

1318**ROZPORZĄDZENIE MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI¹⁾**

z dnia 3 lipca 2003 r.

w sprawie metod analiz alkoholu etylowego rolniczego oraz metod pobierania próbek do celów urzędowej kontroli pod względem jakości handlowej

Na podstawie art. 20 ustawy z dnia 13 września 2002 r. o napojach spirytusowych (Dz. U. Nr 166, poz. 1362) zarządza się, co następuje:

§ 1. Pobieranie próbek alkoholu etylowego rolniczego (spirytusu rektyfikowanego rolniczego) do celów urzędowej kontroli pod względem jakości handlowej wykonuje się zgodnie z Polską Normą PN-A-79527 Wyroby spirytusowe, produkty i półprodukty — Pobieranie próbek.

§ 2. Alkohol, o którym mowa w § 1, do celów urzędowej kontroli pod względem jakości handlowej podaje się analizie przy zastosowaniu w szczególności:

- 1) oznaczania zawartości alkoholu etylowego rolniczego wyrażonego w procentach objętościowych — wykonywanego metodą, która jest określona w załączniku nr 1 do rozporządzenia;
- 2) oceny barwy lub klarowności — wykonywanej metodą, która jest określona w załączniku nr 2 do rozporządzenia;
- 3) pomiaru czasu odbarwiania roztworu nadmanganianu(VII)potasu (próba Langa) — wykonywanego metodą, która jest określona w załączniku nr 3 do rozporządzenia;
- 4) oznaczania zawartości aldehydów — wykonywanego metodą, która jest określona w załączniku nr 4 do rozporządzenia;
- 5) oznaczania kwasowości całkowitej — wykonywanego metodą, która jest określona w załączniku nr 5 do rozporządzenia;
- 6) oznaczania zawartości estrów — wykonywanego metodą, która jest określona w załączniku nr 6 do rozporządzenia;
- 7) oznaczania zawartości lotnych zasad azotowych — wykonywanego metodą, która jest określona w załączniku nr 7 do rozporządzenia;
- 8) oznaczania zawartości suchej pozostałości po odparowaniu — wykonywanego metodą, która jest określona w załączniku nr 8 do rozporządzenia;
- 9) próby na obecność furfuralu — wykonywanej metodą, która jest określona w załączniku nr 9 do rozporządzenia;
- 10) testu UV — wykonywanego metodą, która jest określona w załączniku nr 10 do rozporządzenia;
- 11) oznaczania zawartości izotopu węgla ¹⁴C — wykonywanego metodą, która jest określona w załączniku nr 11 do rozporządzenia.

§ 3. 1. Do przeprowadzenia analizy alkoholu etylowego rolniczego do celów urzędowej kontroli pod względem jakości handlowej można zastosować także metody inne niż wymienione w § 2, jeżeli gwarantują one powtarzalność lub odtwarzalność wyników.

2. W przypadku, o którym mowa w ust. 1, za ostateczny uznaje się wynik jednej z metod wymienionych w § 2.

§ 4. Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 14 dni od dnia ogłoszenia.

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej — rynki rolne, na podstawie § 1 ust. 2 pkt 3 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 29 marca 2002 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 32, poz. 305).

Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi: *W. Olejniczak*

Załączniki do rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 3 lipca 2003 r. (poz. 1318)

Załącznik nr 1

OZNACZANIE ZAWARTOŚCI ALKOHOLU ETYLOWEGO ROLNICZEGO WYRAŻONEJ W PROCENTACH OBJĘTOŚCIOWYCH

Oznaczenie zawartości alkoholu etylowego rolniczego w procentach objętościowych wykonuje się jedną z następujących metod:

- 1) przy użyciu alkoholomierza lub termoalkoholomierza;
- 2) przy użyciu piknomietru;
- 3) przy użyciu elektronicznego analizatora gęstości.

Przygotowanie próbki do analizy

Pobrana próbka alkoholu etylowego rolniczego jest przechowywana w hermetycznym pojemniku zabezpieczającym ją przed dostępem powietrza i wilgoci. Należy przestrzegać, aby zamknięcie pojemnika nie miało kontaktu z próbką, i nie stosować żadnych substancji uszczelniających to zamknięcie.

Przed przystąpieniem do wykonania analizy pobraną próbkę miesza się w celu jej ujednoczenia.

I. Oznaczenie zawartości alkoholu etylowego rolniczego przy użyciu alkoholomierza lub termoalkoholomierza

Oznaczenie zawartości alkoholu etylowego rolniczego w procentach objętościowych polega na ustaleniu wskazań alkoholomierza i termometru, a następnie na odczytaniu odpowiadającej im zawartości alkoholu etylowego w Tablicach Alkoholometrycznych określonych w przepisach prawa o miarach.

1. APARATURA

Do oznaczania zawartości alkoholu stosuje się:

- 1) cylinder szklany przezroczysty;
- 2) alkoholomierz lub termoalkoholomierz z podziałką elementarną 0,1; 0,2; 0,5; 1% obj., mający cechy legalizacyjne;
- 3) termometr z podziałką elementarną 0,5°C lub 1°C, mający cechy legalizacyjne.

2. WYKONANIE OZNACZANIA

Do cylindra wlewa się taką ilość próbki, aby poziom cieczy znajdował się kilka centymetrów poniżej brzegu cylindra, a zanurzenie alkoholomierza nie spowodowało wylania cieczy. W cylindrze z badaną próbką powoli

zanurza się czysty i suchy alkoholomierz tak, aby nie dotykał ścianek i dna cylindra. Wskazania alkoholomierza odczytuje się po ustaleniu temperatury próbki, według dolnej linii menisku. Podczas analizy odczytuje się temperaturę próbki. Na podstawie wskazań alkoholomierza i termometru zawartość alkoholu etylowego w procentach objętościowych odczytuje się z Tablic Alkoholometrycznych.

3. OBLICZANIE WYNIKU

Zawartość alkoholu etylowego w % objętościowych odczytuje się z Tablic Alkoholometrycznych. Wynikiem oznaczania zawartości alkoholu etylowego jest średnia arytmetyczna uzyskana z co najmniej dwóch równoległe wykonanych pomiarów, różniących się między sobą nie więcej niż o dokładność odczytu z alkoholomierza.

II. Oznaczenie zawartości alkoholu etylowego rolniczego przy użyciu piknomietru

Oznaczenie zawartości alkoholu etylowego przy użyciu piknomietru polega na oznaczaniu gęstości badanej próbki w temperaturze 20°C i odczytaniu odpowiadającej jej zawartości alkoholu etylowego z Tablic Alkoholometrycznych.

1. APARATURA

Do oznaczania zawartości alkoholu stosuje się:

- 1) wagę analityczną o dokładności 0,0001 g;
- 2) termostat lub łaźnię wodną;
- 3) piknometr o pojemności 50 ml.

2. WYKONANIE OZNACZANIA

- 1) czysty i suchy piknometr waży się z dokładnością do 0,0002 g, napełnia się wodą destylowaną powyżej kreski i wstawia do łaźni wodnej o temperaturze $20 \pm 1^\circ\text{C}$ na 30 minut. Wyrównuje się poziom wody do kreski, stosując rurkę kapilarną lub rulonik z bibuły. Piknometr po wytarciu do sucha waży się;
- 2) czynności określone w pkt 1 powtarza się, biorąc zamiast wody badaną próbkę.

