Proiect „UE”

GUVERNUL REPUBLICII MOLDOVA
HOTĂRÂRE
nr._____
din_____
Chișinău

Cu privire la aprobarea Regulamentului de stabilire a metodelor de referință pentru analiza băuturilor spirtoase

În temeiul art. 17^7 alin. (2) din Legea nr. 1100/2000 cu privire la fabricarea şi circulația alcoolului etilic și a producției alcoolice, Guvernul **HOTĂRĂŞTE:**

1. Se aprobă Regulamentul de stabilire a metodelor de referință pentru analiza băuturilor spirtoase (se anexează).

2. Prezenta hotărâre intră în vigoare la expirarea a 36 luni de la data publicării în Monitorul Oficial al Republicii Moldova.

3. Controlul asupra executării prezentei hotărâri se pune în sarcina Agenției Naționale pentru Siguranța Alimentelor.

PRIM-MINISTRU **Dorin RECEAN**

Contrasemnează:
Ministrul agriculturii
şi industriei alimentare **Ludmila CATLABUGA**

Aprobat prin
Hotărârea Guvernului
nr.____/2025

Regulamentul de stabilire a metodelor de referință pentru analiza băuturilor spirtoase

Prezentul Regulament de stabilire a metodelor de referință pentru analiza băuturilor spirtoase *(în continuare – Regulament),* transpune Regulamentul (CE) nr. 2870/2000 al Comisiei din 19 decembrie 2000 de stabilire a metodelor comunitare de referință pentru analiza băuturilor spirtoase, publicat în Jurnalul Oficial al Uniunii Europene L 333 din 29 decembrie 2000, nr. CELEX: 02000R2870-20230313, așa cum a fost modificat ultima oară prin Regulamentul de punere în aplicare (UE) 2023/383 al Comisiei din 16 februarie 2023.

I. Domeniu de aplicare

1. Metodele de referință pentru analiza băuturilor spirtoase și a alcoolului etilic de origine agricolă, menționate în anexa la prezentul regulament, asigură conformitatea cu Regulamentul privind definirea, descrierea, prezentarea și etichetarea băuturilor ce conțin alcool, aprobat prin Hotărârea Guvernului nr. 589/2023:

1.1. în cazul unui control oficial

1.2. în eventualitatea unui diferend.

2. În sensul prezentului Regulament următoarele noțiuni semnifică:

2.1. *limită de repetabilitate* - valoarea mai mică sau egală pentru care se estimează o diferență absolută între două rezultate ale testării, obținute în condiții de repetabilitate (același operator, aceeași aparatură, același laborator și un interval scurt de timp), cu o probabilitate de 95 % (ISO 3534-1);

2.2. *limită de reproductibilitate* - valoarea mai mică sau egală pentru care se estimează o diferență absolută între două rezultate ale testării, obținute în condiții de reproductibilitate (operatori diferiți, aparatură diferită, laborator diferit), cu o probabilitate de 95 % (ISO 3534-1);

2.3. *precizie* - gradul de concordanță dintre rezultatul unui test și valoarea de referință acceptată (ISO 3534-1).

II. Dispoziţii generale

3. Prezentul Regulament se aplică alcoolului etilic de origine agricolă, astfel cum este definit la art. 1 din Legea nr. 1100/2000 cu privire la fabricarea și circulația alcoolului etilic și a producției alcoolice și în anexa nr. 2 din Regulamentul privind definirea, descrierea, prezentarea şi etichetarea băuturilor ce conțin alcool aprobat prin Hotărârea Guvernului nr. 589/2023.

4. În sensul prezentului regulament, alcoolul etilic de origine agricolă este considerat un distilat a cărui tărie alcoolică în volume trebuie să se măsoare direct, în

conformitate cu apendicele II la capitolul I din anexă. Totuși, dacă proba de alcool nu este limpede sau dacă sunt vizibile particule suspendate, proba se distilează.

5. În cazul determinării substanțelor volatile, în alcoolul etilic de origine agricolă, este necesară calibrarea cu soluția standard C preparată în etanol absolut, pentru a se obține o matrice de corespondență corespunzătoare între probe și soluțiile standard detaliate în capitolul III.2 din anexă.

6. În scopul determinării furfuralului, în alcoolul etilic de origine agricolă, potrivit detaliilor din capitolul X al anexei, alcoolul etilic de origine agricolă se diluează în două prin adăugarea de apă astfel încât să fie dublat volumul său inițial și să se ajungă la o tărie alcoolică în volume compatibilă cu soluțiile de calibrare. Rezultatele analizei furfuralului se convertesc în grame per hectolitru cu 100 % alcool în volume, în conformitate cu ecuația: „Concentrația de furfural în grame per hectolitru de alcool 100 % vol. = Concentrația de furfural în mg/l × 10/tăria alcoolică în volume (% vol.)”, unde tăria alcoolică în volume (% vol.) este tăria alcoolică a probei măsurate, astfel cum a fost determinată în capitolul I din anexă.

7. În ceea ce privește determinarea conținutului de radiocarbon din etanol, în alcoolul etilic de origine agricolă se utilizează metoda prevăzută în capitolul XI din anexă.

8. Fără a aduce atingere pct.1 subpct. 1.1., alte metode analitice sunt admise sub responsabilitatea directorului de laborator, cu condiția ca exactitatea și precizia (repetabilitatea și reproductibilitatea) metodelor să fie cel puțin echivalente cu cele ale metodelor analitice de referință prevăzute de anexă.

9. Atunci când nu sunt stabilite metode de referință comunitare analitice pentru detectarea și cuantificarea substanțelor conținute într-o anumită băutură spirtoasă, se utilizează următoarele metode:

9.1. metode analitice validate pentru proceduri recunoscute la nivel internațional și care îndeplinesc, în special, criteriile stabilite în anexa nr.2 din Legea nr.82/2024 privind controalele oficiale în domeniul agroalimentar;

9.2. metode analitice conforme cu standardele recomandate ale Organizației Internaționale pentru Standardizare (ISO);

9.3. metode analitice recunoscute de Adunarea Generală a Oficiului Internațional al Viei și Vinului (OIV) și publicate de oficiul respectiv;

9.4. în absența unei metode menționate la literele (a), (b) și (c), din motive de exactitate, repetabilitate și reproductibilitate:

9.4.1 o metodă analitică aprobată de statul membru în cauză;

9.4.2. acolo unde este cazul, orice altă metodă analitică adecvată.

Anexa la Regulamentul de stabilire a metodelor de referință pentru analiza băuturilor spirtoase

INSTRUCȚIUNE
privind metodele analitice de referință

I. Determinarea tăriei alcoolice în volume

Apendicele I : Pregătirea distilatului
Apendicele II :
Măsurarea densității distilatului
— Metoda A = picnometrie
— Metoda B = densimetrie electronică
— Metoda C = densimetrie utilizând balanța hidrostatică

II. Determinarea extractului sec total prin gravimetrie

III. Determinarea substanțelor volatile și a metanolului

III.1. Observații generale
III.2. Congeneri volatili: aldehide, alcooluri superioare, acetat de etil și metanol (cromatografie gazoasă)
III.3. Aciditate volatilă

IV. Anetol

V. Acid glicirizic

VI. Calcone

VII. Zaharuri totale

VIII. Gălbenuș de ou

IX. Determinarea compușilor din lemn: furfural, 5-hidroximetilfurfural, 5-metilfurfural, vanilină, aldehidă siringică, aldehidă coniferilică, sinapaldehidă, acid galic, acid elagic, acid vanilic, acid siringic și scopoletină

X. Determinarea conținutului de radiocarbon în etanol

I. DETERMINAREA TĂRIEI ALCOOLICE ÎN VOLUME

Introducere

Metoda de referință include două apendice:

Apendicele I : Pregătirea distilatului

Apendicele II : Măsurarea densității distilatului

1. Domeniu de aplicare

Metoda se utilizează pentru determinarea tăriei alcoolice reale în volume la băuturile spirtoase.

2. Referințe normative

ISO 3696 - Apă utilizată pentru laboratoare analitice. Specificații și metode de analiză.

3. Termeni și definiții

3.1. Temperatura de referință – temperatura standard de 20 °C la care are loc determinarea tăriei alcoolice în volume, a densității și a densității specifice la băuturile spirtoase.

Nota 1: termenul „la t °C" este rezervat pentru toate determinările (a densității sau tăriei alcoolice în volume) exprimate la o temperatură diferită de temperatura de referință de 20 °C.

3.2. Densitate - reprezintă masa per unitate de volum in vacuum la băuturile spirtoase la 20 °C. Se exprimă în kg per metri cubi, iar simbolul său este $\rho_{20\,°C}$ sau ρ_{20}.

3.3. Densitatea specifică - reprezintă raportul, exprimat ca număr zecimal, dintre densitatea unei băuturi spirtoase la 20 °C și densitatea apei la aceeași temperatură. Are simbolul $d_{20\,°C/20\,°C}$ sau $d_{20/20}$, sau numai d, atunci când nu există posibilitatea de a se crea confuzie. Caracteristica măsurată trebuie specificată pe certificatul de testare, fiind utilizate numai simbolurile definite mai sus.

Nota 2: Densitatea specifică poate fi obținută pe baza densității ρ_{20} la 20 °C.

$$\varrho_{20} = 998{,}203 \text{ X } d_{20/20}$$

sau

$$d_{20/20} = \varrho_{20}/998{,}203$$

unde 998,203 reprezintă densitatea apei la 20 °C.

3.4. Tăria alcoolică reală în volume:

Tăria alcoolică reală în volume la băuturile spirtoase este egală cu numărul de litri de alcool etilic conținuți în 100 litri de amestec apă-alcool cu aceeași densitate ca și alcoolul sau băutura spirtoasă după distilare. Valorile de referință pentru tăria alcoolică în volume (% vol) la 20 °C în raport cu densitatea la 20 °C pentru diferite amestecuri apă-alcool care sunt utilizare sunt cele din tabelul internațional adoptat de Organizația Internațională de Metrologie Legală în Recomandarea nr. 22.

Ecuația generală care stabilește legătura între tăria alcoolică în volume și densitatea unui amestec apă-alcool la o anumită temperatură este dată în manualul metodelor de analiză al OIV.

Nota 3: pentru lichioruri și „lichioruri-cremă" al Comisiei căror volum exact este foarte greu de măsurat, trebuie cântărită proba iar tăria alcoolică se calculează întâi pe baza masei.

Formula de conversie:

$$\text{tărie alcoolică în volume} = \frac{TAM(\%\text{masă})X\ P_{20}(\text{probă})}{P_{20}(alcool)}$$

unde

TAM = tărie alcoolică în masă,

ρ_{20} (alcool) = 789,24 kg/m^3

4. Principiu

În urma distilării, tăria alcoolică în volume a distilatului se determină prin picnometrie, densimetrie electronică sau densimetrie, cu utilizarea unei balanțe hidrostatice.

APENDICELE I: PREGĂTIREA DISTILATULUI

1. Domeniu

Metoda este adecvată pentru pregătirea distilatelor utilizate la determinarea tăriei alcoolice în volume la băuturile spirtoase.

2. Principiu

Băuturile spirtoase sunt distilate pentru a separa alcoolul etilic de alte componente volatile de materia extractivă (substanțe care nu se distilează).

3. Reactivi și materiale

3.1. Granule împotriva împroșcării.

3.2. Emulsie antispumantă concentrată (pentru lichiorurile-cremă).

4. Aparatură și echipamente

Aparatura de laborator obișnuită și, în special, următoarele:

4.1. Baie de apă care poate fi menținută între 10 °C și 15 °C.

Baie de apă care poate fi menținută la 20 °C (± 0,2 °C).

4.2. Baloane volumetrice clasa A, 100 ml și 200 ml, care au fost certificate la 0,1 % și respectiv 0,15 %.

4.3. Aparat de distilare:

4.3.1. Cerințe generale

Aparatul de distilare trebuie să îndeplinească următoarele cerințe:

— numărul de îmbinări nu trebuie să depășească strictul minim necesar pentru a asigura un sistem etanș;

— să includă un dispozitiv care să prevină amorsa (antrenarea lichidului în fierbere de vapor) și să normalizeze ritmul de distilare a vaporilor bogați în alcool;

— condensare rapidă și completă a vaporilor de alcool;

— colectarea primelor fracții de distilare într-un mediu apos.

Sursa de căldură trebuie utilizată cu un difuzor de căldură adecvat pentru a preveni orice reacție pirogenă care să implice materia extractivă.

4.3.2. Figura 1 exemplifică un aparat de distilare adecvat care include următoarele părți:

— balon cu fund rotund, de 1 litru, cu o îmbinare din sticlă mată;

— coloană de rectificare cu înălțimea minimă de 20 cm (de exemplu o coloană tip „Vigreux”);
— conector cu cot cu un condensator cu margine dreaptă cu lungimea de 10 cm (condensator tip West) fixat vertical;
— spirală de răcire cu lungimea de 40 cm;
— tub de extragere, care transportă distilatul pe fundul unui balon gradat de colectare care conține o cantitate mică de apă.

Notă: aparatul descris mai sus este adecvat în cazul unei probe de minim 200 ml. Cu toate acestea, se poate distila o probă mai mică (100 ml) cu ajutorul unui balon de distilare mai mic, cu condiția să fie dotat cu un cap barbotor sau un alt instrument pentru a preveni antrenarea.

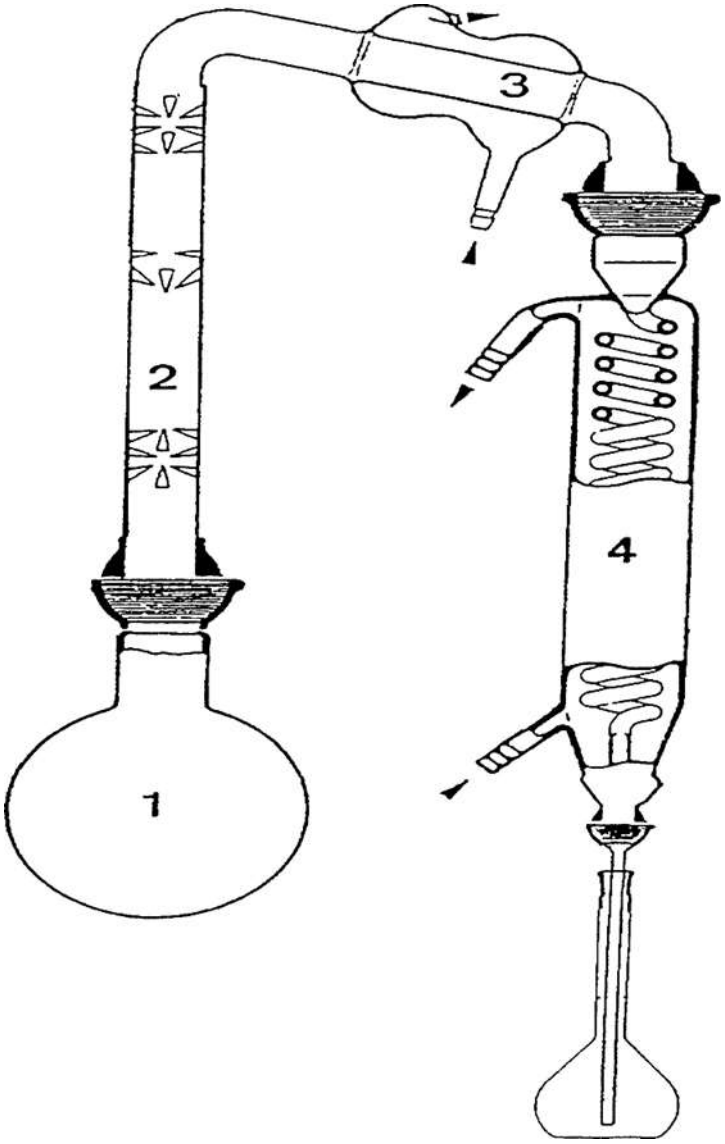


Figura 1. Aparat de distilare pentru măsurarea tăriei alcoolice reale în volume a băuturilor spirtoase.

1.Balon de sticlă de 1 litru cu fundul rotund cu îmbinare sferică standardizată de sticlă rodată.

2.Coloană de rectificare tip „Vigreux” de 20 cm.
3.Condensator West cu margine dreaptă de 10 cm.
4.Spirală de răcire de 40 cm.

5. Depozitarea probelor de testare

Înainte de analiză, probele sunt depozitate la temperatura camerei.

6. Mod de lucru

Observații preliminare:

Distilarea poate fi făcută pe baza procedurii publicată de IUPAC (1968).

6.1.Verificarea aparatului de distilare.

Aparatura utilizată trebuie să poată permite următoarele:

Distilarea a 200 ml soluție apă-alcool cu o concentrație cunoscută aproape de 50 % vol nu trebuie să cauzeze o pierdere de alcool mai mare de 0,1 % vol.

6.2. Băuturile spirtoase cu o tărie alcoolică sub 50 % vol.

Se măsoară 200 ml băutură spirtoasă într-un balon volumetric.

Se notează temperatura acestui lichid sau se menține o temperatură standard (20 °C).

Se toarnă proba în balonul cu fund rotund din aparatura de distilare și se limpezește balonul volumetric cu trei porțiuni, fiecare de aproximativ 20 ml apă distilată. Se adaugă fiecare porțiune de apă de limpezire la conținutul balonului de distilare.

Notă: Această diluție de 60 ml este suficientă pentru băuturile spirtoase care conțin mai puțin de 250 g extract sec la litru. În rest, pentru a preveni piroliza, volumul de apă de limpezire trebuie să fie de cel puțin 70 ml când concentrație extrasului sec este de 300 g/l, 85 ml pentru 400 g/l extract sec și 100 ml pentru 500 g/l extract sec (anumite lichioruri sau creme de fructe). Se ajustează aceste volume proporțional cu diferitele volume ale probelor.

Se adaugă câteva granule anti împroșcare (3.1) (și emulsie antispumantă în cazul lichiorurilor -cremă).

Se toarnă 20 ml apă distilată în balonul volumetric original de 200 ml care va fi utilizat pentru a păstra distilatul. Acest balon trebuie apoi plasat într-o baie de apă rece (4.1) (între 10 și 15 °C pentru băuturile spirtoase cu aromă de anason).

Se distilează, evitându-se antrenarea și carbonizarea, agitând uneori conținutul balonului, până când nivelul distilatului este cu câțiva milimetri sub marcajul de calibrare a balonului volumetric.

Atunci când temperatura distilatului a fost coborâtă la ± 0,5 °C față de temperatura inițială a lichidului, se completează cu apă distilată până la marcaj și se amestecă bine.

Distilatul este folosit pentru a determina tăria alcoolică în volume (apendicele II).

6.3. Băuturi spirtoase cu tărie alcoolică peste 50 % vol.

Se măsoară 100 ml băutură spirtoasă într-un balon volumetric de 100 ml și se toarnă în balonul cu fund rotund din aparatura de distilare.

Se limpezește balonul volumetric de câteva ori cu apă distilată și se adaugă apa respectivă la conținutul balonului de distilare cu fund rotund. Se utilizează suficientă apă pentru a aduce conținutul balonului până la aproximativ 230 ml.

Se toarnă 20 ml apă distilată într-un balon volumetric de 200 ml care va fi utilizat pentru a păstra distilatul. Acest balon trebuie plasat într-o baie de apă rece (4.1) (între 10 și 15 °C pentru băuturile spirtoase cu aromă de anason).
Se distilează, agitându-se uneori conținutul balonului, până când nivelul distilatului este cu câțiva milimetri sub marcajul de calibrare a balonului volumetric de 200 ml.

Atunci când temperatura distilatului a fost coborâtă la ± 0,5 °C față de temperatura inițială a lichidului, se completează cu apă distilată până la marcaj și se amestecă bine.

Distilatul este folosit pentru a determina tăria alcoolică în volume (apendicele II).

Notă: tăria alcoolică în volume a băuturii spirtoase este dublul tăriei alcoolice a distilatului.

APENDICELE II: MĂSURAREA DENSITĂȚII DISTILATULUI

Metoda A: Determinarea tăriei alcoolice reale în volume la băuturi spirtoase – măsurarea prin picnometrie

A.1. Principiu

Tăria alcoolică în volume este obținută din densitatea distilatului măsurată prin picnometrie.

A.2. Reactivi și materiale

Pe durata analizei, dacă nu se specifică altfel, se utilizează numai reactivi cu grad analitic recunoscut și apă de cel puțin gradul 3 conform definiției ISO 3696.

A.2.1. Soluție de clorură de sodiu (2 % m/v)

Pentru a pregăti 1 litru, se cântăresc 20 g clorură de sodiu și se dizolvă până la un litru folosind apă.

A.3. Aparatură și echipamente

Aparatura de laborator obișnuită și, în special, următoarele:

A.3.1. Balanță analitică permițând cântărirea a 0.1 mg.

A.3.2. Termometru, cu îmbinare cu sticlă rodată, etalonat în zecimi de grad de la 10 la 30 °C. Acest termometru trebuie certificat sau testat pe baza unui termometru certificat.

A.3.3. Picnometru din sticlă pyrex cu o capacitate de aproximativ 100 ml dotat cu un termometru detașabil din sticlă mată (A.3.2). Picnometrul are un tub lateral cu o lungime de 25 mm și un diametru intern de (maximum) 1 mm care se încheie cu o îmbinare șlefuită conică. Pot fi utilizate și alte picnometre conform descrierii ISO 3507, de exemplu 50 ml, acolo unde este cazul.

A.3.4. O sticlă utilizată ca tară cu același volum extern (maxim 1 ml) ca și picnometrul și cu masa egală cu masa picnometrului umplut cu un lichid cu densitatea 1.01 (soluție de clorură de sodiu A.2.1).

A.3.5. Manta izolată termic se mulează exact pe corpul picnometrului.

Nota 1: metoda pentru determinarea densității băuturilor alcoolice in vacuo necesită utilizarea unei balanțe cu două platane, a unui picnometru și a unei sticle utilizate ca

tară cu același volum exterior pentru a elimina efectul de flotabilitate al aerului în orice moment. Această tehnică simplă poate fi aplicată utilizând o balanță cu un singur platan, cu condiția ca sticla utilizată ca tară să fie cântărită din nou pentru a monitoriza modificările efectul de flotabilitate al aerului în timp.

A.4. Mod de lucru

Observații preliminare:

Procedura următoare este descrisă pentru utilizarea unui picnometru de 100 ml la determinarea tăriei alcoolice; acesta conferă cele mai exacte rezultate. Totuși, este posibil și să se utilizeze un picnometru mai mic, de exemplu de 50 ml.

A.4.1. Calibrarea picnometrului

Picnometrul se calibrează prin determinarea următorilor parametri:

— tara picnometrului gol;

— volumul picnometrului la 20 °C;

— masa picnometrului umplut cu apă la 20 °C.

A.4.1.1. Calibrarea cu ajutorul unei balanțe cu un singur platan:

Se determină:

— masa picnometrului curat și uscat (P);

— masa picnometrului umplut cu apă la t °C (P1);

— masa sticlei utilizate ca tară (T0).

A.4.1.1.1.Se cântărește picnometrul curat și uscat (P).

A.4.1.1.2.Se umple picnometrul atent cu apă distilată la temperatura ambiantă și se atașează termometrul.

Se șterge cu grijă picnometrul până este uscat și se instalează în mantaua izolată termic.

Se agită răsturnând containerul până când termometrul indică o temperatură constantă.

Se așează picnometrul astfel încât să se îmbine cu marginea superioară a tubului lateral.

Se citește temperatura t °C și, dacă este necesar, se corectează posibilele inadvertențe ale gradației temperaturii.

Se cântărește picnometrul umplut cu apă (P1).

A.4.1.1.3. Se cântărește sticla utilizată ca tară (T0).

A.4.1.1.4. Calcule

— tara picnometrului gol = P – m

unde m reprezintă masa aerului din picnometru.

m = 0,0012 × (P1 – P)

Nota 2: 0,0012 reprezintă densitatea aerului uscat la 20 °C la o presiune de 760 mm Hg

— volumul picnometrului la 20 °C:

$$V_{20\,^{o}C} = [\,P1 - (P - m)]\ x\ F_{t'}1$$

unde F_t reprezintă factorul pentru temperatura la t °C din anexa nr.1 la Instrucțiunea privind metodele analitice de referință.

V_{20} °C trebuie să fie cât mai apropiat de 0,001 ml.

— Masa apei în picnometru la 20 °C:

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

unde 0,998203 reprezintă densitatea apei la 20 °C.

Nota 3: Dacă este necesar, poate fi utilizată valoarea 0,99715 a densității aerului iar tăria alcoolică se calculează pe baza densității echivalente din tabelele Accize și Vame HM pentru aer.

A.4.1.2. Metodă de calibrare utilizând o balanță cu două platane:

A.4.1.2.1. Se plasează sticla utilizată ca tară pe platanul din stânga, iar picnometru curat și uscat cu opritorul colector pe platanul din dreapta. Se echilibrează cele două platane plasând greutăți pe cel care conține picnometrul: p grame.

A.4.1.2.2. Se umple picnometrul atent cu apă distilată la temperatura ambiantă și se atașează termometrul; se șterge cu grijă picnometrul până este uscat și se instalează în mantaua izolată termic; se agită răsturnând containerul până când termometrul indică o temperatură constantă.

Se reglează nivelul cu exactitate până la marginea superioară a tubului lateral. Se curăță tubul lateral, se atașează opritorul colector; se citește temperatura t °C și, dacă este necesar, se corectează posibilele inadvertențe ale gradației temperaturii.

Se cântărește picnometrul umplut cu apă, compensând pentru echilibrare cu p′ greutatea în grame.

A.4.1.2.3. Calcule

— tara picnometrului gol = p + m

unde m reprezintă masa aerului din picnometru.

m = 0,0012 × (p – p′)

— volumul picnometrului la 20 °C:

$$V_{20\,^{o}C} = (p + m - p')\ x\ F_{t'}1$$

unde F_t reprezintă factorul pentru temperatura la t °C din anexa nr.1 la Instrucțiunea privind metodele analitice de referință.

$V_{20\,°C}$ trebuie să fie cât mai apropiat de 0,001 ml.

— Masa apei în picnometru la 20 °C:

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

unde 0,998203 reprezintă densitatea apei la 20 °C.

A.4.2. Determinarea tăriei alcoolice a probei de testare

A.4.2.1. Utilizând o balanță cu un singur platan.

A.4.2.1.1. Se cântărește sticla utilizată ca tară, greutate T1.

A.4.2.1.2. Se cântărește picnometrul cu distilatul preparat, P2 reprezintă greutatea la t °C.

A.4.2.1.3. Calcule

— $dT = T1 - T0$

— Masa picnometrului gol în momentul măsurării

= P – m + dT

— Masa lichidului din picnometru la t °C

= P2 – (P – m + dT)
— Densitatea la t °C în g/ml
—$P_{t^0C} = [P_2 - (P - m + dT)]/V_{20^0C}$
— Se exprimă densitatea la t °C în kilograme pe m^3 prin înmulțirea $\rho_{t\,°C}$ cu 1 000 , valoarea fiind cunoscută ca ρ_t.
— Se corectează ρ_t la 20 folosind tabelul densităților ρ_T pentru amestecuri de apă-alcool din Compendiu metodelor internaționale pentru analiza vinului și a mustului OIV.

Se caută în tabel linia care corespunde temperaturii T în grade fără zecimale, aflată imediat sub t °C, cea mai mică densitate peste ρ_t. Se folosește diferența din tabel găsită sub această densitate pentru a calcula densitatea ρ_t a alcoolului la temperatura T în cauză, în grade fără zecimale.
— Folosind linia pentru temperatura fără zecimale se calculează diferența dintre densitatea ρ′ din tabel imediat deasupra ρ_t și densitatea calculată ρ_t. Se împarte această diferența la diferența din tabel care se află la dreapta densității ρ′. Coeficientul indică porția zecimală a tăriei alcoolice, iar întregul tăriei alcoolice se află în partea superioară a coloanei în care se află densitatea ρ′ (Dt, tăria alcoolică).

Nota 4: Alternativ, se păstrează picnometrul într-o baie de apă menținută la 20 °C (± 0,2 °C) atunci când se completează până la marcaj.

A.4.2.1.4. Rezultat

Folosind densitatea ρ_{20} se calculează tăria alcoolică reală pe baza tabelelor pentru tăria alcoolică identificate în continuare:

Tabelul care indică valoarea tăriei alcoolice în volume (% vol) la 20 °C ca funcție a densității la 20 °C a amestecurilor de apă-alcool este tabelul internațional adoptat de Organizația Internațională de Metrologie Legală în Recomandarea nr. 22.

A.4.2.2. Metoda care folosește balanța cu un singur platan.

A.4.2.2.1. Se cântărește picnometrul cu distilatul preparat (vezi partea I), ρ″ este masa la t °C.

A.4.2.2.2. Calculul
— Masa lichidului din picnometru la t °C
= ρ + m – ρ″
— Densitatea la t °C în g/ml
$P_{t^0C} = [\,p + m - \,p'')]/V_{20^0C}$
— Se exprimă densitatea la t °C în kilograme pe m^3 și se efectuează corectarea temperaturii pentru a calcula tăria alcoolică la 20 °C, așa cum este indicat anterior pentru folosirea balanței cu un singur platan.

A.5. Caracteristici de performanță ale metodei (precizia)

A.5.1. Rezultate statistice ale testului interlaboratoare

Următoarele date au fost obținute dintr-un studiu internațional de performanță a metodei efectuat cu proceduri acceptate la nivel internațional [1] [2].

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	20
Numărul de probe	6

Probe	A	B	C	D	E	F
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	19	20	17	19	19	17
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	1	-	2	1	1	3
Numărul rezultatelor acceptate	38	40	34	38	38	34
Valoarea medie ($\bar{x}$) % vol	23,77	40,04	40,29	39,20	42,24	57,03
	26,51(*)			42,93(*)	45,73(*)	63,03(*)
Standard de repetabilitate (S_r) % vol	0,106	0,176	0,072	0,103	0,171	0,190
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	0,42	0,44	0,18	0,25	0,39	0,32
Limită de repetabilitate (r) în % vol	0,30	0,49	0,20	0,29	0,48	0,53
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) % vol	0,131	0,236	0,154	0,233	0,238	0,322
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	0,52	0,59	0,38	0,57	0,54	0,53
Limita de reproductibilitate (R) în % vol	0,37	0,66	0,43	0,65	0,67	0,90

Metoda B: Determinarea tăriei alcoolice reale în volume pentru băuturile spirtoase – măsurare prin densitometrie electronică (bazată pe oscilația frecvenței rezonante a unei probe într-o celulă de oscilare)

B.1. Principiu

Densitatea lichidului este determinată prin măsurători electronice ale oscilațiilor unui tub vibrator sub formă de U. Pentru a efectua aceste măsurători, proba este adăugată unui sistem de oscilații a cărui frecvență de oscilare este astfel modificată de masa adăugată.

B.2. Reactivi și materiale

Pe timpul analizei, dacă nu se specifică altfel, se utilizează numai reactivi cu grad analitic recunoscut și cu apă de cel puțin gradul 3, conform definiției din ISO 3696.

B.2.1. Acetonă (CAS 666-52-4) sau alcool absolut

B.2.2. Aer uscat

B.3. Aparatură și echipamente

Aparate de laborator obișnuite și, în special, următoarele aparate:

B.3.1. Densitometru cu afișaj digital

Densitometrul electronic pentru efectuarea acestor măsurători trebuie să poată exprima densitatea în g/ml cu 5 zecimale.

Nota 1: Densitometrul trebuie să fie așezat pe o suprafață perfect stabilă, izolată de vibrații.

B.3.2. Reglarea temperaturii

Performanța densitometrului este valabilă numai dacă celula de măsurare este conectată la un regulator de temperatură încorporat care poate atinge aceeași stabilitate a temperaturii la ± 0,02 °C sau mai puțin.

Nota 2: Stabilirea și monitorizarea precise ale temperaturii în celula de măsurare sunt foarte importante deoarece o eroare a 0,1 °C poate determina o variație a densității de 0,1 kg/m3.

B.3.3. Seringi de injectare a probei sau dispozitiv de autoprelevare de probe.

B.4. Mod de lucru

B.4.1. Calibrarea densitometrului

Aparatul se calibrează conform instrucțiunilor producătorului instrumentului la prima punere în funcțiune. Trebuie să se recalibreze în mod regulat și să se verifice pe baza unui standard de referință certificat sau a unei soluții de referință interne de laborator bazată pe un standard de referință certificat.

B.4.2. Determinarea densității probei

B.4.2.1. Dacă este necesar, înainte de măsurare se curăță și se usucă celula cu acetonă sau cu alcool absolut și aer uscat. Se clătește celula cu proba de testare.

B.4.2.2. Se injectează proba în celulă (utilizând o seringă sau un dispozitiv de autoprelevare de probe) până la umplerea completă a celulei. În timpul operației de umplere se verifică dacă sunt eliminate toate bulele de aer. Proba trebuie să fie omogenă și să nu conțină particule solide. Particulele materiale în suspensie se elimină prin filtrare înainte de efectuarea analizei.

B.4.2.3. După stabilizarea indicatorului, se notează densitatea ρ_{20} sau tăria alcoolică afișată de densitometru.

B.4.3. Rezultat

Dacă se folosește densitatea ρ_{20}, tăria alcoolică reală se calculează cu ajutorul tabelelor de tărie alcoolică identificate în continuare.

Tabelul care cuprinde valoarea tăriei alcoolice în volume (% vol) la 20 °C ca funcție a densității la 20 °C a amestecurilor de apă-alcool este tabelul adoptat de Organizația Internațională Legală de Metrologie în Recomandarea nr. 22.

B.5. Caracteristici de performanță ale metodei (precizia)

B.5.1. Rezultate statistice ale testului interlaboratoare

Următoarele date au fost obținute dintr-un studiu internațional de performanță a metodei efectuat cu proceduri acceptate la nivel internațional [1] [2].

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	20
Numărul de probe	6

Probe	A	B	C	D	E	F
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	11	13	15	16	14	13
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	2	3	1	-	1	2
Numărul rezultatelor acceptate	22	26	30	32	28	26
Valoarea medie (x^{-}) % vol	23,81	40,12	40,35	39,27	42,39	56,99
	26,52(*)			43,10(*)	45,91(*)	63,31(*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) % vol	0,044	0,046	0,027	0,079	0,172	0,144
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	0,17	0,12	0,07	0,19	0,39	0,24
Limită de repetabilitate (r) în % vol	0,12	0,13	0,08	0,22	0,48	0,40
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) % vol	0,054	0,069	0,083	0,141	0,197	0,205
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	0,21	0,17	0,21	0,34	0,45	0,34
Limita de reproductibilitate (R) în % vol	0,15	0,19	0,23	0,40	0,55	0,58

Metoda C: Determinarea tăriei alcoolice reale în volume a băuturilor spirtoase – măsurarea prin densitometrie cu ajutorul balanței hidrostatice

C.1. Principiu

Tăria alcoolică a băuturilor spirtoase poate fi măsurată prin densitometrie cu ajutorul unei balanțe hidrostatice bazată pe principiul lui Arhimede conform căruia un

corp scufundat într-un lichid este împins la suprafață de o cantitate de lichid egală cu greutatea lichidului dislocat.

C.2. Reactivi și materiale

Pe timpul analizei, dacă nu se specifică altfel, se folosesc numai reactivi cu grad analitic recunoscut și cu apă de cel puțin gradul 3, conform definiției din ISO 3696.

C.2.1. Soluție de curățare a flotorului (hidroxid de sodiu, 30 % m/v)

Pentru a prepara 100 ml, se cântăresc 30 g de hidroxid de sodiu și se completează cu etanol 96 % vol.

C.3. Aparatură și echipamente

Aparate de laborator obișnuite și, în special, următoarele:

C.3.1. Balanță hidrostatică cu un singur platan cu sensibilitate de 1 mg.

C.3.2. Flotor cu un volum de cel puțin 20 ml, adaptat special pentru balanță, suspendat de un fir cu diametru de maximum 0,1 mm.

C.3.3. Cilindru gradat cu marcaj pentru nivel. Flotorul trebuie să poată fi conținut complet în volumul cilindrului situat sub marcaj; suprafața lichidului poate fi penetrată numai de firul de susținere. Cilindrul gradat trebuie să aibă un diametru intern de minimum 6 mm mai mare decât diametrul flotorului.

C.3.4. Termometru (sau probă de măsurare a temperaturii) gradat cu grade și zecimi de grade de la 10 la 40 °C, calibrat la 0,05 °C.

C.3.5. Greutăți, calibrate de un organism de certificare recunoscut.

C.4. Mod de lucru

Flotorul și cilindrul gradat trebuie să se curețe, după fiecare măsurare, cu apă distilată, să se usuce cu hârtie moale de laborator care nu lasă fire și să se clătească cu soluție a cărei densitate urmează să fie determinată. Măsurările se efectuează în momentul în care aparatul este stabil pentru a limita pierderile de alcool cauzate de evaporare.

C.4.1. Calibrarea balanței

Deși în mod obișnuit balanțele au un sistem intern de calibrare, balanța hidrostatică trebuie să poată efectua calibrarea cu greutățile verificate de un organism de certificare oficial.

C.4.2. Calibrarea flotorului

C.4.2.1. Se umple cilindrul gradat până la marcaj cu apă dublu distilată (sau apă cu puritate echivalentă, adică apă microfiltrată cu conductibilitate de 18,2 MΩ/cm) la o temperatură între 15 și 25 °C, de preferință 20 °C.

C.4.2.2. Se scufundă flotorul și termometrul, se amestecă, se citește densitatea lichidului din aparat și, dacă este necesar, se corectează indicația astfel încât aceasta să fie egală cu cea a apei la temperatura de măsurare.

C.4.3. Se controlează folosind o soluție de apă-alcool.

C.4.3.1. Se umple cilindrul gradat până la marcaj cu un amestec de apă-alcool cu tărie cunoscută la o temperatură între 15 și 25 °C, de preferință 20 °C.

C.4.3.2. Se scufundă flotorul și termometrul, se amestecă, se citește densitatea lichidului (sau tăria alcoolică, dacă este posibil) din aparat. Tăria alcoolică astfel stabilită trebuie să fie egală cu tăria alcoolică determinată anterior.

Notă 2: Această soluție cu tărie alcoolică cunoscută poate fi folosită și la calibrarea flotorului în locul apei dublu distilate.

C.4.4. Măsurarea densității distilatului (sau a tăriei alcoolice, dacă aparatul permite aceasta).

C.4.4.1. Se toarnă proba de testare într-un cilindru gradat până la marcaj.

C.4.4.2. Se scufundă flotorul și termometrul, se amestecă, se citește densitatea lichidului (sau tăria alcoolică, dacă este posibil) din aparat. Se notează temperatura dacă densitatea se măsoară la t °C (ρ_t).

C.4.4.3. Se corectează ρ_t la 20 folosind tabelul de densități ρT pentru amestecurile apă-alcool din Compendiu metodelor internaționale pentru analiza vinului și a mustului OIV.

C.4.5. Curățarea flotorului și a cilindrului gradat.

C.4.5.1. Se cufundă flotorul în soluția de curățare a flotorului în cilindrul gradat.

C.4.5.2. Se lasă să se înmoaie timp de o oră, rotind periodic flotorul.

C.4.5.3. Se clătește cu multă apă de la robinet, apoi cu apă distilată.

C.4.5.4. Se usucă cu hârtie moale de laborator care nu lasă scame.

Această procedură se efectuează după prima utilizare a flotorului, apoi ori de câte ori este cazul.

C.4.6. Rezultat

Cu ajutorul densității ρ_{20} se calculează tăria alcoolică reală folosind tabelele de tărie alcoolică menționate mai jos.

Tabelul care cuprinde valoarea tăriei alcoolice în volume (% vol) la 20°C ca funcție a densității la 20°C a amestecurilor de apă-alcool este tabelul adoptat de Organizația Internațională Legală de Metrologie în Recomandarea nr. 22.

C.5. Caracteristici de performanță ale metodei (precizia)

C.5.1. Rezultate statistice ale testului interlaboratoare

Următoarele date au fost obținute dintr-un studiu internațional de performanță a metodei efectuat cu proceduri acceptate la nivel internațional [1] [2].

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	20
Numărul de probe	6

Probe	A	B	C	D	E	F
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	12	10	11	12	11	9
Numărul rezultatelor	-	2	1	-	1	2

aberante (laboratoare)						
Numărul rezultatelor acceptate	24	20	22	24	22	18
Valoarea medie (x^{-}) % vol	23,80	40,09	40,29	39,26	42,38	57,16
	26,51 (*)			43,09(*)	45,89(*)	63,44(*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) % vol	0,048	0,065	0,042	0,099	0,094	0,106
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	0,19	0,16	0,10	0,24	0,21	0,18
Limită de repetabilitate (r) în % vol	0,13	0,18	0,12	0,28	0,26	0,30
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) % vol	0,060	0,076	0,073	0,118	0,103	0,125
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	0,24	0,19	0,18	0,29	0,23	0,21
Limita de reproductibilitate (R) în % vol	0,17	0,21	0,20	0,33	0,29	0,35

II. DETERMINAREA EXTRACTULUI SEC TOTAL AL BĂUTURILOR SPIRTOASE PRIN GRAVIMETRIE

1. Domeniu

Această metodă este utilizată pentru a măsura conținutul de substanțe solide dizolvate într-o băutură spirtoasă, după îndepărtarea alcoolului și a apei prin evaporare.

2. Referințe normative

ISO 3696 - Apă pentru uzul laboratorului – specificații și metode de testare.

3. Definiție

Extractul sec total sau materia uscată totală include toată materia nevolatilă în condiții fizice specificate.

4. Principiu

Cântărirea reziduului rămas după evaporarea alcoolului pe o baie de apă la fierbere și uscarea într-un cuptor de uscare.

5. Aparatură și echipamente

5.1. Capsulă cilindrică de evaporare cu fundul plat cu diametru de 35 mm.

5.2. Baie cu apă la fiebere.

5.3. Pipetă de 25 ml, clasa A.

5.4. Cuptor de uscare.

5.5. Desicator.

5.6. Balanță analitică cu precizie de 0,1 mg.

6. Prelevare și probe

Probele se păstrează la temperatura camerei înainte de analiză.

7. Mod de lucru

7.1. Se pipetează 25 ml de alcool care conține sub 15 g/l materie uscată într-o placă cilindrică de evaporare cu fundul plat cu diametru de 55 mm. În timpul primei ore de evaporare placa de evaporare se plasează pe capacul unei băi de apă la fierbere în așa fel încât lichidul să nu fiarbă, deoarece ar duce la pierderi prin stropire. Se lasă încă o oră în contact direct cu vaporii băii de apă la fierbere.

7.2. Se finalizează uscarea așezând placa de evaporare într-un cuptor de uscare la 105 °C ± 3 °C timp de două ore. Se lasă placa de evaporare să se răcească într-un desicator și se cântărește placa de evaporare și conținutul acesteia.

8. Calcule

Masa reziduului înmulțită cu 40 este egală cu conținutul uscat din alcool și trebuie să fie exprimată în g/l până la o zecimală.

9. Caracteristici de performanță ale metodei (precizia)

9.1. Rezultate statistice ale testului interlaboratoare

Următoarele date au fost obținute dintr-un studiu internațional de performanță a metodei efectuat cu proceduri acceptate la nivel internațional [1] [2].

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	10
Numărul de probe	4

Probe	**A**	**B**	**C**	**F**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	9	9	8	9
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	1	1	2	-
Numărul rezultatelor acceptate	18	18	16	18
Valoarea medie ($\bar{x}$) % vol	9,0	9,1	10,0	11,8

		7,8	9,4	11,1
Deviație standard de repetabilități (S_r) % vol	0,075	0,441	0,028	0,123
Deviația standard relativă de repetabilități (RSD_r) (%)	0,8	5,2	0,3	1,1
Limită de repetabilități (r) în % vol	0,2	1,2	0,1	0,3
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) % vol	0,148	0,451	0,058	0,210
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	1,6	5,3	0,6	1,8
Limita de reproductibilitate (R) în % vol	0,4	1,3	0,2	0,6

III. DETERMINAREA SUBSTANȚELOR VOLATILE ȘI A METANOLULUI DIN BĂUTURILE SPIRTOASE

III.1 OBSERVAȚII GENERALE

1. Definiții

Regulamentului privind definirea, descrierea, prezentarea şi etichetarea băuturilor ce conțin alcool adoptat prin Hotărârea Guvernului nr. 589/2023 stabilește nivelurile minime de compuși volatili, alții decât etanolul și metanolul, pentru mai multe băuturi spirtoase, băuturi alcoolice cu conţinut redus de alcool şi băuturi slab alcoolice. Numai pentru aceste produse, aceste niveluri sunt considerate, în mod convențional, echivalente cu suma concentrațiilor de:

1. acizi volatili exprimați ca acid acetic;
2. aldehide exprimate ca etanal prin suma etanalului (acetaldehidă) și a fracției de etanal conținută în 1,1 dietoxietan (acetal);
3. următoarele alcooluri superioare: propan-1-ol, butan-1-ol, butan-2-ol, 2-metilpropan-1-ol, evaluate ca alcool individual și 2-metilbutan-1-ol, și 3-metilbutan-1-ol evaluat ca alcool individual sau ca suma celor două;
4. acetat de etil.

Următoarele metode convenționale se folosesc pentru măsurarea compușilor volatili:
— acizii volatili prin aciditate volatilă;
— aldehidele (etanal și acetal), acetatul de etil și alcoolurile prin cromatografie cu gaz (GPC).

2. Analiza prin cromatografia gazoasă a compușilor volatili

Evaluările prin cromatografia gazoasă a compușilor volatili, alții decât cei menționați anterior, se pot dovedi a fi extrem de interesante ca mijloace de determinare a originii materiei prime folosite în distilare și a condițiilor de distilare efective.

Unele alcooluri conțin alte componente volatile, cum ar fi compuși aromatici, care sunt caracteristici materiilor prime folosite la obținerea alcoolului, aromei băuturii spirtoase și caracteristicilor speciale ale preparării alcoolului. Acești compuși sunt importanți pentru evaluarea cerințelor stabilite în Regulamentul privind definirea, descrierea, prezentarea și etichetarea băuturilor ce conțin alcool adoptat prin Hotărârea Guvernului nr. 589/2023.

III.2. DETERMINAREA PRIN CROMATOGRAFIA GAZOASĂ A CONGENERILOR VOLATILI: ALDEHIDE, ALCOOLURI SUPERIOARE, ACETAT DE ETIL ȘI METANOL

1. Domeniu

Această metodă este potrivită pentru a se determinarea 1,1 dietoxietan (acetal), 2-metilbutan-1-ol (alcool amil activ), 3-metilbutan-1-ol (alcool izoamil), metanolul (alcool metilic), etil etanoat (etil acetat), butan-1-ol (n-butanol), butan-2-ol (sec-butanol), 2-metilpropan-1-ol (alcool izobutil), propan-1-ol (n-propanol) și etanal (acetaldehidă) din băuturile spirtoase folosind cromatografia gazoasă. Metoda folosește un standard intern, de exemplu pentan-3-ol. Concentrațiile analiților sunt exprimate în grame pe 100 litri de alcool absolut; tăria alcoolică a produsului trebuie să se determine înainte de analiză. Băuturile spirtoase care pot fi analizate folosind această metodă includ whisky, brandy, rom, rachiu de vin, rachiu de fructe și rachiu de tescovină.

2. Trimiteri normative

ISO 3696 - Apă pentru uzul laboratorului – specificații și metode de testare.

3. Definiție

Congenerii sunt substanțe volatile formate în același timp cu etanolul pe parcursul fermentației, distilării și maturării băuturilor spirtoase.

4. Principiu

Congenerii din băuturile spirtoase sunt determinați prin injectarea directă a băuturii spirtoase sau a băuturii spirtoase diluate corespunzător într-un sistem de cromatografie cu gaz (GC). Un standard intern corespunzător se adaugă băuturii spirtoase înainte de injectare. Congenerii sunt separați prin programarea temperaturii pe o coloană adecvată și sunt detectați folosind un detector de ionizare cu flacără (FID). Concentrația fiecărui congener este determinată luându-se în considerare standardul intern al factorilor de răspuns care sunt obținuți în timpul calibrării în același condiții cromatografice ca și cele pentru analiza băuturilor spirtoase.

5. Reactivi și materiale

Dacă nu există alte specificații, folosiți numai reactivi cu o puritate de peste 97 %, achiziționați de la un furnizor acreditat ISO cu certificat de puritate, care nu prezintă congeneri la diluția test (acest lucru poate fi confirmat prin injectarea de standarde de congener individuale la diluția test folosind condițiile de GC de la punctul 6.4) și numai apă de cel puțin 3 grade conform definiției din ISO 3696. Acetalul și acetaldehida se păstrează la întuneric, la < 5 °C, toți ceilalți reactivi pot fi păstrați la temperatura camerei.

5.1. Etanol absolut (CAS 64-17-5).
5.2. Metanol (CAS 67-56-1).
5.3. Propan-1-ol (CAS 71-23-8).
5.4. 2-metilpropan-1-ol (CAS 78-83-1). ◄
5.5. Standarde interne acceptabile: pentan-3-ol (CAS 584-02-1), pentan-1-ol (CAS 71-41-0), 4-metilpentan-1-ol (CAS 626-89-1) sau metil nonanoat (CAS 1731-84-6).
5.6. 2-metilbutan-1-ol (CAS 137-32-6).
5.7. 3-metilbutan-1-ol (CAS 123-51-3).
5.8. acetat de etil (CAS 141-78-6).
5.9. Butan-1-ol (CAS 71-36-3).
5.10. Butan-2-ol (CAS 78-92-2).
5.11. Acetaldehidă (CAS 75-07-0).
5.12. Acetal (CAS 105-57-7).
5.13. Soluție de etanol 40 % v/v

Pentru a prepara 400 ml/l soluție de etanol se toarnă 400 ml de etanol (5.1) într-un balon volumetric de 1 litru, se completează cu apă distilată și se amestecă.

Doar în cazul alcoolului etilic de origine agricolă, etanol absolut (CAS 64-17-5).

5.14. Prepararea și păstrarea soluțiilor standard (procedura folosită pentru metoda validată).

Toate soluțiile standard pot fi păstrate la < 5 °C și pot fi proaspăt preparate lunar. Masele componentelor și ale soluțiilor trebuie să fie înregistrate cu o precizie de 0,1 mg.

5.14.1. Soluția standard – A

Se pipetează următorii reactivi într-un balon volumetric de 100 ml care conține aproximativ 60 ml soluție de etanol (5.13) pentru a minimaliza evaporarea componentei, se completează cu soluție de etanol (5.13) și se amestecă bine. Se notează greutatea balonului, fiecare componentă adăugată și greutatea finală totală a conținutului.

Componentă	**Volum (ml)**
Metanol (5.2)	3,0
Propan-1-ol (5.3)	3,0
2-metilpropan-1-ol (5.4)	3,0
2-metilbutan-1-ol (5.6)	3,0
3-metilbutan-1-ol (5.7)	3,0
Acetat de etil (5.8)	3,0
Butan-1-ol (5.9)	3,0
Butan-2-ol (5.10)	3,0
Acetaldehidă (5.11)	3,0

Acetal (5.12)	3,0

Nota 1: Se recomandă adăugarea acetalului și a acetaldehidei la sfârșit pentru a minimiza pierderile prin evaporare.

Doar în cazul alcoolului etilic de origine agricolă, soluția standard A se prepară prin pipetarea de reactivi cu volume reduse de alcooli superiori, cu scopul de a avea soluții standard cu concentrații apropiate de limitele legale pentru alcoolul etilic de origine agricolă.

5.14.2. Soluția standard – B

Se pipetează 3 ml de pentan-3-ol sau alt standard intern corespunzător (5.5) într-un balon volumetric de 100 ml care conține aproximativ 80 ml de soluție de etanol (5.13), se completează cu soluție de etanol (5.13) și se amestecă bine.

Se notează greutatea balonului, greutatea pentan-3-olului sau a altui standard intern adăugat și greutatea finală totală a conținutului.

Doar în cazul alcoolului etilic de origine agricolă, soluția standard B se prepară prin pipetarea unui standard intern adecvat cu volume reduse, cu scopul de a avea soluții standard cu concentrații apropiate de limitele legale pentru alcoolul etilic de origine agricolă.

5.14.3. Soluția standard – C

Se pipetează 1 ml de soluție A (5.14.1) și 1 ml de soluție B (5.14.2) într-un balon volumetric de 100 ml care conține aproximativ 80 ml de soluție de etanol (5.13), se completează cu soluție de etanol (5.13) și se amestecă bine.

Se notează greutatea balonului, a fiecărei componente adăugate și greutatea finală totală a conținutului.

5.14.4. Soluția standard – D

Pentru a menține continuitatea analitică, se prepară un standard de control de calitate folosind standardul A preparat anterior (5.14.1). Se pipetează 1 ml de soluție A (5.14.1) într-un balon volumetric de 100 ml care conține aproximativ 80 ml de soluție de etanol (5.13), se completează cu soluție de etanol (5.13) și se amestecă bine.

Se notează greutatea balonului, a fiecărei componente adăugate și greutatea finală totală a conținutului.

5.14.5. Soluția standard – E

Se pipetează 1 ml de soluție B (5.14.2) într-un balon volumetric de 100 ml care conține aproximativ 80 ml de soluție de etanol (5.13), se completează cu soluție de etanol (5.13) și se amestecă bine.

Se notează greutatea balonului, a fiecărei componente adăugate și greutatea finală totală a conținutului.

5.14.6. Soluții standard folosite la verificarea liniarității răspunsului FID

În baloane volumetrice de 100 ml diferite, care conțin aproximativ 80 ml de soluție de etanol (5.13) se pipetează 0, 0,1, 0,5, 1,0, 2,0 ml de soluție A (5.14.1) și 1 ml de soluție B (5.14.2), se completează cu soluție de etanol (5.13) și se amestecă bine.

Se notează greutatea balonului, a fiecărei componente adăugate și greutatea finală totală a conținutului.

5.14.7. Soluție standard de control al calității

Se pipetează 9 ml de soluție standard D (5.14.4) și 1 ml de soluție E (5.14.5) într-un vas de cântărire și se amestecă bine.

Se notează greutatea balonului, a fiecărei componente adăugate și greutatea finală totală a conținutului.

6. Aparatură și echipamente

6.1. Aparatură de măsurare a densității și a tăriei alcoolice.

6.2. Balanță analitică de măsurare cu patru zecimale.

6.3. Un cromatograf cu gaz cu temperatura programată echipat cu un detector și integrator de ionizare cu flacără sau alte sisteme de tratare a datelor care pot măsura platourile de maxim și vârfurile de maxim.

6.4.Coloană (coloane) de gaz cromatografie ce pot separa analiții astfel încât rezoluția minimă dintre componentele individuale (altele decât 2-metilbutan-1-ol și 3-metilbutan-1-ol) să fie de minimum 1,3

Nota 2: Următoarele coloane și condiții GC reprezintă exemple potrivite:

1. O cavitate de retenție 1 m × 0,32 mm i.d. conectată la o coloană CP-WAX 57 CB de 50 m × 0.32 mm i.d., grosimea filmului de 0,2 µm (polietilenă glicol stabilizat), urmată de o coloană Carbowax 400 de 50 m × 0,32 mm i.d., grosimea filmului de 0,2 µm. (Coloanele sunt conectate cu ajutorul conectorilor apăsare-fixare.)

Gaz transportor și presiune:	Heliu (135 kPa)
Temperatură coloană:	35 °C timp de 17 min., 35-70 °C la 12 °C/min., se menține la 70 °C timp de 25 min.
Temperatură injector:	150 °C
Temperatură detector:	250 °C
Volum de injectare:	1 µl, se divizează 20 la 100:1

2. O cavitate de retenție 1 m × 0,32 mm i.d. conectată la o coloană CP-WAX 57 CB de 50 m × 0.32 mm i.d., grosimea filmului de 0,2 µm (polietilenă glicol stabilizat). (Cavitatea de retenție este conectată cu ajutorul unui conector apăsare-fixare.)

Gaz transportor și presiune:	Heliu (65 kPa)
Temperatură coloană:	35 °C timp de 10 min., 35-110 °C la 5 °C/min., 110-190 °C la 30 °C/min., se menține la 190 °C timp de 2 min.
Temperatură injector:	260 °C

Temperatură detector:	300 °C
Volum de injectare:	1 µl, se divizează 55: 1

3. O coloană împachetată (5 % CW 20M, Carbopak B), 2 m × 2 mm diametru interior

Temperatură coloană:	65 °C timp de 4 min., 65-140 °C la 10 °C/min., se menține la 140 °C timp de 5 min., 140-150 °C la 5 °C/min., se menține la 150 °C timp de 3 min.
Temperatură injector:	65 °C
Temperatură detector:	200 °C
Volum de injectare:	1 µl

7. Prelevare și probe

7.1. Probă de laborator

La primire se măsoară tăria alcoolică a fiecărei probe (6.1).

8. Mod de lucru (folosit pentru metoda validată)

8.1. Porțiune de testare

8.1.1. Se cântărește un vas de cântărire corespunzător sigilat și se notează greutatea.

8.1.2. Se pipetează 9 ml de probă de laborator în vas și se notează greutatea ($M_{PROBĂ}$).

8.1.3. Se adaugă 1 ml de soluție standard E (5.14.5) și se notează greutatea (M_{IS}).

8.1.4. Se agită puternic materialul de testare (cel puțin 20 de inversări). Probele trebuie să se păstreze la sub 5 °C înainte de analiză pentru a minimiza pierderile prin volatilizare.

8.2. Test martor

8.2.1. Folosind balanța cu patru zecimale (6.2), se cântărește vasul de cântărire corespunzător sigilat și se notează greutatea.

8.2.2. Se pipetează 9 ml de soluție de etanol 400 ml/l (5.13) și se notează greutatea.

8.2.3. Se adaugă 1 ml de soluție standard E (5.14.5) și se notează greutatea.

8.2.4. Se agită puternic materialul de testare (cel puțin 20 de inversări). Probele trebuie să se păstreze la sub 5 °C înainte de analiză pentru a minimiza pierderile prin volatilizare.

8.3. Test preliminar

Se injectează soluție standard C (5.14.3) pentru a se asigura că toți analiții sunt separați cu o rezoluție minimă de 1,3 (cu excepția 2-metilbutan-1-olului și a 3-metilbutan-1-olului).

8.4. Calibrare

Calibrarea trebuie să se verifice folosind următoarea procedură. Se asigură un răspuns liniar prin analiza succesivă a trei exemplare din fiecare soluție standard de liniaritate (5.14.6.) care conține standard intern (IS). Din platourile de maxim sau vârfurile de maxim ale integratorului pentru fiecare injectare se calculează raportul R pentru fiecare congener și se realizează un grafic pentru R versus rata de concentrație a congenerului față de standardul intern (IS). Trebuie să se obțină o diagramă liniară cu un coeficient de corelare de cel puțin 0,99.

$$R = \frac{Platou\ sau\ vârf\ de\ maxim\ al\ congenerului}{Platou\ sau\ vârf\ de\ maxim\ al\ IS}$$

$$C = \frac{Concentrația\ congenerului\ (\mu g/g)}{Concentrația\ IS\ (\mu g/g)}$$

8.5. Determinarea

Se injectează soluție standard C (5.14.3) și 2 soluții standard QC (5.14.7). Se continuă cu probe necunoscute (preparate conform 8.1 și 8.2), inserând un standard QC la fiecare zece probe pentru a asigura stabilitatea analitică. Se injectează o soluție standard C (5.14.3) după fiecare 5 probe.

9. Calcule

Se poate folosi un sistem automat de tratare a datelor, cu condiția ca datele să poată fi verificate cu ajutorul principiilor descrise în metoda menționată în continuare.

Se măsoară fiecare platou sau vârf de maxim pentru congener și vârfurile standardului intern.

9.1. Calcularea factorului de răspuns.

Din cromatograma injectării de soluție standard C (5.14.3), se calculează factorii de răspuns pentru fiecare congener folosind ecuația (1).

$$(1)\ Factor\ de\ răspuns = \frac{Platou\ sau\ vârf\ de\ maxim\ IS}{Platou\ sau\ vârf\ de\ maxim\ al\ congenerului}\ x\ \frac{Conc.Congener\ (\mu g/g)}{Conc.IS\ (\mu g/g)}$$

unde:

IS = Standard intern

Conc. Congener = concentrația de congener în soluția C (5.14.3)

Conc. IS = concentrația standardului intern în soluția C (5.14.3).

9.1.2. Analiza probei

Folosind ecuația (2) menționată în continuare, se calculează concentrația fiecărui congener din probe.

$$(2)\ Concentrațiile\ de\ congener\ (\mu g/g) = \frac{Platou\ sau\ vârf\ de\ maxim\ al\ congenerului}{Platou\ sau\ vârf\ de\ maxim\ al\ IS}\ x\ \frac{M_{IS}(g)}{M_{PROBg}(g)}\ x\ Conc.IS\ (\mu g/g)\ x\ RF$$

unde:

$M_{PROBĂ}$ = greutatea probei (8.1.2);

M_{IS} = greutatea standardului intern (8.1.3);

Conc. IS = concentrația de standard intern în soluția E (5.14.5);

RF = factor de răspuns calculat folosind ecuația 1.

9.1.3. Analiza soluției standard de control al calității

Folosind ecuația (3) menționată în continuare, se calculează recuperarea procentuală a valorii țintă pentru fiecare congener în standardele de control al calității (5.14.7):

$$(3)\ \%\ de\ recuperare\ a\ eșantionului\ QC = \frac{concentrația\ analitului\ în\ standard\ QC}{concentrația\ analitului\ în\ soluția\ D}\ x\ 100$$

Concentrația analitului în standardul QC se calculează folosind ecuațiile (1) și (2) menționate anterior.

9.2. Prezentarea finală a rezultatelor

Rezultatele sunt convertite din μ/g în g la 100 litri alcool absolut pentru probe, folosindu-se ecuația (4):

$$(4)\ Concentrația\ în\ g\ la\ 100\ litri\ alcool\ absolut = Conc.(\mu g/g)\ x\ \varrho\ x\ 10/[tărie\ (\%vol)\ x\ 1000]$$

unde

ϱ = densitatea în kg/m^3.

Rezultatele se menționează cu 3 cifre semnificative și maxim o zecimală, de exemplu, 11,4 g la 100 l alcool absolut.

10. Asigurarea calității și controlul calității (pentru metoda validată)

Cu ajutorul ecuației (2) menționate anterior se calculează concentrația fiecărui congener din soluțiile standard de control al calității preparate conform procedurii de la 8.1.1-8.1.4. Cu ajutorul ecuației (3) se calculează procentul de recuperare a valorii țintă. Dacă rezultatele analizate se încadrează în ± 10 % din valorile teoretice pentru fiecare congener, se poate începe analiza. În caz contrar, se recomandă o investigație pentru a găsi cauza inexactității și pentru a lua măsuri de remediere corespunzătoare.

