

**Phân tích hàm lượng acid amin trong một số loại bia sản xuất tại Việt Nam
bằng kỹ thuật sắc ký lỏng hiệu năng cao**

Trương Thị Bình Giang*

*Khoa Hóa học, Trường Sư phạm, Trường Đại học Vinh, 182 Lê Duẩn,
phường Trường Vinh, tỉnh Nghệ An, Việt Nam*

Ngày nhận bài 21/11/2025; ngày chuyên phản biện 24/11/2025; ngày nhận phản biện
2/12/2025; ngày chấp nhận đăng 23/2/2026

Tóm tắt:

Các mẫu bia chai được thu mua tại một số siêu thị thuộc phường Trường Vinh, tỉnh Nghệ An được ký hiệu là mẫu bia 1, 2, 3 và 4. Hàm lượng các acid amin trong bia (dạng tự do và dạng thu được sau thủy phân protein) được phân tích bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) - kỹ thuật có độ chính xác và độ tin cậy cao. Kết quả phân tích cho thấy, bia không chỉ là thức uống giải khát mà nó còn cung cấp cho con người một lượng acid amin nhất định. Trong các mẫu bia phân tích này có đầy đủ 17 loại acid amin tự do được xác định (ngoại trừ trong mẫu bia 3 và 4) cùng với các acid amin thu được từ quá trình thủy phân, và trong đó có 7/8 loại acid amin thiết yếu cần thiết cho người trưởng thành. Trong 17 loại acid amin, proline có hàm lượng lớn nhất (trung bình khoảng 195,6578 µg/ml) và một số acid amin thiết yếu có hàm lượng cao như phenylalanin, leucin, isolucin...

Từ khóa: acid amin, bia, phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao.

Chỉ số phân loại: 2.10

*Email: tbgiang1912@gmail.com

**Analysis of amino acid content in several types of beer produced in Vietnam
using high-performance liquid chromatography technique**

Thi Binh Giang Truong*

*Faculty of Chemistry, School of Education, Vinh University, 182 Le Duan Street,
Truong Vinh Ward, Nghe An Province, Vietnam*

Received 21 November 2025; revised 2 December 2025; accepted 23 February 2026

Abstract:

The bottled beer samples collected from several supermarkets in Truong Vinh ward, Nghe An province, are labeled as sample 1, 2, 3, and 4. The amino acid content in beer (free form and form obtained after protein hydrolysis) was analysed by high-performance liquid chromatography (HPLC), a technique with high accuracy and reliability. The analysis results showed that beer is not only a refreshing drink but also provides humans with a certain amount of amino acids. In these analyzed beer samples, all 17 types of free amino acids were identified (except in samples 3 and 4) along with amino acids obtained from the hydrolysis process, and of which 7/8 types of essential amino acids are necessary for adults. Of the 17 types of amino acids, proline has the highest content (average about 195,6578 µg/ml) and some essential amino acids have high content such as phenylalanine, leucine, isolucine...

Keywords: amino acids, beer, high-performance liquid chromatography.

Classification number: 2.10

1. Đặt vấn đề

Ngày nay, cùng với sự phát triển mạnh mẽ của khoa học - kỹ thuật, đặc biệt là trong các lĩnh vực công nghệ sinh học, y học và công nghệ thực phẩm, việc đánh giá chất lượng thực phẩm ngày càng được quan tâm và chú trọng. Trong số nhiều chỉ tiêu được sử dụng để xác định chất lượng thực phẩm như hàm lượng đường, chất béo (lipit), protein, acid amin, khoáng chất hay vitamin... thì acid amin được xem là yếu tố quan trọng hàng đầu.

Acid amin là thành phần cấu tạo nên enzyme và hệ thống hormon của cơ thể. Chúng tham gia vào quá trình hình thành các acid nucleic như ARN (acid ribonucleic) và ADN (acid deoxyribonucleic), góp phần vận chuyển oxy và hỗ trợ hoạt động của

các cơ. Nguồn cung cấp acid amin chủ yếu đến từ các thực phẩm giàu protein. Khi được đưa vào cơ thể, protein sẽ được phân giải thành 20 loại acid amin khác nhau, trong đó có 8 acid amin thiết yếu mà cơ thể không thể tự tổng hợp, bao gồm: isoleucin, leucin, lysin, methionin, phenylalanin, threonin, tryptophan và valin. Việc thiếu hụt các acid amin này có thể gây ra tình trạng mệt mỏi, hạ đường huyết và các phản ứng dị ứng [1, 2].

Việc phân tích, tách và xác định thành phần acid amin trong các loại thực phẩm có ý nghĩa quan trọng, giúp chúng ta biết cách kết hợp các thực phẩm một cách hợp lý nhằm nâng cao giá trị dinh dưỡng và chất lượng protein trong khẩu phần ăn. Đây là một vấn đề mang tính thiết thực và có ý nghĩa thời sự trong việc nghiên cứu, đánh giá các nguồn thực phẩm giàu acid amin ở Việt Nam. Bên cạnh đó, việc này còn góp phần bổ sung và hoàn thiện cơ sở dữ liệu cho bảng thành phần thực phẩm Việt Nam, đồng thời cung cấp thông tin khoa học phục vụ cho các nghiên cứu trong lĩnh vực dinh dưỡng và sức khỏe cộng đồng.

Trong các bữa ăn hiện nay, bia là một trong những loại đồ uống giải khát được sử dụng phổ biến nhất. Lượng tiêu thụ bia trên thế giới ngày càng tăng, ở Việt Nam lượng tiêu thụ bia năm 2003 là 1,29 tỷ lít, năm 2008 đã lên đến 2 tỷ lít [3] và theo số liệu năm 2022 là 3,8 tỷ lít, xếp thứ 9 trên thế giới, đứng đầu Đông Nam Á và thứ 3 châu Á (sau Trung Quốc và Nhật Bản). Nghiên cứu của các nhà khoa học tại Boston cho thấy, việc uống bia với lượng vừa phải có thể mang lại lợi ích sức khỏe nhất định. Cụ thể, những người uống ít (1-6 ly/tuần) hoặc uống điều độ (7-14 ly/tuần) có nguy cơ đột quỵ thấp hơn so với người hoàn toàn không uống. Tuy nhiên, khi tiêu thụ quá mức (trên 15 ly/tuần), nguy cơ đột quỵ lại tăng cao, đồng thời còn gây tổn thương mô não và dẫn đến cảm giác đau do sự hao mòn của các tế bào thần kinh [4].

Không chỉ là thức uống giải khát, bia còn chứa nhiều thành phần dinh dưỡng có giá trị, trong đó có 17 loại acid amin phổ biến. Dù vậy, hầu hết các nghiên cứu trong nước mới chỉ tập trung vào việc xác định hàm lượng protein tổng mà chưa đi sâu phân tích hàm lượng và tỷ lệ cụ thể của các acid amin, đặc biệt là các acid amin thiết yếu. Điều này có nghĩa là chất lượng protein trong bia vẫn chưa được đánh giá đầy đủ và chính xác.

