

II

(Niet-wetgevingshandelingen)

VERORDENINGEN

UITVOERINGSVERORDENING (EU) 2016/635 VAN DE COMMISSIE

van 22 april 2016

tot wijziging van de bijlage bij Verordening (EG) nr. 2870/2000 betreffende bepaalde referentiemethoden voor de analyse van gedistilleerde dranken

DE EUROPESE COMMISSIE,

Gezien het Verdrag betreffende de werking van de Europese Unie,

Gezien Verordening (EG) nr. 110/2008 van het Europees Parlement en de Raad van 15 januari 2008 betreffende de definitie, de aanduiding, de presentatie, de etikettering en de bescherming van geografische aanduidingen van gedistilleerde dranken en tot intrekking van Verordening (EEG) nr. 1576/89 van de Raad ⁽¹⁾, en met name artikel 28, lid 2,

Overwegende hetgeen volgt:

- (1) In Verordening (EG) nr. 2870/2000 van de Commissie ⁽²⁾ zijn de referentiemethoden voor de analyse van gedistilleerde dranken opgenomen en beschreven. Sommige van de methoden die zijn opgenomen in de bijlage bij deze verordening, waaronder de methoden voor de bepaling van het gehalte aan vluchtige zuren en totale suikers in gedistilleerde dranken, zijn echter nog niet beschreven.
- (2) Op de methoden voor de bepaling van het gehalte aan vluchtige zuren en totale suikers in bepaalde gedistilleerde dranken zijn twee internationale valideringsstudies uitgevoerd volgens internationaal overeengekomen procedures en daarbij bleek dat de parameters betreffende de prestaties van de methoden aanvaardbaar zijn. Deze studies werden verricht in het kader van een onderzoeksproject in de context van het vierde kaderprogramma van de Europese Commissie op het gebied van normalisatie, metingen en proeven. De beschrijving van die methoden moet derhalve worden opgenomen in de bijlage bij Verordening (EG) nr. 2870/2000.
- (3) In Verordening (EG) nr. 110/2008 zijn voorschriften vastgesteld voor bepaalde categorieën gedistilleerde dranken die moeten rijpen op hout en is bepaald dat andere categorieën rijping mogen ondergaan. De analyse van de belangrijkste uit hout afkomstige verbindingen kan nuttig zijn om te bepalen of een monster in overeenstemming is met de overeenkomstige definitie van de desbetreffende categorie gedistilleerde drank. De Internationale Organisatie voor Wijnbouw en Wijnbereiding (OIV) heeft in haar Resolutie OIV/OENO 382A/2009 een analyse-methode voor de bepaling van die verbindingen erkend. De erkenning van de methode was gebaseerd op gegevens uit een internationale, volgens internationaal overeengekomen procedures uitgevoerde studie over de prestaties van methoden met betrekking tot verschillende gedistilleerde dranken. Deze methode en de beschrijving ervan moeten derhalve worden toegevoegd aan de in de bijlage bij Verordening (EG) nr. 2870/2000 vastgestelde referentiemethoden van de Unie voor de analyse van gedistilleerde dranken.
- (4) Verordening (EG) nr. 2870/2000 moet daarom dienovereenkomstig worden gewijzigd.
- (5) De in deze verordening vervatte maatregelen zijn in overeenstemming met het advies van het Comité voor gedistilleerde dranken,

⁽¹⁾ PB L 39 van 13.2.2008, blz. 16.⁽²⁾ Verordening (EG) nr. 2870/2000 van de Commissie van 19 december 2000 tot vaststelling van communautaire referentiemethoden voor de analyse van gedistilleerde dranken (PB L 333 van 29.12.2000, blz. 20).

HEEFT DE VOLGENDE VERORDENING VASTGESTELD:

Artikel 1

De bijlage bij Verordening (EG) nr. 2870/2000 wordt gewijzigd overeenkomstig de bijlage bij deze verordening.

Artikel 2

Deze verordening treedt in werking op de derde dag na die van de bekendmaking ervan in het *Publicatieblad van de Europese Unie*.

Deze verordening is verbindend in al haar onderdelen en is rechtstreeks toepasselijk in elke lidstaat.

Gedaan te Brussel, 22 april 2016.

Voor de Commissie
De voorzitter
Jean-Claude JUNKER

BIJLAGE

De bijlage bij Verordening (EG) nr. 2870/2000 wordt als volgt gewijzigd:

1) De inhoudsopgave wordt als volgt gewijzigd:

- a) in de punten III.3 en VIII wordt de term „(p.m.)” geschrapt;
- b) het volgende punt wordt toegevoegd:

„X. Bepaling van uit hout afkomstige verbindingen: furfural, 5-hydroxymethylfurfural, 5-methylfurfural, vaniline, syringaldehyde, coniferaldehyde, sinapaldehyde, galluszuur, ellagzuur, vanillinezuur, syringazuur en scopoletine.”.

2) In hoofdstuk III wordt het volgende deel toegevoegd:

„III.3. BEPALING VAN DE VLUCHTIGE ZUURGRAAD IN GEDISTILLEERDE DRANKEN

1. **Toepassingsgebied**

De methode werd gevalideerd met een interlaboratoriumonderzoek voor rum, brandy en draf- en vruchten-eau-de-vie, met gehalten tussen 30 mg/l en 641 mg/l.