3. OBLICZANIE WYNIKU

Gęstość badanej próbki (ρ^{20}) w temperaturze 20°C, wyrażoną w g/ml oblicza się według wzoru:

$$\rho^{20} = \frac{(m_1 - m_0 + A) \times \rho_w^{20}}{m_2 - m_0 + A}$$

gdzie:

m_0 — oznacza masę pustego piknometru w gramach,

m_1 — oznacza masę piknometru z badaną próbką w gramach,

m_2 — oznacza masę piknometru z wodą w gramach,

A — oznacza poprawkę na wazenie w powietrzu, która wynosi $0,0012 \times (m_2 - m_0)$, gdzie 0,0012 jest gęstością powietrza.

ρ_w^{20} — oznacza gęstość wody w temperaturze 20°C, która wynosi 0,9982 g/ml.

Zawartość alkoholu etylowego w % objętościowych odpowiadającą obliczonej gęstości próbki odczytuje się z Tablic Alkoholometrycznych. Wynikiem oznaczania zawartości alkoholu etylowego jest średnia arytmetyczna uzyskana z co najmniej dwóch równoległych

wykonanych pomiarów różniących się pomiędzy sobą nie więcej niż o 0,1 % obj.

III. Oznaczanie zawartości alkoholu etylowego przy użyciu elektronicznego analizatora gęstości

1. APARATURA

Do oznaczania zawartości alkoholu stosuje się elektroniczny analizator gęstości o dokładności pomiaru co najmniej 0,08 %, wyskalowany w procentach objętościowych.

2. WYKONANIE OZNACZANIA

Pomiaru dokonuje się przy użyciu elektronicznego analizatora gęstości w temperaturze 20°C, zgodnie z instrukcją obsługi. Odczytuje się zawartość alkoholu etylowego w procentach objętościowych.

3. OBLICZANIE WYNIKU

Wynikiem oznaczania zawartości alkoholu etylowego jest średnia arytmetyczna uzyskana co najmniej z dwóch równoległych wykonanych pomiarów, różniących się między sobą nie więcej niż o 0,08 % obj.

Załącznik nr 2

OCENA BARWY LUB KLAROWNOŚCI

Barwa i klarowność są oceniane wzrokowo przez porównanie próbki z wodą destylowaną na białym i czarnym tle.

1. PRZYGOTOWANIE PRÓBKII DO ANALIZY

Pobrana próbka alkoholu etylowego rolniczego jest przechowywana w hermetycznym pojemniku zabezpieczającym ją przed dostępem powietrza i wilgoci. Należy przestrzegać, aby zamknięcie pojemnika nie miało kontaktu z próbką, i nie stosować żadnych substancji uszczelniających to zamknięcie.

Przed przystąpieniem do wykonania analizy pobraną próbkę miesza się w celu jej ujednoczenia.

2. APARATURA

Do wykonania oceny barwy lub klarowności stosuje się cylindry wykonane z bezbarwnego szkła o wysokości co najmniej 40 cm.

3. WYKONANIE OZNACZANIA

Dwa szklane cylindry umieszcza się obok siebie na białym lub na czarnym tle. Następnie jeden cylinder napełnia się próbką do wysokości około 40 cm, a drugi — wodą do tej samej wysokości. Patrząc z góry na oba cylindry porównuje się barwę i klarowność próbki alkoholu etylowego rolniczego z barwą i klarownością wody.

4. OBLICZANIE WYNIKU

Badana próbka alkoholu etylowego rolniczego jest bezbarwna, gdy jej barwa jest identyczna z barwą wody destylowanej.

Badana próbka alkoholu etylowego rolniczego jest klarowna, jeżeli światło przechodzące przez próbkę nie ulega rozproszeniu, powodując jej opalizację.

POMIAR CZASU ODBARWIANIA ROZTWORU NADMANGANIANU(VII)POTASU (próba Langa)

Czas odbarwiania roztworu nadmanganianu(VII)potasu jest to czas liczony w minutach, potrzebny do zrównania barwy próbki z barwą wzorca, po dodaniu roztworu nadmanganianu(VII)potasu.

1. PRZYGOTOWANIE DO ANALIZY

Pobrana próbka alkoholu etylowego rolniczego jest przechowywana w hermetycznym pojemniku zabezpieczającym ją przed dostępem powietrza i wilgoci. Należy przestrzegać, aby zamknięcie pojemnika nie miało kontaktu z próbką, i nie stosować żadnych substancji uszczelniających to zamknięcie.

Przed przystąpieniem do wykonania analizy pobraną próbkę miesza się w celu jej ujednoczenia.

2. ODCZYNNIKI

Do oznaczania stosuje się następujące odczynniki chemiczne o czystości analitycznej:

- 1) roztwór nadmanganianu(VII)potasu o stężeniu 1 mmol/l, przygotowany bezpośrednio przed użyciem;
- 2) roztwór barwny A (czerwony), przygotowany w następujący sposób: w kolbie miarowej o pojemności 1000 ml rozpuszcza się 59,50 g chlorku kobaltu(II) ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) w roztworze kwasu chlorowodorowego sporządzonego z 25 ml kwasu chlorowodorowego o gęstości $\rho = 1,19 \text{ g/ml}$ i 975 ml wody, a następnie uzupełnia się do objętości 1000 ml roztworem kwasu;
- 3) roztwór barwny B (żółty), przygotowany w następujący sposób: w kolbie miarowej o pojemności 1000 ml rozpuszcza się 45,00 g chlorku żelaza(III) ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) w roztworze kwasu chlorowodorowego sporządzonego z 25 ml kwasu chlorowodorowego o gęstości $\rho = 1,19 \text{ g/ml}$ i 975 ml wody, a następnie uzupełnia się do objętości 1000 ml roztworem kwasu;
- 4) wzorcowy roztwór barwny, przygotowany w następujący sposób: do kolby miarowej o pojemności 100 ml odmierza się pipetą 13 ml roztworu A i 5,5 ml roztworu B, po czym uzupełnia do objętości 100 ml wodą o temperaturze 20°C.

Roztwory barwne A i B można przechowywać w temperaturze 4°C kilka miesięcy, natomiast wzorcowy roztwór barwny przygotowuje się bezpośrednio przed użyciem.

3. APARATURA

Do oznaczania stosuje się:

- 1) próbki Nesslera o pojemności 100 ml wykonane z przezroczystego, bezbarwnego szkła, z podziałką do 50 ml i korkiem z matowego szkła, lub próbki zwykłe, bezbarwne o średnicy około 20 mm;
- 2) pipety o pojemności: 1, 2, 5, 10 i 50 ml;
- 3) termometr o zakresie pomiarowym do 50°C z działką elementarną 0,1°C lub 0,2°C;
- 4) wagę analityczną;
- 5) łaźnię wodną z możliwością utrzymania temperatury $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$;
- 6) kolby miarowe o pojemności 100 i 1000 ml z doszlifowanymi korkami.

4. WYKONANIE OZNACZANIA

Do próbki Nesslera odmierza się 50 ml z próbki (w przypadku użycia zwykłej próbki odmierza się 10 ml). Probówki umieszcza się w łaźni wodnej o temperaturze 20°C. Następnie do próbki dodaje się 1 ml lub 5 ml (w zależności od ilości użytej próbki) roztworu nadmanganianu(VII)potasu, miesza się, odnotowuje czas i pozostawia w łaźni wodnej w temperaturze 20°C. Do drugiej próbki Nesslera odmierza się 50 ml wzorcowego roztworu barwnego, a w przypadku stosowania zwykłej próbki o takiej samej średnicy 10 ml wzorcowego roztworu barwnego. Obserwuje się zmianę barwy próbki i porównuje się ją z barwą wzorca na białym tle. Odnotowuje się czas, w jakim próbka osiągnęła tę samą barwę co roztwór wzorcowy.

