

Tämä asiakirja on ainoastaan dokumentointitarkoituksiin. Toimielimet eivät vastaa sen sisällöstä.

► **B**

**KOMISSION ASETUS (EY) N:o 2870/2000,
annettu 19 päivänä joulukuuta 2000,
tislattujen alkoholijuomien analysoinnissa sovellettavista yhteisön vertailumenetelmistä**
(EYVL L 333, 29.12.2000, s. 20)

Muutettu:

			virallinen lehti	
		N:o	sivu	päivämäärä
► <u>M1</u>	Komission asetus (EY) N:o 2091/2002, annettu 26 päivänä marraskuuta 2002	L 322	11	27.11.2002

▼B

**KOMISSION ASETUS (EY) N:o 2870/2000,
annettu 19 päivänä joulukuuta 2000,
tislattujen alkoholijuomien analysoinnissa sovellettavista yhteisön
vertailumenetelmistä**

EUROOPAN YHTEISÖJEN KOMISSIO, joka

ottaa huomioon Euroopan yhteisön perustamissopimuksen,

ottaa huomioon tislattujen alkoholijuomien määritelmää, kuvausta ja esittelyä koskevista yleisistä säännöistä 29 päivänä toukokuuta 1989 annetun neuvoston asetuksen (ETY) N:o 1576/89⁽¹⁾, sellaisena kuin se on viimeksi muutettuna Itävallan, Suomen ja Ruotsin liittymisasiakirjalla, ja erityisesti sen 4 artiklan 8 kohdan,

sekä katsoo seuraavaa:

- (1) Asetuksen (ETY) N:o 1576/89 4 artiklan 8 kohdassa säädetään tislattujen alkoholijuomien analysoinnissa käytettävien menetelmien määrittämisestä. Virallisissa tarkastuksissa ja kiistatapauksissa on käytettävä vertailumenetelmiä, joiden avulla voidaan varmistaa asetuksen (ETY) N:o 1576/89 ja tislattujen alkoholijuomien määritelmää, kuvausta ja esittelyä koskevista yksityiskohtaisista täytäntöönpanosäännöistä 24 päivänä huhtikuuta 1990 annetun komission asetuksen (ETY) N:o 1014/90⁽²⁾, sellaisena kuin se on viimeksi muutettuna asetuksella (EY) N:o 2140/98⁽³⁾, säännösten noudattaminen.
- (2) Yhteisön vertailumenetelmiksi olisi mahdollisuuksien mukaan annettava ja kuvattava yleisesti hyväksytyjä menetelmiä.
- (3) Tieteen kehityksen ja virallisten laboratorioiden erilaisen teknisen välineistön huomioon ottamiseksi olisi sallittava laboratorion johtajan vastuulla muihin mittausperiaatteisiin kuin tämän asetuksen liitteessä kuvattuihin vertailumenetelmiin perustuvien menetelmien käyttö, jos kyseiset menetelmät tarjoavat riittävät takeet tuloksista ja täyttävät erityisesti elintarvikkeiden tarkastuksessa tarvittavien yhteisön näytteenottomenettelyjen ja analyysimenetelmien käyttöön ottamisesta 20 päivänä joulukuuta 1985 annetussa neuvoston direktiivin 85/591/ETY⁽⁴⁾ liitteessä säädetyt vaatimukset ja jos voidaan osoittaa, että kyseisillä menetelmillä saatujen tulosten tarkkuuden, toistettavuuden ja uusittavuuden vaihteluväli on samanlainen kuin tässä asetuksessa kuvatuilla vertailumenetelmillä saaduilla tuloksilla. Muiden vertailumenetelmien käyttö olisi hyväksyttävä, jos edellä mainittu ehto täyttyy. Kuitenkin on täsmennettävä, että kiistatapauksissa kyseiset muut menetelmät eivät voi korvata vertailumenetelmiä.
- (4) Tässä asetuksessa säädetyt toimenpiteet ovat tislattuja alkoholijuomia käsittelevän täytäntöönpanokomitean lausunnon mukaiset,

ON ANTANUT TÄMÄN ASETUKSEN:

1 artikla

Tämän asetuksen liitteessä esitetään tislattujen alkoholijuomien analysoinnissa sovellettavat yhteisön vertailumenetelmät, joita on käytettävä

- virallisissa tarkastuksissa, tai
- kiistatapauksissa

asetuksen (ETY) N:o 1576/89 ja asetuksen (ETY) N:o 1014/90 säännösten noudattamisen varmistamiseksi.

⁽¹⁾ EYVL L 160, 12.6.1989, s. 1.

⁽²⁾ EYVL L 105, 25.4.1990, s. 9.

⁽³⁾ EYVL L 270, 7.10.1998, s. 9.

⁽⁴⁾ EYVL L 372, 31.12.1985, s. 50.

▼B

2 artikla

Edellä olevan 1 artiklan ensimmäisestä luetelmakohdasta poiketen muita määrittämenetelmiä voidaan käyttää laboratorion johtajan vastuulla, jos näillä menetelmillä saadut tulokset ovat vähintäänkin yhtä tarkkoja ja täsmällisiä (toistettavuus ja uusittavuus) kuin liitteessä mainituilla vertailumenetelmillä saadut tulokset.

3 artikla

Jos tietyn tislatus alkoholijuoman sisältämien aineiden osoittamiseen ja määrittämiseen ei ole säädetty yhteisön vertailumenetelmiä, käytetään:

- a) määrittämenetelmiä, jotka on validoitu tunnustettujen kansainvälisten menettelyjen mukaisesti ja jotka täyttävät erityisesti direktiivin 85/591/ETY liitteessä mainitut vaatimukset;
- b) Kansainvälisen standardointijärjestön (ISO) suosittamien standardien mukaisia määrittämenetelmiä;
- c) Kansainvälisen viinijärjestön (OIV) yleiskokouksen tunnustamia ja julkaisemia määrittämenetelmiä; tai
- d) jos käytettävissä ei ole a, b tai c kohdassa tarkoitettua menetelmää,
 - kyseisen jäsenvaltion hyväksymää määrittämenetelmää,
 - tarvittaessa muita asianmukaisia määrittämenetelmiä,

jotka ovat riittävän tarkkoja, toistettavia ja uusittavia.

4 artikla

Tätä asetusta sovellettaessa:

- a) ”toistettavuusraja” on arvo, jota pienempi tai yhtä suuri kahden toistettavuusolosuhteissa (sama suorittaja, sama laite, sama laboratorio ja lyhyt aikaväli) saadun tuloksen välisen erotuksen itseisarvo on 95 prosentin todennäköisyydellä {ISO 3534-1};
- b) ”uusittavuusraja” on arvo, jota pienempi tai yhtä suuri kahden uusittavuusolosuhteissa (eri suorittaja, eri laite ja eri laboratorio) saadun tuloksen välisen erotuksen itseisarvo on 95 prosentin todennäköisyydellä {ISO 3534-1};
- c) ”tarkkuus” on koetuloksen ja hyväksytyn vertailuarvon välinen erotus {ISO 3534-1}.

5 artikla

Tämä asetus tulee voimaan seitsemäntenä päivänä sen jälkeen, kun se on julkaistu *Euroopan yhteisöjen virallisessa lehdessä*.

Sitä sovelletaan 1 päivästä tammikuuta 2001.

Tämä asetus on kaikilta osiltaan velvoittava, ja sitä sovelletaan sellaiseen kaikissa jäsenvaltioissa.

▼B*LIITE***ANALYYTTISET VERTAILUMENETELMÄT SEURAAVILLE PARAMETREILLE:**

- I Alkoholipitoisuuden määrittäminen tilavuusprosenttina
 - Lisäys I: Tisleen valmistus
 - Lisäys II: Tisleen tiheyden määrittäminen
 - Menetelmä A = pyknometria
 - Menetelmä B = elektroninen tiheysmittari
 - Menetelmä C = hydrostaattiseen vaakaan perustuva tiheysmittari
- II Kuiva-aineen kokonaismäärän gravimetrisen määrittäminen
- III Haihtuvien aineiden ja metanolin määrittäminen
 - III.1 Yleiset huomautukset
 - III.2 Haihtuvat yhdisteet, korkeammat alkoholit, etyyliasetaatti ja metanoli (kaasukromatografia)
 - III.3 Haihtuvat hapot — menetelmä julkaistaan myöhemmin
- IV Syaaniivetyhappo — menetelmä julkaistaan myöhemmin
- V Anetoli ► **M1** ————— ◀
- VI Glysyrysiinihappo ► **M1** ————— ◀
- VII Kalkonit ► **M1** ————— ◀
- VIII Sokerin kokonaismäärä — menetelmä julkaistaan myöhemmin
- IX Munankeltuainen ► **M1** ————— ◀.

▼B

I TISLATTUJEN ALKOHOLIJUOMIEN ALKOHOLIPITOISUUDEN
MÄÄRITTÄMINEN TILAVUUSPROSENTTINA

Johdanto

Vertailumenetelmäohje käsittää kaksi lisäystä:

Lisäys I: Tisleen valmistaminen

Lisäys II: Määrittäminen tisleestä

1 Soveltamisala

Menetelmä soveltuu tislattujen alkoholijuomien todellisen alkoholipitoisuuden määrittämiseen tilavuusprosenttina.

2 Viittaukset säännöksiin ja määräyksiin

ISO 3696:1987: Analyttiseen käyttöön tarkoitettu vesi — Laatuvaatimukset ja testausmenetelmät.

3 Termit ja määritelmät

3.1 Vertailulämpötila:

Tislattujen alkoholijuomien alkoholipitoisuus tilavuusprosenttina sekä niiden tiheys ja ominaispaine määritetään 20 °C:n lämpötilassa.

Huomautus 1: Termi ”t °C:n lämpötilassa” on varattu kaikille (tiheyden tai tilavuusprosenttina ilmaistun alkoholipitoisuuden) määrittämiselle, jotka ilmoitetaan muussa kuin vertailulämpötilassa 20 °C.

3.2 Tiheys:

Tiheys tarkoittaa tislattujen alkoholijuomien massaa tilavuusyksikköä kohti tyhjiössä 20 °C:n lämpötilassa. Se ilmoitetaan kilogrammoina kuutiometriä kohti, ja sen symboli on $\rho_{20\text{ °C}}$ tai ρ_{20} .

3.3 Ominaispaine:

Ominaispaine on 20 °C:n lämpötilassa määritetyn tislattun alkoholijuoman tiheyden ja samassa lämpötilassa määritetyn veden tiheyden välinen suhde ilmaistuna desimaalilukuna. Siitä käytetään symbolia $d_{20\text{ °C}/20\text{ °C}}$ tai $d_{20/20}$ tai yksinkertaisesti d-kirjainta, ellei väärinkäsityksen mahdollisuutta ilmene. Määritetty ominaisuus on mainittava määrittämis- ja testausmenetelmässä käyttäen ainoastaan edellä määritettyjä symboleja.

Huomautus 2: Ominaispaine voidaan saada 20 °C:n lämpötilassa määritetystä tiheydestä ρ_{20} seuraavasti:

$\rho_{20} = 998,203 \times d_{20/20}$ tai $d_{20/20} = \rho_{20/998,203}$ jolloin 998,203 on veden tiheys 20 °C:n lämpötilassa.

3.4 Todellinen alkoholipitoisuus tilavuusprosenttina:

Tislattujen alkoholijuomien todellinen alkoholipitoisuus tilavuusprosenttina on yhtä kuin etanolin määrä litroina 100 litrassa sellaista vesi-alkoholiseosta, jolla on sama tiheys kuin alkoholilla tai alkoholijuomalla tislauksen jälkeen. Vertailuarvot, joita on käytettävä 20 °C:n lämpötilassa tilavuusprosenttina määritetyn alkoholipitoisuuden ja 20 °C:n lämpötilassa mitatun tiheyden suhteelle erilaisille vesi-alkoholiseoksille, annetaan kansainvälisessä taulukossa, jonka OIML (Organisation internationale de métrologie légale) on vahvistanut suosituksessaan nro 22.

Yleinen yhtälö, jolla esitetään suhde tilavuusprosenttina ilmaistun alkoholipitoisuuden ja tiheyden välillä tietyssä lämpötilassa olevalle vesi-alkoholiseokselle, annetaan komission asetuksen (ETY) N:o 2676/90 liitteen sivulla 40 luvussa 3 ”Alkoholipitoisuus tilavuusprosenttina” (EYVL L 272, 3.10.1990, s. 1) tai kansainvälisen viinijärjestön (OIV) analyysimenetelmiä koskevassa käsikirjassa (1994) sivulla 17.

Huomautus 3: Koska liköörien ja kermaliköörien tilavuutta on vaikea määrittää tarkasti, niiden osalta näyte on punnittava ja alkoholipitoisuus on laskettava ensin massaprozenttina.

▼B

Muuntokaava:

$$\text{Alkoholipitoisuus tilavuusprosenttina} = \frac{\text{ASM (massaprocenttia)} \times \rho_{20} (\text{näyte})}{\rho_{20} (\text{alkoholi})}$$

jossa ASM = alkoholipitoisuus massaprocenttina,

$\rho_{20} (\text{alkoholi}) = 789,24 \text{ kg/m}^3$.

4

Periaate

Tislauksen jälkeen tisleen alkoholipitoisuus määritetään tilavuusprosenttina pyknometrillä, elektronisella tiheysmittarilla tai hydrostaattiseen vaakaan perustuvalla tiheysmittarilla.

▼B**LISÄYS I: TISLEEN VALMISTUS****1 Soveltamisala**

Menetelmä soveltuu tisleiden valmistamiseksi tislattujen alkoholijuomien todellisen alkoholipitoisuuden määrittämiseksi tilavuusprosenttina.

2 Periaate

Alkoholijuomat tislataan etanolin ja muiden haihtuvien yhdisteiden erottamiseksi uutoksesta (aineista, jotka eivät tislaudu).

3 Reagenssit ja materiaalit**3.1** Keitinkivet.**3.2** Konsentroitua vaahdonestoemulsio (kermaliköörejä tislattaessa).**4 Laitteet ja välineet**

Tavanomaiset laboratoriolaitteet ja erityisesti seuraavat:

4.1 Vesihaude, jonka lämpötila voidaan pitää alueella 10—15 °C.

Vesihaude, jonka lämpötila voidaan pitää 20 °C:ssa ($\pm 0,2$ °C).

4.2 Mittapulloja, luokka A, 100 ml, jotka on varmennettu tarkkuuteen $\pm 0,1$ %, ja 200 ml, jotka on varmennettu tarkkuuteen 0,15 %.**4.3** Tislauslaite:**4.3.1** Yleiset vaatimukset

Tislauslaitteen on täytettävä seuraavat vaatimukset:

- liitoksia tulee olla niin vähän kuin on mahdollista tiiviyn varmistamiseksi,
- tislauslaitteen tulee sisältää laite, jonka tarkoitus on estää kupliminen (kiehuvan nesteen kulkeutuminen höyryn mukana) ja säätää runsaasti alkoholia sisältävien höyryjen tislautumisnopeutta,
- alkoholihöyryt on voitava nesteyttää nopeasti ja täydellisesti,
- ensimmäiset tislausfraktiot on otettava talteen veteen.

Lämmönlähdettä on käytettävä yhdessä sopivan lämmönhajoittimen kanssa, jotta uutos ei hajoa eikä pala kiinni astiaan.

4.3.2 Esimerkki sopivasta tislauslaitteesta on esitetty kuvassa 1. Laitteessa on seuraavat osat:

- standardoidulla lasihioksella varustettu pyörökolvi, jonka tilavuus on 1 litra,
- väkevöimiskoloni, jonka korkeus on vähintään 20 cm (esimerkiksi Vigreux-koloni),
- kulmaliitos, joka on varustettu kohtisuoraan asennetulla, noin 10 cm:n pituisella suorareunaisella jäähdyttimellä (West-tyyppinen jäähdytin),
- jäähdytyskierukka, jonka pituus on 40 cm,
- ulostuloputki, joka ohjaa tisleen pienen määrän vettä sisältävään mittapulloon.

Huomautus: Edellä kuvatun laitteen on oltava tarkoitettu vähintään 200 ml:n näytteelle. Laitetta voidaan kuitenkin mukauttaa siten, että se soveltuu pienemmälle näyteannokselle, käyttämällä pienempää tislaukskolvia edellyttäen, että käytetään roiskeenestokupua tai jotakin muuta laitetta estämään nesteen kulkeutuminen höyryn mukana.

5 Tutkittavan näytteen säilytys

Näytteet varastoidaan huoneenlämpötilassa ennen analyysiä.

6 Suoritus

Alkuhuomautus:

Tislaus voidaan toteuttaa myös käyttämällä IUPAC:n julkaisemaa menetelmää (1968).

6.1 Tislauslaitteen testaaminen

▼B

Käytettävän laitteen on läpäistävä seuraava koe:

Kun laitteella tislataan 200 ml vesi-alkoholiliuosta, jonka konsentraatio on noin 50 tilavuusprosenttia alkoholia, alkoholihäviö saa olla enintään 0,1 tilavuusprosenttia.

- 6.2 Alle 50 tilavuusprosenttia alkoholia sisältävät tislattut alkoholijuomat
Mittapulloon annostellaan 200 ml alkoholijuomaa.

Tämän nesteen lämpötila kirjataan tai nestettä säilytetään vakio­lämpötilassa (20 °C).

Näyte kaadetaan tislauslaitteen pyörökolviin ja mittapullo huuhdellaan kolme kertaa käyttäen kullakin huuhtelukerralla noin 20 ml tislattua vettä. Kaikki huuhtelunesteet lisätään tislauskolviin.

Huomautus: Tämä 60 ml:n laimennus on riittävä alkoholijuomille, jotka sisältävät vähemmän kuin 250 g kuiva-ainetta litraa kohti. Muutoin pyrolyysin estämiseksi huuhteluveden tilavuuden on oltava vähintään 70 ml, jos kuiva-aineen konsentraatio on 300 g/l, 85 ml, jos kuiva-aineen konsentraatio on 400 g/l, ja 100 ml, jos kuiva-aineen konsentraatio on 500 g/l (jotkut hedelmä- tai kermaliköörit). Nämä tilavuudet suhteutetaan näytetilavuuden mukaan.

Lisätään joitakin keitinkiviä (3.1) (ja vaahdonestoainetta, jos kyseessä ovat kermaliköörit).

Kaadetaan 20 ml tislattua vettä alkuperäiseen 200 ml:n mittapulloon, jota käytetään tisleen talteen ottamiseksi. Tämä pullo on sitten asetettava kylmään vesihauteeseen (4.1) (10—15 °C:n lämpötilaan, jos kyseessä on aniksella maustettu alkoholijuoma).

Pullon sisältöä tislataan välttämättä nesteen kulkeutumista höyryn mukana ja pohjaan palamista sekä sekoittaen pullon sisältöä säännöllisesti, kunnes tisleen pinta on muutamia millimetrejä mittapullon kalibrointimerkin alapuolella.

