ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 53586— 2009

СОКИ И СОКОВАЯ ПРОДУКЦИЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ

Определение стабильных изотопов углерода методом масс-спектрометрии

Издание официальное

БЗ 12—2009/939

Москва
Стандартинформ
2010

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Государственным образовательным учреждением высшего профессионального образования «Московский государственный университет пищевых производств» Министерства образования Российской Федерации (ГОУВПО «МГУПП»)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 93 «Продукты переработки фруктов, овощей и грибов»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 15 декабря 2009 г. № 896-ст

4 В настоящем стандарте учтены нормативные положения следующих международных (региональных) стандартов:

- CODEX-STAN 247—2005 «Единый стандарт на фруктовые соки и нектары» (CODEX-STAN 247—2005 «Codex general standard for fruit juices and nectars») в части требований к обеспечению качества, подлинности, необходимого состава и методов оценки показателей соков и нектаров;
- ENV 12140:1996 «Соки фруктовые и овощные. Определение соотношения стабильных изотопов углерода ($^{13}C/^{12}C$) в сахарах фруктовых соков. Метод с применением масс-спектрометрии изотопных соотношений» [ENV 12140:1996 «Fruit and vegetable juices - Determination of the stable carbon isotope ratio ($^{13}C/^{12}C$) of sugars from fruit juices — Method using isotope ratio mass spectrometry»];
- ENV 13070:1998 «Фруктовые и овощные соки. Определение соотношения стабильных изотопов углерода($^{13}C/^{12}C$) растительной ткани в соках. Метод с применением масс-спектрометрии изотопных соотношений» [ENV 13070:1998 «Fruit and vegetable juices — Determination of the stable carbon isotope ratio ($^{13}C/^{12}C$) in the pulp of fruit juices — Method using isotope ratio mass spectrometry»]

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет

© Стандартинформ, 2010

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения . . . 1
2 Нормативные ссылки . . . 1
3 Термины, определения, обозначения и сокращения . . . 2
4 Сущность метода . . . 2
5 Отбор и подготовка проб . . . 2
6 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, реактивы, материалы, стандартные вещества и растворы . . . 3
7 Проведение определения . . . 4
8 Обработка результатов измерений . . . 6
9 Метрологические характеристики метода . . . 6
10 Требования безопасности . . . 8
11 Протокол испытаний . . . 8
Приложение А (справочное) Результаты эксперимента по оценке точности метода определения изотопного состава углерода сахаросодержащих компонентов соков, свекловичного и тростникового сахаров $\delta^{13}C_{PDB}$ . . . 9
Приложение Б (справочное) Результаты эксперимента по оценке точности метода определения изотопного состава углерода растительной ткани соков и соковой продукции $\delta^{13}C_{PDB}$ . . . 10
Библиография . . . 11

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СОКИ И СОКОВАЯ ПРОДУКЦИЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ

Определение стабильных изотопов углерода методом масс-спектрометрии

Juices and juice products. Identification.
Determination of stable carbon isotopes by mass-spectrometry method

Дата введения — 2011—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на соки и соковую продукцию, в том числе для детского питания, и устанавливает применяемый для целей идентификации и определения подлинности указанной продукции метод определения изотопного состава углерода ($^{13}C/^{12}C$) сахаросодержащих компонентов и растительной ткани (мякоть, клетки цитрусовых фруктов и другие) продуктов с применением масс-спектрометрии стабильных изотопов.

Изотопный состав углерода соков и соковой продукции относительно международного стандарта PDB характеризует величина $\delta^{13}C_{PDB}$, выраженная в промилле.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р 8.563—2009 Государственная система обеспечения единства измерений. Методики (методы) измерений

ГОСТ Р ИСО 5725-1—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения

ГОСТ Р ИСО 5725-2—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений

ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

ГОСТ Р ИСО/МЭК 17025—2006 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий

ГОСТ Р 51398—99 Консервы. Соки, нектары и сокосодержащие напитки. Термины и определения

ГОСТ Р 53137—2008 Соки и соковая продукция. Идентификация. Общие положения

ГОСТ Р 53228—2008 Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ 12.1.005—88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

ГОСТ 12.1.07—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.010—76 Система стандартов безопасности труда. Взрывобезопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.018—93 Система стандартов безопасности труда. Пожаровзрывобезопасность статического электричества. Общие требования