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) là kỹ thuật phân tích hiện đại, được đánh giá cao nhờ tính đơn giản, tốc độ nhanh và độ chính xác, tin cậy. Trong những năm gần đây, HPLC đã được ứng dụng rộng rãi trong lĩnh vực phân tích và kiểm soát chất lượng thực phẩm, đặc biệt trong việc xác định các chỉ tiêu quan trọng như acid amin, vitamin, kháng sinh, hay các chất phụ gia thực phẩm [5-11].

Xuất phát từ thực tế đó nghiên cứu này đã tiến hành xác định hàm lượng acid amin trong một số loại bia bằng HPLC nhằm đánh giá thành phần dinh dưỡng và chất lượng protein trong sản phẩm.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu, hóa chất và thiết bị

Vật liệu nghiên cứu: các mẫu bia lon được ký hiệu là 1, 2, 3 và 4 được mua tại một số siêu thị tại phường Trường Vinh, tỉnh Nghệ An.

Các hóa chất sử dụng trong phân tích, chuẩn acid amin có độ tinh khiết phân tích p.a được mua từ hãng Merck, chuyên dùng cho thiết bị phân tích HPLC, cụ thể bao gồm: dung dịch chuẩn acid amin nồng độ 25, 100, 250, 1000 pmol/ μ l; chất tạo dẫn xuất: o-phthalaldehyd (OPA) và 3-mercaptopropionic acid in borate bufer; dung dịch acid acetic 1-2%; dung dịch acetate trihydrate NaCH_3COO ; Dung dịch HCl đậm đặc (36-38%); dung dịch đệm borate trong nước, pH=10,2; thuốc thử FMOC (9-fluorenylmethylchloro trong acetonitrile).

Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Agilent 1100 series (Mỹ); cột C18 kích thước hạt 5 μ m (150 $\times$ 4,6 mm); màng lọc dung môi 0,22 μ m.

Cân phân tích độ chính xác 0,0001 gam (Đức); tủ sấy Memmert (Đức); máy hút chân không Memmert (Đức); máy đo pH để bàn (Đức); bể siêu âm (Elma, Đức); máy lọc nước siêu tinh khiết Direct Q 5UV (Merck Millipore, Pháp) và các dụng cụ khác phù hợp với phép phân tích.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Điều kiện sắc ký

Cột sắc ký: Cột C18 (150 $\times$ 4,6 mm, kích thước hạt 5 μ m). Nhiệt độ cột: 40°C. Tốc độ dòng: 0,45 ml/phút. Chương trình chạy theo gradient: Pha động A: Cân 1,36 g CH_3COONa cho vào cốc 1000 ml. Thêm 500 ml H_2O , khuấy cho tan CH_3COONa , thêm 90 μ l triethylamin (TEA) khuấy đều. Điều chỉnh pH về pH=7,2 $\pm$ 0,05 bằng vài

giọt acid axetic 1-2% và 1,5 ml tetrahydrofuran (THF). Pha động B: Cân 1,36 g CH_3COONa cho vào cốc 500 ml. Thêm 100 ml H_2O , khuấy cho tan CH_3COONa , điều chỉnh pH về $\text{pH}=7,2\pm0,05$ bằng vài giọt acid axetic 1-2% rồi thêm hỗn hợp gồm 200 ml acetonitril và 200 ml methanol. Đầu dò: huỳnh quang bước sóng 340-455 nm.

2.2.2. Xây dựng đường chuẩn xác định acid amin

Để xây dựng đường chuẩn, tác giả đã chuẩn bị một dãy dung dịch chuẩn có nồng độ lần lượt là: 10, 25, 100 pmol. Tiến hành chạy trên máy đo HPLC.

2.2.3. Xử lý mẫu

Xác định acid amin tự do trong bia: Rót bia vào cốc sạch, cho bay hơi hết CO_2 . Sau đó, lọc bia qua màng lọc 0,22 μm . Tiến hành phân tích mẫu trên HPLC.

Xác định acid amin sau khi thủy phân mẫu bia: Lấy chính xác 10 ml mẫu cho vào ống nghiệm sạch. Thêm lần lượt 1,17/1,49/1,58 ml dung dịch HCl đậm đặc sao cho sau khi thêm HCl ta được môi trường thủy phân có nồng độ HCl là 5,0 M (12,5%)/6,0 M (15%)/6,5 M (16,25%). Cho các ống nghiệm vào máy hút chân không để loại bỏ không khí trong vòng 15 phút. Đậy nắp ống nghiệm ngay sau khi tắt máy. Tiến hành thủy phân mẫu ở nhiệt độ 125°C trong 24 giờ. Lấy mẫu ra khỏi tủ sấy, để nguội, mở ống nghiệm, điều chỉnh về $\text{pH}=5\div6$ bằng $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,25M. Định mức vào bình 50 ml với nước cất để ion, lọc qua giấy lọc thường sau đó lọc qua màng lọc 0,22 μm . Điều chỉnh về $\text{pH}=9\div10$ bằng $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,25M (cứ 1 ml mẫu thêm 1 ml $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,25 M), cho mẫu vào vial tiến hành phân tích mẫu trên HPLC [12].

2.2.4. Phương pháp thực hiện

Cách tiến hành:

- Lấy chính xác 10 ml mẫu cho vào ống nghiệm sạch;
- Thêm lần lượt 1,17/1,49/1,58 ml dung dịch HCl đậm đặc sao cho sau khi thêm HCl ta được môi trường thủy phân có nồng độ HCl là 5 M (12,5%)/6 M (15%)/6,5 M (16,25%);
- Cho các ống nghiệm vào máy hút chân không để loại bỏ không khí trong vòng 15 phút. Đậy nắp ống nghiệm ngay sau khi tắt máy;
- Tiến hành thủy phân mẫu ở nhiệt độ $110^\circ\text{C}/125^\circ\text{C}/140^\circ\text{C}$ trong 24 giờ hoặc ở nhiệt độ 125°C trong 18/24/25 giờ;

- Lấy mẫu ra khỏi tủ sấy. Để nguội, mở ống nghiệm, điều chỉnh về pH=5÷6 bằng $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,25M;

- Định mức vào bình 50 ml với nước cất để ion;

- Lọc qua giấy lọc thường sau đó lọc qua màng lọc 0,22 μm ;

- Điều chỉnh về pH=9÷10 bằng $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,25 M (cứ 1 ml mẫu thêm 1 ml $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,25M);

- Cho mẫu vào vial tiến hành chạy mẫu theo trình tự đã cài sẵn.

Tiến hành phân tích trên máy:

- Cột sắc ký: Cột C18 (150×4,6 mm, kích thước hạt 5 μm);

- Nhiệt độ cột: 40°C;

- Tốc độ dòng: 0,45 ml/phút;

- Pha động (bảng 1).