11. Caracteristici de performanță ale metodei (precizia)

Rezultatele statistice ale testului interlaboratoare: tabelele următoare prezintă valorile pentru următorii compuși: etanal, acetat de etil, acetal, etanal total, metanol, butan-2-ol, propan-1-ol, butan-1-ol, 2-metil-propan-1-ol, 2 metil-butan-1-ol, 3 metil-butan-1-ol.

Următoarele date au fost obținute dintr-un studiu internațional de performanță a metodei efectuat cu proceduri acceptate la nivel internațional.

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	etanal

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	28	26	27	27	28
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	2	4	3	3	2
Numărul rezultatelor acceptate	56	52	54	54	56
Valoarea medie (x^{-}) % vol	63,4	71,67	130,4	38,4	28,6
				13,8 (*)	52,2(*)
Deviație standard de repetabilități (S_r) % vol	3,3	1,9	6,8	4,1	3,6
Deviația standard relativă de repetabilități (RSD_r) (%)	5,2	2,6	5,2	15,8	8,9
Limită de repetabilități (r) în µg/g vol	9,3	5,3	19,1	11,6	10,1
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g vol	12	14	22	6,8	8,9
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	18,9	19,4	17,1	26,2	22,2
Limita de reproductibilitate (R) în % vol	33,5	38,9	62,4	19,1	25,1

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	acetat de etil

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	24	24	25	24	24
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	2	2	1	2	2
Numărul rezultatelor acceptate	48	48	50	48	48
Valoarea medie (x^{-}) µg/g	96,8	1 046	120,3	112,5	99,1
				91,8	117,0
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	2,2	15	2,6	2,1	2,6
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	2,3	1,4	2,1	2,0	2,4
Limită de repetabilitate (r) µg/g	6,2	40,7	7,2	5,8	7,3
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	6,4	79	8,2	6,2	7,1
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	6,6	7,6	6,8	6,2	6,6
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	17,9	221,9	22,9	17,5	20,0

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	acetal

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	20	21	22	17	21
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	4	3	2	4	3
Numărul rezultatelor acceptate	40	42	44	34	42
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	35,04	36,46	68,5	20,36	15,1
				6,60(*)	28,3(*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	0,58	0,84	1,6	0,82	1,9
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	1,7	2,3	2,3	6,1	8,7
Limită de repetabilitate (r) în µg/g	1,6	2,4	4,4	2,3	5,3
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	4,2	4,4	8,9	1,4	3,1
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	12,1	12,0	13,0	10,7	14,2
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	11,8	12,2	25,0	4,0	8,7

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	etanal total

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	23	19	22	21	22
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	1	5	2	3	2
Numărul rezultatelor acceptate	46	38	44	42	44
Valoarea medie (x^{-}) µg/g	76,5	85,3	156,5	45,4	32,7
				15,8	61,8
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	3,5	1,3	6,5	4,4	3,6
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	4,6	1,5	4,2	14,2	7,6
Limită de repetabilitate (r) µg/g	9,8	3,5	18,3	12,2	10,0
Deviația standard de reproductibilitate (SR) µg/g	13	15	24,1	7,3	9,0
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSDR) (%)	16,4	17,5	15,4	23,7	19,1
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	35,2	41,8	67,4	20,3	25,2

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	metanol

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	26	27	27	28	25
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	4	3	3	1	4
Numărul rezultatelor acceptate	52	54	54	56	50
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	319,8	2 245	1 326	83,0	18,6
				61,5	28,9
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	4,4	27	22	1,5	1,3
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	1,4	1,2	1,7	2,1	5,6
Limită de repetabilitate (r) µg/g	12,3	74,4	62,5	4,3	3,8
Deviația standard de reproductibilitate (SR) µg/g	13	99	60	4,5	2,8
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSDR) (%)	3,9	4,4	4,6	6,2	11,8
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	35,2	278,3	169,1	12,5	7,9

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	4
Analit	Butan-2-ol

Probe	**A**	**B**	**C**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	21	27	29	22
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	4	3	1	3
Numărul rezultatelor acceptate	42	54	58	44
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	5,88	250,2	27,57	5,83
				14,12
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	0,40	2,2	0,87	0,64
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	6,8	0,9	3,2	6,4
Limită de repetabilitate (r) µg/g	1,1	6,1	2,5	1,8
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	0,89	13	3,2	0,87
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	15,2	5,1	11,5	8,7
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	2,5	35,5	8,9	2,4

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	propan-1-ol

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	29	27	27	29	29
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	2	4	3	2	2
Numărul rezultatelor acceptate	58	54	54	58	58
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	86,4	3 541	159,1	272,1	177,1
				229,3	222,1
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	3,0	24	3,6	2,3	3,3
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	3,4	0,7	2,3	0,9	1,6
Limită de repetabilitate (r) µg/g	8,3	68,5	10,0	6,4	9,1
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	5,3	150	6,5	9,0	8,1
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	6,1	4,1	4,1	3,6	4,1
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	14,8	407,2	18,2	25,2	22,7

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	propan-1-ol

Probe	**A**	**B**	**C**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	20	22	22
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	4	4	6
Numărul rezultatelor acceptate	40	44	44
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	3,79	5,57	7,54
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	0,43	0,20	0,43
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	11,2	3,6	5,6
Limită de repetabilitate (r) µg/g	1,1	0,6	1,2
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	0,59	0,55	0,82
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	15,7	9,8	10,8
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	1,7	1,5	2,3

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	2-metilpropan-1-ol

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	28	31	30	26	25
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	3	0	1	5	6
Numărul rezultatelor acceptate	56	62	60	52	50
Valoarea medie (x^{-}) µg/g	174,2	111,7	185,0	291,0	115,99
				246,8	133,87
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	2,3	1,6	2,5	1,8	0,74
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	1,3	1,4	1,3	0,7	0,6
Limită de repetabilitate (r) µg/g	6,4	4,5	6,9	5,0	2,1
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	8,9	8,9	9,7	6,0	6,2
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	5,1	8,0	5,2	2,2	5,0
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	24,9	24,9	27,2	16,9	17,4

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	2-metil-butan-1-ol

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	25	26	25	27	25
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	3	2	3	1	2
Numărul rezultatelor acceptate	50	52	50	54	50
Valoarea medie (x^{-}) µg/g	113,0	48,3	91,6	72,1	39,5
				45,2	61,5
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	2,1	1,5	1,7	2,3	2,3
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	1,9	3,1	1,8	3,9	4,5
Limită de repetabilitate (r) µg/g	6,0	4,2	4,7	6,4	6,3
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	7,4	3,8	6,6	4,7	4,5
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	6,6	7,9	7,2	8,1	8,8
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	20,8	10,7	18,4	13,3	12,5

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	3-metil-butan-1-ol

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	23	23	24	27	21
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	5	5	4	1	6
Numărul rezultatelor acceptate	46	46	48	54	42
Valoarea medie (x^-) µg/g	459,4	242,7	288,4	142,2	212,3
				120,4	245,6
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	5,0	2,4	3,4	2,4	3,2
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	1,1	1,0	1,2	1,8	1,4
Limită de repetabilitate (r) µg/g	13,9	6,6	9,6	6,6	9,1
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	29,8	13	21	8,5	6,7
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	6,5	5,2	7,3	6,5	2,9
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	83,4	35,4	58,8	23,8	18,7

III.3. DETERMINAREA ACIDITĂȚII VOLATILE A BĂUTURILOR SPIRTOASE

1. Domeniu de aplicare

Metoda a fost validată printr-un test interlaboratoare pe rom, brandy, rachiu de tescovină și rachiu de fructe, la niveluri variind între la 30 mg/l și 641 mg/l.

2. Referințe normative

ISO 3696 - Apă pentru uzul laboratoarelor de analiză – Specificații și metode de testare.

3. Definiții

3.1. aciditatea volatilă se calculează prin scăderea acidității fixe din aciditatea totală.

3.2. aciditatea totală reprezintă suma acidităților titrabile.

3.3. aciditatea fixă reprezintă aciditatea reziduului rămas după evaporarea până la uscare a băuturii spirtoase.

4. Principiu

Aciditatea totală și aciditatea fixă sunt determinate prin titrare sau prin potențiometrie.

5. Reactivi și materiale

Pe durata analizei, dacă nu se specifică altfel, se utilizează doar reactivi cu grad analitic recunoscut și apă de cel puțin gradul 3, conform definiției din ISO 3696.

5.1. soluție de hidroxid de sodiu (NaOH) 0,01 M

5.2. soluție indicator mixt:

Se cântărește 0,1 g de carmin indigo și 0,1 g de roșu de fenol.

Se dizolvă în 40 ml apă și se completează până la 100 ml cu etanol.

6. Aparatură și echipamente

Aparatură indirectă de laborator, sticlărie gradată A și următoarele:

6.1. Pompă de apă

6.2. Evaporator de tip rotativ sau o baie cu ultrasunete

6.3. Echipament pentru titrate potențiometrică (opțional)

7. Prelevare și probe

Probele se depozitează la temperatura camerei înainte de analiză.

8. Mod de lucru

8.1. Aciditate totală

8.1.1. Pregătirea probei

Băutura spirtoasă se iradiază cu ultrasunete (ultrasonicare) sau se agită timp de două minute în vid pentru a se elimina dioxidul de carbon, dacă este necesar.

8.1.2. Titrare

Se pipetează 25 ml din băutura spirtoasă într-un balon Erlenmeyer de 500 ml.

Se adaugă aproximativ 200 ml de apă distilată fiartă și răcită (proaspăt pregătită zilnic) și 2-6 picături de soluție indicator mixt (5.2).

Se titrează cu soluție de hidroxid de sodiu 0,01 M (5.1) până când culoarea galben-verzui devine violet în cazul băuturii spirtoase incolore și, respectiv, culoarea galben-maroniu devine roșu-maroniu în cazul băuturii spirtoase maronii.

Titrarea se poate realiza, de asemenea, prin potențiometrie, până la pH 7,5.

Se notează cu n1 ml volumul soluției de hidroxid de sodiu 0,01 M adăugate.

8.1.3. Calculare

Aciditatea totală (AT), exprimată în miliechivalenți pe litru de băutură spirtoasă, este egală cu $0,4 \times n_1$.

Aciditatea totală (AT′), exprimată în miligrame de acid acetic pe litru de băutură spirtoasă, este egală cu $24 \times n_1$.

8.2. Aciditate fixă

8.2.1. Pregătirea probei

Se lasă să se evapore 25 ml din băutura spirtoasă până la uscare:

Se pipetează 25 ml din băutura spirtoasă într-o placă cilindrică de evaporare cu fundul plat cu diametru de 55 mm. În timpul primei ore de evaporare, placa de evaporare se plasează pe capacul unei băi de apă la fierbere în așa fel încât lichidul să nu fiarbă, întrucât fierberea ar conduce la pierderi prin stropire.

Se finalizează uscarea așezând placa de evaporare într-un cuptor de uscare la 105 °C timp de două ore. Se lasă placa de evaporare să se răcească într-un desicator.

8.2.2. Titrare

Se dizolvă reziduul rămas după evaporarea cu apă distilată fiartă și răcită (proaspăt pregătită zilnic), se completează până la un volum de circa 100 ml și se adaugă 2-6 picături de soluție indicator mixt (5.2).

Se titrează cu soluție de hidroxid de sodiu 0,01 M (5.1).

Titrarea se poate realiza, de asemenea, prin potențiometrie, până la pH 7,5.

Se notează cu n_2 ml volumul soluției de hidroxid de sodiu 0,01 M adăugate.

8.2.3. Calculare

Aciditatea fixă (AF), exprimată în miliechivalenți pe litru de băutură spirtoasă, este egală cu $0,4 \times n_2$.

Aciditatea fixă (AF), exprimată în miligrame de acid acetic pe litru de băutură spirtoasă, este egală cu $24 \times n_2$.

9. Calcularea acidității volatile

9.1. Se exprimă în miliechivalenți pe litru:

Fie:

AT = aciditatea totală în miliechivalenți pe litru

AF = aciditatea fixă în miliechivalenți pe litru

Aciditatea volatilă, AV, în miliechivalenți pe litru, este egală cu:

AT – AF

9.2. Se exprimă în miligrame de acid acetic pe litru:

Fie:

AT′ = aciditatea totală în miligrame de acid acetic pe litru

AF′ = aciditatea fixă în miligrame de acid acetic pe litru

Aciditatea volatilă, AV, în miligrame de acid acetic pe litru, este egală cu:

AT′ – AF′

9.3. Se exprimă în grame de acid acetic pe hl de alcool pur 100 % vol și este egală cu:

$$\frac{TA' - FA'}{A} \; x \; 10$$

unde A este tăria alcoolică în volume a băuturii spirtoase.

10. Caracteristici de performanță ale metodei (precizia)

10.1. Rezultate statistice ale testului interlaboratoare

Următoarele date au fost obținute dintr-un studiu internațional de performanță a metodei efectuat cu proceduri acceptate la nivel internațional [1] [2].

Anul testului interlaboratoare	**2000**
Numărul de laboratoare	18
Numărul de probe	6

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**	**F**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	16	18	18	14	18	18
Numărul rezultatelor excepționale (laboratoare)	2			4		
Numărul rezultatelor acceptate	32	36	36	28	36	36
Mean value ($\bar{x}$) [mg/L]	272* 241*	30	591* 641*	46	107	492
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	8,0	3,6	15,0	3,7	6,7	8,5
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSDr [%]	3,1	11,8	2,4	8,0	6,2	1,7
Limită de repetabilitate, r [mg/L]	23	10	42	10	19	24
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	8,5	8,4	25,0	4,55	13,4	24,4
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	3,3	27,8	4,1	9,9	12,5	5,0
Limita de reproductibilitate, R [mg/L]	24	23	70	13	38	68

Tipuri de probe:
A Rachiu de prune; nivel de ramificare *
B Rom I; duplicate oarbe
C Rom II; nivel de ramificare*
D Șliboviță; duplicate oarbe
E Brandy; duplicate oarbe
F Rachiu de tescovină; duplicate oarbe

[1] „Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method- Performance Studies”, Horwitz, W. (1995) Pure and Applied Chemistry 67, 332-343.
[2] Horwitz, W. (1982) Analytical Chemistry 54, 67A-76A

IV. ANETOL. DETERMINAREA TRANS-ANETOLULUI ÎN BĂUTURILE SPIRTOASE PRIN CROMATOGRAFIE ÎN FAZĂ GAZOASĂ

1. Domeniu de aplicare

Prezenta metodă este adecvată pentru determinarea trans-anetolului în băuturile spirtoase cu aromă de anason prin cromatografie capilară în fază gazoasă.

2. Referințe normative

ISO 3696 - Apă pentru utilizare analitică de laborator – Caracteristici și metode de testare.

3. Principiu

Concentrația în trans-anetol a băuturii spirtoase se determină prin cromatografie în fază gazoasă (GC). După adăugarea aceleiași cantități de etalon intern, de exemplu 4-alilanisol (estragol), când estragolul nu este prezent în mod natural în eșantion, eșantionul de testare, pe de o parte, și soluția de referință conținând trans-anetol de concentrație cunoscută, pe de altă parte, ambele se diluează apoi cu ajutorul unei soluții de etanol de 45 % și se injectează direct în cromatograf. Este necesară o extracție înainte de prepararea și analiza eșantionului pentru băuturile spirtoase cu o concentrație mare în glucide.

4. Reactivi și materiale

În cursul analizei, se utilizează exclusiv reactivi de o puritate de minimum 98 % și apă din minimum clasa 3, în conformitate cu definiția standardului ISO 3696.

Substanțele de referință trebuie păstrate la rece (aproximativ 4 °C), la adăpost de lumină, în recipiente de aluminiu sau flacoane speciale din sticlă colorată (brună) pentru reactivi. Dopurile trebuie prevăzute, de preferință, cu un dispozitiv de etanșare din aluminiu. Trans-anetolul trebuie „decongelat” din starea sa cristalină înainte de utilizare, dar în nici un caz temperatura sa nu trebuie să depășească 35 °C.

4.1. Etanol de 96 % vol. (CAS 64-17-5)
4.2. 1-metoxi-4-(1-propenil) benzen; (trans-anetol) (CAS 4180-23-8)
4.3. Etalon intern propus: 4-alilanisol, (estragol) (CAS 140-67-0)
4.4. Etanol de 45 % vol.
Se adaugă 560 g de apă distilată la 378 g de etanol de 96 % vol.

4.5. Prepararea soluțiilor etalon

Toate soluțiile etalon trebuie păstrate la temperatura camerei (15-35 °C), la adăpost de lumină, în recipiente de aluminiu sau flacoane din sticlă colorată (brună) pentru reactivi. Dopurile trebuie prevăzute, de preferință, cu un dispozitiv de etanșare din aluminiu.

Trans-anetolul și 4-alilanisolul sunt practic insolubile în apă, de aceea este necesar să fie dizolvate în puțin etanol de 96 % (punctul 4.1) înainte de adăugarea etanolului de 45 % (punctul 4.4).

Soluțiile-mamă trebuie reînnoite săptămânal.

4.5.1. Soluția etalon A

Soluție-mamă de trans-anetol (concentrație: 2 g/l)

Se cântăresc 40 mg de trans-anetol (punctul 4.2) într-un balon gradat de 20 ml (sau 400 mg în 200 ml etc.). Se adaugă puțin etanol de 96 % (punctul 4.1) și se completează la capacitate cu etanol de 45 % vol. (punctul 4.4). Se amestecă bine.

4.5.2. Soluția etalon intern B

Soluție-mamă de etalon intern, de exemplu de estragol (concentrație: 2 g/l)

Se cântăresc 40 mg de estragol (vezi punctul 4.3) într-un balon gradat de 20 ml (sau 400 mg în 200 ml etc.). Se adaugă puțin etanol de 96 % (punctul 4.1) și se completează la capacitate cu etanol de 45 % vol. (punctul 4.4). Se amestecă bine.

4.5.3. Soluții utilizate pentru verificarea liniarității răspunsului detectorului cu ionizare în flacără

Răspunsul privind linearitatea la detectorul cu ionizare în flacără trebuie controlat în vederea analizei pentru o serie de concentrații a trans-anetolului din băuturile spirtoase de la 0 g/l până la 2,5 g/l. În timpul procedurii de analiză, eșantioanele necunoscute de băuturi spirtoase ce trebuie analizate se diluează de 10 ori (punctul 8.3). Pentru condițiile analizei descrise în prezenta metodă, soluțiile-mamă ce corespund unor concentrații de 0, 0,05, 0,1, 0,15, 0,2 și 0,25 g/l de trans-anetol în eșantionul de analizat se prepară după cum urmează: se prelevează cu ajutorul pipetelor 0,5, 1, 1,5, 2 și 2,5 ml de soluție-mamă A (punctul 4.5.1) și se introduc prelevările în baloane gradate separate de 20 ml. În fiecare balon, se introduc cu o pipetă 2 ml de soluție etalon intern B (punctul 4.5.2) și se completează la capacitate cu etanol de 45 % vol. Se amestecă bine.

Se utilizează soluția martor (punctul 8.4) ca soluție de 0 g/l.

4.5.4. Soluția etalon C

Se introduc cu pipeta 2 ml de soluție etalon A (punctul 4.5.1) într-un balon gradat de 20 ml, se adaugă 2 ml de soluție etalon intern B (punctul 4.5.2) și se completează la capacitate cu etanol de 45 % vol. (punctul 4.4). Se amestecă bine.

5. Aparatură și echipamente

5.1. Cromatograf în fază gazoasă, dotat cu un detector cu ionizare în flacără și cu un integrator sau orice alt sistem de colectare și de gestionare a datelor capabil să măsoare ariile sau înălțimile vârfului și echipat cu un dispozitiv automat de eșantionare sau cu aparatele necesare pentru injectarea manuală a eșantionului.

5.2. Injector divizat/nedivizat

5.3. Coloană cromatografică capilară cu următoarele caracteristici, de exemplu:

lungime: 50 m,

diametru intern: 0,32 mm,

grosimea filmului: 0,2 µm

fază staționară: FFAP – polimer poros reticulat din polietilen glicol modificat cu TPA.

5.4. Materiale de laborator de utilizare curentă: sticlărie gradată de precizie A, balanță de analiză (precizie: ± 0,1 mg).

6. Condiții de desfășurare a cromatografiei în fază gazoasă

Tipul și dimensiunile coloanei, precum și condițiile de operare ale cromatografiei în fază gazoasă trebuie să permită separarea anetolului de etalonul intern și de orice altă substanță ce ar putea interveni. Condițiile tipice de lucru pentru coloana prezentată ca exemplu la punctul 5.3 sunt următoarele:

6.1. gaz transportor: heliu analitic

6.2. debit: 2 ml/min

6.3. temperatura injectorului: 250 °C

6.4. temperatura detectorului: 250 °C

6.5. condiții de temperatură ale cuptorului: palier izoterm la 180 °C timp de 10 minute

6.6. volum de injectare: 1 µl, raport 1:40.

7. Eșantioane

Eșantioanele trebuie păstrate la temperatura camerei, ferite de lumină și de frig.

8. Mod de lucru

8.1. Căutarea prezenței eventuale a estragolului în eșantion

Pentru a se asigura că eșantionul nu conține în mod natural estragol, este necesar să se efectueze o analiză martor fără adăugarea vreunui etalon intern. Dacă eșantionul conține în mod natural estragol, atunci se alege alt etalon intern (de exemplu, mentolul).

Se introduc cu o pipetă 2 ml de eșantion într-un balon gradat de 20 ml și se completează la capacitate cu etanol de 45 % vol. (punctul 4.4). Se amestecă bine.

8.2. Prepararea eșantioanelor necunoscute

Se introduc cu o pipetă 2 ml de eșantion într-un balon gradat de 20 ml, apoi se adaugă 2 ml de soluție etalon intern B (punctul 4.5.2) și se completează la capacitate cu etanol de 45 % vol. (punctul 4.4). Se amestecă bine.

8.3. Analiză martor

Se introduc cu o pipetă 2 ml de soluție etalon intern B (punctul 4.5.2) într-un balon gradat de 20 ml și se completează la capacitate cu etanol de 45 % vol. (punctul 4.4). Se amestecă bine.

8.4. Test de linearitate

Înainte de începerea analizei, trebuie verificată linearitatea răspunsului detectorului cu ionizare în flacără, analizând de trei ori succesiv fiecare dintre soluțiile etalon pentru controlarea liniarității (punctul 4.5.3).

De la ariile sau înălțimile vârfului integratorului, pentru fiecare injectare, se reprezintă grafic concentrația în g/l a soluției-mamă corespunzătoare în funcție de raportul R.

R = aria sau înălțimea vârfului trans-anetolului împărțită la înălțimea sau aria vârfului estragolului.

Se obține o reprezentare lineară.

8.5. Determinare

Se injectează soluția martor (punctul 8.3), apoi soluția etalon C (punctul 4.5.4), urmată de unul dintre etaloanele de linearitate (punctul 4.5.3) care va servi drept eșantion de control al calității (acesta se poate alege cu referire la concentrația probabilă a trans-anetolului în eșantionul necunoscut), apoi cinci eșantioane necunoscute (punctul 8.2). Pentru a asigura stabilitatea analitică, se introduce un eșantion de control al liniarității (de control al calității) după fiecare serie de cinci eșantioane necunoscute.

9. Calcularea factorului de răspuns

Se măsoară ariile vârfului (utilizând un integrator sau alt sistem de colectare și de gestionare a datelor) sau înălțimile vârfului (integrare manuală) pentru trans-anetol și pentru etalonul intern.

9.1. Calcularea factorului de răspuns (RF_i)

Factorul de răspuns se calculează în următorul mod:

RF_i = (C_i/aria sau înălțimea$_i$) * (aria sau înălțimea$_{is}$/C_{is})

unde:

C_i - este concentrația trans-anetolului în soluția etalon A (punctul 4.5.1)

C_{is} - este concentrația etalonului intern în soluția etalon B (punctul 4.5.2)

aria$_i$ - este aria (sau înălțimea) vârfului trans-anetolului

aria$_{is}$ - este aria (sau înălțimea) vârfului etalonului intern

Factorul RF_i se calculează din cele cinci eșantioane de soluție C (punctul 4.5.4).

9.2. Analiza soluțiilor de testare a liniarității răspunsului detectorului cu ionizare în flacără

Se injectează soluțiile de testare a liniarității (punctul 4.5.3).

9.3. Analiza eșantionului

Se injectează soluția de eșantion necunoscut (punctul 8.2).

10. Calcularea rezultatelor

Formula pentru calcularea concentrației trans-anetolului este următoarea:

c_i = C_{is} * (aria sau înălțimea$_i$/aria sau înălțimea$_{is}$)*RF_i

unde

c_i - este concentrația necunoscută a trans-anetolului

C_{is} - este concentrația etalonului intern în eșantionul necunoscut (punctul 4.5.2)

aria sau înălțimea$_i$ - este aria sau înălțimea vârfului trans-anetolului

aria sau înălțimea$_{is}$ - este aria sau înălțimea vârfului etalonului intern

RF_i - este coeficientul răspunsului (calculat conform punctului 9.1)

Concentrația trans-anetolului se exprimă în grame pe litru, cu o zecimală.

11. Asigurarea și controlul calității

Cromatogramele trebuie să prezinte o bună separare a anetolului de etalonul intern, precum și de orice alte substanțe ce ar putea interveni. Valoarea RF_i se calculează din rezultatele celor cinci injecții de soluție C (punctul 4.5.4). În cazul în care coeficientul de variație [CV % = (decalaj standard/medie)*100] se încadrează în jurul valorii de 1 %, valoarea medie a factorului RF_i este acceptabilă.

Calculul anterior trebuie utilizat pentru a se calcula concentrația trans-anetolului din eșantionul ales pentru controlul calității dintre soluțiile pentru controlarea liniarității (punctul 4.5.3).

Dacă rezultatele medii calculate pornind de la analiza soluției pentru controlarea liniarității alese ca eșantion intern de control al calității (ICC) se încadrează în jurul valorii de 2,5 % din valoarea lor teoretică, atunci rezultatele obținute pentru eșantioanele necunoscute sunt considerate acceptabile.

12. Tratarea eșantioanelor de băuturi spirtoase cu un conținut mare de zahăr și a eșantioanelor de lichior înainte de analiza prin cromatografie în fază gazoasă

Extragerea alcoolului din băuturile spirtoase cu un conținut mare de zahăr pentru a determina concentrația în trans-anetol prin cromatografia capilară în fază gazoasă.

12.1. Principiu

Se prelevează o parte alicotă din eșantionul de lichior, la care se adaugă etalonul intern, la o concentrație similară celei a analitului (trans-anetolul) prezent în lichior. Se adaugă apoi fosfat de sodiu dodecahidrat și sulfat de amoniu anhidru. Amestecul se agită bine și se refrigerează. Se separă două faze, iar faza alcoolică superioară se recuperează. Se prelevează o parte alicotă din această fază alcoolică și se diluează cu o soluție de etanol de 45 % vol. (punctul 4.4). Trebuie menționat că în acest stadiu nu se adaugă nici un etalon intern, deoarece a fost deja adăugat. Soluția obținută se analizează prin cromatografie în fază gazoasă.

12.2. Reactivi și materiale

În cursul extracției, se utilizează exclusiv reactivi de o puritate de minimum 99 %.

12.2.1. Sulfat de amoniu anhidru (CAS 7783-20-2).

12.2.2. Fosfat de sodiu dibazic, dodecahidrat (CAS 10039-32-4).

12.3. Aparatură și echipamente

Baloane conice, baloane de separare, frigider.

12.4. Mod de lucru

12.4.1. Căutarea estragolului în eșantion

Pentru a se asigura că eșantionul nu conține în mod natural estragol, este necesar să se efectueze o prelevare martor (punctul 12.6.2) și să se realizeze analiza acesteia fără a se adăuga vreun etalon intern. Dacă se dovedește că eșantionul conține în mod natural estragol, este necesar să se aleagă alt etalon intern.

12.4.2. Extragerea

Se introduc cu pipeta 5 ml de etanol de 96 % vol. (punctul 4.1) într-un balon conic, apoi se adaugă succesiv 50 mg de etalon intern (punctul 4.3) și 50 ml de eșantion. Se adaugă 12 g de sulfat de amoniu anhidru (punctul 12.2.1) și 8,6 g de fosfat de sodiu dibazic, dodecahidrat (punctul 12.2.2). Se închide balonul conic.

Se agită balonul timp de cel puțin treizeci de minute. Se poate utiliza un dispozitiv de agitare mecanică, dar nu o bară magnetică pentru agitare acoperită cu teflon, deoarece teflonul absoarbe o parte din analit. Trebuie reținut că sărurile adăugate nu se vor dizolva complet.

Balonul închis se pune într-un frigider (T < 5 °C), timp de cel puțin două ore.

După aceea, ar trebui să poată fi observate două straturi distincte în fază lichidă și un reziduu solid. Stratul de alcool trebuie să fie limpede; dacă nu este așa, se pune din nou balonul în frigider până se observă o separare netă.

Când stratul de alcool este limpede, se prelevează cu grijă o parte alicotă (10 ml, de exemplu), fără a tulbura stratul apos, apoi se pune într-un flacon de sticlă brună și se închide cu grijă.

12.4.3. Prepararea extractului de eșantion ce trebuie analizat

Se așteaptă până când extractul (punctul 12.4.2) ajunge la temperatura camerei.

Se prelevează 2 ml din stratul de alcool al extractului de eșantion la temperatura camerei, se introduc cu pipeta într-un balon gradat de 20 ml, se completează la capacitate cu etanol de 45 % vol. (punctul 4.4) și se amestecă bine.

12.5. Determinare

Se urmează modul de lucru prezentat la punctul 8.5.

12.6. Calcularea rezultatelor

Pentru calcularea rezultatelor se utilizează următoarea formulă:

$$C_i = (\frac{m_{si}}{V}) * (area_i/area_{is}) * \mathrm{RF_i}$$

unde:

m_{is} - este masa etalonului intern (punctul 4.3) prelevat (punctul 12.4.2) (în miligrame)

V - este volumul eșantionului necunoscut (50 ml)

RF_i - este factorul de răspuns (punctul 9.1)

$aria_i$ - este aria vârfului trans-anetolului

$aria_{is}$ - este aria vârfului etalonului intern

Rezultatele se exprimă în grame pe litru, cu o zecimală.

12.7. Controlul și asigurarea calității

Se urmează modul de lucru prezentat la punctul 11.

13. Caracteristicile de performanță ale metodei (precizia)

Rezultate statistice ale testului interlaboratoare:

Tabelele de mai jos prezintă valorile anetolului.

Datele menționate provin dintr-un studiu internațional privind performanțele metodei, realizat conform procedurilor autorizate la nivel internațional.

Anul testului interlaboratoare	1998
Numărul de laboratoare	16
Numărul de eșantioane	10

Analit	anetol

Eșantioane	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**	**F**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	15	15	15	13	16	16
Numărul rezultatelor excepționale (laboratoare)	1	1	1	3	–	–
Numărul rezultatelor acceptate	30	30	30	26	16	16
Valoare medie g/l	1,477	1,955	1,940	1,833	1,741	1,754
Decalaj standard de repetabilitate (S_r) g/l	0,022	0,033	0,034	0,017	–	–
Decalaj standard relativ de repetabilitate (RSD_r) (%)	1,5	1,7	1,8	0,9	–	–
Limită de repetabilitate (r) g/l	0,062	0,093	0,096	0,047	–	–
Decalaj standard de reproductibilitate (S_R) g/l	0,034	0,045	0,063	0,037	0,058	0,042
Decalaj standard relativ de reproductibilitate (RSD_R) (%)	2,3	2,3	3,2	2,0	3,3	2,4
Limită de reproductibilitate (R) g/l	0,094	0,125	0,176	0,103	0,163	0,119

Tipuri de eșantioane:
A - pastis, duplicate oarbe
B - pastis, duplicate oarbe
C - pastis, duplicate oarbe
D - pastis, duplicate oarbe
E - pastis, duplicate unice
F - pastis, duplicate unice

Eșantioane	**G**	**H**	**I**	**J**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	16	14	14	14
Numărul rezultatelor excepționale (laboratoare)	–	2	1	1
Numărul rezultatelor acceptate	32	28	28	28
Valoare medie g/l	0,778 0,530 (*)	1,742	0,351	0,599
Decalaj standard de repetabilitate (S_r) g/l	0,020	0,012	0,013	0,014
Decalaj standard relativ de repetabilitate (RSD_r) (%)	3,1	0,7	3,8	2,3
Limită de repetabilitate (r) g/l	0,056	0,033	0,038	0,038
Decalaj standard de reproductibilitate (S_R) g/l	0,031	0,029	0,021	0,030
Decalaj standard relativ de repetabilitate (RSD_R) (%)	4,8	1,6	5,9	5,0
Limită de reproductibilitate (R) g/l	0,088	0,080	0,058	0,084

Tipuri de eșantioane:
G - ouzo, niveluri de ramificare (*)
H - anason, duplicate oarbe
I - lichior cu aromă de anason, duplicate
J - lichior cu aromă de anason, duplicate.

V. ACID GLICIRIZIC. DETERMINAREA ACIDULUI GLICIRIZIC PRIN CROMATOGRAFIE LICHIDĂ DE ÎNALTĂ PERFORMANȚĂ

1. Domeniu de aplicare

Prezenta metodă este adecvată pentru determinarea acidului glicirizic în băuturile spirtoase cu aromă de anason prin cromatografie lichidă de înaltă performanță (HPLC). Regulamentul privind definirea, descrierea, prezentarea şi etichetarea băuturilor ce conţin alcool aprobat prin Hotărârea Guvernului nr.589/2023, prevede că orice băutură spirtoasă cu aromă de anason numită „pastis” trebuie să prezinte un conținut în acid glicirizic cuprins între 0,05 g și 0,5 g per litru.

2. Referințe normative

ISO 3696 - Apă pentru utilizare analitică de laborator – Caracteristici și metode de testare.

3. Principiu

Concentrația în acid glicirizic se determină utilizând cromatografia lichidă de înaltă performanță (HPLC) cu detectare UV. Se filtrează o soluție etalon și eșantionul de testare și se injectează separat și direct în sistemul HPLC.

4. Reactivi și materiale

În cursul analizei, se folosesc exclusiv reactivi adaptați la cromatografia lichidă, etanol absolut și apă de clasa 3, în conformitate cu definiția din standardul ISO 3696.

4.1. Etanol de 96 % vol. (CAS 64-17-5)

4.2. Glicirizinat de amoniu $C_{42}H_{62}O_{16}.NH_3$ (Sare de acid glicirizic monoamoniacal)

(Masă molară: 839,98) (CAS 53956-04-0): puritate de minimum 90 %

(Masă molară a acidului glicirizic: 822,94)

4.3. Acid acetic cristalizabil, CH_3COOH, (CAS 64-19-7)

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

4.5. Etanol de 50 % vol.

Pentru 1 000 ml la 20 °C:

— etanol de 96 % vol. (punctul 4.1): 521 ml

— apă (punctul 2.0): 511 ml.

4.6.Prepararea soluțiilor de eluare pentru cromatografie lichidă de înaltă performanță

4.6.1. Solvent de eluare A (exemplu)

80 de părți (volume) de apă (punctul 2.0)

20 de părți (volume) de acid acetic (punctul 4.3).

Se degazează solventul de eluare timp de cinci minute.

Notă: dacă apa care se utilizează nu a fost microfiltrată, se recomandă filtrarea solventului de eluare preparat cu ajutorul unui filtru pentru solvenți organici cu un diametru al porilor mai mic sau egal cu 0,45 µm.

4.6.2. Solvent de eluare B

Metanol (punctul 4.4)

4.7.Prepararea soluțiilor etalon

Toate soluțiile etalon trebuie reînnoite la fiecare două luni.

4.7.1. Soluția de referință C

Se cântăresc, cu o eroare de maximum 0,1 mg, 25 mg de glicirizinat de amoniu (punctul 4.2) într-un balon gradat de 100 ml. Se adaugă etanol de 50 % vol. (punctul 4.5) și se dizolvă glicirizinatul de amoniu. După dizolvare, se completează până la semn cu o nouă cantitate de etanol de 50 % vol. (punctul 4.5).

Se filtrează cu ajutorul unui filtru pentru solvenți organici.

4.7.2. Soluții etalon (folosite pentru a controla linearitatea răspunsului instrumentelor)

Se prepară o soluție-mamă de 1,0 g/l introducând, cu o eroare de maximum 0,1 mg, 100 mg de glicirizinat de amoniu într-un balon gradat de 100 ml. Se adaugă puțin etanol de 50 % vol. (punctul 4.5) și se dizolvă glicirizinatul de amoniu. După dizolvare, se completează până la semn cu o nouă cantitate de etanol de 50 % vol. (punctul 4.5).

Se prepară cel puțin alte patru soluții ce corespund la 0,05, 0,1, 0,25 și 0,5 g/l de glicirizinat de amoniu, prelevând cu ajutorul unei pipete respectiv 5 ml, 10 ml, 25 ml

și 50 ml din soluția-mamă de 1,0 g/l în baloane gradate separate de 100 ml. Se completează apoi până la semn cu o nouă cantitate de etanol de 50 % vol. (punctul 4.5) și se amestecă bine.

Se filtrează toate soluțiile cu ajutorul unui filtru pentru solvenți organici.

5. Aparatură și echipamente

5.1. Sistem de separare

5.1.1. Cromatografie lichidă de înaltă performanță

5.1.2. Sistem de pompare ce permite obținerea și menținerea unui debit constant sau programat de înaltă precizie

5.1.3. Sistem de detectare prin spectrofotometrie în domeniul UV: se reglează la 254 nm

5.1.4. Sistem de degazare a solvenților

5.2.Integrator computerizat sau înregistrator ce funcționează în deplină compatibilitate cu restul sistemului

5.3.Coloană (exemplu):

material: oțel inoxidabil sau sticlă

diametru interior: 4-5 mm

lungime: 100-250 mm

fază staționară: silicagel reticulat cu grup funcțional octadecil (C18), de preferință sferic, cu o granulometrie maximă de 5 µm

5.4.Echipament de laborator

5.4.1. Balanță de analiză (precizie: 0,1 mg)

5.4.2. Sticlărie gradată de precizie (clasa A)

5.4.3. Dispozitiv de filtrare pentru volume mici pe micromembrană

6. Condiții ale cromatografiei

6.1. Caracteristicile eluării (exemplu):

— debit: 1 ml/minut;

— solvent A = 30 %;

— solvent B = 70 %.

6.2. Detectare:

— UV = 254 nm.

7. Mod de lucru

7.1. Prepararea eșantionului de băutură spirtoasă

Se filtrează, dacă este necesar, printr-un filtru pentru solvenți organici (diametrul porilor: 0,45 µm).

7.2. Determinare

După stabilizarea condițiilor cromatografice:

— se injectează 20 µl de soluție de referință C (punctul 4.7.1)

— se injectează 20 µl de soluție de eșantion

— se compară cele două cromatograme. Se identifică vârfurile acidului glicirizic după timpul lor de retenție. Se măsoară ariile (sau înălțimile) lor și se calculează concentrația în g/l, până la două zecimale, folosind următoarea ecuație:

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

unde:
c - este concentrația în g/l a acidului glicirizic în băutura spirtoasă analizată
C - este concentrația în g/l a glicirizinatului de amoniu în soluția de referință
h - este aria (sau înălțimea) vârfului acidului glicirizic din băutura spirtoasă analizată
H - este aria (sau înălțimea) vârfului acidului glicirizic din soluția de referință
P - este puritatea glicirizinatului de amoniu utilizat ca substanță de referință (în %)
823 - este masa molară a acidului glicirizic
840 - este masa molară a glicirizinatului de amoniu

8. Caracteristicile de performanță ale metodei (precizia)

Rezultate statistice ale testului interlaboratoare

Tabelul de mai jos prezintă valorile acidului glicirizic.

Datele menționate provin dintr-un studiu internațional privind performanțele metodei, realizat conform procedurilor autorizate la nivel internațional.

Anul testului interlaboratoare:	1998
Numărul de laboratoare:	16
Numărul de eșantioane:	5
Analit:	acid glicirizic

Eșantioane	**A**	**B**	**C**	**D**	**F**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	13	14	15	16	16
Numărul rezultatelor excepționale (laboratoare)	3	2	1	–	–
Numărul rezultatelor acceptate	26	28	30	32	32
Valoare medie g/l	0,046	0,092 (*) 0,099	0,089	0,249	0,493
Decalaj standard de repetabilitate (S_r) g/l	0,001	0,001	0,001	0,002	0,003
Decalaj standard relativ de repetabilitate (RSD_r) (%)	1,5	1,3	0,7	1,0	0,6
Limită de repetabilitate (r) g/l	0,002	0,004	0,002	0,007	0,009

Decalaj standard de reproductibilitate (S_R) g/l	0,004	0,007	0,004	0,006	0,013
Decalaj standard relativ de reproductibilitate (RSD_R) (%)	8,6	7,2	4,0	2,5	2,7
Limită de reproductibilitate (R) g/l	0,011	0,019	0,010	0,018	0,037

Tipuri de eșantioane:
A - pastis, duplicate oarbe
B - pastis, duplicate, la două niveluri de concentrare (*)
C - pastis, duplicate oarbe
D - pastis, duplicate oarbe
E - pastis, duplicate oarbe

VI. CALCONE. METODĂ DE CROMATOGRAFIE LICHIDĂ DE ÎNALTĂ PERFORMANȚĂ PENTRU A VERIFICA PREZENȚA CALCONELOR ÎN PASTIS

1. Domeniu de aplicare

Prezenta metodă este adecvată pentru determinarea prezenței calconelor în băuturile cu aromă de anason. Calconele sunt coloranți naturali din familia flavonoidelor, prezenți în lemnul dulce (Glycyrrhiza glabra).

Pentru ca o băutură spirtoasă cu aromă de anason să se numească „pastis”, conform Regulamentului privind definirea, descrierea, prezentarea și etichetarea băuturilor ce conţin alcool, aprobat prin Hotărârea Guvernului nr. 589/2023, aceasta trebuie să conțină calcone.

2. Referințe normative

ISO 3696 - Apă pentru utilizare analitică de laborator – Caracteristici și metode de testare.

3. Principiu

Se prepară o soluție de extract de lemn dulce de referință. Prezența sau absența calconelor se determină prin cromatografie lichidă de înaltă performanță cu detectare UV.

4. Reactivi și materiale

În cursul analizei, se folosesc doar reactivi adaptați la cromatografia lichidă de înaltă performanță. Etanolul trebuie să fie de 96 % vol. Trebuie să se folosească doar apă de clasa 3 (în conformitate cu definiția din norma ISO 3696).

4.1. Etanol de 96 % vol. (CAS 64-17-5)

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

4.3. Substanță de referință: Glycyrrhiza glabra (lemn dulce)

Lemn dulce (Glycyrrhiza glabra) măcinat mare. Dimensiuni medii ale particulelor de tip „batonașe”: lungimea 10-15 mm, grosimea 1-3 mm.

4.4. Acetat de sodiu CH_3COONa, (CAS 127-09-3)

4.5. Acid acetic cristalizabil CH_3COOH, (CAS 64-19-7)

4.6.Prepararea soluțiilor

4.6.1. Etanol de 50 % vol.

Pentru 1 000 ml la 20 °C:

— etanol de 96 % vol. (punctul 4.1): 521 ml

— apă (punctul 2.0): 511 ml.

4.6.2. Solventul A: acetonitril

Acetonitril (punctul 4.2) de puritate analitică pentru HPLC.

Se degazează

4.6.3. Solventul B: 0,1 M dintr-o soluție tampon de acetat de sodiu cu pH de 4,66

Se cântăresc 8,203 g de acetat de sodiu (punctul 4.4), se adaugă 6,005 g de acid acetic cristalizabil (punctul 4.5) și se completează până la 1 000 ml cu apă (punctul 2) într-un balon gradat.

5. Prepararea extractului de referință din Glycyrrhiza glabra (punctul 4.3)

5.1. Se cântăresc 10 g de lemn dulce măcinat (Glycyrrhiza glabra) (punctul 4.3) și se pun într-un balon de distilare cu fund rotund.

— Se adaugă 100 ml de etanol de 50 % vol. (punctul 4.6.1)

— Se distilează sub reflux timp de o oră

— Se filtrează

— Se rezervă filtratul pentru o utilizare ulterioară.

5.2. Se recuperează extractul de lemn dulce prezent în filtru.

— Se pune într-un balon de distilare cu fund rotund

— Se adaugă 100 ml de etanol de 50 % vol. (punctul 4.6.1)

— Se fierbe sub reflux pentru o oră

— Se filtrează. Se păstrează filtratul pentru o utilizare ulterioară.

5.3. Extragerea de lemn dulce trebuie să se efectueze de trei ori succesiv.

5.4. Se combină cele trei filtrate.

5.5. Se evaporă faza solvent (punctul 5.4) cu ajutorul unui evaporator de tip rotativ.

5.6. Se recuperează extractul rezidual (punctul 5.5) cu 100 ml de etanol de 50 % vol. (punctul 4.6.1).

6. Aparatură și echipamente

6.1. Sistem de separare

6.1.1. Cromatografie lichidă de înaltă performanță

6.1.2. Sistem de pompare ce permite obținerea și menținerea unui debit constant sau programat la înaltă presiune

6.1.3. Sistem de detectare prin spectrofotometrie în domeniul UV/vizibil care se poate regla la 254 nm și 370 nm

6.1.4. Sistem de degazare a solvenților

6.1.5. Cuptor în coloană cu temperatura reglată la 40 °C ± 0,1 °C

6.2. Integrator computerizat sau înregistrator ce funcționează în compatibilitate cu restul sistemului de separare

6.3. Coloana:
material: oțel inoxidabil sau sticlă
diametru interior: 4-5 mm
fază staționară: silicagel reticulat cu grupare funcțională de tip derivat octadecil (C18), cu o granulometrie maximă de 5 µm (faza reticulată).
6.4. Echipament obișnuit de laborator, mai ales:
6.4.1. balanță de analiză (precizie: ± 0,1 mg)
6.4.2. aparat de distilare echipat cu un condensator cu reflux ce cuprinde, de exemplu:
— un balon de 250 ml cu fund rotund cu îmbinare șlefuită standardizată
— un condensator cu reflux de o lungime de 30 cm
— o sursă de căldură (orice pirogenare a materiilor extractive trebuie evitată cu ajutorul unui dispozitiv corespunzător)
6.4.3. Aparat de evaporare de tip rotativ
6.4.4. Dispozitiv de filtrare (pâlnie Buchner, de exemplu)
6.5.Condiții ale cromatografiei (exemplu)
6.5.1. Caracteristici de eluare a solvenților A (punctul 4.6.2) și B (punctul 4.6.3):
— se trece de la gradientul 20/80 (v/v) la 50/50 (v/v) în 15 minute
— se trece de la gradientul 50/50 (v/v) la 75/25 (v/v) în 5 minute
— tărie egală la 75/25 (v/v) timp de 5 minute
— stabilizare a coloanei între două injectări
— tărie egală la 20/80 (v/v) timp de 5 minute.
6.5.2. Debit: 1 ml/minut
6.5.3. Reglări ale detectorului cu UV
Detectorul trebuie reglat la 370 nm pentru a detecta prezența calconelor și apoi la 254 nm pentru a detecta acidul glicirizic.
Notă: schimbarea lungimilor de undă (de la 370 nm la 254 nm) trebuie efectuată cu 30 de minute înainte de începerea vârfului de eluare a acidului glicirizic.

7. Mod de lucru

7.1. Prepararea eșantionului de băutură spirtoasă

Se filtrează printr-un filtru pentru solvenți organici (diametrul porilor: 0,45 µm).

7.2. Prepararea extractului rezidual de lemn dulce (punctul 5.6)

Înaintea analizei, se procedează la o diluare de 1:10 în etanol de 50 % vol. (punctul 4.6.1).

7.3. Determinare

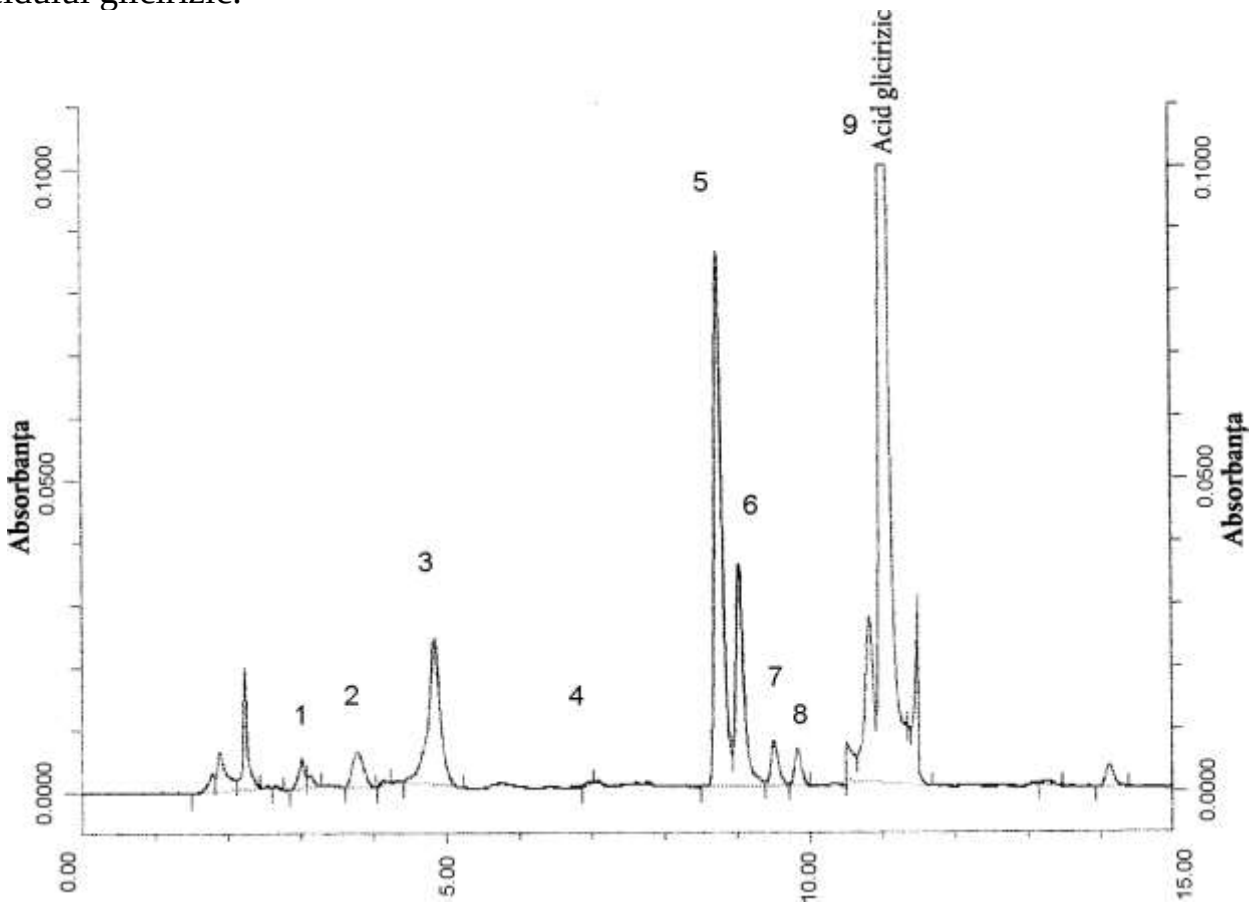
7.3.1. Se injectează 20 µl din extractul de lemn dulce preparat (punctul 7.2). Se efectuează analiza în condițiile cromatografice descrise anterior (punctul 6.5).

7.3.2. Se injectează 20 µl din eșantion (băutură spirtoasă cu aromă de anason, punctul 7.1). Se efectuează analiza în condițiile cromatografice descrise anterior (punctul 6.5).

7.3.3. Se compară cele două cromatograme obținute. Trebuie să existe o mare asemănare între cele două cromatograme în zona de ieșire a calconelor (în timpul detectării la 370 nm în condițiile de analiză descrise anterior). Vezi figura 1.

8. Cromatograma caracteristică pentru pastis

Figura 1 Cromatogramă obținută prin metoda descrisă anterior, indicând prezența calconelor într-un pastis. Vârfurile de la 1 la 8 corespund calconelor, iar vârful 9 acidului glicirizic.



9. Caracteristicile de performanță ale metodei (precizia)

Rezultatele testului interlaboratoare

Tabelul de mai jos prezintă caracteristicile de performanță pentru identificarea prezenței sau absenței calconelor în pastis și în băuturile spirtoase cu aromă de anason.

Datele menționate provin dintr-un studiu internațional privind performanțele metodei, realizat conform procedurilor autorizate la nivel internațional.

Anul testului interlaboratoare:	1998
Numărul de laboratoare:	14
Numărul de eșantioane:	11
Analit:	calcone

Eșantioane	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**	**F**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	14	14	14	14	14	13
Numărul rezultatelor excepționale (laboratoare)	–	–	–	–	–	1 (*1)
Numărul rezultatelor acceptate	28	14	14	28	28	26
Numărul rezultatelor atestând prezența calconelor	28	14	14	0	28	0
Numărul rezultatelor atestând absența calconelor	0	0	0	28	0	26
Procentul rezultatelor corecte (%)	100	100	100	100	100	100
(*1) Rezultate incompatibile între cele două duplicate, datorate unei erori de eșantionare.						

Eșantioane	**G**	**H**	**I**	**J**	**K**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	14	14	14	14	14
Numărul rezultatelor excepționale (laboratoare)	–	–	–	–	–
Numărul rezultatelor acceptate	28	14	14	28	28
Numărul rezultatelor atestând prezența calconelor	0	0	0	0	0
Numărul rezultatelor atestând absența calconelor	28	14	14	28	28
Procentul rezultatelor corecte (%)	100	100	100	100	100

Tipuri de eșantioane:
A pastis, duplicate oarbe
B pastis, eșantion unic
C pastis, eșantion unic
D „pastis” (fără calcone), duplicate oarbe
E „pastis” (fără calcone), duplicate oarbe
F lichior cu aromă de anason (fără calcone), duplicate oarbe
G lichior cu aromă de anason (fără calcone), duplicate oarbe
H ouzo, (fără calcone), eșantion unic

I ouzo, (fără calcone), eșantion unic
J anason (fără calcone), duplicate oarbe
K „pastis” (fără calcone), duplicate oarbe.

VII. ZAHARURI TOTALE

1. Domeniu de aplicare

Metoda HPLC-RI se aplică pentru a determina zaharurile totale (exprimate ca zahăr invertit) din băuturile spirtoase, cu excepția lichiorurilor care conțin ouă și produse lactate.

Metoda a fost validată printr-un test interlaboratoare pentru pastis, anason distilat, lichior de cireșe, „crème de” (urmată de numele fructului sau al materiei prime utilizate) și „crème de cassis”, la niveluri variind între 10,86g/l și 509,7 g/l. Cu toate acestea, linearitatea răspunsului instrumentului a fost dovedită pentru o concentrație variind între 2,5 g/l și 20,0 g/l.

Această metodă nu este destinată determinării conținuturilor scăzute de zaharuri.

2. Referințe normative

ISO 3696 - Apă pentru uzul laboratoarelor de analiză – Specificații și metode de testare.

3. Principiu

Cromatografia lichidă de înaltă performanță testează soluțiile de zahăr, pentru a le stabili concentrațiile de glucoză, fructoză, zaharoză, maltoză și lactoză.

Această metodă utilizează o fază staționară de alchilamină și detectarea refractometriei diferențiale și este prezentată ca exemplu. Este posibilă și utilizarea rășinilor schimbătoare de anioni ca fază staționară.

4. Reactivi și materiale

4.1. Glucoză (CAS 50-99-7), cu o puritate de minimum 99 %.
4.2. Fructoză (CAS 57-48-7), cu o puritate de minimum 99 %.
4.3. Zaharoză (CAS 57-50-1), cu o puritate de minimum 99 %.
4.4. Lactoză (CAS 5965-66-2), cu o puritate de minimum 99 %.
4.5. Maltoză monohidrată (CAS 6363-53-7), cu o puritate de minimum 99 %.
4.6. Acetonitril pur (CAS 75-05-8) pentru analiza HPLC.
4.7. Apă distilată sau demineralizată, de preferat microfiltrată.
4.8. Solvenți (exemplu)
Solventul de eluare este compus din:
75 de părți (volume) de acetonitril (4.6),
25 de părți (volume) de apă distilată (4.7).

Se trece heliu prin solventul de eluare, într-un ritm lent, timp de 5-10 minute, înainte de a fi folosit pentru degazare.

Dacă apa utilizată nu a fost microfiltrată, solventul ar trebui să fie filtrat cu ajutorul unui filtru pentru solvenți organici cu diametrul porilor mai mic decât sau egal cu 0,45 µm.

4.9. Etanol absolut (CAS 64-17-5).
4.10. Soluție de etanol (5 %, v/v).

4.11. Pregătirea soluției-mamă standard (20g/l)

Se cântăresc 2 g din fiecare dintre zaharurile care urmează să fie analizate (4.1.-4.5.), se transferă cantitativ într-un balon volumetric de 100 ml. (*NB:* 2,11 g de maltoză monohidrată echivalează cu 2 g de maltoză).

Se ajustează la 100 ml cu o soluție de alcool de 5 % vol. (4.10), se agită și se păstrează la aproximativ + 4 °C. Se prepară o nouă soluție-mamă o dată pe săptămână.

4.12. Pregătirea soluțiilor standard de lucru (2,5; 5,0; 7,5; 10,0 și 20,0 g/l)

Se diluează soluția-mamă, 20 g/l, (4.11) corespunzător cu o soluție de alcool de 5 % vol. (4.10) pentru a obține cinci soluții standard de lucru de 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 și 20,0 g/l. Se filtrează cu un filtru având diametrul porilor mai mic decât sau egal cu 0,45 µm (5.3.).

5. Aparatură și echipamente

5.1. Sistem HPLC care poate asigura rezoluția liniei de bază pentru toate zaharurile.

5.1.1. Cromatograf lichid de înaltă performanță prevăzut cu valvă de injecție cu șase orificii, prevăzut cu o buclă de 10 µL sau cu orice alt dispozitiv, automat sau manual, pentru injectarea fiabilă a microvolumelor.

5.1.2. Sistem de pompare care permite obținerea și menținerea unui debit constant sau programat de înaltă precizie.

5.1.3. Refractometru diferențial.

5.1.4. Integrator computerizat sau înregistrator ce funcționează în compatibilitate cu restul sistemului.

5.1.5. Precoloană:

Se recomandă atașarea unei precoloane adecvate la coloana analitică.

5.1.6. Coloană (exemplu):

Material:	oțel inoxidabil sau sticlă.
Diametru interior:	2-5 mm.
Lungime:	100-250 mm (în funcție de dimensiunea particulei încărcate), de exemplu 250 mm dacă particula are diametrul de 5 µm.
Fază staționară:	grupele funcționale ale alchilaminei legate de siliciu, dimensiunea maximă a particulei de 5 µm.

5.1.7. Condiții pentru cromatografie (exemplu):

Solvent de eluare (4.8.), debit: 1 ml/minut.

Detectare: Refractometrie diferențială.

Pentru a se asigura că detectorul este perfect stabil, acesta ar trebui să fie pornit cu câteva ore înainte de utilizare. Celula de referință trebuie să fie umplută cu solvent de eluare.

5.2. Balanța analitică cu o precizie de 0,1 mg.

5.3. Dispozitiv de filtrare pentru volume mici cu ajutorul unei micromembrane de 0,45 µm.

6. Depozitarea probelor

La primire, probele trebuie depozitate la temperatura camerei înainte de analiză.

7. Mod de lucru

7.1. PARTEA A: Pregătirea probei

7.1.1. Se agită proba.

7.1.2. Se filtrează cu un filtru având diametrul porilor mai mic decât sau egal cu 0,45 µm (5.3.).

7.2. PARTEA B: HPLC

7.2.1. Determinare

Se injectează 10 µl din soluțiile standard (4.12.) și probe (7.1.2.). Se efectuează analiza în condiții cromatografice adecvate, cum ar fi cele descrise mai sus.

7.2.2. În cazul în care oricare vârf al unei probe are suprafața (sau înălțimea) mai mare decât vârful corespunzător în soluția standard cea mai concentrată, proba trebuie diluată cu apă distilată și reanalizată.

8. Calculare

Se compară cele două cromatograme obținute pentru soluția standard și pentru băutura spirtoasă. Se identifică vârfurile după timpul lor de retenție. Se măsoară suprafețele lor (sau înălțimile) pentru a se calcula concentrațiile prin metoda standard externă. Se iau în considerare toate diluțiile efectuate în timpul pregătirii probei.

Rezultatul final reprezintă suma zaharozei, maltozei, lactozei, glucozei și fructozei, exprimat ca zahăr invertit în g/l.

Zahărul invertit se calculează ca suma tuturor monozaharidelor și reducând dizaharidele prezente, plus cantitatea stoechiometrică de glucoză și fructoză calculată din zaharoza prezentă.

Zahăr invertit (g/l) = glucoză (g/l) + fructoză (g/l) + maltoză (g/l) + lactoză (g/l) + (zaharoză (g/l) × 1,05)

1,05 = (masa moleculară a fructozei + masa moleculară a glucozei)/masa moleculară a zaharozei

9. Caracteristici de performanță ale metodei (precizia)

9.1. Rezultate statistice ale testului interlaboratoare

Următoarele date au fost obținute dintr-un studiu internațional de performanță a metodei efectuat cu proceduri acceptate la nivel internațional [1] [2].

Anul testului interlaboratoare	2000
Numărul de laboratoare	24
Numărul de probe	8

[1] „Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method- Performance Studies”, Horwitz, W. (1995) Pure and Applied Chemistry 67, 332-343.

[2] Horwitz, W. (1982) Analytical Chemistry 54, 67A-76A.

