

TỐI ƯU HÓA ĐIỀU KIỆN PHÂN TÍCH ĐỘC TỐ ACRYLAMIDE TRONG CÀ PHÊ BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG GHEP KHỐI PHỔ (HPLC-MS/MS)

LÊ ĐÌNH VŨ¹, NGUYỄN THỊ BÍCH PHƯƠNG²

¹*Viện Khoa học công nghệ và quản lý môi trường, Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh,*

²*Trung tâm dịch vụ phân tích thí nghiệm Thành phố Hồ Chí Minh*

Tác giả liên hệ: ledinhvu@iuh.edu.vn

DOIs: <https://www.doi.org/10.46242/jstiuh.v76i4.5261>

Tóm tắt. Đề tài này thực hiện khảo sát và tối ưu hóa quy trình phân tích hàm lượng tạp chất acrylamide có trong cà phê rang xay bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao ghép khối phổ song song (HPLC-MS/MS). Các điều kiện về thiết bị, phổ khối, pha tĩnh, pha động, và quy trình tách chiết mẫu được khảo sát, lựa chọn tối ưu cho quy trình phân tích acrylamide trong cà phê. Cột sắc ký ZORBAX Eclipse C18 và hệ dung môi pha động HCOOH/MeCN 0,1% FA được lựa chọn kèm theo chương trình dung môi được tối ưu hóa cho quy trình phân tích. Hơn nữa, các điều kiện tối ưu về quy trình xử lý mẫu được xác định như dung môi chiết là EtOAc, nhiệt độ trích ly là 80°C, cột làm sạch mẫu là SPE C18. Quy trình phân tích được áp dụng phân tích 42 mẫu cà phê rang xay tại thị trường Thành phố Hồ Chí Minh, kết quả cho thấy 71,4% số mẫu có chứa acrylamide trong đó 28,6% số mẫu vượt ngưỡng cho phép theo quy định của Châu Âu (400 µg/kg).

Từ khóa. HPLC-MS/MS, acrylamide, cà phê rang xay, an toàn thực phẩm.

1. GIỚI THIỆU

Cà phê là một trong những mặt hàng nông sản được tiêu thụ nhiều nhất toàn cầu. Sự gia tăng nhu cầu tiêu thụ cà phê trên toàn thế giới phần lớn nhờ vào những lợi ích sức khỏe và hương vị đặc trưng, đã khiến cho cà phê trở thành một phần không thể thiếu trong đời sống của nhiều người. Hiện nay, người tiêu dùng có xu hướng ưa chuộng cà phê rang xay tại chỗ thay vì cà phê đóng gói hoặc pha sẵn vì hương vị phù hợp với sở thích cá nhân [1, 2]. Theo Vụ Thị trường trong nước-Bộ Công Thương, Việt Nam là nước xuất khẩu chủ yếu về cà phê nguyên liệu sang châu Âu, với tỉ trọng kim ngạch của cà phê rang và cà phê khử caffein lớn thứ hai, tương đương 17,3%. Đối với thị trường trong nước, thống kê từ năm 2015 đến 2021, lượng tiêu thụ cà phê bình quân đầu người đã tăng từ 1,4 kg lên 2,6 kg/người/năm. Việt Nam là quốc gia có mức tăng trưởng cao nhất trên thế giới về xuất khẩu cà phê. Cùng với sự tăng trưởng này, quy trình chế biến gây nên sự ô nhiễm độc chất acrylamide (AA) trong các sản phẩm cà phê đang ngày càng được quan tâm [3, 4].

Acrylamide (AA), một hợp chất có khả năng ức chế thần kinh và gây ung thư. AA lần đầu tiên được phát hiện trong cà phê vào tháng 4 năm 2002 bởi các nhà khoa học Thụy Điển [5-8]. Đây là chất hình thành ngoài mong muốn do quá trình rang cà phê theo phản ứng Maillard [9, 10]. Theo báo cáo của EFSA năm 2015, hàm lượng acrylamide cao nhất được tìm thấy trong cà phê hòa tan (1499 µg/kg), tiếp đến là cà phê hạt (522 µg/kg). Các nghiên cứu của FAO và WHO cũng chỉ ra rằng acrylamide có mặt trong cà phê và các sản phẩm cao với mức độ từ 909 đến 4948 µg/kg [11, 12].

