

II

(Nezakonodajni akti)

UREDBE

IZVEDBENA UREDBA KOMISIJE (EU) 2016/635

z dne 22. aprila 2016

o spremembi Priloge k Uredbi (ES) št. 2870/2000 glede nekaterih referenčnih metod za analizo žganih pijač

EVROPSKA KOMISIJA JE –

ob upoštevanju Pogodbe o delovanju Evropske unije,

ob upoštevanju Uredbe (ES) št. 110/2008 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 15. januarja 2008 o opredelitvi, opisu, predstavitvi, označevanju in zaščiti geografskih označb žganih pijač ter razveljavitvi Uredbe Sveta (EGS) št. 1576/89 ⁽¹⁾ in zlasti člena 28(2) Uredbe,

ob upoštevanju naslednjega:

- (1) Uredba Komisije (ES) št. 2870/2000 ⁽²⁾ navaja in opisuje referenčne metode za analizo žganih pijač. Vendar nekatere metode iz Priloge k navedeni uredbi, med drugim metodi za določanje hlapne kislosti in skupnih sladkorjev v žganih pijačah, še niso opisane.
- (2) Za metodi za določanje hlapne kislosti in skupnih sladkorjev v nekaterih žganih pijačah je bilo na podlagi dveh mednarodnih validacijskih študij, opravljenih po mednarodno priznanih postopkih, potrjeno, da so parametri učinkovitosti metode sprejemljivi. Študiji sta bili izvedeni kot del raziskovalnega projekta v okviru četrtega okvirnega programa Evropske komisije „Standardi, merila in testiranje“ (program SMT). Opise teh metod bi bilo torej treba vključiti v Prilogo k Uredbi (ES) št. 2870/2000.
- (3) Uredba (ES) št. 110/2008 za nekatere kategorije žganih pijač vsebuje zahtevo po staranju v lesenih sodih, za druge pa določa, da se lahko starajo na tak način. Analiza osnovnih sestavin iz lesa je lahko v pomoč pri določanju, ali je vzorec skladen z opredelitvijo zadevne kategorije žgane pijače. Mednarodna organizacija za trto in vino (OIV) je v resoluciji OIV/OENO 382A/2009 priznala analizo metodo za določitev navedenih sestavin. Priznanje metode je temeljilo na podatkih, pridobljenih iz mednarodne študije o učinkovitosti metode za različne žgane pijače, ki je bila opravljena po mednarodno priznanih postopkih. To metodo in njen opis bi bilo zato treba dodati med referenčne metode Unije za analizo žganih pijač iz Priloge k Uredbi (ES) št. 2870/2000.
- (4) Uredbo (ES) št. 2870/2000 bi zato bilo treba ustrezno spremeniti.
- (5) Ukrepi iz te uredbe so v skladu z mnenjem Odbora za žgane pijače –

⁽¹⁾ ULL 39, 13.2.2008, str. 16.

⁽²⁾ Uredba Komisije (ES) št. 2870/2000 z dne 19. decembra 2000, o določitvi referenčnih metod Skupnosti za analizo žganih pijač (ULL 333, 29.12.2000, str. 20).

SPREJELA NASLEDNJO UREDBO:

Člen 1

Priloga k Uredbi (ES) št. 2870/2000 se spremeni v skladu s Prilogo k tej uredbi.

Člen 2

Ta uredba začne veljati tretji dan po objavi v *Uradnem listu Evropske unije*.

Uredba je v celoti zavezujoča in se neposredno uporablja v vseh državah članicah.

V Bruslju, 22. aprila 2016

Za Komisijo
Predsednik
Jean-Claude JUNCKER

PRILOGA

Priloga k Uredbi (ES) št. 2870/2000 se spremeni:

1. kazalo se spremeni:

(a) v točki III.3 in točki VIII se navedba „p.m.“ izbriše;

(b) doda se naslednja točka:

„X. Določanje spojin, vsebovanih v lesu: furfural, 5-hidroksimetilfurfural, 5-metilfurfural, vanilin, siringaldehid, koniferaldehid, sinapaldehid, galna kislina, elagična kislina, vanilinska kislina, siringinska kislina in skopoletin.“;

2. v poglavju III se doda naslednja točka:

„III.3 DOLOČANJE Hlapne kislosti žganih pijač

1. **Področje uporabe**

Metoda je bila validirana v medlaboratorijski študiji za rum, vinjak, žganje iz tropin in sadno žganje v območju od 30 mg/l do 641 mg/l.

2. **Normativne reference**

ISO 3696: 1987 Voda za analitično uporabo – specifikacije in preskusne metode.

3. **Opredelitve**

3.1 Hlapna kislost se izračuna tako, da nehlapne kisline odštejemo od skupnih kislin.

3.2 Skupne kisline so vsota titrabilnih kislin.

3.3 Nehlapne kisline so kisline v ostanku, potem ko pustimo žganje izpareti do suhega.

4. **Princip**

Skupne in nehlapne kisline se določijo s titracijo ali s potenciometrijo.