Tabelul 1
Fructoză, glucoză, maltoză

Analit	**Fructoză**		**Glucoză**			**Maltoză**	
Probe (× 2)	**Crème de Cassis**	**Standard (50 g/l)**	**Băutură spirtoasă cu aromă de anason**	**Crème de Cassis**	**Standard (50 g/l)**	**Băutură spirtoasă cu aromă de anason**	**Standard (10 g/l)**
Valoarea medie [g/l]	92,78	50,61	15,62	93,16	50,06	15,81	9,32
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	21	22	21	23	19	21	22
Deviația standard de repetabilitate, s_r, [g/l]	2,34	2,12	0,43	3,47	1,01	0,48	0,54
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	2,53	4,2	2,76	3,72	2,03	3,02	5,77
Limită de repetabilitate, r [g/l] (r = 2,8 × sr)	6,56	5,95	1,21	9,71	2,84	1,34	1,51
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [g/l]	7,72	3,13	0,84	9,99	2,7	0,88	1,4
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_r [%]	8,32	6,18	5,37	10,72	5,4	5,54	15,06

Limita de reproductibilitate, R [g/l] (R = 2,8 × sR)	21,62	8,76	2,35	27,97	7,57	2,45	3,93

Tabelul 2
Zaharoză

Analit	**Zaharoză**					
Probe	**Pastis**	**Ouzo**	**Lichior de cireșe**	**Crème de Menthe**	**Crème de Cassis**	**Standard (100 g/l)**
Valoarea medie [g/l]	10,83	29,2 19,7 (*1)	103,33	349,96	319,84	99,83
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	19	19	20	18	18	18
Deviația standard de repetabilitate, s_r [g/l]	0,09	0,75	2,17	5,99	4,31	1,25
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	0,81	3,07	2,1	1,71	1,35	1,25
Limită de repetabilitate, r [g/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,25	2,1	6,07	16,76	12,06	3,49
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [g/l]	0,79	0,92	4,18	9,94	16,11	4,63
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	7,31	3,76	4,05	2,84	5,04	4,64
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	2,22	2,57	11,7	27,84	45,12	12,97
(*1)						

nivel de ramificare

Tabelul 3
Zaharuri totale

Probe	Pastis	Ouzo	Băutură spirtoasă cu aromă de anason	Lichior de cireșe	Crème de Menthe	Crème de Cassis	Standard (220 g/l)
Valoarea medie [g/l]	10,86	29,2 19,7 (*1)	31,59	103,33	349,73	509,69	218,78
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	20	19	20	20	18	18	19
Deviația standard de repetabilitate, s_r, [g/l]	0,13	0,75	0,77	2,17	5,89	5,59	2,71
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	1,16	3,07	2,45	2,1	1,69	1,1	1,24
Limită de repetabilitate, r [g/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,35	2,1	2,17	6,07	16,5	15,65	7,59
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [g/l]	0,79	0,92	1,51	4,18	9,98	14,81	8,53
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	7,25	3,76	4,79	4,04	2,85	2,91	3,9
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	2,21	2,57	4,24	11,7	27,94	41,48	23,89

(*1) nivel de ramificare

VIII. GĂLBENUȘ DE OU. DETERMINAREA CONCENTRAȚIEI DE GĂLBENUȘ DE OU DIN BĂUTURILE SPIRTOASE – METODA FOTOMETRICĂ

1. Domeniu de aplicare

Prezenta metodă este adecvată pentru determinarea concentrației de gălbenuș de ou de la 40 la 250 g/l în lichiorul de ou și lichiorul pe bază de ou.

2. Referințe normative

ISO 3696 - Apă pentru utilizare analitică de laborator – Caracteristici și metode de testare

3. Principiu

Compușii fosforoși solubili în etanol prezenți în gălbenușul de ou se extrag și se determină prin fotometrie sub formă de complex fosfo-molibdenic.

4. Reactivi

4.1. Apă dublu-distilată

4.2. Diatomit

4.3. Etanol de 96 % vol. (CAS 64-17-5)

4.4. Soluție de acetat de magneziu de 15 % (CAS 16674-78-5)

4.5. Acid sulfuric de 10 % (CAS 7664-93-9)

4.6. Acid sulfuric 1N

4.7. Soluție de fosfat monobazic de potasiu (CAS 778-77-0), KH_2PO_4, de 0,16 g/l

4.8. Reactiv pentru determinarea fosfatului: se dizolvă 20 g de molibdat de amoniu (CAS 12054-85-2), $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.{}_4H_2O$ în 400 ml de apă la 50 °C.

Se dizolvă, în alt recipient, 1 g de vanadat de amoniu (CAS 7803-55-6), NH_4VO_3, în 300 ml de apă caldă, se lasă să se răcească, apoi se adaugă 140 ml de acid nitric concentrat (CAS 7697-37-2). Se combină soluțiile răcite într-un balon gradat de 1 000 ml și se completează până la gradația de 1 000 ml.

5. Aparatură și echipamente

5.1. Balon conic de 100 ml

5.2. Baie ultrasonică (sau agitator magnetic)

5.3. Balon conic de 100 ml

5.4. Baie de apă la 20 °C

5.5. Filtru (Whatman nr. 4 sau echivalent)

5.6. Creuzet de porțelan (sau de platină)

5.7. Baie de apă clocotită

5.8. Placă fierbinte

5.9. Cuptor închis

5.10. Balon gradat de 50 ml

5.11. Balon gradat de 20 ml

5.12. Spectrofotometru reglat la 420 nm

5.13. Cuvă de 1 cm.

6. Eșantioane

Eșantioanele se păstrează la temperatura camerei înainte de analiză.

7. Mod de lucru

7.1. Pregătirea eșantioanelor

7.1.1. Se introduc 10 g de eșantion într-un balon conic de 100 ml (punctul 5.1).

7.1.2. Se adaugă 70 ml de etanol treptat și în cantități mici, amestecând la fiecare adăugare. Amestecul se introduce într-o baie ultrasonică (punctul 5.2) timp de 15 minute [sau se amestecă cu ajutorul unui agitator magnetic (punctul 5.2) timp de 10 minute la temperatura camerei].

7.1.3. Se transferă conținutul balonului într-un balon gradat de 100 ml (punctul 5.3) și se adaugă volume de etanol de spălare (punctul 4.3). Se completează cu etanol (punctul 4.3) până la gradația de etalonare, apoi baloanele se pun într-o baie de apă la 20 °C (punctul 5.4). Se completează până la semnul de etalonare, la temperatura de 20 °C.

7.1.4. Se adaugă o cantitate mică de diatomit (punctul 4.2) și se filtrează (punctul 5.5), eliminând primii 20 ml.

7.1.5. Se transferă 25 ml de filtrat într-un creuzet de porțelan (sau de platină) (punctul 5.6). Filtratul trebuie apoi să se concentreze prin evaporare ușoară într-o baie de apă clocotită (punctul 5.7), după adăugarea a 5 ml de soluție de acetat de magneziu de 15 % (punctul 4.4).

7.1.6. Se așază creuzetele pe o placă fierbinte (punctul 5.8) și se încălzesc până sunt aproape uscate.

7.1.7. Se calcinează reziduul uscat încălzindu-l până la incandescență, la 600 °C, într-un cuptor închis (punctul 5.9) până se obține o cenușă albă. Operațiunea durează cel puțin o oră și jumătate, dar se poate prelungi toată noaptea.

7.1.8. Se recuperează cenușa cu ajutorul a 10 ml de acid sulfuric de 10 % (punctul 4.5) și se transferă cu ajutorul spălărilor de apă distilată (punctul 4.1) într-un balon gradat de 50 ml (punctul 5.10). Conținutul se completează cu apă distilată până la semn, la temperatura camerei. Se rezervă o parte alicotă de 5 ml din această soluție de cenușă pentru prepararea soluției de eșantion ce se utilizează pentru testarea fotometrică a fosfaților.

7.2. Testare fotometrică a fosfaților

7.2.1. Soluție comparativă

7.2.1.1. Se introduc 10 ml de acid sulfuric de 10 % (punctul 4.5) într-un balon gradat de 50 ml (punctul 5.10) și se completează până la semn cu apă distilată (punctul 4.1).

7.2.1.2. Într-un balon gradat de 20 ml (punctul 5.11), se introduce o parte alicotă de 5 ml din această soluție (punctul 7.2.1.1), apoi se adaugă 1 ml de acid sulfuric de 1 N (punctul 4.6) și 2 ml de reactiv la fosfat (punctul 4.8). Se completează până la un volum de 20 ml cu apă distilată (punctul 4.1).

7.2.1.3. Se închide, fără a fixa ermetic dopul, se agită și se încălzește într-o baie de apă clocotită (punctul 5.7) timp de 10 minute, apoi se lasă să se răcească într-o baie de apă (punctul 5.4) la 20 °C timp de 20 de minute.

7.2.1.4. Se varsă această soluție comparativă într-o cuvă de 1 cm (punctul 5.13).

7.2.2. Soluție de eșantion

7.2.2.1. Într-un balon gradat de 20 ml (punctul 5.11), se introduce o parte alicotă de 5 ml din soluția de cenușă (punctul 7.1.8), apoi se adaugă 1 ml de acid sulfuric de 1 N (punctul 4.6) și 2 ml de reactiv la fosfat (punctul 4.8). Se completează până la un volum de 20 ml cu apă distilată (punctul 4.1).

7.2.2.2. Se închide, fără a fixa ermetic dopul, se agită și se încălzește într-o baie de apă clocotită (punctul 5.7) timp de 10 minute, apoi se lasă să se răcească într-o baie de apă (punctul 5.4) la 20 °C timp de 20 de minute.

7.2.2.3. Soluția galbenă care se formează se analizează imediat spectrofotometric (punctul 5.12) într-o cuvă de 1 cm (punctul 5.13) la 420 nm în raport cu soluția comparativă (punctul 7.2.1.4).

7.2.3. Curba de etalonare

7.2.3.1. Pentru a stabili curba de etalonare, se adaugă părți alicote de 2 ml de reactiv la fosfat (punctul 4.8) în baloane gradate de 20 ml (punctul 5.11) care conțin fiecare 1 ml de acid sulfuric 1 N (punctul 4.6) și, respectiv, 0, 2, 4, 6, 8 și 10 ml de soluție de fosfat monobazic de potasiu (punctul 4.7) și se completează până la gradația de 20 ml cu apă distilată (punctul 4.1).

7.2.3.2. Se închide, fără a fixa ermetic dopul, se agită și se încălzește într-o baie de apă clocotită (punctul 5.7) timp de 10 minute, apoi se lasă să se răcească într-o baie de apă (punctul 5.4) la 20 °C timp de 20 de minute și se analizează spectrofotometric la 420 nm (punctul 5.12), într-o cuvă de 1 cm (punctul 5.13), în raport cu soluția comparativă (punctul 7.2.1.4).

7.2.3.3. Stabilirea curbei de etalonare

Soluție de fosfat monobazic (ml)	0	2	4	6	8	10
P_2O_5 (mg)	0	0,167	0,334	0,501	0,668	0,835

8. Exprimarea rezultatelor

Conținutul în gălbenuș de ou, exprimat în g/l, se calculează după următoarea formulă:

$$\frac{g}{l}\,gălbenuș\ de\ ou = mgP_2O_5\ x\ \frac{110\ x\ densitate}{E/40}$$

unde:

110 - este factorul de conversie pentru cantitatea totală de P2O5 în g din 100 g de gălbenuș de ou

mg P_2O_5 - este valoare determinată de curba de etalonare

densitate - este masa per unitate de volum (g/ml) de lichior de ou la temperatura de 20 °C

E - este masa lichiorului de ou în g

40 - este factorul de diluare pentru o porțiune de 5 ml de soluție de cenușă.

9. Caracteristicile de performanță ale metodei (precizia)

Rezultate statistice ale testului interlaboratoare

Tabelul de mai jos oferă valorile pentru gălbenușul de ou.

Datele menționate provin dintr-un studiu internațional privind performanțele metodei, realizat conform procedurilor autorizate la nivel internațional.

Anul testului interlaboratoare:	1998
Numărul de laboratoare:	24
Numărul de eșantioane:	5
Analit:	gălbenușul de ou

Eșantioane	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	19	20	22	20	22
Numărul rezultatelor excepționale (laboratoare)	3	4	2	4	2
Numărul rezultatelor acceptate	38	40	44	40	44
Valoare medie	147,3	241,1	227,4	51,9 (*) 72,8 (*)	191,1
Decalaj standard de repetabilitate (S_r) g/l	2,44	4,24	3,93	1,83	3,25
Decalaj standard relativ de repetabilitate (RSD_r) (%)	1,7	1,8	1,8	2,9	1,7
Limită de repetabilitate (r) g/l	6,8	11,9	11,0	5,1	9,1
Decalaj standard de reproductibilitate (S_R) (%)	5,01	6,06	6,66	3,42	6,87
Decalaj standard relativ de reproductibilitate (RSD_R) (%)	3,4	2,5	2,9	5,5	3,6
Limită de reproductibilitate (R) g/l	14,0	17,0	18,7	9,6	19,2

Tipuri de eșantioane:

A - Advocaat, duplicate oarbe

B - Advocaat, duplicate oarbe

C - Advocaat, duplicate oarbe
D - Advocaat (diluat), niveluri de ramificare (*)
E - Advocaat, duplicate oarbe

IX. DETERMINAREA URMĂTORILOR COMPUȘI DIN LEMN ÎN BĂUTURILE SPIRTOASE PRIN METODA CROMATOGRAFIEI LICHIDE DE ÎNALTĂ PERFORMANȚĂ (HPLC): FURFURAL, 5-HIDROXIMETILFURFURAL, 5-METILFURFURAL, VANILINĂ, ALDEHIDĂ SIRINGICĂ, ALDEHIDĂ CONIFERILICĂ, SINAPALDEHIDĂ, ACID GALIC, ACID ELAGIC, ACID VANILIC, ACID SIRINGIC ȘI SCOPOLETINĂ

1. Domeniu de aplicare

Metoda se referă la determinarea compușilor: furfural, 5-hidroximetilfurfural, 5-metilfurfural, vanilină, aldehidă siringică, aldehidă coniferilică, sinapaldehidă, acid galic, acid elagic, acid vanilic, acid siringic și scopoletină prin cromatografia lichidă de înaltă performanță.

2. Referință normativă

Metodă analitică recunoscută de Adunarea Generală a Organizației Internaționale a Viei și Vinului (OIV) și publicată de OIV cu numărul de referință OIV-MA-BS-16: R2009.

3. Principiu

Determinarea prin cromatografia lichidă de înaltă performanță (HPLC), cu detectare prin spectofotometria în ultraviolet la mai multe lungimi de undă și prin spectrofluorimetrie.

4. Reactivi

Reactivii trebuie să fie de calitate analitică. Apa utilizată trebuie să fie apă distilată sau apă de o puritate cel puțin echivalentă. Este de preferat să se utilizeze apă microfiltrată cu o rezistivitate de 18,2 M Ω.cm.

4.1. Alcool de 96 % vol.

4.2. Metanol de calitate HPLC (Solvent B).

4.3. Acid acetic diluat la 0,5 % vol. (Solvent A).

4.4. Faze mobile: (dat numai ca exemplu).

Solvent A (0,5 % acid acetic) și solvent B (metanol pur). Se filtrează printr-o membrană (cu porozitate 0,45 µm). Dacă este necesar, se degazează într-o baie cu ultrasunete.

4.5. Soluție standard de referință cu puritate minimă 99 %: furfural, 5-hidroximetilfurfural, 5-metilfurfural, vanilină, aldehidă siringică, aldehidă coniferilică, sinapaldehidă, acid galic, acid elagic, acid vanilic, acid siringic și scopoletină.

4.6. Soluție de referință: substanțele standard se dizolvă într-o soluție apă-alcool de 50 % vol. Concentrațiile finale în soluția de referință trebuie să fie de ordinul a: furfural: 5 mg/l; 5-hidroximetilfurfural: 10 mg/l; 5-metilfurfural 2 mg/l; vanilină: 5 mg/l; aldehidă siringică: 10 mg/l; aldehidă coniferilică: 5 mg/l; sinapaldehidă: 5 mg/l;

acid galic: 10 mg/l; acid elagic: 10 mg/l; acid vanilic: 5 mg/l; acid siringic: 5 mg/l; scopoletină: 0,5 mg/l.

5. Aparatură

Aparatură standard de laborator

5.1. Un cromatograf lichid de înaltă performanță capabil să funcționeze în mod gradient binar și echipat cu:

5.1.1. Un detector spectrofotometric capabil să măsoare la lungimi de undă de la 260 până la 340 nm. Cu toate acestea, este de preferat să se lucreze cu un detector cu multiple lungimi de undă cu rețea de diode, pentru a confirma puritatea vârfurilor.

5.1.2. Un detector spectrofluorimetric – lungime de undă de excitare: 354 nm, lungime de undă de emisie: 446 nm (pentru determinarea urmelor de scopoletină; care este detectabilă, de asemenea, la 313 nm cu ajutorul spectrofotometriei).

5.1.3. Un dispozitiv de injectare care poate introduce 10 sau 20 µl (de exemplu) din proba de testare.

5.1.4. O coloană pentru cromatografie lichidă de înaltă performanță, de tip RP C18, cu dimensiunea maximă a particulei de 5 µm.

5.2. Seringi pentru HPLC.

5.3. Dispozitiv pentru filtrare prin membrană a volumelor mici.

5.4. Integrator computerizat sau înregistrator care funcționează în compatibilitate cu întreaga aparatură și, în special, care trebuie să aibă mai multe canale de achiziție.

6. Mod de lucru

6.1. Pregătirea soluției care urmează a fi injectată

Soluția de referință și băutura spirtoasă se filtrează, dacă este necesar, printr-o membrană cu diametrul maxim al porilor de 0,45 µm.

6.2. Condiții de operare cromatografică: analiza se efectuează la temperatura ambiantă cu ajutorul echipamentului descris la punctul (5.1) și folosind fazele mobile (4.4), cu un debit de aproximativ 0,6 ml pe minut și urmărind gradientul de mai jos (dat numai ca exemplu)

Timp: 0 min 50 min 70 min 90 min

solvent A (apă-acid): 100 % 60 % 100 % 100 %

solvent B (metanol): 0 % 40 % 0 % 0 %

Trebuie remarcat că, în anumite cazuri, acest gradient ar trebui modificat pentru a se evita co-eluările.

6.3. Determinare

6.3.1. Se injectează soluțiile standard de referință separat, apoi amestecate.

Se adaptează condițiile de operare astfel încât factorii de rezoluție ai vârfurilor tuturor compușilor să fie egali cu cel puțin 1.

6.3.2. Se injectează proba preparată conform punctului 6.1.

6.3.3. Se măsoară suprafața vârfurilor în soluția de referință și băutura spirtoasă și se calculează concentrațiile.

7. Exprimarea rezultatelor

Se exprimă concentrația fiecărui constituent în mg/l.

8. Caracteristici de performanță ale metodei (precizia)

Următoarele date au fost obținute în 2009 dintr-un studiu internațional de performanță a metodei, efectuat cu proceduri acceptate la nivel internațional [1], [2].

8.1. Furfural

Analit	**Furfural**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	15	15	15	15	15	15
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	14	12	13	14	13	13
Valoarea medie [mg/l]	2,9	1,2	1,7	10,6	15,3	13,9
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,04	0,05	0,04	0,18	0,23	0,20
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	1,4	4,5	2,3	1,7	1,5	1,5
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,2	0,1	0,5	0,6	0,6
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,24	0,18	0,09	1,4	0,49	0,69
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_r [%]	8	15	5	13	3	5
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,7	0,5	0,3	3,8	1,4	1,9

8.2. 5-Hidroximetilfurfural

Analit	**5-Hidroximetilfurfural**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	16	16	16	16	16	16
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	14	14	14	14	14	14
Valoarea medie [mg/l]	5,0	11,1	9,4	33,7	5,8	17,5

Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,09	0,09	0,09	0,42	0,07	0,13
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	1,7	0,8	1,0	1,3	1,2	0,8
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,2	0,3	0,3	1,2	0,2	0,4
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,39	1,01	0,50	4,5	0,4	1,6
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_r [%]	8	9	5	13	7	9
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	1,1	2,8	1,4	12,5	1,1	4,6

8.3. 5-Metilfurfural

Analit	**5-Metilfurfural**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	11	11	11	11	11	11
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	11	11	8	11	10	11
Valoarea medie [mg/l]	0,1	0,2	0,1	0,5	1,7	0,8
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,01	0,01	0,02	0,02	0,03	0,07
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	10,7	6,1	13,6	4,7	2,0	10,0
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	~~0,0~~	~~0,0~~	0,1	0,1	0,1	0,2
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,03	0,04	0,03	0,18	0,20	0,26
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_r [%]	35	18	22	39	12	35

Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,1	0,1	0,1	0,5	0,6	0,7

8.4. Vanilină

Analit	**Vanilină**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	16	15	16	16	16	16
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	16	15	16	16	16	16
Valoarea medie [mg/l]	0,5	0,2	1,2	1,2	3,2	3,9
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,03	0,02	0,06	0,11	0,11	0,09
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	6,8	9,6	4,6	8,9	3,5	2,3
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3	0,3
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,09	0,06	0,18	0,27	0,41	0,62
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_r [%]	19	25	15	22	13	16
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,3	0,2	0,5	0,8	1,2	1,7

8.5. Aldehidă siringică

Analit	**Aldehidă siringică**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	16	15	16	16	16	16
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	13	13	13	12	14	13
Valoarea medie [mg/l]	1,0	0,2	4,8	3,2	10,5	9,7
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,03	0,02	0,04	0,08	0,10	0,09
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	2,6	8,1	0,8	2,6	0,9	0,9
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,08	0,07	0,23	0,19	0,39	0,43
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	8	33	5	6	4	4
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,2	0,2	0,7	0,5	1,1	1,2

8.6. Aldehidă coniferilică

Analit	**Aldehidă coniferilică**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	13	12	13	12	13	13
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	12	12	13	12	13	13
Valoarea medie [mg/l]	0,2	0,2	0,6	0,8	4,6	1,3
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,02	0,02	0,03	0,03	0,09	0,06
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	9,2	9,8	4,6	4,3	1,9	4,5
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,04	0,04	0,07	0,09	0,24	0,16
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,04	0,04	0,11	0,18	0,38	0,25
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	23	27	21	23	8	19
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,1	0,1	0,3	0,5	1,1	0,7

8.7. Sinapaldehidă

Analit	**Sinapaldehidă**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	14	14	14	14	15	14
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	14	13	12	13	13	12
Valoarea medie [mg/l]	0,3	0,2	0,2	1,6	8,3	0,3
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,02	0,01	0,02	0,06	0,14	0,03
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	7,5	4,6	11,2	3,7	1,6	11,4
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,06	0,03	0,06	0,17	0,38	0,08
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,09	0,05	0,08	0,20	0,81	0,18
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	31	27	46	13	10	73
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,2	0,2	0,2	0,6	2,3	0,5

8.8. Acid galic

Analit	**Acid galic**					
Probă	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	16	15	16	16	16	16
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	15	14	16	16	16	16
Valoarea medie [mg/l]	1,2	0,4	2,0	6,1	7,3	21,8
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,07	0,04	0,06	0,18	0,18	0,60
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	6,1	8,1	2,9	3,0	2,4	2,8
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,2	0,1	0,2	0,5	0,5	1,7
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,43	0,20	0,62	3,3	2,2	7,7
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	36	47	31	53	30	35
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	1,2	0,6	1,7	9,1	6,2	21,7

8.9. Acid elagic

Analit	**Acid elagic**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	7	7	7	7	7	7
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	7	7	7	7	7	6
Valoarea medie [mg/l]	3,2	1,0	9,5	13	13	36
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,20	0,16	0,30	0,41	0,95	0,34
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	6,3	16	3,2	3,2	7,4	1,0
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,6	0,4	0,9	1,1	2,7	1,0
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	1,41	0,42	4,0	5,0	4,9	14
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	44	43	42	39	39	40
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	4,0	1,2	11	14	14	40

8.10. Acid vanilic

Analit	**Acid vanilic**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	15	15	15	15	15	15
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	12	11	14	14	15	14
Valoarea medie [mg/l]	0,2	0,2	1,5	0,8	2,4	2,7
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,03	0,04	0,03	0,10	0,13	0,21
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	14,2	16,5	2,3	12,6	5,3	7,7
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,1	0,1	0,3	0,4	0,6
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,06	0,05	0,51	0,2	1,22	0,70
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	28	20	35	31	51	26
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,2	0,1	1,4	0,7	3,4	2,0

8.11. Acid siringic

Analit	**Acid siringic**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	16	15	16	16	16	16
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	16	15	15	15	16	15
Valoarea medie [mg/l]	0,4	0,2	2,5	1,4	3,4	4,8
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,03	0,02	0,06	0,13	0,08	0,11
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	6,7	12,6	2,3	9,0	2,3	2,3
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,1	0,2	0,4	0,2	0,3
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,08	0,05	0,29	0,26	0,43	0,67
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	19	29	11	18	13	14
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,2	0,1	0,8	0,7	1,2	1,9

8.12. Scopoletină

Analit	**Scopoletină**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	10	10	10	10	10	10
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	9	8	9	8	8	8
Valoarea medie [mg/l]	0,09	0,04	0,11	0,04	0,65	0,15
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,0024	0,0008	0,0018	0,0014	0,0054	0,0040
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	2,6	2,2	1,6	3,3	0,8	2,7
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,007	0,002	0,005	0,004	0,015	0,011
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,01	0,01	0,03	0,01	0,09	0,02
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	15	16	23	17	15	15
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,04	0,02	0,07	0,02	0,26	0,06

[1] „Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method- Performance Studies”, Horwitz, W. (1995) Pure and Applied Chemistry 67, 332-343.

[2] Horwitz, W. (1982) Analytical Chemistry 54, 67A-76A.

X. DETERMINAREA CONȚINUTULUI DE RADIOCARBON ÎN ETANOL

1. Introducere

Determinarea conținutului de radiocarbon în etanol permite să se facă distincția între alcoolul pe bază de combustibili fosili (alcool de sinteză) și alcoolul pe bază de materii prime produse recent (alcool de fermentație).

2. Definiție

Conținutul de radiocarbon al etanolului trebuie considerat ca fiind conținutul de radiocarbon determinat prin metoda descrisă aici sau prin metoda descrisă în standardul EN 16640 metoda C.

Conținutul natural de radiocarbon din atmosferă (valoarea de referință), care este absorbit de vegetația vie prin asimilare, nu este o valoare constantă. Valoarea de referință se determină, așadar, pe etanolul din materii prime provenite din cea mai recentă perioadă de vegetație. Această valoare de referință anuală este determinată în conformitate cu standardul EN 16640. Totuși, poate fi acceptată o altă valoare de referință dacă valoarea respectivă este certificată de un organism acreditat.

3. Principiu

Conținutul de radiocarbon al probelor care conțin alcool cu cel puțin 85 % masă de etanol se determină direct prin numărare prin scintilație lichidă.

4. Reactivi

4.1. Scintilator cu toluen

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

0,5 g de p-bis-[4-metil-5-feniloxazol (2)]-benzen (dimetil-POPOP) într-un litru de toluen pur pentru analiză.

Se pot utiliza și scintilatoare cu toluen cu această compoziție disponibile în comerț, gata preparate.

4.2. Standard radiocarbon

Radiocarbon n-hexadecan cu o activitate de aproximativ 1 × 106 dpm/g (circa 1,67 × 106 cBq/g) și cu o precizie garantată a activității determinate de ± 2 % rel.

4.3. Etanol fără radiocarbon

Alcool de sinteză din materii prime de origine fosilă, cu cel puțin 85 % masă de etanol, pentru determinarea zgomotului de fond.

4.4. Alcool pe bază de materii prime produse recent, în cea mai recentă perioadă de vegetație, cu cel puțin 85 % masă de etanol ca soluție de referință.

5. Aparatură

5.1. Spectrometru cu scintilație lichidă cu mai multe canale, cu procesor și standardizare externă automată și afișaj al raportului canal/standard extern (construcție standard: trei canale de măsurat și două canale pentru standardul extern).

5.2. Flacoane contor, sărace în potasiu, adaptate pentru spectrometru, cu dopuri filetate în culori închise, prevăzute cu o protecție interioară din polietilenă.

5.3. Pipete volumetrice de 10 ml.

5.4. Dispozitiv de dozare automată de 10 ml.

5.5. Balon cu fund rotund de 250 ml, prevăzut cu dop din sticlă rodată.

5.6. Aparat de distilare a alcoolului prevăzut cu manta de încălzire, de exemplu de tip Micko.

5.7. Injector microlitru de 50 µl.

5.8. Pâlnie de picnometru, picnometre de 25 ml și 50 ml. Ca alternativă, trebuie admis un echipament echivalent, de exemplu de densimetrie electronică.

5.9. Termostat cu temperatură constantă de ± 0,01 °C.

6.Procedură

6.1. Reglarea echipamentelor

Echipamentele trebuie reglate în conformitate cu instrucțiunile producătorului. Condițiile de măsurare sunt optime atunci când valoarea E2/B, indicele de calitate, este la maximum.

E = efficiency (eficiență)

B = background (zgomot de fond)

Numai două canale de măsurat se optimizează. Cel de-al treilea se lasă complet deschis pentru a permite controlul.

6.2. Selecția flacoanelor contor

Se umplu mai multe flacoane contor decât vor fi necesare ulterior cu câte 10 ml de etanol de sinteză fără conținut de radiocarbon și 10 ml de scintilator cu toluen. Se măsoară fiecare pe parcursul a cel puțin 4 cicluri × 100 de minute. Se elimină flacoanele al căror zgomot de fond se abate cu mai mult de ± 1 % rel. de la medie. Se utilizează numai flacoane noi, provenite din același lot de fabricație.

6.3. Determinarea raportului canal/standard extern (RCSE).

În timpul procesului de reglare a canalelor (punctul 6.1), RCSE se determină cu ajutorul programului de calcul corespunzător, atunci când se determină coeficientul de eficiență. Standardul extern utilizat este cesiu 137, deja integrat din fabricație.

6.4. Pregătirea probei

Se pot măsura probele cu un conținut de etanol de cel puțin 85 % masă, fără impurități, cu o absorbanță sub 450 nm. Un reziduu slab de esteri și aldehide nu are un efect perturbator. Conținutul de alcool al probei este determinat în prealabil cu o aproximare de 0,1 %.

7. Măsurarea probelor prin utilizarea unui standard extern

7.1. Probele cu absorbanță redusă descrise la punctul 6.4, cu o valoare RCSE de aproximativ 1,8, pot fi măsurate prin RCSE, ceea ce constituie o măsură a coeficientului de eficiență.

7.2. Măsurare

Se introduc cu pipeta câte 10 ml din fiecare probă preparată în conformitate cu punctul 6.4 într-un flacon contor controlat pentru zgomot de fond și se adaugă 10 ml de scintilator cu toluen, cu ajutorul unui dispozitiv de dozare automată. Probele din flacoane se omogenizează prin mișcări circulare corespunzătoare; lichidul nu trebuie să umezească protecția interioară din polietilenă din dopul filetat. Se prepară în același mod un flacon cu etanol fosil fără conținut de radiocarbon pentru a se determina zgomotul de fond. Pentru a se verifica valoarea anuală relevantă a radiocarbonului, se

prepară o probă duplicat din etanol produs recent, provenit din ultima perioadă de vegetație, amestecându-se un flacon cu standardul intern, a se vedea punctul 8.

Proba martor și proba pentru zgomot de fond se așază la începutul seriei de măsurători, care trebuie să conțină cel mult 10 probe de analiză. Timpul total de măsurare per probă este de cel puțin 2 × 100 de minute, probele individuale fiind măsurate în etape parțiale de 100 de minute fiecare, pentru a se permite detectarea eventualelor derive sau defecțiuni ale echipamentelor. (Așadar, un ciclu corespunde unui interval de măsurare de 100 de minute per probă.).

Probele martor și probele pentru zgomot de fond trebuie preparate din nou din patru în patru săptămâni.

În cazul probelor cu absorbanță ușor redusă (cu RCSE de aproximativ 1,8), eficiența este afectată doar neglijabil de modificarea acestei valori. În cazul în care modificarea se încadrează în intervalul ± 5 % rel., este probabil să se obțină aceeași eficiență. În cazul probelor cu absorbanță mai ridicată, cum ar fi alcoolii denaturați, eficiența se poate determina cu ajutorul graficului de corecție a absorbanței. În cazul în care nu există un program de calcul disponibil, trebuie să se utilizeze standardul intern, ceea ce conduce la un rezultat fără echivoc.

8. Măsurarea probelor prin utilizarea unui standard intern hexadecan ^{14}C

8.1. Procedură

Probele martor și probele pentru zgomot de fond (etanol produs recent și etanol fosil), precum și materialul necunoscut se măsoară fiecare în duplicat. O probă duplicat se prepară într-un flacon neselecționat, adăugându-se o cantitate dozată cu precizie (30 µl) de hexadecan radiocarbon ca standard intern (activitate suplimentară de aproximativ 26 269 dpm/gC, circa 43 782 cBq/gC). Pentru prepararea celorlalte probe și timpii de măsurare, a se vedea punctul 7.2, însă timpul de măsurare pentru probele cu standard intern poate fi redus la aproximativ cinci minute printr-un prereglaj la 10^5 impulsuri. Pe o serie de măsurători, se utilizează câte un duplicat al probei martor și al probei pentru zgomot de fond; acestea se așază la începutul seriei de măsurători.

8.2. Utilizarea standardului intern și a flacoanelor contor

Pentru a se preveni contaminarea în cazul măsurărilor cu un standard intern, standardul trebuie depozitat și manipulat departe de spațiul în care se prepară și se măsoară probele pentru analiză. După măsurare, flacoanele controlate pentru zgomot de fond pot fi reutilizate. Dopurile filetate și tuburile care conțin standardul intern se elimină.

9. Exprimarea rezultatelor

9.1 Unitatea activității unei substanțe radioactive este becquerelul; 1 Bq = 1 dezintegrare/sec.

Indicarea radioactivității specifice se exprimă în becquereli în raport cu un gram de carbon = Bq/gC.

Pentru a se obține mai multe rezultate practice, acestea trebuie să fie exprimate în centibecquereli = cBq/gC.

Pot fi utilizate și descrierile și formulele utilizate în literatura de specialitate, bazate pe dpm. Pentru a obține valorile corespunzătoare în cBq, valoarea dpm se înmulțește cu 100/60.

9.2. Exprimarea rezultatelor cu un standard extern

$$\frac{cBq}{gC} = \frac{(cpm_{pr} - cpm_{NE})1{,}918100}{V\ F\ Z\ 60}$$

9.3. Exprimarea rezultatelor cu un standard intern

$$\frac{cBq}{gC} = \frac{(cpm_{pr} - cpm_{NE})\ dpm_{IS}\ 1{,}918100}{(cpm_{IS} - cpm_{pr})\ V\ F\ \ 60}$$

Tastați ecuația aici.

9.4. Abrevieri

cpm_{pr} = media ratei de numărare a probelor, calculată pentru toată durata măsurării.
cpmNE = media ratei impulsurilor pentru zgomot de fond, calculată în același mod.
cpmIS = rata de numărare a probelor, cu un standard intern.
dpmIS = cantitatea de standard intern adăugată (radioactivitate etalonată dpm).
V = volumul probelor utilizate, în ml.
F = conținutul în grame de alcool pur per ml, în funcție de concentrație.
Z = coeficientul de eficiență corespunzător valorii RCSE.
1,918 = numărul de grame de alcool per gram de carbon.

10. Fiabilitatea metodei

10.1. Repetabilitate (r)

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

10.2. Reproductibilitate (R)

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

Anexa nr.1 la Instrucțiunea privid metodele analitice de referință

TABELUL I

Factorii F de multiplicare a masei de apă conținută în picnometrul Pyrex la t °C, pentru calcularea volumului picnometrului la 20 °C

***t* °C**	**F**	***t* °C**	**F**	***t* °C**	**F**	***t* °C**	**F**	***t* °C**	**F**	***t* °C**	**F**	***t* °C**	**F**
10,0	1,000398	13,0	1,000691	16,0	1,001097	19,0	1,001608	22,0	1,002215	25,0	1,002916	28,0	1,003704
,1	1,000406	,1	1,000703	,1	1,001113	,1	1,001627	,1	1,002238	,1	1,002941	,1	1,003731
,2	1,000414	,2	1,000714	,2	1,001128	,2	1,001646	,2	1,002260	,2	1,002966	,2	1,003759
,3	1,000422	,3	1,000726	,3	1,001144	,3	1,001665	,3	1,002282	,3	1,002990	,3	1,003787
,4	1,000430	,4	1,000738	,4	1,001159	,4	1,001684	,4	1,002304	,4	1,003015	,4	1,003815
10,5	1,000439	13,5	1,000752	16,5	1,001175	19,5	1,001703	22,5	1,002326	25,5	1,003041	28,5	1,003843
,6	1,000447	,6	1,000764	,6	1,001191	,6	1,001722	,6	1,002349	,6	1,003066	,6	1,003871
,7	1,000456	,7	1,000777	,7	1,001207	,7	1,001741	,7	1,002372	,7	1,003092	,7	1,003899
,8	1,000465	,8	1,000789	,8	1,001223	,8	1,001761	,8	1,002394	,8	1,003117	,8	1,003928
,9	1,000474	,9	1,000803	,9	1,001239	,9	1,001780	,9	1,002417	,9	1,003143	,9	1,003956
11,0	1,000483	14,0	1,000816	17,0	1,001257	20,0	1,001800	23,0	1,002439	26,0	1,003168	29,0	1,003984
,1	1,000492	,1	1,000829	,1	1,001273	,1	1,001819	,1	1,002462	,1	1,003194	,1	1,004013
,2	1,000501	,2	1,000842	,2	1,001290	,2	1,001839	,2	1,002485	,2	1,003222	,2	1,004042
,3	1,000511	,3	1,000855	,3	1,001306	,3	1,001859	,3	1,002508	,3	1,003247	,3	1,004071
,4	1,000520	,4	1,000868	,4	1,001323	,4	1,001880	,4	1,002531	,4	1,003273	,4	1,004099
11,5	1,000530	14,5	1,000882	17,5	1,001340	20,5	1,001900	23,5	1,002555	26,5	1,003299	29,5	1,004128
,6	1,000540	,6	1,000895	,6	1,001357	,6	1,001920	,6	1,002578	,6	1,003326	,6	1,004158
,7	1,000550	,7	1,000909	,7	1,001374	,7	1,001941	,7	1,002602	,7	1,003352	,7	1,004187
,8	1,000560	,8	1,000923	,8	1,001391	,8	1,001961	,8	1,002625	,8	1,003379	,8	1,004216
,9	1,000570	,9	1,000937	,9	1,001409	,9	1,001982	,9	1,002649	,9	1,003405	,9	1,004245
12,0	1,000580	15,0	1,000951	18,0	1,001427	21,0	1,002002	24,0	1,002672	27,0	1,003432	30,0	1,004275
,1	1,000591	,1	1,000965	,1	1,001445	,1	1,002023	,1	1,002696	,1	1,003458		
,2	1,000601	,2	1,000979	,2	1,001462	,2	1,002044	,2	1,002720	,2	1,003485		

,3	1,000612	,3	1,000993	,3	1,001480	,3	1,002065	,3	1,002745	,3	1,003513		
,4	1,000623	,4	1,001008	,4	1,001498	,4	1,002086	,4	1,002769	,4	1,003540		
12,5	1,000634	15,5	1,001022	18,5	1,001516	21,5	1,002107	24,5	1,002793	27,5	1,003567		
,6	1,000645	,6	1,001037	,6	1,001534	,6	1,002129	,6	1,002817	,6	1,003594		
,7	1,000656	,7	1,001052	,7	1,001552	,7	1,002151	,7	1,002842	,7	1,003621		
,8	1,000668	,8	1,001067	,8	1,001570	,8	1,002172	,8	1,002866	,8	1,003649		
,9	1,000679	,9	1,001082	,9	1,001589	,9	1,002194	,9	1,002891	,9	1,003676		

NOTA DE FUNDAMENTARE
la proiectul hotărârii de Guvern cu privire la aprobarea Regulamentului de stabilire a metodelor de referință pentru analiza băuturilor spirtoase

1. Denumirea sau numele autorului și, după caz, a/al participanților la elabora rea proiectului actului normativ
Ministerul Agriculturii și Industriei Alimentare
2. Condițiile ce au impus elaborarea proiectului actului normativ
2.1. Temeiul legal sau, după caz, sursa proiectului actului normativ
Proiectul de hotărâre a Guvernului privind aprobarea Regulamentului de stabilire a metodelor de referință pentru analiza băuturilor spirtoase a fost elaborat în temeiul art. 17^7 alin. (2) din Legea nr. 1100/2000 cu privire la fabricarea şi circulația alcoolului etilic și a producției alcoolice.
2.2. Descrierea situației actuale și a problemelor care impun intervenția, inclusiv a cadrului normativ aplicabil și a deficiențelor/lacunelor normative
Republica Moldova are o tradiție îndelungată în producția băuturilor spirtoase, atât pentru consum intern, cât și pentru export. Acest sector este reglementat de Legea 1100/2000 cu privire la fabricarea şi circulația alcoolului etilic și a producției alcoolice și prin Regulamentul privind definirea, descrierea, prezentarea şi etichetarea băuturilor ce conțin alcool, aprobat prin Hotărârea Guvernului 589/2023, care stabilește normele privind definirea, descrierea și etichetarea băuturilor alcoolice. Aceste reglementări acoperă un spectru de circa 57 de categorii de băuturi spirtoase, incluzând băuturi populare precum rom, whisky, brandy și votcă, asigurând astfel standardizarea și calitatea produselor. Industria băuturilor spirtoase joacă un rol esențial în economia Republicii Moldova, așa cum demonstrează valoarea exporturilor, care a atins 82.656,75 mii dolari SUA în anul 2023. Această performanță nu doar că subliniază importanța sectorului pentru economia națională, dar și evidențiază capacitatea sa de a oferi locuri de muncă, în special în zonele rurale. Astfel, contribuind semnificativ la susținerea economiilor locale și la menținerea vitalității comunităților rurale, care depind de aceste șanse de dezvoltare economică. Mai mult ca atât, consumul intern, de băuturi spirtoase, pe cap de locuitor, este de 0,71 litri de alcool pur pentru anul 2022, evidențiind rolul semnificativ al acestora în cultura și tradițiile locale. Având în vedere aceste aspecte, asigurarea calității și siguranței băuturilor spirtoase devine esențială, având în vedere potențialele riscuri pentru sănătate asociate cu produsele contrafăcute. Pentru a menține și a spori încrederea consumatorilor, atât pe piața internă, cât și pe cea internațională, este crucial ca produsele să respecte standarde stricte de calitate și siguranță. Acestea nu doar că protejează sănătatea consumatorilor, dar și consolidează reputația industriei, asigurându-i un viitor prosper și sustenabil. Dat fiind faptul că, băuturile spirtoase sunt produse din distilat sau alcool etilic de origine agricolă, cu sau fără adaos de sucuri, macerate, morse, extracte, produse cu conținut de zahăr, arome naturale sau substanțe aromatice, apar riscuri legate de calitatea și siguranța produsului finit. Utilizarea ingredientelor naturale, precum

extractele de lemn dulce, pot introduce în băuturile spirtoase compuși precum acidul glicirizic și chalcone, care necesită o monitorizare atentă pentru a asigura siguranța consumatorilor.

De asemenea, autenticitatea și calitatea băuturilor spirtoase, este asigurată de diverse componente și substanțe care pot influența produsul final. În mod special, conținutul de zaharuri și cantitatea de gălbenuș de ou sunt critice în anumite băuturi, deoarece acestea pot afecta atât gustul, cât și textura. La fel, prezența unor compuși precum furfuralul, vanilina, aldehida siringică, aldehida coniferilică, sinapaldehida, acidul galic, acidul elagic, acidul vanilic, acidul siringic și scopoletina sunt indicatori importanți ai procesului de producție și ai calității ingredientelor folosite.

În cazul unor suspiciuni de falsificare, analiza conținutului de radiocarbon din etanol oferă informații valoroase despre originea și autenticitatea alcoolului utilizat, fiind un instrument esențial în identificarea eventualelor fraude.

Limitele admisibile a substanțelor din băuturile spirtoase sunt reglementate prin Regulamentul aprobat prin Hotărârea Guvernului 589/2023. Prin stabilirea acestor limite stricte, Guvernul protejează consumatorii și promovează recunoașterea calității băuturilor spirtoase.

Monitorizarea de către organele de control a acestor elemente nu doar că protejează consumatorul de produse neconforme, dar contribuie și la menținerea unei imagini de încredere pentru băuturile spirtoase. Respectarea strictă a acestor parametri este un pas esențial în garantarea unor produse de înaltă calitate care să îndeplinească așteptările consumatorilor.

În prezent, în Republica Moldova, investigațiile de laborator ale probelor de băuturi spirtoase prelevate în cadrul controalelor oficiale sunt efectuate de Laboratorul din cadrul Instituției Publice Centrul Național Sănătatea Animalelor, Plantelor și Siguranța Alimentelor (IP CNSAPSA). Acest laborator este acreditat conform standardului ISO/IEC 17025 și utilizează metode instrumentale avansate de analiză, cum ar fi cromatografia gazoasă, cromatografia lichidă de înaltă performanță (HPLC), electroforeza capilară, spectroscopia de absorbție atomică cu atomizare electrotermică (ETAAS) și în flacără (FAAS), spectroscopia NIR și densimetria electronică.

Cu toate acestea, numeroase investigații de laborator nu reușesc încă să asigure conformitatea cu metodele oficiale recunoscute de Uniunea Europeană, așa cum sunt specificate în Regulamentul Comisiei (CE) nr. 2870/2000, care stabilește metodele de analiză de referință ale Uniunii.

Principale provocări, care nu au permis până la moment implementarea unor metode de testare mai avansate conforme cu cele ale UE sunt costurile ridicate ale echipamentelor și cerințele speciale necesare pentru implementarea metodelor. Utilaje precum cromatograf gazos și spectrometrul cu scintilație lichidă cu mai multe canale necesită nu doar achiziționarea, ci și amenajarea unor spații adecvate pentru instalare, instruirea personalului și obținerea asistenței tehnice de la experți internaționali, având în vedere lipsa de experiență în utilizarea utilajului respectiv. De asemenea, pentru întreținerea și utilizarea acestor utilaje este necesară achiziționarea materialelor de referință și a reactivilor necesari care sunt costisitoare.

Implementarea metodelor avansate este vitală pentru a obține rezultate precise în urma controalelor oficiale, un pas esențial în alinierea cu reglementările europene și facilitarea integrării în Uniunea Europeană dar și pentru asigurarea consumatorilor cu băuturi spirtoase care respectă cerințele impuse de actele normative.

Pentru a proteja integritatea pieței și sănătatea consumatorilor este important ca Republica Moldova să implementeze metode riguroase de monitorizare și autentificare a băuturilor spirtoase. Aceste măsuri nu doar că vor asigura conformitatea cu reglementările Uniunii Europene, dar totodată vor preveni fraudele, menținând astfel încrederea consumatorilor în produsele fabricate în Republica Moldova. Prin adoptarea unor practici stricte de control al calității și siguranței, industria băuturilor spirtoase va putea să își consolideze reputația pe piața internațională și să contribuie la dezvoltarea economică sustenabilă a țării.

3. Obiectivele urmărite și soluțiile propuse

Obiective Generale

1. Creșterea siguranței și calității băuturilor spirtoase în scopul de a proteja sănătatea consumatorilor și a consolida reputația internațională a băuturilor spirtoase fabricate în Republica Moldova;
2. Alinierea cadrului național de reglementare la cel al Uniunii Europene pentru a facilita integrarea și accesul pe piața europeană;

Obiective Specifice

1. Elaborarea unui cadru de reglementare național care să alinieze metodele de analiză a probelor prelevate în cadrul controalelor oficiale la normele UE.
2. Modernizarea și dotarea Laboratorului din cadrul IP CNSAPSA cu echipamente de ultimă generație pentru a realiza analize conforme cu cerințele UE;
3. Formarea personalului din cadrul laboratorului IP CNSAPSA pentru a asigura conformitatea cu noile metode reglementate, aliniate la cerințele UE;
4. Implementarea unui sistem eficient de control al calității băuturilor spirtoase pentru a preveni frauda și a proteja consumatorii;

3.1. Principalele prevederi ale proiectului și evidențierea elementelor noi

Proiectul de hotărâre de Guvern are ca obiectiv stabilirea cerințelor generale și a metodelor de referință pentru analiza băuturilor spirtoase, în contextul unui control oficial sau al unui diferend. Regulamentul descrie următoarele metode:

I. Determinarea tăriei alcoolice în volume

Apendicele I : Pregătirea distilatului

Apendicele II :Măsurarea densității distilatului

— Metoda A = picnometrie
— Metoda B = densimetrie electronică
— Metoda C = densimetrie utilizând balanța hidrostatică

II. Determinarea extractului sec total prin gravimetrie

III. Determinarea substanțelor volatile și a metanolului

III.1. Observații generale

III.2. Congeneri volatili: aldehide, alcooluri superioare, acetat de etil și metanol (cromatografie gazoasă)
III.3. Aciditate volatilă
IV. Anetol
V. Acid glicirizic
VI. Calcone
VII. Glucide totale
VIII. Gălbenuș de ou
IX. Determinarea compușilor din lemn: furfural, 5-hidroximetilfurfural, 5-metilfurfural, vanilină, aldehidă siringică, aldehidă coniferilică, sinapaldehidă, acid galic, acid elagic, acid vanilic, acid siringic și scopoletină
X. Determinarea conținutului de radiocarbon în etanol

Odată cu aprobarea acestui proiect laboratorul din cadrul IP CNSAPSA va trebui să implementeze 6 metode noi, metodele IV-X, care nu au fost folosite anterior în Republica Moldova, aceasta va spori capacitatea de monitorizare și analiză a băuturilor spirtoase și va facilita identificarea unor parametri noi, esențiali pentru detectarea fraudelor.

Prin aceste măsuri, agenții economici vor fi motivați să respecte cerințele de calitate și siguranță, crescând conștientizarea importanței conformității cu reglementările în vigoare.

3.2. Opțiunile alternative analizate și motivele pentru care acestea nu au fost luate în considerare

Opțiunea „a nu face nimic”

Opțiunea de a nu face nimic în contextul proiectului de hotărâre de Guvern cu privire la aprobarea Regulamentului de stabilire a metodelor de referință pentru analiza băuturilor spirtoase ar însemna menținerea status quo fără a introduce noi metode de evaluare și control. Absența extinderii spectrului de analize efectuate și incapacitatea de a determina limitele parametrilor restrictivi reglementați de documentele oficiale, vor crește în timp riscul de fraudă. Aceste deficiențe vor îngreuna monitorizarea calității și siguranței produselor spirtoase de către autoritățile competente. Prin urmare, este esențial să se prioritizeze modernizarea laboratorului din cadrul IP CNSAPSA și actualizarea metodelor de testare pentru a asigura un control eficient și de încredere al calității a băuturilor spirtoase.

4. Analiza impactului de reglementare

4.1. Impactul asupra sectorului public

Impactul asupra sectorului public nu a fost analizat deoarece regulamentul nu prevede schimbări structurale sau instituționale care să influențeze sistemul administrației publice.

4.2. Impactul financiar și argumentarea costurilor estimative

Stabilirea și implementarea metodelor de referință pentru analiza băuturilor spirtoase, conforme cu standardele Uniunii Europene, reprezintă un pas esențial în pregătirea Republicii Moldova pentru integrarea în Uniunea Europeană. Această inițiativă nu doar că va alinia reglementările naționale la cele europene, dar și va moderniza laboratorul din cadrul IP CNSAPSA, care este responsabil pentru investigarea probelor de băuturi spirtoase prelevate în timpul controalelor oficiale. Modernizarea laboratorului presupune achiziționarea echipamentelor avansate, precum cromatograf gazos și spectrometru cu scintilație lichidă cu mai multe canale. Utilizarea acestora impune amenajarea unor spații specializate care să garanteze securitatea radiologică, achiziționarea materialelor de referință și instruirea personalului.

Având în vedere metodele deja implementate, precum și cele care urmează să fie integrate, au fost calculate și prezentate în tabelul nr. 1 costurile pentru echipamentele de laborator necesare.

Pentru a asigura o implementare armonioasă a noilor metode, proiectul de hotărâre de Guvern prevede un termen de 36 de luni până la intrarea în vigoare.

Având în vedere că proiectul transpune Regulamentul Comisiei (CE) nr. 2870/2000, care stabilește metodele de analiză de referință ale Uniunii Europene, a fost înaintată propunerea de modificare a anexei B din Capitolul 11 al Programului Național de Aderare a Republicii Moldova la Uniunea Europeană pentru perioada 2025-2029 și completarea acesteia cu costurile estimative necesare pentru implementare.

Odată cu aprobarea regulamentului, vor fi înaintate propuneri pentru Cadrul Bugetar pe Termen Mediu, având în vedere planificarea bugetului pentru implementarea proiectului în perioada 2027-2028. În paralel, se vor căuta finanțatori care ar putea contribui la acoperirea unor cheltuieli.

Tabelul 1. Estimarea costurilor pentru echipamentele de laborator.

<table>
<tr><th rowspan="2">Nr.</th><th rowspan="2">Metoda ce urmează a fi implementată</th><th colspan="4">Costul materialelor adiacente, lei</th><th rowspan="2">Costul utilajului, lei</th></tr>
<tr><th>Materiale de referință</th><th>Reactivi și materiale</th><th>Ustensile și piese de schimb</th><th>Participare la programe de testare (odată la 3-4 ani)</th></tr>
<tr><td>1.</td><td>Determinarea conținutului de anetol în băuturi spirtoase;</td><td rowspan="2">20.000</td><td rowspan="2">10.000</td><td rowspan="2">20.000</td><td rowspan="2">20.000</td><td rowspan="4">2.000.000</td></tr>
<tr><td>2.</td><td>Determinarea conținutului de acid glicirizic în băuturi spirtoase;</td></tr>
<tr><td>3.</td><td>Determinarea conținutului de chalcone în băuturi spirtoase;</td><td>20.000</td><td>10.000</td><td>20.000</td><td>20.000</td></tr>
<tr><td>4.</td><td>Determinarea conținutului de glucoză, fructoză și</td><td>20.000</td><td>10.000</td><td>20.000</td><td>20.000</td></tr>
</table>

	zaharoză în băuturile spirtoase de origine vitivinicolă.					
5.	Determinarea conținutului de gălbenuș de ou în băuturi spirtoase	20.000	10.000	20.000	20.000	
6.	Metoda de determinare a compușilor din lemn (furfural, 5-hidroximetilfurfural, 5-metilfurfural, vanilină, aldehidă siringică, aldehidă coniferilică, sinapaldehidă, acid galic, acid elagic, acid vanilic, acid siringic și scopoletină)	20.000	10.000	20.000	20.000	
7.	Determinarea conţinutului de radiocarbon în etanol.	-	-	-	-	58.510.500
8.	**Total:**	60.860.500				

Pentru a asigura o gestionare eficientă a resurselor financiare, a fost elaborată fișa financiară, unde au fost detaliate cheltuielile anuale necesare pentru implementarea noului Regulament de către laboratorul din cadrul IP CNSAPSA. Aceasta va ajuta la planificarea și monitorizarea cheltuielilor bugetare.

FIŞĂ FINANCIARĂ

Nr. crt.	**Indicatori**	**Mii lei**			
		Anul curent: ____	**Următorii 3 ani, conform Cadrului bugetar pe termen mediu aprobat**		
			Anul: __2026	**Anul:** __2027	**Anul:** __2028
1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
1.	Modificări ale veniturilor bugetare (+/-), dintre care:				
1.1.	Bugetul de stat				
1.2.	Bugetul asigurărilor sociale de stat				
1.3.	Fondurile asigurării obligatorii de asistenţă medicală				
1.4.	Bugetele locale				
2.	Modificări ale cheltuielilor bugetare (+/-), dintre care:				
2.1.	Bugetul de stat, total, dintre care:				
2.1.1.	Cheltuieli de personal				
2.1.2.	Bunuri şi servicii			60.980,5	50

2.2.	Bugetul asigurărilor sociale de stat, total, dintre care:				
2.2.1.	Prestaţii finanţate din veniturile BASS				
2.2.2.	Prestaţii finanţate din transferurile de la bugetul de stat				
2.3.	Fondurile asigurării obligatorii de asistenţă medicală, total, dintre care:				
2.3.1.	Cheltuieli de personal				
2.3.2.	Bunuri şi servicii				
2.4.	Bugetele locale, total, dintre care:				
2.4.1.	Cheltuieli de personal				
2.4.2.	Bunuri şi servicii				
3.	Impact financiar (+/-), dintre care:				
3.1.	Bugetul de stat				
3.2.	Bugetul asigurărilor sociale de stat				
3.3.	Fondurile asigurării obligatorii de asistenţă medicală				
3.4.	Bugetele locale				
4.	Propuneri pentru acoperirea creşterii cheltuielilor bugetare sau, după caz, reducerea veniturilor				
4.1.	Redistribuiri de alocaţii				
4.2.	Asistenţă externă (cu menţionarea formei asistenţei)				
4.3.	Altele				
5.	Calcule detaliate privind fundamentarea modificărilor veniturilor şi/sau cheltuielilor bugetare				
5.1. 5.2. ...	Pentru achiziționarea și întreținerea utilajului de laborator, este necesar să luăm în considerare mai multe aspecte financiare și operaționale. În total, suma necesară pentru aceste activități se ridică la 61.030.500 de lei. Această sumă acoperă următoarele componente: - Procurarea utilajului - Participarea la programe de testare - Ustensile si piese de schimb - Reactivi și materiale - Materiale de referință - Instruire personal Pentru moderniza laboratorului din cadrul IP CNSAPSA este necesară achiziționarea următoarelor echipamente: <u>- cromatograf gazos</u> care poate fi procurat aproximativ cu o sumă de 2.000.000 lei iar costul materialelor necesare pentru întreținere este de aproximativ 350.000 lei, instruirea personalului 20.000 lei. 2.000.000cg lei + 20.000mr lei *5 + 10.000rm lei *5 + 20.000up lei *5 + 20 000pt lei *5 + 20.000ip lei *2 = 2.370.000 lei Unde: cg – cromatograf gazos mr – materiale de referință				

	5 – nr de metode rm – reactivi și materiale up – ustensile și piese de schimb pt – participarea la programe de testare ip – instruire personal 2 – numărul de persoane Se propune ca în prima jumătate a anului 2027 să fie achiziționat cromatograful gazos, împreună cu materialele necesare, și să fie asigurată instruirea a două persoane pentru utilizarea acestui echipament. Ca urmare a acestei modernizări, vor fi implementate metodele IV-IX din regulament. -spectrometru cu scintilație lichidă cu mai multe canale poate fi achiziționat la un preț aproximativ de 58.510.500 lei. Pentru implementarea cu succes a metodei, va fi necesar un spațiu special amenajat, precum și achiziționarea de materiale de referință și reactivi, care ar putea costa în jur de 40.000 lei. De asemenea, având în vedere lipsa de experiență de lucru cu spectrofotometru cu scintilație lichidă, este necesară obținerea asistenței tehnice din partea experților internaționali, costurile pentru aceasta fiind estimate între 20.000 și 60.000 lei. 58.510.500scl lei + 40.000rm lei + 40.000ip lei + 20 000pt lei = 58.610.500 lei Unde: scl - spectrometru cu scintilație lichidă cu mai multe canale rm – reactivi și materiale ip – instruire personal pt – participarea la programe de testare Se propune ca în a doua jumătate a anului 2027, să fie achiziționat spectrometru cu scintilație lichidă cu mai multe canale, alături de reactivii și materialele necesare. De asemenea, instruirea personalului și participarea la programe de testare. Costul total estimat pentru aceste achiziții este de aproximativ 58.610.500 lei. Ca rezultat al acestei modernizări va putea fi implementată metoda X din regulament. În anul 2028 va avea loc acreditarea noilor metode pentru a garanta că metodele utilizate sunt conforme cu cele mai înalte standarde de calitate și precizie. Acreditarea va asigura, de asemenea, că laboratorul îndeplinește cerințele de reglementare și că poate oferi rezultate de încredere și recunoscute la nivel internațional. Acest proces va implica evaluări riguroase și audituri externe, contribuind la consolidarea reputației laboratorului și la creșterea încrederii clienților și partenerilor. Evaluarea pentru acreditare va fi efectuată de către MOLDAC și va costa între 20.000 și 80.000 de lei.
6.	Alte informații relevante

4.3. Impactul asupra sectorului privat

Nu a fost identificat impact asupra sectorului privat întrucât regulamentul urmează să fie implementat de laboratorul care are responsabilitatea de a investiga probele de băuturi spirtoase prelevate în cadrul controalelor oficiale. Ca urmare regulamentul nu are o aplicare directă asupra agenților economici.

4.4. Impactul social

Implementarea proiectului va avea un impact social pozitiv asupra consumatorilor de băuturi spirtoase, având în vedere consumul intern de aproximativ 0,71 litri de alcool pur pe cap de locuitor și necesitatea asigurării calității si siguranței acestora.

Prin modernizarea și extinderea capacităților laboratorului din cadrul IP CNSAPSA, care efectuează investigațiile de laborator în cazul controalelor oficiale, se va asigura posibilitatea efectuării unei game mai largi de teste de laborator cu o precizie mai mare. Aceasta va facilita obținerea unui spectru mai larg de informații privind calitatea și siguranța băuturilor spirtoase testate în urma controalelor oficiale. Această modernizare este esențială pentru verificarea calității și siguranței băuturilor spirtoase, contribuind nu doar la menținerea încrederii consumatorilor, ci și la alinierea cu standardele UE.

4.5. Impactul asupra mediului

Nu a fost identificat impact asupra mediului

4.6. Alte impacturi și informații relevante

Alte impacturi majore nu au fost identificate.

Concluzie:

Implementarea normelor descrise în proiectul de hotărâre de Guvern este crucială pentru Republica Moldova în asigurarea calității și siguranței băuturilor spirtoase, un sector cu o tradiție îndelungată și o contribuție semnificativă la economia națională. Modernizarea capacităților de testare și alinierea la standardele internaționale vor consolida poziția Moldovei pe piața globală, protejând sănătatea consumatorilor și prevenind riscurile asociate cu produsele contrafăcute. Adoptarea unor metode standardizate de înaltă precizie, conforme cu reglementările europene, va permite laboratoarelor noastre să se alinieze cu cele din Europa, sporind astfel încrederea în produsele fabricate în Republica Moldova și facilitând integrarea pe piețele internaționale. Investițiile în modernizarea laboratorului responsabil de investigațiile de laborator în cazul controalelor oficiale și formarea personalului sunt esențiale pentru a depăși provocările actuale. Prin implementarea unor practici stricte de control al calității, se va întări încrederea consumatorilor și a partenerilor comerciali în produsele fabricate în Republica Moldova, asigurându-le un viitor prosper și sustenabil.

5. Compatibilitatea proiectului actului normativ cu legislația UE

Proiectul de hotărâre a Guvernului cu privire la aprobarea Regulamentului de stabilire a metodelor de referință pentru analiza băuturilor spirtoase transpune total Regulamentul (CE) nr. 2870/2000 al Comisiei din 19 decembrie 2000 de stabilire a metodelor comunitare de referință pentru analiza băuturilor spirtoase

Gradul de compatibilitate a actelor UE cu proiectul în cauză este reflectat în tabelul de concordanță elaborat în conformitate cu prevederile Regulamentului privind armonizarea legislației Republicii Moldova cu legislația UE aprobat prin Hotărârea de Guvern nr. 1171/2018.

5.1. Măsuri normative necesare pentru transpunerea actelor juridice ale UE în legislația națională

Necesitatea elaborării prezentului proiect de hotărâre a Guvernului este condiționată de procesul de armonizare a legislației Republicii Moldova la acquis-ul comunitar al Uniunii Europene, odată cu acordarea în data de 23 iunie 2022 a Statutului de țară candidat la aderarea la Uniunea Europeană de către Consiliul

European, prin care Republica Moldova și-a asumat angajamentul de a transpune legislația Uniunii Europene în legislația națională.