Tính đến nay ở Việt Nam, chưa có những công bố chính thức về mức độ ô nhiễm AA trong cà phê trên thị trường. Vì vậy việc nghiên cứu và đánh giá hàm lượng độc tố này là rất cần thiết. Khảo sát mức độ ô nhiễm AA trong cà phê không chỉ giúp đảm bảo an toàn thực phẩm mà còn góp phần cảnh báo về những nguy cơ tiềm ẩn trong quy trình chế biến, từ đó đảm bảo chất lượng sản phẩm đối với người tiêu dùng. Phương pháp định lượng acrylamide lần đầu được đề cập khi sử dụng kỹ thuật sắc ký khí ghép khối phổ bởi các nhà nghiên cứu Thụy Điển. Phương pháp này cần tạo dẫn xuất cho AA và đã được cải tiến qua nhiều năm. Tuy nhiên, do đặc thù nền mẫu cà phê tương đối phức tạp dẫn đến tính ổn định hệ thống của phương pháp này bị ảnh hưởng. Hơn nữa, quy trình xử lý mẫu của phương pháp này yêu cầu thêm kỹ thuật tạo dẫn xuất dễ bay hơi cho chất cần phân tích. Hiện nay, phương pháp sắc ký lỏng ghép khối phổ song song (LC-MS/MS) đang trở thành lựa chọn thay thế tốt nhờ độ ổn định và chính xác cao của phương pháp mà không cần tạo dẫn xuất cho acrylamide [13-16]. Ở Việt Nam hiện nay vẫn chưa có những khuyến nghị chính thức về một phương pháp chuẩn phân tích AA trong cà phê. Vì vậy, trong đề tài nghiên cứu này chúng tôi tiến hành khảo sát và tối ưu hóa các điều kiện của quy trình phân tích và ứng dụng khảo sát mức

TỐI ƯU HÓA ĐIỀU KIỆN PHÂN TÍCH ĐỘC TỐ ACRYLAMIDE TRONG CÀ PHÊ...

độ ô nhiễm độc chất AA trong cà phê bằng HPLC-MS/MS. Kết quả nghiên cứu có thể góp phần trong việc tiêu chuẩn hóa phương pháp phân tích acrylamide, đạt được sự công nhận quốc tế theo tiêu chuẩn ISO/IEC 17025. Kết quả đề tài này đồng thời cung cấp dữ liệu về an toàn thực phẩm trong sử dụng cà phê tại Thành phố Hồ Chí Minh.

2. THỰC NGHIỆM

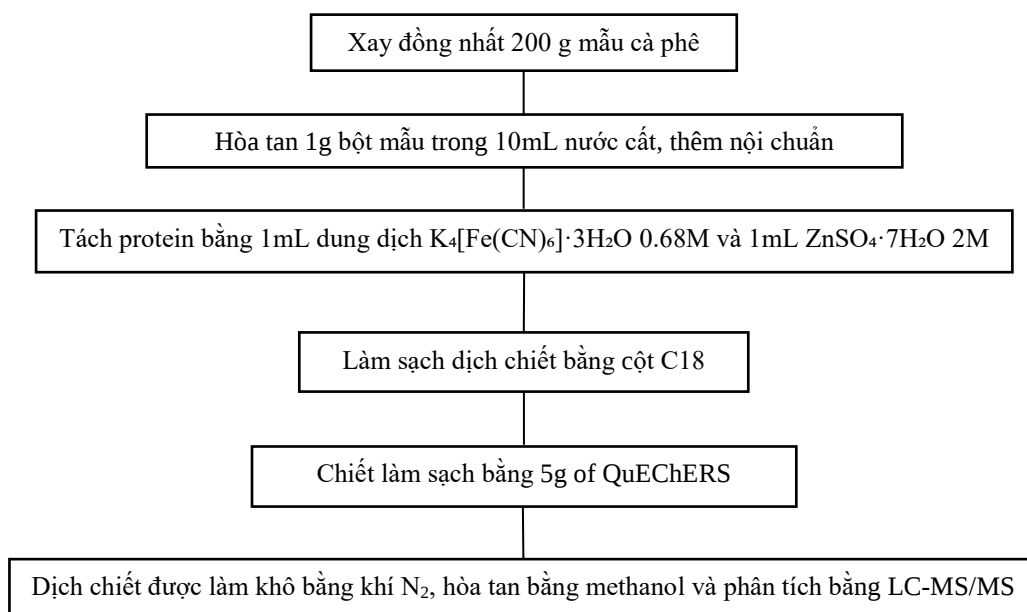
2.1 Hóa chất và thiết bị

Dung dịch acrylamide ($\geq 99,3\%$), kẽm sulfat heptahydrat ($\geq 98,6\%$) và kali hexacyanoferrat (II) trihydrat được mua từ Sigma Aldrich (Singapore). Acrylamide-D3 ($\geq 98,6\%$) được cung cấp bởi hãng Toronto Research Chemicals (Canada). Natri sulfat, acetonitril, methanol, acetone và acid formic ($\geq 99\%$) được mua từ Merck (Merck, Darmstadt, Đức). Cột SPE phân tán 2 ml (150 mg MgSO_4 , 50 mg PSA, 50 mg GCB và 50 mg C18) P/N SBEQ-CA8642 được mua từ CNW Technologies (Trung Quốc). Bột chiết xuất Agilent QuEChERS (4 g MgSO_4 , 1 g NaCl) được mua từ Agilent Technologies (Mỹ). Các hóa chất khác được sử dụng đều đạt chuẩn phân tích.

