

## II

(Atos não legislativos)

## REGULAMENTOS

## REGULAMENTO DE EXECUÇÃO (UE) 2016/635 DA COMISSÃO

de 22 de abril de 2016

**que altera o anexo do Regulamento (CE) n.º 2870/2000 no que respeita a certos métodos de análise de referência aplicáveis no setor das bebidas espirituosas**

A COMISSÃO EUROPEIA,

Tendo em conta o Tratado sobre o Funcionamento da União Europeia,

Tendo em conta o Regulamento (CE) n.º 110/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 15 de janeiro de 2008, relativo à definição, designação, apresentação, rotulagem e proteção das indicações geográficas das bebidas espirituosas e que revoga o Regulamento (CEE) n.º 1576/89 do Conselho <sup>(1)</sup>, nomeadamente o artigo 28.º, n.º 2,

Considerando o seguinte:

- (1) O Regulamento (CE) n.º 2870/2000 da Comissão <sup>(2)</sup> enumera e descreve os métodos de análise comunitários de referência aplicáveis no setor das bebidas espirituosas. No entanto, alguns dos métodos enumerados no anexo do referido regulamento, designadamente os métodos para a determinação da acidez volátil e açúcares totais em bebidas espirituosas, ainda não se encontram descritos.
- (2) Os métodos para a determinação da acidez volátil e açúcares totais em determinadas bebidas espirituosas foram submetidos a dois estudos de validação internacionais, os quais foram efetuados em conformidade com procedimentos acordados a nível internacional, tendo os seus parâmetros de desempenho do método sido considerados aceitáveis. Os estudos foram levados a cabo no âmbito de um projeto de investigação ao abrigo do Quadro IV do Programa «Normas e Medições e Ensaios» (SMT) da Comissão Europeia. A descrição destes métodos deve, pois, ser incluída no anexo do Regulamento (CE) n.º 2870/2000.
- (3) O Regulamento (CE) n.º 110/2008 estabelece o requisito de que algumas categorias de bebidas espirituosas sejam envelhecidas em madeira e estipula que outras bebidas possam ser objeto de tal processo. A análise dos principais compostos provenientes da madeira pode ser útil ao avaliar se uma amostra é coerente com a definição correspondente à categoria relevante de bebidas espirituosas. A Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV) reconheceu um método de análise para a determinação desses compostos na sua resolução OIV/OENO 382A/2009. O reconhecimento desse método teve como base dados obtidos a partir de um estudo internacional sobre o desempenho do método no que se refere a diferentes bebidas espirituosas, realizado em conformidade com procedimentos acordados a nível internacional. O referido método e a sua descrição devem, pois, ser adicionados aos métodos de análise comunitários de referência aplicáveis no setor das bebidas espirituosas definidos no anexo do Regulamento (CE) n.º 2870/2000.
- (4) O Regulamento (CE) n.º 2870/2000 deve, por conseguinte, ser alterado em conformidade.
- (5) As medidas previstas no presente regulamento estão em conformidade com o parecer do Comité para as Bebidas Espirituosas,

<sup>(1)</sup> JO L 39 de 13.2.2008, p. 16.

<sup>(2)</sup> Regulamento (CE) n.º 2870/2000 da Comissão, de 19 de dezembro de 2000, que estabelece métodos de análise comunitários de referência aplicáveis no setor das bebidas espirituosas (JO L 333 de 29.12.2000, p. 20).

ADOTOU O PRESENTE REGULAMENTO:

*Artigo 1.º*

O anexo do Regulamento (CE) n.º 2870/2000 é alterado em conformidade com o anexo do presente regulamento.

*Artigo 2.º*

O presente regulamento entra em vigor no terceiro dia seguinte ao da sua publicação no *Jornal Oficial da União Europeia*.

O presente regulamento é obrigatório em todos os seus elementos e diretamente aplicável em todos os Estados-Membros.

Feito em Bruxelas, em 22 de abril de 2016.

*Pela Comissão*  
*O Presidente*  
Jean-Claude JUNCKER

## ANEXO

O anexo do Regulamento (CE) n.º 2870/2000 é alterado do seguinte modo:

1) O índice é alterado do seguinte modo:

- a) Nos pontos III.3 e VIII, o termo «(p.m.)» é suprimido;
- b) É aditada a seguinte alínea:

«X. Determinação dos compostos de madeira: furfural, 5-hidroximetilfurfural, 5-metilfurfural, vanilina, siringaldeído, coniferaldeído, sinapaldeído, ácido gálico, ácido elágico, ácido vanílico, ácido siríngico e escopoletina.».

2) Ao Capítulo III é aditada a seguinte parte:

«III.3. DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ VOLÁTIL DE BEBIDAS ESPIRITUOSAS

1. **Âmbito**

O método foi validado num estudo interlaboratorial relativo a rum, brandy, bagaço e aguardentes de frutos, a níveis que variam entre 30 mg/l e 641 mg/l.

2. **Referências normativas**

ISO 3696: 1987 Água para fins analíticos — Especificações e métodos de ensaio.

3. **Definições**

- 3.1. A acidez volátil é calculada deduzindo a acidez fixa da acidez total.
- 3.2. A acidez total é a acidez titulável.
- 3.3. A acidez fixa é a acidez do resíduo após evaporação da bebida espirituosa até à secura.

4. **Princípio**

A acidez total e a acidez fixa são determinadas por titulação ou por potenciometria.

5. **Material e reagentes**

Salvo indicação em contrário, utilizar na análise apenas reagentes pro analyse reconhecidos e água de grau não inferior a 3 (escala da norma ISO 3696:1987).

- 5.1. Solução 0.01 M de hidróxido de sódio (NaOH)
- 5.2. Indicador misto.

Pesar 0,1 g de carmim de índigo e 0,1 g de vermelho de fenol.

Dissolver em 40 ml de água, completando com etanol até perfazer 100 ml.

6. **Aparelhagem e equipamento**

Aparelhagem indireta de laboratório, material de vidro de grau A e os seguintes elementos:

- 6.1. Bomba de água

- 6.2. Evaporador rotativo ou banho de ultrassons
- 6.3. Equipamento para a titulação potenciométrica (facultativo)

## 7. Colheita de amostras e amostras

As amostras devem ser armazenadas à temperatura ambiente até às análises.

