

REGLUGERÐ FRAMKVÆMDASTJÓRNARINNAR (EB) nr. 2091/2002

frá 26. nóvember 2002

um breytingu á reglugerð (EB) nr. 2870/2000 um tilvísunaraðferðir Bandalagsins fyrir greiningu brenndra drykkjaFRAMKVÆMDASTJÓRN EVRÓPUBANDALAGANNA
HEFUR,

með hliðsjón af stofnsáttmála Evrópubandalagsins,

með hliðsjón af reglugerð ráðsins (EBE) nr. 1576/89 frá 29. maí 1989 um almennar reglur varðandi skilgreiningu, lýsingu og kynningu á brenndum drykkjum⁽¹⁾, eins og henni var breytt með lögum um aðild Austurríkis, Finnlands og Svíþjóðar, einkum 8. mgr. 4. gr.,

og að teknu tilliti til eftirfarandi:

- 1) Í viðauka reglugerðar framkvæmdastjórnarinnar (EB) nr. 2870/2000 frá 19. desember 2000 um tilvísunaraðferðir Bandalagsins fyrir greiningu brenndra drykkja⁽²⁾ er þessum aðferðum lýst.
- 2) Fjórar greiningaraðferðir til að ákvarða trans-anetól í brenndum drykkjum, bragðbættum með anísfræjum, glýsýrrisínsýru og kalkonum í pastís og eggjarauðu í eggjalíkjörum og líkjörum, sem eru að mestu úr eggjum, hafa verið fullgiltar samkvæmt alþjóðlega viðurkenndum reglum sem eru hluti af rannsóknarverkefni sem framkvæmdastjórnin styður.
- 3) Heimilt er að viðurkenna þessar fjórar aðferðir sem tilvísunaraðferðir Bandalagsins og nauðsynlegt er að bæta þeim við í viðaukann við reglugerð (EB) nr. 2870/2000.

- 4) Ráðstafanirnar, sem kveðið er á um í þessari reglugerð, eru í samræmi við álit framkvæmdanefndarinnar um brennda drykki.

SAMÞYKKT REGLUGERÐ ÞESSA:

1. gr.

Eftirfarandi breytingar eru hér með gerðar á viðauka reglugerðar (EBE) nr. 2870/2000:

1. Í samantekt í viðaukanum skal fella brott hugtakið „(p.m.)“ í V., VI., VII. og IX. lið.
2. Bæta skal V., VI., VII. og IX. kafla við í viðaukann við þessa reglugerð á eftir III. kafla.

*2. gr.*Reglugerð þessi öðlast gildi á sjöunda degi eftir að hún birtist í *Stjórnartíðindum Evrópubandalaganna*.

Reglugerð þessi er bindandi í heild sinni og gildir í öllum aðildarríkjunum án frekari lögfestingar.

Gjört í Brussel 26. nóvember 2002.

Fyrir hönd framkvæmdastjórnarinnar,

Franz FISCHLER

framkvæmdastjóri.⁽¹⁾ Stjótið. EB L 160, 12.6.1989, bls. 1.⁽²⁾ Stjótið. EB L 333, 29.12.2000, bls. 20.

VIDAUKI

V. ANETÓL. GASGREINING TIL AÐ ÁKVARÐA TRANS-ANETÓL Í BRENNDUM DRYKKJUM

1. **Gildissvið**

Þessi aðferð er hentug til að ákvarða trans-anelól í brenndum drykkjum, bragðbættum með anísfræjum, með því að nota gasgreiningu með hárpípu.

2. **Tilvísun í staðla**

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

3. **Meginregla**

Styrkur trans-anelóls í brenndum drykkjum er ákvarðaður með gasgreiningu. Sama magni af innri staðli, t.d. 4-allýlanísóli (estragóli), þegar estragól er ekki til staðar í sýninu eins og það kemur fyrir í náttúrunni, er bætt út í prófunarsýnið og út í viðmiðunarlausn af trans-anelóli með þekktum styrk, báðar lausnir eru síðan þynnar með 45% etanóllausn og sprautað beint inn í gasgreiningarkerfið. Nauðsynlegt er að framkvæma útdrátt fyrir líkjöra sem innihalda mikið sykurmagn áður en sýnið er tilreitt og greint.

4. **Prófunarefni og efni**

Við greininguna eru einungis notuð prófunarefni með a.m.k. 98% hreinleika. Nota skal vatn af a.m.k. hreinleikastigi 3 eins og það er skilgreint í ISO-staðli 3696.

Geyma skal viðmiðunariðefni í kulda (við 4 °C), fjarri ljósi og í álílátum eða lituðum (gulbrúnum) prófunarflöskum. Ákjósanlegast væri að útbúa tappana með álinnsigli. Nauðsynlegt er að þíða trans-anelólið þannig það losni úr kristalsformi sínu áður en það er notað en í þessu tilviki skal hitinn aldrei fara yfir 35 °C.

4.1. 96% etanól miðað við rúmmál (CAS 64-17-5)

4.2. 1-metoxý-4-(1-própenýl) bensen; (trans-anelól) (CAS 4180-23-8)

4.3. 4-allýlanísól, (estragól) (CAS 140-67-0), mögulegur innri staðall (IS)

4.4. 45% etanól miðað við rúmmál

Bæta skal 560 g af eimuðu vatni út í 378 g af 98% af etanóli miðað við rúmmál.

4.5. Tilreiðsla staðallausna

Geyma skal viðmiðunarefni í kulda (15 til 35 °C), fjarri ljósi, í álílátum eða lituðum (gulbrúnum) prófunarflöskum. Ákjósanlegast er að tappinn sé með álinnsigli.

Trans-anelól og 4-allýlanísól eru nánast óleysanleg í vatni og því er nauðsynlegt að leysa trans-anelól og 4-allýlanísól upp í dálitlu af 96% etanóli (4.1) áður en 45% etanóli (4.4) er bætt út í.

Nýjar stofnlausnir skulu tilreiddar vikulega.

4.5.1. Staðallausn A

Stofnlausn af trans-anelóli (styrkur: 2 g/l)

Vega skal 40 mg af trans-anelóli (4.2) í 20 ml mæliflösku (eða 400 mg í 200 ml o.s.frv.). Bæta skal við 96% etanóli (4.1), fylla að merki með 45% etanóli, miðað við rúmmál (4.4), og blanda vel.

4.5.2. Innri staðallausn B

Stofnlausn af innri staðli, t.d. estragóli (styrkur: 2 g/l)

Vega skal 40 mg af trans-anelóli (4.3) í 20 ml mæliflösku (400 mg í 200 ml, o.s.frv.). Bæta skal við 96% etanóli (4.1), fylla að merki með 45% etanóli miðað við rúmmál (4.4) og blanda vel.

