МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

**ГОСТ
31714—
2012**

СОКИ И СОКОВАЯ ПРОДУКЦИЯ. ИДЕНТИФИКАЦИЯ

Определение стабильных изотопов углерода методом масс-спектрометрии

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

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

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 1 октября 2012 г. № 51)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 29 ноября 2012 г. № 1499-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 31714—2012 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2013 г.

5 Настоящий стандарт разработан на основе применения ГОСТ Р 53586—2009*

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

7 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Декабрь 2019 г.

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

---

* Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 29 ноября 2012 г. № 1499-ст ГОСТ Р 53586—2009 отменен с 15 февраля 2015 г.

© Стандартинформ, оформление, 2013, 2019

В Российской Федерации 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 3
5 Отбор и подготовка проб 3
6 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, реактивы, материалы, стандартные вещества и растворы 3
7 Проведение определения 5
8 Обработка результатов измерений 7
9 Метрологические характеристики метода 7
10 Требования безопасности 8
11 Протокол испытаний 9
Приложение А (справочное) Результаты эксперимента по оценке точности метода определения изотопного состава углерода сахаросодержащих компонентов соков, свекловичного и тростникового сахаров $\delta^{13}C_{PDB}$ 10
Приложение Б (справочное) Результаты эксперимента по оценке точности метода определения изотопного состава углерода растительной ткани соков и соковой продукции $\delta^{13}C_{PDB}$ 11
Библиография 12

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

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 — 2013—07—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 межгосударственные стандарты:

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

ГОСТ 12.1.007 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.010 Система стандартов безопасности труда. Взрывобезопасность. Общие требования

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

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

ГОСТ 2603 Реактивы. Ацетон. Технические условия

ГОСТ 4204 Реактивы. Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9262 Реактивы. Кальция гидроокись. Технические условия

ГОСТ 20301 Смолы ионообменные. Аниониты. Технические условия

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

ГОСТ 26313 Продукты переработки фруктов и овощей. Правила приемки, методы отбора проб

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

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

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

Издание официальное

ГОСТ ИСО 5725-1 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения[1)]

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

ГОСТ ИСО 5725-3 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 3. Промежуточные показатели прецизионности стандартного метода измерений[3)]

ГОСТ ИСО 5725-4 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 4. Основные методы определения правильности стандартного метода измерений[4)]

ГОСТ ИСО 5725-5 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 5. Альтернативные методы определения прецизионности стандартного метода измерений[5)]

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

ГОСТ ИСО/МЭК 17025 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий[7)]

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (www.easc.by) или по указателям национальных стандартов, издаваемым в государствах, указанных в предисловии, или на официальных сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации. Если на документ дана недатированная ссылка, то следует использовать документ, действующий на текущий момент, с учетом всех внесенных в него изменений. Если заменен ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, то следует использовать указанную версию этого документа. Если после принятия настоящего стандарта в ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение применяется без учета данного изменения. Если ссылочный документ 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 [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;

---

1) В Российской Федерации действует также ГОСТ Р ИСО 5725-1—2002.

2) В Российской Федерации действует также ГОСТ Р ИСО 5725-2—2002.

3) В Российской Федерации действует также ГОСТ Р ИСО 5725-3—2002.

4) В Российской Федерации действует также ГОСТ Р ИСО 5725-4—2002.

5) В Российской Федерации действует также ГОСТ Р ИСО 5725-5—2002.

6) В Российской Федерации действует также ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002.

7) Действует ГОСТ ISO/IEC 17025—2019.

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 $\delta \leq 0{,}06$ ‰.

[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, установленных 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). Эта информация приведена для сведения пользователей настоящего стандарта и не означает, что стандарт устанавливает обязательное применение этого оборудования.

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[1)] 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)[2)];

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

6.2.2 Весы 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[2)].

6.2.11 Центрифуга лабораторная, обеспечивающая ускорение 1400 g.

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

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

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.

[1)] 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). Эта информация приведена для сведения пользователей настоящего стандарта и не означает, что стандарт устанавливает обязательное применение этого оборудования.

[2)] 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, установленных настоящим стандартом. В качестве соответствующих лабораторных систем может быть использован элементный анализатор моделей «Flash 1112», «EFCt», «HT», «2000 EA» (Thermo Scientific). Эта информация приведена для сведения пользователей настоящего стандарта и не означает, что стандарт устанавливает обязательное применение этого оборудования.

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[1].

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 ISO 5725-1 и ГОСТ ISO 5725-2.

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;

---

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

- 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 см^3 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 см^3 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 см^3 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

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

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 требованиями, действующими на территории государства, принявшего стандарт 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 приложении А, а метода определения изотопного состава углерода растительной ткани анализируемой пробы — в 9.2 и 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

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

где n — число измерений;

$y_1, y_2, \ldots y_n$ — результаты измерений;

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

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

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

9.4 Контроль стабильности результатов измерений при реализации методики в лаборатории

Контроль стабильности результатов измерений в лаборатории осуществляют в соответствии с ГОСТ ISO 5725-6, используя метод контроля стабильности стандартного отклонения промежуточной прецизионности по ГОСТ ISO 5725-6 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 ИСО/МЭК 17025 в соответствии с требованиями.

10 Требования безопасности

При работе на масс-спектрометре IRMS/SIRA следует соблюдать:
- правила эксплуатации устройства и безопасной эксплуатации сосудов, работающих под давлением/при вакууме в соответствии с требованиями, действующими на территории государства, принявшего стандарт;
- 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 $\delta^{13}C_{PDB}$ [1)]

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 $\overline{y}$.				

[1)] 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 ГОСТ ISO 5725-1 — ГОСТ ISO 5725-6.

Приложение Б
(справочное)

Результаты эксперимента по оценке точности метода определения изотопного состава углерода растительной ткани соков и соковой продукции $\delta^{13}C_{PDB}$ [1)]

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 $\overline{y}$.						

[1)] 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 ГОСТ ISO 5725-1 — ГОСТ ISO 5725-6.

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

УДК 664.863.001.4:006.354 МКС 67.080

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 *Н.Е. Рагузина*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *И.А. Королева*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Сдано в набор 02.12.2019. Подписано в печать 06.12.2019. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,68.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.

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

gost.e-ecolog.ru