

XÁC NHẬN GIÁ TRỊ SỬ DỤNG CỦA PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH THÀNH PHẦN ĐỒNG VỊ BỀN $\delta^{13}\text{C}$ TRONG MẪU NÔNG SẢN (HẠT CÀ PHÊ XANH) BẰNG KHỐI PHỔ TỶ SỐ ĐỒNG VỊ (EA-IRMS) HỖ TRỢ TRUY XUẤT NGUỒN GỐC.

HUYNH THÁI KIM NGÂN, TƯỚNG THỊ THU HƯỜNG,
TRẦN QUANG THIÊN, NGUYỄN MINH ĐẠO, NGUYỄN HỮU NGHĨA

*Viện Nghiên cứu hạt nhân, Viện Năng lượng nguyên tử Việt Nam,
Số 01-Đường Nguyễn tú lục, Phường 8, Đà Lạt, Lâm Đồng.*

Email: kimngan270979@gmail.com

Tóm tắt: Trong nghiên cứu này, chúng tôi áp dụng kỹ thuật EA-IRMS để xác định thành phần đồng vị bền $\delta^{13}\text{C}$ của các hạt cà phê xanh. Các thí nghiệm xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp phân tích này được thực hiện trên mẫu chuẩn caffeine (USGS 61, USGS62 và USGS 63). Kết quả phân tích các mẫu chuẩn caffeine có độ lặp lại và độ chính xác cao, độ chệch nhỏ hơn 1%. Quy trình áp dụng xác thực nguồn gốc của một số mẫu hạt cà phê xanh thu thập tại Việt Nam (Lâm Đồng, Đắk Lắk, Điện Biên) có sự khác biệt về thành phần đồng vị bền $\delta^{13}\text{C}$ với cà phê một số nước trên thế giới.

Từ khoá: thành phần đồng vị bền $\delta^{13}\text{C}$, khối phổ tỷ số đồng vị EA-IRMS.

APPLICATION OF EA-IRMS TO DETERMINE $\delta^{13}\text{C}$ IN AGRICULTURAL PRODUCT (GREEN BEAN COFFEE)

HUYNH THAI KIM NGAN, TRAN QUANG THIEN, TUONG THI THU
HUONG, NGUYEN MINH DAO, NGUYEN HUU NGHIA

*Nuclear Research Institute, Vietnam Institute of Atomic Energy,
01 Nguyen tu luc St., Dalat City, Lamdong Province.*

Email: kimngan270979@gmail.com

Abstract: The EA-IRMS technique was employed in this investigation to determine the stable isotope composition of $\delta^{13}\text{C}$ in green coffee beans. The validity of this analytical method was evaluated using caffeine reference samples (USGS61, USGS 62, and USGS 63). Caffeine standard sample analytical results are very repeatable and accurate, with less than 1% bias. Some green coffee bean samples from Vietnam (Lam Dong, Dak Lak, and Dien Bien) differ from coffee from other countries in terms of the stable isotope composition of $\delta^{13}\text{C}$.

Keywords: EA-IRMS, stable isotope.

I. GIỚI THIỆU CHUNG

Truy xuất nguồn gốc của nông sản là yêu cầu bắt buộc của nhiều thị trường và là cơ sở để các thị trường khó tính xác nhận tính bền vững của nông sản Việt Nam. Để truy xuất nguồn gốc nông sản, người ta thường quét mã QR (Quick Response) để có các thông tin về sản phẩm như nguồn gốc địa lý, quy trình sản xuất, chế biến. Tuy nhiên, thông tin có đáng tin cậy hay không phụ thuộc vào việc khai báo của người sản xuất cũng như hệ thống quản lý sản phẩm từ đồng ruộng cho đến khi ra ngoài thị trường. Vì vậy, việc nghiên cứu xác lập căn cứ khoa học đủ bằng chứng tin cậy như sử dụng phương pháp đồng vị bền trong việc truy xuất nguồn gốc sản phẩm đang là một vấn đề mới và cấp thiết trong thực tiễn.

