

II

(Icke-lagstiftningsakter)

FÖRORDNINGAR

KOMMISSIONENS GENOMFÖRANDEFÖRORDNING (EU) 2016/635

av den 22 april 2016

om ändring av bilagan till förordning (EG) nr 2870/2000 vad gäller vissa referensmetoder för analys av spritdrycker

EUROPEISKA KOMMISSIONEN HAR ANTAGIT DENNA FÖRORDNING

med beaktande av fördraget om Europeiska unionens funktionssätt,

med beaktande av Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 110/2008 av den 15 januari 2008 om definition, beskrivning, presentation och märkning av, samt skydd av geografiska beteckningar för, spritdrycker, samt om upphävande av rådets förordning (EEG) nr 1576/89 ⁽¹⁾, särskilt artikel 28.2, och

av följande skäl:

- (1) I kommissionens förordning (EG) nr 2870/2000 ⁽²⁾ förtecknas och beskrivs referensmetoderna för analys av spritdrycker. Vissa av de metoder som förtecknas i bilagan till den förordningen, däribland metoderna för bestämning av halten flyktiga syror och den totala sockerhalten i spritdrycker, har emellertid ännu inte beskrivits.
- (2) Metoderna för bestämningen av halten flyktiga syror och den totala sockerhalten i vissa spritdrycker har genomgått två internationella valideringsstudier som utförts i enlighet med internationellt vedertagna förfaranden, och de parametrar för analysprestanda som användes har konstaterats vara godtagbara. Studierna utfördes som en del av ett forskningsprojekt inom ramen för Europeiska kommissionens program för standardisering, mätning och provning (fjärde ramprogrammet). Beskrivningen av dessa metoder bör därför ingå i bilagan till förordning (EG) nr 2870/2000.
- (3) I förordning (EG) nr 110/2008 fastställs krav på att vissa kategorier av spritdrycker ska lagras på träfat och det anges att andra kategorier får genomgå en sådan lagringsprocess. En analys av de viktigaste träföreningarna kan vara till hjälp när man överväger om ett prov är förenligt med den definition som svarar mot den relevanta kategorin spritdrycker. Internationella vinorganisationen (OIV) har godkänt en analysmetod för bestämning av dessa föreningar i sin resolution OIV/OENO 382A/2009. Godkännandet av metoden grundar sig på data från en internationell metodstudie om olika spritdrycker som utförts enligt internationellt vedertagna förfaranden. Metoden och metodbeskrivningen bör därför läggas till unionens referensmetoder för analys av spritdrycker som anges i bilagan till förordning (EG) nr 2870/2000.
- (4) Förordning (EG) nr 2870/2000 bör därför ändras i enlighet med detta.
- (5) De åtgärder som föreskrivs i denna förordning är förenliga med yttrandet från kommittén för spritdrycker.

⁽¹⁾ EUT L 39, 13.2.2008, s. 16.⁽²⁾ Kommissionens förordning (EG) nr 2870/2000 av den 19 december 2000 om fastställande av gemenskapens referensmetoder för analys av spritdrycker (EGT L 333, 29.12.2000, s. 20).

HÄRIGENOM FÖRESKRIVS FÖLJANDE.

Artikel 1

Bilagan till förordning (EG) nr 2870/2000 ska ändras i enlighet med bilagan till den här förordningen.

Artikel 2

Denna förordning träder i kraft den tredje dagen efter det att den har offentliggjorts i *Europeiska unionens officiella tidning*.

Denna förordning är till alla delar bindande och direkt tillämplig i alla medlemsstater.

Utfärdad i Bryssel den 22 april 2016.

På kommissionens vägnar
Jean-Claude JUNKER
Ordförande

BILAGA

Bilagan till förordning (EG) nr 2870/2000 ska ändras på följande sätt:

1. Innehållsförteckningen ska ändras på följande sätt:

a) I del III.3 och i avsnitt VIII ska "p.m." strykas.

b) Följande avsnitt ska läggas till:

"X. Bestämning av träföreningar: furfural, 5-hydroximetylfurfural, 5-metylfurfural syringaldehyd, coniferaldehyd, sinapinaldehyd, gallussyra, ellagssyra, vanillinsyra, syringinsyra och scopoletin."

2. I avsnitt III ska följande del läggas till:

"III.3. BESTÄMNING AV HALTEN AV FLYKTIGA SYROR I SPRITDRYCKER

1. **Omfattning**

Metoden har validerats i en provningsjämförelse för rom, brandy, sprit tillverkad av druvrester och fruktbrännvin, på nivåer från 30 mg/l till 641 mg/l.

2. **Referenser**

ISO 3696: 1987 Water for analytical use – Specifications and test methods.

3. **Definitioner**

3.1 Halt av flyktiga syror beräknas genom att halten av icke flyktiga syror dras ifrån den totala syrahalten.

3.2 *total syrahalt*: summan av titrerbara syror (total syra).

3.3 *halt av icke flyktiga syror*: syrahalten i den rest som återstår efter indunstning av spritdrycken till torrhet.

