

VERORDENING (EG) Nr. 440/2003 VAN DE COMMISSIE
van 10 maart 2003

houdende wijziging van Verordening (EEG) nr. 2676/90 tot vaststelling van de in de wijnsector toe te passen analysemethoden

DE COMMISSIE VAN DE EUROPESE GEMEENSCHAPPEN,

Gelet op het Verdrag tot oprichting van de Europese Gemeenschap,

Gelet op Verordening (EG) nr. 1493/1999 van de Raad van 17 mei 1999 houdende een gemeenschappelijke ordening van de wijnmarkt ⁽¹⁾, laatstelijk gewijzigd bij Verordening (EG) nr. 2585/2001 ⁽²⁾, en met name op artikel 46, lid 3, eerste alinea,

Overwegende hetgeen volgt:

- (1) In de bijlage van Verordening (EEG) nr. 2676/90 van de Commissie ⁽³⁾, laatstelijk gewijzigd bij Verordening (EG) nr. 1622/2000 ⁽⁴⁾, worden deze analysemethoden beschreven.
- (2) Een methode voor de analyse van het D-appelzuur, aangepast aan de meting van lage gehalten van D-appelzuur in wijn, is ontwikkeld en gevalideerd volgens erkende internationale criteria. De beschrijving van deze nieuwe methode is door het „Office international de la vigne et du vin” (OIV — Internationaal Wijnbureau) goedgekeurd tijdens diens algemene vergadering van juni 2002.
- (3) Een nieuwe methode voor analyse van de isotopische koolstofverhouding van het ethanol van wijn of van ethanol dat verkregen is door vergisting van druivenmost, geconcentreerde druivenmost en gerectificeerde geconcentreerde druivenmost is ontwikkeld en gevalideerd volgens erkende internationale criteria. De beschrijving van deze nieuwe methode is door het OIV goedgekeurd tijdens diens algemene vergadering van 2001.
- (4) Het gebruik van deze analysemethoden kan een betere controle op de kwaliteit en de authenticiteit van wijnen waarborgen en kan geschillen als gevolg van de toepas-

sing van minder nauwkeurige controlemethoden, met name voor de verrijking met suikermengsels van verschillende oorsprong en voor de controle op de verzuring van wijnen met appelzuur, voorkomen.

- (5) De huidige methode voor de bepaling van D-appelzuur als beschreven in de bijlage van Verordening (EEG) nr. 2676/90 moet worden aangevuld met de beschrijving van de procedure die van toepassing is op de bepaling van lage gehalten, en de beschrijving van de nieuwe isotopische methode voor de koolstof van het ethanol moet worden toegevoegd.
- (6) De in de onderhavige verordening vervatte maatregelen zijn in overeenstemming met het advies van het Comité van beheer voor wijn,

HEEFT DE VOLGENDE VERORDENING VASTGESTELD:

Artikel 1

De bijlage van Verordening (EEG) nr. 2676/90 wordt als volgt gewijzigd:

1. In hoofdstuk 20, „D-appelzuur”, wordt punt 8 vervangen door de tekst in bijlage I bij deze verordening.
2. Het hoofdstuk 45, dat is opgenomen in bijlage II bij deze verordening, wordt toegevoegd.

Artikel 2

Deze verordening treedt in werking op de zevende dag volgende op die van haar bekendmaking in het *Publicatieblad van de Europese Unie*.

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

Gedaan te Brussel, 10 maart 2003.

Voor de Commissie
Franz FISCHLER
Lid van de Commissie

⁽¹⁾ PB L 179 van 14.7.1999, blz. 1.

⁽²⁾ PB L 345 van 29.12.2001, blz. 10.

⁽³⁾ PB L 272 van 3.10.1990, blz. 1.

⁽⁴⁾ PB L 194 van 31.7.2000, blz. 1.

BIJLAGE I

„8. BEPALING VAN D-APPELZUUR (D(+)-APPELZUUR) IN WIJNEN (LAGE GEHALTEN)

8.1. Toepassingsgebied

De beschreven methode wordt toegepast voor de bepaling, langs enzymatische weg, van D-appelzuur van wijnen met een gehalte van minder dan 50 mg/l.

