

## II

(Nem jogalkotási aktusok)

## RENDELETEK

## A BIZOTTSÁG (EU) 2016/635 VÉGREHAJTÁSI RENDELETE

(2016. április 22.)

a 2870/2000/EK rendelet mellékletének bizonyos, a szeszes italok elemzésére vonatkozó referencia-módszerek tekintetében történő módosításáról

AZ EURÓPAI BIZOTTSÁG,

tekintettel az Európai Unió működéséről szóló szerződésre,

tekintettel a szeszes italok meghatározásáról, megnevezéséről, kisereléséről, címkézéséről és földrajzi árujelzőinek oltalmáról, valamint az 1576/89/EGK tanácsi rendelet hatályon kívül helyezéséről szóló, 2008. január 15-i 110/2008/EK európai parlamenti és tanácsi rendeletre <sup>(1)</sup>, és különösen annak 28. cikke <sup>(2)</sup> bekezdésére,

mivel:

- (1) A 2870/2000/EK bizottsági rendelet <sup>(?)</sup> tartalmazza a szeszes italok elemzésére vonatkozó referencia-módszerek felsorolását és leírását. Az említett rendelet mellékletében felsorolt bizonyos módszerek, köztük a szeszes italok illósvartartalmának és összes cukortartalmának meghatározására vonatkozó módszerek leírása azonban még nem történt meg.
- (2) A szeszes italok illósvartartalmának és összecukortartalmának meghatározására vonatkozó módszerekkel kapcsolatban két nemzetközi validálási vizsgálatot végeztek nemzetközileg egyeztetett eljárások szerint; e vizsgálatok alapján az analitikai teljesítőképesség paraméterei elfogadhatónak bizonyultak. A vizsgálatokra az Európai Bizottságnak a IV. keretprogramhoz tartozó szabványos mérési és vizsgálati (SMT) programja keretében folytatott kutatási projekt részeként került sor. A szóban forgó módszerek leírását ezért fel kell venni a 2870/2000/EK rendelet mellékletébe.
- (3) A 110/2008/EK rendelet követelményeket állapít meg a fahordókban érlelt szeszes italok egyes kategóriáira vonatkozóan, és arról rendelkezik, hogy más szeszes italok is érlelhetők ilyen módon. A fából származó főbb vegyületek elemzése segítséget nyújthat annak meghatározásában, hogy egy minta megfelel-e a szeszes ital adott kategóriájára vonatkozó fogalommeghatározásnak. A Nemzetközi Szőlészeti és Borászati Szervezet (OIV) OIV/OENO 382A/2009 határozatában elismerte az említett vegyületek meghatározásának analitikai módszerét. A módszer elismerése különböző szeszes italokra vonatkozó, nemzetközileg egyeztetett eljárások szerint végzett nemzetközi analitikai teljesítőképességi vizsgálat során kapott adatokon alapult. A szeszes italok elemzésére vonatkozó uniós referencia-módszerek 2870/2000/EK rendelet mellékletében található leírását ezért ki kell egészíteni e módszerrel és leírásával.
- (4) A 2870/2000/EK rendeletet ezért ennek megfelelően módosítani kell.
- (5) Az e rendeletben előírt intézkedések összhangban vannak a szeszes italokkal foglalkozó bizottság véleményével,

<sup>(1)</sup> HL L 39., 2008.2.13., 16. o.

<sup>(2)</sup> A Bizottság 2000. december 19-i 2870/2000/EK rendelete a szeszes italok elemzésére vonatkozó közösségi referencia-módszerek megállapításáról (HL L 333., 2000.12.29., 20. o.).

ELFOGADTA EZT A RENDELETET:

*1. cikk*

A 2870/2000/EK rendelet melléklete e rendelet mellékletének megfelelően módosul.

*2. cikk*

Ez a rendelet az *Európai Unió Hivatalos Lapjában* való kihirdetését követő harmadik napon lép hatályba.

Ez a rendelet teljes egészében kötelező és közvetlenül alkalmazandó valamennyi tagállamban.

Kelt Brüsszelben, 2016. április 22-én.

*a Bizottság részéről*  
*az elnök*  
Jean-Claude JUNCKER

---

## MELLÉKLET

A 2870/2000/EK rendelet melléklete a következőképpen módosul:

1. A tartalomjegyzék a következőképpen módosul:

- a) a III.3. és a VIII. pontból a „(p.m.)” szövegrészt el kell hagyni.
- b) a szöveg a következő ponttal egészül ki:

„X. Fából származó vegyületek meghatározása: furfurool, 5-hidroxi-metil-furfurool, 5-metilfurfurool, vanillin, sziringaldehid, koniferaldehid, szinap-aldehid, galluszsav, ellágsav, vanillinsav, sziringinsav és szkopoletin.”

2. A III. fejezet a következő résszel egészül ki:

„III.3. SZESZES ITALOK ILLÓSAVTARTALMÁNAK MEGHATÁROZÁSA

1. **Alkalmazási terület**

A módszer validálása rum, borpárlat, törkölypárlat és gyümölcspárlat esetében 30 mg/l-től 641 mg/l-ig terjedő szinteken, laboratóriumok közötti körvizsgálat útján történt.

2. **Rendelkező hivatkozások**

ISO 3696: 1987 Víz, analitikai laboratóriumi használatra. – Követelmények és vizsgálati módszerek.

3. **Fogalm meghatározások**

- 3.1. Az illósavtartalom számítása a kötött savtartalom teljes savtartalomból történő kivonásával történik.
- 3.2. A teljes savtartalom a titrálható savak összessége.
- 3.3. A kötött savtartalom a szeszes ital szárításig történő bepárlása utáni maradék savtartalma.

4. **A módszer elve**

A teljes savtartalom és a kötött savtartalom meghatározása titrálás vagy potenciometria útján történik.

5. **Vegyszerek és anyagok**

Az elemzés során, hacsak másképp nincs előírva, csak elismert analitikai minőségű vegyszerek és az ISO 3696:1987 szabványa szerinti legalább 3-as tisztasági fokozatú víz használható.