## 8. Procedimento

### 8.1. Acidez total

#### 8.1.1. Preparação da amostra

A bebida espirituosa é irradiada com ultrassons (dispersão ultrassónica) ou agitada durante dois minutos sob vácuo para eliminar o dióxido de carbono, se necessário.

#### 8.1.2. Titulação

Pipetar 25 ml da bebida espirituosa num balão Erlenmeyer de 500 ml.

Adicionar cerca de 200 ml de água destilada, fervida e arrefecida (preparada diariamente), e 2 a 6 gotas de indicador misto (5.2).

Titular com a solução 0.01 M de hidróxido de sódio (5.1) até a cor amarelo-esverdeada se alterar para violeta, no caso das bebidas espirituosas incolores, e de amarelo-acastanhada para vermelho-acastanhada, no caso de bebidas de cor castanha.

A titulação pode ser igualmente efetuada por potenciometria, a pH 7,5.

Seja  $n_1$  ml o volume da solução 0.01 M de hidróxido de sódio adicionada.

#### 8.1.3. Cálculos

O teor de acidez total (AT), expresso em miliequivalentes por litro de álcool, é igual a  $0,4 \times n_1$ .

O teor de acidez total (AT'), expresso em mg de ácido acético por litro de álcool, é igual a  $24 \times n_1$ .

### 8.2. Acidez fixa

#### 8.2.1. Preparação da amostra

Evaporar até à secura 25 ml da bebida espirituosa:

Pipetar 25 ml da bebida espirituosa numa placa de evaporação cilíndrica de fundo plano com 55 mm de diâmetro. Durante a primeira hora de evaporação, a placa deve permanecer sobre a tampa do banho de água, para evitar que o líquido entre em ebulição, o que poderia provocar perdas por projeção.

Colocar a placa de evaporação num forno de secagem a 105 °C durante duas horas para completar a secagem. Deixar a placa arrefecer num exsiccador.

#### 8.2.2. Titulação

Dissolver o resíduo remanescente após evaporação com água destilada, fervida e arrefecida (preparada diariamente), perfazer um volume de cerca de 100 ml e adicionar 2 a 6 gotas de indicador misto (5.2).

Titular com a solução 0.01 M de hidróxido de sódio (ponto 5.1).

A titulação pode ser igualmente efetuada por potenciometria, a pH 7,5.

Seja  $n_2$  ml o volume da solução 0.01 M de hidróxido de sódio adicionada.

### 8.2.3. Cálculos

A acidez total (AT), expressa em miliequivalentes por litro de álcool, é igual a  $0,4 \times n_2$ .

A acidez fixa (AF), expressa em mg de ácido acético por litro de bebida espirituosa, é igual a  $24 \times n_2$ .

## 9. Cálculo da acidez volátil

### 9.1. Expressa em miliequivalentes por L:

Sejam:

AT = acidez total em miliequivalentes por L

AF = acidez fixa em miliequivalentes por L

Acidez volátil, AV, em miliequivalentes por L é igual a:

$$AT - AF$$

### 9.2. Expressa em mg de ácido acético por L:

Sejam:

AT' = acidez total expressa em mg de ácido acético por L

AF' = acidez fixa expressa em mg de ácido acético por L

Acidez volátil, AV, expressa em mg de ácido acético por L é igual a:

$$AT' - AF'$$

### 9.3. Expresso em g de ácido acético por hectolitro de álcool puro a 100 % vol. é igual a: $\frac{TA' - FA'}{A} \times 10$

em que A é o título alcoométrico volúmico da bebida espirituosa.

## 10. Características do desempenho do método (precisão)

### 10.1. Resultados estatísticos do teste interlaboratorial

Os dados a seguir discriminados foram obtidos com base num estudo internacional das características operacionais do método efetuado segundo uma metodologia internacionalmente acordada [1] [2].

|   |             |
|---|-------------|
| <b>Ano de realização do teste interlaboratorial</b> | <b>2000</b> |
| Número de laboratórios                              | 18          |
| Número de amostras                                  | 6           |

| Amostras  | A            | B    | C            | D    | E    | F    |
|---|--------------|------|--------------|------|------|------|
| Número de laboratórios considerado após eliminação dos casos anómalos | 16           | 18   | 18           | 14   | 18   | 18   |
| Número de casos anómalos (laboratórios)                               | 2            |      |              | 4    |      |      |
| Número de resultados aceites  | 32           | 36   | 36           | 28   | 36   | 36   |
| Mean value ( $\bar{x}$ ) [mg/L]                                       | 272*<br>241* | 30   | 591*<br>641* | 46   | 107  | 492  |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $s_r$ [mg/l]                         | 8,0          | 3,6  | 15,0         | 3,7  | 6,7  | 8,5  |
| Desvio-padrão relativo da repetibilidade, RSD <sub>r</sub> [%]        | 3,1          | 11,8 | 2,4          | 8,0  | 6,2  | 1,7  |
| Limite de repetibilidade, $r$ [mg/l]                                  | 23           | 10   | 42           | 10   | 19   | 24   |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $S_r$ [mg/l]                         | 8,5          | 8,4  | 25,0         | 4,55 | 13,4 | 24,4 |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, RSD <sub>R</sub> [%]     | 3,3          | 27,8 | 4,1          | 9,9  | 12,5 | 5,0  |
| Limite de reprodutibilidade, $R$ [mg/l]                               | 24           | 23   | 70           | 13   | 38   | 68   |

Tipos de amostra:

A Aguardente de ameixa; duplicados com teores diferentes \*

B Rum I; duplicados cegos

C Rum II; duplicados com teores diferentes\*

D *Slibovitz*; duplicados cegos

E *Brandy*; duplicados cegos

F Bagaço; duplicados cegos

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

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

3) É inserido o Capítulo VIII, como se segue:

## «VIII. AÇÚCARES TOTAIS

### 1. Âmbito

O método de HPLC-IR é aplicável no que se refere à determinação dos açúcares totais (expressos em açúcar invertido) das bebidas espirituosas, com exceção dos licores que contêm ovos e produtos lácteos.