8.2. Principe

Het principe van de methode wordt in punt 1 beschreven. De vorming van NADH, gemeten aan de toename van de absorbantie op de golflengte van 340 nm, is evenredig met de aanwezige hoeveelheid D-appelzuur, nadat een hoeveelheid D-appelzuur die gelijkwaardig is aan 50 mg/l, is ingebracht in de meetcuve.

8.3. Reagentia

Naast de in punt 2 genoemde reagentia, D-appelzuuroplossing à 0,199 g/l.

8.4. Apparatuur

De apparatuur wordt in punt 3 genoemd.

8.5. Voorbehandeling van het monster

De voorbehandeling van het monster wordt in punt 4 beschreven.

8.6. Werkwijze

De werkwijze wordt in punt 5 beschreven, maar met het inbrengen in de meetcuve van een hoeveelheid D-appelzuur die gelijkwaardig is aan 50 mg/l (inbreng van 0,025 ml appelzuuroplossing à 0,199 g/l, ter vervanging van het gelijkwaardige volume water); de waarden worden met 50 mg/l verminderd.

8.7. Interne validering

In onderstaande tabel wordt een overzicht gegeven van de interne validering van de methode voor bepaling van het appelzuur na voorafgaande toevoeging van 50 mg van deze isomeer per liter.

Werkterrein	0 mg tot 70 mg D-appelzuur per liter. Binnen deze grenzen is de methode lineair met een correlatiecoëfficiënt tussen 0,990 en 0,994
Kwantificatielimiet	24,4 mg/l
Detectielimiet	8,3 mg/l
Gevoeligheid	0,0015 abs/mg/l
Recuperatiepercentages	87,5 tot 115,0 % voor witte wijnen en 75 tot 105 % voor rode wijnen
Herhaalbaarheid	= 12,4 mg/l voor witte wijnen (volgens de OIV-methode = 12,5 mg/l) = 12,6 mg/l voor rode wijnen (volgens de OIV-methode = 12,7 mg/l)
Variatiecoëfficiënt	4,2 tot 7,6 % (witte wijnen en rode wijnen)
Variabiliteit tussen laboratoria	CV = 7,4 % (s = 4,4 mg/l; gemiddeld = 59,3 mg/l)”

BIJLAGE II

„45. **BEPALING VAN DE ISOTOPISCHE $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -VERHOUDING DOOR MIDDEL VAN ISOTOPISCHE MASSA-SPECTROMETRIE VAN HET ETHANOL VAN DE WIJN OF VAN HET ETHANOL DAT WORDT VERKREGEN DOOR VERGISTING VAN MOST, GECONCENTREERDE MOST OF GERECTIFICEERDE GECONCENTREERDE MOST**

1. TOEPASSINGSGEBIED

Met behulp van deze methode wordt het mogelijk de isotopische $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -verhouding te meten van het ethanol van de wijn en die van het ethanol dat wordt verkregen na vergisting van de producten die van de wijnstok afkomstig zijn (most, geconcentreerde most, gerectificeerde geconcentreerde most).

2. VERWIJZINGEN NAAR NORMEN

ISO: 5725:1994 „Betrouwbaarheid van proefmethoden — Bepaling van de herhaalbaarheid en de reproduceerbaarheid van een genormaliseerde proefmethode door middel van proeven in verschillende laboratoria”.

V-PDB: Vienna-Pee-Dee Belemnite ($R_{\text{PDB}} = 0,0112372$).

Methode 8 van de bijlage van deze verordening: „Bepaling van de verrijking van most, geconcentreerde most, gerectificeerde geconcentreerde most en wijnen door toepassing van de magnetische nucleaire resonantie van deuterium (RMN-FINS)”

3. BEGRIPPEN EN DEFINITIES

$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$: verhouding tussen de isotopen van koolstof 13 (^{13}C) en van koolstof 12 (^{12}C) voor een gegeven monster.

$\delta^{13}\text{C}$: gehalte aan koolstof 13 (^{13}C), uitgedrukt in deeltjes per duizend (‰).

RMN-FINS: specifieke natuurlijke isotopische fractionering, bestudeerd door middel van magnetische nucleaire resonantie.