- 5.1. 0,01 M nátrium-hidroxid oldat (NaOH).
- 5.2. Indikátorkeverék-oldat:  
Mérjük be 0,1 g indigókármin és 0,1 g fenolvöröst.  
Oldjuk fel 40 ml vízben, és etanollal töltjük fel 100 ml-re.

6. **Készülékek és eszközök**

Közvetett laboratóriumi módszerek alkalmazásánál használt eszközök, A osztályú mérőüvegek valamint a következők:

- 6.1. Vízszivattyú

- 6.2. Rotációs bepárló vagy ultrahangos fürdő
- 6.3. Felszerelések potenciometrikus titráláshoz (opcionális)

## 7. **Mintavétel és minták**

A mintákat elemzés előtt tároljuk szobahőmérsékleten.

## 8. **Eljárás**

### 8.1. Teljes savtartalom

#### 8.1.1. A minta előkészítése

A szeszes italt sugározzuk be ultrahanggal (ultrahangos beavatkozás) vagy keverjük két percig vákuumban, hogy – ha szükséges – eltávolítsuk a szén-dioxidot.

#### 8.1.2. Titrálás

Pipettával töltünk 25 ml szeszes italt egy 500 ml-es Erlenmeyer-lombikba.

Adjunk hozzá körülbelül 200 ml (aznap frissen elkészített) hűtött forralt desztillált vizet és 2–6 csepp indikátorkeverék-oldatot (5.2.).

Titráljuk 0,01 M nátrium-hidroxid oldattal (5.1.) amíg a sárgászöld szín ibolyára változik színtelen szeszes italok esetében, illetve a sárgásbarna szín pirosasbarnára változik barna színű szeszes italok esetében.

A titrálás potenciometriával is végezhető, 7,5 pH-ig.

Legyen  $n_1$  ml a hozzáadott 0,01 M nátrium-hidroxid-oldat térfogata.

#### 8.1.3. Számítás

A szeszes ital milliekvivalens/l-ben kifejezett teljes savtartalma (TA) egyenlő  $0,4 \times n_1$ -gyel.

A szeszes ital ecetsav mg/l-ben kifejezett teljes savtartalma (TA') egyenlő  $24 \times n_1$ -gyel.

### 8.2. Kötött savtartalom

#### 8.2.1. A minta előkészítése

Végezzük el 25 ml szeszes ital bepárlását szárításig:

Pipetázzunk egy lapos fenekű, hengeres, 55 mm átmérőjű bepárlócsészébe 25 ml szeszes italt. A bepárlás első órájában a párologtató csészét a forrásban lévő vízfürdő fedelére helyezzük, úgy, hogy a folyadék ne legyen forrásban, mivel a kifröccsenés veszteséget okozhat.

A szárítást úgy fejezzük be, hogy a bepárlócsészét szárítószekrénybe helyezzük 105 °C-on 2 órára. A bepárlócsészét egy exszikátorban hagyjuk lehűlni.

#### 8.2.2. Titrálás

Az (aznap frissen elkészített) hűtött forralt desztillált vízzel történt bepárlás utáni maradékot oldjuk fel, töltjük fel körülbelül 100 ml-re és adjunk hozzá 2–6 csepp indikátorkeverék-oldatot (5.2.).

Titráljuk 0,01 M nátrium-hidroxid oldattal (5.1.).

A titrálás potenciometriával is végezhető, 7,5 pH-ig.

Legyen  $n_{2\text{ ml}}$  a hozzáadott 0,01 M nátrium-hidroxid-oldat térfogata.

### 8.2.3. Számítás

A szeszes ital milliekvivalens/l-ben kifejezett kötött savtartalma (FA) egyenlő  $0,4 \times n_2$ -vel.

A szeszes ital ecetsav mg/l-ben kifejezett kötött savtartalma (FA) egyenlő  $24 \times n_2$ -vel.

## 9. Az illósavtartalom számítása

### 9.1. Kifejezés milliekvivalens/l-ben:

Legyen:

TA = teljes savtartalom milliekvivalens/l-ben

FA = kötött savtartalom milliekvivalens/l-ben

Az illósavtartalom, VA, milliekvivalens/l-ben egyenlő:

$$TA - FA$$

### 9.2. Kifejezés ecetsav mg/l-ben:

Legyen:

TA' = teljes savtartalom ecetsav mg/l-ben

FA' = kötött savtartalom ecetsav mg/l-ben

Az illósavtartalom, VA, ecetsav mg/l-ben egyenlő:

$$TA' - FA'$$

### 9.3. Kifejezés ecetsav g/hl-ben 100 térfogat-százalékos tiszta alkoholra vonatkoztatva egyenlő: $\frac{TA' - FA'}{A} \times 10$

ahol „A” a szeszes ital térfogatszázalékban kifejezett alkoholtartalma.

## 10. A módszer teljesítőképességi jellemzői (Pontosság)

### 10.1. A körvizsgálatok statisztikai eredményei

A következő adatok egy olyan nemzetközi módszertani körvizsgálatból származnak, amelyet nemzetközileg egyeztetett eljárások szerint végeztek [1] [2].

