

THẨM ĐỊNH PHƯƠNG PHÁP VÀ ỨNG DỤNG PHÂN TÍCH ĐỘC TỐ ACRYLAMIDE TRONG MẪU CÀ PHÊ BẰNG PHƯƠNG PHÁP HPLC-MS/MS

● NGUYỄN THỊ BÍCH PHƯƠNG - VÕ THỊ MỘNG TRINH - LÊ ĐÌNH VŨ*

TÓM TẮT:

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao ghép 2 lần khối phổ (HPLC-MS/MS) đã được thẩm định và áp dụng để phân tích hàm lượng độc tố acrylamide trong mẫu cà phê. Dưới điều kiện tối ưu của thực nghiệm, khoảng tuyến tính phân tích acrylamide từ 100-1000 $\mu\text{g/L}$ với giới hạn phát hiện của phương pháp đạt 30 $\mu\text{g/L}$. Hiệu suất thu hồi đạt từ 87,1 % tới 99,4%. Ở các mức nồng độ khác nhau của acrylamide, độ lặp lại của phương pháp cao thể hiện qua độ lệch chuẩn tương đối (RSD%) từ sáu lần thí nghiệm lặp lại nhỏ hơn 3,54 %. Phương pháp được áp dụng để phân tích một số mẫu cà phê hạt rang trên thị trường Thành phố Hồ Chí Minh. Kết quả thu được cho thấy, có 74,19% số mẫu cà phê chứa acrylamide với nồng độ từ 97,33-560,48 $\mu\text{g/kg}$, trong đó số mẫu vượt ngưỡng tối đa cho phép chiếm 19,35%. Kết quả còn cho thấy mức độ ô nhiễm acrylamide của cà phê có mức độ rang đậm cao hơn nhiều so với rang vừa. 100% các mẫu cà phê với mức độ rang đậm đều phát hiện acrylamide với 35,71% số mẫu vượt quá ngưỡng tối đa cho phép. Điều này cho thấy mức độ ô nhiễm acrylamide trong cà phê rang xay trên thị trường là đáng báo động và cần có các biện pháp kiểm soát an toàn vệ sinh thực phẩm đối với cà phê.

Từ khóa: acrylamide, coffee, độc tố, HPLC-MS/MS.

1. Đặt vấn đề

Acrylamide là một độc tố có khả năng gây ung thư và ức chế thần kinh^[1]. Acrylamide là nguyên liệu chính để tạo ra các polymer và copolymer được sử dụng nhiều trong công nghiệp như sản xuất giấy, thuốc nhuộm, chất dẻo, xử lý nước thải và nước sinh hoạt. Trong thực phẩm, acrylamide được tìm thấy với các mức độ ô nhiễm khác nhau tùy thuộc vào chủng loại, phương pháp chế biến, thời gian và nhiệt độ của quá trình chế biến. Các thực phẩm có chứa hàm lượng đường khử và axit amin khi chế biến ở nhiệt độ trên 120°C, như chiên, nướng hay rang thường sinh ra độc tố acrylamide theo cơ chế của phản ứng

Maillard^[2,3]. Do vậy, độc tố acrylamide thường có mặt trong các sản phẩm cà phê.

Theo báo cáo của FAO và WHO, acrylamide cũng được phát hiện trong các sản phẩm ca cao và cà phê ở mức lên đến 909 - 4948 $\mu\text{g/kg}$ ^[4,7]. Một báo cáo khác của EFSA, hàm lượng acrylamide được tìm thấy ở mức cao nhất trong cà phê hòa tan với hàm lượng trung bình khoảng 1499 $\mu\text{g/kg}$ và đối với cà phê hạt rang là 522 $\mu\text{g/kg}$ ^[5,6]. Ở Việt Nam, hiện chưa có số liệu thống kê về mức ô nhiễm độc tố acrylamide trong thực phẩm nói chung và sản phẩm cà phê nói riêng. Việc đánh giá hàm lượng độc tố acrylamide trong sản phẩm cà phê trên thị trường cung cấp dữ liệu quan trọng trong lĩnh vực

an toàn thực phẩm, từ đó có thể đưa ra cảnh báo về đảm bảo chất lượng, an toàn vệ sinh thực phẩm và sức khỏe người tiêu dùng.

