

ISSN 1859 - 4735



TẠP CHÍ DƯỢC LIỆU

JOURNAL OF MEDICINAL MATERIALS

SỐ 4 - TẬP 31

8/2026

VIỆN DƯỢC LIỆU
NATIONAL INSTITUTE OF MEDICINAL MATERIALS

3B Quang Trung, phường Cửa Nam, thành phố Hà Nội - Việt Nam
TEL: (+84-24) 38247058 FAX: (+84-24) 39348740
Email: tapchiduoclieu@nimm.org.vn; tapchiduoclieu@gmail.com

TẠP CHÍ DƯỢC LIỆU (Bản in và Bản điện tử)

BAN BIÊN TẬP (Nhiệm kỳ 2025-2030)

(Kèm theo Quyết định số 666/QĐ-VDL ngày 24/4/2025 của Viện trưởng Viện Dược liệu)

TỔNG BIÊN TẬP **PGS.TS. Đỗ Thị Hà**

I. Tiểu ban Dược liệu - Dược học cổ truyền

- **PGS.TSKH. Nguyễn Minh Khởi - Trưởng Ban**
- PGS.TS. Nguyễn Thượng Dong - Ủy viên
- GS.TS. Nguyễn Minh Đức - Ủy viên
- GS.TS. Trần Công Luận - Ủy viên
- GS.TS. Won Keun Oh - Ủy viên
- PGS.TS. Trần Hùng - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thị Bích Thu - Ủy viên
- PGS.TS. Phương Thiện Thương - Ủy viên
- PGS.TS. Phan Minh Giang - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Nguyễn Thành - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Việt Dũng - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Quốc Huy - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thu Hằng - Ủy viên
- TS. Trần Minh Ngọc - Ủy viên
- TS. Nguyễn Văn Tài - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Đình Chi - Ủy viên
- TS. Nguyễn Tuấn Hiệp - Ủy viên.

II. Tiểu ban Dược lý - Dược lâm sàng

- **PGS.TS. Phạm Thị Nguyệt Hằng - Trưởng Ban**
- PGS.TSKH. Đỗ Trung Đàm - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thị Thu Hương - Ủy viên
- GS.TS. William R. Folk - Ủy viên
- PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thùy Dương - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Văn Minh - Ủy viên
- TS. Trần Thị Hiền - Ủy viên.

III. Tiểu ban Nông Sinh

- **TS. Nguyễn Văn Khiêm - Trưởng Ban**
- TS. Phan Thúy Hiền - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Văn Tập - Ủy viên
- PGS.TS. Phạm Thanh Huyền - Ủy viên
- GS.TS. Trần Thế Bách - Ủy viên.

IV. Tiểu ban Thư ký - Trị sự

- **PGS.TS. Lê Nguyễn Thành - Trưởng Ban**
- TS. Lê Thị Xoan - Thư ký chuyên môn
- CN. Nguyễn Thị Minh Lộc - Thư ký trị sự.

Trang	NGHIÊN CỨU KHOA HỌC	Page	SCIENTIFIC RESEARCH
257	Thành phần hóa học của cây bồ công anh thấp thu hái tại Việt Nam- Trần Huyền Trang, Đỗ Hoàng Anh, Lê Hồng Văn Anh, Nguyễn Thị Thu, Nguyễn Thị Hằng, Vũ Thị Diệp, Nguyễn Trà My, Lê Nguyễn Thành, Đỗ Thị Hà	257	Chemical Constituents from <i>Taraxacum officinale</i> F.H. Wigg. Collected in Vietnam- Tran Huyen Trang, Do Hoang Anh, Le Hong Van Anh, Nguyen Thi Thu, Nguyen Thi Hang, Vu Thi Diep, Nguyen Tra My, Le Nguyen Thanh, Do Thi Ha
265	Linalool-3,7-oxid- β -D-glucopyranosid và các flavonoid từ cúc hoa vàng - Nguyễn Thị Duyên, Trần Thị Tuyết, Bùi Khắc Hiếu, Nguyễn Thị Huế, Bùi Hồng Cường, Lưu Phương Anh, Phạm Văn Công	265	Linalool-3,7-Oxide- β -D-Glucopyranoside and Flavonoids from <i>Chrysanthemum indicum</i> L.- Nguyen Thi Duyen, Tran Thi Tuyet, Bui Khac Hieu, Nguyen Thi Hue, Bui Hong Cuong, Luu Phuong Anh, Pham Van Cong
270	Phân lập, tinh chế và thiết lập chất chuẩn 5,7-dimethoxyflavon từ thân rễ ngải đen - Nguyễn Văn Bình, Hoàng Thị Thanh Thảo, Lê Quang Thảo, Đỗ Thị Hà, Đoàn Cao Sơn	270	Isolation, Purification and Establishment of 5,7-Dimethoxyflavone as a Reference Standard from <i>Kaempferia parviflora</i> Wall. ex Baker- Nguyen Van Binh, Hoang Thi Thanh Thao, Le Quang Thao, Do Thi Ha, Doan Cao Son
281	Nghiên cứu xây dựng phương pháp định lượng đồng thời acteosid và isoacteosid trong rễ bạch đồng nữ bằng phương pháp HPLC-DAD - Nguyễn Đình Quân, Nguyễn Lâm Hồng	281	Simultaneous Determination of Acteoside and Isoacteoside in the Roots of <i>Clerodendrum chinense</i> var. <i>simplex</i> by HPLC-DAD- Nguyen Dinh Quan, Nguyen Lam Hong
288	Phát triển phương pháp định lượng 16 acid amin trong củ khoai mỡ tím bằng HILIC-MS/MS - Cao Công Khánh, Nguyễn Quang Hùng, Nguyễn Văn Khoa, Mạc Thị Thanh Hoa, Trần Thị Xuân Lộc, Lê Thị Hồng Hào, Nguyễn Thị Kiều Anh	288	Development of a Method for the Quantification of 16 Amino Acids in Purple Yam (<i>Dioscorea alata</i> L.) Tubers Using HILIC-MS/MS - Cao Cong Khanh, Nguyen Quang Hung, Nguyen Van Khoa, Mac Thi Thanh Hoa, Tran Thi Xuan Loc, Le Thi Hong Hao, Nguyen Thi Kieu Anh
298	Tối ưu hóa quy trình chiết xuất polyphenol và flavonoid từ lá hồng bằng phương pháp xử lý enzym kết hợp chiết nước - Lê Minh Khuong, Lê Hoàng Vũ, Huỳnh Hồng Nha Uyên, Nguyễn Thị Tố Uyên, Trần Thị Hoài Linh, Trịnh Thị Diệp	298	Optimization of the Extraction Process of Polyphenols and Flavonoids from Persimmon Leaves (<i>Diospyros kaki</i> Thunb.) by Enzyme Pretreatment Combined with Alkaline Aqueous Extraction - Le Minh Khuong, Le Hoang Vu, Huynh Hong Nha Uyen, Nguyen Thi To Uyen, Tran Thi Hoai Linh, Trinh Thi Diep
306	Sàng lọc một số cao chiết dược liệu dựa trên khả năng tăng sinh tế bào nhũ bì nang tóc người (hPDCs) và hoạt tính chống oxy hóa <i>in vitro</i> - Phạm Minh Hiếu, Phạm Thị Nguyệt Hằng, Phạm Anh Tùng, Phí Đình Uy, Đinh Thị Minh, Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Thị Huế, Nghiêm Tiến Chung, Vũ Xuân Bách, Lê Nguyễn Lâm Tùng	306	Screening of some Medicinal Plant Extracts with Hair Growth-Promoting Potential Based on Human Dermal Papilla Cell Proliferation and <i>in vitro</i> Antioxidant Activities - Pham Minh Hieu, Pham Thi Nguyet Hang, Pham Anh Tung, Phi Dinh Uy, Dinh Thi Minh, Nguyen Thi Phuong, Nguyen Thi Hue, Nghiem Tien Chung, Vu Xuan Bach, La Nguyen Lam Tung
314	Đánh giá sàng lọc hoạt tính ức chế xanthin oxidase <i>in vitro</i> của một số cao chiết dược liệu - Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Thị Huế, Lê Thị Xoa, Nguyễn Văn Hiệp, Phí Đình Uy, Nguyễn Thị Minh Nguyệt, Phạm Thị Nguyệt Hằng	314	Screening the Anti-Xanthine Oxidase Activities <i>in vitro</i> of some Herbal Extracts - Nguyen Thi Phuong, Nguyen Thi Hue, Le Thi Xoa, Nguyen Van Hiep, Phi Dinh Uy, Nguyen Thi Minh Nguyet, Pham Thi Nguyet Hang
324	Nghiên cứu đánh giá một số hoạt tính liên quan đến mụn trứng cá và chống viêm tại chỗ của các kim tiền trên mô hình thực nghiệm - Đinh Thị Minh, Lê Thị Kim Ngân, Đinh Thị Huyền Trang, Phạm Minh Hiếu, Võ Trần Ngọc Duyên, Nguyễn Ngọc Thanh, Lê Thị Xoa, Phạm Thị Nguyệt Hằng	324	Study on the Anti-Acne and Topical Anti-Inflammatory Effects of <i>Calendula officinalis</i> L. in Experimental Models - Dinh Thi Minh, Le Thi Kim Ngan, Dinh Thi Huyen Trang, Pham Minh Hieu, Vo Tran Ngoc Duyen, Nguyen Ngoc Thanh, Le Thi Xoa, Pham Thi Nguyet Hang
331	Hoạt tính chống oxy hóa và kháng viêm <i>in vitro</i> của lá trà và mối liên quan với hàm lượng polyphenol và flavonoid toàn phần - Nguyễn Thị Thu Hương, Nguyễn Đông Nhi, Võ Thành Nhân, Lê Hồ Ngọc Trân, Lý Hải Triều	331	<i>In vitro</i> Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of <i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels Leaves and Correlation with Total Polyphenol and Flavonoid Contents - Nguyen Thi Thu Huong, Nguyen Dong Nhi, Vo Thanh Nhan, Le Ho Ngoc Tran, Ly Hai Trieu
342	Nghiên cứu bào chế hệ tiểu phân nano rutin bằng phương pháp nghiền bi - Hoàng Thị Diệu Hằng, Đào Anh Hoàng, Nguyễn Ngọc Chiến, Nguyễn Thị Sen, Lương Thị Lan, Luyện Bích Phương, Vũ Trường Duy, Trịnh Thị Khánh	342	Formulation and Evaluation of Rutin Nanoparticles Using the Ball Milling Method - Hoang Thi Dieu Hang, Dao Anh Hoang, Nguyen Ngoc Chien, Nguyen Thi Sen, Luong Thi Lan, Luyn Bich Phuong, Vu Truong Duy, Trinh Thi Khanh
351	Bổ sung loài kinh quốc Gegin có giá trị làm thuốc cho khu hệ thực vật Việt Nam - Phạm Ngọc Khánh, Nguyễn Văn Hiếu, Hoàng Diệu Linh	351	An Addition of the Medicinal Species <i>Colquhounia seguinii</i> Vanhot. to the Flora of Vietnam - Pham Ngoc Khanh, Nguyen Van Hieu, Hoang Dieu Linh

