REGLAMENTO (CEE) Nº 1238/92 DE LA COMISIÓN

de 8 de mayo de 1992

por el que se determinan los métodos de análisis comunitarios del alcohol neutro aplicables en el sector del vino

LA COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS,

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Económica Europea,

Visto el Reglamento (CEE) nº 822/87 del Consejo, de 16 de marzo de 1987, por el que se establece la organización común del mercado vitivinícola (1), cuya última modificación la constituye el Reglamento (CEE) nº 1734/91 (2), y, en particular, el apartado 8 de su artículo 35, el apartado 6 de su artículo 36, el apartado 5 de su artículo 38, el apartado 9 de su artículo 39, el apartado 10 de su artículo 41 y el apartado 6 de su artículo 42,

Considerando que el Reglamento (CEE) nº 2046/89 del Consejo, de 19 de junio de 1989, por el que se establecen las normas generales relativas a la destilación de los vinos y de los subproductos de la vinificación (3) prevé que mediante las diferentes destilaciones del sector vitivinícola, pueda obtenerse, entre otros productos, alcohol neutro, definido en el Anexo del mencionado Reglamento basándose en criterios relativos a su composición; que, para poder verificar el cumplimiento de dichos criterios, es preciso adoptar métodos de análisis comunitarios;

Considerando que dichos métodos deben ser obligatorios para cualquier transacción comercial y operación de control; que, habida cuenta de las posibilidades limitadas del comercio, es conveniente admitir un número restringido de procedimientos usuales que permitan una determinación rápida y suficientemente segura de los elementos investigados en el alcohol neutro;

Considerando que es conveniente adoptar como métodos de análisis comunitarios aquéllos que gocen de un reconocimiento general; que debe garantizarse su aplicación uniforme;

Considerando que los métodos de análisis comunitarios del alcohol neutro aplicables en el sector del vino fueron establecidos por el Reglamento (CEE) nº 3590/83 de la Comisión (4); que el progreso científico ha hecho necesario sustituir determinados métodos por otros más adecuados, modificar algunos e introducir otros nuevos; que, en razón del gran número y complejidad de dichas adaptaciones, es conveniente agrupar todos los métodos de análisis en un nuevo Reglamento y derogar el Reglamento (CEE) nº 3590/83;

Considerando que, para garantizar que los resultados obtenidos en aplicación de los métodos de análisis mencionados en el artículo 74 del Reglamento (CEE) nº 822/87 sean comparables, es conveniente definir los conceptos de repetibilidad y reproducibilidad de los resultados obtenidos mediante la aplicación de dichos métodos;

Considerando que las medidas previstas en el presente Reglamento se ajustan al dictamen del Comité de gestión de los vinos,

HA ADOPTADO EL PRESENTE REGLAMENTO:

Artículo 1

1. Los métodos de análisis comunitarios del alcohol neutro, definido en el Anexo del Reglamento (CEE) nº 2046/89, figuran en el Anexo del presente Reglamento.

2. Los métodos de análisis contemplados en el apartado 1 se aplicarán al alcohol neutro obtenido mediante las diferentes destilaciones previstas en el Reglamento (CEE) nº 822/87.

Artículo 2

A los efectos de la aplicación del presente Reglamento, se entenderá por:

a) « repetibilidad »: el valor por debajo del cual se sitúa, con una probabilidad especificada, la diferencia absoluta entre los resultados de dos pruebas, obtenidos bajo las mismas condiciones (mismo operador, mismo aparato, mismo laboratorio y un corto intervalo de tiempo);

b) « reproducibilidad »: el valor por debajo del cual se sitúa, con una probabilidad especificada, la diferencia absoluta entre los resultados de dos pruebas, obtenidos en condiciones diferentes (operadores diferentes, aparatos diferentes, laboratorios diferentes y/o tiempos diferentes).

El término « resultado de una prueba » designará el valor obtenido cuando se aplique, una vez y por completo, el método de ensayo normalizado sobre una sola muestra. Salvo indicación contraria, la probabilidad será del 95 %.

Artículo 3

Queda derogado el Reglamento (CEE) nº 3590/83.

Artículo 4

El presente Reglamento entrará en vigor el tercer día siguiente al de su publicación en el *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*.

(1) DO nº L 84 de 27. 3. 1987, p. 1.
(2) DO nº L 163 de 26. 6. 1991, p. 6.
(3) DO nº L 202 de 14. 7. 1989, p. 14.
(4) DO nº L 363 de 24. 12. 1983, p. 1.

El presente Reglamento será obligatorio en todos sus elementos y directamente aplicable en cada Estado miembro.

Hecho en Bruselas, el 8 de mayo de 1992.

Por la Comisión
Ray MAC SHARRY
Miembro de la Comisión

ANEXO

MÉTODOS COMUNITARIOS DE ANÁLISIS DEL ALCOHOL NEUTRO APLICABLES EN EL SECTOR DEL VINO

Introducción

1. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS DESTINADAS A ANÁLISIS

1.1. Generalidades.

El volumen de la muestra destinada a análisis será normalmente de 1,5 l, salvo que alguna determinación específica exija la toma de una muestra mayor.

1.2. Preparación de la muestra.

Deberá homogeneizarse antes del análisis (muestra media).

1.3. Conservación de la muestra.

La muestra preparada deberá permanecer en todo momento en un recipiente estanco al aire y a la humedad y conservarse en condiciones que impidan cualquier deterioro; en ningún caso deberán entrar en contacto directo con el alcohol los tapones de corcho, caucho o plástico, y la utilización de lacre está expresamente prohibida.

2. REACTIVOS

2.1. Agua.

2.1.1. Siempre que sea preciso utilizar agua para preparar una solución, para diluir o para lavar, se utilizará agua destilada o desmineralizada con una pureza como mínimo equivalente a la destilada.

2.1.2. Siempre que se hable de « solución » o de « dilución » sin proporcionar ningún otro dato, se entenderá que se trata de una solución acuosa.

2.2. Productos químicos.

Salvo indicación en contrario, todos los productos químicos deberán tener la pureza propia de los productos para análisis.

3. INSTRUMENTAL

3.1. Lista de aparatos.

La lista de aparatos incluye únicamente aquellos destinados a una utilización específica o los que corresponden a unos requisitos particulares.

3.2. Balanza analítica.

Se considerarán como tales las balanzas con una sensibilidad de 0,1 mg como mínimo.

4. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1. Resultados.

El resultado mencionado en el informe de análisis será la media de al menos dos determinaciones que hayan podido realizarse con una repetibilidad (factor r) satisfactoria.

4.2. Cálculo de los resultados.

Salvo indicación en contrario, los resultados deberán calcularse en gramos por hectolitro de etanol a 100 % vol.

4.3. Número de cifras significativas.

El resultados no deberá incluir más cifras significativas que las correspondientes a la precisión del método empleado.