Cà phê là một trong những đồ uống phổ biến nhất trên toàn thế giới. Cà phê chứa nhiều loại hợp chất như protein, carbohydrate, lipid, acid dễ bay hơi và không bay hơi (caffeine, acid chlorogenic...), alkaloid, khoáng và nước. Cà phê xanh chứa 3–4,5% khoáng (K, Na, Ca, Mg, P và S) và các nguyên tố vết cũng đã được tìm thấy trong hạt cà phê (Fe, Al, Cu, I, F, B, và Mn). Hàm lượng khoáng chất của cà phê nhân trung bình khoảng 4% trên khối lượng, trong đó kali chiếm 40% [1, 8]. Hương vị và hương thơm của đồ uống cà phê bị ảnh hưởng bởi quốc gia xuất xứ, một khu vực địa lý nhất định hoặc điều kiện khí hậu. Ở phần lớn các nước sản xuất cà phê cũng như trong số các nhà kinh doanh cà phê, có những người nếm thử có thể nhận ra quốc gia xuất xứ của loại cà phê mà họ giao dịch, tuy nhiên không thể xác định nhanh và chính xác một số lượng lớn nguồn gốc cà phê. Hơn nữa, ý kiến của những người nếm thử này là chủ quan và trong trường hợp trọng tài, bất đồng thường xuyên xảy ra giữa những người thử nghiệm do các bên liên quan chỉ định thì các kỹ thuật phân tích như phân tích thành phần đồng vị bền để kiểm tra nguồn gốc địa lý cho phép đánh giá ít chủ quan hơn.

Cà phê từ các vùng địa lý khác nhau được xuất khẩu thông qua một chuỗi thương mại thường bao gồm một số chất trung gian. Để đảm bảo rằng hạt cà phê đến đúng từ các vị trí được dán nhãn, cần một phương pháp phân tích cho phép phân biệt nguồn gốc địa lý, đặc biệt chú trọng đến quốc gia xuất xứ. Dấu vân tay đồng vị của hydro và oxy ($\delta^2\text{H}$ và $\delta^{18}\text{O}$) trong cà phê đã được sử dụng một cách đáng tin cậy trong truy xuất nguồn gốc, xác thực và xác minh yêu cầu nhãn sản phẩm. Nghiên cứu đầu tiên về cà phê liên quan đến phân tích tỷ số đồng vị của Carbon ($\delta^{13}\text{C}$), hydro ($\delta^2\text{H}$) và oxy ($\delta^{18}\text{O}$) trong caffeine được phân lập từ 45 mẫu cà phê nhân arabica đến từ Trung và Nam Mỹ, Châu Phi, Indonesia, Jamaica và Hawaii, cho thấy tầm quan trọng của $\delta^{18}\text{O}$ và $\delta^2\text{H}$ đối với đánh giá nguồn gốc của cà phê nhân. Serra và cộng sự đã nghiên cứu $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ và $\delta^{11}\text{B}$ của hạt cà phê xanh số lượng lớn, đạt được sự phân biệt thỏa đáng giữa các mẫu được sản xuất trong ba khu vực lục địa quan trọng nhất. Trong nghiên cứu của Rodrigues và cộng sự, kết hợp phân tích đa biến của các đồng vị ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{18}\text{O}$) và thành phần phần trăm của cacbon và nitơ trong 68 các mẫu hạt cà phê xanh từ 20 nguồn gốc địa lý khác nhau đã được nghiên cứu. Họ quan sát thấy sự khác biệt về tỷ số đồng vị bền và thành phần phần trăm chủ yếu liên quan đến sự khác biệt về độ cao và lượng mưa ở các vị trí địa lý được đưa vào nghiên cứu [2].

Tỷ số đồng vị bền trong các loại nông sản, thực phẩm có thể phản ánh giá trị đồng vị ở khu vực địa lý mà nông sản đó sinh trưởng, hoặc các loại hóa chất sử dụng trong một quy trình chế biến. Do đó, tỉ số đồng vị bền (carbon, nitrogen, sulfur, oxygen, hydrogen) có thể được sử dụng như là dấu vân tay của mỗi loại sản phẩm. Vân tay đồng vị đặc trưng cho một khu vực hoặc một quá trình cụ thể, có nghĩa là sản phẩm được phân biệt dựa trên khu vực địa lý (phô mai, cà phê, đường, cá và động thực vật), quy trình thực vật (đậu, hạt, dầu olive, vanilla), đất và quy trình bón phân (trái cây và rau quả) và những gian lận pha trộn trên thực tế (đường mía bổ sung cho mật ong, pha trộn các sản phẩm rượu) [11].