Có nhiều phương pháp phân tích được đề xuất và ứng dụng phân tích hàm lượng acrylamide trong thực phẩm nói chung và cà phê nói riêng. Phương pháp phân tích đầu tiên được sử dụng để phân tích acrylamide trong thức ăn chăn nuôi dựa trên sự tạo dẫn xuất của acrylamide bằng cách brom hóa [6,8]. Sau đó có nhiều kỹ thuật phân tích được phát triển để khắc phục những khó khăn trong quá trình tạo dẫn xuất và ứng dụng được trên nhiều nền mẫu hơn. Hiện nay, phương pháp phân tích acrylamide trong các sản phẩm thực phẩm ở phần lớn các phòng thí nghiệm là sử dụng sắc ký lỏng hoặc sắc ký khí ghép khối phổ để phân tích acrylamide với ưu điểm cho độ chính xác cao mà không cần phải tạo dẫn xuất trong quy trình phân tích [7,9]. Do đặc thù phức tạp của nền mẫu cà phê rang, ở Việt Nam hiện chưa có khuyến nghị chính thức về phương pháp áp dụng để định lượng acrylamide trong cà phê cũng như các nền mẫu thực phẩm khác. Những nỗ lực về tiêu chuẩn hóa các phương pháp được sử dụng để phát hiện và định lượng acrylamide trong các nền mẫu khác nhau vẫn đang được tiếp tục nghiên cứu nhằm đáp ứng các đợt thử nghiệm thành thạo trên chất chuẩn tham chiếu, từ đó đánh giá độ chính xác kết quả phân tích và xác nhận phương pháp acrylamide đạt công nhận theo tiêu chuẩn ISO/IEC 17025 [8,10]. Mục tiêu của nghiên cứu này là cải tiến và thẩm định một phương pháp HPLC-MS/MS có độ nhạy cao xác định hàm lượng độc tố acrylamide trong mẫu cà phê, từ đó áp dụng phân tích acrylamide trong các mẫu thực. Bằng cách sử dụng tích hợp nhiều kỹ thuật tách chiết nhằm loại bỏ các tạp chất và làm giàu mẫu trong quy trình phân tích đảm bảo độ nhạy cao của phép phân tích. Bên cạnh đó, phương pháp sử dụng chất nội chuẩn là đồng phân chứa đồng vị deuterium (acrylamide-d₃) với 2 lần khối phổ, phương pháp này hứa hẹn tính đặc hiệu và độ chính xác cao khi định lượng hàm lượng của acrylamide trong cà phê.

2. Thực nghiệm

2.1. Hóa chất và thiết bị

Tất cả các hóa chất được sử dụng trong đề tài này đều đạt độ tinh khiết dùng trong Hóa phân tích (PA). Acrylamide (AA) ($\geq 99\%$) của Sigma-Aldrich. Nội chuẩn acrylamide-d₃ (AAD₃) ($\geq 99\%$) của TRC. Acetonitrile, methanol, ethyl acetate,

acid formic mua từ hãng Merck (Merck, Darmstadt, Germany). Potassium hexacyanoferrate (II) trihydrate (độ tinh khiết $\geq 99\%$) và zinc sulfate heptahydrate solution (độ tinh khiết $\geq 99\%$) của Sigma-Aldrich. Cột Bond elut C18 (500mg/6 mL) của Agilent. Tất cả các dung dịch được pha trong nước siêu tinh khiết (có điện trở $>18,3 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$) được cất bộ cất nước Millipore Milli Q system (Billerica, MA, USA). Dung dịch chuẩn, nội chuẩn và chuẩn làm việc (100 mg/L) được pha từ chuẩn gốc có nồng độ 1000 mg/L. Những dung dịch này được lưu trữ ở 4°C và được sử dụng trong 3 tháng.