5. OBLICZANIE WYNIKU

Jako wynik końcowy pomiaru podaje się liczony w minutach czas zrównania barwy badanej próbki z barwą wzorca.

Dla alkoholu etylowego rolniczego czas ten wynosi co najmniej 18 minut przy temperaturze 20°C.

6. POWTARZALNOŚĆ

Różnica czasu między dwoma oznaczeniami przeprowadzonymi jednocześnie lub w krótkim odstępie czasu przez tego samego analityka, na tej samej próbce i w takich samych warunkach, nie powinna przekraczać dwóch minut.

OZNACZANIE ZAWARTOŚCI ALDEHYDÓW

Zawartość aldehydów jest wyrażana jako aldehyd octowy.

Oznaczanie zawartości aldehydów polega na reakcji aldehydów z odczynnikiem Schiff'a i porównaniu intensywności zabarwienia związków kompleksowych powstałych w badanej próbce z zabarwieniem roztworów wzorcowych o znanej zawartości aldehydu octowego.

1. PRZYGOTOWANIE PRÓBKII DO ANALIZY

Próbka do analizy jest przechowywana w czystej kolbie zamkniętej doszlifowanym korkiem przemytym alkoholem lub korkiem zawiniętym w folię cynową lub aluminiową w warunkach zapewniających brak dostępu powietrza i wilgoci. Należy przestrzegać, aby zamknięcie pojemnika nie miało kontaktu z próbką, i nie stosować żadnych substancji uszczelniających to zamknięcie.

Przed przystąpieniem do wykonania analizy pobraną próbkę miesza się w celu jej ujednoczenia.

2. ODCZYNNIKI

Do oznaczania zawartości aldehydów stosuje się następujące odczynniki chemiczne o czystości analitycznej:

- 1) chlorowodorek p-rosaniliny (fuksyna zasadowa);
- 2) siarczan (IV) sodu lub bezwodny wodorosiarczan (IV) sodu;
- 3) kwas chlorowodorowy, gęstość $\rho_{20} = 1,19$ g/ml;
- 4) sproszkowany węgiel aktywny;
- 5) roztwór skrobi, przygotowany w następujący sposób: 1 g skrobi miesza się z 5 mg jodku rtęci (HgI_2 — środek konserwujący), następnie dodaje się niewielką ilość zimnej wody, miesza się i przenosi do kolby zawierającej 500 ml wrzącej wody; całość miesza się i gotuje przez 5 minut, po czym studzi się i przefiltrowuje;
- 6) 1-amino-etanol $\text{CH}_3\text{CH}(\text{NH}_2)\text{OH}$, oczyszczony i wysuszony, przygotowany w następujący sposób: 5 g 1-amino-etanolu rozpuszcza się w około 15 ml alkoholu etylowego 100 % obj.; następnie dodaje się około 50 ml suchego eteru etylowego i pozostawia na kilka godzin w lodówce; następnie odfiltrowuje się kryształy i przepłukuje suchym eterem etylowym; uzyskany oczyszczony 1-amino-etanol suszy się przez 3—4 godziny w eksykatorze pod zmniejszonym ciśnieniem nad kwasem siarkowym (VI). Jeżeli oczyszczony 1-amino-etanol nie ma białego koloru, należy powtórzyć proces rekrytalizacji;
- 7) roztwór jodu o stężeniu 0,05 mol/l;
- 8) odczynnik Schiff'a przygotowany w następujący sposób: w kolbie miarowej o pojemności 2000 ml

rozpuszcza się 5,0 g sproszkowanego chlorowodoru p-rosaniliny w 1000 ml gorącej wody i pozostawia się w łaźni wodnej do całkowitego rozpuszczenia. W ok. 200 ml wody rozpuszcza się 30 g siarczanu (IV) sodu (lub równoważną ilość wodorosiarczanu (IV) sodu) i dodaje do schłodzonego roztworu p-rosaniliny, i pozostawia na 10 minut; następnie dodaje się 60 ml kwasu chlorowodorowego; jeżeli roztwór jest bezbarwny lub wykazuje lekkie brązowe zabarwienie, uzupełnia się wodą do objętości 2000 ml; w przypadku gdy roztwór nie jest bezbarwny, przefiltrowuje się go z odrobiną aktywnego węgla na złożonym filtrze, a następnie uzupełnia wodą do objętości 2000 ml.

Dopuszcza się inne metody przygotowania odczynnika Schiff'a, pod warunkiem że podczas testu kontrolnego nie daje on reakcji barwnej z alkoholem etylowym bezaldehydowym i daje widoczne różowe zabarwienie z roztworem wzorcowym o zawartości 0,1 g aldehydu octowego w 1 hl spirytusu 100 % obj.

Odczynnik Schiff'a powinien być przygotowany co najmniej 14 dni przed użyciem. Zawartość wolnego SO_2 w odczynniku powinna wynosić od 2,8 do 6,0 mmol w 100 ml, a pH odczynnika powinno wynosić 1.

Oznaczanie wolnego SO_2 :

Do kolby stożkowej o pojemności 250 ml odmierza się 10 ml odczynnika Schiff'a i dodaje się 200 ml wody i 5 ml roztworu skrobi, a następnie miareczkuje się roztworem jodu.

Ilość wolnego SO_2 w odczynniku w milimolach wolnego SO_2 w 100 ml odczynnika oblicza się, dzieląc przez dwa użytą ilość mililitrów roztworu jodu.

Jeśli zawartość wolnego SO_2 jest mniejsza lub większa od wskazanego zakresu, należy podwyższyć ją przez dodanie obliczonej ilości pirosiarczyny sodowej (0,126 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3/100$ ml odczynnika na każdy brakujący mmol SO_2) lub obniżyć poprzez przepuszczanie przez odczynnik powietrza.

3. APARATURA

Do oznaczania zawartości aldehydów stosuje się:

- 1) próbki kolorymetryczne o pojemności 20 ml zaopatrzone w korek z matowego szkła;
- 2) pipety o pojemności: 1, 2, 3, 5, 10 ml;
- 3) łaźnię wodną z możliwością utrzymania temperatury $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$;
- 4) spektrofotometr UV-VIS, umożliwiający oznaczanie absorbancji roztworów przy długości fali $\lambda = 546$ nm z kuwetami o długości drogi optycznej 50 mm.

4. WYKONANIE OZNACZANIA

Zawartość alkoholu etylowego rolniczego w próbce powinna wynosić co najmniej 90 % obj. Jeżeli jest go mniej, zawartość tę zwiększa się przez dodanie odpowiedniej ilości alkoholu etylowego bezaldehydowego.

Przygotowanie roboczych roztworów wzorcowych

W kolbie miarowej o pojemności 1 000 ml rozpuszcza się 1,3860 g (odważonego na wadze analitycznej) oczyszczonego i osuszonego 1-amino-etanolu w alkoholu etylowym bezaldehydowym i uzupełnia do objętości 1 000 ml. Przygotowany w ten sposób 1 litr roztworu wzorcowego zawiera 1 g aldehydu octowego.

Następnie przygotowuje się poprzez odpowiednie rozcieńczenie roztworu wzorcowego (w dwóch seriach) po 10 roztworów wzorcowych zawierających od 0,1 do 1,0 mg aldehydu octowego w 100 ml roztworu.