Método nº 1 : Determinación del contenido en alcohol

El grado alcohólico volumétrico expresado en porcentaje se determinará con arreglo a las disposiciones nacionales en vigor o, en caso de impugnación, con la ayuda de los alcohómetros y densímetros definidos en la Directiva 76/765/CEE del Consejo, de 27 de julio de 1976, relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros sobre los alcoholímetros y densímetros para alcohol (1).

El grado alcohólico volumétrico se expresará en % vol con arreglo a la Directiva 76/766/CEE del Consejo, de 27 de julio de 1976, relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros sobre tablas alcoholimétricas (2).

(1) DO nº L 262 de 27. 9. 1976, p. 143.
(2) DO nº L 262 de 27. 9. 1976, p. 149.

Método nº 2 : Evaluación del color y la transparencia

1. CAMPO DE APLICACIÓN

El método permite evaluar el color y la transparencia del alcohol neutro.

2. DEFINICIÓN

Se entenderá por color y transparencia el color y transparencia de la muestra determinados por el método especificado.

3. PRINCIPIO

El color y la transparencia se evaluarán visualmente, por comparación con el agua sobre un fondo blanco y otro negro.

4. INSTRUMENTAL

4.1. Probetas incoloras de cristal, de al menos 40 cm de altura.

5. FORMA DE OPERAR

Colocar dos probetas (punto 4) sobre el fondo blanco o negro e introducir en una de ellas una cantidad de muestra que alcance una altura de unos 40 cm ; introducir en la otra agua hasta la misma altura.

Observar la muestra desde arriba, es decir, según el eje longitudinal de la probeta, y compararla con el tubo patrón.

6. INTERPRETACIÓN

Evaluar el color y la transparencia de la muestra observándola de la forma descrita en el punto 5.

Método nº 3 : Determinación del tiempo de decoloración de una solución de permanganato

1. CAMPO DE APLICACIÓN

El método sirve para determinar el tiempo que tarda el alcohol neutro en decolorar una solución de permanganato.

2. DEFINICIÓN

El tiempo de decoloración de una solución de permanganato, determinado por el método especificado, es el número de minutos necesario para que la coloración de la muestra se haga idéntica a la del patrón tras la adición de 1 ml de una solución de permanganato potásico de 1 mmol/l a 10 ml de muestra.

3. PRINCIPIO

Se determina el tiempo necesario para que el color de la muestra, tras la adición de la solución de permanganato potásico, sea idéntico al del patrón, y dicho tiempo se denomina tiempo de decoloración de una solución de permanganato.

4. REACTIVOS

4.1. Solución de permanganato potásico de 1 mmol/l ; deberá prepararse inmediatamente antes de su empleo.

4.2. Solución colorante A (roja).

— Pesar con exactitud 59,50 g de $CoCl_2.6H_2O$;
— mezclar 25 ml de ácido clorhídrico ($\rho^{20} = 1.19$ g/ml) y 975 ml de agua ;
— verter la cantidad pesada de cloruro de cobalto en un matraz aforado de 1 000 ml, ayudándose con una parte de la mezcla de agua y ácido clorhídrico, y añadir a 20 °C el resto de la mezcla hasta el enrdse.

4.3. Solución colorante B (amarilla).

— Pesar con exactitud 45,00 g de $FeCl_3.6H_2O$;
— mezclar 25 ml de HCI ($\rho^{20} = 1.19$ g/ml) y 975 ml de agua y proceder con la cantidad pesada de cloruro de hierro de la misma manera que en el caso de la solución colorante A.

4.4. Solución patrón de coloración.

Poner con una pipeta 13 ml de la solución colorante A y 5,5 ml de la solución colorante B en un matraz aforado de 100 ml ; añadir agua a 20 °C hasta el enrase.

Observación :

Las soluciones A y B se pueden conservar varios meses en un ambiente frío y oscuro a 4 °C, y se deberá preparar un nuevo patrón de coloración cada cierto tiempo.

5. INSTRUMENTAL

5.1. Tubos Nessier de 100 ml en vidrio transparente incoloro graduado a 50 ml, con tapón de vidrio esmerilado o tubos de ensayo incoloros con un diámetro de unos 20 mm.

5.2. Pipetas de 1, 2, 5, 10 y 50 ml.

5.3. Termómetro con escala hasta 50 °C, con divisione de 0,1 o 0,2 °C.

5.4. Balanza analítica.

5.5. Baño de agua termostático regulable a 20 °C ± 0,5 °C.

5.6. Matraces aforados de 1 000 ml y 100 ml con tapón de vidrio esmerilado.

6. FORMA DE OPERAR

6.1. — Introducir con una pipeta 10 ml de muestra en un tubo de ensayo o 50 ml en un tubo Nessier.
— Introducirlo en el baño termostático a 20 °C.
— Añadir 1 ml o 5 ml, según la cantidad de la muestra utilizada de la solución de $KMnO_4$ de 1 mmol/l, mezclar y dejar reposar en el baño termostático a 20 °C.
— Apuntar la hora de comienzo.
— Introducir 10 ml del patrón de coloración en un tubo de ensayo con el mismo diámetro o 50 ml de solución patrón en un tubo Nessler.
— Observar el cambio de coloración de la muestra y comparar de vez en cuando con el patrón de coloración sobre un fondo blanco.
— Anotar el tiempo pasado hasta que la muestra haya alcanzado el mismo color que el patrón de coloración.

Observación:

Durante el ensayo, la muestra no podrá exponerse directamente a la luz del sol.

7. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

7.1. Interpretación.

El tiempo de decoloración es el tiempo necesario para que el color del tubo que contiene la muestra se vuelva idéntico al del tubo que contiene el patrón. Para un alcohol neutro esta duración debe ser al menos 18 minutos a la temperatura de 20 °C.

7.2. Repetibilidad.

La diferencia entre los tiempos de decoloración de dos ensayos practicados simultáneamente o en sucesión rápida con la misma muestra por el mismo analista y en condiciones idénticas no debe ser superior a 2 minutos.

8. NOTAS

8.1. La presencia de trazas de dióxido de manganeso ejerce un efecto catalizador sobre la reacción; hay que asegurarse de que las pipetas y tubos de ensayo utilizados se someten a una limpieza escrupulosa y sólo se utilizan para este fin. Limpiar dichos instrumentos con ácido clorhídrico y aclararlos cuidadosamente con agua; el vidrio no debe presentar ninguna traza de color pardo.

8.2. Conviene que se controle cuidadosamente la calidad del agua utilizada para preparar la solución de permanganato diluido (4.1); dicha agua no debe consumir permanganato. Si no se puede contar con la calidad necesaria, hervir agua destilada y añadir una pequeña cantidad de permanganato hasta obtener así una leve coloración rosa. Esta solución debe refrigerarse a continuación para utilizarla en la dilución.

8.3. Determinadas muestras pueden decolorarse sin pasar por el tono exacto de la solución de referencia.

8.4. La prueba del permanganato resultará falseada si la muestra de alcohol que se va a utilizar para el análisis no se ha guardado en un recipiente de vidrio cuidadosamente limpio y cerrado con un tapón de vidrio esmerilado enjuagado previamente con alcohol o bien con un tapón rodeado de estaño o de aluminio.

