

**TCVN 13816:2023**

Xuất bản lần 1

**NƯỚC QUẢ – XÁC ĐỊNH  
TỶ SỐ ĐỒNG VỊ cacbon bền ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) CỦA ĐƯỜNG –  
PHƯƠNG PHÁP ĐO KHỐI PHỔ TỶ SỐ ĐỒNG VỊ**

*Fruit juices – Determination of stable carbon isotope ratio ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) of sugars –  
Isotope ratio mass spectrometric method*

HÀ NỘI – 2023

**Lời nói đầu**

TCVN 13816:2023 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F10 *Rau quả và sản phẩm rau quả* biên soạn, Viện Tiêu chuẩn Chất lượng Việt Nam đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

## Nước quả – Xác định tỷ số đồng vị cacbon bền ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) của đường – Phương pháp đo khối phổ tỷ số đồng vị

*Fruit juices – Determination of stable carbon isotope ratio ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) of sugars – Isotope ratio mass spectrometric method*

### 1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định tỷ số đồng vị cacbon bền ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) của đường trong nước quả bằng máy đo khối phổ tỷ số đồng vị (IRMS).

### 2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau là rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi, bổ sung (nếu có).

TCVN 4851 (ISO 3696), *Nước dùng để phân tích trong phòng thí nghiệm – Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử*.

### 3 Nguyên tắc

Tỷ số đồng vị của cacbon 13 với cacbon 12 bền ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) trong cacbon dioxit thu được từ đường tổng và đường khử được xác định bằng máy đo khối phổ tỷ số đồng vị.

### 4 Thuốc thử

Chỉ sử dụng thuốc thử đạt chất lượng phân tích và nước tối thiểu đạt loại 3 của TCVN 4851 (ISO 3696).

**4.1 Canxi hydroxit** [ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ]

**4.2 Axit sulfuric** ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), 95 % đến 97 % (khối lượng)

**4.3 Dung dịch axit sulfuric**, 0,1 mol/L.

#### 4.4 Chuẩn NBS 22<sup>1)</sup>.

### 5 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ của phòng thử nghiệm thông thường và các thiết bị, dụng cụ cụ thể sau:

#### 5.1 Máy đo khối phổ tỷ số đồng vị (IRMS)

Có khả năng xác định thành phần đồng vị <sup>13</sup>C của khí cacbon dioxit (CO<sub>2</sub>) phân bố trong tự nhiên có độ chụm nội bộ đạt 0,05 ‰ hoặc cao hơn [biểu thị bằng giá trị δ tương đối (xem Điều 7)]. Độ chụm nội bộ được xác định là chênh lệch giữa hai phép đo của cùng một mẫu cacbon dioxit.

Máy đo khối phổ tỷ số đồng vị được gắn ba bộ thu nhận với bộ ghi đồng thời ở các số khối là 44, 45 và 46. Máy đo khối phổ cũng được gắn với hệ thống dẫn kếp, để đo lần lượt mẫu thử và mẫu chuẩn hoặc sử dụng hệ thống trực tiếp để đốt cháy mẫu trong máy phân tích nguyên tố (EA) (5.2) hỗn hợp khí được tách bằng cột sắc ký khí, trước khi xác định bằng máy đo khối phổ tỷ số đồng vị. Phương pháp cho độ chính xác cao nhất, đối với phép xác định độ biến thiên thành phần đồng vị trong dải phân bố tự nhiên. Tuy nhiên, các kết quả chính xác có thể đạt được khi sử dụng phương pháp trực tiếp với điều kiện dùng mẫu chuẩn thứ cấp.

**5.2 Thiết bị đốt mẫu (máy phân tích nguyên tố),** có thể chuyển hóa tất cả cacbon của mẫu thành cacbon dioxit và có thể loại bỏ tất cả các sản phẩm cháy khác, chủ yếu là hơi nước ra khỏi cacbon dioxit.

**5.3 Máy ly tâm,** có thể tạo gia tốc ly tâm 1400 g ở đáy ống ly tâm (5.4).

CHÚ THÍCH: Tốc độ quay cần để tạo được gia tốc ly tâm chính xác có thể được tính theo Công thức (1):

$$a = 11,18 \times r_0 \times (n/1\ 000)^2 \quad (1)$$

Trong đó:

a là gia tốc ly tâm;

r<sub>0</sub> là bán kính của máy ly tâm đo được từ điểm giữa (trục ly tâm) đến đáy của ống ly tâm khi quay, tính bằng xentimet (cm);

n là tốc độ vòng quay, tính bằng vòng trên phút (r/min).

**5.4 Ống ly tâm,** dung tích 50 ml

### 6 Cách tiến hành

#### 6.1 Chuẩn bị mẫu thử

<sup>1)</sup> NBS 22: chất chuẩn NIST 8539 của Viện Tiêu chuẩn và Công nghệ quốc gia Hoa Kỳ hoặc chất chuẩn tương đương của Cơ quan Năng lượng Nguyên tử Quốc tế (IAEA). Thông tin đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định phải sử dụng chúng. Có thể sử dụng các sản phẩm khác nếu cho các kết quả tương đương.