ГОСТ 12.1.019—79 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 2603—79 Реактивы. Ацетон. Технические условия

Издание официальное

ГОСТ 4204—77 Реактивы. Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9262—77 Реактивы. Кальция гидроокись. Технические условия

ГОСТ 20301—74 Смолы ионообменные. Аниониты. Технические условия

ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 26313—84 Продукты переработки плодов и овощей. Правила приемки, методы отбора проб

ГОСТ 26671—85 Продукты переработки плодов и овощей, консервы мясные и мясорастительные. Подготовка проб для лабораторных анализов

ГОСТ 29169—91 (ИСО 648—77) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой

ГОСТ 29227—91(ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины, определения, обозначения и сокращения

3.1 В настоящем стандарте применены термины по нормативным правовым актам Российской Федерации, ГОСТ Р 51398 и по [1], а также следующий термин с соответствующим определением:

3.1.1 **изотопный состав углерода:** Величина $\delta^{13}C_{PDB}$, выраженная в промилле, представляющая собой отклонение от международного стандарта PDB и характеризующая относительную распространенность изотопов данного элемента, выражаемую обычно в виде отношения редкого изотопа углерода с массой 13 к распространенному изотопу с массой 12 ($^{13}C/^{12}C$).

3.2 В настоящем стандарте применены следующие сокращения и обозначения:

промилле (‰) — одна тысячная доля числа или 1/10 процента;

$^{13}C/^{12}C$ — соотношение изотопов углерода с массами 13 и 12 в анализируемой пробе;

$\delta^{13}C_{PDB}$ — изотопный состав углерода относительно международного стандарта PDB, в промилле;

IAEA—C3 — стандарт международного агентства по атомной энергии (International Atomic Energy Agency) для определения изотопного состава углерода растительной ткани;

IAEA—C4, IAEA—C5 — универсальные стандарты международного агентства по атомной энергии (International Atomic Energy Agency);

IAEA—C6 — стандарт международного агентства по атомной энергии (International Atomic Energy Agency) для определения изотопного состава углерода сахаросодержащих компонентов соков и соковой продукции;

IRMS/SIRA — масс-спектрометрия изотопных соотношений/анализ соотношений стабильных изотопов (Isotope Ratio Mass Spectrometry/Stable Isotope Ratio Analysis);

NBS 22 — стандарт Национального бюро стандартов США;

PDB — международный стандарт изотопного состава углерода (Pee Dee Belemnite);

VPDB — Венский стандарт изотопного состава углерода (Vienna Pee Dee Belemnite from Pee Dee formation of South Carolina;

МАГАТЭ — Международное агентство по атомной энергии (International Atomic Energy Agency).

4 Сущность метода

Изотопный состав углерода $\delta^{13}C_{PDB}$ определяют методом масс-спектрометрии стабильных изотопов, основанным на одновременном точном измерении масс 44 и 46, характерных для всех изотопных комбинаций элементов в газообразной двуокиси углерода, образующейся при полном сжигании сахаров и/или растительной ткани.

5 Отбор и подготовка проб

5.1 Отбор проб — по ГОСТ 26313, подготовка проб — по ГОСТ 26671.

6 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, реактивы, материалы, стандартные вещества и растворы

6.1 Химические реактивы, стандартные вещества и растворы

6.1.1 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709 или деионизованная (вода дистиллированная по ГОСТ 6709, пропущенная через колонку с ионообменной смолой по ГОСТ 20301) электрическим сопротивлением не менее 18,2 мОм.

6.1.2 Двуокись углерода газообразная с объемной долей основного вещества не менее 99,995 % в газовом баллоне, снабженном соответствующим редуктором давления.

6.1.3 Гидроокись кальция по ГОСТ 9262.

6.1.4 Кислота серная по ГОСТ 4204.

6.1.5 Вторичный стандарт[1)] категории NBS 22 ($\delta^{13}C_{PDB}$ = –30,03 ‰). В качестве вторичных стандартов могут быть использованы также стандарты IAEA—C3 (для определения изотопного состава углерода растительной ткани), IAEA—C6 (для определения изотопного состава углерода сахаросодержащих компонентов соков и соковой продукции) или универсальные стандарты IAEA—C4, IAEA—C5[1)].

6.1.6 Ацетон по ГОСТ 2603.

Если нет особых указаний, применяют химические реактивы категории ч.д.а.