Método nº 4: Determinación del contenido en aldehídos

1. CAMPO DE APLICACIÓN

El método se aplica a la determinación del contenido en aldehídos, expresado como acetaldehído, en el alcohol neutro.

2. DEFINICIÓN

El contenido en aldehídos, expresado en acetaldehído, es el determinado por el método especificado.

3. PRINCIPIO

Se compara el color que toma la muestra tras reacciones con el reactivo de Schiff con el color de soluciones patrón cuyos contenidos en acetaldehído sean conocidos.

4. REACTIVOS

Clorhídrato de p-rosanilina (fucsina básica).

Sulfito sódico o metabisulfito anhidro.

Acido clorhídrico con una densidad de $\rho^{20} = 1{,}19$ g/ml.

Carbón activo en polvo.

Solución de almidón praparada con 1 g de almidón soluble y 5 mg de HgI_2 (conservación) dispersados en un poco de agua fría; se añadirán 500 ml de agua hirviendo y se dejará hervir durante 5 minutos; una vez enfriada, se filtrará.

Solución de yodo de 0,05 mol/l.

1-aminoetanol CH_3. $CH(NH_2)$ OH (PM 61,08)

Preparación del reactivo de Schiff:

— disolver 5,0 g de clorhídrato de p-rosanilina en polvo en aproximadamente 1 000 ml de agua caliente en un matraz aforado de 2 000 ml;

— en su caso, mantener en el baño que se haya disuelto totalmente;

— disolver 30 g de sulfito sódico (o una cantidad equivalente de metabisulfito sódico) anhidro en unos 200 ml de agua y añadir la mezcla a la solución de ρ-rosanilina una vez fría;

— Dejar reposar unos 10 minitos;

— añadir 60 ml de ácido clorhídrico ($\rho^{20} = 1{,}19$ g/ml);

— una vez que la solución se haya decolorado (se puede ignorar la permanencia de un ligero color pardo), añadir agua hasta la marca del aforo;

— en caso de que sea necesario, filtrar utilizando un filtro de pliegues con un poco de carbón activo para que la solución quede incolora.

Notas:

1) El reactivo de Schiff deberá prepararse como mínimo 14 días antes de su utilización.

2) El contenido de SO_2 libre en el reactivo deberá situarse entre 2,8 y 6,0 mmol/100 ml y su pH debe ser igual a 1.

   Determinación del contenido en SO_2 libre.

   — Introducir con una pipeta 10 ml de reactivo de Schiff en un matraz Erlenmeyer de 250 ml;

   — añadir 200 ml de agua;

   — agregar 5 ml de solución de almidón;

   — valorar con ayuda de una solución de yodo de 0,05 ml/l hasta que vire el almidón;

   si el contenido de SO_2 libre se sitúa fuera de los límites establecidos:

   — se aumentará añadiendo una cantidad adecuada de metabisulfito sódico (0,126 g Na_2SO_3/100 ml) de reactivo por cada mmol de SO_2 que falte.

   — (o se reducirá haciendo borbotear aire en el reactivo).

   Cálculo del SO_2 libre en el reactivo:

   mmol de SO_2 libre/100 ml de reactivo

$$= \frac{\text{ml utilizados de solución de yodo (0,05 mol/l)} \cdot 3{,}2 \cdot 100}{64 \cdot 10}$$

$$= \frac{\text{ml utilizados de solución de yodo (0,05 mol/l)}}{2}$$

   Nota importante:

En el caso que se empleen otras modalidades de preparación del reactivo de Schiff conviene verificar la sensibilidad del reactivo que debe ser tal que durante el ensayo:

— ninguna coloración debe aparecer con el alcohol testigo exento de aldehidos.

— la coloración rosa debe ser perceptible a partir de 0,1 g de acetaldehido/Hl de alcohol a 100 % vol.

3) Purificación del 1-aminoetanol comercial.

— Disolver completamente 5 g de 1-aminoetanol en unos 15 ml de etanol;

— agregar 50 ml de ester etílico anhidro (precipitación del 1-aminoetanol);

— colocar en el refrigerador durante varias horas;

— separar los cristales por filtración y lavar con eter etílico anhidro;

— secar durante 3 o 4 horas en desecador, en condiciones de ligero vacío y en presencia de ácido sulfúrico.

Nota :

el 1-aminoetanol purificado debe ser blanco ; si no lo fuera, deberá repetirse la recristalización.

5. INTRUMENTAL

5.1. Tubos especiales de 20 ml provistos de tapones de vidrio esmerilado.

5.2. Pipetas de 1, 2, 3, 4, 5 y 10 ml.

5.3. Baño de agua termostático regulable a 20° C ± 0,5° C.

5.4. Espectrofotómetro con cubetas de 50 mm de espesor.

6. FORMA DE OPERAR

6.1. Observación previa.

Para poder determinar el contenido en aldehídos según este método, el contenido en alcohol de la muestra deberá ser de un mínimo de 90,0 % vol. En caso de que no se alcance este valor, se aumentará dicho contenido en alcohol añadiendo la correspondiente cantidad de etanol libre de aldehídos.

6.2. Curva patrón.

— Pesar en la balanza analítica 1,3860 g exactos de 1-aminoetanol anhidro (=1,0000 g acetaldehído) ;

— transvasar con alcohol exento de aldehedos a un matraz aforado de 1 000 ml y enrasar a 20° C hasta alcanzar la marca del aforo. La solución contiene 1 g de acetadelhido por litro ;

— efectuar la serie de disoluciones en dos fases para obtener 10 soluciones patrón con un contenido que vaya de 0,1 hasta 1,0 mg de acetaldehído por 100 ml de solución ;

— determinar los valores de absorbencia de estas soluciones patrón con arreglo al punto 6.3. y representar graficamente.

6.3. Determinación del contenido en aldehídos.

— Introducir con una pipeta 5 ml de muestra en un tubo especial ;

— mezclar con 5 ml de agua y mantener a 20° C ;

— preparar paralelamente el blanco con 5 ml de alcohol de 96 vol libre de aldehídos, añadir 5 ml de agua y mantener a 20° C ;

— finalmente, añadir 5 ml de reactivo de Schiff a cada tubo de ensayo, cerrar con el tapón esmerilado y agitar bien ;

— mantener durante 20 minutos en el baño de agua a 20° C ;

— verter los contenidos en las cubetas ;

— determinar la absorbencia a 546 mm.

Notas :

1) Para determinar los valores de los aldehídos es necesario comprobar en cada prueba la validez de la curva patrón mediante la comparación con soluciones de ensayo ; de otro modo, deberá prepararse de nuevo la curva patrón.

2) El blanco deberá ser siempre incoloro.

7. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

7.1. Fórmula y método de cálculo.

Trazar la curva que representa la absorbencia en función del contenido en acetaldehído y determinar sobre la misma el contenido de la muestra.

El contenido en aldehídos, expresado como acetaldehído, en g/hl de etanol 100 % vol, viene dado por la fórmula :

$$\frac{100\ A}{T}$$

en la que :

A = contenido en acetaldehído de la muestra expresado en g/hl y determinado por referencia a la curva patrón.