4. **Princip**

Den totala syrahalten och halten icke flyktiga syror bestäms genom titrering eller potentiometrisk titrering.

5. **Reagens och material**

Vid analysen ska bara användas – om inte annat anges – reagens som är särskilt avsedda för analysändamål och vatten som håller minst klass 3 enligt definitionen i ISO 3696:1987.

5.1 0,01 M natriumhydroxidlösning (NaOH)

5.2 Blandindikatorlösning:

Väg upp 0,1 g indigokarmin och 0,1 g fenolrött.

Lös i 40 ml vatten och fyll med etanol till 100 ml.

6. **Utrustning**

Indirekt laboratorieutrustning, laboratorieglas (klass A) och följande:

6.1 Vattenpump

- 6.2 Rotationsindunstare eller ultraljudsbad
- 6.3 Utrustning för potentiometrisk titrering (fakultativt)

7. Insamling och förvaring av prov

Proven förvaras vid rumstemperatur i väntan på analys.

8. Utförande

8.1 Total syrahalt

8.1.1 Beredning av provet

Spritdrycken behandlas med ultraljud (sonikering) eller omrörning i två minuter under vakuum för att avlägsna eventuell koldioxid.

8.1.2 Titrering

Pipettera över 25 ml av spritdrycken i en 500 ml Erlenmayerkolv.

Tillsätt ca 200 ml avsvanat kokt destillerat vatten (nyberett samma dag) och 2–6 droppar av blandindikatorlösningen (5.2).

Titra med 0,01 M natriumhydroxidlösning (5.1) tills den gulgröna färgen slår om till violett för färglösa spritdrycker, alternativt den gulbruna färgen slår om till rödbrunt för brunfärgade spritdrycker.

Titrationen kan även utföras potentiometriskt till pH 7,5.

Den tillsatta volymen 0,01 M natriumhydroxidlösning betecknas n_1 ml.

8.1.3 Beräkning

Den totala syrahalten (TS) uttryckt i milliekvivalenter per liter spritdryck är lika med $0,4 \times n_1$.

Den totala syrahalten (TS') uttryckt i milligram ättiksyra per liter spritdryck är lika med $24 \times n_1$.

8.2 Halt av icke flyktiga syror

8.2.1 Beredning av provet

Indunsta 25 ml spritdryck till torrhet:

Pipettera över 25 ml spritdryck till en flatbottnad cylindrisk indunstningsskål, 55 mm i diameter. Under indunstningsprocessens första timme placeras indunstningsskålen på locket till ett kokande vattenbad. Vätskan i skålen får inte koka, eftersom detta kan leda till förluster genom stänk.

Avsluta indunstningen genom att låta indunstningsskålen stå två timmar i torkugn vid 105 °C. Låt indunstningsskålen svalna i en exsickator.

8.2.2 Titrering

Lös den rest som återstår efter indunstning med avsvanat kokt destillerat vatten (nyberett samma dag), späd till en volym på cirka 100 ml och tillsätt 2–6 droppar blandindikatorlösning (5.2).

Titra med 0,01 M natriumhydroxidlösning (5.1).

Titreringen kan även utföras potentiometriskt till pH 7,5.

Den tillsatta mängden 0,01 M natriumhydroxidlösning betecknas n_2 ml.

8.2.3 Beräkning

Den totala halten av icke flyktiga syror (TIFS) uttryckt i milliekvivalenter per liter spritdryck är lika med $0,4 \times n_2$.

Den totala halten av icke flyktiga syror (TIFS) uttryckt i milligram ättiksyra per liter spritdryck är lika med $24 \times n_2$.

9. Beräkning av halten av flyktiga syror

9.1 Uttryckt i milliekvivalenter per liter:

Följande benämningar gäller:

TS = total syrahalt i milliekvivalenter per liter

TIFS = total halt av icke flyktiga syror i milliekvivalenter per liter

Halt av flyktiga syror, FS i milliekvivalenter per liter är lika med:

$$TS - TIFS$$

9.2 Uttryckt i milligram ättiksyra per liter:

Följande benämningar gäller:

TS' = total syrahalt i milligram ättiksyra per liter

TIFS' = total halt av icke flyktiga syror i milligram ättiksyra per liter

Halt av flyktiga syror, FS i milligram ättiksyra per liter är lika med:

$$TS' - TIFS'$$

9.3 Uttryckt i gram ättiksyra per hl ren alkohol 100 volymprocent är lika med: $\frac{TS' - TIFS'}{A} \times 10$

där A är spritdryckens alkoholhalt i volymprocent.

10. Metodutvärdering (precision)

10.1 Statistiska resultat från provningsjämförelsen

Följande data erhöles från en internationell metodutvärderingsstudie som utfördes enligt internationellt vedertagna förfaranden [1] [2].