- 4.5.3. Staðallausnir eru notaðar til að athuga hver línuleg svörun logajónunarnemans er.
- Skoða skal línulega svörun logajónunarnemans við greiningu að teknu tilliti til styrkleika trans-anetóls í brenndum drykkjum frá 0 g/l til 2,5 g/l.
- Í greiningaraðferðinni eru óþekkt sýni brenndu drykkjanna, sem á að greina, þynnt 10 sinnum (8.3). Að því er varðar greiningarskilyrði, sem lýst er í aðferðinni, eru stofnlausnir sem samsvara styrknum 0, 0,05, 0,1, 0,15, 0,2 og 0,25 g/l af trans-anetóli í greiningarsýninu meðhöndlaðar á eftirfarandi hátt: taka skal 0,5, 1, 1,5, 2 og 2,5 ml af stofnlausn A (4.5.1) og pípla í 20 ml mæliflöskur. Pípla skal 2 ml af innri staðallausn B (4.5.1) í hverja flösku, fylla að merki með 45% etanóli (4.4) miðað við rúmmál og blanda vel.
- Núlllausnirnar (8.4) eru notaðar sem 0 g/l lausn.
- 4.5.4. Staðallausn C
- Pípla skal 2 ml af staðallausn A (4.5.1) í 20 ml mæliflösku, síðan skal bæta út í 2 ml af innri staðallausn B (4.5.2), fylla að merki með 45% etanóli (4.4) miðað við rúmmál og blanda vel.
5. **Tæki og búnaður**
- 5.1. Gasgreinir með hárpípu búinn logajónunarnema og tegurmæli eða öðru gagnamedhöndlunarkerfi sem fært er um að mæla flatarmál eða hæð toppa og sjálfvirkur sýnatakari eða nauðsynlegur búnaður til að dæla sýninu handvirkt.
- 5.2. Skiptur/óskiptur greinir
- 5.3. Hárpípusúla, t.d.:
- Lengd: 50 m
- Innanmál: 0,32 mm
- Þykkt filmu: 0,2 μ m
- Stöðufasi: FFAP - breytt TPA pólýetýlenglýkól, víxlengd, gropin fjölliða.
- 5.4. Almennur búnaður á rannsóknarstofu: kvörðuð glervara, fínvog (upp á \pm 0,1 mg).
6. **Skilyrði við skiljun**
- Gerð og stærð súlu og skilyrði við skiljun ættu að vera þannig að anetól og innri staðallinn séu aðgreind hvort frá öðru og frá öllum efnum sem hafa truflandi áhrif. Hefðbundin skilyrði fyrir súlu eru gefin sem dæmi í lið 5.3:
- 6.1. Burðargas: greiningarhelium
- 6.2. Fæði: 2 ml/mín.
- 6.3. Inngjafarhiti: 250 °C
- 6.4. Hitastig greinis: 250 °C
- 6.5. Hitaskilyrði ofns: jafnhiti, 180 °C, keyrslutími 10 mínútur
- 6.6. Rúmmál inngjafar: 1 μ m, skipt 1:40.
7. **Sýni**
- Geyma skal sýni við stofuhita, fjarri ljósi og í kulda.
8. **Aðferð**
- 8.1. Skimun sýna m.t.t. estragóls
- Til að tryggja að estragól sé ekki til staðar í sýninu eins og það kemur fyrir í náttúrunni skal gerð greining á eyðusýni án þess að bæta við innri staðli. Ef estragól er til staðar eins og það kemur fyrir í náttúrunni skal velja annan innri staðal (t.d. mentól).
- Pípla skal 2 ml af sýni í 20 ml mæliflösku og fylla að merki með 45% etanóli miðað við rúmmál (4.4) og blanda vel.
- 8.2. Tilreiðsla óþekktra sýna
- Pípla skal 2 ml af sýni í 20 ml mæliflösku og síðan 2 ml af innri staðallausn B (4.5.2) og fylla að merki með 45% etanóli miðað við rúmmál (4.4) og blanda vel.

- 8.3. Núllpróf
- Pípla skal 2 ml af innri staðallausn B (4.5.2) í 20 ml mæliflösku, fylla að merki með 45% etanóli miðað við rúmmál (4.4) og blanda vel.
- 8.4. Línuleg prófun
- Áður en greiningin hefst skal athuga hvort svörun logajónunarnemans sé línuleg með því að greina samfleytt í þrígang hverja línulega staðallausn (4.5.3).
- Teikna skal línurit yfir styrk móðurlausnar í g/l á móti hlutfallinu R út frá flatarmáli eða hæð toppa tegurmælisins fyrir hverja innsprautun.
- $R = \text{hæð eða flatarmál trans-agnetólstoppa} / \text{deilt með hæð eða flatarmáli estragólstoppa}$.
- Fram ætti að koma bein lína.
- 8.5. Ákvörðun
- Dæla skal núlllausn (8.3), staðallausn C (4.5.4) og línulegum staðallausnum (4.5.3), sem virka sem sýni til gæðastýringar (hægt er að velja staðallausn með tilvísun til líklegs styrks trans-agnetóls í óþekkta sýninu) og síðan fimm óþekktum sýnum (8.2). Setja skal inn línulegt sýni (til gæðastýringar) fyrir hver fimm óþekkt sýni til að tryggja stöðugleika í greiningu.
9. **Útreikingur á svörunarþætti**
- Mæla skal annaðhvort flatarmál toppa (með því að nota tegurmáli eða annað gagnakerfi) eða hæð toppa (handvirk samþætting) fyrir trans-agnetól- og innri staðaltoppa.
- 9.1. Útreikningur á svörunarþætti
- Svörunarþátturinn er reiknaður út á eftirfarandi hátt:
- $$RF_i = (C_i / \text{flatarmál eða hæð}_i) * (\text{flatarmál eða hæð}_{is} / C_{is})$$
- Þar sem:
- C_i er styrkur trans-agnetóls í staðallausn A (4.5.1)
- C_{is} er styrkur innri staðals í staðallausn B (4.5.2)
- flatarmál_i er flatarmál (eða hæð) trans-agnetóltoppa
- flatarmál_{is} flatarmál (eða hæð) innri staðaltoppa
- RF_i er reiknað út frá fimm sýnum af lausn C (4.5.4).
- 9.2. Greining á línulegri svörun prófunarlausna
- Sprauta skal inn prófunarlausnum (4.5.3) með línulega svörun.
- 9.3. Greining sýnisins
- Sprauta skal inn óþekkttri sýnislausn (8.2).
10. **Útreikningur niðurstaðna**
- Eftirfarandi formúla er notuð við útreikning á styrk trans-agnetóls:
- $$c_i = C_{is} * (\text{flatarmál eða hæð}_i / \text{flatarmál eða hæð}_{is}) * RF_i$$
- Þar sem:
- c_i er styrkur trans-agnetóls í óþekkttri lausn
- C_{is} er styrkur innri staðals í óþekkttri lausn (4.5.2)
- Flatarmál eða hæð_i er flatarmál eða hæð trans-agnetóltoppa
- Flatarmál eða hæð_{is} flatarmál eða hæð innri staðaltoppa
- RF_i er svörunarstuðull (reiknaður út eins og í lið 9.1)
- Styrkur trans-agnetóls er gefinn upp í grömmum á hvern lítra með einum aukastaf.