Giá trị $\delta^{13}\text{C}$ của cacbon trong mẫu hữu cơ và mẫu khí thay đổi trong sinh địa quyển. Cơ sở cho phần lớn của sự biến đổi này dựa trên quá trình trao đổi chất chính là quang hợp và hô hấp với sự biến đổi bổ sung thể hiện trong các phản ứng sinh tổng hợp, đồng hóa hoặc dị hóa dựa trên chất nền cacbon. Các quá trình này dẫn đến sự phân tách đồng vị làm cho ^{13}C trong thực vật nghèo hơn trong CO_2 không khí, nguyên nhân nghèo đồng vị ^{13}C là do enzyme và các quá trình vật lý trong thực vật tách ^{13}C và ưu tiên ^{12}C . Bên cạnh các kiểu quang hợp là nguyên nhân chính dẫn đến sự khác biệt tỷ số đồng vị bền của cacbon thì các yếu tố môi trường bên ngoài như nhiệt độ, áp suất bay hơi, điều kiện dinh dưỡng, nước cũng là nguyên nhân làm cho dải đồng vị này biến thiên khá lớn. [9,10]

Nghiên cứu này nhằm mục đích xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp xác định thành phần đồng vị bền $\delta^{13}\text{C}$ của các hạt cà phê xanh trên hệ thiết bị phân tích nguyên tố ghép nối với khối phổ tỉ số đồng vị (EA-IRMS, Thermo). Các thí nghiệm xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp phân tích này được thực hiện trên mẫu chuẩn caffeine (USGS 61, USGS62 và USGS 63). Áp dụng quy trình xác thực nguồn gốc của một số mẫu hạt cà phê xanh thu

thập tại Việt Nam (Lâm Đồng, Đắk Lắk, Điện Biên). Đây là những kết quả nghiên cứu sơ bộ giúp cho Viện Nghiên cứu hạt nhân mở rộng phạm vi, đối tượng nghiên cứu và phát triển về kỹ thuật đồng vị bền, nâng cao tiềm lực khoa học và công nghệ. Việc xây dựng phương pháp hoàn chỉnh cho các đối tượng khảo sát cụ thể cần tiếp tục nghiên cứu và hoàn thiện.

II. PHƯƠNG PHÁP THỰC NGHIỆM

II.1 Mẫu phân tích, mẫu chuẩn, hóa chất, thiết bị và dụng cụ

II.1.1 Mẫu chuẩn: Để nghiên cứu áp dụng một kỹ thuật hay phương pháp phân tích, các mẫu chuẩn tham khảo CRMs thường được sử dụng. Trong nghiên cứu này chúng tôi sử dụng ba mẫu CRMs có nền mẫu là caffeine: USGS-61, USGS-62, USGS-63 do Cục Khảo sát Địa chất Hoa Kỳ (United States Geological Survey – USGS) cung cấp.

II.1.2 Mẫu phân tích: Các hạt cà phê xanh thu thập từ các khu vực Lâm Đồng, Đắk Lắk, Điện Biên. Chọn các hạt chín đỏ, không sâu bệnh.

II.1.3 Hóa chất, thiết bị và dụng cụ

- Nước siêu tinh khiết (MilliQ, 18 mΩ); Ethanol (96%, Merck, Đức).
- Cốc thiếc 8 x 5,5mm (Elemental Microanalysis, UK).
- Cân vi lượng (Mettler Toledo, Thụy Sĩ)
- Hệ thiết bị phân tích nguyên tố ghép nối với khối phổ tỉ số đồng vị EA-IRMS, Thermo Scientific, gồm máy phân tích nguyên tố Flash EA, bộ phận nạp mẫu tự động đa dụng MAS Plus, Hệ thống khối phổ xác định tỉ số đồng vị Delta V Advantage; phần mềm điều khiển Isodat 3.0.

II.2 Thực nghiệm

II.2.1 Chuẩn bị mẫu

Các mẫu chuẩn CRMs được cho vào cốc thiếc và cân chính xác khối lượng khoảng 0,2mg.

Các mẫu cà phê xanh sau khi sấy khô ở nhiệt độ 65°C được bóc vỏ ngoài và nghiền mịn đến kích thước nhỏ hơn 1mm bằng máy nghiền bi CryoMill (Resch, Đức). Mẫu sau khi nghiền được cho vào cốc thiếc và cân khối lượng khoảng 0,5mg. Quá trình chuẩn bị mẫu này thực hiện theo IAEA-TECDOC-1870 [3].