År då provningsjämförelsen gjordes 2000

Antal laboratorier 18

Antal prov 6

Prov	A	B	C	D	E	F
Antal kvarvarande laboratorier efter eliminering av avvikande mätvärden	16	18	18	14	18	18
Antal avvikande mätvärden (laboratorier)	2			4		
Antal godkända resultat	32	36	36	28	36	36
Medelvärde ($\bar{x}$) [mg/l]	272* 241*	30	591* 641*	46	107	492
Standardavvikelse för repeterbarhet, s_r [mg/l]	8,0	3,6	15,0	3,7	6,7	8,5
Relativ standardavvikelse för repeterbarhet, RSD _r [%]	3,1	11,8	2,4	8,0	6,2	1,7
Repeterbarhetsgräns, r [mg/l]	23	10	42	10	19	24
Standardavvikelse för reproducerbarhet s_R [mg/l]	8,5	8,4	25,0	4,55	13,4	24,4
Relativ standardavvikelse för reproducerbarhet, RSD _R [%]	3,3	27,8	4,1	9,9	12,5	5,0
Reproducerbarhetsgräns, R [mg/l]	24	23	70	13	38	68

Provtyper:

A Plommonsprit, "split level" *

B Rom I, dubbelblindprov

C Rom II, "split level" *

D Slivovitz, dubbelblindprov

E Brandy, dubbelblindprov

F Sprit av druvrester, dubbelblindprov

[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. Följande avsnitt VIII ska införas:

"VIII. TOTAL SOCKERHALT

1. Omfattning

HPLC-RI-metoden tillämpas för bestämning av den totala sockerhalten (uttryckt som invertsocker) i spritdrycker, med undantag av likör innehållande ägg och mjölkprodukter.

Metoden har validerats i en provningsjämförelse för pastis, destillerad anis, körsbärslikör, crème de (följt av namnet på en frukt eller den råvara som använts) och crème de cassis, på nivåer från 10,86 g/l till 509,7 g/l. Instrumentets mätresultat kunde visas vara linjära i koncentrationsintervallet 2,5–20,0 g/l.

Denna metod är inte avsedd för bestämning av låga halter av socker.

2. Referenser

ISO 3696:1987 Water for analytical use – Specifications and test methods.

3. Princip

Analys av sockerlösningar med hjälp av vätskekromatografi (HPLC) i syfte att bestämma koncentrationen av glukos, fruktos, sackaros, maltos och laktos.

Denna metod använder alkylamin som stationär fas och refraktionsindexdetektor, och anges som exempel. Användning av anjonbytarhartser som stationär fas är också möjligt.

4. Reagens och material

4.1 Glukos (CAS 50-99-7) med en renhet på minst 99 %.

4.2 Fruktos (CAS 57-48-7) med en renhet på minst 99 %.

4.3 Sackaros (CAS 57-50-1) med en renhet på minst 99 %.

4.4 Laktos (CAS 5965-66-2) med en renhet på minst 99 %.

4.5 Maltosmonohydrat (CAS 6363-53-7) med en renhet på minst 99 %.

4.6 Ren acetonitril (CAS 75-05-8) för HPLC-analys.

4.7 Destillerat eller avmineraliserat vatten, helst mikrofiltrerat.

4.8 Lösningsmedel (exempel)

Elueringslösningen består av:

75 volymdelar acetonitril (4.6)

25 volymdelar destillerat vatten (4.7)

Avlägsna gaser genom att låta helium passera igenom långsamt under 5–10 minuter före användning.

Om det vatten som används inte har mikrofiltrerats bör Lösningsmedlet filtreras genom ett filter för organiska Lösningsmedel med en porstorlek på högst 0,45 µm.

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

4.10 Etanollösning (5 volymprocent).

4.11 Beredning av stamlösning (20 g/l)

Väg upp 2 g av varje sockerart som ska analyseras (4.1–4.5), och för över utan förlust till en 100 ml mätkolv. (Anm.: 2,11 g maltosmonohydrat motsvarar 2 g maltos).

Justera upp till 100 ml med 5 volymprocent alkohollösning (4.10), skaka och förvara vid cirka + 4 °C. Bered en ny stamlösning en gång i veckan.

4.12 Beredning av arbetslösningar (2,5, 5,0, 7,5, 10,0 och 20,0 g/l)

Späd stamlösningen, 20 g/l, (4.11) med 5 volymprocent alkohollösning (4.10) så att det räcker till fem arbetslösningar på 2,5, 5,0, 7,5, 10,0 och 20,0 g/l. Filtrera med ett filter med en porstorlek på högst 0,45 µm (5.3.)

5. Utrustning

5.1 HPLC-system med en upplösning som ger baslinjeseparation för alla sockerarter.

5.1.1 HPLC-kromatograf med en sexvägsventil för injektion försedd med en 10 µl rörslinga eller annan anordning, automatisk eller manuell, för tillförlitlig injektion av mikrovolymer.

5.1.2 Pumpsystem som gör det möjligt att upprätthålla ett konstant eller programmerat flöde med stor noggrannhet.

5.1.3 Differentialrefraktometer.

5.1.4 Integrator eller skrivare med prestanda som är kompatibla med resten av systemet.

5.1.5 Förkolonn:

Det rekommenderas att en lämplig förkolonn anbringas på analyskolonnen.