11. Gæðatrygging og gæðaeftirlit

Skiljuritin skulu vera þannig að anetól og innri staðall séu aðgreind hvort frá öðru og frá öllum efnum sem hafa truflandi áhrif. RF_i -gildið er reiknað út frá niðurstöðum fimm innsprautunar lausnar C (4.5.4). Ef frávikstuðullinn ($CV\% = (\text{staðalfrávik}/\text{meðaltal}) \cdot 100$) er á bilinu $\pm 1\%$ er RF_i meðalgildið ásættanlegt.

Nota skal framangreindan útreikning til að reikna út styrk trans-anetóls í sýni af línulegum lausnum (4.5.3) sem er valið til gæðaeftirlits.

Ef meðaltal útreiknings niðurstaðna úr greiningu á línulegri lausn, sem er valin sem sýni til innra eftirlits, er á bilinu $\pm 2,5\%$ af fræðilegu gildi þeirra er niðurstaðan úr óþekktu sýninu ásættanleg.

12. Meðhöndlun á sýni úr brenndum drykkjum, sem inniheldur mikið sykurmagn, og á sýni úr líkjör fyrir gasgreiningu

Útdráttur alkóhóls úr brenndum drykkjum sem innihalda mikið sykurmagn til að hægt sé að ákvarða styrk trans-anetóls með því að nota gasgreiningu með hárpípu.

12.1. Meginregla

Taka skal deiliskammt af líkjörssýninu og bæta í hann innri staðli í styrk sem er svipaður styrk greini-efnisins (trans-anetóls) í líkjörnum. Út í þetta skal bæta tólfvötnuðu natríumfosfati og vatnsfríu ammóníumsúlfati. Samsetta efnið skal hrista vel og kæla, við það myndast tvö lög og er efra alkóhóllagið fjarlæggt. Taka skal deiliskammt af þessu alkóhóli og skal hann þynntur með 45% etanóllausn (4.4) (Ath.: Ekki skal bæta við neinum innri staðli á þessu stigi vegna þess að honum hefur þegar verið bætt við). Lausnin, sem fæst, er greind með gasgreiningu.

12.2. Prófunarefni og efni

Við útdráttinn skal einungis nota prófunarefni með yfir 99% hreinleika.

12.2.1. Ammóníumsúlfat, vatnsfrítt, (CAS 7783-20-2).**12.2.2. Natríumfosfat, tvíbasískt, tólfvatnað, (CAS 10039-32-4).****12.3. Tæki og búnaður**

Keiluflooskur, skilflooskur, ísskápur.

12.4. Aðferð**12.4.1. Skimun sýna m.t.t. estragóls**

Til að tryggja að estragól sé ekki til staðar í sýninu eins og það kemur fyrir í náttúrunni skal eyðusýni (12.6.2) dregið út og greint án þess að bæta við innri staðli. Ef estragól er til staðar eins og það kemur fyrir í náttúrunni skal velja annan innri staðal.

12.4.2. Útdráttur

Pípla skal 5 ml af 96% af etanóli (4.1) í keilufloosku, vega skal 50 mg af innri staðli og setja í þessa floosku (4.3) og bæta við 50 ml af sýninu. Bæta skal við 12 g af ammóníumsúlfati, vatnsfríu (12.2.1) og 8,6 g af tvíbasísku, tólfvötnuðu natríumfosfati (12.2.2). Setja skal tappa í keiluflooskuna.

Hrista skal flooskuna í a.m.k. 30 mínútur. Nota má vélrænan hristibúnað en ekki teflonhúðaðan segulhræripinna þar sem teflonið gleypir eitthvað af greiniefninu. Veita skal því athygli að viðbætta saltið leysist ekki alveg upp.

Setja skal flooskuna með tappanum í ísskáp (hitastig $< 5\text{ }^\circ\text{C}$) og geyma hana þar í a.m.k. tvær klukkustundir.

Að tveimur tímum liðnum skulu hafa myndast tvö aðgreind vökvalög og leif á föstu formi. Alkóhóllagið á að vera tært en ef svo er ekki skal setja það inn í ísskáp þar til hreinn aðskilnaður hefur náðst.

Þegar alkóhóllagið er orðið tært skal taka varlega deiliskammt (t.d. 10 ml) án þess að trufla vatnslagið, setja hann í gulbrúnt hettuglas og loka því vel.

12.4.3. Tilreiðsla útdregna sýnisins sem á að greina

Leyfa skal útdrættinum (12.4.2) að ná stofuhita.

Taka skal 2 ml af alkóhóllagi af útdregna sýninu við stofuhita og pípla í 20 ml mælifloosku, fylla að merki með 45% etanóli (4.4) og blanda vel.

- 12.5. Ákvörðun
Fylgja skal aðferðinni eins og henni er lýst í lið 8.5.
- 12.6. Útreikningur niðurstaðna
Nota skal eftirfarandi formúlu til að reikna út niðurstöðurnar:

$$C_i = (m_{is}/V) * (\text{flatarmál}_i/\text{flatarmál}_{is}) * RF_i$$
 Þar sem:
 m_{is} er þyngd innri staðals (4.3) (í milligrömmum),
 V er rúmmál óþekkts sýnis (50 ml),
 RF_i er svörunarþáttur (9.1),
 flatarmál_i er flatarmál trans-anetóltopps,
 flatarmál_{is} er flatarmál innri staðaltopps.
 Niðurstöðurnar eru settar fram í grömmum á hvern lítra með einum aukastaf.
- 12.7. Gæðatrygging og gæðaeftirlit
Fylgja skal aðferðinni eins og henni er lýst í framangreindum 11. lið.
13. **Gæðafæríbreytur aðferðarinnar (samkvæmni)**
Tölfræðilegar niðurstöður samanburðarprófunar rannsóknastofa:
í eftirfarandi töflum eru tilgreind gildi fyrir anetól.
Eftirfarandi gögn fengust úr alþjóðlegri aðferðarannsókn sem framkvæmd var í samræmi við alþjóðlega samþykktar verklagsreglur.

Ár sem samanburðarrannsókn rannsóknastofanna fór fram	1998
Fjöldi rannsóknastofa	16
Fjöldi sýna	10
Greiniefni	anetól

Pastís:

Sýni	A	B	C	D	E	F
Fjöldi rannsóknastofa að undanskildum rannsóknastofum sem sýndu frávik í niðurstöðum	15	15	15	13	16	16
Fjöldi rannsóknastofa sem sýndu frávik í niðurstöðum	1	1	1	3	—	—
Fjöldi samþykktra niðurstaðna	30	30	30	26	16	16
Meðalgildi g/l	1,477	1,955	1,940	1,833	1,741	1,754
Endurtekningarnákvæmni (S_r) g/l	0,022	0,033	0,034	0,017	—	—
Hlutfallsleg endurtekningarnákvæmni (RSD_r) (%)	1,5	1,7	1,8	0,9	—	—
Endurtekningarnákvæmismörk (r) (g/l)	0,062	0,093	0,096	0,047	—	—
Endurtekningarnákvæmni (S_r) g/l	0,034	0,045	0,063	0,037	0,058	0,042
Hlutfallsleg samanburðarnákvæmni (RSD_R) (%)	2,3	2,3	3,2	2,0	3,3	2,4
Samanburðarnákvæmismörk (R) g/l	0,094	0,125	0,176	0,103	0,163	0,119

Tegundir sýna:

- A pastís, tvöföld blindsýni,
- B pastís, tvöföld blindsýni,
- C pastís, tvöföld blindsýni,

- D pastís, tvöföld blindsýni,
 E pastís, tvöföld blindsýni,
 F pastís, tvöföld blindsýni.