2. **Referentienormen**

ISO 3696: Water voor analyses — Specificaties en testmethoden.

3. **Definities**

- 3.1. De vluchtige zuurgraad wordt berekend door het gehalte aan gebonden zuren af te trekken van de totale zuurgraad.
- 3.2. De totale zuurgraad is de som van de titreerbare zuren.
- 3.3. Het gehalte aan gebonden zuren is de zuurgraad van het residu dat overblijft na droogdampen van de gedistilleerde drank.

4. **Principe**

De totale zuurgraad en het gehalte aan gebonden zuren worden bepaald door titratie of potentiometrie.

5. **Reagentia en materialen**

Gebruik bij de analyse, tenzij anders wordt vermeld, uitsluitend reagentia waarvan bekend is dat ze chemisch zuiver zijn en water van minimaal klasse 3, zoals gedefinieerd in ISO 3696:1987.

5.1. 0,01 M natriumhydroxideoplossing (NaOH)

5.2. Mengindicator:

Weeg 0,1 g indigokarmijn en 0,1 g fenolrood af.

Los op in 40 ml water en vul aan tot 100 ml met ethanol.

6. **Apparatuur**

Indirecte laboratoriumapparatuur, een maatbeker klasse A en:

6.1. een waterpomp,

- 6.2. een rotatieverdamer of een ultrasoon bad,
- 6.3. apparatuur voor potentiometrische titratie (optioneel).

7. **Monsterneming en monsters**

De monsters worden vóór de analyse bij kamertemperatuur bewaard.

8. **Werkwijze**

8.1. Totale zuurgraad

8.1.1. Voorbehandeling van het monster

De gedistilleerde drank wordt gedurende twee minuten onder vacuüm bestraald met ultrasone trillingen (ultrasoonbehandeling) of geroerd om hem zo nodig te ontdoen van koolstofdioxide.

8.1.2. Titratie

Breng met een pipet 25 ml van de gedistilleerde drank in een erlenmeyer van 500 ml.

Voeg ongeveer 200 ml gekoeld gekookt gedistilleerd water (dagelijks vers bereid) en twee tot zes druppels van de mengindicator (5.2) toe.

Titreer met de 0,01M-natriumhydroxideoplossing (5.1) tot de geelgroene kleur verandert in paars (voor kleurloze dranken) of de geelbruine kleur in roodbruin (voor bruine dranken).

De titratie mag ook potentiometrisch worden uitgevoerd, tot een pH van 7,5.

De toegevoegde hoeveelheid 0,01M-natriumhydroxideoplossing is n_1 ml.

8.1.3. Berekening

De totale zuurgraad (TZ) uitgedrukt in milli-equivalenten per liter gedistilleerde drank is gelijk aan $0,4 \times n_1$.

De totale zuurgraad (TZ') uitgedrukt in mg azijnzuur per liter gedistilleerde drank is gelijk aan $24 \times n_1$.

8.2. Gehalte aan gebonden zuren

8.2.1. Voorbehandeling van het monster

Damp 25 ml van de gedistilleerde drank droog:

Pipetteer 25 ml van de gedistilleerde drank in een ronde uitdampschaal met vlakke bodem en een doorsnede van 55 mm. Bij het droogdampen wordt de uitdampschaal gedurende het eerste uur op het deksel van het kokend waterbad geplaatst, zodat de vloeistof niet gaat koken, aangezien dit tot verliezen door spatten zou kunnen leiden.

Droog vervolgens het residu door de uitdampschaal gedurende twee uur bij 105 °C in een droogstoof te laten staan. Laat de uitdampschaal afkoelen in een exsiccator.

8.2.2. Titratie

Absorbeer het residu dat overblijft na droogdampen, in gekoeld gekookt gedistilleerd water (dagelijks vers bereid) en vul aan tot een volume van ongeveer 100 ml en voeg twee tot zes druppels mengindicator (5.2) toe.

Titreer met de 0,01M-natriumhydroxideoplossing (5.1).

De titratie mag ook potentiometrisch worden uitgevoerd, tot een pH van 7,5.

De toegevoegde hoeveelheid 0,01M-natriumhydroxideoplossing is n_2 ml.

8.2.3. Berekening

Het gehalte aan gebonden zuren (GZ) uitgedrukt in milli-equivalenten per liter gedistilleerde drank is gelijk aan $0,4 \times n_2$.

Het gehalte aan gebonden zuren (GZ) uitgedrukt in mg azijnzuur per liter gedistilleerde drank is gelijk aan $24 \times n_2$.

9. Berekening van de vluchtige zuurgraad

9.1. Uitgedrukt in milli-equivalenten per liter:

waarbij

TZ = totale zuurgraad in milli-equivalenten per liter

GZ = gehalte aan gebonden zuren in milli-equivalenten per liter

Vluchtige zuurgraad (VZ) in milli-equivalenten per liter =

$TZ - GZ$

9.2. Uitgedrukt in mg azijnzuur per liter:

waarbij

TZ' = totale zuurgraad in mg azijnzuur per liter

GZ' = gehalte aan gebonden zuren in mg azijnzuur per liter

Vluchtige zuurgraad (VZ) in mg azijnzuur per liter =

$TZ' - GZ'$

9.3. Uitgedrukt in g azijnzuur per hl zuivere alcohol (100 % vol) = $\frac{TA' - FA'}{A} \times 10$

waarbij A = het alcoholvolumegehalte van de gedistilleerde drank.