Hệ thống sắc ký lỏng được sử dụng cho đề tài là HPLC- Agilent 1200 Infinity (Mỹ), cột sắc ký được sử dụng là Zorbax Eclipse XDB C18 với thông số cột 150 mm $\times$ 4.6 mm $\times$ 3.5 μm (Mỹ); Khối phổ ghép song song được sử dụng là MS-Agilent 6410 Triple Quad (Agilent Technologies, Mỹ), khối phổ sử dụng nguồn ion hóa là ESI+

2.2 Phương pháp xử lý mẫu

200 g mẫu cà phê được xay nhuyễn và đồng nhất nhằm nâng cao hiệu quả trích ly AA trong cà phê. Khối lượng mẫu cần lấy để xử lý tùy thuộc vào số lượng phân tích và phải đại diện cho toàn bộ mẫu thử. Mẫu cà phê trước khi xay và đồng nhất cần được trữ lạnh khoảng 1 giờ trong tủ đông ở -20°C . Việc trữ lạnh mẫu nhằm giúp mẫu đảm bảo sự đồng nhất và làm giảm nguy cơ mất acrylamide khi xay. Quy trình xử lý mẫu được thực hiện như trong Hình 01.



Hình 01. Quy trình xử lý mẫu phân tích acrylamide trong cà phê

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1 Khảo sát điều kiện khối phổ

Dung dịch chuẩn AA và dung dịch nội chuẩn Acrylamide-D3 (AAD3) được tiêm trực tiếp vào đầu dò khối phổ. Kỹ thuật ion hóa phun điện tử chế độ dương (ESI+) được sử dụng để khảo sát ion mẹ, ion con của từng chất AA và AAD3. Điều kiện MS và kết quả khảo sát ion mẹ của AA và nội chuẩn AAD3 thu được như trình bày tại Bảng 01 và Bảng 02.

Bảng 01. Thông số hoạt động của đầu dò MS

Kiểu ion hóa	ESI+
Điện thế mao quản	4000 V (+)
Nhiệt độ khí	350 °C
Tốc độ khí	N ₂ , 9 L/min
Áp suất nebulizer	35 psi
Thế cao tần	110-200 V (+)

Bảng 02. Điều kiện ESI-MS/MS và thông số mảnh tín hiệu

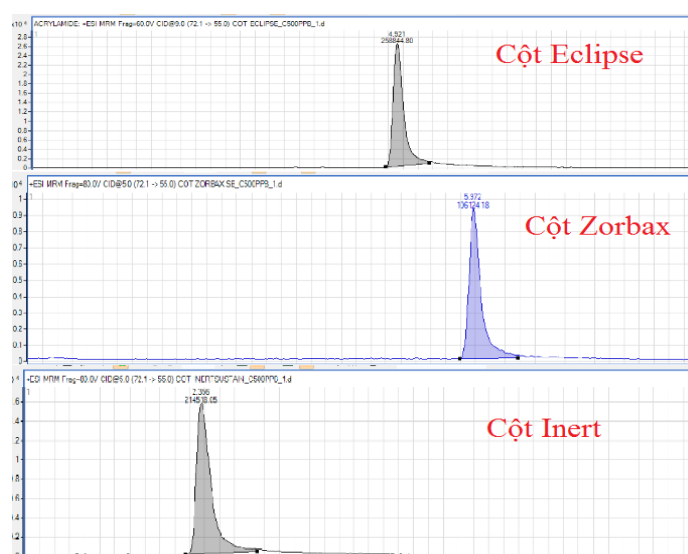
Chất phân tích	Chu kỳ nhận tín hiệu (ms)	Điện áp ion hóa (V)	Ion sơ cấp (m/z)	Ion thứ cấp (m/z)	Năng lượng phân mảnh(V)
Acrylamide	100	60	72,1	55	9
Acrylamide	100	60	72,1	27	17
Acrylamide-D3	100	60	75,1	58	5

Trong quá trình ion hóa bằng chế độ ESI+, AA được proton hóa bởi H⁺ cung cấp từ axit formic (FA) có trong pha động tạo ion sơ cấp là $[\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2 + \text{H}]^+$ tương ứng với m/z = 72,1. Tương tự, chất nội chuẩn AAD3 được proton hóa thành ion sơ cấp là $[\text{CD}_2=\text{CD}-\text{CO}-\text{NH}_2 + \text{H}]^+$ tương ứng với m/z = 75,1. Khi phân mảnh ion sơ cấp $[\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2 + \text{H}]^+$ tạo thành ion thứ cấp bền $[\text{CH}_2=\text{CH}-\text{C}=\text{O}]^+$ có m/z = 55 (72,1 > 55,0) với tín hiệu lớn nhất dùng để định lượng và ion thứ cấp khác có tín hiệu thấp hơn dùng để xác nhận có m/z = 27 (72,1 > 27). Tương tự đối với AAD3, từ ion sơ cấp phân mảnh thành ion thứ cấp $[\text{CD}_2=\text{CD}-\text{C}=\text{O}]^+$ với m/z = 58 có tín hiệu cao nhất và dùng để định lượng. Cả AA và AAD3 đều đáp ứng về số lượng IP = 4 về độ đặc hiệu quy định đối với phương pháp MS/MS đáp ứng theo 2002/65/EC.

