



Original Article

Optimizing the Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Tea Samples

Nguyen Thi Quynh¹, Nguyen Thi Mai¹, Phan Thi Lan Anh¹, Duong Hong Anh^{2,*},
Nguyen Thuy Ngoc¹, Pham Hung Viet²

¹VNU Key Laboratory of Analytical Technology for Environmental Quality & Food Safety Control,
334 Nguyen Trai, Thanh Xuan, Hanoi, Vietnam

²Research Center for Environmental Technology and Sustainable Development,
VNU University of Science, 334 Nguyen Trai, Thanh Xuan, Hanoi, Vietnam

Received 6 May 2019

Revised 11 June 2019; Accepted 11 June 2019

Abstract: The optimization of sample preparation and gas chromatography - mass spectrometry (GC/MS) analysis was carried out to determine 15 polycyclic aromatic hydrocarbon compounds (PAHs) in tea. The method detection limit (MDL) for individual PAH in tea was in the range of 0.07 - 0.16 µg/kg; the recovery efficiency of the whole analytical procedure was from 53 to 132 % with good repeatability (RSD from 1.1 to 7.3 %). The application of the procedure to the analysis of Vietnamese green tea samples resulted in the total content of PAHs in the range of 38.1 to 123 µg/kg. Compared with the European Commission's Regulation on the maximum allowed content of benzo(a)pyrene and the PAH4 group in dry herbs, all of the analyzed green tea samples have toxic PAH content at lower level than permitted.

Keywords: PAHs, tea, GC/MS.

*Corresponding author.

Email address: hoanggianga0@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.4892>



Tối ưu hóa quy trình phân tích các hợp chất hydrocacbon đa vòng thơm ngưng tụ trong chè

Nguyễn Thị Quỳnh¹, Nguyễn Thị Mai¹, Phan Thị Lan Anh¹, Dương Hồng Anh^{2,*}
Nguyễn Thúy Ngọc¹, Phạm Hùng Việt²

¹Phòng thí nghiệm Trọng điểm Công nghệ Phân tích phục vụ kiểm định môi trường và an toàn thực phẩm, Đại học Quốc gia Hà Nội, 334 Nguyễn Trãi, Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

²Trung tâm Nghiên cứu Công nghệ môi trường và Phát triển bền vững (CETASD), Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội, 334 Nguyễn Trãi, Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 6 tháng 5 năm 2019

Chỉnh sửa ngày 11 tháng 6 năm 2019; Chấp nhận đăng ngày 11 tháng 6 năm 2019

Tóm tắt: Nghiên cứu đã khảo sát quy trình xử lý mẫu và phân tích 15 hợp chất hydrocacbon đa vòng thơm ngưng tụ trong chè bằng phương pháp sắc ký khí ghép nối khối phổ. Giới hạn phát hiện của phương pháp đối với từng PAH trong chè có giá trị trong khoảng 0,07 – 0,16 µg/kg, hiệu suất thu hồi đạt từ 53 – 132 % với độ lặp tốt (RSD từ 1,1 – 7,3 %). Quy trình đã được áp dụng vào phân tích một số mẫu chè xanh của Việt Nam, cho kết quả tổng hàm lượng PAHs trong khoảng 38,1– 123 µg/kg. So sánh với quy định của Ủy Ban Châu Âu về hàm lượng tối đa cho phép của benzo(a)pyren và nhóm PAH4 trong thảo dược khô cho thấy tất cả các mẫu chè xanh đã phân tích đều có hàm lượng PAH độc hại ở mức thấp hơn giới hạn cho phép.

Từ khóa: PAHs, chè, GC/MS.

1. Giới thiệu

Hydrocacbon đa vòng thơm ngưng tụ (polycyclic aromatic hydrocarbons - PAHs) là một họ hydrocacbon trong phân tử có chứa một số vòng thơm kiểu benzen, trong đó hai vòng cạnh nhau tiếp giáp bởi hai nguyên tử cacbon [1]. PAHs chủ yếu được sinh ra từ quá trình đốt cháy không hoàn toàn các hợp chất hữu cơ, ví dụ đốt than, củi, gỗ, quá trình đốt cháy nhiên liệu của

phương tiện giao thông, nướng thực phẩm, hút thuốc lá, núi lửa phun trào, cháy rừng...[1-3]. Một số PAH được biết đến là những hợp chất có tác động tiêu cực đến sức khỏe con người và sinh vật điển hình như gây kích ứng da, mắt, ... khi tiếp nhiễm ngắn hạn, có khả năng gây ung thư, tăng nguy cơ ung thư, gây bất thường trong sinh sản, tổn thương các cơ quan da, mắt, thận, gan... nếu tiếp nhiễm lâu dài [4-7]. Trên cơ sở sự có

*Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: hoanggianga0@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.4892>

mặt phổ biến và tính chất độc hại, Cơ quan Bảo vệ Môi trường Mỹ (EPA) đã xác định danh sách 16 PAH là những đại diện cần quan tâm trong môi trường, bao gồm: naphthalen (NaP), acenaphthen (ACN), acenaphthylen (ACY), anthracen (ANT), benzo(a)anthracen (BaA), benzo(a)pyren (BaP), benzo(b)fluoranthen (BbF), benzo(g,i,h)perylene (BghiP), dibenzo(a,h)anthracen (DahA), fluoranthen (FLA), benzo(k)fluoranthen (BkF), chrysen (CHR), indeno(1,2,3cd)pyren (IP), phenanthren (PHE), fluoren (FLR) và pyren (PYR). Trong số các PAH, BaP được xem là chất độc hại nhất với chỉ số độc hại (TEFs) lớn nhất quy định là 1.