5. **Reagenti in materiali**

Če ni drugače navedeno, se za analizo uporabljajo samo reagenti priznane analizne kakovosti in voda kakovostne stopnje vsaj 3, kakor je opredeljena v ISO 3696:1987.

5.1 0,01 M raztopina natrijevega hidroksida (NaOH).

5.2 Raztopina mešanih indikatorjev

Odehtamo 0,1 g indigo karmina in 0,1 g fenola rdeče.

Raztopimo v 40 ml vode in dopolnimo do 100 ml z etanolom.

6. **Aparatura in oprema**

Laboratorijska aparatura za posredno analizo, steklovina razreda A in:

6.1 Vodna črpalka

- 6.2 Rotavapor ali ultrazvočna kopel
- 6.3 Oprema za potenciometrično titracijo (neobvezno)

7. Vzorčenje in vzorci

Vzorci se pred analizo hranijo na sobni temperaturi.

8. Postopek

8.1 Skupne kisline

8.1.1 Priprava vzorca

Žganje obsevamo z ultrazvokom (ultrasonifikacija) ali dve minuti mešamo v vakuumu, da se po potrebi izloči ogljikov dioksid.

8.1.2 Titracija

Odpipetiramo 25 ml žganja v 500-mililitersko erlenmajerico.

Dodamo približno 200 ml ohlajene zavrete destilirane vode (dnevno sveže pripravljene) in 2–6 kapljic raztopine mešanih indikatorjev (5.2).

Titriramo z 0,01 M raztopino natrijevega hidroksida (5.1), dokler se rumenozelena barva ne spremeni v vijolično pri brezbarvnih žganjih oziroma rumenorjava barva v rdečerjavo pri rjavo obarvanih žganjih.

Titracija se lahko izvede tudi s potenciometrijo (do 7,5 pH).

Z n_1 ml označimo prostornino dodane 0,01 M raztopine natrijevega hidroksida.

8.1.3 Izračun

Skupne kisline (TA), izražene v miliekvivalentih na liter žganja, so enake $0,4 \times n_1$.

Skupne kisline (TA), izražene v miligramih očetne kisline na liter žganja, so enake $24 \times n_1$.

8.2 Nehlapne kisline

8.2.1 Priprava vzorca

25 ml žganja pustimo izpareti do suhega:

Odpipetiramo 25 ml žganja v valjasto izparilno posodo z ravnim dnom in premerom 55 mm. Prvo uro izparevanja je izparilna posoda na pokrovu vrele vodne kopeli, tako da tekočina ne vre, saj bi to lahko povzročilo izgube zaradi škropljenja.

Sušenje končamo tako, da postavimo izparilno posodo za dve uri v sušilnik, segret na 105 °C. Izparilno posodo pustimo v eksikatorju, da se ohladi.

8.2.2 Titracija

Ostane, dobljen po izparevanju, raztopimo v ohlajeni zavreti destilirani vodi (dnevno sveže pripravljene) do približno 100 ml in dodamo 2–6 kapljic raztopine mešanih indikatorjev (5.2).

Titriramo z 0,01 M raztopino natrijevega hidroksida (5.1)

Vzorci	A	B	C	D	E	F
Število laboratorijev po izločitvi	16	18	18	14	18	18
Število izločenih (laboratorijev)	2			4		
Število sprejetih rezultatov	32	36	36	28	36	36
Srednja vrednost (\bar{x}) [mg/l]	272* 241*	30	591* 641*	46	107	492
Standardni odmik ponovljivosti (s_p) [mg/l]	8,0	3,6	15,0	3,7	6,7	8,5
Relativni standardni odmik ponovljivosti (RSD _r) [%]	3,1	11,8	2,4	8,0	6,2	1,7
Meja ponovljivosti (r) [mg/l]	23	10	42	10	19	24
Standardni odmik obnovljivosti (s_R) [mg/l]	8,5	8,4	25,0	4,55	13,4	24,4
Relativni standardni odmik obnovljivosti (RSD _R) [%]	3,3	27,8	4,1	9,9	12,5	5,0
Meja obnovljivosti (R) [mg/l]	24	23	70	13	38	68

Vrste vzorcev:

A Slivovo žganje; dvojna koncentracija*

D Rum I; slepi vzorci

C Rum II; dvojna koncentracija*

D Slivovka; slepi vzorci

E Vinjak; slepi vzorci

F Žganje iz tropin; slepi vzorci

[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. vstavi se naslednje poglavje VIII:

„VIII. SKUPNI SLADKORJI

1. Področje uporabe

Za določitev skupnih sladkorjev (izraženih kot invertni sladkor) v žganih pijačah se uporabi metoda HPLC-RI, razen pri likerjih, ki vsebujejo jajčne in mlečne proizvode.

Metoda je bila validirana v medlaboratorijski študiji za pastis, destilirani anis, češnjev liker, crème de (sledi ime uporabljenega sadja ali surovine) in crème de cassis v območju od 10,86 g/l do 509,7 g/l. Vendar pa je bila linearnost odziva instrumenta dokazana za območje koncentracije od 2,5 g/l do 20,0 g/l.