II.2.2 Phương pháp phân tích

Phân tích tỉ số đồng vị bền của Carbon $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ được thực hiện trên thiết bị khối phổ kế tỉ số đồng vị EA-IRMS Thermo Scientific. Mẫu sau khi nghiền mịn được gói vào cốc thiếc đưa vào thiết bị lấy mẫu tự động để vào cột phản ứng của EA, mẫu được đốt cháy ở nhiệt độ cột phản ứng là 1020°C, chất xúc tác là crom oxit và coban, các chất hữu cơ trong mẫu chuyển thành CO_2 , H_2O và N/NO_x . Các thành phần NO_x sau đó được khử thành N_2 bằng đồng vị nguyên tố trong lò khử ở 680°C. Nước được loại bỏ bằng cách sử dụng bẫy hóa học chứa magie peclorat và các khí chuẩn CO_2 và N_2 được tách ra khỏi nhau trên cột sắc ký khí và sau đó đi vào khối phổ kế IRMS. Dòng khí mang He được cấp liên tục cho EA-IRMS và kéo theo khí CO_2 vào buồng ion hóa, khối phổ kế có khả năng tách các ion có số khối khác nhau và các ion được thu vào các cốc Faraday theo sự lái tia của lực từ trường. Các cốc Faraday này ghi nhận điện tích rơi vào trong cốc và cho ra chỉ thị trên các kênh ghi nhận tín hiệu. Phần mềm máy tính sẽ tính diện tích các đỉnh của mẫu khí CO_2 chuẩn và mẫu cần phân tích. Tỷ lệ đồng vị $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ của mẫu được đo so với các đỉnh khí chuẩn (CO_2 , N_2) được phân tích trong mỗi lần chạy với độ chính xác được kiểm tra thường xuyên bằng các vật liệu chuẩn. Sau đó dựa vào đường chuẩn của các chất chuẩn được phân tích cùng mẫu để tính được thành phần đồng vị $\delta^{13}\text{C}$ trong các mẫu thực.

Tính toán kết quả đo đồng vị trong mẫu

Thành phần đồng vị của carbon $\delta^{13}\text{C}$ được tính bằng độ lệch tương đối giữa tỉ số đồng vị của mẫu đo và mẫu tham chiếu được xác định bởi công thức [16]:

$$\delta = \left(\frac{R_{\text{sample}} - R_{\text{standard}}}{R_{\text{standard}}} \right) \cdot 1000$$

Trong đó:

R_{sample} : tỷ số hàm lượng $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ trong mẫu đo;

R_{standard} : tỷ số hàm lượng $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ trong mẫu chuẩn carbon.

Giá trị δ (‰) có thể dương khi mẫu giàu thành phần đồng vị hơn mẫu tham chiếu và có thể âm khi mẫu nghèo thành phần đồng vị hơn mẫu tham chiếu.

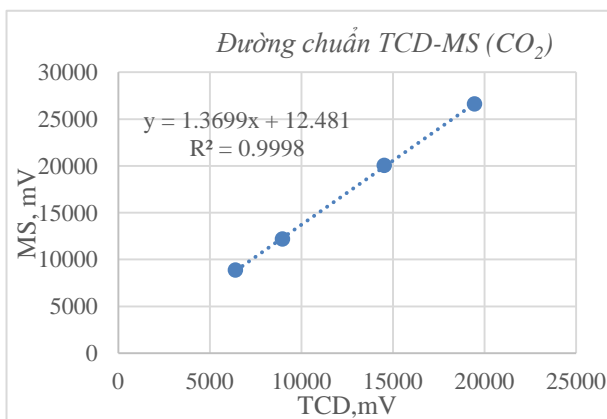
Các mẫu chuẩn được sử dụng trong nghiên cứu này là USGS-61 ($\delta^{13}\text{C}$: -35.05 ± 0.04 ‰), USGS-62 ($\delta^{13}\text{C}$: -14.79 ± 0.04 ‰), USGS-63 ($\delta^{13}\text{C}$: -1.17 ± 0.1 ‰). $\delta^{13}\text{C}$ của các mẫu chuẩn được so sánh với mẫu chuẩn VPDB (Vienna Pee Dee Belemnite là khoáng calcite, đây là vỏ sò đã hóa thạch ở hệ tầng Pee Dee tuổi Creta lấy từ bang Bắc Caroline (Mỹ) do Phòng Thủy văn đồng vị của Cơ quan Năng lượng nguyên tử quốc tế (IAEA) chuẩn bị. Các mẫu chuẩn được thực hiện như các mẫu cần phân tích và phân tích xen kẽ trong cùng một đợt phân tích, điểm chuẩn, các kết quả phân tích mẫu chuẩn được dùng để xây dựng đường chuẩn tuyến tính, hệ số tương quan giữa khối lượng và tỷ số đồng vị (R^2) đạt được từ 0,99 đến 1.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