PAHs có thể đi vào cơ thể qua con đường hít thở, tiếp xúc da, cũng như thực phẩm. Một số nghiên cứu đã chỉ ra sự xuất hiện của PAHs trong thực phẩm bao gồm PAHs trong cà phê [8], trái cây và rau quả [9], cá [10], thịt [11] và trong chè [12]... Để đánh giá toàn diện mức độ ô nhiễm các hợp chất này trong thực phẩm, Cơ quan An toàn thực phẩm Châu Âu EFSA năm 2008 đã xác định nhóm PAH4 (BaP + CHR + BaA + BbF) và nhóm PAH8 (PAH4 + BkF + BghiP + DahA + IP) là những PAHs tồn tại trong hầu hết các loại thực phẩm và có chỉ số độc hại lớn, tức là có khả năng gây ung thư, tăng nguy cơ ung thư [13]. Năm 2015, Ủy Ban Châu Âu đưa ra quy định mới nhất về mức hàm lượng BaP và nhóm PAH4 tối đa trong một số thực phẩm trong đó có thảo mộc khô với mức 10,0 µg/kg cho BaP và 50,0 µg/kg cho PAH4 [14].

Chè là một loại đồ uống phổ biến trên thế giới nói chung và ở Việt Nam nói riêng. Uống chè có tác dụng tốt cho sức khỏe như chống oxy hóa [15], kiểm soát trọng lượng cơ thể [16], hay tăng khả năng tập trung. Chè được chia ra thành nhiều loại như: chè xanh, chè đen, chè olong.... Mỗi loại chè có cách chế biến khác nhau từ các loại lá chè non, hầu hết qua các công đoạn sấy khô, phơi, tẩm, lên men [17, 18]. Lá chè non có thể bị phơi nhiễm các hợp chất độc hại như PAHs trong không khí hoặc từ nguồn nước [19, 20] và đặc biệt quá trình sấy khô chè được coi là giai đoạn tạo ra nhiều PAHs nhất [4, 19, 20]. Trong nghiên cứu này, quy trình phân tích PAHs trong chè bằng phương pháp sắc ký khí khối phổ (GC-

MS) bao gồm cả giai đoạn xử lý mẫu đã được khảo sát, hàm lượng PAHs trong một số mẫu chè xanh phổ biến thu thập trên thị trường đã được phân tích.

2. Thực nghiệm

2.1. Hóa chất, thiết bị

Tất cả hóa chất đều là loại tinh khiết phân tích của Merck: natrisunphat, n-hexan, diclometan, silicagel. Dung dịch chuẩn gốc PAH Mix 63 (Dr.Ehrenstorfer) nồng độ 1000 µg/ml trong toluen của hỗn hợp 16 PAHs theo EPA: ACN, ACY, ANT, BaA, BaP, BbF, BghiP, DahA, FLA, BkF, CHR, IP, PHE, NAP, FLR và PYR. Dung dịch chuẩn gốc của các chất đồng hành SR-PAH Mix 33 (Dr.Ehrenstorfer) có nồng độ 2000 µg/ml của hỗn hợp: naphthalen-d8, acenaphthylen-d10, phenathren-d10, chrysen-d12, perylene-d12 trong toluen. Dung dịch nội chuẩn gốc (IS)pyrene-d10 có nồng độ 200 µg/ml trong isooctan, của hãng Dr. Ehrenstorfer, LGC, Đức.

Dụng cụ, thiết bị được sử dụng trong nghiên cứu gồm: cân phân tích (Shimadzu), máy lắc (KIA, Đức), thiết bị cô cất quay chân không (Buchi, Thụy Sĩ), máy sắc ký thẩm thấu qua gel GPC (Eyela, Nhật Bản), thiết bị phân tích sắc ký khí ghép nối khối phổ GC-MS 2010 (Shimadzu, Nhật Bản) và các loại ống nghiệm, phễu chiết, bình cầu, lọ đựng mẫu GC thuộc loại thủy tinh dùng trong phân tích.