10. Karakteristieken van de resultaten van de methode (precisie)

10.1. Statistische resultaten van het interlaboratoriumonderzoek

Een internationaal onderzoek naar de resultaten van de methode, uitgevoerd volgens internationaal overeengekomen procedures, heeft de volgende gegevens opgeleverd [1] [2]:

Jaar van het interlaboratoriumonderzoek	2000
Aantal laboratoria	18
Aantal monsters	6

Monsters	A	B	C	D	E	F
Aantal resterende laboratoria na eliminatie van uitbijters	16	18	18	14	18	18
Aantal uitbijters (laboratoria)	2			4		
Aantal geaccepteerde resultaten	32	36	36	28	36	36
Meanvalue ($\bar{x}$) [mg/L]	272* 241*	30	591* 641*	46	107	492
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, s_r [mg/l]	8,0	3,6	15,0	3,7	6,7	8,5
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, RSD_r [%]	3,1	11,8	2,4	8,0	6,2	1,7
Herhaalbaarheidsgrens, r [mg/l]	23	10	42	10	19	24
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, s_R [mg/l]	8,5	8,4	25,0	4,55	13,4	24,4
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, RSD_R [%]	3,3	27,8	4,1	9,9	12,5	5,0
Reproduceerbaarheidsgrens, R [mg/l]	24	23	70	13	38	68

Monstertypes:

- A. Pruimen-eau-de-vie; twee gehalten*
- B. Rum I; blinde duplo's
- C. Rum II; twee gehalten*
- D. Slivovitsj; blinde duplo's
- E. Brandy; blinde duplo's
- F. Vruchtendraf-eau-de-vie; blinde duplo's

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

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

3) Het volgende hoofdstuk VIII wordt ingevoegd:

„VIII. TOTALE SUIKERS

1. Toepassingsgebied

De HPLC-RI-methode wordt gebruikt voor de bepaling van de totale suikers (uitgedrukt als invertsuiker) in gedistilleerde dranken, met uitzondering van likeur die eieren of zuivelproducten bevat.

De methode werd gevalideerd met een interlaboratoriumonderzoek voor pastis, gedistilleerde anijs, kersenlikeur, crème de (gevolgd door de naam van een vrucht of van de grondstof) en crème de cassis, met gehalten tussen 10,86 g/l en 509,7 g/l. De lineariteit van de respons van het instrument werd echter aangetoond voor een concentratie tussen 2,5 g/l en 20,0 g/l.

Deze methode is niet geschikt om lage suikergehaltes te bepalen.

2. Referentienormen

ISO 3696:1987 Water voor analyses — Specificaties en testmethoden.

3. Principe

Hogedrukvlloeistofchromatografie van suikeroplossingen om hun glucose-, fructose-, sucrose-, maltose- en lactoseconcentratie te bepalen.

Bij deze methode, die als voorbeeld wordt gegeven, wordt gebruikgemaakt van een alkylamine als stationaire fase en voor de detectie wordt differentiële refractometrie toegepast. Een andere mogelijkheid is om anionenwisselaarshars als stationaire fase te gebruiken.

4. Reagentia en materialen

- 4.1. Glucose (CAS 50-99-7) met een zuiverheid van ten minste 99 %.
- 4.2. Fructose (CAS 57-48-7) met een zuiverheid van ten minste 99 %.
- 4.3. Sucrose (CAS 57-50-1) met een zuiverheid van ten minste 99 %.
- 4.4. Lactose (CAS 5965-66-2) met een zuiverheid van ten minste 99 %.
- 4.5. Maltosemonohydraat (CAS 6363-53-7) met een zuiverheid van ten minste 99 %.
- 4.6. Zuiver acetonitril (CAS 75-05-8) voor HPLC-analyse.
- 4.7. Gedistilleerd of gedemineraliseerd water, bij voorkeur gemicrofiltreerd.
- 4.8. Oplosmiddelen (voorbeeld)

De elutievloeistof bestaat uit:

75 volume-eenheden acetonitril (4.6)

25 volume-eenheden gedistilleerd water (4.7)

Laat helium gedurende vijf à tien minuten langzaam stromen vóór de ontgassing van het oplosmiddel.

Indien het gebruikte water niet gemicrofiltreerd is, moet het oplosmiddel worden gefiltreerd met een filter voor organische oplosmiddelen met een poriëndiameter kleiner dan of gelijk aan 0,45 µm.

- 4.9. Ethanol absoluut (CAS 64-17-5).
- 4.10. Ethanoloplossing (5 %, v/v).
- 4.11. Bereiding van de standaardstockoplossing (20 g/l)

Weeg 2 g van elk van de te analyseren suikers (4.1 tot en met 4.5) af en breng zonder verlies in een maatkolf van 100 ml. (2,11 g maltosemonohydraat is equivalent met 2 g maltose).

Leng aan tot 100 ml met alcoholoplossing 5 % vol. (4.10); schud en bewaar bij ong. + 4 °. Bereid wekelijks een nieuwe stockoplossing.