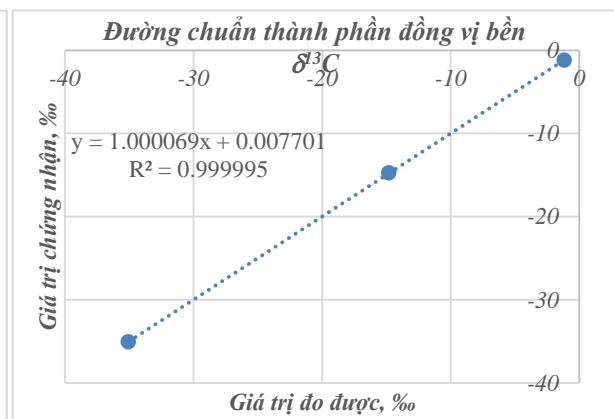
Trước khi phân tích thành phần đồng vị bền $\delta^{13}\text{C}$ trên hệ phổ kế tỉ số đồng vị, các thông số về độ ổn định (on-off test) và độ tuyến tính (linearity) của hệ phải được kiểm tra bằng khí chuẩn CO_2 . Độ lệch chuẩn của độ ổn định và độ tuyến tính sau 10 lần phân tích mẫu khí chuẩn CO_2 là $< 0,06$ và hệ số góc của độ tuyến tính $< 0,06$ [5]. Bước tiếp theo, cần kiểm tra đường nền (baseline), các thông số của đường nền thỏa mãn điều kiện như ở bảng 1 đường nền (baseline), Tiếp theo, tiến hành xây dựng đường chuẩn cho TCD và MS (hình 1), yêu cầu hệ số tương quan của đường chuẩn TCD-MS đạt được từ 0,99 đến 1. Sau khi hệ thiết bị thỏa mãn các thông số nêu trên, xây dựng đường chuẩn của phương pháp dựa trên mối tương quan giữa giá trị chứng nhận và giá trị đo được của thành phần đồng vị bền $\delta^{13}\text{C}$ trong các mẫu chuẩn. Nhóm nghiên cứu đã sử dụng các mẫu chuẩn USGS-61 ($\delta^{13}\text{C}$: -35.05 ± 0.04 ‰), USGS-62 ($\delta^{13}\text{C}$: -14.79 ± 0.04 ‰), USGS-63 ($\delta^{13}\text{C}$: -1.17 ± 0.1 ‰) và kiểm tra độ chính xác của phép phân tích. Từ hình 2 cho thấy đường chuẩn tuyến tính của thành phần đồng vị bền $\delta^{13}\text{C}$ có hệ số tương quan $R^2 = 0,999995$ với các hệ số $a = 1,000069 \pm 0,00001$ và $b = 0,007701 \pm 0,001$.

Bảng 1. Giới hạn các thông số đường nền của hệ thiết bị EA-IRMS

	Masses	Cup	Criteria		Masses	Cup	Criteria
Argon	40	C3	<200mV	Oxygen	32	C3	<2000mV
H2O	18	C3	<2000mV	Nitrogen	28	C2	<50mV



Hình 1- Đường chuẩn tuyến tính TCD-MS của khí chuẩn CO_2 trên hệ EA-IRMS.



Hình 2- Đường chuẩn tuyến tính thể hiện mối tương quan giữa giá trị chứng nhận và giá trị đo được của

Bảng 2. Độ lặp lại và độ chệch của thành phần đồng vị bền $\delta^{13}C$ trong mẫu chuẩn USGS62

Tên mẫu	Thành phần đồng vị $\delta^{13}C$, ‰	¹ Độ lệch chuẩn, ‰
QC1	-14.538	0.012
QC2	-14.721	0.030
QC3	-14.717	0.020
QC4	-14.721	0.034
QC5	-14.786	0.045
QC6	-14.744	0.023
QC7	-14.653	0.023
QC8	-14.778	0.043
QC9	-14.717	0.040
QC10	-14.720	0.040
Giá trị trung bình, ‰	-14.710	
² Độ lệch chuẩn, ‰	0.026	
³ Độ chệch (bias), ‰	-0.54	

¹Độ lệch chuẩn với $n=3$

²Độ lệch chuẩn của độ lặp lại được tính theo công thức: $SQRT[(SD1)^2+(SD2)^2+(SD3)^2]$;

³Độ chệch (bias) được xác định theo công thức: $[(\text{giá trị đo được}-\text{giá trị so sánh}) \times 100/\text{giá trị so sánh}]$.