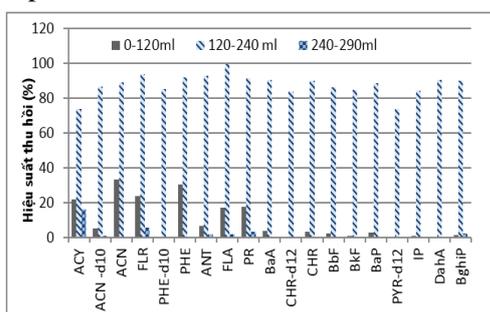
2.2. Thu thập mẫu

7 mẫu chè thuộc các thương hiệu chè xanh khác nhau của Việt Nam được thu thập và kí hiệu theo thứ tự VGT-01, VGT-02, VGT-03, VGT-04, VGT-05, VGT-06 và VGT-07, đây là các loại chè xanh được sử dụng phổ biến tại thị trường trong nước. Mẫu sau khi lấy về được nghiền nhỏ, bọc trong giấy nhôm và bảo quản ở nhiệt độ phòng đến khi phân tích.

2.3. Quy trình xử lý mẫu

Chiết mẫu: Cân chính xác 1 – 2 g mẫu chè đã nghiền mịn, thêm 50 µl hỗn hợp chất đồng hành SR-PAH nồng độ 1 ppm, sau đó chiết 3 lần,

F4, tương ứng từ thể tích 120 ml tới 240 ml thu được hầu hết các PAHs, với hiệu suất đạt từ 74 – 99 %. Trong các phân đoạn F1, F2, F3, F5, F6 hầu như không phát hiện thấy PAH hoặc hiệu suất rất thấp. Do vậy, có thể loại bỏ 120 ml rửa giải ban đầu và thu lấy phân đoạn 120 ml tiếp theo. Trong các cấu tử PAH đã phân tích, naphthalen luôn được tìm thấy trong các phân đoạn, chứng tỏ bị nhiễm bản từ dụng cụ hoặc thiết bị. Vì vậy naphthalen sẽ bị loại khỏi qui trình phân tích.



Hình 2. Hiệu suất thu hồi của PAHs trên cột GPC với các phân đoạn rửa giải khác nhau.

Cột silica gel

Mẫu sau khi làm sạch bằng cột GPC, được cô về 2ml và đưa qua cột silica gel để loại bỏ tiếp tục các tạp chất. Để khảo sát quá trình làm sạch trên cột silicagel, mẫu thử được chuẩn bị như sau: thêm 1 ml hỗn hợp chuẩn 16 PAHs và 1 ml hỗn hợp SR-PAH nồng độ 50 ng/ml vào 2 ml dung môi DCM/hexan (1/1:v/v). Sau đó mẫu thử được đưa lên cột silicagel và được rửa giải theo 3 phân đoạn bằng dung môi n-hexan: phân đoạn đầu F1: 50 ml, hai phân đoạn sau (F2, F3) mỗi phân đoạn 10 ml. Ba phân đoạn này và một mẫu thử được cô về 0,5 ml thêm 25 µl IS 2 ppm. Các mẫu sau khi thêm IS được phân tích trên sắc ký khí khối phổ và sử dụng kết quả để tính hiệu suất thu hồi cho từng PAH trong từng phân đoạn. Các kết quả chi tiết được trình bày trong bảng 1 cho thấy sau 3 phân đoạn tổng hiệu suất thu hồi của các PAH đều đạt 94 – 107%. Do đó, trong quá trình làm sạch trên cột silica gel, thể tích dung môi n-hexan được dùng là 70 ml.

Bảng 1. Kết quả khảo sát thể tích rửa giải PAHs trên cột silica gel

Tên chất	Mẫu thử (ng/ml)	Các phân đoạn rửa giải bằng n-hexan						
		Nồng độ (ng/ml)			Hiệu suất (H%)			
		F1: 50ml	F2: 10ml	F3: 10ml	F1: 50ml	F2: 10ml	F3: 10ml	Tổng
Acenaphthylen	45,8	39,2	4,58	0,92	85	10	2	97
Acenaphthen -d10	43,5	40,8	2,18	-	94	5	-	99
Acenaphthen	43,5	42,0	0,43	-	96	1	-	97
Fluoren	42,1	38,5	2,10	-	91	5	-	96
Phenanthren-d10	42,8	37,7	4,28	-	88	10	-	98
Phenanthren	50,8	47,7	-	-	94	-	-	94
Anthracen	52,1	36,1	13,3	1,56	69	25	3	97
Fluoranthen	50,2	38,5	10,4	2,51	77	20	5	102
Pyren	49,8	48,3	-	-	97	-	-	97
Benz[a]anthracen	48,3	49,8	-	-	103	-	-	103
Chrysen-d12	48,0	51,1	-	-	107	-	-	107
Chrysen	47,5	48,9	-	-	103	-	-	103
Benzo[b]fluoranthen	45,1	43,8	-	-	97	-	-	97
Benzo[k]fluoranthen	44,5	44,1	-	-	99	-	-	99
Benzo[a]pyren	47,2	46,1	-	-	98	-	-	98
Perylen-d12	45,6	41,9	2,28	-	92	5	-	97
Indeno[1,2,3-cd]pyren	46,0	38,3	4,60	1,38	83	10	3	96
Dibenzo[a,h]anthracen	40,8	40,0	-	-	98	-	-	98
Benzo[ghi]perylene	44,3	38,1	4,43	2,66	86	10	6	102