2.2. Phương pháp xử lý mẫu và phân tích mẫu cà phê bằng UPLC-MS/MS

Mẫu được xử lý theo các quy trình đã công bố trước đây [9, 10, 11, 12] với một số thay đổi như được mô tả sau đây: Mẫu cà phê được nghiền mịn có kích thước hạt nhỏ hơn 1 mm để nâng cao năng suất chiết. Đồng nhất và cân chính xác 1g mẫu nghiền cho vào ống ly tâm dung tích 50 mL, thêm 0.1 mL nội chuẩn 5ppm, thêm tiếp 10 mL nước cất. Đánh siêu âm và lắc 30 phút, sau đó thêm tiếp 1 mL dung dịch Carrez I (10,6g Potassium hexacyanoferrate (II) trihydrate định mức thành 100 mL bằng nước cất) và 1 mL dung dịch Carrez II (21,9 g Zinc sulfate heptahydrate định mức thành 100 mL bằng nước cất) để kết tủa protein. Ly tâm hỗn hợp với tốc độ 8000 vòng/phút trong 5 phút ở 20°C, sau đó lọc qua giấy lọc phần dung dịch để loại bỏ tủa protein. Thêm 10 mL ethyl acetate vào phần dung dịch lọc thu được, lắc trong 30 phút và tiếp tục ly tâm với tốc độ 8000 vòng/phút trong 5 phút ở 20°C. Thực hiện lặp lại thêm 10 mL ethyl acetate 1 lần đối với phần dung dịch sau khi gạn bỏ chất rắn để loại bỏ hoàn toàn tạp chất rắn. Thổi khô phần dung dịch chiết bằng dòng khí nitơ đến khi còn lại khoảng 2 mL. Tiếp tục làm sạch dịch chiết bằng cách chạy qua cột C18 đã được hoạt hóa bằng 6 mL ethyl acetate, 6 mL MeOH và 6 mL nước cất khử ion. Thu hồi dung dịch sau khi qua cột vào ống thủy tinh 20 mL và thổi khô dung môi dưới dòng khí nitơ, sau đó hòa tan các chất còn lại bằng 1 mL dung môi ACN/HCOOH 0,2% (1/1, v/v). Dung dịch cuối cùng được phân tích bằng hệ thống HPLC-MS/MS dưới các điều kiện tối ưu được trình bày như trong Bảng 1.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Tính đặc hiệu của phương pháp

Độ chính xác của phương pháp phân tích acrylamide trong mẫu cà phê được đánh giá qua

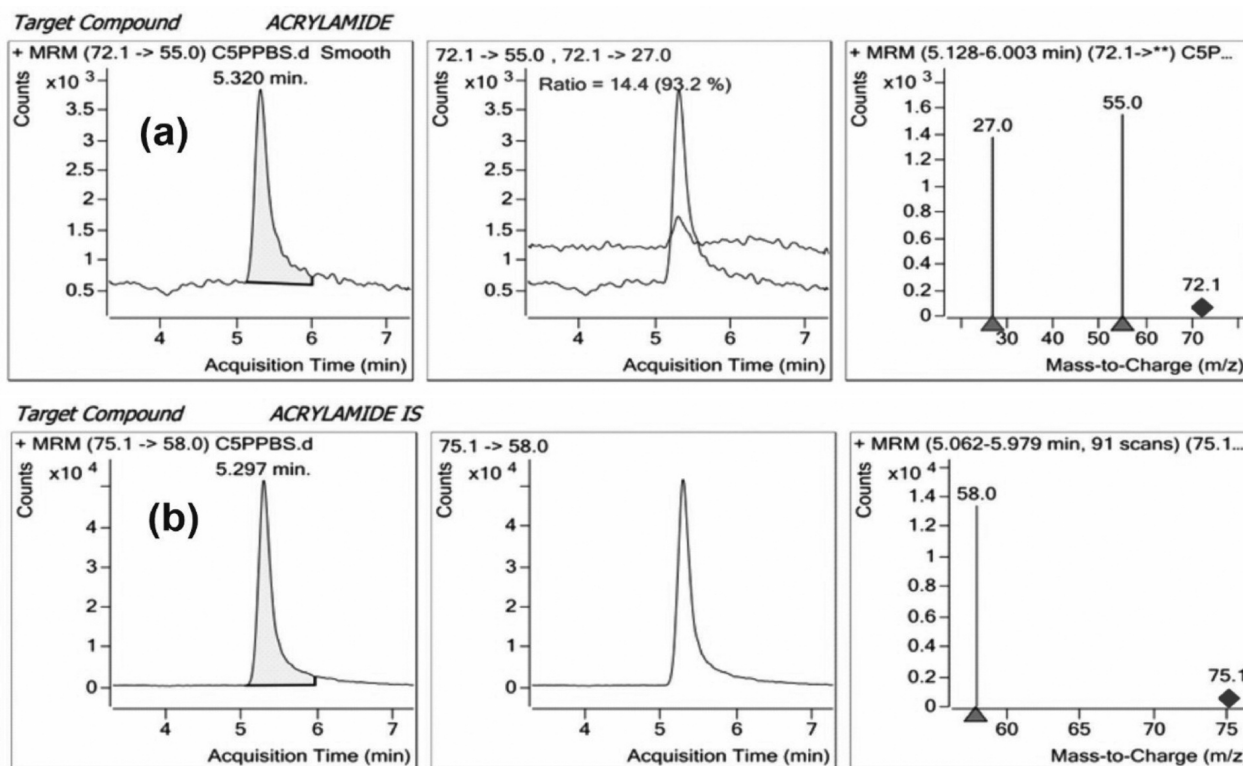
Bảng 1. Thông số vận hành của hệ thống HPLC-MS/MS phân tích acrylamide trong mẫu cà phê

