerde drank bij die temperatuur T in hele graden te berekenen.

— Bereken met behulp van die temperatuurlijn het verschil tussen de dichtheid ρ′ in de tabel vlak boven ρ_t en de berekende dichtheid ρ_t. Deel dit verschil door het rechts van de dichtheid ρ′ in de tabel gevonden verschil. Het quotiënt is het gedeelte van het alcoholgehalte achter de komma en het gedeelte vóór de komma wordt bovenaan de kolom gevonden waarin de dichtheid ρ′ wordt gevonden (het alcoholgehalte Dt).

Opmerking 4: Het is ook mogelijk de pyknometer bij het aanvullen tot de maatstreep in een waterbad met een temperatuur van 20 ± 0,2 ºC te houden.

A.4.2.1.4. Resultaat

Bereken met behulp van de hieronder gespecificeerde tabel het effectieve alcoholgehalte uit de dichtheid ρ_{20}:

De tabel met de waarde van het alcoholvolumegehalte in % (v/v) bij 20 ºC als functie van de dichtheid van alcohol/watermengsels bij 20 ºC is de internationale tabel die door de Internationale Organisatie voor Wettelijke Metrologie in haar aanbeveling nr. 22 is vastgesteld.

A.4.2.2. Bij gebruik van een tweeschalige balans:

A.4.2.2.1. Weeg de pyknometer met het destillaat (zie bijlage I) bij t ºC: p".

A.4.2.2.2. Berekening:

— Massa van de vloeistof in de pyknometer bij t ºC

= p + m - p"

▼B

— Dichtheid bij t ºC in g/ml:

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

— Druk de dichtheid bij t ºC uit in kilogram per m^3 en voer op de hierboven bij gebruik van de éénschalige balans beschreven wijze de temperatuurcorrectie uit om het alcoholgehalte bij 20 ºC te berekenen.

A.5. **Karakteristieken van de resultaten van de methode (precisie)**

A.5.1. Statistische resultaten van het interlaboratoriumonderzoek

Een internationaal onderzoek naar de resultaten van de methode, uitgevoerd volgens internationaal overeengekomen procedures, heeft de volgende gegevens opgeleverd [1] [2]:

Jaar van het interlaboratoriumonderzoek: 1997

Aantal laboratoria: 20

Aantal monsters: 6

Monsters	A	B	C	D	E	F
Aantal resterende laboratoria na eliminatie uitbijters	19	20	17	19	19	17
Aantal uitbijters (laboratoria)	1	—	2	1	1	3
Aantal geaccepteerde resultaten	38	40	34	38	38	34
Gemiddelde waarde ($\bar{x}$) in % (v/v)	23,77 26,51 (*)	40,04	40,29	39,20 42,93 (*)	42,24 45,73 (*)	57,03 63,03 (*)
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (S_r) in % (v/v)	0,106	0,176	0,072	0,103	0,171	0,190
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (RSD_r) (%)	0,42	0,44	0,18	0,25	0,39	0,32
Herhaalbaarheidsgrens (r) in % (v/v)	0,30	0,49	0,20	0,29	0,48	0,53
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (S_R) in % (v/v)	0,131	0,236	0,154	0,233	0,238	0,322
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (RSD_R) (%)	0,52	0,59	0,38	0,57	0,54	0,53
Reproduceerbaarheidsgrens (R) in % (v/v)	0,37	0,66	0,43	0,65	0,67	0,90

Monstertypes:
A vruchtenlikeur: twee gehaltes (*);
B brandy: blinde duplo's;
C whisky: blinde duplo's;
D grappa: twee gehaltes (*);
E aquavit: twee gehaltes (*);
F rum: twee gehaltes (*).

METHODE B: BEPALING VAN HET EFFECTIEVE ALCOHOLVOLUMEGEHALTE VAN GESTILLEERDE DRANKEN — METING MET BEHULP VAN ELEKTRONISCHE DENSIMETRIE (OP BASIS VAN EEN MONSTER IN EEN OSCILLERENDE CEL)

B.1. **Principe**

De dichtheid van de vloeistof wordt bepaald door elektronische meting van de oscillaties van een trillende U-buis. Voor de uitvoering van deze meting wordt het monster toegevoegd aan een oscillerend systeem waarvan de specifieke oscillatiefrequentie door de toegevoegde massa wordt gewijzigd.

▼B

B.2. **Reagentia en materialen**

Gebruik bij de analyse, tenzij anders wordt vermeld, uitsluitend reagentia waarvan bekend is dat ze chemisch zuiver zijn en water van minimaal klasse 3, zoals gedefinieerd in ISO 3696:1987.

B.2.1. Aceton (CAS-nr. 666-52-4) of absolute alcohol

B.2.2. Droge lucht

B.3. **Apparatuur**

Gebruikelijke laboratoriumapparatuur en met name:

B.3.1. Densimeter met digitale weergave

Een elektronische densimeter voor de uitvoering van dergelijke metingen moet de dichtheid in g/ml met vijf decimalen kunnen weergeven.

Opmerking 1: De densimeter moet op een stabiele, volledig trillingsvrije voet worden geplaatst.

B.3.2. Temperatuurregeling

De resultaten van de densimeter zijn alleen geldig als de meetcel is verbonden met een ingebouwde temperatuurregelaar die ervoor kan zorgen dat de temperatuur tot op maximaal ± 0,02 ºC stabiel blijft.

Opmerking 2: Het is heel belangrijk dat de temperatuur in de meetcel zeer nauwkeurig wordt ingesteld en gemeten, want een afwijking van 0,1 ºC kan leiden tot een verschil in de dichtheid in de orde van grootte van 0,1 kg/m^3.

B.3.3. Injectiespuiten voor monsterinjectie of automatische monsternemer.

B.4. **Werkwijze**

B.4.1. Kalibratie van de densimeter

De apparatuur moet volgens de instructies van de fabrikant worden gekalibreerd wanneer deze voor het eerst in gebruik wordt genomen. Vervolgens moet zij geregeld opnieuw worden gekalibreerd en worden gecontroleerd aan de hand van een geijkte referentiestandaard of een eigen referentieoplossing van het laboratorium die is vergeleken met een geijkte referentiestandaard.

B.4.2. Bepaling van de dichtheid van het monster

B.4.2.1. Indien nodig moet de cel vóór de meting worden gereinigd en gedroogd met aceton of absolute alcohol en droge lucht. Spoel de cel met het monster.

B.4.2.2. Breng het monster in de cel (met een injectiespuit of een automatische monsternemer), zodat de cel volledig gevuld is. Zorg ervoor dat bij het vullen alle luchtbellen volledig worden verwijderd. Het monster moet homogeen zijn en mag geen vaste deeltjes bevatten. Eventuele zwevende deeltjes moeten vóór de analyse door filtreren worden verwijderd.

B.4.2.3. Lees de dichtheid (ρ_{20}) of het alcoholgehalte af zodra de registratie op de densimeter stabiel is.

B.4.3. Resultaat

Bereken, wanneer de dichtheid (ρ_{20}) wordt afgelezen, het effectieve alcoholgehalte met behulp van de hieronder gespecificeerde tabel:

De tabel met de waarde van het alcoholvolumegehalte in % (v/v) bij 20 ºC als functie van de dichtheid van alcohol/watermengsels bij 20 ºC is de internationale tabel die door de Internationale Organisatie voor Wettelijke Metrologie in haar aanbeveling nr. 22 is vastgesteld.

▼B

B.5. **Karakteristieken van de resultaten van de methode (precisie)**

B.5.1. Statistische resultaten van het interlaboratoriumonderzoek

Een internationaal onderzoek naar de resultaten van de methode, uitgevoerd volgens internationaal overeengekomen procedures, heeft de volgende gegevens opgeleverd [1] [2]:

Jaar van het interlaboratoriumonderzoek: 1997

Aantal laboratoria: 16

Aantal monsters: 6

Monsters	A	B	C	D	E	F
Aantal resterende laboratoria na eliminatie uitbijters	11	13	15	16	14	13
Aantal uitbijters (laboratoria)	2	3	1	—	1	2
Aantal geaccepteerde resultaten	22	26	30	32	28	26
Gemiddelde waarde ($\bar{x}$) in % (v/v)	23,81 26,52 (*)	40,12	40,35	39,27 43,10 (*)	42,39 45,91 (*)	56,99 63,31 (*)
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (S_r) in % (v/v)	0,044	0,046	0,027	0,079	0,172	0,144
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (RSD_r) (%)	0,17	0,12	0,07	0,19	0,39	0,24
Herhaalbaarheidsgrens (r) in % (v/v)	0,12	0,13	0,08	0,22	0,48	0,40
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (S_R) in % (v/v)	0,054	0,069	0,083	0,141	0,197	0,205
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (RSD_R) (%)	0,21	0,17	0,21	0,34	0,45	0,34
Reproduceerbaarheidsgrens (R) in % (v/v)	0,15	0,19	0,23	0,40	0,55	0,58

Monstertypes:
A vruchtenlikeur: twee gehaltes (*);
B brandy: blinde duplo's;
C whisky: blinde duplo's;
D grappa: twee gehaltes (*);
E aquavit: twee gehaltes (*);
F rum: twee gehaltes (*).

METHODE C: BEPALING VAN HET EFFECTIEVE ALCOHOLVOLUMEGEHALTE VAN GESTILLEERDE DRANKEN — METING MET BEHULP VAN DENSIMETRIE MET EEN HYDROSTATISCHE BALANS

C.1. **Principe**

Het alcoholgehalte van gedistilleerde dranken kan worden gemeten met behulp van densimetrie met een hydrostatische balans, uitgaande van de wet van Archimedes die inhoudt dat een in een vloeistof ondergedompeld lichaam een verticale opwaartse kracht ondervindt die gelijk is aan het gewicht van de verplaatste vloeistof.

C.2. **Reagentia en materialen**

Gebruik bij de analyse, tenzij anders wordt vermeld, uitsluitend reagentia waarvan bekend is dat ze chemisch zuiver zijn en water van minimaal klasse 3, zoals gedefinieerd in ISO 3696:1987.

C.2.1. Reinigingsvloeistof voor de vlotter: natriumhydroxideoplossing, 30 % (g/v)

Weeg 30 g natriumhydroxide af en vul dit met 96 % (v/v) ethanol aan tot 100 ml.

▼B

C.3. **Apparatuur**

Gebruikelijke laboratoriumapparatuur en met name:

C.3.1. Eénschalige hydrostatische balans met een gevoeligheid van 1 mg.

C.3.2. Vlotter met een volume van minimaal 20 ml, speciaal aan de balans aangepast en opgehangen aan een draad met een doorsnede van maximaal 0,1 mm.

C.3.3. Maatcilinder met maatstreep. De vlotter moet volledig passen in het gedeelte van de cilinder onder de maatstreep; het oppervlak van de vloeistof mag alleen worden doorbroken door de draad waaraan de vlotter hangt. De inwendige doorsnede van de maatcilinder moet minimaal 6 mm groter zijn dan die van de vlotter.

C.3.4. Thermometer (of temperatuurvoeler) met een schaalverdeling in graden en tienden van graden van 10 tot 40 ºC, gekalibreerd tot op 0,05 ºC.

C.3.5. Gewichten, geijkt door een erkende ijkinstantie.

Opmerking 1: Ook een tweeschalige balans kan worden gebruikt. Het principe van deze methode wordt beschreven in hoofdstuk 1 („Dichtheid en relatieve dichtheid") van de bijlage bij Verordening (EEG) nr. 2676/90 (blz. 7).

C.4. **Werkwijze**

De vlotter en de maatcilinder moeten vóór elke meting worden gereinigd met gedestilleerd water, worden gedroogd met zacht laboratoriumpapier dat geen vezels afgeeft en worden gespoeld met de oplossing waarvan de dichtheid moet worden bepaald. Teneinde het verlies van alcohol door verdamping te beperken moeten de metingen worden uitgevoerd zodra het apparaat is gestabiliseerd.

C.4.1. Kalibratie van de balans

Hoewel een balans meestal een intern kalibratiesysteem heeft, moet de hydrostatische balans kunnen worden gekalibreerd met gewichten die door een officiële ijkinstantie zijn gecontroleerd.

C.4.2. Kalibratie van de vlotter

C.4.2.1. Vul de maatcilinder tot de maatstreep met dubbel gedestilleerd water (of water met een gelijkwaardige zuiverheid, zoals gemicrofiltreerd water met een geleidingsvermogen van 18,2 MΩ/cm) bij een temperatuur tussen 15 en 25 ºC, maar bij voorkeur bij 20 ºC.

C.4.2.2. Dompel de vlotter en de thermometer in, roer en lees de dichtheid van de vloeistof op het apparaat af en corrigeer deze indien nodig, zodat het resultaat gelijk is aan de dichtheid van het water bij de meettemperatuur.

C.4.3. Controle met behulp van een alcohol/watermengsel

C.4.3.1. Vul de maatcilinder tot de maatstreep met een alcohol/watermengsel met bekende samenstelling bij een temperatuur tussen 15 en 25 ºC, maar bij voorkeur bij 20 ºC.

C.4.3.2. Dompel de vlotter en de thermometer in, roer en lees de dichtheid van de vloeistof (of het alcoholgehalte als het apparaat die mogelijkheid biedt) op het apparaat af. Het zo bepaalde alcoholgehalte moet gelijk zijn aan het reeds eerder bepaalde alcoholgehalte.