Bảng 1. Pha động A và B tính theo gradient.

TT	Thời gian (phút)	A %	B %	Tốc độ (ml/phút)
1	0,0	100	0	0,45
2	17,0	40	60	0,45
3	18,0	0	100	0,45
4	18,1	0	100	0,45
5	18,5	0	100	0,8
6	23,9	0	100	0,8
7	24,0	0	100	0,45
8	25,0	100	0	0,45

- Chương trình bơm mẫu (bảng 2).

Bảng 2. Chương trình bơm mẫu.

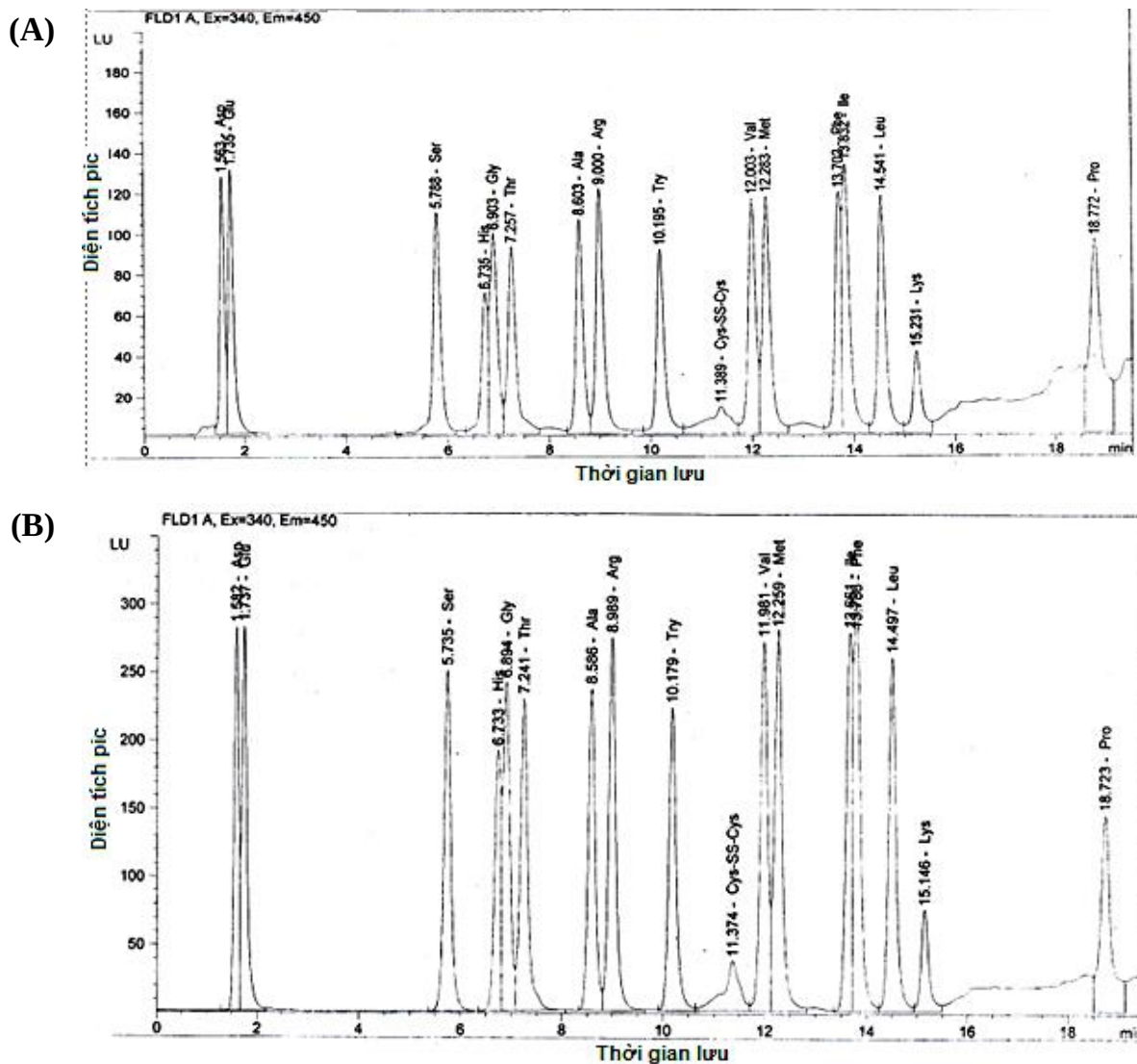
TT	Chương trình
1	Lấy 5 μl từ vial 10 - Đệm borate
2	Lấy 1 μl từ vial 11 - Dẫn xuất o-phthalaldehyd
3	Lấy 0 μl từ vial 12 - Nước
4	Lấy 1 μl từ vial chứa mẫu
5	Lấy 0 μl từ vial 12 - Nước
6	Trộn mẫu
7	Lấy 1 μl từ vial 14 - 9-fluorenylmethylchloro trong acetonitrile

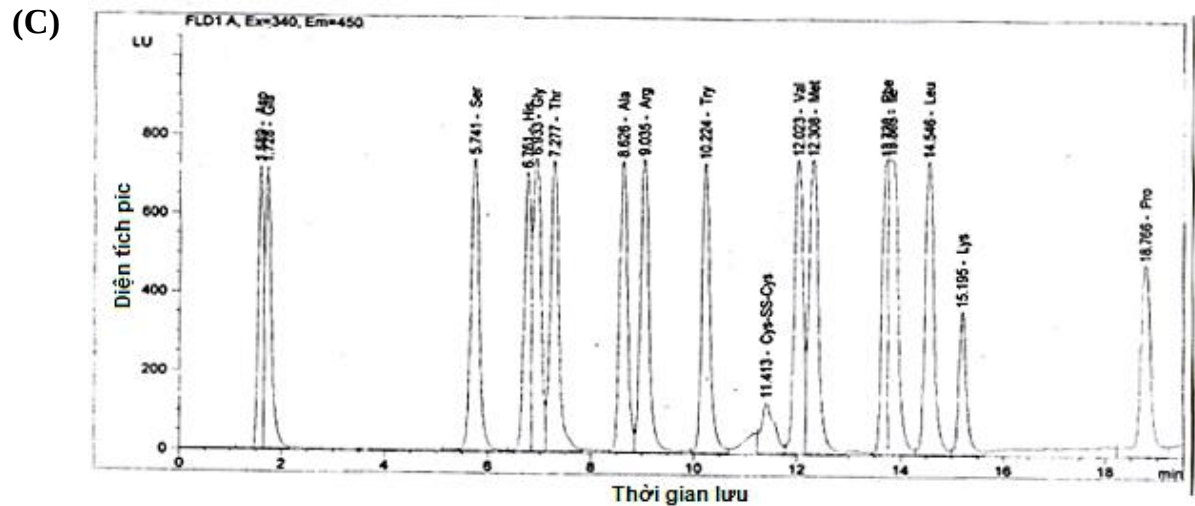
8	Lấy 0 µl từ vial 12 - Nước
9	Trộn mẫu
10	Bơm mẫu

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Xây dựng đường chuẩn biểu diễn sự phụ thuộc của diện tích pic vào nồng độ

Để tiến hành xây dựng đường chuẩn, tác giả đã chuẩn bị một dãy dung dịch chuẩn có nồng độ: 10, 25, 100 pmol để xác định khoảng tuyến tính của 17 acid amin (hình 1). Kết quả xác định đường chuẩn đo được như sau:





Hình 1. Sắc đồ hỗn hợp chuẩn 17 acid amin ở nồng độ: (A): 10 pmol, (B): 25 pmol, (C): 100 pmol.