**A laboratóriumok közötti körvizsgálat éve: 2000**

Laboratóriumok száma 18

Minták száma 6

Minták	A	B	C	D	E	F
Laboratóriumok száma a kiugró adatok eltávolítása után	16	18	18	14	18	18
Kiugró adatok száma (laboratóriumok)	2			4		
Elfogadott eredmények száma	32	36	36	28	36	36
Középérték ( $\bar{x}$ ) [mg/L]	272* 241*	30	591* 641*	46	107	492
Az ismételhetőség szórása, $s_f$ [mg/L]	8,0	3,6	15,0	3,7	6,7	8,5
Az ismételhetőség relatív szórása, RSD <sub>r</sub> [%]	3,1	11,8	2,4	8,0	6,2	1,7
Az ismételhetőség határértéke, $r$ [mg/L]	23	10	42	10	19	24
A reprodukálhatóság szórása, $s_r$ [mg/l]	8,5	8,4	25,0	4,55	13,4	24,4
A reprodukálhatóság relatív szórása, RSD <sub>R</sub> [%]	3,3	27,8	4,1	9,9	12,5	5,0
A reprodukálhatóság határértéke, $R$ [mg/L]	24	23	70	13	38	68

Mintatípusok:

A Szilvapárlat; osztott szint \*

B Rum I; kettős vakpróba

C Rum II; osztott szint \*

D Slivovica; kettős vakpróba

E Borpárlat; kettős vakpróba

F Törkölypárlat; kettős vakpróba

[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.”

3. A melléklet a következő VIII. fejezettel egészül ki:

## „VIII. ÖSSZES CUKOR

### 1. Alkalmazási terület

A szeszes italokban található (invertcukorban kifejezett) összes cukor meghatározására a HPLC–RI-módszer alkalmazandó, a tojást és tejterméket tartalmazó likőrök kivételével.

A módszer validálása a pastis, a desztillált anis, a cseresznyelikőr, a crème de (utána egy gyümölcs vagy a felhasznált nyersanyag nevével) és a crème de cassis esetében 10,86 g/l-től 509,7 g/l-ig terjedő szinteken, laboratóriumok közötti körvizsgálat útján történt. A módszer választásának linearitását azonban a 2,5 g/l – 20,0 g/l koncentrációtartományban bizonyították.

Ez a módszer nem szolgál alacsony cukorszintek meghatározására.

## 2. Rendelkező hivatkozások

ISO 3696:1987 Víz, analitikai laboratóriumi használatra – Követelmények és vizsgálati módszerek.

## 3. Elv

Cukoroldatok nagy teljesítményű folyadék-kromatográfiás vizsgálata a glükóz-, fruktóz-, szacharóz-, maltóz- és laktózkoncentrációjuk meghatározása céljából.

Ez a módszer alkil-aminos állófázist és differenciál-refraktométeres kimutatást használ, és példaként van megadva. Állófázisként anioncserélő gyanta is használható.

## 4. Vegyszerek és anyagok

- 4.1. Glükóz (CAS 50-99-7), minimum 99 %-os tisztaságú.
- 4.2. Fruktóz (CAS 57-48-7), minimum 99 %-os tisztaságú.
- 4.3. Szacharóz (CAS 57-50-1), minimum 99 %-os tisztaságú.
- 4.4. Laktóz (CAS 5965-66-2), minimum 99 %-os tisztaságú.
- 4.5. Maltóz-monohidrát (CAS 6363-53-7), minimum 99 %-os tisztaságú.
- 4.6. Tiszta acetonitril (CAS 75-05-8) HPLC-elemzésre.
- 4.7. Desztillált vagy ásványmentesített, lehetőleg mikroszűrőn átengedett víz.

### 4.8. Oldószer (példa)

Az eluáló oldószer összetétele:

75 térfogategység acetonitril (4.6.),

25 térfogategység desztillált víz (4.7.).

Gázmentesítés előtt lassan, 5–10 percig engedjük át a héliumot.

Ha az alkalmazott víz nem esett át mikroszűrésen, akkor ajánlatos az oldószer legfeljebb 0,45 µm pórusméretű, szerves oldószerre használt szűrőn átszűrni.

- 4.9. Abszolút etanol (CAS 64-17-5).
- 4.10. Etanol-oldat (5 %, v/v).
- 4.11. Standard törzsoldat elkészítése (20 g/l)

Mérjük ki 2 g-ot minden vizsgálandó cukorból (4.1–4.5.), és töltsük át veszteség nélkül egy 100 ml-es mérőlombikba. (Megjegyzés: 2.11 g maltóz-monohidrát 2 g maltóznak fele meg).

Töltsük fel 100 ml-re 5 térfogat %-os alkohololdattal (4.10.), rázzuk fel, és tároljuk körülbelül + 4 °C-on. Készítsünk hetente egyszer új törzsoldatot.

### 4.12. Standard munkaoldatok készítése (2,5, 5,0, 7,5, 10,0 és 20,0 g/l)

Hígítsuk fel a törzsoldatot, 20 g/l (4.11.), 5 térfogat %-os alkohololdattal (4.10.), hogy öt, 2,5, 5,0, 7,5, 10,0 és 20,0 g/l-es standard munkaoldatot kapjunk. Szűrjük át 0,45 µm vagy kisebb pórusméretű szűrőn (5.3.).

## 5. Készülékek és eszközök

5.1. Valamennyi cukor alapvonal-felbontására alkalmas HPLC-rendszer.

5.1.1. Nagy teljesítményű folyadék-kromatográfia 10 µl-es hurokkal rendelkező hatjárátú injektálószeleppel, vagy bármilyen más, automatikus vagy kézi működtetésű eszköz a mikrovolumenek megbízható injektálására.

5.1.2. Állandó vagy programozott áramlási sebesség elérését és fenntartását biztosító nagy pontosságú szivattyú-rendszer.

5.1.3. Differenciál-refraktométer.

5.1.4. Számításra alkalmas integrátor vagy adatrögzítő, amelynek teljesítménye illeszkedik a rendszer többi részéhez.

5.1.5. Előkolonna:

Az analitikai oszlophoz ajánlott megfelelő előkolonnát csatolni.

5.1.6. Kolonna (példa):

Anyag: rozsdamentes acél vagy üveg.

Belső átmérő: 2–5 mm.

Hosszúság: 100–250 mm (a kromatográfias töltet részecskeméretétől függően), például 5 µm átmérőjű részecskék esetén 250 mm.

Állófázis: szilikához kötött alkil-amin funkcionális csoportok, maximális részecskeméret: 5 µm.

5.1.7. Kromatográfias körülmények (példa):

Eluáló oldószer (4.8.), áramlási sebesség: 1 ml/perc.