Opmerking 2: Deze oplossing met een bekend alcoholgehalte kan ook in plaats van dubbel gedestilleerd water bij de kalibratie van de vlotter worden gebruikt.

C.4.4. Meting van de dichtheid van een destillaat (of het alcoholgehalte daarvan als het apparaat die mogelijkheid biedt)

C.4.4.1. Vul de maatcilinder tot de maatstreep met het te analyseren monster.

C.4.4.2. Dompel de vlotter en de thermometer in, roer en lees de dichtheid van de vloeistof (of het alcoholgehalte als dit mogelijk is) op het apparaat af. Noteer de temperatuur als de dichtheid bij t ºC (ρ_t) wordt gemeten.

C.4.4.3. Herleid ρ_t tot ρ_{20} met behulp van de tabel voor de dichtheid van alcohol/watermengsels ${}_{\rho}T$ (tabel II van bijlage II van het Handboek van analysemethode van de OIV (1994), blz. 17-29).

C.4.5. Reiniging van de vlotter en de maatcilinder

C.4.5.1. Dompel de vlotter in de maatcilinder met de reinigingsoplossing voor de vlotter.

▼B

C.4.5.2. Laat het geheel een uur staan en draai de vlotter nu en dan rond.

C.4.5.3. Spoel overvloedig met kraanwater en vervolgens met gedestilleerd water.

C.4.5.4. Droog met zacht laboratoriumpapier dat geen vezels afgeeft.

Volg deze procedure wanneer de vlotter voor het eerst wordt gebruikt en vervolgens geregeld wanneer dit nodig is.

C.4.6. Resultaat

Bereken het effectieve alcoholgehalte uit de dichtheid (ρ_{20}) met behulp van de hieronder gespecificeerde tabel.

De tabel met de waarde van het alcoholvolumegehalte in % (v/v) bij 20 ºC als functie van de dichtheid van alcohol/watermengsels bij 20 ºC is de internationale tabel die door de Internationale Organisatie voor Wettelijke Metrologie in haar aanbeveling nr. 22 is vastgesteld.

C.5. **Karakteristieken van de resultaten van de methode (precisie)**

C.5.1. Statistische resultaten van het interlaboratoriumonderzoek

Een internationaal onderzoek naar de resultaten van de methode, uitgevoerd volgens internationaal overeengekomen procedures, heeft de volgende gegevens opgeleverd [1] [2]:

Jaar van het interlaboratoriumonderzoek: 1997

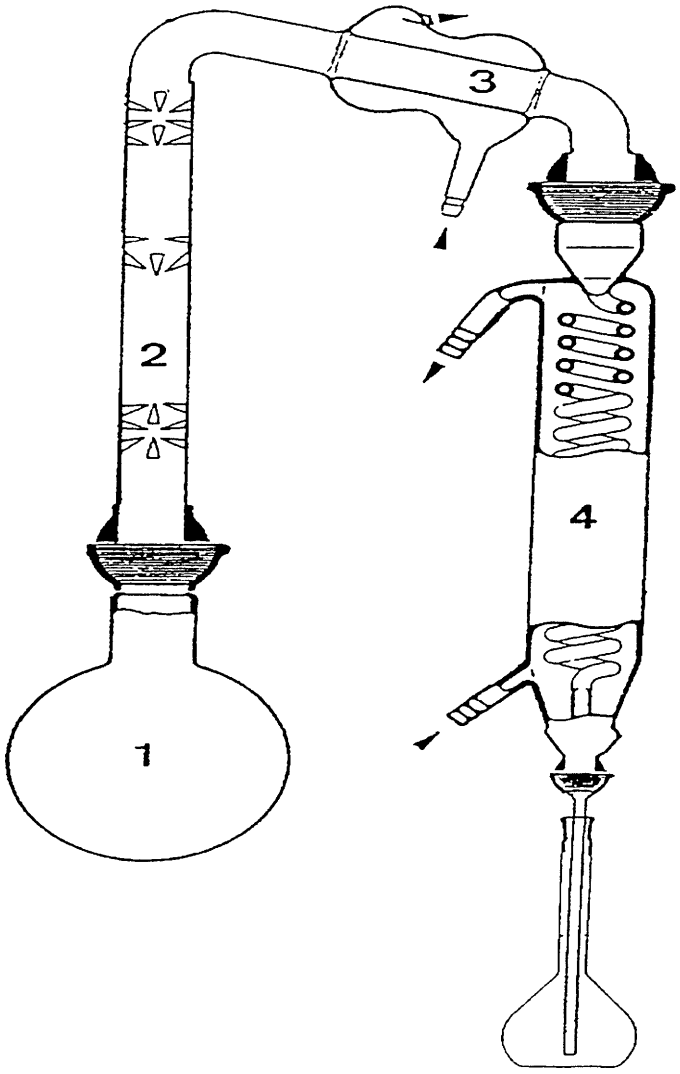
Aantal laboratoria: 12

Aantal monsters: 6

Monsters	A	B	C	D	E	F
Aantal resterende laboratoria na eliminatie uitbijters	12	10	11	12	11	9
Aantal uitbijters (laboratoria)	—	2	1	—	1	2
Aantal geaccepteerde resultaten	24	20	22	24	22	18
Gemiddelde waarde ($\bar{x}$) in % (v/v)	23,80 26,51 (*)	40,09	40,29	39,26 43,09 (*)	42,38 45,89 (*)	57,16 63,44 (*)
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (S_r) in % (v/v)	0,048	0,065	0,042	0,099	0,094	0,106
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (RSD_r) (%)	0,19	0,16	0,10	0,24	0,21	0,18
Herhaalbaarheidsgrens (r) in % (v/v)	0,13	0,18	0,12	0,28	0,26	0,30
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (S_R) in % (v/v)	0,060	0,076	0,073	0,118	0,103	0,125
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (RSD_R) (%)	0,24	0,19	0,18	0,29	0,23	0,21
Reproduceerbaarheidsgrens (R) in % (v/v)	0,17	0,21	0,20	0,33	0,29	0,35

Monstertypes:
A vruchtenlikeur: twee gehaltes (*);
B brandy: blinde duplo's;
C whisky: blinde duplo's;
D grappa: twee gehaltes (*);
E aquavit: twee gehaltes (*);
F rum: twee gehaltes (*).

▼B



Figuur 1: Destillatieopstelling voor de meting van het effectieve alcoholvolumegehalte van gedistilleerde dranken

1. Rondbodemkolf, 1 liter, met glazen kogel-normaalslijpstuk
2. Vigreux-rectificeerkolom, 20 cm
3. Buiskoeler volgens West met rechte rand, 10 cm
4. Spiraalkoeler, 40 cm

▼B

II. BEPALING VAN DE TOTALE HOEVEELHEID DROGE STOF IN GEDISTILLEERDE DRANKEN: GRAVIMETRISCHE METHODE

1. Toepassingsgebied

Krachtens Verordening (EEG) nr. 1576/89 is deze methode alleen van toepassing op aquavit met een hoeveelheid droge stof van ten hoogste 15 g/l.

2. Referentienormen

ISO 3696:1987: Water voor analyses — Specificaties en testmethoden.

3. Definitie

De totale hoeveelheid droge stof omvat al het materiaal dat onder gespecificeerde fysische omstandigheden niet vluchtig is.

4. Principe

Het residu dat overblijft na droogdampen van de gedistilleerde drank op een kokend waterbad, wordt in een droogstoof gedroogd en vervolgens gewogen.

5. Apparatuur

5.1. Ronde uitdampschaal met vlakke bodem, doorsnede 55 mm.

5.2. Kokend waterbad.

5.3. Pipet, 25 ml, klasse A.

5.4. Droogstoof.

5.5. Exsiccator.

5.6. Analytische balans met een nauwkeurigheid van 0,1 mg.

6. Monsterneming en monsters

De monsters worden vóór de analyse bij kamertemperatuur bewaard.

7. Werkwijze

7.1. Pipetteer 25 ml van de gedistilleerde drank die minder dan 15 g droge stof/l bevat, in een vooraf gewogen ronde uitdampschaal met vlakke bodem en een doorsnede van 55 mm. Bij het droogdampen wordt de uitdampschaal gedurende het eerste uur op het deksel van het kokend waterbad geplaatst, zodat de vloeistof niet gaat koken, aangezien dit tot verliezen door spatten zou kunnen leiden. Laat daarna de schaal nog één uur in rechtstreeks contact met de stoom van het kokend waterbad staan.

7.2. Droog vervolgens het residu door de uitdampschaal gedurende twee uur bij 105 ± 3 ºC in een droogstoof te laten staan. Laat de uitdampschaal afkoelen in een exsiccator en weeg de schaal met de inhoud.

8. Berekening

De massa van het residu, vermenigvuldigd met 40, is de hoeveelheid droge stof in de gedistilleerde drank, die moet worden uitgedrukt in g/l met één decimaal.

9. Karakteristieken van de resultaten van de methode (precisie)

9.1. Statistische resultaten van het interlaboratoriumonderzoek

Een internationaal onderzoek naar de resultaten van de methode, uitgevoerd volgens internationaal overeengekomen procedures, heeft de volgende gegevens opgeleverd [1] [2].

Jaar van het interlaboratoriumonderzoek:	1997
Aantal laboratoria:	10
Aantal monsters:	4

▼B

Monsters	A	B	C	D
Aantal resterende laboratoria na eliminatie uitbijters	9	9	8	9
Aantal uitbijters (laboratoria)	1	1	2	—
Aantal geaccepteerde resultaten	18	18	16	18
Gemiddelde waarde ($\bar{x}$) in g/l	9,0	9,1	10,0	11,8
		7,8	9,4	11,1
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (S_r) in g/l	0,075	0,441	0,028	0,123
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (RSD_r) (%)	0,8	5,2	0,3	1,1
Herhaalbaarheidsgrens (r) in g/l	0,2	1,2	0,1	0,3
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (S_R) in g/l	0,148	0,451	0,058	0,210
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (RSD_R) (%)	1,6	5,3	0,6	1,8
Reproduceerbaarheidsgrens (R) in g/l	0,4	1,3	0,2	0,6

Monstertypes
A brandy: blinde duplo's;
B rum: twee gehaltes;
C grappa: twee gehaltes;
D aquavit: twee gehaltes.

▼B

III. BEPALING VAN VLUCHTIGE STOFFEN EN METHANOL IN GEDISTILLEERDE DRANKEN

III.1. ALGEMENE OPMERKINGEN

1. **Definities**

In Verordening (EEG) nr. 1576/89 worden voor een aantal gedistilleerde dranken (onder andere rum, uit de wijnbouw afkomstige eau-de-vie en vruchten-eau-de-vie) minimale gehaltes vastgesteld voor andere vluchtige verbindingen dan ethanol en methanol. Uitsluitend voor deze categorieën dranken worden deze gehaltes geacht gelijk te zijn aan de som van de concentratie van:

1. vluchtige zuren, uitgedrukt als azijnzuur;
2. aldehyden, uitgedrukt als ethanal door de som van ethanal (aceetaldehyd) en de ethanalfractie in 1,1-diethoxyethaan (acetaal);
3. de volgende hogere alcoholen: propaan-1-ol, butaan-1-ol, butaan-2-ol, 2-methylpropaan-1-ol, elk apart bepaald, en 2-methylbutaan-1-ol en 3-methylbutaan-1-ol, elk apart bepaald of als de som van deze twee verbindingen;
4. ethylacetaat.

De gangbare methoden voor de meting van vluchtige verbindingen zijn:

— de vluchtige zuren als de vluchtige zuurgraad;

— de aldehyden (ethanal en acetaal), ethylacetaat en de alcoholen met behulp van gaschromatografie (GC).

2. **Gaschromatografische analyse van vluchtige verbindingen**

Een gaschromatografische bepaling van andere dan de bovengenoemde vluchtige stoffen kan bijzonder interessant blijken te zijn om zowel de herkomst van de bij de distillatie gebruikte grondstoffen als de feitelijke distillatieomstandigheden te bepalen.

Sommige gedistilleerde dranken bevatten andere vluchtige bestanddelen, zoals aromatische verbindingen, die kenmerkend zijn voor de grondstoffen die zijn gebruikt om de alcohol te verkrijgen, het aroma van de gedistilleerde drank en de bijzondere kenmerken van de bereiding van deze drank. Deze verbindingen zijn belangrijk om te beoordelen in hoeverre aan de eisen van Verordening (EEG) nr. 1576/89 is voldaan.

III.2. GASCHROMATOGRAFISCHE BEPALING VAN VLUCHTIGE CONGENEREN IN GEDISTILLEERDE DRANKEN

1. **Toepassingsgebied**

Deze methode is geschikt voor de bepaling van 1,1-diethoxyethaan (acetaal), 2-methylbutaan-1-ol (amylalcohol), 3-methylbutaan-1-ol (isoamylalcohol), methanol (methylalcohol), ethylethanoaat (ethylacetaat), butaan-1-ol (n-butanol), butaan-2-ol (sec-butanol), 2-methylpropaan-1-ol (isobutylalcohol), propaan-1-ol (n-propanol) en ethanal (aceetaldehyd) in gedistilleerde dranken met behulp van gaschromatografie. Bij deze methode wordt een interne standaard gebruikt zoals pentaan-3-ol. De concentraties van de analyten worden uitgedrukt in gram per 100 liter absolute ethanol; het alcoholgehalte van het product moet vóór de analyse worden bepaald. Gedistilleerde dranken waarvoor deze analysemethode kan worden gebruikt zijn bijvoorbeeld: whisky, brandy, rum, wijn-eau-de-vie, vruchten-eau-de-vie en druivendraf-eau-de-vie.