Un pas important în acest proces îl constituie transpunerea Regulamentului Comisiei (CE) nr. 2870/2000, care stabilește metodele de analiză de referință ale Uniunii Europene, planificat în Planul Național de Acțiuni pentru aderarea Republicii Moldova la Uniunea Europeană pentru anii 2025-2029, în capitolul 11.

Prevederile Regulamentului Comisiei (CE) nr. 2870/2000 au ca obiectiv principal stabilirea unor metode de analiză de referință standardizate la nivelul Uniunii Europene. Aceste metode sunt esențiale pentru asigurarea uniformității și preciziei analizelor efectuate în domeniul testării băuturilor spirtoase, contribuind astfel la creșterea încrederii în produsele și serviciile oferite de statele membre. Implementarea acestor metode va facilita, de asemenea, cooperarea și schimburile comerciale între Republica Moldova și statele membre ale Uniunii Europene, asigurând conformitatea cu standardele europene și sporind competitivitatea produselor fabricate în Republica Moldova pe piața internațională.

5.2. Măsuri normative care urmăresc crearea cadrului juridic intern necesar pentru implementarea legislației UE

Urmare a aprobării proiectului de hotărâre a Guvernului, pentru implementarea cerințelor din Regulament va fi necesară modernizarea laboratorului din cadrul Instituției Publice Centrul Național Sănătatea Animalelor, Plantelor și Siguranța Alimentelor care realizează investigațiile de laborator ale probelor de băuturi spirtoase prelevate în cadrul controalelor oficiale.

6. Avizarea și consultarea publică a proiectului actului normativ

În scopul respectării prevederilor privind transparența în procesul decizional, anunțul privind inițierea elaborării proiectului de hotărâre de Guvern privind aprobarea Regulamentului de stabilire a metodelor de referință pentru analiza băuturilor spirtoase pot fi accesate pe pagina web oficială a Ministerului Agriculturii și Industriei Alimentare (www.maia.gov.md) în compartimentul „Transparență decizională” la rubrica „Proiecte de documente” și pe portalul guvernamental www.particip.gov.md pe următorul link …

https://particip.gov.md/ro/document/stages/anunt-privind-initierea-procesului-de-elaborare-a-proiectului-de-hotarare-cu-privire-la-aprobarea-regulamentului-de-stabilire-a-metodelor-de-referinta-pentru-analiza-bauturilor-spirtoase/14116

Aceste resurse sunt puse la dispoziția publicului pentru a încuraja participarea activă și informarea cetățenilor în procesul de elaborare a politicilor.

7. Concluziile expertizelor

Proiectul va fi supus expertizei anticorupție de către Centrul Național Anticorupție.

În scopul respectării art. 34 și 37 din Legea nr. 100/2017 cu privire la actele normative, proiectul de hotărâre va fi supus expertizei juridice.

8. Modul de încorporare a actului în cadrul normativ existent

Se va aproba Regulamentul de stabilire a metodelor de referință pentru analiza băuturilor spirtoase.

9. Măsurile necesare pentru implementarea prevederilor proiectului actului no rmativ
Urmare a aprobării proiectului de hotărâre a Guvernului, pentru implementarea cerințelor din Regulament va fi necesară modernizarea laboratorului din cadrul Instituției Publice Centrul Național Sănătatea Animalelor, Plantelor și Siguranța Alimentelor care realizează investigațiile de laborator ale probelor de băuturi spirtoase prelevate în cadrul controalelor oficiale.

Secretar de stat **Andrian DIGOLEAN**

Ex: Doina Danilov
Tel: 022204533

Tabel de concordanță

1	**Titlul actului UE, inclusiv cea mai recentă modificare, nr.CELEX**
	Regulamentul (CE) nr. 2870/2000 al Comisiei din 19 decembrie 2000 de stabilire a metodelor comunitare de referință pentru analiza băuturilor spirtoase (CELEX: 02000R2870-20230313), publicat în Jurnalul Oficial al Uniunii Europene L 333 din 29 decembrie 2000 așa cum a fost modificat ultima oară prin Regulamentul de punere în aplicare (UE) 2023/383 al Comisiei din 16 februarie 2023
2	**Titlul proiectului de act normativ național**
	Proiectul hotărârii de Guvern cu privire la aprobarea Regulamentului de stabilire a metodelor de referință pentru analiza băuturilor spirtoase
3	**Gradul general de compatibilitate**
	Compatibil - prevederile proiectului actului normativ naţional transpun în totalitate prevederile actului Uniunii Europene şi sunt conforme cu scopul şi principiile actului Uniunii Europene
4	**Autoritatea/persoana responsabilă**
	Persoana responsabilă – Doina Danilov, consultantă principală, Ministerul Agriculturii și Industriei Alimentare
5	**Data întocmirii/actualizării**
	13.03.2025

Actul Uniunii Europene	Proiectul de act normativ național	Gradul de compatibilitate	Observațiile
6	**7**	**8**	**9**
Articolul 1 Metodele de referință comunitare pentru analiza băuturilor spirtoase prin care să se asigure conformitatea cu Regulamentul (CEE) nr. 1576/89 și Regulamentul (CEE) 1014/90: — în cazul unui control oficial sau — în eventualitatea unui diferend, sunt cele menționate în anexa la prezentul regulament.	**1.** Metodele de referință pentru analiza băuturilor spirtoase și a alcoolului etilic de origine agricolă, menționate în anexa la prezentul regulament, asigură conformitatea cu Regulamentul privind definirea, descrierea, prezentarea și etichetarea băuturilor ce conțin alcool, aprobat prin Hotărârea Guvernului nr. 589/2023: 1.1. în cazul unui control oficial 1.2. în eventualitatea unui diferend.	**Compatibil**	
Articolul 1a (1) Prezentul regulament se aplică alcoolului etilic de origine agricolă, astfel cum este definit la articolul 5 din Regulamentul (UE) 2019/787 al Parlamentului European și al Consiliului ([1]). (2) Metodele de analiză de referință ale Uniunii pentru alcoolul etilic de origine agricolă sunt cele prevăzute în anexa la prezentul regulament.	**3.** Prezentul Regulament se aplică alcoolului etilic de origine agricolă, astfel cum este definit la art. 1 din Legea nr. 1100/2000 cu privire la fabricarea și circulația alcoolului etilic și a producției alcoolice și în anexa nr. 2 din Regulamentul privind definirea, descrierea, prezentarea şi etichetarea băuturilor ce conțin alcool aprobat prin Hotărârea Guvernului nr. 589/2023.	**Compatibil**	

(3) În sensul prezentului regulament, alcoolul etilic de origine agricolă este considerat un distilat a cărui tărie alcoolică în volume trebuie să se măsoare direct, în conformitate cu apendicele II la capitolul I din anexă. Totuși, dacă proba de alcool nu este limpede sau dacă sunt vizibile particule suspendate, proba se distilează. (4) În cazul determinării substanțelor volatile, este necesară calibrarea cu soluția standard C preparată în etanol absolut, pentru a se obține o matrice de corespondență corespunzătoare între probe și soluțiile standard detaliate în capitolul III.2 din anexă. (5) În scopul determinării furfuralului, potrivit detaliilor din capitolul X al anexei, alcoolul etilic de origine agricolă se diluează în două prin adăugarea de apă astfel încât să fie dublat volumul său inițial și să se ajungă la o tărie alcoolică în volume compatibilă cu soluțiile de calibrare. Rezultatele analizei furfuralului se convertesc în grame per hectolitru cu 100 % alcool în volume, în conformitate cu ecuația: „Concentrația de furfural în grame per hectolitru de alcool 100 % vol. = Concentrația de furfural în mg/l × 10/tăria alcoolică în volume (% vol.)”, unde tăria alcoolică în volume (% vol.) este tăria alcoolică a probei măsurate, astfel cum a fost determinată în capitolul I din anexă. (6) În ceea ce privește determinarea conținutului de radiocarbon din etanol, se utilizează metoda prevăzută în capitolul XI din anexă.	**4.** În sensul prezentului regulament, alcoolul etilic de origine agricolă este considerat un distilat a cărui tărie alcoolică în volume trebuie să se măsoare direct, în conformitate cu apendicele II la capitolul I din anexă. Totuși, dacă proba de alcool nu este limpede sau dacă sunt vizibile particule suspendate, proba se distilează. **5.** În cazul determinării substanțelor volatile, în alcoolul etilic de origine agricolă, este necesară calibrarea cu soluția standard C preparată în etanol absolut, pentru a se obține o matrice de corespondență corespunzătoare între probe și soluțiile standard detaliate în capitolul III.2 din anexă. **6.** În scopul determinării furfuralului, în alcoolul etilic de origine agricolă, potrivit detaliilor din capitolul X al anexei, alcoolul etilic de origine agricolă se diluează în două prin adăugarea de apă astfel încât să fie dublat volumul său inițial și să se ajungă la o tărie alcoolică în volume compatibilă cu soluțiile de calibrare. Rezultatele analizei furfuralului se convertesc în grame per hectolitru cu 100 % alcool în volume, în conformitate cu ecuația: „Concentrația de furfural în grame per hectolitru de alcool 100 % vol. = Concentrația de furfural în mg/l × 10/tăria alcoolică în volume (% vol.)”, unde tăria alcoolică în volume (% vol.) este tăria alcoolică a probei măsurate, astfel cum a fost determinată în capitolul I din anexă. **7.** În ceea ce privește determinarea conținutului de radiocarbon din etanol, în alcoolul etilic de origine agricolă se utilizează metoda prevăzută în capitolul XI din anexă.		
Articolul 2 Fără a aduce atingere articolului 1 prima liniuță, alte metode analitice sunt admise sub responsabilitatea directorului de laborator, cu condiția ca exactitatea și precizia (repetabilitatea și reproductibilitatea) metodelor să	8. Fără a aduce atingere pct.1 subpct. 1.1., alte metode analitice sunt admise sub responsabilitatea directorului de laborator, cu condiția ca exactitatea și precizia (repetabilitatea și reproductibilitatea) metodelor să fie cel	**Compatibil**	

fie cel puțin echivalente cu cele ale metodelor analitice de referință prevăzute de anexă.	puțin echivalente cu cele ale metodelor analitice de referință prevăzute de anexă.		
Articolul 3 Atunci când nu sunt stabilite metode de referință comunitare analitice pentru detectarea și cuantificarea substanțelor conținute într-o anumită băutură spirtoasă, se utilizează următoarele metode: (a) metode analitice validate pentru proceduri recunoscute la nivel internațional și care îndeplinesc, în special, criteriile stabilite în anexa la Directiva 85/591/CEE; (b) metode analitice conforme cu standardele recomandate ale Organizației Internaționale pentru Standardizare (ISO); (c) metode analitice recunoscute de Adunarea Generală a Oficiului Internațional al Viei și Vinului (OIV) și publicate de oficiul respectiv; (d) în absența unei metode menționate la literele (a), (b) și (c), din motive de exactitate, repetabilitate și reproductibilitate: — o metodă analitică aprobată de statul membru în cauză; — acolo unde este cazul, orice altă metodă analitică adecvată.	**9.** Atunci când nu sunt stabilite metode de referință comunitare analitice pentru detectarea și cuantificarea substanțelor conținute într-o anumită băutură spirtoasă, se utilizează următoarele metode: 9.1. metode analitice validate pentru proceduri recunoscute la nivel internațional și care îndeplinesc, în special, criteriile stabilite în anexa nr.2 din Legea nr.82/2024 privind controalele oficiale în domeniul agroalimentar; 9.2. metode analitice conforme cu standardele recomandate ale Organizației Internaționale pentru Standardizare (ISO); 9.3. metode analitice recunoscute de Adunarea Generală a Oficiului Internațional al Viei și Vinului (OIV) și publicate de oficiul respectiv; 9.4. în absența unei metode menționate la literele (a), (b) și (c), din motive de exactitate, repetabilitate și reproductibilitate: 9.4.1 o metodă analitică aprobată de statul membru în cauză; 9.4.2. acolo unde este cazul, orice altă metodă analitică adecvată.	**Compatibil**	

Articolul 4 În sensul prezentului regulament: (a) „limită de repetabilitate” reprezintă valoarea mai mică sau egală pentru care se estimează o diferență absolută între două rezultate ale testării, obținute în condiții de repetabilitate (același operator, aceeași aparatură, același laborator și un interval scurt de timp), cu o probabilitate de 95 % (ISO 3534-1); (b) „limită de reproductibilitate” reprezintă valoarea mai mică sau egală pentru care se estimează o diferență absolută între două rezultate ale testării, obținute în condiții de reproductibilitate (operatori diferiți, aparatură diferită, laborator diferit), cu o probabilitate de 95 % (ISO 3534-1); (c) „precizie” reprezintă gradul de concordanță dintre rezultatul unui test și valoarea de referință acceptată (ISO 3534-1).	**2.** În sensul prezentului Regulament următoarele noțiuni semnifică: 2.1. limită de repetabilitate - valoarea mai mică sau egală pentru care se estimează o diferență absolută între două rezultate ale testării, obținute în condiții de repetabilitate (același operator, aceeași aparatură, același laborator și un interval scurt de timp), cu o probabilitate de 95 % (ISO 3534-1); 2.2. limită de reproductibilitate - valoarea mai mică sau egală pentru care se estimează o diferență absolută între două rezultate ale testării, obținute în condiții de reproductibilitate (operatori diferiți, aparatură diferită, laborator diferit), cu o probabilitate de 95 % (ISO 3534-1); 2.3. precizie - gradul de concordanță dintre rezultatul unui test și valoarea de referință acceptată (ISO 3534-1).	**Compatibil**	
Articolul 5 Prezentul regulament intră în vigoare în a șaptea zi de la data publicării în *Jurnalul Oficial al Comunităților Europene*. Prezentul regulament se aplică de la 1 ianuarie 2001. Prezentul regulament este obligatoriu în toate elementele sale și este direct aplicabil în toate statele membre.		**Norme UE neaplicabile**	
ANEXĂ **DESCRIEREA METODELOR DE REFERINȚĂ ANALITICE** I. Determinarea tăriei alcoolice în volume Apendicele I : Pregătirea distilatului Apendicele II : Măsurarea densității distilatului — Metoda A = picnometrie —Metoda B = densimetrie electronică —Metoda C = densimetrie utilizând balanța hidrostatică II.Determinarea extractului sec total prin gravimetrie	**INSTRUCȚIUNE** **privind metodele analitice de referință** I. Determinarea tăriei alcoolice în volume Apendicele I : Pregătirea distilatului Apendicele II : Măsurarea densității distilatului — Metoda A = picnometrie — Metoda B = densimetrie electronică — Metoda C = densimetrie utilizând balanța hidrostatică	**Compatibil**	

III.Determinarea substanțelor volatile și a metanolului III.1.Observații generale III.2.Congeneri volatili: aldehide, alcooluri superioare, acetat de etil și metanol (cromatografie gazoasă) III.3.Aciditate volatilă IV.Acid hidrocianic (p.m.) V.Anetol VI.Acid glicirizic VII.Calcone VIII.Glucide totale IX.Gălbenuș de ou X.Determinarea compușilor din lemn: furfural, 5-hidroximetilfurfural, 5-metilfurfural, vanilină, aldehidă siringică, aldehidă coniferilică, sinapaldehidă, acid galic, acid elagic, acid vanilic, acid siringic și scopoletină XI. Determinarea conținutului de radiocarbon în etanol	II. Determinarea extractului sec total prin gravimetrie III. Determinarea substanțelor volatile și a metanolului III.1. Observații generale III.2. Congeneri volatili: aldehide, alcooluri superioare, acetat de etil și metanol (cromatografie gazoasă) III.3. Aciditate volatilă IV. Anetol V. Acid glicirizic VI. Calcone VII. Zaharuri totale VIII. Gălbenuș de ou IX. Determinarea compușilor din lemn: furfural, 5-hidroximetilfurfural, 5-metilfurfural, vanilină, aldehidă siringică, aldehidă coniferilică, sinapaldehidă, acid galic, acid elagic, acid vanilic, acid siringic și scopoletină X. Determinarea conținutului de radiocarbon în etanol		
I. DETERMINAREA TĂRIEI ALCOOLICE ÎN VOLUME LA BĂUTURILE SPIRTOASE ***Introducere*** Metoda de referință include două apendice: Apendicele I : Pregătirea distilatului Apendicele II : Măsurarea densității distilatului 1. **Domeniu** Metoda este adecvată pentru determinarea tăriei alcoolice reale în volume la băuturile spirtoase. 2. **Referințe normative** ISO 3696:1987:Apă pentru uzul laboratoarelor de analiză – specificații și metode de testare 3. **Termeni și definiții** 3.1. Temperatura de referință: Temperatura de referință pentru determinarea tăriei alcoolice în volume, a densității și a densității specifice la băuturile spirtoase este de 20 °C. Nota 1: termenul „la t °C” este rezervat pentru toate determinările (a densității sau tăriei alcoolice în volume) exprimate la o temperatură diferită de temperatura de referință de 20 °C.	**Introducere** Metoda de referință include două apendice: Apendicele I : Pregătirea distilatului Apendicele II : Măsurarea densității distilatului **1. Domeniu de aplicare** Metoda se utilizează pentru determinarea tăriei alcoolice reale în volume la băuturile spirtoase. **2. Referințe normative** ISO 3696 - Apă utilizată pentru laboratoare analitice. Specificații și metode de analiză. **3. Termeni și definiții** 3.1. Temperatura de referință – temperatura standard de 20 °C la care are loc determinarea tăriei alcoolice în volume, a densității și a densității specifice la băuturile spirtoase. Nota 1: termenul „la t °C” este rezervat pentru toate determinările (a densității sau tăriei alcoolice în volume) exprimate la o temperatură diferită de temperatura de referință de 20 °C. 3.2. Densitate - reprezintă masa per unitate de volum in	**Compatibil**	

3.2. Densitate: Densitatea reprezintă masa per unitate de volum in vacuo la băuturile spirtoase la 20 °C. Se exprimă în kg per metri cubi, iar simbolul său este ρ20 °C sau ρ20. 3.3. Densitatea specifică: Densitatea specifică reprezintă raportul, exprimat ca număr zecimal, dintre densitatea unei băuturi spirtoase la 20 °C și densitatea apei la aceeași temperatură. Are simbolul d20 °C/20 °C sau d20/20, sau numai d, atunci când nu există posibilitatea de a se crea confuzie. Caracteristica măsurată trebuie specificată pe certificatul de testare, fiind utilizate numai simbolurile definite mai sus. Nota 2: Densitatea specifică poate fi obținută pe baza densității ρ20 la 20 °C. $\rho_{20} = 998{,}203 \times d_{20/20}$ sau $d_{20/20} = \rho_{20}/998{,}203$ unde 998,203 reprezintă densitatea apei la 20 °C. 3.4. Tăria alcoolică reală în volume: Tăria alcoolică reală în volume la băuturile spirtoase este egală cu numărul de litri de alcool etilic conținuți în 100 litri de amestec apă-alcool cu aceeași densitate ca și alcoolul sau băutura spirtoasă după distilare. Valorile de referință pentru tăria alcoolică în volume (% vol) la 20 °C în raport cu densitatea la 20 °C pentru diferite amestecuri apă-alcool care sunt utilizare sunt cele din tabelul internațional adoptat de Organizația Internațională de Metrologie Legală în Recomandarea nr. 22. Ecuația generală care stabilește legătura între tăria alcoolică în volume și densitatea unui amestec apă-alcool la o anumită temperatură este dată la pagina 40 din capitolul 3 „Tăria alcoolică în volume” din anexa la Regulamentul (CEE) nr. 2676/90 al Comisiei (JO L 272, 3.10.1990, p. 1) sau în manualul metodelor de analiză al OIV (1994) (p. 17). Nota 3: pentru lichioruri și „lichioruri-cremă” al Comisiei	vacuum la băuturile spirtoase la 20 °C. Se exprimă în kg per metri cubi, iar simbolul său este ρ20 °C sau ρ20. 3.3. Densitatea specifică - reprezintă raportul, exprimat ca număr zecimal, dintre densitatea unei băuturi spirtoase la 20 °C și densitatea apei la aceeași temperatură. Are simbolul d20 °C/20 °C sau d20/20, sau numai d, atunci când nu există posibilitatea de a se crea confuzie. Caracteristica măsurată trebuie specificată pe certificatul de testare, fiind utilizate numai simbolurile definite mai sus. Nota 2: Densitatea specifică poate fi obținută pe baza densității ρ20 la 20 °C. $\varrho_{20} = 998{,}203 \text{ X } d_{20/20}$ sau $d_{20/20} = \varrho_{20}/998{,}203$ unde 998,203 reprezintă densitatea apei la 20 °C. 3.4. Tăria alcoolică reală în volume: Tăria alcoolică reală în volume la băuturile spirtoase este egală cu numărul de litri de alcool etilic conținuți în 100 litri de amestec apă-alcool cu aceeași densitate ca și alcoolul sau băutura spirtoasă după distilare. Valorile de referință pentru tăria alcoolică în volume (% vol) la 20 °C în raport cu densitatea la 20 °C pentru diferite amestecuri apă-alcool care sunt utilizare sunt cele din tabelul internațional adoptat de Organizația Internațională de Metrologie Legală în Recomandarea nr. 22. Ecuația generală care stabilește legătura între tăria alcoolică în volume și densitatea unui amestec apă-alcool la o anumită temperatură este dată în manualul metodelor de analiză al OIV. Nota 3: pentru lichioruri și „lichioruri-cremă” al Comisiei		

căror volum exact este foarte greu de măsurat, trebuie cântărită proba iar tăria alcoolică se calculează întâi pe baza masei. Formula de conversie: $\text{tărie alcoolică în volume} = \frac{\text{TAM (\% masă)} \times P_{20}\text{ (probă)}}{P_{20}\text{ (alcool)}}$ Unde: TAM = tărie alcoolică în masă, ρ_{20} (alcool) = 789,24 kg/m^3 **4. Principiu** În urma distilării, tăria alcoolică în volume a distilatului se determină prin picnometrie, densimetrie electronică sau densimetrie, cu utilizarea unei balanțe hidrostatice.	căror volum exact este foarte greu de măsurat, trebuie cântărită proba iar tăria alcoolică se calculează întâi pe baza masei. Formula de conversie: $\text{tărie alcoolică în volume} = \frac{TAM(\%\text{masă})X\ P_{20}(\text{probă})}{P_{20}(alcool)}$ unde TAM = tărie alcoolică în masă, ρ_{20} (alcool) = 789,24 kg/m^3 **4. Principiu** În urma distilării, tăria alcoolică în volume a distilatului se determină prin picnometrie, densimetrie electronică sau densimetrie, cu utilizarea unei balanțe hidrostatice.		
APENDICELE I: PREGĂTIREA DISTILATULUI **1. Domeniu** Metoda este adecvată pentru pregătirea distilatelor utilizate la determinarea tăriei alcoolice în volume la băuturile spirtoase. **2. Principiu** Băuturile spirtoase sunt distilate pentru a separa alcoolul etilic de alte componente volatile de materia extractivă (substanțe care nu se distilează). **3. Reactivi și materiale** 3.1. Granule împotriva împroșcării. 3.2. Emulsie antispumantă concentrată (pentru lichiorurile-cremă). **4. Aparatură și echipamente** Aparatura de laborator obișnuită și, în special, următoarele: 4.1. Baie de apă care poate fi menținută între 10 °C și 15 °C. Baie de apă care poate fi menținută la 20 °C (± 0,2 °C). 4.2. Baloane volumetrice clasa A, 100 ml și 200 ml, care au fost certificate la 0,1 % și respectiv 0,15 %. 4.3. Aparat de distilare: 4.3.1. Cerințe generale	APENDICELE I: PREGĂTIREA DISTILATULUI **1. Domeniu** Metoda este adecvată pentru pregătirea distilatelor utilizate la determinarea tăriei alcoolice în volume la băuturile spirtoase. **2. Principiu** Băuturile spirtoase sunt distilate pentru a separa alcoolul etilic de alte componente volatile de materia extractivă (substanțe care nu se distilează). **3. Reactivi și materiale** 3.1. Granule împotriva împroșcării. 3.2. Emulsie antispumantă concentrată (pentru lichiorurile-cremă). **4. Aparatură și echipamente** Aparatura de laborator obișnuită și, în special, următoarele: 4.1. Baie de apă care poate fi menținută între 10 °C și 15 °C. Baie de apă care poate fi menținută la 20 °C (± 0,2 °C). 4.2. Baloane volumetrice clasa A, 100 ml și 200 ml, care au fost certificate la 0,1 % și respectiv 0,15 %. 4.3. Aparat de distilare: 4.3.1. Cerințe generale	**Compatibil**	

Aparatul de distilare trebuie să îndeplinească următoarele cerințe: — numărul de îmbinări nu trebuie să depășească strictul minim necesar pentru a asigura un sistem etanș; —să includă un dispozitiv care să prevină amorsa (antrenarea lichidului în fierbere de vapor) și să normalizeze ritmul de distilare a vaporilor bogați în alcool; —condensare rapidă și completă a vaporilor de alcool; —colectarea primelor fracții de distilare într-un mediu apos. Sursa de căldură trebuie utilizată cu un difuzor de căldură adecvat pentru a preveni orice reacție pirogenă care să implice materia extractivă. 4.3.2. Figura 1 exemplifică un aparat de distilare adecvat care include următoarele părți: — balon cu fund rotund, de 1 litru, cu o îmbinare din sticlă mată; —coloană de rectificare cu înălțimea minimă de 20 cm (de exemplu o coloană tip „Vigreux”); —conector cu cot cu un condensator cu margine dreaptă cu lungimea de 10 cm (condensator tip West) fixat vertical; —spirală de răcire cu lungimea de 40 cm; —tub de extragere, care transportă distilatul pe fundul unui balon gradat de colectare care conține o cantitate mică de apă. Notă: aparatul descris mai sus este adecvat în cazul unei probe de minim 200 ml. Cu toate acestea, se poate distila o probă mai mică (100 ml) cu ajutorul unui balon de distilare mai mic, cu condiția să fie dotat cu un cap barbotor sau un alt instrument pentru a preveni antrenarea. 5. Depozitarea probelor de testare Înainte de analiză, probele sunt depozitate la temperatura camerei. 6. Mod de lucru Observații preliminare: Distilarea poate fi făcută pe baza procedurii publicată de	Aparatul de distilare trebuie să îndeplinească următoarele cerințe: — numărul de îmbinări nu trebuie să depășească strictul minim necesar pentru a asigura un sistem etanș; — să includă un dispozitiv care să prevină amorsa (antrenarea lichidului în fierbere de vapor) și să normalizeze ritmul de distilare a vaporilor bogați în alcool; — condensare rapidă și completă a vaporilor de alcool; — colectarea primelor fracții de distilare într-un mediu apos. Sursa de căldură trebuie utilizată cu un difuzor de căldură adecvat pentru a preveni orice reacție pirogenă care să implice materia extractivă. 4.3.2. Figura 1 exemplifică un aparat de distilare adecvat care include următoarele părți: — balon cu fund rotund, de 1 litru, cu o îmbinare din sticlă mată; — coloană de rectificare cu înălțimea minimă de 20 cm (de exemplu o coloană tip „Vigreux”); — conector cu cot cu un condensator cu margine dreaptă cu lungimea de 10 cm (condensator tip West) fixat vertical; — spirală de răcire cu lungimea de 40 cm; — tub de extragere, care transportă distilatul pe fundul unui balon gradat de colectare care conține o cantitate mică de apă. Notă: aparatul descris mai sus este adecvat în cazul unei probe de minim 200 ml. Cu toate acestea, se poate distila o probă mai mică (100 ml) cu ajutorul unui balon de distilare mai mic, cu condiția să fie dotat cu un cap barbotor sau un alt instrument pentru a preveni antrenarea. **5. Depozitarea probelor de testare** Înainte de analiză, probele sunt depozitate la temperatura camerei. **6. Mod de lucru** Observații preliminare: Distilarea poate fi făcută pe baza procedurii publicată de		

IUPAC (1968). 6.1. Verificarea aparatului de distilare. Aparatura utilizată trebui să poată permite următoarele: Distilarea a 200 ml soluție apă-alcool cu o concentrație cunoscută aproape de 50 % vol nu trebuie să cauzeze o pierdere de alcool mai mare de 0,1 % vol. 6.2. Băuturile spirtoase cu o tărie alcoolică sub 50 % vol. Se măsoară 200 ml băutură spirtoasă într-un balon volumetric. Se notează temperatura acestui lichid sau se menține o temperatură standard (20 °C). Se toarnă proba în balonul cu fund rotund din aparatura de distilare și se limpezește balonul volumetric cu trei porțiuni, fiecare de aproximativ 20 ml apă distilată. Se adaugă fiecare porțiune de apă de limpezire la conținutul balonului de distilare. Notă: Această diluție de 60 ml este suficientă pentru băuturile spirtoase care conțin mai puțin de 250 g extract sec la litru. În rest, pentru a preveni piroliza, volumul de apă de limpezire trebuie să fie de cel puțin 70 ml când concentrație extrasului sec este de 300 g/l, 85 ml pentru 400 g/l extract sec și 100 ml pentru 500 g/l extract sec (anumite lichioruri sau creme de fructe). Se ajustează aceste volume proporțional cu diferitele volume ale probelor. Se adaugă câteva granule antiîmproșcare (3.1) (și emulsie antispumantă în cazul lichiorurilor -cremă). Se toarnă 20 ml apă distilată în balonul volumetric original de 200 ml care va fi utilizat pentru a păstra distilatul. Acest balon trebuie apoi plasat într-o baie de apă rece (4.1) (între 10 și 15 °C pentru băuturile spirtoase cu aromă de anason). Se distilează, evitându-se antrenarea și carbonizarea, agitând uneori conținutul balonului, până când nivelul distilatului este cu câțiva milimetri sub marcajul de calibrare a balonului volumetric. Atunci când temperatura distilatului a fost coborâtă la ± 0,5 °C față de temperatura inițială a lichidului, se completează cu apă distilată până la marcaj și se amestecă bine.	IUPAC (1968). 6.1.Verificarea aparatului de distilare. Aparatura utilizată trebuie să poată permite următoarele: Distilarea a 200 ml soluție apă-alcool cu o concentrație cunoscută aproape de 50 % vol nu trebuie să cauzeze o pierdere de alcool mai mare de 0,1 % vol. 6.2. Băuturile spirtoase cu o tărie alcoolică sub 50 % vol. Se măsoară 200 ml băutură spirtoasă într-un balon volumetric. Se notează temperatura acestui lichid sau se menține o temperatură standard (20 °C). Se toarnă proba în balonul cu fund rotund din aparatura de distilare și se limpezește balonul volumetric cu trei porțiuni, fiecare de aproximativ 20 ml apă distilată. Se adaugă fiecare porțiune de apă de limpezire la conținutul balonului de distilare. Notă: Această diluție de 60 ml este suficientă pentru băuturile spirtoase care conțin mai puțin de 250 g extract sec la litru. În rest, pentru a preveni piroliza, volumul de apă de limpezire trebuie să fie de cel puțin 70 ml când concentrație extrasului sec este de 300 g/l, 85 ml pentru 400 g/l extract sec și 100 ml pentru 500 g/l extract sec (anumite lichioruri sau creme de fructe). Se ajustează aceste volume proporțional cu diferitele volume ale probelor. Se adaugă câteva granule anti împroșcare (3.1) (și emulsie antispumantă în cazul lichiorurilor -cremă). Se toarnă 20 ml apă distilată în balonul volumetric original de 200 ml care va fi utilizat pentru a păstra distilatul. Acest balon trebuie apoi plasat într-o baie de apă rece (4.1) (între 10 și 15 °C pentru băuturile spirtoase cu aromă de anason). Se distilează, evitându-se antrenarea și carbonizarea, agitând uneori conținutul balonului, până când nivelul distilatului este cu câțiva milimetri sub marcajul de calibrare a balonului volumetric. Atunci când temperatura distilatului a fost coborâtă la ± 0,5 °C față de temperatura inițială a lichidului, se completează cu apă distilată până la marcaj și se amestecă bine.		

Distilatul este folosit pentru a determina tăria alcoolică în volume (apendicele II). 6.3. Băuturi spirtoase cu tărie alcoolică peste 50 % vol. Se măsoară 100 ml băutură spirtoasă într-un balon volumetric de 100 ml și se toarnă în balonul cu fund rotund din aparatura de distilare. Se limpezește balonul volumetric de câteva ori cu apă distilată și se adaugă apa respectivă la conținutul balonului de distilare cu fund rotund. Se utilizează suficientă apă pentru a aduce conținutul balonului până la aproximativ 230 ml. Se toarnă 20 ml apă distilată într-un balon volumetric de 200 ml care va fi utilizat pentru a păstra distilatul. Acest balon trebuie plasat într-o baie de apă rece (4.1) (între 10 și 15 °C pentru băuturile spirtoase cu aromă de anason). Se distilează, agitându-se uneori conținutul balonului, până când nivelul distilatului este cu câțiva milimetri sub marcajul de calibrare a balonului volumetric de 200 ml. Atunci când temperatura distilatului a fost coborâtă la ± 0,5 °C față de temperatura inițială a lichidului, se completează cu apă distilată până la marcaj și se amestecă bine. Distilatul este folosit pentru a determina tăria alcoolică în volume (apendicele II). Notă: tăria alcoolică în volume a băuturii spirtoase este dublul tăriei alcoolice a distilatului.	Distilatul este folosit pentru a determina tăria alcoolică în volume (apendicele II). 6.3. Băuturi spirtoase cu tărie alcoolică peste 50 % vol. Se măsoară 100 ml băutură spirtoasă într-un balon volumetric de 100 ml și se toarnă în balonul cu fund rotund din aparatura de distilare. Se limpezește balonul volumetric de câteva ori cu apă distilată și se adaugă apa respectivă la conținutul balonului de distilare cu fund rotund. Se utilizează suficientă apă pentru a aduce conținutul balonului până la aproximativ 230 ml. Se toarnă 20 ml apă distilată într-un balon volumetric de 200 ml care va fi utilizat pentru a păstra distilatul. Acest balon trebuie plasat într-o baie de apă rece (4.1) (între 10 și 15 °C pentru băuturile spirtoase cu aromă de anason). Se distilează, agitându-se uneori conținutul balonului, până când nivelul distilatului este cu câțiva milimetri sub marcajul de calibrare a balonului volumetric de 200 ml. Atunci când temperatura distilatului a fost coborâtă la ± 0,5 °C față de temperatura inițială a lichidului, se completează cu apă distilată până la marcaj și se amestecă bine. Distilatul este folosit pentru a determina tăria alcoolică în volume (apendicele II). Notă: tăria alcoolică în volume a băuturii spirtoase este dublul tăriei alcoolice a distilatului.		
APENDICELE II: MĂSURAREA DENSITĂȚII DISTILATULUI **METODA A: DETERMINAREA TĂRIEI ALCOOLICE REALE ÎN VOLUME LA BĂUTURILOR SPIRTOASE – MĂSURAREA PRIN PICNOMETRIE** **A.1. Principiu** Tăria alcoolică în volume este obținută din densitatea distilatului măsurată prin picnometrie. **A.2. Reactivi și materiale** Pe durata analizei, dacă nu se specifică altfel, se utilizează numai reactivi cu grad analitic recunoscut și apă de cel	**APENDICELE II: MĂSURAREA DENSITĂȚII DISTILATULUI** **Metoda A: Determinarea tăriei alcoolice reale în volume la băuturi spirtoase – măsurarea prin picnometrie** **A.1. Principiu** Tăria alcoolică în volume este obținută din densitatea distilatului măsurată prin picnometrie. **A.2. Reactivi și materiale** Pe durata analizei, dacă nu se specifică altfel, se utilizează numai reactivi cu grad analitic recunoscut și apă de cel	**Compatibil**	

puțin gradul 3 conform definiției ISO 3696:1987. A.2.1. Soluție de clorură de sodiu (2 % m/v) Pentru a pregăti 1 litru, se cântăresc 20 g clorură de sodiu și se dizolvă până la un litru folosind apă. **A.3. Aparatură și echipamente** Aparatura de laborator obișnuită și, în special, următoarele: A.3.1.Balanță analitică permițând cântărirea a 0.1 mg. A.3.2.Termometru, cu îmbinare cu sticlă rodată, etalonat în zecimi de grad de la 10 la 30 °C. Acest termometru trebuie certificat sau testat pe baza unui termometru certificat. A.3.3.Picnometru din sticlă pyrex cu o capacitate de aproximativ 100 ml dotat cu un termometru detașabil din sticlă mată (A.3.2). Picnometrul are un tub lateral cu o lungime de 25 mm și un diametru intern de (maximum) 1 mm care se încheie cu o îmbinare șlefuită conică. Pot fi utilizate și alte picnometre conform descrierii ISO 3507, de exemplu 50 ml, acolo unde este cazul. A.3.4.O sticlă utilizată ca tară cu același volum extern (maxim 1 ml) ca și picnometrul și cu masa egală cu masa picnometrului umplut cu un lichid cu densitatea 1.01 (soluție de clorură de sodiu A.2.1). A.3.5.Manta izolată termic se mulează exact pe corpul picnometrului. Nota 1: metoda pentru determinarea densității băuturilor alcoolice in vacuo necesită utilizarea unei balanțe cu două platane, a unui picnometru și a unei sticle utilizate ca tară cu același volum exterior pentru a elimina efectul de flotabilitate al aerului în orice moment. Această tehnică simplă poate fi aplicată utilizând o balanță cu un singur platan, cu condiția ca sticla utilizată ca tară să fie cântărită din nou pentru a monitoriza modificările efectul de flotabilitate al aerului în timp. **A.4. Mod de lucru** Observații preliminare: Procedura următoare este descrisă pentru utilizarea unui picnometru de 100 ml la determinarea tăriei alcoolice; acesta conferă cele mai exacte rezultate. Totuși, este posibil și să se utilizeze un picnometru mai mic, de exemplu de 50	puțin gradul 3 conform definiției ISO 3696. A.2.1. Soluție de clorură de sodiu (2 % m/v) Pentru a pregăti 1 litru, se cântăresc 20 g clorură de sodiu și se dizolvă până la un litru folosind apă. **A.3. Aparatură și echipamente** Aparatura de laborator obișnuită și, în special, următoarele: A.3.1. Balanță analitică permițând cântărirea a 0.1 mg. A.3.2. Termometru, cu îmbinare cu sticlă rodată, etalonat în zecimi de grad de la 10 la 30 °C. Acest termometru trebuie certificat sau testat pe baza unui termometru certificat. A.3.3. Picnometru din sticlă pyrex cu o capacitate de aproximativ 100 ml dotat cu un termometru detașabil din sticlă mată (A.3.2). Picnometrul are un tub lateral cu o lungime de 25 mm și un diametru intern de (maximum) 1 mm care se încheie cu o îmbinare șlefuită conică. Pot fi utilizate și alte picnometre conform descrierii ISO 3507, de exemplu 50 ml, acolo unde este cazul. A.3.4. O sticlă utilizată ca tară cu același volum extern (maxim 1 ml) ca și picnometrul și cu masa egală cu masa picnometrului umplut cu un lichid cu densitatea 1.01 (soluție de clorură de sodiu A.2.1). A.3.5. Manta izolată termic se mulează exact pe corpul picnometrului. Nota 1: metoda pentru determinarea densității băuturilor alcoolice in vacuo necesită utilizarea unei balanțe cu două platane, a unui picnometru și a unei sticle utilizate ca tară cu același volum exterior pentru a elimina efectul de flotabilitate al aerului în orice moment. Această tehnică simplă poate fi aplicată utilizând o balanță cu un singur platan, cu condiția ca sticla utilizată ca tară să fie cântărită din nou pentru a monitoriza modificările efectul de flotabilitate al aerului în timp. **A.4. Mod de lucru** Observații preliminare: Procedura următoare este descrisă pentru utilizarea unui picnometru de 100 ml la determinarea tăriei alcoolice; acesta conferă cele mai exacte rezultate. Totuși, este posibil		

ml. **A.4.1. Calibrarea picnometrului** Picnometrul se calibrează prin determinarea următorilor parametri: — tara picnometrului gol; — volumul picnometrului la 20 °C; — masa picnometrului umplut cu apă la 20 °C. A.4.1.1.Calibrarea cu ajutorul unei balanțe cu un singur platan: Se determină: — masa picnometrului curat și uscat (P); — masa picnometrului umplut cu apă la t °C (P1); — masa sticlei utilizate ca tară (T0). A.4.1.1.1.Se cântărește picnometrul curat și uscat (P). A.4.1.1.2. Se umple picnometrul atent cu apă distilată la temperatura ambiantă și se atașează termometrul. Se șterge cu grijă picnometrul până este uscat și se instalează în mantaua izolată termic. Se agită răsturnând containerul până când termometrul indică o temperatură constantă. Se așează picnometrul astfel încât să se îmbine cu marginea superioară a tubului lateral. Se citește temperatura t °C și, dacă este necesar, se corectează posibilele inadvertențe ale gradației temperaturii. Se cântărește picnometrul umplut cu apă (P1). A.4.1.1.3. Se cântărește sticla utilizată ca tară (T0). A.4.1.1.4. Calcule —tara picnometrului gol = P – m unde m reprezintă masa aerului din picnometru. m = 0,0012 × (P1 – P) Nota 2: 0,0012 reprezintă densitatea aerului uscat la 20 °C la o presiune de 760 mm Hg —volumul picnometrului la 20 °C: $V_{20\,°C} = [P1 - (P - m)] \times F_{t'}1$ unde Ft reprezintă factorul pentru temperatura la t °C din	și să se utilizeze un picnometru mai mic, de exemplu de 50 ml. **A.4.1. Calibrarea picnometrului** Picnometrul se calibrează prin determinarea următorilor parametri: — tara picnometrului gol; — volumul picnometrului la 20 °C; — masa picnometrului umplut cu apă la 20 °C. A.4.1.1. Calibrarea cu ajutorul unei balanțe cu un singur platan: Se determină: — masa picnometrului curat și uscat (P); — masa picnometrului umplut cu apă la t °C (P1); — masa sticlei utilizate ca tară (T0). A.4.1.1.1. Se cântărește picnometrul curat și uscat (P). A.4.1.1.2. Se umple picnometrul atent cu apă distilată la temperatura ambiantă și se atașează termometrul. Se șterge cu grijă picnometrul până este uscat și se instalează în mantaua izolată termic. Se agită răsturnând containerul până când termometrul indică o temperatură constantă. Se așează picnometrul astfel încât să se îmbine cu marginea superioară a tubului lateral. Se citește temperatura t °C și, dacă este necesar, se corectează posibilele inadvertențe ale gradației temperaturii. Se cântărește picnometrul umplut cu apă (P1). A.4.1.1.3. Se cântărește sticla utilizată ca tară (T0). A.4.1.1.4. Calcule — tara picnometrului gol = P – m unde m reprezintă masa aerului din picnometru. m = 0,0012 × (P1 – P) Nota 2: 0,0012 reprezintă densitatea aerului uscat la 20 °C la o presiune de 760 mm Hg — volumul picnometrului la 20 °C: $V_{20\,°C} = [P1 - (P - m)]\ x\ F_{t'}1$ unde Ft reprezintă factorul pentru temperatura la t °C din		

tabelul 1 capitolul 1 „Densitatea și densitatea specifică” din anexa la Regulamentul (CEE) nr. 2676/90 (p. 10). V20 °C trebuie să fie cât mai apropiat de 0,001 ml. —Masa apei în picnometru la 20 °C: $M_{20\,C} = V_{20\,C} \times 0{,}998203$ unde 0,998203 reprezintă densitatea apei la 20 °C. Nota 3: Dacă este necesar, poate fi utilizată valoarea 0,99715 a densității aerului iar tăria alcoolică se calculează pe baza densității echivalente din tabelele Accize și Vame HM pentru aer. A.4.1.2. Metodă de calibrare utilizând o balanță cu două platane: A.4.1.2.1.Se plasează sticla utilizată ca tară pe platanul din stânga, iar picnometru curat și uscat cu opritorul colector pe platanul din dreapta. Se echilibrează cele două platane plasând greutăți pe cel care conține picnometrul: p grame. A.4.1.2.2.Se umple picnometrul atent cu apă distilată la temperatura ambiantă și se atașează termometrul; se șterge cu grijă picnometrul până este uscat și se instalează în mantaua izolată termic; se agită răsturnând containerul până când termometrul indică o temperatură constantă. Se reglează nivelul cu exactitate până la marginea superioară a tubului lateral. Se curăță tubul lateral, se atașează opritorul colector; se citește temperatura t °C și, dacă este necesar, se corectează posibilele inadvertențe ale gradației temperaturii. Se cântărește picnometrul umplut cu apă, compensând pentru echilibrare cu p′ greutatea în grame. A.4.1.2.3.Calcule —tara picnometrului gol = p + m unde m reprezintă masa aerului din picnometru. m = 0,0012 × (p – p′) —volumul picnometrului la 20 °C: $V_{20\,°C} = (p + m - p') \times F_t, 1$ unde Ft reprezintă factorul pentru temperatura la t °C din tabelul 1 capitolul 1 „Densitatea și densitatea specifică” din anexa la Regulamentul (CEE) nr. 2676/90 (p. 10). V20 °C trebuie să fie cât mai apropiat de 0,001 ml.	anexa nr.1 la Instrucțiunea privind metodele analitice de referință. V20 °C trebuie să fie cât mai apropiat de 0,001 ml. — Masa apei în picnometru la 20 °C: $M_{20C} = V_{20C}\ x\ 0{,}998203$ unde 0,998203 reprezintă densitatea apei la 20 °C. Nota 3: Dacă este necesar, poate fi utilizată valoarea 0,99715 a densității aerului iar tăria alcoolică se calculează pe baza densității echivalente din tabelele Accize și Vame HM pentru aer. A.4.1.2. Metodă de calibrare utilizând o balanță cu două platane: A.4.1.2.1. Se plasează sticla utilizată ca tară pe platanul din stânga, iar picnometru curat și uscat cu opritorul colector pe platanul din dreapta. Se echilibrează cele două platane plasând greutăți pe cel care conține picnometrul: p grame. A.4.1.2.2. Se umple picnometrul atent cu apă distilată la temperatura ambiantă și se atașează termometrul; se șterge cu grijă picnometrul până este uscat și se instalează în mantaua izolată termic; se agită răsturnând containerul până când termometrul indică o temperatură constantă. Se reglează nivelul cu exactitate până la marginea superioară a tubului lateral. Se curăță tubul lateral, se atașează opritorul colector; se citește temperatura t °C și, dacă este necesar, se corectează posibilele inadvertențe ale gradației temperaturii. Se cântărește picnometrul umplut cu apă, compensând pentru echilibrare cu p′ greutatea în grame. A.4.1.2.3. Calcule — tara picnometrului gol = p + m unde m reprezintă masa aerului din picnometru. m = 0,0012 × (p – p′) — volumul picnometrului la 20 °C: $V_{20\,°C} = (p + m - p')\ x\ F_{t'}1$ unde Ft reprezintă factorul pentru temperatura la t °C din anexa nr.1 la Instrucțiunea privind metodele analitice de referință. V20 °C trebuie să fie cât mai apropiat de 0,001 ml.		

—Masa apei în picnometru la 20 °C: $M_{20\,C} = V_{20\,C} \times 0{,}998203$ unde 0,998203 reprezintă densitatea apei la 20 °C. **A.4.2. Determinarea tăriei alcoolice a probei de** testareA.4.2.1.Utilizând o balanță cu un singur platan. A.4.2.1.1. Se cântărește sticla utilizată ca tară, greutate T1. A.4.2.1.2. Se cântărește picnometrul cu distilatul preparat (a se vedea anexa I), P2 reprezintă greutatea la t °C. A.4.2.1.3. Calcule — dT = T1-T0 —Masa picnometrului gol în momentul măsurării = P – m + dT —Masa lichidului din picnometru la t °C = P2 – (P – m + dT) — Densitatea la t °C în g/ml $P_{t\,°C} = [P_2 - (P - m + dT)]/V_{20\,°C}$ — Se exprimă densitatea la t °C în kilograme pe m3 prin înmulțirea ρt °C cu 1 000, valoarea fiind cunoscută ca ρt. —Se corectează ρt la 20 folosind tabelul densităților ρT pentru amestecuri de apă-alcool [tabelul II din apendicele II la manualul OIV de metode de analiză (1994), p. 17-29]. Se caută în tabel linia care corespunde temperaturii T în grade fără zecimale, aflată imediat sub t °C, cea mai mică densitate peste ρt. Se folosește diferența din tabel găsită sub această densitate pentru a calcula densitatea ρt a alcoolului la temperatura T în cauză, în grade fără zecimale. —Folosind linia pentru temperatura fără zecimale se calculează diferența dintre densitatea ρ′ din tabel imediat deasupra ρt și densitatea calculată ρt. Se împarte această diferența la diferența din tabel care se află la dreapta densității ρ′. Coeficientul indică porția zecimală a tăriei alcoolice, iar întregul tăriei alcoolice se află în partea superioară a coloanei în care se află densitatea ρ′ (Dt, tăria alcoolică). Nota 4: Alternativ, se păstrează picnometrul într-o baie de apă menținută la 20 °C (± 0,2 °C) atunci când se	— Masa apei în picnometru la 20 °C: $M_{20C} = V_{20C}\ x\ 0{,}998203$ unde 0,998203 reprezintă densitatea apei la 20 °C. **A.4.2. Determinarea tăriei alcoolice a probei de testare** A.4.2.1. Utilizând o balanță cu un singur platan. A.4.2.1.1. Se cântărește sticla utilizată ca tară, greutate T1. A.4.2.1.2. Se cântărește picnometrul cu distilatul preparat, P2 reprezintă greutatea la t °C. A.4.2.1.3. Calcule — $dT = T1 - T0$ — Masa picnometrului gol în momentul măsurării = P – m + dT — Masa lichidului din picnometru la t °C = P2 – (P – m + dT) — Densitatea la t °C în g/ml —$P_{t°C} = [P_2 - (P - m + dT)]/V_{20°C}$ — Se exprimă densitatea la t °C în kilograme pe m3 prin înmulțirea ρt °C cu 1 000 , valoarea fiind cunoscută ca ρt. — Se corectează ρt la 20 folosind tabelul densităților ρT pentru amestecuri de apă-alcool din Compendiu metodelor internaționale pentru analiza vinului și a mustului OIV. Se caută în tabel linia care corespunde temperaturii T în grade fără zecimale, aflată imediat sub t °C, cea mai mică densitate peste ρt. Se folosește diferența din tabel găsită sub această densitate pentru a calcula densitatea ρt a alcoolului la temperatura T în cauză, în grade fără zecimale. — Folosind linia pentru temperatura fără zecimale se calculează diferența dintre densitatea ρ′ din tabel imediat deasupra ρt și densitatea calculată ρt. Se împarte această diferența la diferența din tabel care se află la dreapta densității ρ′. Coeficientul indică porția zecimală a tăriei alcoolice, iar întregul tăriei alcoolice se află în partea superioară a coloanei în care se află densitatea ρ′ (Dt, tăria alcoolică). Nota 4: Alternativ, se păstrează picnometrul într-o baie de apă menținută la 20 °C (± 0,2 °C) atunci când se		

completează până la marcaj.
A.4.2.1.4.Rezultat
Folosind densitatea ρ20 se calculează tăria alcoolică reală pe baza tabelelor pentru tăria alcoolică identificate în continuare:
Tabelul care indică valoarea tăriei alcoolice în volume (% vol) la 20 °C ca funcție a densității la 20 °C a amestecurilor de apă-alcool este tabelul internațional adoptat de Organizația Internațională de Metrologie Legală în Recomandarea nr. 22.
A.4.2.2.Metoda care folosește balanța cu un singur platan.
A.4.2.2.1.Se cântărește picnometrul cu distilatul preparat (vezi partea I), ρ″ este masa la t °C.
A.4.2.2.2.Calculul
—Masa lichidului din picnometru la t °C
= ρ + m – ρ″
—Densitatea la t °C în g/ml

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

—Se exprimă densitatea la t °C în kilograme pe m3 și se efectuează corectarea temperaturii pentru a calcula tăria alcoolică la 20 °C, așa cum este indicat anterior pentru folosirea balanței cu un singur platan.

A.5. Caracteristici de performanță ale metodei (precizia)

A.5.1. Rezultate statistice ale testului interlaboratoare

Următoarele date au fost obținute dintr-un studiu internațional de performanță a metodei efectuat cu proceduri acceptate la nivel internațional [1] [2].

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	20
Numărul de probe	6

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**	**F**

completează până la marcaj.
A.4.2.1.4. Rezultat
Folosind densitatea ρ20 se calculează tăria alcoolică reală pe baza tabelelor pentru tăria alcoolică identificate în continuare:
Tabelul care indică valoarea tăriei alcoolice în volume (% vol) la 20 °C ca funcție a densității la 20 °C a amestecurilor de apă-alcool este tabelul internațional adoptat de Organizația Internațională de Metrologie Legală în Recomandarea nr. 22.
A.4.2.2. Metoda care folosește balanța cu un singur platan.
A.4.2.2.1. Se cântărește picnometrul cu distilatul preparat (vezi partea I), ρ″ este masa la t °C.
A.4.2.2.2. Calculul
— Masa lichidului din picnometru la t °C
= ρ + m – ρ″
— Densitatea la t °C în g/ml

$$P_{t°C} = [p + m - p'')]/V_{20°C}$$

— Se exprimă densitatea la t °C în kilograme pe m3 și se efectuează corectarea temperaturii pentru a calcula tăria alcoolică la 20 °C, așa cum este indicat anterior pentru folosirea balanței cu un singur platan.

A.5. Caracteristici de performanță ale metodei (precizia)

A.5.1. Rezultate statistice ale testului interlaboratoare

Următoarele date au fost obținute dintr-un studiu internațional de performanță a metodei efectuat cu proceduri acceptate la nivel internațional [1] [2].

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	20
Numărul de probe	6

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**	**F**

Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	19	20	17	19	19	17	Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	19	20	17	19	19	17		
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	1	-	2	1	1	3	Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	1	-	2	1	1	3		
Numărul rezultatelor acceptate	38	40	34	38	38	34	Numărul rezultatelor acceptate	38	40	34	38	38	34		
Valoarea medie ( ) % vol	23,77	40,04	40,29	39,20	42,24	57,03	Valoarea medie ( ) % vol	23,77	40,04	40,29	39,20	42,24	57,03		
	26,51(*)			42,93 (*)	45,73 (*)	63,03 (*)		26,51(*)			42,93 (*)	45,73 (*)	63,03 (*)		
Standard de repetabilitate (S_r) % vol	0,106	0,176	0,072	0,103	0,171	0,190	Standard de repetabilitate (S_r) % vol	0,106	0,176	0,072	0,103	0,171	0,190		
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	0,42	0,44	0,18	0,25	0,39	0,32	Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	0,42	0,44	0,18	0,25	0,39	0,32		
Limită de repetabilitate (r)	0	0	0	0	0,4	0	Limită de repetabilitate (r)	0	0	0	0	0,4	0		

în % vol	30	49	20	,29	8	53	în % vol	30	49	20	,29	8	53	
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) % vol	0,131	0,236	0,154	0,233	0,238	0,322	Deviația standard de reproductibilitate (S_R) % vol	0,131	0,236	0,154	0,233	0,238	0,322	
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	0,52	0,59	0,38	0,57	0,54	0,53	Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	0,52	0,59	0,38	0,57	0,54	0,53	
Limita de reproductibilitate (R) în % vol	0,37	0,66	0,43	0,65	0,67	0,90	Limita de reproductibilitate (R) în % vol	0,37	0,66	0,43	0,65	0,67	0,90	
METODA B: DETERMINAREA TĂRIEI ALCOOLICE REALE ÎN VOLUME PENTRU BĂUTURILE SPIRTOASE – MĂSURARE PRIN DENSITOMETRIE ELECTRONICĂ (BAZATĂ PE OSCILAȚIA FRECVENȚEI REZONANTE A UNEI PROBE ÎNTR-O CELULĂ DE OSCILARE) **B.1. Principiu** Densitatea lichidului este determinată prin măsurători electronice ale oscilațiilor unui tub vibrator sub formă de U. Pentru a efectua aceste măsurători, proba este adăugată unui sistem de oscilații a cărui frecvență de oscilare este astfel modificată de masa adăugată. **B.2. Reactivi și materiale** Pe timpul analizei, dacă nu se specifică altfel, se utilizează numai reactivi cu grad analitic recunoscut și cu apă de cel puțin gradul 3, conform definiției din ISO 3696:1987.							**Metoda B: Determinarea tăriei alcoolice reale în volume pentru băuturile spirtoase – măsurare prin densitometrie electronică (bazată pe oscilația frecvenței rezonante a unei probe într-o celulă de oscilare)** **B.1. Principiu** Densitatea lichidului este determinată prin măsurători electronice ale oscilațiilor unui tub vibrator sub formă de U. Pentru a efectua aceste măsurători, proba este adăugată unui sistem de oscilații a cărui frecvență de oscilare este astfel modificată de masa adăugată. **B.2. Reactivi și materiale** Pe timpul analizei, dacă nu se specifică altfel, se utilizează numai reactivi cu grad analitic recunoscut și cu apă de cel puțin gradul 3, conform definiției din ISO 3696.							**Compatibil**	

B.2.1.Acetonă (CAS 666-52-4) sau alcool absolut B.2.2.Aer uscat B.3. Aparatură și echipamente Aparate de laborator obișnuite și, în special, următoarele aparate: B.3.1.Densitometru cu afișaj digital Densitometrul electronic pentru efectuarea acestor măsurători trebuie să poată exprima densitatea în g/ml cu 5 zecimale. Nota 1: Densitometrul trebuie să fie așezat pe o suprafață perfect stabilă, izolată de vibrații. B.3.2.Reglarea temperaturii Performanța densitometrului este valabilă numai dacă celula de măsurare este conectată la un regulator de temperatură încorporat care poate atinge aceeași stabilitate a temperaturii la ± 0,02 °C sau mai puțin. Nota 2: Stabilirea și monitorizarea precise ale temperaturii în celula de măsurare sunt foarte importante deoarece o eroare a 0,1 °C poate determina o variație a densității de 0,1 kg/m3. B.3.3.Seringi de injectare a probei sau dispozitiv de autoprelevare de probe. **B.4. Mod de lucru** B.4.1.Calibrarea densitometrului Aparatul se calibrează conform instrucțiunilor producătorului instrumentului la prima punere în funcțiune. Trebuie să se recalibreze în mod regulat și să se verifice pe baza unui standard de referință certificat sau a unei soluții de referință interne de laborator bazată pe un standard de referință certificat. B.4.2. Determinarea densității probei B.4.2.1. Dacă este necesar, înainte de măsurare se curăță și se usucă celula cu acetonă sau cu alcool absolut și aer uscat. Se clătește celula cu proba de testare. B.4.2.2. Se injectează proba în celulă (utilizând o seringă sau un dispozitiv de autoprelevare de probe) până la umplerea completă a celulei. În timpul operației de umplere se verifică dacă sunt eliminate toate bulele de aer. Proba	B.2.1. Acetonă (CAS 666-52-4) sau alcool absolut B.2.2. Aer uscat **B.3. Aparatură și echipamente** Aparate de laborator obișnuite și, în special, următoarele aparate: B.3.1. Densitometru cu afișaj digital Densitometrul electronic pentru efectuarea acestor măsurători trebuie să poată exprima densitatea în g/ml cu 5 zecimale. Nota 1: Densitometrul trebuie să fie așezat pe o suprafață perfect stabilă, izolată de vibrații. **B.3.2. Reglarea temperaturii** Performanța densitometrului este valabilă numai dacă celula de măsurare este conectată la un regulator de temperatură încorporat care poate atinge aceeași stabilitate a temperaturii la ± 0,02 °C sau mai puțin. Nota 2: Stabilirea și monitorizarea precise ale temperaturii în celula de măsurare sunt foarte importante deoarece o eroare a 0,1 °C poate determina o variație a densității de 0,1 kg/m3. B.3.3. Seringi de injectare a probei sau dispozitiv de autoprelevare de probe. **B.4. Mod de lucru** B.4.1. Calibrarea densitometrului Aparatul se calibrează conform instrucțiunilor producătorului instrumentului la prima punere în funcțiune. Trebuie să se recalibreze în mod regulat și să se verifice pe baza unui standard de referință certificat sau a unei soluții de referință interne de laborator bazată pe un standard de referință certificat. B.4.2. Determinarea densității probei B.4.2.1. Dacă este necesar, înainte de măsurare se curăță și se usucă celula cu acetonă sau cu alcool absolut și aer uscat. Se clătește celula cu proba de testare. B.4.2.2. Se injectează proba în celulă (utilizând o seringă sau un dispozitiv de autoprelevare de probe) până la umplerea completă a celulei. În timpul operației de umplere se verifică dacă sunt eliminate toate bulele de aer.		

trebuie să fie omogenă și să nu conțină particule solide. Particulele materiale în suspensie se elimină prin filtrare înainte de efectuarea analizei.
B.4.2.3. După stabilizarea indicatorului, se notează densitatea ρ20 sau tăria alcoolică afișată de densitometru.
B.4.3. Rezultat
Dacă se folosește densitatea ρ20, tăria alcoolică reală se calculează cu ajutorul tabelelor de tărie alcoolică identificate în continuare.
Tabelul care cuprinde valoarea tăriei alcoolice în volume (% vol) la 20 °C ca funcție a densității la 20 °C a amestecurilor de apă-alcool este tabelul adoptat de Organizația Internațională Legală de Metrologie în Recomandarea nr. 22.

B.5. Caracteristici de performanță ale metodei (precizia)

B.5.1. Rezultate statistice ale testului interlaboratoare

Următoarele date au fost obținute dintr-un studiu internațional de performanță a metodei efectuat cu proceduri acceptate la nivel internațional [1] [2].

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	16
Numărul de probe	6

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**	**F**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	11	13	15	16	14	13
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	2	3	1	-	1	2
Numărul rezultatelor acceptate	22	26	30	32	28	26
Valoarea medie (	23,	40,	40,	39,	42,39	56,99

Proba trebuie să fie omogenă și să nu conțină particule solide. Particulele materiale în suspensie se elimină prin filtrare înainte de efectuarea analizei.
B.4.2.3. După stabilizarea indicatorului, se notează densitatea ρ20 sau tăria alcoolică afișată de densitometru.
B.4.3. Rezultat
Dacă se folosește densitatea ρ20, tăria alcoolică reală se calculează cu ajutorul tabelelor de tărie alcoolică identificate în continuare.
Tabelul care cuprinde valoarea tăriei alcoolice în volume (% vol) la 20 °C ca funcție a densității la 20 °C a amestecurilor de apă-alcool este tabelul adoptat de Organizația Internațională Legală de Metrologie în Recomandarea nr. 22.

B.5. Caracteristici de performanță ale metodei (precizia)

B.5.1. Rezultate statistice ale testului interlaboratoare

Următoarele date au fost obținute dintr-un studiu internațional de performanță a metodei efectuat cu proceduri acceptate la nivel internațional [1] [2].