Aðrir anisdrykkir, bragðbættir með anísfræjum:

Sýni	G	H	I	J
Fjöldi rannsóknastofa að undanskildum rannsóknastofum sem sýndu frávik í niðurstöðum	16	14	14	14
Fjöldi rannsóknastofa sem sýndu frávik í niðurstöðum	—	2	1	1
Fjöldi samþykktra niðurstaðna	32	28	28	28
Meðalgildi g/l	0,778 0,530 (*)	1,742	0,351	0,599
Endurtekningarnákvæmni (S _r) g/l	0,020	0,012	0,013	0,014
Hlutfallsleg endurtekningarnákvæmni (RSD _r) (%)	3,1	0,7	3,8	2,3
Endurtekningarnákvæmismörk (r) (g/l)	0,056	0,033	0,038	0,038
Endurtekningarnákvæmni (S _r) g/l	0,031	0,029	0,021	0,030
Hlutfallsleg endurtekningarnákvæmni (RSD _R) (%)	4,8	1,6	5,9	5,0
Samanburðarnákvæmismörk (R) g/l	0,088	0,080	0,058	0,084

Tegundir sýna:

- G ouzo, tveir styrkleikar (*),
 H anís, tvöföld blindsýni,
 I líkjör, bragðbættur með anísfræjum, tvöföld blindsýni,
 J líkjör, bragðbættur með anísfræjum, tvöföld blindsýni.

VI. GLÝSYRRISÍNSÝRA. ÁKVÖRÐUN GLÝSYRRISÍNSÝRU MEÐ ÞVÍ AÐ NOTA HÁGÆÐAVÖKVASKILJUN

1. Gildissvið

Aðferðin hentar við ákvörðun á glýsyrísinsýru í brenndum drykkjum, sem hafa verið bragðbættir með anísfræjum, með því að nota hágæðavökvaskiljun. Í reglugerð (EBE) nr. 1576/89 er tilgreint að brenndur drykkur, bragðbættur með anísfræjum, sem kallast „pastís“, skuli innihalda á bilinu 0,05 og 0,5 g af glýsyrísinsýru í hverjum lítra.

2. Tilvísun í staðla

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

3. Meginregla

Styrkur glýsyrísinsýru er ákvarðaður með hágæðavökvaskiljun þar sem notað er útfjólublátt ljós við greiningu. Staðallausn og prófunarsýnið eru síuð og sprautuð hvort í sínu lagi inn í hágæðavökvaskiljunarkerfið.

4. Prófunarefni og efni

Við greininguna skal aðeins nota prófunarefni með hreinleika sem krafist er í hágæðavökvaskiljun, hreint etanól og vatn á hreinleikastigi 3 eins og það er skilgreint samkvæmt ISO 3696.

- 4.1. 96% etanól miðað við rúmmál (CAS 64-17-5).
- 4.2. Ammóníumglýsyrriínat, $C_4H_{16}O_6.NH_3$ (Glýsyrriínsýruammóníumsalt)
(Mólikúlmassi: 839,98)(CAS 53956-04-0): a.m.k. 90% hreinleiki
(Mólikúlmassi: glýsyrriínsýra 822,94).
- 4.3. Ísedik, CH_3COOH (CAS 64-19-7).
- 4.4. Metanól, CH_3OH (CAS 67-56-1).
- 4.5. 50% etanól miðað við rúmmál.
Fyrir 1000 ml við 20 °C:
— 96% etanól miðað við rúmmál (4.1): 521 ml
— Vatn (2.0): 511 ml.
- 4.6. Tilreiðsla skollausnar fyrir hágæðavöskviljun.
- 4.6.1. Skolleysiefni A (dæmi),
80 hlutar (miðað við rúmmál) af vatni (2.0),
20 hlutar (miðað við rúmmál) af ediksýru (4.3).
Verja skal fimm mínútum í að eyða lofttegundum úr skolleysiefninu.
Aths.: Ef vatn, sem var notað, hefur ekki verið örsíað er ráðlegt að sía tilreidda skolleysiefnið með síu fyrir lífræn leysiefni með holustærð sem er minni eða jafnt og 0,45 μm .
- 4.6.2. Skolleysiefni B
Metanól(4.4).
- 4.7. Tilreiðsla staðalupplausna
Nýjar staðallausnir skulu tilreiddar á tveggja mánaða fresti.
- 4.7.1. Viðmiðunarlausn C
Vega skal 25 mg af ammóníumglýsyrriínati (4.2) með 0,1 mg nákvæmni í 100 ml mæliflösku. Bæta skal við 50% etanóli (4.5) miðað við rúmmál og leysa upp ammóníumglýsyrriínatið. Þegar saltið hefur leyst upp skal fylla að merki með 50% etanóli (4.5) miðað við rúmmál.
Sía skal í gegnum síu fyrir lífræn leysiefni.
- 4.7.2. Staðallausnir eru notaðar til að athuga hver línuleg svörun tækjabúnaðarins er.
Tilreiða skal 1,0 g/l af stofnlausn með því að veða 100 mg af ammóníumglýsyrriínati með 0,1 mg nákvæmni í 100 ml mæliflösku. Bæta skal við 50% etanóli (4.5) miðað við rúmmál og leysa upp ammóníumglýsyrriínatið. Þegar saltið hefur leyst upp skal fylla að merki með 50% etanóli (4.5) miðað við rúmmál.
Tilreiða skal a.m.k. fjórar aðrar lausnir sem samsvara 0,05, 0,1, 0,25 og 0,5 g/l af ammóníumglýsyrriínati með því að pípla 5 ml, 10 ml, 25 ml og 50 ml af 1,0 g/l af stofnlausnum í aðgreindar 100 ml mæliflöskur. Fylla skal að merki með 50% etanóli (4.5) miðað við rúmmál og blanda vel.
Sía skal allar lausnir í gegnum síu fyrir lífræn leysiefni.
5. **Tæki og búnaður**
- 5.1. Skiljukerfi.
- 5.1.1. Hágæðavöskviljunarbúnaður.
- 5.1.2. Dælukerfi sem nær og viðheldur stöðugu eða stýrðu flæði með mikilli nákvæmni.
- 5.1.3. Greinikerfi sem byggist á útfjólublárri litrófsgreiningu: stillt á 254 nm.
- 5.1.4. Kerfi til að eyða lofttegundum úr leysiefni.
- 5.2. Tölvustýrður tegurmælir eða skrásetjari sem er samhæfður hinum þáttum kerfisins.