2. **Referentienormen**

ISO 3696:1987: Water voor analyses — Specificaties en testmethoden.

3. **Definitie**

Congeneren zijn vluchtige stoffen die bij de vergisting, de distillatie en de rijping van gedistilleerde dranken tegelijk met ethanol worden gevormd.

▼B

4. **Principe**

Congeneren in gedistilleerde dranken worden bepaald door de gedistilleerde drank, eventueel na afdoende verdunning, rechtstreeks in een gaschromatograaf (GC) te injecteren. Vóór injectie wordt aan de gedistilleerde drank een geschikte interne standaard toegevoegd. De congeneren worden met behulp van temperatuurprogrammering op een geschikte kolom gescheiden en met een vlamionisatiedetector gedetecteerd. Op basis van de responsfactor, die bij de kalibratie onder identieke chromatografische omstandigheden als bij de analyse van de gedistilleerde drank wordt verkregen, wordt de concentratie van elke congeneer in vergelijking met de interne standaard bepaald.

5. **Reagentia en materialen**

Gebruik, tenzij anders wordt vermeld, uitsluitend reagentia met een zuiverheid boven 97 %, gekocht bij een ISO-erkende leverancier met een zuiverheidsbewijs, die bij de gebruikte verdunning geen andere congeneren bevatten (dit kan worden bevestigd door de injectie van aparte standaards met congeneren bij de gebruikte verdunning en de onder punt 6.4 vermelde GC-omstandigheden), en uitsluitend water van minimaal klasse 3, zoals gedefinieerd in ISO 3696. Acetaal en aceetaldehyd moeten in het donker bij < 5 ºC worden bewaard; alle andere reagentia kunnen bij kamertemperatuur worden bewaard.

5.1. Ethanol absoluut (CAS 64-17-5).

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

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

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

5.5. Aanvaardbare interne standaards: pentaan-3-ol (CAS 584-02-1), pentaan-1-ol (CAS 71-41-0), 4-methylpentaan-1-ol (CAS 626-89-1) of methylnonanoaat (CAS 1731-84-6).

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

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

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

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

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

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

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

5.13. Verdunde ethanol, 40 % (v/v)

Breng voor de bereiding van verdunde ethanol (400 ml/l) 400 ml ethanol (5.1) in een maatkolf van 1 l, vul met gedestilleerd water aan tot de maatstreep en meng goed.

5.14. Bereiding en bewaring van de standaardoplossingen (voor de gevalideerde methode gebruikte procedure)

Alle standaardoplossingen moeten bij < 5 ºC worden bewaard en eens per maand vers worden bereid. De massa van de bestanddelen en de oplossingen moet tot op 0,1 mg nauwkeurig worden bepaald.

5.14.1. Standaardoplossing A

Pipetteer de volgende reagentia in een maatkolf van 100 ml die ongeveer 60 ml verdunde ethanol (5.13) bevat teneinde verdamping van de bestanddelen zoveel mogelijk te voorkomen, vul met verdunde ethanol (5.13) aan tot de maatstreep en meng zorgvuldig. Registreer het gewicht van de kolf en van elk toegevoegd bestanddeel en het uiteindelijke totaalgewicht van de inhoud.

Bestanddeel	Volume (ml)
Methanol (5.2)	3,0
Propaan-1-ol (5.3)	3,0
2-methylpropaan-1-ol (5.4)	3,0
2-methylbutaan-1-ol (5.6)	3,0
3-methylbutaan-1-ol (5.7)	3,0
Ethylacetaat (5.8)	3,0
Butaan-1-ol (5.9)	3,0

▼B

Bestanddeel	Volume (ml)
Butaan-2-ol (5.10)	3,0
Aceetaldehyd (5.11)	3,0
Acetaal (5.12)	3,0

Opmerking 1: Het verdient de voorkeur acetaal en aceetaldehyd als laatste toe te voegen om verdampingsverliezen tot een minimum te beperken.

5.14.2. Standaardoplossing B

Pipetteer 3 ml pentaan-3-ol of een andere geschikte interne standaard (5.5) in een maatkolf van 100 ml die ongeveer 80 ml verdunde ethanol (5.13) bevat, vul met verdunde ethanol (5.13) aan tot de maatstreep en meng zorgvuldig.

Registreer het gewicht van de kolf en van de toegevoegde pentaan-3-ol of andere interne standaard en het uiteindelijke totaalgewicht van de inhoud.

5.14.3. Standaardoplossing C

Pipetteer 1 ml oplossing A (5.14.1) en 1 ml oplossing B (5.14.2) in een maatkolf van 100 ml die ongeveer 80 ml verdunde ethanol (5.13) bevat, vul met verdunde ethanol (5.13) aan tot de maatstreep en meng zorgvuldig.

Registreer het gewicht van de kolf en van elk toegevoegd bestanddeel en het uiteindelijke totaalgewicht van de inhoud.

5.14.4. Standaardoplossing D

Maak met de reeds bereide standaardoplossing A (5.14.1) een standaard voor kwaliteitsbeheersing om de continuïteit van de analyse te waarborgen. Pipetteer 1 ml oplossing A (5.14.1) in een maatkolf van 100 ml die ongeveer 80 ml verdunde ethanol (5.13) bevat, vul met verdunde ethanol (5.13) aan tot de maatstreep en meng zorgvuldig.

Registreer het gewicht van de kolf en van elk toegevoegd bestanddeel en het uiteindelijke totaalgewicht van de inhoud.

5.14.5. Standaardoplossing E

Pipetteer 10 ml oplossing B (5.14.2) in een maatkolf van 100 ml die ongeveer 80 ml verdunde ethanol (5.13) bevat, vul met verdunde ethanol (5.13) aan tot de maatstreep en meng zorgvuldig.

Registreer het gewicht van de kolf en van elk toegevoegd bestanddeel en het uiteindelijke totaalgewicht van de inhoud.

5.14.6. Standaardoplossingen om de lineariteit van de respons van de detector te controleren

Pipetteer in aparte maatkolven van 100 ml die ongeveer 80 ml verdunde ethanol (5.13) bevatten 0, 0,1, 0,5, 1,0 en 2,0 ml oplossing A (5.14.1) en 1 ml oplossing B (5.14.2), vul met verdunde ethanol (5.13) aan tot de maatstreep en meng zorgvuldig.

Registreer het gewicht van de kolf en van elk toegevoegd bestanddeel en het uiteindelijke totaalgewicht van de inhoud.

5.14.7. Standaardoplossing voor kwaliteitsbeheersing

Pipetteer 9 ml standaardoplossing D (5.14.4) en 1 ml standaardoplossing E (5.14.5) in een weegflesje en meng zorgvuldig.

Registreer het gewicht van de fles en van elk toegevoegd bestanddeel en het uiteindelijke totaalgewicht van de inhoud.

6. **Apparatuur**

6.1. Apparatuur waarmee de dichtheid en het alcoholgehalte kan worden gemeten.

6.2. Analytische balans waarmee het gewicht tot op vier decimalen nauwkeurig kan worden bepaald.

6.3. Gaschromatograaf met temperatuurprogrammering, voorzien van een vlamionisatiedetector en een integrator of een ander systeem voor gegevensverwerking waarmee piekoppervlakken of piekhoogtes kunnen worden gemeten.

▼B

6.4. Kolom(men) voor gaschromatografie waarmee de analyten zodanig kunnen worden gescheiden dat de kleinste resolutie tussen de verschillende bestanddelen (behalve 2-methylbutaan-1-ol en 3-methylbutaan-1-ol) minimaal 1,3 is.

Opmerking 2: De volgende kolommen en GC-omstandigheden zijn bijvoorbeeld geschikt voor de bepaling:

1. Een „retention gap" van 1 m × 0,32 mm i.d. gekoppeld aan een CP-WAX 57 CB kolom van 50 m × 0,32 mm i.d. en filmdikte 0,2 µm (gestabiliseerd polyethyleenglycol), gevolgd door een Carbowax 400 kolom van 50 m × 0,32 mm i.d. en filmdikte 0,2 µm. (De kolommen worden gekoppeld met een „press-fit"-koppeling).

Draaggas en druk:	Helium (135 kPa)
Kolomtemperatuur:	35 ºC gedurende 17 min, van 35 ºC naar 70 ºC met 12 ºC/min en op 70 ºC houden gedurende 25 min
Injectortemperatuur:	150 ºC
Detectortemperatuur:	250 ºC
Injectievolume:	1 µl, split 20 tot 100:1

2. Een „retention gap" van 1 m × 0,32 mm i.d. gekoppeld aan een CP-WAX 57 CB kolom van 50 m × 0,32 mm i.d. en filmdikte 0,2 µm (gestabiliseerd polyethyleenglycol). (De „retention gap" wordt gekoppeld met een „press-fit"-koppeling).

Draaggas en druk:	Helium (65 kPa)
Kolomtemperatuur:	35 ºC gedurende 10 min, van 35 ºC naar 110 ºC met 5 ºC/min, van 110 ºC naar 190 ºC met 30 ºC/min en op 190 ºC houden gedurende 2 min
Injectortemperatuur:	260 ºC
Detectortemperatuur:	300 ºC
Injectievolume:	1 µl, split 55:1

3. Een gepakte kolom (5 % CW 20M, Carbopak B), 2 m × 2 mm i.d.

Kolomtemperatuur:	65 ºC gedurende 4 min, van 65 ºC naar 140 ºC met 10 ºC/min, op 140 ºC houdende gedurende 5 min, van 140 ºC naar 150 ºC met 5 ºC/min en op 150 ºC houden gedurende 3 min
Injectortemperatuur:	65 ºC
Detectortemperatuur:	200 ºC
Injectievolume:	1 µl

7. **Monsterneming en monsters**

7.1. Laboratoriummonster.

Bij ontvangst wordt van elk monster het alcoholgehalte gemeten (6.1).

8. **Werkwijze (voor de gevalideerde methode gebruikte procedure)**

8.1. Monstervoorbereiding

8.1.1. Weeg een geschikt afgesloten weegflesje en registreer het gewicht.

▼B

8.1.2. Pipetteer 9 ml laboratoriummonster in het flesje en registreer het gewicht ($M_{MONSTER}$).

8.1.3. Voeg 1 ml standaardoplossing E (5.14.5) toe en registreer het gewicht (M_{IS}).

8.1.4. Schud het monster krachtig (ten minste 20 keer omkeren). De monsters moeten vóór de analyse bij < 5 ºC worden bewaard om eventuele verliezen van vluchtige stoffen tot een minimum te beperken.

8.2. Blancobepaling

8.2.1. Weeg een geschikt afgesloten weegflesje met een tot op 4 decimalen nauwkeurige balans (6.2) en registreer het gewicht.

8.2.2. Pipetteer 9 ml verdunde ethanol 40 % (5.13) in het flesje en registreer het gewicht.

8.2.3. Voeg 1 ml standaardoplossing E (5.14.5) toe en registreer het gewicht.

8.2.4. Schud het flesje krachtig (ten minste 20 keer omkeren). De monsters moeten vóór de analyse bij < 5 ºC worden bewaard om eventuele verliezen van vluchtige stoffen tot een minimum te beperken.

8.3. Voorbereidende bepaling

Injecteer standaardoplossing C (5.14.3) om na te gaan of alle analyten met een resolutie van minimaal 1,3 worden gescheiden (behalve 2-methylbutaan-1-ol en 3-methylbutaan-1-ol).

8.4. Kalibratie

De kalibratie moet via de volgende procedure worden gecontroleerd. Controleer of de respons lineair is door achtereenvolgens elke standaardoplossing voor lineariteitscontrole (5.14.6) met interne standaard (IS) in triplo te analyseren. Bereken uit de piekhoogte of het piekoppervlak van de integrator voor elke injectie de verhouding R voor elke congeneer en zet R uit tegen de concentratieverhouding C tussen congeneer en interne standaard (IS). Deze curve moet lineair zijn en een correlatiecoëfficiënt van minimaal 0,99 hebben.

$$R = \frac{\text{Piekoppervlak of -hoogte van de congeneer}}{\text{Piekoppervlak of -hoogte van de IS}}$$

$$C = \frac{\text{Concentratie van de congeneer (µg/g)}}{\text{Concentratie van de IS (µg/g)}}$$

8.5. Bepaling

Injecteer standaardoplossing C (5.14.3) en twee keer de standaardoplossing voor kwaliteitsbeheersing (5.14.7). Injecteer daarna de onbekende monsters (voorbehandeld volgens 8.1 en 8.2) en om de tien monsters één keer de standaardoplossing voor kwaliteitsbeheersing om na te gaan of de analyse stabiel is. Injecteer om de vijf monsters één keer standaardoplossing C (5.14.3).

9. **Berekening**

Er kan een geautomatiseerd systeem voor gegevensverwerking worden gebruikt, mits de gegevens overeenkomstig onderstaande beginselen kunnen worden gecontroleerd.

Meet voor de congeneren en de interne standaard het piekoppervlak of de piekhoogte.