6.2 Средства измерений и оборудование

6.2.1 Масс-спектрометр IRMS/SIRA для анализа стабильных изотопов[2)].

Для проведения анализа может быть использован масс-спектрометр IRMS/SIRA любой модели и любого изготовителя аналитического оборудования. Конструктивные характеристики масс-спектрометра IRMS/SIRA должны обеспечивать получение данных об изотопном составе углерода $\delta^{13}C$ в диапазоне природных вариаций $\delta \leq 0{,}06$ ‰.

Масс-спектрометр IRMS/SIRA должен включать:

1) тройной универсальный коллектор, обеспечивающий одновременное измерение ионов с массами 44 и 46;

2) систему двойного напуска, обеспечивающую попеременное измерение анализируемой пробы и стандартного газа — двуокиси углерода[2)] или специализированные системы подготовки, работающие в потоке газа-носителя гелия.

Например, элементный анализатор, газовый или жидкостный хроматограф, другие универсальные и адаптированные системы, позволяющие проводить хроматографическое разделение продуктов сжигания пробы и ввод образовавшейся двуокиси углерода в масс-спектрометр IRMS/SIRA через интерфейсные устройства, обеспечивающие независимую подачу пробы и стандартного газа в масс-спектрометр через систему игольчатого натекателя, что позволяет избежать изотопного фракционирования (при применении системы измерений в (при) постоянном потоке рекомендуется использовать в определении вторичный стандарт по 6.1)[3)];

[1)] Вторичные стандарты используются при необходимости проведения внутрилабораторного контроля в рутинном определении. Приобретение вторичных стандартов: «Международное агентство по атомной энергии», Австрия, Вена, P.O. Box 100, Wagramer Strasse 5, A-1400.

[2)] Допускается использование специальных интерфейсных устройств, находящихся в продаже и осуществляющих ввод газообразной двуокиси углерода в масс-спектрометр IRMS/SIRA. Интерфейсные устройства должны обеспечивать соблюдение условий определения и воспроизведения результатов, установленные настоящим стандартом. В качестве универсального газового интерфейса может быть использовано устройство модельного ряда «ConFlo IV» и выше (Thermo Scientific). В качестве измерительного оборудования могут быть использованы изотопные масс-спектрометры IRMS/SIRA модельного ряда «Delta V» (Thermo Scientific). Указанное оборудование рекомендуется для применения. Эта информация приведена для сведения пользователей настоящего стандарта и не означает, что стандарт устанавливает обязательное применение этого оборудования.

[3)] Допускается использование готовых лабораторных систем, находящихся в продаже и осуществляющих полное сжигание пробы и ввод газообразной двуокиси углерода в масс-спектрометр *IRMS/SIRA*. Лабораторные системы должны обеспечивать соблюдение условий определения и воспроизведения результатов, установленные настоящим стандартом. В качестве соответствующих лабораторных систем может быть использован элементный анализатор моделей «*Flash* 1112», «*EFCt*», «*HT*», «2000 *EA*» (*Thermo Scientific*). Указанное оборудование рекомендуется для применения. Эта информация приведена для сведения пользователей настоящего стандарта и не означает, что стандарт устанавливает обязательное применение этого оборудования.

3) компьютер с программным обеспечением для автоматической обработки получаемых результатов.

6.2.2 Весы по ГОСТ Р 53228 с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания ± 0,1 мг.

6.2.3 Пипетки 1-2-1, 1-2-5, 1-2-10 2-го класса точности по ГОСТ 29169.

6.2.4 Пипетки градуированные 1-2-2-25 по ГОСТ 29227 или дозаторы пипеточные с аналогичными или изменяемыми объемами доз с относительной погрешностью дозирования ± 1 %, или импортные с аналогичными характеристиками.

6.2.5 Дозаторы автоматические или пипетки стеклянные градуированные с подходящим интервалом дозирования и известной точностью дозирования.

6.2.6 Баня водяная, пригодная для поддержания температуры 90 °С.

6.2.7 pH-Метр диапазоном измерения от 1 до 14 pH с погрешностью измерения ± 0,05 pH.

6.2.8 Стакан типа В исполнения 1 вместимостью 100 см^3 по ГОСТ 25336.

6.2.9 Палочка стеклянная оплавленная длиной 15—20 см для перемешивания.