Loại bỏ các thành phần rắn có trong khoảng 50 ml mẫu nước quả tự nhiên hoặc nước quả hoàn nguyên bằng máy ly tâm (5.3) ở gia tốc 1400 g trong 10 min.

## 6.2 Tinh sạch và tách đường

Tinh sạch các chất hòa tan còn lại trong phần chất lỏng thu được sau khi ly tâm bằng cách thêm 2 g canxi hydroxit (4.1) dạng bột vào dung dịch trong khi khuấy đều (ví dụ: dùng máy khuấy từ) và gia nhiệt trên nồi cách thủy ở 90 °C trong 3 min.

Ở giai đoạn này của quy trình, axit hữu cơ, axit amin và các hợp chất khác được kết tủa. Tách phần kết tủa của dung dịch nóng bằng máy ly tâm (5.3) (trong 3 min ở gia tốc 1400 g). Gạn phần dịch lỏng trong phía trên và axit hóa dung dịch bằng dung dịch axit sulfuric 0,1 mol/L (4.3) để thu được pH xấp xỉ 5 khi màu của dung dịch thay đổi. Dung dịch này chủ yếu chứa đường, canxi sulfat và các thành phần không quan trọng như chất tạo màu. Loại bỏ phần canxi sulfat còn lại bằng cách bảo quản dung dịch trong tủ lạnh ở nhiệt độ khoảng 4 °C qua đêm (khoảng 15 h) sau đó gạn. Đông khô dịch lỏng phía trên và nghiền lạnh thành dạng bột mịn trước khi bảo quản trong chai thủy tinh nhỏ có nắp đậy bằng chất dẻo kín khí.

## 6.3 Đốt cháy đường

Đốt mẫu thu được trong 6.2 bằng luồng khí ôxy đối lưu hoặc trong máy phân tích nguyên tố (5.2). Cần phải thực hiện việc chuyển hóa hoàn toàn cacbon hữu cơ thành cacbon dioxit bằng phương pháp sao cho tránh bất kỳ sự phân tách đồng vị nào và cho phép thu được toàn bộ khí. Thông thường, sử dụng bẫy nitơ lỏng để thu lại cacbon dioxit trước khi phân tích bằng máy đo khối phổ tỷ số đồng vị.

CHÚ THÍCH: Có thể sử dụng hệ thống chưng cất vi phân có bán sẵn.

## 6.4 Xác định

Xác định tỷ số đồng vị  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  trong cacbon dioxit thu được từ quá trình đốt cháy đường, nêu trong 6.3 bằng máy đo khối phổ tỷ số đồng vị (5.1). Xác định tỷ số các loại đồng vị  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  cụ thể từ các cường độ tương ứng.

## 7 Tính kết quả

Ngoài việc sử dụng phân bố khối lượng đồng vị (tính bằng phần nghìn của các nguyên tử), có thể biểu thị thành phần đồng vị theo độ lệch tương đối  $\delta^{13}\text{C}$  (tính bằng phần nghìn) giữa tỷ số đồng vị  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  của mẫu thử so với chuẩn (chuẩn PDB). Giá trị  $\delta^{13}\text{C}$  chỉ được sử dụng để nhận biết sự thay đổi (của chữ số thập phân thứ ba) trong phân bố đồng vị tự nhiên.

Chuẩn PDB là canxi cacbonat hóa thạch có tỷ số đồng vị  $(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{PDB}} = 0,011\,237\,2$  đối với cacbon dioxit thu được. Giá trị này là điểm chuẩn của thang đo PDB chuẩn quốc tế thông dụng, đối với giá trị

## TCVN 13816:2023

$\delta^{13}\text{C}$ , biểu thị theo phần nghìn (‰), được tính theo Công thức (2):

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}} = \frac{R_s - R_{\text{PDB}}}{R_{\text{PDB}}} \times 1000 \quad (2)$$

Trong đó:

$R_s$  là tỷ số đồng vị  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  của mẫu thử (xem 6.4);

$R_{\text{PDB}}$  là tỷ số đồng vị  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  của chuẩn PDB.

Chuẩn thứ cấp phù hợp thường sử dụng trong phương pháp này là NBS 22 (4.4), có giá trị  $-29,80$  ‰ so với chuẩn PDB.

## 8 Độ chụm

Chi tiết của phép thử liên phòng thử nghiệm về độ chụm của phương pháp được nêu trong Phụ lục A. Giá trị độ chụm thu được từ phép thử liên phòng thử nghiệm có thể không áp dụng cho dải nồng độ và chất nền khác với dải nồng độ và chất nền đã nêu trong Phụ lục A.