9.1. Berekening van de responsfactor

Bereken uit het chromatogram voor standaardoplossing C (5.14.3) met vergelijking (1) de responsfactor voor elke congeneer:

$$(1)\ \text{Responsfactor} = \frac{\text{Piekoppervlak of -hoogte IS}}{\text{Piekoppervlak of -hoogte congeneer}} \times \frac{\text{Conc. congeneer (µg/g)}}{\text{Conc. IS (µg/g)}}$$

Hierbij is:

IS = interne standaard,

▼B

Conc. congeneer = concentratie van de congeneer in oplossing C (5.14.3),

Conc. IS = concentratie van de interne standaard in oplossing C (5.14.3).

9.1.2. Analyse van de monsters

Bereken met vergelijking (2) de concentratie van elke congeneer in de monsters:

(2) Concentratie van de congeneer (µg / g) =

$$\frac{\text{Piekoppervlak of -hoogte congeneer}}{\text{Piekoppervlak of -hoogte IS}} \times \frac{M_{IS}\ (g)}{M_{MONSTER}\ (g)} \times \text{Conc. IS } (\mu g/g) \times RF$$

Hierbij is:

$M_{MONSTER}$ = gewicht van het monster (8.1.2),

M_{IS} = gewicht van de interne standaard (8.1.3),

Conc. IS = concentratie van de interne standaard in oplossing E (5.14.5),

RF = responsfactor, berekend volgens vergelijking (1).

9.1.3. Analyse van de standaardoplossing voor kwaliteitsbeheersing

Bereken met vergelijking (3) de procentuele recovery voor elke congeneer in de standaardoplossingen voor kwaliteitsbeheersing (5.14.7):

$$(3)\ \%\ \text{Recovery } (\%) = \frac{\text{Concentratie van de analyt in standaard kwaliteitsbeheersing}}{\text{Concentratie van de analyt in oplossing D}} \times 100$$

De concentratie van de analyt in de standaard voor kwaliteitsbeheersing wordt met de vergelijkingen (1) en (2) berekend.

9.2. Uiteindelijke weergave van de resultaten

De resultaten voor de monsters worden met vergelijking (4) omgerekend van µg/g tot gram per 100 liter absolute alcohol:

(4) Concentratie in gram per 100 liter absolute alcohol =

Concentratie (µg/g) × ρ × 10/(gehalte in % (v/v) × 1 000)

Hierbij is:

ρ = dichtheid in kg/m^3.

De resultaten worden vermeld met drie significante cijfers en maximaal één cijfer achter de komma, bijvoorbeeld 11,4 g per 100 l absolute alcohol.

10. **Kwaliteitsborging en -beheersing (gebruikt voor de gevalideerde methode)**

Bereken met vergelijking (2) de concentratie van elke congeneer in de standaardoplossingen voor kwaliteitsbeheersing die volgens de procedure van de punten 8.1.1 tot en met 8.1.4 worden bereid. Bereken met vergelijking (3) de procentuele recovery. Als het resultaat van de analyse voor elke congeneer binnen ± 10 % van de theoretische waarde ligt, mag de analyse worden voortgezet. Als dit niet zo is, moet worden onderzocht wat de oorzaak van de onnauwkeurigheid is en moeten de nodige corrigerende maatregelen worden genomen.

11. **Karakteristieken van de resultaten van de methode (precisie)**

Statistische resultaten van het interlaboratoriumonderzoek: in de volgende tabellen zijn de waarden opgenomen voor de volgende verbindingen: ethanal, ethylacetaat, acetaal, ethanal totaal, methanol,

▼B

butaan-2-ol, propaan-1-ol, butaan-1-ol, 2-methylpropaan-1-ol, 2-methylbutaan-1-ol en 3-methylbutaan-1-ol.

Een internationaal onderzoek naar de resultaten van de methode, uitgevoerd volgens internationaal overeengekomen procedures, heeft de volgende gegevens opgeleverd:

Jaar van het interlaboratoriumonderzoek: 1997

Aantal laboratoria: 32

Aantal monsters: 5

Analyt: ethanal

Monsters	A	B	C	D	E
Aantal resterende laboratoria na eliminatie uitbijters	28	26	27	27	28
Aantal uitbijters (laboratoria)	2	4	3	3	2
Aantal geaccepteerde resultaten	56	52	54	54	56
Gemiddelde waarde ($\bar{x}$) in µg/g	63,4	71,67	130,4	38,4 13,8 (*)	28,6 52,2 (*)
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (S_r) in µg/g	3,3	1,9	6,8	4,1	3,6
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (RSD_r) (%)	5,2	2,6	5,2	15,8	8,9
Herhaalbaarheidsgrens (r) in µg/g	9,3	5,3	19,1	11,6	10,1
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (S_R) in µg/g	12	14	22	6,8	8,9
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (RSD_R) (%)	18,9	19,4	17,1	26,2	22,2
Reproduceerbaarheidsgrens (R) in µg/g	33,5	38,9	62,4	19,1	25,1

Monstertypes:
A brandy: blinde duplo's;
B kirsch: blinde duplo's;
C grappa: blinde duplo's;
D whisky: twee gehaltes (*);
E rum: twee gehaltes (*).

Jaar van het interlaboratoriumonderzoek: 1997

Aantal laboratoria: 32

Aantal monsters: 5

Analyt: ethylacetaat

Monsters	A	B	C	D	E
Aantal resterende laboratoria na eliminatie uitbijters	24	24	25	24	24
Aantal uitbijters (laboratoria)	2	2	1	2	2
Aantal geaccepteerde resultaten	48	48	50	48	48
Gemiddelde waarde ($\bar{x}$) in µg/g	96,8	1 046	120,3	112,5 91,8 (*)	99,1 117,0 (*)
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (S_r) in µg/g	2,2	15	2,6	2,1	2,6
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (RSD_r) (%)	2,3	1,4	2,1	2,0	2,4
Herhaalbaarheidsgrens (r) in µg/g	6,2	40,7	7,2	5,8	7,3

▼B

Monsters	A	B	C	D	E
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (S_R) in µg/g	6,4	79	8,2	6,2	7,1
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (RSD_R) (%)	6,6	7,6	6,8	6,2	6,6
Reproduceerbaarheidsgrens (R) in µg/g	17,9	221,9	22,9	17,5	20,0

Monstertypes:
A brandy: blinde duplo's;
B kirsch: blinde duplo's;
C grappa: blinde duplo's;
D whisky: twee gehaltes (*);
E rum: twee gehaltes (*).

Jaar van het interlaboratoriumonderzoek: 1997

Aantal laboratoria: 32

Aantal monsters: 5

Analyt: acetaal

Monsters	A	B	C	D	E
Aantal resterende laboratoria na eliminatie uitbijters	20	21	22	17	21
Aantal uitbijters (laboratoria)	4	3	2	4	3
Aantal geaccepteerde resultaten	40	42	44	34	42
Gemiddelde waarde ($\bar{x}$) in µg/g	35,04	36,46	68,5	20,36 6,60 (*)	15,1 28,3 (*)
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (S_r) in µg/g	0,58	0,84	1,6	0,82	1,9
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (RSD_r) (%)	1,7	2,3	2,3	6,1	8,7
Herhaalbaarheidsgrens (r) in µg/g	1,6	2,4	4,4	2,3	5,3
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (S_R) in µg/g	4,2	4,4	8,9	1,4	3,1
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (RSD_R) (%)	12,1	12,0	13,0	10,7	14,2
Reproduceerbaarheidsgrens (R) in µg/g	11,8	12,2	25,0	4,0	8,7

Monstertypes:
A brandy: blinde duplo's;
B kirsch: blinde duplo's;
C grappa: blinde duplo's;
D whisky: twee gehaltes (*);
E rum: twee gehaltes (*).

Jaar van het interlaboratoriumonderzoek: 1997

Aantal laboratoria: 32

Aantal monsters: 5

Analyt: ethanal totaal

Monsters	A	B	C	D	E
Aantal resterende laboratoria na eliminatie uitbijters	23	19	22	21	22
Aantal uitbijters (laboratoria)	1	5	2	3	2

▼B

Monsters	A	B	C	D	E
Aantal geaccepteerde resultaten	46	38	44	42	44
Gemiddelde waarde ($\bar{x}$) in µg/g	76,5	85,3	156,5	45,4 15,8 (*)	32,7 61,8 (*)
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (S_r) in µg/g	3,5	1,3	6,5	4,4	3,6
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (RSD_r) (%)	4,6	1,5	4,2	14,2	7,6
Herhaalbaarheidsgrens (r) in µg/g	9,8	3,5	18,3	12,2	10,0
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (S_R) in µg/g	13	15	24,1	7,3	9,0
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (RSD_R) (%)	16,4	17,5	15,4	23,7	19,1
Reproduceerbaarheidsgrens (R) in µg/g	35,2	41,8	67,4	20,3	25,2

Monstertypes:
A brandy: blinde duplo's;
B kirsch: blinde duplo's;
C grappa: blinde duplo's;
D whisky: twee gehaltes (*);
E rum: twee gehaltes (*).

Jaar van het interlaboratoriumonderzoek: 1997

Aantal laboratoria: 32

Aantal monsters: 5

Analyt: methanol

Monsters	A	B	C	D	E
Aantal resterende laboratoria na eliminatie uitbijters	26	27	27	28	25
Aantal uitbijters (laboratoria)	4	3	3	1	4
Aantal geaccepteerde resultaten	52	54	54	56	50
Gemiddelde waarde ($\bar{x}$) in µg/g	319,8	2 245	1 326	83,0 61,5 (*)	18,6 28,9 (*)
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (S_r) in µg/g	4,4	27	22	1,5	1,3
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (RSD_r) (%)	1,4	1,2	1,7	2,1	5,6
Herhaalbaarheidsgrens (r) in µg/g	12,3	74,4	62,5	4,3	3,8
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (S_R) in µg/g	13	99	60	4,5	2,8
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (RSD_R) (%)	3,9	4,4	4,6	6,2	11,8
Reproduceerbaarheidsgrens (R) in µg/g	35,2	278,3	169,1	12,5	7,9

Monstertypes:
A brandy: blinde duplo's;
B kirsch: blinde duplo's;
C grappa: blinde duplo's;
D whisky: twee gehaltes (*);
E rum: twee gehaltes (*).

Jaar van het interlaboratoriumonderzoek: 1997

Aantal laboratoria: 32

▼B

Aantal monsters: 4

Analyt: butaan-2-ol

Monsters	A	B	C	E
Aantal resterende laboratoria na eliminatie uitbijters	21	27	29	22
Aantal uitbijters (laboratoria)	4	3	1	3
Aantal geaccepteerde resultaten	42	54	58	44
Gemiddelde waarde ($\bar{x}$) in µg/g	5,88	250,2	27,57	5,83 14,12 (*)
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (S_r) in µg/g	0,40	2,2	0,87	0,64
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (RSD_r) (%)	6,8	0,9	3,2	6,4
Herhaalbaarheidsgrens (r) in µg/g	1,1	6,1	2,5	1,8
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (S_R) in µg/g	0,89	13	3,2	0,87
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (RSD_R) (%)	15,2	5,1	11,5	8,7
Reproduceerbaarheidsgrens (R) in µg/g	2,5	35,5	8,9	2,4

Monstertypes:
A brandy: blinde duplo's;
B kirsch: blinde duplo's;
C grappa: blinde duplo's;
E rum: twee gehaltes (*).

Jaar van het interlaboratoriumonderzoek: 1997

Aantal laboratoria: 32

Aantal monsters: 5

Analyt: propaan-1-ol

Monsters	A	B	C	D	E
Aantal resterende laboratoria na eliminatie uitbijters	29	27	27	29	29
Aantal uitbijters (laboratoria)	2	4	3	2	2
Aantal geaccepteerde resultaten	58	54	54	58	58
Gemiddelde waarde ($\bar{x}$) in µg/g	86,4	3 541	159,1	272,1 229,3 (*)	177,1 222,1 (*)
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (S_r) in µg/g	3,0	24	3,6	2,3	3,3
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (RSD_r) (%)	3,4	0,7	2,3	0,9	1,6
Herhaalbaarheidsgrens (r) in µg/g	8,3	68,5	10,0	6,4	9,1
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (S_R) in µg/g	5,3	150	6,5	9,0	8,1
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (RSD_R) (%)	6,1	4,1	4,1	3,6	4,1
Reproduceerbaarheidsgrens (R) in µg/g	14,8	407,2	18,2	25,2	22,7

▼B

Monstertypes:
A brandy: blinde duplo's;
B kirsch: blinde duplo's;
C grappa: blinde duplo's;
D whisky: twee gehaltes (*);
E rum: twee gehaltes (*).

Jaar van het interlaboratoriumonderzoek: 1997

Aantal laboratoria: 32

Aantal monsters: 3

Analyt: butaan-1-ol

Monsters	A	B	C
Aantal resterende laboratoria na eliminatie uitbijters	20	22	22
Aantal uitbijters (laboratoria)	4	4	6
Aantal geaccepteerde resultaten	40	44	44
Gemiddelde waarde ($\bar{x}$) in µg/g	3,79	5,57	7,54
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (S_r) in µg/g	0,43	0,20	0,43
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaardheid (RSD_r) (%)	11,2	3,6	5,6
Herhaalbaarheidsgrens (r) in µg/g	1,1	0,6	1,2
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (S_R) in µg/g	0,59	0,55	0,82
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (RSD_R) (%)	15,7	9,8	10,8
Reproduceerbaarheidsgrens (R) in µg/g	1,7	1,5	2,3

Monstertypes:
A brandy: blinde duplo's;
B kirsch: blinde duplo's;
C grappa: blinde duplo's (*).