- 5.3. Súla (dæmi):
Efni: ryðfrítt stál eða gler
Innanmál: 4-5 mm
Lengd: 100 til 250 mm
Stöðufasi: víxltengt kisl með (helst kúptum) oktadekyl, virkum hópi (C18), hámarksagnastærð: 5 μ m.
- 5.4. Búnaður á rannsóknarstofu.
- 5.4.1. Fínvog með 0,1 mg nákvæmni.
- 5.4.2. Mæliflaska úr gleri af hreinleika A.
- 5.4.3. Búnaður til örhimmusíunar fyrir lítið magn.
6. **Skilyrði við skiljun**
- 6.1. Eiginleikar skolonar: (dæmi)
— flæði: 1 ml/mín.,
— leysiefni A = 30%,
— leysiefni B = 70%.
- 6.2. Greining:
— með útfjólubláu ljósi = 254 nm
7. **Aðferð**
- 7.1. Tilreiðsla sýnis úr brenndum drykkjum
Sía skal, ef nauðsyn krefur, í gegnum síu fyrir lífræn leysiefni (þvermál holu: 0,45 μ m).
- 7.2. Ákvörðun
Þegar skilyrði við skiljun eru orðin stöðug skal,
— sprauta inn 20 μ l af viðmiðunarlausn C (4.7.1),
— sprauta inn 20 μ l af sýnislausninni,
— bera saman skiljuritin tvö. Greina skal toppa glýsýrrisínsýru með hjálp rástíma þeirra. Mæla skal flatarmál þeirra (eða hæð) og reikna út styrkinn í g/l með tveimur aukastöfum með því að nota eftirfarandi jöfnu:

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

Þar sem:

c er styrkur í grömmum á lítra af glýsýrrisínsýru í brennda drykkjum sem er greindur

C er styrkur í grömmum á lítra af ammóníumglýsýrrisínati í viðmiðunarlausninni

H er flatarmál (eða hæð) glýsýrrisínsýrutoppans í viðmiðunarlausninni

P er hreinleiki viðmiðunarammóníumglýsýrrisínatsins (í %)

823 er massi eins móls af glýsýrrisínsýru

840 er massi eins móls af ammóníumglýsýrrisínats

8. **Gæðafæribreytur aðferðarinnar (samkvæmni)**

Tölfræðilegar niðurstöður samanburðarprófunar rannsóknastofa:

í eftirfarandi töflum eru tilgreind gildi fyrir glýsýrrisínsýru.

Eftirfarandi gögn fengust úr alþjóðlegri aðferðarannsókn sem framkvæmd var í samræmi við alþjóðlega samþykktar verklagsreglur.

Ár sem samanburðarrannsókn rannsóknastofanna fór fram:	1998
Fjöldi rannsóknastofa	16
Fjöldi sýna:	5
Greiniefni	glýsyrísínsýra

Sýni	A	B	C	D	F
Fjöldi rannsóknastofa að undanskildum rannsóknastofum sem sýndu frávik í niðurstöðum	13	14	15	16	16
Fjöldi rannsóknastofa sem sýndu frávik í niðurstöðum	3	2	1	—	—
Fjöldi samþykktra niðurstaðna	26	28	30	32	32
Meðalgildi g/l	0,046	0,092 (*), 0,099	0,089	0,249	0,493
Endurtekningarnákvæmni (S_r) g/l	0,001	0,001	0,001	0,002	0,003
Hlutfallsleg endurtekningarnákvæmni (RSD _r) (%)	1,5	1,3	0,7	1,0	0,6
Endurtekningarnákvæmismörk (r) (g/l)	0,002	0,002	0,002	0,007	0,009
Endurtekningarnákvæmni (S_r) g/l	0,004	0,004	0,004	0,006	0,013
Hlutfallsleg samanburðarnákvæmni (RSD _R) (%)	8,6	72	4,0	2,5	2,7
Samanburðarnákvæmismörk (R) g/l	0,011	0,019	0,010	0,018	0,037

Tegundir sýna:

- A pastís, tvöföld blindsýni
- B pastís, tveir styrkleikar (*)
- C pastís, tvöföld blindsýni
- D pastís, tvöföld blindsýni
- E pastís, tvöföld blindsýni

VII. KALKONAR. AÐFERÐ HÁGÆÐAVÖKVASKILJUNAR TIL AÐ SANNPÓFA TILVIST KALKONA Í PASTÍS

1. Gildissvið

Þessi aðferð hentar við ákvörðun á því hvort kalkonar séu til staðar eða ekki í drykkjum sem eru bragðbættir með anísfræjum. Kalkonar eru náttúruleg litarefni af flavonoíðfjölskyldunni og eru til staðar í lakkrísrot (*Glycyrrhiza glabra*).

Til að hægt sé að nefna drykk, sem er bragðbættur með anísfræjum, pastís verður hann að innihalda kalkona (reglugerð (EBE) nr. 1576/89).

2. Tilvísun í staðla

ISO 3696: 1987 Water for analytical laboratory use - Forskriftir og prófunaraðferðir.

3. Meginregla

Tilreidd er viðmiðunarlausn lakkrísútdráttar. Ákvarðað er með hágæðavökvaskiljun, þar sem notað er útfjólublátt ljós við greiningu, hvort kalkonar séu til staðar.

4. Prófunarefni og efni

Við greininguna skal nota prófunarefni með hreinleika sem krafist er í hágæðavökvaskiljun. Nota skal 96% etanól miðað við rúmmál. Nota skal vatn á hreinleikastigi 3 eins og það er skilgreint í ISO-staðli 3696.

- 4.1. 96% etanól miðað við rúmmál (CAS 64-17-5)
- 4.2. Asetonítíll, CH₃CH (CAS 75-05-8)