“-”: không phát hiện thấy

3.2. Đánh giá phương pháp phân tích

Giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng

Giới hạn phát hiện của thiết bị (IDL) được tính bằng 3 lần độ lệch chuẩn (SD) khi phân tích lặp (7 lần) mẫu hỗn hợp chuẩn có nồng độ thấp (cỡ gấp 10 – 50 lần so với giới hạn ước đoán của thiết bị). Trong nghiên cứu này, mẫu chuẩn được lựa chọn để phân tích lặp có nồng độ mỗi PAH là 2 ng/ml (là nồng độ gần với giới hạn dưới của đường chuẩn). Giới hạn phát hiện của phương pháp (MDL) đối với từng PAH trong mẫu chè được tính trên cơ sở giá trị IDL, thể tích dịch

phân tích cuối là 0,5 ml và khối lượng mẫu chè ban đầu là 1g. Giới hạn định lượng (LOQ) của các cấu tử PAH trong mẫu chè được tính từ MDL có giá trị từ 0,2 đến 0,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, các số liệu chi tiết được trình bày tại bảng 2. Các giá trị LOD và LOQ của BaP, BaA, Chr và BbF của phương pháp phân tích đã phát triển trong nghiên cứu này đều thấp hơn mức quy định của Ủy Ban Châu Âu về giới hạn định lượng và giới hạn phát hiện của 4 PAHs trên trong thực phẩm ($\text{LOD} \leq 0,3 \mu\text{g}/\text{kg}$, $\text{LOQ} \leq 0,9 \mu\text{g}/\text{kg}$) [22].

Bảng 2. Giới hạn định lượng của phương pháp phân tích PAHs trong chè

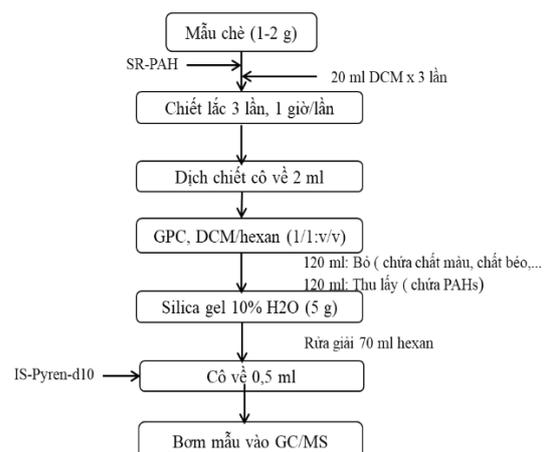
PAHs	Nồng độ trung bình ng/ml (n=7)	SD (n=7)	IDL (ng/ml)	MDL ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	LOQ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Acenaphthylen	2,0	0,03	0,10	0,10	0,32
Acenaphthen	2,1	0,03	0,09	0,09	0,30
Fluoren	2,0	0,02	0,07	0,07	0,22
Phenanthren	2,1	0,02	0,06	0,06	0,21
Anthracen	1,9	0,04	0,12	0,12	0,40
Fluoranthen	2,0	0,02	0,07	0,07	0,24
Pyren	2,1	0,02	0,07	0,07	0,22
Benz[a]anthracen*	1,9	0,04	0,11	0,11	0,36
Chrysen*	1,8	0,03	0,09	0,09	0,32
Benzo[b]fluoranthen*	1,9	0,04	0,13	0,13	0,43
Benzo[k]fluoranthen	1,8	0,03	0,08	0,08	0,26
Benzo[a]pyren*	1,9	0,04	0,13	0,13	0,42
Indeno[1,2,3-cd]pyren	1,7	0,04	0,11	0,11	0,38
Dibenzo[a,h]anthracen	1,7	0,04	0,12	0,12	0,41
Benzo[ghi]perylen	1,8	0,05	0,16	0,16	0,53

IDL- giới hạn phát hiện của thiết bị, MDL- giới hạn phát hiện của phương pháp,

LOQ- giới hạn định lượng của phương pháp.*: nhóm PAH4

Hiệu suất thu hồi và độ lặp lại

Quy trình phân tích PAHs trong mẫu chè bao gồm các bước chiết lỏng rắn với dung môi DCM, làm sạch qua cột GPC, cột silica gel và sau đó dịch chiết được bơm vào thiết bị GC/MS để phân tích định tính và định lượng PAHs. Hình 3 mô tả tóm tắt quy trình phân tích PAHs trong mẫu chè.



Hình 3. Sơ đồ tóm tắt quy trình phân tích PAHs trong mẫu chè.