Jaar van het interlaboratoriumonderzoek: 1997

Aantal laboratoria: 32

Aantal monsters: 5

Analyt: 2-methylpropaan-1-ol

Monsters	A	B	C	D	E
Aantal resterende laboratoria na eliminatie uitbijters	28	31	30	26	25
Aantal uitbijters (laboratoria)	3	0	1	5	6
Aantal geaccepteerde resultaten	56	62	60	52	50
Gemiddelde waarde ($\bar{x}$) in µg/g	174,2	111,7	185,0	291,0 246,8 (*)	115,99 133,87 (*)
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (S_r) in µg/g	2,3	1,6	2,5	1,8	0,74
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (RSD_r) (%)	1,3	1,4	1,3	0,7	0,6
Herhaalbaarheidsgrens (r) in µg/g	6,4	4,5	6,9	5,0	2,1
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (S_R) in µg/g	8,9	8,9	9,7	6,0	6,2

▼B

Monsters	A	B	C	D	E
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (RSD_R) (%)	5,1	8,0	5,2	2,2	5,0
Reproduceerbaarheidsgrens (R) in µg/g	24,9	24,9	27,2	16,9	17,4

Monstertypes:
A brandy: blinde duplo's;
B kirsch: blinde duplo's;
C grappa: blinde duplo's;
D whisky: twee gehaltes (*);
E rum: twee gehaltes (*).

Jaar van het interlaboratoriumonderzoek: 1997

Aantal laboratoria: 32

Aantal monsters: 5

Analyt: 2-methylbutaan-1-ol

Monsters	A	B	C	D	E
Aantal resterende laboratoria na eliminatie uitbijters	25	26	25	27	25
Aantal uitbijters (laboratoria)	3	2	3	1	2
Aantal geaccepteerde resultaten	50	52	50	54	50
Gemiddelde waarde ($\bar{x}$) in µg/g	113,0	48,3	91,6	72,1 45,2 (*)	39,5 61,5 (*)
Standaarddeviatie van de herhaalbaardheid (S_r) in µg/g	2,1	1,5	1,7	2,3	2,3
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (RSD_r) (%)	1,9	3,1	1,8	3,9	4,5
Herhaalbaarheidsgrens (r) in µg/g	6,0	4,2	4,7	6,4	6,3
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (S_R) in µg/g	7,4	3,8	6,6	4,7	4,5
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (RSD_R) (%)	6,6	7,9	7,2	8,1	8,8
Reproduceerbaarheidsgrens (R) in µg/g	20,8	10,7	18,4	13,3	12,5

Monstertypes:
A brandy: blinde duplo's;
B kirsch: blinde duplo's
C grappa: blinde duplo's;
D whisky: twee gehaltes (*);
E rum: twee gehaltes (*).

Jaar van het interlaboratoriumonderzoek: 1997

Aantal laboratoria: 32

Aantal monsters: 5

Analyt: 3-methylbutaan-1-ol

Monsters	A	B	C	D	E
Aantal resterende laboratoria na eliminatie uitbijters	23	23	24	27	21
Aantal uitbijters (laboratoria)	5	5	4	1	6
Aantal geaccepteerde resultaten	46	46	48	54	42

▼B

Monsters	A	B	C	D	E
Gemiddelde waarde ($\bar{x}$) in µg/g	459,4	242,7	288,4	142,2 120,4 (*)	212,3 245,6 (*)
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (S_r) in µg/g	5,0	2,4	3,4	2,4	3,2
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid (RSD_r) (%)	1,1	1,0	1,2	1,8	1,4
Herhaalbaarheidsgrens (r) in µg/g	13,9	6,6	9,6	6,6	9,1
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (S_R) in µg/g	29,8	13	21	8,5	6,7
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid (RSD_R) (%)	6,5	5,2	7,3	6,5	2,9
Reproduceerbaarheidsgrens (R) in µg/g	83,4	35,4	58,8	23,8	18,7

Monstertypes:
A brandy: blinde duplo's;
B kirsch: blinde duplo's;
C grappa: blinde duplo's;
D whisky: twe gehaltes (*);
E rum: twee gehaltes (*).

▼M1

V. ANETHOL. GASCHROMATOGRAFISCHE BEPALING VAN TRANS-ANETHOL IN GEDISTILLEERDE DRANKEN

1. Toepassingsgebied

Deze methode dient voor de bepaling van trans-anethol in met anijs gearomatiseerde gedistilleerde dranken met behulp van gaschromatografie.

2. Referentienormen

ISO 3696: 1987 Water for analytical laboratory use — Specifications and test methods.

3. Principe

De concentratie trans-anethol in de gedistilleerde drank wordt bepaald door gaschromatografie (GC). Dezelfde hoeveelheid van een interne standaard, bijvoorbeeld 4-allylanisol (estragol), wanneer estragol niet van nature in het monster aanwezig is, wordt toegevoegd aan het testmonster en aan een referentieoplossing trans-anethol van een bekende concentratie. Beide worden vervolgens met een 45 %-ethanoloplossing verdund en rechtstreeks in het GC-systeem geïnjecteerd. Een extract is nodig vóór de bereiding en analyse van monsters van likeuren met een hoog gehalte aan suikers.

4. Reagentia en materialen

Gebruik bij de analyse uitsluitend reagentia met een zuiverheid van ten minste 98 %. Water van minimaal klasse 3, zoals gedefinieerd in ISO 3696, moet worden gebruikt.

Referentiechemicaliën moeten op een donkere plaats bij ca. 4 ºC worden bewaard in een aluminiumreservoir of in flesjes van getint (bruin) glas. De stop moet bij voorkeur van een aluminiumomhulsel zijn voorzien. Trans-anethol moet vóór gebruik vanuit de kristallijne fase worden „ontdooid", maar daarbij mag de temperatuur nooit boven 35 ºC komen.

4.1. Ethanol 96 % (v/v) (CAS 64-17-5)

4.2. 1-methoxy-4- (1-propenyl) benzeen; (trans-anethol) (CAS 4180-23-8)

4.3. 4-allylanisol, (estragol) (CAS 140-67-0), voorgestelde interne standaard (IS)

4.4. Ethanol 45 % (v/v)

Voeg 560 g gedistilleerd water toe aan 378 g ethanol 96 % (v/v).

4.5. Bereiding van standaardoplossingen

Alle standaardoplossingen moeten op een donkere plaats bij kamertemperatuur (15-35 ºC) worden bewaard in een aluminiumreservoir of in flesjes van getint (bruin) glas. De stop moet bij voorkeur van een aluminiumomhulsel zijn voorzien.

Trans-anethol en 4-allylanisol zijn praktisch onoplosbaar in water en het is daarom noodzakelijk om trans-anethol en 4-allylanisol met een beetje ethanol 96 % (4.1) te verdunnen vóór toevoeging van ethanol 45 % (4.4).

De stockoplossingen moeten elke week vers worden bereid.

4.5.1. Standaardoplossing A

Stockoplossing trans-anethol (concentratie: 2 g/l)

Doe 40 mg trans-anethol (4.2) in een maatkolf van 20 ml (of 400 mg in 200 ml enz.). Voeg een beetje ethanol 96 % (4.1) toe, vul tot de maatstreep aan met ethanol 45 % (v/v) (4.4) en meng zorgvuldig.

4.5.2. Interne standaardoplossing B

Stockoplossing interne standaard, bijvoorbeeld estragol (concentratie: 2 g/l)

Doe 40 mg estragol (4.3) in een maatkolf van 20 ml (of 400 mg in 200 ml enz.). Voeg een beetje ethanol 96 % (v/v) (4.1) toe, vul tot de maatstreep aan met ethanol 45 % (v/v) (4.4) en meng zorgvuldig.

▼M1

4.5.3. Standaardstockoplossingen om de lineariteit van de respons van de detector te controleren

De lineariteit van de respons van de detector moet worden gecontroleerd voor de analyse van een concentratiebereik van trans-anethol in gedistilleerde dranken van 0 g/l tot 2,5 g/l. Tijdens het analyseproces worden de onbekende te analyseren monsters van gedistilleerde dranken tien keer verdund (8.3). Voor de in de methode beschreven analysecondities worden stockoplossingen die corresponderen met concentraties van 0, 0,05, 0,1, 0,15, 0,2 en 0,25 g/l van trans-anethol in het te analyseren monster, als volgt bereid: neem 0,5, 1, 1,5, 2 en 2,5 ml van stockoplossing A (4.5.1) en pipetteer in afzonderlijke maatkolven van 20 ml; pipetteer 2 ml interne standaardoplossing B (4.5.2) in elke maatkolf, vul tot de maatstreep aan met ethanol 45 % (v/v) (4.4) en meng zorgvuldig.

Voor de oplossing van 0 g/l wordt de blanco-oplossing (8.4) gebruikt.

4.5.4. Standaardoplossing C

Pipetteer 2 ml standaardoplossing A (4.5.1) in een maatkolf van 20 ml, voeg vervolgens 2 ml interne standaardoplossing B (4.5.2) toe, vul tot de maatstreep aan met ethanol 45 % (v/v) (4.4) en meng zorgvuldig.

5. **Apparatuur**

5.1. Een capillaire gaschromatograaf voorzien van een vlamionisatiedetector (FID) en een integrator of een ander systeem voor gegevensverwerking waarmee piekoppervlakten of piekhoogtes kunnen worden gemeten, en met een automatische monsternemer of de noodzakelijke uitrusting voor handmatige monsterinjectie.

5.2. „Split-splitless”-injector

5.3. Capillaire kolom, bijvoorbeeld:

Lengte: 50 m

Interne diameter: 0,32 mm

Filmdikte: 0,2 µm

Stationaire fase: FFAP — gewijzigd TPA polyethyleenglycol gecrosslinkt poreus polymeer

5.4. Gebruikelijke laboratoriumapparatuur: maatkolven klasse A, analytische balans (precisie: ± 0,1 mg).

6. **Condities gaschromatografie**

Het kolomtype en de kolomafmetingen alsmede de GC-condities moeten zodanig zijn dat anethol en de interne standaard van elkaar en van eventuele andere interfererende substanties gescheiden worden. Typische condities voor de kolom die in 5.3 als voorbeeld wordt gegeven, zijn:

6.1. Dragergas: analytisch helium

6.2. Debiet: 2 ml/min

6.3. Temperatuur van de injector: 250 ºC

6.4. Temperatuur van de detector: 250 ºC

6.5. Condities van oventemperatuur: isothermisch, 180 ºC, looptijd 10 minuten

6.6. Geïnjecteerd volume: 1 µl verdeling 1:40

7. **Monsters**

De monsters moeten op een donkere plaats bij kamertemperatuur worden bewaard.

8. **Procedure**

8.1. Monsterscreening op estragol

Om te garanderen dat er niet van nature estragol in het monster aanwezig is, moet een blancoanalyse worden uitgevoerd zonder toevoeging van een interne standaard. Indien estragol van nature aanwezig is, moet een andere interne standaard worden gekozen (bijvoorbeeld menthol).

▼M1

Pipetteer 2 ml van het monster in een maatkolf van 20 ml, vul tot de maatstreep aan met ethanol 45 % (v/v) (4.4) en meng zorgvuldig.

8.2. Bereiding van onbekende monsters

Pipetteer 2 ml van het monster in een maatkolf van 20 ml, voeg vervolgens 2 ml interne standaardoplossing B (4.5.2) toe, vul tot de maatstreep aan met ethanol 45 % (v/v) (4.4) en meng zorgvuldig.

8.3. Blanco

Pipetteer 2 ml interne standaardoplossing B (4.5.2) in een maatkolf van 20 ml, vul tot de maatstreep aan met ethanol 45 % (v/v) (4.4) en meng zorgvuldig.

8.4. Lineariteitscontrole

Vóór de analyse moet de lineariteit van de respons van de detector gecontroleerd worden door achtereenvolgens elke standaardoplossing voor lineariteitscontrole (4.5.3) in triplo te analyseren.

Bereken uit de piekhoogtes of de piekoppervlakten van elke injectie de verhouding R en zet R uit tegen de concentratie van de moederoplossing in g/l.

R = piekhoogte of piekoppervlakte van trans-anethol gedeeld door de piekhoogte of de piekoppervlakte van estragol.

Deze curve moet lineair zijn.

8.5. Bepaling

Injecteer de blanco-oplossing (8.3), gevolgd door standaardoplossing C (4.5.4) en daarna een van de lineariteitsstandaarden (4.5.3), die als kwaliteitscontrolemonster moet fungeren (dit monster kan op grond van de waarschijnlijke concentratie van trans-anethol in het onbekende monster worden gekozen), en vervolgens vijf onbekende monsters (8.2); injecteer na telkens vijf onbekende monsters een lineariteitsmonster (kwaliteitscontrole), om na te garanderen dat de analyse stabiel is.

9. **Berekening van de responsfactor**

Meet voor trans-anethol en de interne standaard de piekoppervlakte (met behulp van een integrator of een ander systeem voor gegevensverwerking) of de piekhoogte (handmatige integratie).