Thông số	
HPLC-Agilent 1290 Infinity	
Cột tách	Cột Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 (100 mm × 2,1 mm, 1,8 μm) và inest sustaint C18 (50mm x 50 mm, 4,6 μm)
Nhiệt độ tách	30°C
Tốc độ dòng	0,4 mL / min
Pha động	Nước cất chứa 0,1% formic acid (A), methanol (B)
Chương trình dung môi (%B, min)	initial, 20%; 100%; 3 phút, 100%; 6 phút, 80%; 9 phút
Thể tích mẫu tiêm	2 μL
MS-Agilent 6490 Triple Quad	
Capillary (Vcap)	3500 V (Positive)
Nhiệt độ khí mang	350°C
Tốc độ khí mang	He, 11 L/min
Nebulizer	35 psi
Thế Nozzle	1500 V (Positive)
Thế RF	110-200 V (Positive)

các thông số như tính đặc hiệu, độ tuyến tính, giới hạn phát hiện, độ đúng và độ lặp theo hướng dẫn được quy định trong các tài liệu ISO 17025: 2017, EC/657/2002, AOAC 2016, SANTE/11945/2015 [8, 11-13]. Phổ sắc ký được khảo sát ở chế độ MRM với tín hiệu mảnh phổ thứ cấp (ion con) của acrylamide và acrylamide-d3 lần lượt là 55 và 58. Tín hiệu các mảnh ion thứ cấp này có tín hiệu cao nhất và được dùng để định lượng acrylamide và acrylamide-d3 được thể hiện trong Hình 1.

Mảnh ion thứ cấp dùng để xác nhận tính đặc hiệu của acrylamide là mảnh ion 27 với tỷ lệ tín hiệu của mảnh định tính (27) trên mảnh định lượng (58) là 14,4%. Thông tin về mảnh các mảnh ion thứ cấp và năng lượng của quá trình phân mảnh được trình bày trong Bảng 2.

Tính đặc hiệu của phương pháp được xác định bằng cách phân tích

Hình 1: Mảnh phổ ion thứ cấp trong khối phổ của acrylamide (a) và chất nội chuẩn acrylamide-d3 (b).

Bảng 2. Thông số vận hành của hệ thống HPLC-MS/MS phân tích acrylamide trong mẫu cà phê

Chất phân tích	Dwell (ms)	Fragmentor (V)	Ion sơ cấp (m/z)	Chuyển MRM (m/z)	CE (V)	CAV (V)
AA	100	60	72,1	72,1 > 55	9	7
AA	100	60	72,1	72,1 > 27	17	7
AAD3	100	60	75,1	75,1 > 58	5	7

mẫu trắng và các mẫu thêm chuẩn ở nồng độ 100 µg/kg. Tín hiệu các ion thứ cấp tương ứng thu được cho thấy sự thay đổi rất rõ ràng khi có và không có chất chuẩn (Hình 2).