6.2.10 Анализатор элементный

Лабораторное устройство, конструктивные характеристики которого обеспечивают полное сжигание пробы, количественное преобразование углерода в углекислый газ, включая преобразование образующихся при сжигании оксидов азота в газообразный азот и его удаление, а также удаление других компонентов горения, в особенности воды, от двуокиси углерода, используемой для измерения[1)].

6.2.11 Центрифуга лабораторная, обеспечивающая ускорение 1400 g.

Примечание. Число оборотов ротора, необходимое для достижения заданного центробежного ускорения, *a*, рассчитывают по формуле

$$a = 11{,}18r \times \left(\frac{n}{1000}\right)^2, \quad (1)$$

где 11,18 — коэффициент;

r — радиус от центра оси центрифуги до нижней точки стакана для центрифугирования, находящегося в работающей центрифуге (до крайней точки держателя для стакана в угловом роторе), согласно техническому паспорту на оборудование (ротор), см,

n — число оборотов ротора в минуту.

Допускается применение центрифуг с автоматическим определением необходимого числа оборотов ротора в зависимости от заданного центробежного ускорения.

6.2.12 Стаканы для центрифугирования вместимостью 50 см^3.

6.2.13 Устройство лабораторное для лиофильной сушки[2)].

6.2.14 Емкости стеклянные для проб с герметичной укупоркой вместимостью до 10 см^3.

Допускается использование других средств измерений с метрологическими характеристиками и лабораторного оборудования с техническими характеристиками, не уступающими перечисленным выше.

7 Проведение определения

7.1 Условия проведения определения

Пробу анализируют два раза в условиях повторяемости в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 5725-1 (подраздел 3.14) и ГОСТ Р ИСО 5725-2.

[1)] Допускается использование готовых лабораторных систем, находящихся в продаже и осуществляющих полное сжигание пробы и ввод газообразной двуокиси углерода в масс-спектрометр *IRMS/SIRA*. Лабораторные системы должны обеспечивать соблюдение условий определения и воспроизведения результатов, установленные настоящим стандартом. В качестве соответствующих лабораторных систем может быть использован элементный анализатор моделей «*Flash* 1112», «*EFCt*», «*HT*», «2000 *EA*» (*Thermo Scientific*). Указанное оборудование рекомендуется для применения. Эта информация приведена для сведения пользователей настоящего стандарта и не означает, что стандарт устанавливает обязательное применение этого оборудования.

[2)] Допускается использование готовых устройств для лиофильной сушки органических и неорганических проб любых моделей и изготовителей. Устройства для лиофильной сушки должны обеспечивать соблюдение условий определения и воспроизведения результатов, установленные настоящим стандартом.

При подготовке и проведении определения должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающей среды от 10 °С до 25 °С включ.;
- относительная влажность воздуха от 40 % до 70 % включ.

7.2 Определение изотопного состава углерода сахаросодержащих компонентов соков и соковой продукции

7.2.1 Подготовка пробы

В стакан для центрифугирования вносят 50 см^3 сока (прямого отжима, свежеотжатого или восстановленного) или соковой продукции. Концентрированную соковую продукцию (соки, пюре и другие) доводят дистиллированной водой до содержания растворимых сухих веществ, предусмотренного по [1]. Нерастворимые компоненты пробы (мякоть, клетки, мутную взвесь) отделяют центрифугированием в течение 10 мин при ускорении 1400 g.

Для дальнейшего определения используют надосадочную жидкость.

7.2.2 Выделение и очистка сахаров

Надосадочную жидкость по 7.2.1 переносят в стакан для центрифугирования. К жидкости при непрерывном перемешивании стеклянной палочкой добавляют порошкообразный гидроксид кальция для осаждения всех растворимых органических кислот . Для улучшения осаждения растворимых компонентов (органических кислот, аминокислот и других) надосадочную жидкость нагревают в водяной бане до температуры 90 °С и выдерживают при этой температуре и непрерывном перемешивании в течение 3 мин.

Для отделения образовавшегося осадка содержимое стакана в горячем состоянии центрифугируют в течение 3 мин при ускорении 1400 g. Надосадочную жидкость переносят в химический стакан вместимостью 100 см^3, затем, добавляя серную кислоту молярной концентрации c (H_2SO_4) = 0,1 моль/дм^3, корректируют pH раствора до значения 5,0.