Kun tämä tisle on jäähdytetty $\pm 0,5$ °C:n päähän nesteen alkuperäisestä lämpötilasta, pullo täytetään merkkiin saakka tislattulla vedellä ja sen sisältöä sekoitetaan perusteellisesti.

Tätä tislettä käytetään alkoholipitoisuuden määrittämiseksi tilavuusprosenttina (Lisäys II).

- 6.3 Yli 50 tilavuusprosenttia alkoholia sisältävät tislattut alkoholijuomat

Annostellaan 100 ml:n mittapulloon 100 ml alkoholijuomaa ja kaadetaan se tislauslaitteen pyörökolviin.

Mittapullo huuhdellaan useita kertoja tislattulla vedellä ja huuhtelunesteet lisätään pyörökolviin. Käytetään riittävä määrä vettä siten että kolvin sisällön tilavuudeksi saadaan noin 230 ml.

200 ml:n mittapulloon lisätään 20 ml tislattua vettä, johon tisle otetaan talteen. Mittapullo asetetaan sitten kylmään vesihauteeseen (4.1) (10—15 °C aniksella maustetuille alkoholijuomille).

Kolvin sisältöä tislataan sekoittaen silloin tällöin, kunnes tisleen pinta on muutamia millimetrejä 200 ml:n mittapullon kalibrointimerkin alapuolella.

Kun tämä tisle on jäähdytetty $\pm 0,5$ °C:n päähän nesteen alkuperäisestä lämpötilasta, pullo täytetään merkkiin saakka tislattulla vedellä ja sen sisältöä sekoitetaan perusteellisesti.

Tätä tislettä käytetään alkoholipitoisuuden määrittämiseksi tilavuudesta. (Lisäys II).

Huomautus: Alkoholijuoman alkoholipitoisuus tilavuusprosenttina on kaksi kertaa tisleen alkoholipitoisuus.

▼B

LISÄYS II: TISLEEN TIHEYDEN MÄÄRITYS

MENETELMÄ A: TISLATTUJEN ALKOHOLIJUOMIEN TODELLISEN ALKOHOLIPITOISUUDEN MÄÄRITYS TILAVUUSPROSENTTINA — MÄÄRITYS PYKNOMETRILLÄ**A.1 Periaate**

Alkoholipitoisuus tilavuusprosenttina saadaan pyknometrillä määrittystä tisleen tiheydestä.

A.2 Reagenssit ja materiaalit

Ellei toisin mainita, analyysissä käytetään vain hyväksyttyä analyysilaatua olevia reagensseja ja vähintään kolmannen laatuluokan vettä standardin ISO 3696:1987 määritelmän mukaisesti.

A.2.1 Natriumkloridiliuos (2-prosenttinen, paino/tilavuus)

Yksi litra natriumkloridiliuosta valmistetaan punnitsemalla 20 g natriumkloridia, joka liuotetaan yhteen litraan vettä.

A.3 Laitteet ja välineet

Tavanomaiset laboratoriolaitteet ja erityisesti seuraavat:

A.3.1 Analysivaaka, jonka tarkkuus on 0,1 mg.**A.3.2 Hioksellinen lämpömittari, joka on kalibroitu asteen kymmenesosiin välillä 10—30 °C. Tämän lämpömittarin on oltava sertifioitu tai varmennettu sertifioidulla lämpömittarilla.****A.3.3 Pyrex-lasinen, tilavuudeltaan noin 100 ml:n suuruinen pyknometri, joka on varustettu irrallisella hioksellisella lämpömittarilla (A.3.2). Pyknometrissä on sivuputki, jonka pituus on 25 mm ja sisähalkaisija (enintään) 1 mm ja joka päättyy kartiomaiseen lasihiokseen. Mikäli on tarkoituksenmukaista, voidaan käyttää muitakin pyknometrejä, jotka on kuvattu standardissa ISO 3507, esimerkiksi 50 ml:n pyknometriä.****A.3.4 Taarapullo, jonka ulkotilavuus on sama kuin pyknometrin (1 ml:n tarkkuudella) ja jonka massa on sama kuin pyknometrin massa, täytetään nesteellä, jonka ominaispaino on 1,01 (natriumkloridiliuos A.2.1).****A.3.5 Pyknometrin muotoon täydellisesti mukautuva lämpöeristetty suojus.**

Huomautus 1: Menetelmä tislattujen alkoholijuomien tiheyden määrittämiseksi tyhjiössä edellyttää kaksikuppivaan, pyknometrin ja ulkoiselta tilavuudeltaan pyknometrin kanssa samansuuruisen taarapullon käyttöä ilman nosteen korjaamiseksi. Tätä yksinkertaista tekniikkaa voidaan soveltaa käyttäen yksikuppivaakaa edellyttäen, että taarapullo punnitaan uudelleen ilman nosteessa tapahtuvien muutosten seuraamiseksi ajan kuluessa.

A.4 Suoritus

Alkuhuomautus:

Seuraavassa menettelyssä kuvataan 100 ml:n pyknometrin käyttämistä alkoholipitoisuuden määrittämisessä; tämä pyknometri on kaikkein tarkin. On kuitenkin mahdollista käyttää pienempää pyknometriä, jonka tilavuus on esimerkiksi 50 ml.

A.4.1 Pyknometrin kalibrointi

Pyknometri kalibroidaan määrittämällä seuraavat parametrit:

- tyhjän pyknometrin taara,
- pyknometrin tilavuus 20 °C:n lämpötilassa,
- vedellä täytetyn pyknometrin massa 20 °C:n lämpötilassa.

A.4.1.1 Kalibrointi käyttäen yksikuppivaakaa:

Määritetään seuraavat parametrit:

- puhtaan ja kuivan pyknometrin massa (P),
- vedellä täytetyn pyknometrin massa t °C:n lämpötilassa (P1),
- taarapullon massa (T0).

A.4.1.1.1 Punnitaan puhdas ja kuiva pyknometri (P).

▼B

A.4.1.1.2 Pyknometri täytetään huolellisesti huoneenlämpöisellä tislattulla vedellä ja lämpömittari asetetaan paikalleen.

Pyknometri pyyhitään huolellisesti kuivaksi ja asetetaan lämpöeristetyyn suojukseen sisälle. Säiliötä sekoitetaan kääntelemällä, kunnes lämpömittarin osoittama lämpötila pysyy muuttumattomana.

Pyknometrin nestepinta säädetään samaan tasoon sivuputken yläreunan kanssa. Luetaan lämpötila t °C huolellisesti ja lukema korjataan tarvittaessa lämpöasteikon mahdollisen epätarkkuuden suhteen.

Punnitaan vedellä täytetty pyknometri (P1).

A.4.1.1.3 Punnitaan taarapullo (T0).

A.4.1.1.4 Laskutoimitukset:

— Tyhjän pyknometrin taara = $P - m$

jossa m on ilman massa pyknometrissä

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

Huomautus 2: 0,0012 on kuivan ilman tiheys 20 °C:n lämpötilassa 760 mmHg:n paineessa.

— Pyknometrin tilavuus 20 °C:n lämpötilassa:

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

jossa F_t on lämpötilan t °C kerroin, joka on saatu asetuksen (ETY) N:o 2676/90 liitteen luvun 1 ”Tiheys ja ominaispaino” taulukosta I (sivu 10).

$V_{20\text{ °C}}$ on tunnettava 0,001 ml:n tarkkuudella.

— Veden massa pyknometrissä 20 °C:n lämpötilassa:

$$M_{20\text{ °C}} = V_{20\text{ °C}} \times 0,998203 \text{ jossa } 0,998203 \text{ on veden tiheys } 20\text{ °C:n lämpötilassa.}$$

Huomautus 3: Tarvittaessa voidaan käyttää tiheyden arvoa ilmassa 0,99715 ja alkoholipitoisuus voidaan laskea Yhdistyneen kuningaskunnan tulliviranomaisten käyttämässä ilman tiheyttä koskevassa taulukossa ilmoitetun tiheyden mukaisesti. Tässä tapauksessa pyknometrin syrjäyttämän ilman massan korjausta ei tehdä.

A.4.1.2 Kalibroitimenetelmä käyttäen kaksikuppivaakaa:

A.4.1.2.1 Taarapullo asetetaan vasemmanpuoleiseen vaakakuppiin ja puhdas, kuiva pyknometri paisuntasäiliöineen oikeanpuoleiseen vaakakuppiin. Lisätään punnuksia siihen vaakakuppiin, jossa pyknometri on, kunnes tasapaino on saavutettu: p grammaa.

A.4.1.2.2 Pyknometri täytetään huolellisesti huoneenlämpöisellä tislattulla vedellä ja lämpömittari asetetaan paikalleen; pyknometri pyyhitään huolellisesti kuivaksi ja asetetaan lämpöeristetyyn suojukseen sisälle; sekoitetaan säiliötä kääntelemällä, kunnes lämpömittarin osoittama lämpötila pysyy muuttumattomana.

Pyknometrin nestepinta säädetään samaan tasoon sivuputken yläreunan kanssa. Sivuputki puhdistetaan ja paisuntasäiliö asetetaan paikalleen. Luetaan lämpötila t °C huolellisesti ja lukema korjataan tarvittaessa lämpöasteikon mahdollisen epätarkkuuden suhteen.

Punnitaan vedellä täytetty pyknometri; p' on paino grammoina, kun tasapaino saavutetaan.

A.4.1.2.3 Laskutoimitukset:

— Tyhjän pyknometrin taara = $p + m$

jossa m on ilman massa pyknometrissä.

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

— Pyknometrin tilavuus 20 °C:n lämpötilassa:

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

jossa F_t on lämpötilan t °C kerroin, joka on saatu asetuksen (ETY) N:o 2676/90 liitteen luvun 1 ”Tiheys ja ominaispaino” taulukosta I (sivu 10).

$V_{20\text{ °C}}$ on tunnettava 0,001 ml:n tarkkuudella.

▼B

— Veden massa pyknometrissä 20 °C:n lämpötilassa:

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

jossa 0,998203 on veden tiheys 20 °C:n lämpötilassa.

A.4.2 Tutkittavan näytteen alkoholipitoisuuden määrittäminen

A.4.2.1 Yksikuppivaa'an käyttö

A.4.2.1.1 Punnitaan taarapullo, paino T1.

A.4.2.1.2 Punnitaan pyknometri valmistetun tisleen kanssa (katso Lisäys I), P2 on sen paino t °C:n lämpötilassa.

A.4.2.1.3 Laskutoimitukset

— $dT = T1 - T0$

— Tyhjän pyknometrin massa määrityshetkellä

$$= P - m + dT$$

— Nesteen massa pyknometrissä t °C:n lämpötilassa

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

— Tiheys g/ml t °C:n lämpötilassa

$$\rho_{t\text{ °C}} = [P2 - (P - m + dT)]/V_{20\text{ °C}}$$

— Tiheys t °C:n lämpötilassa ilmoitetaan kilogrammoina kuutiometriä kohti kertomalla ($\rho_{t\text{ °C}}$ luvulla 1 000, näin saatu arvo on ρ_t -arvo.

— ρ_t -arvo korjataan ρ_{20} -arvoksi käyttäen vesi-alkoholiseosten tiheyksien ρ_T taulukoita (Kansainvälisen viinijärjestön (OIV) analyysimenetelmiä koskevan käsikirjan, 1994, liitteen II taulukko II, sivut 17—29).

Taulukon vaakasuoralta riviltä, joka vastaa kokonaislukuna ilmoitettua lämpötilaa T, välittömästi t °C:n alapuolella etsitään pienin mahdollinen ρ_t -arvon ylittävä tiheys. Tämän tiheyden alapuolella taulukossa annettua erotusta käytetään alkoholijuoman tiheyden ρ_t laskemiseksi kyseisessä lämpötilassa T, joka on ilmoitettu kokonaislukuna.

— Lämpötilarivin avulla lasketaan taulukossa välittömästi tiheyden ρ_t yläpuolella olevan tiheyden ρ' ja lasketun tiheyden ρ_t välinen erotus. Tämä erotus jaetaan tiheyden ρ' oikealla puolella ilmoitettulla erotuksella. Osamäärästä saadaan alkoholipitoisuuden desimaaliosa ja tämän pitoisuuden kokonaislukuosa annetaan sen sarakkeen yläosassa, jossa tiheys ρ' on esitetty (Dt, alkoholipitoisuus).

Huomautus 4: Vaihtoehtoisesti pyknometriä pidetään vesihauteessa 20 °C ± 0,2 °C:n lämpötilassa, kun se täytetään merkkiin saakka.

A.4.2.1.4 Tulos

Tiheydestä ρ_{20} lasketaan todellinen alkoholipitoisuus käyttäen seuraavassa mainittuja alkoholipitoisuustaulukkoja:

Alkoholipitoisuus tilavuusprosenttina 20 °C:n lämpötilassa samassa lämpötilassa määritetyn vesi-alkoholiseoksen tiheyden funktiona saadaan kansainvälisestä taulukosta, jonka OIML on hyväksynyt suosituksessaan nro 22.

A.4.2.2 Kaksikuppivaa'an käyttö

A.4.2.2.1 Pyknometri punnitaan valmistetun tisleen kanssa (katso osa I), p'' on massa t °C:n lämpötilassa.

A.4.2.2.2 Laskutoimitukset

— Nesteen massa pyknometrissä t °C:n lämpötilassa

$$= p + m - p''$$

— Tiheys g/ml t °C:n lämpötilassa

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

▼B

— Tiheys t °C:n lämpötilassa ilmoitetaan kilogrammoina kuutiometriä kohti ja lämpötilakorjaus tehdään alkoholipitoisuuden laskemiseksi 20 °C:n lämpötilassa, kuten edellä yksikuppivaa'an käytön yhteydessä on esitetty.

A.5 Menetelmän suoritusarvot (mittaustarkkuus)

A.5.1 Laboratorioiden välisen testauksen tilastolliset tulokset

Seuraavat tulokset saatiin kansainvälisestä menetelmän suorituskykyä arvioivasta tutkimuksesta, joka toteutettiin kansainvälisesti hyväksyttyjen menetelmien [1] [2] mukaisesti.

Laboratorioiden välisen testauksen suoritusvuosi	1997
Laboratorioiden lukumäärä	20
Näytteiden lukumäärä	6

Näytteet	A	B	C	D	E	F
Laboratorioiden lukumäärä, kun suuresti poikkeavia tuloksia saaneet laboratoriot on poistettu	19	20	17	19	19	17
Suuresti poikkeavien tulosten määrä (laboratoriot)	1	—	2	1	1	3
Hyväksyttyjen tulosten lukumäärä	38	40	34	38	38	34
Keskiarvo ($\bar{x}$) til.-%	23,77 26,51 (*)	40,04	40,29	39,20 42,93 (*)	42,24 45,73 (*)	57,03 63,03 (*)
Toistettavuuden keskihajonta (s_p), til.-%	0,106	0,176	0,072	0,103	0,171	0,190
Toistettavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD _p), (%)	0,42	0,44	0,18	0,25	0,39	0,32
Toistettavuusraja (r), til.-%	0,30	0,49	0,20	0,29	0,48	0,53
Uusittavuuden keskihajonta (s_R), til.-%	0,131	0,236	0,154	0,233	0,238	0,322
Uusittavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD _R), (%)	0,52	0,59	0,38	0,57	0,54	0,53
Uusittavuusraja (R), til.-%	0,37	0,66	0,43	0,65	0,67	0,90

Näytetyypit:

- A Hedelmälikööri; eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*)
 B Brandy; rinnakkaiset sokkonäytteet
 C Viski; rinnakkaiset sokkonäytteet
 D Grappa; eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*)
 E Akvaviitti; eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*)
 F Rommi; eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*).

MENETELMÄ B: TISLATTUJEN ALKOHOLIJUOMIEN TODELLISEN ALKOHOLIPITOISUUDEN MÄÄRITYS TILAVUUSPROSENTTINA — MÄÄRITYS ELEKTRONISELLA TIHEYSMITTARILLA (NÄYTTEEN RESONANSIVÄRÄHTELYTAAJUUDEN PERUSTEELLA VÄRÄHTELYKENNOSSA)

B.1 Periaate

Nesteen tiheys määritetään mittaamalla värähtelevän U-putken oskillointi elektronisesti. Tämän määrittämisen suorittamiseksi näyte lisätään värähtelyjärjestelmään, jonka ominaisvärähtelytaajuutta lisätty massa tällöin muuttaa.

B.2 Reagenssit ja materiaalit

Ellei toisin mainita, analyysissä käytetään vain hyväksyttyä analyysilaatua olevia reagensseja ja vähintään kolmannen laatuluokan vettä standardin ISO 3696:1987 määritelmän mukaisesti.

B.2.1 Asetoni (CAS 666-52-4) tai absoluuttinen alkoholi

B.2.2 Kuiva ilma.

▼B

B.3 Laitteet ja välineet

Tavanomaiset laboratoriolaitteet ja erityisesti seuraavat:

B.3.1 Digitaalinäyttöinen tiheysmittari

Tällaisiin määrittämiin tarkoitettun elektronisen tiheysmittarin on ilmoitettava tiheys grammoina millilitraa kohti (g/ml) 5 desimaalia käsittävänä lukuna.

Huomautus 1: Tiheysmittari on asetettava täysin vakaalle jalustalle, joka on eristetty kaikkea värinää vastaan.

B.3.2 Lämpötilan säätö

Tiheysmittarin suoritus voidaan kelpuuttaa vain silloin kun määrittämisskenno on yhdistetty laitteen sisäiseen lämpötilan säätimeen, joka kykenee pitämään laitteen sisällä vakio­lämpötilan vähintään $\pm 0,02$ °C:n tarkkuudella.

Huomautus 2: Määrittämisskennon lämpötilan tarkka asettaminen ja seuranta on tärkeää, sillä 0,1 °C:n virhe voi johtaa suuruusluokaltaan jopa 0,1 kg/m³:n tiheyden vaihteluun.

B.3.3 Näytteen injektio­ruiskut tai automaattinen näytteen­syöttäjä.**B.4 Suoritus****B.4.1 Tiheysmittarin kalibrointi**

Laitte on kalibroitava laitteen valmistajan ohjeiden mukaisesti, kun se otetaan käyttöön ensimmäistä kertaa. Se on kalibroitava uudelleen säännöllisesti ja tarkistettava suhteessa varmennettuun vertailustandardiin tai varmennetun vertailustandardin kanssa kalibroituun laboratorion omaan vertailuliukseen.