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	16
Numărul de probe	6

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**	**F**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	11	13	15	16	14	13
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	2	3	1	-	1	2
Numărul rezultatelor acceptate	22	26	30	32	28	26
Valoarea medie (	23,	40,	40,	39,	42,39	56,99

x̄	81	12	35	27		
) % vol	26,52 (*)			43,10 (*)	45,91 (*)	63,31 (*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) % vol	0,044	0,046	0,027	0,079	0,172	0,144
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	0,17	0,12	0,07	0,19	0,39	0,24
Limită de repetabilitate (r) în % vol	0,12	0,13	0,08	0,22	0,48	0,40
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) % vol	0,054	0,069	0,083	0,141	0,197	0,205
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	0,21	0,17	0,21	0,34	0,45	0,34
Limita de reproductibilitate (R) în % vol	0,15	0,19	0,23	0,40	0,55	0,58

x̄	81	12	35	27		
) % vol	26,52 (*)			43,10 (*)	45,91 (*)	63,31 (*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) % vol	0,044	0,046	0,027	0,079	0,172	0,144
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	0,17	0,12	0,07	0,19	0,39	0,24
Limită de repetabilitate (r) în % vol	0,12	0,13	0,08	0,22	0,48	0,40
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) % vol	0,054	0,069	0,083	0,141	0,197	0,205
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	0,21	0,17	0,21	0,34	0,45	0,34
Limita de reproductibilitate (R) în % vol	0,15	0,19	0,23	0,40	0,55	0,58

METODA C: DETERMINAREA TĂRIEI ALCOOLICE REALE ÎN VOLUME A BĂUTURILOR SPIRTOASE – MĂSURAREA PRIN DENSITOMETRIE CU AJUTORUL BALANȚEI HIDROSTATICE **C.1. Principiu** Tăria alcoolică a băuturilor spirtoase poate fi măsurată prin densitometrie au ajutorul unei balanțe hidrostatice bazată pe principiul lui Arhimede conform căruia un corp scufundat într-un lichid este împins la suprafață de o cantitate de lichid egală cu greutatea lichidului dislocat.	**Metoda C: Determinarea tăriei alcoolice reale în volume a băuturilor spirtoase – măsurarea prin densitometrie cu ajutorul balanței hidrostatice** **C.1. Principiu** Tăria alcoolică a băuturilor spirtoase poate fi măsurată prin densitometrie cu ajutorul unei balanțe hidrostatice bazată pe principiul lui Arhimede conform căruia un corp scufundat într-un lichid este împins la suprafață de o cantitate de lichid egală cu greutatea lichidului dislocat. **C.2. Reactivi și materiale**	**Compatibil**	

C.2. Reactivi și materiale Pe timpul analizei, dacă nu se specifică altfel, se folosesc numai reactivi cu grad analitic recunoscut și cu apă de cel puțin gradul 3, conform definiției din ISO 3696:1987. **C.2.1. Soluție de curățare a flotorului (hidroxid de sodiu, 30 % m/v)** Pentru a prepara 100 ml, se cântăresc 30 g de hidroxid de sodiu și se completează cu etanol 96 % vol. **C.3. Aparatură și echipamente** Aparate de laborator obișnuite și, în special, următoarele: C.3.1. Balanță hidrostatică cu un singur platan cu sensibilitate de 1 mg. C.3.2. Flotor cu un volum de cel puțin 20 ml, adaptat special pentru balanță, suspendat de un fir cu diametru de maximum 0,1 mm. C.3.3. Cilindru gradat cu marcaj pentru nivel. Flotorul trebuie să poată fi conținut complet în volumul cilindrului situat sub marcaj; suprafața lichidului poate fi penetrată numai de firul de susținere. Cilindrul gradat trebuie să aibă un diametru intern de minimum 6 mm mai mare decât diametrul flotorului. C.3.4. Termometru (sau probă de măsurare a temperaturii) gradat cu grade și zecimi de grade de la 10 la 40 °C, calibrat la 0,05 °C. C.3.5. Greutăți, calibrate de un organism de certificare recunoscut. Nota 1: Se poate folosi și o balanță cu un singur platan; principiul este descris în capitolul I „Densitatea și gravitatea specifică” din anexa la Regulamentul (CEE) nr. 2676/90 (p. 7). **C.4. Mod de lucru** Flotorul și cilindrul gradat trebuie să se curețe, după fiecare măsurare, cu apă distilată, să se usuce cu hârtie moale de laborator care nu lasă fire și să se clătească cu soluție a cărei densitate urmează să fie determinată. Măsurările se efectuează în momentul în care aparatul este stabil pentru a limita pierderile de alcool cauzate de evaporare. C.4.1. Calibrarea balanței	Pe timpul analizei, dacă nu se specifică altfel, se folosesc numai reactivi cu grad analitic recunoscut și cu apă de cel puțin gradul 3, conform definiției din ISO 3696. **C.2.1. Soluție de curățare a flotorului (hidroxid de sodiu, 30 % m/v)** Pentru a prepara 100 ml, se cântăresc 30 g de hidroxid de sodiu și se completează cu etanol 96 % vol. **C.3. Aparatură și echipamente** Aparate de laborator obișnuite și, în special, următoarele: C.3.1. Balanță hidrostatică cu un singur platan cu sensibilitate de 1 mg. C.3.2. Flotor cu un volum de cel puțin 20 ml, adaptat special pentru balanță, suspendat de un fir cu diametru de maximum 0,1 mm. C.3.3. Cilindru gradat cu marcaj pentru nivel. Flotorul trebuie să poată fi conținut complet în volumul cilindrului situat sub marcaj; suprafața lichidului poate fi penetrată numai de firul de susținere. Cilindrul gradat trebuie să aibă un diametru intern de minimum 6 mm mai mare decât diametrul flotorului. C.3.4. Termometru (sau probă de măsurare a temperaturii) gradat cu grade și zecimi de grade de la 10 la 40 °C, calibrat la 0,05 °C. C.3.5. Greutăți, calibrate de un organism de certificare recunoscut. **C.4. Mod de lucru** Flotorul și cilindrul gradat trebuie să se curețe, după fiecare măsurare, cu apă distilată, să se usuce cu hârtie moale de laborator care nu lasă fire și să se clătească cu soluție a cărei densitate urmează să fie determinată. Măsurările se efectuează în momentul în care aparatul este stabil pentru a limita pierderile de alcool cauzate de evaporare. C.4.1. Calibrarea balanței Deși în mod obișnuit balanțele au un sistem intern de		

Deși în mod obișnuit balanțele au un sistem intern de calibrare, balanța hidrostatică trebuie să poată efectua calibrarea cu greutățile verificate de un organism de certificare oficial. C.4.2. Calibrarea flotorului C.4.2.1. Se umple cilindrul gradat până la marcaj cu apă dublu distilată (sau apă cu puritate echivalentă, adică apă microfiltrată cu conductibilitate de 18,2 MΩ/cm) la o temperatură între 15 și 25 °C, de preferință 20 °C. C.4.2.2. Se scufundă flotorul și termometrul, se amestecă, se citește densitatea lichidului din aparat și, dacă este necesar, se corectează indicația astfel încât aceasta să fie egală cu cea a apei la temperatura de măsurare. C.4.3. Se controlează folosind o soluție de apă-alcool. C.4.3.1. Se umple cilindrul gradat până la marcaj cu un amestec de apă-alcool cu tărie cunoscută la o temperatură între 15 și 25 °C, de preferință 20 °C. C.4.3.2. Se scufundă flotorul și termometrul, se amestecă, se citește densitatea lichidului (sau tăria alcoolică, dacă este posibil) din aparat. Tăria alcoolică astfel stabilită trebuie să fie egală cu tăria alcoolică determinată anterior. Notă 2: Această soluție cu tărie alcoolică cunoscută poate fi folosită și la calibrarea flotorului în locul apei dublu distilate. C.4.4. Măsurarea densității distilatului (sau a tăriei alcoolice, dacă aparatul permite aceasta). C.4.4.1. Se toarnă proba de testare într-un cilindru gradat până la marcaj. C.4.4.2. Se scufundă flotorul și termometrul, se amestecă, se citește densitatea lichidului (sau tăria alcoolică, dacă este posibil) din aparat. Se notează temperatura dacă densitatea se măsoară la t °C (ρt). C.4.4.3. Se corectează ρt la 20 folosind tabelul de densități ρT pentru amestecurile apă-alcool (tabelul II din anexa II la Manualul OIV de metode de analize (1994), pp. 17-29). C.4.5. Curățarea flotorului și a cilindrului gradat. C.4.5.1. Se cufundă flotorul în soluția de curățare a	calibrare, balanța hidrostatică trebuie să poată efectua calibrarea cu greutățile verificate de un organism de certificare oficial. C.4.2. Calibrarea flotorului C.4.2.1. Se umple cilindrul gradat până la marcaj cu apă dublu distilată (sau apă cu puritate echivalentă, adică apă microfiltrată cu conductibilitate de 18,2 MΩ/cm) la o temperatură între 15 și 25 °C, de preferință 20 °C. C.4.2.2. Se scufundă flotorul și termometrul, se amestecă, se citește densitatea lichidului din aparat și, dacă este necesar, se corectează indicația astfel încât aceasta să fie egală cu cea a apei la temperatura de măsurare. C.4.3. Se controlează folosind o soluție de apă-alcool. C.4.3.1. Se umple cilindrul gradat până la marcaj cu un amestec de apă-alcool cu tărie cunoscută la o temperatură între 15 și 25 °C, de preferință 20 °C. C.4.3.2. Se scufundă flotorul și termometrul, se amestecă, se citește densitatea lichidului (sau tăria alcoolică, dacă este posibil) din aparat. Tăria alcoolică astfel stabilită trebuie să fie egală cu tăria alcoolică determinată anterior. Notă 2: Această soluție cu tărie alcoolică cunoscută poate fi folosită și la calibrarea flotorului în locul apei dublu distilate. C.4.4. Măsurarea densității distilatului (sau a tăriei alcoolice, dacă aparatul permite aceasta). C.4.4.1. Se toarnă proba de testare într-un cilindru gradat până la marcaj. C.4.4.2. Se scufundă flotorul și termometrul, se amestecă, se citește densitatea lichidului (sau tăria alcoolică, dacă este posibil) din aparat. Se notează temperatura dacă densitatea se măsoară la t °C (ρt). C.4.4.3. Se corectează ρt la 20 folosind tabelul de densități ρT pentru amestecurile apă-alcool din Compendiu metodelor internaționale pentru analiza vinului și a mustului OIV. C.4.5. Curățarea flotorului și a cilindrului gradat. C.4.5.1. Se cufundă flotorul în soluția de curățare a flotorului în cilindrul gradat.		

flotorului în cilindrul gradat.
C.4.5.2. Se lasă să se înmoaie timp de o oră, rotind periodic flotorul.
C.4.5.3. Se clătește cu multă apă de la robinet, apoi cu apă distilată.
C.4.5.4. Se usucă cu hârtie moale de laborator care nu lasă scame.
Această procedură se efectuează după prima utilizare a flotorului, apoi ori de câte ori este cazul.
C.4.6. Rezultat
Cu ajutorul densității ρ20 se calculează tăria alcoolică reală folosind tabelele de tărie alcoolică menționate mai jos.
Tabelul care cuprinde valoarea tăriei alcoolice în volume (% vol) la 20 °C ca funcție a densității la 20 °C a amestecurilor de apă-alcool este tabelul adoptat de Organizația Internațională Legală de Metrologie în Recomandarea nr. 22.

C.5. Caracteristici de performanță ale metodei (precizia)

C.5.1. Rezultate statistice ale testului interlaboratoare

Următoarele date au fost obținute dintr-un studiu internațional de performanță a metodei efectuat cu proceduri acceptate la nivel internațional [1] [2].

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	12
Numărul de probe	6

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**	**F**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	12	10	11	12	11	9
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	-	2	1	-	1	2
Numărul rezultatelor acceptate	24	20	22	24	22	18

C.4.5.2. Se lasă să se înmoaie timp de o oră, rotind periodic flotorul.
C.4.5.3. Se clătește cu multă apă de la robinet, apoi cu apă distilată.
C.4.5.4. Se usucă cu hârtie moale de laborator care nu lasă scame.
Această procedură se efectuează după prima utilizare a flotorului, apoi ori de câte ori este cazul.
C.4.6. Rezultat
Cu ajutorul densității ρ20 se calculează tăria alcoolică reală folosind tabelele de tărie alcoolică menționate mai jos.
Tabelul care cuprinde valoarea tăriei alcoolice în volume (% vol) la 20°C ca funcție a densității la 20°C a amestecurilor de apă-alcool este tabelul adoptat de Organizația Internațională Legală de Metrologie în Recomandarea nr. 22.

C.5. Caracteristici de performanță ale metodei (precizia)

C.5.1. Rezultate statistice ale testului interlaboratoare

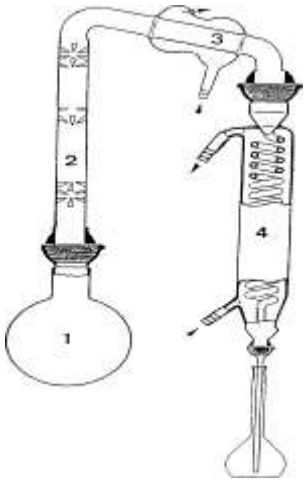
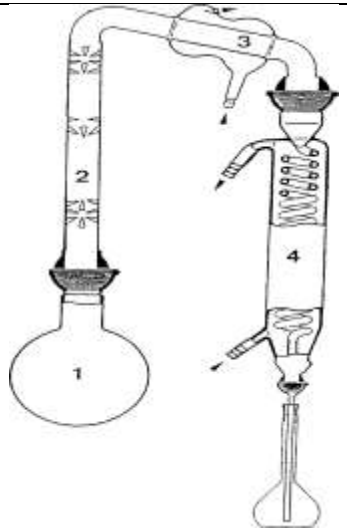
Următoarele date au fost obținute dintr-un studiu internațional de performanță a metodei efectuat cu proceduri acceptate la nivel internațional [1] [2].

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	12
Numărul de probe	6

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**	**F**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	12	10	11	12	11	9
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	-	2	1	-	1	2
Numărul rezultatelor acceptate	24	20	22	24	22	18
Valoarea medie (	23,	40,	40,	39,	42,	57,

Valoarea medie ($\bar{x}$) % vol	23,80	40,09	40,29	39,26	42,38	57,16
	26,51 (*)			43,09 (*)	45,89 (*)	63,44 (*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) % vol	0,048	0,065	0,042	0,099	0,094	0,106
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	0,19	0,16	0,10	0,24	0,21	0,18
Limită de repetabilitate (r) în % vol	0,13	0,18	0,12	0,28	0,26	0,30
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) % vol	0,060	0,076	0,073	0,118	0,103	0,125
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	0,24	0,19	0,18	0,29	0,23	0,21
Limita de reproductibilitate (R) în % vol	0,17	0,21	0,20	0,33	0,29	0,35

$\bar{x}$) % vol	80	09	29	26	38	16
	26,51 (*)			43,09 (*)	45,89 (*)	63,44 (*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) % vol	0,048	0,065	0,042	0,099	0,094	0,106
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	0,19	0,16	0,10	0,24	0,21	0,18
Limită de repetabilitate (r) în % vol	0,13	0,18	0,12	0,28	0,26	0,30
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) % vol	0,060	0,076	0,073	0,118	0,103	0,125
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	0,24	0,19	0,18	0,29	0,23	0,21
Limita de reproductibilitate (R) în % vol	0,17	0,21	0,20	0,33	0,29	0,35

 **Figura 1. Aparat de distilare pentru măsurarea tăriei alcoolice reale în volume a băuturilor spirtoase** 1.Balon de sticlă de 1 litru cu fundul rotund cu îmbinare sferică standardizată de sticlă rodată. 2.Coloană de rectificare tip „Vigreux” de 20 cm. 3.Condensator West cu margine dreaptă de 10 cm. 4.Spirală de răcire de 40 cm.	 **Figura 1. Aparat de distilare pentru măsurarea tăriei alcoolice reale în volume a băuturilor spirtoase.** 1.Balon de sticlă de 1 litru cu fundul rotund cu îmbinare sferică standardizată de sticlă rodată. 2.Coloană de rectificare tip „Vigreux” de 20 cm. 3.Condensator West cu margine dreaptă de 10 cm. 4.Spirală de răcire de 40 cm.		
II. DETERMINAREA EXTRACTULUI SEC TOTAL AL BĂUTURILOR SPIRTOASE PRIN GRAVIMETRIE **1. Domeniu** Regulamentul (CEE) nr. 1576/89 prevede această metodă numai pentru aquavit pentru care extractul sec este limitat la 15 g/l. **2. Referințe normative** ISO 3696:1987: Apă pentru uzul laboratorului – specificații și metode de testare. **3. Definiție** Extractul sec total sau materia uscată totală include toată materia nevolatilă în condiții fizice specificate. **4. Principiu**	**II. DETERMINAREA EXTRACTULUI SEC TOTAL AL BĂUTURILOR SPIRTOASE PRIN GRAVIMETRIE** **1. Domeniu** Această metodă este utilizată pentru a măsura conținutul de substanțe solide dizolvate într-o băutură spirtoasă, după îndepărtarea alcoolului și a apei prin evaporare. **2. Referințe normative** ISO 3696 - Apă pentru uzul laboratorului – specificații și metode de testare. **3. Definiție** Extractul sec total sau materia uscată totală include toată materia nevolatilă în condiții fizice specificate. **4. Principiu**	**Compatibil**	

Cântărirea reziduului rămas după evaporarea alcoolului pe o baie de apă la fierbere și uscarea într-un cuptor de uscare. **5. Aparatură și echipamente** 5.1. Capsulă cilindrică de evaporare cu fundul plat cu diametru de 35 mm. 5.2. Baie cu apă la fiebere. 5.3. Pipetă de 25 ml, clasa A. 5.4. Cuptor de uscare. 5.5. Desicator. 5.6. Balanță analitică cu precizie de 0,1 mg. **6. Prelevare și probe** Probele se păstrează la temperatura camerei înainte de analiză. **7. Mod de lucru** 7.1. Se pipetează 25 ml de alcool care conține sub 15 g/l materie uscată într-o placă cilindrică de evaporare cu fundul plat cu diametru de 55 mm. În timpul primei ore de evaporare placa de evaporare se plasează pe capacul unei băi de apă la fierbere în așa fel încât lichidul să nu fiarbă, deoarece ar duce la pierderi prin stropire. Se lasă încă o oră în contact direct cu vaporii băii de apă la fierbere. 7.2. Se finalizează uscarea așezând placa de evaporare într-un cuptor de uscare la 105 °C ± 3 °C timp de două ore. Se lasă placa de evaporare să se răcească într-un desicator și se cântărește placa de evaporare și conținutul acesteia. **8. Calcule** Masa reziduului înmulțită cu 40 este egală cu conținutul uscat din alcool și trebuie să fie exprimată în g/l până la o zecimală. **9. Caracteristici de performanță ale metodei (precizia)** 9.1. Rezultate statistice ale testului interlaboratoare Următoarele date au fost obținute dintr-un studiu internațional de performanță a metodei efectuat cu proceduri acceptate la nivel internațional [1] [2].	Cântărirea reziduului rămas după evaporarea alcoolului pe o baie de apă la fierbere și uscarea într-un cuptor de uscare. 5. Aparatură și echipamente 5.1. Capsulă cilindrică de evaporare cu fundul plat cu diametru de 35 mm. 5.2. Baie cu apă la fiebere. 5.3. Pipetă de 25 ml, clasa A. 5.4. Cuptor de uscare. 5.5. Desicator. 5.6. Balanță analitică cu precizie de 0,1 mg. 6. Prelevare și probe Probele se păstrează la temperatura camerei înainte de analiză. **7. Mod de lucru** 7.1. Se pipetează 25 ml de alcool care conține sub 15 g/l materie uscată într-o placă cilindrică de evaporare cu fundul plat cu diametru de 55 mm. În timpul primei ore de evaporare placa de evaporare se plasează pe capacul unei băi de apă la fierbere în așa fel încât lichidul să nu fiarbă, deoarece ar duce la pierderi prin stropire. Se lasă încă o oră în contact direct cu vaporii băii de apă la fierbere. 7.2. Se finalizează uscarea așezând placa de evaporare într-un cuptor de uscare la 105 °C ± 3 °C timp de două ore. Se lasă placa de evaporare să se răcească într-un desicator și se cântărește placa de evaporare și conținutul acesteia. **8. Calcule** Masa reziduului înmulțită cu 40 este egală cu conținutul uscat din alcool și trebuie să fie exprimată în g/l până la o zecimală. **9. Caracteristici de performanță ale metodei (precizia)** 9.1. Rezultate statistice ale testului interlaboratoare Următoarele date au fost obținute dintr-un studiu internațional de performanță a metodei efectuat cu proceduri acceptate la nivel internațional [1] [2].		

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	10
Numărul de probe	4

Probe	**A**	**B**	**C**	**F**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	9	9	8	9
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	1	1	2	-
Numărul rezultatelor acceptate	18	18	16	18
Valoarea medie ($\bar{x}$) % vol	9,0	9,1	10,0	11,8
		7,8	9,4	11,1
Deviație standard de repetabilități (S_r) % vol	0,075	0,441	0,028	0,123
Deviația standard relativă de repetabilități (RSD_r) (%)	0,8	5,2	0,3	1,1
Limită de repetabilități (r) în % vol	0,2	1,2	0,1	0,3
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) % vol	0,148	0,451	0,058	0,210
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	1,6	5,3	0,6	1,8
Limita de reproductibilitate (R) în % vol	0,4	1,3	0,2	0,6

III. DETERMINAREA SUBSTANȚELOR

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	10
Numărul de probe	4

Probe	**A**	**B**	**C**	**F**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	9	9	8	9
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	1	1	2	-
Numărul rezultatelor acceptate	18	18	16	18
Valoarea medie ($\bar{x}$) % vol	9,0	9,1	10,0	11,8
		7,8	9,4	11,1
Deviație standard de repetabilități (S_r) % vol	0,075	0,441	0,028	0,123
Deviația standard relativă de repetabilități (RSD_r) (%)	0,8	5,2	0,3	1,1
Limită de repetabilități (r) în % vol	0,2	1,2	0,1	0,3
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) % vol	0,148	0,451	0,058	0,210
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	1,6	5,3	0,6	1,8
Limita de reproductibilitate (R) în % vol	0,4	1,3	0,2	0,6

III. DETERMINAREA SUBSTANȚELOR

Compatibil

VOLATILE ȘI A METANOLULUI DIN BĂUTURILE SPIRTOASE *III.1* ***OBSERVAȚII GENERALE*** **1. Definiții** Regulamentul (CEE) nr. 1576/89 stabilește nivelurile minime de compuși volatili, alții decât etanolul și metanolul, pentru mai multe băuturi spirtoase (rom, alcooluri de origine viticolă, alcooluri din fructe etc.). Numai pentru aceste băuturi spirtoase, aceste niveluri sunt considerate, în mod convențional, echivalente cu suma concentrațiilor de: 1. acizi volatili exprimați ca acid acetic; 2. aldehide exprimate ca etanal prin suma etanalului (acetaldehidă) și a fracției de etanal conținută în 1,1 dietoxietan (acetal); 3. următoarele alcooluri superioare: propan-1-ol, butan-1-ol, butan-2-ol, 2-metilpropan-1-ol, evaluate ca alcool individual și 2-metilbutan-1-ol, și 3-metilbutan-1-ol evaluat ca alcool individual sau ca suma celor două; 4. acetat de etil. Următoarele metode convenționale se folosesc pentru măsurarea compușilor volatili: — acizii volatili prin aciditate volatilă; — aldehidele (etanal și acetal), acetatul de etil și alcoolurile prin cromatografie cu gaz (GPC). **2. Analiza prin cromatografia gazoasă a compușilor volatili** Evaluările prin cromatografia gazoasă a compușilor volatili, alții decât cei menționați anterior, se pot dovedi a fi extrem de interesante ca mijloace de determinare a originii materiei prime folosite în distilare și a condițiilor de distilare efective. Unele alcooluri conțin alte componente volatile, cum ar fi compuși aromatici, care sunt caracteristici materiilor prime folosite la obținerea alcoolului, aromei băuturii spirtoase și caracteristicilor speciale ale preparării alcoolului. Acești	**VOLATILE ȘI A METANOLULUI DIN BĂUTURILE SPIRTOASE** **III.1 OBSERVAȚII GENERALE** **1. Definiții** Regulamentului privind definirea, descrierea, prezentarea şi etichetarea băuturilor ce conțin alcool adoptat prin Hotărârea Guvernului nr. 589/2023 stabilește nivelurile minime de compuși volatili, alții decât etanolul și metanolul, pentru mai multe băuturi spirtoase, băuturi alcoolice cu conținut redus de alcool şi băuturi slab alcoolice. Numai pentru aceste produse, aceste niveluri sunt considerate, în mod convențional, echivalente cu suma concentrațiilor de: 1. acizi volatili exprimați ca acid acetic; 2. aldehide exprimate ca etanal prin suma etanalului (acetaldehidă) și a fracției de etanal conținută în 1,1 dietoxietan (acetal); 3. următoarele alcooluri superioare: propan-1-ol, butan-1-ol, butan-2-ol, 2-metilpropan-1-ol, evaluate ca alcool individual și 2-metilbutan-1-ol, și 3-metilbutan-1-ol evaluat ca alcool individual sau ca suma celor două; 4. acetat de etil. Următoarele metode convenționale se folosesc pentru măsurarea compușilor volatili: — acizii volatili prin aciditate volatilă; — aldehidele (etanal și acetal), acetatul de etil și alcoolurile prin cromatografie cu gaz (GPC). **2. Analiza prin cromatografia gazoasă a compușilor volatili** Evaluările prin cromatografia gazoasă a compușilor volatili, alții decât cei menționați anterior, se pot dovedi a fi extrem de interesante ca mijloace de determinare a originii materiei prime folosite în distilare și a condițiilor de distilare efective. Unele alcooluri conțin alte componente volatile, cum ar fi compuși aromatici, care sunt caracteristici materiilor prime folosite la obținerea alcoolului, aromei băuturii spirtoase și caracteristicilor speciale ale preparării alcoolului. Acești		

compuși sunt importanți pentru evaluarea cerințelor stabilite în Regulamentul (CEE) nr. 1576/89.	compuși sunt importanți pentru evaluarea cerințelor stabilite în Regulamentul privind definirea, descrierea, prezentarea și etichetarea băuturilor ce conțin alcool adoptat prin Hotărârea Guvernului nr. 589/2023.		
III.2. DETERMINAREA PRIN CROMATOGRAFIA GAZOASĂ A CONGENERILOR VOLATILI: ALDEHIDE, ALCOOLURI SUPERIOARE, ACETAT DE ETIL ȘI METANOL **1. Domeniu** Această metodă este potrivită pentru a se determinarea 1,1 dietoxietan (acetal), 2-metilbutan-1-ol (alcool amil activ), 3-metilbutan-1-ol (alcool izoamil), metanolul (alcool metilic), etil etanoat (etil acetat), butan-1-ol (n-butanol), butan-2-ol (sec-butanol), 2-metilpropan-1-ol (alcool izobutil), propan-1-ol (n-propanol) și etanal (acetaldehidă) din băuturile spirtoase folosind cromatografia gazoasă. Metoda folosește un standard intern, de exemplu pentan-3-ol. Concentrațiile analiților sunt exprimate în grame pe 100 litri de alcool absolut; tăria alcoolică a produsului trebuie să se determine înainte de analiză. Băuturile spirtoase care pot fi analizate folosind această metodă includ whisky, brandy, rom, rachiu de vin, rachiu de fructe și rachiu de tescovină. **2. Trimiteri normative** ISO 3696:1987: Apă pentru uzul laboratorului – specificații și metode de testare. **3. Definiție** Congenerii sunt substanțe volatile formate în același timp cu etanolul pe parcursul fermentației, distilării și maturării băuturilor spirtoase. **4. Principiu** Congenerii din băuturile spirtoase sunt determinați prin injectarea directă a băuturii spirtoase sau a băuturii spirtoase diluate corespunzător într-un sistem de cromatografie cu gaz (GC). Un standard intern corespunzător se adaugă băuturii spirtoase înainte de injectare. Congenerii sunt separați prin programarea	**III.2. DETERMINAREA PRIN CROMATOGRAFIA GAZOASĂ A CONGENERILOR VOLATILI: ALDEHIDE, ALCOOLURI SUPERIOARE, ACETAT DE ETIL ȘI METANOL** **1. Domeniu** Această metodă este potrivită pentru a se determinarea 1,1 dietoxietan (acetal), 2-metilbutan-1-ol (alcool amil activ), 3-metilbutan-1-ol (alcool izoamil), metanolul (alcool metilic), etil etanoat (etil acetat), butan-1-ol (n-butanol), butan-2-ol (sec-butanol), 2-metilpropan-1-ol (alcool izobutil), propan-1-ol (n-propanol) și etanal (acetaldehidă) din băuturile spirtoase folosind cromatografia gazoasă. Metoda folosește un standard intern, de exemplu pentan-3-ol. Concentrațiile analiților sunt exprimate în grame pe 100 litri de alcool absolut; tăria alcoolică a produsului trebuie să se determine înainte de analiză. Băuturile spirtoase care pot fi analizate folosind această metodă includ whisky, brandy, rom, rachiu de vin, rachiu de fructe și rachiu de tescovină. **2. Trimiteri normative** ISO 3696 - Apă pentru uzul laboratorului – specificații și metode de testare. **3. Definiție** Congenerii sunt substanțe volatile formate în același timp cu etanolul pe parcursul fermentației, distilării și maturării băuturilor spirtoase. **4. Principiu** Congenerii din băuturile spirtoase sunt determinați prin injectarea directă a băuturii spirtoase sau a băuturii spirtoase diluate corespunzător într-un sistem de cromatografie cu gaz (GC). Un standard intern corespunzător se adaugă băuturii spirtoase înainte de injectare. Congenerii sunt separați prin programarea	**Compatibil**	

temperaturii pe o coloană adecvată și sunt detectați folosind un detector de ionizare cu flacără (FID). Concentrația fiecărui congener este determinată luându-se în considerare standardul intern al factorilor de răspuns care sunt obținuți în timpul calibrării în același condiții cromatografice ca și cele pentru analiza băuturilor spirtoase. **5. Reactivi și materiale** Dacă nu există alte specificații, folosiți numai reactivi cu o puritate de peste 97 %, achiziționați de la un furnizor acreditat ISO cu certificat de puritate, care nu prezintă congeneri la diluția test (acest lucru poate fi confirmat prin injectarea de standarde de congener individuale la diluția test folosind condițiile de GC de la punctul 6.4) și numai apă de cel puțin 3 grade conform definiției din ISO 3696. Acetalul și acetaldehida se păstrează la întuneric, la < 5 °C, toți ceilalți reactivi pot fi păstrați la temperatura camerei. 5.1. Etanol absolut (CAS 64-17-5). 5.2. Metanol (CAS 67-56-1). 5.3. Propan-1-ol (CAS 71-23-8) 5.4 2-metilpropan-1-ol (CAS 78-83-1). 5.5. Standarde interne acceptabile: pentan-3-ol (CAS 584-02-1), pentan-1-ol (CAS 71-41-0), 4-metilpentan-1-ol (CAS 626-89-1) sau metil nonanoat (CAS 1731-84-6). 5.6. 2-metilbutan-1-ol (CAS 137-32-6). 5.7. 3-metilbutan-1-ol (CAS 123-51-3). 5.8. acetat de etil (CAS 141-78-6). 5.9. Butan-1-ol (CAS 71-36-3). 5.10. Butan-2-ol (CAS 78-92-2). 5.11. Acetaldehidă (CAS 75-07-0). 5.12. Acetal (CAS 105-57-7). 5.13. Soluție de etanol 40 % v/v Pentru a prepara 400 ml/l soluție de etanol se toarnă 400 ml de etanol (5.1) într-un balon volumetric de 1 litru, se completează cu apă distilată și se amestecă. 5.13a. Doar în cazul alcoolului etilic de origine agricolă,	temperaturii pe o coloană adecvată și sunt detectați folosind un detector de ionizare cu flacără (FID). Concentrația fiecărui congener este determinată luându-se în considerare standardul intern al factorilor de răspuns care sunt obținuți în timpul calibrării în același condiții cromatografice ca și cele pentru analiza băuturilor spirtoase. **5. Reactivi și materiale** Dacă nu există alte specificații, folosiți numai reactivi cu o puritate de peste 97 %, achiziționați de la un furnizor acreditat ISO cu certificat de puritate, care nu prezintă congeneri la diluția test (acest lucru poate fi confirmat prin injectarea de standarde de congener individuale la diluția test folosind condițiile de GC de la punctul 6.4) și numai apă de cel puțin 3 grade conform definiției din ISO 3696. Acetalul și acetaldehida se păstrează la întuneric, la < 5 °C, toți ceilalți reactivi pot fi păstrați la temperatura camerei. 5.1. Etanol absolut (CAS 64-17-5). 5.2. Metanol (CAS 67-56-1). 5.3. Propan-1-ol (CAS 71-23-8). 5.4. 2-metilpropan-1-ol (CAS 78-83-1). ◄ 5.5. Standarde interne acceptabile: pentan-3-ol (CAS 584-02-1), pentan-1-ol (CAS 71-41-0), 4-metilpentan-1-ol (CAS 626-89-1) sau metil nonanoat (CAS 1731-84-6). 5.6. 2-metilbutan-1-ol (CAS 137-32-6). 5.7. 3-metilbutan-1-ol (CAS 123-51-3). 5.8. acetat de etil (CAS 141-78-6). 5.9. Butan-1-ol (CAS 71-36-3). 5.10. Butan-2-ol (CAS 78-92-2). 5.11. Acetaldehidă (CAS 75-07-0). 5.12. Acetal (CAS 105-57-7). 5.13. Soluție de etanol 40 % v/v Pentru a prepara 400 ml/l soluție de etanol se toarnă 400 ml de etanol (5.1) într-un balon volumetric de 1 litru, se completează cu apă distilată și se amestecă. Doar în cazul alcoolului etilic de origine agricolă, etanol absolut (CAS 64-17-5).		

etanol absolut (CAS 64-17-5).
5.14. Prepararea și păstrarea soluțiilor standard (procedura folosită pentru metoda validată).
Toate soluțiile standard pot fi păstrate la < 5 °C și pot fi proaspăt preparate lunar. Masele componentelor și ale soluțiilor trebuie să fie înregistrate cu o precizie de 0,1 mg.
5.14.1. Soluția standard – A
Se pipetează următorii reactivi într-un balon volumetric de 100 ml care conține aproximativ 60 ml soluție de etanol (5.13) pentru a minimaliza evaporarea componentei, se completează cu soluție de etanol (5.13) și se amestecă bine. Se notează greutatea balonului, fiecare componentă adăugată și greutatea finală totală a conținutului.

Componentă	**Volum (ml)**
Metanol (5.2)	3,0
Propan-1-ol (5.3)	3,0
2-metilpropan-1-ol (5.4)	3,0
2-metilbutan-1-ol (5.6)	3,0
3-metilbutan-1-ol (5.7)	3,0
Acetat de etil (5.8)	3,0
Butan-1-ol (5.9)	3,0
Butan-2-ol (5.10)	3,0
Acetaldehidă (5.11)	3,0
Acetal (5.12)	3,0

Nota 1: Se recomandă adăugarea acetalului și a acetaldehidei la sfârșit pentru a minimiza pierderile prin evaporare.
5.14.1a. Doar în cazul alcoolului etilic de origine agricolă, soluția standard A se prepară prin pipetarea de reactivi cu volume reduse de alcooli superiori, cu scopul de a avea soluții standard cu concentrații apropiate de limitele legale

5.14. Prepararea și păstrarea soluțiilor standard (procedura folosită pentru metoda validată).
Toate soluțiile standard pot fi păstrate la < 5 °C și pot fi proaspăt preparate lunar. Masele componentelor și ale soluțiilor trebuie să fie înregistrate cu o precizie de 0,1 mg.
5.14.1. Soluția standard – A
Se pipetează următorii reactivi într-un balon volumetric de 100 ml care conține aproximativ 60 ml soluție de etanol (5.13) pentru a minimaliza evaporarea componentei, se completează cu soluție de etanol (5.13) și se amestecă bine. Se notează greutatea balonului, fiecare componentă adăugată și greutatea finală totală a conținutului.

Componentă	**Volum (ml)**
Metanol (5.2)	3,0
Propan-1-ol (5.3)	3,0
2-metilpropan-1-ol (5.4)	3,0
2-metilbutan-1-ol (5.6)	3,0
3-metilbutan-1-ol (5.7)	3,0
Acetat de etil (5.8)	3,0
Butan-1-ol (5.9)	3,0
Butan-2-ol (5.10)	3,0
Acetaldehidă (5.11)	3,0
Acetal (5.12)	3,0

Nota 1: Se recomandă adăugarea acetalului și a acetaldehidei la sfârșit pentru a minimiza pierderile prin evaporare.
Doar în cazul alcoolului etilic de origine agricolă, soluția standard A se prepară prin pipetarea de reactivi cu volume reduse de alcooli superiori, cu scopul de a avea soluții standard cu concentrații apropiate de limitele legale pentru

pentru alcoolul etilic de origine agricolă. 5.14.2. Soluția standard – B Se pipetează 3 ml de pentan-3-ol sau alt standard intern corespunzător (5.5) într-un balon volumetric de 100 ml care conține aproximativ 80 ml de soluție de etanol (5.13), se completează cu soluție de etanol (5.13) și se amestecă bine. Se notează greutatea balonului, greutatea pentan-3-olului sau a altui standard intern adăugat și greutatea finală totală a conținutului. 5.14.2a. Doar în cazul alcoolului etilic de origine agricolă, soluția standard B se prepară prin pipetarea unui standard intern adecvat cu volume reduse, cu scopul de a avea soluții standard cu concentrații apropiate de limitele legale pentru alcoolul etilic de origine agricolă. 5.14.3. Soluția standard – C Se pipetează 1 ml de soluție A (5.14.1) și 1 ml de soluție B (5.14.2) într-un balon volumetric de 100 ml care conține aproximativ 80 ml de soluție de etanol (5.13), se completează cu soluție de etanol (5.13) și se amestecă bine. Se notează greutatea balonului, a fiecărei componente adăugate și greutatea finală totală a conținutului. 5.14.4. Soluția standard – D Pentru a menține continuitatea analitică, se prepară un standard de control de calitate folosind standardul A preparat anterior (5.14.1). Se pipetează 1 ml de soluție A (5.14.1) într-un balon volumetric de 100 ml care conține aproximativ 80 ml de soluție de etanol (5.13), se completează cu soluție de etanol (5.13) și se amestecă bine. Se notează greutatea balonului, a fiecărei componente adăugate și greutatea finală totală a conținutului. 5.14.5. Soluția standard – E Se pipetează 1 ml de soluție B (5.14.2) într-un balon volumetric de 100 ml care conține aproximativ 80 ml de soluție de etanol (5.13), se completează cu soluție de etanol (5.13) și se amestecă bine. Se notează greutatea balonului, a fiecărei componente adăugate și greutatea finală totală a conținutului.	alcoolul etilic de origine agricolă. 5.14.2. Soluția standard – B Se pipetează 3 ml de pentan-3-ol sau alt standard intern corespunzător (5.5) într-un balon volumetric de 100 ml care conține aproximativ 80 ml de soluție de etanol (5.13), se completează cu soluție de etanol (5.13) și se amestecă bine. Se notează greutatea balonului, greutatea pentan-3-olului sau a altui standard intern adăugat și greutatea finală totală a conținutului. Doar în cazul alcoolului etilic de origine agricolă, soluția standard B se prepară prin pipetarea unui standard intern adecvat cu volume reduse, cu scopul de a avea soluții standard cu concentrații apropiate de limitele legale pentru alcoolul etilic de origine agricolă. 5.14.3. Soluția standard – C Se pipetează 1 ml de soluție A (5.14.1) și 1 ml de soluție B (5.14.2) într-un balon volumetric de 100 ml care conține aproximativ 80 ml de soluție de etanol (5.13), se completează cu soluție de etanol (5.13) și se amestecă bine. Se notează greutatea balonului, a fiecărei componente adăugate și greutatea finală totală a conținutului. 5.14.4. Soluția standard – D Pentru a menține continuitatea analitică, se prepară un standard de control de calitate folosind standardul A preparat anterior (5.14.1). Se pipetează 1 ml de soluție A (5.14.1) într-un balon volumetric de 100 ml care conține aproximativ 80 ml de soluție de etanol (5.13), se completează cu soluție de etanol (5.13) și se amestecă bine. Se notează greutatea balonului, a fiecărei componente adăugate și greutatea finală totală a conținutului. 5.14.5. Soluția standard – E Se pipetează 1 ml de soluție B (5.14.2) într-un balon volumetric de 100 ml care conține aproximativ 80 ml de soluție de etanol (5.13), se completează cu soluție de etanol (5.13) și se amestecă bine. Se notează greutatea balonului, a fiecărei componente adăugate și greutatea finală totală a conținutului.		

5.14.6. Soluții standard folosite la verificarea liniarității răspunsului FID
În baloane volumetrice de 100 ml diferite, care conțin aproximativ 80 ml de soluție de etanol (5.13) se pipetează 0, 0,1, 0,5, 1,0, 2,0 ml de soluție A (5.14.1) și 1 ml de soluție B (5.14.2), se completează cu soluție de etanol (5.13) și se amestecă bine.
Se notează greutatea balonului, a fiecărei componente adăugate și greutatea finală totală a conținutului.
5.14.7. Soluție standard de control al calității
Se pipetează 9 ml de soluție standard D (5.14.4) și 1 ml de soluție E (5.14.5) într-un vas de cântărire și se amestecă bine.
Se notează greutatea balonului, a fiecărei componente adăugate și greutatea finală totală a conținutului.

6. Aparatură și echipamente

6.1. Aparatură de măsurare a densității și a tăriei alcoolice.
6.2. Balanță analitică de măsurare cu patru zecimale.
6.3. Un cromatograf cu gaz cu temperatura programată echipat cu un detector și integrator de ionizare cu flacără sau alte sisteme de tratare a datelor care pot măsura platourile de maxim și vârfurile de maxim.
6.4. Coloană (coloane) de gaz cromatografie ce pot separa analiții astfel încât rezoluția minimă dintre componentele individuale (altele decât 2-metilbutan-1-ol și 3-metilbutan-1-ol) să fie de minimum 1,3.
Nota 2: Următoarele coloane și condiții GC reprezintă exemple potrivite:
1. O cavitate de retenție 1 m × 0,32 mm i.d. conectată la o coloană CP-WAX 57 CB de 50 m × 0.32 mm i.d., grosimea filmului de 0,2 µm (polietilenă glicol stabilizat), urmată de o coloană Carbowax 400 de 50 m × 0,32 mm i.d., grosimea filmului de 0,2 µm. (Coloanele sunt conectate cu ajutorul conectorilor apăsare-fixare.)

Gaz transportor și presiune:	Heliu (135 kPa)
Temperatură	35 °C timp de 17 min., 35-70 °C

5.14.6. Soluții standard folosite la verificarea liniarității răspunsului FID
În baloane volumetrice de 100 ml diferite, care conțin aproximativ 80 ml de soluție de etanol (5.13) se pipetează 0, 0,1, 0,5, 1,0, 2,0 ml de soluție A (5.14.1) și 1 ml de soluție B (5.14.2), se completează cu soluție de etanol (5.13) și se amestecă bine.
Se notează greutatea balonului, a fiecărei componente adăugate și greutatea finală totală a conținutului.
5.14.7. Soluție standard de control al calității
Se pipetează 9 ml de soluție standard D (5.14.4) și 1 ml de soluție E (5.14.5) într-un vas de cântărire și se amestecă bine.
Se notează greutatea balonului, a fiecărei componente adăugate și greutatea finală totală a conținutului.

6. Aparatură și echipamente

6.1. Aparatură de măsurare a densității și a tăriei alcoolice.
6.2. Balanță analitică de măsurare cu patru zecimale.
6.3. Un cromatograf cu gaz cu temperatura programată echipat cu un detector și integrator de ionizare cu flacără sau alte sisteme de tratare a datelor care pot măsura platourile de maxim și vârfurile de maxim.
6.4.Coloană (coloane) de gaz cromatografie ce pot separa analiții astfel încât rezoluția minimă dintre componentele individuale (altele decât 2-metilbutan-1-ol și 3-metilbutan-1-ol) să fie de minimum 1,3
Nota 2: Următoarele coloane și condiții GC reprezintă exemple potrivite:
1. O cavitate de retenție 1 m × 0,32 mm i.d. conectată la o coloană CP-WAX 57 CB de 50 m × 0.32 mm i.d., grosimea filmului de 0,2 µm (polietilenă glicol stabilizat), urmată de o coloană Carbowax 400 de 50 m × 0,32 mm i.d., grosimea filmului de 0,2 µm. (Coloanele sunt conectate cu ajutorul conectorilor apăsare-fixare.)

Gaz transportor și presiune:	Heliu (135 kPa)
Temperatură	35 °C timp de 17 min., 35-70 °C

coloană:	la 12 °C/min., se menține la 70 °C timp de 25 min.
Temperatură injector:	150 °C
Temperatură detector:	250 °C
Volum de injectare:	1 µl, se divizează 20 la 100:1

2. O cavitate de retenție 1 m × 0,32 mm i.d. conectată la o coloană CP-WAX 57 CB de 50 m × 0.32 mm i.d., grosimea filmului de 0,2 µm (polietilenă glicol stabilizat). (Cavitatea de retenție este conectată cu ajutorul unui conector apăsare-fixare.)

Gaz transportor și presiune:	Heliu (65 kPa)
Temperatură coloană:	35 °C timp de 10 min., 35-110 °C la 5 °C/min., 110-190 °C la 30 °C/min., se menține la 190 °C timp de 2 min.
Temperatură injector:	260 °C
Temperatură detector:	300 °C
Volum de injectare:	1 µl, se divizează 55:1

3. O coloană împachetată (5 % CW 20M, Carbopak B), 2 m × 2 mm diametru interior

Temperatură coloană:	65 °C timp de 4 min., 65-140 °C la 10 °C/min., se menține la 140 °C timp de 5 min., 140-150 °C la

coloană:	la 12 °C/min., se menține la 70 °C timp de 25 min.
Temperatură injector:	150 °C
Temperatură detector:	250 °C
Volum de injectare:	1 µl, se divizează 20 la 100:1

2. O cavitate de retenție 1 m × 0,32 mm i.d. conectată la o coloană CP-WAX 57 CB de 50 m × 0.32 mm i.d., grosimea filmului de 0,2 µm (polietilenă glicol stabilizat). (Cavitatea de retenție este conectată cu ajutorul unui conector apăsare-fixare.)

Gaz transportor și presiune:	Heliu (65 kPa)
Temperatură coloană:	35 °C timp de 10 min., 35-110 °C la 5 °C/min., 110-190 °C la 30 °C/min., se menține la 190 °C timp de 2 min.
Temperatură injector:	260 °C
Temperatură detector:	300 °C
Volum de injectare:	1 µl, se divizează 55:1

3. O coloană împachetată (5 % CW 20M, Carbopak B), 2 m × 2 mm diametru interior

Temperatură coloană:	65 °C timp de 4 min., 65-140 °C la 10 °C/min., se menține la 140 °C timp de 5 min., 140-150 °C la

	5 °C/min., se menține la 150 °C timp de 3 min.
Temperatură injector:	65 °C
Temperatură detector:	200 °C
Volum de injectare:	1 µl

7. Prelevare și probe

7.1. Probă de laborator

La primire se măsoară tăria alcoolică a fiecărei probe (6.1).

8. Mod de lucru (folosit pentru metoda validată)

8.1. Porțiune de testare

8.1.1. Se cântărește un vas de cântărire corespunzător sigilat și se notează greutatea.

8.1.2. Se pipetează 9 ml de probă de laborator în vas și se notează greutatea (MPROBĂ).

8.1.3. Se adaugă 1 ml de soluție standard E (5.14.5) și se notează greutatea (MIS).

8.1.4. Se agită puternic materialul de testare (cel puțin 20 de inversări). Probele trebuie să se păstreze la sub 5 °C înainte de analiză pentru a minimiza pierderile prin volatilizare.

8.2. Test martor

8.2.1. Folosind balanța cu patru zecimale (6.2), se cântărește vasul de cântărire corespunzător sigilat și se notează greutatea.

8.2.2. Se pipetează 9 ml de soluție de etanol 400 ml/l (5.13) și se notează greutatea.

8.2.3. Se adaugă 1 ml de soluție standard E (5.14.5) și se notează greutatea.

8.2.4. Se agită puternic materialul de testare (cel puțin 20 de inversări). Probele trebuie să se păstreze la sub 5 °C înainte de analiză pentru a minimiza pierderile prin volatilizare.

8.3. Test preliminar

	5 °C/min., se menține la 150 °C timp de 3 min.
Temperatură injector:	65 °C
Temperatură detector:	200 °C
Volum de injectare:	1 µl

7. Prelevare și probe

7.1. Probă de laborator

La primire se măsoară tăria alcoolică a fiecărei probe (6.1).

8. Mod de lucru (folosit pentru metoda validată)

8.1. Porțiune de testare

8.1.1. Se cântărește un vas de cântărire corespunzător sigilat și se notează greutatea.

8.1.2. Se pipetează 9 ml de probă de laborator în vas și se notează greutatea (MPROBĂ).

8.1.3. Se adaugă 1 ml de soluție standard E (5.14.5) și se notează greutatea (MIS).

8.1.4. Se agită puternic materialul de testare (cel puțin 20 de inversări). Probele trebuie să se păstreze la sub 5 °C înainte de analiză pentru a minimiza pierderile prin volatilizare.

8.2. Test martor

8.2.1. Folosind balanța cu patru zecimale (6.2), se cântărește vasul de cântărire corespunzător sigilat și se notează greutatea.

8.2.2. Se pipetează 9 ml de soluție de etanol 400 ml/l (5.13) și se notează greutatea.

8.2.3. Se adaugă 1 ml de soluție standard E (5.14.5) și se notează greutatea.

8.2.4. Se agită puternic materialul de testare (cel puțin 20 de inversări). Probele trebuie să se păstreze la sub 5 °C înainte de analiză pentru a minimiza pierderile prin volatilizare.

8.3. Test preliminar

Se injectează soluție standard C (5.14.3) pentru a se asigura că toți analiții sunt separați cu o rezoluție minimă de 1,3 (cu excepția 2-metilbutan-1-olului și a 3-metilbutan-1-olului). 8.4. Calibrare Calibrarea trebuie să se verifice folosind următoarea procedură. Se asigură un răspuns liniar prin analiza succesivă a trei exemplare din fiecare soluție standard de liniaritate (5.14.6.) care conține standard intern (IS). Din platourile de maxim sau vârfurile de maxim ale integratorului pentru fiecare injectare se calculează raportul R pentru fiecare congener și se realizează un grafic pentru R versus rata de concentrație a congenerului față de standardul intern (IS). Trebuie să se obțină o diagramă liniară cu un coeficient de corelare de cel puțin 0,99. $R = \frac{\text{Platou sau vârf de maxim al congenerului}}{\text{Platou sau vârf de maxim al IS}}$ $C = \frac{\text{Concentrația congenerului (µg/g)}}{\text{Concentrația IS (µg/g)}}$ **8.5. Determinarea** Se injectează soluție standard C (5.14.3) și 2 soluții standard QC (5.14.7). Se continuă cu probe necunoscute (preparate conform 8.1 și 8.2), inserând un standard QC la fiecare zece probe pentru a asigura stabilitatea analitică. Se injectează o soluție standard C (5.14.3) după fiecare 5 probe **9. Calcule** Se poate folosi un sistem automat de tratare a datelor, cu condiția ca datele să poată fi verificate cu ajutorul principiilor descrise în metoda menționată în continuare. Se măsoară fiecare platou sau vârf de maxim pentru congener și vârfurile standardului intern. 9.1. Calcularea factorului de răspuns. Din cromatograma injectării de soluție standard C (5.14.3), se calculează factorii de răspuns pentru fiecare congener	Se injectează soluție standard C (5.14.3) pentru a se asigura că toți analiții sunt separați cu o rezoluție minimă de 1,3 (cu excepția 2-metilbutan-1-olului și a 3-metilbutan-1-olului). 8.4. Calibrare Calibrarea trebuie să se verifice folosind următoarea procedură. Se asigură un răspuns liniar prin analiza succesivă a trei exemplare din fiecare soluție standard de liniaritate (5.14.6.) care conține standard intern (IS). Din platourile de maxim sau vârfurile de maxim ale integratorului pentru fiecare injectare se calculează raportul R pentru fiecare congener și se realizează un grafic pentru R versus rata de concentrație a congenerului față de standardul intern (IS). Trebuie să se obțină o diagramă liniară cu un coeficient de corelare de cel puțin 0,99. $R = \frac{Platou\ sau\ vârf\ de\ maxim\ al\ congenerului}{Platou\ sau\ vârf\ de\ maxim\ al\ IS}$ $C = \frac{Concentrația\ congenerului\ (\mu g/g)}{Concentrația\ IS\ (\mu g/g)}$ **8.5. Determinarea** Se injectează soluție standard C (5.14.3) și 2 soluții standard QC (5.14.7). Se continuă cu probe necunoscute (preparate conform 8.1 și 8.2), inserând un standard QC la fiecare zece probe pentru a asigura stabilitatea analitică. Se injectează o soluție standard C (5.14.3) după fiecare 5 probe. **9. Calcule** Se poate folosi un sistem automat de tratare a datelor, cu condiția ca datele să poată fi verificate cu ajutorul principiilor descrise în metoda menționată în continuare. Se măsoară fiecare platou sau vârf de maxim pentru congener și vârfurile standardului intern. 9.1. Calcularea factorului de răspuns. Din cromatograma injectării de soluție standard C (5.14.3), se calculează factorii de răspuns pentru fiecare congener		

folosind ecuația (1). $(1)\ \text{Factor de răspuns} = \frac{\text{Platou sau vârf de maxim IS}}{\text{Platou sau vârf de maxim al congenerului}} \times \frac{\text{Conc. Congener (µg/g)}}{\text{Conc. IS (µg/g)}}$ unde: IS=Standard intern Conc. Congener =concentrația de congener în soluția C (5.14.3) Conc. IS=concentrația standardului intern în soluția C (5.14.3). 9.1.2. Analiza probei Folosind ecuația (2) menționată în continuare, se calculează concentrația fiecărui congener din probe. $(2)\ \text{Concentrațiile de congener (µg/g)} = \frac{\text{Platou sau vârf de maxim al congenerului}}{\text{Platou sau vârf de maxim IS}} \times \frac{M_{IS}\ (g)}{M_{PROBĂ}\ (g)} \times \text{Conc. IS (µg/g)} \times \text{RF}$ unde: MPROBĂ=greutatea probei (8.1.2); MIS=greutatea standardului intern (8.1.3); Conc. IS=concentrația de standard intern în soluția E (5.14.5); RF=factor de răspuns calculat folosind ecuația 1. 9.1.3. Analiza soluției standard de control al calității Folosind ecuația (3) menționată în continuare, se calculează recuperarea procentuală a valorii țintă pentru fiecare congener în standardele de control al calității (5.14.7): $(3)\ \text{\% de recuperare a eșantionului QC} = \frac{\text{concentrația analitului în standard QC}}{\text{concentrația analitului în soluția D}} \times 100$ Concentrația analitului în standardul QC se calculează folosind ecuațiile (1) și (2) menționate anterior. 9.2. Prezentarea finală a rezultatelor Rezultatele sunt convertite din µ/g în g la 100 litri alcool absolut pentru probe, folosindu-se ecuația (4): (4) Concentrația în g la 100 litri alcool absolut = Conc. (µg/g) × ρ × 10/[tărie (% vol) × 1 000] unde ρ = densitatea în kg/m^3.	folosind ecuația (1). $(1)\ \textit{Factor de răspuns} = \frac{\textit{Platou sau vârf de maxim IS}}{\textit{Platou sau vârf de maxim al congenerului}} x \frac{\textit{Conc. Congener (µg/g)}}{\textit{Conc. IS (µg/g)}}$ unde: IS = Standard intern Conc. Congener = concentrația de congener în soluția C (5.14.3) Conc. IS = concentrația standardului intern în soluția C (5.14.3). 9.1.2. Analiza probei Folosind ecuația (2) menționată în continuare, se calculează concentrația fiecărui congener din probe. $(2)\ \textit{Concentrațiile de congener (µg/g)} = \frac{\textit{Platou sau vârf de maxim al congenerului}}{\textit{Platou sau vârf de maxim al IS}} x \frac{M_{IS}(g)}{M_{PROBĂ}(g)} x\ \textit{Conc. IS (µg/g)} x\ \textit{RF}$ unde: MPROBĂ = greutatea probei (8.1.2); MIS = greutatea standardului intern (8.1.3); Conc. IS = concentrația de standard intern în soluția E (5.14.5); RF = factor de răspuns calculat folosind ecuația 1. 9.1.3. Analiza soluției standard de control al calității Folosind ecuația (3) menționată în continuare, se calculează recuperarea procentuală a valorii țintă pentru fiecare congener în standardele de control al calității (5.14.7): $(3)\ \textit{\% de recuperare a eșantionului QC} = \frac{\textit{concentrația analitului în standard QC}}{\textit{concentrația analitului în soluția D}} x\ 100$ Concentrația analitului în standardul QC se calculează folosind ecuațiile (1) și (2) menționate anterior. 9.2. Prezentarea finală a rezultatelor Rezultatele sunt convertite din µ/g în g la 100 litri alcool absolut pentru probe, folosindu-se ecuația (4): $(4)\ \textit{Concentrația în g la 100 litri alcool absolut} = \textit{Conc.}(\mu g/g)\ x\ \varrho\ x\ 10/[\textit{tărie}\ (\%vol)\ x\ 1000]$ unde ϱ = densitatea în kg/m3.		

Rezultatele se menționează cu 3 cifre semnificative și maxim o zecimală, de exemplu, 11,4 g la 100 l alcool absolut.

10. Asigurarea calității și controlul calității (pentru metoda validată)

Cu ajutorul ecuației (2) menționate anterior se calculează concentrația fiecărui congener din soluțiile standard de control al calității preparate conform procedurii de la 8.1.1-8.1.4. Cu ajutorul ecuației (3) se calculează procentul de recuperare a valorii țintă. Dacă rezultatele analizate se încadrează în ± 10 % din valorile teoretice pentru fiecare congener, se poate începe analiza. În caz contrar, se recomandă o investigație pentru a găsi cauza inexactității și pentru a lua măsuri de remediere corespunzătoare.

11. Caracteristici de performanță ale metodei (precizia)

Rezultatele statistice ale testului interlaboratoare: tabelele următoare prezintă valorile pentru următorii compuși: etanal, acetat de etil, acetal, etanal total, metanol, butan-2-ol, propan-1-ol, butan-1-ol, 2-metil-propan-1-ol, 2 metil-butan-1-ol, 3 metil-butan-1-ol.

Următoarele date au fost obținute dintr-un studiu internațional de performanță a metodei efectuat cu proceduri acceptate la nivel internațional.

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	etanal

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	28	26	27	27	28
Numărul rezultatelor aberante	2	4	3	3	2

Rezultatele se menționează cu 3 cifre semnificative și maxim o zecimală, de exemplu, 11,4 g la 100 l alcool absolut.

10. Asigurarea calității și controlul calității (pentru metoda validată)

Cu ajutorul ecuației (2) menționate anterior se calculează concentrația fiecărui congener din soluțiile standard de control al calității preparate conform procedurii de la 8.1.1-8.1.4. Cu ajutorul ecuației (3) se calculează procentul de recuperare a valorii țintă. Dacă rezultatele analizate se încadrează în ± 10 % din valorile teoretice pentru fiecare congener, se poate începe analiza. În caz contrar, se recomandă o investigație pentru a găsi cauza inexactității și pentru a lua măsuri de remediere corespunzătoare.

11. Caracteristici de performanță ale metodei (precizia)

Rezultatele statistice ale testului interlaboratoare: tabelele următoare prezintă valorile pentru următorii compuși: etanal, acetat de etil, acetal, etanal total, metanol, butan-2-ol, propan-1-ol, butan-1-ol, 2-metil-propan-1-ol, 2 metil-butan-1-ol, 3 metil-butan-1-ol.

Următoarele date au fost obținute dintr-un studiu internațional de performanță a metodei efectuat cu proceduri acceptate la nivel internațional.