- 4.12. Bereiding van werkstandaardoplossingen (2,5; 5,0; 7,5; 10,0 en 20,0 g/l)

Verdun de stockoplossing 20 g/l (4.11) met een alcoholoplossing 5 % vol. (4.10) tot vijf werkstandaarden van respectievelijk 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 en 20,0 g/l. Filtreer met een filter met een poriëndiameter kleiner dan of gelijk aan 0,45 µm (5.3).

5. **Apparatuur**

5.1. HPLC-systeem waarmee een basislijnresolutie van alle suikers kan worden bereikt.

5.1.1. Hogedrukvloeistofchromatograaf met een 6-poort-injectiekraan en een 10 µl-monsterlus of een ander automatisch of manueel instrument voor betrouwbare injectie van microvolumes.

5.1.2. Pompsysteem waarmee een zeer precieze constante of geprogrammeerde loopsnelheid kan worden bereikt en behouden.

5.1.3. Differentiële refractometer.

5.1.4. Verwerkingsintegrator of recorder die compatibel is met de rest van het systeem.

5.1.5. Voorkolom:

Aanbevolen wordt een voorkolom te bevestigen aan de kolom.

5.1.6. Kolom (voorbeeld):

Materiaal: roestvrij staal of glas.

Binnendiameter: 2-5 mm.

Lengte: 100-250 mm (afhankelijk van de vulling, bijvoorbeeld 250 mm bij partikels met een diameter van 5 µm).

Stationaire fase: aan silica gebonden functionele alkylaminegroepen; deeltjesgrootte: maximaal 5 µm.

5.1.7. Omstandigheden voor chromatografie (voorbeeld):

Elutievloeistof (4.8), loopsnelheid: 1 ml/min.

Detectie: differentiële refractometer.

Om zeker te zijn dat de detector helemaal stabiel is, dient hij een paar uur vóór gebruik te worden aangezet. Vul de referentiecel met de elutievloeistof.

5.2. Analytische balans, tot op 0,1 mg nauwkeurig.

5.3. Filtratiesysteem voor kleine volumes met een micromembraan van 0,45 µm.

6. **Bewaring van monsters**

Zodra de monsters zijn ontvangen, moeten ze vóór de analyse bij kamertemperatuur worden bewaard.

7. **Werkwijze**

7.1. DEEL A: Bereiding van het monster

7.1.1. Schud het monster.

7.1.2. Filtreer het monster door een filter met een poriëndiameter kleiner dan of gelijk aan 0,45 µm (5.3).

7.2. DEEL B: HPLC

7.2.1. Bepaling

Injecteer 10 µl van de standaardoplossingen (4.12) en monsters (7.1.2). Voer de analyse uit onder geschikte chromatografische omstandigheden, bijvoorbeeld zoals hierboven beschreven.

- 7.2.2. Indien de piek van een van de monsters groter (of hoger) is dan de overeenkomstige piek van de meest geconcentreerde standaard, dient het monster te worden verdund met gedistilleerd water en dient het opnieuw te worden geanalyseerd.

8. Berekening

Vergelijk de twee chromatogrammen voor de standaardoplossing en de gedistilleerde drank. Identificeer de pieken op basis van de retentietijden. Meet het piekoppervlak (of de piekhoogte) om de concentraties te berekenen aan de hand van de externestandaardmethode. Hou rekening met eventuele verdunningen van het monster.

Het uiteindelijke resultaat is de som van sucrose, maltose, lactose, glucose en fructose, uitgedrukt in invertsuiker in g/l.

Invertsuiker wordt berekend als de som van alle aanwezige monosachariden en reducerende disachariden plus de stoichiometrische hoeveelheid glucose en fructose uit de sucrose.

$$\text{Invertsuiker (g/l)} = \text{glucose (g/l)} + \text{fructose (g/l)} + \text{maltose (g/l)} + \text{lactose (g/l)} + (\text{sucrose (g/l)} \times 1,05)$$

$$1,05 = (\text{molecuulmassa van fructose} + \text{molecuulmassa van glucose}) / \text{molecuulmassa van sucrose}$$

9. Karakteristieken van de resultaten van de methode (precisie)

9.1. Statistische resultaten van het interlaboratoriumonderzoek

Een internationaal onderzoek naar de resultaten van de methode, uitgevoerd volgens internationaal overeengekomen procedures, heeft de volgende gegevens opgeleverd [1] [2]:

Jaar van het interlaboratoriumonderzoek	2000
Aantal laboratoria	24
Aantal monsters	8

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

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

Tabel 1

Fructose, Glucose, Maltose

Analyt	Fructose		Glucose			Maltose	
Monsters (× 2)	Crème de Cassis	Standaard (50 g/l)	Met anijs gearomati-seerde gedistil-leerde drank	Crème de Cassis	Standaard (50 g/l)	Met anijs gearomati-seerde gedistil-leerde drank	Standaard (10 g/l)
Gemiddelde waarde [g/l]	92,78	50,61	15,62	93,16	50,06	15,81	9,32
Aantal laboratoria zonder uitbijters	21	22	21	23	19	21	22
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, s_r [g/l]	2,34	2,12	0,43	3,47	1,01	0,48	0,54