B.4.2 Näytteen tiheyden määrittäminen**B.4.2.1 Tarvittaessa kenno puhdistetaan ennen määrittästä asetonilla tai absoluuttisella alkoholilla ja kuivataan kuivalla ilmalla. Kenno huuhdellaan näyteliuksella.****B.4.2.2 Näyte injektoidaan kennoon (käyttäen ruiskua tai automaattista näytteen­syöttäjää) siten, että kenno täyttyy kokonaan. Täytön aikana varmistetaan, että kennoon ei jää ilmakuplia. Näytteen on oltava homogeeninen, eikä se saa sisältää kiinteitä hiukkasia. Liettynyt aine on poistettava suodattamalla ennen analyysiä.****B.4.2.3 Kun lukema on vakiintunut, tiheysmittarin näytön ilmoittama tiheys ρ_{20} tai alkoholipitoisuus kirjataan.****B.4.3 Tulos**

Käytettäessä tiheyttä ρ_{20} todellinen alkoholipitoisuus lasketaan seuraavassa mainitusta alkoholipitoisuustaulukosta:

Alkoholipitoisuus tilavuusprosenttina 20 °C:n lämpötilassa samassa lämpötilassa määritetyn vesi-alkoholiseoksen tiheyden funktiona saadaan kansainvälisestä taulukosta, jonka OIML on vahvistanut suosituksessaan nro 22.

B.5 Menetelmän suoritusarvot (mittaustarkkuus)**B.5.1 Laboratorioiden välisen testauksen tilastolliset tulokset**

Seuraavat tulokset saatiin kansainvälisestä menetelmän suorituskykyä arvioivasta tutkimuksesta, joka toteutettiin kansainvälisesti hyväksyttyjen menetelmien [1] [2] mukaisesti.

Laboratorioiden välisen testauksen suoritusvuosi 1997

Laboratorioiden lukumäärä 16

Näytteiden lukumäärä 6

Näytteet	A	B	C	D	E	F
Laboratorioiden lukumäärä, kun suuresti poikkeavia tuloksia saaneet laboratoriot on poistettu	11	13	15	16	14	13
Suuresti poikkeavien tulosten määrä (laboratoriot)	2	3	1	—	1	2

▼B

Näytteet	A	B	C	D	E	F
Hyväksytyjen tulosten lukumäärä	22	26	30	32	28	26
Keskiarvo ($\bar{x}$) til.-%	23,81	40,12	40,35	39,27	42,39	56,99
	26,52 (*)			43,10 (*)	45,91 (*)	63,31 (*)
Toistettavuuden keskihajonta (s_r), til.-%	0,044	0,046	0,027	0,079	0,172	0,144
Toistettavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD _r), (%)	0,17	0,12	0,07	0,19	0,39	0,24
Toistettavuusraja (r), til.-%	0,12	0,13	0,08	0,22	0,48	0,40
Uusittavuuden keskihajonta (s_R), til.-%	0,054	0,069	0,083	0,141	0,197	0,205
Uusittavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD _R), (%)	0,21	0,17	0,21	0,34	0,45	0,34
Uusittavuusraja (R), til.-%	0,15	0,19	0,23	0,40	0,55	0,58

Näytetyypit:

- A Hedelmälikööri; eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*)
 B Brandy; rinnakkaiset sokkonäytteet
 C Viski; rinnakkaiset sokkonäytteet
 D Grappa; eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*)
 E Akvaviitti; eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*)
 F Rommi; eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*)

MENETELMÄ C: TISLATTUJEN ALKOHOLIJUOMIEN TODELLISEN ALKOHOLIPITOISUUDEN MÄÄRITYS — MÄÄRITYS HYDROSTAATTISEEN VAAKAAN PERUSTUVALLA TIHEYSMITTARILLA

C.1 Periaate

Tislattujen alkoholijuomien alkoholipitoisuus voidaan määrittää hydrostaattiseen vaakaan perustuvalla tiheysmittarilla. Määritys perustuu Arkhimedeen lakiin, jonka mukaan nesteeseen upotettuun kappaleeseen kohdistuu nesteestä pystysuoraan ylöspäin vaikuttava noste, joka on kappaleen syrjäyttämän nestemäärän painon suuruinen.

C.2 Reagenssit ja materiaalit

Ellei toisin mainita, analyysissä käytetään vain hyväksyttyä analyysilaatua olevia reagensseja ja vähintään kolmannen laatuluokan vettä standardin ISO 3696:1987 määritelmän mukaisesti.

C.2.1 Uppokappaleen puhdistusliuos (natriumhydroksidi, 30-prosenttinen, paino/tilavuus)

Valmistettaessa 100 ml liuosta punnitaan 30 g natriumhydroksidia mittapulloon ja tilavuus täytetään 100 ml:ksi 96-prosenttisellä etanolilla.

C.3 Laitteet ja välineet

Tavanomaiset laboratoriolaitteet ja erityisesti seuraavat:

- C.3.1 Hydrostaattinen yksikuppivaaka, jonka tarkkuus on 1 mg.
 C.3.2 Erityisesti vaa'assa käytettäväksi sopiva uppokappale, jonka tilavuus on vähintään 20 ml ja joka on ripustettu halkaisijaltaan enintään 0,1 mm:n paksuisella langalla.
 C.3.3 Mittalasi, jossa on mittaviiva. Uppokappaleen on mahdollista kokonaan mitalasissa olevan merkin alapuolelle; ainoastaan uppokappaleen ripustuslanka saa rikkoa mitattavan nesteen pinnan. Mittalasin sisähalkaisijan on oltava ainakin 6 mm uppokappaleen sisähalkaisijaa suurempi.
 C.3.4 Lämpömittari (tai lämpötila-anturi), jonka asteikolle on merkitty asteet ja asteen kymmenesosat välillä 10—40 °C, kalibroituina 0,05 °C:seen.
 C.3.5 Tunnustetun sertifiointielimen hyväksymät punnukset.

▼B

Huomautus 1: Kaksikuppivaa'an käyttö on myös mahdollista; periaate on kuvattu asetuksen (ETY) N:o 2676/90 liitteen luvussa 1 "Tiheys ja ominaispaino" (sivu 7).

C.4 Suoritus

Uppokappale ja mittalasi on puhdistettava aina määritysten välillä tislattulla vedellä, kuivattava pehmeällä laboratoriopaperilla, josta ei irtoa kuituja, ja huuhdeltava liuoksella, jonka tiheys on tarkoitus määrittää. Haihtumalla tapahtuvan alkoholihäviön rajoittamiseksi määritykset on suoritettava heti kun laite on saavuttanut stabiilin tilan.

C.4.1 Vaa'an kalibrointi

Vaikka vaa'oilla on yleensä sisäinen kalibrointijärjestelmä, hydrostaattinen vaaka on voitava kalibroida punnuksilla, jotka ovat virallisen sertifiointielimen tarkastamia.

C.4.2 Uppokappaleen kalibrointi

C.4.2.1 Mittalasi täytetään merkkiin asti kahteen kertaan tislattulla vedellä (tai vastaavalla yhtä puhtaalla vedellä, esimerkiksi mikrosuodatetulla vedellä, jonka johtokyky on $18,2 \text{ M}\Omega / \text{cm}$) $15\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa, mieluiten lämpötilassa $20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

C.4.2.2 Uppokappale ja lämpömittari upotetaan nesteeseen. Nestettä sekoitetaan, nesteen tiheys luetaan laitteen näytöstä ja saatua tiheyttä korjataan tarvittaessa siten, että tiheys vastaa veden tiheyttä määrittäislämpötilassa.

C.4.3 Tarkistus vesi-alkoholiliuoksella

C.4.3.1 Mittalasi täytetään merkkiin asti vesi-alkoholiseoksella, jonka alkoholipitoisuus tunnetaan. Mainitun vesi-alkoholiseoksen lämpötila on $15\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$, mieluiten $20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

C.4.3.2 Uppokappale ja lämpömittari upotetaan nesteeseen. Nestettä sekoitetaan ja nesteen tiheys (tai alkoholipitoisuus, mikäli mahdollista) luetaan laitteen näytöstä. Näin todetun alkoholipitoisuuden tulee olla sama kuin nesteen aiemmin määritetty alkoholipitoisuus.

Huomautus 2: Tätä liuosta, jonka alkoholipitoisuus tunnetaan, voidaan käyttää myös uppokappaleen kalibroimiseksi sen sijaan, että käytettäisiin kahteen kertaan tislattua vettä.

C.4.4 Tisleen tiheyden määrittäminen (tai sen alkoholipitoisuuden määrittäminen, mikäli mahdollista).

C.4.4.1 Tutkittavaa näytettä kaadetaan mittalasiin asteikon merkkiin asti.

C.4.4.2 Uppokappale ja lämpömittari upotetaan nesteeseen. Nestettä sekoitetaan ja nesteen tiheys (tai alkoholipitoisuus, mikäli mahdollista) luetaan laitteen näytöstä. Lämpötila on kirjattava, jos tiheys määritetään lämpötilassa $t\text{ }^{\circ}\text{C}$ (ρ_t).C.4.4.3 Korjataan ρ_t -arvo ρ_{20} -arvoksi käyttäen taulukkoa, josta ilmenevät vesi-alkoholiseosten tiheydet ρ_T (Kansainvälisen viinijärjestön analyysimenetelmiä koskevan käsikirjan, 1994, liitteen II taulukko II, sivut 17—29).

C.4.5 Uppokappaleen ja mittalasin puhdistaminen

C.4.5.1 Uppokappale upotetaan sille tarkoitettuun puhdistusliuokseen mittalassissa.

C.4.5.2 Uppokappaleen annetaan liota yhden tunnin ajan pyörittäen sitä ajoittain.

C.4.5.3 Uppokappale huuhdellaan ensin runsaalla määrällä vesijohtovettä ja sen jälkeen tislattulla vedellä.

C.4.5.4 Uppokappale kuivataan pehmeällä laboratoriopaperilla, josta ei irtoa kuituja.

Näin on meneteltävä käytettäessä uppokappaletta ensimmäistä kertaa ja sen jälkeen säännöllisesti tarpeen mukaan.

C.4.6 Tulos

Tiheydestä ρ_{20} lasketaan todellinen alkoholipitoisuus käyttäen seuraavassa nimettyä alkoholipitoisuustaulukkoa:

Alkoholipitoisuus tilavuusprosenttina $20\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa samassa lämpötilassa määritetyn vesi-alkoholiseoksen tiheyden funktiona saadaan kansainvälisestä taulukosta, jonka OIML on hyväksynyt suosituksessaan nro 22.

▼B

C.5 Menetelmän suoritusarvot (täsmällisyys)

C.5.1 Laboratorioiden välisen testauksen tilastolliset tulokset

Seuraavat tulokset saatiin kansainvälisestä menetelmän suorituskäytäntöä arvioivasta tutkimuksesta, joka toteutettiin kansainvälisesti hyväksyttyjen menetelmien [1] [2] mukaisesti.

Laboratorioiden välisen testauksen suoritusvuosi 1997

Laboratorioiden lukumäärä 12

Näytteiden lukumäärä 6

Näytteet	A	B	C	D	E	F
Laboratorioiden lukumäärä, kun suuresti poikkeavia tuloksia saaneet laboratoriot on poistettu	12	10	11	12	11	9
Suuresti poikkeavien tulosten määrä (laboratoriot)	—	2	1	—	1	2
Hyväksyttyjen tulosten lukumäärä	24	20	22	24	22	18
Keskiarvo ($\bar{x}$) til-%	23,80	40,09	40,29	39,26	42,38	57,16
	26,51 (*)			43,09 (*)	45,89 (*)	63,44 (*)
Toistettavuuden keskihajonta (s_r), til-%	0,048	0,065	0,042	0,099	0,094	0,106
Toistettavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD_r), (%)	0,19	0,16	0,10	0,24	0,21	0,18
Toistettavuusraja (r), til-%	0,13	0,18	0,12	0,28	0,26	0,30
Uusittavuuden keskihajonta (s_R), til-%	0,060	0,076	0,073	0,118	0,103	0,125
Uusittavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD_R), (%)	0,24	0,19	0,18	0,29	0,23	0,21
Uusittavuusraja (R), til-%	0,17	0,21	0,20	0,33	0,29	0,35

Näytetyypit:

A Hedelmälikööri; eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*)

B Brandy; rinnakkaiset sokkonäytteet

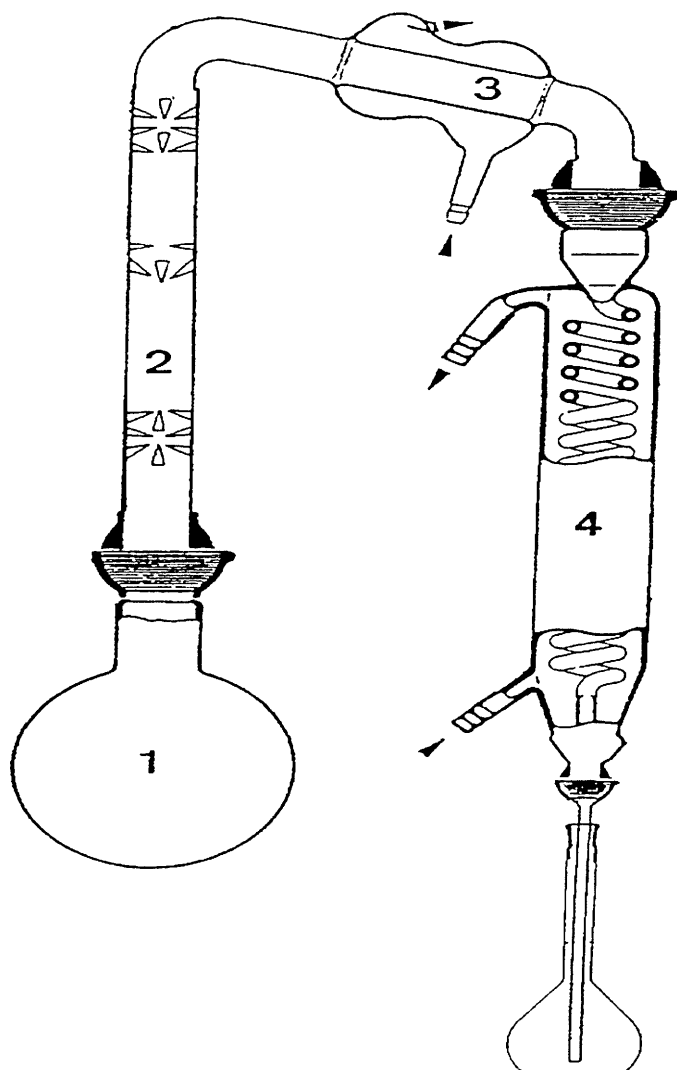
C Viski; rinnakkaiset sokkonäytteet

D Grappa; eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*)

E Akvaviitti; eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*)

F Rommi; eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*)

▼B



Kuva 1. Tislauslaite tislattujen alkoholijuomien todellisen alkoholipitoisuuden määrittämiseksi tilavuusprosenttina

1. Vakiopallohioksella varustettu pyörökolvi, jonka tilavuus on 1 litra.
2. 20 cm:n Vigreux-väkevöimiskolonne.
3. 10 cm:n pituinen suorareunainen West-jäähdytin.
4. 40 cm:n jäähdytyskierukka.



II KUIVA-AINEEN KOKONAISMÄÄRÄN GRAVIMETRINEN MÄÄRITYS

1 Soveltamisala

Asetuksessa (ETY) N:o 1576/89 säädetään tämän menetelmän käyttö vain akvaviitille, jonka kuiva-ainepitoisuus on rajoitettu 15 g:aan litraa kohti.

2 Viittaukset säännöksiin ja määräyksiin

ISO 3696:1987: Analyyttiseen käyttöön tarkoitettu vesi — Laatuvaatimukset ja testimenetelmät

3 Määritelmä

Kuiva-aineen kokonaismäärään sisältyy kaikki sellainen aine, joka ei haihdu tietyissä fysikaalisissa olosuhteissa.

4 Periaate

Punnitaan jäännös, joka saadaan, kun tislattu alkoholijuoma on haihdutettu kuiviin kiehuvalle vesihautteelle ja kuivattu kuivausuunissa.

5 Laitteet ja välineet

5.1 Tasapohjainen lieriömäinen haihdutusmalja, jonka halkaisija on 55 mm

5.2 Kiehuva vesihautte

5.3 25 ml:n pipetti, luokka A

5.4 Kuivausuuni

5.5 Eksikkaattori

5.6 Analyysivaaka, jonka tarkkuus on 0,1 mg.

6 Näytteenotto ja näytteet

Näytteet varastoidaan huoneenlämpötilassa ennen analyysiä.

7 Suoritus

7.1 Pipetoidaan 25 ml tislattua alkoholijuomaa, joka sisältää vähemmän kuin 15 g/l kuiva-ainetta, punnittuun, tasapohjaiseen lieriömäiseen haihdutusmaljaan, jonka sisähalkaisija on 55 mm. Haihduttamisen ensimmäisen tunnin ajan haihdutusmaljaa pidetään kiehuvan vesihautteen kannella siten että neste ei kiehu, koska kiehuminen voisi johtaa häviöihin nesteen roiskumisen seurauksena. Sitten haihdutusmalja jätetään vielä yhden tunnin ajaksi suoraan kosketukseen kiehuvan vesihautteen höyryn kanssa.

7.2 Kuivaaminen suoritetaan loppuun asettamalla haihdutusmalja kuivausuuniin $105\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$:n lämpötilaan kahden tunnin ajaksi. Sitten haihdutusmaljan annetaan jäähtyä eksikkaattorissa, minkä jälkeen haihdutusmalja ja sen sisältö punnitaan.

8 Laskutoimitus

Jäännöksen massa kerrottuna luvulla 40 vastaa tislattua alkoholijuoman sisältämää kuiva-aineen määrää. Tämä arvo on ilmoitettava grammoina litraa kohti (g/l) yhden desimaalin tarkkuudella.

9 Menetelmän suoritusarvot (mittaustarkkuus)

9.1 Laboratorioiden välisen testauksen tilastolliset tulokset

Seuraavat tulokset saatiin kansainvälisestä menetelmän suorituskykyä arvioivasta tutkimuksesta, joka toteutettiin kansainvälisesti hyväksyttyjen menetelmien [1] [2] mukaisesti.

Laboratorioiden välisen testauksen suoritusvuosi	1997
Laboratorioiden lukumäärä	10
Näytteiden lukumäärä	4

▼B

Näytteet	A	B	C	D
Laboratorioiden lukumäärä, kun suuresti poikkeavia tuloksia saaneet laboratoriot on poistettu	9	9	8	9
Suuresti poikkeavien tulosten määrä (laboratoriot)	1	1	2	—
Hyväksytyjen tulosten lukumäärä	18	18	16	18
Keskiarvo ($\bar{x}$) g/l	9,0	9,1	10,0	11,8
		7,8	9,4	11,1
Toistettavuuden keskihajonta (s_p) g/l	0,075	0,441	0,028	0,123
Toistettavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD_p), (%)	0,8	5,2	0,3	1,1
Toistettavuusraja (r) g/l	0,2	1,2	0,1	0,3
Uusittavuuden keskihajonta (s_R) g/l	0,148	0,451	0,058	0,210
Uusittavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD_R), (%)	1,6	5,3	0,6	1,8
Uusittavuusraja (R) g/l	0,4	1,3	0,2	0,6

Näytetyypit:

A Brandy; rinnakkaiset sokkonäytteet.