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	etanal

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	28	26	27	27	28
Numărul rezultatelor aberante	2	4	3	3	2

(laboratoare)					
Numărul rezultatelor acceptate	56	52	54	54	56
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	63,4	71,67	130,4	38,4	28,6
				13,8 (*)	52,2 (*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	3,3	1,9	6,8	4,1	3,6
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	5,2	2,6	5,2	15,8	8,9
Limită de repetabilitate (r) µg/g	9,3	5,3	19,1	11,6	10,1
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	12	14	22	6,8	8,9
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	18,9	19,4	17,1	26,2	22,2
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	33,5	38,9	62,4	19,1	25,1

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	acetat de etil

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	24	24	25	24	24

(laboratoare)					
Numărul rezultatelor acceptate	56	52	54	54	56
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	63,4	71,67	130,4	38,4	28,6
				13,8 (*)	52,2 (*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	3,3	1,9	6,8	4,1	3,6
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	5,2	2,6	5,2	15,8	8,9
Limită de repetabilitate (r) µg/g	9,3	5,3	19,1	11,6	10,1
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	12	14	22	6,8	8,9
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	18,9	19,4	17,1	26,2	22,2
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	33,5	38,9	62,4	19,1	25,1

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	acetat de etil

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	24	24	25	24	24

Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	2	2	1	2	2
Numărul rezultatelor acceptate	48	48	50	48	48
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	96,8	1 046	120,3	112,5	99,1
				91,8 (*)	117,0 (*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	2,2	15	2,6	2,1	2,6
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	2,3	1,4	2,1	2,0	2,4
Limită de repetabilitate (r) µg/g	6,2	40,7	7,2	5,8	7,3
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	6,4	79	8,2	6,2	7,1
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	6,6	7,6	6,8	6,2	6,6
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	17,9	221,9	22,9	17,5	20,0

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	acetal

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	20	21	22	17	21

Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	2	2	1	2	2
Numărul rezultatelor acceptate	48	48	50	48	48
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	96,8	1 046	120,3	112,5	99,1
				91,8 (*)	117,0 (*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	2,2	15	2,6	2,1	2,6
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	2,3	1,4	2,1	2,0	2,4
Limită de repetabilitate (r) µg/g	6,2	40,7	7,2	5,8	7,3
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	6,4	79	8,2	6,2	7,1
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	6,6	7,6	6,8	6,2	6,6
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	17,9	221,9	22,9	17,5	20,0

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	acetal

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	20	21	22	17	21

Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	4	3	2	4	3
Numărul rezultatelor acceptate	40	42	44	34	42
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	35,04	36,46	68,5	20,36	15,1
				6,60 (*)	28,3 (*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	0,58	0,84	1,6	0,82	1,9
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	1,7	2,3	2,3	6,1	8,7
Limită de repetabilitate (r) în µg/g	1,6	2,4	4,4	2,3	5,3
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	4,2	4,4	8,9	1,4	3,1
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	12,1	12,0	13,0	10,7	14,2
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	11,8	12,2	25,0	4,0	8,7

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	etanal total

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	23	19	22	21	22

Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	4	3	2	4	3
Numărul rezultatelor acceptate	40	42	44	34	42
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	35,04	36,46	68,5	20,36	15,1
				6,60 (*)	28,3 (*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	0,58	0,84	1,6	0,82	1,9
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	1,7	2,3	2,3	6,1	8,7
Limită de repetabilitate (r) în µg/g	1,6	2,4	4,4	2,3	5,3
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	4,2	4,4	8,9	1,4	3,1
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	12,1	12,0	13,0	10,7	14,2
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	11,8	12,2	25,0	4,0	8,7

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	etanal total

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	23	19	22	21	22

Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	1	5	2	3	2
Numărul rezultatelor acceptate	46	38	44	42	44
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	76,5	85,3	156,5	45,4	32,7
				15,8 (*)	61,8 (*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	3,5	1,3	6,5	4,4	3,6
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	4,6	1,5	4,2	14,2	7,6
Limită de repetabilitate (r) µg/g	9,8	3,5	18,3	12,2	10,0
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	13	15	24,1	7,3	9,0
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	16,4	17,5	15,4	23,7	19,1
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	35,2	41,8	67,4	20,3	25,2

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	metanol

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute	26	27	27	28	25

Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	1	5	2	3	2
Numărul rezultatelor acceptate	46	38	44	42	44
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	76,5	85,3	156,5	45,4	32,7
				15,8 (*)	61,8 (*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	3,5	1,3	6,5	4,4	3,6
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	4,6	1,5	4,2	14,2	7,6
Limită de repetabilitate (r) µg/g	9,8	3,5	18,3	12,2	10,0
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	13	15	24,1	7,3	9,0
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	16,4	17,5	15,4	23,7	19,1
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	35,2	41,8	67,4	20,3	25,2

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	metanol

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**

după eliminarea rezultatelor aberante					
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	4	3	3	1	4
Numărul rezultatelor acceptate	52	54	54	56	50
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	319,8	2 245	1 326	83,0	18,6
				61,5 (*)	28,9 (*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	4,4	27	22	1,5	1,3
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	1,4	1,2	1,7	2,1	5,6
Limită de repetabilitate (r) µg/g	12,3	74,4	62,5	4,3	3,8
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	13	99	60	4,5	2,8
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	3,9	4,4	4,6	6,2	11,8
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	35,2	278,3	169,1	12,5	7,9

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	4
Analit	butan-2-ol

Probe	**A**	**B**	**C**	**E**

Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	26	27	27	28	25
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	4	3	3	1	4
Numărul rezultatelor acceptate	52	54	54	56	50
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	319,8	2 245	1 326	83,0	18,6
				61,5 (*)	28,9 (*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	4,4	27	22	1,5	1,3
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	1,4	1,2	1,7	2,1	5,6
Limită de repetabilitate (r) µg/g	12,3	74,4	62,5	4,3	3,8
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	13	99	60	4,5	2,8
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	3,9	4,4	4,6	6,2	11,8
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	35,2	278,3	169,1	12,5	7,9

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	4
Analit	butan-2-ol

Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	21	27	29	22
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	4	3	1	3
Numărul rezultatelor acceptate	42	54	58	44
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	5,88	250,2	27,57	5,83
				14,12 (*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	0,40	2,2	0,87	0,64
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	6,8	0,9	3,2	6,4
Limită de repetabilitate (r) µg/g	1,1	6,1	2,5	1,8
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	0,89	13	3,2	0,87
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	15,2	5,1	11,5	8,7
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	2,5	35,5	8,9	2,4

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	propan-1-ol

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**

Probe	**A**	**B**	**C**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	21	27	29	22
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	4	3	1	3
Numărul rezultatelor acceptate	42	54	58	44
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	5,88	250,2	27,57	5,83
				14,12 (*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	0,40	2,2	0,87	0,64
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	6,8	0,9	3,2	6,4
Limită de repetabilitate (r) µg/g	1,1	6,1	2,5	1,8
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	0,89	13	3,2	0,87
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	15,2	5,1	11,5	8,7
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	2,5	35,5	8,9	2,4

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	propan-1-ol

Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	29	27	27	29	29
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	2	4	3	2	2
Numărul rezultatelor acceptate	58	54	54	58	58
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	86,4	3 541	159,1	272,1	177,1
				229,3 (*)	222,1 (*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	3,0	24	3,6	2,3	3,3
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	3,4	0,7	2,3	0,9	1,6
Limită de repetabilitate (r) µg/g	8,3	68,5	10,0	6,4	9,1
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	5,3	150	6,5	9,0	8,1
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	6,1	4,1	4,1	3,6	4,1
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	14,8	407,2	18,2	25,2	22,7

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	propan-1-ol

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	29	27	27	29	29
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	2	4	3	2	2
Numărul rezultatelor acceptate	58	54	54	58	58
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	86,4	3 541	159,1	272,1	177,1
				229,3 (*)	222,1 (*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	3,0	24	3,6	2,3	3,3
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	3,4	0,7	2,3	0,9	1,6
Limită de repetabilitate (r) µg/g	8,3	68,5	10,0	6,4	9,1
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	5,3	150	6,5	9,0	8,1
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	6,1	4,1	4,1	3,6	4,1
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	14,8	407,2	18,2	25,2	22,7

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	propan-1-ol

Probe	A	B	C
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	20	22	22
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	4	4	6
Numărul rezultatelor acceptate	40	44	44
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	3,79	5,57	7,54
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	0,43	0,20	0,43
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	11,2	3,6	5,6
Limită de repetabilitate (r) µg/g	1,1	0,6	1,2
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	0,59	0,55	0,82
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	15,7	9,8	10,8
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	1,7	1,5	2,3

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	2-metilpropan-1-ol

Probe	A	B	C	D	E

Probe	A	B	C
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	20	22	22
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	4	4	6
Numărul rezultatelor acceptate	40	44	44
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	3,79	5,57	7,54
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	0,43	0,20	0,43
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	11,2	3,6	5,6
Limită de repetabilitate (r) µg/g	1,1	0,6	1,2
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	0,59	0,55	0,82
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	15,7	9,8	10,8
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	1,7	1,5	2,3

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	2-metilpropan-1-ol

Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	28	31	30	26	25
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	3	0	1	5	6
Numărul rezultatelor acceptate	56	62	60	52	50
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	174,2	111,7	185,0	291,0	115,99
				246,8 (*)	133,87 (*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	2,3	1,6	2,5	1,8	0,74
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	1,3	1,4	1,3	0,7	0,6
Limită de repetabilitate (r) µg/g	6,4	4,5	6,9	5,0	2,1
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	8,9	8,9	9,7	6,0	6,2
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	5,1	8,0	5,2	2,2	5,0
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	24,9	24,9	27,2	16,9	17,4

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	2-metil-butan-1-ol

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	28	31	30	26	25
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	3	0	1	5	6
Numărul rezultatelor acceptate	56	62	60	52	50
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	174,2	111,7	185,0	291,0	115,99
				246,8 (*)	133,87 (*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	2,3	1,6	2,5	1,8	0,74
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	1,3	1,4	1,3	0,7	0,6
Limită de repetabilitate (r) µg/g	6,4	4,5	6,9	5,0	2,1
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	8,9	8,9	9,7	6,0	6,2
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	5,1	8,0	5,2	2,2	5,0
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	24,9	24,9	27,2	16,9	17,4

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	2-metil-butan-1-ol

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	25	26	25	27	25
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	3	2	3	1	2
Numărul rezultatelor acceptate	50	52	50	54	50
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	113,0	48,3	91,6	72,1	39,5
				45,2 (*)	61,5 (*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	2,1	1,5	1,7	2,3	2,3
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	1,9	3,1	1,8	3,9	4,5
Limită de repetabilitate (r) µg/g	6,0	4,2	4,7	6,4	6,3
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	7,4	3,8	6,6	4,7	4,5
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	6,6	7,9	7,2	8,1	8,8
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	20,8	10,7	18,4	13,3	12,5

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	3-metil-butan-1-ol

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	25	26	25	27	25
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	3	2	3	1	2
Numărul rezultatelor acceptate	50	52	50	54	50
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	113,0	48,3	91,6	72,1	39,5
				45,2 (*)	61,5 (*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	2,1	1,5	1,7	2,3	2,3
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	1,9	3,1	1,8	3,9	4,5
Limită de repetabilitate (r) µg/g	6,0	4,2	4,7	6,4	6,3
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	7,4	3,8	6,6	4,7	4,5
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	6,6	7,9	7,2	8,1	8,8
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	20,8	10,7	18,4	13,3	12,5

Anul testului interlaboratoare	1997
Numărul de laboratoare	32
Numărul de probe	5
Analit	3-metil-butan-1-ol

Probe	A	B	C	D	E
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	23	23	24	27	21
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	5	5	4	1	6
Numărul rezultatelor acceptate	46	46	48	54	42
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	459,4	242,7	288,4	142,2	212,3
				120,4 (*)	245,6 (*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	5,0	2,4	3,4	2,4	3,2
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	1,1	1,0	1,2	1,8	1,4
Limită de repetabilitate (r) µg/g	13,9	6,6	9,6	6,6	9,1
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	29,8	13	21	8,5	6,7
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	6,5	5,2	7,3	6,5	2,9
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	83,4	35,4	58,8	23,8	18,7

Probe	A	B	C	D	E
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor aberante	23	23	24	27	21
Numărul rezultatelor aberante (laboratoare)	5	5	4	1	6
Numărul rezultatelor acceptate	46	46	48	54	42
Valoarea medie ($\bar{x}$) µg/g	459,4	242,7	288,4	142,2	212,3
				120,4 (*)	245,6 (*)
Deviație standard de repetabilitate (S_r) µg/g	5,0	2,4	3,4	2,4	3,2
Deviația standard relativă de repetabilitate (RSD_r) (%)	1,1	1,0	1,2	1,8	1,4
Limită de repetabilitate (r) µg/g	13,9	6,6	9,6	6,6	9,1
Deviația standard de reproductibilitate (S_R) µg/g	29,8	13	21	8,5	6,7
Deviația standard relativă de reproductibilitate (RSD_R) (%)	6,5	5,2	7,3	6,5	2,9
Limita de reproductibilitate (R) µg/g	83,4	35,4	58,8	23,8	18,7

III.3. DETERMINAREA ACIDITĂȚII VOLATILE A	**III.3. DETERMINAREA ACIDITĂȚII VOLATILE A**	**Compatibil**	

BĂUTURILOR SPIRTOASE **1. Domeniu de aplicare** Metoda a fost validată printr-un test interlaboratoare pe rom, brandy, rachiu de tescovină și rachiu de fructe, la niveluri variind între la 30 mg/l și 641 mg/l. **2. Referințe normative** ISO 3696: 1987 Apă pentru uzul laboratoarelor de analiză – Specificații și metode de testare. **3. Definiții** 3.1.Aciditatea volatilă se calculează prin scăderea acidității fixe din aciditatea totală. 3.2.Aciditatea totală reprezintă suma acidităților titrabile. 3.3.Aciditatea fixă reprezintă aciditatea reziduului rămas după evaporarea până la uscare a băuturii spirtoase. **4. Principiu** Aciditatea totală și aciditatea fixă sunt determinate prin titrare sau prin potențiometrie. **5. Reactivi și materiale** Pe durata analizei, dacă nu se specifică altfel, se utilizează doar reactivi cu grad analitic recunoscut și apă de cel puțin gradul 3, conform definiției din ISO 3696:1987. 5.1.Soluție de hidroxid de sodiu (NaOH) 0,01 M 5.2.Soluție indicator mixt: Se cântărește 0,1 g de carmin indigo și 0,1 g de roșu de fenol. Se dizolvă în 40 ml apă și se completează până la 100 ml cu etanol. **6. Aparatură și echipamente** Aparatură indirectă de laborator, sticlărie gradată A și următoarele: 6.1. Pompă de apă 6.2. Evaporator de tip rotativ sau o baie cu ultrasunete 6.3. Echipament pentru titrate potențiometrică (opțional) **7. Prelevare și probe** Probele se depozitează la temperatura camerei înainte de analiză. **8. Mod de lucru** **8.1. Aciditate totală**	**BĂUTURILOR SPIRTOASE** **1. Domeniu de aplicare** Metoda a fost validată printr-un test interlaboratoare pe rom, brandy, rachiu de tescovină și rachiu de fructe, la niveluri variind între la 30 mg/l și 641 mg/l. **2. Referințe normative** ISO 3696 - Apă pentru uzul laboratoarelor de analiză – Specificații și metode de testare. **3. Definiții** 3.1. aciditatea volatilă se calculează prin scăderea acidității fixe din aciditatea totală. 3.2. aciditatea totală reprezintă suma acidităților titrabile. 3.3. aciditatea fixă reprezintă aciditatea reziduului rămas după evaporarea până la uscare a băuturii spirtoase. **4. Principiu** Aciditatea totală și aciditatea fixă sunt determinate prin titrare sau prin potențiometrie. **5. Reactivi și materiale** Pe durata analizei, dacă nu se specifică altfel, se utilizează doar reactivi cu grad analitic recunoscut și apă de cel puțin gradul 3, conform definiției din ISO 3696. 5.1. soluție de hidroxid de sodiu (NaOH) 0,01 M **5.2. soluție indicator mixt:** Se cântărește 0,1 g de carmin indigo și 0,1 g de roșu de fenol. Se dizolvă în 40 ml apă și se completează până la 100 ml cu etanol. **6. Aparatură și echipamente** Aparatură indirectă de laborator, sticlărie gradată A și următoarele: 6.1. Pompă de apă 6.2. Evaporator de tip rotativ sau o baie cu ultrasunete 6.3. Echipament pentru titrate potențiometrică (opțional) 7. Prelevare și probe Probele se depozitează la temperatura camerei înainte de analiză. **8. Mod de lucru** **8.1. Aciditate totală**		

8.1.1. Pregătirea probei Băutura spirtoasă se iradiază cu ultrasunete (ultrasonicare) sau se agită timp de două minute în vid pentru a se elimina dioxidul de carbon, dacă este necesar. **8.1.2. Titrare** Se pipetează 25 ml din băutura spirtoasă într-un balon Erlenmeyer de 500 ml. Se adaugă aproximativ 200 ml de apă distilată fiartă și răcită (proaspăt pregătită zilnic) și 2-6 picături de soluție indicator mixt (5.2). Se titrează cu soluție de hidroxid de sodiu 0,01 M (5.1) până când culoarea galben-verzui devine violet în cazul băuturii spirtoase incolore și, respectiv, culoarea galben-maroniu devine roșu-maroniu în cazul băuturii spirtoase maronii. Titrarea se poate realiza, de asemenea, prin potențiometrie, până la pH 7,5. Se notează cu n1 ml volumul soluției de hidroxid de sodiu 0,01 M adăugate. **8.1.3. Calculare** Aciditatea totală (AT), exprimată în miliechivalenți pe litru de băutură spirtoasă, este egală cu 0,4 × n1. Aciditatea totală (AT′), exprimată în miligrame de acid acetic pe litru de băutură spirtoasă, este egală cu 24 × n1. **8.2. Aciditate fixă** **8.2.1. Pregătirea probei** Se lasă să se evapore 25 ml din băutura spirtoasă până la uscare: Se pipetează 25 ml din băutura spirtoasă într-o placă cilindrică de evaporare cu fundul plat cu diametru de 55 mm. În timpul primei ore de evaporare, placa de evaporare se plasează pe capacul unei băi de apă la fierbere în așa fel încât lichidul să nu fiarbă, întrucât fierberea ar conduce la pierderi prin stropire. Se finalizează uscarea așezând placa de evaporare într-un cuptor de uscare la 105 °C timp de două ore. Se lasă placa de evaporare să se răcească într-un desicator. **8.2.2. Titrare**	**8.1.1. Pregătirea probei** Băutura spirtoasă se iradiază cu ultrasunete (ultrasonicare) sau se agită timp de două minute în vid pentru a se elimina dioxidul de carbon, dacă este necesar. **8.1.2. Titrare** Se pipetează 25 ml din băutura spirtoasă într-un balon Erlenmeyer de 500 ml. Se adaugă aproximativ 200 ml de apă distilată fiartă și răcită (proaspăt pregătită zilnic) și 2-6 picături de soluție indicator mixt (5.2). Se titrează cu soluție de hidroxid de sodiu 0,01 M (5.1) până când culoarea galben-verzui devine violet în cazul băuturii spirtoase incolore și, respectiv, culoarea galben-maroniu devine roșu-maroniu în cazul băuturii spirtoase maronii. Titrarea se poate realiza, de asemenea, prin potențiometrie, până la pH 7,5. Se notează cu n1 ml volumul soluției de hidroxid de sodiu 0,01 M adăugate. **8.1.3. Calculare** Aciditatea totală (AT), exprimată în miliechivalenți pe litru de băutură spirtoasă, este egală cu 0,4 × n1. Aciditatea totală (AT′), exprimată în miligrame de acid acetic pe litru de băutură spirtoasă, este egală cu 24 × n1. **8.2. Aciditate fixă** **8.2.1. Pregătirea probei** Se lasă să se evapore 25 ml din băutura spirtoasă până la uscare: Se pipetează 25 ml din băutura spirtoasă într-o placă cilindrică de evaporare cu fundul plat cu diametru de 55 mm. În timpul primei ore de evaporare, placa de evaporare se plasează pe capacul unei băi de apă la fierbere în așa fel încât lichidul să nu fiarbă, întrucât fierberea ar conduce la pierderi prin stropire. Se finalizează uscarea așezând placa de evaporare într-un cuptor de uscare la 105 °C timp de două ore. Se lasă placa de evaporare să se răcească într-un desicator. **8.2.2. Titrare**		

Se dizolvă reziduul rămas după evaporarea cu apă distilată fiartă și răcită (proaspăt pregătită zilnic), se completează până la un volum de circa 100 ml și se adaugă 2-6 picături de soluție indicator mixt (5.2). Se titrează cu soluție de hidroxid de sodiu 0,01 M (5.1). Titrarea se poate realiza, de asemenea, prin potențiometrie, până la pH 7,5. Se notează cu n2 ml volumul soluției de hidroxid de sodiu 0,01 M adăugate. **8.2.3. Calculare** Aciditatea fixă (AF), exprimată în miliechivalenți pe litru de băutură spirtoasă, este egală cu 0,4 × n2. Aciditatea fixă (AF), exprimată în miligrame de acid acetic pe litru de băutură spirtoasă, este egală cu 24 × n2. **9. Calcularea acidității volatile** **9.1.Se exprimă în miliechivalenți pe litru:** Fie: AT=aciditatea totală în miliechivalenți pe litru AF=aciditatea fixă în miliechivalenți pe litru Aciditatea volatilă, AV, în miliechivalenți pe litru, este egală cu: AT – AF **9.2.Se exprimă în miligrame de acid acetic pe** litru: Fie: AT′=aciditatea totală în miligrame de acid acetic pe litru AF′=aciditatea fixă în miligrame de acid acetic pe litru Aciditatea volatilă, AV, în miligrame de acid acetic pe litru, este egală cu: AT′ – AF′ **9.3.Se exprimă în grame de acid acetic pe hl de alcool pur 100 % vol și este egală cu:** $\frac{TA' - FA'}{A} \times 10$ unde A este tăria alcoolică în volume a băuturii spirtoase. **10. Caracteristici de performanță ale metodei**	Se dizolvă reziduul rămas după evaporarea cu apă distilată fiartă și răcită (proaspăt pregătită zilnic), se completează până la un volum de circa 100 ml și se adaugă 2-6 picături de soluție indicator mixt (5.2). Se titrează cu soluție de hidroxid de sodiu 0,01 M (5.1). Titrarea se poate realiza, de asemenea, prin potențiometrie, până la pH 7,5. Se notează cu n2 ml volumul soluției de hidroxid de sodiu 0,01 M adăugate. **8.2.3. Calculare** Aciditatea fixă (AF), exprimată în miliechivalenți pe litru de băutură spirtoasă, este egală cu 0,4 × n2. Aciditatea fixă (AF), exprimată în miligrame de acid acetic pe litru de băutură spirtoasă, este egală cu 24 × n2. **9. Calcularea acidității volatile** **9.1. Se exprimă în miliechivalenți pe litru:** Fie: AT = aciditatea totală în miliechivalenți pe litru AF = aciditatea fixă în miliechivalenți pe litru Aciditatea volatilă, AV, în miliechivalenți pe litru, este egală cu: AT – AF **9.2. Se exprimă în miligrame de acid acetic pe litru:** Fie: AT′ = aciditatea totală în miligrame de acid acetic pe litru AF′ = aciditatea fixă în miligrame de acid acetic pe litru Aciditatea volatilă, AV, în miligrame de acid acetic pe litru, este egală cu: AT′ – AF′ **9.3. Se exprimă în grame de acid acetic pe hl de alcool pur 100 % vol și este egală cu:** $\frac{TA' - FA'}{A} x\ 10$ unde A este tăria alcoolică în volume a băuturii spirtoase. **10. Caracteristici de performanță ale metodei (precizia)**		

(precizia)

10.1. **Rezultate statistice ale testului interlaboratoare**

Următoarele date au fost obținute dintr-un studiu internațional de performanță a metodei efectuat cu proceduri acceptate la nivel internațional [1] [2].

Anul testului interlaboratoare	**2000**
Numărul de laboratoare	18
Numărul de probe	6

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**	**F**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	16	18	18	14	18	18
Numărul rezultatelor excepționale (laboratoare)	2			4		
Numărul rezultatelor acceptate	32	36	36	28	36	36
Mean value $\bar{x}$ [mg/L]	272 * 241 *	30	591 * 641 *	46	107	492
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	8,0	3,6	15,0	3,7	6,7	8,5
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSDr [%]	3,1	11,8	2,4	8,0	6,2	1,7
Limită de repetabilitate, r [mg/L]	23	10	42	10	19	24
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/L]	8,5	8,4	25,0	4,55	13,4	24,4
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	3,3	27,8	4,1	9,9	12,5	5,0

10.1. Rezultate statistice ale testului interlaboratoare

Următoarele date au fost obținute dintr-un studiu internațional de performanță a metodei efectuat cu proceduri acceptate la nivel internațional [1] [2].

Anul testului interlaboratoare	**2000**
Numărul de laboratoare	18
Numărul de probe	6

Probe	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**	**F**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	16	18	18	14	18	18
Numărul rezultatelor excepționale (laboratoare)	2			4		
Numărul rezultatelor acceptate	32	36	36	28	36	36
Mean value $\bar{x}$ [mg/L]	272 * 241 *	30	591 * 641 *	46	107	492
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	8,0	3,6	15,0	3,7	6,7	8,5
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSDr [%]	3,1	11,8	2,4	8,0	6,2	1,7
Limită de repetabilitate, r [mg/L]	23	10	42	10	19	24
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/L]	8,5	8,4	25,0	4,55	13,4	24,4
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	3,3	27,8	4,1	9,9	12,5	5,0

Limita de reproductibilitate, R [mg/L]	24	23	70	13	38	68

Tipuri de probe:
A Rachiu de prune; nivel de ramificare *
B Rom I; duplicate oarbe
C Rom II; nivel de ramificare*
D Șliboviță; duplicate oarbe
E Brandy; duplicate oarbe
F Rachiu de tescovină; duplicate oarbe

[1] „Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method- Performance Studies”, Horwitz, W. (1995) Pure and Applied Chemistry 67, 332-343.
[2] Horwitz, W. (1982) Analytical Chemistry 54, 67A-76A

Limita de reproductibilitate, R [mg/L]	24	23	70	13	38	68

Tipuri de probe:
A Rachiu de prune; nivel de ramificare *
B Rom I; duplicate oarbe
C Rom II; nivel de ramificare*
D Șliboviță; duplicate oarbe
E Brandy; duplicate oarbe
F Rachiu de tescovină; duplicate oarbe

[1] „Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method- Performance Studies”, Horwitz, W. (1995) Pure and Applied Chemistry 67, 332-343.
[2] Horwitz, W. (1982) Analytical Chemistry 54, 67A-76A

V. ANETOL. DETERMINAREA TRANS-ANETOLULUI ÎN BĂUTURILE SPIRTOASE PRIN CROMATOGRAFIE ÎN FAZĂ GAZOASĂ

1. Domeniu de aplicare

Prezenta metodă este adecvată pentru determinarea trans-anetolului în băuturile spirtoase cu aromă de anason prin cromatografie capilară în fază gazoasă.

2. Referințe normative

ISO 3696: 1987 Apă pentru utilizare analitică de laborator – Caracteristici și metode de testare.

3. Principiu

Concentrația în trans-anetol a băuturii spirtoase se determină prin cromatografie în fază gazoasă (GC). După adăugarea aceleiași cantități de etalon intern, de exemplu 4-alilanisol (estragol), când estragolul nu este prezent în mod natural în eșantion, eșantionul de testare, pe de o parte, și soluția de referință conținând trans-anetol de concentrație cunoscută, pe de altă parte, ambele se diluează apoi cu ajutorul unei soluții de etanol de 45 % și se injectează direct în cromatograf. Este necesară o extracție înainte de prepararea și analiza eșantionului pentru băuturile spirtoase cu o concentrație mare în glucide.

IV. ANETOL. DETERMINAREA TRANS-ANETOLULUI ÎN BĂUTURILE SPIRTOASE PRIN CROMATOGRAFIE ÎN FAZĂ GAZOASĂ

1. Domeniu de aplicare

Prezenta metodă este adecvată pentru determinarea trans-anetolului în băuturile spirtoase cu aromă de anason prin cromatografie capilară în fază gazoasă.

2. Referințe normative

ISO 3696 - Apă pentru utilizare analitică de laborator – Caracteristici și metode de testare.

3. Principiu

Concentrația în trans-anetol a băuturii spirtoase se determină prin cromatografie în fază gazoasă (GC). După adăugarea aceleiași cantități de etalon intern, de exemplu 4-alilanisol (estragol), când estragolul nu este prezent în mod natural în eșantion, eșantionul de testare, pe de o parte, și soluția de referință conținând trans-anetol de concentrație cunoscută, pe de altă parte, ambele se diluează apoi cu ajutorul unei soluții de etanol de 45 % și se injectează direct în cromatograf. Este necesară o extracție înainte de prepararea și analiza eșantionului pentru băuturile spirtoase cu o concentrație mare în glucide.

Compatibil

4. Reactivi și materiale În cursul analizei, se utilizează exclusiv reactivi de o puritate de minimum 98 % și apă din minimum clasa 3, în conformitate cu definiția standardului ISO 3696. Substanțele de referință trebuie păstrate la rece (aproximativ 4 °C), la adăpost de lumină, în recipiente de aluminiu sau flacoane speciale din sticlă colorată (brună) pentru reactivi. Dopurile trebuie prevăzute, de preferință, cu un dispozitiv de etanșare din aluminiu. Trans-anetolul trebuie „decongelat" din starea sa cristalină înainte de utilizare, dar în nici un caz temperatura sa nu trebuie să depășească 35 °C. 4.1.Etanol de 96 % vol. (CAS 64-17-5) 4.2.1-metoxi-4-(1-propenil) benzen; (trans-anetol) (CAS 4180-23-8) 4.3.Etalon intern propus: 4-alilanisol, (estragol) (CAS 140-67-0) 4.4.Etanol de 45 % vol. Se adaugă 560 g de apă distilată la 378 g de etanol de 96 % vol. 4.5.Prepararea soluțiilor etalon Toate soluțiile etalon trebuie păstrate la temperatura camerei (15-35 °C), la adăpost de lumină, în recipiente de aluminiu sau flacoane din sticlă colorată (brună) pentru reactivi. Dopurile trebuie prevăzute, de preferință, cu un dispozitiv de etanșare din aluminiu. Trans-anetolul și 4-alilanisolul sunt practic insolubile în apă, de aceea este necesar să fie dizolvate în puțin etanol de 96 % (punctul 4.1) înainte de adăugarea etanolului de 45 % (punctul 4.4). Soluțiile-mamă trebuie reînnoite săptămânal. **4.5.1. Soluția etalon A** Soluție-mamă de trans-anetol (concentrație: 2 g/l) Se cântăresc 40 mg de trans-anetol (punctul 4.2) într-un balon gradat de 20 ml (sau 400 mg în 200 ml etc.). Se adaugă puțin etanol de 96 % (punctul 4.1) și se completează la capacitate cu etanol de 45 % vol. (punctul 4.4). Se amestecă bine.	**4. Reactivi și materiale** În cursul analizei, se utilizează exclusiv reactivi de o puritate de minimum 98 % și apă din minimum clasa 3, în conformitate cu definiția standardului ISO 3696. Substanțele de referință trebuie păstrate la rece (aproximativ 4 °C), la adăpost de lumină, în recipiente de aluminiu sau flacoane speciale din sticlă colorată (brună) pentru reactivi. Dopurile trebuie prevăzute, de preferință, cu un dispozitiv de etanșare din aluminiu. Trans-anetolul trebuie „decongelat" din starea sa cristalină înainte de utilizare, dar în nici un caz temperatura sa nu trebuie să depășească 35 °C. 4.1. Etanol de 96 % vol. (CAS 64-17-5) 4.2. 1-metoxi-4-(1-propenil) benzen; (trans-anetol) (CAS 4180-23-8) 4.3. Etalon intern propus: 4-alilanisol, (estragol) (CAS 140-67-0) 4.4. Etanol de 45 % vol. Se adaugă 560 g de apă distilată la 378 g de etanol de 96 % vol. 4.5. Prepararea soluțiilor etalon Toate soluțiile etalon trebuie păstrate la temperatura camerei (15-35 °C), la adăpost de lumină, în recipiente de aluminiu sau flacoane din sticlă colorată (brună) pentru reactivi. Dopurile trebuie prevăzute, de preferință, cu un dispozitiv de etanșare din aluminiu. Trans-anetolul și 4-alilanisolul sunt practic insolubile în apă, de aceea este necesar să fie dizolvate în puțin etanol de 96 % (punctul 4.1) înainte de adăugarea etanolului de 45 % (punctul 4.4). Soluțiile-mamă trebuie reînnoite săptămânal. **4.5.1. Soluția etalon A** Soluție-mamă de trans-anetol (concentrație: 2 g/l) Se cântăresc 40 mg de trans-anetol (punctul 4.2) într-un balon gradat de 20 ml (sau 400 mg în 200 ml etc.). Se adaugă puțin etanol de 96 % (punctul 4.1) și se completează la capacitate cu etanol de 45 % vol. (punctul 4.4). Se amestecă bine.		

4.5.2. Soluția etalon intern B Soluție-mamă de etalon intern, de exemplu de estragol (concentrație: 2 g/l) Se cântăresc 40 mg de estragol (vezi punctul 4.3) într-un balon gradat de 20 ml (sau 400 mg în 200 ml etc.). Se adaugă puțin etanol de 96 % (punctul 4.1) și se completează la capacitate cu etanol de 45 % vol. (punctul 4.4). Se amestecă bine. **4.5.3. Soluții utilizate pentru verificarea liniarității răspunsului detectorului cu ionizare în flacără** Răspunsul privind linearitatea la detectorul cu ionizare în flacără trebuie controlat în vederea analizei pentru o serie de concentrații a trans-anetolului din băuturile spirtoase de la 0 g/l până la 2,5 g/l. În timpul procedurii de analiză, eșantioanele necunoscute de băuturi spirtoase ce trebuie analizate se diluează de 10 ori (punctul 8.3). Pentru condițiile analizei descrise în prezenta metodă, soluțiile-mamă ce corespund unor concentrații de 0, 0,05, 0,1, 0,15, 0,2 și 0,25 g/l de trans-anetol în eșantionul de analizat se prepară după cum urmează: se prelevează cu ajutorul pipetelor 0,5, 1, 1,5, 2 și 2,5 ml de soluție-mamă A (punctul 4.5.1) și se introduc prelevările în baloane gradate separate de 20 ml. În fiecare balon, se introduc cu o pipetă 2 ml de soluție etalon intern B (punctul 4.5.2) și se completează la capacitate cu etanol de 45 % vol. Se amestecă bine. Se utilizează soluția martor (punctul 8.4) ca soluție de 0 g/l**.** **4.5.4. Soluția etalon C** Se introduc cu pipeta 2 ml de soluție etalon A (punctul 4.5.1) într-un balon gradat de 20 ml, se adaugă 2 ml de soluție etalon intern B (punctul 4.5.2) și se completează la capacitate cu etanol de 45 % vol. (punctul 4.4). Se amestecă bine. **5. Aparatură și echipamente** 5.1. Cromatograf în fază gazoasă, dotat cu un detector cu ionizare în flacără și cu un integrator sau orice alt sistem de colectare și de gestionare a datelor capabil să măsoare ariile sau înălțimile vârfului și echipat cu un dispozitiv automat	**4.5.2. Soluția etalon intern B** Soluție-mamă de etalon intern, de exemplu de estragol (concentrație: 2 g/l) Se cântăresc 40 mg de estragol (vezi punctul 4.3) într-un balon gradat de 20 ml (sau 400 mg în 200 ml etc.). Se adaugă puțin etanol de 96 % (punctul 4.1) și se completează la capacitate cu etanol de 45 % vol. (punctul 4.4). Se amestecă bine. **4.5.3. Soluții utilizate pentru verificarea liniarității răspunsului detectorului cu ionizare în flacără** Răspunsul privind linearitatea la detectorul cu ionizare în flacără trebuie controlat în vederea analizei pentru o serie de concentrații a trans-anetolului din băuturile spirtoase de la 0 g/l până la 2,5 g/l. În timpul procedurii de analiză, eșantioanele necunoscute de băuturi spirtoase ce trebuie analizate se diluează de 10 ori (punctul 8.3). Pentru condițiile analizei descrise în prezenta metodă, soluțiile-mamă ce corespund unor concentrații de 0, 0,05, 0,1, 0,15, 0,2 și 0,25 g/l de trans-anetol în eșantionul de analizat se prepară după cum urmează: se prelevează cu ajutorul pipetelor 0,5, 1, 1,5, 2 și 2,5 ml de soluție-mamă A (punctul 4.5.1) și se introduc prelevările în baloane gradate separate de 20 ml. În fiecare balon, se introduc cu o pipetă 2 ml de soluție etalon intern B (punctul 4.5.2) și se completează la capacitate cu etanol de 45 % vol. Se amestecă bine. Se utilizează soluția martor (punctul 8.4) ca soluție de 0 g/l. **4.5.4. Soluția etalon C** Se introduc cu pipeta 2 ml de soluție etalon A (punctul 4.5.1) într-un balon gradat de 20 ml, se adaugă 2 ml de soluție etalon intern B (punctul 4.5.2) și se completează la capacitate cu etanol de 45 % vol. (punctul 4.4). Se amestecă bine. **5. Aparatură și echipamente** 5.1. Cromatograf în fază gazoasă, dotat cu un detector cu ionizare în flacără și cu un integrator sau orice alt sistem de colectare și de gestionare a datelor capabil să măsoare ariile sau înălțimile vârfului și echipat cu un dispozitiv		

de eșantionare sau cu aparatele necesare pentru injectarea manuală a eșantionului. 5.2. Injector divizat/nedivizat 5.3. Coloană cromatografică capilară cu următoarele caracteristici, de exemplu: lungime: 50 m, diametru intern: 0,32 mm, grosimea filmului: 0,2 µm fază staționară: FFAP – polimer poros reticulat din polietilen glicol modificat cu TPA. 5.4. Materiale de laborator de utilizare curentă: sticlărie gradată de precizie A, balanță de analiză (precizie: ± 0,1 mg). **6. Condiții de desfășurare a cromatografiei în fază gazoasă** Tipul și dimensiunile coloanei, precum și condițiile de operare ale cromatografiei în fază gazoasă trebuie să permită separarea anetolului de etalonul intern și de orice altă substanță ce ar putea interveni. Condițiile tipice de lucru pentru coloana prezentată ca exemplu la punctul 5.3 sunt următoarele: 6.1. gaz transportor: heliu analitic 6.2. debit: 2 ml/min 6.3. temperatura injectorului: 250 °C 6.4. temperatura detectorului: 250 °C 6.5. condiții de temperatură ale cuptorului: palier izoterm la 180 °C timp de 10 minute 6.6. volum de injectare: 1 µl, raport 1:40. **7. Eșantioane** Eșantioanele trebuie păstrate la temperatura camerei, ferite de lumină și de frig. **8. Mod de lucru** **8.1. Căutarea prezenței eventuale a estragolului în eșantion** Pentru a se asigura că eșantionul nu conține în mod natural estragol, este necesar să se efectueze o analiză martor fără adăugarea vreunui etalon intern. Dacă eșantionul conține în mod natural estragol, atunci se alege alt etalon intern (de	automat de eșantionare sau cu aparatele necesare pentru injectarea manuală a eșantionului. 5.2. Injector divizat/nedivizat 5.3. Coloană cromatografică capilară cu următoarele caracteristici, de exemplu: lungime: 50 m, diametru intern: 0,32 mm, grosimea filmului: 0,2 µm fază staționară: FFAP – polimer poros reticulat din polietilen glicol modificat cu TPA. 5.4. Materiale de laborator de utilizare curentă: sticlărie gradată de precizie A, balanță de analiză (precizie: ± 0,1 mg). **6. Condiții de desfășurare a cromatografiei în fază gazoasă** Tipul și dimensiunile coloanei, precum și condițiile de operare ale cromatografiei în fază gazoasă trebuie să permită separarea anetolului de etalonul intern și de orice altă substanță ce ar putea interveni. Condițiile tipice de lucru pentru coloana prezentată ca exemplu la punctul 5.3 sunt următoarele: 6.1. gaz transportor: heliu analitic 6.2. debit: 2 ml/min 6.3. temperatura injectorului: 250 °C 6.4. temperatura detectorului: 250 °C 6.5. condiții de temperatură ale cuptorului: palier izoterm la 180 °C timp de 10 minute 6.6. volum de injectare: 1 µl, raport 1:40. **7. Eșantioane** Eșantioanele trebuie păstrate la temperatura camerei, ferite de lumină și de frig. **8. Mod de lucru** **8.1. Căutarea prezenței eventuale a estragolului în eșantion** Pentru a se asigura că eșantionul nu conține în mod natural estragol, este necesar să se efectueze o analiză martor fără adăugarea vreunui etalon intern. Dacă eșantionul conține în mod natural estragol, atunci se alege alt etalon intern (de		

exemplu, mentolul). Se introduc cu o pipetă 2 ml de eșantion într-un balon gradat de 20 ml și se completează la capacitate cu etanol de 45 % vol. (punctul 4.4). Se amestecă bine. **8.2. Prepararea eșantioanelor necunoscute** Se introduc cu o pipetă 2 ml de eșantion într-un balon gradat de 20 ml, apoi se adaugă 2 ml de soluție etalon intern B (punctul 4.5.2) și se completează la capacitate cu etanol de 45 % vol. (punctul 4.4). Se amestecă bine. **8.3. Analiză martor** Se introduc cu o pipetă 2 ml de soluție etalon intern B (punctul 4.5.2) într-un balon gradat de 20 ml și se completează la capacitate cu etanol de 45 % vol. (punctul 4.4). Se amestecă bine. **8.4. Test de linearitate** Înainte de începerea analizei, trebuie verificată linearitatea răspunsului detectorului cu ionizare în flacără, analizând de trei ori succesiv fiecare dintre soluțiile etalon pentru controlarea liniarității (punctul 4.5.3). De la ariile sau înălțimile vârfului integratorului, pentru fiecare injectare, se reprezintă grafic concentrația în g/l a soluției-mamă corespunzătoare în funcție de raportul R. R = aria sau înălțimea vârfului trans-anetolului împărțită la înălțimea sau aria vârfului estragolului. Se obține o reprezentare lineară. **8.5. Determinare** Se injectează soluția martor (punctul 8.3), apoi soluția etalon C (punctul 4.5.4), urmată de unul dintre etaloanele de linearitate (punctul 4.5.3) care va servi drept eșantion de control al calității (acesta se poate alege cu referire la concentrația probabilă a trans-anetolului în eșantionul necunoscut), apoi cinci eșantioane necunoscute (punctul 8.2). Pentru a asigura stabilitatea analitică, se introduce un eșantion de control al liniarității (de control al calității) după fiecare serie de cinci eșantioane necunoscute. **9. Calcularea factorului de răspuns** Se măsoară ariile vârfului (utilizând un integrator sau alt sistem de colectare și de gestionare a datelor) sau înălțimile	exemplu, mentolul). Se introduc cu o pipetă 2 ml de eșantion într-un balon gradat de 20 ml și se completează la capacitate cu etanol de 45 % vol. (punctul 4.4). Se amestecă bine. **8.2. Prepararea eșantioanelor necunoscute** Se introduc cu o pipetă 2 ml de eșantion într-un balon gradat de 20 ml, apoi se adaugă 2 ml de soluție etalon intern B (punctul 4.5.2) și se completează la capacitate cu etanol de 45 % vol. (punctul 4.4). Se amestecă bine. **8.3. Analiză martor** Se introduc cu o pipetă 2 ml de soluție etalon intern B (punctul 4.5.2) într-un balon gradat de 20 ml și se completează la capacitate cu etanol de 45 % vol. (punctul 4.4). Se amestecă bine. **8.4. Test de linearitate** Înainte de începerea analizei, trebuie verificată linearitatea răspunsului detectorului cu ionizare în flacără, analizând de trei ori succesiv fiecare dintre soluțiile etalon pentru controlarea liniarității (punctul 4.5.3). De la ariile sau înălțimile vârfului integratorului, pentru fiecare injectare, se reprezintă grafic concentrația în g/l a soluției-mamă corespunzătoare în funcție de raportul R. R = aria sau înălțimea vârfului trans-anetolului împărțită la înălțimea sau aria vârfului estragolului. Se obține o reprezentare lineară. **8.5. Determinare** Se injectează soluția martor (punctul 8.3), apoi soluția etalon C (punctul 4.5.4), urmată de unul dintre etaloanele de linearitate (punctul 4.5.3) care va servi drept eșantion de control al calității (acesta se poate alege cu referire la concentrația probabilă a trans-anetolului în eșantionul necunoscut), apoi cinci eșantioane necunoscute (punctul 8.2). Pentru a asigura stabilitatea analitică, se introduce un eșantion de control al liniarității (de control al calității) după fiecare serie de cinci eșantioane necunoscute. **9. Calcularea factorului de răspuns** Se măsoară ariile vârfului (utilizând un integrator sau alt sistem de colectare și de gestionare a datelor) sau înălțimile		

vârfului (integrare manuală) pentru trans-anetol și pentru etalonul intern. **9.1. Calcularea factorului de răspuns (RFi)** Factorul de răspuns se calculează în următorul mod: RFi = (Ci/aria sau înălțimeai) * (aria sau înălțimeais/Cis) unde: Ci este concentrația trans-anetolului în soluția etalon A (punctul 4.5.1) Cis este concentrația etalonului intern în soluția etalon B (punctul 4.5.2) Ariai este aria (sau înălțimea) vârfului trans-anetolului Ariais este aria (sau înălțimea) vârfului etalonului intern Factorul RFi se calculează din cele cinci eșantioane de soluție C (punctul 4.5.4). **9.2. Analiza soluțiilor de testare a liniarității răspunsului detectorului cu ionizare în flacără** Se injectează soluțiile de testare a liniarității (punctul 4.5.3). **9.3. Analiza eșantionului** Se injectează soluția de eșantion necunoscut (punctul 8.2). **10. Calcularea rezultatelor** Formula pentru calcularea concentrației trans-anetolului este următoarea: ci = Cis * (aria sau înălțimeai/aria sau înălțimeais)*RFi unde ci este concentrația necunoscută a trans-anetolului Cis este concentrația etalonului intern în eșantionul necunoscut (punctul 4.5.2) aria sau înălțimea$_i$ este aria sau înălțimea vârfului trans-anetolului aria sau înălțimea$_{is}$este aria sau înălțimea vârfului etalonului intern RFieste coeficientul răspunsului (calculat conform punctului 9.1) Concentrația trans-anetolului se exprimă în grame pe litru, cu o zecimală. **11. Asigurarea și controlul calității** Cromatogramele trebuie să prezinte o bună separare a	vârfului (integrare manuală) pentru trans-anetol și pentru etalonul intern. **9.1. Calcularea factorului de răspuns (RFi)** Factorul de răspuns se calculează în următorul mod: RFi = (Ci/aria sau înălțimeai) * (aria sau înălțimeais/Cis) unde: Ci - este concentrația trans-anetolului în soluția etalon A (punctul 4.5.1) Cis - este concentrația etalonului intern în soluția etalon B (punctul 4.5.2) ariai - este aria (sau înălțimea) vârfului trans-anetolului ariais - este aria (sau înălțimea) vârfului etalonului intern Factorul RFi se calculează din cele cinci eșantioane de soluție C (punctul 4.5.4). **9.2. Analiza soluțiilor de testare a liniarității răspunsului detectorului cu ionizare în flacără** Se injectează soluțiile de testare a liniarității (punctul 4.5.3). **9.3. Analiza eșantionului** Se injectează soluția de eșantion necunoscut (punctul 8.2). **10. Calcularea rezultatelor** Formula pentru calcularea concentrației trans-anetolului este următoarea: ci = Cis * (aria sau înălțimeai/aria sau înălțimeais)*RFi unde ci - este concentrația necunoscută a trans-anetolului Cis - este concentrația etalonului intern în eșantionul necunoscut (punctul 4.5.2) aria sau înălțimeai - este aria sau înălțimea vârfului trans-anetolului aria sau înălțimeais - este aria sau înălțimea vârfului etalonului intern RFi - este coeficientul răspunsului (calculat conform punctului 9.1) Concentrația trans-anetolului se exprimă în grame pe litru, cu o zecimală. **11. Asigurarea și controlul calității** Cromatogramele trebuie să prezinte o bună separare a		

anetolului de etalonul intern, precum și de orice alte substanțe ce ar putea interveni. Valoarea RFi se calculează din rezultatele celor cinci injecții de soluție C (punctul 4.5.4). În cazul în care coeficientul de variație [CV % = (decalaj standard/medie)*100] se încadrează în jurul valorii de 1 %, valoarea medie a factorului RFi este acceptabilă. Calculul anterior trebuie utilizat pentru a se calcula concentrația trans-anetolului din eșantionul ales pentru controlul calității dintre soluțiile pentru controlarea liniarității (punctul 4.5.3). Dacă rezultatele medii calculate pornind de la analiza soluției pentru controlarea liniarității alese ca eșantion intern de control al calității (ICC) se încadrează în jurul valorii de 2,5 % din valoarea lor teoretică, atunci rezultatele obținute pentru eșantioanele necunoscute sunt considerate acceptabile. **12. Tratarea eșantioanelor de băuturi spirtoase cu un conținut mare de zahăr și a eșantioanelor de lichior înainte de analiza prin cromatografie în fază gazoasă** Extragerea alcoolului din băuturile spirtoase cu un conținut mare de zahăr pentru a determina concentrația în trans-anetol prin cromatografia capilară în fază gazoasă. **12.1. Principiu** Se prelevează o parte alicotă din eșantionul de lichior, la care se adaugă etalonul intern, la o concentrație similară celei a analitului (trans-anetolul) prezent în lichior. Se adaugă apoi fosfat de sodiu dodecahidrat și sulfat de amoniu anhidru. Amestecul se agită bine și se refrigerează. Se separă două faze, iar faza alcoolică superioară se recuperează. Se prelevează o parte alicotă din această fază alcoolică și se diluează cu o soluție de etanol de 45 % vol. (punctul 4.4). Trebuie menționat că în acest stadiu nu se adaugă nici un etalon intern, deoarece a fost deja adăugat. Soluția obținută se analizează prin cromatografie în fază gazoasă. **12.2. Reactivi și materiale** În cursul extracției, se utilizează exclusiv reactivi de o puritate de minimum 99 %.	anetolului de etalonul intern, precum și de orice alte substanțe ce ar putea interveni. Valoarea RFi se calculează din rezultatele celor cinci injecții de soluție C (punctul 4.5.4). În cazul în care coeficientul de variație [CV % = (decalaj standard/medie)*100] se încadrează în jurul valorii de 1 %, valoarea medie a factorului RFi este acceptabilă. Calculul anterior trebuie utilizat pentru a se calcula concentrația trans-anetolului din eșantionul ales pentru controlul calității dintre soluțiile pentru controlarea liniarității (punctul 4.5.3). Dacă rezultatele medii calculate pornind de la analiza soluției pentru controlarea liniarității alese ca eșantion intern de control al calității (ICC) se încadrează în jurul valorii de 2,5 % din valoarea lor teoretică, atunci rezultatele obținute pentru eșantioanele necunoscute sunt considerate acceptabile. **12. Tratarea eșantioanelor de băuturi spirtoase cu un conținut mare de zahăr și a eșantioanelor de lichior înainte de analiza prin cromatografie în fază gazoasă** Extragerea alcoolului din băuturile spirtoase cu un conținut mare de zahăr pentru a determina concentrația în trans-anetol prin cromatografia capilară în fază gazoasă. **12.1. Principiu** Se prelevează o parte alicotă din eșantionul de lichior, la care se adaugă etalonul intern, la o concentrație similară celei a analitului (trans-anetolul) prezent în lichior. Se adaugă apoi fosfat de sodiu dodecahidrat și sulfat de amoniu anhidru. Amestecul se agită bine și se refrigerează. Se separă două faze, iar faza alcoolică superioară se recuperează. Se prelevează o parte alicotă din această fază alcoolică și se diluează cu o soluție de etanol de 45 % vol. (punctul 4.4). Trebuie menționat că în acest stadiu nu se adaugă nici un etalon intern, deoarece a fost deja adăugat. Soluția obținută se analizează prin cromatografie în fază gazoasă. **12.2. Reactivi și materiale** În cursul extracției, se utilizează exclusiv reactivi de o puritate de minimum 99 %.		

lfat de amoniu anhidru (CAS 7783-20-2). sfat de sodiu dibazic, dodecahidrat (CAS 10039-32-4). **12.3. Aparatură și echipamente** Baloane conice, baloane de separare, frigider. **12.4. Mod de lucru** 12.4.1. Căutarea estragolului în eșantion Pentru a se asigura că eșantionul nu conține în mod natural estragol, este necesar să se efectueze o prelevare martor (punctul 12.6.2) și să se realizeze analiza acesteia fără a se adăuga vreun etalon intern. Dacă se dovedește că eșantionul conține în mod natural estragol, este necesar să se aleagă alt etalon intern. 12.4.2. **Extragerea** Se introduc cu pipeta 5 ml de etanol de 96 % vol. (punctul 4.1) într-un balon conic, apoi se adaugă succesiv 50 mg de etalon intern (punctul 4.3) și 50 ml de eșantion. Se adaugă 12 g de sulfat de amoniu anhidru (punctul 12.2.1) și 8,6 g de fosfat de sodiu dibazic, dodecahidrat (punctul 12.2.2). Se închide balonul conic. Se agită balonul timp de cel puțin treizeci de minute. Se poate utiliza un dispozitiv de agitare mecanică, dar nu o bară magnetică pentru agitare acoperită cu teflon, deoarece teflonul absoarbe o parte din analit. Trebuie reținut că sărurile adăugate nu se vor dizolva complet. Balonul închis se pune într-un frigider (T < 5 °C), timp de cel puțin două ore. După aceea, ar trebui să poată fi observate două straturi distincte în fază lichidă și un reziduu solid. Stratul de alcool trebuie să fie limpede; dacă nu este așa, se pune din nou balonul în frigider până se observă o separare netă. Când stratul de alcool este limpede, se prelevează cu grijă o parte alicotă (10 ml, de exemplu), fără a tulbura stratul apos, apoi se pune într-un flacon de sticlă brună și se închide cu grijă. **12.4.3. Prepararea extractului de eșantion ce trebuie analizat** Se așteaptă până când extractul (punctul 12.4.2) ajunge la temperatura camerei.	12.2.1. Sulfat de amoniu anhidru (CAS 7783-20-2). 12.2.2. Fosfat de sodiu dibazic, dodecahidrat (CAS 10039-32-4). **12.3. Aparatură și echipamente** Baloane conice, baloane de separare, frigider. **12.4. Mod de lucru** 12.4.1. Căutarea estragolului în eșantion Pentru a se asigura că eșantionul nu conține în mod natural estragol, este necesar să se efectueze o prelevare martor (punctul 12.6.2) și să se realizeze analiza acesteia fără a se adăuga vreun etalon intern. Dacă se dovedește că eșantionul conține în mod natural estragol, este necesar să se aleagă alt etalon intern. 12.4.2. Extragerea Se introduc cu pipeta 5 ml de etanol de 96 % vol. (punctul 4.1) într-un balon conic, apoi se adaugă succesiv 50 mg de etalon intern (punctul 4.3) și 50 ml de eșantion. Se adaugă 12 g de sulfat de amoniu anhidru (punctul 12.2.1) și 8,6 g de fosfat de sodiu dibazic, dodecahidrat (punctul 12.2.2). Se închide balonul conic. Se agită balonul timp de cel puțin treizeci de minute. Se poate utiliza un dispozitiv de agitare mecanică, dar nu o bară magnetică pentru agitare acoperită cu teflon, deoarece teflonul absoarbe o parte din analit. Trebuie reținut că sărurile adăugate nu se vor dizolva complet. Balonul închis se pune într-un frigider (T < 5 °C), timp de cel puțin două ore. După aceea, ar trebui să poată fi observate două straturi distincte în fază lichidă și un reziduu solid. Stratul de alcool trebuie să fie limpede; dacă nu este așa, se pune din nou balonul în frigider până se observă o separare netă. Când stratul de alcool este limpede, se prelevează cu grijă o parte alicotă (10 ml, de exemplu), fără a tulbura stratul apos, apoi se pune într-un flacon de sticlă brună și se închide cu grijă. **12.4.3. Prepararea extractului de eșantion ce trebuie analizat** Se așteaptă până când extractul (punctul 12.4.2) ajunge la		

Se prelevează 2 ml din stratul de alcool al extractului de eșantion la temperatura camerei, se introduc cu pipeta într-un balon gradat de 20 ml, se completează la capacitate cu etanol de 45 % vol. (punctul 4.4) și se amestecă bine.

12.5. Determinare

Se urmează modul de lucru prezentat la punctul 8.5.

12.6. Calcularea rezultatelor

Pentru calcularea rezultatelor se utilizează următoarea formulă:

$$C_i = (m_{is}/V) * (area_i/area_{is}) * RF_i$$

unde:

m_{is} este masa etalonului intern (punctul 4.3) prelevat (punctul 12.4.2) (în miligrame)

V este volumul eșantionului necunoscut (50 ml)

RF_i este factorul de răspuns (punctul 9.1)

$aria_i$ este aria vârfului trans-anetolului

$aria_{is}$ este aria vârfului etalonului intern

Rezultatele se exprimă în grame pe litru, cu o zecimală.

12.7. Controlul și asigurarea calității

Se urmează modul de lucru prezentat la punctul 11.

13. Caracteristicile de performanță ale metodei (precizia)

Rezultate statistice ale testului interlaboratoare:

Tabelele de mai jos prezintă valorile anetolului.

Datele menționate provin dintr-un studiu internațional privind performanțele metodei, realizat conform procedurilor autorizate la nivel internațional.

Anul testului interlaboratoare	1998
Numărul de laboratoare	16
Numărul de eșantioane	10
Analit	anetol

Eșantioane	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**	**F**

temperatura camerei.

Se prelevează 2 ml din stratul de alcool al extractului de eșantion la temperatura camerei, se introduc cu pipeta într-un balon gradat de 20 ml, se completează la capacitate cu etanol de 45 % vol. (punctul 4.4) și se amestecă bine.

12.5. Determinare

Se urmează modul de lucru prezentat la punctul 8.5.

12.6. Calcularea rezultatelor

Pentru calcularea rezultatelor se utilizează următoarea formulă:

$$C_i = (\frac{m_{si}}{V}) * (area_i/area_{is}) * RF_i$$

unde:

mis - este masa etalonului intern (punctul 4.3) prelevat (punctul 12.4.2) (în miligrame)

V - este volumul eșantionului necunoscut (50 ml)

RFi - este factorul de răspuns (punctul 9.1)

ariai - este aria vârfului trans-anetolului

ariais - este aria vârfului etalonului intern

Rezultatele se exprimă în grame pe litru, cu o zecimală.

12.7. Controlul și asigurarea calității

Se urmează modul de lucru prezentat la punctul 11.

13. Caracteristicile de performanță ale metodei (precizia)

Rezultate statistice ale testului interlaboratoare:

Tabelele de mai jos prezintă valorile anetolului.

Datele menționate provin dintr-un studiu internațional privind performanțele metodei, realizat conform procedurilor autorizate la nivel internațional.

Anul testului interlaboratoare	1998
Numărul de laboratoare	16
Numărul de eșantioane	10
Analit	anetol

Eșantioane	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**	**F**

Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	15	15	15	13	16	16
Numărul rezultatelor excepționale (laboratoare)	1	1	1	3	–	–
Numărul rezultatelor acceptate	30	30	30	26	16	16
Valoare medie g/l	1,477	1,955	1,940	1,833	1,741	1,754
Decalaj standard de repetabilitate (S_r) g/l	0,022	0,033	0,034	0,017	–	–
Decalaj standard relativ de repetabilitate (RSD_r) (%)	1,5	1,7	1,8	0,9	–	–
Limită de repetabilitate (r) g/l	0,062	0,093	0,096	0,047	–	–
Decalaj standard de reproductibilitate (S_R) g/l	0,034	0,045	0,063	0,037	0,058	0,042
Decalaj standard relativ de reproductibilitate (RSD_R) (%)	2,3	2,3	3,2	2,0	3,3	2,4
Limită de reproductibilitate (R) g/l	0,094	0,125	0,176	0,103	0,163	0,119

Tipuri de eșantioane:
A pastis, duplicate oarbe
B pastis, duplicate oarbe
C pastis, duplicate oarbe
D pastis, duplicate oarbe
E pastis, duplicate unice
F pastis, duplicate unice

Eșantioane	**G**	**H**	**I**	**J**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	16	14	14	14

Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	15	15	15	13	16	16
Numărul rezultatelor excepționale (laboratoare)	1	1	1	3	–	–
Numărul rezultatelor acceptate	30	30	30	26	16	16
Valoare medie g/l	1,477	1,955	1,940	1,833	1,741	1,754
Decalaj standard de repetabilitate (S_r) g/l	0,022	0,033	0,034	0,017	–	–
Decalaj standard relativ de repetabilitate (RSD_r) (%)	1,5	1,7	1,8	0,9	–	–
Limită de repetabilitate (r) g/l	0,062	0,093	0,096	0,047	–	–
Decalaj standard de reproductibilitate (S_R) g/l	0,034	0,045	0,063	0,037	0,058	0,042
Decalaj standard relativ de reproductibilitate (RSD_R) (%)	2,3	2,3	3,2	2,0	3,3	2,4
Limită de reproductibilitate (R) g/l	0,094	0,125	0,176	0,103	0,163	0,119

Tipuri de eșantioane:
A - pastis, duplicate oarbe
B - pastis, duplicate oarbe
C - pastis, duplicate oarbe
D - pastis, duplicate oarbe
E - pastis, duplicate unice
F - pastis, duplicate unice

Eșantioane	**G**	**H**	**I**	**J**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	16	14	14	14

Numărul rezultatelor excepționale (laboratoare)	–	2	1	1
Numărul rezultatelor acceptate	32	28	28	28
Valoare medie g/l	0,778 0,530 (*)	1,742	0,351	0,599
Decalaj standard de repetabilitate (S_r) g/l	0,020	0,012	0,013	0,014
Decalaj standard relativ de repetabilitate (RSD_r) (%)	3,1	0,7	3,8	2,3
Limită de repetabilitate (r) g/l	0,056	0,033	0,038	0,038
Decalaj standard de reproductibilitate (S_R) g/l	0,031	0,029	0,021	0,030
Decalaj standard relativ de repetabilitate (RSD_R) (%)	4,8	1,6	5,9	5,0
Limită de reproductibilitate (R) g/l	0,088	0,080	0,058	0,084

Tipuri de eșantioane:
G ouzo, niveluri de ramificare (*)
H anason, duplicate oarbe
I lichior cu aromă de anason, duplicate
J lichior cu aromă de anason, duplicate.

Numărul rezultatelor excepționale (laboratoare)	–	2	1	1
Numărul rezultatelor acceptate	32	28	28	28
Valoare medie g/l	0,778 0,530 (*)	1,742	0,351	0,599
Decalaj standard de repetabilitate (S_r) g/l	0,020	0,012	0,013	0,014
Decalaj standard relativ de repetabilitate (RSD_r) (%)	3,1	0,7	3,8	2,3
Limită de repetabilitate (r) g/l	0,056	0,033	0,038	0,038
Decalaj standard de reproductibilitate (S_R) g/l	0,031	0,029	0,021	0,030
Decalaj standard relativ de repetabilitate (RSD_R) (%)	4,8	1,6	5,9	5,0
Limită de reproductibilitate (R) g/l	0,088	0,080	0,058	0,084

Tipuri de eșantioane:
G ouzo, niveluri de ramificare (*)
H anason, duplicate oarbe
I lichior cu aromă de anason, duplicate
J lichior cu aromă de anason, duplicate.