Để khảo sát hiệu suất thu hồi của toàn bộ quy trình phân tích, mẫu chè Lipton Việt Nam (VHT4) được chọn làm nền thực. Chuẩn bị 3 mẫu thêm chuẩn hỗn hợp chuẩn PAHs vào nền mẫu (các mẫu VHT4-1, VHT4-2, VHT4-3) và 2

mẫu nền không thêm chuẩn (VHT4-4, VHT4-5), sau đó tiến hành xử lý và phân tích bằng GC/MS theo quy trình ở trên. Kết quả phân tích được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Hàm lượng PAHs trong mẫu chè thêm chuẩn và không thêm chuẩn

STT	PAHs	$C_{thêm}$ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	$C_{Mẫu thêm chuẩn}(\mu\text{g}/\text{kg})$			$C_{Mẫu nền}(\mu\text{g}/\text{kg})$		
			VHT4-1	VHT4-2	VHT4-3	VHT4-4	VHT4-5	TB nền
1	Acenaphthylen	153	94	88	88	7,0	5,8	6,4
2	Acenaphthen	158	93	87	89	5,1	3,6	4,4
3	Fluoren	160	167	154	161	16,8	16,1	16,5
4	Phenanthren	121	214	219	220	62,6	53,1	57,8
5	Anthracen	164	172	168	170	3,2	2,8	3,0
6	Fluoranthen	151	182	175	181	22,3	19,7	21,0
7	Pyren	153	177	169	173	17,6	16,2	16,9
8	Benz[a]anthracen	161	170	165	166	1,8	1,7	1,8
9	Chrysen	161	169	164	163	1,3	1,2	1,2
10	Benzo[b]fluoranthen	154	157	153	154	2,3	2,1	2,2
11	Benzo[k]fluoranthen	154	156	149	151	1,1	0,8	1,0
12	Benzo[a]pyren	156	161	153	158	1,3	0,8	1,0
13	Indeno[1,2,3-cd]pyren	151	147	137	145	1,4	1,1	1,2
14	Dibenzo[a,h]anthracen	158	141	126	145	0,4	0,2	0,3
15	Benzo[ghi]perylene	156	144	125	138	1,9	1,6	1,7

Hiệu suất thu hồi toàn bộ quy trình đối với mỗi PAH được xác định theo công thức:

$$H \% = \frac{C_{PAH \text{ mẫu thêm chuẩn}} - C_{PAH \text{ nền}}}{C_{thêm}} \times 100$$

Trên nền mẫu chè, hiệu suất thu hồi với hầu hết các PAHs có giá trị từ 86 đến 132% ngoại trừ acenaphthylen và acenaphthen (có 3 vòng benzen trong phân tử) chỉ đạt hiệu suất thu hồi 53 - 57 %, điều này có thể được giải thích là do các PAH có số vòng nhỏ dễ dàng bị bay hơi trong quá trình cô quay mẫu bằng chân không cũng

như loại dung môi bằng nitơ, độ lặp lại của các kết quả tốt với độ lệch chuẩn tương đối RSD từ 1,1 – 7,3 %. Nếu so sánh với quy định Ủy Ban Châu Âu về hiệu suất thu hồi đối với nhóm PAH4 trong thực phẩm dao động trong khoảng 50 – 120 % [22], kết quả của nghiên cứu này là hoàn toàn phù hợp, vì vậy qui trình có thể áp dụng cho phân tích PAHs trong mẫu chè thực tế.

Bảng 4. Hiệu suất thu hồi của PAHs trên nền mẫu chè

STT	PAHs	VHT-1 (%)	VHT-2 (%)	VHT-3 (%)	Trung bình (%)	SD (%)	RSD (%)
1	Acenaphthylen	57	53	53	55	2,3	4,1
2	Acenaphthen	56	52	54	54	1,9	3,6
3	Fluoren	94	86	90	90	4,1	4,5
4	Phenanthren	129	134	134	132	2,8	2,1
5	Anthracen	103	100	102	102	1,2	1,1
6	Fluoranthen	107	102	106	105	2,2	2,1
7	Pyren	104	100	102	102	2,3	2,3
8	Benz[a]anthracen*	105	102	102	103	1,6	1,6

9	Chrysen*	104	101	100	102	2,0	2,0
10	Benzo[b]fluoranthen*	100	98	99	99	1,2	1,3
11	Benzo[k]fluoranthen	101	96	97	98	2,3	2,3
12	Benzo[a]pyren*	103	98	101	100	2,7	2,7
13	Indeno[1,2,3-cd]pyren	97	90	95	94	3,4	3,6
14	Dibenzo[a,h]anthracen	89	79	91	86	6,4	7,3
15	Benzo[ghi]perylene	91	79	88	86	6,2	7,2

*: nhóm PAH4

3.3. Kết quả xác định hàm lượng PAHs trong một số mẫu chè xanh Việt Nam

Hàm lượng PAHs trong 7 mẫu trà xanh của Việt Nam được phân tích bằng quy trình đã khảo sát ở trên. Kết quả cho thấy tổng hàm lượng 15 cấu tử PAHs dao động trong khoảng 38,1 – 123 µg/kg với giá trị trung bình đạt 78,6 µg/kg (bảng 5), mẫu chè VGT05 có tổng hàm lượng PAHs

cao nhất là 123 µg/kg. Tổng hàm lượng PAH4 tìm thấy trong các mẫu chè có giá trị trong khoảng 7,3 – 18,4 µg/kg. So sánh hàm lượng BaP và PAH4 theo công bố của Ủy Ban Châu Âu về hàm lượng tối đa cho phép trong thảo dược khô thấy rằng tất cả các mẫu chè xanh phân tích đều có hàm lượng thấp hơn mức giới hạn cho phép (giới hạn cho BaP là 10,00 µg/kg và cho PAH4 là 50,00 µg/kg).