PHÁT TRIỂN PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH LƯỢNG 16 ACID AMIN TRONG CỦ KHOAI MỠ TÍM BẰNG HILIC–MS/MS

**Cao Công Khánh^{1,2}, Nguyễn Quang Hùng³, Nguyễn Văn Khoa³, Mạc Thị Thanh Hoa³,
Trần Thị Xuân Lộc⁴, Lê Thị Hồng Hảo³, Nguyễn Thị Kiều Anh^{1,*}**

¹Trường Đại học Dược Hà Nội; ²Cục An toàn thực phẩm;

³Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia; ⁴Công ty Cổ phần Danapha

*Email: anhntk@hup.edu.vn

Nhận bài: 01/8/2026

Chấp nhận đăng: 20/8/2026

Tóm tắt

Nghiên cứu nhằm xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng 16 acid amin trong củ của loài khoai mỡ tím (*Dioscorea alata* L.) bằng kỹ thuật sắc ký lỏng tương tác thân nước ghép nối khối phổ hai lần (HILIC–MS/MS). Nguyên lý của phương pháp dựa trên quá trình thủy phân mẫu với acid mạnh, sau đó được chuyển về pH trung tính rồi thực hiện phân tích trên hệ thống LC–MS/MS. Quá trình thủy phân được khảo sát theo các yếu tố: dung dịch thủy phân, thời gian và khối lượng mẫu. Hệ thống LC–MS/MS sử dụng nguồn ion hóa phun điện tử (ESI+), chế độ MRM, cột tách Waters Acquity BEH HILIC, pha động là dung dịch đệm amoni format 20 mM pH 3,0 trong ACN/H₂O theo chương trình gradient. Phương pháp được thẩm định theo AOAC và tiêu chuẩn EC 2021/808. Kết quả cho thấy phương pháp có tính đặc hiệu cao, khoảng tuyến tính rộng với hệ số tương quan $R^2 > 0,995$, độ đúng, độ chính xác đảm bảo, độ nhạy phù hợp với LOD từ 1,12 – 2,83 mg/100 g, LOQ từ 3,36 – 8,49 mg/100 g. Phương pháp được áp dụng thành công để xác định hàm lượng acid amin trong 12 mẫu khoai mỡ tím được thu thập tại các tỉnh trong cả nước. Kết quả cho thấy hàm lượng trung bình của các acid amin tính trên chất khô dao động trong khoảng từ 120 mg/100 g (methionin) đến 1756 mg/100 g (acid glutamic).

Từ khóa: MS/MS; HILIC; Acid amin; Củ khoai mỡ tím; *Dioscorea alata* L.

Summary

Development of a Method for the Quantification of 16 Amino Acids in Purple Yam (*Dioscorea alata* L.) Tubers Using HILIC–MS/MS

This study aimed to develop and validate a hydrophilic interaction liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (HILIC–MS/MS) method for the quantification of sixteen amino acids in the tubers of purple yams (*Dioscorea alata* L.). The principle of the method is based on the hydrolysis of the sample with a strong acid, then converting it to neutral pH before performing analysis on an LC–MS/MS system. The hydrolysis procedure was optimized by investigating three main factors: hydrolysis reagent, hydrolysis time, and sample amount. The LC–MS/MS analysis was performed using an electrospray ionization source in positive mode (ESI+), multiple reaction monitoring (MRM), the Waters Acquity BEH HILIC column, and a mobile phase consisting of 20 mM ammonium formate at pH 3.0 in an ACN/H₂O mixture under a gradient elution program. The method was validated according to AOAC guidelines and EU Regulation 2021/808, evaluating system suitability, selectivity, linearity, limits of detection (LOD) and quantification (LOQ), trueness and precision. The results showed coefficients of determination (R^2) > 0.99 for all analytes. LOD values ranged from 1.12 to 2.83 mg/100 g and LOQ values from 3.36 to 8.49 mg/100 g. Results demonstrated high specificity and a wide linear range (correlation coefficient $R^2 > 0.995$), along with satisfactory accuracy and precision, meeting validation criteria. The validated method was successfully applied to quantify amino acids in 12 purple yam samples collected from provinces in Vietnam. The results showed that the average content of amino acids calculated on dry samples ranged from 120 mg/100 g (methionine) to 1756 mg/100 g (glutamic acid).