V-PDB: Vienna Pee Dee Belemnite. Het PDB, primaire referentie voor het meten van isotopische gehalten aan koolstof 13, was een calciumcarbonaat afkomstig van een belemnietrostrum (uit het Krijt) van de Pee-Dee-formatie in Zuid-Carolina (Verenigde Staten). De isotopische $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -verhouding van R_{PDB} hiervan is $R_{\text{PDB}} = 0,0112372$. Het PDB is reeds lang uitgeput, maar is de referentie gebleven voor het uitdrukken van de natuurlijke variaties van de gehalten aan koolstof 13, waaraan de referentiematerialen die bij het Internationaal Atoombureau (IAEA) in Wenen (Oostenrijk) beschikbaar zijn, worden geijkt. De isotopische bepalingen van de natuurlijke aanwezigheid van koolstof 13 worden volgens afspraak uitgevoerd in verhouding tot het V-PDB.

m/z: verhouding massa/lading.

4. PRINCIPE

Tijdens de fotosynthese wordt koolstofgas door de planten geassimileerd volgens twee soorten metabolisme, namelijk het C_3 - (cyclus van Calvin) en het C_4 -metabolisme (Hatch en Slack). Deze beide fotosynthesemetabolismen vertonen een verschillende isotopische fractionering. Zo hebben producten die afkomstig zijn van C_4 -planten, zoals suikers en van vergisting afkomstige alcohol, een hoger gehalte aan koolstof 13 dan de producten van C_3 -planten. De meeste planten, zoals de wijnstok en de suikerbiet, behoren tot de C_3 -groep. Suikerriet en maïs behoren tot de C_4 -groep. De meting van het gehalte aan koolstof 13 maakt dus de opsporing en evaluatie mogelijk van suiker van C_4 -oorsprong (rietsuiker of isoglucose van maïs), die is toegevoegd aan producten die van de druif afkomstig zijn (druivenmost, wijnen enz.). De combinatie van de gegevens over het gehalte aan koolstof 13 met de gegevens die aan de hand van RMN-FINS zijn verkregen, maakt ook de kwantificering mogelijk van toegevoegde mengsels van suikers of alcoholen die van C_3 - en C_4 -planten afkomstig zijn.

Het gehalte aan koolstof 13 wordt bepaald op het koolstofgas dat wordt gevormd als gevolg van de volledige verbranding van het monster. De hoeveelheden van de voornaamste massa-isotopomeren 44 ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}_2$), 45 ($^{13}\text{C}^{16}\text{O}_2$ en $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$) en 46 ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$), die het resultaat zijn van de verschillende mogelijke combinaties van de isotopen ^{18}O , ^{17}O , ^{16}O , ^{13}C en ^{12}C , worden bepaald aan de hand van de ionische stromen die op drie verschillende collectoren van een isotopische massaspectrometer worden gemeten. De bijdragen van de isotopomeren $^{13}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$ en $^{12}\text{C}^{17}\text{O}_2$ kunnen verwaarloosd aangezien ze maar heel weinig voorkomen. De ionische stroom voor $m/z = 45$ wordt gecorrigeerd voor de bijdrage van $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$ die wordt berekend aan de hand van de intensiteit van de stroom die voor $m/z = 46$ is gemeten, met inachtneming van de relatieve hoeveelheden ^{18}O en ^{17}O (correctie van Craig). Met behulp van de vergelijking met een referentie die geijkt is aan de internationale referentie V-PDB, is het mogelijk het gehalte aan koolstof 13 op de relatieve $\delta^{13}\text{C}$ -schaal te berekenen.

5. REAGENTIA

De materialen en verbruiksstoffen zijn afhankelijk van de apparatuur (punt 6) die door het laboratorium wordt gebruikt. De systemen die meestal worden toegepast zijn die welke op de elementaire analyser zijn gebaseerd. Deze kan zijn uitgerust voor de invoering van monsters die in verzegelde metalen capsules zijn ingebracht of voor de insputting van vloeibare monsters door een septum met behulp van een injectiespuit.