Theo TCVN 6910 1-6:2005 và tiêu chuẩn quốc tế ISO 5725 1-6:1994 [7], độ chính xác của phương pháp được xác định thông qua độ chụm và độ đúng. Độ đúng chỉ mức độ gần nhau giữa giá trị trung bình của kết quả thử nghiệm và giá trị thực hoặc giá trị được chấp nhận là đúng μ . Độ chụm chỉ mức độ dao động của các kết quả thử nghiệm độc lập quanh trị giá trung bình.

Bảng 2 và 3 trình bày kết quả xác định thành phần đồng vị bền $\delta^{13}C$ trong 03 mẫu CRMs: USGS-61, USGS-62, USGS-63 bằng EA-IRMS. Kết quả phân tích được đánh giá, so sánh với các giá trị được chứng nhận (Report of Stable Isotopic Composition Reference Materials USGS61, USGS62, and USGS63 Hydrogen, Carbon, and Nitrogen Isotopes in Caffeine, United States Geological Survey).

- Độ chụm (precision) của kết quả phân tích được đánh giá qua độ lệch chuẩn tương đối của độ lặp lại và độ tái lập trung gian. Tiến hành thí nghiệm độ lặp lại trên cùng một mẫu chuẩn USGS62, lặp lại thí nghiệm 10 lần (mỗi lần bắt đầu từ cân mẫu). Thí nghiệm độ tái lập trung gian tương tự như độ lặp lại, tiến hành trên 3 mẫu chuẩn USGS61, USGS62, USGS63. Từ kết quả trong các Bảng 2 và 3 nhận thấy độ lệch chuẩn của các giá trị phân tích nhỏ hơn 0,05 ‰ cho thấy phép phân tích có kết quả đáng tin cậy, quy trình phân tích được áp dụng có độ chụm tốt.

- Độ đúng (accuracy): Độ đúng được đánh giá dựa trên tham số độ chệch tương đối (bias, % - xem công thức tính được ghi chú dưới Bảng 2) giữa kết quả thu được và giá trị phê chuẩn của nhà sản xuất. Từ kết quả thu được trong Bảng 2 và Bảng 3 ta thấy giá trị độ chệch tương đối của 02 mẫu USGS 61 và USGS 62 là $< 0.85\%$ và của mẫu USGS 63 là 0% . Độ chệch bias đối với các phép đo đều rất nhỏ đạt giá trị xung quanh $\pm 1\%$.

Bảng 3. Độ lặp lại trung gian và độ chệch của thành phần đồng vị bền $\delta^{13}C$

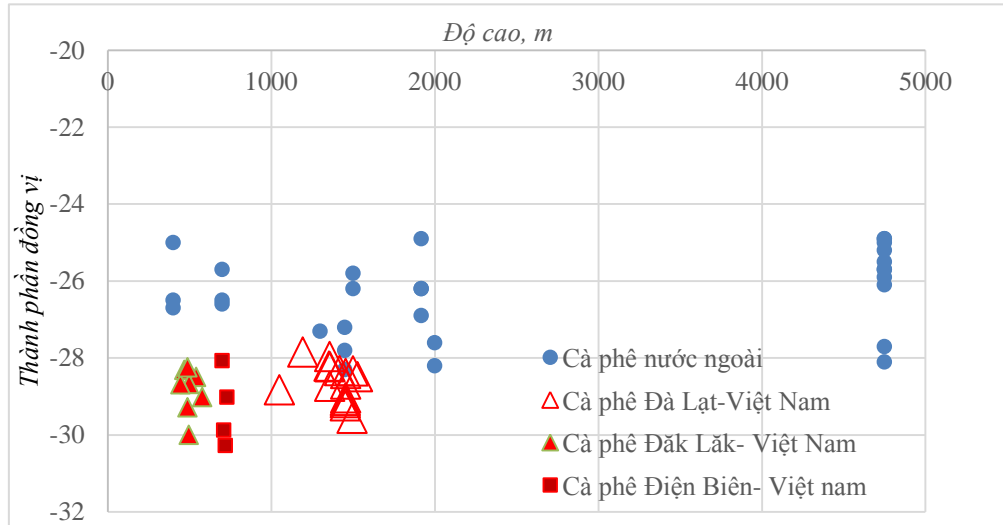
Tên chuẩn	Giá trị chứng nhận		¹ Thành phần đồng vị $\delta^{13}C$, ‰	² Độ lệch chuẩn của độ lặp lại, ‰	³ Độ lệch chuẩn của độ lặp lại trung gian, ‰	⁴ Độ chệch bias, ‰
	XCert, ‰	Độ lệch chuẩn, ‰				
USGS 61	-1.17	0.1	-1.16	0.030	0.0047	-0.85
USGS 62	-14.79	0.04	-14.73	0.026		-0.54