Keywords: MS/MS; HILIC; Amino acids; Purple yam tuber; *Dioscorea alata* L.

1. Đặt vấn đề

Khoai mỡ (*Dioscorea alata* L.) là một loại củ quen thuộc tại Việt Nam, có giá trị dinh dưỡng và được sử dụng làm thực phẩm. Màu tím đặc trưng của khoai mỡ do chứa hàm lượng anthocyanin phong phú [1], cùng các thành phần có hoạt tính sinh học khác như vi khoáng, acid amin, xơ kháng [2], góp phần quan trọng tạo nên tác dụng dược lý kiểm soát đường huyết [3]. Trong số các thành phần dinh dưỡng, acid amin của khoai mỡ cung cấp nguồn protein thiết yếu cho con người, có vai trò trong việc tổng hợp protein, điều hòa hoạt động enzym và duy trì sức khỏe cơ thể [2],[3]. Việc định

lượng các acid amin trong khoai mỡ tím trồng tại Việt Nam nhằm xác định giá trị dinh dưỡng của loài cây này, góp phần cung cấp cơ sở khoa học cho việc sử dụng trong chế biến thực phẩm và y học.

Hiện nay, các nghiên cứu định lượng acid amin trong nguyên liệu và sản phẩm có nguồn gốc thiên nhiên còn hạn chế. Các phương pháp truyền thống xác định hàm lượng acid amin thông qua hàm lượng protein tổng số theo phương pháp Kjeldahl (đo nitơ tổng) hoặc phương pháp Bradford (so màu đo quang). Gần đây, các phương pháp hiện đại xác định acid amin như sắc ký khí [4] hoặc HPLC với

detector thông thường [5],[6],[7] yêu cầu quy trình xử lý mẫu phức tạp, mặt khác có thể quá trình tách và xác định các chất không thành công do pic chất phân tích bị xen phủ vào các thành phần trong nền mẫu. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xây dựng và thẩm định phương pháp HILIC-MS/MS định lượng một số acid amin trong khoai

mỡ, tạo cơ sở cho các nghiên cứu hóa học, sinh học và ứng dụng trong kiểm tra, giám sát chất lượng.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mười hai mẫu củ khoai mỡ tím được thu thập tại các địa điểm khác nhau trong khoảng thời gian từ tháng 10 đến tháng 12 năm 2024 (Bảng 1).

Bảng 1. Danh sách các mẫu củ khoai mỡ tím

STT	Mã mẫu	Địa điểm thu mẫu trước 01/7/2025	Địa danh thu mẫu sau 01/7/2025
1	MT01	Hữu Lũng, Lạng Sơn	Hữu Lũng, Lạng Sơn
2	MT02	Hữu Lũng, Lạng Sơn	Hữu Lũng, Lạng Sơn
3	MT03	Lạng Giang, Bắc Giang	Lạng Giang, Bắc Ninh
4	MT04	Lạng Giang, Bắc Giang	Lạng Giang, Bắc Ninh
5	MT05	Lâm Thao, Phú Thọ	Lâm Thao, Phú Thọ
6	MT06	Bát Xát, Lào Cai	Bát Xát, Lào Cai
7	MT07	Tân Phước, Tiền Giang	Tân Phước, Đồng Tháp
8	MT08	Tân Phước, Tiền Giang	Tân Phước, Đồng Tháp
9	MT09	Tân Phước, Tiền Giang	Tân Phước, Đồng Tháp
10	MT10	Thạch Hóa, Long An	Thạch Hóa, Tây Ninh
11	MT11	Thạch Hóa, Long An	Thạch Hóa, Tây Ninh
12	MT12	Tân Thạnh, Long An	Tân Thạnh, Tây Ninh

Để xác nhận danh tính loài của các mẫu thu thập, ADN tổng số được tách chiết từ mẫu thực vật và sử dụng làm khuôn cho phản ứng PCR khuếch đại vùng gen *matK*. Sản phẩm PCR được giải trình tự bằng phương pháp Sanger. Các trình tự thu được được so sánh với các trình tự tham chiếu trên cơ sở dữ liệu GenBank bằng công cụ BLAST. Kết quả định danh được sử dụng để xác nhận danh tính loài của các mẫu trước khi tiến hành phân tích thành phần và hàm lượng acid amin.

Sau khi thu hái, mẫu được rửa sạch, để ráo nước, gọt bỏ phần vỏ và cắt thành các lát nhỏ. Mẫu được làm khô, sau đó đóng kín trong túi PE và bảo quản ở nhiệt độ phòng.

Mẫu nền (mẫu placebo): mẫu tinh bột được phân tích sơ bộ bằng phương pháp sử dụng trong nghiên cứu và không phát hiện các acid amin mục tiêu.

2.2. Chất chuẩn, dung môi, hóa chất

Chất chuẩn: Chuẩn hỗn hợp gồm 16 acid amin gồm alanin (Ala), arginin (Arg), acid aspartic (Asp), acid glutamic (Glu), glycin (Gly), histidin (His), isoleucin (Ile), leucin (Leu), lysin (Lys), methionin (Met), phenylalanin (Phe), prolin (Pro), serin (Ser), threonin (Thr), tyrosin (Tyr) và valin (Val) nồng độ mỗi chất 2,500 mM, số lô: 0000326252; nội chuẩn (IS) norvalin (Nor) số lô: SLBS6053, độ tinh khiết > 99% của hãng Sigma (Mỹ). Dung dịch chuẩn hỗn hợp được pha loãng với methanol để được dãy dung dịch chuẩn nồng độ từ 2-200 μ M.

Dung môi, hóa chất: Các thuốc thử sử dụng trong xử lý mẫu loại tinh khiết phân tích;

acetonitril (ACN), methanol (MeOH), nước cất, amoni format (HCOONH_4), acid formic (HCOOH) loại tinh khiết LC-MS.

2.3. Thiết bị, dụng cụ

- Hệ thống sắc ký lỏng LC-MS/MS model H-class - Xevo TQD của hãng Waters, Mỹ. Tủ sấy đối lưu tự nhiên ED 720 Binder dải nhiệt độ đến 300 $^{\circ}\text{C}$, độ chính xác ± 1 $^{\circ}\text{C}$. Ống thủy phân bằng thủy tinh 8 mL kích thước 17 $\times$ 60 mm của ALWSCI (Trung Quốc) và các thiết bị, dụng cụ thông thường khác trong phòng phân tích. Tất cả các thiết bị được quản lý và hiệu chuẩn theo các quy định của TCVN ISO/IEC 17025.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

Điều kiện khối phổ: Dựa trên các tài liệu tham khảo [8],[9] và tính năng tối ưu hóa của thiết bị. Tiêm dung dịch chuẩn hỗn hợp acid amin nồng độ mỗi chất 50 μ M vào hệ thống MS để xác định thông số máy khối phổ, mảnh ion mẹ, ion con đặc trưng của mỗi chất phân tích.