VI. ACID GLICIRIZIC. DETERMINAREA ACIDULUI GLICIRIZIC PRIN CROMATOGRAFIE LICHIDĂ DE ÎNALTĂ PERFORMANȚĂ **1. Domeniu de aplicare** Prezenta metodă este adecvată pentru determinarea acidului glicirizic în băuturile spirtoase cu aromă de anason prin cromatografie lichidă de înaltă performanță (HPLC).	**V. ACID GLICIRIZIC. DETERMINAREA ACIDULUI GLICIRIZIC PRIN CROMATOGRAFIE LICHIDĂ DE ÎNALTĂ PERFORMANȚĂ** **1. Domeniu de aplicare** Prezenta metodă este adecvată pentru determinarea acidului glicirizic în băuturile spirtoase cu aromă de anason prin cromatografie lichidă de înaltă performanță (HPLC).	**Compatibil**

Regulamentul (CEE) nr. 1576/89 prevede că orice băutură spirtoasă cu aromă de anason numită „pastis” trebuie să prezinte un conținut în acid glicirizic cuprins între 0,05 g și 0,5 g per litru. **2. Referințe normative** ISO 3696: 1987 Apă pentru utilizare analitică de laborator – Caracteristici și metode de testare. **3. Principiu** Concentrația în acid glicirizic se determină utilizând cromatografia lichidă de înaltă performanță (HPLC) cu detectare UV. Se filtrează o soluție etalon și eșantionul de testare și se injectează separat și direct în sistemul HPLC. **4. Reactivi și materiale** În cursul analizei, se folosesc exclusiv reactivi adaptați la cromatografia lichidă, etanol absolut și apă de clasa 3, în conformitate cu definiția din standardul ISO 3696. 4.1.Etanol de 96 % vol. (CAS 64-17-5) 4.2.Glicirizinat de amoniu C42H62O16.NH3 (Sare de acid glicirizic monoamoniacal) (Masă molară: 839,98) (CAS 53956-04-0): puritate de minimum 90 % (Masă molară a acidului glicirizic: 822,94) 4.3.Acid acetic cristalizabil, CH3COOH, (CAS 64-19-7) 4.4.Metanol, CH3OH (CAS 67-56-1) 4.5.Etanol de 50 % vol. Pentru 1 000 ml la 20 °C: — etanol de 96 % vol. (punctul 4.1): 521 ml — apă (punctul 2.0): 511 ml. 4.6. Prepararea soluțiilor de eluare pentru cromatografie lichidă de înaltă performanță 4.6.1. **Solvent de eluare A (exemplu)** 80 de părți (volume) de apă (punctul 2.0) 20 de părți (volume) de acid acetic (punctul 4.3). Se degazează solventul de eluare timp de cinci minute. Notă: dacă apa care se utilizează nu a fost microfiltrată, se recomandă filtrarea solventului de eluare preparat cu	Regulamentul privind definirea, descrierea, prezentarea şi etichetarea băuturilor ce conţin alcool aprobat prin Hotărârea Guvernului nr.589/2023, prevede că orice băutură spirtoasă cu aromă de anason numită „pastis” trebuie să prezinte un conținut în acid glicirizic cuprins între 0,05 g și 0,5 g per litru. **2. Referințe normative** ISO 3696 - Apă pentru utilizare analitică de laborator – Caracteristici și metode de testare. **3. Principiu** Concentrația în acid glicirizic se determină utilizând cromatografia lichidă de înaltă performanță (HPLC) cu detectare UV. Se filtrează o soluție etalon și eșantionul de testare și se injectează separat și direct în sistemul HPLC. **4. Reactivi și materiale** În cursul analizei, se folosesc exclusiv reactivi adaptați la cromatografia lichidă, etanol absolut și apă de clasa 3, în conformitate cu definiția din standardul ISO 3696. 4.1. Etanol de 96 % vol. (CAS 64-17-5) 4.2. Glicirizinat de amoniu C42H62O16.NH3 (Sare de acid glicirizic monoamoniacal) (Masă molară: 839,98) (CAS 53956-04-0): puritate de minimum 90 % (Masă molară a acidului glicirizic: 822,94) 4.3. Acid acetic cristalizabil, CH3COOH, (CAS 64-19-7) 4.4. Metanol, CH3OH (CAS 67-56-1) 4.5. Etanol de 50 % vol. Pentru 1 000 ml la 20 °C: — etanol de 96 % vol. (punctul 4.1): 521 ml — apă (punctul 2.0): 511 ml. 4.6.Prepararea soluțiilor de eluare pentru cromatografie lichidă de înaltă performanță **4.6.1. Solvent de eluare A (exemplu)** 80 de părți (volume) de apă (punctul 2.0) 20 de părți (volume) de acid acetic (punctul 4.3). Se degazează solventul de eluare timp de cinci minute. Notă: dacă apa care se utilizează nu a fost microfiltrată, se recomandă filtrarea solventului de eluare preparat cu		

ajutorul unui filtru pentru solvenți organici cu un diametru al porilor mai mic sau egal cu 0,45 µm. 4.6.2. **Solvent de eluare B** Metanol (punctul 4.4) 4.7. Prepararea soluțiilor etalon Toate soluțiile etalon trebuie reînnoite la fiecare două luni. 4.7.1. **Soluția de referință C** Se cântăresc, cu o eroare de maximum 0,1 mg, 25 mg de glicirizinat de amoniu (punctul 4.2) într-un balon gradat de 100 ml. Se adaugă etanol de 50 % vol. (punctul 4.5) și se dizolvă glicirizinatul de amoniu. După dizolvare, se completează până la semn cu o nouă cantitate de etanol de 50 % vol. (punctul 4.5). Se filtrează cu ajutorul unui filtru pentru solvenți organici. 4.7.2. Soluții etalon (folosite pentru a controla linearitatea răspunsului instrumentelor) Se prepară o soluție-mamă de 1,0 g/l introducând, cu o eroare de maximum 0,1 mg, 100 mg de glicirizinat de amoniu într-un balon gradat de 100 ml. Se adaugă puțin etanol de 50 % vol. (punctul 4.5) și se dizolvă glicirizinatul de amoniu. După dizolvare, se completează până la semn cu o nouă cantitate de etanol de 50 % vol. (punctul 4.5). Se prepară cel puțin alte patru soluții ce corespund la 0,05, 0,1, 0,25 și 0,5 g/l de glicirizinat de amoniu, prelevând cu ajutorul unei pipete respectiv 5 ml, 10 ml, 25 ml și 50 ml din soluția-mamă de 1,0 g/l în baloane gradate separate de 100 ml. Se completează apoi până la semn cu o nouă cantitate de etanol de 50 % vol. (punctul 4.5) și se amestecă bine. Se filtrează toate soluțiile cu ajutorul unui filtru pentru solvenți organici. **5. Aparatură și echipamente** **5.1. Sistem de separare** 5.1.1. Cromatografie lichidă de înaltă performanță 5.1.2. Sistem de pompare ce permite obținerea și menținerea unui debit constant sau programat de înaltă precizie 5.1.3. Sistem de detectare prin spectrofotometrie în	ajutorul unui filtru pentru solvenți organici cu un diametru al porilor mai mic sau egal cu 0,45 µm. **4.6.2. Solvent de eluare B** Metanol (punctul 4.4) 4.7.Prepararea soluțiilor etalon Toate soluțiile etalon trebuie reînnoite la fiecare două luni. **4.7.1. Soluția de referință C** Se cântăresc, cu o eroare de maximum 0,1 mg, 25 mg de glicirizinat de amoniu (punctul 4.2) într-un balon gradat de 100 ml. Se adaugă etanol de 50 % vol. (punctul 4.5) și se dizolvă glicirizinatul de amoniu. După dizolvare, se completează până la semn cu o nouă cantitate de etanol de 50 % vol. (punctul 4.5). Se filtrează cu ajutorul unui filtru pentru solvenți organici. 4.7.2. Soluții etalon (folosite pentru a controla linearitatea răspunsului instrumentelor) Se prepară o soluție-mamă de 1,0 g/l introducând, cu o eroare de maximum 0,1 mg, 100 mg de glicirizinat de amoniu într-un balon gradat de 100 ml. Se adaugă puțin etanol de 50 % vol. (punctul 4.5) și se dizolvă glicirizinatul de amoniu. După dizolvare, se completează până la semn cu o nouă cantitate de etanol de 50 % vol. (punctul 4.5). Se prepară cel puțin alte patru soluții ce corespund la 0,05, 0,1, 0,25 și 0,5 g/l de glicirizinat de amoniu, prelevând cu ajutorul unei pipete respectiv 5 ml, 10 ml, 25 ml și 50 ml din soluția-mamă de 1,0 g/l în baloane gradate separate de 100 ml. Se completează apoi până la semn cu o nouă cantitate de etanol de 50 % vol. (punctul 4.5) și se amestecă bine. Se filtrează toate soluțiile cu ajutorul unui filtru pentru solvenți organici. **5. Aparatură și echipamente** **5.1. Sistem de separare** 5.1.1. Cromatografie lichidă de înaltă performanță 5.1.2. Sistem de pompare ce permite obținerea și menținerea unui debit constant sau programat de înaltă precizie 5.1.3. Sistem de detectare prin spectrofotometrie în		

domeniul UV: se reglează la 254 nm 5.1.4. Sistem de degazare a solvenților 5.2.Integrator computerizat sau înregistrator ce funcționează în deplină compatibilitate cu restul sistemului 5.3.Coloană (exemplu): material: oțel inoxidabil sau sticlă diametru interior: 4-5 mm lungime: 100-250 mm fază staționară: silicagel reticulat cu grup funcțional octadecil (C18), de preferință sferic, cu o granulometrie maximă de 5 µm 5.4.Echipament de laborator 5.4.1. Balanță de analiză (precizie: 0,1 mg) 5.4.2. Sticlărie gradată de precizie (clasa A) 5.4.3. Dispozitiv de filtrare pentru volume mici pe micromembrană **6. Condiții ale cromatografiei** 6.1. Caracteristicile eluării (exemplu): — debit: 1 ml/minut; — solvent A = 30 %; — solvent B = 70 %. 6.2. Detectare: — UV = 254 nm. **7. Mod de lucru** **7.1. Prepararea eșantionului de băutură spirtoasă** Se filtrează, dacă este necesar, printr-un filtru pentru solvenți organici (diametrul porilor: 0,45 µm). **7.2. Determinare** După stabilizarea condițiilor cromatografice: — se injectează 20 µl de soluție de referință C (punctul 4.7.1) — se injectează 20 µl de soluție de eșantion — se compară cele două cromatograme. Se identifică vârfurile acidului glicirizic după timpul lor de retenție. Se măsoară ariile (sau înălțimile) lor și se calculează concentrația în g/l, până la două zecimale, folosind următoarea ecuație:	domeniul UV: se reglează la 254 nm 5.1.4. Sistem de degazare a solvenților 5.2.Integrator computerizat sau înregistrator ce funcționează în deplină compatibilitate cu restul sistemului 5.3.Coloană (exemplu): material: oțel inoxidabil sau sticlă diametru interior: 4-5 mm lungime: 100-250 mm fază staționară: silicagel reticulat cu grup funcțional octadecil (C18), de preferință sferic, cu o granulometrie maximă de 5 µm 5.4.Echipament de laborator 5.4.1. Balanță de analiză (precizie: 0,1 mg) 5.4.2. Sticlărie gradată de precizie (clasa A) 5.4.3. Dispozitiv de filtrare pentru volume mici pe micromembrană **6. Condiții ale cromatografiei** 6.1. Caracteristicile eluării (exemplu): — debit: 1 ml/minut; — solvent A = 30 %; — solvent B = 70 %. 6.2. Detectare: — UV = 254 nm. 7. Mod de lucru **7.1. Prepararea eșantionului de băutură spirtoasă** Se filtrează, dacă este necesar, printr-un filtru pentru solvenți organici (diametrul porilor: 0,45 µm). **7.2. Determinare** După stabilizarea condițiilor cromatografice: — se injectează 20 µl de soluție de referință C (punctul 4.7.1) — se injectează 20 µl de soluție de eșantion — se compară cele două cromatograme. Se identifică vârfurile acidului glicirizic după timpul lor de retenție. Se măsoară ariile (sau înălțimile) lor și se calculează concentrația în g/l, până la două zecimale, folosind următoarea ecuație:		

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

unde:
c este concentrația în g/l a acidului glicirizic în băutura spirtoasă analizată
C este concentrația în g/l a glicirizinatului de amoniu în soluția de referință
h este aria (sau înălțimea) vârfului acidului glicirizic din băutura spirtoasă analizată
H este aria (sau înălțimea) vârfului acidului glicirizic din soluția de referință
P este puritatea glicirizinatului de amoniu utilizat ca substanță de referință (în %)
823 este masa molară a acidului glicirizic
840 este masa molară a glicirizinatului de amoniu

8. Caracteristicile de performanță ale metodei (precizia)

Rezultate statistice ale testului interlaboratoare
Tabelul de mai jos prezintă valorile acidului glicirizic. Datele menționate provin dintr-un studiu internațional privind performanțele metodei, realizat conform procedurilor autorizate la nivel internațional.

Anul testului interlaboratoare:	1998
Numărul de laboratoare:	16
Numărul de eșantioane:	5
Analit:	acid glicirizic

Eșantioane	**A**	**B**	**C**	**D**	**F**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	13	14	15	16	16
Numărul rezultatelor excepționale	3	2	1	–	–

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

unde:
c - este concentrația în g/l a acidului glicirizic în băutura spirtoasă analizată
C - este concentrația în g/l a glicirizinatului de amoniu în soluția de referință
h - este aria (sau înălțimea) vârfului acidului glicirizic din băutura spirtoasă analizată
H - este aria (sau înălțimea) vârfului acidului glicirizic din soluția de referință
P - este puritatea glicirizinatului de amoniu utilizat ca substanță de referință (în %)
823 - este masa molară a acidului glicirizic
840 - este masa molară a glicirizinatului de amoniu

8. Caracteristicile de performanță ale metodei (precizia)

Rezultate statistice ale testului interlaboratoare
Tabelul de mai jos prezintă valorile acidului glicirizic. Datele menționate provin dintr-un studiu internațional privind performanțele metodei, realizat conform procedurilor autorizate la nivel internațional.

Anul testului interlaboratoare:	1998
Numărul de laboratoare:	16
Numărul de eșantioane:	5
Analit:	acid glicirizic

Eșantioane	**A**	**B**	**C**	**D**	**F**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	13	14	15	16	16
Numărul rezultatelor excepționale	3	2	1	–	–

(laboratoare)					
Numărul rezultatelor acceptate	26	28	30	32	32
Valoare medie g/l	0,046	0,092 (*) 0,099	0,089	0,249	0,493
Decalaj standard de repetabilitate (S_r) g/l	0,001	0,001	0,001	0,002	0,003
Decalaj standard relativ de repetabilitate (RSD_r) (%)	1,5	1,3	0,7	1,0	0,6
Limită de repetabilitate (r) g/l	0,002	0,004	0,002	0,007	0,009
Decalaj standard de reproductibilitate (S_R) g/l	0,004	0,007	0,004	0,006	0,013
Decalaj standard relativ de reproductibilitate (RSD_R) (%)	8,6	7,2	4,0	2,5	2,7
Limită de reproductibilitate (R) g/l	0,011	0,019	0,010	0,018	0,037

Tipuri de eșantioane:
A pastis, duplicate oarbe
B pastis, duplicate, la două niveluri de concentrare (*)
C pastis, duplicate oarbe
D pastis, duplicate oarbe
E pastis, duplicate oarbe

(laboratoare)					
Numărul rezultatelor acceptate	26	28	30	32	32
Valoare medie g/l	0,046	0,092 (*) 0,099	0,089	0,249	0,493
Decalaj standard de repetabilitate (S_r) g/l	0,001	0,001	0,001	0,002	0,003
Decalaj standard relativ de repetabilitate (RSD_r) (%)	1,5	1,3	0,7	1,0	0,6
Limită de repetabilitate (r) g/l	0,002	0,004	0,002	0,007	0,009
Decalaj standard de reproductibilitate (S_R) g/l	0,004	0,007	0,004	0,006	0,013
Decalaj standard relativ de reproductibilitate (RSD_R) (%)	8,6	7,2	4,0	2,5	2,7
Limită de reproductibilitate (R) g/l	0,011	0,019	0,010	0,018	0,037

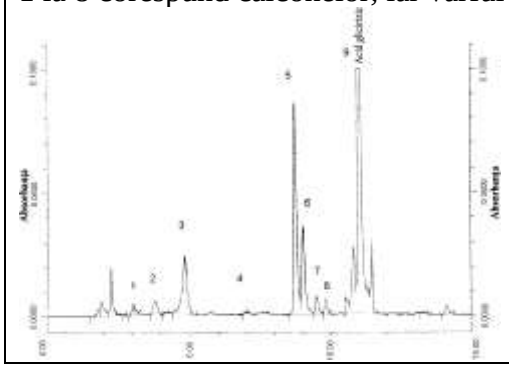
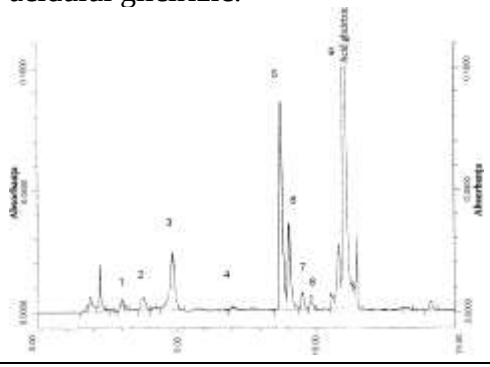
Tipuri de eșantioane:
A - pastis, duplicate oarbe
B - pastis, duplicate, la două niveluri de concentrare (*)
C - pastis, duplicate oarbe
D - pastis, duplicate oarbe
E - pastis, duplicate oarbe

VII. CALCONE. METODĂ DE CROMATOGRAFIE LICHIDĂ DE ÎNALTĂ PERFORMANȚĂ PENTRU A VERIFICA PREZENȚA CALCONELOR ÎN PASTIS **1. Domeniu de aplicare** Prezenta metodă este adecvată pentru determinarea	**VI. CALCONE. METODĂ DE CROMATOGRAFIE LICHIDĂ DE ÎNALTĂ PERFORMANȚĂ PENTRU A VERIFICA PREZENȚA CALCONELOR ÎN PASTIS** **1. Domeniu de aplicare** Prezenta metodă este adecvată pentru determinarea	**Compatibil**

prezenței calconelor în băuturile cu aromă de anason. Calconele sunt coloranți naturali din familia flavonoidelor, prezenți în lemnul dulce (Glycyrrhiza glabra). Pentru ca o băutură spirtoasă cu aromă de anason să se numească „pastis”, aceasta trebuie să conțină calcone [Regulamentul (CEE) nr. 1576/89]. **2. Referințe normative** ISO 3696: 1987 Apă pentru utilizare analitică de laborator – Caracteristici și metode de testare. **3. Principiu** Se prepară o soluție de extract de lemn dulce de referință. Prezența sau absența calconelor se determină prin cromatografie lichidă de înaltă performanță cu detectare UV. **4. Reactivi și materiale** În cursul analizei, se folosesc doar reactivi adaptați la cromatografia lichidă de înaltă performanță. Etanolul trebuie să fie de 96 % vol. Trebuie să se folosească doar apă de clasa 3 (în conformitate cu definiția din norma ISO 3696). 4.1.Etanol de 96 % vol. (CAS 64-17-5) 4.2.Acetonitril CH3CN, (CAS 75-05-8) 4.3.Substanță de referință: Glycyrrhiza glabra (lemn dulce) Lemn dulce (Glycyrrhiza glabra) măcinat mare. Dimensiuni medii ale particulelor de tip „batonașe”: lungimea 10-15 mm, grosimea 1-3 mm. 4.4.Acetat de sodiu CH3COONa, (CAS 127-09-3) 4.5.Acid acetic cristalizabil CH3COOH, (CAS 64-19-7) 4.6.Prepararea soluțiilor 4.6.1. **Etanol de 50 % vol**. Pentru 1 000 ml la 20 °C: — etanol de 96 % vol. (punctul 4.1): 521 ml — apă (punctul 2.0): 511 ml. 4.6.2. **Solventul A: acetonitril** Acetonitril (punctul 4.2) de puritate analitică pentru HPLC. Se degazează	prezenței calconelor în băuturile cu aromă de anason. Calconele sunt coloranți naturali din familia flavonoidelor, prezenți în lemnul dulce (Glycyrrhiza glabra). Pentru ca o băutură spirtoasă cu aromă de anason să se numească „pastis”, conform Regulamentului privind definirea, descrierea, prezentarea şi etichetarea băuturilor ce conţin alcool, aprobat prin Hotărârea Guvernului nr. 589/2023, aceasta trebuie să conțină calcone. **2. Referințe normative** ISO 3696 - Apă pentru utilizare analitică de laborator – Caracteristici și metode de testare. **3. Principiu** Se prepară o soluție de extract de lemn dulce de referință. Prezența sau absența calconelor se determină prin cromatografie lichidă de înaltă performanță cu detectare UV. **4. Reactivi și materiale** În cursul analizei, se folosesc doar reactivi adaptați la cromatografia lichidă de înaltă performanță. Etanolul trebuie să fie de 96 % vol. Trebuie să se folosească doar apă de clasa 3 (în conformitate cu definiția din norma ISO 3696). 4.1. Etanol de 96 % vol. (CAS 64-17-5) 4.2. Acetonitril CH3CN, (CAS 75-05-8) 4.3. Substanță de referință: Glycyrrhiza glabra (lemn dulce) Lemn dulce (Glycyrrhiza glabra) măcinat mare. Dimensiuni medii ale particulelor de tip „batonașe”: lungimea 10-15 mm, grosimea 1-3 mm. 4.4. Acetat de sodiu CH3COONa, (CAS 127-09-3) 4.5. Acid acetic cristalizabil CH3COOH, (CAS 64-19-7) 4.6.Prepararea soluțiilor **4.6.1. Etanol de 50 % vol.** Pentru 1 000 ml la 20 °C: — etanol de 96 % vol. (punctul 4.1): 521 ml — apă (punctul 2.0): 511 ml. **4.6.2. Solventul A: acetonitril** Acetonitril (punctul 4.2) de puritate analitică pentru HPLC. Se degazează		

4.6.3. Solventul B: 0,1 M dintr-o soluție tampon de acetat de sodiu cu pH de 4,66 Se cântăresc 8,203 g de acetat de sodiu (punctul 4.4), se adaugă 6,005 g de acid acetic cristalizabil (punctul 4.5) și se completează până la 1 000 ml cu apă (punctul 2) într-un balon gradat. **5. Prepararea extractului de referință din** Glycyrrhiza glabra (punctul 4.3) 5.1.Se cântăresc 10 g de lemn dulce măcinat (Glycyrrhiza glabra) (punctul 4.3) și se pun într-un balon de distilare cu fund rotund. — Se adaugă 100 ml de etanol de 50 % vol. (punctul 4.6.1) — Se distilează sub reflux timp de o oră — Se filtrează — Se rezervă filtratul pentru o utilizare ulterioară. 5.2. Se recuperează extractul de lemn dulce prezent în filtru. — Se pune într-un balon de distilare cu fund rotund — Se adaugă 100 ml de etanol de 50 % vol. (punctul 4.6.1) — Se fierbe sub reflux pentru o oră — Se filtrează. Se păstrează filtratul pentru o utilizare ulterioară. 5.3.Extragerea de lemn dulce trebuie să se efectueze de trei ori succesiv. 5.4.Se combină cele trei filtrate. 5.5.Se evaporă faza solvent (punctul 5.4) cu ajutorul unui evaporator de tip rotativ. 5.6.Se recuperează extractul rezidual (punctul 5.5) cu 100 ml de etanol de 50 % vol. (punctul 4.6.1). **6. Aparatură și echipamente** **6.1. Sistem de separare** 6.1.1. Cromatografie lichidă de înaltă performanță 6.1.2. Sistem de pompare ce permite obținerea și menținerea unui debit constant sau programat la înaltă presiune 6.1.3. Sistem de detectare prin spectrofotometrie în domeniul UV/vizibil care se poate regla la 254 nm și 370 nm	**4.6.3. Solventul B: 0,1 M dintr-o soluție tampon de acetat de sodiu cu pH de 4,66** Se cântăresc 8,203 g de acetat de sodiu (punctul 4.4), se adaugă 6,005 g de acid acetic cristalizabil (punctul 4.5) și se completează până la 1 000 ml cu apă (punctul 2) într-un balon gradat. **5. Prepararea extractului de referință din** Glycyrrhiza glabra (punctul 4.3) 5.1. Se cântăresc 10 g de lemn dulce măcinat (Glycyrrhiza glabra) (punctul 4.3) și se pun într-un balon de distilare cu fund rotund. — Se adaugă 100 ml de etanol de 50 % vol. (punctul 4.6.1) — Se distilează sub reflux timp de o oră — Se filtrează — Se rezervă filtratul pentru o utilizare ulterioară. 5.2. Se recuperează extractul de lemn dulce prezent în filtru. — Se pune într-un balon de distilare cu fund rotund — Se adaugă 100 ml de etanol de 50 % vol. (punctul 4.6.1) — Se fierbe sub reflux pentru o oră — Se filtrează. Se păstrează filtratul pentru o utilizare ulterioară. 5.3. Extragerea de lemn dulce trebuie să se efectueze de trei ori succesiv. 5.4. Se combină cele trei filtrate. 5.5. Se evaporă faza solvent (punctul 5.4) cu ajutorul unui evaporator de tip rotativ. 5.6. Se recuperează extractul rezidual (punctul 5.5) cu 100 ml de etanol de 50 % vol. (punctul 4.6.1). **6. Aparatură și echipamente** **6.1. Sistem de separare** 6.1.1. Cromatografie lichidă de înaltă performanță 6.1.2. Sistem de pompare ce permite obținerea și menținerea unui debit constant sau programat la înaltă presiune 6.1.3. Sistem de detectare prin spectrofotometrie în domeniul UV/vizibil care se poate regla la 254 nm și 370 nm		

6.1.4. Sistem de degazare a solvenților 6.1.5. Cuptor în coloană cu temperatura reglată la 40 °C ± 0,1 °C 6.2.Integrator computerizat sau înregistrator ce funcționează în compatibilitate cu restul sistemului de separare 6.3.Coloana: material: oțel inoxidabil sau sticlă diametru interior: 4-5 mm fază staționară: silicagel reticulat cu grupare funcțională de tip derivat octadecil (C18), cu o granulometrie maximă de 5 µm (faza reticulată). 6.4.Echipament obișnuit de laborator, mai ales: 6.4.1. balanță de analiză (precizie: ± 0,1 mg) 6.4.2. aparat de distilare echipat cu un condensator cu reflux ce cuprinde, de exemplu: — un balon de 250 ml cu fund rotund cu îmbinare șlefuită standardizată — un condensator cu reflux de o lungime de 30 cm — o sursă de căldură (orice pirogenare a materiilor extractive trebuie evitată cu ajutorul unui dispozitiv corespunzător) 6.4.3. Aparat de evaporare de tip rotativ 6.4.4. Dispozitiv de filtrare (pâlnie Buchner, de exemplu) 6.5.Condiții ale cromatografiei (exemplu) 6.5.1. Caracteristici de eluare a solvenților A (punctul 4.6.2) și B (punctul 4.6.3): — se trece de la gradientul 20/80 (v/v) la 50/50 (v/v) în 15 minute — se trece de la gradientul 50/50 (v/v) la 75/25 (v/v) în 5 minute — tărie egală la 75/25 (v/v) timp de 5 minute — stabilizare a coloanei între două injectări — tărie egală la 20/80 (v/v) timp de 5 minute. 6.5.2. Debit: 1 ml/minut 6.5.3. Reglări ale detectorului cu UV Detectorul trebuie reglat la 370 nm pentru a detecta prezența calconelor și apoi la 254 nm pentru a detecta	6.1.4. Sistem de degazare a solvenților 6.1.5. Cuptor în coloană cu temperatura reglată la 40 °C ± 0,1 °C 6.2. Integrator computerizat sau înregistrator ce funcționează în compatibilitate cu restul sistemului de separare 6.3. Coloana: material: oțel inoxidabil sau sticlă diametru interior: 4-5 mm fază staționară: silicagel reticulat cu grupare funcțională de tip derivat octadecil (C18), cu o granulometrie maximă de 5 µm (faza reticulată). 6.4. Echipament obișnuit de laborator, mai ales: 6.4.1. balanță de analiză (precizie: ± 0,1 mg) 6.4.2. aparat de distilare echipat cu un condensator cu reflux ce cuprinde, de exemplu: — un balon de 250 ml cu fund rotund cu îmbinare șlefuită standardizată — un condensator cu reflux de o lungime de 30 cm — o sursă de căldură (orice pirogenare a materiilor extractive trebuie evitată cu ajutorul unui dispozitiv corespunzător) 6.4.3. Aparat de evaporare de tip rotativ 6.4.4. Dispozitiv de filtrare (pâlnie Buchner, de exemplu) 6.5.Condiții ale cromatografiei (exemplu) 6.5.1. Caracteristici de eluare a solvenților A (punctul 4.6.2) și B (punctul 4.6.3): — se trece de la gradientul 20/80 (v/v) la 50/50 (v/v) în 15 minute — se trece de la gradientul 50/50 (v/v) la 75/25 (v/v) în 5 minute — tărie egală la 75/25 (v/v) timp de 5 minute — stabilizare a coloanei între două injectări — tărie egală la 20/80 (v/v) timp de 5 minute. 6.5.2. Debit: 1 ml/minut 6.5.3. Reglări ale detectorului cu UV Detectorul trebuie reglat la 370 nm pentru a detecta prezența calconelor și apoi la 254 nm pentru a detecta		

acidul glicirizic. Notă: schimbarea lungimilor de undă (de la 370 nm la 254 nm) trebuie efectuată cu 30 de minute înainte de începerea vârfului de eluare a acidului glicirizic. **7. Mod de lucru** **7.1. Prepararea eșantionului de băutură spirtoasă** Se filtrează printr-un filtru pentru solvenți organici (diametrul porilor: 0,45 µm). **7.2. Prepararea extractului rezidual de lemn dulce (punctul 5.6)** Înaintea analizei, se procedează la o diluare de 1:10 în etanol de 50 % vol. (punctul 4.6.1). **7.3. Determinare** 7.3.1. Se injectează 20 µl din extractul de lemn dulce preparat (punctul 7.2). Se efectuează analiza în condițiile cromatografice descrise anterior (punctul 6.5). 7.3.2. Se injectează 20 µl din eșantion (băutură spirtoasă cu aromă de anason, punctul 7.1). Se efectuează analiza în condițiile cromatografice descrise anterior (punctul 6.5). 7.3.3. Se compară cele două cromatograme obținute. Trebuie să existe o mare asemănare între cele două cromatograme în zona de ieșire a calconelor (în timpul detectării la 370 nm în condițiile de analiză descrise anterior). Vezi figura 1. **8. Cromatograma caracteristică pentru pastis** Figura 1 Cromatogramă obținută prin metoda descrisă anterior, indicând prezența calconelor într-un pastis. Vârfurile de la 1 la 8 corespund calconelor, iar vârful 9 acidului glicirizic. 	acidul glicirizic. Notă: schimbarea lungimilor de undă (de la 370 nm la 254 nm) trebuie efectuată cu 30 de minute înainte de începerea vârfului de eluare a acidului glicirizic. **7. Mod de lucru** **7.1. Prepararea eșantionului de băutură spirtoasă** Se filtrează printr-un filtru pentru solvenți organici (diametrul porilor: 0,45 µm). **7.2. Prepararea extractului rezidual de lemn dulce (punctul 5.6)** Înaintea analizei, se procedează la o diluare de 1:10 în etanol de 50 % vol. (punctul 4.6.1). **7.3. Determinare** 7.3.1. Se injectează 20 µl din extractul de lemn dulce preparat (punctul 7.2). Se efectuează analiza în condițiile cromatografice descrise anterior (punctul 6.5). 7.3.2. Se injectează 20 µl din eșantion (băutură spirtoasă cu aromă de anason, punctul 7.1). Se efectuează analiza în condițiile cromatografice descrise anterior (punctul 6.5). 7.3.3. Se compară cele două cromatograme obținute. Trebuie să existe o mare asemănare între cele două cromatograme în zona de ieșire a calconelor (în timpul detectării la 370 nm în condițiile de analiză descrise anterior). Vezi figura 1. **8. Cromatograma caracteristică pentru pastis** Figura 1 Cromatogramă obținută prin metoda descrisă anterior, indicând prezența calconelor într-un pastis. Vârfurile de la 1 la 8 corespund calconelor, iar vârful 9 acidului glicirizic. 		

9. Caracteristicile de performanță ale metodei (precizia)

Rezultatele testului interlaboratoare

Tabelul de mai jos prezintă caracteristicile de performanță pentru identificarea prezenței sau absenței calconelor în pastis și în băuturile spirtoase cu aromă de anason.

Datele menționate provin dintr-un studiu internațional privind performanțele metodei, realizat conform procedurilor autorizate la nivel internațional.

Anul testului interlaboratoare:	1998
Numărul de laboratoare:	14
Numărul de eșantioane:	11
Analit:	calcone

Eșantioane	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**	**F**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	14	14	14	14	14	13
Numărul rezultatelor excepționale (laboratoare)	–	–	–	–	–	1 (*1)
Numărul rezultatelor acceptate	28	14	14	28	28	26
Numărul rezultatelor atestând prezența calconelor	28	14	14	0	28	0
Numărul rezultatelor atestând absența calconelor	0	0	0	28	0	26
Procentul rezultatelor corecte (%)	100	100	100	100	100	100

9. Caracteristicile de performanță ale metodei (precizia)

Rezultatele testului interlaboratoare

Tabelul de mai jos prezintă caracteristicile de performanță pentru identificarea prezenței sau absenței calconelor în pastis și în băuturile spirtoase cu aromă de anason.

Datele menționate provin dintr-un studiu internațional privind performanțele metodei, realizat conform procedurilor autorizate la nivel internațional.

Anul testului interlaboratoare:	1998
Numărul de laboratoare:	14
Numărul de eșantioane:	11
Analit:	calcone

Eșantioane	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**	**F**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	14	14	14	14	14	13
Numărul rezultatelor excepționale (laboratoare)	–	–	–	–	–	1 (*1)
Numărul rezultatelor acceptate	28	14	14	28	28	26
Numărul rezultatelor atestând prezența calconelor	28	14	14	0	28	0
Numărul rezultatelor atestând absența calconelor	0	0	0	28	0	26
Procentul rezultatelor corecte (%)	100	100	100	100	100	100

(*1)

Rezultate incompatibile între cele două duplicate, datorate unei erori de eșantionare.

Eșantioane	**G**	**H**	**I**	**J**	**K**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	14	14	14	14	14
Numărul rezultatelor excepționale (laboratoare)	–	–	–	–	–
Numărul rezultatelor acceptate	28	14	14	28	28
Numărul rezultatelor atestând prezența calconelor	0	0	0	0	0
Numărul rezultatelor atestând absența calconelor	28	14	14	28	28
Procentul rezultatelor corecte (%)	100	100	100	100	100

Tipuri de eșantioane:
A pastis, duplicate oarbe
B pastis, eșantion unic
C pastis, eșantion unic
D „pastis” (fără calcone), duplicate oarbe
E „pastis” (fără calcone), duplicate oarbe
F lichior cu aromă de anason (fără calcone), duplicate oarbe
G lichior cu aromă de anason (fără calcone), duplicate oarbe
H ouzo, (fără calcone), eșantion unic
I ouzo, (fără calcone), eșantion unic
J anason (fără calcone), duplicate oarbe
K „pastis” (fără calcone), duplicate oarbe.

(*1)

Rezultate incompatibile între cele două duplicate, datorate unei erori de eșantionare.

Eșantioane	**G**	**H**	**I**	**J**	**K**
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	14	14	14	14	14
Numărul rezultatelor excepționale (laboratoare)	–	–	–	–	–
Numărul rezultatelor acceptate	28	14	14	28	28
Numărul rezultatelor atestând prezența calconelor	0	0	0	0	0
Numărul rezultatelor atestând absența calconelor	28	14	14	28	28
Procentul rezultatelor corecte (%)	100	100	100	100	100

Tipuri de eșantioane:
A pastis, duplicate oarbe
B pastis, eșantion unic
C pastis, eșantion unic
D „pastis” (fără calcone), duplicate oarbe
E „pastis” (fără calcone), duplicate oarbe
F lichior cu aromă de anason (fără calcone), duplicate oarbe
G lichior cu aromă de anason (fără calcone), duplicate oarbe
H ouzo, (fără calcone), eșantion unic
I ouzo, (fără calcone), eșantion unic
J anason (fără calcone), duplicate oarbe
K „pastis” (fără calcone), duplicate oarbe.

VIII. ZAHARURI TOTALE **1. Domeniu de aplicare** Metoda HPLC-RI se aplică pentru a determina zaharurile totale (exprimate ca zahăr invertit) din băuturile spirtoase, cu excepția lichiorurilor care conțin ouă și produse lactate. Metoda a fost validată printr-un test interlaboratoare pentru pastis, anason distilat, lichior de cireșe, „crème de" (urmată de numele fructului sau al materiei prime utilizate) și „crème de cassis", la niveluri variind între 10,86g/l și 509,7 g/l. Cu toate acestea, linearitatea răspunsului instrumentului a fost dovedită pentru o concentrație variind între 2,5 g/l și 20,0 g/l. Această metodă nu este destinată determinării conținuturilor scăzute de zaharuri. **2. Referințe normative** ISO 3696:1987 Apă pentru uzul laboratoarelor de analiză – Specificații și metode de testare. **3. Principiu** Cromatografia lichidă de înaltă performanță testează soluțiile de zahăr, pentru a le stabili concentrațiile de glucoză, fructoză, zaharoză, maltoză și lactoză. Această metodă utilizează o fază staționară de alchilamină și detectarea refractometriei diferențiale și este prezentată ca exemplu. Este posibilă și utilizarea rășinilor schimbătoare de anioni ca fază staționară. **4. Reactivi și materiale** 4.1.Glucoză (CAS 50-99-7), cu o puritate de minimum 99 %. 4.2.Fructoză (CAS 57-48-7), cu o puritate de minimum 99 %. 4.3.Zaharoză (CAS 57-50-1), cu o puritate de minimum 99 %. 4.4.Lactoză (CAS 5965-66-2), cu o puritate de minimum 99 %. 4.5.Maltoză monohidrată (CAS 6363-53-7), cu o puritate de minimum 99 %. 4.6.Acetonitril pur (CAS 75-05-8) pentru analiza HPLC. 4.7.Apă distilată sau demineralizată, de preferat	**VII. ZAHARURI TOTALE** **1. Domeniu de aplicare** Metoda HPLC-RI se aplică pentru a determina zaharurile totale (exprimate ca zahăr invertit) din băuturile spirtoase, cu excepția lichiorurilor care conțin ouă și produse lactate. Metoda a fost validată printr-un test interlaboratoare pentru pastis, anason distilat, lichior de cireșe, „crème de" (urmată de numele fructului sau al materiei prime utilizate) și „crème de cassis", la niveluri variind între 10,86g/l și 509,7 g/l. Cu toate acestea, linearitatea răspunsului instrumentului a fost dovedită pentru o concentrație variind între 2,5 g/l și 20,0 g/l. Această metodă nu este destinată determinării conținuturilor scăzute de zaharuri. **2. Referințe normative** ISO 3696 - Apă pentru uzul laboratoarelor de analiză – Specificații și metode de testare. **3. Principiu** Cromatografia lichidă de înaltă performanță testează soluțiile de zahăr, pentru a le stabili concentrațiile de glucoză, fructoză, zaharoză, maltoză și lactoză. Această metodă utilizează o fază staționară de alchilamină și detectarea refractometriei diferențiale și este prezentată ca exemplu. Este posibilă și utilizarea rășinilor schimbătoare de anioni ca fază staționară. **4. Reactivi și materiale** 4.1. Glucoză (CAS 50-99-7), cu o puritate de minimum 99 %. 4.2. Fructoză (CAS 57-48-7), cu o puritate de minimum 99 %. 4.3. Zaharoză (CAS 57-50-1), cu o puritate de minimum 99 %. 4.4. Lactoză (CAS 5965-66-2), cu o puritate de minimum 99 %. 4.5. Maltoză monohidrată (CAS 6363-53-7), cu o puritate de minimum 99 %. 4.6. Acetonitril pur (CAS 75-05-8) pentru analiza HPLC. 4.7. Apă distilată sau demineralizată, de preferat	**Compatibil**	

microfiltrată. 4.8.Solvenți (exemplu) Solventul de eluare este compus din: 75 de părți (volume) de acetonitril (4.6), 25 de părți (volume) de apă distilată (4.7). Se trece heliu prin solventul de eluare, într-un ritm lent, timp de 5-10 minute, înainte de a fi folosit pentru degazare. Dacă apa utilizată nu a fost microfiltrată, solventul ar trebui să fie filtrat cu ajutorul unui filtru pentru solvenți organici cu diametrul porilor mai mic decât sau egal cu 0,45 µm. 4.9.Etanol absolut (CAS 64-17-5). 4.10.Soluție de etanol (5 %, v/v). 4.11.Pregătirea soluției-mamă standard (20g/l) Se cântăresc 2 g din fiecare dintre zaharurile care urmează să fie analizate (4.1.-4.5.), se transferă cantitativ într-un balon volumetric de 100 ml. (NB: 2,11 g de maltoză monohidrată echivalează cu 2 g de maltoză). Se ajustează la 100 ml cu o soluție de alcool de 5 % vol. (4.10), se agită și se păstrează la aproximativ + 4 °C. Se prepară o nouă soluție-mamă o dată pe săptămână. 4.12.Pregătirea soluțiilor standard de lucru (2,5; 5,0; 7,5; 10,0 și 20,0 g/l) Se diluează soluția-mamă, 20 g/l, (4.11) corespunzător cu o soluție de alcool de 5 % vol. (4.10) pentru a obține cinci soluții standard de lucru de 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 și 20,0 g/l. Se filtrează cu un filtru având diametrul porilor mai mic decât sau egal cu 0,45 µm (5.3.). **5. Aparatură și echipamente** 5.1. Sistem HPLC care poate asigura rezoluția liniei de bază pentru toate zaharurile. 5.1.1. Cromatograf lichid de înaltă performanță prevăzut cu valvă de injecție cu șase orificii, prevăzut cu o buclă de 10 µL sau cu orice alt dispozitiv, automat sau manual, pentru injectarea fiabilă a microvolumelor. 5.1.2. Sistem de pompare care permite obținerea și menținerea unui debit constant sau programat de înaltă precizie. 5.1.3. Refractometru diferențial.	microfiltrată. 4.8. Solvenți (exemplu) Solventul de eluare este compus din: 75 de părți (volume) de acetonitril (4.6), 25 de părți (volume) de apă distilată (4.7). Se trece heliu prin solventul de eluare, într-un ritm lent, timp de 5-10 minute, înainte de a fi folosit pentru degazare. Dacă apa utilizată nu a fost microfiltrată, solventul ar trebui să fie filtrat cu ajutorul unui filtru pentru solvenți organici cu diametrul porilor mai mic decât sau egal cu 0,45 µm. 4.9. Etanol absolut (CAS 64-17-5). 4.10. Soluție de etanol (5 %, v/v). 4.11. Pregătirea soluției-mamă standard (20g/l) Se cântăresc 2 g din fiecare dintre zaharurile care urmează să fie analizate (4.1.-4.5.), se transferă cantitativ într-un balon volumetric de 100 ml. (NB: 2,11 g de maltoză monohidrată echivalează cu 2 g de maltoză). Se ajustează la 100 ml cu o soluție de alcool de 5 % vol. (4.10), se agită și se păstrează la aproximativ + 4 °C. Se prepară o nouă soluție-mamă o dată pe săptămână. 4.12. Pregătirea soluțiilor standard de lucru (2,5; 5,0; 7,5; 10,0 și 20,0 g/l) Se diluează soluția-mamă, 20 g/l, (4.11) corespunzător cu o soluție de alcool de 5 % vol. (4.10) pentru a obține cinci soluții standard de lucru de 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 și 20,0 g/l. Se filtrează cu un filtru având diametrul porilor mai mic decât sau egal cu 0,45 µm (5.3.). **5. Aparatură și echipamente** **5.1. Sistem HPLC care poate asigura rezoluția liniei de bază pentru toate zaharurile.** 5.1.1. Cromatograf lichid de înaltă performanță prevăzut cu valvă de injecție cu șase orificii, prevăzut cu o buclă de 10 µL sau cu orice alt dispozitiv, automat sau manual, pentru injectarea fiabilă a microvolumelor. 5.1.2. Sistem de pompare care permite obținerea și menținerea unui debit constant sau programat de înaltă precizie. 5.1.3. Refractometru diferențial.		

5.1.4. Integrator computerizat sau înregistrator ce funcționează în compatibilitate cu restul sistemului.
5.1.5. Precoloană:
Se recomandă atașarea unei precoloane adecvate la coloana analitică.
5.1.6. Coloană (exemplu):

Material:	oțel inoxidabil sau sticlă.
Diametru interior:	2-5 mm.
Lungime:	100-250 mm (în funcție de dimensiunea particulei încărcate), de exemplu 250 mm dacă particula are diametrul de 5 µm.
Fază staționară:	grupele funcționale ale alchilaminei legate de siliciu, dimensiunea maximă a particulei de 5 µm.

5.1.7.Condiții pentru cromatografie (exemplu):
Solvent de eluare (4.8.), debit: 1 ml/minut.
Detectare: Refractometrie diferențială.
Pentru a se asigura că detectorul este perfect stabil, acesta ar trebui să fie pornit cu câteva ore înainte de utilizare.
Celula de referință trebuie să fie umplută cu solvent de eluare.
5.2.Balanța analitică cu o precizie de 0,1 mg.
5.3.Dispozitiv de filtrare pentru volume mici cu ajutorul unei micromembrane de 0,45 µm.

6. Depozitarea probelor

La primire, probele trebuie depozitate la temperatura camerei înainte de analiză.

7. Mod de lucru

7.1. PARTEA A: Pregătirea probei

7.1.1.Se agită proba.
7.1.2.Se filtrează cu un filtru având diametrul porilor mai mic decât sau egal cu 0,45 µm (5.3.).
7.2. PARTEA B: HPLC
7.2.1. Determinare

5.1.4. Integrator computerizat sau înregistrator ce funcționează în compatibilitate cu restul sistemului.
5.1.5. Precoloană:
Se recomandă atașarea unei precoloane adecvate la coloana analitică.
5.1.6. Coloană (exemplu):

Material:	oțel inoxidabil sau sticlă.
Diametru interior:	2-5 mm.
Lungime:	100-250 mm (în funcție de dimensiunea particulei încărcate), de exemplu 250 mm dacă particula are diametrul de 5 µm.
Fază staționară:	grupele funcționale ale alchilaminei legate de siliciu, dimensiunea maximă a particulei de 5 µm.

5.1.7. Condiții pentru cromatografie (exemplu):
Solvent de eluare (4.8.), debit: 1 ml/minut.
Detectare: Refractometrie diferențială.
Pentru a se asigura că detectorul este perfect stabil, acesta ar trebui să fie pornit cu câteva ore înainte de utilizare.
Celula de referință trebuie să fie umplută cu solvent de eluare.
5.2. Balanța analitică cu o precizie de 0,1 mg.
5.3. Dispozitiv de filtrare pentru volume mici cu ajutorul unei micromembrane de 0,45 µm.

6. Depozitarea probelor

La primire, probele trebuie depozitate la temperatura camerei înainte de analiză.

7. Mod de lucru

7.1. PARTEA A: Pregătirea probei

7.1.1. Se agită proba.
7.1.2. Se filtrează cu un filtru având diametrul porilor mai mic decât sau egal cu 0,45 µm (5.3.).
7.2. PARTEA B: HPLC
7.2.1. Determinare

Se injectează 10 µl din soluțiile standard (4.12.) și probe (7.1.2.). Se efectuează analiza în condiții cromatografice adecvate, cum ar fi cele descrise mai sus.
7.2.2.În cazul în care oricare vârf al unei probe are suprafața (sau înălțimea) mai mare decât vârful corespunzător în soluția standard cea mai concentrată, proba trebuie diluată cu apă distilată și reanalizată.

8. Calculare

Se compară cele două cromatograme obținute pentru soluția standard și pentru băutura spirtoasă. Se identifică vârfurile după timpul lor de retenție. Se măsoară suprafețele lor (sau înălțimile) pentru a se calcula concentrațiile prin metoda standard externă. Se iau în considerare toate diluțiile efectuate în timpul pregătirii probei.
Rezultatul final reprezintă suma zaharozei, maltozei, lactozei, glucozei și fructozei, exprimat ca zahăr invertit în g/l.
Zahărul invertit se calculează ca suma tuturor monozaharidelor și reducând dizaharidele prezente, plus cantitatea stoechiometrică de glucoză și fructoză calculată din zaharoza prezentă.
Zahăr invertit (g/l)=glucoză (g/l) + fructoză (g/l) + maltoză (g/l) + lactoză (g/l) + (zaharoză (g/l) × 1,05)
1,05=(masa moleculară a fructozei + masa moleculară a glucozei)/masa moleculară a zaharozei

9. Caracteristici de performanță ale metodei (precizia)

9.1. Rezultate statistice ale testului interlaboratoare

Următoarele date au fost obținute dintr-un studiu internațional de performanță a metodei efectuat cu proceduri acceptate la nivel internațional [1] [2].

Anul testului interlaboratoare	2000
Numărul de laboratoare	24
Numărul de probe	8

Se injectează 10 µl din soluțiile standard (4.12.) și probe (7.1.2.). Se efectuează analiza în condiții cromatografice adecvate, cum ar fi cele descrise mai sus.
7.2.2. În cazul în care oricare vârf al unei probe are suprafața (sau înălțimea) mai mare decât vârful corespunzător în soluția standard cea mai concentrată, proba trebuie diluată cu apă distilată și reanalizată.

8. Calculare

Se compară cele două cromatograme obținute pentru soluția standard și pentru băutura spirtoasă. Se identifică vârfurile după timpul lor de retenție. Se măsoară suprafețele lor (sau înălțimile) pentru a se calcula concentrațiile prin metoda standard externă. Se iau în considerare toate diluțiile efectuate în timpul pregătirii probei.
Rezultatul final reprezintă suma zaharozei, maltozei, lactozei, glucozei și fructozei, exprimat ca zahăr invertit în g/l.
Zahărul invertit se calculează ca suma tuturor monozaharidelor și reducând dizaharidele prezente, plus cantitatea stoechiometrică de glucoză și fructoză calculată din zaharoza prezentă.
Zahăr invertit (g/l) = glucoză (g/l) + fructoză (g/l) + maltoză (g/l) + lactoză (g/l) + (zaharoză (g/l) × 1,05)
1,05 = (masa moleculară a fructozei + masa moleculară a glucozei)/masa moleculară a zaharozei

9. Caracteristici de performanță ale metodei (precizia)

9.1. Rezultate statistice ale testului interlaboratoare

Următoarele date au fost obținute dintr-un studiu internațional de performanță a metodei efectuat cu proceduri acceptate la nivel internațional [1] [2].

Anul testului interlaboratoare	2000
Numărul de laboratoare	24
Numărul de probe	8

Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method- Performance Studies”, Horwitz, W. (1995) Pure and Applied Chemistry 67, 332-343.

orwitz, W. (1982) Analytical Chemistry 54, 67A-76A.

Tabelul 1
Fructoză, glucoză, maltoză

Analit	**Fructoză**		**Glucoză**			**Maltoză**	
Probe (× 2)	**Crème de Cassis**	**Standard (50 g/l)**	**Băutură spirtoasă cu aromă de anason**	**Crème de Cassis**	**Standard (50 g/l)**	**Băutură spirtoasă cu aromă de anason**	**Standard (10 g/l)**
Valoarea medie [g/l]	92,78	50,61	15,62	93,16	50,06	15,81	9,32
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	21	22	21	23	19	21	22
Deviația standard de repetabilitate, s_r, [g/l]	2,34	2,12	0,43	3,47	1,01	0,48	0,54
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	2,53	4,2	2,76	3,72	2,03	3,02	5,77

[1] „Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method- Performance Studies”, Horwitz, W. (1995) Pure and Applied Chemistry 67, 332-343.
[2] Horwitz, W. (1982) Analytical Chemistry 54, 67A-76A.

Tabelul 1
Fructoză, glucoză, maltoză

Analit	**Fructoză**		**Glucoză**			**Maltoză**	
Probe (× 2)	**Crème de Cassis**	**Standard (50 g/l)**	**Băutură spirtoasă cu aromă de anason**	**Crème de Cassis**	**Standard (50 g/l)**	**Băutură spirtoasă cu aromă de anason**	**Standard (10 g/l)**
Valoarea medie [g/l]	92,78	50,61	15,62	93,16	50,06	15,81	9,32
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	21	22	21	23	19	21	22
Deviația standard de repetabilitate, s_r, [g/l]	2,34	2,12	0,43	3,47	1,01	0,48	0,54
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	2,53	4,2	2,76	3,72	2,03	3,02	5,77

Limită de repetabilitate, r [g/l] (r = 2,8 × sr)	6,56	5,95	1,21	9,71	2,84	1,34	1,51
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [g/l]	7,72	3,13	0,84	9,99	2,7	0,88	1,4
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_r [%]	8,32	6,18	5,37	10,72	5,4	5,54	15,06
Limita de reproductibilitate, R [g/l] (R = 2,8 × sR)	21,62	8,76	2,35	27,97	7,57	2,45	3,93

Tabelul 2
Zaharoză

Analit	**Zaharoză**					
Probe	**Pastis**	**Ouzo**	**Lichior de cireșe**	**Crème de Menthe**	**Crème de Cassis**	**Standard (100 g/l)**
Valoarea medie [g/l]	10,83	29,2 19,7 (*1)	103,33	349,96	319,84	99,83
Numărul laboratoarelor reținute după	19	19	20	18	18	18

Limită de repetabilitate, r [g/l] (r = 2,8 × sr)	6,56	5,95	1,21	9,71	2,84	1,34	1,51
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [g/l]	7,72	3,13	0,84	9,99	2,7	0,88	1,4
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_r [%]	8,32	6,18	5,37	10,72	5,4	5,54	15,06
Limita de reproductibilitate, R [g/l] (R = 2,8 × sR)	21,62	8,76	2,35	27,97	7,57	2,45	3,93

Tabelul 2
Zaharoză

Analit	**Zaharoză**					
Probe	**Pastis**	**Ouzo**	**Lichior de cireșe**	**Crème de Menthe**	**Crème de Cassis**	**Standard (100 g/l)**
Valoarea medie [g/l]	10,83	29,2 19,7 (*1)	103,33	349,96	319,84	99,83
Numărul laboratoarelor reținute după	19	19	20	18	18	18

eliminarea rezultatelor excepționale						
Deviația standard de repetabilitate, s_r [g/l]	0,09	0,75	2,17	5,99	4,31	1,25
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	0,81	3,07	2,1	1,71	1,35	1,25
Limită de repetabilitate, r [g/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,25	2,1	6,07	16,76	12,06	3,49
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [g/l]	0,79	0,92	4,18	9,94	16,11	4,63
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	7,31	3,76	4,05	2,84	5,04	4,64
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	2,22	2,57	11,7	27,84	45,12	12,97
(*1) nivel de ramificare						

Tabelul 3
Zaharuri totale

Probe	**Pastis**	**Ouzo**	**Băutură spirto**	**Licior de cireș**	**Crème de**	**Crème de**	**Standard (220**

eliminarea rezultatelor excepționale						
Deviația standard de repetabilitate, s_r [g/l]	0,09	0,75	2,17	5,99	4,31	1,25
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	0,81	3,07	2,1	1,71	1,35	1,25
Limită de repetabilitate, r [g/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,25	2,1	6,07	16,76	12,06	3,49
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [g/l]	0,79	0,92	4,18	9,94	16,11	4,63
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	7,31	3,76	4,05	2,84	5,04	4,64
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	2,22	2,57	11,7	27,84	45,12	12,97
(*1) nivel de ramificare						

Tabelul 3
Zaharuri totale

Probe	**Pastis**	**Ouzo**	**Băutură spirto**	**Licior de cireș**	**Crème de**	**Crème de**	**Standard (220**

			asă cu aromă de anason	**e**	**Menthe**	**Cassis**	**g/l)**
Valoarea medie [g/l]	10,86	29,2 19,7 (*1)	31,59	103,33	349,73	509,69	218,78
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	20	19	20	20	18	18	19
Deviația standard de repetabilitate, s_r, [g/l]	0,13	0,75	0,77	2,17	5,89	5,59	2,71
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	1,16	3,07	2,45	2,1	1,69	1,1	1,24
Limită de repetabilitate, r [g/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,35	2,1	2,17	6,07	16,5	15,65	7,59
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [g/l]	0,79	0,92	1,51	4,18	9,98	14,81	8,53
Deviația	7,25	3,7	4,79	4,04	2,85	2,91	3,9

			asă cu aromă de anason	**e**	**Menthe**	**Cassis**	**g/l)**
Valoarea medie [g/l]	10,86	29,2 19,7 (*1)	31,59	103,33	349,73	509,69	218,78
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	20	19	20	20	18	18	19
Deviația standard de repetabilitate, s_r, [g/l]	0,13	0,75	0,77	2,17	5,89	5,59	2,71
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	1,16	3,07	2,45	2,1	1,69	1,1	1,24
Limită de repetabilitate, r [g/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,35	2,1	2,17	6,07	16,5	15,65	7,59
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [g/l]	0,79	0,92	1,51	4,18	9,98	14,81	8,53
Deviația	7,25	3,7	4,79	4,04	2,85	2,91	3,9

standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]		6					
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	2,21	2,57	4,24	11,7	27,94	41,48	23,89
(*1) nivel de ramificare							

standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]		6					
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	2,21	2,57	4,24	11,7	27,94	41,48	23,89
(*1) nivel de ramificare							

IX. GĂLBENUȘ DE OU. DETERMINAREA CONCENTRAȚIEI DE GĂLBENUȘ DE OU DIN BĂUTURILE SPIRTOASE – METODA FOTOMETRICĂ **1. Domeniu de aplicare** Prezenta metodă este adecvată pentru determinarea concentrației de gălbenuș de ou de la 40 la 250 g/l în lichiorul de ou și lichiorul pe bază de ou. **2. Referințe normative** ISO 3696: 1897 Apă pentru utilizare analitică de laborator – Caracteristici și metode de testare **3. Principiu** Compușii fosforoși solubili în etanol prezenți în gălbenușul de ou se extrag și se determină prin fotometrie sub formă de complex fosfo-molibdenic. **4. Reactivi** 4.1. Apă dublu-distilată 4.2. Diatomit 4.3. Etanol de 96 % vol. (CAS 64-17-5) 4.4. Soluție de acetat de magneziu de 15 % (CAS 16674-78-5) 4.5. Acid sulfuric de 10 % (CAS 7664-93-9) 4.6. Acid sulfuric 1N 4.7. Soluție de fosfat monobazic de potasiu (CAS 778-77-0), KH2PO4, de 0,16 g/l	**VIII. GĂLBENUȘ DE OU. DETERMINAREA CONCENTRAȚIEI DE GĂLBENUȘ DE OU DIN BĂUTURILE SPIRTOASE – METODA FOTOMETRICĂ** **1. Domeniu de aplicare** Prezenta metodă este adecvată pentru determinarea concentrației de gălbenuș de ou de la 40 la 250 g/l în lichiorul de ou și lichiorul pe bază de ou. **2. Referințe normative** ISO 3696 - Apă pentru utilizare analitică de laborator – Caracteristici și metode de testare **3. Principiu** Compușii fosforoși solubili în etanol prezenți în gălbenușul de ou se extrag și se determină prin fotometrie sub formă de complex fosfo-molibdenic. **4. Reactivi** 4.1. Apă dublu-distilată 4.2. Diatomit 4.3. Etanol de 96 % vol. (CAS 64-17-5) 4.4. Soluție de acetat de magneziu de 15 % (CAS 16674-78-5) 4.5. Acid sulfuric de 10 % (CAS 7664-93-9) 4.6. Acid sulfuric 1N 4.7. Soluție de fosfat monobazic de potasiu (CAS 778-77-0), KH2PO4, de 0,16 g/l	**Compatibil**

4.8. Reactiv pentru determinarea fosfatului: se dizolvă 20 g de molibdat de amoniu (CAS 12054-85-2), (NH4)6Mo7O24.4H2O în 400 ml de apă la 50 °C. Se dizolvă, în alt recipient, 1 g de vanadat de amoniu (CAS 7803-55-6), NH4VO3, în 300 ml de apă caldă, se lasă să se răcească, apoi se adaugă 140 ml de acid nitric concentrat (CAS 7697-37-2). Se combină soluțiile răcite într-un balon gradat de 1 000 ml și se completează până la gradația de 1 000 ml. **5. Aparatură și echipamente** 5.1. Balon conic de 100 ml 5.2. Baie ultrasonică (sau agitator magnetic) 5.3. Balon conic de 100 ml 5.4. Baie de apă la 20 °C 5.5. Filtru (Whatman nr. 4 sau echivalent) 5.6. Creuzet de porțelan (sau de platină) 5.7. Baie de apă clocotită 5.8. Placă fierbinte 5.9. Cuptor închis 5.10. Balon gradat de 50 ml 5.11. Balon gradat de 20 ml 5.12. Spectrofotometru reglat la 420 nm 5.13. Cuvă de 1 cm. **6. Eșantioane** Eșantioanele se păstrează la temperatura camerei înainte de analiză. **7. Mod de lucru** **7.1. Pregătirea eșantioanelor** 7.1.1. Se introduc 10 g de eșantion într-un balon conic de 100 ml (punctul 5.1). 7.1.2. Se adaugă 70 ml de etanol treptat și în cantități mici, amestecând la fiecare adăugare. Amestecul se introduce într-o baie ultrasonică (punctul 5.2) timp de 15 minute [sau se amestecă cu ajutorul unui agitator magnetic (punctul 5.2) timp de 10 minute la temperatura camerei]. 7.1.3. Se transferă conținutul balonului într-un balon gradat de 100 ml (punctul 5.3) și se adaugă volume de etanol de spălare (punctul 4.3). Se completează cu etanol (punctul	4.8. Reactiv pentru determinarea fosfatului: se dizolvă 20 g de molibdat de amoniu (CAS 12054-85-2), (NH4)6Mo7O24.4H2O în 400 ml de apă la 50 °C. Se dizolvă, în alt recipient, 1 g de vanadat de amoniu (CAS 7803-55-6), NH4VO3, în 300 ml de apă caldă, se lasă să se răcească, apoi se adaugă 140 ml de acid nitric concentrat (CAS 7697-37-2). Se combină soluțiile răcite într-un balon gradat de 1 000 ml și se completează până la gradația de 1 000 ml. **5. Aparatură și echipamente** 5.1. Balon conic de 100 ml 5.2. Baie ultrasonică (sau agitator magnetic) 5.3. Balon conic de 100 ml 5.4. Baie de apă la 20 °C 5.5. Filtru (Whatman nr. 4 sau echivalent) 5.6. Creuzet de porțelan (sau de platină) 5.7. Baie de apă clocotită 5.8. Placă fierbinte 5.9. Cuptor închis 5.10. Balon gradat de 50 ml 5.11. Balon gradat de 20 ml 5.12. Spectrofotometru reglat la 420 nm 5.13. Cuvă de 1 cm. **6. Eșantioane** Eșantioanele se păstrează la temperatura camerei înainte de analiză. **7. Mod de lucru** **7.1. Pregătirea eșantioanelor** 7.1.1. Se introduc 10 g de eșantion într-un balon conic de 100 ml (punctul 5.1). 7.1.2. Se adaugă 70 ml de etanol treptat și în cantități mici, amestecând la fiecare adăugare. Amestecul se introduce într-o baie ultrasonică (punctul 5.2) timp de 15 minute [sau se amestecă cu ajutorul unui agitator magnetic (punctul 5.2) timp de 10 minute la temperatura camerei]. 7.1.3. Se transferă conținutul balonului într-un balon gradat de 100 ml (punctul 5.3) și se adaugă volume de etanol de spălare (punctul 4.3). Se completează cu etanol (punctul		

4.3) până la gradația de etalonare, apoi baloanele se pun într-o baie de apă la 20 °C (punctul 5.4). Se completează până la semnul de etalonare, la temperatura de 20 °C. 7.1.4. Se adaugă o cantitate mică de diatomit (punctul 4.2) și se filtrează (punctul 5.5), eliminând primii 20 ml. 7.1.5. Se transferă 25 ml de filtrat într-un creuzet de porțelan (sau de platină) (punctul 5.6). Filtratul trebuie apoi să se concentreze prin evaporare ușoară într-o baie de apă clocotită (punctul 5.7), după adăugarea a 5 ml de soluție de acetat de magneziu de 15 % (punctul 4.4). 7.1.6. Se așează creuzetele pe o placă fierbinte (punctul 5.8) și se încălzesc până sunt aproape uscate. 7.1.7. Se calcinează reziduul uscat încălzindu-l până la incandescență, la 600 °C, într-un cuptor închis (punctul 5.9) până se obține o cenușă albă. Operațiunea durează cel puțin o oră și jumătate, dar se poate prelungi toată noaptea. 7.1.8. Se recuperează cenușa cu ajutorul a 10 ml de acid sulfuric de 10 % (punctul 4.5) și se transferă cu ajutorul spălărilor de apă distilată (punctul 4.1) într-un balon gradat de 50 ml (punctul 5.10). Conținutul se completează cu apă distilată până la semn, la temperatura camerei. Se rezervă o parte alicotă de 5 ml din această soluție de cenușă pentru prepararea soluției de eșantion ce se utilizează pentru testarea fotometrică a fosfaților. **7.2. Testare fotometrică a fosfaților** **7.2.1. Soluție comparativă** 7.2.1.1. Se introduc 10 ml de acid sulfuric de 10 % (punctul 4.5) într-un balon gradat de 50 ml (punctul 5.10) și se completează până la semn cu apă distilată (punctul 4.1). 7.2.1.2. Într-un balon gradat de 20 ml (punctul 5.11), se introduce o parte alicotă de 5 ml din această soluție (punctul 7.2.1.1), apoi se adaugă 1 ml de acid sulfuric de 1 N (punctul 4.6) și 2 ml de reactiv la fosfat (punctul 4.8). Se completează până la un volum de 20 ml cu apă distilată (punctul 4.1). 7.2.1.3. Se închide, fără a fixa ermetic dopul, se agită și se încălzește într-o baie de apă clocotită (punctul 5.7) timp de 10 minute, apoi se lasă să se răcească într-o baie de apă	4.3) până la gradația de etalonare, apoi baloanele se pun într-o baie de apă la 20 °C (punctul 5.4). Se completează până la semnul de etalonare, la temperatura de 20 °C. 7.1.4. Se adaugă o cantitate mică de diatomit (punctul 4.2) și se filtrează (punctul 5.5), eliminând primii 20 ml. 7.1.5. Se transferă 25 ml de filtrat într-un creuzet de porțelan (sau de platină) (punctul 5.6). Filtratul trebuie apoi să se concentreze prin evaporare ușoară într-o baie de apă clocotită (punctul 5.7), după adăugarea a 5 ml de soluție de acetat de magneziu de 15 % (punctul 4.4). 7.1.6. Se așază creuzetele pe o placă fierbinte (punctul 5.8) și se încălzesc până sunt aproape uscate. 7.1.7. Se calcinează reziduul uscat încălzindu-l până la incandescență, la 600 °C, într-un cuptor închis (punctul 5.9) până se obține o cenușă albă. Operațiunea durează cel puțin o oră și jumătate, dar se poate prelungi toată noaptea. 7.1.8. Se recuperează cenușa cu ajutorul a 10 ml de acid sulfuric de 10 % (punctul 4.5) și se transferă cu ajutorul spălărilor de apă distilată (punctul 4.1) într-un balon gradat de 50 ml (punctul 5.10). Conținutul se completează cu apă distilată până la semn, la temperatura camerei. Se rezervă o parte alicotă de 5 ml din această soluție de cenușă pentru prepararea soluției de eșantion ce se utilizează pentru testarea fotometrică a fosfaților. **7.2. Testare fotometrică a fosfaților** **7.2.1. Soluție comparativă** 7.2.1.1. Se introduc 10 ml de acid sulfuric de 10 % (punctul 4.5) într-un balon gradat de 50 ml (punctul 5.10) și se completează până la semn cu apă distilată (punctul 4.1). 7.2.1.2. Într-un balon gradat de 20 ml (punctul 5.11), se introduce o parte alicotă de 5 ml din această soluție (punctul 7.2.1.1), apoi se adaugă 1 ml de acid sulfuric de 1 N (punctul 4.6) și 2 ml de reactiv la fosfat (punctul 4.8). Se completează până la un volum de 20 ml cu apă distilată (punctul 4.1). 7.2.1.3. Se închide, fără a fixa ermetic dopul, se agită și se încălzește într-o baie de apă clocotită (punctul 5.7) timp de		

(punctul 5.4) la 20 °C timp de 20 de minute.
7.2.1.4. Se varsă această soluție comparativă într-o cuvă de 1 cm (punctul 5.13).