3.2 Khảo sát điều kiện sắc ký

3.2.1 Khảo sát và lựa chọn pha tĩnh

Theo các nghiên cứu trước đây cột C18 được sử dụng để phân tích AA và AAD3. Đây là loại cột thường được sử dụng trong các phòng thí nghiệm phân tích các chất phân cực trung bình như AA và AAD3. Để chọn loại cột tối ưu, chúng tôi tiến hành khảo sát sắc ký đồ của 3 loại cột gồm cột Inert Sustaint C18, ZORBAX Eclipse XDB C18 và ZORBAX SB C18 có thông số chiều dài, đường kính và kích thước hạt nhồi lần lượt là 150 mm × 4,6 mm × 4,6 μm; 150 mm × 4,6 mm × 3,5 μm; và 100 mm × 4,6 mm × 3,5 μm. Sắc ký đồ thu được đối với chất chuẩn AA 500 μg/kg khi sử dụng các cột khác nhau như Hình 02.



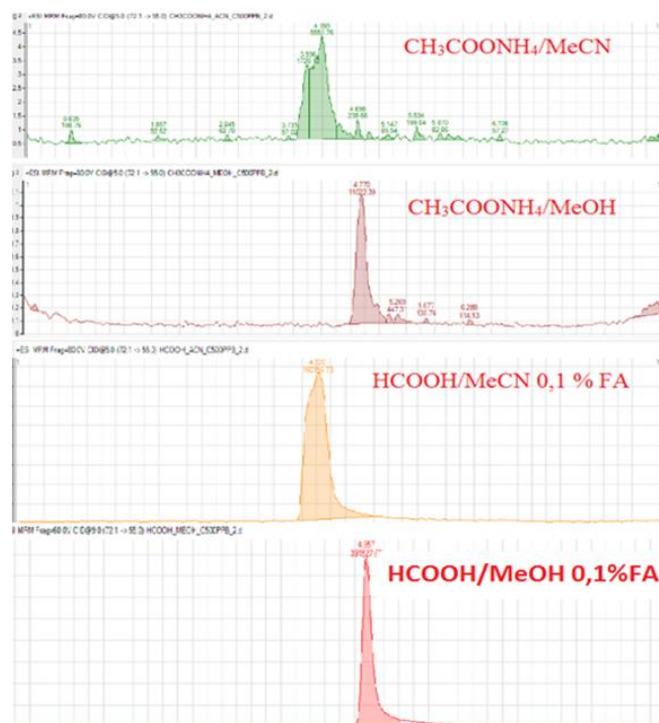
Hình 02. Sắc ký đồ trong phân tích AA với nồng độ chuẩn 500 μg/kg trên các cột sắc ký khác nhau

TỐI ƯU HÓA ĐIỀU KIỆN PHÂN TÍCH ĐỘC TỐ ACRYLAMIDE TRONG CÀ PHÊ...

So sánh với hai loại cột còn lại, cột ZORBAX Eclipse C18 cho diện tích peak cao nhất với thời gian lưu là 4,9 phút. Thời gian lưu này được xem là hợp lý cho quy trình phân tích, vì vừa tiết kiệm dung môi, vừa đảm bảo đủ thời gian để tách chất phân tích khỏi nền mẫu. Do vậy, cột ZORBAX Eclipse C18 được lựa chọn cho quy trình phân tích AA.

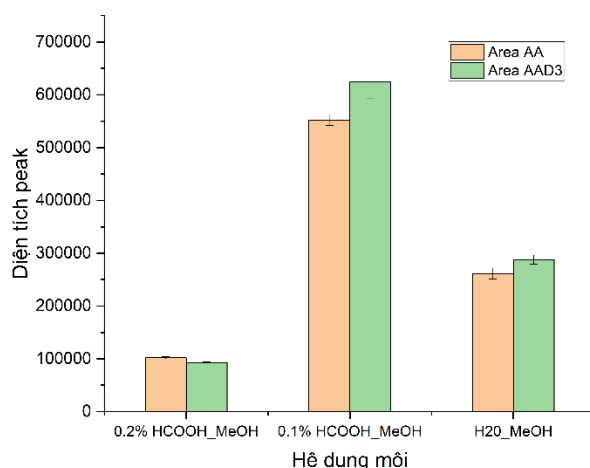
3.2.2 Tối ưu hóa pha động

Trong kỹ thuật HPLC-MS/MS, pha động ảnh hưởng trực tiếp đến quá trình sắc ký, đồng thời tác động đến quá trình ion hóa – từ đó ảnh hưởng đến tín hiệu khối phổ. Vì pha tĩnh C18 và các chất phân tích (AA và AAD3) đều có độ phân cực trung bình, chúng tôi đã lựa chọn khảo sát các hệ dung môi thường dùng trong quá trình tách và ion hóa các hợp chất này, bao gồm: $\text{CH}_3\text{COONH}_4/\text{MeOH}$, $\text{CH}_3\text{COONH}_4/\text{MeCN}$, HCOOH/MeOH (0,1% FA), và HCOOH/MeCN (0,1% FA). Kết quả khảo sát trên chất chuẩn 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ đối với mỗi hệ pha động thu được kết quả như trong Hình 03.