Điều kiện sắc ký: Dựa vào các nghiên cứu [8],[9] kết hợp với điều kiện có sẵn tại phòng thí nghiệm, các chất được tách bằng cột Waters Acquity BEH HILIC (100 $\times$ 2,1 mm; 1,7 μ m). Pha động A dung dịch 20 mM HCOONH_4 (pH 3,0) trong $\text{H}_2\text{O}:\text{ACN}$ tỷ lệ 9:1 (tt/tt) và pha động B dung dịch 20 mM HCOONH_4 (pH 3,0) trong $\text{H}_2\text{O}:\text{ACN}$ tỷ lệ 1:9 (tt/tt); gradient dung môi: 0 $\rightarrow$ 9,0 phút: 100% B; 9,0 $\rightarrow$ 9,5 phút: 100 $\rightarrow$ 90% B; 9,5 $\rightarrow$ 15,0 phút: 90 $\rightarrow$ 50% B; 15,0 $\rightarrow$ 20,0 phút: 50 $\rightarrow$ 100% B). Tốc độ dòng 0,4 mL/phút. Thể tích tiêm mẫu là 2 μ L.

Xử lý mẫu: Dựa trên các tài liệu tham khảo [2],[8],[9],[7], quy trình xử lý mẫu dự kiến như sau: Cân một lượng mẫu khoảng 0,10 – 0,50 g đã được nghiền và rây qua rây cỡ 250 bằng cân phân tích, cho vào ống thủy phân. Thêm chính xác 0,5 mL dung dịch IS 1 mM vào lọ thủy phân và thêm khoảng 7 mL dung dịch HCl 6 M chứa 0,1% phenol và acid 3-3'-dithiodipropionic (DDP) 1% vừa đủ, lắc đều. Đặt ống thủy phân vào tủ ở nhiệt độ $110^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ trong thời gian xác định. Lấy ống thủy phân ra, để nguội ở nhiệt độ phòng và chuyển vào bình định mức 50 mL. Điều chỉnh pH của dung dịch đến khoảng 5 - 6 bằng NH_4OH đặc (khoảng 4 – 5 mL), thêm methanol vừa đủ tới vạch, lắc đều. Lọc qua màng lọc nylon đường kính lỗ lọc 0,2 μm và pha loãng dịch lọc bằng methanol để đạt nồng độ phù hợp trước phân tích. Tiến hành khảo sát thuốc thử thủy phân, thời gian thủy phân và khối lượng mẫu thử, lựa chọn điều kiện cho phép xác định được hàm lượng các chất cao nhất.

Thẩm định phương pháp: Thực hiện theo hướng dẫn của AOAC để đánh giá các tiêu chí độ đặc hiệu, đường chuẩn và khoảng tuyến tính, giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ), độ đúng (độ thu hồi) và độ chính xác. Mẫu MT01 và

mẫu nền được sử dụng trong xây dựng và thẩm định phương pháp phân tích.

Ứng dụng phân tích mẫu thực: Xử lý mẫu theo quy trình đã lựa chọn, phân tích bằng LC-MS/MS. Tính nồng độ chất phân tích trong mẫu thử dựa vào phương trình hồi quy biểu diễn mối tương quan giữa tỷ lệ diện tích pic của chất phân tích và chất chuẩn nội với nồng độ chất phân tích được xây dựng trong cùng ngày phân tích có $R^2 \geq 0,995$. Hàm lượng chất phân tích (mg/100 g) được tính theo công thức:

$$X (\text{mg}/100 \text{ g}) = \frac{C \times M \times V \times k}{m_t \times 10^6} \times 100$$

Trong đó: C: nồng độ chất phân tích trong mẫu thử tính từ đường chuẩn (μM); M: khối lượng mol (g/mol); V: thể tích định mức (mL); k: hệ số pha loãng của dung dịch thử; m_t : Khối lượng mẫu thử (g).

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Xây dựng phương pháp phân tích

Khảo sát lựa chọn điều kiện MS/MS

Điều kiện khối phổ tối ưu phân tích 16 acid amin là chế độ ion hóa: ESI (+); nhiệt độ nguồn ion hoá: 500°C ; tốc độ khí: 1000 lít/ giờ; điện thế kim phun: 3,5 kV và điều kiện phân mảnh được trình bày trong Bảng 2.

Bảng 2. Điều kiện phân mảnh phổ của các acid amin nghiên cứu

Chất phân tích	Khối lượng phân tử	Mảnh mẹ (m/z)	Mảnh ion con (m/z)	Thế đầu vào (V)	Năng lượng va chạm (eV)	Số điểm IP
Gly	75	76	29,9*	18	5	5
			47,8		5	
Ala	89	90,1	44,2*	22	8	5
			62,0		8	
Ser	105	106,1	40,4	20	18	5
			59,9*		10	
Pro	115	116,1	70,1*	28	12	5
			74,5		13	
Val	117	118,1	55,1	22	18	5
			72,2*		11	
Thr	119	120,1	74,2	44	13	5
			102,9*		13	
Leu	131	132,1	69,1	16	20	5
			86,1*		10	
Ile	131	132,1	86,1*	16	10	5
			73,9		13	

Asp	133	134,1	87,9	20	10	5
			84,1*		13	
Lys	146	147,1	130,2	22	10	5
			83,9*		13	
Glu	147	148,1	130,1	22	9	5
			56,1*		15	
Met	149	150,1	103,9	16	9	5
			82,9*		28	
His	155	156,1	110,2*	26	13	5
			102,9		28	
Phe	165	166,1	120,1*	120	13	5
			59,9		15	
Arg	174	175,1	70,0*	28	20	5
			123,1		15	
Tyr	181	182,1	136,1*	26	14	5
			74,3		25	
IS	117	118,1	30,1	20	18	5
			72,2*		8	

* Mạnh ion sử dụng để định lượng.

Khảo sát và lựa chọn điều kiện xử lý mẫu

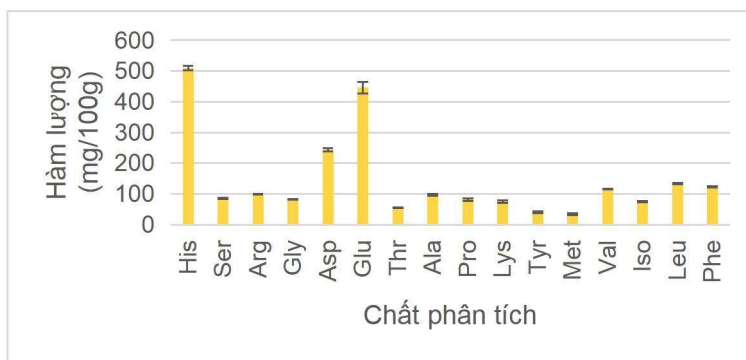
Thực hiện khảo sát thuốc thử thủy phân, thời gian thủy phân và khối lượng mẫu thử để xử lý mẫu khoai mỡ tím, mỗi điều kiện thực hiện lặp 3 lần, tính kết quả trung bình.

Khảo sát thuốc thử thủy phân: Khảo sát các thuốc thử A) dung dịch HCl 6 M chứa 0,1% phenol; B) dung dịch HCl 6M chứa 0,1% phenol và 1% DDP; C) dung dịch H₂SO₄ 3,5 M. Kết quả cho thấy thuốc thử A có kết quả hàm lượng đối với Met thấp hơn khi sử dụng thuốc thử B; còn với dung dịch thuốc thử C thu được kết quả hàm lượng đối với Met, Phe và Tyr thấp hơn khi sử dụng thuốc thử A và B. Do vậy, dung dịch HCl 6M chứa 0,1% phenol và 1% DDP được lựa chọn làm thuốc thử thủy phân mẫu trong nghiên cứu tiếp theo.

Khảo sát và lựa chọn thời gian thủy phân: Khảo sát thời gian thủy phân gồm 20 giờ, 24 giờ và 28 giờ. Kết quả cho thấy hàm lượng các acid amin đều có xu hướng tăng khi tăng thời gian thủy phân từ 20 giờ đến 24 giờ và khác nhau không đáng kể khi tăng thời gian từ 24 giờ lên 28 giờ. Do đó, lựa chọn thời gian thủy phân mẫu 24 giờ trong nghiên cứu tiếp theo.

