ICS 67.160.10

X62

|  |
| --- |
| 备案号： |

QB

中华人民共和国轻工行业标准

QB/T XXXXX—XXXX

|  |
| --- |
|  |

葡萄酒中甘油稳定碳同位素比值13C/12C测定方法 液相色谱联用稳定同位素比值质谱法

Determination of the 13C/12C isotope ratio of glycerol in wines-Method using Liquid Chromatography coupled to Isotope Ratio Mass Spectrometry

Resolution OIV/OENO 343/2010

|  |
| --- |
|  |
|  |

XXXX - XX - XX发布

XXXX - XX - XX实施

中华人民共和国工业与信息化部   发布

前  言

本标准遵循GB/T 1.1-2009《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》和GB/T 20001.4-2001《标准编写规则 第4部分：化学分析方法》的编写规则。

本标准的附录A为资料性附录。

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： 。

本标准主要起草人： 。

葡萄酒中甘油稳定碳同位素比值13C/12C测定方法 液相色谱联用稳定同位素比值质谱法

1. 范围

本标准规定了应用液相色谱-稳定同位素比值质谱仪测定甘油稳定碳同位素比值（13C/12C）的方法。

本标准适用于葡萄酒中甘油13C/12C的测定。

1. 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，仅所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 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

1. 符号、缩略语及含义

下列符号和缩略语适用于本标准。

* 1. 13C/12C：碳同位素13C与12C的原子丰度之比，记为RX。
  2. δ13CA（‰）：样品的同位素比值相对于参考物质A（13C/12C已知）的同位素比值的千分差。
  3. PDB：美国南卡罗莱纳州白垩系Pee Dee组拟箭石化石碳稳定同位素比值的国际基准（其δ13CPDB‰=0），其13C与12C的原子丰度之比RPDB=11237.2±90×10-6。

1. 原理

使用液相色谱柱分离甘油与其他有机组分，利用氧化剂将甘油转化成二氧化碳（CO2），然后用稳定同位素比值质谱仪（IRMS）13C/12C值，以δ13CA表示。

CH3CH2OH + O2 → CO2 + H2O

1. 试剂和材料

除非另有说明，所用试剂均为分析纯。

* 1. 参考物质

可选择国际原子能机构（IAEA）或全国标准物质管理委员会认定/认可，或选择同类获得国际/国家认可的参考物质，根据实际工作需要选择其中一种或几种，参见附录A。

* 1. 氦气（He）：纯度≥99.999%。
  2. 二氧化碳气体（CO2）：纯度≥99.99%。
  3. 超纯水。
  4. 硫代硫酸钠溶液（0.25mol/L）：称取39.5g硫代硫酸钠（纯度≥99%），用超纯水溶解并定容至500mL。
  5. 磷酸溶液（0.5mol/L）：称取49.0g磷酸（纯度≥99%），用超纯水溶解并定容至500mL。
  6. 硫酸溶液（0.005mol/L）：量取272μL浓硫酸，用超纯水溶解后定容至1000mL，用溶剂过滤器过滤。
  7. 甘油-1（纯度≥99%）。
  8. 甘油-2（纯度≥99%）。
  9. 甘油-3（纯度≥99%）。

注：甘油-1，甘油-2与甘油-3具有不同的δ13CPDB值。

1. 仪器
   1. 超纯水装置（MillQ或全磨口玻璃蒸馏器）。
   2. 液相色谱-稳定同位素比值质谱仪（Liquid Chromatograph- Isotope Ratio Mass Spectrometry，LC-IRMS），测定二氧化碳中δ13C（‰）的精度优于0.1 ‰。
   3. 溶剂过滤器（带0.22μm水系滤膜）。
   4. 天平（精确至0.01g）。
   5. 烘箱。
   6. 0.22μm水系滤膜。
   7. 移液枪（量程100~1000μL）。
2. 分析步骤
   1. 样品处理

量取1000μL葡萄酒样品，将其放置于80℃烘箱（6.5）中烘烤2h，用超纯水（5.4）稀释至甘油含量0.3g/L~0.4g/L的样品溶液，用滤膜过滤（6.6）样品溶液后保存待用。

* 1. 工作标准溶液配制

称取甘油（5.8、5.9和5.10）各0.2g，分别用超纯水（5.4）稀释至甘油含量0.3g/L~0.4g/L，用滤膜过滤（6.6）样品溶液后保存待用。

* 1. 色谱条件

7.3.1 色谱柱：H+弱阳离子交换色谱柱（300 m×7.7mm×8μm）或性能相当者

7.3.2 流动相：水+硫酸溶液=90+10。

7.3.3 流速：300μL/min。

7.3.4 色谱柱温度：60℃。

7.3.5 进样量：10μL。

* 1. 反应炉条件

7.4.1 氧化剂：硫代硫酸钠溶液，流速60μL/min。

7.4.2 酸剂：磷酸溶液，流速50μL/min。

7.4.3 反应炉温度：99.7℃。

* 1. 测定

7.5.1 仪器准备

确认稳定同位素比值质谱仪的工作环境、气密性、离子室的真空度均符合要求，然后检验CO2中δ13C测定的峰形和稳定性，必要时调整离子源参数值。确认数据采集系统设置正确，必要时进行调整。

7.5.2 分析序列

新的分析序列开始时宜检查仪器的稳定性（三次测量的分析双差≤0.3‰为合格）；用工作标准溶液建议测定准确性（测定值与给定值的相关系数R2≥0.99为合格）。

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参考物质或工作标准物质，其比例一般为10%～20%。

7.5.3 样品碳同位素测定

根据已设定分析序列进行测定。

1. 计算
   1. 分析结果的表述

样品中甘油的碳同位素组成以其对标准物质中相应同位素比值的千分差表述，即：

…………………………………（1）

1. 式中：

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | *δ*13C | —— | 样品中甘油转化的CO2气体13C/12C测定结果相对于二氧化碳标准气13C/12C测定结果的千分差； |
|  | (13C/12C)SA | —— | 样品中甘油转化的CO2的13C/12C测定结果； |
|  | (13C/12C)ST | —— | 二氧化碳标准气的13C/12C测定结果。 |

1. 结果保留两位小数。
   1. 结果计算

所测的碳同位素组成结果应校准到国际标准PDB值。

根据7.5.2中甘油工作标准溶液的测定值和给定值，建立回归方程，将葡萄酒样品的测定值代入公式中得出葡萄酒甘油*δ*13CPDB值。

或按公式（2）计算：

………（2）



式中：

*δ*13CSA-PDB（‰）——样品相对V-PDB的*δ*13C（‰）同位素值。

*δ*13CSA-ST（‰） ——样品相对标准物质的*δ*13C（‰）同位素值。

*δ*13CST-PDB（‰）——标准物质相对V-PDB的*δ*13C（‰）同位素值。

结果保留至小数点后两位。

1. 精密度

本部分的精密度数据按照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。

* 1. 重复性限

在重复性条件下，获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过重复性限（r）：r=0.40‰。

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。

* 1. 再现性限

在再现性条件下，获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过再现性限（R）：R=0.60‰。

1. （资料性附录）  
   参考物质

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 参考物质编号 | *δ*13CPDB（‰） | 认定/认可机构 |
| IAEA-CH-6 | -10.40±0.20 | 国际原子能机构 |
| USGS40 | –26.39±0.09 | 美国国家标准与技术研究院 |
| GBW04407 | -22.43±0.07 | 全国标准物质管理委员会 |
| GBW04408 | -36.91±0.10 |

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_