

XÂY DỰNG PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH LƯỢNG FLAVONOID TOÀN PHẦN
TRONG DỊCH CHIẾT LÁ VỎI (*CLEISTOCALYX OPERCULATUS*)
BẰNG QUANG PHỔ UV-VIS

Nguyễn Khánh Thùy Linh¹, Nguyễn Thị Ngọc Trâm¹

Tóm tắt

Mục tiêu: Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng flavonoid toàn phần tính theo quercetin bằng phương pháp quang phổ UV-Vis với thuốc thử tạo phức $AlCl_3$. **Đối tượng và phương pháp:** Lá vối thu hái tại Thừa Thiên Huế vào tháng 8/2021. Định lượng flavonoid toàn phần bằng phương pháp đo quang dựa trên phản ứng tạo màu với thuốc thử $AlCl_3$, thẩm định phương pháp định lượng theo hướng dẫn của AOAC. **Kết quả:** Xây dựng phương pháp định lượng flavonoid toàn phần trong lá vối phù hợp với hệ thống quang phổ UV-Vis có độ đúng cao với tỷ lệ % chất chuẩn tìm lại từ 99,20 - 102,93%, độ lệch chuẩn tương đối (RSD) < 2% và tính chính xác cao. Hàm lượng flavonoid toàn phần của lá vối được xác định bằng phương pháp đã xây dựng là $8,34 \pm 0,12$ mg/g tính theo quercetin. **Kết luận:** Đã xây dựng và thẩm định được phương pháp định lượng flavonoid toàn phần trong lá vối bằng quang phổ UV-Vis.

* Từ khóa: *Cleistocalyx operculatus*; Flavonoid toàn phần; UV-Vis.

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF FLAVONOID
CONTENT IN LEAVES OF *CLEISTOCALYX OPERCULATUS*

Summary

Objectives: To develop and validate a quantitative analysis method of total flavonoids in the leaves of *Cleistocalyx operculatus* using UV-Vis method. **Subjects and methods:** Leaves of *Cleistocalyx operculatus* were collected in Thua Thien Hue province in August 2021. Determining total flavonoids using a colorimetric method based on the reaction between flavonoids and $AlCl_3$ reagent

¹Trường Đại học Y Dược - Đại học Huế

Người phản hồi: Nguyễn Khánh Thùy Linh (nktlinh@huemed-univ.edu.vn)

Ngày nhận bài: 15/3/2022

Ngày được chấp nhận đăng: 28/4/2022

and validating this procedure according to AOAC guidelines. **Results:** The quantitative analysis was performed by reaction between total flavonoids and $AlCl_3$ reagent with a detective wavelength of 430 nm. Intra-day and inter-day precision tests showed the RSD < 2% and desirable accuracy (recovery 99.2 - 102.93%). The total flavonoid content of the leaves is 8.34 ± 0.12 mg quercetin equivalent/g dry weight of plant material. **Conclusion:** The quantitative analysis method of total flavonoids from *Cleistocalyx operculatus* leaves using the colorimetric method was validated.

* **Keywords:** *Cleistocalyx operculatus*; Total flavonoids; UV-Vis.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây vôi có tên khoa học là *Cleistocalyx operculatus*, thuộc họ Sim (Myrtaceae). Vôi đã được biết đến từ rất lâu đời, phân bố rộng khắp Trung Quốc, Việt Nam và một số nước nhiệt đới khác. Ở Việt Nam, cây thường mọc hoang hoặc được trồng ở khắp các vùng quê thuộc đồng bằng Bắc và Trung bộ để lấy lá, nụ hoa làm trà uống và làm thuốc [1]. Đã có một số nghiên cứu trong và ngoài nước báo cáo về thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học của loài này. Trong đó, flavonoid đã được chứng minh là thành phần hóa học chính đem lại tác dụng sinh học quan trọng cho dược liệu này [5, 7, 10]. Việc phân tích hàm lượng các thành phần chính trong nguyên liệu thô là một bước quan trọng, thiết yếu để đánh giá chất lượng nguyên liệu, cũng như đảm bảo tính an toàn và hiệu quả của việc sử dụng dược liệu trong điều trị.