Ta metoda ni namenjena določanju nizkih koncentracij sladkorja.

2. Normativne reference

ISO 3696:1987 Voda za analitično uporabo – specifikacije in preskusne metode.

3. Princip

Analiziranje raztopin sladkorjev s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti z namenom določitve koncentracije glukoze, fruktoze, saharoze, maltoze in laktoze.

Ta metoda uporablja stacionarno fazo alkilamin in detekcijo z diferencialno refraktometrijo ter je podana kot primer. Za stacionarno fazo bi bila mogoča tudi uporaba anionske izmenjalne smole.

4. Reagenti in materiali

4.1 Glukoza (CAS 50-99-7) z vsaj 99-odstotno čistostjo.

4.2 Fruktoza (CAS 57-48-7) z vsaj 99-odstotno čistostjo.

4.3 Saharoza (CAS 57-50-1) z vsaj 99-odstotno čistostjo.

4.4 Laktoza (CAS 5965-66-2) z vsaj 99-odstotno čistostjo.

4.5 Monohidrat maltoze (CAS 6363-53-7) z vsaj 99-odstotno čistostjo.

4.6 Čisti acetonitril (CAS 75-05-8) za analizo HPLC.

4.7 Destilirana ali demineralizirana voda, po možnosti mikrofiltrirana.

4.8 Topila (primer)

Elucijsko topilo je sestavljeno iz:

75 volumskih delov acetonitrila (4.6),

25 volumskih delov destilirane vode (4.7).

Pred uporabo za 5–10 minut skozi počasi spustimo helij, da se razplini.

Če ne uporabljamo mikrofiltrirane vode, je treba topilo filtrirati skozi filter za organska topila z velikostjo por do vključno 0,45 µm.

4.9 Absolutni etanol (CAS 64-17-5).

4.10 Raztopina etanola (5 %, v/v).

4.11 Priprava osnovne standardne raztopine (20 g/l)

Odtehtamo po 2 g vsakega sladkorja za analizo (4.1 do 4.5) in jih v celoti prenesemo v 100-mililitrsko merilno bučko. (Opomba: 2,11 g monohidrata maltoze je enako 2 g maltoze.)

Do 100 ml poravnamo s 5-odstotno alkoholno raztopino (4.10), pretresemo in shranimo na okoli + 4 °C. Novo osnovno raztopino pripravljamo tedensko.

4.12 Priprava delovne standardne raztopine (2,5, 5,0, 7,5, 10,0 in 20,0 g/l)

Osnovno raztopino, 20 g/l (4.11), primerno razredčimo s 5-odstotno alkoholno raztopino (4.10), da dobimo pet delovnih standardnih raztopin (2,5, 5,0, 7,5, 10,0 in 20,0 g/l). Filtriramo skozi filter z velikostjo por do vključno 0,45 µm (5.3).

5. Aparatura in oprema

5.1 Sistem HPLC, ki lahko doseže ločljivost vseh sladkorjev na bazni liniji.

5.1.1 Tekočinski kromatograf visoke ločljivosti s šestpornim ventilom za injiciranje z nameščeno 10- μ l zanko ali katero koli drugo napravo (avtomatsko ali ročno) za zanesljivo injiciranje mikrovolumnov.

5.1.2 Črpalni sistem, ki omogoča doseganje in ohranjanje stalnega ali programiranega pretoka z veliko natančnostjo.

5.1.3 Diferencialni refraktometer.

5.1.4 Računalniški integrator ali registrator, katerega delovanje je kompatibilno s preostalo opremo.

5.1.5 Predkolona:

Prporočeno je, da se ustrezna predkolona pritrdi na analitsko kolono.

5.1.6 Kolona (primer):

Material: nerjaveče jeklo ali steklo.

Notranji premer: 2–5 mm.

Dolžina: 100–250 mm (odvisno od velikosti delcev polnila), na primer 250 mm, če je premer delcev 5 μ m.

Stacionarna faza: funkcionalne skupine alkilamin, vezane na siliko, največja velikost delcev 5 μ m.

5.1.7 Kromatografski pogoji (primer):

Elucijsko topilo (4.8), pretok: 1 ml/min.

Detekcija: diferencialna refraktometrija.

Da se zagotovi popolna stabilnost detektorja, se ga nekaj ur pred uporabo prižge. Referenčno celico je treba napolniti z elucijskim topilom.

5.2 Analizna tehtnica z natančnostjo 0,1 mg.

5.3 Oprema za filtriranje majhnih volumnov z uporabo 0,45- μ m mikromembrane.

6. Hramba vzorcev

Ob sprejetju se vzorci pred analizo hranijo na sobni temperaturi.

7. Postopek

7.1 DEL A: priprava vzorca

7.1.1 Vzorec pretresemo.

7.1.2 Vzorec filtriramo skozi filter z velikostjo por do vključno 0,45 μ m (5.3).

7.2 DEL B: HPLC

7.2.1 Določanje

Injiciramo 10 μ l standardnih raztopin (4.12) in vzorcev (7.1.2). Analiziramo pri primernih kromatografskih pogojih (na primer takih, kot so opisani zgoraj).