Afhankelijk van de gebruikte soort instrumenten, kunnen de volgende referentiematerialen, reagentia en verbruiksstoffen worden gebruikt:

- Referentiematerialen
- Beschikbaar bij het IAEA:

Naam	Materiaal	$\delta^{13}\text{C}$ tegen V-PDB (punt 9)
— IAEA-CH-6	sacharose	- 10,4 ‰
— IAEA-CH-7	polytheen	- 31,8 ‰
— NBS22	olie	- 29,7 ‰
— USGS24	grafiet	- 16,1 ‰

- Beschikbaar bij het IRMM in Geel (B) (Instituut voor referentiematerialen en -metingen):

Naam	Materiaal	$\delta^{13}\text{C}$ tegen V-PDB (punt 9)
— CRM/BCR 656	wijnalcohol	- 26,93 ‰
— CRM/BCR 657	glucose	- 10,75 ‰
— CRM/BCR 660	hydroalcoholische oplossing (alcoholpercentage 12 % vol)	- 26,72 ‰

- Standaardreferentiemonster met bekende $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -verhouding die is geijkt aan de internationale referentiematerialen.
- Onderstaande indicatieve lijst met verbruiksartikelen is vastgesteld voor de systemen met continue flux:
 - helium voor analyse (CAS 07440-59-7);
 - zuurstof voor analyse (CAS 07782-44-7);
 - koolstofdioxide voor analyse, gebruikt als secundair referentiegas voor het gehalte aan koolstof 13 (CAS 00124-38-9);
 - oxidatiereagens voor de oven van het verbrandingssysteem, bijvoorbeeld koperoxide (II) voor elementaire analyse (CAS 1317-38-0);
 - droogmiddel voor de verwijdering van het water dat tijdens de verbranding wordt geproduceerd, bijvoorbeeld anhydrone voor elementaire analyse (magnesiumperchloraat) (CAS 10034-81-8) (niet nodig voor apparaten die met een systeem voor het verwijderen van het water door middel van cryofixatie of door middel van een selectief doorlaatbaar capillair zijn uitgerust).

6. APPARATEN EN MATERIAAL

6.1. Massaspectrometer voor isotopische verhouding (SMRI)

Massaspectrometer voor isotopische verhouding (SMRI), waarmee het mogelijk is het relatieve ^{13}C -gehalte van het in de natuur voorkomende CO_2 -gas met een interne nauwkeurigheid van de relatieve waarde van 0,05 ‰ of beter (punt 9) te bepalen. De interne nauwkeurigheid wordt hier gedefinieerd als het verschil tussen twee metingen van hetzelfde CO_2 -monster. De massaspectrometer die is bestemd voor de meting van isotopische verhoudingen, dient te zijn uitgerust met een drievoudige collector voor het gelijktijdig meten van de intensiteiten voor $m/z = 44$, 45 en 46. De spectrometer voor isotopische verhouding dient te zijn uitgerust met een systeem voor dubbele invoering, om afwisselend het onbekende en een referentiemonster te meten of een geïntegreerd systeem te gebruiken dat de kwantitatieve verbranding van de monsters uitvoert en voorafgaande aan de meting in de massaspectrometer het koolstofdioxide scheidt van de overige verbrandingsproducten.

6.2. Verbrandingsapparatuur

Verbrandingsapparatuur die in staat is het ethanol om te zetten in kooldioxide en alle andere verbrandingsproducten, water inbegrepen, te elimineren zonder enige isotopische fractionering. De apparatuur kan een systeem voor continue flux zijn dat is geïntegreerd in de instrumentatie van de massaspectrometer (punt 6.2.1), of een autonoom verbrandingssysteem (punt 6.2.2). Met deze apparatuur dient het mogelijk te zijn een nauwkeurigheid te bereiken die gelijkwaardig is aan die welke in punt 11 wordt genoemd.

6.2.1. Systemen voor continue flux

Deze bestaan uit een elementaire analyser of een gaschromatograaf die is uitgerust met een systeem voor doorlopende verbranding.

Voor de systemen die zijn uitgerust voor het invoeren van monsters in metalen capsules, wordt onderstaand laboratoriummateriaal gebruikt:

- micro-injectiespuit of volumetrische micropipet met geschikte conussen;
- monsterbalans met afleesschaal van 1 µg of beter;
- tang voor het hanteren en vullen van de capsules;
- tinnen capsules voor vloeibare monsters;
- tinnen capsules voor vaste monsters.