Hình 03. Sắc ký đồ trong phân tích AA với nồng độ chuẩn 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ trên các hệ dung môi khác nhau

Dựa trên sắc ký đồ và tín hiệu peak thu được, pha động HCOOH/MeOH (0,1% FA) cho tín hiệu tốt nhất, độ rộng chân peak nhỏ nhất và nhiễu nền thấp – giúp tăng độ nhạy của phương pháp. Quá trình ion hóa của AA được cải thiện khi có sự hiện diện của ion H^+ , được cung cấp từ các tác nhân như HCOOH , CH_3COOH hoặc $\text{CH}_3\text{COONH}_4$. Tuy nhiên, acid formic là tác nhân phổ biến nhất và có chi phí thấp hơn so với các chất còn lại. Dựa trên các kết quả thu được và phân tích ở trên, chúng tôi lựa chọn HCOOH/MeOH làm pha động cho quy trình sắc ký. Nồng độ HCOOH trong pha động cũng được khảo sát dựa trên tín hiệu ion thứ cấp của AA và AAD3, như trình bày trong Hình 04.



Hình 04. Tín hiệu phân tích AA và AAD₃ khi thay đổi nồng độ acid formic

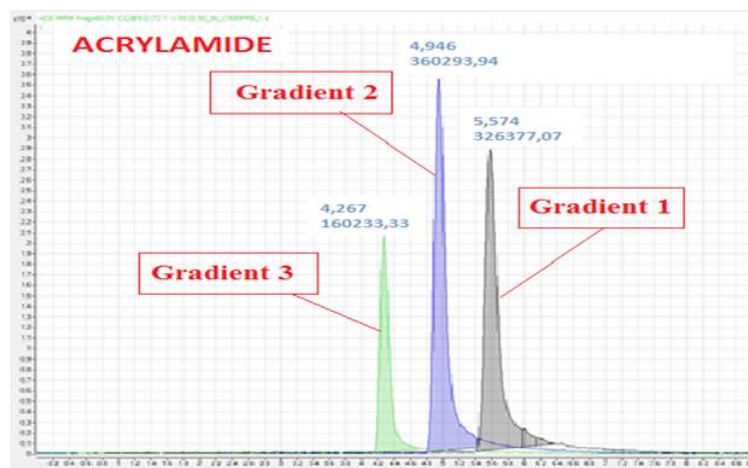
Dựa trên độ nhạy tín hiệu, quan sát cho thấy tại nồng độ 0,1% HCOOH trong hỗn hợp pha động, diện tích pic của cả AA và AAD₃ đạt giá trị cao nhất, vượt hơn 50% so với các nồng độ 0,2% và 0% (H₂O). Hiện tượng này có thể được giải thích thông qua cơ chế proton hóa trong quá trình ion hóa. Khi nồng độ HCOOH tăng từ 0% đến 0,1%, lượng ion H⁺ trong pha động tăng lên, thúc đẩy sự hình thành ion chính [AA+H]⁺ và [AAD₃+H]⁺, từ đó tăng cường tín hiệu của các ion phân mảnh (ion thứ cấp) phục vụ định lượng. Tuy nhiên, khi nồng độ HCOOH tiếp tục tăng lên 0,2%, lượng acid dư thừa có thể gây ra hiện tượng cạnh tranh ion hóa trong buồng ion hóa, làm giảm tín hiệu của các ion mục tiêu. Vì vậy, pha động HCOOH/MeOH (0,1% FA) được lựa chọn là tối ưu cho quy trình phân tích AA.

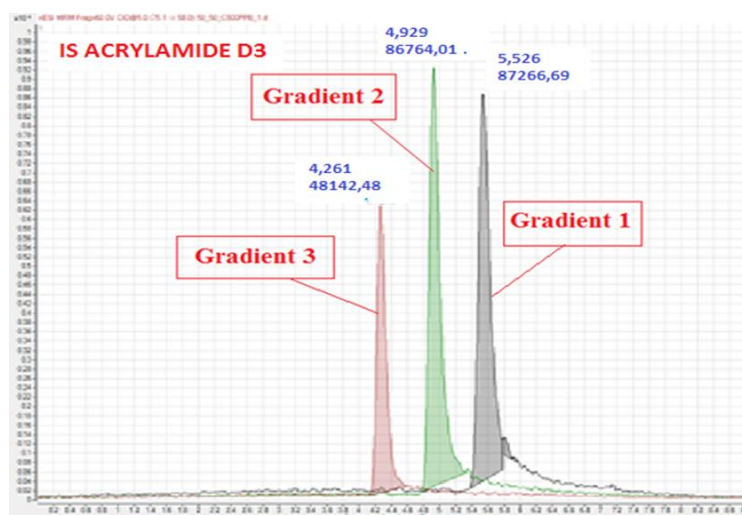
3.2.3 Chương trình dung môi

Từ hệ pha động đã được lựa chọn, chúng tôi tiếp tục khảo sát các chương trình gradient khác nhau nhằm tối ưu hóa quá trình tách các chất phân tích, cải thiện tín hiệu peak và rút ngắn thời gian phân tích. Ba chương trình gradient được trình bày trong Bảng 03 đã được lựa chọn để tiến hành khảo sát.