O método foi validado num estudo interlaboratorial relativo a *pastis*, anis destilado, licor de cereja, *crème de* (seguido do nome do fruto ou da matéria-prima utilizados) e *crème de cassis*, a níveis que variam entre 10,86 g/l e 509,7 g/l. No entanto, a linearidade da resposta do instrumento foi demonstrada em relação ao intervalo de concentração entre 2,5 g/l e 20,0 g/l.

Este método não se destina a determinar baixos níveis de açúcares.

## 2. Referências normativas

ISO 3696:1987 Água para fins analíticos — Especificações e métodos de ensaio.

## 3. Princípio

Análises de cromatografia líquida de alta resolução de soluções de açúcar, a fim de determinar a sua concentração de glicose, frutose, sacarose, maltose e lactose.

Este método utiliza uma fase estacionária alquilamina e detecção refratométrica diferencial, sendo utilizado apenas como exemplo. A utilização de resinas de permuta aniónica como fase estacionária seria igualmente possível.

## 4. Material e reagentes

- 4.1. Glicose (CAS 50-99-7), pelo menos 99 % pura.
- 4.2. Frutose (CAS 57-48-7), pelo menos 99 % pura.
- 4.3. Sacarose (CAS 57-50-1), pelo menos 99 % pura.
- 4.4. Lactose (CAS 5965-66-2), pelo menos 99 % pura.
- 4.5. Maltose mono-hidratada (CAS 6363-53-7), pelo menos 99 % pura.
- 4.6. Acetonitrilo puro (CAS 75-05-8) para análise por HPLC.
- 4.7. Água destilada ou desmineralizada, de preferência microfiltrada.

### 4.8. Solventes (exemplo)

O solvente de eluição é composto por:

75 partes por volume de acetonitrilo (4.6),

25 partes por volume de água destilada (4.7).

Passar o hélio a baixo ritmo durante 5 a 10 minutos antes de o utilizar para eliminar o gás.

Se a água utilizada não tiver sido microfiltrada, o solvente deve ser filtrado com um filtro para solventes orgânicos, com um poro de dimensão inferior ou igual a 0,45 µm.

### 4.9. Etanol absoluto (CAS 64-17-5).

### 4.10. Solução de etanol (5 %, v/v).

### 4.11. Preparação da solução-mãe padrão (20 g/l)

Introduzir 2 g de cada um dos açúcares a analisar (4.1. a 4.5.) e transferi-los sem perdas para um balão volumétrico de 100 ml. (NB: 2,11 g de maltose mono-hidratada é equivalente a 2 g de maltose).

Adaptar para 100 ml com uma solução com 5 % vol. de álcool (4.10.), agitar e armazenar a cerca de + 4 °C. Preparar uma nova solução-mãe, uma vez por semana.

### 4.12. Preparação das soluções-padrão de trabalho (2,5; 5,0; 7,5; 10,0 e 20,0 g/l)

Diluir a solução-mãe, 20 g/l, (4.11) de forma adequada, com uma solução com 5 % vol. de álcool (4.10) para obter cinco padrões de trabalho de 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 e 20,0 g/l. Filtrar com um filtro de poro inferior ou igual a 0,45 µm (5.3.).

## 5. **Aparelhagem e equipamento**

5.1. Sistema de HPLC capaz de alcançar uma resolução de base do conjunto dos açúcares.

5.1.1. Cromatografia líquida de alta resolução com uma válvula de injeção de seis vias equipada com um circuito de 10 µL ou qualquer outro dispositivo, quer automático, quer manual, para uma injeção fiável de microvolumes.

5.1.2. Sistema de bombagem que permita obter e manter um caudal constante ou programado com grande precisão

5.1.3. Refratómetro diferencial.

5.1.4. Integrador ou registador informatizado, cujo desempenho seja compatível com o restante sistema.

5.1.5. Pré-coluna:

Recomenda-se a anexação de uma pré-coluna adequada à coluna analítica.

5.1.6. Coluna (exemplo):

Descrição: aço inoxidável ou vidro.

Diâmetro interno: 2-5 mm.

Comprimento: 100-250 mm (dependendo da granulometria), por exemplo, 250 mm, caso as partículas tenham 5 µm de diâmetro.

Fase estacionária: grupos funcionais de alquilamina ligados a sílica, granulometria máxima de 5 µm.

5.1.7. Condições cromatográficas (exemplo)

Solvente de eluição (4.8), taxa de fluxo: 1 ml/minuto.

Deteção: Refratometria diferencial.

A fim de assegurar que o detetor se encontra perfeitamente estável, este deve ser ligado algumas horas antes da utilização. A célula de referência deve ser preenchida com o solvente de eluição.

5.2. Balança analítica com exatidão de 0,1 mg.

5.3. Instalação de filtragem para pequenos volumes utilizando uma micromembrana de 0,45 µm.

## 6. **Armazenamento da amostra**

Após receção, as amostras devem ser armazenadas à temperatura ambiente até ao momento das análises.

## 7. **Procedimento**

7.1. PARTE A: Preparação das amostras

7.1.1. Agitar a amostra.

7.1.2. Filtrar a amostra através de um filtro com um poro de dimensão inferior ou igual a 0,45 µm (5.3).

7.2. PARTE B: HPLC

7.2.1. Determinação

Injetar 10 µL das soluções-padrão (4.12) e das amostras (7.1.2). Efetuar a análise nas devidas condições cromatográficas, nomeadamente as descritas *supra*.



- 7.2.2. Caso um pico de uma amostra apresente uma área (ou altura) maior do que a do pico correspondente da solução-padrão mais concentrada, a amostra deve ser diluída com água destilada e novamente analisada.

## 8. Cálculos

Comparar os dois cromatogramas obtidos para a solução-padrão e para a bebida espirituosa. Identificar os picos pelos seus tempos de retenção. Medir a sua área (ou altura) para calcular as concentrações pelo método do padrão externo. Ter em conta as diluições a que a amostra foi sujeita.

O resultado final é a soma de sacarose, lactose, maltose, glicose e frutose, expressa em açúcar invertido em g/l.