Wyznaczanie krzywej wzorcowej dla roboczych roztworów wzorcowych

Do próbek kolorymetrycznych odmierza się pipetą po 5 ml roboczych roztworów wzorcowych; w tym samym czasie do jednej z próbek odmierza się zamiast roboczego roztworu wzorcowego 5 ml alkoholu etylowego bezaldehydowego (96 % obj.). Następnie do każdej próbki dodaje się po 5 ml wody, zawartość próbek miesza się i umieszcza w łaźni wodnej o temperaturze 20°C. Po ustaleniu się temperatury w próbkach dodaje się 5 ml odczynnika Schiff'a. Probówki zamyka się korkiem, miesza i pozostawia w łaźni wodnej. Po 20 minutach od dodania odczynnika Schiff'a zawartość poszczególnych próbek przelewa się do kuwet spektrofotometrycznych i oznacza się wartość absorbancji roztworów przy długości fali $\lambda = 546$ nm.

Następnie wykreśla się krzywą wzorcową dla roboczych roztworów wzorcowych aldehydu octowego w układzie $A = f(c)$, gdzie: A — oznacza wartość absor-

bancji, c — stężenie aldehydu octowego w roboczym roztworze wzorcowym w g/hl.

Oznaczanie zawartości aldehydów w próbce

Do próbki kolorymetrycznej odmierza się pipetą 5 ml z badanej próbki. Następnie dodaje się 5 ml wody, zawartość próbki miesza się i umieszcza w łaźni wodnej o temperaturze 20°C. Po ustaleniu temperatury w próbce, dodaje się 5 ml odczynnika Schiff'a. Probówkę zamyka się korkiem, miesza i pozostawia w łaźni wodnej. Po 20 minutach od dodania odczynnika Schiff'a zawartość próbki przelewa się do kuwety spektrofotometrycznej i oznacza się wartość absorbancji roztworu przy długości fali $\lambda = 546$ nm. Następnie z krzywej wzorcowej odczytuje się dla zmierzonej wartości absorbancji stężenie aldehydu octowego w g/hl alkoholu etylowego 100 % obj.

5. OBLICZANIE WYNIKU

Zawartość aldehydów w badanej (A_z) próbce, w g/hl alkoholu etylowego 100 % obj., wyrażoną jako aldehyd octowy, oblicza się według wzoru:

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

gdzie:

A — oznacza zawartość aldehydu octowego w próbce, odczytaną z krzywej wzorcowej w g/hl,

T — oznacza zawartość alkoholu etylowego w próbce w procentach objętościowych.

6. POWTARZALNOŚĆ

Różnica między wynikami dwóch oznaczeń przeprowadzonych jednocześnie lub w krótkim odstępie czasu, przez tego samego analityka, na tej samej próbce, w takich samych warunkach nie powinna przekraczać 0,1 g aldehydu na hektolitry alkoholu etylowego 100 % obj.

Załącznik nr 5

OZNACZANIE KWASOWOŚCI CAŁKOWITEJ

Kwasowość całkowita jest wyrażana jako kwas octowy.

Metoda oznaczania kwasowości całkowitej polega na zmiareczkowaniu mianowanym roztworem wodorotlenku sodu odgazowanej próbki wobec indygo, karminu i czerwieni fenylowej jako wskaźników.

1. PRZYGOTOWANIE PRÓBKII DO ANALIZY

Próbka do analizy jest przechowywana w czystej kolbie zamkniętej doszlifowanym korkiem przemytym alkoholem lub korkiem zawiniętym w folię cynową lub

alumiiniową, w warunkach zapewniających brak dostępu powietrza i wilgoci. Należy przestrzegać, aby zamknięcie pojemnika nie miało kontaktu z próbką, i nie stosować żadnych substancji uszczelniających to zamknięcie.

Przed przystąpieniem do wykonania analizy pobraną próbkę miesza się w celu jej ujednoczenia.

2. ODCZYNNIKI

Do oznaczania kwasowości całkowitej stosuje się następujące odczynniki chemiczne o czystości analitycznej:

- 1) roztwory wodorotlenku sodowego 0,01 mol/l i 0,1 mol/l, przechowywane w sposób ograniczający do minimum kontakt z dwutlenkiem węgla;
- 2) roztwór indygokarminu (A), przygotowany w następujący sposób: 0,2 g indygokarminu rozpuszcza się w 40 ml wody i dopełnia alkoholem etylowym do 100 g;
- 3) roztwór czerwieni fenolowej (B), przygotowany w następujący sposób: 0,2 g czerwieni fenolowej rozpuszcza się w 6 ml roztworu wodorotlenku sodu 0,1 mol/l i dopełnia wodą do objętości 100 ml w kolbie miarowej.

3. APARATURA

Do oznaczania kwasowości całkowitej stosuje się:

- 1) biuretę lub automatyczne urządzenie do miareczkowania;
- 2) pipetę o pojemności 100 ml;
- 3) kolbę kulistą o pojemności 250 ml z doszlifowanym korkiem z matowego szkła;
- 4) chłodnicę zwrotną z doszlifowanym korkiem z matowego szkła.

4. WYKONANIE OZNACZANIA

Do kolby kulistej odmierza się pipetą 100 ml z próbki, następnie dodaje się kilka kawałków porcelany. Kol-

bę z roztworem umieszcza się w łaźni wodnej i doprowadza do wrzenia pod chłodnicą zwrotną. Do gorącego roztworu dodaje się po jednej kropli roztworów wskaźnikowych A i B. Następnie miareczkuje się roztworem wodorotlenku sodowego 0,01 mol/l do momentu pojawienia się oznak zmiany barwy z zielono-żółtej na fioletową.

5. OBLICZANIE WYNIKU

Kwasowość ogólną (K_o) wyrażoną w postaci kwasu octowego, w g/hl alkoholu etylowego 100 % obj., oblicza się według wzoru:

$$K_o = \frac{V \times 60}{T}$$

gdzie:

V — oznacza ilość ml roztworu wodorotlenku sodowego 0,01 mol/l, użytą podczas miareczkowania,

T — oznacza zawartość alkoholu etylowego w próbce, w procentach objętościowych.

6. POWTARZALNOŚĆ

Różnica między wynikami dwóch oznaczeń przeprowadzonych jednocześnie bądź w krótkim odstępie czasu, przez tego samego analityka, na tej samej próbce i w takich samych warunkach, nie powinna przekraczać 0,1 g/hl alkoholu etylowego 100 % obj.

Załącznik nr 6

OZNACZANIE ZAWARTOŚCI ESTRÓW

Zawartość estrów jest wyrażana jako octan etylu.

Metoda oznaczania zawartości estrów polega na pomiarze absorbancji przy długości fali $\lambda = 525$ nm kompleksów barwnych otrzymanych w wyniku reakcji kwasów hydroksyloaminowych, powstałych podczas reakcji estrów z chlorowodorkiem hydroksyloaminy w roztworach alkalicznych z jonami żelazowymi w roztworach kwaśnych.

1. PRZYGOTOWANIE PRÓBKII DO ANALIZY

Próbka do analizy jest przechowywana w czystej kolbie zamkniętej doszlifowanym korkiem przemytym alkoholem lub korkiem zawiniętym w folię cynową lub aluminiową, w warunkach zapewniających brak dostępu powietrza i wilgoci. Należy przestrzegać, aby zamknięcie pojemnika nie miało kontaktu z próbką i nie stosować żadnych substancji uszczelniających to zamknięcie.

Przed przystąpieniem do wykonania analizy pobraną próbką miesza się w celu jej ujednoczenia.