- 7.2.2 Če je kateri koli odziv detektorja na vzorec višji od odziva za standardno raztopino z najvišjo koncentracijo, je treba vzorec razredčiti z destilirano vodo in ponovno analizirati.

8. Izračun

Primerjamo kromatograma za standardno raztopino in žganje. Vrhove identificiramo glede na retencijski čas. Izmerimo njihovo površino (ali višino), da izračunamo koncentracije po metodi eksterne standarda. Upoštevamo, če smo vzorec razredčili.

Končni rezultat je vsota saharoze, maltoze, laktoze, glukoze in fruktoze, izražena kot invertni sladkor v g/l.

Invertni sladkor se izračuna kot vsota vseh prisotnih monosaharidov in reducirajočih disaharidov ter stehiometrijske količine glukoze in fruktoze, izračunane iz prisotne saharoze.

$$\begin{aligned} \text{Invertni sladkor (g/l)} &= \text{glukoza (g/l)} + \text{fruktoza (g/l)} + \text{maltoza (g/l)} + \text{laktoza (g/l)} + (\text{saharoza (g/l)} \times 1,05) \\ 1,05 &= (\text{molekulska masa fruktoze} + \text{molekulska masa fruktoze}) / \text{molekulska masa saharoze} \end{aligned}$$

9. Učinkovitost metode (natančnost)

9.1 Statistični rezultati medlaboratorijskega preskusa

Naslednji podatki izvirajo iz mednarodne študije o učinkovitosti metode, opravljene po mednarodno priznanih postopkih [1] [2].

Leto medlaboratorijskega preskusa 2000

Število laboratorijev 24

Število vzorcev 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'.

Razpredelnica 1

Fruktoza, glukoza, maltoza

Analit	Fruktoza		Glukoza			Maltoza	
	Crème de Cassis	Standardna raztopina (50 g/l)	Žgane pijače z aromo janeža	Crème de Cassis	Standardna raztopina (50 g/l)	Žgane pijače z aromo janeža	Standardna raztopina (10 g/l)
Srednja vrednost [g/l]	92,78	50,61	15,62	93,16	50,06	15,81	9,32
Število laboratorijev brez izločitev	21	22	21	23	19	21	22
Standardni odmik ponovljivosti (s,) [g/l]	2,34	2,12	0,43	3,47	1,01	0,48	0,54

Analit	Fruktoza		Glukoza			Maltoza	
	Crème de Cassis	Standardna raztopina (50 g/l)	Žgane pijače z aromo janeža	Crème de Cassis	Standardna raztopina (50 g/l)	Žgane pijače z aromo janeža	Standardna raztopina (10 g/l)
Relativni standardni odmik ponovljivosti (RSD _r) [%]	2,53	4,2	2,76	3,72	2,03	3,02	5,77
Meja ponovljivosti (r) [g/l] (r = 2,8 × sr)	6,56	5,95	1,21	9,71	2,84	1,34	1,51
Standardni odmik obnovljivosti (s _r) [g/l]	7,72	3,13	0,84	9,99	2,7	0,88	1,4
Relativni standardni odmik obnovljivosti (RSD _R) [%]	8,32	6,18	5,37	10,72	5,4	5,54	15,06
Meja obnovljivosti (R) [g/l] (R = 2,8 × s _R)	21,62	8,76	2,35	27,97	7,57	2,45	3,93

Razpredelnica 2

Saharoza

Analit	Saharoza					
	Pastis	Ouzo	Češnjev liker	Crème de Menthe	Crème de Cassis	Standardna raztopina (100 g/l)
Srednja vrednost [g/l]	10,83	29,2 19,7 (*)	103,33	349,96	319,84	99,83
Število laboratorijev brez izločitve	19	19	20	18	18	18
Standardni odmik ponovljivosti (s _r) [g/l]	0,09	0,75	2,17	5,99	4,31	1,25
Relativni standardni odmik ponovljivosti (RSD _r) [%]	0,81	3,07	2,1	1,71	1,35	1,25
Meja ponovljivosti (r) [g/l] (r = 2,8 × s _r)	0,25	2,1	6,07	16,76	12,06	3,49
Standardni odmik obnovljivosti (s _R) [g/l]	0,79	0,92	4,18	9,94	16,11	4,63
Relativni standardni odmik obnovljivosti (RSD _R) [%]	7,31	3,76	4,05	2,84	5,04	4,64
Meja obnovljivosti (R) [g/l] (R = 2,8 × s _R)	2,22	2,57	11,7	27,84	45,12	12,97

(*) Dvojna koncentracija.

Razpredelnica 3

Skupni sladkorji

(Opomba: ti podatki so bili izračunani za skupne sladkorje, ne za invertni sladkor, kot je opredeljen v točki 8 zgoraj.)