Bảng 5. Hàm lượng PAHs trong một số mẫu chè xanh Việt Nam (µg/kg)

PAHs	VGT01	VGT02	VGT03	VGT04	VGT05	VGT06	VGT07	Trung bình
1 ACY	6,9	2,5	3,9	1,2	3,2	2,2	2,6	3,2
2 ACN	0,60	0,43	0,29	0,68	0,50	0,47	0,78	0,5
3 FLR	1,7	0,38	-	-	1,6	0,43	1,0	0,7
4 PHE	22,1	11,2	13,6	3,4	21,3	14,1	10,0	13,7
5 ANT	6,3	7,1	5,6	1,1	7,8	3,8	3,5	5,0
6 FLA	24,2	19,6	19,4	13,3	30,8	21,6	16,3	20,7
7 PR	20,3	15,0	15,6	9,7	25,1	16,3	12,8	16,4
8 BaA	4,8	3,3	3,4	1,7	6,8	3,0	2,7	3,7
9 CHR	5,6	5,2	4,4	3,4	8,4	5,1	2,9	5,0
10 BbF	4,1	3,1	2,6	1,5	5,7	2,6	2,7	3,2
11 BkF	2,0	1,3	1,2	0,31	2,8	1,5	0,93	1,4
12 BaP	3,9	1,9	2,0	0,72	4,6	1,8	1,2	2,3
13 IP	2,4	1,2	1,1	0,54	2,8	1,1	0,84	1,4
14 DahA	-	-	-	-	-	-	-	-
15 BghiP	2,8	1,2	1,0	0,60	2,1	0,57	0,82	1,3
Tổng PAHs	107	73,4	74,2	38,1	123	74,4	59,0	78,6
PAH4	18,4	13,5	12,4	7,3	25,5	12,5	9,5	14,2
PAH8	25,6	17,2	15,7	8,8	33,2	15,7	12,1	18,3

“-”: dưới giới hạn phát hiện

PAH4= BaP + CHR + BaA + BbF ; PAH8= PAH4 + BkF + BghiP + DahA + IP

Benzo[a]pyrene (BaP) được đặc trưng cho khả năng gây ung thư của các PAHs với hệ số độc hại là 1. Tổng nồng độ PAHs được biểu thị qua tổng độ độc tương đương với BaP (BaPeq) để minh họa cho tiềm năng độc hại. BaPeq được

tính bằng tổng giá trị BaPeq_i cho các PAH riêng lẻ. Giá trị BaPeq_i được tính cho mỗi PAH từ nồng độ của nó trong mẫu (C_{PAHi}) nhân với hệ số độc tương đương của nó (TEF_{PAHi}).

$$\text{BaPeq} = \sum(\text{BaPeq}_i) = \sum(C_{\text{PAHi}} \times \text{TEF}_{\text{PAHi}})$$

Bảng 6. Hệ số độc tương đương của 15 PAHs và tổng độ độc tương đương của PAHs trong các mẫu chè phân tích

STT	PAHs	TEF	C _{PAHi} (µg/kg)	BaP _{eqi} (µg/kg)
1	ACY	0,001	3,2	0,0032
2	ACN	0,001	0,5	0,0005
3	FLR	0,001	0,7	0,0007
4	PHE	0,001	13,7	0,0137
5	ANT	0,01	5,0	0,05
6	FLA	0,001	20,7	0,0207
7	PR	0,001	16,4	0,0164
8	BaA	0,1	3,7	0,37
9	CHR	0,01	5,0	0,05
10	BbF	0,1	3,2	0,32
11	BkF	0,1	1,4	0,14
12	BaP	1	2,3	2,3
13	IP	0,1	1,4	0,14
14	DahA	1	-	0
15	BghiP	0,01	1,3	0,013
Σ BaP _{eq} (µg/kg)				3,44

Trên cơ sở nồng độ trung bình của các PAH tìm thấy trong các mẫu chè xanh Việt Nam đã phân tích có thể tính được tổng độ độc tương đương của PAHs so với BaP như trong bảng 6. So sánh kết quả thu được trong nghiên cứu này với các nghiên cứu tương tự trên thế giới về PAHs trong chè có nguồn gốc từ các quốc gia

châu Á, Âu, Mỹ như trong bảng 7 cho thấy hàm lượng PAHs trong chè xanh của Việt Nam ở mức tương đối thấp. Hàm lượng BaP và tổng PAH4 cũng đồng thời thấp hơn nhiều lần, tổng độ độc tương đương BaP_{eq} chỉ là 3,44 µg/kg, trong khi đó chè xanh ở các quốc gia khác có chỉ số này dao động trong khoảng 12 đến 28 µg/kg.