2. ODCZYNNIKI

Do oznaczania zawartości estrów stosuje się następujące odczynniki chemiczne o czystości analitycznej:

- 1) kwas chlorowodorowy 4 mol/l;
- 2) roztwór chlorku żelaza (III) 0,37 mol/l w kwasie chlorowodorowym 1 mol/l;
- 3) chlorowodorek hydroksyloaminy 2 mol/l, przechowywany w lodówce;
- 4) roztwór wodorotlenku sodu 3,5 mol/l;
- 5) wzorcowe roztwory octanu etylu zawierające: 0,0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 i 1,0 g octanu etylu na hektolitr wolnego od estrów alkoholu etylowego 96 % obj.

3. APARATURA

Do oznaczania zawartości estrów stosuje się:

- 1) spektrofotometr UV-VIS, umożliwiający oznaczanie absorbancji roztworów przy długości fali $\lambda = 525$ nm;

- 2) kuwety spektrofotometryczne o długości drogi optycznej 50 mm;
- 3) łaźnię wodną z możliwością utrzymania temperatury $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$;
- 4) próbówki kolorymetryczne o pojemności 20 ml wykonane z matowego szkła z doszlifowanymi korkami.

4. WYKONANIE OZNACZANIA

Przygotowanie roboczych roztworów wzorcowych

Na wadze analitycznej odważa się 1,0 g octanu etylu. Odważony octan etylu wsypuje się do kolby miarowej o pojemności 1 000 ml zawierającej alkohol etylowy wolny od estrów i uzupełnia do objętości 1 000 ml. Przygotowany w ten sposób 1 litr roztworu wzorcowego zawiera 1 g octanu etylowego.

Następnie przygotowuje się, przez rozcieńczenie roztworu wzorcowego (w dwóch seriach) po 10 roboczych roztworów wzorcowych zawierających od 0,1 do 2,0 mg octanu etylu w 100 ml.

Wyznaczenie krzywej wzorcowej dla roboczych roztworów wzorcowych

Do próbek kolorymetrycznych odmierza się po 10 ml roboczych roztworów wzorcowych i dodaje 2 ml roztworu chlorowodoru hydroksyloaminy. Jednocześnie przygotowuje się próbę ślepą, używając zamiast roboczego roztworu wzorcowego alkoholu etylowego 96 % obj. wolnego od estrów. Następnie do każdej próbki dodaje się po 2 ml wodorotlenku sodu, próbki zamyka się korkami i dokładnie wstrząsa. Probówki umieszcza się w łaźni wodnej o temperaturze 20°C . Po 15 minutach dodaje się do każdej próbki 2 ml kwasu chlorowodorowego i wstrząsa. Następnie dodaje się 2 ml roztworu chlorku żelazowego i dokładnie miesza.

Zawartość próbek przelewa się do kuwet spektrofotometrycznych i oznacza absorbancją przy długości fali $\lambda = 525 \text{ nm}$, stosując ślepą próbę jako odnośnik.

Następnie wykreśla się krzywą wzorcową w układzie $A = f(c)$, gdzie A — oznacza wartość absorbancji, c — stężenie estrów w roboczym roztworze wzorcowym w g/hl.

Oznaczanie zawartości estrów w badanej próbce

Do próbki kolorymetrycznej odmierza się po 10 ml z badanej próbki i dodaje 2 ml roztworu wodorochloru hydroksyloaminy. Następnie do próbki dodaje się 2 ml wodorotlenku sodu, próbówkę zamyka się korkiem i wstrząsa. Probówkę umieszcza się w łaźni wodnej o temperaturze 20°C . Po 15 minutach dodaje się 2 ml kwasu chlorowodorowego i wstrząsa się. Następnie dodaje się 2 ml roztworu chlorku żelazowego i dokładnie miesza.

Zawartość próbki przelewa się do kuwety spektrofotometrycznej i oznacza absorbancję przy długości fali $\lambda = 525 \text{ nm}$.

5. OBLICZANIE WYNIKU

Zawartość estrów (E), w g/hl w przeliczeniu na octan etylu oblicza się według wzoru:

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

gdzie A — oznacza zawartość estrów odczytaną z krzywej wzorcowej w g/hl,

T — oznacza zawartość alkoholu etylowego w próbce w procentach objętościowych.

6. POWTARZALNOŚĆ

Różnica między wynikami dwóch oznaczeń, przeprowadzonych jednocześnie lub w krótkim odstępie czasu przez tego samego analityka, na tej samej próbce i w takich samych warunkach, nie powinna przekraczać 0,1 g estrów wyrażanej jako octan etylu, na hektolitry alkoholu etylowego 100 % obj.

Załącznik nr 7

OZNACZANIE ZAWARTOŚCI LOTNYCH ZASAD AZOTOWYCH

Lotne zasady azotowe są wyrażane jako azot w alkoholu etylowym rolniczym. Metoda oznaczania lotnych zasad azotowych polega na uwolnieniu związków azotowych mikrodyfuzyjną techniką Conway'a. Uwolnione związki azotowe w postaci amoniaku miareczkuje się mianowanym roztworem kwasu chlorowodorowego.

1. PRZYGOTOWANIE PRÓBKII DO ANALIZY

Próbka do analizy jest przechowywana w czystej kolbie zamkniętej doszlifowanym korkiem przemytym alkoholem lub korkiem zawiniętym w folię cynową lub aluminiową, w warunkach zapewniających brak dostę-

pu powietrza i wilgoci. Należy przestrzegać, aby zamknięcie pojemnika nie miało kontaktu z próbką, i nie stosować żadnych substancji uszczelniających to zamknięcie.

Przed przystąpieniem do wykonania analizy pobraną próbkę miesza się w celu jej ujednoczenia.

2. ODCZYNNIKI

Do oznaczania zawartości lotnych zasad azotowych stosuje się następujące odczynniki chemiczne o czystości analitycznej:

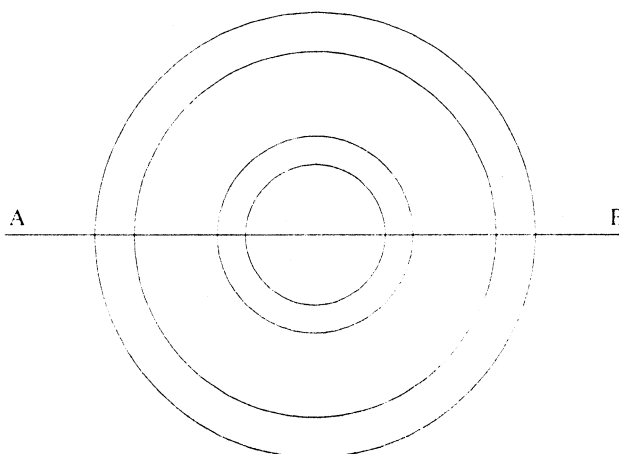
- 1) kwas siarkowy (VI) 1 mol/l;
- 2) roztwór wskaźnikowy kwasu bornego, przygotowany w następujący sposób: 10 g kwasu bornego, 8 mg zieleni bromokrezolowej oraz 4 mg czerwieni metylowej rozpuszcza się w 30 % obj. propan-2-olu oraz dopełnia 30 % objętościowym propan-2-olem do objętości 1 000 ml;
- 3) roztwór wodorotlenku potasu 500 g/l wolny od dwutlenku węgla;
- 4) kwas chlorowodorowy 0,02 mol/l.