Bảng 03. Thông số khảo sát chương trình dung môi ở tốc độ dòng 4,00 mL/phút

Thời gian (phút)	Gradient 1: % MeOH	Gradient 2: % MeOH	Gradient 3: % MeOH
0,00	10,00	20,00	50,00
2,00	100,00	95,00	95,00
6,00	100,00	95,00	95,00
9,00	10,00	20,00	50,00
14,00	10,00	20,00	50,00





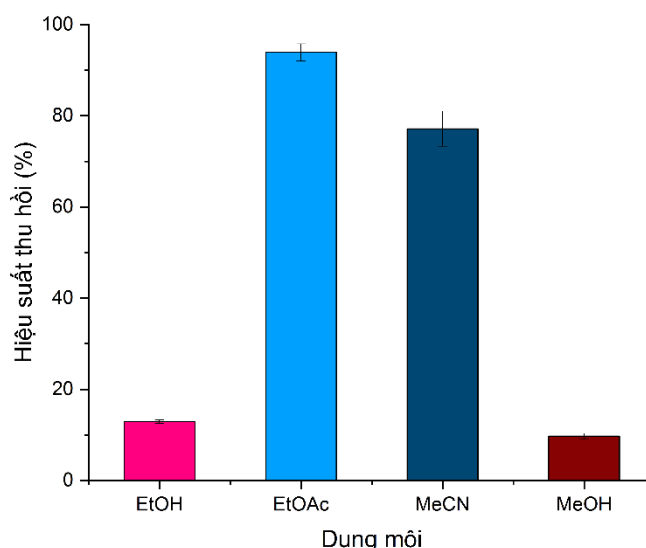
Hình 05. Sắc ký đồ của AA và AAD3 ở nồng độ nồng độ 500 $\mu\text{g/kg}$ với các gradient khác nhau

Dựa trên các sắc ký đồ thu được từ Hình 05, tín hiệu của AA và AAD3 trong chương trình dung môi thứ 2 cao nhất, với thời gian lưu từ 4-5 phút, không quá dài và không làm tổn nhiều dung môi pha động. Đồng thời, chương trình dung môi thứ 2 tạo ra các peak sắc nét, hạn chế hiện tượng kéo dài trong sắc ký đồ, điều này giúp cải thiện độ chọn lọc của phép phân tích. Bên cạnh thời gian phân tích hợp lý, tỉ lệ MeOH trong chương trình dung môi thứ 2 còn giúp tiết kiệm dung môi hơn so với hai chương trình còn lại, nhưng vẫn đảm bảo độ chọn lọc tốt đối với các chất trong mẫu cà phê.

3.3 Khảo sát quy trình xử lý mẫu

3.3.1 Dung môi chiết mẫu

Thực hiện đánh giá hiệu suất thu hồi khi sử dụng các dung môi chiết mẫu khác nhau là MeOH, EtOH, EtOAc, MeCN. Đối với mỗi dung môi thực hiện thí nghiệm lặp lại 3 lần cho kết quả như sau:

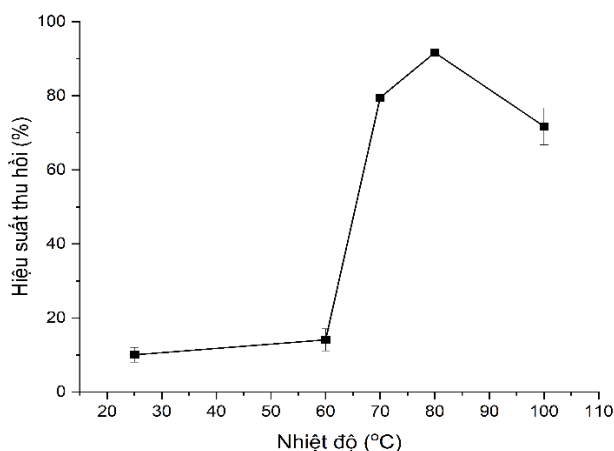


Hình 06: Ảnh hưởng của dung môi chiết đến hiệu suất thu hồi của phương pháp

Hiệu suất thu hồi được xác định đối với các dung môi chiết mẫu cho thấy EtOAc có độ thu hồi chất phân tích tốt nhất (93,91%) so với ba dung môi còn lại. Riêng MeOH và EtOH có độ thu hồi quá thấp, do đó không thể sử dụng hai dung môi này cho quá trình tách chiết AA trên nền mẫu cà phê.