O teor de açúcar invertido é calculado como a soma dos mono e dissacáridos redutores presentes e da quantidade estequiométrica de glicose e frutose, calculada a partir da sacarose presente.

$$\text{Açúcar invertido (g/l)} = \text{glicose (g/l)} + \text{frutose (g/l)} + \text{maltose (g/l)} + \text{lactose (g/l)} + (\text{sacarose (g/l)} \times 1,05)$$

$$1,05 = \frac{(\text{Peso Molecular de frutose} + \text{Peso Molecular de glicose})}{\text{Peso Molecular de sacarose}}$$

## 9. Características do desempenho do método (precisão)

### 9.1. Resultados estatísticos do teste interlaboratorial

Os dados a seguir discriminados foram obtidos com base num estudo internacional das características operacionais do método efetuado segundo uma metodologia internacionalmente acordada [1] [2].

Ano de realização do teste interlaboratorial 2000

Número de laboratórios 24

Número de amostras 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".

### Quadro 1

#### Frutose, Glicose, Maltose

| Analitos  | Frutose         |                           | Glicose                    |                 |                           | Maltose                    |                           |
|---|-----------------|---------------------------|----------------------------|-----------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
|   | Crème de Cassis | De compra padrão (50 g/l) | Bebida espirituosa anisada | Crème de Cassis | De compra padrão (50 g/l) | Bebida espirituosa anisada | De compra padrão (10 g/l) |
| Valor médio [g/l]                                     | 92,78           | 50,61                     | 15,62                      | 93,16           | 50,06                     | 15,81                      | 9,32                      |
| Número de laboratórios sem casos anómalos             | 21              | 22                        | 21                         | 23              | 19                        | 21                         | 22                        |
| Desvio-padrão da repetibilidade, s <sub>r</sub> [g/l] | 2,34            | 2,12                      | 0,43                       | 3,47            | 1,01                      | 0,48                       | 0,54                      |

| Analitos  | Frutose         |                           | Glicose                    |                 |                           | Maltose                    |                           |
|---|-----------------|---------------------------|----------------------------|-----------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
|   | Crème de Cassis | De compra padrão (50 g/l) | Bebida espirituosa anisada | Crème de Cassis | De compra padrão (50 g/l) | Bebida espirituosa anisada | De compra padrão (10 g/l) |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_r$ [%]          | 2,53            | 4,2                       | 2,76                       | 3,72            | 2,03                      | 3,02                       | 5,77                      |
| Limite de repetibilidade, $r$ [g/l]<br>( $r = 2,8 \times sr$ )    | 6,56            | 5,95                      | 1,21                       | 9,71            | 2,84                      | 1,34                       | 1,51                      |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $S_R$ [mg/l]                     | 7,72            | 3,13                      | 0,84                       | 9,99            | 2,7                       | 0,88                       | 1,4                       |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_R$ [%]          | 8,32            | 6,18                      | 5,37                       | 10,72           | 5,4                       | 5,54                       | 15,06                     |
| Limite de reprodutibilidade, $R$ [g/l]<br>( $R = 2,8 \times sR$ ) | 21,62           | 8,76                      | 2,35                       | 27,97           | 7,57                      | 2,45                       | 3,93                      |

Quadro 2

## Sacarose

| Analitos   | Sacarose |                  |                 |                 |                 |                            |
|--|----------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------------------|
|  | Pastis   | Ouzo             | Licor de cereja | Crème de menthe | Crème de Cassis | De compra padrão (100 g/l) |
| Valor médio [g/l]  | 10,83    | 29,2<br>19,7 (*) | 103,33          | 349,96          | 319,84          | 99,83                      |
| Número de laboratórios sem casos anómalos                          | 19       | 19               | 20              | 18              | 18              | 18                         |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $s_r$ [g/l]                       | 0,09     | 0,75             | 2,17            | 5,99            | 4,31            | 1,25                       |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_r$ [%]           | 0,81     | 3,07             | 2,1             | 1,71            | 1,35            | 1,25                       |
| Limite de repetibilidade, $r$ [g/l]<br>( $r = 2,8 \times s_r$ )    | 0,25     | 2,1              | 6,07            | 16,76           | 12,06           | 3,49                       |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $S_R$ [mg/l]                      | 0,79     | 0,92             | 4,18            | 9,94            | 16,11           | 4,63                       |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_R$ [%]           | 7,31     | 3,76             | 4,05            | 2,84            | 5,04            | 4,64                       |
| Limite de reprodutibilidade, $R$ [g/l]<br>( $R = 2,8 \times s_R$ ) | 2,22     | 2,57             | 11,7            | 27,84           | 45,12           | 12,97                      |

(\*) duplicados com teores diferentes

## Quadro 3

## Açúcares totais

(Nota: estes dados foram calculados para os açúcares totais, e não para o açúcar invertido, tal como definido na Secção 8 supra.)

| Amostras   | Pastis | Ouzo             | Bebida espirituosa anisada | Licor de cereja | Crème de menthe | Crème de Cassis | De compra padrão (220 g/l) |
|--|--------|------------------|----------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------------------|
| Valor médio [g/l]  | 10,86  | 29,2<br>19,7 (*) | 31,59                      | 103,33          | 349,73          | 509,69          | 218,78                     |
| Número de laboratórios sem casos anómalos                          | 20     | 19               | 20                         | 20              | 18              | 18              | 19                         |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $s_r$ [g/l]                       | 0,13   | 0,75             | 0,77                       | 2,17            | 5,89            | 5,59            | 2,71                       |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_r$ [%]           | 1,16   | 3,07             | 2,45                       | 2,1             | 1,69            | 1,1             | 1,24                       |
| Limite de repetibilidade, $r$ [g/l]<br>( $r = 2,8 \times s_r$ )    | 0,35   | 2,1              | 2,17                       | 6,07            | 16,5            | 15,65           | 7,59                       |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $S_R$ [mg/l]                      | 0,79   | 0,92             | 1,51                       | 4,18            | 9,98            | 14,81           | 8,53                       |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_R$ [%]           | 7,25   | 3,76             | 4,79                       | 4,04            | 2,85            | 2,91            | 3,9                        |
| Limite de reprodutibilidade, $R$ [g/l]<br>( $R = 2,8 \times s_R$ ) | 2,21   | 2,57             | 4,24                       | 11,7            | 27,94           | 41,48           | 23,89                      |

(\*) duplicados com teores diferentes».