3. APARATURA

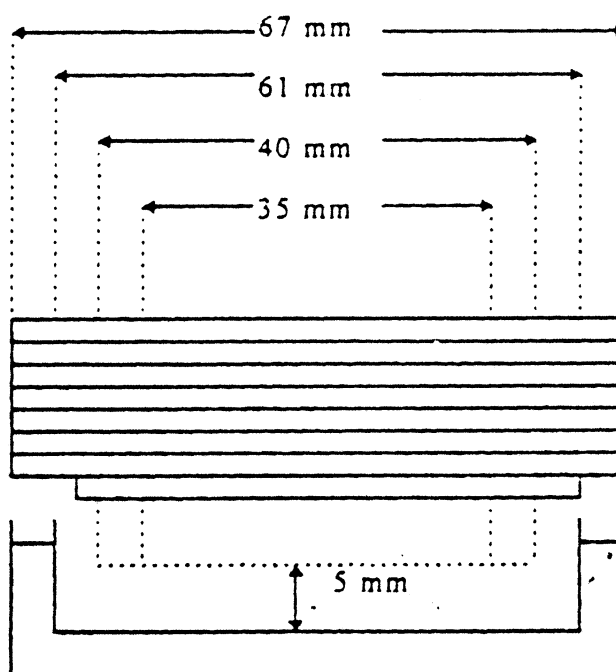
Do oznaczania zawartości lotnych zasad azotowych stosuje się:

- 1) parownicę o pojemności umożliwiającej umieszczenie w niej 50 ml próbki;
- 2) łaźnię wodną;
- 3) mikrobiuretę o pojemności od 2 do 5 ml, z podziałką co 0,01 ml;
- 4) naczynie Conway'a ze ściśle dopasowaną pokrywą; opis i zalecane wymiary są przedstawione na schemacie.

Schemat naczynia Conway'a



Widok naczynia z góry



Przekrój pionowy wzdłuż linii A-B

4. WYKONANIE OZNACZANIA

Do szklanej parownicy odmierza się pipetą 50 ml z próbki (o zawartości azotu ocenianej na mniejszą niż 0,2 g/hl próbki — odmierza się 200 ml próbki), następnie dodaje się 1 ml kwasu siarkowego (VI), umieszcza parownicę w łaźni wodnej i odparowuje tę próbkę do momentu, gdy pozostanie z niej około 1 ml.

Do wewnętrznej komory naczynia Conway'a odmierza się pipetą 1 ml wskaźnikowego roztworu kwasu borowego. Następnie zawartość parownicy przenosi się ilościowo (popłukując niewielką ilością wody) na jedną stronę zewnętrznej komory naczynia Conway'a, zaś na drugą stronę zewnętrznej komory naczynia Conway'a odmierza się 1 ml roztworu wodorotlenku potasowego, a następnie niezwłocznie po nalaniu naczynie Conway'a nakrywa się szczelnie.

Oba roztwory znajdujące się w komorze zewnętrznej miesza się, uważając, aby płyn nie przeciekał z jednej komory do drugiej, następnie pozostawia się na dwie godziny. Wydzielony w komorze wewnętrznej amoniak miareczkuje się przy pomocy roztworu kwasu chlorowodorowego. Ilość użytego kwasu powinna wynosić od 0,2 do 0,9 ml. Jednocześnie wykonuje się ślepą próbę, zastępując 50 ml próbki taką samą ilością wody.

5. OBLICZANIE WYNIKU

Zawartość lotnych zasad azotowych (L_z), w g/hl alkoholu etylowego 100 % obj., wyrażoną w postaci azotu, oblicza się według wzoru:

$$L_z = \frac{(V_1 - V_2) \times 2800}{E \times T}$$

gdzie:

V_1 — oznacza ilość ml kwasu chlorowodorowego użytego do zobojętnienia próbki podczas miareczkowania próbki,

V_2 — oznacza ilość ml kwasu chlorowodorowego użytego w ślepej próbie,

T — oznacza zawartość alkoholu etylowego w próbce w procentach objętościowych,

E — oznacza ilość użytej próbki w mililitrach

6. POWTARZALNOŚĆ

Różnica między wynikami dwóch oznaczeń, przeprowadzonych jednocześnie lub w krótkim odstępie czasu, przez tego samego analityka, na tej samej próbce i w takich samych warunkach, nie może przekraczać 0,05 g/hl alkoholu etylowego 100 % obj.

Załącznik nr 8

OZNACZANIE ZAWARTOŚCI SUCHEJ POZOSTAŁOŚCI PO ODPAROWANIU

Oznaczanie zawartości suchej pozostałości po jej odparowaniu polega na odparowaniu badanej próbki w łaźni wodnej i wysuszeniu pozostałości w suszarce w temperaturze $103 \pm 2^\circ\text{C}$.

1. PRZYGOTOWANIE PRÓBKII DO ANALIZY

Próbka do analizy jest przechowywana w czystej kolbie zamkniętej doszlifowanym korkiem przemytym alkoholem lub korkiem zawiniętym w folię cynową lub aluminiową, w warunkach zapewniających brak dostępu powietrza i wilgoci. Należy przestrzegać, aby zamknięcie pojemnika nie miało kontaktu z próbką, i nie stosować żadnych substancji uszczelniających to zamknięcie.

Przed przystąpieniem do wykonania analizy pobraną próbkę miesza się w celu jej ujednoczenia.

2. APARATURA

Do oznaczania zawartości suchej pozostałości po jej odparowaniu stosuje się:

- 1) łaźnię wodną umożliwiającą osiągnięcie temperatury wrzenia;
- 2) parownicę;
- 3) eksykator ze środkiem suszącym zawierającym świeżo aktywowany żel krzemionkowy (lub inny podobny środek suszący) ze wskaźnikiem wilgotności;
- 4) wagę analityczną;
- 5) suszarkę laboratoryjną o regulowanej temperaturze $103 \pm 2^\circ\text{C}$.

3. WYKONANIE OZNACZANIA

Czystą suchą parownicę waży się z dokładnością do 0,1 mg z próbki. Do parownicy odmierza się pipetą od 100 do 250 ml. Następnie parownicę z próbką umieszcza się we wrzącej łaźni wodnej i pozostawia ją do odparowania próbki.

Odparowaną próbkę umieszcza się na 30 minut w suszarce w temperaturze $103 \pm 2^\circ\text{C}$, a następnie przenosi się do eksykatora i pozostawia do schłodzenia na 30 minut. Po ostudzeniu parownicę wraz z pozostałością waży się z dokładnością do 0,1 mg.

4. OBLICZANIE WYNIKU

Zawartość suchej pozostałości po odparowaniu (S_m) w g/hl alkoholu etylowego 100 % obj. oblicza się według wzoru:

$$S_m = \frac{(M_1 - M_0) \times 10^7}{V_0 \times T}$$

gdzie:

M_0 — oznacza masę (g) suchej czystej parownicy,

M_1 — oznacza masę (g) parownicy z pozostałością po suszeniu,

V_0 — oznacza objętość (ml) próbki użytej do suszenia,

T — oznacza zawartość alkoholu etylowego w próbce w procentach objętościowych.

5. POWTARZALNOŚĆ

Różnica między wynikami dwóch oznaczeń, przeprowadzonych jednocześnie lub w krótkim odstępie czasu, przez tego samego analityka, na tej samej próbce i takich samych warunkach, nie może przekraczać 0,5 g/hl alkoholu etylowego 100 % obj.

Załącznik nr 9

PRÓBA NA OBECNOŚĆ FURFURALU

Metoda polega na reakcji furfuralu z aniliną w środowisku kwaśnym. Powstanie łośosiowo-różowego zabarwienia wskazuje na obecność furfuralu.

1. PRZYGOTOWANIE PRÓBKII DO ANALIZY

Próbka do analizy jest przechowywana w czystej kolbie zamkniętej doszlifowanym korkiem przemytym alkoholem lub korkiem zawiniętym w folię cynową lub aluminiową, w warunkach zapewniających brak dostępu powietrza i wilgoci. Należy przestrzegać, aby zamknięcie pojemnika nie miało kontaktu z próbką, i nie stosować żadnych substancji uszczelniających to zamknięcie.