Vzorci	Pastis	Ouzo	Žgane pijače z aromo janeža	Češnjev liker	Crème de Menthe	Crème de Cassis	Standardna raztopina (220 g/l)
Srednja vrednost [g/l]	10,86	29,2 19,7 (*)	31,59	103,33	349,73	509,69	218,78
Število laboratorijev brez izločitve	20	19	20	20	18	18	19
Standardni odmik ponovljivosti (s_r) [g/l]	0,13	0,75	0,77	2,17	5,89	5,59	2,71
Relativni standardni odmik ponovljivosti (RSD_r) [%]	1,16	3,07	2,45	2,1	1,69	1,1	1,24
Meja ponovljivosti (r) [g/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,35	2,1	2,17	6,07	16,5	15,65	7,59
Standardni odmik obnovljivosti (s_R) [g/l]	0,79	0,92	1,51	4,18	9,98	14,81	8,53
Relativni standardni odmik obnovljivosti (RSD_R) [%]	7,25	3,76	4,79	4,04	2,85	2,91	3,9
Meja obnovljivosti (R) [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	2,21	2,57	4,24	11,7	27,94	41,48	23,89

(*) Dvojna koncentracija.

4. Doda se naslednje poglavje X:

„X. **DOLOČITEV NASLEDNJIH SPOJIN, VSEBOVANIH V LESU, V ŽGANIH PIJAČAH S TEKOČINSKO KROMATOGRAFIJO VISOKE LOČLJIVOSTI (HPLC): FURFURALA, 5-HIDROKSIMETILFURFURALA, 5-METILFURFURALA, VANILINA, SIRINGALDEHIDA, KONIFERALDEHIDA, SINAPALDEHIDA, GALNE KISLINE, ELAGIČNE KISLINE, VANILINSKE KISLINE, SIRINGINSKE KISLINE IN SKOPOLETINA**

1. Področje uporabe

Metoda se uporablja za določanje furfurala, 5-hidroksimetilfurfurala, 5-metilfurfurala, vanilina, siringaldehida, koniferaldehida, sinapaldehida, galne kisline, elagične kisline, vanilinske kisline, siringinske kisline in skopoletina s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti.

2. Normativna referenca

Analizna metoda, ki jo je priznala generalna skupščina Mednarodnega urada za trto in vino (OIV) in jo je ta urad objavil pod referenco OIV-MA-BS-16: R2009.

3. Princip

Določanje s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (HPLC) in detekcija z ultravijolično spektrofotometrijo pri različnih valovnih dolžinah in s spektrofotometrijo.

4. Reagenti

Reagenti morajo biti analitsko čisti. Uporabljena voda mora biti destilirana voda ali voda vsaj enakovredne čistosti. Bolje je uporabiti mikrofiltrirano vodo z upornostjo 18,2 M Ω .cm.

4.1 96 % vol. alkohol.

4.2 Metanol HPLC-čistosti (topilo B).

4.3 Ocetna kislina, razredčena na 0,5 % vol. (topilo A).

4.4 Mobilne faze: (navedeno samo kot primer).

Topilo A (0,5-odstotna očetna kislina) in topilo B (čisti metanol). Filtriramo skozi membrano (s poroznostjo 0,45 μ m). Po potrebi razplinimo v ultrazvočni kopeli.

4.5 Referenčni standardi najmanj 99-odstotne čistosti: furfural, 5-hidroksimetilfurfural, 5-metilfurfural, vanilin, siringaldehid, koniferaldehid, sinapaldehid, galna kislina, elagična kislina, vanilinska kislina, siringinska kislina in skopoletin.

4.6 Referenčna raztopina: standardne snovi so raztopljene v 50-odstotni vodno-alkoholni raztopini. Končne koncentracije referenčne raztopine bi morale biti:

furfural: 5 mg/l; 5-hidroksimetilfurfural: 10 mg/l; 5-metilfurfural: 2 mg/l; vanilin: 5 mg/l; siringaldehid: 10 mg/l; koniferaldehid: 5 mg/l; sinapaldehid: 5 mg/l; galna kislina: 10 mg/l; elagična kislina: 10 mg/l; vanilinska kislina 5 mg/l; siringinska kislina: 5 mg/l; skopoletin: 0,5 mg/l.

5. Aparatura

Standardna laboratorijska aparatura

5.1 Tekočinski kromatograf visoke ločljivosti, ki lahko deluje v binarnem gradientnem načinu in ima naslednjo opremo:

5.1.1 Spektrofotometrični detektor, ki lahko meri valovne dolžine od 260 do 340 nm. Vendar je bolj priporočljiva uporaba detektorja z nastavljivo valovno dolžino z nizom diod ali podobne naprave, da se potrdi čistost vrhov.

5.1.2 Spektrofotometrični detektor – valovna dolžina vzbujanja: 354 nm, valovna dolžina emisije: 446 nm (za določanje sledov skopoletina; ta je zaznaven tudi pri 313 nm s spektrofotometrijo).