Полученный раствор, содержащий преимущественно сахара, сульфат кальция и некоторые пигменты пробы, выдерживают в холодильнике в течение 15 ч при температуре 4 °С. Декантированием разделяют надосадочную жидкость и осадок сульфата кальция, который образовался в ходе выдержки. Надосадочную жидкость высушивают в устройстве для лиофильной сушки. Полученный препарат с помощью подходящего лабораторного устройства измельчают до состояния тонкодисперсного порошка и помещают для хранения в стеклянную емкость с герметичной укупоркой по 6.2.14.

Примечание — Для подготовки пробы к определению могут быть использованы иные способы, основанные на применении твердофазной экстракции, сорбентов и набивных колонок. Применяемые способы подготовки пробы должны обеспечивать соблюдение условий определения и воспроизведения результатов, установленных настоящим стандартом.

7.2.3 Сжигание сахаров

Препарат, полученный по 7.2.2, сжигают в элементном анализаторе.

Элементный анализатор должен обеспечивать:

- количественное преобразование углерода пробы в углекислый газ без фракционирования изотопов;
- перевод полученных в результате сжигания пробы оксидов азота в молекулярный азот;
- удаление воды и серосодержащих соединений;
- хроматографическое разделение оставшихся продуктов сжигания CO_2 и N_2;
- улавливание и напуск образовавшегося газа в интерфейсное устройство.

Интерфейсное устройство должно обеспечивать:

- автоматическое разбавление двуокиси углерода, полученной в результате сжигания пробы (в случае необходимости);
- независимую подачу стандартного газа — двуокиси углерода по 6.1.2 и двуокиси углерода, полученной в результате сжигания пробы, в масс-спектрометр IRMS/SIRA без изотопного фракционирования.

Дополнительно интерфейсное устройство должно обеспечивать прецизионность измерений стандартного газа — двуокиси углерода по 6.1 не хуже чем s_r = 0,06 ‰ для n = 10.

7.2.4 Определение соотношения изотопов

Определение соотношения изотопов $^{13}C/^{12}C$ в газообразной двуокиси углерода, полученной при полном сжигании сахаров, проводят на масс-спектрометре IRMS/SIRA. Полученные результаты представляют в виде величины изотопного состава углерода $\delta^{13}C_{PDB}$, ‰ .

7.3 Определение изотопного состава углерода растительной ткани соков и соковой продукции

7.3.1 Подготовка пробы

В стакан для центрифугирования вносят 50 см³ сока (прямого отжима, свежеотжатого или восстановленного) или соковой продукции. Концентрированную соковую продукцию (соки, пюре и другие) восстанавливают дистиллированной водой до содержания растворимых сухих веществ, предусмотренного по [1]. Нерастворимые компоненты пробы (мякоть, клетки, мутную взвесь) отделяют центрифугированием в течение 10 мин при ускорении 1400 g. Удаляют из стакана надосадочную жидкость. Осадок используют в дальнейшем определении.

7.3.2 Очистка осадка от сахаров и липидов

Для удаления остаточных сахаров к осадку добавляют 40 см³ дистиллированной воды и перемешивают стеклянной палочкой в течение 5 мин. Полученную суспензию повторно центрифугируют в течение 10 мин при ускорении 1400 g. Надосадочную жидкость отделяют от осадка, к которому добавляют объем дистиллированной воды, равный объему осадка. Промывают и центрифугируют осадок по описанной выше схеме еще два раза.

Для удаления липидов к осадку в стакане добавляют 40 см³ ацетона. После перемешивания в течение 5 мин растворитель отделяют от осадка. К осадку добавляют объем ацетона, равный объему осадка. Обработку осадка ацетоном по описанной схеме повторяют еще два раза. В целях исключения мешающих факторов, к которым относятся сахара и липиды, промывание осадка водой и ацетоном является обязательной стадией подготовки пробы. При недостаточной очистке осадка остаточные количества липидов могут привести к смещению величины $\delta^{13}C$ в сторону отрицательных значений.

После завершения очистки полученный препарат подвергают лиофильной сушке. При необходимости препарат может быть измельчен с помощью подходящего лабораторного устройства до состояния тонкодисперсного порошка. Для хранения препарат помещают в стеклянную емкость с герметичной укупоркой.