T = grado alcohólico volúmetrico de la muestra determinado según el método nº 1.

7.2. Repetibilidad.

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones efectuadas simultáneamente o en sucesión rápida, por el mismo analista, con la misma muestra y en condiciones idénticas, no debe exceder de 0,1 g de aldehído por hl de etanol 100 % vol.

Método nº 5 : Determinación del contenido en alcoholes superiores

1. CAMPO DE APLICACIÓN

Se trata de un método de determinación del contenido en alcoholes superiores en el alcohol neutro, expresado como 2-metil-1-propanol.

2. DEFINICIÓN

El contenido en alcoholes superiores expresado como 2-metil-1-propanol es el determinado por el método especificado.

3. PRINCIPIO

A 560 nm, con una corrección para tener en cuenta la posible presencia de aldehídos en la muestra, se determinan las absorbencias de los complejos coloreados que resultan de la reacción de los alcoholes superiores con un aldehído aromático en ácido sulfúrico caliente (reacción de Komarowsky) y se comparan con el color obtenido por reacción del 2-metil-1-propanol en las mismas condiciones.

4. REACTIVOS

4.1. Solución de aldehído salicílico al 1 % en peso, preparada por adición de 1 g de aldehído salicílico a 99 g de etanol al 96 % vol (exento de aceite de fusel).

4.2. Ácido sulfúrico concentrado (ρ^{20} = 1,84 g/ml).

4.3. 2-metil-1-propanol

4.4. Soluciones patrón de 2-metil-1-propanol

Diluir el 2-metil-1-propanol (4.3) en solución acuosa de etanol al 96 % vol para obtener una serie de soluciones patrón que contengan respectivamente 0,1, 0,2, 04, 0,6 y 1,0 g de 2-metil-1-propanol por hl de solución.

4.5. Soluciones patrón de acetaldehído.

La solución patrón de acetaldehído se prepara como se ha descrito para el método 4 en el punto 6.2.

4.6. Etanol al 96 % vol, exento de alcoholes superiores y de aldehídos.

5. INSTRUMENTAL

5.1. Espectrofotómetro UV-VIS- que permita determinar la absorbencia de soluciones a 560 nm ;

5.2. Cubetas de 10, 20 y 50 mm de espesor.

5.3. Baño termostático de agua que puede ser regulado a 20° C ± 0,5° C.

5.4. Tubos pyrex o similares con boca esmerilada de unos 50 ml de capacidad.

6. FORMA DE OPERAR

6.1. Contenido en aldehídos.

Determinar el contenido de la muestra en aldehídos expresado como acetaldehído por el método nº 4.

6.2. Curva patrón : 2-metil-1-propanol.

Tomar con la pipeta 10 ml de cada una de las soluciones patrón de 2-metil-1-propanol (4.4) e introducirlos en tubos de ensayo de 50 ml con boca esmerilada, normalizado. Tomar con la pipeta 1 ml de solución de aldehído salicílico (4.1) e introducirla en los tubos ; añadir 20 ml de ácido sulfúrico (4.2). Mezclar cuidadosamente el contenido de los tubos por inversión (teniendo la precaución de levantar los tapones de vez en cuando). Dejar en reposo a temperatura ambiente durante 10 minutos, y, a continuación, llevar los tubos al baño termostático (5.3) a 20° C ± 0,5° C. Pasados 20 minutos, verter el contenido de los tubos en las cubetas del espectrofotómetro.

Exactamente 30 minutos después de haber añadido el ácido sulfúrico, determinar la absorbencia de las soluciones a 560 nm utilizando como referencia una cubeta con agua.

Representar graficamente la absorbencia en función de la concentración de 2-metil-1-propanol.

6.3. Curva patrón : aldehídos.

Repetir la operación descrita en el punto 6.2 sustituyendo los 10 ml de cada una de las soluciones de 2-metil-1-propanol por 10 ml de cada una de las soluciones patrón de acetaldehído.

Llevar a un gráfico los valores de absorbencia a 560 nm en función de la concentración de acetaldehído.

6.4. Determinación de la muestra.

Repetir la operación descrita en el punto 6.2 sustituyendo los 10 ml de las soluciones patrón de 2-metil-1-propanol por 10 ml de la muestra.

Determinar la absorbencia de la muestra.

7. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

7.1. Fórmula y método de cálculo.

7.1.1. Corregir el valor de la absorbencia de la muestra sustrayendo el valor de la absorbencia correspondiente al contenido en aldehídos de la misma (determinado a partir de la curva patrón construida con arreglo al punto 6.3).

7.1.2. Determinar el contenido en alcoholes superiores de la muestra, expresado como 2-metil-1-propanol, con ayuda de la curva patrón construida con arreglo al punto 6.2, pero utilizando el valor corregido (7.1.1).

7.1.3 El contenido de la muestra en alcoholes superiores, expresado en g de 2-metil-1-propanol por hl de etanol absoluto 100 % vol, viene dado por la siguiente fórmula :

$$\frac{A \times 100}{T}$$

en la que :

A = contenido en alcoholes superiores de la muestra, calculado según el punto 7.1.2.

T = grado alcohólico volumétrico de la muestra, determinado según el método nº 1.

7.2. Repetibilidad.

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones realizadas simultáneamente o en sucesión rápida por el mismo analista, con la misma muestra y en condiciones idénticas, no debe exceder de 0,25 g/hl de etanol 100 % vol.

Método nº 6 : Determinación de la acidez total

1. CAMPO DE APLICACIÓN

El método permite determinar la acidez total, expresada en ácido acético, del alcohol neutro.

2. DEFINICIÓN

La acidez total, expresada en ácido acético, es la determinada por el método especificado.

3. PRINCIPIO

Tras desgasificación, se valora la muestra con una solución patrón de hidróxido sódico y se expresa la acidez total en ácido acético.

4. REACTIVOS

4.1. Solución de hidróxido sódico de 0,01 mol/l y 0,1 mol/l, conservada en condiciones que reduzcan al mínimo el contacto con el aire.

4.2. Solución de carmín de índigo (A).

— Pesar 0,2 g de carmín de índigo ;

— disolver en 40 ml de agua y enrasar o pesar hasta alcanzar los 100 g con etanol.

Solución de rojo de fenol (B).

— Pesar 0,2 g de rojo de fenol ;

— disolver en 6 ml de solución de hidróxido sódico de 0,1 mol/l en un matraz aforado de 100 ml y enrasar con agua.

5. INSTRUMENTAL

5.1. Bureta o valorador automático.

5.2. Pipeta de 100 cm^3.

5.3. Matraz de fondo redondo de 250 cm^3 con unión esmerilada.

5.4. Refrigerante de reflujo con unión esmerilada.

6. PROCEDIMIENTO

— Introducir con una pipeta 100 ml de muestra en el matraz de fondo redondo de 250 ml,
— añadir perlas de vidrio y calentar brevemente con el refrigerante de reflujo hasta que se produzca la ebullición ;
— añadir a la solución caliente una gota de cada una de las soluciones indicadoras A y B,
— por último, valorar con solución de hidróxido sódico de 0,01 mol/hl hasta que se produzca el virage de color de amarillo verdoso a violeta.

7. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

7.1. Fórmula y método de cálculo.

La acidez total de la muestra, expresada en ácido acético, en g/hl de etanol de 100 % vol, viene dada por la fórmula

$$\frac{V \cdot 60}{T}$$

en la que :

V = número de ml de solución de hidróxido sódico de 0,01 mol/l necesarios para la neutralización.
T = grado alcohólico volumétrico de la muestra, determinado por el método nº 1.

7.2. Repetibilidad.

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones efectuadas simultáneamente o en sucesión rápida por el mismo analista, con la misma muestra y en condiciones idénticas no debe exceder de 0,1 g/hl de etanol al 100 % vol.

Metodo nº 7 : Determinación del contenido en ésteres

1. CAMPO DE APLICACIÓN

El método sirve para determinar el contenido en ésteres del alcohol neutro, expresándolo como acetato de etilo.

2. DEFINICIÓN

El contenido en ésteres es el determinado por el método especificado y expresado como acetato de etilo.

3. PRINCIPIO

En presencia de clorhidrato de hidroxilamina en solución alcalina, los ésteres reaccionan cuantitativamente para formar ácidos hidroxámicos ; en presencia de cloruro férrico en solución ácida, esos ácidos forman complejos coloreadas. Las absorbencias ópticas de estos complejos se miden a 525 nm.

4. REACTIVOS

4.1. Ácido clorhídrido de 4 mol/l.

4.2. Solución de cloruro férrico de 0,37 mol/l en ácido clorhídrido de 1 mol/l.

4.3. Solución de clorhidrato de hidroxilamina de 2 mol/l conservada en refrigerador.

4.4. Solución de hidróxido sódico de 3,5 mol/l.

4.5. Soluciones patrón de acetato de etilo con 0, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 y 1,0 g de acetato de etilo por hl de etanol del 96 % vol libre de ésteres.

5. INSTRUMENTAL

5.1. Espectrofotómetro para medir la absorción de las soluciones con cubetas de 50 mm de espesor.

4.3. Solución de clorhidrato de hidroxilamina de 2 mol/l conservada en refrigerador.

4.4. Solución de hidróxido sódico de 3,5 mol/l.

4.5. Soluciones patrón de acetato de etilo con 0, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 y 1,0 g de acetato de etilo por hl de etanol del 96 % vol libre de ésteres.

5. INSTRUMENTAL

5.1. Espectrofotómetro para medir la absorlción de las soluciones con cubetas de 50 mm de espesor.

6. FORMA DE OPERAR

6.1. Curva patrón.

— Pesar con exactitud en la balanza analítica 1,0 g de acetato de etilo;
— transvasar a un matraz aforado de 1 000 ml con alcohol del 96 % vol libre de ésteres y enrasar a 20 °C;
— preparar una serie de dilución en dos fases para obtener 20 soluciones patrón con un contenido desde 0,1 hasta 2,0 mg de acetato etílico por 100 ml de solución;
— determinar los valores de absorbencia de estas soluciones patrón con arreglo al punto 6.2 y representar graficamente.

6.2. Determinación del contenido en ésteres.

— Introducir en un tubo de ensayo de boca esmerilada 10 cm^3 de muestra;
— añadir 2 ml de solución de clorhidrato de hidroxilamina;
— paralelamente, preparar un blanco con 10 ml etanol 96 % vol libre de ésteres y 2 ml de solución de clorhidrato de hidroxilamina;
— añadir 2 ml de hidróxido sódico, tapar el tubo con un tapón esmerilado y agitar bien;
— mantener durante 15 minutos en un baño a 20 °C;
— añadir a cada tubo de ensayo 2 ml de ácido clorhídrico, agitar brevemente;
— añadir 2 ml de solución de cloruro férrico y mezclar bien;
— verter el contenido en cubetas;
— determinar el valor de absorbencia a 525 nm.

7. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

7.1. Fórmula y método de cálculo.

Representar graficamente las absorbencias de las soluciones patrón en función de la concentración.

El contenido en ésteres correspondiente al valor de absorbencia, expresado como acetato etílico = A, se leerá en el gráfico y se calculará mediante la fórmula

$$\frac{A \times 100}{T}$$

para expresarse en g/hl de etanol al 100 % vol.

T = contenido en alcohol de la muestra en % vol determinado según el método nº 1.

7.2. Repetibilidad

La diferencia entre los resultados de 2 determinaciones efectuadas simultáneamente o en sucesión rápida por el mismo analista, con la misma muestra y en condiciones idénticas no debe exceder de 0,1 g de ésteres (expresados como acetato de etilo) por hl de etanol al 100 % vol.

Método nº 8: Determinación del contenido en bases nitrogenadas volátiles

1. CAMPO DE APLICACIÓN

El método consiste en determinar el contenido en bases nitrogenadas volátiles de los alcoholes neutros, expresado en nitrógeno.

2. DEFINICIÓN

El contenido en bases nitrogenadas volátiles es el contenido, expresado en nitrógeno, determinado por el método especificado.

3. PRINCIPIO

Se evapora la muestra en presencia de ácido sulfúrico hasta la obtención de un volumen muy reducido, y a continuación se determina el contenido en amoniaco por el método de microdifusión de Conway.

4. REACTIVOS

4.1. Ácido sulfúrico, 1 mol/l.

4.2. Solución indicadora de ácido bórico : disolver 10 g de ácido bórico, 8 mg de verde de bromocresol y 4 mg de rojo de metilo en 2-propanol al 30 % vol y enrasar a 1 000 ml por adición de 2-propanol al 30 % vol.

4.3. Solución de hidróxido potásico, 500 g/l, exenta de anhídrido carbónico.

4.4. Ácido clorhídrico, 0,02 mol/l.

5. INSTRUMENTAL

5.1. Cápsula de evaporación de capacidad suficiente para una muestra de 50 ml.

5.2. Baño de María.

5.3. Reactor de Conway con cierre hermético ; véanse la descripción y las dimensiones aconsejadas en la figura 1.

5.4. Microbureta de 2 a 5 ml, con divisiones de 0,01 ml.

6. FORMA DE OPERAR

6.1. Introducir con una pipeta 50 ml de la muestra (si se prevé que ésta tiene un contenido en nitrógeno inferior a 0,2 g/hl, introducir 200 ml) en una cápsula de vidrio, añadir 1 ml de ácido sulfúrico de 1 mol/l (4.1) ; colocar la cápsula (5.1) en el baño de María (5.2) y evaporar hasta obtener un residuo de aproximadamente 1 ml.