Khảo sát khối lượng mẫu: Khảo sát khối lượng mẫu 0,10 g, 0,20 g và 0,50 g. Kết quả cho thấy khi khối lượng mẫu tăng từ 0,10 g lên 0,20 g, kết quả hàm lượng các acid amin khác nhau không đáng kể. Tuy nhiên, khi tăng khối lượng mẫu lên 0,50 g thì kết quả phân tích hàm lượng acid amin thấp hơn so với khối lượng mẫu 0,10 g và 0,20 g. Mặc dù khối lượng 0,10 g cho kết quả tương đương với 0,20 g, khối lượng 0,20 g được lựa chọn do lượng mẫu lớn hơn giúp tăng tính đại diện của mẫu và giảm ảnh hưởng tương đối của sai số trong quá trình cân, đồng thời vẫn cho kết quả phân tích tương đương với 0,10 g. Do đó, 0,20 g được lựa chọn làm khối lượng mẫu sử dụng trong quy trình phân tích.

Từ các kết quả khảo sát thu được, quy trình xử lý mẫu được thực hiện như ở phần xử lý mẫu - mục 2.3 với điều kiện lựa chọn đối với khối lượng mẫu thử là 0,20 g; dung dịch thuốc thử HCl 6 M chứa 0,1% phenol và DDP 1%; thời gian thủy phân 24 giờ. Hình 1 là biểu diễn kết quả hàm lượng các acid amin trong mẫu thử xác định được với điều kiện xử lý mẫu lựa chọn.



Hình 1. Kết quả hàm lượng các acid amin trong mẫu MT01 xác định được ở điều kiện xử lý mẫu lựa chọn

3.2. Thẩm định phương pháp

Độ thích hợp hệ thống

Độ thích hợp của hệ thống được đánh giá bằng kết quả tiêm lặp lại sáu lần dung dịch chuẩn hỗn hợp các chất phân tích nồng độ 5 μM pha bằng MeOH vào hệ thống LC-MS/MS. Kết quả cho thấy RSD% của thời gian lưu trong khoảng từ 1,07% đến 1,81% ($< 2\%$) và RSD của tỷ lệ diện tích pic các chất phân tích dao động trong khoảng 2,27% đến 4,19% ($< 5\%$). Như vậy hệ thống đáp ứng yêu cầu theo AOAC.

Độ đặc hiệu

Tiến hành phân tích các mẫu gồm mẫu nền, mẫu chuẩn (nồng độ 25 μM) và mẫu thử. Kết quả thu được cho thấy: Thời gian lưu của các chất phân tích trên mẫu thử phù hợp với thời gian lưu của các chất tương ứng trên mẫu chuẩn, với độ chệch thời gian lưu nhỏ hơn 1%. Không xuất hiện pic đối với mẫu nền ở

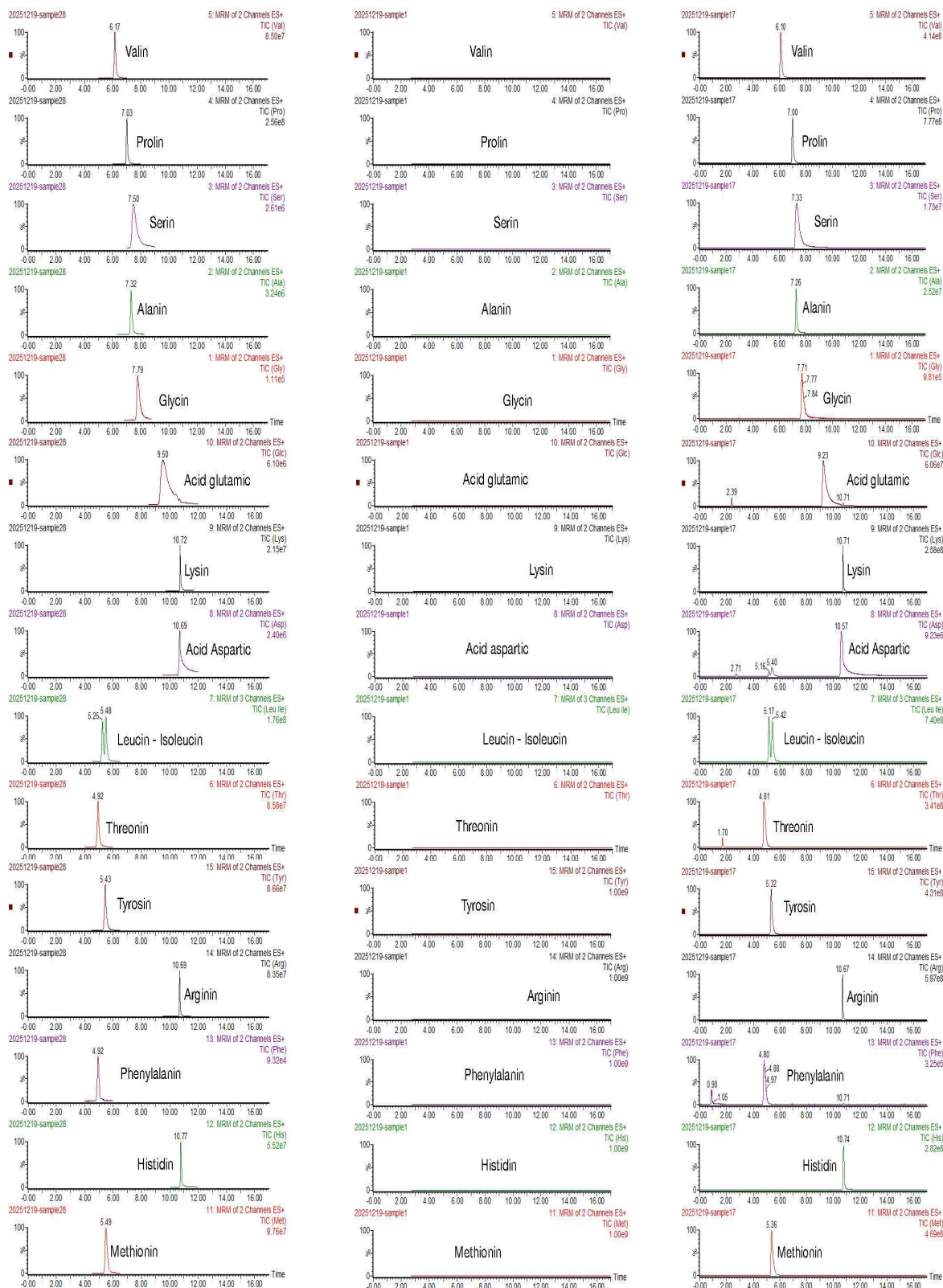
khoảng thời gian của các pic nói trên. Điểm IP = 5 đáp ứng yêu cầu của EC [10]. Các kết quả này cho thấy phương pháp đáp ứng về độ đặc hiệu. Hình 2 minh họa kết quả đánh giá độ đặc hiệu.

Đường chuẩn và khoảng tuyến tính

Chuẩn bị dãy dung dịch chuẩn hỗn hợp các acid amin trong methanol có nồng độ từ 2-200 μM . Tiến hành sắc ký. Xác định sự tương quan giữa tỉ lệ diện tích pic mỗi chất với nội chuẩn và nồng độ của mỗi chất tương ứng bằng phương pháp hồi quy tuyến tính, sử dụng trong số ($1/\text{nồng độ}$), tính hệ số tương quan hồi qui (R^2) và đánh giá độ chệch của đáp ứng tại mỗi điểm nồng độ trên đường chuẩn đối với từng chất (Bias). Kết quả ở Bảng 3 cho thấy có sự tương quan tuyến tính giữa tỉ lệ diện tích pic và nồng độ trong khoảng nồng độ khảo sát, giá trị độ chệch đều $< 15\%$, đạt yêu cầu theo AOAC [11] đối với tất cả các chất phân tích.