B Rommi; eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet.

C Grappa; eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet.

D Akvaviitti; eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet.



III HAIHTUVIEN AINEIDEN JA METANOLIN MÄÄRITYS

III.1 YLEISET HUOMAUTUKSET

1 Määritelmät

Direktiivissä (ETY) N:o 1576/89 asetetaan etanolia ja metanolia lukuun ottamatta haihtuvien yhdisteiden vähimmäispitoisuudet tietyille tislattujen alkoholijuomien ryhmälle (rommi, viinirypäleistä peräisin olevat tislattut alkoholijuomat, tislattut hedelmäalkoholit ja niin edelleen). Tässä juomaryhmässä näiden pitoisuuksien on katsottu olevan perinteisesti seuraavassa lueteltujen aineiden konsentraatioiden summa:

1. haihtuvat hapot, jotka on ilmoitettu etikahappona;
2. aldehydit, jotka on ilmoitettu etanaalina, johon sisältyy etanaali (asetaldehydi) ja 1,1-dietoksietaaniin (asetaliin) sisältyvä etanaali-fraktio;
3. seuraavat korkeammat alkoholit: 1-propanoli, 1-butanoli, 2-butanoli, 2-metyyli-1-propanoli, jotka on määritetty yksittäisinä alkoholeina, ja 2-metyyli-1-butanoli ja 3-metyyli-1-butanoli, jotka on määritetty yksittäisinä alkoholeina tai näiden kahden alkoholin summana;
4. etyyliasetaatti.

Seuraavat menetelmät ovat haihtuvien yhdisteiden määrittämiseen tarkoitettuja perinteisiä menetelmiä:

- haihtuvien happojen määrittäminen,
- aldehydien (etanaalin ja asetaalin), etyyliasetaatin ja alkoholin määrittäminen kaasukromatografialla.

2 Haihtuvien yhdisteiden kaasukromatografinen analyysi

Muiden kuin edellä mainittujen haihtuvien yhdisteiden kaasukromatografiset analyysit saattavat osoittautua erityisen kiinnostaviksi sekä tislauksessa käytetyn raaka-aineen alkuperän että tislauksen todellisten olosuhteiden määrittämiseksi.

Jotkut tislattut alkoholijuomat sisältävät muita haihtuvia aineosia, kuten aromaattisia yhdisteitä, jotka ovat tunnusomaisia alkoholin valmistuksessa käytetyille raaka-aineille, tislattun alkoholijuoman aromiaineille ja tislattun alkoholijuoman valmistukseen liittyville erityispiirteille. Nämä yhdisteet ovat tärkeitä asetuksessa (ETY) N:o 1576/89 säädettyjen vaatimusten arvioimiseksi.

III.2 TISLATUISSA ALKOHOLIJUOMISSA ESIINTYVIEN HAIHTUVIEN AROMIYHDISTEIDEN KAASUKROMATOGRAFINEN MÄÄRITTÄMINEN

1 Soveltamisala

Tämä menetelmä soveltuu käytettäväksi tislatuissa alkoholijuomissa esiintyvien 1,1-dietoksietaanin (asetaliin), 2-metyyli-1-butanolin (amyylialkoholin), 3-metyyli-1-butanolin (isoamyylialkoholin), metanolin (metyylialkoholin), etyylietanaatin (etyyliasetaatin), 1-butanolin (n-butanolin), 2-butanolin (sek-butanolin), 2-metyyli-1-propanolin (isobutyylialkoholin), 1-propanolin (n-propanolin) ja etanaalin (asetaldehydin) kaasukromatografiseen määrittämiseen. Menetelmässä käytetään sisäistä standardia, esimerkiksi 3-pentanolia. Analyyttien konsentraatiot ilmoitetaan grammoina 100 litraa kohti absoluuttista alkoholia; tuotteen alkoholipitoisuus on määritettävä ennen analyysiä. Tislattuja alkoholijuomia, jotka voidaan analysoida tällä menetelmällä, ovat viski, brandy, rommi, viinistä tislattu alkoholi, hedelmistä tislattu alkoholi ja rypäleiden puristusjätteestä tislattu alkoholi.

2 Viittaukset säännöksiin ja määräyksiin

ISO 3696:1987: Analyyttiseen käyttöön tarkoitettu vesi — Laatuvaatimukset ja testimenetelmät.

3 Määritelmä

Haihtuvat aromiyhdisteet ovat haihtuvia yhdisteitä, joita muodostuu etanolin ohella tislattujen alkoholijuomien käymisen, tislauksen ja kypsyttämisen aikana.

▼B

4 Periaate

Tislattujen alkoholijuomien haihtuvat aromiyhdisteet määritetään injektioimalla alkoholijuomaa tai sopivasti laimennettua alkoholi-juomaa suoraan kaasukromatografiajärjestelmään. Alkoholijuomaan lisätään sopiva sisäinen standardi ennen ruiskuttamista. Yhdisteet erotetaan lämpötilaohjelmoinnin avulla sopivassa kolonnissa ja ne havaitaan liekki-ionisaatiodektoilla (FID). Kunkin yhdisteen konsentraatio määritetään suhteessa sisäiseen standardiin niiden vaste-tekijöiden avulla, jotka on saatu kalibroinnissa ennalta määrättyissä kromatografisissa olosuhteissa, joiden on oltava samanlaiset kuin kyseisen alkoholijuoman kromatografiaolosuhteet.

5 Reagenssit ja materiaalit

Ellei toisin mainita, käytetään vain ISO-akkreditoidulta tavarantoimit-tajalta hankittuja reagensseja, joilla on puhtaustodistus, joiden puhtaus on yli 97 prosenttia ja jotka eivät sisällä muita haihtuvia aromiyhdis-teitä, kun niitä käytetään kokeen vaatimassa laimennuksessa (tämä voidaan varmistaa injisoimalla yksittäiset aromiyhdisteiden standardit kokeessa käytettävänä laimennuksina kohdassa 6.4 esitetyissä kaasuk-romatografiaolosuhteissa), ja vain vähintään kolmannen laatuluokan vettä standardin ISO 3696 määritelmän mukaisesti. Asetaali ja aset-aldehydi on säilytettävä pimeässä < 5 °C:n lämpötilassa. Kaikkia muita reagensseja voidaan säilyttää huoneenlämpötilassa.

- 5.1 Absoluuttinen etanoli (CAS 64-17-5)
- 5.2 Metanoli (CAS 67-56-1)
- 5.3 1-propanoli (CAS 71-23-8)
- 5.4 2-metyyli-1-propanoli (CAS 78-33-1)
- 5.5 Sopivia sisäisiä standardeja, joita voidaan käyttää, ovat 3-pentanol (CAS 584-02-1), 1-pentanol (CAS 71-41-0), 4-metyyli-1-pentanol (CAS 626-89-1) tai metyylinonanoaatti (CAS 1731-84-6).
- 5.6 2-metyyli-1-butanoli (CAS 137-32-6)
- 5.7 3-metyyli-1-butanoli (CAS 123-51-3)
- 5.8 Etyyliasetaat (CAS 141-78-6)
- 5.9 1-butanoli (CAS 71-36-3)
- 5.10 2-butanoli (CAS 78-92-2)
- 5.11 Asetaldehydi (CAS 75-07-0)
- 5.12 Asetaali (CAS 105-57-7)
- 5.13 40-prosenttinen (tilavuus/tilavuus) etanoliliuos
Kun valmistetaan liuos, jonka etanolikonsentraatio on 400 ml/l, kaadetaan 400 ml etanolia (5.1) 1 litran mittapulloon, tilavuus saate-taan 1 litraan tislattulla vedellä ja pullon sisältö sekoitetaan perusteellisesti.
- 5.14 Standardiliuosten valmistus ja säilytys (validoidussa menetelmässä käytetty menettely)
Standardiliuoksia on säilytettävä < 5 °C:n lämpötilassa ja ne on valmistettava uudelleen kuukausittain. Yhdisteiden ja liuosten massat on kirjattava 0,1 mg:n tarkkuudella.
- 5.14.1 Standardiliuos — A

Pipetoidaan jäljempänä luetellut reagenssit 100 ml:n mittapulloon, joka sisältää noin 60 ml etanoliliuosta (5.13) yhdisteiden haihtumisen välttämiseksi. Tilavuus saatetaan etanoliliuoksella (5.13) 100 ml:aan ja pullon sisältö sekoitetaan perusteellisesti. Pullon paino, kunkin lisätyn aineen paino ja sisällön lopullinen kokonaispaino kirjataan.

Yhdiste	Tilavuus (ml)
Metanoli (5.2)	3,0
1-propanoli (5.3)	3,0
2-metyyli-1-propanoli (5.4)	3,0
2-metyyli-1-butanoli (5.6)	3,0
3-metyyli-1-butanoli (5.7)	3,0
Etyyliasetaat (5.8)	3,0
1-butanoli (5.9)	3,0

▼B

Yhdiste	Tilavuus (ml)
2-butanoli (5.10)	3,0
Asetaldehydi (5.11)	3,0
Asetaali (5.12)	3,0

Huomautus 1 Asetaali ja asetalehydi kannattaa lisätä viimeiseksi haihtumisesta aiheutuvien häviöiden pienentämiseksi.

5.14.2 Standardiliuos — B

Pipetoidaan 3 ml 3-pentanolia tai muuta sopivaa sisäistä standardia (5.5) 100 ml:n mittapulloon, joka sisältää noin 80 ml etanoliliuosta (5.13), tilavuus saatetaan etanoliliuoksella (5.13) 100 ml:aan ja pullon sisältö sekoitetaan perusteellisesti.

Pullon paino, 3-pentanolin tai muun lisätyn sisäisen standardin paino ja pullon sisällön lopullinen kokonaispaino kirjataan.

5.14.3 Standardiliuos — C

Pipetoidaan 1 ml liuosta A (5.14.1) ja 1 ml liuosta B (5.14.2) 100 ml:n mittapulloon, joka sisältää noin 80 ml etanoliliuosta (5.13), tilavuus saatetaan etanoliliuoksella (5.13) 100 ml:aan ja pullon sisältö sekoitetaan perusteellisesti.

Pullon paino, jokaisen lisätyn aineosan paino ja pullon sisällön lopullinen kokonaispaino kirjataan.

5.14.4 Standardiliuos — D

Valmistetaan laadunvalvontastandardi käyttäen aikaisemmin valmistettua standardia A (5.14.1). Pipetoidaan 1 ml liuosta A (5.14.1) 100 ml:n mittapulloon, joka sisältää noin 80 ml etanoliliuosta (5.13). Tilavuus saatetaan etanoliliuoksella (5.13) 100 ml:aan ja pullon sisältö sekoitetaan perusteellisesti.

Pullon paino, jokaisen lisätyn aineosan paino ja pullon sisällön lopullinen kokonaispaino kirjataan.

5.14.5 Standardiliuos — E

Pipetoidaan 10 ml liuosta B (5.14.2) 100 ml:n mittapulloon, joka sisältää noin 80 ml etanoliliuosta (5.13). Tilavuus saatetaan etanoliliuoksella (5.13) 100 ml:aan ja pullon sisältö sekoitetaan perusteellisesti.

Pullon paino, jokaisen lisätyn aineosan paino ja pullon sisällön lopullinen kokonaispaino kirjataan.

5.14.6 Liekki-ionisaatiodektoirin (FID) vasteen lineaarisuuden tarkistamiseksi käytetyt standardiliuokset

Pipetoidaan erillisiin 100 ml:n mittapulloihin, jotka sisältävät noin 80 ml etanolia (5.13), 0, 0,1, 0,5, 1,0, 2,0 ml liuosta A (5.14.1) ja 1 ml liuosta B (5.14.2). Tilavuus saatetaan etanoliliuoksella (5.13) 100 ml:aan ja pullojen sisältö sekoitetaan perusteellisesti.

Pullon paino, jokaisen lisätyn aineosan paino ja pullon sisällön lopullinen kokonaispaino kirjataan.

5.14.7 Laadunvalvontastandardi

Pipetoidaan 9 ml standardiliuosta D (5.14.4) ja 1 ml standardiliuosta E (5.14.5) punnituspulloon ja sekoitetaan perusteellisesti.

Pullon paino, jokaisen lisätyn aineosan paino ja pullon sisällön lopullinen kokonaispaino kirjataan.

6 Laitteet ja välineet

6.1 Laite, jolla voidaan määrittää tiheys ja alkoholipitoisuus.

6.2 Analyysivaaka, jonka tarkkuus on neljä desimaalia.

6.3 Lämpötilaohjelmoitu kaasukromatografi, joka on varustettu liekki-ionisaatiodektoirilla ja integraattorilla tai muulla tietojenkäsittelyjärjestelmällä, jolla voidaan määrittää piikin ala tai piikin korkeus.

6.4 Kaasukromatografiakolonne (-kolonnit), joka erottaa analyytit siten että yksittäisten yhdisteiden (muiden kuin 2-metyyli-1-butanolin ja 3-metyyli-1-butanolin) välinen minimiresoluutio on vähintään 1,3.

▼B

Huomautus 2: Seuraavat kolonnit ja kaasukromatografiset olosuhteet ovat esimerkkejä, jotka sopivat tähän määrittelykseen:

1. Stationäärifaasiton esikolonne, pituus 1 m ja sisähalkaisija 0,32 mm, kytkettynä CP-WAX 57 CB -kolonniin, pituus 50 m ja sisähalkaisija 0,32 mm, faasin paksuus 0,2 µm (stabiloitu polyteeniglykoli), sen jälkeen Carbowax 400 -kolonne, pituus 50 m ja sisähalkaisija 0,32 mm, faasin paksuus 0,2 µm. (Kolonnit on liitetty press fit -liittimillä).

Kantajakaasu ja paine:	Helium (135 kPa)
Kolonnin lämpötilaohjelmointi:	17 minuuttia 35 °C, 12 °C/ minuutti, kunnes saavutetaan 70 °C, 25 minuuttia 70 °C.
Injektorin lämpötila:	150 °C
Detektorin lämpötila:	250 °C
Injektiotilavuus:	1 µl, split-suhde 20 – 100:1

2. Stationäärifaasiton esikolonne, pituus 1 m ja sisähalkaisija 0,32 mm, kytkettynä CP-WAX 57 CB -kolonniin, pituus 50 m ja sisähalkaisija 0,32 mm, faasin paksuus 0,2 µm (stabiloitu polyteeniglykoli). (Stationäärifaasiton esikolonne on liitetty press fit -liittimillä).

Kantajakaasu ja paine:	Helium (65 kPa)
Kolonnin lämpötilaohjelmointi:	10 minuuttia 35 °C, 5 °C/ minuutti, kunnes saavutetaan 110 °C, 30 °C/ minuutti, kunnes saavutetaan 190 °C, 2 minuuttia 190 °C.
Injektorin lämpötila:	260 °C
Detektorin lämpötila:	300 °C
Injektiotilavuus:	1 µl, split-suhde 55:1

3. Pakattu kolonne (5 % CW 20M, Carbopak B), pituus 2 m ja sisähalkaisija 2 mm.

Kolonnin lämpötilaohjelmointi:	4 minuuttia 65 °C, 10 °C/ minuutti, kunnes saavutetaan 140 °C, 5 minuuttia 140 °C, 5 °C/minuutti, kunnes saavutetaan 150 °C, 3 minuuttia 150 °C.
Injektorin lämpötila:	65 °C
Detektorin lämpötila:	200 °C
Injektiotilavuus:	1 µl

▼B

Näytteistä määritetään alkoholipitoisuus (6.1).

8 Suoritus (validoidussa menetelmässä käytetty menettely)

8.1 Tutkittava näyte

8.1.1 Punnitaan sopiva tiivis punnituspullo ja punnitustulos kirjataan.

8.1.2 Pipetoidaan 9 ml laboratorionäytettä pulloon ja punnitustulos kirjataan ($M_{\text{NÄYTE}}$).

8.1.3 Lisätään 1 ml standardiliuosta E (5.14.5) ja punnitustulos kirjataan (M_{IS}).

8.1.4 Näytettä ravistellaan voimakkaasti (näytettä käännellään ylösalaisin ainakin 20 kertaa). Ennen analyysiä näytteitä on säilytettävä alle 5 °C:n lämpötilassa haihtuvien aineiden hävikin välttämiseksi.

8.2 Nollakoe

8.2.1 Punnitaan sopiva tiivis punnituspullo käyttämällä vaakaa, jonka tarkkuus on neljä desimaalia (6.2), ja punnitustulos kirjataan.

8.2.2 Pulloon pipetoidaan 9 ml etanoliliuosta, jonka konsentraatio on 400 ml/l (5.13), ja punnitustulos kirjataan.

8.2.3 Lisätään 1 ml standardiliuosta E (5.14.5) ja punnitustulos kirjataan.

8.2.4 Tutkittavaa ainetta ravistellaan voimakkaasti (näytettä käännellään ylösalaisin vähintään 20 kertaa). Ennen analyysiä näytteitä on säilytettävä alle 5 °C:n lämpötilassa haihtuvien aineiden hävikin välttämiseksi.

8.3 Alustava koe

Kromatografiin injektoidaan standardiliuosta C (5.14.3), jonka avulla varmistetaan, että kromatografi erottaa analyytit vähintään erotuskyvyllä 1,3 (lukuun ottamatta 2-metyyli-1-butanolia ja 3-metyyli-1-butanolia).

8.4 Kalibrointi

Kalibrointi on tarkistettava seuraavasti. Varmistetaan, että vaste on lineaarinen, analysoimalla kolmesti peräkkäin sisäistä standardia (IS) sisältävät lineaarisuusstandardiliuokset (5.14.6). Jokaisen injektion osalta lasketaan integraattorin piikin aloista tai piikin korkeuksista kunkin yhdisteen R-suhde ja laaditaan graafinen esitys, joka esittää R:ää yhdisteen ja sisäisen standardin (IS) konsentraatioiden suhteen C funktiona. Tällöin tuloksena pitäisi olla suora, jonka korrelaatiokerroin on vähintään 0,99.

$$R = \frac{\text{Yhdisteen piikin ala tai korkeus}}{\text{Sisäisen standardin piikin ala tai korkeus}}$$

$$C = \frac{\text{Yhdisteen konsentraatio } (\mu\text{g/g})}{\text{Sisäisen standardin konsentraatio } (\mu\text{g/g})}$$

8.5 Määrittäminen

Kromatografiin injektoidaan standardiliuosta C (5.14.3) ja kaksi kertaa laadunvalvontastandardia (5.14.7). Sen jälkeen injektoidaan analysoitavat näytteet (jotka on valmistettu kohtien 8.1 ja 8.2 mukaisesti) sisällyttäen yhden laadunvalvontastandardin joka 10. näytteen jälkeen määrittämisjärjestelmän stabiilisuuden varmistamiseksi. Standardiliuosta C (5.14.3) injektoidaan joka 5. näytteen jälkeen.