Noot: Om de risico's van verdamping van de ethanolmonsters te beperken, is het mogelijk in de capsules een absorberend materiaal (bijvoorbeeld chromosorb W 45-60 mesh) aan te brengen, waarvan men van tevoren aan de hand van een blancometing heeft vastgesteld dat het geen aanzienlijke hoeveelheid koolstof bevat die de metingen zou kunnen beïnvloeden.

Bij gebruik van een elementaire analyser die met een injector voor vloeistoffen is uitgerust of in het geval van een bereidingsysteem voor chromatografie-verbranding, wordt het volgende laboratoriummateriaal gebruikt:

- injectiespuit voor vloeistoffen;
- flacons uitgerust met dicht sluitingssysteem en inerte septa.

De in bovenstaande lijsten genoemde laboratoriummaterialen zijn als voorbeelden bedoeld en kunnen, afhankelijk van het soort verbrandingsapparatuur en massaspectrometer die het laboratorium gebruikt, door andere materialen met gelijkwaardige prestaties worden vervangen.

6.2.2. Autonome voorbehandelingsystemen

In dit geval worden de kooldioxidemonsters die het resultaat zijn van de verbranding van de te analyseren monsters en van de referentie, verzameld in ampullen die vervolgens in het dubbele ingangssysteem van de spectrometer worden geplaatst ten behoeve van de uitvoering van de isotopische analyse. Verscheidene in de literatuur beschreven verbrandingsapparaten kunnen worden gebruikt:

- gesloten verbrandingssysteem met circulerend zuurstofgas;
- elementaire analyser met helium- en zuurstofflux;
- verzegelde glazen ampul, gevuld met koperoxide (II) als oxidatiemiddel.

7. VOORBEHANDELING VAN DE MONSTERS VOOR DE PROEF

Voor de isotopische bepaling dient het ethanol uit de wijn te worden geëxtraheerd. Deze extractie dient te geschieden door destillatie van de wijn zoals beschreven in punt 3.1 van methode nr. 8 (RMN-FINS).

In het geval van druivenmost, geconcentreerde druivenmost en gerectificeerde druivenmost dienen de suikers in ethanol te worden vergist zoals beschreven in punt 3.2 van methode nr. 8.

8. WERKWIJZE

Alle voorbereidingsfasen dienen te worden uitgevoerd zonder enig significant verlies aan ethanol door verdamping, wat zou leiden tot een verandering van de isotopische samenstelling van het monster.

In onderstaande beschrijving wordt verwezen naar de procedures die algemeen worden gebruikt voor de verbranding van ethanolmonsters met behulp van in de handel verkrijgbare geautomatiseerde verbrandingsystemen. Elke andere methode die waarborgt dat het ethanolmonster kwantitatief wordt omgezet in kooldioxide zonder enig verlies van ethanol door verdamping, kan voor de bereiding van kooldioxide voor de isotopische analyse in aanmerking komen.

Experimentele procedure op basis van het gebruik van een elementaire analyser

- a) Overbrengen van monsters in capsules:
- gebruik capsules, een tang en een plateau die schoon zijn;
 - pak met behulp van de tang een capsule met de juiste afmeting;
 - breng de noodzakelijke hoeveelheid vloeistof in de capsule in met behulp van de micropipet;
 - *Noot:* Er is 3,84 mg ethanol absoluut of 4,17 mg destillaat met een alcoholgehalte van 92 % m/m nodig om 2 mg koolstof te verkrijgen. De juiste hoeveelheid destillaat moet op dezelfde manier worden berekend al naar gelang van de hoeveelheid koolstof die nodig is afhankelijk van de gevoeligheid van de instrumenten van de massaspectrometer.
 - sluit de capsule met behulp van de tangen;

