



中华人民共和国轻工行业标准

QB/T 4854—2015

橙汁中总糖和果肉的稳定碳同位素比值 ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) 测定方法 稳定同位素比值质谱法

Determination of the carbon isotope ratio ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) of total sugar and pulp
in orange juice—Method using isotope ratio mass spectrometry

2015-07-14 发布

2016-01-01 实施

中华人民共和国工业和信息化部 发布

前 言

本标准按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本标准由中国轻工业联合会提出。

本标准由全国食品发酵标准化中心归口。

本标准起草单位：中国食品发酵工业研究院、农夫山泉股份有限公司、康师傅中央研究所。

本标准主要起草人：钟其顶、徐胜、章启鹏、王道兵。

本标准为首次制定。

橙汁中总糖和果肉的稳定碳同位素比值 ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) 测定方法

稳定同位素比值质谱法

1 范围

本标准规定了应用稳定同位素比值质谱法测定橙汁中总糖和果肉的稳定碳同位素比值 ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) 的方法。

本标准适用于橙汁和橙汁饮料中总糖和果肉的稳定碳同位素比值 ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) 的测定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6379.2 测量方法与结果的准确度(正确度与精密度) 第2部分:确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法

GB/T 6682—2008 分析实验室用水规格和试验方法

3 符号和缩略语

下列符号和缩略语适用于本文件。

$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$: 稳定碳同位素比值,是稳定碳同位素 ^{13}C 与 ^{12}C 的原子丰度之比。

$\delta^{13}\text{C}$: 样品的稳定碳同位素比值相对于参考物质的稳定碳同位素比值的千分差。

PDB: 美国南卡罗来纳州白垩纪皮狄组层位中的拟箭石化石(Pee-Dee Belemnite),是稳定碳同位素比值的国际基准物质。

IRMS: 稳定同位素比值质谱仪(Isotope Ratio Mass Spectrometry)。

4 原理

橙汁中的总糖或果肉在元素分析仪中燃烧转化为二氧化碳气体,用 IRMS 测定燃烧产生的二氧化碳中的稳定碳同位素比值,再通过公式计算得出总糖或果肉的 $\delta^{13}\text{C}$ 。

5 试剂和材料

除非另有说明,所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682—2008 规定的一级水。

5.1 氢氧化钙。

5.2 0.1 mol/L 硫酸溶液:量取 5.56 mL 浓硫酸(密度 1.84 g/cm^3),缓缓注入约 700 mL 水中,冷却后稀释至 1 000 mL。

5.3 氧气(O_2):纯度不应小于 99.99%。

5.4 氦气(He):纯度不应小于 99.999%。

5.5 丙酮。

5.6 参考物质:可选择国际原子能机构或全国标准物质管理委员会认可的,或其他获得认可的同类参考物质,参见附录 A。

6 仪器

6.1 元素分析仪。

6.2 IRMS:分析内精度优于 0.05‰,配套连续流进样接口。

6.3 离心机：配套 50 mL 离心管。

6.4 磁力搅拌器。

6.5 恒温水浴锅。

6.6 pH 计。

6.7 分析天平：感量 0.01 g。

6.8 电子天平：感量 0.01 mg。

6.9 冷冻干燥机。

6.10 锡舟。

7 分析步骤

7.1 橙汁中总糖和果肉初分离

量取 30 mL 样品于离心管（6.3）中，室温条件以 3 500 r/min 离心 10 min，上清液和沉淀物分别保存，待用。

7.2 纯化总糖

将 7.1 中得到的上清液转移至烧杯中，加入 1.4 g 氢氧化钙，用磁力搅拌器（6.4）搅拌均匀后，置于 90 °C 水浴（6.5）中加热 3 min；将烧杯中的混合物转移至离心管（6.3）中，室温下以 3 500 r/min 离心 3 min 后弃去沉淀，用 0.1 mol/L 硫酸溶液（5.2）调整上清液至 pH 为 5.0 左右；将酸化后的上清液于 4 °C 下静置 15 h~24 h，保存上清液，待用。