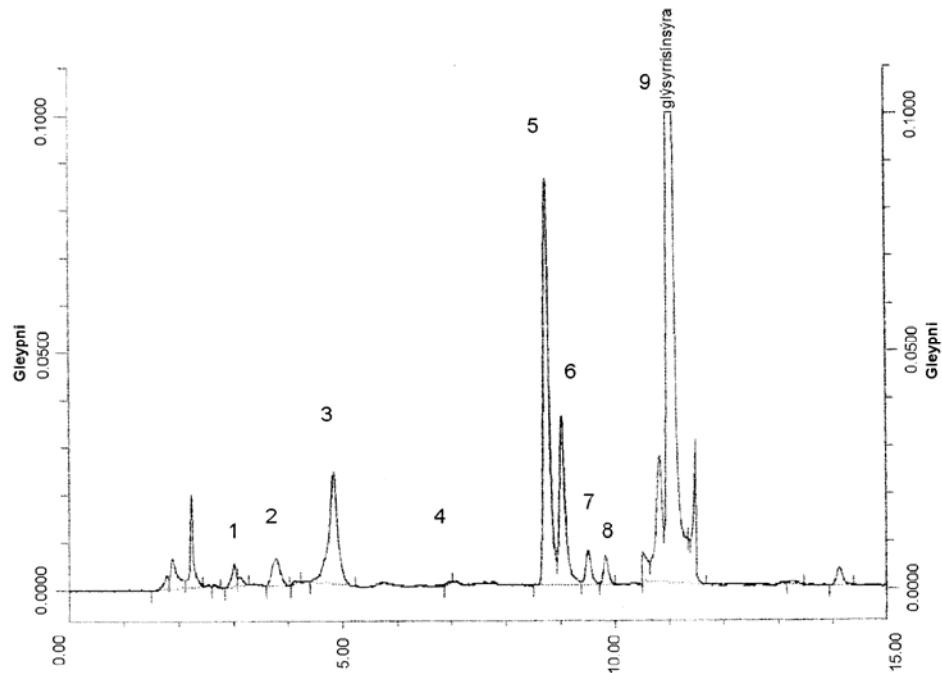
- 4.3. Viðmiðunarefni: *Glycyrrhiza glabra*: (lakkrísrot)
Grófmöluð lakkrísrot (*Glycyrrhiza glabra*). Meðalummál staflaga agna: lengd: 10 til 15 mm, þykkt: 1 til 3 mm.
- 4.4. Natriumasetat, CH₃COONa (CAS 127-09-3)
- 4.5. Ísedik, CH₃COOH (CAS 64-19-7).
- 4.6. Tilreiðsla lausna
- 4.6.1. 50% etanól miðað við rúmmál
Fyrir 1000 ml við 20 °C:
96% etanól miðað við rúmmál (4.1): 521 ml
Vatn (2.0): 511 ml.
- 4.6.2. Leysiefni A: asetónítril
Asetónítril (4.2) af hreinleika sem krafist er í hágæðavöskviljun.
Eyða skal öllum lofttegundum
- 4.6.3. Leysiefni B: 0,1 M jafnalausn natriumasetats, pH 4,66.
Vega skal 8,203 g af natriumasetati (4.4), bæta skal við 6,005 g af ísediki (4.5) og fylla að 1000 ml með vatni (2) í mæliflösku.
5. **Tilreiðsla viðmiðunarútdráttar úr *Glycyrrhiza glabra* (4.3)**
- 5.1. Vega skal 10 g af malaðri lakkrísrot (*Glycyrrhiza glabra*) (4.3) og setja í eimingarflösku með kúptum botni.
— bæta skal við 100 ml af 50% etanóli (4.6.1) miðað við rúmmál,
— sjóða skal við bakstreymi í eina klukkustund,
— sía,
— geyma skal síuvökvann til nota síðar.
- 5.2. Endurheimta skal lakkrísútdráttinn úr síuvökvanum
— setja skal hann í eimingarflösku með kúptum botni,
— bæta skal við 100 ml af 50% etanóli (4.6.1) miðað við rúmmál,
— sjóða skal við bakstreymi í eina klukkustund,
— sía,
— geyma skal síuvökvann til nota síðar.
- 5.3. Draga skal lakkrísrotina út þrisvar sinnum í röð.
- 5.4. Sameina skal síuvökvana þrjá.
- 5.5. Láta skal leysiefnafasann (úr lið 5.4) gufa upp í hverfieimi.
- 5.6. Leysa skal leifina (5.5), sem fæst við útdráttinn, upp í 100 ml af 50% etanóli (4.6.1) miðað við rúmmál.
6. **Tæki og búnaður**
- 6.1. Skiljukerfi
- 6.1.1. Hágæðavöskviljunarbúnaður
- 6.1.2. Dælukerfi sem nær og viðheldur stöðugu eða stýrðu flæði við mikinn þrýsting.
- 6.1.3. Hægt er að stilla greinikerfi sem byggist á sýnilegri, útfjólublárri litrófsgreiningu á 254 nm og 370 nm.
- 6.1.4. Kerfi til að eyða lofttegundum úr leysiefni.
- 6.1.5. Hægt er að stilla hita súluofnsins á 40 ± 0,1 °C.
- 6.2. Tölvustýrður tegurmælir eða skrásetjari sem er samhæfur hinum þáttum kerfisins.

- 6.3. Súla
- Efni: ryðfrítt stál eða gler
- Innanmál: 4-5 mm
- Stöðufasi: víxltengt kísl með oktadekýl, afleiddum, virkum hóp (C18), agnastærð: í mesta lagi 5 μm (víxltengdur fasi).
- 6.4. Almennur búnaður á rannsóknarstofu, þ.m.t.:
- 6.4.1. fínvog með $\pm 0,1$ mg nákvæmni,
- 6.4.2. eimingarbúnaður með endurstreymisþétti sem samanstendur t.d. af:
- 250 ml flösku með kúptum botni og slíp,
 - 30 cm löngum endurstreymisþétti, og
 - varmagjafa (forðast skal hitavaldandi hvörf í útdráttarefninu með því að nota viðeigandi búnað).
- 6.4.3. Hverfiuppgefufunarbúnaður
- 6.4.4. Búnaður við síun (þ.e. Buchner-trekt).
- 6.5. Skilyrði við skiljun (dæmi).
- 6.5.1. Skolunareiginleikar leysiefnis A (4.6.2) og B (4.6.3):
- skipti úr 20/80 (v/v) í 50/50 (v/v) stigul á 15 mínútum,
 - skipti úr 50/50 (v/v) í 75/25 (v/v) stigul á fimm mínútum,
 - jafnmikill styrkur við 75/25 (v/v) í fimm mínútur,
 - stöðugleiki í súlunni á milli innsprautunar,
 - jafnmikill styrkur við 20/80 (v/v) í fimm mínútur,
- 6.5.2. Flæði: 1 ml/mín.,
- 6.5.3. Stilling ísogsnema fyrir útfjólublátt ljós:
- stilla skal nemann á 370 nm til að greina hvort kalkonar séu til staðar og síðan á 254 nm til að greina hvort glýsyrrisínsýra sé til staðar.
- Aths.:* Breyta skal bylgjulengd (frá 370 nm til 254 nm) 30 sekúndum áður en toppar glýsyrrisínsýru fara að myndast.
7. **Aðferð**
- 7.1. Tilreiðsla sýnis úr brenndum drykkjum
- Sía skal í gegnum síu fyrir lífræn leysiefni (þvermál holu: 0,45 μm).
- 7.2. Tilreiðsla útdráttar lakkrisleifar (5.6)
- Þynna skal í hlutföllunum 1:10 með 50% etanóli (4.6.1) miðað við rúmmál áður en greining hefst.
- 7.3. Ákvörðun
- 7.3.1. Sprauta skal inn 20 μl af tilreidda lakkrisútdrættinum (7.2). Framkvæma skal greininguna með því að nota skilyrði við skiljun sem er lýst hér að framan (6.5).
- 7.3.2. Sprauta skal inn 20 μl af sýninu (7.1) (sýni af brenndum drykkjum, bragðbætt með anísfræjum). Framkvæma skal greininguna með því að nota skilyrði við skiljun sem er lýst hér að framan (6.5).
- 7.3.3. Bera skal saman skiljuritin tvö. Endasvæði kalkonanna á skiljuritunum tveimur skal vera mjög svipað (við greiningu við 370 nm samkvæmt greiningarskilyrðum sem lýst er hér að framan) (sjá mynd 1).