Kimutatás: differenciál-refraktométer.

Annak érdekében, hogy a detektor tökéletesen stabil legyen, kapcsoljuk be néhány órával a használatát megelőzően. A referenciaküvetét fel kell tölteni az eluáló oldószerrel.

5.2. 0,1 mg pontosságú analitikai mérleg.

5.3. Szűrés kis volumenekhez használatos 0,45 µm pórusméretű mikromembrános szűrővel.

## 6. A minták tárolása

A beérkezést követően a mintákat elemzés előtt tároljuk szobahőmérsékleten.

## 7. Eljárás

7.1. A. RÉSZ: A minták előkészítése

7.1.1. A mintát rázzuk fel.

7.1.2. Szűrjük át a mintát egy 0,45 µm vagy kisebb pórusméretű szűrőn (5.3.).

7.2. B. RÉSZ: HPLC

7.2.1. Meghatározás

Injektáljunk 10 µl-t a standard oldatokból (4.12.) és a mintákból (7.1.2.). Az elemzést végezzük a megfelelő kromatográfias feltételek – például a fent leírtak – mellett.



- 7.2.2. Ha egy minta csúcsának nagyobb területe (vagy magassága), mint a legkoncentráltabb standardoldathoz tartozó csúcsé, akkor a mintát desztillált vízzel fel kell hígítani és az elemzést újra el kell végezni.

## 8. Számítás

Hasonlítsuk össze a standard oldat és a szeszes ital esetében kapott két kromatogramot. Azonosítsuk az egyes csúcsokat a retenció idejük alapján. Mérjük meg a területüket (vagy magasságukat) a koncentráció külső standard szerinti módszerrel történő kiszámításához. Vegyük figyelembe a minta bármely hígítását.

A végeredmény a glükóz, fruktóz, szacharóz, maltóz és laktóz összege invertcukorként, g/l-ben kifejezve.

Az invertcukor mennyiségét az összes monoszacharidtartalomnak és redukáló diszacharidtartalomnak, valamint a glükóz és a fruktóz szacharóztartalmából kiszámított sztöchiometrikus mennyiségének összeadásával kapjuk meg.

$$\text{Invertcukor (g/l)} = \text{glükóz (g/l)} + \text{fruktóz (g/l)} + \text{maltóz (g/l)} + \text{laktóz (g/l)} + (\text{szacharóz (g/l)} \times 1,05)$$

$$1,05 = (\text{a fruktóz molekulásúlya} + \text{a glükóz molekulásúlya}) / \text{a szacharóz molekulásúlya}$$

## 9. A módszer teljesítőképeségi jellemzői (Pontosság)

### 9.1. A körvizsgálatok statisztikai eredményei

A következő adatok egy olyan nemzetközi módszertani körvizsgálatból származnak, amelyet nemzetközileg egyeztetett eljárások szerint végeztek [1] [2].

A laboratóriumok közötti körvizsgálat éve: 2000

Laboratóriumok száma 24

Minták száma 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.

### 1. táblázat

#### Fruktóz, glükóz, maltóz

Kimutatandó anyag (analit)	Fruktóz		Glükóz			Maltóz	
	Crème de Cassis	Standard (50 g/l)	Ánizsízésítésű szeszes ital	Crème de Cassis	Standard (50 g/l)	Ánizsízésítésű szeszes ital	Standard (10 g/l)
Középérték [g/l]	92,78	50,61	15,62	93,16	50,06	15,81	9,32
Laboratóriumok száma kiugró adatok nélkül	21	22	21	23	19	21	22
Az ismételhetség szórása, $s_r$ [g/l]	2,34	2,12	0,43	3,47	1,01	0,48	0,54

Kimutatandó anyag (analit)	Fruktóz		Glükóz			Maltóz	
	Crème de Cassis	Standard (50 g/l)	Ánizsízésítésű szeszes ital	Crème de Cassis	Standard (50 g/l)	Ánizsízésítésű szeszes ital	Standard (10 g/l)
Minták (× 2)							
Az ismételhetőség relatív szórása, $RSD_r$ [%]	2,53	4,2	2,76	3,72	2,03	3,02	5,77
Az ismételhetőség határértéke, $r$ [g/l] ( $r = 2,8 \times s_r$ )	6,56	5,95	1,21	9,71	2,84	1,34	1,51
A reprodukálhatóság szórása, $s_R$ [g/l]	7,72	3,13	0,84	9,99	2,7	0,88	1,4
A reprodukálhatóság relatív szórása, $RSD_R$ [%]	8,32	6,18	5,37	10,72	5,4	5,54	15,06
A reprodukálhatóság határértéke, $R$ [g/l] ( $R = 2,8 \times s_R$ )	21,62	8,76	2,35	27,97	7,57	2,45	3,93

2. táblázat

**Szacharóz**

Kimutatandó anyag (analit)	Szacharóz					
	Pastis	Ouzo	Cseresznyelikőr	Crème de Menthe	Crème de Cassis	Standard (100 g/l)
Minták						
Középérték [g/l]	10,83	29,2 19,7 (*)	103,33	349,96	319,84	99,83
Laboratóriumok száma kiugró adatok nélkül	19	19	20	18	18	18
Az ismételhetőség szórása, $s_r$ [g/l]	0,09	0,75	2,17	5,99	4,31	1,25
Az ismételhetőség relatív szórása, $RSD_r$ [%]	0,81	3,07	2,1	1,71	1,35	1,25
Az ismételhetőség határértéke, $r$ [g/l] ( $r = 2,8 \times s_r$ )	0,25	2,1	6,07	16,76	12,06	3,49
A reprodukálhatóság szórása, $s_R$ [g/l]	0,79	0,92	4,18	9,94	16,11	4,63
A reprodukálhatóság relatív szórása, $RSD_R$ [%]	7,31	3,76	4,05	2,84	5,04	4,64
A reprodukálhatóság határértéke, $R$ [g/l] ( $R = 2,8 \times s_R$ )	2,22	2,57	11,7	27,84	45,12	12,97

(\*) osztott szint

## 3. táblázat

**Összes cukor**

(Megjegyzés: ezek az adatok az összes cukor, és nem az invertcukor fenti 8. pontban meghatározott kiszámítására vonatkoznak.)