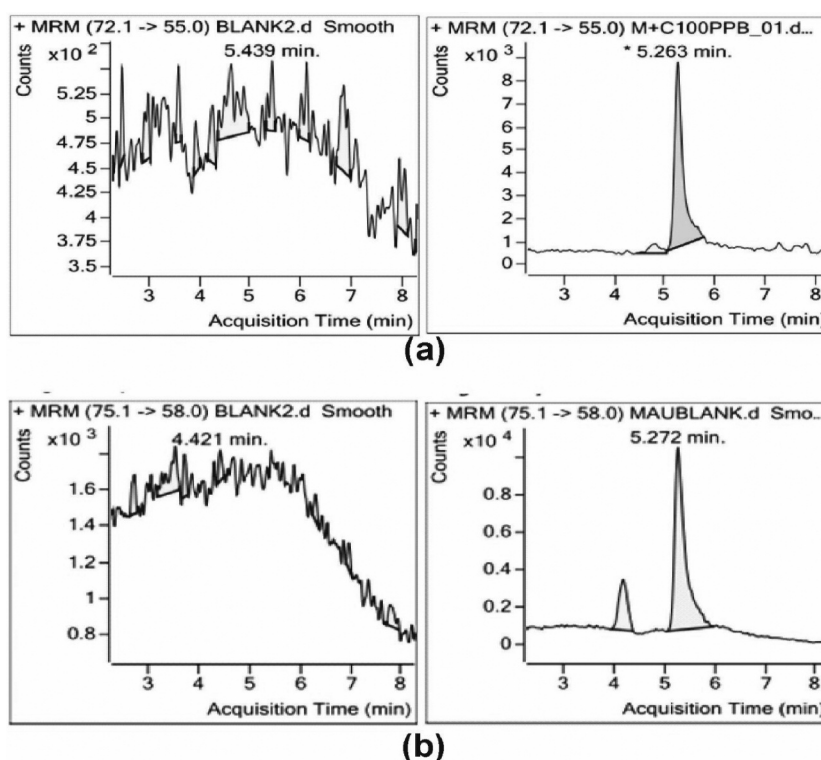
Như kết quả thu được trong Hình 2, mẫu trắng không cho tín hiệu tại thời gian $t = 5,26$ phút đối với mảnh ion 55 trong khi tín hiệu này thu được peak đơn rõ ràng với tại thời gian lưu này đối với mẫu trắng thêm chuẩn acrylamide (Hình 2a). Kết quả tương tự thu được đối với chất nội chuẩn acrylamide-d3, sự khác biệt là rõ ràng giữa mẫu trắng và mẫu thêm chuẩn khi bắt tín hiệu cho mảnh ion thứ cấp có khối lượng 58 (Hình 2b). Những kết quả thu được trên đây chứng tỏ một cách chắc chắn về tính đặc hiệu cao trong phép định lượng acrylamide trong cà phê bằng phương pháp sắc ký lỏng ghép khối phổ.

3.2. Giới hạn phát hiện và khoảng nồng độ tuyến tính định lượng acrylamide trong mẫu cà phê

Giới hạn phát hiện của phương pháp (MDL) được xác định bằng cách phân tích lặp lại 6 lần mẫu trắng thêm chuẩn ở nồng độ thấp khi còn xuất hiện tín hiệu của chất phân tích với tỷ lệ tín hiệu chia trên nhiễu nền $S/N = 3$ [13]. Kết quả thí nghiệm thực tế (Hình 3), giới hạn phát hiện của acrylamide là $MDL = 30 \mu\text{g/kg}$ và $MQL = 100 \mu\text{g/kg}$

Kiểm tra hiệu suất thu hồi tại giá trị của giới hạn định lượng phương pháp (MQL) trong xác định acrylamide trong mẫu cà phê, kết quả thu được hiệu suất thu hồi tại MQL cho kết quả từ 87,1-97,8% với độ tái lặp $RSDr \leq 3,53\%$, chứng tỏ giá trị MQL thu được là tin cậy đối với phép phân tích định lượng (theo AOAC 2016) [11].

Hình 2: Khối phổ trong xác định độ đặc hiệu của phương pháp: (a) Tín hiệu mảnh phổ 55 của mẫu trắng (trái) và mẫu trắng thêm 100 µg/kg acrylamide (phải); (b) Tín hiệu mảnh phổ 58 của mẫu trắng (trái) và mẫu trắng thêm 100 µg/kg acrylamide-d3 (phải)