8. Hefbundið skiljurit fyrir pastís

Mynd 1

Skiljurit sem fengið er með aðferð sem lýst er hér að framan þar sem sýnt er að kalkonar séu til staðar í pastís. 1. til 8. toppur eru kalkonar og 9. toppur er glýsyrinsísyra.



9. Gæðafæribreytur aðferðarinnar (samkvæmni)

Niðurstöður samanburðarprófunar rannsóknastofa:

Í eftirfarandi töflu er niðurstaða greiningar á því hvort kalkonar séu til staðar eða ekki í pastís og brenndum drykkjum, bragðbættum með anísfræjum.

Eftirfarandi gögn fengust úr alþjóðlegri aðferðarannsókn sem framkvæmd var í samræmi við alþjóðlega samþykktar verklagsreglur.

Ár sem samanburðarannsókn
rannsóknastofanna fór fram: 1998
Fjöldi rannsóknastofa 14
Fjöldi sýna: 11
Greiniefni kalkonar

Sýni	A	B	C	D	E	F
Fjöldi rannsóknastofa að undanskildum rannsóknastofum sem sýndu frávik í niðurstöðum	14	14	14	14	14	13
Fjöldi rannsóknastofa sem sýndu frávik í niðurstöðum	—	—	—	—	—	1 (*)
Fjöldi samþykktara niðurstaðna	28	14	14	28	28	26
Fjöldi niðurstaðna þar sem kalkonar eru til staðar	28	14	14	0	28	0
Fjöldi niðurstaðna þar sem kalkonar eru ekki til staðar	0	0	0	28	0	26
Hundraðshlutfall réttra niðurstaðna (%)	100	100	100	100	100	100

(*) Ósamræmi á milli tveggja blindsýna stafar af villu í sýnatöku

Sýni	G	H	I	J	K
Fjöldi rannsóknastofa að undanskildum rannsóknastofum sem sýndu frávik í niðurstöðum	14	14	14	14	14
Fjöldi rannsóknastofa sem sýndu frávik í niðurstöðum	—	—	—	—	—
Fjöldi samþykkttra niðurstaðna	28	14	14	28	28
Fjöldi niðurstaðna þar sem kalkonar eru til staðar	0	0	0	0	0
Fjöldi niðurstaðna þar sem kalkonar eru ekki til staðar	28	14	14	28	28
Hundraðshlutfall réttra niðurstaðna (%)	100	100	100	100	100

Tegundir sýna:

- A pastís, tvöföld blindsýni,
- B pastís, tvöföld blindsýni,
- C pastís, tvöföld blindsýni,
- D „pastís“ (inniheldur ekki kalkona), tvöföld blindsýni,
- E „pastís“ (inniheldur ekki kalkona), tvöföld blindsýni,
- F líkjör, bragðbættur með anísfræjum (inniheldur ekki kalkona), tvöföld blindsýni,
- G líkjör, bragðbættur með anísfræjum (inniheldur ekki kalkona), tvöföld blindsýni,
- H ouzo (inniheldur ekki kalkona), eitt sýni,
- I ouzo (inniheldur ekki kalkona), eitt sýni,
- J anís (inniheldur ekki kalkona), tvöföld blindsýni,
- K „pastís“ (inniheldur ekki kalkona), tvöföld blindsýni.

IX. EGGJARAUDA. ÁKVÖRDUN Á STYRK EGGJARAUDU Í BRENNÐUM DRYKKJUM - LJÓSMÆLINGAADFERÐ

1. Gildissvið

Þessi aðferð er hentug til að ákvarða styrk eggjarauðu á bilinu 40 til 250 g/l í eggjalíkjör og líkjör með eggjum.

2. Tilvísun í staðla

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

3. Meginregla

Etanóluppleystu fosfórefnasamböndin, sem fundust í eggjarauðu, eru dregin út og magngreind með ljósmælingaraðferð sem samsett efnasamband úr fosfór og mólýbdati.

4. Prófunarefni og efni

- 4.1. Tvíeimað vatn
- 4.2. Kísilgúr
- 4.3. 96% etanól miðað við rúmmál (CAS 64-17-5)
- 4.4. 15% magnesíumasetatlausn (CAS 16674-78-5)
- 4.5. 10% brennisteinssýra (CAS 7664-93-9)

- 4.6. 1 N brennisteinssýra.
- 4.7. 0,16 g/l kalíumdívetnisfosfat (CAS 778-77-0), KH_2PO_4 -lausn
- 4.8. Prófunarefni til að ákvarða fosfat
leysa skal 20 g af ammóníummólýbdati (CAS 12054-85-2), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ upp í 400 ml af vatni við 50°C,
leysa skal upp í öðru íláti 1 g af ammóníumvanadati (CAS 7803-55-6), NH_4VO_3 , í 300 ml af heitu vatni, og það látið kólna, síðan er bætt út í 140 ml af styrktri saltpéturssýru (CAS 7697-37-2). Sameina skal kældu lausnirnar í 1000 ml mæliflösku og fylla að 1000 ml merkinu.
5. **Tæki og búnaður**
 - 5.1. 100 ml keiluflaska
 - 5.2. Úthljóðsbað (eða segulhræribúnaður)
 - 5.3. 100 ml mæliflaska
 - 5.4. 20 °C vatnsbað
 - 5.5. Sía (Whatman nr. 4 eða sambærileg)
 - 5.6. Postulínsdeigla (eða platínudeigla)
 - 5.7. Sjóðandi vatnsbað
 - 5.8. Hitaplata
 - 5.9. Glæðiofn
 - 5.10. 50 ml mæliflaska
 - 5.11. 20 ml mæliflaska
 - 5.12. Litrófsmælir stilltur á 420 nm
 - 5.13. 1 cm kúvetta.
6. **Sýni**