4) É aditado o Capítulo X, como se segue:

«X. DETERMINAÇÃO DOS SEGUINTE COMPOSTOS DE MADEIRA NAS BEBIDAS ESPIRITUOSAS POR CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUÇÃO (HPLC): FURFURAL, 5-HIDROXIMETILFURFURAL, 5-METILFURFURAL, VANILINA, SIRINGALDEÍDO, CONIFERALDEÍDO, SINAPALDEÍDO, ÁCIDO GÁLICO, ÁCIDO ELÁGICO, ÁCIDO VANÍLICO, ÁCIDO SIRÍNGICO E ESCOPOLETINA

1. **Âmbito**

O método diz respeito à determinação de furfural, 5-hidroximetilfurfural, 5-metilfurfural, vanilina, siringaldeído, coniferaldeído, sinapaldeído, ácido gálico, ácido elágico, ácido vanílico, ácido siríngico e escopoletina, por cromatografia líquida de alta resolução.

2. **Referências normativas**

Método de análise reconhecido pela Assembleia-Geral da Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV) e publicado pela OIV sob a referência OIV-MA-BS-16: R2009.

3. **Princípio**

Determinação por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC), com deteção por espectrofotometria ultravioleta a vários comprimentos de onda e por espectrofluorimetria.

#### 4. Reagentes

Os reagentes devem ser de qualidade analítica. A água utilizada deve ser destilada ou de pureza pelo menos equivalente. É preferível utilizar águas microfiltradas com uma resistividade de 18,2 M  $\Omega$ .cm.

- 4.1. Álcool a 96 % vol.
- 4.2. Metanol para HPLC (Solvente B).
- 4.3. Ácido acético diluído em 0,5 % vol. (Solvente A).
- 4.4. Fases móveis: (a título de exemplo, apenas).

Solvente A (0,5 % de ácido acético) e Solvente B (metanol puro). Filtrar através de uma membrana (porosidade 0,45  $\mu$ m). Eliminar o gás num banho de ultrassons, se necessário.

- 4.5. Padrões de referência com uma pureza mínima de 99 %: furfural, 5-hidroximetilfurfural, 5-metilfurfural, vanilina, siringaldeído, coniferaldeído, sinapaldeído, ácido gálico, ácido elágico, ácido vanílico, ácido siríngico e escopoletina.
- 4.6. Solução-padrão: as substâncias padrão são dissolvidas numa solução aquoso-alcoólica com 50 % vol. de álcool. As concentrações finais na solução de referência devem estar na ordem de:

furfural: 5 mg/l; 5-hidroximetil furfural: 10 mg/l; 5-metilfurfural 2 mg/l; vanilina: 5 mg/l; siringaldeído: 10 mg/l; coniferaldeído: 5 mg/l; sinapaldeído: 5 mg/l; Ácido gálico: 10 mg/l; ácido elágico: 10 mg/l; ácido vanílico: 5 mg/l; ácido siríngico: 5 mg/l; escopoletina: 0,5 mg/l.

#### 5. Utensílios

Material corrente de laboratório

- 5.1. Um cromatógrafo de fase líquida de alta resolução capaz de funcionar em modo de gradiente binário e equipado com:
  - 5.1.1. Um detetor espectrofotométrico capaz de medir a comprimentos de onda de 260 a 340 nm. No entanto, é preferível trabalhar com um detetor de vários comprimentos de onda com sistema de díodos, ou similar, a fim de confirmar a pureza dos picos.
  - 5.1.2. Um detetor espectralfluorimétrico — comprimento de onda de excitação: 354 nm, comprimento de onda emitido: 446 nm (para a determinação de escopoletina; que é também detetável por espectrofotometria a 313 nm).
  - 5.1.3. Um dispositivo de injeção com capacidade para introduzir 10 ou 20  $\mu$ L (por exemplo) da amostra em análise.
  - 5.1.4. Uma coluna para cromatografia líquida de alta resolução, tipo RP C18, dimensão máxima das partículas de 5  $\mu$ m.
- 5.2. Seringas para HPLC.
- 5.3. Dispositivo para filtração por membrana de pequenos volumes.
- 5.4. Computador integrador ou registador de desempenho compatível com toda a aparelhagem, devendo ter, em especial, vários canais de aquisição.

#### 6. Procedimento

- 6.1. Preparação da solução a injetar

A solução de referência e a bebida espirituosa são filtradas, se necessário, através de uma membrana com um poro com 0,45  $\mu$ m diâmetro máximo.

- 6.2. Condições de funcionamento da cromatografia: efetuar a análise à temperatura ambiente, seguindo as indicações fornecidas em 5.1, utilizando as fases móveis (4.4) com um fluxo de aproximadamente 0,6 ml por minuto de acordo com o seguinte gradiente (a título de exemplo, apenas)

Hora: 0 minutos 50 minutos 70 minutos 90 minutos

Solvente A (água-ácido): 100 % 60 % 100 % 100 %

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

Importa salientar que, em certos casos, o gradiente deve ser alterado a fim de evitar coeluições.

- 6.3. Determinação

- 6.3.1. Injetar os padrões de referência separadamente, e posteriormente combinados.

Adaptar as condições de funcionamento de modo a que os fatores de resolução dos picos de todos os compostos sejam iguais a, pelo menos, 1.

- 6.3.2. Injetar a amostra preparada em conformidade com o ponto 6.1.

- 6.3.3. Medir a área dos picos na solução de referência e na bebida espirituosa, calculando igualmente as concentrações.

## 7. Expressão dos resultados

A concentração de cada componente deve ser expressa em mg/l.

## 8. Características de desempenho do método (precisão)

Os dados a seguir discriminados foram obtidos em 2009, com base num estudo internacional sobre o desempenho do método relativamente a uma série de bebidas espirituosas, tendo aquele sido efetuado segundo uma metodologia acordada a nível internacional [1], [2].