9.1. Berekening van responsfactor (RF_i)

De responsfactor wordt als volgt berekend:

RFi = (Ci/oppervlakte of hoogtei) * (oppervlakte of hoogteis/Cis).

Hierbij is:

C_i de concentratie van trans-anethol in standaardoplossing A (4.5.1);

C_{is} de concentratie van de interne standaard in standaardoplossing B (4.5.2);

$oppervlakte_i$ de piekoppervlakte (of de piekhoogte) van trans-anethol;

$oppervlakte_{is}$ de piekoppervlakte (of de piekhoogte) van de interne standaard.

RF_i wordt berekend uit de vijf monsters van standaardoplossing C (4.5.4).

9.2. Analyse van de oplossingen van de lineariteitscontrole

Injecteer de oplossingen van de lineariteitscontrole (4.5.3).

9.3. Analyse van het monster

Injecteer de oplossing van het onbekende monster (8.2).

10. **Berekening van de resultaten**

De formule voor de berekening van de concentratie van trans-anethol is:

ci = Cis * (oppervlakte of hoogtei/oppervlakte of hoogteis) * RFi

▼M1

Hierbij is:

c_i	de onbekende concentratie van trans-anethol;
C_{is}	de concentratie van de interne standaard in het onbekende monster (4.5.2);
Oppervlakte of hoogte$_i$	de piekoppervlakte of de piekhoogte van trans-anethol;
Oppervlakte of hoogte is$_{is}$	de piekoppervlakte of de piekhoogte van de interne standaard;
RF_i	de responscoëfficiënt (berekend overeenkomstig 9.1).

De concentratie van trans-anethol wordt uitgedrukt in g/l met één decimaal.

11. **Kwaliteitsborging en -controle**

De chromatogrammen moeten zodanig zijn dat anethol en de interne standaard van elkaar en van eventuele interfererende substanties gescheiden worden. De waarde RF_i wordt berekend uit de resultaten van de vijf injecties van standaardoplossing C (4.5.4). Als de variatiecoëfficiënt (VC % = (standaardafwijking/gemiddelde) * 100) binnen ± 1 % ligt, is de gemiddelde waarde van RF_i aanvaardbaar.

De bovengenoemde berekening moet worden gebruikt om de concentratie van trans-anethol in het monster (4.5.3) dat voor kwaliteitscontrole uit de oplossingen voor lineariteitscontrole is geselecteerd, te berekenen.

Als de gemiddelde berekende resultaten van de analyse van de voor de interne kwaliteitscontrole geselecteerde lineariteitsoplossing binnen ± 2,5 % van de theoretische waarde liggen, kunnen de resultaten van de onbekende monsters aanvaard worden.

12. **Behandeling van monsters van gedistilleerde dranken met een hoog gehalte aan suikers en van likeurmonsters vóór de GC-analyse**

Extractie van alcohol van een gedistilleerde drank met een hoog gehalte aan suikers om de concentratie van trans-anethol te kunnen bepalen door middel van capillaire gaschromatografie.

12.1. Principe

Aan een aliquot van het likeurmonster wordt de interne standaard toegevoegd met een concentratie die vergelijkbaar is met de concentratie van de analyt (trans-anethol) in de likeur. Hieraan worden natriumfosfaatdodecahydraat en watervrije ammoniumsulfaat toegevoegd. Het verkregen mengsel wordt goed geschud en afgekoeld. Er vormen zich twee lagen; de bovenste alcohollaag wordt afgetapt. Er wordt een aliquot van deze alcohollaag genomen en verdund met een 45 %-ethanoloplossing (4.4). (Opmerking: in deze fase wordt geen interne standaard toegevoegd, omdat die reeds is toegevoegd.) De resulterende oplossing wordt met gaschromatografie geanalyseerd.

12.2. Reagentia en materialen

Gebruik bij de extractie uitsluitend reagentia met een zuiverheid boven 99 %.

12.2.1. Ammoniumsulfaat, watervrij (CAS 7783-20-2)

12.2.2. Natriumfosfaat, tweebasisch, dodecahydraat (CAS 10039-32-4)

12.3. Apparatuur

Erlenmeyers, scheikolven, koelkast.

▼**M1**

12.4. Procedure

12.4.1. Monsterscreening op estragol

Om te garanderen dat er niet van nature estragol in het monster aanwezig is, moeten een blanco-extractie (12.6.2) en analyse zonder toevoeging van een interne standaard worden uitgevoerd. Indien estragol van nature aanwezig is, moet een andere interne standaard worden gekozen.

12.4.2. Extractie

Pipetteer 5 ml ethanol 96 % (4.1) in een erlenmeyer; doe 50 mg interne standaard (4.3) in deze erlenmeyer en voeg 50 ml van het monster toe. Voeg 12 g ammoniumsulfaat, watervrij (12.2.1) en 8,6 g tweebasisch natriumfosfaat dodecahydraat (12.2.2) toe. Doe de stop op de erlenmeyer.

Schud de erlenmeyer gedurende ten minste 30 minuten. Er mag een mechanisch schudapparaat worden gebruikt, maar geen met teflon gecoate magnetische roerstaaf, aangezien teflon een klein gedeelte van de analyt absorbeert. Opmerking: de toegevoegde zouten zullen niet volledig oplossen.

Zet de afgesloten erlenmeyer ten minste twee uur in een koelkast ($T < 5$ ºC).

Hierna moeten er twee afzonderlijke lagen zijn en een vast residu. De alcohollaag moet helder zijn; indien dit niet het geval is, moet de erlenmeyer opnieuw in de koelkast gezet worden totdat een duidelijke scheiding opgetreden is.

Neem zodra de alcohollaag helder is, een aliquot (10 ml bijvoorbeeld) zonder de waterlaag te verstoren. Doe het aliquot in een bruin flesje en sluit dat goed af.

12.4.3. Bereiding van het te analyseren geëxtraheerde monster

Laat het extract (12.4.2) op kamertemperatuur komen.

Pipetteer 2 ml van de alcohollaag van het op temperatuur gebrachte geëxtraheerde monster in een maatkolf van 20 ml, vul tot de maatstreep aan met ethanol 45 % (4.4) en meng zorgvuldig.

12.5. Bepaling

Volg de in punt 8.5 aangegeven procedure.

12.6. Berekening van de resultaten

Gebruik bij de berekening van de resultaten de volgende formule:

Ci = (mis/V) * (oppervlaktei/oppervlakteis) * RFi

Hierbij is:

m_{is}	het gewicht van de genomen (12.4.2) intrene standaard (4.3) (in mg)
V	het volume van het onbekende monster (50 ml)
RF_i	de responsfactor (9.1)
$oppervlakte_i$	de piekoppervlakte van trans-anethol
$oppervlakte_{is}$	de piekoppervlakte van de interne standaard

De resultaten worden uitgedrukt in g/l met één decimaal.

12.7. Kwaliteitsborging en -controle

Volg de onder punt 11 aangegeven procedure.

13. **Karakteristieken van de resultaten van de methode (precisie)**

Statistische resultaten van het interlaboratoriumonderzoek:

De volgende tabellen geven de waarden voor anethol.

Een internationaal onderzoek naar de resultaten van de methode, uitgevoerd volgens internationaal overeengekomen procedures, heeft de volgende gegevens opgeleverd.

▼**M1**

Jaar van het interlaboratoriumonderzoek	1998
Aantal laboratoria	16
Aantal monsters	10
Analyt	anethol

Pastis:

Monsters	A	B	C	D	E	F
Aantal overgebleven laboratoria na eliminatie van uitschieters	15	15	15	13	16	16
Aantal uitschieters (laboratoria)	1	1	1	3	—	—
Aantal geaccepteerde resultaten	30	30	30	26	16	16
Gemiddelde waarde g/l	1,477	1,955	1,940	1,833	1,741	1,754
Standaardafwijking herhaalbaarheid (S_r) g/l	0,022	0,033	0,034	0,017	—	—
Relatieve standaardafwijking van de reproduceerbaarheid (RSD_r) (%)	1,5	1,7	1,8	0,9	—	—
Limiet van de herhaalbaarheid (r) g/l	0,062	0,093	0,096	0,047	—	—
Standaardafwijking van de reproduceerbaarheid (S_R) g/l	0,034	0,045	0,063	0,037	0,058	0,042
Relatieve standaardafwijking van de reproduceerbaarheid (RSD_R) (%)	2,3	2,3	3,2	2,0	3,3	2,4
Limiet van de reproduceerbaarheid (R) g/l	0,094	0,125	0,176	0,103	0,163	0,119

Soorten monsters:

A pastis, blinde duplo's

B pastis, blinde duplo's

C pastis, blinde duplo's

D pastis, blinde duplo's

E pastis, één monster

F pastis, één monster

Andere met anijs gearomatiseerde gedistilleerde dranken:

Monsters	G	H	I	J
Aantal overgebleven laboratoria na eliminatie van uitschieters	16	14	14	14
Aantal uitschieters (laboratoria)	—	2	1	1
Aantal geaccepteerde resultaten	32	28	28	28
Gemiddelde waarde g/l	0,778 0,530 (*)	1,742	0,351	0,599
Standaardafwijking herhaalbaarheid (S_r) g/l	0,020	0,012	0,013	0,014
Relatieve standaardafwijking van de herhaalbaarheid (RSD_r) (%)	3,1	0,7	3,8	2,3
Limiet van de herhaalbaarheid (r) g/l	0,056	0,033	0,038	0,038
Standaardafwijking van de reproduceerbaarheid (S_R) g/l	0,031	0,029	0,021	0,030
Relatieve standaardafwijking van de reproduceerdbaarheid (RSD_R) (%)	4,8	1,6	5,9	5,0

▼**M1**

Monsters	G	H	I	J
Limiet van de reproduceerbaarheid (R) g/l	0,088	0,080	0,058	0,084

Soorten monsters:

G ouzo, „split”-niveaus (*)

H anijs, blinde duplo's

I met anijs gearomatiseerde likeur, duplo's

J met anijs gearomatiseerde likeur, duplo's

▼M1

VI. GLYCYRRHIZINEZUUR. BEPALING VAN GLYCYRRHIZINEZUUR MET BEHULP VAN HOGEDRUKVLOEISTOFCHROMATOGRAFIE

1. **Toepassingsgebied**

Deze methode dient voor de bepaling van glycyrrhizinezuur in met anijs gearomatiseerde gedistilleerde dranken met behulp van hogedrukvloeistofchromatografie (HPLC). Verordening (EEG) nr. 1576/89 bepaalt dat een met anijs gearomatiseerde gedistilleerde drank die pastis wordt genoemd, tussen 0,05 en 0,5 g glycyrrhizinezuur per liter moet bevatten.

2. **Referentienormen**

ISO 3696: 1987 Water for analytical laboratory use — Specifications and test methods.

3. **Principe**

De concentratie glycyrrhizinezuur wordt bepaald met behulp van hogedrukvloeistofchromatografie (HPLC) met uv-detectie. Een standaardoplossing en het testmonster worden gefiltreerd en afzonderlijk rechtstreeks in het HPLC-systeem geïnjecteerd.

4. **Reagentia en materialen**

Gebruik bij de analyse uitsluitend reagentia van HPLC-kwaliteit, absolute ethanol en water van minimaal klasse 3, zoals gedefinieerd in ISO 3696.

4.1. Ethanol 96 % (v/v) (CAS 64-17-5)

4.2. Ammoniumglycyrrhizinaat, $C_{42}H_{62}O_{16}NH_3$ (Glycyrrhizinezuur-ammoniumzout)

(Mol. Wt. 839,98)(CAS 53956-04-0): zuiverheid ten minste 90 %.

(Mol. Wt. glycyrrhizinezuur 822,94)

4.3. IJsazijn, CH_3COOH, (CAS 64-19-7)

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

4.5. Ethanol 50 % (v/v)

Voor 1 000 ml bij 20 ºC:

— ethanol 96 % (v/v) (4.1): 521 ml
— water (2.0): 511 ml.

4.6. Bereiding van de HPLC-elutieoplossingen

4.6.1. Elutieoplossing A (voorbeeld)

80 delen (volumegehalte) water (2.0)

20 delen (volumegehalte) azijnzuur (4.3).

Ontgas de elutieoplossing gedurende vijf minuten.

Opmerking: Indien het gebruikte water niet gemicrofiltreerd is, is het raadzaam de bereide elutieoplossing te filtreren over een filter voor organische oplossingen met een poriëngrootte kleiner dan of gelijk aan 0,45 μm.

4.6.2. Elutieoplossing B

Methanol (4.4)

4.7. Bereiding van standaardoplossingen

Alle standaardoplossingen moeten na twee maanden vers worden bereid.

4.7.1. Referentieoplossing C

Weeg op 0,1 mg nauwkeurig 25 mg ammoniumglycyrrhizinaat (4.2) af in een maatkolf van 100 ml. Voeg een beetje ethanol 50 % (v/v) (4.5) toe en los het ammoniumglycyrrhizinaat op. Als het ammoniumglycyrrhizinaat opgelost is, aanvullen tot de maatstreep met ethanol 50 % (v/v) (4.5).

Filtreer over een filter voor organische oplossingen.