7.3.3 Сжигание препарата растительной ткани

Сжигание препарата, полученного по 7.3.2, осуществляют в соответствии с 7.2.3. Конструктивные характеристики элементного анализатора должны обеспечивать полное количественное удаление оксидов азота, которые образуются при сжигании из азотсодержащих соединений растительной ткани (см. также дополнительные требования к элементному анализатору по 7.2.3). При несоблюдении этого условия двуокись углерода обогащается оксидами азота, что приводит к изменению интенсивности ионов массой 46 и недостоверной коррекции измерения по изотопу кислорода массой 17. В конечном итоге результат определения содержания изотопа углерода массой 13 в растительной ткани будет заниженным.

7.3.4 Определение соотношения изотопов

Определение соотношения изотопов $^{13}C/^{12}C$ в газообразной двуокиси углерода, полученной при сжигании препарата растительной ткани по 7.3.3, проводят на масс-спектрометре IRMS/SIRA. Полученные результаты представляют в виде величины изотопного состава $\delta^{13}C_{PDB}$, ‰.

8 Обработка результатов измерений

8.1 Расчет изотопного состава углерода $\delta^{13}C_{PDB}$

При необходимости величину изотопного состава углерода $\delta^{13}C_{PDB}$, ‰, рассчитывают по формуле

$$\delta^{13}C_{PDB} = \frac{\left(\frac{^{13}C}{^{12}C}\right)_{пр} - \left(\frac{^{13}C}{^{12}C}\right)_{PDB}}{\left(\frac{^{13}C}{^{12}C}\right)_{PDB}} \times 1000, \quad (2)$$

где $\left(\frac{^{13}C}{^{12}C}\right)_{PDB} = 0{,}0112372$.

При необходимости в определении могут быть использованы вторичные стандарты по 6.1.5.

8.2 Результаты определения $\delta^{13}C_{PDB}$ применяют в соответствии с ГОСТ Р 53137 и при подтверждении соответствия, в том числе при идентификации, установлении подлинности соков и соковой продукции.

9 Метрологические характеристики метода

Основные метрологические характеристики метода определения изотопного состава углерода сахаросодержащих компонентов анализируемой пробы приведены в 9.1 и справочном приложении А, а метода определения изотопного состава углерода растительной ткани анализируемой пробы — в 9.2 и справочном приложении Б.

9.1 Определение изотопного состава углерода сахаросодержащих компонентов

9.1.1 Предел повторяемости (сходимости)

Абсолютное расхождение между двумя отдельными результатами, полученными одним сотрудником для одной и той же пробы и на одном и том же оборудовании за наименьший отрезок времени, не должно превышать предел повторяемости (сходимости) r более чем в 5 % случаев.

Установленные значения предела повторяемости (сходимости) составляют:

- для апельсинового сока r = 0,26 ‰;
- ананасового сока r = 0,42 ‰;
- свекловичного сахара r = 0,17 ‰ ;
- тростникового сахара r = 0,29 ‰.

9.1.2 Предел воспроизводимости

Абсолютное расхождение между двумя отдельными результатами, полученными в двух разных лабораториях по одной и той же пробе, не должно превышать предел воспроизводимости R более чем в 5 % случаев.

Установленные значения предела воспроизводимости составляют:

- для апельсинового сока R = 0,66 ‰;
- ананасового сока R = 0,72 ‰ ;
- свекловичного сахара R = 0,87 ‰ ;
- тростникового сахара R = 0,60 ‰ .

9.2 Определение изотопного состава углерода растительной ткани

9.2.1 Предел повторяемости (сходимости)

Абсолютное расхождение между двумя отдельными результатами, полученными одним сотрудником по одной и той же пробе и на одном и том же оборудовании за наименьший отрезок времени, не должно превышать предел повторяемости (сходимости) r более чем в 5 % случаев.

Установленные значения предела повторяемости (сходимости) составляют:

- для апельсинового сока r = 0,32 ‰ ;
- апельсинового сока с добавленным сахаром r = 0,31 ‰ ;
- грейпфрутового сока r = 0,26 ‰ ;
- грейпфрутового сока с добавленным сахаром r = 0,45 ‰ ;
- ананасового сока r = 0,42 ‰ ;
- ананасового сока с добавленным сахаром r = 0,46 ‰ .

9.2.2 Предел воспроизводимости

Абсолютное расхождение между двумя отдельными результатами, полученными в двух разных лабораториях по одной и той же пробе, не должно превышать границу воспроизводимости R более чем в 5 % случаев.