- 8.1. Furfural

| Analitos   | Furfural |          |      |            |         |            |
|--|----------|----------|------|------------|---------|------------|
|  | Whisky   | Conhaque | Rum  | Conhaque 1 | Bourbon | Conhaque 2 |
| Número de laboratórios participantes                     | 15       | 15       | 15   | 15         | 15      | 15         |
| Número de resultados aceites (laboratórios)              | 14       | 12       | 13   | 14         | 13      | 13         |
| Valor médio [mg/l]                                       | 2,9      | 1,2      | 1,7  | 10,6       | 15,3    | 13,9       |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $s_r$ [mg/l]            | 0,04     | 0,05     | 0,04 | 0,18       | 0,23    | 0,20       |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_r$ [%] | 1,4      | 4,5      | 2,3  | 1,7        | 1,5     | 1,5        |

| Analitos   | Furfural |          |      |            |         |            |
|--|----------|----------|------|------------|---------|------------|
|  | Whisky   | Conhaque | Rum  | Conhaque 1 | Bourbon | Conhaque 2 |
| Limite de repetibilidade, r [mg/l]<br>( $r = 2,8 \times s_r$ )   | 0,1      | 0,2      | 0,1  | 0,5        | 0,6     | 0,6        |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $S_R$ [mg/l]                    | 0,24     | 0,18     | 0,09 | 1,4        | 0,49    | 0,69       |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_R$ [%]         | 8        | 15       | 5    | 13         | 3       | 5          |
| Limite de reprodutibilidade, R [g/l]<br>( $R = 2,8 \times s_R$ ) | 0,7      | 0,5      | 0,3  | 3,8        | 1,4     | 1,9        |

## 8.2. 5-Hidroximetilfurfural

| Analitos   | 5-Hidroximetilfurfural |          |      |            |         |            |
|--|------------------------|----------|------|------------|---------|------------|
|  | Whisky                 | Conhaque | Rum  | Conhaque 1 | Bourbon | Conhaque 2 |
| Número de laboratórios participantes                             | 16                     | 16       | 16   | 16         | 16      | 16         |
| Número de resultados aceites (laboratórios)                      | 14                     | 14       | 14   | 14         | 14      | 14         |
| Valor médio [mg/l]   | 5,0                    | 11,1     | 9,4  | 33,7       | 5,8     | 17,5       |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $s_r$ [mg/l]                    | 0,09                   | 0,09     | 0,09 | 0,42       | 0,07    | 0,13       |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_r$ [%]         | 1,7                    | 0,8      | 1,0  | 1,3        | 1,2     | 0,8        |
| Limite de repetibilidade, r [mg/l]<br>( $r = 2,8 \times s_r$ )   | 0,2                    | 0,3      | 0,3  | 1,2        | 0,2     | 0,4        |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $S_R$ [mg/l]                    | 0,39                   | 1,01     | 0,50 | 4,5        | 0,4     | 1,6        |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_R$ [%]         | 8                      | 9        | 5    | 13         | 7       | 9          |
| Limite de reprodutibilidade, R [g/l]<br>( $R = 2,8 \times s_R$ ) | 1,1                    | 2,8      | 1,4  | 12,5       | 1,1     | 4,6        |

## 8.3. 5-Metilfurfural

| Analitos   | 5-Metilfurfural |                |      |            |         |            |
|--|-----------------|----------------|------|------------|---------|------------|
|  | Whisky          | Conhaque       | Rum  | Conhaque 1 | Bourbon | Conhaque 2 |
| Número de laboratórios participantes                               | 11              | 11             | 11   | 11         | 11      | 11         |
| Número de resultados aceites (laboratórios)                        | 11              | 11             | 8    | 11         | 10      | 11         |
| Valor médio [mg/l]   | 0,1             | 0,2            | 0,1  | 0,5        | 1,7     | 0,8        |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $s_r$ [mg/l]                      | 0,01            | 0,01           | 0,02 | 0,02       | 0,03    | 0,07       |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_r$ [%]           | 10,7            | 6,1            | 13,6 | 4,7        | 2,0     | 10,0       |
| Limite de repetibilidade, $r$ [mg/l]<br>( $r = 2,8 \times s_r$ )   | <del>0,0</del>  | <del>0,0</del> | 0,1  | 0,1        | 0,1     | 0,2        |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $S_R$ [mg/l]                      | 0,03            | 0,04           | 0,03 | 0,18       | 0,20    | 0,26       |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_R$ [%]           | 35              | 18             | 22   | 39         | 12      | 35         |
| Limite de reprodutibilidade, $R$ [g/l]<br>( $R = 2,8 \times s_R$ ) | 0,1             | 0,1            | 0,1  | 0,5        | 0,6     | 0,7        |

## 8.4. Vanilina

| Analitos                                      | Vanilina |          |      |            |         |            |
|---|----------|----------|------|------------|---------|------------|
|   | Whisky   | Conhaque | Rum  | Conhaque 1 | Bourbon | Conhaque 2 |
| Número de laboratórios participantes          | 16       | 15       | 16   | 16         | 16      | 16         |
| Número de resultados aceites (laboratórios)   | 16       | 15       | 16   | 16         | 16      | 16         |
| Valor médio [mg/l]                            | 0,5      | 0,2      | 1,2  | 1,2        | 3,2     | 3,9        |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $s_r$ [mg/l] | 0,03     | 0,02     | 0,06 | 0,11       | 0,11    | 0,09       |

| Analitos   | Vanilina |          |      |            |         |            |
|--|----------|----------|------|------------|---------|------------|
|  | Whisky   | Conhaque | Rum  | Conhaque 1 | Bourbon | Conhaque 2 |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_r$ [%]           | 6,8      | 9,6      | 4,6  | 8,9        | 3,5     | 2,3        |
| Limite de repetibilidade, $r$ [mg/l]<br>( $r = 2,8 \times s_r$ )   | 0,1      | 0,1      | 0,2  | 0,3        | 0,3     | 0,3        |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $S_R$ [mg/l]                      | 0,09     | 0,06     | 0,18 | 0,27       | 0,41    | 0,62       |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_R$ [%]           | 19       | 25       | 15   | 22         | 13      | 16         |
| Limite de reprodutibilidade, $R$ [g/l]<br>( $R = 2,8 \times s_R$ ) | 0,3      | 0,2      | 0,5  | 0,8        | 1,2     | 1,7        |