6.2. Introducir con una pipeta 1 ml de la solución indicadora de ácido bórico (4.2) en el vaso interior del reactor de Conway (5.3) y pasar el residuo de la evaporación (6.1) al vaso exterior. Inclinar ligeramente el reactor y añadir aproximadamente 1 ml de hidróxido de potasio (4.3) en el vaso externo lo más rápidamente posible y también lo más lejos posible de la masa de líquido del mismo. Cerrar inmediatamente el vaso de Conway con una tapa hermética impregnada de grasa.

6.3. Mezclar las dos soluciones del vaso externo, teniendo cuidado para no verter el líquido de un vaso en el otro. Dejar en reposo durante 2 horas.

6.4. Valorar el amoniaco mediante neutralización con una solución de ácido clorhídrico de 0,02 mol/l (4.4), utilizando una microbureta (5.4). El volumen de ácido utilizado debe estar comprendido entre 0,2 y 0,9 ml. Sea V_1 dicho volumen, expresado en ml.

6.5. Efectuar una prueba en blanco repitiendo las operaciones descritas en los puntos 6.1 a 6.4, pero sustituyendo los 50 ml de muestra mencionados en la sección 6.1 por el mismo volumen de agua. Sea V_0 el volumen de ácido clorhídrico utilizado, expresado en ml.

7. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

7.1. Fórmula y método de cálculo

El contenido en bases nitrogenadas volátiles, expresado en gramos de nitrógeno por hl de etanol al 100 % vol, viene dado por la fórmula :

$$\frac{(V_1 - V_0) \cdot 2800}{E \cdot T}$$

en la que

V_1 = volumen, en ml, de ácido clorhídrico necesario para neutralizar la muestra.

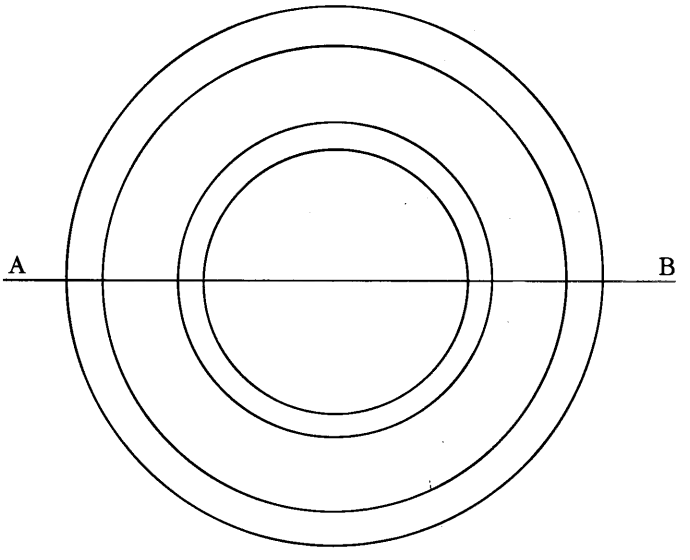
V_0 = volumen, en ml, de ácido clorhídrico utilizado en el ensayo en blanco.

T = grado alcohólico volumétrico de la muestra, determinado por el método nº 1.

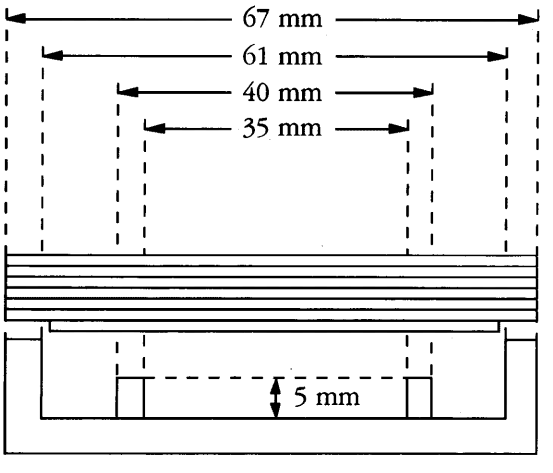
E = volumen de muestra empleada en ml.

7.2. Repetibilidad

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones efectuadas simultáneamente o en sucesión rápida por el mismo analista, con la misma muestra y en condiciones idénticas no debe exceder de 0,05 g por hl de etanol al 100 % vol.



Vista superior del reactor



Corte transversal a lo largo de A-B

Las dimensiones indicadas son las habituales

Figura 1. Reactor de Conway

Método nº 9: determinación del contenido en metanol

1. CAMPO DE APLICACIÓN

El método se utiliza para determinar el contenido en metanol del alcohol neutro.

2. DEFINICIÓN

El contenido en metanol es el contenido determinado por el método especificado.

3. PRINCIPIO

La concentración de metanol se determina por inyección directa de la muestra en un cromatógrafo de gases.

4. FORMA DE OPERAR

Es aceptable cualquier método de cromatografía de gases, siempre que, en las condiciones operatorias adoptadas, la columna de cromatografía de gases permita obtener una separación clara de los diversos componentes : metanol, acetaldehído, etanol y acetato de etilo. El límite de detección del metanol en el etanol debe ser inferior a 2 g/hl.

5. REPETIBILIDAD

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones efectuadas simultáneamente o en sucesión rápida por el mismo analista, con la misma muestra y en condiciones idénticas no debe exceder de 2 g de metanol por hl de etanol al 100 % vol.

Método nº 10 : determinación del residuo seco

1. CAMPO DE APLICACIÓN

El método se utiliza para determinar el contenido en residuo seco de los alcoholes neutros.

2. DEFINICIÓN

Se llama residuo seco el residuo determnado por el método especificado.

3. PRINCIPIO

Se deseca en estufa a 103 °C una fracción bien pesada de la muestra y se determina el residuo por gravimetría.

4. INSTRUMENTAL

4.1. Baño de agua.

4.2. Cápsula de evaporación de capacidad suficiente.

4.3. Desecador con gel de sílice recién activado (u otro desecante equivalente) con indicador de humedad.

4.4. Balanza analítica.

4.5. Estufa de desecación.

5. FORMA DE OPERAR

Pesar con precisión de 0,1 mg una cápsula de evaporación limpia y seca (4.2) (M_0) ; introducir con una pipeta eventualmente en varias veces un volumen adecuado de muestra en la cápsula (entre 100 y 250 ml) (V_0 ml) ; llevar la cápsula con la muestra al baño de agua en ebullición (4.1) y dejar evaporar ; colocar en la estufa (4.5) a 103 °C ± 2 °C durante 30 minutos y, a continuación, llevar la cápsula con el residuo a un desecador (4.3) ; dejar que se enfríe durante 30 minutos y, a continuación, pesar la cápsula con el residuo (M_1) con una precisión de 0,1 mg.

6. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

6.1. Fórmula y método de cálculo

El contenido en residuo seco expresado en g por hl de etanol 100 % vol viene dado por la fórmula

$$\frac{(M_1 - M_0) \cdot 10^7}{V_0 \cdot T}$$

en la que

M_0 = masa de la cápsula limpia y seca, expresada en g.

M_1 = masa de la cápsula con el residuo tras desecación, expresada en g.

V_0 = volumen de la muestra sometido a desecación.

T = grado alcohólico volumétrico de la muestra, determinado por el método nº 1.