7.3 纯化果肉

7.3.1 除去果肉中的残糖

量取 30 mL 水复溶 7.1 中的沉淀物，用磁力搅拌器搅拌均匀后以 3 500 r/min 离心 10 min，弃去上清液并保留沉淀物。该过程共进行 3 次。

7.3.2 除去果肉中的脂质

量取 30 mL 丙酮复溶 7.3.1 中的沉淀物，用磁力搅拌器搅拌均匀后以 3 500 r/min 离心 10 min，弃去上清液并保留沉淀物。该过程共进行 3 次。将沉淀物中残留的丙酮挥发干净后保存，待用。

7.4 冷冻干燥

将总糖上清液（7.2）和果肉沉淀物（7.3.2）置于冷冻干燥机（6.9）中进行冷冻干燥处理，分别保存总糖和果肉的粉末，待测。

7.5 测定

7.5.1 样品及参考物质准备

分别称取 0.1 mg~0.2 mg（或根据元素分析仪的性能进行选择）总糖粉末（7.4）、果肉粉末（7.4）和参考物质（5.6）于相互独立的锡舟中，密封待用。

7.5.2 分析序列

采用两点标准漂移校正模式安排分析序列，每个分析序列应同时测定橙汁样品的总糖和果肉粉末（7.4）以及参考物质，参考物质的比例一般为样品个数的 10%~20%。

7.5.3 样品测定

调整元素分析仪和 IRMS 至工作状态，根据已设定的分析序列（7.5.2）进行测定。

8 计算

8.1 分析结果的表述

总糖或果肉样品的稳定碳同位素组成以其对参考物质中相应同位素比值的千分差（记为‰）表示，按公式（1）计算：

$$\delta^{13}\text{C} = \frac{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{SA}} - (^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{RM}}}{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{RM}}} \times 1000\text{‰} \quad (1)$$

式中:

$\delta^{13}\text{C}$ ——样品的 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 测定值相对于参考物质的 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 测定值的千分差;
 $(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{SA}}$ ——样品的 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 测定值;
 $(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{RM}}$ ——参考物质的 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 测定值。
 结果保留两位小数。

8.2 结果计算

所测的稳定碳同位素组成结果应校准至国际基准 PDB 值,按公式(2)计算:

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}} = \delta^{13}\text{C}_{\text{RM}} + \delta^{13}\text{C}_{\text{RM-PDB}} + \delta^{13}\text{C}_{\text{RM}} \times \delta^{13}\text{C}_{\text{RM-PDB}} \times 1000 \quad (2)$$

式中:

$\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$ ——样品的 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 测定值相对于 PDB 的 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 测定值的千分差;
 $\delta^{13}\text{C}_{\text{RM}}$ ——样品的 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 测定值相对于参考物质的 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 测定值的千分差;
 $\delta^{13}\text{C}_{\text{RM-PDB}}$ ——参考物质的 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 测定值相对 PDB 的 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 测定值的千分差。
 结果保留两位小数。

9 精密度

数据的精密度按照 GB/T 6379.2 的规定确定,重复性和再现性的值以 95%的可信度计算。

9.1 重复性

在重复性条件下,两次独立测试所得结果的绝对差值不应超过重复性限(r):橙汁中总糖 $r=0.26\text{‰}$,橙汁中果肉 $r=0.32\text{‰}$ 。如果差值超过重复性限(r),应舍弃试验结果并重新完成两次单个试验的测定。

9.2 再现性

在再现性条件下,两次独立测试所得结果的绝对差值不应超过再现性限(R):橙汁中总糖 $R=0.66\text{‰}$,橙汁中果肉 $R=1.08\text{‰}$ 。

附 录 A
(资料性附录)
参考物质示例

表 A. 1

参考物质	名 称	$\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}/\text{‰}$	机 构
PDB	美国南卡罗来纳州白垩纪皮狄组层位中的拟箭石化石	0	国际原子能机构
IAEA-CH-6	蔗 糖	-10.49 ± 0.03	
USGS40	谷氨酸	-26.39 ± 0.04	美国国家标准与技术研究院
GBW04407	炭 黑	-22.43 ± 0.07	全国标准物质管理委员会
GBW04408	炭 黑	-36.91 ± 0.10	