Từ kết quả thu được, tác giả đã xây dựng phương trình đường chuẩn xác định hàm lượng các acid amin (bảng 1).

Bảng 1. Phương trình đường chuẩn xác định hàm lượng các acid amin. Đơn vị: (pmol).

TT	Loại đường chuẩn	Thời gian lưu (phút)	Phương trình đường chuẩn
1	Đường chuẩn Asparagin acid (Asp)	1,57	$Y = 0,8345x + 12,625$ ($R^2=1$)
2	Đường chuẩn Arginine (Arg)	9,00	$Y = 0,882x + 4,068$ ($R^2=1$)
3	Đường chuẩn Leusine (Leu)	14,53	$Y = 0,911x - 0,4$ ($R^2=1$)
4	Đường chuẩn Glytamine (Gly)	6,91	$Y = 0,872x - 5,387$ ($R^2=0,999$)
5	Đường chuẩn Threonine (Thr)	7,26	$Y = 0,845x - 1,787$ ($R^2=1$)
6	Đường chuẩn Alanin (Ala)	8,61	$Y = 0,884x - 0,590$ ($R^2=1$)
7	Đường chuẩn Serine (Ser)	5,75	$Y = 0,869x - 0,972$ ($R^2=1$)
8	Đường chuẩn Methionin (Met)	12,28	$Y = 0,947x - 5,071$ ($R^2=1$)
9	Đường chuẩn Prolin (Pro)	18,75	$Y = 0,547x - 0,774$ ($R^2=0,999$)
10	Đường chuẩn Histindine (His)	6,74	$Y = 0,575x + 0,115$ ($R^2=1$)
11	Đường chuẩn Glutamic acid (Glu)	1,73	$Y = 0,760x + 5,416$ ($R^2=0,999$)
12	Đường chuẩn Isoleucin (Ile)	13,60	$Y = 0,913x - 3,033$ ($R^2=1$)
13	Đường chuẩn Lysine (Lys)	15,19	$Y = 1,614x - 7,681$ ($R^2=1$)
14	Đường chuẩn cystein và cystin (Cys-ss-cys)	11,39	$Y = 1,036x - 3,803$ ($R^2=0,999$)
15	Đường chuẩn Valin (Val)	12,00	$Y = 0,946x - 5,502$ ($R^2=1$)
16	Đường chuẩn Phenylalanin (Phe)	13,77	$Y = 0,844x - 1,449$ ($R^2=1$)

17	Đường chuẩn Tyrosin (Tyr)	10,20	$Y = 0,825x + 2,598$ ($R^2=0,999$)
----	---------------------------	-------	--------------------------------------

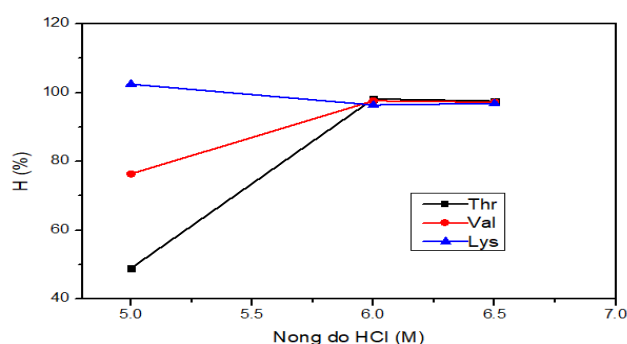
3.2. Khảo sát điều kiện tối ưu thủy phân mẫu

Trong mẫu bia, ngoài các acid amin tự do được tạo thành trong quá trình nấu bia thì trong bia thành phẩm còn có một lượng đáng kể protein và các polypeptid, pepton... Do đó, ta tiến hành thủy phân mẫu để đưa các dạng cao phân tử về acid amin tự do nhờ tác dụng hóa học.

3.2.1. Nồng độ acid

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ acid HCl đến hiệu suất thu hồi.

TT	Acid amin	Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$)		$C_{s+mẫu} - C_{mẫu}$	C_{so} ($\mu\text{g/ml}$)	%H
		$C_{s+mẫu}$	$C_{mẫu}$			
1	Thr (HCl 5,0 M)	90,9547	75,5280	15,4268	31,4931	48,98
	Thr (HCl 6,0 M)	138,8778	107,9549	30,9229	31,4931	98,19
	Thr (HCl 6,5 M)	103,2750	72,5554	30,7196	31,4931	97,54
2	Val (HCl 5,0 M)	156,1319	130,3899	25,7419	33,7033	76,38
	Val (HCl 6,0 M)	161,5174	128,4931	32,9073	33,7033	97,64
	Val (HCl 6,5 M)	167,7528	134,9781	32,7747	33,7033	97,24
3	Lys (HCl 5,0 M)	118,5810	77,0528	41,5283	40,5280	102,47
	Lys (HCl 6,0 M)	128,6194	89,5514	39,0680	40,5280	96,40
	Lys (HCl 6,5 M)	85,2788	46,0132	39,2656	40,5280	96,89



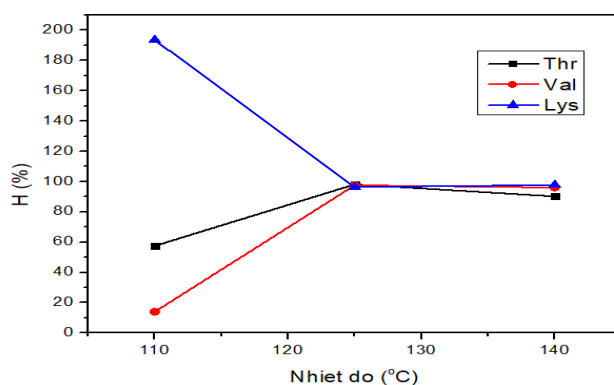
Hình 2. Sự phụ thuộc của hiệu suất thu hồi acid amin vào nồng độ HCl.