5.1.6 Kolonn (exempel):

Material: rostfritt stål eller glas.

Invändig diameter: 2–5 mm.

Längd: 100–250 mm (beroende på de packade partiklarnas storlek), till exempel 250 mm om partiklarna är 5 µm i diameter.

Stationär fas: Alkylamin som funktionella grupper bundna till kiselgel, maximal partikelstorlek: 5 µm.

5.1.7 Kromatografibetingelser (exempel):

Elueringslösning (4.8), flödes hastighet: 1 ml/minut.

Detektion: Differentialrefraktometri.

För att det ska vara säkert att detektorn är helt stabil bör den slås på några timmar före användning. Referenskyvetten måste vara helt fylld med elueringslösningen.

5.2 Analysvåg med en noggrannhet av 0,1 mg.

5.3 Filtreringsanordning för små volymer med ett 0,45 µm mikromembran.

6. Lagring av prover

Efter mottagandet förvaras proven vid rumstemperatur i väntan på analys.

7. Utförande

7.1 DEL A: Provberedning

7.1.1 Skaka provet.

7.1.2 Filtrera provet med ett filter med en porstorlek på högst 0,45 µm (5.3.).

7.2 DEL B: HPLC

7.2.1 Bestämning

Injicera 10 µl av standardlösningarna (4.12) och proven (7.1.2). Utför analysen under lämpliga betingelser för kromatografi, t.ex. de betingelser som beskrivs ovan.

- 7.2.2 Om ett prov har en topp med större area (eller höjd) än motsvarande topp i den mest koncentrerade standardlösningen bör provet spädas med destillerat vatten och analyseras på nytt.

8. Beräkning

Jämför de två kromatogram som erhålls för standardlösningen och spritdrycken. Identifiera topparna med hjälp av deras retentionstider. Mät deras area (eller höjd) för beräkning av koncentrationerna enligt metoden för extern standard. Ta hänsyn till eventuella utspädningar av provet.

Slutresultatet är summan av sackaros, maltos, laktos, glukos och fruktos, uttryckt som invertsocker i g/l.

Invertsocker beräknas som summan av alla monosackarider och reducerande disackarider i provet, utöver den stökiometriska mängden glukos och fruktos beräknad utifrån mängden sackaros i provet.

$$\text{Invertsocker (g/l)} = \text{glukos (g/l)} + \text{fruktos (g/l)} + \text{maltos (g/l)} + \text{laktos (g/l)} + (\text{sackaros (g/l)} \times 1,05)$$

$$1,05 = (\text{molekylvikten för fruktos} + \text{molekylvikten för glukos}) / \text{molekylvikten för sackaros}$$

9. Metodutvärdering (precision)

9.1 Statistiska resultat från provningsjämförelsen

Följande data erhöles från en internationell metodutvärderingsstudie utförd enligt internationellt vedertagna förfaranden [1] [2].

År då provningsjämförelsen gjordes 2000

Antal laboratorier 24

Antal prov 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".

Tabell 1

Fruktos, glukos, maltos

Analyt	Fruktos		Glukos			Maltos	
Prov (× 2)	Crème de Cassis	Standard (50 g/l)	Aniskryddad spritdryck	Crème de Cassis	Standard (50 g/l)	Aniskryddad spritdryck	Standard (10 g/l)
Medelvärde [g/l]	92,78	50,61	15,62	93,16	50,06	15,81	9,32
Antal laboratorier utan avvikande mätvärden	21	22	21	23	19	21	22
Standardavvikelse för repe- terbarhet, s _r [g/l]	2,34	2,12	0,43	3,47	1,01	0,48	0,54

Analyt	Fruktos		Glukos			Maltos	
Prov (× 2)	Crème de Cassis	Standard (50 g/l)	Aniskryddad spritdryck	Crème de Cassis	Standard (50 g/l)	Aniskryddad spritdryck	Standard (10 g/l)
Relativ standardavvikelse för repeterbarhet, RSD_r [%]	2,53	4,2	2,76	3,72	2,03	3,02	5,77
Repeterbarhetsgräns, r [g/l] ($r = 2,8 \times sr$)	6,56	5,95	1,21	9,71	2,84	1,34	1,51
Standardavvikelse för reproducerbarhet, R [g/l]	7,72	3,13	0,84	9,99	2,7	0,88	1,4
Relativ standardavvikelse för reproducerbarhet, RSD_R [%]	8,32	6,18	5,37	10,72	5,4	5,54	15,06
Reproducerbarhetsgräns, R [g/l] ($R = 2,8 \times sR$)	21,62	8,76	2,35	27,97	7,57	2,45	3,93