6.2. Repetibilidad.

La diferencia entre el resultado de dos determinaciones efectuadas simultáneamente o en sucesión rápida por el mismo analista, con la misma muestra y en condiciones idénticas no debe exceder de 0,5 g/hl de etanol al 100 % vol.

Método nº 11 : Ensayo para establecer la ausencia de furfural

1. CAMPO DE APLICACIÓN

El método sirve para detectar la presencia de furfural en el alcohol neutro.

2. DEFINICIÓN

La concentración límite de furfural es el resutlado del ensayo de valor límite, determinado por el método especificado.

3. PRNCIPIO

La muestra de alcohol se mezcla con anilina y ácido acético glacial. La aparición de una coloración rosa salmón dentro de los veinte minutos siguientes a la mezcla revela la presencia de furfural.

4. REACTIVOS

4.1. Anilina recién destilada.

4.2. Ácido acético glacial.

5. INSTRUMENTAL

Tubos de ensayo con boca esmerilada.

6. FORMA DE OPERAR

En un tubo de ensayo (5), introducir con una pipeta 10 ml de la muestra ; añadir 0,5 ml de anilina y 2 ml de ácido acético glacial ; agitar para mezclar bien los reactivos.

7. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

7.1. Interpretación del ensayo.

Si antes de 20 minutos aparece una coloración rosa salmón, el ensayo se considera positivo ; la muestra contiene furfural.

7.2. Observaciones

Los resultados de dos ensayos efectuados simultáneamente o en sucesión rápida por el mismo analista, con la misma muestra y en condiciones idénticas deben ser idénticos.

Método nº 12 : Ensayo en ultravioleta

1. CAMPO DE APLICACIÓN

El método consiste en determinar la transparencia óptica del alcohol neutro.

2. PRINCIPIO

Se mide la absorbencia de la muestra en el intervalo de longitud de onda de 270 a 220 nm comparándola con una sustancia de referencia (hexano) que posea una menor absorbencia en el intervalo.

3. INSTRUMENTAL

3.1. Espectrofotómetro UV-VIS.

3.2. Cubetas de cuarzo con un espesor de 10 mm y con la misma absorbencia.

4. REACTIVOS

η-Hexano para espectroscopia.

5. FORMA DE OPERAR

— Lavar una cubeta limpia con la solución de la muestra y rellenar con la muestra ; secar la cubeta por fuera ;
— seguir el mismo procedimiento con las cubetas de referencia utilizando η-hexano ;
— determinar las absorbencias y representar graficamente.

6. VALORACIÓN Y RESULTADOS

Los valores de absorbencia hallados a 270, 240, 230 y 220 nm no podrán superar los siguientes valores : 0,02, 0,08, 0,18 y 0,3.

La curva de absorbencia ha de ser lisa y uniforme.

Metodo nº 13 : Determinación del contenido de ^{14}C en el etanol

1. PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR EL TIPO DE ALCOHOL

La determinación del contenido de ^{14}C en el etanol posibilita la diferenciación del alcohol de materias primas fósiles (el llamado alcohol de síntesis) y el alcohol de materias primas recientes (el llamado alcohol de fermentación).

2. DEFINICIÓN

Se entenderá por contenido de ^{14}C en el etanol el contenido en ^{14}C determinado con arreglo al procedimiento aquí descrito.

El contenido en ^{14}C natural de la atmósfera (valor de referencia), que es captado por la asimilación de las plantas vivas, no es un valor constante. Por tanto, el valor de referencia se determina a partir de etanol procedente de materias primas del último período de crecimiento. Este valor de referencia llamado valor anual de referencia es determinado, cada año por análisis en colaboración organizados por la Oficina comunitaria de Referencia y el Centro Comunitario de Investigación en Ispra.

3. PRINCIPIO

En las muestras alcohólicas con un mínimo del 85 % en peso de etanol, el contenido de ^{14}C se determinará directamente mediante el recuento de centelleo de líquidos.

4. REACTIVOS

4.1. Solución de centelleo.

5,0 g de 2,5-difeniloxazol (PPO).

0,5 g de p-bis-[4-metil-5-feniloxazolil(2)] — benzol (dimetil-POPOP) en 1 litro de tolueno de calidad analítica.

También podrán emplearse soluciones de centelleo de tolueno de esta composición comercializados y ya listos para su empleo.

4.2. Patrón de ^{14}C

^{14}C n-Hexadecano con una actividad de aproximadamente 1×10^6 dpm/g (alrededor de $1{,}67 \times 10^6$ cBq/g) y una exactitud relativa garantizada de la actividad determinada de ± 2 %.

4.3. Etanol libre de ^{14}C.

Alcohol de síntesis de materias primas de origen fósil con un mínimo de 85 % en peso de etanol para determinar el efecto nulo.

4.4. Alcohol de materías primas recientes del último período de crecimiento con un mínimo del 85 % en peso de etanol como material de referencia.

5. INSTRUMENTAL Y MEDIOS

5.1. Espectrómetro de centelleo de líquidos con varios canales, con contador y normalización externa automática e indicación de la relación canal-patrón externo (configuración habitual : 3 canales de medida y 2 canales de patrón externo).

5.2. Viales de contaje con escaso contenido de postasio con tapones a rosca que tengan interiormente una pieza de polietileno ;

5.3. Pipetas de 10 ml.

5.4. Dosificador automático de 10 ml.

5.5. Matraz redondo de 250 ml con unión esmerilada.

5.6. Aparato para la destilación de alcohol con sistema de calefacción, por ejemplo, Micko.

5.7. Jeringa de 50 µl.

5.8. Embudo de picnómetro, picnómetros de 25 ml y 50 ml.

5.9. Termostato que permita regular la temperatura de ± 0,01 °C.

5.10. Tablas alcohométricas realizadas conforme a la Directiva 76/766/CEE del Consejo, de 27 de julio de 1976, relativa al acercamiento de las legislaciones de los Estados miembros relativos a las tablas alcohométricas, publicados por la Comisión de las Comunidades Europeas (ISBN 92-825-0146-9).

6. PREPARACIÓN DE LA MEDICIÓN

6.1. Ajuste de los aparatos.

Los aparatos se ajustarán con arreglo a las instrucciones del fabricante. Se considera que las condiciones de medida son óptimas cuando el valor E^2/B (denominada cifra de mérito) presenta un máximo.

E = efficiency (rendimiento).

B = background (ruido de fondo).

Sólo se optimizan dos canales de medición. El tercer canal de medición se mantiene totalmente abierto para fines de control.

6.2. Selección de los viales de contaje.

Se llena un número de viales de contaje superior al número que será necesario posteriormente; en cada una se introducen 10 ml de etanol de síntesis libre de ^{14}C y 10 cm^3 de solución de centello de tolueno, y se mide cada una durante, al menos, 4 × 100 minutos. Se rechazan los viales que, para el efecto nulo, se separen más de ± 1 % del valor medio. Para la selección se utilizan exclusivamente viales de contaje salidas directamente de fábrica procedentes de un solo lote.