9 Laskutoimitus

Automaattista tietojenkäsittelyjärjestelmää voidaan käyttää edellyttäen, että tiedot voidaan tarkistaa seuraavassa menetelmässä kuvattujen periaatteiden mukaisesti.

Mitataan yhdisteen ja sisäisen standardin piikin ala tai korkeus

9.1 Vastetekijän laskeminen.

Standardiliuoksen C (5.14.3) kromatogrammista lasketaan yhdisteiden vastetekijät käyttäen yhtälöä (1).

▼B

$$(1) \text{ Vastetekijä} = \frac{\text{Sisäisen standardin piikin ala tai korkeus}}{\text{Yhdisteen piikin ala tai korkeus}} \times \frac{\text{Yhdisteen konsentraatio } (\mu\text{g/g})}{\text{Sisäisen standardin konsentraatio } (\mu\text{g/g})}$$

jossa:

Yhdisteen konsentraatio = Yhdisteen konsentraatio liuoksessa C (5.14.3)

Sisäisen standardin konsentraatio = sisäisen standardin konsentraatio liuoksessa C (5.14.3).

9.1.2 Näytteen analyysi

Lasketaan yhdisteiden konsentraatiot näytteissä seuraavan yhtälön (2) avulla.

$$(2) \text{ Yhdisteen konsentraatio, } (\mu\text{g/g}) = \frac{\text{Yhdisteen piikin ala tai korkeus}}{\text{Sisäisen standardin piikin ala tai korkeus}} \times \frac{M_{\text{IS}} (\text{g})}{M_{\text{NÄYTE}} (\text{g})} \times \text{IS:n konsentraatio } (\mu\text{g/g}) \times \text{VT}$$

jossa:

$M_{\text{NÄYTE}}$ = näytteen paino (8.1.2);

M_{IS} = sisäisen standardin (IS) paino (8.1.3);

IS:n konsentraatio = sisäisen standardin konsentraatio liuoksessa E (5.14.5);

VT = vastetekijä, joka on laskettu yhtälön 1 mukaisesti.

9.1.3 Laadunvalvontastandardin analyysi

Lasketaan seuraavan yhtälön (3) mukaisesti laadunvalvontastandardin (5.14.7) sisältämien yhdisteiden saantoprosentit:

$$3) \text{ Laadunvalvontanäytteen saantoprosentti} = \frac{\text{Analyytin konsentraatio laadunvalvontastandardissa}}{\text{Analyytin konsentraatio liuoksessa}} \times 100$$

Analyytin konsentraatio laadunvalvontastandardissa lasketaan edellä esitettyjen yhtälöiden (1) ja (2) mukaisesti.

9.2 Tulosten esittäminen

Konsentraatio, joka on ilmoitettu mikrogrammoina grammaa kohti ($\mu\text{g/g}$), muutetaan grammoiksi 100 litraa absoluuttista alkoholia kohti yhtälön (4) mukaisesti:

$$4) \text{ Konsentraatio grammoina 100 litraa absoluuttista alkoholia kohti} = \text{Konsentraatio } (\mu\text{g/g}) \times \rho \times 10 / (\text{alkoholipitoisuus tilavuusprosenttina} \times 1\,000)$$

missä

ρ = tiheys, kg/m^3

Tulokset esitetään kolmen merkitsevän numeron tarkkuudella käyttäen enintään yhtä desimaalia, esimerkiksi 11,4 grammaa alkoholia 100 litraa absoluuttista alkoholia kohti.

10 Laadunvarmistus ja valvonta (käytetty validoidussa menetelmässä)

Lasketaan edellä esitetyn yhtälön (2) mukaisesti yhdisteiden konsentraatio laadunvalvontastandardeissa, jotka on valmistettu noudattaen kohdissa 8.1.1—8.1.4 esitettyä menettelyä. Lasketaan yhtälön (3) mukaisesti saanto prosentteina. Jos yhdisteiden analyysitulokset poikkeavat enintään ± 10 prosenttia teoreettisista arvoista, määrittäviä voidaan jatkaa. Ellei näin ole, epätarkkuuteen johtaneet syyt tulee selvittää ja asiaankuuluvat parannukset tulee tehdä.

▼B

11 Menetelmän suoritusarvot (mittaustarkkuus)

Laboratorioiden välisen testauksen tilastolliset tulokset: Seuraavissa taulukoissa esitetään seuraavia yhdisteitä koskevat tulokset: etanoli, etyyliasetaatti, asetaali, etanolin kokonaismäärä, metanoli, 2-butanoli, 1-propanoli, 1-butanoli, 2-metyyli-1-propanoli, 2-metyyli-1-butanoli, 3-metyyli-1-butanoli.

Seuraavat tulokset saatiin kansainvälisestä menetelmän suorituskykyä arvioivasta tutkimuksesta, joka toteutettiin kansainvälisesti hyväksyttyjen menetelmien mukaisesti.

Laboratorioiden välisen testauksen suoritusvuosi	1997
Laboratorioiden lukumäärä	32
Näytteiden lukumäärä	5
Analyytti	etanaali

Näytteet	A	B	C	D	E
Laboratorioiden lukumäärä, kun suuresti poikkeavia tuloksia saaneet laboratoriot on poistettu	28	26	27	27	28
Suuresti poikkeavien tulosten määrä (laboratoriot)	2	4	3	3	2
Hyväksyttyjen tulosten lukumäärä	56	52	54	54	56
Keskiarvo ($\bar{x}$) $\mu\text{g/g}$	63,4	71,67	130,4	38,4	28,6
				13,8 (*)	52,2 (*)
Toistettavuuden keskihajonta (s_r), $\mu\text{g/g}$	3,3	1,9	6,8	4,1	3,6
Toistettavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD_r), (%)	5,2	2,6	5,2	15,8	8,9
Toistettavuusraja (r), $\mu\text{g/g}$	9,3	5,3	19,1	11,6	10,1
Uusittavuuden keskihajonta (s_R), $\mu\text{g/g}$	12	14	22	6,8	8,9
Uusittavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD_R), (%)	18,9	19,4	17,1	26,2	22,2
Uusittavuusraja (R), $\mu\text{g/g}$	33,5	38,9	62,4	19,1	25,1

Näytetyypit:

- A Brandy, rinnakkaiset sokkonäytteet.
- B Kirsikkaviina, rinnakkaiset sokkonäytteet.
- C Grappa, rinnakkaiset sokkonäytteet.
- D Viski, eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*).
- E Rommi, eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*).

Laboratorioiden välisen testauksen suoritusvuosi	1997
Laboratorioiden lukumäärä	32
Näytteiden lukumäärä	5
Analyytti	etyyliasetaatti

Näytteet	A	B	C	D	E
Laboratorioiden lukumäärä, kun suuresti poikkeavia tuloksia saaneet laboratoriot on poistettu	24	24	25	24	24
Suuresti poikkeavien tulosten määrä (laboratoriot)	2	2	1	2	2
Hyväksyttyjen tulosten lukumäärä	48	48	50	48	48
Keskiarvo ($\bar{x}$) $\mu\text{g/g}$	96,8	1 046	120,3	112,5	99,1
				91,8 (*)	117,0 (*)

▼B

Näytteet	A	B	C	D	E
Toistettavuuden keskihajonta (s_r), $\mu\text{g/g}$	2,2	15	2,6	2,1	2,6
Toistettavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD_r), (%)	2,3	1,4	2,1	2,0	2,4
Toistettavuusraja (r), $\mu\text{g/g}$	6,2	40,7	7,2	5,8	7,3
Uusittavuuden keskihajonta (s_R), $\mu\text{g/g}$	6,4	79	8,2	6,2	7,1
Uusittavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD_R), (%)	6,6	7,6	6,8	6,2	6,6
Uusittavuusraja (R), $\mu\text{g/g}$	17,9	221,9	22,9	17,5	20,0

Näytetyypit:

A Brandy, rinnakkaiset sokkonäytteet.

B Kirsikkaviina, rinnakkaiset sokkonäytteet.

C Grappa, rinnakkaiset sokkonäytteet.

D Viski, eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*).

E Rommi, eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*).

Laboratorioiden välisen testauksen suoritusvuosi	1997
Laboratorioiden lukumäärä	32
Näytteiden lukumäärä	5
Analyytti	asetaaali

Näytteet	A	B	C	D	E
Laboratorioiden lukumäärä, kun suuresti poikkeavia tuloksia saaneet laboratoriot on poistettu	20	21	22	17	21
Suuresti poikkeavien tulosten määrä (laboratoriot)	4	3	2	4	3
Hyväksyttyjen tulosten lukumäärä	40	42	44	34	42
Keskiarvo ($\bar{x}$) $\mu\text{g/g}$	35,04	36,46	68,5	20,36	15,1
				6,60 (*)	28,3 (*)
Toistettavuuden keskihajonta (s_r), $\mu\text{g/g}$	0,58	0,84	1,6	0,82	1,9
Toistettavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD_r), (%)	1,7	2,3	2,3	6,1	8,7
Toistettavuusraja (r), $\mu\text{g/g}$	1,6	2,4	4,4	2,3	5,3
Uusittavuuden keskihajonta (s_R), $\mu\text{g/g}$	4,2	4,4	8,9	1,4	3,1
Uusittavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD_R), (%)	12,1	12,0	13,0	10,7	14,2
Uusittavuusraja (R), $\mu\text{g/g}$	11,8	12,2	25,0	4,0	8,7

Näytetyypit:

A Brandy, rinnakkaiset sokkonäytteet.

B Kirsikkaviina, rinnakkaiset sokkonäytteet.

C Grappa, rinnakkaiset sokkonäytteet.

D Viski, eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*).

E Rommi, eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*).

Laboratorioiden välisen testauksen suoritusvuosi	1997
Laboratorioiden lukumäärä	32
Näytteiden lukumäärä	5
Analyytti	kokonaisetanaali

▼B

Näytteet	A	B	C	D	E
Laboratorioiden lukumäärä, kun suuresti poikkeavia tuloksia saaneet laboratoriot on poistettu	23	19	22	21	22
Suuresti poikkeavien tulosten määrä (laboratoriot)	1	5	2	3	2
Hyväksytyjen tulosten lukumäärä	46	38	44	42	44
Keskiarvo ($\bar{x}$) $\mu\text{g/g}$	76,5	85,3	156,5	45,4 15,8 (*)	32,7 61,8 (*)
Toistettavuuden keskihajonta (s_r), $\mu\text{g/g}$	3,5	1,3	6,5	4,4	3,6
Toistettavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD _r), (%)	4,6	1,5	4,2	14,2	7,6
Toistettavuusraja (r), $\mu\text{g/g}$	9,8	3,5	18,3	12,2	10,0
Uusittavuuden keskihajonta (s_R), $\mu\text{g/g}$	13	15	24,1	7,3	9,0
Uusittavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD _R), (%)	16,4	17,5	15,4	23,7	19,1
Uusittavuusraja (R), $\mu\text{g/g}$	35,2	41,8	67,4	20,3	25,2

Näytetyypit:

A Brandy, rinnakkaiset sokkonäytteet.

B Kirsikkaviina, rinnakkaiset sokkonäytteet.

C Grappa, rinnakkaiset sokkonäytteet.

D Viski, eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*).

E Rommi, eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*).

Laboratorioiden välisen testauksen suoritusvuosi	1997
Laboratorioiden lukumäärä	32
Näytteiden lukumäärä	5
Analyytti	metanoli

Näytteet	A	B	C	D	E
Laboratorioiden lukumäärä, kun suuresti poikkeavia tuloksia saaneet laboratoriot on poistettu	26	27	27	28	25
Suuresti poikkeavien tulosten määrä (laboratoriot)	4	3	3	1	4
Hyväksytyjen tulosten lukumäärä	52	54	54	56	50
Keskiarvo ($\bar{x}$) $\mu\text{g/g}$	319,8	2 245	1 326	83,0 61,5 (*)	18,6 28,9 (*)
Toistettavuuden keskihajonta (s_r), $\mu\text{g/g}$	4,4	27	22	1,5	1,3
Toistettavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD _r), (%)	1,4	1,2	1,7	2,1	5,6
Toistettavuusraja (r), $\mu\text{g/g}$	12,3	74,4	62,5	4,3	3,8
Uusittavuuden keskihajonta (s_R), $\mu\text{g/g}$	13	99	60	4,5	2,8
Uusittavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD _R), (%)	3,9	4,4	4,6	6,2	11,8
Uusittavuusraja (R), $\mu\text{g/g}$	35,2	278,3	169,1	12,5	7,9

Näytetyypit:

A Brandy, rinnakkaiset sokkonäytteet.

B Kirsikkaviina, rinnakkaiset sokkonäytteet.

C Grappa, rinnakkaiset sokkonäytteet.

D Viski, eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*).

E Rommi, eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*).

▼B

Laboratorioiden välisen testauksen suoritusvuosi 1997
 Laboratorioiden lukumäärä 32
 Näytteiden lukumäärä 4
 Analyytti 2-butanoli

Näytteet	A	B	C	E
Laboratorioiden lukumäärä, kun suuresti poikkeavia tuloksia saaneet laboratoriot on poistettu	21	27	29	22
Suuresti poikkeavien tulosten määrä (laboratoriot)	4	3	1	3
Hyväksytyjen tulosten lukumäärä	42	54	58	44
Keskiarvo ($\bar{x}$) µg/g	5,88	250,2	27,57	5,83 14,12 (*)
Toistettavuuden keskihajonta (s_p), µg/g	0,40	2,2	0,87	0,64
Toistettavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD _p), (%)	6,8	0,9	3,2	6,4
Toistettavuusraja (r), µg/g	1,1	6,1	2,5	1,8
Uusittavuuden keskihajonta (s_R), µg/g	0,89	13	3,2	0,87
Uusittavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD _R), (%)	15,2	5,1	11,5	8,7
Uusittavuusraja (R), µg/g	2,5	35,5	8,9	2,4

Näytetyypit:

- A Brandy, rinnakkaiset sokkonäytteet.
 B Kirsikkaviina, rinnakkaiset sokkonäytteet.
 C Grappa, rinnakkaiset sokkonäytteet.
 E Rommi, eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*).

Laboratorioiden välisen testauksen suoritusvuosi 1997
 Laboratorioiden lukumäärä 32
 Näytteiden lukumäärä 5
 Analyytti 1-propanoli

Näytteet	A	B	C	D	E
Laboratorioiden lukumäärä, kun suuresti poikkeavia tuloksia saaneet laboratoriot on poistettu	29	27	27	29	29
Suuresti poikkeavien tulosten määrä (laboratoriot)	2	4	3	2	2
Hyväksytyjen tulosten lukumäärä	58	54	54	58	58
Keskiarvo ($\bar{x}$) µg/g	86,4	3 541	159,1	272,1 229,3 (*)	177,1 222,1 (*)
Toistettavuuden keskihajonta (s_p), µg/g	3,0	24	3,6	2,3	3,3
Toistettavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD _p), (%)	3,4	0,7	2,3	0,9	1,6
Toistettavuusraja (r), µg/g	8,3	68,5	10,0	6,4	9,1
Uusittavuuden keskihajonta (s_R), µg/g	5,3	150	6,5	9,0	8,1

▼B

Näytteet	A	B	C	D	E
Uusittavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD_R), (%)	6,1	4,1	4,1	3,6	4,1
Uusittavuusraja (R), µg/g	14,8	407,2	18,2	25,2	22,7

Näytetyypit:

- A Brandy, rinnakkaiset sokkonäytteet.
 B Kirsikkaviina, rinnakkaiset sokkonäytteet.
 C Grappa, rinnakkaiset sokkonäytteet.
 D Viski, eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*).
 E Rommi, eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*).

Laboratorioiden välisen testauksen suoritusvuosi 1997
 Laboratorioiden lukumäärä 32
 Näytteiden lukumäärä 5
 Analyytti 1-butanoli

Näytteet	A	B	C
Laboratorioiden lukumäärä, kun suuresti poikkeavia tuloksia saaneet laboratoriot on poistettu	20	22	22
Suuresti poikkeavien tulosten määrä (laboratoriot)	4	4	6
Hyväksytyjen tulosten lukumäärä	40	44	44
Keskiarvo ($\bar{x}$) µg/g	3,79	5,57	7,54
Toistettavuuden keskihajonta (s_r), µg/g	0,43	0,20	0,43
Toistettavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD_r), (%)	11,2	3,6	5,6
Toistettavuusraja (r), µg/g	1,1	0,6	1,2
Uusittavuuden keskihajonta (s_R), µg/g	0,59	0,55	0,82
Uusittavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD_R), (%)	15,7	9,8	10,8
Uusittavuusraja (R), µg/g	1,7	1,5	2,3

Näytetyypit:

- A Brandy, rinnakkaiset sokkonäytteet.
 B Kirsikkaviina, rinnakkaiset sokkonäytteet.
 C Grappa, rinnakkaiset sokkonäytteet.

Laboratorioiden välisen testauksen suoritusvuosi 1997
 Laboratorioiden lukumäärä 32
 Näytteiden lukumäärä 5
 Analyytti 2-metyyli-1-propanoli

Näytteet	A	B	C	D	E
Laboratorioiden lukumäärä, kun suuresti poikkeavia tuloksia saaneet laboratoriot on poistettu	28	31	30	26	25
Suuresti poikkeavien tulosten määrä (laboratoriot)	3	0	1	5	6
Hyväksytyjen tulosten lukumäärä	56	62	60	52	50
Keskiarvo ($\bar{x}$) µg/g	174,2	111,7	185,0	291,0	115,99
				246,8 (*)	133,87 (*)

▼B

Näytteet	A	B	C	D	E
Toistettavuuden keskihajonta (s_r), $\mu\text{g/g}$	2,3	1,6	2,5	1,8	0,74
Toistettavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD_r), (%)	1,3	1,4	1,3	0,7	0,6
Toistettavuusraja (r), $\mu\text{g/g}$	6,4	4,5	6,9	5,0	2,1
Uusittavuuden keskihajonta (s_R), $\mu\text{g/g}$	8,9	8,9	9,7	6,0	6,2
Uusittavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD_R), (%)	5,1	8,0	5,2	2,2	5,0
Uusittavuusraja (R), $\mu\text{g/g}$	24,9	24,9	27,2	16,9	17,4

Näytetyypit:

A Brandy, rinnakkaiset sokkonäytteet.

B Kirsikkaviina, rinnakkaiset sokkonäytteet.

C Grappa, rinnakkaiset sokkonäytteet.

D Viski, eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*).

E Rommi, eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*).