Bảng 7. Hàm lượng PAHs trong chè xanh của một số quốc gia (µg/kg)

Quốc gia (n=số mẫu)	Trung bình tổng 15 cấu tử PAHs (µg/kg)	Khoảng nồng độ (µg/kg)	BaP (µg/kg)	PAH4 (µg/kg)	ΣBaP _{eq} (µg/kg)	Tài liệu tham khảo
Trung Quốc (n=2)	475	470 ÷ 480	8,6	80,3	16,2	[12]
Trung Quốc (n=1)	355		11,2	50,1	15,6	[23]
Thái lan (n=1)	387		21,7	81,3	27,8	[23]
Argentina (n=14)	580	341 ÷ 2048	0,4 ÷ 61	8,0 ÷ 356	15,4	[24]
Ba Lan (n=6)			13,3	76,0	17,0*	[25]
CH Séc (n=18)			0,2 ÷ 18	4,5 ÷ 102	11,5*	[26]
Đức (n=11)			1,6 ÷ 33	12 ÷ 168	14,0*	[27]
Việt Nam (n=7)	78,6	38,1 ÷ 123	0,72 ÷ 4,6	7,3 ÷ 25,5	3,44	Nghiên cứu này

* BaP_{eq} chỉ tính cho nhóm PAH4

4. Kết luận

Nghiên cứu đã đưa ra quy trình xác định các hợp chất PAH trong chè bao gồm các giai đoạn xử lý mẫu bằng kỹ thuật chiết lỏng-rắn, làm sạch qua cột GPC, cột silicagel và phân tích định tính, định lượng bằng phương pháp sắc ký khí ghép nối khối phổ. Các giá trị đánh giá về giới hạn phát hiện, hiệu suất thu hồi, độ lặp lại của phương pháp phân tích là phù hợp cho mục tiêu xác định PAH trong chè và đáp ứng khi so sánh với quy định Ủy Ban Châu Âu về phân tích một số PAH độc hại (BaP và nhóm PAH4) trong thực phẩm. Phương pháp đã được sử dụng để phân tích một số sản phẩm chè xanh thông dụng ở Việt Nam, hướng nghiên cứu tiếp có thể mở rộng số lượng và đối tượng chè thành phẩm như chè đen, chè olong ... cùng với những đánh giá rủi ro tới sức khỏe con người do PAHs gây ra khi sử dụng các loại chè này.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được thực hiện trong khuôn khổ Nhiệm vụ thường xuyên theo chức năng năm 2018 của Phòng thí nghiệm trọng điểm Đại học quốc gia Hà Nội (mã số: TXTCN.2018.03). Các tác giả chân thành cảm ơn sự giúp đỡ trong quá trình thực nghiệm của cử nhân Trương Thị Kim và Nguyễn Văn Thành.

Tài liệu tham khảo

- [1] A. T. Lawal, Polycyclic aromatic hydrocarbons. A review, *Cogent Environ. Sci.* 3 (2017) 1-89. <https://doi.org/10.1080/23311843.2017.1339841>
- [2] P. Li, R. Xue, Y. Wang, R. Zhang, G. Zhang, Influence of anthropogenic activities on PAHs in sediments in a significant gulf of low-latitude developing regions, the Beibu Gulf, South China Sea: Distribution, sources, inventory and probability risk, *Mar. Pollut. Bull.* 90 (2015) 218-226. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.10.048>
- [3] F. S. Ehrenhauser, PAH and IUPAC Nomenclature, *Polycycl. Aromat. Compd.* 35 (2015) 161-176. <https://doi.org/10.1080/10406638.2014.918551>
- [4] Z. Zelinkova, T. Wenzl, The Occurrence of 16 EPA PAHs in Food – A Review, *Polycycl. Aromat. Compd.* 35 (2015) 248-284. <https://doi.org/10.1080/10406638.2014.918550>
- [5] M. Mari, R. M. Harrison, M. Schuhmacher, J. L. Domingo, S. Pongpiachan, Inferences over the sources and processes affecting polycyclic aromatic hydrocarbons in the atmosphere derived from measured data, *Sci. Total Environ.* 408 (2010) 2387-2393. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.01.054>
- [6] L. Singh and T. Agarwal, PAHs in Indian diet: Assessing the cancer risk, *Chemosphere* 202 (2018) 366-376. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.03.100>
- [7] K. H. Kim, S. A. Jahan, E. Kabir, R. J. C. Brown, A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects, *Environ. Int.* 60 (2013) 71-80. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.07.019>
- [8] G. M. Guatemala-Morales, E. A. Beltrán-Medina, M. A. Murillo-Tovar, P. Ruiz-Palomino, R. I. Corona-González, E. Arriola-Guevara, Validation of analytical conditions for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in roasted coffee by gas chromatography-mass spectrometry, *Food Chem.* 197 (2016) 747-753. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.135>
- [9] A. Paris, J. Ledauphin, P. Poinot, J. L. Gaillard, Polycyclic aromatic hydrocarbons in fruits and vegetables: Origin, analysis, and occurrence, *Environ. Pollut.* 234 (2018) 96-106. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.11.028>
- [10] Y. Li, C. Wang, X. Zou, Z. Feng, Y. Yao, T. Wang, C. Zhang, Occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coral reef fish from the South China Sea, *Mar. Pollut. Bull.* 139 (2019) 339-345. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.01.001>
- [11] M. Rose, J. Holland, A. Dowding, S.R. Petch, S. White, A. Fernandes, D. Mortimer, Investigation into the Formation of PAHs in Foods Prepared in the Home to Determine the Effects of Frying, Grilling, Barbecuing, Toasting and Roasting, *Food and Chemical Toxicology* 78 (2015) 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.12.018>
- [12] Heidelore Fiedler, C.K. Cheung, M.H. Wong, PCDD/PCDF, chlorinated pesticides and PAH in Chinese teas, *Chemosphere* 46 (2002) 1429-1433. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(01\)00264-8](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(01)00264-8)
- [13] I. C. T. Nisbet, P. K. LaGoy, Toxic equivalency factors (TEFs) for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)" *Regul. Toxicol. Pharmacol* 16 (1992) 290-300. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2898023>