5.1.3 Naprava za injiciranje, ki lahko vnese 10 ali 20 μ l (na primer) analiznega vzorca.

5.1.4 Kolona tekočinske kromatografije visoke ločljivosti, tip RP C18, največja velikost delcev 5 μ m.

5.2 Brizgalke za HPLC.

5.3 Naprava za membransko filtracijo majhnih volumnov.

5.4 Računalniški integrator ali registrator, katerega delovanje je kompatibilno s celotno aparaturo; zlasti mora imeti več kanalov za povezavo.

6. Postopek

6.1 Priprava raztopine za injiciranje

Referenčno raztopino in žgano pijačo po potrebi filtriramo skozi membrano z največjim premerom por 0,45 μ m.

- 6.2 Operativni pogoji za kromatografijo: analizo izvedemo pri temperaturi prostora z opremo, opisano v točki 5.1, in z uporabo mobilnih faz (4.4) s pretokom približno 0,6 mililitrov na minuto z uporabo spodnjega gradienta (navedeno samo kot primer):

čas: 0 min 50 min 70 min 90 min

topilo A (voda-kislina) 100 % 60 % 100 % 100 %

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

Upoštevajte, da je treba gradient v nekaterih primerih prilagoditi, da se izognemo sočasni eluciji.

6.3 Določanje

- 6.3.1 Referenčne standarde injiciramo ločeno, nato mešano.

Operativne pogoje prilagodimo tako, da so resolucijski faktorji vrhov vseh spojin najmanj enaki 1.

- 6.3.2 Injiciramo vzorec, pripravljen v skladu s točko 6.1.

- 6.3.3 Izmerimo površino vrhov v referenčni raztopini in žgani pijači ter izračunamo koncentracije.

7. Prikaz rezultatov

Koncentracijo posamezne sestavine izrazimo v mg/l.

8. Učinkovitost metode (natančnost)

Naslednji podatki izvirajo iz mednarodne študije iz leta 2009 o učinkovitosti metode za različne žgane pijače, opravljene po mednarodno priznanih postopkih [1], [2].

8.1 Furfural

Analit	Furfural					
	Vizki	Vinjak	Rum	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Vzorci						
Število sodelujočih laboratorijev	15	15	15	15	15	15
Število sprejetih rezultatov (laboratoriji)	14	12	13	14	13	13
Srednja vrednost [mg/l]	2,9	1,2	1,7	10,6	15,3	13,9
Standardni odmik ponovljivosti (s_p) [mg/l]	0,04	0,05	0,04	0,18	0,23	0,20
Relativni standardni odmik ponovljivosti (RSD _r) [%]	1,4	4,5	2,3	1,7	1,5	1,5

Analit	Furfural					
	Viski	Vinjak	Rum	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Meja ponovljivosti (r) [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,2	0,1	0,5	0,6	0,6
Standardni odmik obnovljivosti (s_R) [mg/l]	0,24	0,18	0,09	1,4	0,49	0,69
Relativni standardni odmik obnovljivosti (RSD_R) [%]	8	15	5	13	3	5
Meja obnovljivosti (R) [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,7	0,5	0,3	3,8	1,4	1,9

8.2 5-hidroksimetilfurfural

Analit	5-hidroksimetilfurfural					
	Viski	Vinjak	Rum	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Število sodelujočih laboratorijev	16	16	16	16	16	16
Število sprejetih rezultatov (laboratoriji)	14	14	14	14	14	14
Srednja vrednost [mg/l]	5,0	11,1	9,4	33,7	5,8	17,5
Standardni odmik ponovljivosti (s_r) [mg/l]	0,09	0,09	0,09	0,42	0,07	0,13
Relativni standardni odmik ponovljivosti (RSD_r) [%]	1,7	0,8	1,0	1,3	1,2	0,8
Meja ponovljivosti (r) [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,2	0,3	0,3	1,2	0,2	0,4
Standardni odmik obnovljivosti (s_R) [mg/l]	0,39	1,01	0,50	4,5	0,4	1,6
Relativni standardni odmik obnovljivosti (RSD_R) [%]	8	9	5	13	7	9
Meja obnovljivosti (R) [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	1,1	2,8	1,4	12,5	1,1	4,6

8.3 5-metilfurfural

Analit	5-metilfurfural					
	Vizki	Vinjak	Rum	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Vzorci						
Število sodelujočih laboratorijev	11	11	11	11	11	11
Število sprejetih rezultatov (laboratoriji)	11	11	8	11	10	11
Srednja vrednost [mg/l]	0,1	0,2	0,1	0,5	1,7	0,8
Standardni odmik ponovljivosti (s_p) [mg/l]	0,01	0,01	0,02	0,02	0,03	0,07
Relativni standardni odmik ponovljivosti (RSD _p) [%]	10,7	6,1	13,6	4,7	2,0	10,0
Meja ponovljivosti (r) [mg/l] ($r = 2,8 \times s_p$)	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,2
Standardni odmik obnovljivosti (s_R) [mg/l]	0,03	0,04	0,03	0,18	0,20	0,26
Relativni standardni odmik obnovljivosti (RSD _R) [%]	35	18	22	39	12	35
Meja obnovljivosti (R) [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,1	0,1	0,1	0,5	0,6	0,7