Laboratorioiden välisen testauksen suoritusvuosi	1997
Laboratorioiden lukumäärä	32
Näytteiden lukumäärä	5
Analyytti	2-metyyli-1-butanoli

Näytteet	A	B	C	D	E
Laboratorioiden lukumäärä, kun suuresti poikkeavia tuloksia saaneet laboratoriot on poistettu	25	26	25	27	25
Suuresti poikkeavien tulosten määrä (laboratoriot)	3	2	3	1	2
Hyväksytyjen tulosten lukumäärä	50	52	50	54	50
Keskiarvo ($\bar{x}$) $\mu\text{g/g}$	113,0	48,3	91,6	72,1	39,5
				45,2 (*)	61,5 (*)
Toistettavuuden keskihajonta (s_r), $\mu\text{g/g}$	2,1	1,5	1,7	2,3	2,3
Toistettavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD_r), (%)	1,9	3,1	1,8	3,9	4,5
Toistettavuusraja (r), $\mu\text{g/g}$	6,0	4,2	4,7	6,4	6,3
Uusittavuuden keskihajonta (s_R), $\mu\text{g/g}$	7,4	3,8	6,6	4,7	4,5
Uusittavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD_R), (%)	6,6	7,9	7,2	8,1	8,8
Uusittavuusraja (R), $\mu\text{g/g}$	20,8	10,7	18,4	13,3	12,5

Näytetyypit:

A Brandy, rinnakkaiset sokkonäytteet.

B Kirsikkaviina, rinnakkaiset sokkonäytteet.

C Grappa, rinnakkaiset sokkonäytteet.

D Viski, eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*).

E Rommi, eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*).

Laboratorioiden välisen testauksen suoritusvuosi	1997
Laboratorioiden lukumäärä	32
Näytteiden lukumäärä	5
Analyytti	3-metyyli-1-butanoli

▼ **B**

Näytteet	A	B	C	D	E
Laboratorioiden lukumäärä, kun suuresti poikkeavia tuloksia saaneet laboratoriot on poistettu	23	23	24	27	21
Suuresti poikkeavien tulosten määrä (laboratoriot)	5	5	4	1	6
Hyväksyttyjen tulosten lukumäärä	46	46	48	54	42
Keskiarvo ($\bar{x}$) $\mu\text{g/g}$	459,4	242,7	288,4	142,2 120,4 (*)	212,3 245,6 (*)
Toistettavuuden keskihajonta (s_r), $\mu\text{g/g}$	5,0	2,4	3,4	2,4	3,2
Toistettavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD_r), (%)	1,1	1,0	1,2	1,8	1,4
Toistettavuusraja (r), $\mu\text{g/g}$	13,9	6,6	9,6	6,6	9,1
Uusittavuuden keskihajonta (s_R), $\mu\text{g/g}$	29,8	13	21	8,5	6,7
Uusittavuuden suhteellinen keskihajonta (RSD_R), (%)	6,5	5,2	7,3	6,5	2,9
Uusittavuusraja (R), $\mu\text{g/g}$	83,4	35,4	58,8	23,8	18,7

Näytetyypit:

A Brandy, rinnakkaiset sokkonäytteet.

B Kirsikkaviina, rinnakkaiset sokkonäytteet.

C Grappa, rinnakkaiset sokkonäytteet.

D Viski, eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*).

E Rommi, eri pitoisuuden omaavat rinnakkaisnäytteet (*).

▼M1

V ANETOLI. TISLATTUJEN ALKOHOLIJUOMIEN TRANS-ANETOLIN KAASUKROMATOGRAFINEN MÄÄRITYS

1 Soveltamisala

Tämä menetelmä soveltuu trans-anetolin määrittämiseen aniksella maustetuista tislatuista alkoholijuomista kapillaarikaasukromatografian avulla.

2 Viittaukset säännöksiin ja määräyksiin

ISO 3696: 1987 Analyyttiseen laboratoriokäyttöön tarkoitettu vesi — Määritelmä ja testimenetelmät

3 Periaate

Tislatus alkoholijuoman trans-anetolikonsentraatio määritetään kaasukromatografisesti. Testattavaan näytteeseen ja konsentraatioltaan tunnettuun vertailuliukseen lisätään sama määrä sisäistä standardia, esimerkiksi 4-allyylianisolia (estragolia), kun näytteessä ei ole luonnostaan estragolia. Molemmat liuokset laimennetaan 45 % vol etanoliliuoksella ja injektoidaan suoraan kaasukromatografiin. Runsaasti sokereita sisältävät liköörit on uutettava ennen näytteenvalmistusta ja analyysia.

4 Reagenssit ja materiaalit

Analyysissä käytettyjen reagenssien puhtausasteen on oltava vähintään 98 %. Analyysissä käytetään vain standardin ISO 3696 mukaista vähintään kolmannen laatu luokan vettä.

Vertailukemikaalit on säilytettävä kylmässä (noin 4 °C), pimeässä, alumiinisäiliöissä tai tummissa lasisissa reagenssipulloissa. Tulpissa käytetään mielellään alumiiniitiivistettä. Trans-anetoli täytyy ”sulattaa” kiteisestä muodostaan ennen käyttöä, mutta tällöin sen lämpötila ei saa missään vaiheessa ylittää 35 °C:ta.

4.1 96 % vol etanoli (CAS 64-17-5)

4.2 1-metoksi-4-(1-propenyli)bentseeni; (trans-anetoli) (CAS 4180-23-8)

4.3 4-allyylianisoli, (estragoli) (CAS 140-67-0), ehdotetaan käytettäväksi sisäisenä standardina

4.4 45 % vol etanoli

Lisätään 560 g tislattua vettä 378 g:aan 96 % vol etanolia.

4.5 Standardiliuosten valmistaminen

Standardiliuoksia säilytetään huoneenlämpötilassa (15–35 °C) pimeässä, alumiinisäiliöissä tai tummissa lasisissa reagenssipulloissa. Tulpassa on oltava mielellään alumiiniitiiviste.

Trans-anetoli ja 4-allyylianisoli ovat käytännössä veteen liukenemattomia, ja sen vuoksi trans-anetoli ja 4-allyylianisoli täytyy liuottaa pieneen määrään 96 % vol etanolia (4.1) ennen 45 % vol etanolin (4.4) lisäämistä.

Varastoliuokset tulee valmistaa uudelleen aina viikon välein.

4.5.1 Standardiliuos A

Trans-anetolin varastoliuos (konsentraatio: 2 g/l)

Punnitaan 40 mg trans-anetolia (4.2) 20 ml:n mittapulloon (tai 400 mg 200 ml:n pulloon ja niin edelleen). Lisätään hieman 96 % vol etanolia (4.1) ja täytetään tilavuuteen 45 % vol etanolilla (4.4). Sekoitetaan perusteellisesti.

4.5.2 Sisäinen standardi, liuos B

Sisäisen standardin, esimerkiksi estragolin varastoliuos (konsentraatio: 2 g/l).

Punnitaan 40 mg estragolia (4.3) 20 ml:n mittapulloon (400 mg 200 ml:n pulloon ja niin edelleen). Lisätään hieman 96 % vol etanolia (4.1) ja täytetään tilavuuteen 45 % vol etanolilla (4.4). Sekoitetaan perusteellisesti.

▼M1

- 4.5.3 Liekki-ionisaatiodetektorin (FID) vasteen lineaarisuuden tarkistamiseksi käytettävät liuokset

Liekki-ionisaatiodetektorin vasteen lineaarisuus on tarkistettava konsentraatioalueella, joka vastaa tislattujen juomien anetolipitoisuutta 0 grammasta litrassa 2,5 grammaan litrassa. Analyysiä tehtäessä analysoitavien tislattujen alkoholijuomien näytteet laimennetaan kymmenkertaisesti (8.3). Menetelmässä kuvattuun analyysiin tarvittavat lineaarisuusstandardiliuokset, jotka vastaavat analysoitavan näytteen trans-anetolikonsentraatioita 0, 0,05, 0,1, 0,15, 0,2 ja 0,25 g/l, valmistetaan seuraavasti: otetaan 0,5, 1, 1,5, 2 ja 2,5 ml varastoliuosta A (4.5.1) ja pipetoidaan ne erillisiin 20 ml:n mittapulloihin. Pipetoidaan kuhunkin pulloon 2 ml sisäistä standardiliuosta B (4.5.2). Täytetään merkkiviivaan 45 % vol etanolilla (4.4) ja pullojen sisältö sekoitetaan perusteellisesti.

Nollaliuosta (8.4) käytetään 0 g/l -liuoksena.

- 4.5.4 Standardiliuos C

Pipetoidaan 2 ml standardiliuosta A (4.5.1) 20 ml:n mittapulloon. Lisätään 2 ml sisäistä standardia, liuosta B (4.5.2) ja täytetään merkkiin 45 % vol etanolilla (4.4). Sekoitetaan perusteellisesti.

5 Laitteet ja välineet

- 5.1 Kapillaarikaasukromatografi, jossa on liekki-ionisaatiodetektori (FID) ja integraattori tai muu tietojenkäsittelyjärjestelmä, jolla voidaan mitata piikkien korkeuksia tai pinta-aloja, sekä automaattinen näytteensyöttäjä tai näytteen manuaaliseen injektointiin tarvittavat laitteet.

- 5.2 Split/splitless-injektori

- 5.3 Kapillaarikolonne, joka voi olla esimerkiksi seuraavanlainen:

Pituus: 50 m,

Sisähalkaisija: 0,32 mm,

Faasin paksuus: 0,2 µm,

Stationäärifaasi: FFAP — silloitettu, huokoinen modifioitu TPA-polyeteleeniglykolipolymeeri.

- 5.4 Normaalit laboratoriolaitteet: A-luokan lasisia mittavälineitä, analyysivaaka (tarkkuus: ± 0,1 mg).

6 Kromatografian ajo-olosuhteet

Kolonnin tyypin ja dimensioiden sekä kaasukromatografian ajo-olosuhteiden tulee olla sellaiset, että anetoli ja sisäinen standardi erottuvat toisistaan ja mahdollisista mittausta häiritsevistä yhdisteistä. Esimerkissä 5.3 esitetyn kolonnin tyypilliset olosuhteet ovat seuraavat:

- 6.1 Kantajakaasu: helium, analyttinen laatu
- 6.2 Virtausnopeus: 2 ml/min
- 6.3 Injektorin lämpötila: 250 °C
- 6.4 Detektorin lämpötila: 250 °C
- 6.5 Uunin lämpötilaolosuhteet: isoterminen, 180 °C, ajoaika 10 minuuttia
- 6.6 Injektoitava määrä: 1 µl, split 1:40.

7 Näytteet

Näytteet on säilytettävä huoneenlämpötilassa suojassa valolta ja kylmältä.

8 Mittauksen suoritus

- 8.1 Estragolin tutkiminen näytteestä

Jotta voidaan varmistua siitä, ettei näytteessä ole luonnostaan estragolia, näyte analysoidaan sisäistä standardia lisäämättä. Jos näytteessä on luonnostaan estragolia, täytyy valita jokin toinen sisäinen standardi (esimerkiksi mentoli).

Pipetoidaan 2 ml näytettä 20 ml:n mittapulloon ja tilavuus täytetään merkkiin 45 % vol etanolilla (4.4). Sekoitetaan perusteellisesti.

▼ **M1**

- 8.2 Tutkittavien näytteiden valmistaminen
- Pipetoidaan 2 ml näytettä 20 ml:n mittapulloon ja lisätään 2 ml sisäistä standardia, liuosta B (4.5.2). Täytetään merkkiin 45 % vol etanolilla (4.4) ja pullon sisältö sekoitetaan perusteellisesti.
- 8.3 Nollanäyte
- Pipetoidaan 2 ml sisäistä standardia, liuosta B (4.5.2) 20 ml:n mittapulloon ja täytetään merkkiin 45 % vol etanolilla (4.4). Sekoitetaan perusteellisesti.
- 8.4 Lineaarisuuden testaus
- Ennen analyysin aloittamista tulee varmistaa liekki-ionisaatiodetektorin (FID) vasteen lineaarisuus analysoimalla peräkkäin kolme rinnakkaisnäytettä kustakin lineaarisuusstandardiliuoksesta (4.5.3).
- Integraattorin piikkien pinta-alojen tai piikkien korkeuksien perusteella piirretään kuvaaja, jonka akseleina on standardin emoliuoksen konsentraatio (g/l) ja suhdeluku R.
- $$R = \frac{\text{trans-anetolipiikin korkeus tai pinta-ala jaettuna estragolipiikin korkeudella tai pinta-alalla.}}{\text{pinta-ala}}$$
- Kuvaajan pitäisi olla lineaarinen.
- 8.5 Määrittäminen
- Injektoidaan nollanäyte (8.3), sen jälkeen standardiliuos C (4.5.4), sen jälkeen yksi lineaarisuusstandardi (4.5.3), joka toimii laadunvalvontanäytteenä (se voidaan valita tutkittavan näytteen todennäköisen trans-anetolipitoisuuden mukaan), sitten viisi tutkittavaa näytettä (8.2). Jokaisen viiden tutkittavan näytteen jälkeen injektoidaan lineaarisuusnäyte (laadunvalvontanäyte) analyysin stabiiliuden varmistamiseksi.
- 9 **Vastekertoimen laskeminen**
- Mitataan joko piikkien pinta-alat (integraattorin tai tietojenkäsittelyjärjestelmän avulla) tai piikkien korkeudet (manuaalinen määrittäminen) trans-anetolin ja sisäisen standardin piikeille.
- 9.1 Vastekertoimen (RF_i) laskeminen
- Vastekerroin lasketaan seuraavasti:
- $$RF_i = (C_i / \text{pinta-ala tai korkeus } i) * (\text{pinta-ala tai korkeus is} / C_{is})$$
- missä:
- C_i on trans-anetolin konsentraatio standardiliuos A:ssa (4.5.1)
- C_{is} on sisäisen standardin konsentraatio standardiliuos B:ssä (4.5.2)
- pinta-ala_i on trans-anetolin piikin pinta-ala (tai korkeus)
- pinta-ala_{is} on sisäisen standardin piikin pinta-ala (tai korkeus)
- RF_i lasketaan standardiliuoksen C (4.5.4) viidestä rinnakkaismäärittäyksestä.
- 9.2 Vasteen lineaarisuuden tutkimiseen käytettävien lineaarisuusstandardien analysointi
- Injektoidaan lineaarisuusstandardiliuokset (4.5.3).
- 9.3 Näytteen analysointi
- Injektoidaan tutkittava näyteliuos (8.2).
- 10 **Tulosten laskeminen**
- Trans-anetolin konsentraatio lasketaan seuraavasta kaavasta:
- $$c_i = C_{is} * (\text{pinta-ala tai korkeus } i / \text{pinta-ala tai korkeus is}) * RF_i$$
- missä:
- c_i on tutkittavan näytteen trans-anetolikonsentraatio
- C_{is} on sisäisen standardin konsentraatio standardiliuos B:ssä (4.5.2)
- Pinta-ala tai korkeus_i on trans-anetolin piikin pinta-ala tai korkeus

▼M1

Pinta-ala tai korkeus_{is} on sisäisen standardin piikin pinta-ala tai korkeus

RF_i on vastekerroin (laskettu kohdan 9.1 mukaisesti)

Trans-anetolikonsentraatio ilmoitetaan grammoina litrassa yhden desimaalin tarkkuudella.

11 Laadunvarmistus ja laadunvalvonta

Kromatogrammien tulee olla sellaiset, että anetoli ja sisäinen standardi erottuvat toisistaan ja mahdollisista mittausta häiritsevästä yhdisteistä. RF_i-arvo lasketaan standardiliuoksen C (4.5.4) viidestä rinnakkaismäärityksestä. Jos variaatiokerroin (CV % = (keskihajonta/keskiarvo)*100) on välillä ± 1 %, RF_i:n keskiarvo hyväksytään.

Edellä olevaa laskutoimitusta on käytettävä laadunvalvontanäytteen trans-anetolin konsentraation laskemiseen.

Jos laadunvalvontanäytteen tuloksista laskettu keskiarvo poikkeaa vähemmän kuin ± 2,5 % sen teoreettisesta arvosta, tutkittavien näytteiden tulokset voidaan hyväksyä.

12 Runsaasti sokeria sisältävän alkoholinäytteen ja liköörinäytteen käsittely ennen kaasukromatografianalyysiä

Alkoholi on uutettava runsaasti sokeria sisältävästä alkoholipitoisesta juomasta, jotta trans-anetolikonsentraatio voidaan analysoida kapillaarikaasukromatografisesti.

12.1 Periaate

Otetaan liköörinäytteestä määräosuus ja lisätään siihen sisäinen standardi, jonka pitoisuus on samaa suuruusluokkaa kuin trans-anetolin pitoisuus liköörissä. Näytteeseen lisätään natriumfosfaatin dodekahydraattia ja vedetöntä ammoniumsulfaattia. Saatu seos ravistetaan hyvin ja jäähdytetään, jolloin syntyy kaksi kerrosta. Näistä ylempi, alkoholikerros, otetaan talteen. Tästä alkoholikerroksesta otetaan määräosuus, joka laimennetaan 45 % vol etanolilla (4.4) (huomautus: tässä vaiheessa ei lisätä sisäistä standardia, koska se on jo lisätty). Saatu liuos analysoidaan kaasukromatografisesti.

12.2 Reagenssit ja materiaalit

Uutossa käytetään vain reagensseja, joiden puhtaus on vähintään 99 %.

12.2.1 Ammoniumsulfaatti, vedetön (CAS 7783-20-2)

12.2.2 Natriumfosfaatti, kaksimäksinen, dodekahydraatti (CAS 10039-32-4)

12.3 Laitteet ja välineet

Erlenmeyerkolveja, jääkaappi.

12.4 Suoritus

12.4.1 Estragolin tutkiminen näytteestä

Jotta voidaan varmistua siitä, ettei näytteessä ole luonnostaan estragolia, tehdään nollauutto (12.4.2), jossa näyte analysoidaan ilman sisäistä standardia. Jos näytteessä on luonnostaan estragolia, täytyy valita jokin toinen sisäinen standardi.

12.4.2 Utto

Pipetoidaan 5 ml 96 % vol etanolia (4.1) erlenmeyerkolviin, punnitaan samaan kolviin 50 mg sisäistä standardia (4.3) ja lisätään 50 ml näytettä. Lisätään 12 g vedetöntä ammoniumsulfaattia (12.2.1) ja 8,6 g kaksimäksistä natriumfosfaatin dodekahydraattia (12.2.2). Suljetaan erlenmeyerkolvi tulpalla.

Ravistetaan kolvia vähintään 30 minuutin ajan. Mekaanista ravistuslaitetta voidaan käyttää, ei kuitenkaan teflonpinnoitettua magneettisauvaa, koska osa trans-anetolista imeytyy tefloniin. Huomaa, että liuokseen lisätyt suolat eivät liukene täysin.

Suljettu kolvi pannaan jääkaappiin (T < 5 °C) vähintään kahden tunnin ajaksi.

Tämän jälkeen pullossa pitää olla kaksi selvästi erillistä kerrosta ja kiinteä jäännös. Alkoholikerroksen tulee olla kirkas. Jos se ei ole kirkas, pullo pannaan takaisin jääkaappiin, kunnes kerrokset ovat erottuneet selvästi.