Sýni eru geymd við stofuhita áður en greining fer fram.
7. **Aðferð**
 - 7.1. Tilreiðsla sýnis
 - 7.1.1. Vega skal 10 g af sýni í 100 ml keilufloösku (5.1).
 - 7.1.2. Bæta skal við jafnt og þétt 70 ml af etanóli (4.3) í smáum skömmtum, hringsnúa skal flöskunni við hverja viðbót og setja hana í úthljóðsbað (5.2) í 15 mínútur (eða hræra í blöndunni með segulhræribúnaði (5.2) í 10 mínútur við stofuhita).
 - 7.1.3. Flytja skal innihald flöskunnar yfir í 100 ml mæliflösku (5.3) með því að skola með etanóli (4.3). Fylla skal að kvarðamerkinu með etanóli (4.3) og setja flöskurnar í 20 °C vatnsbað (5.4). Fylla skal að kvarðamerkinu við 20 °C.
 - 7.1.4. Bæta skal við litlu magni af kísilgúr (4.2), sía (5.5) og hella niður fyrstu 20 ml.
 - 7.1.5. Flytja skal 25 ml af síuvökva yfir í postulínsdeiglu (eða platínudeiglu) (5.6). Síuvökvinn skal þykktur með vægri uppgufun í sjóðandi vatnsbaði (5.7), bæta skal við 5 ml af 15% af magnesíumasetatlausn (4.4).
 - 7.1.6. Setja skal deiglurnar á hitaplötu (5.8) og hita þær þar til síuvökvinn hefur þornað.
 - 7.1.7. Brenna skal leifina til ösku þar til hún verður að hvítri glóð við 600 °C í glæðiofni (5.9) í a.m.k. eina og hálfu klukkustund eða yfir nótt.
 - 7.1.8. Leysa skal öskuna upp í 10 ml af 10% brennisteinssýru (4.5) og flytja hana yfir í mæliflösku (5.10) með því að skola með eimuðu vatni, fylla skal upp að merkinu með eimuðu vatni (4.1) við stofuhita. Nota skal 5 ml deiliskammt af þessari öskulausn til að undirbúa sýnislausn þar sem fosfat er magngreint með ljósmælingaraðferð.
 - 7.2. Magngreining fosfats með ljósmælingaraðferð
 - 7.2.1. Viðmiðunarlausn
 - 7.2.1.1. Setja skal 10 ml af 10% brennisteinssýru (4.5) í 50 ml mæliflösku (5.10) og fylla að merkinu með eimuðu vatni (4.1).

- 7.2.1.2. Bæta skal 1 ml af 1 N brennisteinssýru (4.6) og 2 ml af fosfatprófunarefni (4.8) við 5 ml deiliskammt þessarar lausnar (7.2.1.1) í 20 ml mæliflösku (5.11) og fylla að 20 ml merkinu með eimuðu vatni (4.1).
- 7.2.1.3. Loka skal flöskunni með lauslega ísettum tappa, hrista hana og hita í sjóðandi vatnsbaði (5.7) í 10 mínútur, kæla hana síðan í 20 °C vatnsbaði (5.4) í 20 mínútur.
- 7.2.1.4. Fylla skal 1 cm kúvettu (5.13) með þessari viðmiðunarlausn.
- 7.2.2. Sýnislausn
- 7.2.2.1. Bæta skal 1 ml af 1 N brennisteinssýru (4.6) og 2 ml af fosfatprófunarefni (4.8) við 5 ml deiliskammt öskulausnarinnar (7.1.8) í 20 ml mæliflösku (5.11) og fylla að 20 ml merkingu með eimuðu vatni (4.1).
- 7.2.2.2. Loka skal flöskunni með lauslega ísettum tappa, hrista hana og hita í sjóðandi vatnsbaði (5.7) í 10 mínútur, kæla hana síðan í 20 °C vatnsbaði (5.4) í 20 mínútur.
- 7.2.2.3. Gula lausnin, sem myndast, er greind þegar í stað með litrófsgreiningu (5.12) í 1 cm kúvettu (5.13) við 420 nm miðað við viðmiðunarlausnina (7.2.1.4).
- 7.2.3. Kvörðunarferill
- 7.2.3.1. Til að búa til kvörðunarferil fyrir lausnina skal bæta 2 ml deiliskömmtum af fosfatprófunarefni (4.8) í 20 ml mæliflöskur (5.11) þar sem hver þeirra inniheldur 1 ml af 1 N brennisteinssýru (4.6) og 0, 2, 4, 6, 8 og 10 ml af kalíumdihýdrógenfosfatlausn (4.7) og fylla að 20 ml merkinu með eimuðu vatni (4.1).
- 7.2.3.2. Loka skal flöskunni með lauslega ísettum tappa, hrista hana og hita í sjóðandi vatnsbaði (5.7) í 10 mínútur, kæla hana síðan í 20 °C vatnsbaði (5.4) í 20 mínútur og greina lausnina með litrófsmælingu (5.12) í 1 cm kúvettu (5.13) við 420 nm miðað við viðmiðunarlausnina (7.2.1.4).
- 7.2.3.3. Gerð kvörðunarkúrfunnar:

dihýdrógenfosfatlausn (ml)	0	2	4	6	8	10
P205 (mg)	0	0,167	0,334	0,501	0,668	0,835

8. Framsetning niðurstaðna

Innihald eggjarauðu í g/l er reiknað út með eftirfarandi formúlu:

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

þar sem:

- 110 er breytistuðull fyrir heildarmagn af P₂O₅ í g í 100 g af eggjarauðu,
- mg P₂O₅ er gildi ákvarðað úr kvörðunarkúrfunni,
- þéttleiki er massi á rúmmálseiningu (g/ml) af líkjör sem byggist á eggjum við 20 °C,
- E þyngd líkjörs sem byggist á eggjum í g,
- 40 er þynningarstuðull fyrir 5 ml deiliskammt af öskulausn.

9. Gæðafæribreytur aðferðarinnar (samkvæmni)

Tölfræðilegar niðurstöður úr samanburðarprófun rannsóknarstofa: í eftirfarandi töflu eru sýnd gildi fyrir eggjarauðu.

Eftirfarandi gögn fengust úr alþjóðlegri aðferðarannsókn sem framkvæmd var í samræmi við alþjóðlega samþykktar verklagsreglur.

Ár sem samanburðarrannsókn rannsóknastofanna fór fram:	1998
Fjöldi rannsóknastofa	24
Fjöldi sýna:	5
Greiniefni	Eggjarauða

Sýni	G	H	I	J	K
Fjöldi rannsóknastofa að undanskildum rannsóknastofum sem sýndu frávik í niðurstöðum	19	20	22	20	22
Fjöldi rannsóknastofa sem sýndu frávik í niðurstöðum	3	4	2	4	2
Fjöldi samþykkrtra niðurstaðna	38	40	44	40	44
Meðalgildi	147,3	241,1	227,4	51,9 (*) 72,8 (*)	191,1
Endurtekningarnákvæmni (S_r) g/l	2,44	4,24	3,93	1,83	3,25
Hlutfallsleg endurtekningarnákvæmni (RSD _r) (%)	1,7	1,8	1,8	2,9	1,7
Endurtekningarnákvæmnismörk (r) (g/l)	6,8	11,9	11,0	5,1	9,1
Endurtekningarnákvæmni (S_R) g/l	5,01	6,06	6,66	3,42	6,87
Hlutfallsleg samanburðarnákvæmni (RSD _R) (%)	3,4	2,5	2,9	5,5	3,6
Samanburðarnákvæmnismörk (R) g/l	14,0	17,0	18,7	9,6	19,2

Tegundir sýna:

- A Advocaat, tvöföld blindsýni,
- B Advocaat, tvöföld blindsýni,
- C Advocaat, tvöföld blindsýni,
- D Advocaat (þynntur), tveir styrkleikar (*),
- E Advocaat, tvöföld blindsýni.