Minták	Pastis	Ouzo	Ánizsízésítésű szeszes ital	Cseresznyelikőr	Crème de Menthe	Crème de Cassis	Standard (220 g/l)
Közéérték [g/l]	10,86	29,2 19,7 (*)	31,59	103,33	349,73	509,69	218,78
Laboratóriumok száma kiugró adatok nélkül	20	19	20	20	18	18	19
Az ismételhetőség szórása, $s_r$ [g/l]	0,13	0,75	0,77	2,17	5,89	5,59	2,71
Az ismételhetőség relatív szórása, $RSD_r$ [%]	1,16	3,07	2,45	2,1	1,69	1,1	1,24
Az ismételhetőség határértéke, $r$ [g/l] ( $r = 2,8 \times s_r$ )	0,35	2,1	2,17	6,07	16,5	15,65	7,59
A reprodukálhatóság szórása, $s_R$ [g/l]	0,79	0,92	1,51	4,18	9,98	14,81	8,53
A reprodukálhatóság relatív szórása, $RSD_R$ [%]	7,25	3,76	4,79	4,04	2,85	2,91	3,9
A reprodukálhatóság határértéke, $R$ [g/l] ( $R = 2,8 \times s_R$ )	2,21	2,57	4,24	11,7	27,94	41,48	23,89

(\*) osztott szint

4. A melléklet a következő, X. fejezettel egészül ki:

„X. **A FÁBÓL SZÁRMAZÓ KÖVETKEZŐ VEGYÜLETEK NAGY TELJESÍTMÉNYŰ FOLYADÉK-KROMATOGRÁFIÁVAL (HPLC) TÖRTÉNŐ MEGHATÁROZÁSA: FURFUROL, 5-HIDROXI-METIL-FURFUROL, 5-METIL-FURFUROL, VANILLIN, SZIRINGALDEHID, KONIFERALDEHID, SZINAP-ALDEHID, GALLUSZSAV, ELLÁGSZAV, VANILLINSZAV, SZIRINGINSZAV ÉS SZKOPOLETIN**

1. **Alkalmazási terület**

A módszer a furfurool, 5-hidroxi-metil-furfurool, 5-metilfurfurool, vanillin, sziringaldehid, koniferaldehid, szinapaldehid, galluszsav, ellágsav, vanillinsav, sziringinsav és szkopoletin nagy teljesítményű folyadék-kromatográfiával történő meghatározására vonatkozik.

2. **Rendelkező hivatkozások**

A Nemzetközi Szőlészeti és Borászati Hivatal (OIV) közgyűlése által elfogadott és az OIV által OIV-MA-BS-16 R2009 számon közzétett elemzési módszer.

3. **Elv**

Meghatározás nagy teljesítményű folyadék-kromatográfiával (HPLC), kimutatás ultraibolya spektrofotometriával több hullámhosszon és spektrofotometriával.

#### 4. Reagenszek

A reagenszeknek analitikai tisztaságúnak kell lennie. A felhasznált víznek desztillált víznek vagy azzal legalább egyenértékű tisztaságú víznek kell lennie. Ajánlatos 18,2 M  $\Omega$ .cm ellenállású mikroszűrűt vizet használni.

- 4.1. 96 térfogat %-os alkohol.
- 4.2. HPLC-minőségű metanol („B” oldószer).
- 4.3. 0,5 térfogat %-ra hígított ecetsav („A” oldószer).
- 4.4. Mozgófázis: (csak példaként szolgál)

„A” oldószer (0,5 %-os ecetsav) és „B” oldószer (tisztá metanol). Szűrjük át egy (0.45  $\mu$ m pórusméretű) membránszűrőn. Gázmentesítsük ultrahangos fürdőben, ha szükséges.

- 4.5. Standard anyagok: legalább 99 %-os tisztaságú furfurool, 5-hidroxi-metil-furfurool, 5-metilfurfurool, vanillin, sziringaldehid, koniferaldehid, szinap-aldehid, galluszsav, ellágsav, vanillinsav, sziringinsav és szkopoletin.
- 4.6. Referenciaoldat: a standard anyagokat oldjuk fel 50 térfogat %-os vizes-alkoholos oldatban. A referenciaoldatban a végső koncentrációknak a következő nagyságrendűeknek kell lenniük:

furfurool: 5 mg/l; 5-hidroxi-metil-furfurool: 10 mg/l; 5-metilfurfurool 2 mg/l; vanillin: 5 mg/l; sziringaldehid: 10 mg/l; koniferaldehid: 5 mg/l; szinap-aldehid: 5 mg/l; galluszsav: 10 mg/l; ellágsav: 10 mg/l; vanillinsav: 5 mg/l; sziringinsav: 5 mg/l; szkopoletin: 0,5 mg/l.

#### 5. Készülékek

Szokásos laboratóriumi eszközök

- 5.1. Bináris gradiens módban működő nagy teljesítményű folyadék-kromatográf, amely a következőkkel rendelkezik:
  - 5.1.1. Spektrofotometriás detektor, amely 260–340 nm hullámhossz mérésére képes. Ajánlott ugyanakkor változtatható hullámhosszú, diódasoros vagy hasonló detektorral dolgozni a csúcsok tisztaságának megerősítése érdekében.
  - 5.1.2. Spektrofluorometriás detektor – gerjesztési hullámhossz: 354 nm, kibocsátási hullámhossz: 446 nm (a szkopoletin meghatározásához; amely 313 nm-en is kimutatható spektrofotometriával).
  - 5.1.3. A vizsgálati mintából (például) 10 vagy 20  $\mu$ l injektálásra alkalmas injekciós eszköz.
  - 5.1.4. Nagy teljesítményű folyadék-kromatográfiás kolonna, RP C18 típus, 5  $\mu$ m maximális részecskeméret.
- 5.2. Fecskendő HPLC-elemzéshez.
- 5.3. Kis volumenek membránszűrésére szolgáló eszköz.
- 5.4. Számításra alkalmas integrátor vagy adatrögzítő, amelynek teljesítménye illeszkedik a rendszer egészéhez, és amely több adatgyűjtő csatornával rendelkezik.