- elke capsule moet absoluut goed verzegeld zijn; is dat niet mogelijk, dan moet deze worden afgewezen en een nieuwe capsule worden bereid;
 - bereid twee capsules per monster;
 - plaats de capsules op de juiste plaats op het plateau van de automatische monsterwisselaar van de elementaire analyser; elke capsule dient zorgvuldig te worden gemerkt met een volgnummer;
 - plaats systematisch capsules met de werkreferenties aan het begin en aan het eind van de reeks monsters;
 - voeg regelmatig controlemonsters toe aan de reeks monsters.
- b) Controle en instelling van de instrumenten voor elementaire analyse en massaspectrometrie:
- stel de temperatuur van de ovens van de elementaire analyser en de helium- en zuurstofstromen in voor een optimale verbranding van het monster;
 - controleer het systeem voor elementaire analyse en massaspectrometrie op lekken (bijvoorbeeld door het controleren van de ionische stroom voor $m/z = 28$ overeenkomende met N_2);
 - stel de massaspectrometer in voor het meten van de ionische stromen voor $m/z = 44, 45$ en 46 ;
 - controleer het systeem met behulp van bekende controlemonsters alvorens met het meten van de monsters te beginnen.
- c) Verloop van een reeks metingen

De monsters die op de automatische monsterwisselaar van de elementaire analyser (of de chromatograaf) zijn geplaatst worden achtereenvolgens ingebracht. Het kooldioxide van elke monsterverbranding wordt geëluëerd naar de massaspectrometer die de ionische stromen meet. De computer die met de instrumenten is verbonden, registreert de intensiteit van de ionische stromen en berekent voor elk monster de δ -waarde (punt 9).

9. BEREKENING

Het doel van de methode is het meten van de $^{13}C/^{12}C$ -verhouding van het ethanol dat is geëxtraheerd uit wijn of uit vergistingsproducten van de druif. De isotopische $^{13}C/^{12}C$ -verhouding kan worden uitgedrukt in haar afwijking van een werkreferentie. De isotopische verhouding van koolstof 13 ($\delta^{13}C$) wordt dan berekend op een schaal van delta per duizend ($\delta/1\ 000$), door de resultaten die bereikt zijn voor het te meten monster te vergelijken met die van de werkreferentie, die eerder geijkt is aan de primaire internationale referentie (V-PDB). De $\delta^{13}C$ -waarden worden ten opzichte van de werkreferentie uitgedrukt volgens:

$$\delta^{13}C_{\text{monster/ref}} \text{‰} = 1\ 000 \times (R_{\text{monster}} - R_{\text{ref}}) / R_{\text{ref}}$$

waarin R_{ech} en R_{ref} respectievelijk de isotopische $^{13}C/^{12}C$ -verhouding van het monster en die van het koolstofdioxide dat als referentiegas is gebruikt, aangeven.

De $\delta^{13}C$ -waarden worden vervolgens uitgedrukt in verhouding tot V-PDB volgens:

$$\delta^{13}C_{\text{monster/V-PDB}} \text{‰} = \delta^{13}C_{\text{monster/ref}} + \delta^{13}C_{\text{ref/V-PDB}} + (\delta^{13}C_{\text{monster/ref}} \times \delta^{13}C_{\text{ref/V-PDB}}) / 1\ 000,$$

waarin $\delta^{13}C_{\text{ref/V-PDB}}$ de isotopische afwijking is die eerder voor de werkreferentie is bepaald ten opzichte van V-PDB.

Tijdens de doorlopende meting kunnen als gevolg van de omstandigheden van de instrumenten geringe afwijkingen worden geconstateerd. In dat geval dienen de $\delta^{13}C$ -waarden van de monsters te worden gecorrigeerd afhankelijk van het verschil van de $\delta^{13}C$ -waarde die voor het standaardwerkmonster is gemeten en de werkelijke waarde die eerder aan het V-PDB is geijkt door vergelijking met een van de materialen voor internationale referentie. Tussen twee metingen van het standaardwerkmonster kunnen de afwijking, en dus de op de resultaten van de monsters toe te passen correctie, als lineair worden aangenomen. Aan het begin en aan het einde van iedere reeks metingen dient het standaardwerkmonster te worden gemeten. Vervolgens kan per monster een correctie worden berekend door middel van een lineaire interpolatie.

10. KWALITEITSGARANTIE EN -CONTROLE

Controleren of de ^{13}C -waarde voor de werkreferentie niet meer dan 0,5 ‰ afwijkt van de aangenomen waarde. Is dat niet het geval, dan dienen de instellingen van de instrumenten van de spectrometer te worden gecontroleerd en eventueel te worden bijgesteld.