Kết quả bảng 2 và hình 2 cho thấy, khi nồng độ acid chưa đủ để thủy phân mẫu phân tích thì các acid amin chưa tách khỏi nhau dẫn đến hiệu suất thu hồi của một số acid amin lớn hơn 100% (do lẫn tạp chất và các pic khác chưa tách); còn acid amin nào tách được thì hiệu suất thu hồi cũng thấp do vẫn bị lẫn tạp chất. Từ nồng độ 6,0 M thì hiệu suất thu hồi ổn định nhất. Vì vậy, dựa vào kết quả, nồng độ HCl 6,0 M được lựa chọn để làm môi trường thủy phân.

3.2.2. Nhiệt độ thủy phân mẫu

Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ thủy phân mẫu đến hiệu suất thu hồi.

TT	Acid amin	Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$)		$C_{s+mẫu} - C_{mẫu}$	C_{so} ($\mu\text{g/ml}$)	%H
		$C_{s+mẫu}$	$C_{mẫu}$			
1	Thr (110°C)	55,5014	37,3761	18,1253	31,4931	57,55
	Thr (125°C)	138,8778	107,9549	30,9229	31,4931	98,19
	Thr (140°C)	98,8450	70,4215	28,4235	31,4931	90,25
2	Val (110°C)	86,8665	82,1407	4,7258	33,7033	14,02
	Val (125°C)	161,5174	128,4931	32,9073	33,7033	97,64
	Val (140°C)	357,1286	324,7486	32,3800	33,7033	96,07
3	Lys (110°C)	163,9924	85,5355	78,4569	40,5280	193,59
	Lys (125°C)	128,6194	89,5514	39,0680	40,5280	96,40
	Lys (140°C)	288,8806	249,2457	39,6349	40,5280	97,80

**Hình 3. Sự phụ thuộc của hiệu suất thu hồi acid amin vào nhiệt độ thủy phân.**

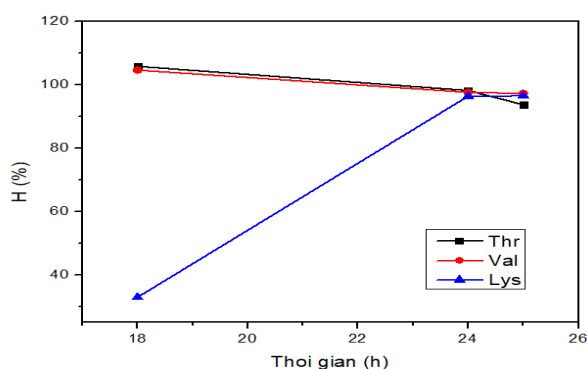
Kết quả thu được từ bảng 3 và hình 3 cho thấy, khi nhiệt độ chưa đủ để thủy phân mẫu phân tích thì các acid amin chưa tách khỏi nhau dẫn đến hiệu suất thu hồi của một số acid amin lớn hơn 100% (do lẫn tạp chất và các pic khác chưa tách); còn acid amin nào tách được thì hiệu suất thu hồi cũng thấp do vẫn bị lẫn tạp chất. Từ nhiệt độ 125°C thì hiệu suất thu hồi ổn định nhất. Từ kết quả này, nhiệt độ 125°C đã được lựa chọn để làm nhiệt độ thủy phân mẫu.

3.2.3. Thời gian thủy phân mẫu

Bảng 4. Ảnh hưởng của thời gian thủy phân mẫu đến hiệu suất thu hồi.

TT	Acid amin	Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$)		$C_{s+mẫu} - C_{mẫu}$	C_{so} ($\mu\text{g/ml}$)	%H
		$C_{s+mẫu}$	$C_{mẫu}$			
1	Thr 18 giờ	72,4859	39,1626	33,3233	31,4931	105,81

	Thr 24 giờ	138,8778	107,9549	30,9229	31,4931	98,19
	Thr 25 giờ	150,2623	120,7538	29,5085	31,4931	93,70
	Val 18 giờ	117,9405	82,6757	35,2649	33,7033	104,63
2	Val 24 giờ	161,5174	128,4931	32,9073	33,7033	97,64
	Val 25 giờ	166,1681	133,3907	32,7775	33,7033	97,25
	Lys 18 giờ	70,0447	56,2812	13,7635	40,5280	32,96
3	Lys 24 giờ	128,6194	89,5514	39,0680	40,5280	96,40
	Lys 25 giờ	108,8234	69,7030	39,1204	40,5280	96,53

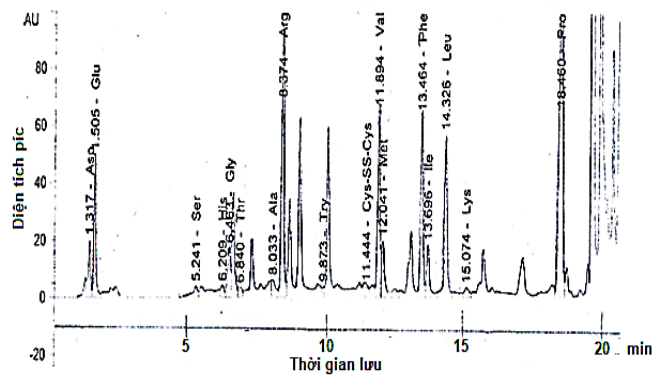


Hình 4. Sự phụ thuộc của hiệu suất thu hồi acid amin vào thời gian thủy phân mẫu.

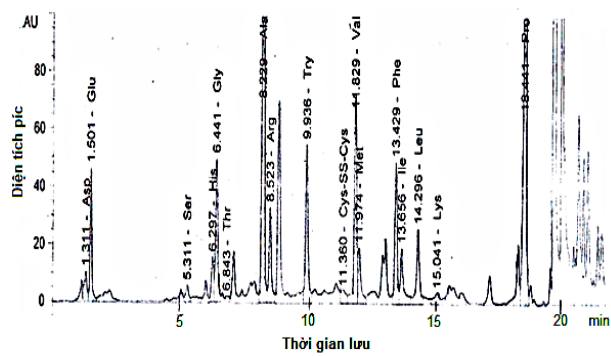
Dựa trên các kết quả thực nghiệm thu được (bảng 4) và đồ thị (hình 4) biểu diễn mối quan hệ giữa hiệu suất thu hồi acid amin và thời gian thủy phân, ta có thể thấy rằng: ở thời gian thủy phân dưới 20 giờ, quá trình thủy phân mẫu chưa hoàn toàn, đồng thời các acid amin và tạp chất chưa được tách biệt rõ ràng, dẫn đến hiệu suất thu hồi của một số acid amin vượt quá 100%. Đối với các acid amin đã được tách, hiệu suất thu hồi vẫn ở mức thấp do còn bị ảnh hưởng bởi tạp chất. Khi thời gian thủy phân đạt từ 24 giờ trở lên, hiệu suất thu hồi của các acid amin trở nên ổn định. Trong đó, tại thời gian 24 giờ, hiệu suất thu hồi đạt giá trị cao và ổn định nhất. Trên cơ sở đó, thời gian 24 giờ được lựa chọn làm thời gian thủy phân mẫu cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.3. Kết quả hàm lượng acid amin