¹Độ lệch chuẩn tương đối với $n=10$

²Độ lệch chuẩn của độ lặp lại được tính theo công thức: $SQRT[(SD1)^2+(SD2)^2+...+(SDn)^2]$ với $n=10$;

³Độ lệch chuẩn của độ lặp lại trung gian được tính theo công thức: $SQRT[(SD1)^2+(SD2)^2+(SD3)^2]$

⁴Độ chệch tương đối (bias) được xác định theo công thức: $[(\text{giá trị đo được}-\text{giá trị so sánh})\times 100/\text{giá trị so sánh}]$.



Hình 3- Thành phần đồng vị bền δ^3C của hạt cà phê xanh Việt Nam và nước ngoài.

Bảng 4. Thành phần đồng vị bền δ^3C của hạt cà phê xanh một số nước [2]

Khu vực	Nước	Độ cao, m	δ^3C , ‰	Khu vực	Nước	Độ cao, m	δ^3C , ‰		
Africa	Papua New Guinea	2000	-28.2	Africa	Kenya	4750	-24.9		
		2000	-27.6			4750	-26.1		
	Ethiopia	1918	-26.2			4750	-25.0		
		1918	-24.9			4750	-25.5		
		1918	-26.2			4750	-28.1		
		1918	-26.9			4750	-25.2		
	UR Tanzania	1300	-27.3			1500	-26.2		
		700	-26.6			1500	-25.8		
		700	-26.5			400	-26.7		
		700	-25.7			400	-25.0		
	Kenya	4750	-24.9			400	-26.5		
		4750	-25.7			Central America	Costa Rica	1450	-27.2
		4750	-25.7					1450	-28.3
		4750	-25.9					1450	-27.8
4750		-27.7							

Bảng 5. Thành phần đồng vị bền δ^3C của hạt cà phê xanh một số khu vực ở Việt Nam

Địa phương	Độ cao, m	δ^3C , ‰	Địa phương	Độ cao, m	δ^3C , ‰
Đà Lạt	1193	-27.84 ± 0.02	Đắk Lắk	579	-29.02 ± 0.09
	1419	-28.32 ± 0.03		470	-28.31 ± 0.16
	1495	-29.57 ± 0.02		542	-28.49 ± 0.08
	1360	-28.22 ± 0.06		498	-28.68 ± 0.03
	1357	-27.96 ± 0.01		445	-28.68 ± 0.02

	1355	-28.21 ± 0.02		497	-30.00 ± 0.09
	1050	-28.82 ± 0.05		490	-29.29 ± 0.07
	1454	-29.24 ± 0.04		490	-28.24 ± 0.02
	1454	-29.16 ± 0.04	Điện Biên	700	-28.07 ± 0.04
	1358	-28.74 ± 0.09		700	-29.87 ± 0.03
	1454	-29.10 ± 0.05		720	-30.27 ± 0.07
	1528	-28.48 ± 0.04		730	-29.02 ± 0.11
	1455	-28.40 ± 0.12			
	1500	-28.34 ± 0.05			
	1455	-28.67 ± 0.02			
	1455	-29.04 ± 0.02			

Áp dụng quy trình phân tích nêu trên cho 29 mẫu hạt cà phê xanh thu thập trong nước (19 mẫu ở Đà Lạt, 8 mẫu ở Đắk Lắk, 4 mẫu ở Điện Biên). Các mẫu này đều là mẫu hạt cà phê chín đỏ, sau khi rửa sạch bằng nước cất, sấy ở 60°C-65°C trong 48-60 giờ, đập vỏ ngoài, bóc vỏ lụa và nghiền phần nhân. Mẫu sau khi nghiền mịn đến kích thước 0,4mm được sấy ở 60°C-65°C trong 24h, bảo quản mẫu trong lọ thủy tinh tối màu có nắp kín để vào trong bình hút ẩm chờ phân tích EA-IRMS. Mỗi mẫu đo lặp lại 3 lần (lặp từ bước cân mẫu). Số liệu bảng 5 cho thấy độ lệch chuẩn của giá trị $\delta^{13}C$ trong 3 lần đo đều nhỏ hơn 0,3‰ chứng tỏ sự ổn định của hệ phân tích tỷ số đồng vị và phương pháp phân tích có độ chính xác cao.