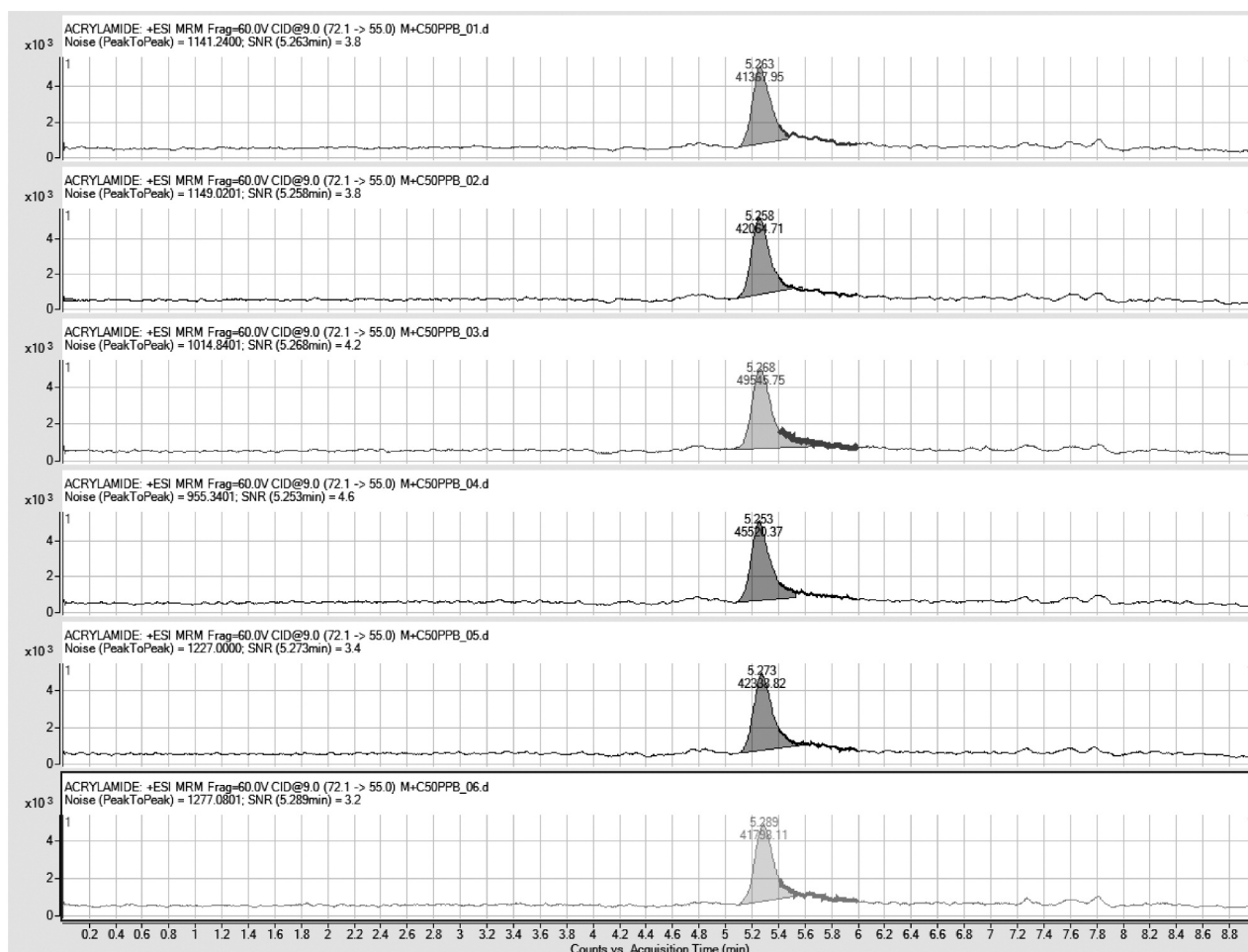


Khoảng tuyến tính dùng để định lượng độc tố acrylamide trong mẫu cà phê được khảo sát dựa trên phương pháp nội chuẩn. Phương trình hồi quy được xây dựng là tương quan giữa tỷ lệ diện tích peak của acrylamide so với diện tích peak của chất nội chuẩn acrylamide-d3 với tỷ lệ nồng độ tương ứng. Kết quả thu được về khoảng tuyến tính 100 đến 1000 µg/kg với hệ số tương quan (R^2) là 0,999.

3.3. Hiệu suất thu hồi, độ lặp và độ tái lặp của phương pháp

Độ thu hồi và độ lặp lại của phương pháp được xác nhận dựa trên phân tích các mẫu thêm chuẩn ở 3 mức nồng độ thấp, trung bình và cao. Hiệu suất thu hồi ở các mức nồng độ 100, 400, 800 µg/kg

Hình 3: Tín hiệu của mảnh ion thứ cấp 55 trong xác định giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của phương pháp



tương ứng thu được là 87,1, 94,9 và 95,4% (Bảng 3).