Analyt	Fructose		Glucose			Maltose	
Monsters ($\times 2$)	Crème de Cassis	Standaard (50 g/l)	Met anijs gearomati-seerde gedistil-leerde drank	Crème de Cassis	Standaard (50 g/l)	Met anijs gearomati-seerde gedistil-leerde drank	Standaard (10 g/l)
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, RSD_r [%]	2,53	4,2	2,76	3,72	2,03	3,02	5,77
Herhaalbaarheidsgrens, r [g/l] ($r = 2,8 \times sr$)	6,56	5,95	1,21	9,71	2,84	1,34	1,51
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, s_R [g/l]	7,72	3,13	0,84	9,99	2,7	0,88	1,4
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, RSD_R [%]	8,32	6,18	5,37	10,72	5,4	5,54	15,06
Reproduceerbaarheidsgrens, R [g/l] ($R = 2,8 \times sR$)	21,62	8,76	2,35	27,97	7,57	2,45	3,93

Tabel 2

Sucrose

Analyt	Sucrose					
Monsters	Pastis	Ouzo	Kersenlikeur	Crème de Menthe	Crème de Cassis	Standaard (100 g/l)
Gemiddelde waarde [g/l]	10,83	29,2 19,7 (*)	103,33	349,96	319,84	99,83
Aantal laboratoria zonder uitbijters	19	19	20	18	18	18
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, s_r [g/l]	0,09	0,75	2,17	5,99	4,31	1,25
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, RSD_r [%]	0,81	3,07	2,1	1,71	1,35	1,25
Herhaalbaarheidsgrens, r [g/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,25	2,1	6,07	16,76	12,06	3,49
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, s_R [g/l]	0,79	0,92	4,18	9,94	16,11	4,63
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, RSD_R [%]	7,31	3,76	4,05	2,84	5,04	4,64
Reproduceerbaarheidsgrens, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	2,22	2,57	11,7	27,84	45,12	12,97

(*) Twee gehalten.

Tabel 3

Totale suikers

(Opmerking: Deze gegevens werden berekend voor de totale suikers, niet voor invertsuiker als omschreven in punt 8 hierboven.)

Monsters	Pastis	Ouzo	Met anijs gearomatiseerde gedistilleerde drank	Kersenlikeur	Crème de Menthe	Crème de Cassis	Standaard (220 g/l)
Gemiddelde waarde [g/l]	10,86	29,2 19,7 (*)	31,59	103,33	349,73	509,69	218,78
Aantal laboratoria zonder uitbijters	20	19	20	20	18	18	19
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, s_r [g/l]	0,13	0,75	0,77	2,17	5,89	5,59	2,71
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, RSD_r [%]	1,16	3,07	2,45	2,1	1,69	1,1	1,24
Herhaalbaarheidsgrens, r [g/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,35	2,1	2,17	6,07	16,5	15,65	7,59
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, s_R [g/l]	0,79	0,92	1,51	4,18	9,98	14,81	8,53
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, RSD_R [%]	7,25	3,76	4,79	4,04	2,85	2,91	3,9
Reproduceerbaarheidsgrens, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	2,21	2,57	4,24	11,7	27,94	41,48	23,89

(*) Twee gehalten.”.

4) Het volgende hoofdstuk X wordt toegevoegd:

„X. **BEPALING VAN DE VOLGENDE UIT HOUT AFKOMSTIGE VERBINDINGEN IN GEDISTILLEERDE DRANKEN DOOR MIDDEL VAN HOGEDRUKVLOEISTOFCHROMATOGRAPHIE (HPLC): FURFURAL, 5-HYDROXYMETHYLFURFURAL, 5-METHYLFURFURAL, VANILLINE, SYRINGALDEHYDE, CONIFERALDEHYDE, SINAPALDEHYDE, GALLUSZUUR, ELLAGZUUR, VANILLINEZUUR, SYRINGAZUUR EN SCOPOLETINE**

1. **Toepassingsgebied**

Deze methode is geschikt voor de bepaling van furfural, 5-hydroxymethylfurfural, 5-methylfurfural, vanilline, syringaldehyde, coniferaldehyde, sinapaldehyde, galluszuur, ellagzuur, vanillinezuur, syringazuur en scopoletine door middel van hogedrukvlloeistofchromatografie.

2. **Referentienormen**

Analysemethode die door de algemene vergadering van de Internationale Organisatie voor Wijnbouw en Wijnbereiding (OIV) is erkend en gepubliceerd met referentie OIV-MA-BS-16:R2009.

3. **Principe**

Bepaling door hogedrukvlloeistofchromatografie (HPLC) met detectie door middel van UV-spectrofotometrie op verschillende golflengten en door middel van spectrofluorimetrie.

4. Reagentia

De reagentia moeten van analysekwaliteit zijn. Het gebruikte water dient gedestilleerd water of water van ten minste gelijkwaardige zuiverheid te zijn. Gebruik bij voorkeur gemicrofiltreerd water met een soortelijke weerstand van 18,2 MΩ.cm.

4.1. Alcohol 96 % vol.

4.2. Methanol van HPLC-kwaliteit (oplosmiddel B).

4.3. Azijnzuur, verdund tot 0,5 % vol. (oplosmiddel A).

4.4. Mobiele fasen (voorbeeld):

Oplosmiddel A (azijnzuur 0,5 % vol.) en oplosmiddel B (zuivere methanol). Filtreer door een membraan (porositeit 0,45 µm). Ontgas zo nodig in een ultrasoon bad.