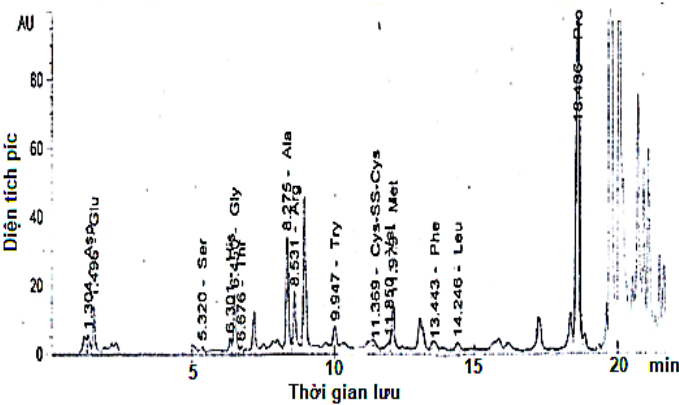
3.3.1. Hàm lượng acid amin tự do



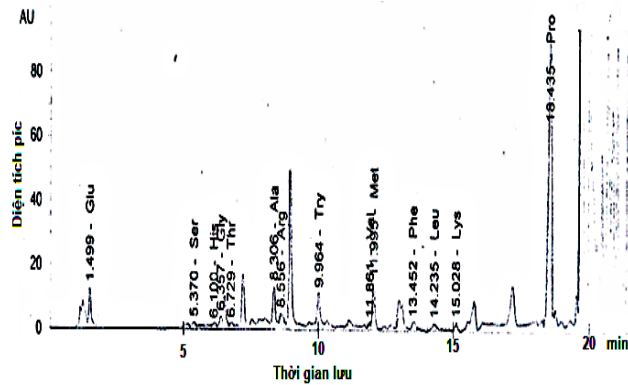
Mẫu bia 1



Mẫu bia 2



Mẫu bia 3



Mẫu bia 4

Hình 5. Sắc đồ hỗn hợp acid amin tự do trong 4 mẫu bia.

Bảng 5. Hàm lượng acid amin tự do trong các mẫu bia.

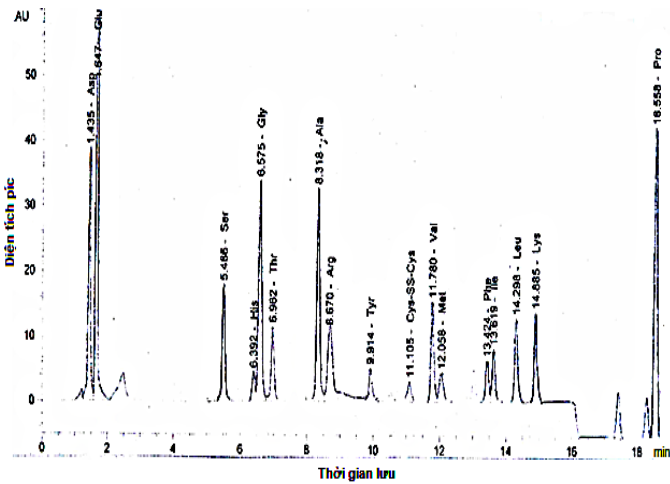
TT	Acid amin	Mẫu bia 1 (µg/ml)	Mẫu bia 2 (µg/ml)	Mẫu bia 3 (µg/ml)	Mẫu bia 4 (µg/ml)
1	Asp	0,0421	0,0226	0,0045	nd
2	Glu	0,1038	0,0920	0,0307	0,0316
3	Ser	0,0210	0,0187	0,0071	0,0091
4	His	0,0193	0,0576	0,0156	0,0088
5	Gly	0,0436	0,1218	0,0429	0,0125
6	Thr	0,0111	0,0101	0,0056	0,0062
7	Ala	0,0252	0,3859	0,0851	0,0394
8	Arg	0,2336	0,0886	0,0480	0,0189
9	Tyr	0,0087	0,1470	0,0271	0,0345
10	Cys-SS-Cys	0.0131	0,0211	0,0082	nd
11	Val	0,1625	0,1855	0,0118	0,0041
12	Met	0,0611	0,0639	0,0415	0,0382
13	Phe	0,1686	0,1311	0,0081	0,0070

14	Ile	0,0571	0,0688	nd	nd
15	Leu	0,1519	0,0886	0,0137	0,0073
16	Lys	0,0118	0,0175	nd	0,0035
17	Pro	0,6022	0,5851	0,4637	0,3849
Tổng		1,7365	2,1058	0,8137	0,6059

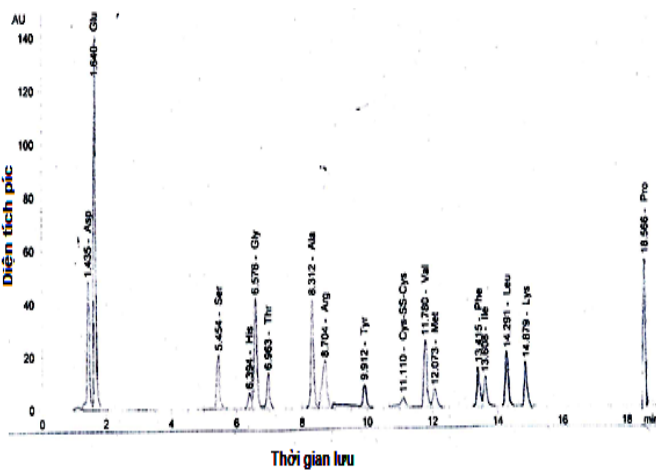
Nd: không phát hiện được.

Với phương pháp phân tích HPLC cho các mẫu bia chai, kết quả phân tích thu được trình bày ở hình 5 và bảng 5 cho thấy, thành phần acid amin tự do trong bia gồm 17 loại, với hàm lượng tương ứng. Trong số mẫu bia phân tích thì mẫu bia 3 tuy có 2 loại acid amin không phát hiện được đó là Ile (Isoleucine) và Lys (Lysine) nhưng lại có hàm lượng tổng acid amin khá cao so với các mẫu bia được khảo sát. Mẫu bia 4 qua phân tích không xác định được các acid amin Asp, Cys và Ile, với hàm lượng acid amin tổng số khá thấp. Tuy nhiên, hàm lượng acid amin trong các loại bia bao nhiêu là cân đối, hợp lý thì cần có các nghiên cứu chuyên sâu để đánh giá và cho kết luận.