#### 6. Eljárás

- 6.1. Az injektálandó oldat elkészítése

A referenciaoldatot és a szeszes italt szükség esetén szűrjük át egy legfeljebb 0.45  $\mu$ m-es pórusméretű membránszűrőn.

- 6.2. Kromatográfias működési körülmények: az elemzést szobahőmérsékleten végezzük az 5.1. pontban leírt készülékkel, a mozgófázisban (4.4.) körülbelül 0,6 ml/perces áramlási sebességet használva az alábbi (csak példaként szolgáló) gradienst követve:

Időtartam: 0 perc 50 perc 70 perc 90 perc

„A” oldószer (víz-sav): 100 % 60 % 100 % 100 %

„B” oldószer (metanol): 0 % 40 % 0 % 0 %

Vegyük figyelembe, hogy ez a gradiens a koelúció elkerülése érdekében bizonyos esetekben módosítható.

- 6.3. Meghatározás

- 6.3.1. A standard anyagokat először külön, majd összekeverve injektáljuk.

A működési körülményeket alakítsuk úgy, hogy a csúcsok felbontási tényezői minden vegyület esetében legalább 1-gyel egyenlők legyenek.

- 6.3.2. Injektáljuk a 6.1. pont szerint elkészített mintát.

- 6.3.3. Mérjük meg a csúcsok területét a referenciaoldatban és a szeszes italban, és számítsuk ki a koncentrációkat.

## 7. Az eredmények megadása

Minden összetevő koncentrációját mg/l-ben fejezzük ki.

## 8. A módszer teljesítőképességi jellemzői (pontosság)

A következő adatok nemzetközileg egyeztetett eljárások szerint 2009-ben végzett, különféle szeszes italokra vonatkozó nemzetközi analitikai teljesítőképességi vizsgálatból származnak[1], [2].

### 8.1. Furfurol

Kimutatandó anyag (analit)	Furfurol					
	Whisky	Borpárlat	Rum	Konyak 1.	Bourbon	Konyak 2.
Részt vevő laboratóriumok száma	15	15	15	15	15	15
Elfogadott eredmények száma (laboratóriumok)	14	12	13	14	13	13
Középérték [mg/l]	2,9	1,2	1,7	10,6	15,3	13,9
Az ismételhetség szórása, $s_r$ [mg/l]	0,04	0,05	0,04	0,18	0,23	0,20
Az ismételhetség relatív szórása, RSD <sub>r</sub> [%]	1,4	4,5	2,3	1,7	1,5	1,5

Kimutatandó anyag (analit)	Furfurol					
	Whisky	Borpárlat	Rum	Konyak 1.	Bourbon	Konyak 2.
Minták						
Az ismételhetőség határértéke, $r$ [mg/l] ( $r = 2,8 \times s_r$ )	0,1	0,2	0,1	0,5	0,6	0,6
A reprodukálhatóság szórása, $s_R$ [mg/l]	0,24	0,18	0,09	1,4	0,49	0,69
A reprodukálhatóság relatív szórása, $RSD_R$ [%]	8	15	5	13	3	5
A reprodukálhatóság határértéke, $R$ [g/l] ( $R = 2,8 \times s_R$ )	0,7	0,5	0,3	3,8	1,4	1,9

## 8.2. 5-hidroxi-metil-furfurol

Kimutatandó anyag (analit)	5-hidroxi-metil-furfurol					
	Whisky	Borpárlat	Rum	Konyak 1.	Bourbon	Konyak 2.
Minták						
Részt vevő laboratóriumok száma	16	16	16	16	16	16
Elfogadott eredmények száma (laboratóriumok)	14	14	14	14	14	14
Középérték [mg/l]	5,0	11,1	9,4	33,7	5,8	17,5
Az ismételhetőség szórása, $s_r$ [mg/l]	0,09	0,09	0,09	0,42	0,07	0,13
Az ismételhetőség relatív szórása, $RSD_r$ [%]	1,7	0,8	1,0	1,3	1,2	0,8
Az ismételhetőség határértéke, $r$ [mg/l] ( $r = 2,8 \times s_r$ )	0,2	0,3	0,3	1,2	0,2	0,4
A reprodukálhatóság szórása, $s_R$ [mg/l]	0,39	1,01	0,50	4,5	0,4	1,6
A reprodukálhatóság relatív szórása, $RSD_R$ [%]	8	9	5	13	7	9
A reprodukálhatóság határértéke, $R$ [g/l] ( $R = 2,8 \times s_R$ )	1,1	2,8	1,4	12,5	1,1	4,6

## 8.3. 5-metilfurfurol

Kimutatandó anyag (analit)	5-metilfurfurol					
	Whisky	Borpárlat	Rum	Konyak 1.	Bourbon	Konyak 2.
Minták						
Részt vevő laboratóriumok száma	11	11	11	11	11	11
Elfogadott eredmények száma (laboratóriumok)	11	11	8	11	10	11
Középérték [mg/l]	0,1	0,2	0,1	0,5	1,7	0,8
Az ismételhetőség szórása, $s_r$ [mg/l]	0,01	0,01	0,02	0,02	0,03	0,07
Az ismételhetőség relatív szórása, $RSD_r$ [%]	10,7	6,1	13,6	4,7	2,0	10,0
Az ismételhetőség határértéke, $r$ [mg/l] ( $r = 2,8 \times s_r$ )	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,2
A reprodukálhatóság szórása, $s_R$ [mg/l]	0,03	0,04	0,03	0,18	0,20	0,26
A reprodukálhatóság relatív szórása, $RSD_R$ [%]	35	18	22	39	12	35
A reprodukálhatóság határértéke, $R$ [g/l] ( $R = 2,8 \times s_R$ )	0,1	0,1	0,1	0,5	0,6	0,7