3.3.2 Nhiệt độ chiết

Nhiệt độ chiết có ảnh hưởng đáng kể đến quá trình tách chất phân tích khỏi nền mẫu. Trong thí nghiệm này, chúng tôi tiến hành tách chiết mẫu bằng dung môi EtOAc tại các nhiệt độ 25°C, 60°C, 70°C, 80°C, và 100°C. Hiệu suất thu hồi của quá trình chiết được trình bày trong Hình 05.



Hình 07: Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết mẫu đến hiệu suất thu hồi của phương pháp

Kết quả cho thấy hiệu suất thu hồi tăng dần khi nhiệt độ từ 25°C đến 80°C. Hiệu suất thu hồi của quá trình chiết đạt giá trị cao nhất tại 80°C với tỷ lệ thu hồi là 91,65%, sau đó giảm khi nhiệt độ tiếp tục tăng lên 100°C. Do đó, chúng tôi chọn 80°C là nhiệt độ tối ưu cho quá trình chiết mẫu bằng dung môi EtOAc.

3.4. Ứng dụng phương pháp trên phân tích mẫu thật

Phương pháp, sau khi được tối ưu hóa các điều kiện về xử lý mẫu, thông số tối ưu trong sắc ký và khối phổ, đã được ứng dụng để phân tích 42 mẫu cà phê thực tế được lựa chọn từ thị trường. Kết quả thu được được tổng hợp và trình bày trong Bảng 07.

Bảng 07. Kết quả áp dụng phương pháp phân tích trên mẫu thật

Loại cà phê	Số lượng mẫu	Mẫu phát hiện	Khoảng nồng độ (µg/kg)	Tỉ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỉ lệ mẫu vượt mức ^a (%)
Arabica	19	11	205,14 – 560,48	57,9	47,4
Robusta	23	19	50,99 – 430,57	82,6	8,7
Total	42	30	50,99 – 560,48	71,4	28,6

^aNồng độ cho phép tối đa AA trong cà phê là 400 µg/kg.

Kết quả khảo sát cho thấy 71,4% tổng số mẫu cà phê ô nhiễm AA với nồng độ từ 50,99-560,48 µg/kg. Số mẫu vượt quá ngưỡng cho phép chiếm 28,6%. Đây là những con số đáng báo động đối với cà phê rang xay trên thị trường Thành phố Hồ Chí Minh. Xét chi tiết hơn với từng chủng loại cà phê, cà phê Arabica có tỷ lệ ô nhiễm AA thấp hơn so với Robusta (57,9% so với 82,6%). Tuy nhiên, tỷ lệ mẫu vượt ngưỡng cho phép lại rất đáng lo ngại, chiếm 47,4% so với 8,7% của Robusta. Kết quả khảo sát từ nghiên cứu này cho thấy mức độ đáng quan tâm về sự ô nhiễm độc chất AA trong cà phê trên thị trường hiện nay.

4. KẾT LUẬN

Trong đề tài này, chúng tôi đã thực hiện khảo sát và tối ưu hóa các thông số của phương pháp phân tích độc tố acrylamide trong cà phê bằng HPLC-MS/MS. Các điều kiện khối phổ, pha tĩnh, pha động và chương trình dung môi đã được khảo sát và lựa chọn để đạt được kết quả sắc ký đồ tốt nhất với tín hiệu cao khi phân tích. Các điều kiện xử lý mẫu cũng được xem xét và khảo sát để lựa chọn dung môi chiết và nhiệt độ chiết tối ưu, giúp đạt hiệu suất thu hồi cao nhất trong quá trình xử lý mẫu. Phương pháp đã được ứng dụng để phân tích acrylamide trong cà phê với 42 mẫu thực tế. Kết quả phân tích cho thấy 71,4% mẫu có chứa acrylamide, trong đó 28,6% mẫu vượt ngưỡng tối đa cho phép. Kết quả của đề tài có thể được ứng dụng trong kiểm nghiệm acrylamide, phục vụ công tác vệ sinh an toàn thực phẩm đối với sản phẩm cà phê.

LỜI CẢM ƠN

Các tác giả xin cảm ơn Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh và Trung tâm dịch vụ Phân tích thí nghiệm Thành phố Hồ Chí Minh đã hỗ trợ tài chính cho đề tài này.