Bảng 3. Phương trình đường chuẩn và LOD, LOQ của các acid amin

Chất phân tích	RT (phút)	Đường chuẩn và khoảng tuyến tính			LOD và LOQ		
		R^2	Phương trình hồi quy	Bias (%)	LOD (mg/ 100 g)	LOQ (mg/ 100 g)	Giá trị R
Gly	7,79	1,0000	$y = 433,514x - 525,454$	-2,06- 5,61	1,38	4,14	6,66
Ala	7,30	0,9999	$y = 8625,81x - 5721,68$	-2,64- 1,86	1,12	3,36	9,72
Ser	7,45	0,9988	$y = 19492,8x - 27747,1$	-6,06- 4,37	1,42	4,26	8,45
Pro	7,02	0,9995	$y = 418673x + 1,29846$	-6,98- 7,34	2,03	6,09	7,11
Val	6,16	0,9964	$y = 154363x + 38774,9$	-8,68- 8,19	1,78	5,34	7,8
Thr	4,90	0,9972	$y = 250061x + 43163,5$	-9,14- 9,58	1,71	5,13	8,39
Leu	5,23	0,9972	$y = 299559x + 250949$	-10,3- 9,66	1,74	5,24	7,14
Ile	5,47	0,9986	$y = 352113x + 853548$	-6,71- 4,65	1,65	4,95	7,51
Asp	10,68	0,9998	$y = 4944,47x + 34361,7$	-4,36- 2,93	1,51	4,53	7,65
Lys	10,72	0,9991	$y = 37216,8x + 13098,8$	-7,88- 6,90	2,41	7,23	7,33
Glu	9,44	0,9995	$y = 60290,9x - 3082,85$	-5,37- 5,42	1,45	4,35	7,58
Met	5,46	0,9996	$y = 161934x - 79579,9$	-2,26- 4,09	2,83	8,49	6,44
His	10,77	0,9995	$y = 125887x - 70964,1$	-5,97- 5,20	1,38	4,14	6,58
Phe	4,91	0,9993	$y = 143,224x + 562,78$	-6,58- 5,10	2,62	7,86	6,96
Arg	10,69	0,9999	$y = 90502,7x - 66470,6$	-3,81- 2,94	1,45	4,35	7,25
Tyr	5,41	0,9992	$y = 171306x - 20103,1$	-4,00- 4,09	1,25	3,75	6,54
IS	10,69						



Mẫu chuẩn

Mẫu nền

Mẫu thử

Hình 2. Sắc ký đồ của các chất phân tích của dung dịch chuẩn, mẫu nền và mẫu thử

Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ)

LOD và LOQ của phương pháp được xác định bằng cách phân tích trên mẫu nền thêm chuẩn ở nồng độ 5 μM . Tiến hành lặp lại 10 lần song song, thủy phân và phân tích theo các điều kiện đã lựa chọn. Đánh giá độ tin cậy của giá trị LOD thông qua giá trị R: $R = \bar{x}/\text{LOD}$ (với $\bar{x}$ là giá trị hàm lượng trung bình) [12]. Nếu $4 < R < 10$ thì nồng độ

dùng dịch thử là phù hợp và LOD tính được là đáng tin cậy. Tính $\text{LOQ} = 3 \times \text{LOD}$. Kết quả được trình bày trong Bảng 3.

Độ chính xác

Độ lặp lại được tiến hành bằng cách phân tích độc lập mẫu MT01 lặp lại 6 lần. Độ chính xác trung gian cũng được tiến hành tương tự nhưng vào ngày phân tích khác. Đánh giá kết quả dựa trên số liệu của 2 ngày phân tích và được trình bày ở Bảng 4.

Bảng 4. Kết quả đánh giá độ chính xác của phương pháp

Chất phân tích	Ngày phân tích 1 (n=6)		Ngày phân tích 2 (n=6)		RSD_R (%)
	Hàm lượng trung bình (mg/100 g)	RSD_r (%)	Hàm lượng trung bình (mg/100 g)	RSD_r (%)	
Gly	83,4	2,45	86,9	3,30	3,52
Ala	99,1	1,99	91,6	2,63	4,66
Ser	86,4	1,77	89,5	3,53	3,26
Pro	85,1	1,5	81,3	0,60	2,63
Val	115	3,69	108	2,49	4,47
Thr	56,1	2,64	58,6	2,22	3,25
Leu	134	3,94	142	3,16	4,54
Ile	76,9	2,65	74,3	2,70	3,12
Asp	236	1,89	235	3,44	2,65
Lys	42,5	1	44,8	3,54	3,74
Glu	421	2,63	402	3,12	3,65
Met	35,5	1,21	37,9	3,63	4,32
His	496	2,1	487	3,64	2,98
Phe	123	1,37	122	2,68	2,07
Arg	95,1	2,05	95,5	3,33	2,65
Tyr	31,5	2,35	33,1	2,69	3,54

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy phương pháp được xây dựng có độ lặp lại và độ chính xác trung gian đáp ứng theo yêu cầu của AOAC [11] ($\text{RSD}_r < 3,7\%$; $\text{RSD}_R < 6,0\%$).

Độ thu hồi

Độ thu hồi của phương pháp được đánh giá bằng cách thêm chuẩn vào mẫu MT01 đã biết hàm lượng, tiến hành phân tích theo quy trình đã xây dựng. Các

mẫu được bổ sung chuẩn ở ba mức tương ứng 0,5 $\mu\text{mol/g}$; 5 $\mu\text{mol/g}$ và 50 $\mu\text{mol/g}$ đối với mỗi acid amin. Tiến hành xử lý mẫu và pha loãng đến nồng độ phù hợp trước khi phân tích. Kết quả phân tích được thể hiện ở Bảng 5. Độ thu hồi của cả 16 chất phân tích đều nằm trong khoảng từ 95,0 – 105,0%, đáp ứng theo yêu cầu của AOAC [11].

Bảng 5. Kết quả đánh giá độ thu hồi của phương pháp

Acid amin	Lượng thêm chuẩn ($\mu\text{mol/g}$)	Độ thu hồi (H%)	Acid amin	Lượng thêm chuẩn ($\mu\text{mol/g}$)	Độ thu hồi (H%)
Gly	0,5	95,1 - 105	Lys	0,5	97,8 - 104
	5	96,1 - 103		5	101 - 104
	50	102 - 105		50	102 - 104
Ala	0,5	95,7 - 105	Glu	0,5	95,8 - 102
	5	95,2 - 109		5	91,2 - 98,5
	50	99,5 - 105		50	93,4 - 101
Ser	0,5	95,4 - 103	Met	0,5	96,6 - 102
	5	95,4 - 98,1		5	95,5 - 103
	50	98,1 - 105		50	97,0 - 105

Pro	0,5	95,3 - 105	His	0,5	95,8 - 109
	5	97,0 - 102		5	90,9 - 99,5
	50	95,1 - 98,9		50	96,9 - 103
Val	0,5	96,8 - 98,6	Phe	0,5	98,3 - 102
	5	95,9 - 104		5	95,6 - 103
	50	97,6 - 105		50	95,1 - 104
Thr	0,5	97,0 - 99,9	Arg	0,5	90,1 - 98,3
	5	95,2 - 103		5	90,9 - 101
	50	96,9 - 99,4		50	90,2 - 100
Leu	0,5	93,4 - 99,6	Tyr	0,5	94,3 - 100
	5	95,9 - 101		5	91,0 - 98,1
	50	95,1 - 103		50	92,7 - 98,1
Ile	0,5	95,3 - 98,7	Asp	0,5	94,8 - 98,9
	5	91,0 - 102		5	95,9 - 103
	50	96,8 - 100		50	95,3 - 98,1