## 8.5. Siringaldeído

| Analitos   | Siringaldeído |          |      |            |         |            |
|--|---------------|----------|------|------------|---------|------------|
|  | Whisky        | Conhaque | Rum  | Conhaque 1 | Bourbon | Conhaque 2 |
| Número de laboratórios participantes                               | 16            | 15       | 16   | 16         | 16      | 16         |
| Número de resultados aceites (laboratórios)                        | 13            | 13       | 13   | 12         | 14      | 13         |
| Valor médio [mg/l]   | 1,0           | 0,2      | 4,8  | 3,2        | 10,5    | 9,7        |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $s_r$ [mg/l]                      | 0,03          | 0,02     | 0,04 | 0,08       | 0,10    | 0,09       |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_r$ [%]           | 2,6           | 8,1      | 0,8  | 2,6        | 0,9     | 0,9        |
| Limite de repetibilidade, $r$ [mg/l]<br>( $r = 2,8 \times s_r$ )   | 0,1           | 0,1      | 0,1  | 0,2        | 0,3     | 0,3        |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $S_R$ [mg/l]                      | 0,08          | 0,07     | 0,23 | 0,19       | 0,39    | 0,43       |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_R$ [%]           | 8             | 33       | 5    | 6          | 4       | 4          |
| Limite de reprodutibilidade, $R$ [g/l]<br>( $R = 2,8 \times s_R$ ) | 0,2           | 0,2      | 0,7  | 0,5        | 1,1     | 1,2        |



## 8.6. Coniferaldeído

| Analitos   | Coniferaldeído |          |      |            |         |            |
|--|----------------|----------|------|------------|---------|------------|
|  | Whisky         | Conhaque | Rum  | Conhaque 1 | Bourbon | Conhaque 2 |
| Número de laboratórios participantes                               | 13             | 12       | 13   | 12         | 13      | 13         |
| Número de resultados aceites (laboratórios)                        | 12             | 12       | 13   | 12         | 13      | 13         |
| Valor médio [mg/l]   | 0,2            | 0,2      | 0,6  | 0,8        | 4,6     | 1,3        |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $s_r$ [mg/l]                      | 0,02           | 0,02     | 0,03 | 0,03       | 0,09    | 0,06       |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_r$ [%]           | 9,2            | 9,8      | 4,6  | 4,3        | 1,9     | 4,5        |
| Limite de repetibilidade, $r$ [mg/l]<br>( $r = 2,8 \times s_r$ )   | 0,04           | 0,04     | 0,07 | 0,09       | 0,24    | 0,16       |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $S_R$ [mg/l]                      | 0,04           | 0,04     | 0,11 | 0,18       | 0,38    | 0,25       |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_R$ [%]           | 23             | 27       | 21   | 23         | 8       | 19         |
| Limite de reprodutibilidade, $R$ [g/l]<br>( $R = 2,8 \times s_R$ ) | 0,1            | 0,1      | 0,3  | 0,5        | 1,1     | 0,7        |

## 8.7. Sinapaldeído

| Analitos                                      | Sinapaldeído |          |      |            |         |            |
|---|--------------|----------|------|------------|---------|------------|
|   | Whisky       | Conhaque | Rum  | Conhaque 1 | Bourbon | Conhaque 2 |
| Número de laboratórios participantes          | 14           | 14       | 14   | 14         | 15      | 14         |
| Número de resultados aceites (laboratórios)   | 14           | 13       | 12   | 13         | 13      | 12         |
| Valor médio [mg/l]                            | 0,3          | 0,2      | 0,2  | 1,6        | 8,3     | 0,3        |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $s_r$ [mg/l] | 0,02         | 0,01     | 0,02 | 0,06       | 0,14    | 0,03       |

| Analitos   | Sinapaldeído |          |      |            |         |            |
|--|--------------|----------|------|------------|---------|------------|
|  | Whisky       | Conhaque | Rum  | Conhaque 1 | Bourbon | Conhaque 2 |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_r$ [%]           | 7,5          | 4,6      | 11,2 | 3,7        | 1,6     | 11,4       |
| Limite de repetibilidade, $r$ [mg/l]<br>( $r = 2,8 \times s_r$ )   | 0,06         | 0,03     | 0,06 | 0,17       | 0,38    | 0,08       |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $S_R$ [mg/l]                      | 0,09         | 0,05     | 0,08 | 0,20       | 0,81    | 0,18       |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_R$ [%]           | 31           | 27       | 46   | 13         | 10      | 73         |
| Limite de reprodutibilidade, $R$ [g/l]<br>( $R = 2,8 \times s_R$ ) | 0,2          | 0,2      | 0,2  | 0,6        | 2,3     | 0,5        |

## 8.8. Ácido gálico

| Analitos   | Ácido gálico |          |      |            |         |            |
|--|--------------|----------|------|------------|---------|------------|
|  | Whisky       | Conhaque | Rum  | Conhaque 1 | Bourbon | Conhaque 2 |
| Número de laboratórios participantes                               | 16           | 15       | 16   | 16         | 16      | 16         |
| Número de resultados aceites (laboratórios)                        | 15           | 14       | 16   | 16         | 16      | 16         |
| Valor médio [mg/l]   | 1,2          | 0,4      | 2,0  | 6,1        | 7,3     | 21,8       |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $s_r$ [mg/l]                      | 0,07         | 0,04     | 0,06 | 0,18       | 0,18    | 0,60       |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_r$ [%]           | 6,1          | 8,1      | 2,9  | 3,0        | 2,4     | 2,8        |
| Limite de repetibilidade, $r$ [mg/l]<br>( $r = 2,8 \times s_r$ )   | 0,2          | 0,1      | 0,2  | 0,5        | 0,5     | 1,7        |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $S_R$ [mg/l]                      | 0,43         | 0,20     | 0,62 | 3,3        | 2,2     | 7,7        |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_R$ [%]           | 36           | 47       | 31   | 53         | 30      | 35         |
| Limite de reprodutibilidade, $R$ [g/l]<br>( $R = 2,8 \times s_R$ ) | 1,2          | 0,6      | 1,7  | 9,1        | 6,2     | 21,7       |