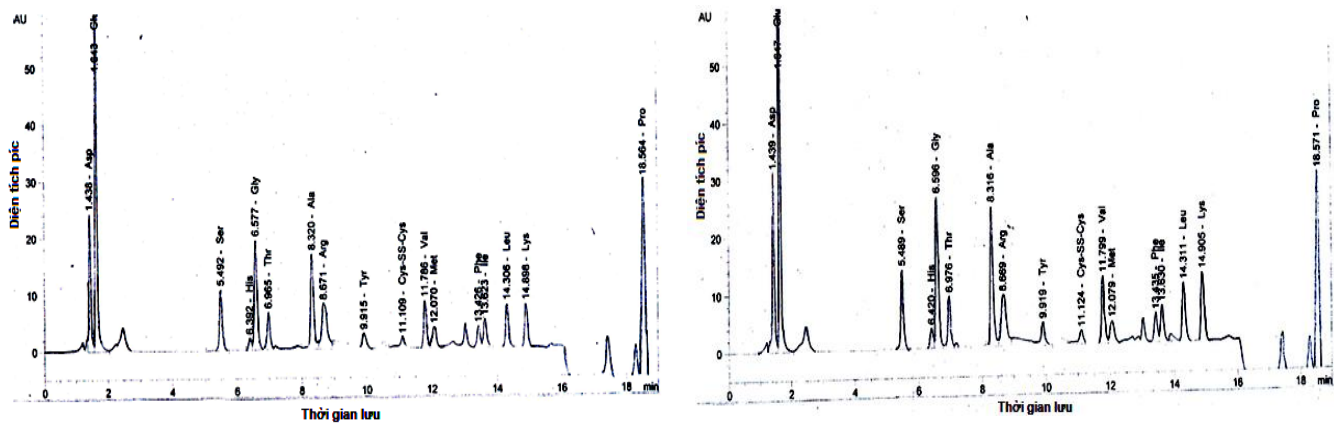
3.3.2. Hàm lượng acid amin sau khi thủy phân



Mẫu bia 1



Mẫu bia 2



Mẫu bia 3

Mẫu bia 4

Hình 6. Sắc đồ hỗn hợp acid amin trong 4 mẫu bia sau khi đã thủy phân.

Bảng 6. Hàm lượng acid amin trong các mẫu bia sau thủy phân. Đơn vị: (µg/ml).

TT	Acid amin	Mẫu bia 1	Mẫu bia 2	Mẫu bia 3	Mẫu bia 4
1	Asp	9,0139	114,5446	52,9753	73,5439
2	Glu	25,0379	352,9191	177,0310	201,8671
3	Ser	4,3310	51,4729	27,0344	33,5661
4	His	2,3794	32,4874	11,4194	18,3523
5	Gly	6,3782	79,7765	37,1563	49,0132
6	Thr	356,2512	41,1510	21,1227	27,5314
7	Ala	731,4854	90,6233	39,6696	54,3064
8	Arg	8,1747	118,4664	62,4948	67,9916
9	Tyr	2,5836	43,5429	15,5500	21,0886
10	Cys-SS-Cys	1,5254	22,2301	10,9555	12,1639
11	Val	4,2441	69,2437	23,8540	32,9184
12	Met	2,3958	33,6596	19,8025	20,7065
13	Phe	2,8630	63,7944	17,2807	23,0423
14	Ile	2,7981	38,7687	17,9781	22,6235
15	Leu	4,1263	65,5727	24,3497	32,5990
16	Lys	2,9552	35,6437	13,4763	26,0018
17	Pro	25,6625	332,9176	236,7151	187,3361
Tổng		1192,2056	1586,8145	808,8653	901,5711

Hàm lượng acid amin trong các mẫu bia sau khi được thủy phân bằng dung dịch HCl trong điều kiện nhiệt độ 125°C, thời gian 24 giờ được trình bày ở bảng 2. Kết quả hình 6 và bảng 6 cho thấy, 17 loại acid amin được xác định trong tất cả các mẫu bia

chai. Hàm lượng tổng số acid amin ở các mẫu đều khá cao, trong số các acid amin khảo sát thì Thr (Threonin) và Ala (Alanin) có hàm lượng khá cao ở mẫu bia 1.

3.4. Đánh giá chất lượng sản phẩm

3.4.1. Giá trị dinh dưỡng

Bảng 7. Đối chiếu các loại acid amin thiết yếu.

TT	AA thiết yếu	Tỷ lệ lượng đòi hỏi các AA thiết yếu ở người lớn	Mẫu bia 1		Mẫu bia 2		Mẫu bia 3		Mẫu bia 4	
			Hàm lượng (%)	Tỷ lệ	Hàm lượng (%)	Tỷ lệ	Hàm lượng (%)	Tỷ lệ	Hàm lượng (%)	Tỷ lệ
1	Ile	2,9	0,008	1	0,012	1,1	0,005	1,1	0,007	1
2	Leu	4,0	0,013	1,6	0,020	1,8	0,007	1,8	0,010	1,4
3	Lys	3,4	0,009	1,1	0,011	1	0,004	1	0,008	1,1
4	Met+Cys	3,7	0,012	1,5	0,017	1,5	0,009	2,3	0,01	1,4
5	Phe+Tyr	4,0	0,017	2,1	0,032	2,9	0,01	2,5	0,013	1,9
6	Thr	2,0	0,011	1,4	0,012	1,1	0,006	1,5	0,008	1,1
7	Try	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-
8	Val	2,9	0,013	1,6	0,021	1,9	0,007	1,8	0,010	1,4

Kết quả bảng 7 cho thấy, bia không chỉ là thức uống giải khát mà nó còn cung cấp cho con người một lượng acid amin nhất định. Trong bia có đầy đủ 17 loại acid amin và trong đó có 7/8 loại acid amin thiết yếu cần thiết cho người lớn. Một số acid amin thiết yếu có hàm lượng cao như phenylalanin, leucin, isolucin... Theo bảng 6, ta có thể thấy tỷ lệ các loại acid amin thiết yếu trong bia không đáp ứng được tỷ lệ lượng đòi hỏi các acid amin thiết yếu ở người lớn. Tuy nhiên, không thể phủ nhận giá trị dinh dưỡng của nó. Nếu uống bia một cách hợp lý thì nó sẽ đem đến tác dụng có lợi cho sức khỏe.

3.4.2. Chất lượng sản phẩm

Như đã biết, protein trong bia tồn tại ở trạng thái keo, tức là trạng thái tập hợp các phân tử mang điện tích. Vị, độ sánh, độ bọt và độ bền của bia phụ thuộc vào độ lớn hay độ phức tạp của những cấu tử này. Nếu dịch đường có càng nhiều protein có khả năng keo tụ thì càng tạo độ bền bọt tốt hơn cho bia, tăng vị đậm đà.

Tuy nhiên, các phức chất hay các micelle thường tương tác với nhau và dần hình thành các khối có thể quan sát bằng mắt thường được. Đó chính là cặn. Thành phần của cặn lạnh rất biến đổi, người ta thấy trong đó có 40-76% các hợp chất nitơ. Do

đó, nếu hàm lượng nitơ trong bia thành phẩm quá nhiều cũng gây ảnh hưởng tới chất lượng và thời gian bảo quản của bia.