▼M1

4.7.2. Standaardoplossingen (gebruikt voor lineariteitscontrole van de respons van het systeem)

Bereid een stockoplossing van 1,0 g/l door op 0,1 mg nauwkeurig 100 mg ammoniumglycyrrhizinaat af te wegen in een maatkolf van 100 ml. Voeg wat ethanol 50 % (v/v) (4.5) toe en los het ammoniumglycyrrhizinaat op. Als het ammoniumglycyrrhizinaat is opgelost, aanvullen tot de maatstreep met ethanol 50 % (v/v) (4.5).

Bereid ten minste vier andere oplossingen die corresponderen met concentraties van 0,05, 0,1, 0,25 en 0,5 g/l ammoniumglycyrrhizinaat door respectievelijk 5, 10, 25 en 50 ml van de stockoplossing van 1,0 g/l te pipetteren in afzonderlijke maatkolven van 100 ml. Vervolgens aanvullen tot de maatstreep met ethanol 50 % (v/v) (4.5) en zorgvuldig mengen.

Filtreer alle oplossingen over een filter voor organische oplossingen.

5. **Apparatuur**

5.1. Scheidingssysteem

5.1.1. Hogedrukvloeistofchromatograaf

5.1.2. Pompsysteem waarmee een constant of geprogrammeerd debiet met een grote nauwkeurigheid kan worden bereikt en gehandhaafd.

5.1.3. UV spectrofotometrisch detectiesysteem: in te stellen op 254 nm

5.1.4. Ontgassingsysteem voor de oplossingen

5.2. Verwerkingsintegrator of recorder, die compatibel moet zijn met de rest van het systeem.

5.3. Kolom (voorbeeld):

Materiaal: roestvrij staal of glas

Inwendige diameter: 4-5 mm

Lengte: 100-250 mm

Stationaire fase: gecrosslinkte silica met een (bij voorkeur bolvormige) octadecyl functiegroep (C18), maximale deeltjesgrootte: 5 µm.

5.4. Laboratoriumapparatuur

5.4.1. Analytische balans met een precisie van 0,1 mg

5.4.2. Maatkolven klasse A

5.4.3. Apparatuur voor micromembraanfiltratie voor kleine volumes.

6. **Condities gaschromatografie**

6.1. Elutiekarakteristieken: (voorbeeld)

— debiet: 1 ml/minuut

— oplossing A = 30 %

— oplossing B = 70 %.

6.2. Detectie:

— UV = 254 nm.

7. **Procedure**

7.1. Bereiding van het monster van gedistilleerde dranken

Filtreer, indien nodig, over een filter voor organische oplossingen (poriëndiameter: 0,45 µm).

7.2. Bepaling

Als de condities voor de gaschromatograe eenmaal gestabiliseerd zijn:

— injecteer 20 µl van referentieoplossing C (4.7.1)

▼M1

— injecteer 20 µl van de monsteroplossing

— vergelijk de twee chromatogrammen. Identificeer de glycyrrhizinezuurpieken aan de hand van de retentietijd. Meet de oppervlakten (of hoogtes) en bereken de concentratie in g/l op twee decimalen nauwkeurig met behulp van de volgende vergelijking:

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

Hierbij is:

c de concentratie in g/l van glycyrrhizinezuur in de geanalyseerde gedistilleerde drank;

C de concentratie in g/l van ammoniumglycyrrhizinaat in de referentieoplossing;

h de oppervlakte (of hoogte) van de glycyrrhizinezuurpiek van de geanalyseerde gedistilleerde drank;

H de oppervlakte (of hoogte) van de glycyrrhizinezuurpiek van de referentieoplossing;

P de zuiverheid van de referentieammoniumglycyrrhizinaat (in %);

823 de massa van een mol glycyrrhizinezuur;

840 de massa van een mol ammoniumglycyrrhizinaat.

8. **Karakteristieken van de resultaten van de methode (precisie)**

Statistische resultaten van het interlaboratoriumonderzoek:

De volgende tabel geeft de waarden voor glycyrrhizinezuur.

Een internationaal onderzoek naar de resultaten van de methode, uitgevoerd volgens internationaal overeengekomen procedures, heeft de volgende gegevens opgeleverd.

Jaar van het interlaboratoriumonderzoek	1998
Aantal laboratoria	16
Aantal monsters	5
Analyt	glycyrrhizinezuur

Monsters	A	B	C	D	E
Aantal overgebleven laboratoria na eliminatie van uitschieters	13	14	15	16	16
Aantal uitschieters (laboratoria)	3	2	1	—	—
Aantal geaccepteerde resultaten	26	28	30	32	32
Gemiddelde waarde g/l	0,046	0,092 (*) 0,099	0,089	0,249	0,493
Standaardafwijking herhaalbaarheid (S_r) g/l	0,001	0,001	0,001	0,002	0,003
Relatieve standaardafwijking van de herhaalbaarheid (RSD_r) (%)	1,5	1,3	0,7	1,0	0,6
Limiet van de herhaalbaarheid (r) g/l	0,002	0,004	0,002	0,007	0,009
Standaardafwijking van de reproduceerbaarheid (S_R) g/l	0,004	0,007	0,004	0,006	0,013
Relatieve standaardafwijking van de reproduceerbaarheid (RSD_R) (%)	8,6	7,2	4,0	2,5	2,7
Limiet van de reproduceerbaarheid (R) g/l	0,011	0,019	0,010	0,018	0,037

▼**M1**

Soorten monsters:

A pastis, blinde duplo's

B pastis, „split”-niveaus (*)

C pastis, blinde duplo's

D pastis, blinde duplo's

E pastis, blinde duplo's

▼M1

VII. CHALCONEN. HPLC-METHODE VOOR ONDERZOEK NAAR DE AANWEZIGHEID VAN CHALCONEN IN PASTIS

1. Toepassingsgebied

Deze methode dient voor de bepaling van de aanwezigheid van chalconen in met anijs gearomatiseerde gedistilleerde dranken. Chalconen zijn natuurlijke kleurstoffen van de flavonoïdenfamilie die voorkomen in zoethout (Glycyrrhiza glabra).

Een met anijs gearomatiseerde gedistilleerde drank mag alleen „pastis" worden genoemd, als het product chalconen bevat (Verordening (EEG) nr. 1576/89).

2. Referentienormen

ISO 3696: 1987, Water for analytical laboratory use — Specifications and test methods

3. Principe

Er wordt een referentie-extract van zoethout bereid. De aanwezigheid of afwezigheid van chalconen wordt bepaald met behulp van hogedrukvloeistofchromatografie (HPLC) met uv-detectie.

4. Reagentia en materialen

Gebruik bij de analyse uitsluitend reagentia van HPLC-kwaliteit, ethanol 96 % (v/v) en water van klasse 3, zoals gedefinieerd in ISO 3696.

4.1. Ethanol 96 % (v/v) (CAS 64-17-5)

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

4.3. Referentiesubstantie: Glycyrrhiza glabra: zoethout, „sweet root".

Grof gemalen zoethout (Glycyrrhiza glabra). Staafjes van een gemiddelde lengte van 10-15 mm en een gemiddelde doorsnee van 1-3 mm.

4.4. Natriumacetaat, CH_3COONa, (CAS 127-09-3)

4.5. IJsazijn, CH_3COOH, (CAS 64-19-7)

4.6. Bereiding van oplossingen

4.6.1. Ethanol 50 % (v/v)

Voor 1 000 ml bij 20 ºC:

— ethanol 96 % (v/v) (4.1): 521 ml

— water (2.0): 511 ml

4.6.2. Oplossing A: acetonitril

Acetonitril (4.2) van HPLC analytische zuiverheid.

Ontgas

4.6.3. Oplossing B: 0,1M natriumacetaat bufferoplossing, pH 4,66.

Weeg 8,203 g natriumacetaat (4.4) af, voeg 6,005 g ijsazijn (4.5) toe en vul aan tot 1 000 ml met water (2) in een maatkolf.

5. Bereiding van het referentie-extract van glycyrrhiza glabra (4.3)

5.1. Weeg 10 g gemalen zoethout (Glycyrrhiza glabra) (4.3) af en doe dit in een rondbodemkolf.

— Voeg 100 ml ethanol 50 % (v/v) (4.6.1) toe.

— Kook het mengsel onder reflux gedurende een uur.

— Filtreer.

— Zet het filtraat weg voor later gebruik.

5.2. Neem het zoethoutextract uit de filter

— Doe het in een rondbodemkolf.

— Voeg 100 ml ethanol 50 % (v/v) (4.6.1) toe.

— Kook het mengsel onder reflux gedurende een uur.

— Filtreer. Zet het filtraat weg voor later gebruik.

5.3. De zoethoutextractie moet drie keer achter elkaar worden uitgevoerd.

▼M1

5.4. Voeg de drie filtraten samen.

5.5. Verdamp het oplosmiddel (van 5.4.) met een rotatieverdamper.

5.6. Vul het verkregen extract (5.5) aan met 100 ml ethanol 50 % (v/v) (4.6.1).

6. **Apparatuur**

6.1. Scheidingssysteem

6.1.1. Hogedrukvloeistofchromatograaf

6.1.2. Pompsysteem waarmee een constant of geprogrammeerd debiet met hoge druk kan worden bereikt en gehandhaafd.

6.1.3. UV/zichtbaar spectrofotometrisch detectiesysteem dat op 254 en 370 nm kan worden ingesteld.

6.1.4. Ontgassingsysteem voor de oplossingen

6.1.5. Kolomoven die op een temperatuur van 40 ± 0,1 ºC kan worden ingesteld.

6.2. Verwerkingsintegrator of recorder die compatibel is met de rest van het scheidingssysteem.

6.3. Kolom

Materiaal: roestvrij staal of glas

Inwendige diameter: 4-5 mm

Stationaire fase: gecrosslinkte silica met een octadecyl afgeleide functiegroep (C18), deeltjesgrootte: 5 µm maximaal (gecrosslinkte fase).

6.4. Gebruikelijke laboratoriumapparatuur:

6.4.1. Analytische balans (precisie: ± 0,1 mg).

6.4.2. Destillatieapparatuur met refluxcondensor, bestaande uit bijvoorbeeld:

— een rondbodemkolf van 250 ml met een gestandaardiseerd verbindingsstuk van geslepen glas,
— een refluxcondensor met een lengte van 30 cm, en
— een warmtebron (door een adequate opstelling moeten eventuele pyrogene reacties met het extractiemateriaal voorkomen worden).

6.4.3. Rotatieverdamper

6.4.4. Filtreerapparaat (bijvoorbeeld Buchnertrechter)

6.5. GC-condities (voorbeeld)

6.5.1. Elutiekarakteristieken van oplossing A (4.6.2) en B (4.6.3):

— verander van 20/80 (v/v) naar 50/50 (v/v) gradiënt in 15 minuten;
— verander van 50/50 (v/v) naar 75/25 (v/v) gradiënt in 5 minuten;
— gelijke concentratie op 75/25 (v/v) gedurende 5 minuten;
— stabilisatie van de kolom tussen de injecties:
— gelijke concentratie op 20/80 (v/v) gedurende 5 minuten.

6.5.2. Debiet: 1 ml/minuut.

6.5.3. Instellingen van de uv-detector:

De detector moet op 370 nm worden ingesteld om de aanwezigheid van chalconen op te sporen, en vervolgens op 254 nm om glycyrrhizinezuur op te sporen.

Opmerking: de verandering van de golflengte (van 370 nm naar 254 nm) moet 30 seconden vóór het begin van de elutiepiek van glycyrrhizinezuur worden uitgevoerd.

7. **Procedure**

7.1. Bereiding van het monster van gedistilleerde dranken

Filtreer over een filter voor organische oplossingen (poriëndiameter: 0,45 µm).

7.2. Bereiding van het zoethoutextract (5.6)

Maak vóór de analyse een verdunning van een op tien met ethanol 50 % (v/v) (4.6.1).

▼M1

7.3. Bepaling

7.3.1. Injecteer 20 µl bereid zoethoutextract (7.2). Voer de analyse uit volgens de in punt 6.5 beschreven GC-condities.

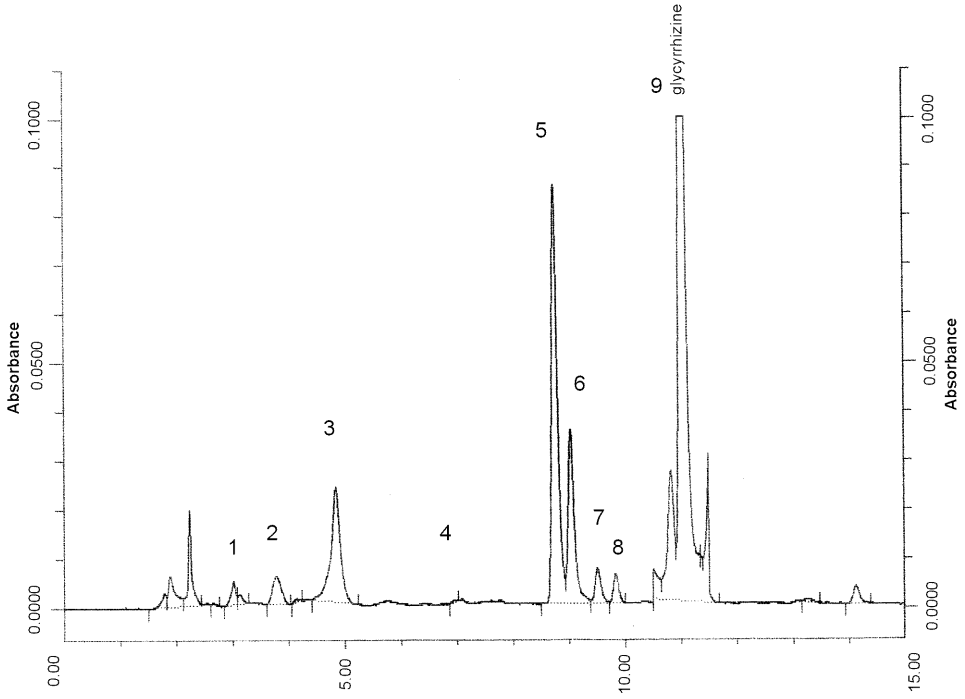
7.3.2. Injecteer 20 µl van de monsteroplossing (7.1). Andere met anijs gearomatiseerde gedistilleerde dranken: Voer de analyse uit volgens de in punt 6.5 beschreven GC-condities.