6.3. Determinación de la relación canal-patrón externo [ESKV].

Al ajustar el canal con arreglo a lo recogido en el punto 6.1, se determina simultáneamente la relación canal-patrón externo [ESKV] al realizar la evaluación del coeficiente de eficacia númerica con ayuda del programa de cálculo correspondiente. Como patrón externo se utiliza el cesio 137, ya incorporado por el fabricante.

6.4. Preparación de la muestra.

Para la medición se emplean muestras que presenten un contenido mínimo en etanol del 85 % en masa y que no tengan impurezas; asimismo deben presentar absorbencia inferior a 450 nm. El bajo contenido residual de aldehídos y ésteres no produce perturbaciones. Tras haber despreciado algunos centímetros cúbicos de la cabeza de destilación, el destilado se vierte directamente en el picnómetro y por medio de éste se determina el contenido en alcohol de la muestra. Los valores que deben determinarse se hallan en las tablas oficiales de alcoholes.

7. MEDICIÓN DE LAS MUESTRAS CON PATRÓN EXTERNO

7.1. Las muestras que tengan una extinción débil, como las que aparecen descritas de manera práctica en el punto 6.4, con un valor ESKV de aproximadamente 1,8, pueden medirse por la relación canal-patrón externo que constituye una medida del coeficiente de eficacia.

7.2. Realización de la medición.

Se introducen con ayuda de una pipeta en los viales de contaje 10 ml de muestras preparadas con arreglo al punto 6.4; se deberá haber controlado el efecto nulo en las botellas de contaje (seleccionada); se añadirá a cada botella 10 ml de solución de centelleo de tolueno utilizando un dosificador automático. Las muestras se homogeneizan en los viales de contaje mediante un movimiento rotativo adecuado; el líquido no debe mojar la pieza de polietileno insertada en el cierre de rosca. Para la evaluación del ruido de fondo, se prepara de la misma manera un vial de contaje que contenga etanol fósil libre de ^{14}C. Para comprobar el valor ^{14}C del año, se prepara un duplicado de etanol reciente del último período de crecimiento, incluyendo un vial de contaje con patrón interno tal y como se describe en el punto 8.

Las muestras de control, así como la muestra para el efecto nulo, se deben colocar al principio de la serie de mediciones. Esta no deberá abarcar más de 10 muestras de análisis. El tiempo de medición global por muestra deberá ser de un mínimo de 2 × 100 minutos, y la medida de las muestras individuales deberá realizarse en etapas parciales de 100 minutos por cada muestra para poder reconocer una posible deriva u otra perturbación. (Así, un ciclo comprende por muestra cada vez un intervalo de medición de 100 minutos).

Las muestras para el ruido de fondo y las muestras de control deben renovarse al cabo de 4 semanas.

Este método de medida exige un gasto mínimo de material y tiempo. Es especialmente adecuado para realizar trabajos rutinarios en laboratorios con un alto número de muestras.

Para las muestras de baja extinción (valor ESKV de aproximadamente 1,8), el rendimiento sólo se ve ligeramente influido por la modificación de este valor. Si esta modificación se sitúa por debajo de ± 5 %, se puede considerar que el rendimiento es idéntico. Para las muestras con una absorbencia más fuerte, como las presentadas por los alcoholes desnaturalizados, el rendimiento se puede determinar con ayuda de la llamada curva de corrección de absorbencia. Si no se dispone de ningún programa de cálculo adecuado, se debe efectuar la medición con un patrón interno, lo que permite determinar el rendimiento de forma unívoca.

8. MEDIA DE LA MUESTRA CON HEXADECANO ^{14}C COMO PATRÓN INTERNO

8.1. Realización de la medición.

La muestra de control y la muestra para ruido de fondo (etanol reciente y etanol fósil), así que la sustancia desconocida se miden cada una por duplicado. Una de las muestras del par duplicado se introduce en una botella no seleccionada, en la que se añade una cantidad medida con precisión (30 µl) de hexadecano ^{14}C en calidad de patrón interno (actividad adicional de aproximadamente 26 269 dpm/gC (unos 43 782 cBq/gC). Con respecto al resto de la preparación de la muestra y del tiempo de medición, se debe proceder como se recoge en el punto 7.2, teniendo en cuenta que el tiempo de medición se limita a cinco minutos para las muestras con patrón interno por la preselección ajustada a 10^5 impulsos. Por cada serie de medición (10 muestras de análisis) se añaden por duplicado una muestra de control y una muestra para ruido de fondo, y se sitúan al comienzo de la serie de mediciones.

8.2. Manipulación del patrón y de los viales de medida.

Para las mediciones efectuadas con patrón interno, a fin de evitar que se produzca alguna contaminación, la colocación y la manipulación de este patrón se deben efectuar en un lugar totalmente separado de donde se efectúen la preparación y medida de las muestras que vayan o analizarse. Después de la medida se pueden reutilizar los viales que se hayan sometido al control del ruido de fondo. Las tapas de rosca y los viales que contengan el patrón interno deberán ser eliminadas.

9. EVALUACIÓN

9.1. La unidad de actividad de una sustancia radiactiva es el Becquerel, 1 Bq = 1 desintegración/segundo.

La actividad específica se expresa en bequerelios por gramo de carbono = Bq/gC.

Con objeto de obtener valores más prácticos, es preferible indicar los resultados en centibequerelios = cBq/gC.

Se pueden conservar en principio las designaciones y fórmulas de cálculo indicadas hasta el momento en la bibliografía que se basan en datos en dpm. Para obtener un valor correspondiente en centibequerelios, es suficiente multiplicar el resultado en dpm por el factor 100 partido por 60.

9.2. Evaluación con patrón externo.

$$cBq/g\ C = \frac{(cpm_{pr} - cpm_{NE}) \cdot 1{,}918 \cdot 100}{V \cdot F \cdot Z \cdot 60}$$

9.3. Evolución con patrón interno.

$$cBq/g\ C = \frac{(cpm_{pr} - cpm_{NE}) \cdot dpm_{IS} \cdot 1{,}918 \cdot 100}{(cpm_{IS} - cpm_{pr}) \cdot V \cdot F \cdot 60}$$

9.4. Los símbolos significan :

cpm_{pr} = media del contaje de las muestras en el tiempo total de medición
cpm_{NE} = media del contaje del efecto nulo, calculado de la misma manera
cpm_{IS} = contaje de la muestra con patrón interno
dpm_{IS} = cantidad de patrón interno añadido (radiactividad del patrón en dpm)
V = volumen de la muestra utilizada en ml
F = contenido en g de alcohol puro por cm^3, correspondiente a su concentración
Z = coeficiente de eficacia numérica correspondiente al valor ESKV
1,918 = gramos de alcohol/ g de carbono.

10. FIABILIDAD DEL MÉTODO

10.1. Repetibilidad (r)

r = 0,632 cBq/g C ; $S_{(r)} = \pm$ 0,223 cBq/g C

10.2. Reproducibilidad (R)

R = 0,821 cBq/g C ; $S_{(R)} = \pm$ 0,290 cBq/g C