Hiện nay, trên thế giới và trong nước có khá nhiều nghiên cứu về sử dụng phương pháp quang phổ UV-Vis để định lượng flavonoid toàn phần trong dược liệu [6, 8, 10, 11]. Dược điển Việt Nam V, chuyên luận lá vôi chưa có nội dung định lượng flavonoid. Do đó, nghiên cứu được tiến hành nhằm: *Xây dựng phương pháp định lượng flavonoid toàn phần trong dịch chiết lá vôi bằng quang phổ UV-Vis, góp phần kiểm soát chất lượng dược liệu này.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Lá vôi được thu hái vào tháng 8/2021 tại huyện Hương Trà, tỉnh Thừa Thiên Huế. Mẫu được định danh bởi TS. Vũ Tiến Chính, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Mẫu tiêu bản (CO-01) được lưu tại

phòng Thực vật của khoa Dược, trường Đại học Y Dược Huế. Mẫu sau khi thu hái được sấy khô ở 50°C, sau đó xay thô, dùng làm nguyên liệu cho quá trình chiết xuất.

2. Hóa chất, thiết bị

* *Chất đối chiếu*: Quercetin - Sigma hàm lượng 98% (CAS:6151-25-3, EC:204-187-1). Nước cất 2 lần và các dung môi hữu cơ khác đạt tiêu chuẩn tinh khiết phân tích.

* *Thiết bị*: Máy quang phổ kế UV-Vis Shimadzu V630 (Nhật), bể siêu âm Elmasonic S100H (Đức), cân phân tích Mettler Toledo (Thụy Sĩ), micropipet 100 µl, 200 µl, 1000 µl Labnet (Mỹ) và các dụng cụ thủy tinh khác.

3. Phương pháp nghiên cứu

* *Xác định bước sóng hấp thụ quang cực đại*:

Pha dung dịch chuẩn có nồng độ thích hợp. Tiến hành phản ứng tạo phức với thuốc thử $AlCl_3$. Mẫu trắng là dung dịch tương tự nhưng không có thuốc thử $AlCl_3$ 5%. Sau đó quét phổ từ 400 - 600 nm. Tìm cực đại hấp thụ.

* *Phương pháp chiết xuất dược liệu*:

Thăm dò dung môi chiết: Ethanol, ethanol 80%, methanol, methanol 80%. Khảo sát nhiệt độ chiết: 30°C, 40°C, 50°C, 60°C.

Khảo sát thời gian chiết: 15 phút, 30 phút, 45 phút, 60 phút, 75 phút, 90 phút.

Khảo sát tỷ lệ nguyên liệu: Dung môi chiết (g/mL): 1:20, 1:25, 1:30, 1:35, 1:40.

Tại mỗi bước thí nghiệm, thay đổi giá trị của yếu tố cần khảo sát và cố định thông số của các yếu tố còn lại. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Tính hàm lượng flavonoid toàn phần thu được để xác định điều kiện tối ưu chiết flavonoid toàn phần từ lá vối.

* *Xây dựng quy trình định lượng flavonoid trong dịch chiết lá vối bằng phương pháp quang phổ UV-Vis sau khi tạo phức với $AlCl_3$* :

Tiến hành chiết xuất với điều kiện tối ưu đã xác định, lọc lấy dịch chiết để làm mẫu thử nghiên cứu.

Hàm lượng flavonoid toàn phần được xác định bằng phương pháp quang phổ sau khi tạo phức với $AlCl_3$ [2].

Lấy chính xác 1 mL dịch chiết đã pha loãng ở nồng độ thích hợp trộn với 0,5 mL $AlCl_3$ và 0,5 mL nước trong ống falcon. Hỗn hợp được lắc đều và cho phản ứng trong 10 phút ở nhiệt độ phòng, sau đó đem đo ở bước sóng 430 nm, sử dụng máy quang phổ kế. Kết quả được thể hiện bởi miligam quercetin tương đương (mg QE)/g dược liệu khô. Cách tiến hành mẫu chuẩn và các mẫu thử là tương tự nhau, mẫu trắng là

dung dịch tương ứng với từng mẫu đo nhưng không có thuốc thử AlCl_3 5%. Mỗi thí nghiệm lặp lại 3 lần để tính giá trị trung bình. Sử dụng chất đối chiếu để xây dựng đường tuyến tính là quercetin.

Hàm lượng flavonoid toàn phần (TFC) được tính theo công thức sau:

$$\text{TFC} = \frac{C \times k \times V}{1000 \times m}$$

* Trong đó:

TFC: Hàm lượng flavonoid toàn phần (mg QE/g dược liệu).

C: Nồng độ mẫu thử tính từ đường chuẩn quercetin ($\mu\text{g/mL}$).

k: Hệ số pha loãng.

m: Khối lượng dược liệu (g).

V: Thể tích dịch chiết mẫu thử tiến hành phản ứng định lượng (mL).

* *Thẩm định quy trình định lượng:*

Thẩm định theo quy định của AOAC [3] các chỉ tiêu sau: Tính thích hợp hệ thống, tính tuyến tính, độ đúng, độ chính xác và ứng dụng để xác định hàm lượng flavonoid trong dịch chiết lá vối.