Tabell 2

Sackaros

Analyt	Sackaros					
Prov	Pastis	Ouzo	Körsbärslikör	Crème de Menthe	Crème de Cassis	Standard (100 g/l)
Medelvärde [g/l]	10,83	29,2 19,7 (*)	103,33	349,96	319,84	99,83
Antal laboratorier utan avvikande mätvärden	19	19	20	18	18	18
Standardavvikelse för repeterbarhet, s_r [g/l]	0,09	0,75	2,17	5,99	4,31	1,25
Relativ standardavvikelse för repeterbarhet, RSD_r [%]	0,81	3,07	2,1	1,71	1,35	1,25
Repeterbarhetsgräns, r [g/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,25	2,1	6,07	16,76	12,06	3,49
Standardavvikelse för reproducerbarhet, R [g/l]	0,79	0,92	4,18	9,94	16,11	4,63
Relativ standardavvikelse för reproducerbarhet, RSD_R [%]	7,31	3,76	4,05	2,84	5,04	4,64
Reproducerbarhetsgräns, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	2,22	2,57	11,7	27,84	45,12	12,97

(*) "split level"

Tabell 3

Total sockerhalt

(Anm.: Dessa uppgifter beräknades för total sockerhalt, inte invertsocker enligt definitionen i punkt 8.)

Prov	Pastis	Ouzo	Aniskryddad spritdryck	Körsbärslikör	Crème de Menthe	Crème de Cassis	Standard (220 g/l)
Medelvärde [g/l]	10,86	29,2 19,7 (*)	31,59	103,33	349,73	509,69	218,78
Antal laboratorier utan avvikande mätvärden	20	19	20	20	18	18	19
Standardavvikelse för repeterbarhet, s_r [g/l]	0,13	0,75	0,77	2,17	5,89	5,59	2,71
Relativ standardavvikelse för repeterbarhet, RSD_r [%]	1,16	3,07	2,45	2,1	1,69	1,1	1,24
Repeterbarhetsgräns, r [g/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,35	2,1	2,17	6,07	16,5	15,65	7,59
Standardavvikelse för reproducerbarhet, s_R [g/l]	0,79	0,92	1,51	4,18	9,98	14,81	8,53
Relativ standardavvikelse för reproducerbarhet, RSD_R [%]	7,25	3,76	4,79	4,04	2,85	2,91	3,9
Reproducerbarhetsgräns, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	2,21	2,57	4,24	11,7	27,94	41,48	23,89

(*) "split level"

4. Följande avsnitt X ska läggas till:

"X. **BESTÄMNING AV FÖLJANDE TRÄFÖRENINGAR I SPRITDRYCKER GENOM VÄTSKEKROMATOGRAFI (HPLC): FURFURAL, 5-HYDROXIMETYLFURFURAL, 5-METYLFURFURAL, VANILLIN, SYRINGALDEHYD, CONIFERALDEHYD, SINAPINALDEHYD, GALLUSSYRA, ELLAGSYRA, VANILLINSYRA, YRINGINSYRA OCH SCOPOLETIN**

1. **Omfattning**

Metoden avser HPLC-bestämning av furfural, 5-hydroximetylfurfural, 5-metylfurfural, vanillin, syringaldehyd, coniferaldehyd, sinapinaldehyd, gallussyra, ellagsyra, vanillinsyra, syringinsyra och scopoletin.

2. **Referenser**

Analysmetod som godkänts av Internationella vinorganisationens (OIV) generalförsamling och offentliggjorts av OIV under referensnumret OIV-MA-BS-16: R2009.

3. **Princip**

Bestämning genom vätskekromatografi (HPLC), med detektion genom spektrofotometri med ultraviolett strålning vid flera våglängder och spektrofluorometri.

4. Reagens

Reagensen måste vara av analytisk kvalitet. Vattnet ska vara destillerat vatten eller vatten med minst motsvarande renhetsgrad. Det är bäst att använda mikrofiltrerat vatten med resistivitet 18,2M Ω .cm

- 4.1 96 volymprocent alkohol.
- 4.2 Metanol med HPLC-kvalitet (lösningsmedel B).
- 4.3 Ättiksyra, utspädd till 0,5 volymprocent (lösningsmedel A).
- 4.4 Mobila faser: (anges endast som exempel).

Lösningsmedel A (0,5 % ättiksyra) och lösningsmedel B (ren metanol). Filtrera genom ett membran (porstorlek 0,45 μ m). Avlufta i ultraljudsbad, vid behov.

- 4.5 Referensstandarder med minst 99 % renhetsgrad: furfural, 5-hydroximetilfurfural, 5-metylfurfural, vanillin, syringaldehyd, coniferaldehyd, sinapinaldehyd, gallussyra, ellagsyra, vanillinsyra, syringinsyra och scopoletin
- 4.6 Referenslösning: standardsubstanserna är lösta i en 50 volymprocent vatten/alkohollösning. De slutliga koncentrationerna i referenslösningen bör vara följande:

furfural: 5 mg/l; 5-hydroximetilfurfural: 10 mg/l; 5-metylfurfural: 2 mg/l; vanillin: 5 mg/l; syringaldehyd: 10 mg/l; coniferaldehyd: 5 mg/l; sinapinaldehyd: 5 mg/l; gallussyra: 10 mg/l; ellagsyra: 10 mg/l; vanillinsyra: 5 mg/l; syringinsyra: 5 mg/l; scopoletin: 0,5 mg/l.