Установленные значения предела воспроизводимости составляют:

- для апельсинового сока R = 1,03 ‰;
- апельсинового сока с добавленным сахаром r = 0,92 ‰ ;
- грейпфрутового сока R = 0,78 ‰ ;
- грейпфрутового сока с добавленным сахаром r = 2,35 ‰ ;
- ананасового сока R = 3,00 ‰ ;
- ананасового сока с добавленным сахаром r = 2,08 ‰ .

9.3 Прецизионность метода

Под прецизионностью метода понимают характеристику измерения, отражающую степень близости его результатов к истинному значению измеряемой величины.

Количественной мерой прецизионности служит величина стандартного отклонения повторяемости (сходимости) для n = 10, где n — число измерений одной пробы стандартной двуокиси углерода по 6.1.2.

Стандартное отклонение s_r рассчитывают по формуле

$$S_r = \sqrt{\frac{1}{n-1}[(y_1 - \overline{y}_n)^2 + (y_2 - \overline{y}_n)^2 + ,..., + (y_n - \overline{y}_n)^2]}, \quad (3)$$

где n — число измерений;

$y_1, y_2, ..., y_n$ — результаты измерений;

$\overline{y}_n$ — среднеарифметическое результатов измерений.

Среднеарифметическое результатов измерений $\overline{y}_n$ рассчитывают по формуле

$$\overline{y}_n = \frac{1}{n}(y_1 + y_2 + ,..., + y_n). \quad (4)$$

9.4 Контроль стабильности результатов измерений при реализации методики в лаборатории

Контроль стабильности результатов измерений в лаборатории осуществляют в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 5725-6, используя метод контроля стабильности стандартного отклонения промежуточной прецизионности по ГОСТ Р ИСО 5725-6 (пункт 6.2.3) с применением контрольных карт Шухарта. Периодичность контроля и процедуры контроля стабильности результатов измерений должны быть предусмотрены в руководстве по качеству лаборатории в соответствии с ГОСТ Р ИСО/МЭК 17025 (подраздел 4.2) и ГОСТ Р 8.563 (пункт 7.1.1).

10 Требования безопасности

При работе на масс-спектрометре IRMS/SIRA следует соблюдать:

- правила эксплуатации устройства и безопасной эксплуатации сосудов, работающих под давлением/при вакууме [2];
- требования взрывобезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.010;
- требования электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.018, ГОСТ 12.1.019 и инструкцией по эксплуатации прибора.

При работе с чистыми веществами следует соблюдать требования безопасности, установленные для работы с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.007. Контроль за содержанием вредных веществ в воздухе рабочей зоны следует проводить в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005.

К работе на масс-спектрометре IRMS/SIRA допускаются лица, имеющие квалификацию не ниже техника, владеющие техникой масс-спектрометрического анализа и изучившие инструкцию по эксплуатации используемой аппаратуры.

Требования к безопасности распространяются на средства измерения, применяемые для целей настоящего стандарта, с метрологическими характеристиками, не уступающими перечисленным в разделе 6.

11 Протокол испытаний

В протоколе испытаний приводят:

- ссылку на настоящий метод;
- вид, происхождение и название пробы;
- способ и дату отбора пробы;
- дату поступления и анализа пробы;
- результаты определения;
- причины отклонений в процедуре определения от установленных условий (при наличии).

Приложение А
(справочное)

Результаты эксперимента по оценке точности метода определения изотопного состава углерода сахаросодержащих компонентов соков, свекловичного и тростникового сахаров $\delta^{13}C_{PDB}$*

Таблица А.1 — Результаты эксперимента по оценке точности метода определения изотопного состава углерода сахаросодержащих компонентов соков, свекловичного и тростникового сахаров $\delta^{13}C_{PDB}$

Наименование показателя	Проба			
	Апельсиновый сок	Ананасовый сок	Свекловичный сахар	Тростниковый сахар
Количество лабораторий, исключенных из эксперимента по оценке точности после его завершения	0	0	1	0
Количество лабораторий, оставшихся в эксперименте по оценке точности после его завершения	15	15	14	15
Количество подтвержденных результатов	108	103	54	56
Среднеарифметическое значение $\overline{y}$, ‰	–24,60	–12,10	–25,60	–11,20
Стандартное отклонение повторяемости (сходимости) s_r, ‰	0,09	0,15	0,06	0,10
Относительное стандартное отклонение повторяемости (сходимости) RSD_r, %	0,37	1,24	0,23	0,89
Предел повторяемости (сходимости) r, ‰	0,26	0,42	0,17	0,29
Стандартное отклонение воспроизводимости S_R, ‰	0,21	0,21	0,30	0,18
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости RSD_R, %	0,85	1,74	1,17	1,61
Предел воспроизводимости R, ‰	0,66	0,72	0,87	0,60
Примечание — Не выявлено зависимости между величинами r, R и $\overline{y}$.				