Từ các kết quả thẩm định cho thấy: Phương pháp LC-MS/MS được thẩm định dựa trên các tiêu chí theo hướng dẫn của AOAC [11] và tiêu chuẩn Châu Âu (EC 2021/808) [10] bao gồm độ thích hợp hệ thống, độ chọn lọc, đường chuẩn, giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng, độ thu hồi, độ lặp lại và độ chính xác trung gian. Điều này cho thấy phương pháp LC-MS/MS có thể triển khai áp dụng xác

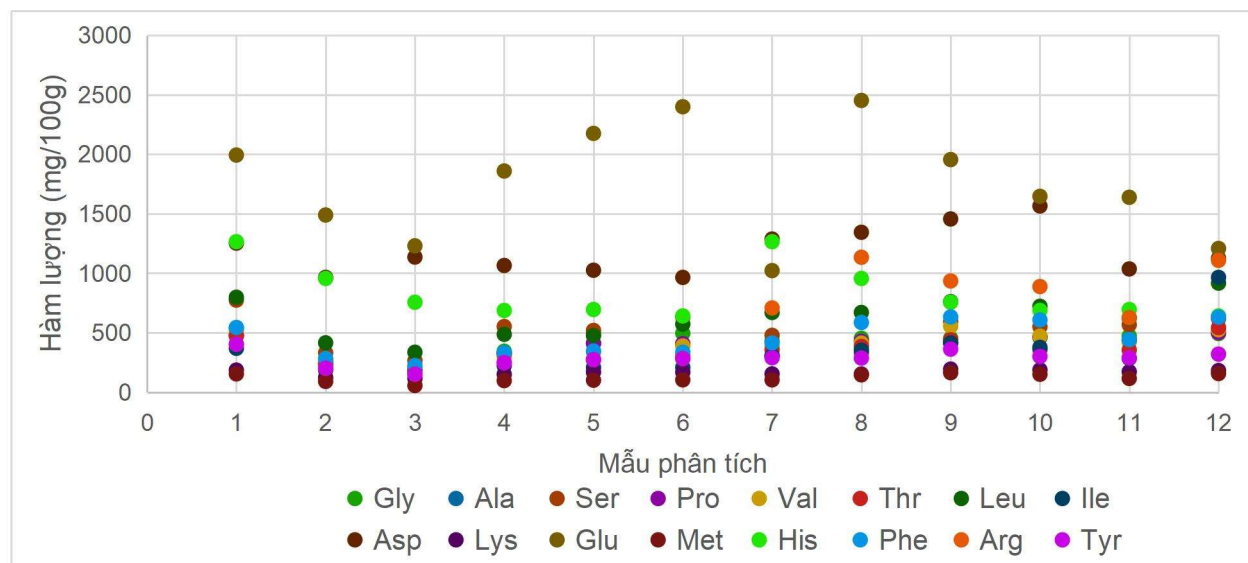
định hàm lượng 16 acid amin trong các mẫu khoai mỡ trên thị trường.

3.3. Ứng dụng phân tích mẫu thực

Áp dụng phương pháp đã xây dựng phân tích các mẫu thực, mỗi mẫu tiến hành lặp lại 3 lần, tính kết quả trung bình. Kết quả phân tích acid amin trong các mẫu củ khoai mỡ tím tính trên chất khô của 12 mẫu thử được trình bày ở Bảng 6 và Hình 3.

Bảng 6. Kết quả phân tích acid amin trong các mẫu khoai mỡ tím

Chất phân tích	Hàm lượng (mg/100 g)			
	Thấp nhất	Cao nhất	Trung bình	Độ lệch chuẩn
Gly	188	536	423	104
Ala	206	503	386	94
Ser	266	619	518	146
Pro	219	509	409	107
Val	198	555	397	112
Thr	188	543	353	100
Leu	336	917	621	170
Ile	167	414	288	86
Asp	965	1565	1185	196
Lys	115	194	163	25
Glu	1022	2452	1756	466
Met	56	164	120	34
His	641	1563	983	289
Phe	224	633	448	147
Arg	430	1220	805	272
Tyr	152	403	284	66
Tổng hàm lượng acid amin	5373	12790	9139	2414



Hình 3. Kết quả phân tích acid amin của 12 mẫu củ khoai mỡ tím

Kết quả trên cho thấy hàm lượng trung bình của từng acid amin tính trên chất khô dao động trong khoảng từ 120 mg/100 g (methionin) đến 1756 mg/100 g (acid glutamic). Hàm lượng tổng hàm lượng 16 acid amin trong các mẫu trong khoảng từ 5373 mg/100 g đến 12790 mg/100 g.

4. Bàn luận

Phân tích định lượng acid amin rất quan trọng trong nhiều lĩnh vực bao gồm kiểm nghiệm thuốc, kiểm nghiệm thực phẩm, theo dõi thay đổi thành phần môi trường trong sản xuất các chế phẩm sinh học, chẩn đoán lâm sàng và nghiên cứu y sinh. Các acid amin có tính phân cực cao, bay hơi kém và hầu hết có độ hấp thụ UV thấp. Do đó, để phân tích các chất này cần tạo dẫn xuất bằng thuốc thử thích hợp như *o*-phthalaldehyd để cải thiện khả năng lưu giữ khi tách bằng LC-RP và tăng cường độ nhạy khi phát hiện bằng detector UV / huỳnh quang [2],[5]. Chúng cũng có thể định lượng bằng sắc ký khí sau khi dẫn xuất tạo hợp chất bay hơi [4]. Quá trình này tốn nhiều công sức, thời gian và có thể không thành công do nền mẫu phức tạp hoặc hiệu lực của hệ sắc ký chưa đủ. Mặt khác, acid amin ở dạng tự do có thể định lượng trực tiếp bằng HPLC-UV mà không cần dẫn xuất nếu ở mức nồng độ lớn [6].

Tuy nhiên, với nền mẫu có nguồn gốc thiên nhiên phức tạp như củ khoai mỡ tím, các acid amin có hàm lượng nhỏ thì sử dụng HILIC và ESI-MS là sự lựa chọn tối ưu để phân tích các acid amin ở dạng tự do. Sự phân tách HILIC dựa trên sự phân cực của chất phân tích, vì vậy chất phân tích càng phân cực thì khả năng lưu giữ trên cột sắc ký càng

manh, do đó khả năng tách được tăng cường. Phân tích acid amin trong mẫu thử có nguồn gốc thiên nhiên cần xử lý mẫu để chuyển chúng về dạng acid amin tự do. Thuốc thử sử dụng thường là dung dịch acid hydrochloric có bổ sung thêm chất khử để giảm thiểu khả năng bị phân hủy hoặc oxy hóa của chất phân tích [2],[4],[8]. Trong nghiên cứu này, mẫu thử được thủy phân trong 24 giờ bằng thuốc thử HCl 6 M chứa 0,1% phenol và DDP 1% chuyển acid amin về dạng tự do và thu được hàm lượng các acid amin cao nhất. Kết quả này khá tương đồng với kết quả nghiên cứu của AOAC 2018.06 [7]. Phát hiện acid amin bằng MS/MS với chế độ kiểm soát đa phản ứng cho phép tăng độ đặc hiệu của phép định lượng. Phương pháp định lượng 16 acid amin trong củ khoai mỡ tím với chuẩn nội norvalin (một acid amin tổng hợp không có trong tự nhiên) được thẩm định cho thấy phương pháp có độ thu hồi nằm trong khoảng 95–105% ở cả 3 mức nồng độ thẩm định, độ chính xác có RSD < 6% đáp ứng yêu cầu AOAC [11] và EC 2021/808 [10]. Phương pháp có độ nhạy cao với LOD từ 1,12 – 2,83 mg/100 g và LOQ 3,36 – 8,49 mg/100 g, kết quả thẩm định cũng tương đồng với các nghiên cứu của Tsochatzis và cs. (2019) đã xác định đồng thời 16 acid amin trong lúa mì với LOQ dao động từ 7,0 – 24,0 mg/100 g [8].