4.5. Referentiestandaarden min. 99 % zuiver: furfural, 5-hydroxymethylfurfural, 5-methylfurfural, vanilline, syringaldehyde, coniferaldehyde, sinapaldehyde, galluszuur, ellagzuur, vanillinezuur, syringazuur en scopoletine.

4.6. Referentieoplossing: de standaarden worden opgelost in een 50 % vol. alcohol-watmengsel. De uiteindelijke concentraties in de referentieoplossing moeten als volgt zijn:

furfural: 5 mg/l; 5-hydroxymethylfurfural: 10 mg/l; 5-methylfurfural: 2 mg/l; vanilline: 5 mg/l; syringaldehyde: 10 mg/l; coniferaldehyde: 5 mg/l; sinapaldehyde: 5 mg/l; galluszuur: 10 mg/l; ellagzuur: 10 mg/l; vanillinezuur: 5 mg/l; syringazuur: 5 mg/l; scopoletine: 0,5 mg/l.

5. Apparatuur

Standaardlaboratoriumapparatuur

5.1. Hogedrukvlloeistofchromatograaf met pompsysteem voor het creëren van binaire gradiënten en met:

5.1.1. een spectrofotometrische detector met een golflengtebereik van 260 tot en met 340 nm. Gebruik bij voorkeur een diodearraydetector (of vergelijkbaar) die meerdere golflengtes meet, om de piekzuiverheid te beoordelen;

5.1.2. een spectrofluorimetrische detector — excitatiegolflengte: 354 nm; emissiegolflengte: 446 nm (voor de bepaling van sporen van scopoletine; ook detecteerbaar bij 313 nm met spectrofotometrie);

5.1.3. een injector die (bijvoorbeeld) 10 of 20 µl van het monster kan injecteren;

5.1.4. een RP-HPLC-kolom, C 18, maximale partikelgrootte 5 µm.

5.2. HPLC-spuiten.

5.3. Membraanfiltratiesysteem voor kleine volumes.

5.4. Verwerkingsintegrator of recorder die compatibel is met de rest van het systeem en die in het bijzonder beschikt over verschillende kanalen.

6. Werkwijze

6.1. Bereiding van de te injecteren oplossing

De referentieoplossing en de gedistilleerde drank worden, indien nodig, gefiltreerd door een membraan met een poriëndiameter van maximaal 0,45 µm.

- 6.2. Chromatografische omstandigheden: voer de analyse uit bij kamertemperatuur met behulp van de in punt 5.1 beschreven apparatuur en met de mobiele fasen (4.4) bij een loopsnelheid van ongeveer 0,6 ml/min. volgens de gradiënt hieronder (voorbeeld).

Tijdstip: 0 min. — 50 min. — 70 min. — 90 min.

Oplosmiddel A (water-zuur): 100 % — 60 % — 100 % — 100 %

Oplosmiddel B (methanol): 0 % — 40 % — 0 % — 0 %

Opmerking: In sommige gevallen dient de gradiënt te worden gewijzigd om co-elutie te vermijden.

6.3. Bepaling

- 6.3.1. Injecteer de referentiestandaarden afzonderlijk en vervolgens gemengd.

Pas de bedrijfsomstandigheden aan zodat de resolutiefactor van de pieken van alle componenten ten minste gelijk aan 1 is.

- 6.3.2. Injecteer het monster als bereid in punt 6.1.

- 6.3.3. Meet de piekoppervlakten in de referentieoplossing en de gedistilleerde drank en bereken de concentraties.

7. Weergave van de resultaten

Geef de concentratie van elk bestanddeel weer in mg/l.

8. Karakteristieken van de resultaten van de methode (precisie)

Een internationaal onderzoek naar de resultaten van de methode, uitgevoerd in 2009 op een aantal uiteenlopende gedistilleerde dranken volgens internationaal overeengekomen procedures, heeft de volgende gegevens opgeleverd [1] [2]:

8.1. Furfural

Analyt	Furfural					
Monsters	Whisky	Brandy	Rum	Cognac 1	Bourbon	Cognac 2
Aantal deelnemende laboratoria	15	15	15	15	15	15
Aantal geaccepteerde resultaten (laboratoria)	14	12	13	14	13	13
Gemiddelde waarde [mg/l]	2,9	1,2	1,7	10,6	15,3	13,9
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, s_r [mg/l]	0,04	0,05	0,04	0,18	0,23	0,20
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, RSD_r [%]	1,4	4,5	2,3	1,7	1,5	1,5

Analyt	Furfural					
Monsters	Whisky	Brandy	Rum	Cognac 1	Bourbon	Cognac 2
Herhaalbaarheidsgrens, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,2	0,1	0,5	0,6	0,6
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, s_R [mg/l]	0,24	0,18	0,09	1,4	0,49	0,69
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, RSD_R [%]	8	15	5	13	3	5
Reproduceerbaarheidsgrens, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,7	0,5	0,3	3,8	1,4	1,9