8.4 Vanilin

Analit	Vanilin					
	Vizki	Vinjak	Rum	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Vzorci						
Število sodelujočih laboratorijev	16	15	16	16	16	16
Število sprejetih rezultatov (laboratoriji)	16	15	16	16	16	16
Srednja vrednost [mg/l]	0,5	0,2	1,2	1,2	3,2	3,9
Standardni odmik ponovljivosti (s_p) [mg/l]	0,03	0,02	0,06	0,11	0,11	0,09

Analit	Vanilin					
	Viski	Vinjak	Rum	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Relativni standardni odmik ponovljivosti (RSD _v) [%]	6,8	9,6	4,6	8,9	3,5	2,3
Meja ponovljivosti (r) [mg/l] ($r = 2,8 \times s_v$)	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3	0,3
Standardni odmik obnovljivosti (s _v) [mg/l]	0,09	0,06	0,18	0,27	0,41	0,62
Relativni standardni odmik obnovljivosti (RSD _R) [%]	19	25	15	22	13	16
Meja obnovljivosti (R) [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,3	0,2	0,5	0,8	1,2	1,7

8.5 Siringaldehid

Analit	Siringaldehid					
	Viski	Vinjak	Rum	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Število sodelujočih laboratorijev	16	15	16	16	16	16
Število sprejetih rezultatov (laboratoriji)	13	13	13	12	14	13
Srednja vrednost [mg/l]	1,0	0,2	4,8	3,2	10,5	9,7
Standardni odmik ponovljivosti (s _v) [mg/l]	0,03	0,02	0,04	0,08	0,10	0,09
Relativni standardni odmik ponovljivosti (RSD _v) [%]	2,6	8,1	0,8	2,6	0,9	0,9
Meja ponovljivosti (r) [mg/l] ($r = 2,8 \times s_v$)	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3
Standardni odmik obnovljivosti (s _R) [mg/l]	0,08	0,07	0,23	0,19	0,39	0,43
Relativni standardni odmik obnovljivosti (RSD _R) [%]	8	33	5	6	4	4
Meja obnovljivosti (R) [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,2	0,2	0,7	0,5	1,1	1,2

8.6 Koniferaldehid

Analit	Koniferaldehid					
	Vizki	Vinjak	Rum	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Vzorci						
Število sodelujočih laboratorijev	13	12	13	12	13	13
Število sprejetih rezultatov (laboratoriji)	12	12	13	12	13	13
Srednja vrednost [mg/l]	0,2	0,2	0,6	0,8	4,6	1,3
Standardni odmik ponovljivosti (s_p) [mg/l]	0,02	0,02	0,03	0,03	0,09	0,06
Relativni standardni odmik ponovljivosti (RSD _p) [%]	9,2	9,8	4,6	4,3	1,9	4,5
Meja ponovljivosti (r) [mg/l] ($r = 2,8 \times s_p$)	0,04	0,04	0,07	0,09	0,24	0,16
Standardni odmik obnovljivosti (s_R) [mg/l]	0,04	0,04	0,11	0,18	0,38	0,25
Relativni standardni odmik obnovljivosti (RSD _R) [%]	23	27	21	23	8	19
Meja obnovljivosti (R) [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,1	0,1	0,3	0,5	1,1	0,7

8.7 Sinapaldehid

Analit	Sinapaldehid					
	Vizki	Vinjak	Rum	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Vzorci						
Število sodelujočih laboratorijev	14	14	14	14	15	14
Število sprejetih rezultatov (laboratoriji)	14	13	12	13	13	12
Srednja vrednost [mg/l]	0,3	0,2	0,2	1,6	8,3	0,3
Standardni odmik ponovljivosti (s_p) [mg/l]	0,02	0,01	0,02	0,06	0,14	0,03

Analit	Sinapaldehid					
	Viski	Vinjak	Rum	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Relativni standardni odmik ponovljivosti (RSD _v) [%]	7,5	4,6	11,2	3,7	1,6	11,4
Meja ponovljivosti (r) [mg/l] ($r = 2,8 \times s_v$)	0,06	0,03	0,06	0,17	0,38	0,08
Standardni odmik obnovljivosti (s _R) [mg/l]	0,09	0,05	0,08	0,20	0,81	0,18
Relativni standardni odmik obnovljivosti (RSD _R) [%]	31	27	46	13	10	73
Meja obnovljivosti (R) [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,2	0,2	0,2	0,6	2,3	0,5