## 8.4. Vanillin

Kimutatandó anyag (analit)	Vanillin					
	Whisky	Borpárlat	Rum	Konyak 1.	Bourbon	Konyak 2.
Minták						
Részt vevő laboratóriumok száma	16	15	16	16	16	16
Elfogadott eredmények száma (laboratóriumok)	16	15	16	16	16	16
Középérték [mg/l]	0,5	0,2	1,2	1,2	3,2	3,9
Az ismételhetőség szórása, $s_r$ [mg/l]	0,03	0,02	0,06	0,11	0,11	0,09

Kimutatandó anyag (analit)	Vanillin					
	Whisky	Borpárlat	Rum	Konyak 1.	Bourbon	Konyak 2.
Az ismételhetőség relatív szórása, $RSD_r$ [%]	6,8	9,6	4,6	8,9	3,5	2,3
Az ismételhetőség határértéke, $r$ [mg/l] ( $r = 2,8 \times s_r$ )	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3	0,3
A reprodukálhatóság szórása, $s_R$ [mg/l]	0,09	0,06	0,18	0,27	0,41	0,62
A reprodukálhatóság relatív szórása, $RSD_R$ [%]	19	25	15	22	13	16
A reprodukálhatóság határértéke, $R$ [g/l] ( $R = 2,8 \times s_R$ )	0,3	0,2	0,5	0,8	1,2	1,7

## 8.5. Sziringaldehid

Kimutatandó anyag (analit)	Sziringaldehid					
	Whisky	Borpárlat	Rum	Konyak 1.	Bourbon	Konyak 2.
Részt vevő laboratóriumok száma	16	15	16	16	16	16
Elfogadott eredmények száma (laboratóriumok)	13	13	13	12	14	13
Középérték [mg/l]	1,0	0,2	4,8	3,2	10,5	9,7
Az ismételhetőség szórása, $s_r$ [mg/l]	0,03	0,02	0,04	0,08	0,10	0,09
Az ismételhetőség relatív szórása, $RSD_r$ [%]	2,6	8,1	0,8	2,6	0,9	0,9
Az ismételhetőség határértéke, $r$ [mg/l] ( $r = 2,8 \times s_r$ )	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3
A reprodukálhatóság szórása, $s_R$ [mg/l]	0,08	0,07	0,23	0,19	0,39	0,43
A reprodukálhatóság relatív szórása, $RSD_R$ [%]	8	33	5	6	4	4
A reprodukálhatóság határértéke, $R$ [g/l] ( $R = 2,8 \times s_R$ )	0,2	0,2	0,7	0,5	1,1	1,2



## 8.6. Koniferaldehid

Kimutatandó anyag (analit)	Koniferaldehid					
	Whisky	Borpárlat	Rum	Konyak 1.	Bourbon	Konyak 2.
Minták						
Részt vevő laboratóriumok száma	13	12	13	12	13	13
Elfogadott eredmények száma (laboratóriumok)	12	12	13	12	13	13
Középérték [mg/l]	0,2	0,2	0,6	0,8	4,6	1,3
Az ismételhetőség szórása, $s_r$ [mg/l]	0,02	0,02	0,03	0,03	0,09	0,06
Az ismételhetőség relatív szórása, $RSD_r$ [%]	9,2	9,8	4,6	4,3	1,9	4,5
Az ismételhetőség határértéke, $r$ [mg/l] ( $r = 2,8 \times s_r$ )	0,04	0,04	0,07	0,09	0,24	0,16
A reprodukálhatóság szórása, $s_R$ [mg/l]	0,04	0,04	0,11	0,18	0,38	0,25
A reprodukálhatóság relatív szórása, $RSD_R$ [%]	23	27	21	23	8	19
A reprodukálhatóság határértéke, $R$ [g/l] ( $R = 2,8 \times s_R$ )	0,1	0,1	0,3	0,5	1,1	0,7

## 8.7. Szinap-aldehid

Kimutatandó anyag (analit)	Szinap-aldehid					
	Whisky	Borpárlat	Rum	Konyak 1.	Bourbon	Konyak 2.
Minták						
Részt vevő laboratóriumok száma	14	14	14	14	15	14
Elfogadott eredmények száma (laboratóriumok)	14	13	12	13	13	12
Középérték [mg/l]	0,3	0,2	0,2	1,6	8,3	0,3
Az ismételhetőség szórása, $s_r$ [mg/l]	0,02	0,01	0,02	0,06	0,14	0,03

Kimutatandó anyag (analit)	Szinap-aldehid					
	Whisky	Borpárlat	Rum	Konyak 1.	Bourbon	Konyak 2.
Az ismételhetőség relatív szórása, $RSD_r$ [%]	7,5	4,6	11,2	3,7	1,6	11,4
Az ismételhetőség határértéke, $r$ [mg/l] ( $r = 2,8 \times s_r$ )	0,06	0,03	0,06	0,17	0,38	0,08
A reprodukálhatóság szórása, $s_R$ [mg/l]	0,09	0,05	0,08	0,20	0,81	0,18
A reprodukálhatóság relatív szórása, $RSD_R$ [%]	31	27	46	13	10	73
A reprodukálhatóság határértéke, $R$ [g/l] ( $R = 2,8 \times s_R$ )	0,2	0,2	0,2	0,6	2,3	0,5