8.2. 5-hydroxymethylfurfural

Analyt	5-hydroxymethylfurfural					
Monsters	Whisky	Brandy	Rum	Cognac 1	Bourbon	Cognac 2
Aantal deelnemende laboratoria	16	16	16	16	16	16
Aantal geaccepteerde resultaten (laboratoria)	14	14	14	14	14	14
Gemiddelde waarde [mg/l]	5,0	11,1	9,4	33,7	5,8	17,5
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, s_r [mg/l]	0,09	0,09	0,09	0,42	0,07	0,13
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, RSD_r [%]	1,7	0,8	1,0	1,3	1,2	0,8
Herhaalbaarheidsgrens, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,2	0,3	0,3	1,2	0,2	0,4
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, s_R [mg/l]	0,39	1,01	0,50	4,5	0,4	1,6
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, RSD_R [%]	8	9	5	13	7	9
Reproduceerbaarheidsgrens, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	1,1	2,8	1,4	12,5	1,1	4,6

8.3. 5-methylfurfural

Analyt	5-methylfurfural					
Monsters	Whisky	Brandy	Rum	Cognac 1	Bourbon	Cognac 2
Aantal deelnemende laboratoria	11	11	11	11	11	11
Aantal geaccepteerde resultaten (laboratoria)	11	11	8	11	10	11
Gemiddelde waarde [mg/l]	0,1	0,2	0,1	0,5	1,7	0,8
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, s_r [mg/l]	0,01	0,01	0,02	0,02	0,03	0,07
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, RSD_r [%]	10,7	6,1	13,6	4,7	2,0	10,0
Herhaalbaarheidsgrens, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,2
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, s_R [mg/l]	0,03	0,04	0,03	0,18	0,20	0,26
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, RSD_R [%]	35	18	22	39	12	35
Reproduceerbaarheidsgrens, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,1	0,1	0,1	0,5	0,6	0,7

8.4. Vanilline

Analyt	Vanilline					
Monsters	Whisky	Brandy	Rum	Cognac 1	Bourbon	Cognac 2
Aantal deelnemende laboratoria	16	15	16	16	16	16
Aantal geaccepteerde resultaten (laboratoria)	16	15	16	16	16	16
Gemiddelde waarde [mg/l]	0,5	0,2	1,2	1,2	3,2	3,9
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, s_r [mg/l]	0,03	0,02	0,06	0,11	0,11	0,09

Analyt	Vanilline					
Monsters	Whisky	Brandy	Rum	Cognac 1	Bourbon	Cognac 2
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, RSD_r [%]	6,8	9,6	4,6	8,9	3,5	2,3
Herhaalbaarheidsgrens, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3	0,3
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, s_R [mg/l]	0,09	0,06	0,18	0,27	0,41	0,62
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, RSD_R [%]	19	25	15	22	13	16
Reproduceerbaarheidsgrens, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,3	0,2	0,5	0,8	1,2	1,7

8.5. Syringaldehyde

Analyt	Syringaldehyde					
Monsters	Whisky	Brandy	Rum	Cognac 1	Bourbon	Cognac 2
Aantal deelnemende laboratoria	16	15	16	16	16	16
Aantal geaccepteerde resultaten (laboratoria)	13	13	13	12	14	13
Gemiddelde waarde [mg/l]	1,0	0,2	4,8	3,2	10,5	9,7
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, s_r [mg/l]	0,03	0,02	0,04	0,08	0,10	0,09
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, RSD_r [%]	2,6	8,1	0,8	2,6	0,9	0,9
Herhaalbaarheidsgrens, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, s_R [mg/l]	0,08	0,07	0,23	0,19	0,39	0,43
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, RSD_R [%]	8	33	5	6	4	4
Reproduceerbaarheidsgrens, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,2	0,2	0,7	0,5	1,1	1,2

8.6. Coniferaldehyde

Analyt	Coniferaldehyde					
Monsters	Whisky	Brandy	Rum	Cognac 1	Bourbon	Cognac 2
Aantal deelnemende laboratoria	13	12	13	12	13	13
Aantal geaccepteerde resultaten (laboratoria)	12	12	13	12	13	13
Gemiddelde waarde [mg/l]	0,2	0,2	0,6	0,8	4,6	1,3
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, s_r [mg/l]	0,02	0,02	0,03	0,03	0,09	0,06
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, RSD_r [%]	9,2	9,8	4,6	4,3	1,9	4,5
Herhaalbaarheidsgrens, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,04	0,04	0,07	0,09	0,24	0,16
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, s_R [mg/l]	0,04	0,04	0,11	0,18	0,38	0,25
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, RSD_R [%]	23	27	21	23	8	19
Reproduceerbaarheidsgrens, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,1	0,1	0,3	0,5	1,1	0,7

8.7. Sinapaldehyde

Analyt	Sinapaldehyde					
Monsters	Whisky	Brandy	Rum	Cognac 1	Bourbon	Cognac 2
Aantal deelnemende laboratoria	14	14	14	14	15	14
Aantal geaccepteerde resultaten (laboratoria)	14	13	12	13	13	12
Gemiddelde waarde [mg/l]	0,3	0,2	0,2	1,6	8,3	0,3
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, s_r [mg/l]	0,02	0,01	0,02	0,06	0,14	0,03