7.2.2. Soluție de eșantion
7.2.2.1. Într-un balon gradat de 20 ml (punctul 5.11), se introduce o parte alicotă de 5 ml din soluția de cenușă (punctul 7.1.8), apoi se adaugă 1 ml de acid sulfuric de 1 N (punctul 4.6) și 2 ml de reactiv la fosfat (punctul 4.8). Se completează până la un volum de 20 ml cu apă distilată (punctul 4.1).
7.2.2.2. Se închide, fără a fixa ermetic dopul, se agită și se încălzește într-o baie de apă clocotită (punctul 5.7) timp de 10 minute, apoi se lasă să se răcească într-o baie de apă (punctul 5.4) la 20 °C timp de 20 de minute.
7.2.2.3. Soluția galbenă care se formează se analizează imediat spectrofotometric (punctul 5.12) într-o cuvă de 1 cm (punctul 5.13) la 420 nm în raport cu soluția comparativă (punctul 7.2.1.4).
7.2.3. Curba de etalonare
7.2.3.1. Pentru a stabili curba de etalonare, se adaugă părți alicote de 2 ml de reactiv la fosfat (punctul 4.8) în baloane gradate de 20 ml (punctul 5.11) care conțin fiecare 1 ml de acid sulfuric 1 N (punctul 4.6) și, respectiv, 0, 2, 4, 6, 8 și 10 ml de soluție de fosfat monobazic de potasiu (punctul 4.7) și se completează până la gradația de 20 ml cu apă distilată (punctul 4.1).
7.2.3.2. Se închide, fără a fixa ermetic dopul, se agită și se încălzește într-o baie de apă clocotită (punctul 5.7) timp de 10 minute, apoi se lasă să se răcească într-o baie de apă (punctul 5.4) la 20 °C timp de 20 de minute și se analizează spectrofotometric la 420 nm (punctul 5.12), într-o cuvă de 1 cm (punctul 5.13), în raport cu soluția comparativă (punctul 7.2.1.4).
7.2.3.3. Stabilirea curbei de etalonare

Soluție de fosfat monobazic (ml)	0	2	4	6	8	10

10 minute, apoi se lasă să se răcească într-o baie de apă (punctul 5.4) la 20 °C timp de 20 de minute.
7.2.1.4. Se varsă această soluție comparativă într-o cuvă de 1 cm (punctul 5.13).
7.2.2. Soluție de eșantion
7.2.2.1. Într-un balon gradat de 20 ml (punctul 5.11), se introduce o parte alicotă de 5 ml din soluția de cenușă (punctul 7.1.8), apoi se adaugă 1 ml de acid sulfuric de 1 N (punctul 4.6) și 2 ml de reactiv la fosfat (punctul 4.8). Se completează până la un volum de 20 ml cu apă distilată (punctul 4.1).
7.2.2.2. Se închide, fără a fixa ermetic dopul, se agită și se încălzește într-o baie de apă clocotită (punctul 5.7) timp de 10 minute, apoi se lasă să se răcească într-o baie de apă (punctul 5.4) la 20 °C timp de 20 de minute.
7.2.2.3. Soluția galbenă care se formează se analizează imediat spectrofotometric (punctul 5.12) într-o cuvă de 1 cm (punctul 5.13) la 420 nm în raport cu soluția comparativă (punctul 7.2.1.4).
7.2.3. Curba de etalonare
7.2.3.1. Pentru a stabili curba de etalonare, se adaugă părți alicote de 2 ml de reactiv la fosfat (punctul 4.8) în baloane gradate de 20 ml (punctul 5.11) care conțin fiecare 1 ml de acid sulfuric 1 N (punctul 4.6) și, respectiv, 0, 2, 4, 6, 8 și 10 ml de soluție de fosfat monobazic de potasiu (punctul 4.7) și se completează până la gradația de 20 ml cu apă distilată (punctul 4.1).
7.2.3.2. Se închide, fără a fixa ermetic dopul, se agită și se încălzește într-o baie de apă clocotită (punctul 5.7) timp de 10 minute, apoi se lasă să se răcească într-o baie de apă (punctul 5.4) la 20 °C timp de 20 de minute și se analizează spectrofotometric la 420 nm (punctul 5.12), într-o cuvă de 1 cm (punctul 5.13), în raport cu soluția comparativă (punctul 7.2.1.4).
7.2.3.3. Stabilirea curbei de etalonare

Soluție de fosfat monobazic (ml)	0	2	4	6	8	10

P_2O_5 (mg)	0	0,167	0,334	0,501	0,668	0,835

8. Exprimarea rezultatelor

Conținutul în gălbenuș de ou, exprimat în g/l, se calculează după următoarea formulă:

$$\text{g/l gălbenu de ou} = \text{mg}\,P_2O_5 \times \frac{110 \times \text{densitate}}{E/40}$$

unde:

110 este factorul de conversie pentru cantitatea totală de P2O5 în g din 100 g de gălbenuș de ou

mg P2O5 este valoare determinată de curba de etalonare

densitate este masa per unitate de volum (g/ml) de lichior de ou la temperatura de 20 °C

E este masa lichiorului de ou în g

40 este factorul de diluare pentru o porțiune de 5 ml de soluție de cenușă.

9. Caracteristicile de performanță ale metodei (precizia)

Rezultate statistice ale testului interlaboratoare

Tabelul de mai jos oferă valorile pentru gălbenușul de ou. Datele menționate provin dintr-un studiu internațional privind performanțele metodei, realizat conform procedurilor autorizate la nivel internațional.

Anul testului interlaboratoare:	1998
Numărul de laboratoare:	24
Numărul de eșantioane:	5
Analit:	gălbenușul de ou

P_2O_5 (mg)	0	0,167	0,334	0,501	0,668	0,835

8. Exprimarea rezultatelor

Conținutul în gălbenuș de ou, exprimat în g/l, se calculează după următoarea formulă:

$$\frac{g}{l}\,gălbenuș\ de\ ou = mgP_2O_5\ x\ \frac{110\ x\ densitate}{E/40}$$

unde:

110 - este factorul de conversie pentru cantitatea totală de P2O5 în g din 100 g de gălbenuș de ou

mg P2O5 - este valoare determinată de curba de etalonare

densitate - este masa per unitate de volum (g/ml) de lichior de ou la temperatura de 20 °C

E - este masa lichiorului de ou în g

40 - este factorul de diluare pentru o porțiune de 5 ml de soluție de cenușă.

9. Caracteristicile de performanță ale metodei (precizia)

Rezultate statistice ale testului interlaboratoare

Tabelul de mai jos oferă valorile pentru gălbenușul de ou. Datele menționate provin dintr-un studiu internațional privind performanțele metodei, realizat conform procedurilor autorizate la nivel internațional.

Anul testului interlaboratoare:	1998
Numărul de laboratoare:	24
Numărul de eșantioane:	5
Analit:	gălbenușul de ou

Eșantioane	A	B	C	D	E
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	19	20	22	20	22
Numărul rezultatelor excepționale (laboratoare)	3	4	2	4	2
Numărul rezultatelor acceptate	38	40	44	40	44
Valoare medie	147,3	241,1	227,4	51,9 (*) 72,8 (*)	191,1
Decalaj standard de repetabilitate (S_r) g/l	2,44	4,24	3,93	1,83	3,25
Decalaj standard relativ de repetabilitate (RSD_r) (%)	1,7	1,8	1,8	2,9	1,7
Limită de repetabilitate (r) g/l	6,8	11,9	11,0	5,1	9,1
Decalaj standard de reproductibilitate (S_R) (%)	5,01	6,06	6,66	3,42	6,87
Decalaj standard relativ de reproductibilitate (RSD_R) (%)	3,4	2,5	2,9	5,5	3,6
Limită de reproductibilitate (R) g/l	14,0	17,0	18,7	9,6	19,2

Tipuri de eșantioane:
A Advocaat, duplicate oarbe
B Advocaat, duplicate oarbe
C Advocaat, duplicate oarbe
D Advocaat (diluat), niveluri de ramificare (*)
E Advocaat, duplicate oarbe

Eșantioane	A	B	C	D	E
Numărul laboratoarelor reținute după eliminarea rezultatelor excepționale	19	20	22	20	22
Numărul rezultatelor excepționale (laboratoare)	3	4	2	4	2
Numărul rezultatelor acceptate	38	40	44	40	44
Valoare medie	147,3	241,1	227,4	51,9 (*) 72,8 (*)	191,1
Decalaj standard de repetabilitate (S_r) g/l	2,44	4,24	3,93	1,83	3,25
Decalaj standard relativ de repetabilitate (RSD_r) (%)	1,7	1,8	1,8	2,9	1,7
Limită de repetabilitate (r) g/l	6,8	11,9	11,0	5,1	9,1
Decalaj standard de reproductibilitate (S_R) (%)	5,01	6,06	6,66	3,42	6,87
Decalaj standard relativ de reproductibilitate (RSD_R) (%)	3,4	2,5	2,9	5,5	3,6
Limită de reproductibilitate (R) g/l	14,0	17,0	18,7	9,6	19,2

Tipuri de eșantioane:
A Advocaat, duplicate oarbe
B Advocaat, duplicate oarbe
C Advocaat, duplicate oarbe
D Advocaat (diluat), niveluri de ramificare (*)
E Advocaat, duplicate oarbe

X. DETERMINAREA URMĂTORILOR COMPUȘI DIN LEMN ÎN BĂUTURILE SPIRTOASE PRIN METODA CROMATOGRAFIEI LICHIDE DE ÎNALTĂ PERFORMANȚĂ (HPLC): FURFURAL, 5-HIDROXIMETILFURFURAL, 5-METILFURFURAL, VANILINĂ, ALDEHIDĂ SIRINGICĂ, ALDEHIDĂ CONIFERILICĂ, SINAPALDEHIDĂ, ACID GALIC, ACID ELAGIC, ACID VANILIC, ACID SIRINGIC ȘI SCOPOLETINĂ **1. Domeniu de aplicare** Metoda se referă la determinarea compușilor: furfural, 5-hidroximetilfurfural, 5-metilfurfural, vanilină, aldehidă siringică, aldehidă coniferilică, sinapaldehidă, acid galic, acid elagic, acid vanilic, acid siringic și scopoletină prin cromatografia lichidă de înaltă performanță. **2. Referință normativă** Metodă analitică recunoscută de Adunarea Generală a Organizației Internaționale a Viei și Vinului (OIV) și publicată de OIV cu numărul de referință OIV-MA-BS-16: R2009. **3. Principiu** Determinarea prin cromatografia lichidă de înaltă performanță (HPLC), cu detectare prin spectofotometria în ultraviolet la mai multe lungimi de undă și prin spectrofluorimetrie. **4. Reactivi** Reactivii trebuie să fie de calitate analitică. Apa utilizată trebuie să fie apă distilată sau apă de o puritate cel puțin echivalentă. Este de preferat să se utilizeze apă microfiltrată cu o rezistivitate de 18,2 M Ω.cm. 4.1. Alcool de 96 % vol. 4.2. Metanol de calitate HPLC (Solvent B). 4.3.Acid acetic diluat la 0,5 % vol. (Solvent A). 4.4.Faze mobile: (dat numai ca exemplu). Solvent A (0,5 % acid acetic) și solvent B (metanol pur). Se filtrează printr-o membrană (cu porozitate 0,45 μm). Dacă este necesar, se degazează într-o baie cu ultrasunete. 4.5.Soluție standard de referință cu puritate minimă 99 %:	**IX. DETERMINAREA URMĂTORILOR COMPUȘI DIN LEMN ÎN BĂUTURILE SPIRTOASE PRIN METODA CROMATOGRAFIEI LICHIDE DE ÎNALTĂ PERFORMANȚĂ (HPLC): FURFURAL, 5-HIDROXIMETILFURFURAL, 5-METILFURFURAL, VANILINĂ, ALDEHIDĂ SIRINGICĂ, ALDEHIDĂ CONIFERILICĂ, SINAPALDEHIDĂ, ACID GALIC, ACID ELAGIC, ACID VANILIC, ACID SIRINGIC ȘI SCOPOLETINĂ** **1. Domeniu de aplicare** Metoda se referă la determinarea compușilor: furfural, 5-hidroximetilfurfural, 5-metilfurfural, vanilină, aldehidă siringică, aldehidă coniferilică, sinapaldehidă, acid galic, acid elagic, acid vanilic, acid siringic și scopoletină prin cromatografia lichidă de înaltă performanță. **2. Referință normativă** Metodă analitică recunoscută de Adunarea Generală a Organizației Internaționale a Viei și Vinului (OIV) și publicată de OIV cu numărul de referință OIV-MA-BS-16: R2009. **3. Principiu** Determinarea prin cromatografia lichidă de înaltă performanță (HPLC), cu detectare prin spectofotometria în ultraviolet la mai multe lungimi de undă și prin spectrofluorimetrie. **4. Reactivi** Reactivii trebuie să fie de calitate analitică. Apa utilizată trebuie să fie apă distilată sau apă de o puritate cel puțin echivalentă. Este de preferat să se utilizeze apă microfiltrată cu o rezistivitate de 18,2 M Ω.cm. 4.1. Alcool de 96 % vol. 4.2. Metanol de calitate HPLC (Solvent B). 4.3. Acid acetic diluat la 0,5 % vol. (Solvent A). 4.4. Faze mobile: (dat numai ca exemplu). Solvent A (0,5 % acid acetic) și solvent B (metanol pur). Se filtrează printr-o membrană (cu porozitate 0,45 μm). Dacă este necesar, se degazează într-o baie cu ultrasunete. 4.5. Soluție standard de referință cu puritate minimă 99 %:		

furfural, 5-hidroximetilfurfural, 5-metilfurfural, vanilină, aldehidă siringică, aldehidă coniferilică, sinapaldehidă, acid galic, acid elagic, acid vanilic, acid siringic și scopoletină. 4.6.Soluție de referință: substanțele standard se dizolvă într-o soluție apă-alcool de 50 % vol. Concentrațiile finale în soluția de referință trebuie să fie de ordinul a: furfural: 5 mg/l; 5-hidroximetilfurfural: 10 mg/l; 5-metilfurfural 2 mg/l; vanilină: 5 mg/l; aldehidă siringică: 10 mg/l; aldehidă coniferilică: 5 mg/l; sinapaldehidă: 5 mg/l; acid galic: 10 mg/l; acid elagic: 10 mg/l; acid vanilic: 5 mg/l; acid siringic: 5 mg/l; scopoletină: 0,5 mg/l. **5. Aparatură** Aparatură standard de laborator 5.1.Un cromatograf lichid de înaltă performanță capabil să funcționeze în mod gradient binar și echipat cu: 5.1.1. Un detector spectrofotometric capabil să măsoare la lungimi de undă de la 260 până la 340 nm. Cu toate acestea, este de preferat să se lucreze cu un detector cu multiple lungimi de undă cu rețea de diode, pentru a confirma puritatea vârfurilor. 5.1.2. Un detector spectrofluorimetric – lungime de undă de excitare: 354 nm, lungime de undă de emisie: 446 nm (pentru determinarea urmelor de scopoletină; care este detectabilă, de asemenea, la 313 nm cu ajutorul spectrofotometriei). 5.1.3. Un dispozitiv de injectare care poate introduce 10 sau 20 µl (de exemplu) din proba de testare. 5.1.4. O coloană pentru cromatografie lichidă de înaltă performanță, de tip RP C18, cu dimensiunea maximă a particulei de 5 µm. 5.2.Seringi pentru HPLC. 5.3. Dispozitiv pentru filtrare prin membrană a volumelor mici. 5.4.Integrator computerizat sau înregistrator care funcționează în compatibilitate cu întreaga aparatură și, în special, care trebuie să aibă mai multe canale de achiziție.	furfural, 5-hidroximetilfurfural, 5-metilfurfural, vanilină, aldehidă siringică, aldehidă coniferilică, sinapaldehidă, acid galic, acid elagic, acid vanilic, acid siringic și scopoletină. 4.6. Soluție de referință: substanțele standard se dizolvă într-o soluție apă-alcool de 50 % vol. Concentrațiile finale în soluția de referință trebuie să fie de ordinul a: furfural: 5 mg/l; 5-hidroximetilfurfural: 10 mg/l; 5-metilfurfural 2 mg/l; vanilină: 5 mg/l; aldehidă siringică: 10 mg/l; aldehidă coniferilică: 5 mg/l; sinapaldehidă: 5 mg/l; acid galic: 10 mg/l; acid elagic: 10 mg/l; acid vanilic: 5 mg/l; acid siringic: 5 mg/l; scopoletină: 0,5 mg/l. **5. Aparatură** Aparatură standard de laborator 5.1. Un cromatograf lichid de înaltă performanță capabil să funcționeze în mod gradient binar și echipat cu: 5.1.1. Un detector spectrofotometric capabil să măsoare la lungimi de undă de la 260 până la 340 nm. Cu toate acestea, este de preferat să se lucreze cu un detector cu multiple lungimi de undă cu rețea de diode, pentru a confirma puritatea vârfurilor. 5.1.2. Un detector spectrofluorimetric – lungime de undă de excitare: 354 nm, lungime de undă de emisie: 446 nm (pentru determinarea urmelor de scopoletină; care este detectabilă, de asemenea, la 313 nm cu ajutorul spectrofotometriei). 5.1.3. Un dispozitiv de injectare care poate introduce 10 sau 20 µl (de exemplu) din proba de testare. 5.1.4. O coloană pentru cromatografie lichidă de înaltă performanță, de tip RP C18, cu dimensiunea maximă a particulei de 5 µm. 5.2. Seringi pentru HPLC. 5.3. Dispozitiv pentru filtrare prin membrană a volumelor mici. 5.4. Integrator computerizat sau înregistrator care funcționează în compatibilitate cu întreaga aparatură și, în special, care trebuie să aibă mai multe canale de achiziție.		

6. Mod de lucru

6.1. Pregătirea soluției care urmează a fi injectată

Soluția de referință și băutura spirtoasă se filtrează, dacă este necesar, printr-o membrană cu diametrul maxim al porilor de 0,45 µm.

6.2.Condiții de operare cromatografică: analiza se efectuează la temperatura ambiantă cu ajutorul echipamentului descris la punctul (5.1) și folosind fazele mobile (4.4), cu un debit de aproximativ 0,6 ml pe minut și urmărind gradientul de mai jos (dat numai ca exemplu)

Timp: 0 min 50 min 70 min 90 min

solvent A (apă-acid): 100 % 60 % 100 % 100 %

solvent B (metanol): 0 % 40 % 0 % 0 %

Trebuie remarcat că, în anumite cazuri, acest gradient ar trebui modificat pentru a se evita co-eluările.

6.3.Determinare

6.3.1.Se injectează soluțiile standard de referință separat, apoi amestecate.

Se adaptează condițiile de operare astfel încât factorii de rezoluție ai vârfurilor tuturor compușilor să fie egali cu cel puțin 1.

6.3.2.Se injectează proba preparată conform punctului 6.1.

6.3.3.Se măsoară suprafața vârfurilor în soluția de referință și băutura spirtoasă și se calculează concentrațiile.

7. Exprimarea rezultatelor

Se exprimă concentrația fiecărui constituent în mg/l.

8. Caracteristici de performanță ale metodei (precizia)

Următoarele date au fost obținute în 2009 dintr-un studiu internațional de performanță a metodei, efectuat cu proceduri acceptate la nivel internațional [1], [2].

8.1. Furfural

Analit	**Furfural**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare	15	15	15	15	15	15

6. Mod de lucru

6.1. Pregătirea soluției care urmează a fi injectată

Soluția de referință și băutura spirtoasă se filtrează, dacă este necesar, printr-o membrană cu diametrul maxim al porilor de 0,45 µm.

6.2. Condiții de operare cromatografică: analiza se efectuează la temperatura ambiantă cu ajutorul echipamentului descris la punctul (5.1) și folosind fazele mobile (4.4), cu un debit de aproximativ 0,6 ml pe minut și urmărind gradientul de mai jos (dat numai ca exemplu)

Timp: 0 min 50 min 70 min 90 min

solvent A (apă-acid): 100 % 60 % 100 % 100 %

solvent B (metanol): 0 % 40 % 0 % 0 %

Trebuie remarcat că, în anumite cazuri, acest gradient ar trebui modificat pentru a se evita co-eluările.

6.3. Determinare

6.3.1. Se injectează soluțiile standard de referință separat, apoi amestecate.

Se adaptează condițiile de operare astfel încât factorii de rezoluție ai vârfurilor tuturor compușilor să fie egali cu cel puțin 1.

6.3.2. Se injectează proba preparată conform punctului 6.1.

6.3.3. Se măsoară suprafața vârfurilor în soluția de referință și băutura spirtoasă și se calculează concentrațiile.

7. Exprimarea rezultatelor

Se exprimă concentrația fiecărui constituent în mg/l.

8. Caracteristici de performanță ale metodei (precizia)

Următoarele date au fost obținute în 2009 dintr-un studiu internațional de performanță a metodei, efectuat cu proceduri acceptate la nivel internațional [1], [2].

8.1. Furfural

Analit	**Furfural**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare	15	15	15	15	15	15

participante						
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	14	12	13	14	13	13
Valoarea medie [mg/l]	2,9	1,2	1,7	10,6	15,3	13,9
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,04	0,05	0,04	0,18	0,23	0,20
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	1,4	4,5	2,3	1,7	1,5	1,5
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,2	0,1	0,5	0,6	0,6
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,24	0,18	0,09	1,4	0,49	0,69
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_r [%]	8	15	5	13	3	5
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,7	0,5	0,3	3,8	1,4	1,9

8.2. 5-Hidroximetilfurfural

Analit	**5-Hidroximetilfurfural**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	16	16	16	16	16	16
Numărul de rezultate	14	14	14	14	14	14

participante						
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	14	12	13	14	13	13
Valoarea medie [mg/l]	2,9	1,2	1,7	10,6	15,3	13,9
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,04	0,05	0,04	0,18	0,23	0,20
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	1,4	4,5	2,3	1,7	1,5	1,5
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,2	0,1	0,5	0,6	0,6
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,24	0,18	0,09	1,4	0,49	0,69
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_r [%]	8	15	5	13	3	5
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,7	0,5	0,3	3,8	1,4	1,9

8.2. 5-Hidroximetilfurfural

Analit	**5-Hidroximetilfurfural**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	16	16	16	16	16	16
Numărul de rezultate	14	14	14	14	14	14

acceptate (laboratoare)						
Valoarea medie [mg/l]	5,0	11,1	9,4	33,7	5,8	17,5
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,09	0,09	0,09	0,42	0,07	0,13
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	1,7	0,8	1,0	1,3	1,2	0,8
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,2	0,3	0,3	1,2	0,2	0,4
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,39	1,01	0,50	4,5	0,4	1,6
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_r [%]	8	9	5	13	7	9
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	1,1	2,8	1,4	12,5	1,1	4,6

8.3. 5-Metilfurfural

Analit	**5-Metilfurfural**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	11	11	11	11	11	11
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	11	11	8	11	10	11
Valoarea medie [mg/l]	0,1	0,2	0,1	0,5	1,7	0,8
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,01	0,01	0,02	0,02	0,03	0,07

acceptate (laboratoare)						
Valoarea medie [mg/l]	5,0	11,1	9,4	33,7	5,8	17,5
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,09	0,09	0,09	0,42	0,07	0,13
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	1,7	0,8	1,0	1,3	1,2	0,8
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,2	0,3	0,3	1,2	0,2	0,4
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,39	1,01	0,50	4,5	0,4	1,6
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_r [%]	8	9	5	13	7	9
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	1,1	2,8	1,4	12,5	1,1	4,6

8.3. 5-Metilfurfural

Analit	**5-Metilfurfural**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	11	11	11	11	11	11
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	11	11	8	11	10	11
Valoarea medie [mg/l]	0,1	0,2	0,1	0,5	1,7	0,8
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,01	0,01	0,02	0,02	0,03	0,07

Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	10,7	6,1	13,6	4,7	2,0	10,0
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	~~0,0~~	~~0,0~~	0,1	0,1	0,1	0,2
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,03	0,04	0,03	0,18	0,20	0,26
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_r [%]	35	18	22	39	12	35
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,1	0,1	0,1	0,5	0,6	0,7

8.4. Vanilină

Analit	**Vanilină**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	16	15	16	16	16	16
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	16	15	16	16	16	16
Valoarea medie [mg/l]	0,5	0,2	1,2	1,2	3,2	3,9
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,03	0,02	0,06	0,11	0,11	0,09
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	6,8	9,6	4,6	8,9	3,5	2,3

Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	10,7	6,1	13,6	4,7	2,0	10,0
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	~~0,0~~	~~0,0~~	0,1	0,1	0,1	0,2
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,03	0,04	0,03	0,18	0,20	0,26
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_r [%]	35	18	22	39	12	35
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,1	0,1	0,1	0,5	0,6	0,7

8.4. Vanilină

Analit	**Vanilină**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	16	15	16	16	16	16
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	16	15	16	16	16	16
Valoarea medie [mg/l]	0,5	0,2	1,2	1,2	3,2	3,9
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,03	0,02	0,06	0,11	0,11	0,09
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	6,8	9,6	4,6	8,9	3,5	2,3

Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3	0,3
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,09	0,06	0,18	0,27	0,41	0,62
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_r [%]	19	25	15	22	13	16
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,3	0,2	0,5	0,8	1,2	1,7

8.5. Aldehidă siringică

Analit	**Aldehidă siringică**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	16	15	16	16	16	16
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	13	13	13	12	14	13
Valoarea medie [mg/l]	1,0	0,2	4,8	3,2	10,5	9,7
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,03	0,02	0,04	0,08	0,10	0,09
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	2,6	8,1	0,8	2,6	0,9	0,9
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3

Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3	0,3
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,09	0,06	0,18	0,27	0,41	0,62
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_r [%]	19	25	15	22	13	16
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,3	0,2	0,5	0,8	1,2	1,7

8.5. Aldehidă siringică

Analit	**Aldehidă siringică**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	16	15	16	16	16	16
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	13	13	13	12	14	13
Valoarea medie [mg/l]	1,0	0,2	4,8	3,2	10,5	9,7
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,03	0,02	0,04	0,08	0,10	0,09
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	2,6	8,1	0,8	2,6	0,9	0,9
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3

Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,08	0,07	0,23	0,19	0,39	0,43
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	8	33	5	6	4	4
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,2	0,2	0,7	0,5	1,1	1,2

8.6. Aldehidă coniferilică

Analit	**Aldehidă coniferilică**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	13	12	13	12	13	13
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	12	12	13	12	13	13
Valoarea medie [mg/l]	0,2	0,2	0,6	0,8	4,6	1,3
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,02	0,02	0,03	0,03	0,09	0,06
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	9,2	9,8	4,6	4,3	1,9	4,5
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,04	0,04	0,07	0,09	0,24	0,16
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,04	0,04	0,11	0,18	0,38	0,25
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	23	27	21	23	8	19

Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,08	0,07	0,23	0,19	0,39	0,43
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	8	33	5	6	4	4
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,2	0,2	0,7	0,5	1,1	1,2

8.6. Aldehidă coniferilică

Analit	**Aldehidă coniferilică**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	13	12	13	12	13	13
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	12	12	13	12	13	13
Valoarea medie [mg/l]	0,2	0,2	0,6	0,8	4,6	1,3
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,02	0,02	0,03	0,03	0,09	0,06
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	9,2	9,8	4,6	4,3	1,9	4,5
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,04	0,04	0,07	0,09	0,24	0,16
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,04	0,04	0,11	0,18	0,38	0,25
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	23	27	21	23	8	19

Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,1	0,1	0,3	0,5	1,1	0,7

8.7. Sinapaldehidă

Analit	**Sinapaldehidă**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	14	14	14	14	15	14
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	14	13	12	13	13	12
Valoarea medie [mg/l]	0,3	0,2	0,2	1,6	8,3	0,3
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,02	0,01	0,02	0,06	0,14	0,03
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	7,5	4,6	11,2	3,7	1,6	11,4
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,06	0,03	0,06	0,17	0,38	0,08
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,09	0,05	0,08	0,20	0,81	0,18
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	31	27	46	13	10	73
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,2	0,2	0,2	0,6	2,3	0,5

8.8. Acid galic

Analit	**Acid galic**

Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,1	0,1	0,3	0,5	1,1	0,7

8.7. Sinapaldehidă

Analit	**Sinapaldehidă**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	14	14	14	14	15	14
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	14	13	12	13	13	12
Valoarea medie [mg/l]	0,3	0,2	0,2	1,6	8,3	0,3
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,02	0,01	0,02	0,06	0,14	0,03
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	7,5	4,6	11,2	3,7	1,6	11,4
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,06	0,03	0,06	0,17	0,38	0,08
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,09	0,05	0,08	0,20	0,81	0,18
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	31	27	46	13	10	73
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,2	0,2	0,2	0,6	2,3	0,5

8.8. Acid galic

Analit	**Acid galic**

Probă	Whisky	Brandy	Rom	Coniac 1	Bourbon	Coniac 2
Numărul de laboratoare participante	16	15	16	16	16	16
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	15	14	16	16	16	16
Valoarea medie [mg/l]	1,2	0,4	2,0	6,1	7,3	21,8
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,07	0,04	0,06	0,18	0,18	0,60
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	6,1	8,1	2,9	3,0	2,4	2,8
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,2	0,1	0,2	0,5	0,5	1,7
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,43	0,20	0,62	3,3	2,2	7,7
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	36	47	31	53	30	35
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	1,2	0,6	1,7	9,1	6,2	21,7

8.9. Acid elagic

Analit	Acid elagic					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	7	7	7	7	7	7

Probă	Whisky	Brandy	Rom	Coniac 1	Bourbon	Coniac 2
Numărul de laboratoare participante	16	15	16	16	16	16
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	15	14	16	16	16	16
Valoarea medie [mg/l]	1,2	0,4	2,0	6,1	7,3	21,8
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,07	0,04	0,06	0,18	0,18	0,60
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	6,1	8,1	2,9	3,0	2,4	2,8
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,2	0,1	0,2	0,5	0,5	1,7
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,43	0,20	0,62	3,3	2,2	7,7
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	36	47	31	53	30	35
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	1,2	0,6	1,7	9,1	6,2	21,7

8.9. Acid elagic

Analit	Acid elagic					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	7	7	7	7	7	7

Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	7	7	7	7	7	6
Valoarea medie [mg/l]	3,2	1,0	9,5	13	13	36
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,20	0,16	0,30	0,41	0,95	0,34
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	6,3	16	3,2	3,2	7,4	1,0
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,6	0,4	0,9	1,1	2,7	1,0
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	1,41	0,42	4,0	5,0	4,9	14
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	44	43	42	39	39	40
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	4,0	1,2	11	14	14	40

8.10. Acid vanilic

Analit	**Acid vanilic**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	15	15	15	15	15	15
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	12	11	14	14	15	14
Valoarea medie [mg/l]	0,2	0,2	1,5	0,8	2,4	2,7
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,03	0,04	0,03	0,10	0,13	0,21
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	14,2	16,5	2,3	12,6	5,3	7,7

Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	7	7	7	7	7	6
Valoarea medie [mg/l]	3,2	1,0	9,5	13	13	36
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,20	0,16	0,30	0,41	0,95	0,34
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	6,3	16	3,2	3,2	7,4	1,0
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,6	0,4	0,9	1,1	2,7	1,0
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	1,41	0,42	4,0	5,0	4,9	14
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	44	43	42	39	39	40
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	4,0	1,2	11	14	14	40

8.10. Acid vanilic

Analit	**Acid vanilic**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	15	15	15	15	15	15
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	12	11	14	14	15	14
Valoarea medie [mg/l]	0,2	0,2	1,5	0,8	2,4	2,7
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,03	0,04	0,03	0,10	0,13	0,21
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	14,2	16,5	2,3	12,6	5,3	7,7

Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,1	0,1	0,3	0,4	0,6
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,06	0,05	0,51	0,2	1,22	0,70
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	28	20	35	31	51	26
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,2	0,1	1,4	0,7	3,4	2,0

8.11. Acid siringic

Analit	**Acid siringic**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	16	15	16	16	16	16
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	16	15	15	15	16	15
Valoarea medie [mg/l]	0,4	0,2	2,5	1,4	3,4	4,8
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,03	0,02	0,06	0,13	0,08	0,11
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	6,7	12,6	2,3	9,0	2,3	2,3
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,1	0,2	0,4	0,2	0,3
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,08	0,05	0,29	0,26	0,43	0,67
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	19	29	11	18	13	14

Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,1	0,1	0,3	0,4	0,6
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,06	0,05	0,51	0,2	1,22	0,70
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	28	20	35	31	51	26
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,2	0,1	1,4	0,7	3,4	2,0

8.11. Acid siringic

Analit	**Acid siringic**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	16	15	16	16	16	16
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	16	15	15	15	16	15
Valoarea medie [mg/l]	0,4	0,2	2,5	1,4	3,4	4,8
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,03	0,02	0,06	0,13	0,08	0,11
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	6,7	12,6	2,3	9,0	2,3	2,3
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,1	0,2	0,4	0,2	0,3
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,08	0,05	0,29	0,26	0,43	0,67
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	19	29	11	18	13	14

Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,2	0,1	0,8	0,7	1,2	1,9

8.12. Scopoletină

Analit	**Scopoletină**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	10	10	10	10	10	10
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	9	8	9	8	8	8
Valoarea medie [mg/l]	0,09	0,04	0,11	0,04	0,65	0,15
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,0024	0,0008	0,0018	0,0014	0,0054	0,0040
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	2,6	2,2	1,6	3,3	0,8	2,7
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,007	0,002	0,005	0,004	0,015	0,011
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,01	0,01	0,03	0,01	0,09	0,02
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	15	16	23	17	15	15
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,04	0,02	0,07	0,02	0,26	0,06

Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method- Performance Studies", Horwitz, W. (1995) Pure

Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,2	0,1	0,8	0,7	1,2	1,9

8.12. Scopoletină

Analit	**Scopoletină**					
Probe	**Whisky**	**Brandy**	**Rom**	**Coniac 1**	**Bourbon**	**Coniac 2**
Numărul de laboratoare participante	10	10	10	10	10	10
Numărul de rezultate acceptate (laboratoare)	9	8	9	8	8	8
Valoarea medie [mg/l]	0,09	0,04	0,11	0,04	0,65	0,15
Deviația standard de repetabilitate, s_r [mg/l]	0,0024	0,0008	0,0018	0,0014	0,0054	0,0040
Deviația standard relativă de repetabilitate, RSD_r [%]	2,6	2,2	1,6	3,3	0,8	2,7
Limită de repetabilitate, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,007	0,002	0,005	0,004	0,015	0,011
Deviația standard de reproductibilitate, s_R [mg/l]	0,01	0,01	0,03	0,01	0,09	0,02
Deviația standard relativă de reproductibilitate, RSD_R [%]	15	16	23	17	15	15
Limita de reproductibilitate, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,04	0,02	0,07	0,02	0,26	0,06

Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method- Performance Studies", Horwitz, W. (1995) Pure and Applied Chemistry 67, 332-343.

and Applied Chemistry 67, 332-343. Horwitz, W. (1982) Analytical Chemistry 54, 67A-76A.	[2] Horwitz, W. (1982) Analytical Chemistry 54, 67A-76A.		
XI. DETERMINAREA CONȚINUTULUI DE RADIOCARBON ÎN ETANOL **1. Introducere** Determinarea conținutului de radiocarbon în etanol permite să se facă distincția între alcoolul pe bază de combustibili fosili (alcool de sinteză) și alcoolul pe bază de materii prime produse recent (alcool de fermentație). **2. Definiție** Conținutul de radiocarbon al etanolului trebuie considerat ca fiind conținutul de radiocarbon determinat prin metoda descrisă aici sau prin metoda descrisă în standardul EN 16640 metoda C. Conținutul natural de radiocarbon din atmosferă (valoarea de referință), care este absorbit de vegetația vie prin asimilare, nu este o valoare constantă. Valoarea de referință se determină, așadar, pe etanolul din materii prime provenite din cea mai recentă perioadă de vegetație. Această valoare de referință anuală este determinată în conformitate cu standardul EN 16640. Totuși, poate fi acceptată o altă valoare de referință dacă valoarea respectivă este certificată de un organism acreditat. **3. Principiu** Conținutul de radiocarbon al probelor care conțin alcool cu cel puțin 85 % masă de etanol se determină direct prin numărare prin scintilație lichidă. **4. Reactivi** 4.1. Scintilator cu toluen 5,0 g de 2,5-difeniloxazol (PPO) 0,5 g de p-bis-[4-metil-5-feniloxazol (2)]-benzen (dimetil-POPOP) într-un litru de toluen pur pentru analiză. Se pot utiliza și scintilatoare cu toluen cu această compoziție disponibile în comerț, gata preparate. 4.2. Standard radiocarbon Radiocarbon n-hexadecan cu o activitate de aproximativ 1	**X. DETERMINAREA CONȚINUTULUI DE RADIOCARBON ÎN ETANOL** **1. Introducere** Determinarea conținutului de radiocarbon în etanol permite să se facă distincția între alcoolul pe bază de combustibili fosili (alcool de sinteză) și alcoolul pe bază de materii prime produse recent (alcool de fermentație). **2. Definiție** Conținutul de radiocarbon al etanolului trebuie considerat ca fiind conținutul de radiocarbon determinat prin metoda descrisă aici sau prin metoda descrisă în standardul EN 16640 metoda C. Conținutul natural de radiocarbon din atmosferă (valoarea de referință), care este absorbit de vegetația vie prin asimilare, nu este o valoare constantă. Valoarea de referință se determină, așadar, pe etanolul din materii prime provenite din cea mai recentă perioadă de vegetație. Această valoare de referință anuală este determinată în conformitate cu standardul EN 16640. Totuși, poate fi acceptată o altă valoare de referință dacă valoarea respectivă este certificată de un organism acreditat. **3. Principiu** Conținutul de radiocarbon al probelor care conțin alcool cu cel puțin 85 % masă de etanol se determină direct prin numărare prin scintilație lichidă. 4. Reactivi 4.1. Scintilator cu toluen 5,0 g de 2,5-difeniloxazol (PPO) 0,5 g de p-bis-[4-metil-5-feniloxazol (2)]-benzen (dimetil-POPOP) într-un litru de toluen pur pentru analiză. Se pot utiliza și scintilatoare cu toluen cu această compoziție disponibile în comerț, gata preparate. 4.2. Standard radiocarbon Radiocarbon n-hexadecan cu o activitate de aproximativ 1	**Compatibil**	

× 106 dpm/g (circa 1,67 × 106 cBq/g) și cu o precizie garantată a activității determinate de ± 2 % rel. 4.3. Etanol fără radiocarbon Alcool de sinteză din materii prime de origine fosilă, cu cel puțin 85 % masă de etanol, pentru determinarea zgomotului de fond. 4.4. Alcool pe bază de materii prime produse recent, în cea mai recentă perioadă de vegetație, cu cel puțin 85 % masă de etanol ca soluție de referință. **5. Aparatură** 5.1. Spectrometru cu scintilație lichidă cu mai multe canale, cu procesor și standardizare externă automată și afișaj al raportului canal/standard extern (construcție standard: trei canale de măsurat și două canale pentru standardul extern). 5.2. Flacoane contor, sărace în potasiu, adaptate pentru spectrometru, cu dopuri filetate în culori închise, prevăzute cu o protecție interioară din polietilenă. 5.3. Pipete volumetrice de 10 ml. 5.4. Dispozitiv de dozare automată de 10 ml. 5.5. Balon cu fund rotund de 250 ml, prevăzut cu dop din sticlă rodată. 5.6. Aparat de distilare a alcoolului prevăzut cu manta de încălzire, de exemplu de tip Micko. 5.7. Injector microlitru de 50 µl. 5.8. Pâlnie de picnometru, picnometre de 25 ml și 50 ml. Ca alternativă, trebuie admis un echipament echivalent, de exemplu de densimetrie electronică. 5.9. Termostat cu temperatură constantă de ± 0,01 °C. **6. Procedură** 6.1. Reglarea echipamentelor Echipamentele trebuie reglate în conformitate cu instrucțiunile producătorului. Condițiile de măsurare sunt optime atunci când valoarea E2/B, indicele de calitate, este la maximum. E = efficiency (eficiență) B = background (zgomot de fond) Numai două canale de măsurat se optimizează. Cel de-al	× 106 dpm/g (circa 1,67 × 106 cBq/g) și cu o precizie garantată a activității determinate de ± 2 % rel. 4.3. Etanol fără radiocarbon Alcool de sinteză din materii prime de origine fosilă, cu cel puțin 85 % masă de etanol, pentru determinarea zgomotului de fond. 4.4. Alcool pe bază de materii prime produse recent, în cea mai recentă perioadă de vegetație, cu cel puțin 85 % masă de etanol ca soluție de referință. **5. Aparatură** 5.1. Spectrometru cu scintilație lichidă cu mai multe canale, cu procesor și standardizare externă automată și afișaj al raportului canal/standard extern (construcție standard: trei canale de măsurat și două canale pentru standardul extern). 5.2. Flacoane contor, sărace în potasiu, adaptate pentru spectrometru, cu dopuri filetate în culori închise, prevăzute cu o protecție interioară din polietilenă. 5.3. Pipete volumetrice de 10 ml. 5.4. Dispozitiv de dozare automată de 10 ml. 5.5. Balon cu fund rotund de 250 ml, prevăzut cu dop din sticlă rodată. 5.6. Aparat de distilare a alcoolului prevăzut cu manta de încălzire, de exemplu de tip Micko. 5.7. Injector microlitru de 50 µl. 5.8. Pâlnie de picnometru, picnometre de 25 ml și 50 ml. Ca alternativă, trebuie admis un echipament echivalent, de exemplu de densimetrie electronică. 5.9. Termostat cu temperatură constantă de ± 0,01 °C. **6.Procedură** 6.1. Reglarea echipamentelor Echipamentele trebuie reglate în conformitate cu instrucțiunile producătorului. Condițiile de măsurare sunt optime atunci când valoarea E2/B, indicele de calitate, este la maximum. E = efficiency (eficiență) B = background (zgomot de fond) Numai două canale de măsurat se optimizează. Cel de-al		

treilea se lasă complet deschis pentru a permite controlul. 6.2. Selecția flacoanelor contor Se umplu mai multe flacoane contor decât vor fi necesare ulterior cu câte 10 ml de etanol de sinteză fără conținut de radiocarbon și 10 ml de scintilator cu toluen. Se măsoară fiecare pe parcursul a cel puțin 4 cicluri × 100 de minute. Se elimină flacoanele al căror zgomot de fond se abate cu mai mult de ± 1 % rel. de la medie. Se utilizează numai flacoane noi, provenite din același lot de fabricație. 6.3. Determinarea raportului canal/standard extern (RCSE). În timpul procesului de reglare a canalelor (punctul 6.1), RCSE se determină cu ajutorul programului de calcul corespunzător, atunci când se determină coeficientul de eficiență. Standardul extern utilizat este cesiu 137, deja integrat din fabricație. 6.4. Pregătirea probei Se pot măsura probele cu un conținut de etanol de cel puțin 85 % masă, fără impurități, cu o absorbanță sub 450 nm. Un reziduu slab de esteri și aldehide nu are un efect perturbator. Conținutul de alcool al probei este determinat în prealabil cu o aproximare de 0,1 %. **7. Măsurarea probelor prin utilizarea unui standard extern** 7.1. Probele cu absorbanță redusă descrise la punctul 6.4, cu o valoare RCSE de aproximativ 1,8, pot fi măsurate prin RCSE, ceea ce constituie o măsură a coeficientului de eficiență. **7.2. Măsurare** Se introduc cu pipeta câte 10 ml din fiecare probă preparată în conformitate cu punctul 6.4 într-un flacon contor controlat pentru zgomot de fond și se adaugă 10 ml de scintilator cu toluen, cu ajutorul unui dispozitiv de dozare automată. Probele din flacoane se omogenizează prin mișcări circulare corespunzătoare; lichidul nu trebuie să umezească protecția interioară din polietilenă din dopul filetat. Se prepară în același mod un flacon cu etanol fosil fără conținut de radiocarbon pentru a se determina	treilea se lasă complet deschis pentru a permite controlul. 6.2. Selecția flacoanelor contor Se umplu mai multe flacoane contor decât vor fi necesare ulterior cu câte 10 ml de etanol de sinteză fără conținut de radiocarbon și 10 ml de scintilator cu toluen. Se măsoară fiecare pe parcursul a cel puțin 4 cicluri × 100 de minute. Se elimină flacoanele al căror zgomot de fond se abate cu mai mult de ± 1 % rel. de la medie. Se utilizează numai flacoane noi, provenite din același lot de fabricație. 6.3. Determinarea raportului canal/standard extern (RCSE). În timpul procesului de reglare a canalelor (punctul 6.1), RCSE se determină cu ajutorul programului de calcul corespunzător, atunci când se determină coeficientul de eficiență. Standardul extern utilizat este cesiu 137, deja integrat din fabricație. 6.4. Pregătirea probei Se pot măsura probele cu un conținut de etanol de cel puțin 85 % masă, fără impurități, cu o absorbanță sub 450 nm. Un reziduu slab de esteri și aldehide nu are un efect perturbator. Conținutul de alcool al probei este determinat în prealabil cu o aproximare de 0,1 %. **7. Măsurarea probelor prin utilizarea unui standard extern** 7.1. Probele cu absorbanță redusă descrise la punctul 6.4, cu o valoare RCSE de aproximativ 1,8, pot fi măsurate prin RCSE, ceea ce constituie o măsură a coeficientului de eficiență. **7.2. Măsurare** Se introduc cu pipeta câte 10 ml din fiecare probă preparată în conformitate cu punctul 6.4 într-un flacon contor controlat pentru zgomot de fond și se adaugă 10 ml de scintilator cu toluen, cu ajutorul unui dispozitiv de dozare automată. Probele din flacoane se omogenizează prin mișcări circulare corespunzătoare; lichidul nu trebuie să umezească protecția interioară din polietilenă din dopul filetat. Se prepară în același mod un flacon cu etanol fosil fără conținut de radiocarbon pentru a se determina		

zgomotul de fond. Pentru a se verifica valoarea anuală relevantă a radiocarbonului, se prepară o probă duplicat din etanol produs recent, provenit din ultima perioadă de vegetație, amestecându-se un flacon cu standardul intern, a se vedea punctul 8. Proba martor și proba pentru zgomot de fond se așază la începutul seriei de măsurători, care trebuie să conțină cel mult 10 probe de analiză. Timpul total de măsurare per probă este de cel puțin 2 × 100 de minute, probele individuale fiind măsurate în etape parțiale de 100 de minute fiecare, pentru a se permite detectarea eventualelor derive sau defecțiuni ale echipamentelor. (Așadar, un ciclu corespunde unui interval de măsurare de 100 de minute per probă.). Probele martor și probele pentru zgomot de fond trebuie preparate din nou din patru în patru săptămâni. În cazul probelor cu absorbanță ușor redusă (cu RCSE de aproximativ 1,8), eficiența este afectată doar neglijabil de modificarea acestei valori. În cazul în care modificarea se încadrează în intervalul ± 5 % rel., este probabil să se obțină aceeași eficiență. În cazul probelor cu absorbanță mai ridicată, cum ar fi alcoolii denaturați, eficiența se poate determina cu ajutorul graficului de corecție a absorbanței. În cazul în care nu există un program de calcul disponibil, trebuie să se utilizeze standardul intern, ceea ce conduce la un rezultat fără echivoc. **8. Măsurarea probelor prin utilizarea unui standard intern hexadecan14C** **8.1. Procedură** Probele martor și probele pentru zgomot de fond (etanol produs recent și etanol fosil), precum și materialul necunoscut se măsoară fiecare în duplicat. O probă duplicat se prepară într-un flacon neselecționat, adăugându-se o cantitate dozată cu precizie (30 µl) de hexadecan radiocarbon ca standard intern (activitate suplimentară de aproximativ 26 269 dpm/gC, circa 43 782 cBq/gC). Pentru prepararea celorlalte probe și timpii de măsurare, a se vedea punctul 7.2, însă timpul de măsurare pentru	zgomotul de fond. Pentru a se verifica valoarea anuală relevantă a radiocarbonului, se prepară o probă duplicat din etanol produs recent, provenit din ultima perioadă de vegetație, amestecându-se un flacon cu standardul intern, a se vedea punctul 8. Proba martor și proba pentru zgomot de fond se așază la începutul seriei de măsurători, care trebuie să conțină cel mult 10 probe de analiză. Timpul total de măsurare per probă este de cel puțin 2 × 100 de minute, probele individuale fiind măsurate în etape parțiale de 100 de minute fiecare, pentru a se permite detectarea eventualelor derive sau defecțiuni ale echipamentelor. (Așadar, un ciclu corespunde unui interval de măsurare de 100 de minute per probă.). Probele martor și probele pentru zgomot de fond trebuie preparate din nou din patru în patru săptămâni. În cazul probelor cu absorbanță ușor redusă (cu RCSE de aproximativ 1,8), eficiența este afectată doar neglijabil de modificarea acestei valori. În cazul în care modificarea se încadrează în intervalul ± 5 % rel., este probabil să se obțină aceeași eficiență. În cazul probelor cu absorbanță mai ridicată, cum ar fi alcoolii denaturați, eficiența se poate determina cu ajutorul graficului de corecție a absorbanței. În cazul în care nu există un program de calcul disponibil, trebuie să se utilizeze standardul intern, ceea ce conduce la un rezultat fără echivoc. **8. Măsurarea probelor prin utilizarea unui standard intern hexadecan 14C** **8.1. Procedură** Probele martor și probele pentru zgomot de fond (etanol produs recent și etanol fosil), precum și materialul necunoscut se măsoară fiecare în duplicat. O probă duplicat se prepară într-un flacon neselecționat, adăugându-se o cantitate dozată cu precizie (30 µl) de hexadecan radiocarbon ca standard intern (activitate suplimentară de aproximativ 26 269 dpm/gC, circa 43 782 cBq/gC). Pentru prepararea celorlalte probe și timpii de măsurare, a se vedea punctul 7.2, însă timpul de măsurare pentru		

probele cu standard intern poate fi redus la aproximativ cinci minute printr-un prereglaj la 105 impulsuri. Pe o serie de măsurători, se utilizează câte un duplicat al probei martor și al probei pentru zgomot de fond; acestea se așază la începutul seriei de măsurători. **8.2. Utilizarea standardului intern și a flacoanelor contor** Pentru a se preveni contaminarea în cazul măsurărilor cu un standard intern, standardul trebuie depozitat și manipulat departe de spațiul în care se prepară și se măsoară probele pentru analiză. După măsurare, flacoanele controlate pentru zgomot de fond pot fi reutilizate. Dopurile filetate și tuburile care conțin standardul intern se elimină. **9. Exprimarea rezultatelor** 9.1. Unitatea activității unei substanțe radioactive este becquerelul; 1 Bq = 1 dezintegrare/sec. Indicarea radioactivității specifice se exprimă în becquereli în raport cu un gram de carbon = Bq/gC. Pentru a se obține mai multe rezultate practice, acestea trebuie să fie exprimate în centibecquereli = cBq/gC. Pot fi utilizate și descrierile și formulele utilizate în literatura de specialitate, bazate pe dpm. Pentru a obține valorile corespunzătoare în cBq, valoarea dpm se înmulțește cu 100/60. 9**.2. Exprimarea rezultatelor cu un standard** extern $\mathrm{cBq/g\,C} = \frac{(\mathrm{cpm_{pr}} - \mathrm{cpm_{NE}})\ 1,918\,100}{\mathrm{V\ F\ Z\ 60}}$ **9.3. Exprimarea rezultatelor cu un standard intern** $\mathrm{cBq/g\,C} = \frac{(\mathrm{cpm_{pr}} - \mathrm{cpm_{NE}})\ \ \mathrm{dpm_{IS}}\ 1,918\,100}{(\mathrm{cpm_{IS}} - \mathrm{cpm_{pr}})\ \ \mathrm{V\ F\ 60}}$ **9.4. Abrevieri** cpmpr=media ratei de numărare a probelor, calculată pentru toată durata măsurării. cpmNE=media ratei impulsurilor pentru zgomot de fond, calculată în același mod.	probele cu standard intern poate fi redus la aproximativ cinci minute printr-un prereglaj la 105 impulsuri. Pe o serie de măsurători, se utilizează câte un duplicat al probei martor și al probei pentru zgomot de fond; acestea se așază la începutul seriei de măsurători. **8.2. Utilizarea standardului intern și a flacoanelor contor** Pentru a se preveni contaminarea în cazul măsurărilor cu un standard intern, standardul trebuie depozitat și manipulat departe de spațiul în care se prepară și se măsoară probele pentru analiză. După măsurare, flacoanele controlate pentru zgomot de fond pot fi reutilizate. Dopurile filetate și tuburile care conțin standardul intern se elimină. **9. Exprimarea rezultatelor** 9.1 Unitatea activității unei substanțe radioactive este becquerelul; 1 Bq = 1 dezintegrare/sec. Indicarea radioactivității specifice se exprimă în becquereli în raport cu un gram de carbon = Bq/gC. Pentru a se obține mai multe rezultate practice, acestea trebuie să fie exprimate în centibecquereli = cBq/gC. Pot fi utilizate și descrierile și formulele utilizate în literatura de specialitate, bazate pe dpm. Pentru a obține valorile corespunzătoare în cBq, valoarea dpm se înmulțește cu 100/60. **9.2. Exprimarea rezultatelor cu un standard extern** $\frac{cBq}{gC} = \frac{(cpm_{pr} - cpm_{NE})1{,}918100}{V\ F\ Z\ 60}$ **9.3. Exprimarea rezultatelor cu un standard intern** $\frac{cBq}{gC} = \frac{(cpm_{pr} - cpm_{NE})\ dpm_{IS}\ 1{,}918100}{(cpm_{IS} - cpm_{pr})\ V\ F\ \ 60}$ **9.4. Abrevieri** cpmpr = media ratei de numărare a probelor, calculată pentru toată durata măsurării. cpmNE = media ratei impulsurilor pentru zgomot de fond, calculată în același mod.		

cpmIS=rata de numărare a probelor, cu un standard intern. dpmIS=cantitatea de standard intern adăugată (radioactivitate etalonată dpm). V=volumul probelor utilizate, în ml. F=conținutul în grame de alcool pur per ml, în funcție de concentrație. Z=coeficientul de eficiență corespunzător valorii RCSE. 1,918=numărul de grame de alcool per gram de carbon. **10. Fiabilitatea metodei** 10.1. Repetabilitate (r) r = 0,632 cBq/g C; S(r) = ± 0,223 cBq/g C 10.2. Reproductibilitate (R) R = 0,821 cBq/g C; S(R) = ± 0,290 cBq/g C.	cpmIS = rata de numărare a probelor, cu un standard intern. dpmIS = cantitatea de standard intern adăugată (radioactivitate etalonată dpm). V = volumul probelor utilizate, în ml. F = conținutul în grame de alcool pur per ml, în funcție de concentrație. Z = coeficientul de eficiență corespunzător valorii RCSE. 1,918 = numărul de grame de alcool per gram de carbon. **10. Fiabilitatea metodei** 10.1. Repetabilitate (r) r = 0,632 cBq/g C; S(r) = ± 0,223 cBq/g C 10.2. Reproductibilitate (R) R = 0,821 cBq/g C; S(R) = ± 0,290 cBq/g C.		

MINISTERUL AGRICULTURII ȘI INDUSTRIEI ALIMENTARE AL REPUBLICII MOLDOVA

MINISTRY OF AGRICULTURE AND FOOD INDUSTRY OF THE REPUBLIC OF MOLDOVA

MD-2004, Chisinau, 162 Stefan cel Mare si Sfant Blvd
Tel. 20 45 08; E-mail: cancelaria@maia.gov.md; WEB: www.maia.gov.md

_14.03.2025_ Nr. 14-05/716

La nr. _____ din _____

Cancelaria de Stat

În temeiul pct. 197 din Regulamentul Guvernului, aprobat prin Hotărârea Guvernului nr. 610/2018, Ministerul Agriculturii și Industriei Alimentare solicită înregistrarea proiectului hotărârii de Guvern cu privire la aprobarea Regulamentului de stabilire a metodelor de referință pentru analiza băuturilor spirtoase.

CERERE
privind înregistrarea de către Cancelaria de Stat a proiectului hotărârii de Guvern cu privire la aprobarea Regulamentului de stabilire a metodelor de referință pentru analiza băuturilor spirtoase

Nr. crt.	Criterii de înregistrare	Nota autorului
1.	Categoria și denumirea proiectului	proiectului hotărârii de Guvern cu privire la aprobarea Regulamentului de stabilire a metodelor de referință pentru analiza băuturilor spirtoase
2.	Autoritatea care a elaborat proiectul	Ministerul Agriculturii și Industriei Alimentare
3.	Justificarea depunerii cererii	Proiectul propus a fost elaborat în temeiul art. 17^7 alin. (2) din Legea nr. 1100/2000 cu privire la fabricarea și circulația alcoolului etilic și a producției alcoolice
4.	Referința la documentul de planificare care prevede elaborarea proiectului (PNA, PND, PNR, alte documente de planificare sectoriale)	Pct. 39, capitolul 11 al Programului Național de Aderare a Republicii Moldova la Uniunea Europeană pentru perioada 2025-2029
4.	Lista autorităților și instituțiilor a căror avizare este necesară	Ministerul Finanțelor; Agenția Națională pentru Siguranța Alimentelor;
5.	Termenul-limită pentru depunerea	10 zile

	avizelor/expertizelor	
6.	Persoana responsabilă de promovarea proiectului	Doina Danilov, consultantă principală, Direcţia produse vitivinicole şi băuturi alcoolice email: doina.danilov@maia.gov.md tel: 022-204-533
7.	Anexe	- Proiectul hotărârii Guvernului (86 file); - Nota de fundamentare (11 file);
8.	Data şi ora depunerii cererii	
9.	Semnătura	

Ministrul **Ludmila CATLABUGA**

Ex: Doina Danilov
Tel: 022204533