5. Utrustning

Vanlig laboratorierutrustning

- 5.1 Ett HPLC-system som kan fungera med binära gradienter och utrustat med:
 - 5.1.1 En spektrofotometrisk detektor som kan mäta vid våglängder i intervallet 260–340 nm. Det är dock bäst att arbeta med en detektor för flera våglängder med en diodmatris eller liknande, i syfte att bekräfta topparnas renhet.
 - 5.1.2 En spektrofluorometrisk detektor – excitationsvåglängd: 354 nm, emissionsvåglängd: 446 nm (för spårbestämning av scopoletin; som även är påvisbar genom spektrofotometri, vid 313 nm).
 - 5.1.3 En injektor som kan föra in 10 eller 20 μ l (exempelvis) av provet.
 - 5.1.4 En HPLC-kolonn av typen RP C18, maximal partikelstorlek 5 μ m.
- 5.2 Injektionssprutor för HPLC.
- 5.3 Anordning för membranfiltrering av små volymer.
- 5.4 Integrator eller skrivare med prestanda som är kompatibla med hela utrustningen, och som i synnerhet måste ha flera kanaler för registrering av data.

6. Utförande

- 6.1 Beredning av den lösning som ska injiceras

Referenslösningen och spritdrycken filtreras vid behov genom ett membran med en pordiameter på högst 0,45 μ m.

- 6.2 Kromatografibetingelser: utför analysen vid rumstemperatur med den utrustning som beskrivs i 5.1 där de mobila faserna (4.4) används vid ett flöde på ungefär 0,6 ml/min enligt gradienten nedan (anges endast som exempel):

Tid: 0 min 50 min 70 min 90 min

Lösningsmedel A (vatten-syra): 100 % 60 % 100 % 100 %

Lösningsmedel B: metanol. 0 % 40 % 0 % 0 %

Observera att i vissa fall bör denna gradient ändras för att undvika samtidiga elueringar.

6.3 Bestämning

- 6.3.1 Injicera referensstandarderna separat, sedan blandade.

Anpassa driftsförhållandena så att lösningsfaktorerna för topparna är minst 1 för samtliga föreningar.

- 6.3.2 Injicera provet som beretts enligt 6.1.

- 6.3.3 Mät areorna för topparna i referenslösningen och spritdrycken och beräkna koncentrationerna.

7. Redovisning av resultaten

Uttryck koncentrationen för varje beståndsdel i mg/l.

8. Metodutvärdering (precision)

Följande data erhöles under 2009 från en internationell metodutvärderingsstudie för flera olika spritdrycker, genomförd enligt följande internationellt överenskomna förfaranden [1], [2].

8.1 Furfural

Analyt	Furfural					
Prov	Whisky	Brandy	Rom	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Antal deltagande laboratorier	15	15	15	15	15	15
Antal godkända resultat (laboratorier)	14	12	13	14	13	13
Medelvärde [mg/l]	2,9	1,2	1,7	10,6	15,3	13,9
Standardavvikelse för repeterbarhet, s_r [mg/l]	0,04	0,05	0,04	0,18	0,23	0,20
Relativ standardavvikelse för repeterbarhet, RSD_r [%]	1,4	4,5	2,3	1,7	1,5	1,5

Analyt	Furfural					
Prov	Whisky	Brandy	Rom	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Repeterbarhetsgräns, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,2	0,1	0,5	0,6	0,6
Standardavvikelse för reproducerbarhet, s_R [mg/l]	0,24	0,18	0,09	1,4	0,49	0,69
Relativ standardavvikelse för reproducerbarhet, RSD_R [%]	8	15	5	13	3	5
Reproducerbarhetsgräns, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,7	0,5	0,3	3,8	1,4	1,9

8.2 5-hydroximetilfurfural

Analyt	5-hydroximetilfurfural					
Prov	Whisky	Brandy	Rom	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Antal deltagande laboratorier	16	16	16	16	16	16
Antal godkända resultat (laboratorier)	14	14	14	14	14	14
Medelvärde [mg/l]	5,0	11,1	9,4	33,7	5,8	17,5
Standardavvikelse för repeterbarhet, s_r [mg/l]	0,09	0,09	0,09	0,42	0,07	0,13
Relativ standardavvikelse för repeterbarhet, RSD_r [%]	1,7	0,8	1,0	1,3	1,2	0,8
Repeterbarhetsgräns, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,2	0,3	0,3	1,2	0,2	0,4
Standardavvikelse för reproducerbarhet, s_R [mg/l]	0,39	1,01	0,50	4,5	0,4	1,6
Relativ standardavvikelse för reproducerbarhet, RSD_R [%]	8	9	5	13	7	9
Reproducerbarhetsgräns, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	1,1	2,8	1,4	12,5	1,1	4,6