Hàm lượng acid amin trong bia ở mức cao có thể thúc đẩy các quá trình biến đổi hóa sinh trong quá trình bảo quản, từ đó làm gia tăng độ chua của bia theo thời gian.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã tiến hành khảo sát và tối ưu hóa một số điều kiện quan trọng trong quy trình thủy phân mẫu nhằm xác định hàm lượng acid amin trong bia. Kết quả cho thấy, thời gian thủy phân 24 giờ và nồng độ HCl 6 M là phù hợp để đảm bảo quá trình phân cắt protein diễn ra tương đối hoàn toàn. Kết quả này phù hợp với nhiều nghiên cứu trước đây, trong đó các tác giả cho rằng, thủy phân protein bằng HCl nồng độ 6 M trong khoảng 20-24 giờ là điều kiện tối ưu để giải phóng acid amin mà vẫn hạn chế sự phân hủy hoặc biến đổi của một số acid amin nhạy cảm. Điều này cho thấy, quy trình thủy phân được lựa chọn trong nghiên cứu có cơ sở khoa học.

Trên cơ sở phân tích định lượng bằng phương pháp HPLC, nghiên cứu đã xác định được 17 acid amin thông dụng, trong đó có 7/8 acid amin thiết yếu đối với người trưởng thành. Kết quả này tương đồng với nhiều báo cáo về thành phần acid amin trong bia, cho thấy bia không chỉ là đồ uống giải khát mà còn chứa các hợp chất nitơ có giá trị sinh học nhất định. Sự hiện diện của các acid amin thiết yếu phản ánh nguồn gốc protein từ mạch nha và nguyên liệu ngũ cốc, cũng như mức độ biến đổi sinh hóa trong quá trình nấu và lên men bia.

Hàm lượng acid amin tự do trong các mẫu bia dao động 0,6059-2,1058 $\mu\text{g/ml}$, cho thấy sự khác biệt đáng kể giữa các mẫu. Sự khác biệt này có thể được giải thích bởi sự khác nhau về công thức nguyên liệu, chủng nấm men, điều kiện lên men và thời gian ủ. So sánh với các nghiên cứu đã công bố, hàm lượng acid amin tự do trong nghiên cứu này nằm trong khoảng giá trị thường gặp đối với bia thương mại. Acid amin tự do đóng vai trò quan trọng không chỉ về mặt dinh dưỡng mà còn ảnh hưởng đến hương vị, độ đầy miệng và tính ổn định sinh học của bia.

Sau quá trình thủy phân, hàm lượng acid amin tổng số trong các mẫu bia tăng lên rõ rệt, dao động 808,8653-1586,8145 $\mu\text{g/ml}$, cao hơn hàng trăm lần so với hàm lượng acid amin tự do ban đầu. Sự gia tăng này phản ánh rằng phần lớn acid amin

trong bia tồn tại ở dạng liên kết protein hoặc peptide, chỉ được giải phóng sau thủy phân. Kết quả này phù hợp với các công bố trước đây, trong đó cho rằng, hàm lượng nitrogen hòa tan trong bia chủ yếu ở dạng protein trọng lượng phân tử thấp và peptide. Đồng thời, sự khác biệt về hàm lượng acid amin tổng số giữa các mẫu cho thấy ảnh hưởng rõ rệt của quy trình công nghệ và mức độ thủy phân protein trong quá trình sản xuất bia.

Nhìn chung, các kết quả thu được không chỉ phù hợp với xu hướng chung của các nghiên cứu đã công bố mà còn cho thấy độ tin cậy và tính khoa học của phương pháp phân tích được lựa chọn. Việc kết hợp tối ưu hóa điều kiện thủy phân với phương pháp HPLC cho phép đánh giá tương đối toàn diện hàm lượng acid amin trong bia, góp phần làm rõ hơn giá trị dinh dưỡng và đặc điểm hóa sinh của sản phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] N.H. Nhan (2005), *Nutritionist*, Agricultural Publishing House, 164pp (in Vietnamese).
- [2] N.T. Nhuan, P.T. Thu (2002), *Nutrition Encyclopedia*, Vietnam Women's Publishing House, 875pp (in Vietnamese).
- [3] N.T. Hien (2007), *Malt and Beer Science and Technology*, Science and Technics Publishing House, 416pp (in Vietnamese).
- [4] A. Marcos, L.S. Majem, F.P. Jiménez, et al. (2021), “Moderate consumption of beer and its effects on cardiovascular and metabolic health: An updated review of recent scientific evidence”, *Nutrients*, **13**, DOI: 10.3390/nu13030879.
- [5] A.H. Ali (2022), “High-performance liquid chromatography (HPLC): A review”, *Ann. Adv. Chem.*, **6**, pp.10-20, DOI: 10.29328/journal.aac.1001026.
- [6] C.B. Solano, J.L. Cervantes, D.I.S. Machado, et al. (2012), “HPLC determination of histamine, tyramine and amino acids in shrimp by-products”, *J. Braz. Chem. Soc.*, **23(1)**, pp.96-102, DOI: 10.1590/S0103-50532012000100014.
- [7] X. Luo, B. Chen, L. Ding, et al. (2006), “HPLC-ESI-MS analysis of Vitamin B12 in food products and in multivitamins-multimineral tablets”, *Analytica Chimica Acta*, **562**, pp.185-189, DOI: 10.1016/j.aca.2006.01.073.

[8] P. Fontannaz, T. Kilinc, O. Heudi (2006), “HPLC-UV determination of total vitamin C in a wide range of fortified food products”, *Food Chemistry*, **94(4)**, pp.626-631, DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.02.012.

[9] N. Shujing, Y. Jinmao, S. Zhiwei, et al. (2012), “Fluorescence probe of 10-phenyl-acridone-2-sulfonyl chloride and its application for determination of free aliphatic amines in environmental samples by HPLC with fluorescence detection and APCI-MS”, *Chromatographia*, **75**, pp.1107-1116, DOI: 10.1007/s10337-012-2298-1.

[10] F. Özoğul (2004), “Production of biogenic amines by *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae* and *Hafnia alvei* using a rapid HPLC method”, *European Food Research and Technology*, **219(5)**, pp.465-469, DOI: 10.1007/s00217-004-0988-0.

[11] K.J. Lee, I.J. Yun, K.H. Kim, et al. (2011), “Amino acid and fatty acid composition of *Agrocybe chanxingu* an edible mushroom”, *Journal of Food Composition and Analysis*, **24**, pp.175-178, DOI: 10.1016/j.jfca.2010.09.011.

[12] L.T.H. Hao, P. Luan, N.X. Trung (2008), “Optimization of hydrolysis and derivatization conditions for determining amino acids in food by high-performance liquid chromatography”, *Journal of Analytical Sciences*, **13(1)**, pp.76-82 (in Vietnamese).