Nghiên cứu này đã xác định hàm lượng 16 acid amin trong củ khoai mỡ tím. Trong đó, 08 loại acid amin thiết yếu mà cơ thể không thể tự tổng hợp được, cần được bổ sung qua chế độ ăn hàng ngày, gồm isoleucin, leucin, lysin, methionin, phenylalanin, threonin, valin và histidin và một số

acid amin như arginin, glycin, glutamin, prolin và tyrosin được coi là thiết yếu có điều kiện, bởi chúng có thể do cơ thể con người tự tổng hợp nhưng có thể bị hạn chế trong các điều kiện sinh lý đặc biệt [13]. Do vậy, việc phân tích hàm lượng 16 acid amin này không chỉ giúp xác định được giá trị dinh dưỡng của thành phần thực phẩm mà còn có ý nghĩa quan trọng trong y học đối với những người bệnh phải tuân thủ theo chế độ ăn nghiêm ngặt như người mắc bệnh tiểu đường, người mắc bệnh rối loạn chuyển hóa [4].

Trong số 12 mẫu được phân tích, hàm lượng các acid amin có sự khác biệt giữa các vùng trồng. Nhìn chung, các mẫu thu thập tại khu vực miền Nam (MT07–MT12) có hàm lượng alanin (Ala), valin (Val), phenylalanin (Phe) và serin (Ser) cao hơn so với các mẫu thu thập tại miền Bắc (MT01–MT06). Sự khác biệt này có thể liên quan đến ảnh hưởng của điều kiện khí hậu, thổ nhưỡng và các yếu tố canh tác đến quá trình sinh tổng hợp protein và tích lũy acid amin trong củ. Kết quả bước đầu cho thấy vùng trồng có thể là một trong những yếu tố ảnh hưởng đến thành phần acid amin của củ khoai mỡ tím. Tuy nhiên, do số lượng mẫu khảo sát còn hạn chế nên chưa đủ cơ sở để đánh giá một cách toàn diện sự khác biệt giữa các vùng trồng hoặc xác định vùng nguyên liệu có hàm lượng acid amin cao nhất.

5. Kết luận

Nghiên cứu đã xây dựng thành công phương pháp định lượng đồng thời 16 acid amin trong củ khoai mỡ tím (*Dioscorea alata* L.) với chất chuẩn nội norvalin bằng sắc ký lỏng tương tác thân nước – khối phổ hai lần (HILIC-MS/MS). Mẫu thử được thủy phân bằng thuốc thử gồm acid hydrocloric chứa phenol và acid 3,3'-dithiodipropionic, các acid amin được tách bằng cột Waters Acquity BEH HILIC, pha động gồm acetonitril và dung dịch đệm amoni format pH 3,0 theo chế độ gradient trong thời gian 20 phút. Phương pháp có độ đặc hiệu cao, độ nhạy phù hợp (LOQ 3,36 – 8,49 mg/100 g đối với 16 acid amin), độ đúng và độ chính xác đáp ứng yêu cầu tiêu chuẩn AOAC và EC 2021/808.

Phương pháp đã được ứng dụng thành công định lượng các chất nghiên cứu trên 12 mẫu củ khoai mỡ tím thu hái từ nhiều vùng khác nhau. Kết quả cho thấy tất cả 12 mẫu đều xác định được toàn bộ 16/16 acid amin nghiên cứu. Trong đó, methionin có hàm lượng thấp nhất ($120 \pm 33,6$ mg/100 g) và acid glutamic là cao nhất (1756 ± 466 mg/100 g). Hàm lượng tổng hàm lượng 16 acid amin trong các mẫu có kết quả thấp nhất là 6754 mg/100g và cao nhất là 11340 mg/100 g. Kết quả nghiên cứu góp phần cung cấp dữ liệu hóa học đáng tin cậy cho định hướng phát triển sản phẩm thực phẩm, dược liệu và nghiên cứu dinh dưỡng từ củ khoai mỡ tím tại Việt Nam.

Tài liệu tham khảo

1. Safitri E., Humaira H., Nazaruddin N., Susilawati S., Murniana M., Md Sani N. D. (2021), “*Dioscorea alata* L. anthocyanin extract methanol as a sensitive pH active compound”, *Journal of Physics: Conference Series*, 1869(1), 012058.
2. Doss A., Tresina P. S., Mohan V. R. (2019), “Amino acid composition of wild yam (*Dioscorea* spp.)”, *Food Research*, 3(5), 617-621.
3. Baah F. D., Maziya-Dixon B., Asiedu R., Oduro I., Ellis W. O. (2009), “Nutritional and biochemical composition of *D. alata* (*Dioscorea* spp.) tubers”, *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 7(2), 373-378.
4. Savych A., Marchyshyn S., Mosula L., Bilyk O., Humeniuk I., Davidenko A. (2022), “Analysis of amino acids content in the plant components of the antidiabetic herbal mixture by GC-MS”, *Pharmacia*, 69(1), 69-76.
5. Antoine F. R., Wei C. I., Littell R. C., Marshall M. R. (1999), “HPLC method for analysis of free amino acids in fish using o-phthalaldehyde precolumn derivatization”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(12), 5100-5107.
6. Eid S. M., Farag M. A., Bawazeer S. (2022), “Underivatized amino acid chromatographic separation: Optimized conditions for HPLC-UV simultaneous quantification of isoleucine, leucine, lysine, threonine, histidine, valine, methionine, phenylalanine, tryptophan, and tyrosine in dietary supplements”, *ACS Omega*, 7(35), 31106-31114.
7. AOAC International (2021), *AOAC official method 2018.06: Total amino acids in infant formula and adult nutritionals by UHPLC-UV*, Official Methods of Analysis of AOAC International.
8. Tsochatzis E., Papageorgiou M., Kalogiannis S. (2019), “Validation of a HILIC UHPLC-MS/MS method for amino acid profiling in *Triticum* species wheat flours”, *Foods*, 8(10), 514.
9. Kambhampati S., Li J., Evans B. S., Allen D. K. (2019), “Accurate and efficient amino acid analysis for protein quantification using hydrophilic interaction chromatography coupled tandem mass spectrometry”, *Plant Methods*, 15, 46.
10. European Commission (2021), *Commission Implementing Regulation (EU) 2021/808 of 22 March 2021 on the performance of analytical methods for residues of pharmacologically active substances used in food-producing animals and on the interpretation of results as well as on the methods to be used for sampling and repealing Decisions 2002/657/EC and 98/179/EC*, Official Journal of the European Union, L180, 84-109.
11. AOAC International (2016), *Guidelines for Standard Method Performance Requirements*, Official Methods of Analysis of AOAC International.
12. Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (2009), *Protocole pour la validation d'une méthode d'analyse en chimie (DR-12-VMC)*, Québec, Canada.
13. World Health Organization (2007), *Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition: Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation*, WHO Technical Report Series No. 935. Geneva, Switzerland: World Health Organization.