## 8.8. Galluszsav

Kimutatandó anyag (analit)	Galluszsav					
	Whisky	Borpárlat	Rum	Konyak 1	Bourbon	Konyak 2
Részt vevő laboratóriumok száma	16	15	16	16	16	16
Elfogadott eredmények száma (laboratóriumok)	15	14	16	16	16	16
Középérték [mg/l]	1,2	0,4	2,0	6,1	7,3	21,8
Az ismételhetőség szórása, $s_r$ [mg/l]	0,07	0,04	0,06	0,18	0,18	0,60
Az ismételhetőség relatív szórása, $RSD_r$ [%]	6,1	8,1	2,9	3,0	2,4	2,8
Az ismételhetőség határértéke, $r$ [mg/l] ( $r = 2,8 \times s_r$ )	0,2	0,1	0,2	0,5	0,5	1,7
A reprodukálhatóság szórása, $s_R$ [mg/l]	0,43	0,20	0,62	3,3	2,2	7,7
A reprodukálhatóság relatív szórása, $RSD_R$ [%]	36	47	31	53	30	35
A reprodukálhatóság határértéke, $R$ [g/l] ( $R = 2,8 \times s_R$ )	1,2	0,6	1,7	9,1	6,2	21,7

## 8.9. Ellágsav

Kimutatandó anyag (analit)	Ellágsav					
	Whisky	Borpárlat	Rum	Konyak 1.	Bourbon	Konyak 2.
Minták						
Részt vevő laboratóriumok száma	7	7	7	7	7	7
Elfogadott eredmények száma (laboratóriumok)	7	7	7	7	7	6
Középérték [mg/l]	3,2	1,0	9,5	13	13	36
Az ismételhetőség szórása, $s_r$ [mg/l]	0,20	0,16	0,30	0,41	0,95	0,34
Az ismételhetőség relatív szórása, $RSD_r$ [%]	6,3	16	3,2	3,2	7,4	1,0
Az ismételhetőség határértéke, $r$ [mg/l] ( $r = 2,8 \times s_r$ )	0,6	0,4	0,9	1,1	2,7	1,0
A reprodukálhatóság szórása, $s_R$ [mg/l]	1,41	0,42	4,0	5,0	4,9	14
A reprodukálhatóság relatív szórása, $RSD_R$ [%]	44	43	42	39	39	40
A reprodukálhatóság határértéke, $R$ [g/l] ( $R = 2,8 \times s_R$ )	4,0	1,2	11	14	14	40

## 8.10. Vanillinsav

Kimutatandó anyag (analit)	Vanillinsav					
	Whisky	Borpárlat	Rum	Konyak 1.	Bourbon	Konyak 2.
Minták						
Részt vevő laboratóriumok száma	15	15	15	15	15	15
Elfogadott eredmények száma (laboratóriumok)	12	11	14	14	15	14
Középérték [mg/l]	0,2	0,2	1,5	0,8	2,4	2,7
Az ismételhetőség szórása, $s_r$ [mg/l]	0,03	0,04	0,03	0,10	0,13	0,21

Kimutatandó anyag (analit)	Vanillinsav					
	Minták	Whisky	Borpárlat	Rum	Konyak 1.	Bourbon
Az ismételhetőség relatív szórása, $RSD_r$ [%]	14,2	16,5	2,3	12,6	5,3	7,7
Az ismételhetőség határértéke, $r$ [mg/l] ( $r = 2,8 \times s_r$ )	0,1	0,1	0,1	0,3	0,4	0,6
A reprodukálhatóság szórása, $s_R$ [mg/l]	0,06	0,05	0,51	0,2	1,22	0,70
A reprodukálhatóság relatív szórása, $RSD_R$ [%]	28	20	35	31	51	26
A reprodukálhatóság határértéke, $R$ [g/l] ( $R = 2,8 \times s_R$ )	0,2	0,1	1,4	0,7	3,4	2,0

## 8.11. Sziringinsav

Kimutatandó anyag (analit)	sziringinsav					
	Minták	Whisky:	Borpárlat	Rum	Konyak 1.	Bourbon
Részt vevő laboratóriumok száma	16	15	16	16	16	16
Elfogadott eredmények száma (laboratóriumok)	16	15	15	15	16	15
Középérték [mg/l]	0,4	0,2	2,5	1,4	3,4	4,8
Az ismételhetőség szórása, $s_r$ [mg/l]	0,03	0,02	0,06	0,13	0,08	0,11
Az ismételhetőség relatív szórása, $RSD_r$ [%]	6,7	12,6	2,3	9,0	2,3	2,3
Az ismételhetőség határértéke, $r$ [mg/l] ( $r = 2,8 \times s_r$ )	0,1	0,1	0,2	0,4	0,2	0,3
A reprodukálhatóság szórása, $s_R$ [mg/l]	0,08	0,05	0,29	0,26	0,43	0,67
A reprodukálhatóság relatív szórása, $RSD_R$ [%]	19	29	11	18	13	14
A reprodukálhatóság határértéke, $R$ [g/l] ( $R = 2,8 \times s_R$ )	0,2	0,1	0,8	0,7	1,2	1,9

## 8.12. Szkopoletin

Kimutatandó anyag (analit)	Szkopoletin					
	Whisky	Borpárlat	Rum	Konyak 1.	Bourbon	Konyak 2.
Minták						
Részt vevő laboratóriumok száma	10	10	10	10	10	10
Elfogadott eredmények száma (laboratóriumok)	9	8	9	8	8	8
Középérték [mg/l]	0,09	0,04	0,11	0,04	0,65	0,15
Az ismételhetőség szórása, $s_r$ [mg/l]	0,0024	0,0008	0,0018	0,0014	0,0054	0,0040
Az ismételhetőség relatív szórása, $RSD_r$ [%]	2,6	2,2	1,6	3,3	0,8	2,7
Az ismételhetőség határértéke, $r$ [mg/l] ( $r = 2,8 \times s_r$ )	0,007	0,002	0,005	0,004	0,015	0,011
A reprodukálhatóság szórása, $s_R$ [mg/l]	0,01	0,01	0,03	0,01	0,09	0,02
A reprodukálhatóság relatív szórása, $RSD_R$ [%]	15	16	23	17	15	15
A reprodukálhatóság határértéke, $R$ [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.”