8.8 Galna kislina

Analit	Galna kislina					
	Viski	Vinjak	Rum	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Število sodelujočih laboratorijev	16	15	16	16	16	16
Število sprejetih rezultatov (laboratoriji)	15	14	16	16	16	16
Srednja vrednost [mg/l]	1,2	0,4	2,0	6,1	7,3	21,8
Standardni odmik ponovljivosti (s _v) [mg/l]	0,07	0,04	0,06	0,18	0,18	0,60
Relativni standardni odmik ponovljivosti (RSD _v) [%]	6,1	8,1	2,9	3,0	2,4	2,8
Meja ponovljivosti (r) [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,2	0,1	0,2	0,5	0,5	1,7
Standardni odmik obnovljivosti (s _R) [mg/l]	0,43	0,20	0,62	3,3	2,2	7,7
Relativni standardni odmik obnovljivosti (RSD _R) [%]	36	47	31	53	30	35
Meja obnovljivosti (R) [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	1,2	0,6	1,7	9,1	6,2	21,7

8.9 Elagična kislina

Analit	Elagična kislina					
	Vizki	Vinjak	Rum	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Vzorci						
Število sodelujočih laboratorijev	7	7	7	7	7	7
Število sprejetih rezultatov (laboratoriji)	7	7	7	7	7	6
Srednja vrednost [mg/l]	3,2	1,0	9,5	13	13	36
Standardni odmik ponovljivosti (s_p) [mg/l]	0,20	0,16	0,30	0,41	0,95	0,34
Relativni standardni odmik ponovljivosti (RSD _p) [%]	6,3	16	3,2	3,2	7,4	1,0
Meja ponovljivosti (r) [mg/l] ($r = 2,8 \times s_p$)	0,6	0,4	0,9	1,1	2,7	1,0
Standardni odmik obnovljivosti (s_R) [mg/l]	1,41	0,42	4,0	5,0	4,9	14
Relativni standardni odmik obnovljivosti (RSD _R) [%]	44	43	42	39	39	40
Meja obnovljivosti (R) [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	4,0	1,2	11	14	14	40

8.10 Vanilinska kislina

Analit	Vanilinska kislina					
	Vizki	Vinjak	Rum	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Vzorci						
Število sodelujočih laboratorijev	15	15	15	15	15	15
Število sprejetih rezultatov (laboratoriji)	12	11	14	14	15	14
Srednja vrednost [mg/l]	0,2	0,2	1,5	0,8	2,4	2,7
Standardni odmik ponovljivosti (s_p) [mg/l]	0,03	0,04	0,03	0,10	0,13	0,21

Analit	Vanilinska kislina					
	Vzorca	Viski	Vinjak	Rum	Konjak 1	Bourbon
Relativni standardni odmik ponovljivosti (RSD _v) [%]	14,2	16,5	2,3	12,6	5,3	7,7
Meja ponovljivosti (r) [mg/l] ($r = 2,8 \times s_v$)	0,1	0,1	0,1	0,3	0,4	0,6
Standardni odmik obnovljivosti (s _R) [mg/l]	0,06	0,05	0,51	0,2	1,22	0,70
Relativni standardni odmik obnovljivosti (RSD _R) [%]	28	20	35	31	51	26
Meja obnovljivosti (R) [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,2	0,1	1,4	0,7	3,4	2,0

8.11 Siringinska kislina

Analit	Siringinska kislina					
	Vzorca	Viski	Vinjak	Rum	Konjak 1	Bourbon
Število sodelujočih laboratorijev	16	15	16	16	16	16
Število sprejetih rezultatov (laboratoriji)	16	15	15	15	16	15
Srednja vrednost [mg/l]	0,4	0,2	2,5	1,4	3,4	4,8
Standardni odmik ponovljivosti (s _v) [mg/l]	0,03	0,02	0,06	0,13	0,08	0,11
Relativni standardni odmik ponovljivosti (RSD _v) [%]	6,7	12,6	2,3	9,0	2,3	2,3
Meja ponovljivosti (r) [mg/l] ($r = 2,8 \times s_v$)	0,1	0,1	0,2	0,4	0,2	0,3
Standardni odmik obnovljivosti (s _R) [mg/l]	0,08	0,05	0,29	0,26	0,43	0,67
Relativni standardni odmik obnovljivosti (RSD _R) [%]	19	29	11	18	13	14
Meja obnovljivosti (R) [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,2	0,1	0,8	0,7	1,2	1,9

8.12 Skopoletin

Analit	Skopoletin					
	Viski	Vinjak	Rum	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Vzorci						
Število sodelujočih laboratorijev	10	10	10	10	10	10
Število sprejetih rezultatov (laboratoriji)	9	8	9	8	8	8
Srednja vrednost [mg/l]	0,09	0,04	0,11	0,04	0,65	0,15
Standardni odmik ponovljivosti (s_r) [mg/l]	0,0024	0,0008	0,0018	0,0014	0,0054	0,0040
Relativni standardni odmik ponovljivosti (RSD_r) [%]	2,6	2,2	1,6	3,3	0,8	2,7
Meja ponovljivosti (r) [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,007	0,002	0,005	0,004	0,015	0,011
Standardni odmik obnovljivosti (s_R) [mg/l]	0,01	0,01	0,03	0,01	0,09	0,02
Relativni standardni odmik obnovljivosti (RSD_R) [%]	15	16	23	17	15	15
Meja obnovljivosti (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'.