- [14] European Commission, Commission Regulation (EU) 2015/1933 of 27 October 2015 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in cocoa fibre, banana chips, food supplements, dried herbs and dried spices, Official Journal of the European Union Legislation L. 282 (2015) 11–13. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32015R1933&rid=1>
- [15] M. Da Silva Pinto, Tea: A new perspective on health benefits, *Food Res. Int.* 53 (2013) 558–567. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.01.038>
- [16] T. M. Rains, S. Agarwal, K. C. Maki, Antiobesity effects of green tea catechins: A mechanistic review, *J. Nutr. Biochem.* 22 (2011) 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.06.006>
- [17] Đỗ Ngọc Quý, Cây Chè: Sản Xuất, Chế Biến, Tiêu Thụ, NXB Nghệ An, 2003.
- [18] Bộ Khoa học và Công nghệ, 2013, Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 9740:2013: Chè xanh- định nghĩa và các yêu cầu cơ bản, <http://tieuchuan.vsqi.gov.vn/tieuchuan/view?sohieu=TCVN+9740%3A2013>
- [19] D. Lin, L. Zhu, W. He, Y. Tu, Tea plant uptake and translocation of polycyclic aromatic hydrocarbons from water and around air, *J. Agric. Food Chem.* 54 (2006) 3658–3662. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12437-w>
- [20] F. Rolle, F. Pennechi, S. Perini, M. Sega, Metrological traceability of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) measurements in green tea and mate, *Meas. J. Int. Meas. Confed.* 98 (2017) 290–299. <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2016.03.009>
- [21] Bộ Khoa học và Công nghệ, 2013, Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 9318-2012: Chất lượng đất – xác định hydrocacbon thơm đa vòng (PAH) phương pháp sắc ký khí dùng detector khối phổ (GC-MS), <http://tieuchuan.vsqi.gov.vn/tieuchuan/view?sohieu=TCVN+9318%3A2012>
- [22] European Commission, Commission Regulation (EU) No 836/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) No 333/2007 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of lead, cadmium, mercury, inorganic tin, 3-MCPD and benzo (a)pyrene in foodstuffs, Official Journal of the European Union Legislation L. 54 (2011) 9–16. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:02007R0333-20120901>
- [23] Phòng thí nghiệm trọng điểm Công nghệ phân tích phục vụ kiểm định môi trường và an toàn thực phẩm, Báo cáo Nhiệm vụ thường xuyên của Phòng thí nghiệm trọng điểm Đại học Quốc gia Hà Nội (mã số: NVTX.2018.03), 2018.
- [24] V. A. Garcia Londono, C. M. Reynoso, S. L. Resnik, Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) survey on tea (*Camellia sinensis*) commercialized in Argentina, *Food Control.* 50 (2015) 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.07.036>
- [25] A. Zachara, D. Gałkowska, L. Juszczak, Contamination of tea and tea infusion with polycyclic aromatic hydrocarbons, *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 15 (2018) 45. <https://doi.org/10.3390/ijerph15010045>
- [26] M. Tomaniova, K. Kalachova, L. Drabova, V. Kocourek, J. Hajslova, J. Pulkrabova, Rapid determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in tea using two-dimensional gas chromatography coupled with time of flight mass spectrometry, *Talanta.* 100 (2012) 207–216. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.07.081>
- [27] K. Ziegenhals, W. Jira, K. Speer, Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in various types of tea, *Eur. Food Res. Technol.* 228 (2008) 83–91. <https://doi.org/10.1007/s00217-008-0909-8>