Przed przystąpieniem do wykonania analizy pobraną próbkę miesza się w celu jej ujednoczenia.

2. ODCZYNNIKI

Do wykonania próby na obecność furfuralu stosuje się następujące odczynniki chemiczne o czystości analitycznej:

- 1) anilinę świeżo destylowaną;
- 2) kwas octowy lodowaty.

3. APARATURA

Do wykonania próby na obecność furfuralu stosuje się próbówki z doszlifowanymi szklanymi korkami.

4. WYKONANIE OZNACZANIA

Do próbki odmierza się pipetą 10 ml z próbki, następnie dodaje się 0,5 ml aniliny i 2 ml kwasu octowego lodowatego. Probówkę wstrząsa się w celu wymieszania jej zawartości.

5. INTERPRETACJA WYNIKU

Jeżeli czas pojawienia się zabarwienia łośosiowo-różowego w próbówce jest krótszy niż 20 minut, test ma wynik pozytywny i próbka zawiera furfural.

6. POWTARZALNOŚĆ

Wyniki dwóch testów na obecność furfuralu, przeprowadzonych jednocześnie lub w krótkim odstępie czasu przez tego samego analityka, na tej samej próbce i w takich samych warunkach powinny być identyczne.

TEST UV

Test UV polega na pomiarze absorbancji próbki w zakresie długości fal od 220 do 270 nm w stosunku do określonej substancji odniesienia o wysokiej czystości optycznej.

1. PRZYGOTOWANIE PRÓBKII DO ANALIZY

Próbka do analizy jest przechowywana w czystej kolbie zamkniętej doszlifowanym korkiem przemytym alkoholem lub korkiem zawiniętym w folię cynową lub aluminiową, w warunkach zapewniających brak dostępu powietrza i wilgoci. Należy przestrzegać, aby zamknięcie pojemnika nie miało kontaktu z próbką i nie stosować żadnych substancji uszczelniających to zamknięcie.

Przed przystąpieniem do wykonania analizy pobraną próbkę miesza się w celu jej ujednoczenia.

2. ODCZYNNIKI

Do wykonania testu UV stosuje się spektralnie czysty N-heksan.

3. APARATURA

Do wykonania testu UV stosuje się:

- 1) spektrofotometr UV-VIS, umożliwiający pomiar absorbancji przy długości fali od 220 do 270 nm;
- 2) kuwety kwarcowe o długości drogi optycznej 10 mm i tej samej transmisji widma.

4. WYKONANIE OZNACZANIA

Jedną kuwetę przepłukuje się n-heksanem, a następnie napełnia n-heksanem, drugą kuwetę przepłukuje się próbką i napełnia badaną próbką. Ścianki kuwety oczyszcza się z zewnątrz i wstawia do spektrofotometru. Mierzy się wartość absorbancji badanej próbki w porównaniu do n-heksanu przy długości fal od 220, 230, 240, 270 nm. Następnie wykreśla się krzywą w układzie $A = f(\lambda)$, gdzie A oznacza wartość absorbancji, λ — długość fali.

5. OBLICZANIE WYNIKU

Wielkości absorbancji otrzymane dla 220, 230, 240, 270 nm nie mogą przekroczyć następujących wartości: 0,02; 0,08; 0,18 i 0,3.

Krzywa absorbancji powinna mieć przebieg płaski i regularny.

OZNACZANIE ZAWARTOŚCI IZOTOPU WĘGLA ¹⁴C

Oznaczanie zawartości izotopu węgla ¹⁴C umożliwia odróżnianie alkoholu syntetycznego od alkoholu etylowego rolniczego.

Naturalna zawartość izotopu węgla ¹⁴C w atmosferze (wartość odniesienia), asymilowana przez roślinność jest wartością zmienną. Wartość tę oznacza się w stosunku do alkoholu etylowego rolniczego z surowca pochodzącego z ostatniego sezonu wegetacyjnego.

Zawartość izotopu węgla ¹⁴C próbek alkoholowych jest wyznaczana bezpośrednio za pomocą cieczowego licznika scyntylicyjnego.

1. PRZYGOTOWANIE PRÓBKII DO ANALIZY

Próbka do analizy jest przechowywana w czystej kolbie zamkniętej doszlifowanym korkiem przemytym alkoholem lub korkiem zawiniętym w folię cynową lub

aluminiową, w warunkach zapewniających brak dostępu powietrza i wilgoci. Należy przestrzegać, aby zamknięcie pojemnika nie miało kontaktu z próbką, i nie stosować żadnych substancji uszczelniających to zamknięcie.

Przed przystąpieniem do wykonania analizy pobraną próbkę miesza się w celu jej ujednoczenia.

Zawartość alkoholu etylowego rolniczego w badanej próbce powinna wynosić co najmniej 85 % obj., próbka jest wolna od zanieczyszczeń, które absorbują przy długościach fal mniejszych niż 450 nm. Dopuszcza się niewielkie pozostałości estrów i aldehydów.

2. ODCZYNNIKI

Do oznaczania zawartości izotopu węgla ¹⁴C stosuje się:

- 1) toluen scyntylacyjny zawierający 5 g 2,5-dwufenyloaksozol (PPO) i 0,5 g p-bis-4-metylo-5-fenyloaksozoliol(2)-benzen (dwumetylo-POPOP) w 1 litrze toluenu o czystości analitycznej, przy czym dopuszcza się użycie gotowych, handlowych odczynników, o tym samym składzie;
- 2) wzorzec izotopu węgla ^{14}C ; ^{14}C n-heksadekan o aktywności około 1×10^6 dpm/g (około $1,67 \times 10^4$ cBq/g) przy gwarantowanej dokładności oznaczania tej aktywności wynoszącej $\pm 2\%$;
- 3) alkohol etylowy rolniczy bez izotopu węgla ^{14}C , tj. alkohol syntetyczny z surowców kopalnych zawierający co najmniej 85 % masy alkoholu etylowego, do oznaczania tła;
- 4) alkohol etylowy rolniczy zawierający co najmniej 85 % masy alkoholu etylowego, stanowiący materiał odniesienia.

3. APARATURA

Do oznaczania zawartości izotopu węgla ^{14}C stosuje się:

- 1) wielokanałowy scyntylacyjny spektrofotometr cieczowy z procesorem i automatycznym wzorcowaniem zewnętrznym oraz odczytem zewnętrznego wskaźnika wzorzec/kanał (standardowa konstrukcja: trzy kanały metrowe oraz dwa wzorcowe kanały zewnętrzne);
- 2) niskopotasowe kuwety nadające się do spektrofotometru, z ciemnymi nakrętkami śrubowymi zawierającymi wkładki polietylenowe;
- 3) pipety pomiarowe o pojemności 10 ml;
- 4) automatyczny dozownik o pojemności 10 ml;
- 5) kolbę kulistą o pojemności 250 ml z korkiem z matowego szkła;
- 6) aparat do destylacji alkoholowej z płaszczem grzejącym;
- 7) strzykawkę mikrolitrową o pojemności 50 μl ;
- 8) lejek do piknometrów, piknometry o pojemności 25 ml i 50 ml;
- 9) termostat ze stabilizacją temperatury $\pm 0,01^\circ\text{C}$;
- 10) Tablice Alkoholometryczne.