TRÍCH DẪN

- [1] L. Barrea, G. Pugliese, E. Frias-Toral, M. E. I. Ghoch, B. Castellucci, S. P. Chapela, M. L. A. Carignano, D. Laudisio, S. Savastano, A. Colao, G. Muscogiuri, Coffee consumption, health benefits and side effects: a narrative review and update for dietitians and nutritionists. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* vol. 63, no. 9, pp.1238-1261, 2023.
- [2] S. Safe, J. Kothari, A. Hailemariam, S. Upadhyay, L. A. Davidson, and R. S. Chapkin, Health Benefits of Coffee Consumption for Cancer and Other Diseases and Mechanisms of Action, *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 24, no. 3, pp. 27062023.
- [3] Báo cáo của Bộ Công Thương, Vụ thị trường Châu Âu- Châu Mỹ. Thông tin xuất khẩu vào thị trường EU – Ngành hàng Cà phê. NXB Công thương, 2020. Available: https://wtocenter.vn/download/18163/cafe_0846.pdf
- [4] J. S. C. Babuki, Tổng quan thị trường cà phê Việt Nam, Jan. 17, 2021, Internet <https://babuki.vn/tong-quan-thi-truong-ca-phe-viet-nam/html>
- [5] C. R. M. Silva, A. M. Duarte, and M. M. Ferreira, Dietary Acrylamide Exposure and Cancer Risk: A Systematic Review. *Foods*, vol. 12, no. 2, pp. 346, 2023.
- [6] F. A. Beland, P. W. Mellick, G. R. Olson, M. C. B. Mendoza, M. M. Marques, and D. R. Doerge, Carcinogenicity of acrylamide in B6C3F1 mice and F344/N rats from a 2-year drinking water exposure. *Food and Chemical Toxicology*, vol. 51, pp. 149–159, 2013.
- [7] G. F. H. Janneke and J. S. Leo. Dietary acrylamide and human cancer; even after 20 years of research an open question. *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 116, pp. 846–847, 2022.
- [8] A. Koszucka, A. Nowak, I. Nowak, and I. Motyl. Acrylamide in human diet, its metabolism, toxicity, inactivation and the associated European Union legal regulations in food industry, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 60, no. 10, pp. 1677-1692, 2020.
- [9] A. Shakoar, C. Zhang, J. Xie, and X. Yang, Maillard reaction chemistry in formation of critical intermediates and flavour compounds and their antioxidant properties, *Food Chemistry*, vol. 393, 133416, 2022.
- [10] A. Sun, W. Wu, O. P. Soladoye, R. E. Aluko, K. H. Bak, and Y. Fu, Maillard reaction of food-derived peptides as a potential route to generate meat flavor compounds: A review. *Food Research International*, vol. 149, pp. 110823, 2021.
- [11] A. E. Newton, A. J. Fairbanks, M. Golding, P. Andrewes, and J. A. Gerrard, The role of the Maillard reaction in the formation of flavour compounds in dairy products – not only a deleterious reaction but also a rich source of flavour compounds. *Food & Function*, vol. 3, no. 12, pp. 1231, 2012.
- [12] M.A. Schouten, S. Tappi, and S. Romani, Acrylamide in coffee: formation and possible mitigation strategies - a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 60, no. 22, pp 3807-382, 2020.
- [13] J. Cooper, Simple and cost-effective determination of acrylamide in food products and coffee using gas chromatography mass spectrometry, Thermo Fisher Scientific, Runcorn, UK 2019. Available <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Application-Notes/an-73241-gc-ms-acrylamide-food-an73241-en.pdf>
- [14] *Food Analysis—Determination of Acrylamide in Food by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-ESI-MS/MS)*, Comité Européen de Normalisation: Brussel, Belgium, 2015.
- [15] D. Taeymans, A. Andersson, P. Ashby, I. Blank, P. Gondé, P. Van Eijck, and D. Zyzak, Acrylamide toolbox 2019: Update on selected research activities conducted by the European food and drink industry. *Journal of AOAC International*, vol. 88, no. 1, 2005.
- [16] K. Mastovska and S.J. Lehotay, Rapid sample preparation method for LC-MS/MS or GC-MS analysis of acrylamide in various food matrices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 54, no. 9, pp 7001–7008, 2006.

OPTIMIZING PROTOCOL CONDITIONS FOR ANALYZING ACRYLAMIDE IN COFFEE BY HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY-TANDEM TRIPLE QUADRUPOLE MASS SPECTROMETRY (HPLC-MS/MS)

LE DINH VU ^{1*}, NGUYEN THI BICH PHUONG²

¹ *Institute of Environmental Science, Engineering and Management, Industrial University of Ho Chi Minh City*

³ *Center of Analytical Services and Experimentation of HCM City*

**Corresponding authors: ledinhvu@iuh.edu.vn*

Abstract. This study investigated and optimized the protocol for analyzing acrylamide toxicity in roasted coffee by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). The conditions of the equipment, mass spectrum, stationary phase, mobile phase, and sample processing procedure were investigated, and the optimal choice for the analysis of acrylamide in coffee samples was selected. The ZORBAX Eclipse C18 chromatographic column and the mobile phase HCOOH/MeCN 0.1% FA were selected with the optimized solvent program for the analysis process. Furthermore, the optimal conditions of the sample preparation protocol were evaluated such as the extraction solvent was EtOAc, the extraction temperature was 80°C, the sample cleanup column was SPE C18. The analytical protocol was then applied to analyze 42 roasted coffee samples in Ho Chi Minh City. The results showed that 71.4% of the samples were positive for acrylamide, of which 14.3% exceeded the maximum permission level according to European regulations (400 µg/kg).

Keywords. HPLC-MS/MS, acrylamide, roasted coffee, food safety.

Ngày gửi bài: 26/12/2024

Ngày nhận đăng: 21/4/2025