▼ **M1**

Kun alkoholikerros on kirkas, otetaan siitä varovasti määräosuus (esimerkiksi 10 ml) ja varotaan koskemasta vesikerrokseen. Määräosuus pannaan tummaan pulloon, joka suljetaan huolella.

12.4.3 Analysoitavan uuttonäytteen valmistaminen

Uutteen (12.4.2) annetaan lämmetä huoneenlämpötilaan.

Otetaan 2 ml huoneenlämpötilaan temperoitua uutetta ja pipetoidaan se 20 ml:n mittapulloon. Täytetään merkkiin 45 % vol etanolilla (4.4) ja sekoitetaan huolellisesti.

12.5 Määrittäminen

Noudatetaan kohdassa 8.5 esitettyä menettelyä.

12.6 Tulosten laskeminen

Tulokset lasketaan seuraavan kaavan avulla:

$$C_i = (m_{is} / V) * (pinta\text{-}al_{ai} / pinta\text{-}al_{is}) * R_{Fi}$$

missä:

m_{is} on kohdassa (12.4.2) punnitun sisäisen standardin (4.3) määrä (mg)

V on tutkittavan näytteen tilavuus (50 ml)

R_{Fi} on vastekerroin (9.1)

$pinta\text{-}al_{ai}$ on trans-anetolin piikin pinta-ala

$pinta\text{-}al_{is}$ on sisäisen standardin piikin pinta-ala

Tulokset ilmoitetaan grammoina litrassa yhden desimaalin tarkkuudella.

12.7 Laadunvarmistus ja laadunvalvonta

Noudatetaan kohdassa 11 esitettyä menettelyä.

13 **Menetelmän suorituskykyä kuvaavat ominaisuudet (tarkkuus)**

Laboratorioiden välisen testauksen tilastolliset tulokset:

Seuraavissa taulukoissa on esitetty anetolia koskevat arvot.

Seuraavat tulokset saatiin kansainvälisestä menetelmän suorituskykyä arvioivasta tutkimuksesta, joka toteutettiin kansainvälisesti hyväksyttyjen menetelmien mukaisesti.

Laboratorioiden välinen testaus tehty vuonna 1998

Laboratorioiden määrä 16

Näytteiden määrä 10

Analyysi anetoli

Pastis:

Näytteet	A	B	C	D	E	F
Laboratorioiden määrä, kun poikkeavan tuloksen saaneet laboratoriot on poistettu	15	15	15	13	16	16
Poikkeavien tulosten määrä (laboratoriot)	1	1	1	3	—	—
Hyväksytyjen tulosten määrä	30	30	30	26	16	16
Keskiarvo g/l	1,477	1,955	1,940	1,833	1,741	1,754
Toistettavuuden standardipoikkeama (S_p) g/l	0,022	0,033	0,034	0,017	—	—
Toistettavuuden suhteellinen standardipoikkeama (RSD_p) (%)	1,5	1,7	1,8	0,9	—	—
Toistettavuusraja (r) g/l	0,062	0,093	0,096	0,047	—	—
Uusittavuuden standardipoikkeama (S_R) g/l	0,034	0,045	0,063	0,037	0,058	0,042
Uusittavuuden suhteellinen standardipoikkeama (RSD_R) (%)	2,3	2,3	3,2	2,0	3,3	2,4

▼M1

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

Näytetyypit:

- A pastis, rinnakkaiset sokkonäytteet
- B pastis, rinnakkaiset sokkonäytteet
- C pastis, rinnakkaiset sokkonäytteet
- D pastis, rinnakkaiset sokkonäytteet
- E pastis, yksittäinen näyte
- F pastis, yksittäinen näyte

Muut aniksella maustetut tislattut alkoholijuomat:

Näytteet	G	H	I	J
Laboratorioiden määrä, kun poikkeavan tuloksen saaneet laboratoriot on poistettu	16	14	14	14
Poikkeavien tulosten määrä (laboratoriot)	—	2	1	1
Hyväksytyjen tulosten määrä	32	28	28	28
Keskiarvo g/l	0,778 0,530 (*)	1,742	0,351	0,599
Toistettavuuden standardipoikkeama (S_p) g/l	0,020	0,012	0,013	0,014
Toistettavuuden suhteellinen standardipoikkeama (RSD_p) (%)	3,1	0,7	3,8	2,3
Toistettavuusraja (r) g/l	0,056	0,033	0,038	0,038
Uusittavuuden standardipoikkeama (S_R) g/l	0,031	0,029	0,021	0,030
Uusittavuuden suhteellinen standardipoikkeama (RSD_R) (%)	4,8	1,6	5,9	5,0
Uusittavuusraja (R) g/l	0,088	0,080	0,058	0,084

Näytetyypit:

- G ouzo, rinnakkaisnäytteet, joista toiseen on lisätty analyyttiä (*)
- H anis, rinnakkaiset sokkonäytteet
- I aniksella maustettu likööri, rinnakkaisnäytteet
- J aniksella maustettu likööri, rinnakkaisnäytteet

▼M1

VI GLYSYRRITSIIINHAPPO. GLYSYRRITSIIINHAPON MÄÄRITTÄMINEN NESTEKROMATOGRAFISESTI

1 Soveltamisala

Tämä menetelmä soveltuu glysyrritsiinihapon määrittämiseen aniksella maustetuista tislatuista alkoholijuomista korkean suorituskyvyn nestekromatografian (HPLC) avulla. Neuvoston asetuksessa (ETY) N:o 1576/89 täsmennetään, että aniksella maustetun tislatus alkoholijuoman tulee sisältää glysyrritsiinihappoa vähintään 0,05 ja enintään 0,5 grammaa litrassa, jotta siitä voidaan käyttää nimitystä ”pastis”.

2 Viittaukset säännöksiin ja määräyksiin

ISO 3696: 1987 Analyttiseen laboratoriokäyttöön tarkoitettu vesi — Määritelmä ja testimenetelmät

3 Periaate

Glysyrritsiinihapon konsentraatio määritetään nestekromatografisesti (HPLC) UV-detektion avulla. Standardiliuos ja testattava näyte suodetaan ja ne injektoidaan suoraan nestekromatografiin.

4 Reagenssit ja materiaalit

Analyysissä käytetään vain HPLC-laadun reagensseja, absoluuttista etanolia ja standardin ISO 3696 mukaista vähintään kolmannen laatu-luokan vettä.

4.1 96 % vol etanoli (CAS 64-17-5)

4.2 Ammoniumglysyrritsinaatti, $C_{42}H_{62}O_{16} \cdot NH_3$ (glysyrritsiinihapon ammoniumsuola)

(Molekyylipaino 839,98) (CAS 53956-04-0): puhtaus vähintään 90 %.
(glysyrritsiinihapon molekyylipaino 822,94)

4.3 Jäätikka, CH_3COOH , (CAS 64-19-7)4.4 Metanoli, CH_3OH (CAS 67-56-1)

4.5 50 % vol etanoli

1 000 ml:aa varten (20 °C):

— 96 % vol etanolia (4.1): 521 ml

— vettä (2.0): 511 ml.

4.6 HPLC-eluenttien valmistus.

4.6.1 Eluentti A (esimerkki)

80 tilavuusosaa vettä (2.0)

20 tilavuusosaa jäätikkoa (4.3).

Poistetaan kaasut eluentista viiden minuutin ajan.

Huomaa: Jos käytettävää vettä ei ole mikro-suodatettu, on suositeltavaa suodattaa valmistettu eluentti orgaanisten liuottimien suodattimella, jonka huokoskoko on 0,45 µm tai pienempi.

4.6.2 Eluentti B

Metanoli (4.4)

4.7 Standardiliuosten valmistaminen

Kaikki standardiliuokset täytyy uusia kahden kuukauden välein.

4.7.1 Vertailuliuos C

Punnitaan 0,1 mg:n tarkkuudella 25 mg ammoniumglysyrritsinaattia (4.2) 100 ml:n mittapulloon. Lisätään hieman 50 % vol etanolia (4.5) ja liuotetaan ammoniumglysyrritsinaatti. Kun se on liuennut, täytetään pullo merkkiin asti 50 % vol etanolilla (4.5).

Suodatetaan orgaanisille liuottimille tarkoitettulla suodattimella.

4.7.2 Laitteiston vasteen lineaarisuuden tarkistamiseen käytettävät standardiliuokset

1,0 g/l varastoliuos valmistetaan punnitsemalla 0,1 mg:n tarkkuudella 100 g ammoniumglysyrritsinaattia 100 ml:n mittapulloon. Lisätään

▼M1

hieman 50 % vol etanolia (4.5) ja liuotetaan ammoniumglysyrritsi-naatti. Kun se on liennut, täytetään pullo merkkiin asti 50 % vol etanolilla (4.5).

Valmistetaan vähintään neljä muuta liuosta, jotka vastaavat 0,05, 0,1, 0,25 ja 0,5 g/l ammoniumglysyrritsiinaattia, pipetoimalla 5 ml, 10 ml, 25 ml ja 50 ml 1,0 g/l:n varastoliuosta erillisiin 100 ml:n mittapulloihin. Täytetään pullo merkkiin asti 50 % vol etanolilla (4.5) ja sekoitetaan perusteellisesti.

Suodatetaan orgaanisille liuottimille tarkoitettulla suodattimella.

5 Laitteet ja välineet

5.1 Analyysilaitteisto

5.1.1 Nestekromatografi (HPLC)

5.1.2 Pumppujärjestelmä, jolla voidaan saavuttaa ja ylläpitää vakiomääräinen tai ohjelmoitu virtausnopeus erittäin tarkasti.

5.1.3 UV-detektori: asetetaan arvoon 254 nm.

5.1.4 Eluentien kaasunpoistojärjestelmä:

5.2 Integraattori tai piirturi, jonka suorituskky vastaa laitteiston muita osia.

5.3 Kolonni (esimerkki):

Materiaali: ruostumaton teräs tai lasi

Sisähalkaisija: 4—5 mm

Pituus: 100—250 mm

Stationäärifaasi: silloitettu silika (mieluiten pallomainen), jossa on funktionaalinen oktadekyyli-ryhmä (C18), maksimi hiukkaskoko: 5 µm.

5.4 Laboratoriolaitteet

5.4.1 Analyysivaaka, jonka tarkkuus on 0,1 mg

5.4.2 A-laadun lasisia mittavälineitä

5.4.3 Pienille tilavuuksille sopiva mikromembraanisuodatuslaitteisto

6 Kromatografian ajo-olosuhteet

6.1 Eluointiolosuhteet (esimerkki):

— Virtausnopeus: 1 ml/min

— Eluentti A = 30 %

— Eluentti B = 70 %

6.2 Detektio:

— UV = 254 nm

7 Suoritus

7.1 Alkoholijuomanäytteen valmistus.

Suodatetaan tarvittaessa orgaanisille liuottimille tarkoitettulla suodattimella (huokoskoko: 0,45 µm).

7.2 Määrittäminen

Kun kromatografian olosuhteet ovat stabiilituneet:

— injektoidaan 20 µl vertailuliuosta C (4.7.1),

— injektoidaan 20 µl näyteliuosta,

— verrataan kromatogrammeja keskenään. Tunnistetaan glysyrritsiinihapon piikit niiden retentioaikojen perusteella. Mitataan piikkien pinta-alat (tai korkeudet) ja lasketaan konsentraatio g/l kahden desimaalin tarkkuudella seuraavasta kaavasta:

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

missä:

c on glysyrritsiinihapon konsentraatio tutkittavassa alkoholijuomassa (g/l)

▼M1

- C on ammoniumglysyrritsinaatin konsentraatio vertailuliuoksessa
- h on glysyrritsiinihappopiikin pinta-ala (tai korkeus) tutkittavassa alkoholijuomassa
- H on glysyrritsiinihappopiikin pinta-ala (tai korkeus) vertailuliuoksessa
- P on vertailuaineena käytettävän ammoniumglysyrritsinaatin puhtausaste (%)
- 823 on glysyrritsiinihapon moolimassa
- 840 on ammoniumglysyrritsinaatin moolimassa.

8 Menetelmän suorituskykyä kuvaavat ominaisuudet (tarkkuus)

Laboratorioiden välisen testauksen tilastolliset tulokset:

seuraavassa taulukossa on esitetty glysyrritsiinihappoa koskevat arvot.

Seuraavat tulokset saatiin kansainvälisestä menetelmän suorituskykyä arvioivasta tutkimuksesta, joka toteutettiin kansainvälisesti hyväksyttyjen menetelmien mukaisesti.

Laboratorioiden välinen testaus tehty vuonna 1998

Laboratorioiden määrä 16

Näytteiden määrä 5

Analyytti glysyrritsiinihappo

Näytteet	A	B	C	D	F
Laboratorioiden määrä, kun poikkeavan tuloksen saaneet laboratoriot on poistettu	13	14	15	16	16
Poikkeavien tulosten määrä (laboratoriot)	3	2	1	—	—
Hyväksyttyjen tulosten määrä	26	28	30	32	32
Keskiarvo g/l	0,046	0,092 (*) 0,099	0,089	0,249	0,493
Toistettavuuden standardipoikkeama (S_p) g/l	0,001	0,001	0,001	0,002	0,003
Toistettavuuden suhteellinen standardipoikkeama (RSD_p) (%)	1,5	1,3	0,7	1,0	0,6
Toistettavuusraja (r) g/l	0,002	0,004	0,002	0,007	0,009
Uusittavuuden standardipoikkeama (S_R) g/l	0,004	0,007	0,004	0,006	0,013
Uusittavuuden suhteellinen standardipoikkeama (RSD_R) (%)	8,6	7,2	4,0	2,5	2,7
Uusittavuusraja (R) g/l	0,011	0,019	0,010	0,018	0,037

Näytetyypit:

- A pastis, rinnakkaiset sokkonäytteet
- B pastis, rinnakkaisnäytteet, joista toiseen on lisätty analyyttiä (*)
- C pastis, rinnakkaiset sokkonäytteet
- D pastis, rinnakkaiset sokkonäytteet
- E pastis, rinnakkaiset sokkonäytteet

▼M1

VII KALKONIT. PASTIKSEN KALKONIEN NESTEKROMATOGRAFINEN MÄÄRITYS

1 Soveltamisala

Tämän menetelmän avulla voidaan määrittää, onko aniksella maustetussa juomassa kalkoneita vai ei. Kalkonit ovat lakritsijuuressa (*Glycyrrhiza glabra*) luontaisesti esiintyviä, flavonoideihin kuuluvia väriaineita.

Jotta aniksella maustetusta tislatusa alkoholijuomasta voidaan käyttää nimitystä ”pastis”, sen tulee sisältää kalkoneita (asetus (ETY) N:o 1576/89).

2 Viittaukset säännöksiin ja määräyksiin

ISO 3696: 1987 Analyyttiseen laboratoriokäyttöön tarkoitettu vesi — Määritelmä ja testimenetelmät

3 Periaate

Valmistetaan vertailuaineena käytettävä lakritsiuuteliuos. Kalkonien esiintyminen tai niiden puuttuminen määritetään nestekromatografisesti (HPLC) UV-detektion avulla.

4 Reagenssit ja materiaalit

Analyysissä on käytettävä vain HPLC-laadun reagensseja. Etanolin pitoisuuden tulee olla 96 % vol. Analyysissä käytetään vain standardin ISO 3696 mukaista vähintään kolmannen laatuluokan vettä.

4.1 96 % vol etanoli (CAS 64-17-5)

4.2 Asetonitrili, CH₃CN (CAS 75-05-8)4.3 Vertailuaine: *Glycyrrhiza glabra* (lakritsijuuri)

Jauhetaan lakritsijuuri (*Glycyrrhiza glabra*) karkeaksi. Sauvamaisten partikkelien keskimääräiset dimensiot: pituus 10—15 mm, paksuus 1—3 mm.

4.4 Natriumasetaatti, CH₃COONa (CAS 127-09-3)4.5 Jäätikka, CH₃COOH, (CAS 64-19-7)

4.6 Liuosten valmistaminen

4.6.1 50 % vol etanoli

1 000 ml:aa varten (20 °C):

— 96 % vol etanolia (4.1): 521 ml

— vettä (2.0): 511 ml.

4.6.2 Eluentti A: asetonitrili

Asetonitrili (4.2), HPLC-laatu.

4.6.3. Eluentti B: 0,1 M natriumasetaattipuskuriliuos, pH 4,66

Punnitaan 8,203 g natriumasetaattia (4.4), lisätään 6,005 g jäätikkaa (4.5) ja täytetään tilavuus 1 000 ml:ksi vedellä (2) mittapullossa.

5 Referenssiuutteen valmistaminen *glycyrrhiza glabrata* (4.3)5.1 Punnitaan 10 g jauhettua lakritsijuurta (*Glycyrrhiza glabra*) (4.3) ja pannaan jauhe pyöreäpohjaiseen tislaukolviin.

— Lisätään 100 ml 50 % vol etanolia (4.6.1).

— Keitetään tunnin ajan palautusjäähdyttimen kanssa.

— Suodatetaan.

— Otetaan suodos talteen myöhempää käyttöä varten.

5.2 Otetaan lakritsiuute suodattimesta.

— Pannaan uute pyöreäpohjaiseen tislaukolviin.

— Lisätään 100 ml 50 % vol etanolia (4.6.1).

— Keitetään tunnin ajan palautusjäähdyttimen kanssa.

— Suodatetaan. Otetaan suodos talteen myöhempää käyttöä varten.

5.3 Lakritsijuuren uuttaminen täytyy tehdä kolme kertaa peräkkäin.

▼M1

- 5.4 Yhdistetään saadut kolme suodosta.
- 5.5 Haihduta yhdistettyjen suodosten (5.4) liuotinfääsi pyöröhaihduttimessa.
- 5.6 Liuota uutejäämä (5.5) 100 ml:aan 50 % vol etanolia (4.6.1).

6 Laitteet ja välineet

- 6.1 Analyysilaitteisto
 - 6.1.1 Nestekromatografi (HPLC)
 - 6.1.2 Pumppujärjestelmä, jolla voidaan saavuttaa ja ylläpitää vakiomääräinen tai ohjelmoitu virtausnopeus korkeassa paineessa
 - 6.1.3 UV / näkyvän valon detektori, joka voidaan asettaa arvoille 254 ja 370 nm
 - 6.1.4 Eluentin kaasunpoistojärjestelmä
 - 6.1.5 Kolonniuuni, jonka lämpötilaksi voidaan asettaa $40 \pm 0,1$ °C
- 6.2 Integraattori tai piirturi, jonka suorituskky vastaa analyysilaitteiston muita osia
- 6.3 Kolonni

Materiaali: ruostumaton teräs tai lasi

Sisähalkaisija: 4—5 mm

Stationääri-fääsi: silloitettu silika, jossa on funktionaalinen oktadekyyli-ryhmä (C18), hiukkaskoko: enintään 5 µm.