Hiệu suất thu hồi cho tất cả các mức nồng độ thu được cho giá trị từ 87,1-99,4%, các giá trị này đáp ứng tốt đối với quy định của một phương pháp định lượng tương ứng với khoảng nồng độ từ 100 µg/kg-1000 µg/kg (80-110%). Độ lặp lại của phương pháp được xác định khi phân tích lặp sáu trên ba mẫu trắng thêm chuẩn ở 3 mức nồng độ 100, 400, 800 µg/kg. Độ lệch chuẩn tương đối (RSD) quan sát được tương ứng là 3,45%, 1,11%, 1,57%. Kết quả thu được tốt hơn nhiều so với quy định của AOAC 2016 ($RSD \leq 11\%$).

3.4. Ứng dụng phương pháp trên phân tích mẫu thật

Phương pháp được ứng dụng để phân tích 31 mẫu cà phê thực tế. Các mẫu cà phê rang xay được lấy mẫu thành 2 nhóm với mức độ rang vừa phải và

Bảng 3. Kết quả khảo sát hiệu suất thu hồi, độ lặp lại, độ tái lập của phân tích acrylamide trong cà phê

Nồng độ thêm chuẩn	H (%)	RSDr (%) (n=6)	RSDR (%) (n=12)
100 µg/kg	87,1-97,8	3,45	3,54
400 µg/kg	94,9-98,6	1,11	1,21
800 µg/kg	95,4-99,4	1,57	1,70

rang đậm để đánh giá mức độ hình thành acrylamide theo mức độ rang. Các mẫu này được mua trên thị trường với các nhà sản xuất khác nhau được đóng gói đúng quy cách sản phẩm có thông tin như loại cà phê rang, mức rang, kiểu sơ chế từ nhà sản xuất.

Kết quả phân tích thu được cho thấy 23/31 mẫu (74,19%) có chứa acrylamide với nồng độ từ 97,33-560,48 µg/kg trong đó 6/31 mẫu vượt

ngưỡng tối đa cho phép ($\leq 400 \mu\text{g/kg}$) chiếm 19,35%. Số mẫu phát hiện acrylamide đối với cà phê rang vừa là 9/17 mẫu chiếm 52,94%, trong đó chỉ có 1/17 mẫu vượt ngưỡng tối đa cho phép chiếm 5,88 %. 100% các mẫu cà phê với mức độ rang đậm (14/14) đều phát hiện acrylamide với 35,71% số mẫu vượt quá ngưỡng tối đa cho phép. Điều này cho thấy mức độ rang ảnh hưởng trực tiếp đến hàm lượng độc tố acrylamide trong cà phê.

4. Kết luận

Phương pháp phân tích định lượng có độ chính xác cao đã được thẩm định và ứng dụng để phân tích acrylamide trong các mẫu cà phê bằng

HPLC-MS/MS với chất nội chuẩn là đồng phân deuterium hóa của acrylamide. Đường hiệu chuẩn thu được trong khoảng định lượng rộng từ 100-1000 $\mu\text{g/kg}$ có hệ số tương quan rất cao ($R^2 = 0,999$) với giới hạn phát hiện phương pháp 30 $\mu\text{g/kg}$. Những thông số này cho phép phương pháp ứng dụng trong phạm vi nồng độ rộng và độ nhạy cao. Độ đúng và độ tái lặp của phương pháp tốt hơn nhiều so với yêu cầu cần thiết đối với một phương pháp định lượng ở nồng độ ppb. Phương pháp đã được ứng dụng để phân tích acrylamide trong các mẫu thực tế và có thể áp dụng trong nghiên cứu, đánh giá chất lượng vệ sinh an toàn thực phẩm đối với các sản phẩm cà phê ■