Kết quả phân tích thành phần đồng vị bền $\delta^{13}C$ có sự phân biệt khá rõ với cà phê các nước khác và cũng có sự khác biệt của thành phần đồng vị bền $\delta^{13}C$ của các vùng trồng có độ cao khác nhau cũng như có tọa độ địa lý khác nhau. Từ hình 3, bảng 4 và bảng 5 có thể thấy giá trị thành phần đồng vị bền $\delta^{13}C$ của hạt cà phê xanh thu thập từ các vùng khác nhau trên thế giới từ -28,3‰ đến -24,9‰ với sự thay đổi độ cao trong vùng trồng các mẫu này từ 400m-4750m. Trong khi đó, thành phần đồng vị bền $\delta^{13}C$ của hạt cà phê xanh thu thập từ các vùng khác nhau ở Việt Nam dao động từ -30,27‰ đến -27,84‰ với sự thay đổi độ cao tương ứng từ 445m-1528m. Điều này phù hợp với nghiên cứu của tác giả James F. Carter [12] khi nghiên cứu sự liên quan giữa thành phần đồng vị bền $\delta^{13}C$ với độ cao, vĩ độ, khí hậu và nguồn nước. Việc đánh giá sự khác biệt giá trị thành phần đồng vị bền $\delta^{13}C$ của hạt cà phê xanh ở các vùng trồng ở Việt Nam tạo cơ sở hướng đến xác thực nguồn gốc địa lý của sản phẩm hạt cà phê xanh, đồng thời góp phần phát triển một công cụ khoa học có độ tin cậy trong việc bảo vệ quyền lợi của người tiêu dùng.

III. KẾT LUẬN

Phương pháp phân tích thành phần đồng vị bền $\delta^{13}C$ trong mẫu hạt cà phê xanh trên hệ khối phổ kế tỉ số đồng vị là phương pháp tin cậy, có độ chính xác cao. Sự khác nhau của thành phần đồng vị ở các vùng địa lý là một trong những cơ sở khoa học giúp cho các nhà nghiên cứu, cơ quan chức năng, người tiêu dùng xác thực nguồn gốc địa lý cho các sản phẩm nông sản (hạt cà phê). Tuy nhiên, để có thêm công cụ xác thực trong truy xuất nguồn gốc nhằm giảm thiểu sự cạnh tranh không lành mạnh và bảo vệ quyền lợi người tiêu dùng, nhóm nghiên cứu sẽ tiếp tục phát triển các phương pháp bổ trợ như phân tích thành phần đồng vị bền của các nguyên tố Nito, Oxy, ... kết hợp phân tích đa nguyên tố.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abera Gure et al., Metals in green coffee beans from major coffee-growing regions of Ethiopia, Chemistry International 3(4) (2017) 359-369
2. Carla Isabel Rodrigues, et al., Stable isotope analysis for green coffee bean: A possible method for geographic origin discrimination, Journal of Food Composition and Analysis 22

(2009) 463–471

3. International atomic energy agency, Sample preparation of soil and plant material for isotope ratio mass spectrometry (IAEA-TECDOC-1870), Vienna, 2019
4. Catherine A. Sloan, “Quality Assurance Plan for Analyses of Environmental Samples for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Persistent Organic Pollutants, Dioctyl Sulfosuccinate, Estrogenic Compounds, Steroids, Hydroxylated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Stable Isotope Ratios, and Lipid Classes”, (U.S. department of commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration, 2019
5. Donald L. Phillips, Julian W. Gregg, Uncertainty in source partitioning using stable isotopes, U.S. Environmental Protection Agency, *Oecologia* (2001) 127:171-179
6. Hwang, J. , Kim, B. , Kim, M. , Choi, J. , Kim, T. and Lee, W. (2016) Evaluation of Accuracy and Precision of IRMS by Using Standard Materials and Applications. *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*, **5**, 211-222
7. ISO 5725:1994 “Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method”.
8. Alessandro Santato et al., Using elemental profiles and stable isotopes to trace the origin of green coffee beans on the global market, *J. Mass Spectrom.* 2012, 47, 1132–1140
9. M.H. O’Leary, Carbon isotope fractionation in plants, *Phytochemistry* 20 (1981) 553-567.
10. M.H. O’Leary, Carbon isotopes in photosynthesis, *Bio. Science* 38 (1998) 328-333.
11. Jean-François Morin & Michèle Lees, A guide to food authenticity issues and analytical solutions, Eurofins Analytics France, 2018.
12. James F. Carter,* Hans S. A. Yates, and Ujang Tinggi, Isotopic and Elemental Composition of Roasted Coffee as a Guide to Authenticity and Origin, *J. Agric. Food Chem*, 2015