### 8.1 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm độc lập, đơn lẻ, thu được khi sử dụng cùng một phương pháp, trên vật liệu thử giống hệt nhau, trong cùng một phòng thử nghiệm, do cùng một người thực hiện, sử dụng cùng thiết bị, trong cùng một khoảng thời gian ngắn, không quá 5 % các trường hợp lớn hơn giới hạn lặp lại  $r$ .

Các giá trị là:

Nước cam  $r = 0,26$  ‰;

Nước dứa  $r = 0,42$  ‰;

Đường từ củ cải đường  $r = 0,17$  ‰;

Đường mía  $r = 0,29$  ‰.

### 8.2 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm đơn lẻ, thu được khi sử dụng cùng một phương pháp, trên vật liệu thử giống hệt nhau, trong các phòng thử nghiệm khác nhau, do những người khác nhau thực hiện, sử dụng thiết bị khác nhau, không quá 5 % các trường hợp lớn hơn giá trị giới hạn tái lập  $R$ .

Các giá trị là:

Nước cam	$R = 0,66 \text{ ‰}$ ;
Nước dừa	$R = 0,72 \text{ ‰}$ ;
Đường từ củ cải đường	$R = 0,87 \text{ ‰}$ ;
Đường mía	$R = 0,60 \text{ ‰}$ .

## 9 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải gồm các thông tin sau:

- mọi thông tin cần thiết để nhận biết mẫu thử (loại mẫu, nguồn gốc, ký hiệu);
- viện dẫn tiêu chuẩn này;
- ngày và loại quy trình lấy mẫu (nếu có);
- ngày nhận mẫu;
- ngày thử nghiệm;
- các kết quả thử và đơn vị biểu thị;
- độ lặp lại của phương pháp được đánh giá;
- mọi điểm đặc biệt quan sát được trong quy trình thử nghiệm.
- mọi thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này hoặc tùy chọn có thể ảnh hưởng đến kết quả.

**Phụ lục A**  
(Tham khảo)

**Kết quả thống kê của phép thử liên phòng thử nghiệm**

Các thông số sau đã được xác định trong phép thử liên phòng thử nghiệm phù hợp với ISO 5725:1986<sup>1)</sup>.  
Phép thử đã được xây dựng bởi nhóm công tác 1 (đồng vị) thuộc Ban kỹ thuật tiêu chuẩn CEN/TC 17.

Năm tiến hành thử nghiệm liên phòng 1992

Số lượng phòng thử nghiệm tham gia 15

Số lượng mẫu thử 4

**Bảng A.1 – Kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm**

Mẫu thử	A	B	C	D
Số phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ	15	15	14	15
Số phòng ngoại lệ	0	0	1	0
Số kết quả chấp nhận được	108	103	54	56
Giá trị trung bình ( $\bar{x}$ ) (‰)	-24,60	-12,10	-25,60	-11,20
Độ lệch chuẩn lặp lại ( $s_r$ ) (‰)	0,09	0,15	0,06	0,10
Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại ( $RSD_r$ ) (%)	0,37	1,24	0,23	0,89
Giới hạn lặp lại ( $r$ ) (‰)	0,26	0,42	0,17	0,29
Độ lệch chuẩn tái lập ( $s_R$ ) (‰)	0,21	0,21	0,30	0,18
Độ lệch chuẩn tương đối tái lập ( $RSD_R$ ) (%)	0,85	1,74	1,17	1,61
Giới hạn tái lập ( $R$ ) (‰)	0,66	0,72	0,87	0,60
CHÚ THÍCH: Không có sự khác biệt phát hiện được giữa $r$ , $R$ và $\bar{x}$ . Loại mẫu: A nước cam; B nước dứa; C đường từ củ cải đường; D đường mía.				

<sup>1)</sup> ISO 5725:1986 hiện nay đã hủy và thay bằng bộ tiêu chuẩn ISO 5725, được chấp nhận thành bộ TCVN 6910 (ISO 5725) (gồm 6 phần) *Độ chính xác (độ đúng và độ chụm) của phương pháp đo và kết quả đo.*



**Thư mục tài liệu tham khảo**

- [1] ENV 12140:1996 *Fruit and vegetable juices – Determination of the stable carbon isotope ratio ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) of sugars from fruits juices – Method using isotope ratio mass spectrometry*
  - [2] ISO 5725:1986 *Precision of the test methods – Determination of repeatability and reproducibility for a standard test method by inter-laboratory tests.*
  - [3] H.Craig, *Geochim. Cosmochim. Acta*, (1957) 133
  - [4] G. Hut, Consultants' Group Meeting on Stable Isotope Reference Samples for Geochemical and Hydrological Investigation, IAEA, Vienna, 16-18 September 1985, IAEA Report, April 1987
  - [5] Determination of carbon-13 content of sugar of fruit and vegetable juices – A European interlaboratory comparison, *Analytica Chimica Acta*. 271 (1993) 31-38
  - [6] Documents CEN/TC 174/WG1 N 4 and N5, Association Française de Normalisation Paris-la Défense, 1989
-