- 6.4 Normaalit laboratoriolaitteet, muun muassa seuraavat:
 - 6.4.1 Analyysivaaka. (tarkkuus $\pm 0,1$ mg)
 - 6.4.2 Palautusjäähdyttimellä varustettu tisluslaitteisto, esimerkiksi:
 - 250 ml:n pyörökolvi, jossa on lasihiosliitäntä,
 - 30 cm pitkä palautusjäähdytin,
 - lämmönlähde (sopivan järjestelyn avulla on vältettävä uutettavan aineen hajoaminen tai kiinnipalaminen).
 - 6.4.3 Pyöröhaihdutin
 - 6.4.4 Suodatuslaitteisto (esimerkiksi Büchner-suppilo)
- 6.5 Kromatografian ajo-olosuhteet (esimerkki)
 - 6.5.1 Eluenttien A (4.6.2) ja B (4.6.3) gradienttiohjelma
 - Ajetaan gradientti 20/80 (v/v):sta 50/50 (v/v):een 15 minuutin aikana.
 - Ajetaan gradientti 50/50 (v/v):sta 75/25 (v/v):een 5 minuutin aikana.
 - Ajetaan isograattisesti 75/25 (v/v) 5 minuutin ajan.
 - Kolonnin annetaan stabiloitua injektointien välillä.
 - Ajetaan isograattisesti 20/80 (v/v) 5 minuutin ajan.
 - 6.5.2 Virtausnopeus: 1 ml/min
 - 6.5.3 UV-detektorin asetukset:

Detektori tulee asettaa aallonpituudelle 370 nm, jotta voidaan havaita kalkonit, ja sen jälkeen aallonpituudelle 254 nm glysyrritsiinihapon havaitsemiseksi.

Huomaa: Aallonpituus tulee muuttaa (370 nm:sta 254 nm:iin) 30 s ennen kuin glysyrritsiinihapon piikki alkaa eluotua.

7 Mittauksen suoritus

- 7.1 Alkoholijuomanäytteen valmistus

Suodatetaan orgaanisille liuottimille tarkoitetulla suodattimella (huokoskoko: 0,45 µm).
- 7.2 Lakritsin jäännösuutteen (5.6) laimentaminen

Laimennetaan ennen analyysiä yhteen kymmenesosaan 50 % vol alkoholilla (4.6.1).

▼ **M1**

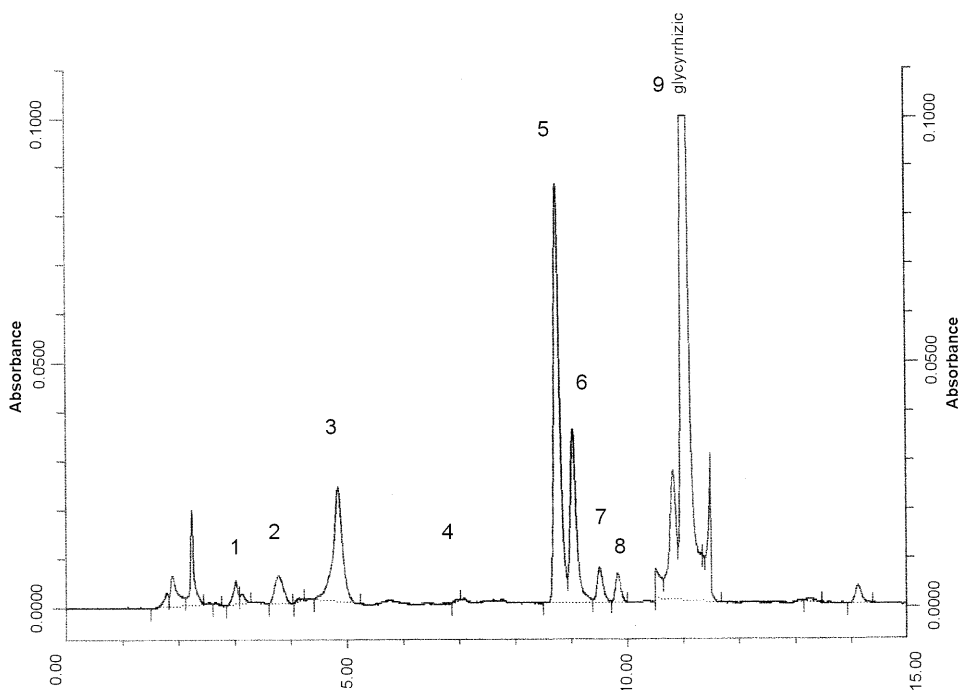
7.3 Määrittäminen

- 7.3.1 Injektoidaan 20 µl laimennettua lakritsiuutetta (7.2). Suoritetaan analyysi edellä kuvattuja kromatografiaolosuhteita käyttäen (6.5).
- 7.3.2 Injektoidaan 20 µl suodatettua näytettä (7.1) (aniksella maustetun alkoholin näyte). Suoritetaan analyysi edellä kuvattuja kromatografiaolosuhteita käyttäen (6.5).
- 7.3.3 Verrataan kromatogrammeja keskenään. Kromatogrammien on oltava hyvin samanlaisia sillä alueella, jolla kalkonit eluoituvat (se kromatogrammin alue, joka on ajettu 370 nm:n aallonpituudella edellä kuvatuissa analyysiolosuhteissa) (katso kuva 1).

8 Tyypillinen pastiksen kromatogrammi

Kuva 1

Edellä kuvatulla menetelmällä saatu kromatogrammi, josta näkyy kalkonien esiintyminen pastiksessa. Piikit 1—8 ovat kalkonien piikkejä ja piikki 9 on glysyrritsiinihappo.



9 Menetelmän suorituskykyä kuvaavat ominaisuudet (tarkkuus)

Laboratorioiden välisen testauksen tulokset:

Seuraavassa taulukossa esitetään menetelmän suorituskyky kalkonien esiintymisen tai puuttumisen osoittamiseksi pastiksessa ja aniksella maustetuissa alkoholijuomissa.

Seuraavat tulokset saatiin kansainvälisestä menetelmän suorituskykyä arvioivasta tutkimuksesta, joka toteutettiin kansainvälisesti hyväksyttyjen menetelmien mukaisesti.

Laboratorioiden välinen testaus tehty vuonna	1998
Laboratorioiden määrä	14
Näytteiden määrä	11
Analyytit	kalkonit

▼M1

Näytteet	A	B	C	D	E	F
Laboratorioiden määrä, kun poikkeavan tuloksen saaneet laboratoriot on poistettu	14	14	14	14	14	13
Poikkeavien tulosten määrä (laboratoriot)	—	—	—	—	—	1 (*)
Hyväksytyjen tulosten lukumäärä	28	14	14	28	28	26
Kalkoneita esiintyy näytteessä, tulosten lukumäärä	28	14	14	0	28	0
Kalkoneita ei esiinny näytteessä, tulosten lukumäärä	0	0	0	28	0	26
Oikeiden tulosten osuus (%)	100	100	100	100	100	100

(*) Epäjohtonmukaiset tulokset kahden rinnakkaisnäytteen välillä. Johtuu oletettavasti näytteiden sekaantumisesta.

Näytteet	G	H	I	J	K
Laboratorioiden määrä poikkeavien tulosten eliminoinnin jälkeen	14	14	14	14	14
Poikkeavien tulosten määrä (laboratoriot)	—	—	—	—	—
Hyväksytyjen tulosten lukumäärä	28	14	14	28	28
Kalkoneita esiintyy näytteessä, tulosten lukumäärä	0	0	0	0	0
Kalkoneita ei esiinny näytteessä, tulosten lukumäärä	28	14	14	28	28
Oikeiden tulosten osuus (%)	100	100	100	100	100

Näytetyypit:

- A pastis, rinnakkaiset sokkonäytteet
- B pastis, yksittäinen näyte
- C pastis, yksittäinen näyte
- D ”pastis” (ei sisällä kalkoneita), rinnakkaiset sokkonäytteet
- E ”pastis” (ei sisällä kalkoneita), rinnakkaiset sokkonäytteet
- F aniksella maustettu likööri (ei sisällä kalkoneita), rinnakkaiset sokkonäytteet
- G aniksella maustettu likööri (ei sisällä kalkoneita), rinnakkaiset sokkonäytteet
- H ouzo (ei sisällä kalkoneita), yksittäinen näyte
- I ouzo (ei sisällä kalkoneita), yksittäinen näyte
- J anis (ei sisällä kalkoneita), rinnakkaiset sokkonäytteet
- K ”pastis” (ei sisällä kalkoneita), rinnakkaiset sokkonäytteet

▼ **M1****IX MUNANKELTUAINEN. MUNANKELTUAISPITOISUUDEN FOTOMETRINEN MÄÄRITTÄMINEN TISLATUISTA ALKOHOLIJUOMISTA****1 Soveltamisala**

Menetelmä soveltuu munankeltuaispitoisuuden määrittämiseen munalikööristä ja munaa sisältävästä likööristä, kun pitoisuus on välillä 40—250 g/l.

2 Viittaukset säännöksiin ja määräyksiin

ISO 3696: 1897 Analyyttiseen laboratoriokäyttöön tarkoitettu vesi — Määritelmä ja testimenetelmät

3 Periaate

Munankeltuaisen etanoliin liukenevat fosforiyhdisteet uutetaan ja ne määritetään fotometrisesti fosformolybdaattikompleksina.

4 Reagenssit ja materiaalit

4.1 Kahteen kertaan tislattu vesi

4.2 Piimaa

4.3 96 % vol etanoli (CAS 64-17-5)

4.4 15 % magnesiumasettaattiliuos (CAS 16674-78-5)

4.5 10 % rikkihappo (CAS 7664-93-9)

4.6 1 N rikkihappo

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

4.8 Reagenssi fosfaatin määrittämiseksi:

Liutetaan 20 g ammoniummolybdaattia (CAS 12054-85-2), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 400 ml:aan vettä, jonka lämpötila on 50 °C.

Liutetaan toisessa astiassa 1 g ammoniumvanadaattia (CAS 7803-55-6), NH_4VO_3 300 ml:aan kuumaa vettä, annetaan liuoksen jäähtyä ja lisätään sitten 140 ml väkevää typpihappoa (CAS 7697-37-2). Jäähdyneet liuokset kaadetaan 1 000 ml:n mittapulloon ja täytetään merkkiin.

5 Laitteet ja välineet

5.1 100 ml:n erlenmeyerkolvi

5.2 Ultraäänihaude (tai magneettisekoitin)

5.3 100 ml:n mittapullo

5.4 20 °C :n vesihaude

5.5 Suodatin (Whatman No. 4 tai vastaava)

5.6 Posliiniupokas (tai platinaupokas)

5.7 Kiehuva vesihaude

5.8 Keittolevy

5.9 Muhveliuuni

5.10 50 ml:n mittapullo

5.11 20 ml:n mittapullo

5.12 Spektrofotometri, jolla voidaan mitata aallonpituudella 420 nm

5.13 1 cm:n kyveti.

6 Näytteet

Näytteet varastoidaan huoneenlämpötilassa ennen analyysiä.

7 Mittauksen suoritus

7.1 Näytteenvalmistus

7.1.1 Punnitaan 10 g näytettä 100 ml:n erlenmeyerkolviin (5.1).

▼M1

- 7.1.2 Lisätään vaihteittain 70 ml etanolia (4.3) pieninä määrinä ja sekoitetaan näytettä aina lisäyksen jälkeen. Kolvi laitetaan ultraäänihauteeseen (5.2) 15 minuutin ajaksi (tai sekoitetaan magneettisekoittimella (5.2) 10 minuutin ajan huoneenlämpötilassa).
- 7.1.3 Siirretään kolvin sisältö 100 ml:n mittapulloon (5.3) ja huuhdotaan erlenmeyerkolvi etanolilla (4.3). Täytetään merkkiin etanolilla (4.3) ja laitetaan pullo 20 °C:n vesihauteeseen (5.4). Täytetään merkkiin 20 °C:n lämpötilassa.
- 7.1.4 Lisätään hieman piimaata (4.2) ja suodatetaan (5.5), heitetään pois suodoksen ensimmäiset 20 ml.
- 7.1.5 Siirretään 25 ml suodoksesta posliiniupokkaaseen (tai platinaupokkaaseen) (5.6). Tämän jälkeen suodos väkevöidään kiehuvalle vesihauhteella (5.7) varovasti haihduttaen ja siihen lisätään 5 ml 15 % magnesiumasetaattiliuosta (4.4).
- 7.1.6 Upokas asetetaan keittolevyille (5.8) ja kuumennetaan kuivaksi.
- 7.1.7 Jäämä tuhkataan kuumentamalla valkohehkuseksi 600 °C lämpötilassa muhveliuunissa (5.9), kunnes tuhka on valkoista — vähintään 1,5 tunnin ajan, mutta voidaan jättää uuniin yön ajaksi.
- 7.1.8 Huuhdotaan tuhka 10 ml:lla 10 % rikkihappoa (4.5) ja siirretään tislattulla vedellä (4.1) huuhtoon 50 ml:n mittapulloon (5.10). Täytetään merkkiin tislattulla vedellä (4.1) huoneenlämpötilassa. Tästä tuhkaliuksesta otetaan 5 ml fosfaatin fotometriseen määritykseen käytettävän näyteliuksen valmistamiseen.
- 7.2 Fosfaatin fotometrinen määrittäminen
- 7.2.1 Vertailuliuos
- 7.2.1.1 Mitataan 10 ml 10 % rikkihappoa (4.5) 50 ml:n mittapulloon (5.10) ja täytetään merkkiin tislattulla vedellä (4.1).
- 7.2.1.2 5 ml:aan tätä liuosta (7.2.1.1), joka on 20 ml:n mittapullossa (5.11), lisätään 1 ml 1 N rikkihappoa (4.6) ja 2 ml fosfaattireagenssia (4.8). Täytetään merkkiin tislattulla vedellä (4.1).
- 7.2.1.3 Suljetaan löysästi tulpalla, ravistetaan ja kuumennetaan kiehuvalle vesihauhteessa (5.7) 10 minuutin ajan. Jäähdytetään 20 °C:n vesihauhteessa (5.4) 20 minuuttia.
- 7.2.1.4 Täytetään 1 cm:n kyveti (5.13) tällä vertailuliuksella.
- 7.2.2 Näyteliuos
- 7.2.2.1 5 ml:aan tuhkaliuosta (7.1.8), joka on 20 ml:n mittapullossa (5.11), lisätään 1 ml 1 N rikkihappoa (4.6) ja 2 ml fosfaattireagenssia (4.8). Täytetään merkkiin tislattulla vedellä (4.1).
- 7.2.2.2 Suljetaan löysästi tulpalla, ravistetaan ja kuumennetaan kiehuvalle vesihauhteessa (5.7) 10 minuutin ajan. Jäähdytetään 20 °C:n vesihauhteessa (5.4) 20 minuuttia.
- 7.2.2.3 Saatu keltainen liuos mitataan välittömästi spektrofotometrillä (5.12) 1 cm:n kyvetissä (5.13) 420 nm:n aallonpituudella vertailuliuosta (7.2.1.4) vastaan.
- 7.2.3 Kalibrointikäyrä
- 7.2.3.1 Kalibrointikäyrän määrittämiseksi lisätään 20 ml:n mittapulloihin (5.11), joissa on 1 ml 1 N rikkihappoa (4.6) ja 0, 2, 4, 6, 8 ja 10 ml kaliumdivetyfosfaattiliuosta (4.7), 2 ml fosfaattireagenssia (4.8). Täytetään merkkiin tislattulla vedellä (4.1).
- 7.2.3.2 Suljetaan löysästi tulpalla, ravistetaan ja kuumennetaan kiehuvalle vesihauhteessa (5.7) 10 minuutin ajan. Jäähdytetään 20 °C:n vesihauhteessa (5.4) 20 minuuttia. Liuos mitataan välittömästi spektrofotometrillä (5.12) 1 cm:n kyvetissä (5.13) 420 nm:n aallonpituudella vertailuliuosta (7.2.1.4) vastaan.
- 7.2.3.3 Kalibrointikäyrän määrittäminen:
- | | | | | | | |
|------------------------------------|---|-------|-------|-------|-------|-------|
| divelyfosfaattiliuos (ml) | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 |
| P ₂ O ₅ (mg) | 0 | 0,167 | 0,334 | 0,501 | 0,668 | 0,835 |

▼M1

8

Tulosten laskeminen

Munankeltuaispitoisuus (g/l) lasketaan seuraavasta kaavasta:

$$\text{g/l munankeltuainen} = \text{mg P}_2\text{O}_5 \times \frac{110 \times \text{tiheys}}{E/40}$$

missä:

110 muuntokerroin 100 g:ssa munankeltuasta olevan P_2O_5 :n kokonaismäärän (g) laskemiseksi,

mg P_2O_5 kalibrointikäyrästä saatu arvo,

tiheys munapohjaisen liköörin massa tilavuusyksikköä kohti (g/ml) 20 °C:n lämpötilassa,

E punnittu munapohjaisen liköörin määrä (g),

40 tuhkaliuoksen 5 ml:n osuudesta tuleva laimennuskerroin.

9

Menetelmän suorituskykyä kuvaavat ominaisuudet (tarkkuus)

Laboratorioiden välisen testauksen tilastolliset tulokset:

Seuraavassa taulukossa on esitetty munankeltuasta koskevat arvot.

Seuraavat tulokset saatiin kansainvälisestä menetelmän suorituskykyä arvioivasta tutkimuksesta, joka toteutettiin kansainvälisesti hyväksyttyjen menetelmien mukaisesti.

Laboratorioiden välisen testauksen vuosi: 1998

Laboratorioiden määrä: 24

Näytteiden määrä: 5

Analyytti: munankeltuainen

Näytteet	A	B	C	D	E
Laboratorioiden määrä poikkeavien tulosten eliminoinnin jälkeen	19	20	22	20	22
Poikkeavien tulosten määrä (laboratoriot)	3	4	2	4	2
Hyväksyttyjen tulosten määrä	38	40	44	40	44
Keskiarvo	147,3	241,1	227,4	51,9 (*) 72,8 (*)	191,1
Toistettavuuden standardipoikkeama (S_p) g/l	2,44	4,24	3,93	1,83	3,25
Toistettavuuden suhteellinen standardipoikkeama (RSD_p) (%)	1,7	1,8	1,8	2,9	1,7
Toistettavuusraja (r) g/l	6,8	11,9	11,0	5,1	9,1
Uusittavuuden standardipoikkeama (S_R) g/l	5,01	6,06	6,66	3,42	6,87
Uusittavuuden suhteellinen standardipoikkeama (RSD_R) (%)	3,4	2,5	2,9	5,5	3,6
Uusittavuusraja (R) g/l	14,0	17,0	18,7	9,6	19,2

Näytetyypit:

A munalikööri, rinnakkaiset sokkonäytteet

B munalikööri, rinnakkaiset sokkonäytteet

C munalikööri, rinnakkaiset sokkonäytteet

D munalikööri, rinnakkaisnäytteet, joista toiseen on lisätty analyyttiä (*)

E munalikööri, rinnakkaiset sokkonäytteet