* Результаты, представленные в таблице А.1, получены в рамках эксперимента по оценке точности, проведенного в 1992 г. на четырех пробах в 15 лабораториях под руководством Рабочей группы № 1 Технического комитета по стандартизации ТК 174 Европейского комитета по стандартизации CEN согласно международным стандартам ИСО 5725 [3].

Приложение Б
(справочное)

Результаты эксперимента по оценке точности метода определения изотопного состава углерода растительной ткани соков и соковой продукции $\delta^{13}C_{PDB}$*

Таблица Б.1 — Результаты эксперимента по оценке точности метода определения изотопного состава углерода растительной ткани соков и соковой продукции $\delta^{13}C_{PDB}$

Наименование показателя	Проба					
	Апельсиновый сок	Апельсиновый сок с добавленным сахаром	Грейпфрутовый сок	Грейпфрутовый сок с добавленным сахаром	Ананасовый сок	Ананасовый сок с добавленным сахаром
Количество лабораторий, исключенных из эксперимента по оценке точности после его завершения	2	3	3	2	0	2
Количество лабораторий, оставшихся в эксперименте по оценке точности после его завершения	17	16	16	17	18	17
Среднеарифметическое значение $\overline{y}$, ‰	–25,98	–25,92	–24,92	–24,93	–11,47	–11,36
Стандартное отклонение повторяемости (сходимости) s_r, ‰	0,12	0,11	0,09	0,16	0,15	0,17
Относительное стандартное отклонение повторяемости (сходимости) RSD_r, ‰	0,46	0,42	0,36	0,64	1,31	1,50
Предел сходимости r, ‰	0,32	0,31	0,26	0,45	0,42	0,46
Стандартное отклонение воспроизводимости S_R, ‰	0,32	0,33	0,28	0,84	1,07	0,74
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости RSD_R, ‰	1,42	1,27	1,12	3,37	9,33	6,51
Предел воспроизводимости R, ‰	1,03	0,92	0,78	2,35	3,00	2,08
Примечание — Не выявлено зависимости между величинами r, R и $\overline{y}$.						

* Результаты, представленные в таблице Б.1, получены в рамках эксперимента по оценке точности, проведенного в 1995 г. на шести пробах в 19 лабораториях под руководством Рабочей группы № 1 Технического комитета по стандартизации ТК 174 Европейского комитета по стандартизации CEN согласно международным стандартам ИСО 5725 [3].

Библиография

[1] Свод правил для оценки качества фруктовых и овощных соков Ассоциации промышленности соков и нектаров из фруктов и овощей Европейского союза (Свод правил AIJN) (издание на русском языке). — М.: Нововита. — 2004

[2] ПБ 03-576—2003 Правила устройства и безопасной эксплуатации сосудов, работающих под давлением. Госгортехнадзор России. М.: ГУП «Научно-технический центр по безопасности в промышленности Госгортехнадзора России», 2003

[3] ИСО 5725 (Части 1—6) Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений

УДК 664.863.001.4:006.354 ОКС 67.080 Н59 ОКСТУ 9109

Ключевые слова: соки, соковая продукция, соковая продукция для детского питания, нектары, сокосодержащие напитки, морсы, пюре, мякоть, клетки, ароматобразующие вещества, стабильные изотопы углерода ^{13}C и ^{12}C, изотопный состав углерода, $\delta^{13}C_{PDB}$, промилле, IRMS, SIRA, масс-спектрометрия, определение, идентификация, подлинность, международный стандарт изотопного состава углерода PDB, IAEA-C3, IAEA-C6, IAEA-C4, IAEA-C5, NBS-22

Редактор *М.Е. Никулина*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Д.В. Рябинчева*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 21.07.2010. Подписано в печать 16.08.2010. Формат 60 × 84 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Ариал. Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,30. Тираж 141 экз. Зак. 649.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.

gost.e-ecolog.ru