Per monster nagaan of het verschil in resultaat tussen de twee achtereenvolgens gemeten capsules lager is dan 0,3 ‰. Het eindresultaat voor een gegeven monster is dan de gemiddelde waarde van de twee capsules. Indien de afwijking groter is dan 0,3 ‰, dient de meting te worden herhaald.

Een controle op het juist functioneren van de meting kan worden gebaseerd op de intensiteit van de ionische stroom voor $m/z = 44$, die evenredig is aan de hoeveelheid koolstof die in de elementaire analyser is gespoten. In de standaardomstandigheden zou de intensiteit van deze ionische stroom voor de monsters tijdens de analyse praktisch constant moeten zijn. Bij een aanzienlijke afwijking rijst het vermoeden dat sprake is van een ethanolverdamper (bijvoorbeeld een niet volledig verzegelde capsule) of van instabiliteit van de elementaire analyser of de massaspectrometer.

11. PRESTATIEKENMERKEN VAN DE METHODE (NAUWKEURIGHEID)

Er is een eerste samenwerkingsstudie (punt 11.1) verricht van destillaten, waaronder alcoholen uit wijn en alcoholen uit suikerriet en suikerbieten, alsmede met verschillende mengsels van deze drie oorsprongen. Aangezien bij deze studie geen rekening is gehouden met de destillatiefase, zijn eveneens aanvullende gegevens in aanmerking genomen die uit andere samenwerkingsproeven op wijnen (punt 11.2) en met name gezamenlijke geschiktheidsproeven (punt 11.3) voor de isotopische metingen afkomstig zijn. De resultaten laten zien dat de verschillende destillatiesystemen die in bevredigende omstandigheden zijn gebruikt en in het bijzonder die welke op de RMN-FINS-metingen van toepassing zijn, geen significante variabiliteit meebrengen voor de $\delta^{13}\text{C}$ -bepalingen van het ethanol van wijn. De voor de wijnen waargenomen betrouwbaarheidsparameters zijn praktisch identiek aan die welke bij de gezamenlijke studie (punt 11.1) van de destillaten zijn verkregen.

11.1. Samenwerkingsstudie van de destillaten

Jaar van de gezamenlijke proef:	1996
Aantal deelnemende laboratoria:	20
Aantal monsters:	zes dubbelblindmonsters
Te analyseren:	$\delta^{13}\text{C}$ van het ethanol

Code van de monsters	Alcohol uit wijn	Alcohol uit suikerbiet	Alcohol uit suikerriet
A & G	80 %	10 %	10 %
B & C	90 %	10 %	0 %
D & F	0 %	100 %	0 %
E & I	90 %	0 %	10 %
H & K	100 %	0 %	0 %
J & L	0 %	0 %	100 %

Monsters	A/G	B/C	D/F	E/I	H/K	J/L
Aantal overblijvende laboratoria na eliminatie van afwijkende resultaten	19	18	17	19	19	19
Aantal aanvaarde resultaten	38	36	34	38	38	38
Gemiddelde waarde ($\delta^{13}\text{C}$) ‰	- 25,32	- 26,75	- 27,79	- 25,26	- 26,63	- 12,54
S_r^2	0,0064	0,0077	0,0031	0,0127	0,0069	0,0041
Standaardherhaalbaarheidsafwijking (S_r)	0,08	0,09	0,06	0,11	0,08	0,06
Herhaalbaarheidslimiet ($2,8 \times S_r$) ‰	0,22	0,25	0,16	0,32	0,23	0,18
S_R^2	0,0389	0,0309	0,0382	0,0459	0,0316	0,0584
Standaardreproduceerbaarheidsafwijking (S_R) ‰	0,20	0,18	0,20	0,21	0,18	0,24
Reproduceerbaarheidslimiet R ($2,8 \times S_R$) ‰	0,55	0,49	0,55	0,60	0,50	0,68

11.2. Samenwerkingsstudie van twee wijnen en een alcohol

Jaar van de gezamenlijke proef:	1996
Aantal deelnemende laboratoria:	14 voor de destillaten van de wijnen, waarvan zeven eveneens voor de meting van de $\delta^{13}\text{C}$ -waarde van het ethanol van de wijnen, acht voor de meting van de $\delta^{13}\text{C}$ -waarde van het alcoholmonster.
Aantal monsters:	drie (witte wijn, alcoholpercentage 9,3 % vol, witte alcoholpercentage 9,6 % vol en alcohol met een alcoholometrisch gehalte van 93 % m/m).
Voorwerp van de analyse:	$\delta^{13}\text{C}$ -waarde van het ethanol