7.3.3. Vergelijk de twee chromatogrammen. Er moet een grote overeenkomst zijn tussen de twee chromatogrammen in de uittreezone van chalconen (tijdens de detectie op 370 nm onder de hierboven beschreven analysecondities) (zie figuur 1).

8. **Karakteristiek chromatogram voor pastis**

Figuur 1

Het via de hierboven beschreven methode verkregen chromatogram toont de aanwezigheid van chalconen in „pastis". De pieken 1 tot en met 8 zijn chalconen en piek 9 is glycyrrhizinezuur



9. **Karakteristieken van de resultaten van de methode (precisie)**

Resultaten van het interlaboratoriumonderzoek:

De volgende tabel geeft de resultaten van herkenning van aanwezigheid of afwezigheid van chalconen in pastis en met anijs gearomatiseerde gedistilleerde dranken.

Een internationaal onderzoek naar de resultaten van de methode, uitgevoerd volgens internationaal overeengekomen procedures, heeft de volgende gegevens opgeleverd.

Jaar van het interlaboratoriumonderzoek	1998
Aantal laboratoria	14
Aantal monsters	11
Analyten	chalconen

▼**M1**

Monsters	A	B	C	D	E	F
Aantal overgebleven laboratoria na eliminatie van uitschieters	14	14	14	14	14	13
Aantal uitschieters (laboratoria)	—	—	—	—	—	1 (*)
Aantal geaccepteerde resultaten	28	14	14	28	28	26
Aantal resultaten van aanwezigheid van chalconen	28	14	14	0	28	0
Aantal resultaten van afwezigheid van chalconen	0	0	0	28	0	26
Percentage correcte resultaten (%)	100	100	100	100	100	100

(*) Inconsistente resultaten tussen de twee duplo's ten gevolge van een fout in de monsterneming.

Monsters	G	H	I	J	K
Aantal overgebleven laboratoria na eliminatie van uitschieters	14	14	14	14	14
Aantal uitschieters (laboratoria)	—	—	—	—	—
Aantal geaccepteerde resultaten	28	14	14	28	28
Aantal resultaten van aanwezigheid van chalconen	0	0	0	0	0
Aantal resultaten van afwezigheid van chalconen	28	14	14	28	28
Percentage correcte resultaten (%)	100	100	100	100	100

Soorten monsters:

A pastis, blinde duplo's

B pastis, één monster

C pastis, één monster

D „pastis” (zonder chalconen), blinde duplo's

E „pastis” (zonder chalconen), blinde duplo's

F met anijs gearomatiseerde likeur (zonder chalconen), blinde duplo's

G met anijs gearomatiseerde likeur (zonder chalconen), blinde duplo's

H ouzo (zonder chalconen), één monster

I ouzo (zonder chalconen), één monster

J anijs (zonder chalconen), blinde duplo's

K „pastis” (zonder chalconen), blinde duplo's

▼M1

IX. EIGEEL. BEPALING VAN DE CONCENTRATIE EIGEEL IN GEDISTILLEERDE DRANKEN — FOTOMETRISCHE METHODE

1. **Toepassingsgebied**

Deze methode dient voor de bepaling van de concentratie eigeel in eierlikeur en likeur met ei voor het gebied van 40-250 g/l.

2. **Referentienormen**

ISO 3696: 1897 Water for analytical laboratory use — Specifications and test methods.

3. **Principe**

De in ethanol oplosbare fosforverbindingen in eigeel worden geëxtraheerd en het fosformolybdaatcomplex wordt fotometrisch bepaald.

4. **Reagentia en materialen**

4.1. Dubbel gedistilleerd water

4.2. Diatomeeënaarde

4.3. Ethanol 96 % (v/v) (CAS 64-17-5)

4.4. 15 % magnesiumacetaatoplossing (CAS 16674-78-5)

4.5. 10 % zwavelzuur (CAS 7664-93-9)

4.6. 1 N zwavelzuur

4.7. 0,16 g/l kaliumhydrofosfaatoplossing (CAS 778-77-0), KH_2PO_4

4.8. Reagens voor fosfaatbepaling:

Los 20 g ammoniummolybdaat (CAS 12054-85-2) $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ op in 400 ml water van 50 ºC.

Los in een ander recipiënt 1 g ammoniumvanadaat (CAS 7803-55-6) NH_4VO_3 op in 300 ml warm water, laat het afkoelen en voeg vervolgens 140 ml geconcentreerd salpeterzuur (CAS 7697-37-2) toe. Doe de afgekoelde oplossingen in een maatkolf van 1 000 ml en vul aan tot de maatstreep van 1 000 ml.

5. **Apparatuur**

5.1. Erlenmeyer van 100 ml

5.2. Ultrasoon bad (of magneetroerder)

5.3. Maatkolf van 100 ml

5.4. Waterbad van 20 ºC

5.5. Filter (Whatman nr. 4 of gelijkwaardig)

5.6. Porseleinen (of platina) kroes

5.7. Kokendwaterbad

5.8. Hete plaat

5.9. Moffeloven

5.10. Maatkolf van 50 ml

5.11. Maatkolf van 20 ml

5.12. Spectrofotometer ingesteld op 420 nm

5.13. Cuvette van 1 cm.

6. **Monsters**

De monsters moeten vóór de analyse bij kamertemperatuur worden bewaard.

7. **Procedure**

7.1. Bereiding van het monster

7.1.1. Weeg 10 g van het monster af in een erlenmeyer van 100 ml (5.1).

▼M1

7.1.2. Voeg geleidelijk 70 ml ethanol (4.3) in kleine porties toe, daarbij telkens de erlenmeyer zwenkend. Plaats vervolgens de erlenmeyer 15 minuten in een ultrasoon bad (5.2) (of roer het mengsel met een magneetroerder (5.2) gedurende 10 minuten bij kamertemperatuur).

7.1.3. Breng de inhoud van de erlenmeyer over in een maatkolf van 100 ml (5.3) en spoel na met ethanol (4.3). Vul tot de maatstreep aan met ethanol (4.3) en zet de maatkolven in een waterbad van 20 ºC (5.4). Vul aan tot de maatstreep bij 20 ºC.

7.1.4. Voeg een kleine hoeveelheid diatomeeënaarde (4.2) toe en filtreer (5.5), gooi de eerste 20 ml weg.

7.1.5. Breng 25 ml van het filtraat over in een porseleinen (of platina) kroes (5.6). Het filtraat moet vervolgens geconcentreerd worden door voorzichtige verdamping in een kokendwaterbad (5.7) met toevoeging van 5 ml 15 %-magnesiumacetaatoplossing (4.4).

7.1.6. Zet de kroezen op een hete plaat (5.8) en verwarm ze tot ze net droog zijn.

7.1.7. Veras het residu door verhitting tot gloeiing op 600 ºC in een moffeloven (5.9) tot de as wit is, minimaal anderhalf uur, maar mag een nacht blijven staan.

7.1.8. Voeg 10 ml 10 %-zwavelzuur (4.5) bij de as; breng de asoplossing, ook via naspoelen met gedistilleerd water (4.1), over in een maatkolf van 50 ml (5.10) en vul op kamertemperatuur tot de maatstreep aan met gedistilleerd water (4.1). Een aliquot van 5 ml van deze asoplossing wordt gebruikt bij de bereiding van de monsteroplossing voor de fotometrische fosfaatbepaling.

7.2. Fotometrische fosfaatbepaling

7.2.1. Vergelijkingsoplossing

7.2.1.1. Doe 10 ml 10 %-zwavelzuur (4.5) in een maatkolf van 50 ml (5.10) en vul tot de maatstreep aan met gedistilleerd water (4.1).

7.2.1.2. Voeg aan een aliquot van 5 ml van deze oplossing (7.2.1.1) in een maatkolf van 20 ml (5.11) 1 ml 1 N zwavelzuur (4.6) en 2 ml fosfaatreagens (4.8) toe en vul tot 20 ml aan met gedistilleerd water (4.1).

7.2.1.3. Sluit de maatkolf af met een los opgezette stop, schud en verwarm gedurende 10 minuten in een kokendwaterbad (5.7); laat vervolgens gedurende 20 minuten afkoelen in een waterbad van 20 ºC (5.4).

7.2.1.4. Vul een cuvette van 1 cm (5.13) met deze vergelijkingsoplossing.

7.2.2. Monsteroplossing

7.2.2.1. Voeg aan een aliquot van 5 ml van de asoplossing (7.1.8) in een maatkolf van 20 ml (5.11) 1 ml 1 N zwavelzuur (4.6) en 2 ml fosfaatreagens (4.8) toe en vul tot 20 ml aan met gedistilleerd water (4.1).

7.2.2.2. Sluit de maatkolf af met een los opgezette stop, schud en verwarm gedurende 10 minuten in een kokendwaterbad (5.7); laat vervolgens gedurende 20 minuten afkoelen in een waterbad van 20 ºC (5.4.).

7.2.2.3. De gele oplossing die ontstaat, wordt onmiddellijk spectrofotometrisch geanalyseerd (5.12) in een cuvette van 1 cm (5.13) bij 420 nm met de vergelijkingsoplossing (7.2.1.4) als blanco.

7.2.3. Kalibratiecurve

7.2.3.1. Voeg, om de kalibratiecurve te maken, aliquots van 2 ml van het fosfaatreagens (4.8) toe in de maatkolven van 20 ml (5.11) die elk 1 ml 1 N zwavelzuur (4.6) en respectievelijk 0, 2, 4, 6, 8 en 10 ml kaliumhydrofosfaatoplossing (4.7) bevatten, en vul tot de 20 ml maatstreep aan met gedistilleerd water (4.1).

7.2.3.2. Sluit af met een los opgezette stop, schud en verwarm gedurende 10 minuten in een kokendwaterbad (5.7); laat vervolgens gedurende 20 minuten afkoelen in een waterbad van 20 ºC (5.4) en analyseer spectrofotometrisch (5.12) in een cuvette van 1 cm (5.13) bij 420 nm met de vergelijkingsoplossing (7.2.1.4) als blanco.

7.2.3.3. Constructie van de kalibratiecurve:

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

▼M1

8. **Berekening van de resultaten**

Het gehalte aan eigeel in g/l wordt berekend met de volgende formule:

$$\text{g/l eigeel} = \text{mg } P_2O_5 \times \frac{110 \times \text{dichtheid}}{E/40}$$

Hierbij is:

110	de omrekeningsfactor voor de totale hoeveelheid P_2O_5 in g in 100 g eigeel,
mg P_2O_5	via de kalibratiecurve bepaalde waarde,
dichtheid	massa per volume-eenheid (g/ml) van de eierlikeur bij 20 ºC,
E	gewicht in g van de likeur op basis van eieren,
40	verdunningsfactor voor een aliquot van 5 ml asoplossing.

9. **Karakteristieken van de resultaten van de methode (precisie)**

Statistische resultaten van het interlaboratoriumonderzoek:

De volgende tabel geeft de waarden voor eigeel.

Een internationaal onderzoek naar de resultaten van de methode, uitgevoerd volgens internationaal overeengekomen procedures, heeft de volgende gegevens opgeleverd.

Jaar van het interlaboratoriumonderzoek	1998
Aantal laboratoria	24
Aantal monsters	5
Analyt	eigeel

Monsters	A	B	C	D	E
Aantal overgebleven laboratoria na eliminatie van uitschieters	19	20	22	20	22
Aantal uitschieters (laboratoria)	3	4	2	4	2
Aantal geaccepteerde resultaten	38	40	44	40	44
Gemiddelde waarde	147,3	241,1	227,4	51,9 (*) 72,8 (*)	191,1
Standaardafwijking van de herhaalbaarheid (S_r) g/l	2,44	4,24	3,93	1,83	3,25
Relatieve standaardafwijking van de herhaalbaarheid (RSD_r) (%)	1,7	1,8	1,8	2,9	1,7
Limiet van de herhaalbaarheid (r) g/l	6,8	11,9	11,0	5,1	9,1
Standaardafwijking van de reproduceerbaarheid (S_R) g/l	5,01	6,06	6,66	3,42	6,87
Relatieve standaardafwijking van de reproduceerbaarheid (RSD_R) (%)	3,4	2,5	2,9	5,5	3,6
Limiet van de reproduceerbaarheid (R) g/L	14,0	17,0	18,7	9,6	19,2

Soorten monsters:

A Advocaat, Blinde duplo's

B Advocaat, Blinde duplo's

C Advocaat, Blinde duplo's

D Advocaat (verdund), „Split” niveaus (*)

E Advocaat, Blinde duplo's