8.3 5-metylfurfural

Analyt	5-metylfurfural					
Prov	Whisky	Brandy	Rom	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Antal deltagande laboratorier	11	11	11	11	11	11
Antal godkända resultat (laboratorier)	11	11	8	11	10	11
Medelvärde [mg/l]	0,1	0,2	0,1	0,5	1,7	0,8
Standardavvikelse för repeterbarhet, s_r [mg/l]	0,01	0,01	0,02	0,02	0,03	0,07
Relativ standardavvikelse för repeterbarhet, RSD_r [%]	10,7	6,1	13,6	4,7	2,0	10,0
Repeterbarhetsgräns, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,2
Standardavvikelse för reproducerbarhet, s_R [mg/l]	0,03	0,04	0,03	0,18	0,20	0,26
Relativ standardavvikelse för reproducerbarhet, RSD_R [%]	35	18	22	39	12	35
Reproducerbarhetsgräns, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,1	0,1	0,1	0,5	0,6	0,7

8.4 Vanillin

Analyt	Vanillin					
Prov	Whisky	Brandy	Rom	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Antal deltagande laboratorier	16	15	16	16	16	16
Antal godkända resultat (laboratorier)	16	15	16	16	16	16
Medelvärde [mg/l]	0,5	0,2	1,2	1,2	3,2	3,9
Standardavvikelse för repeterbarhet, s_r [mg/l]	0,03	0,02	0,06	0,11	0,11	0,09

Analyt	Vanillin					
Prov	Whisky	Brandy	Rom	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Relativ standardavvikelse för repeterbarhet, RSD_r [%]	6,8	9,6	4,6	8,9	3,5	2,3
Repeterbarhetsgräns, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3	0,3
Standardavvikelse för reproducerbarhet, s_R [mg/l]	0,09	0,06	0,18	0,27	0,41	0,62
Relativ standardavvikelse för reproducerbarhet, RSD_R [%]	19	25	15	22	13	16
Reproducerbarhetsgräns, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,3	0,2	0,5	0,8	1,2	1,7

8.5 Syringaldehyd

Analyt	Syringaldehyd					
Prov	Whisky	Brandy	Rom	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Antal deltagande laboratorier	16	15	16	16	16	16
Antal godkända resultat (laboratorier)	13	13	13	12	14	13
Medelvärde [mg/l]	1,0	0,2	4,8	3,2	10,5	9,7
Standardavvikelse för repeterbarhet, s_r [mg/l]	0,03	0,02	0,04	0,08	0,10	0,09
Relativ standardavvikelse för repeterbarhet, RSD_r [%]	2,6	8,1	0,8	2,6	0,9	0,9
Repeterbarhetsgräns, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3
Standardavvikelse för reproducerbarhet, s_R [mg/l]	0,08	0,07	0,23	0,19	0,39	0,43
Relativ standardavvikelse för reproducerbarhet, RSD_R [%]	8	33	5	6	4	4
Reproducerbarhetsgräns, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,2	0,2	0,7	0,5	1,1	1,2

8.6 Coniferaldehyd

Analyt	Coniferaldehyd					
Prov	Whisky	Brandy	Rom	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Antal deltagande laboratorier	13	12	13	12	13	13
Antal godkända resultat (laboratorier)	12	12	13	12	13	13
Medelvärde [mg/l]	0,2	0,2	0,6	0,8	4,6	1,3
Standardavvikelse för repeterbarhet, s_r [mg/l]	0,02	0,02	0,03	0,03	0,09	0,06
Relativ standardavvikelse för repeterbarhet, RSD_r [%]	9,2	9,8	4,6	4,3	1,9	4,5
Repeterbarhetsgräns, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,04	0,04	0,07	0,09	0,24	0,16
Standardavvikelse för reproducerbarhet, s_R [mg/l]	0,04	0,04	0,11	0,18	0,38	0,25
Relativ standardavvikelse för reproducerbarhet, RSD_R [%]	23	27	21	23	8	19
Reproducerbarhetsgräns, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,1	0,1	0,3	0,5	1,1	0,7

8.7 Sinapinaldehyd

Analyt	Sinapinaldehyd					
Prov	Whisky	Brandy	Rom	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Antal deltagande laboratorier	14	14	14	14	15	14
Antal godkända resultat (laboratorier)	14	13	12	13	13	12
Medelvärde [mg/l]	0,3	0,2	0,2	1,6	8,3	0,3
Standardavvikelse för repeterbarhet, s_r [mg/l]	0,02	0,01	0,02	0,06	0,14	0,03

Analyt	Sinapinaldehyd					
Prov	Whisky	Brandy	Rom	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Relativ standardavvikelse för repeterbarhet, RSD_r [%]	7,5	4,6	11,2	3,7	1,6	11,4
Repeterbarhetsgräns, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,06	0,03	0,06	0,17	0,38	0,08
Standardavvikelse för reproducerbarhet, s_R [mg/l]	0,09	0,05	0,08	0,20	0,81	0,18
Relativ standardavvikelse för reproducerbarhet, RSD_R [%]	31	27	46	13	10	73
Reproducerbarhetsgräns, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,2	0,2	0,2	0,6	2,3	0,5