Analyt	Sinapaldehyde					
Monsters	Whisky	Brandy	Rum	Cognac 1	Bourbon	Cognac 2
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, RSD_r [%]	7,5	4,6	11,2	3,7	1,6	11,4
Herhaalbaarheidsgrens, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,06	0,03	0,06	0,17	0,38	0,08
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, s_R [mg/l]	0,09	0,05	0,08	0,20	0,81	0,18
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, RSD_R [%]	31	27	46	13	10	73
Reproduceerbaarheidsgrens, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,2	0,2	0,2	0,6	2,3	0,5

8.8. Galluszuur

Analyt	Galluszuur					
Monster	Whisky	Brandy	Rum	Cognac 1	Bourbon	Cognac 2
Aantal deelnemende laboratoria	16	15	16	16	16	16
Aantal geaccepteerde resultaten (laboratoria)	15	14	16	16	16	16
Gemiddelde waarde [mg/l]	1,2	0,4	2,0	6,1	7,3	21,8
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, s_r [mg/l]	0,07	0,04	0,06	0,18	0,18	0,60
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, RSD_r [%]	6,1	8,1	2,9	3,0	2,4	2,8
Herhaalbaarheidsgrens, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,2	0,1	0,2	0,5	0,5	1,7
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, s_R [mg/l]	0,43	0,20	0,62	3,3	2,2	7,7
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, RSD_R [%]	36	47	31	53	30	35
Reproduceerbaarheidsgrens, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	1,2	0,6	1,7	9,1	6,2	21,7

8.9. Ellagzuur

Analyt	Ellagzuur					
Monsters	Whisky	Brandy	Rum	Cognac 1	Bourbon	Cognac 2
Aantal deelnemende laboratoria	7	7	7	7	7	7
Aantal geaccepteerde resultaten (laboratoria)	7	7	7	7	7	6
Gemiddelde waarde [mg/l]	3,2	1,0	9,5	13	13	36
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, s_r [mg/l]	0,20	0,16	0,30	0,41	0,95	0,34
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, RSD_r [%]	6,3	16	3,2	3,2	7,4	1,0
Herhaalbaarheidsgrens, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,6	0,4	0,9	1,1	2,7	1,0
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, s_R [mg/l]	1,41	0,42	4,0	5,0	4,9	14
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, RSD_R [%]	44	43	42	39	39	40
Reproduceerbaarheidsgrens, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	4,0	1,2	11	14	14	40

8.10. Vanillinezuur

Analyt	Vanillinezuur					
Monsters	Whisky	Brandy	Rum	Cognac 1	Bourbon	Cognac 2
Aantal deelnemende laboratoria	15	15	15	15	15	15
Aantal geaccepteerde resultaten (laboratoria)	12	11	14	14	15	14
Gemiddelde waarde [mg/l]	0,2	0,2	1,5	0,8	2,4	2,7
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, s_r [mg/l]	0,03	0,04	0,03	0,10	0,13	0,21

Analyt	Vanillinezuur					
Monsters	Whisky	Brandy	Rum	Cognac 1	Bourbon	Cognac 2
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, RSD_r [%]	14,2	16,5	2,3	12,6	5,3	7,7
Herhaalbaarheidsgrens, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,1	0,1	0,3	0,4	0,6
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, s_R [mg/l]	0,06	0,05	0,51	0,2	1,22	0,70
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, RSD_R [%]	28	20	35	31	51	26
Reproduceerbaarheidsgrens, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,2	0,1	1,4	0,7	3,4	2,0

8.11. Syringazuur

Analyt	Syringazuur					
Monsters	Whisky	Brandy	Rum	Cognac 1	Bourbon	Cognac 2
Aantal deelnemende laboratoria	16	15	16	16	16	16
Aantal geaccepteerde resultaten (laboratoria)	16	15	15	15	16	15
Gemiddelde waarde [mg/l]	0,4	0,2	2,5	1,4	3,4	4,8
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, s_r [mg/l]	0,03	0,02	0,06	0,13	0,08	0,11
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, RSD_r [%]	6,7	12,6	2,3	9,0	2,3	2,3
Herhaalbaarheidsgrens, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,1	0,2	0,4	0,2	0,3
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, s_R [mg/l]	0,08	0,05	0,29	0,26	0,43	0,67
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, RSD_R [%]	19	29	11	18	13	14
Reproduceerbaarheidsgrens, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,2	0,1	0,8	0,7	1,2	1,9

8.12. Scopoletine

Analyt	Scopoletine					
Monsters	Whisky	Brandy	Rum	Cognac 1	Bourbon	Cognac 2
Aantal deelnemende laboratoria	10	10	10	10	10	10
Aantal geaccepteerde resultaten (laboratoria)	9	8	9	8	8	8
Gemiddelde waarde [mg/l]	0,09	0,04	0,11	0,04	0,65	0,15
Standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, s_r [mg/l]	0,0024	0,0008	0,0018	0,0014	0,0054	0,0040
Relatieve standaarddeviatie van de herhaalbaarheid, RSD_r [%]	2,6	2,2	1,6	3,3	0,8	2,7
Herhaalbaarheidsgrens, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,007	0,002	0,005	0,004	0,015	0,011
Standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, s_R [mg/l]	0,01	0,01	0,03	0,01	0,09	0,02
Relatieve standaarddeviatie van de reproduceerbaarheid, RSD_R [%]	15	16	23	17	15	15
Reproduceerbaarheidsgrens, 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, blz. 332-343.

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