4. WYKONANIE OZNACZANIA

Uruchomienie sprzętu

Sprzęt ustawia się zgodnie z instrukcją producenta. Optymalne warunki pomiaru uzyskuje się wtedy, gdy wartość E/B — wskaźnik jakości, ma wartość maksymalną,

gdzie:

E — oznacza skuteczność,

B — oznacza tło.

Optymalizowane są jedynie dwa kanały metrowe. Trzeci jest pozostawiony otwarty dla celów kontrolnych.

Wybór kuwet

Kuwety napełnia się 10 ml syntetycznego alkoholu etylowego rolniczego bez zawartości ^{14}C oraz 10 ml toluenu scyntylacyjnego. Dokonuje się pomiaru dla każdej z kuwet. Czas pomiaru wynosi co najmniej 2×100 minut. Odrzuca się te kuwety, których tła różnią się od średniej o więcej niż $\pm 1\%$. Używa się wyłącznie kuwet nowych pochodzących z tej samej partii towaru.

Oznaczanie zewnętrznego stosunku wzorzec/kanał (ESCR)

Podczas procesu ustawiania kanałów, po oznaczeniu skuteczności, oznacza się ESCR za pomocą programu komputerowego. Używany wzorzec zewnętrzny to ^{137}Cez , który jest fabrycznie wbudowany przez producenta.

Przygotowanie próbek

Dopuszcza się wykonywanie pomiaru próbek o zawartości co najmniej 85 % masowych, wolnych od zanieczyszczeń, które absorbują przy długościach fal mniejszych niż 450 nm. Po odrzuceniu pierwszych kilku ml próbka jest destylowana bezpośrednio do piknometru, po czym metodą piknometryczną oznacza się zawartość alkoholu w próbce. Zawartości alkoholu odczytuje się z Tablic Alkoholometrycznych.

Wykonanie pomiaru za pomocą wzorca zewnętrznego

Odmierza się pipetą 10 ml z każdej próbki do wybranej kuwety o sprawdzonym tle, po czym za pomocą automatycznego dozownika dodaje się 10 ml toluenu scyntylacyjnego. Próbki w kuwetach są mieszane ruchami obrotowymi w taki sposób, by nie dopuścić do nawilżania przez ciecz wkładki polietylenowej w tle.

Aby sprawdzić roczną wartość izotopu węgla ^{14}C przygotowuje się duplikat alkoholu etylowego fermentacyjnego otrzymanego z surowców pochodzących z ostatniego sezonu wegetacyjnego, następnie zawartość kuwety miesza się z wewnętrznym wzorcem.

Próbki kontrolne i próbki tła umieszcza się na początku szeregu pomiarowego. Każdy z nich powinien zawierać nie więcej niż 10 próbek do analizy. Całkowity czas pomiaru jednej próbki wynosi co najmniej 2×100 minut, przy czym poszczególne próbki mierzy się etapami po 100 minut w celu wyeliminowania błędu (jeden cykl odpowiada przedziałowi czasu 100 minut na próbkę).

Próbki tła i próbki kontrolne powinny być przygotowywane co cztery tygodnie.

W przypadku próbek o słabej absorpcji (ESCR około 1,8) wartość ta ma jedynie nieznaczny wpływ na skuteczność analizy. Jeżeli zmiana mieści się w granicach + 5 %, można spodziewać się podobnej skuteczności. W przypadku próbek o silniejszej absorpcji, takich jak alkohole etylowe rolnicze denaturowane, skuteczność można ustalić za pomocą korekcyjnego wykresu wygaszania. W przypadku braku programu komputerowego używa się wzorca wewnętrznego w celu uzyskania wyników.

Pomiar próbek przy pomocy wewnętrznego wzorca heksadekanu ^{14}C

Próbki kontrolne i próbki tła (alkohol fermentacyjny i syntetyczny) oraz materiał nieznany są poddawane pomiarom jako duplikaty. Jedna próbka duplikatu przygotowana jest w nieselektywnej kuwecie, a jako wzorzec wewnętrzny dodaje się dokładnie odmierzoną ilość (30 μl) heksadekanu ^{14}C o dodatkowej aktywności około 26 269 dpm/g C (około 43 782 cBq/g C). Przygotowania próbek i czasu pomiaru pozostałych próbek dokonuje się w sposób, o którym mowa w pkt 2. Czas pomiaru próbek ze wzorcem wewnętrznym można ograniczyć do około pięciu minut poprzez wstępne ustawienie na 105 impulsów. Do serii pomiarowej używa się jednego duplikatu z każdej próbki kontrolnej i próbki tła. Są one umieszczane na początku szeregu pomiarowego. Aby zapobiec zanieczyszczeniom podczas pomiaru z wzorcem wewnętrznym, próbki należy przetrzymać z dala od miejsca przygotowywania i pomiaru próbek do analizy. Po dokonaniu pomiaru kuwety sprawdzone pod względem tła mogą być użyte ponownie. Wyrzuca się nakrętki i kuwety zawierające wzorzec wewnętrzny.

5. OBLICZANIE WYNIKU

Jednostką aktywności substancji radioaktywnej jest bekerel (Bq).

Wskaźnik radioaktywności właściwej wyrażony w bekerelach w stosunku do jednego grama węgla (Bq/g C).

Dopuszcza się wyrażanie wyniku w centybekerealach (cBq/g C).

Wskaźnik radioaktywności właściwej oblicza się według wzorów:

1) w przypadku zastosowania wzorca zewnętrznego:

$$\text{cBq/gC} = \frac{(\text{cpm}_{\text{pr}} - \text{cpm}_{\text{NE}}) \times 1,918 \times 100}{V \times F \times Z \times 60}$$

2) w przypadku zastosowania wzorca wewnętrznego:

$$\text{cBq/gC} = \frac{(\text{cpm}_{\text{pr}} - \text{cpm}_{\text{NE}}) \times \text{dpm}_{\text{IS}} \times 1,918 \times 100}{(\text{cpm}_{\text{IS}} - \text{cpm}_{\text{pr}}) \times V \times F \times 60}$$

gdzie:

cpm_{pr} — oznacza średni wskaźnik licznika podczas całego czasu pomiaru próbki,

cpm_{NE} — oznacza średni wskaźnik impulsów tła obliczony w ten sam sposób,

cpm_{IS} — oznacza ilość dodatkową dodanego wzorca wewnętrznego (radioaktywność wzorcowania dpm),

dpm_{IS} — oznacza ilość dodanego wzorca wewnętrznego (radioaktywność wzorcowania dpm),

V — oznacza objętość w ml użytych próbek,

F — oznacza zawartość w gramach czystego alkoholu na ml odpowiadającą jego stężeniu,

Z — oznacza skuteczność odpowiadającą wartości ESCR 918 = ilość gramów alkoholu na gram węgla.

6. POWTARZALNOŚĆ

Powtarzalność jest to wartość, od której jest mniejsza wartość bezwzględna różnicy między dwoma pojedynczymi wynikami badań, uzyskanymi z zastosowaniem tej samej metody, dla tej samej próbki, w tym samym laboratorium, przez tego samego analityka, z użyciem tego samego sprzętu, w krótkim odstępie czasu.

W przypadku oznaczania zawartości izotopu węgla ^{14}C powtarzalność wynosi:

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

7. ODTWARZALNOŚĆ

Odtwarzalność jest to wartość, od której jest mniejsza wartość bezwzględna różnicy między dwoma pojedynczymi wynikami badań, uzyskanymi z zastosowaniem tej samej metody, dla tej samej próbki, w różnych laboratoriach, przez różnych analityków, z użyciem różnego sprzętu.

W przypadku oznaczania zawartości izotopu węgla ^{14}C odtwarzalność wynosi:

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