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. International Agency for Research on Cancer (IARC). (1994). Acrylamide, IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, some industrial chemicals. Lyon: IARC Vol. 60, pp. 389–433. Available: <https://inchem.org/documents/iarc/vol60/m60-11.ht mL>.
2. M Muzaiifa, D, et al., (2021, June) Composition of amino acids and fatty acids on Luwak coffee processing, *Food Research*, 5(3), pp 60 - 64. Available: [https://doi.org/10.26656/fr.2017.5\(3\).637](https://doi.org/10.26656/fr.2017.5(3).637).
3. Sune Eriksson. (2005). Acrylamide in food products: Identification, formation and analytical methodology. Doctoral Thesis, Department of Environmental Chemistry Stockholm University SE-106 91 Stockholm, Sweden, Available: <https://www.divaportal.org/smash/get/diva2:197454/FULLTEXT01.pdf>.
4. Food and Agriculture Organization / World Health Organization of the United Nations. Joint FAO/WHO food standards programme codex committee on food additives and contaminants; Discussion paper on acrylamide. CX/FAC 06/38/35. Available: <https://www.fda.gov/media/78056/download>.
5. EFSA (European Food Safety Authority). Scientific opinion on acrylamide in food. *EFSA J.* 13, 4104. Available: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4104>.
6. Tareke, E., et al. (2002, July). Analysis of Acrylamide, a Carcinogen Formed in Heated Foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 50(No. 17). Available: <https://doi.org/10.1021/jf020302f>.
7. Clarke, D., et al., (2002, Nov). Assessment of performance of laboratories in determining acrylamide in crisp brea. *Journal of AOAC International*, Vol.85(No.6), pp.1370-1373. Availble: DOI: 10.1093/jaoac/85.6.1370.
8. International Standard. (2017). *General requirements for the competence of testing and calibration laboratories*. ISO/IEC 17025.
9. Thierry Delatour, Adrienne Perisset, Till Goldmann, Sonja Riediker and Richard H. Stadler. (2004). Improved sample preparation to determine Acrylamide in difficult matrixes such as chocolate powder, cocoa, and coffee by liquid chromatography tandem mass spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 52(No. 15), pp 4625-4631. Available: <https://doi.org/10.1021/jf0498362>.
10. EN 16618.(2015). *Food Analysis Determination of Acrylamide in Food by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-ESI-MS/MS)*. Brussel, Belgium: Comite Europeen de Normalisation.
11. European Commission. (2002). Commission Decision of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. (2002/657/EC). *Official Journal of the European Communities*, L221, 8-36.
12. AOAC International. (2016). Appendix F: guidelines for standard method performance requirements. *Journal of AOAC International*.

13. Tuija Pihlström, et. al. (2015). *Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed European Commission*. SANTE/11945/2015.

Ngày nhận bài: 15/1/2022

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 15/2/2022

Ngày chấp nhận đăng bài: 25/2/2022

Thông tin tác giả:

1. NGUYỄN THỊ BÍCH PHƯƠNG

Trung tâm Dịch vụ phân tích thí nghiệm Thành phố Hồ Chí Minh, CASE

2. VÕ THỊ MỘNG TRINH

Trung tâm Dịch vụ phân tích thí nghiệm Thành phố Hồ Chí Minh, CASE

3. LÊ ĐÌNH VŨ

Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh

VALIDATING AND USING THE HPLC-MS/MS METHOD TO DETERMINE ACRYLAMIDE IN COFFEE

● BSc. **NGUYEN THI BICH PHUONG**¹

● BSc. **VO THI MONG TRINH**¹

● Dr. **LE DINH VU**²

¹Forensic medicine centre of Ho Chi Minh City, CASE

²Industrial University of Ho Chi Minh City

ABSTRACT:

In this study, the liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) method was validated and applied to determine acrylamide in the coffee sample. Under the optimal experimental conditions, the linear ranged from 1000 µg/L to 1000 µg/L with the method detection limit (MDL) of 30 µg/L and the method recovery was from 87.1 % tới 99.4%. The relative standard deviations (RSD) for six repetitive experiments are lower than 3.54 % at different acrylamide concentrations. These merits show that the method is well adapted for quantitative analysis at trace concentration. This method was used to analyze some coffee samples collected from Ho Chi Minh City. Results showed that 74.19% of samples were presented with acrylamide in the concentration range from 97.33 to 560.48 µg/kg. 19.35% of samples were over the maximum permission level of acrylamide in coffee. The observation also showed that the deeper roasted coffee samples resulted in a higher contamination level of acrylamide. 100% of sample coffee with deep roasted were detected acrylamide, and 35.71% of samples exceeded the maximum permission level. This study shows that acrylamide contamination in roasted coffee is severe and it is an urgent task to control the food safety of coffee.

Keywords: acrylamide, coffee, toxicology, HPLC-MS/MS.