## 8.9. Ácido elágico

| Analitos   | Ácido elágico |          |      |            |         |            |
|--|---------------|----------|------|------------|---------|------------|
|  | Whisky        | Conhaque | Rum  | Conhaque 1 | Bourbon | Conhaque 2 |
| Número de laboratórios participantes                               | 7             | 7        | 7    | 7          | 7       | 7          |
| Número de resultados aceites (laboratórios)                        | 7             | 7        | 7    | 7          | 7       | 6          |
| Valor médio [mg/l]   | 3,2           | 1,0      | 9,5  | 13         | 13      | 36         |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $s_r$ [mg/l]                      | 0,20          | 0,16     | 0,30 | 0,41       | 0,95    | 0,34       |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_r$ [%]           | 6,3           | 16       | 3,2  | 3,2        | 7,4     | 1,0        |
| Limite de repetibilidade, $r$ [mg/l]<br>( $r = 2,8 \times s_r$ )   | 0,6           | 0,4      | 0,9  | 1,1        | 2,7     | 1,0        |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $S_R$ [mg/l]                      | 1,41          | 0,42     | 4,0  | 5,0        | 4,9     | 14         |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_R$ [%]           | 44            | 43       | 42   | 39         | 39      | 40         |
| Limite de reprodutibilidade, $R$ [g/l]<br>( $R = 2,8 \times s_R$ ) | 4,0           | 1,2      | 11   | 14         | 14      | 40         |

## 8.10. Ácido vanílico

| Analitos                                      | Ácido vanílico |          |      |            |         |            |
|---|----------------|----------|------|------------|---------|------------|
|   | Whisky         | Conhaque | Rum  | Conhaque 1 | Bourbon | Conhaque 2 |
| Número de laboratórios participantes          | 15             | 15       | 15   | 15         | 15      | 15         |
| Número de resultados aceites (laboratórios)   | 12             | 11       | 14   | 14         | 15      | 14         |
| Valor médio [mg/l]                            | 0,2            | 0,2      | 1,5  | 0,8        | 2,4     | 2,7        |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $s_r$ [mg/l] | 0,03           | 0,04     | 0,03 | 0,10       | 0,13    | 0,21       |

| Analitos   | Ácido vanílico |          |      |            |         |            |
|--|----------------|----------|------|------------|---------|------------|
|  | Whisky         | Conhaque | Rum  | Conhaque 1 | Bourbon | Conhaque 2 |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_r$ [%]           | 14,2           | 16,5     | 2,3  | 12,6       | 5,3     | 7,7        |
| Limite de repetibilidade, $r$ [mg/l]<br>( $r = 2,8 \times s_r$ )   | 0,1            | 0,1      | 0,1  | 0,3        | 0,4     | 0,6        |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $S_R$ [mg/l]                      | 0,06           | 0,05     | 0,51 | 0,2        | 1,22    | 0,70       |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_R$ [%]           | 28             | 20       | 35   | 31         | 51      | 26         |
| Limite de reprodutibilidade, $R$ [g/l]<br>( $R = 2,8 \times s_R$ ) | 0,2            | 0,1      | 1,4  | 0,7        | 3,4     | 2,0        |

## 8.11. Ácido siríntrico

| Analitos   | Ácido siríntrico |          |      |            |         |            |
|--|------------------|----------|------|------------|---------|------------|
|  | Whisky           | Conhaque | Rum  | Conhaque 1 | Bourbon | Conhaque 2 |
| Número de laboratórios participantes                               | 16               | 15       | 16   | 16         | 16      | 16         |
| Número de resultados aceites (laboratórios)                        | 16               | 15       | 15   | 15         | 16      | 15         |
| Valor médio [mg/l]   | 0,4              | 0,2      | 2,5  | 1,4        | 3,4     | 4,8        |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $s_r$ [mg/l]                      | 0,03             | 0,02     | 0,06 | 0,13       | 0,08    | 0,11       |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_r$ [%]           | 6,7              | 12,6     | 2,3  | 9,0        | 2,3     | 2,3        |
| Limite de repetibilidade, $r$ [mg/l]<br>( $r = 2,8 \times s_r$ )   | 0,1              | 0,1      | 0,2  | 0,4        | 0,2     | 0,3        |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $S_R$ [mg/l]                      | 0,08             | 0,05     | 0,29 | 0,26       | 0,43    | 0,67       |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_R$ [%]           | 19               | 29       | 11   | 18         | 13      | 14         |
| Limite de reprodutibilidade, $R$ [g/l]<br>( $R = 2,8 \times s_R$ ) | 0,2              | 0,1      | 0,8  | 0,7        | 1,2     | 1,9        |

## 8.12. Escopoletina

| Analitos   | Escopoletina |          |        |            |         |            |
|--|--------------|----------|--------|------------|---------|------------|
|  | Whisky       | Conhaque | Rum    | Conhaque 1 | Bourbon | Conhaque 2 |
| Amostras   |              |          |        |            |         |            |
| Número de laboratórios participantes                               | 10           | 10       | 10     | 10         | 10      | 10         |
| Número de resultados aceites (laboratórios)                        | 9            | 8        | 9      | 8          | 8       | 8          |
| Valor médio [mg/l]   | 0,09         | 0,04     | 0,11   | 0,04       | 0,65    | 0,15       |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $s_r$ [mg/l]                      | 0,0024       | 0,0008   | 0,0018 | 0,0014     | 0,0054  | 0,0040     |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_r$ [%]           | 2,6          | 2,2      | 1,6    | 3,3        | 0,8     | 2,7        |
| Limite de repetibilidade, $r$ [mg/l]<br>( $r = 2,8 \times s_r$ )   | 0,007        | 0,002    | 0,005  | 0,004      | 0,015   | 0,011      |
| Desvio-padrão da repetibilidade, $S_R$ [mg/l]                      | 0,01         | 0,01     | 0,03   | 0,01       | 0,09    | 0,02       |
| Desvio-padrão relativo da reprodutibilidade, $RSD_R$ [%]           | 15           | 16       | 23     | 17         | 15      | 15         |
| Limite de reprodutibilidade, $R$ [g/l]<br>( $R = 2,8 \times s_R$ ) | 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".»