Monsters	Rode wijn	Witte wijn	Alcohol
Aantal laboratoria	7	7	8
Aantal aanvaarde resultaten	7	7	8
Gemiddelde waarde ($\delta^{13}\text{C}$) ‰	- 26,20	- 26,20	- 25,08
Reproduceerbaarheidsvarianantie S_R^2	0,0525	0,0740	0,0962
Standaardreproduceerbaarheidsafwijking (S_R) ‰	0,23	0,27	0,31
Reproduceerbaarheidslimiet R ($2,8 \times S_R$) ‰	0,64	0,76	0,87

Door de deelnemende laboratoria zijn verschillende destillatiesystemen gebruikt. De isotopische bepalingen van de $\delta^{13}\text{C}$ -waarde die in één enkel laboratorium zijn verricht, op alle door de deelnemers ingezonden destillaten vertonen noch een afwijkende waarde, noch een waarde die significant afwijkt van de gemiddelde waarden. De variantie van de resultaten ($S^2 = 0,0059$) is vergelijkbaar met de herhaalbaarheidsvarianties S_r^2 van de samenwerkingsstudie van de destillaten (punt 11.1).

11.3. Resultaten van de gezamenlijke geschiktheidsproeven voor isotopische bepalingen

Sedert december 1994 worden regelmatig internationale geschiktheidsproeven voor de isotopische bepalingen op wijnen en alcoholen (destillaten met een alcoholgehalte van 96 % vol) georganiseerd. De resultaten stellen de deelnemende laboratoria in staat de kwaliteit van hun analyses te controleren. De statistische verwerking van de resultaten maakt het mogelijk de variabiliteit van de bepalingen in reproduceerbaarheidsomstandigheden te beoordelen en dus de variantieparameters en de reproduceerbaarheidslimiet te ramen. De resultaten die zijn verkregen voor de bepalingen van de $\delta^{13}\text{C}$ -waarde van het ethanol van wijnen en destillaten worden in onderstaande tabel samengevat:

Datum	Wijnen				Destillaten			
	N	S_R	S_R^2	R	N	S_R	S_R^2	R
December 1994	6	0,210	0,044	0,59	6	0,151	0,023	0,42
Juni 1995	8	0,133	0,018	0,37	8	0,147	0,021	0,41
December 1995	7	0,075	0,006	0,21	8	0,115	0,013	0,32
Maart 1996	9	0,249	0,062	0,70	11	0,278	0,077	0,78
Juni 1996	8	0,127	0,016	0,36	8	0,189	0,036	0,53
September 1996	10	0,147	0,022	0,41	11	0,224	0,050	0,63
December 1996	10	0,330	0,109	0,92	9	0,057	0,003	0,16
Maart 1997	10	0,069	0,005	0,19	8	0,059	0,003	0,16
Juni 1997	11	0,280	0,079	0,78	11	0,175	0,031	0,49
September 1997	12	0,237	0,056	0,66	11	0,203	0,041	0,57
December 1997	11	0,127	0,016	0,36	12	0,156	0,024	0,44
Maart 1998	12	0,285	0,081	0,80	13	0,245	0,060	0,69
Juni 1998	12	0,182	0,033	0,51	12	0,263	0,069	0,74
September 1998	11	0,264	0,070	0,74	12	0,327	0,107	0,91
Gewogen gemiddelde		0,215	0,046	0,60		0,209	0,044	0,59

N: het aantal deelnemende laboratoria.

11.4. Herhaalbaarheids- en reproduceerbaarheidslimieten

De gegevens van verschillende gezamenlijke acties van deelnemende laboratoria die in de voorgaande tabellen zijn opgenomen, maken het dus mogelijk voor de huidige methode, met inbegrip van de destillatiefase, onderstaande herhaalbaarheids- en reproduceerbaarheidslimieten vast te stellen:

herhaalbaarheidslimiet r: 0,24;

reproduceerbaarheidslimiet R: 0,6.”