8.8 Gallussyra

Analyt	Gallussyra					
Prov	Whisky	Brandy	Rom	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Antal deltagande laboratorier	16	15	16	16	16	16
Antal godkända resultat (laboratorier)	15	14	16	16	16	16
Medelvärde [mg/l]	1,2	0,4	2,0	6,1	7,3	21,8
Standardavvikelse för repeterbarhet, s_r [mg/l]	0,07	0,04	0,06	0,18	0,18	0,60
Relativ standardavvikelse för repeterbarhet, RSD_r [%]	6,1	8,1	2,9	3,0	2,4	2,8
Repeterbarhetsgräns, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,2	0,1	0,2	0,5	0,5	1,7
Standardavvikelse för reproducerbarhet, s_R [mg/l]	0,43	0,20	0,62	3,3	2,2	7,7
Relativ standardavvikelse för reproducerbarhet, RSD_R [%]	36	47	31	53	30	35
Reproducerbarhetsgräns, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	1,2	0,6	1,7	9,1	6,2	21,7

8.9 Ellagsyra

Analyt	Ellagsyra					
Prov	Whisky	Brandy	Rom	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Antal deltagande laboratorier	7	7	7	7	7	7
Antal godkända resultat (laboratorier)	7	7	7	7	7	6
Medelvärde [mg/l]	3,2	1,0	9,5	13	13	36
Standardavvikelse för repeterbarhet, s_r [mg/l]	0,20	0,16	0,30	0,41	0,95	0,34
Relativ standardavvikelse för repeterbarhet, RSD_r [%]	6,3	16	3,2	3,2	7,4	1,0
Repeterbarhetsgräns, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,6	0,4	0,9	1,1	2,7	1,0
Standardavvikelse för reproducerbarhet, s_R [mg/l]	1,41	0,42	4,0	5,0	4,9	14
Relativ standardavvikelse för reproducerbarhet, RSD_R [%]	44	43	42	39	39	40
Reproducerbarhetsgräns, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	4,0	1,2	11	14	14	40

8.10 Vanillinsyra

Analyt	Vanillinsyra					
Prov	Whisky	Brandy	Rom	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Antal deltagande laboratorier	15	15	15	15	15	15
Antal godkända resultat (laboratorier)	12	11	14	14	15	14
Medelvärde [mg/l]	0,2	0,2	1,5	0,8	2,4	2,7
Standardavvikelse för repeterbarhet, s_r [mg/l]	0,03	0,04	0,03	0,10	0,13	0,21

Analyt	Vanillinsyra					
Prov	Whisky	Brandy	Rom	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Relativ standardavvikelse för repeterbarhet, RSD_r [%]	14,2	16,5	2,3	12,6	5,3	7,7
Repeterbarhetsgräns, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,1	0,1	0,3	0,4	0,6
Standardavvikelse för reproducerbarhet, s_R [mg/l]	0,06	0,05	0,51	0,2	1,22	0,70
Relativ standardavvikelse för reproducerbarhet, RSD_R [%]	28	20	35	31	51	26
Reproducerbarhetsgräns, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,2	0,1	1,4	0,7	3,4	2,0

8.11 Syringinsyra

Analyt	Syringinsyra					
Prov	Whisky	Brandy	Rom	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Antal deltagande laboratorier	16	15	16	16	16	16
Antal godkända resultat (laboratorier)	16	15	15	15	16	15
Medelvärde [mg/l]	0,4	0,2	2,5	1,4	3,4	4,8
Standardavvikelse för repeterbarhet, s_r [mg/l]	0,03	0,02	0,06	0,13	0,08	0,11
Relativ standardavvikelse för repeterbarhet, RSD_r [%]	6,7	12,6	2,3	9,0	2,3	2,3
Repeterbarhetsgräns, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,1	0,1	0,2	0,4	0,2	0,3
Standardavvikelse för reproducerbarhet, s_R [mg/l]	0,08	0,05	0,29	0,26	0,43	0,67
Relativ standardavvikelse för reproducerbarhet, RSD_R [%]	19	29	11	18	13	14
Reproducerbarhetsgräns, R [g/l] ($R = 2,8 \times s_R$)	0,2	0,1	0,8	0,7	1,2	1,9

8.12 Scopoletin

Analyt	Scopoletin					
Prov	Whisky	Brandy	Rom	Konjak 1	Bourbon	Konjak 2
Antal deltagande laboratorier	10	10	10	10	10	10
Antal godkända resultat (laboratorier)	9	8	9	8	8	8
Medelvärde [mg/l]	0,09	0,04	0,11	0,04	0,65	0,15
Standardavvikelse för repeterbarhet, s_r [mg/l]	0,0024	0,0008	0,0018	0,0014	0,0054	0,0040
Relativ standardavvikelse för repeterbarhet, RSD_r [%]	2,6	2,2	1,6	3,3	0,8	2,7
Repeterbarhetsgräns, r [mg/l] ($r = 2,8 \times s_r$)	0,007	0,002	0,005	0,004	0,015	0,011
Standardavvikelse för reproducerbarhet, s_R [mg/l]	0,01	0,01	0,03	0,01	0,09	0,02
Relativ standardavvikelse för reproducerbarhet, RSD_R [%]	15	16	23	17	15	15
Reproducerbarhetsgräns, 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".