- Tính thích hợp hệ thống: Pha dung dịch chuẩn có nồng độ thích hợp. Tiến hành phản ứng với AlCl_3 . Đo độ hấp thụ quang tại bước sóng 430 nm. Thực hiện lặp lại 6 lần. Xác định độ hấp thụ quang trung bình và RSD.

Yêu cầu: RSD thỏa mãn yêu cầu của AOAC.

- Tính tuyến tính: Trên một dãy dung dịch chuẩn có nồng độ thích hợp. Xây dựng phương trình hồi quy biểu diễn sự phụ thuộc tuyến tính giữa nồng độ và độ hấp thụ.

Yêu cầu: $R^2 \geq 0,98$.

- Độ đúng: Sử dụng phương pháp thêm chuẩn, sau đó xác định độ thu hồi.

+ Tỷ lệ % tìm lại chuẩn được xác định theo công thức:

+ Tỷ lệ % tìm lại = (khối lượng chuẩn tìm lại/ khối lượng chuẩn thêm vào) \times 100

Yêu cầu: Tỷ lệ % tìm lại thỏa mãn yêu cầu của AOAC.

- Độ chính xác:

+ Độ chính xác trong ngày: Từ 6 lần cân dược liệu, tiến hành chiết xuất và thực hiện phản ứng tạo phức riêng lẻ. Xác định nồng độ theo đường chuẩn của mẫu. Tính hàm lượng flavonoid toàn phần và RSD.

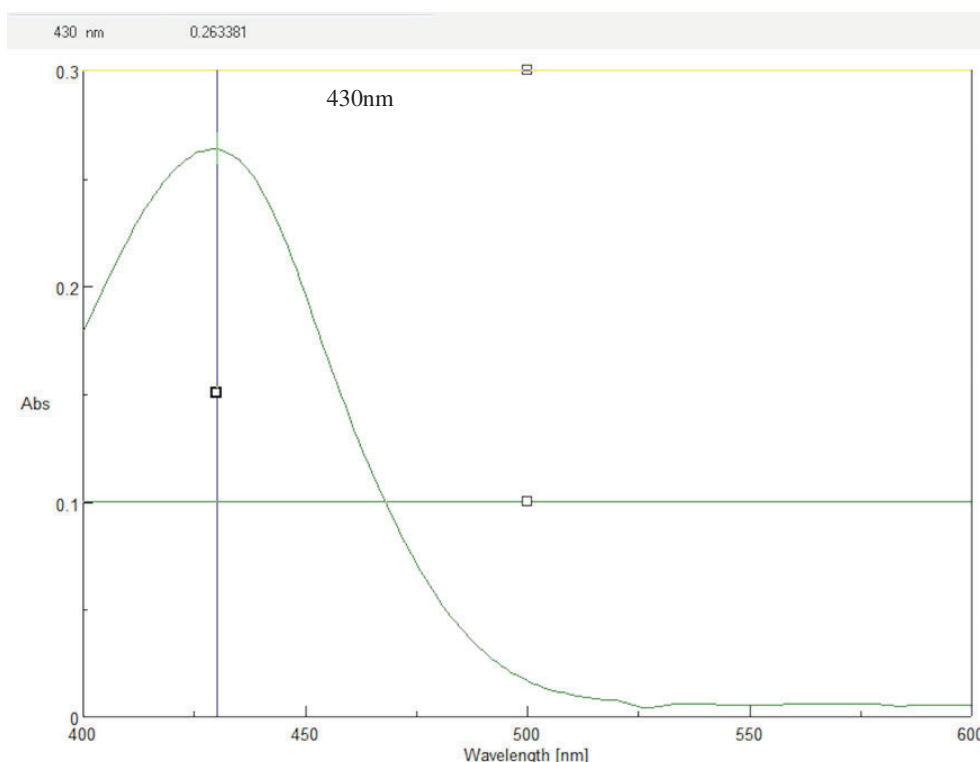
+ Độ chính xác khác ngày: Từ 6 mẫu dược liệu, tiến hành chiết xuất theo điều kiện đã xác định và thực hiện phản ứng tạo phức ở ngày khác. Xác định nồng độ theo đường chuẩn của mẫu. Tính hàm lượng flavonoid toàn phần và RSD khi tiến hành ở 2 ngày.

Yêu cầu: RSD thỏa mãn yêu cầu của AOAC.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

1. Xác định cực đại hấp thụ

Pha dung dịch chuẩn quercetin nồng độ 7,5 $\mu\text{g/mL}$, tiến hành phản ứng tạo phức với AlCl_3 , quét phổ trong vùng bước sóng 400 - 600 nm thu được kết quả như hình 1.



Hình 1: Hình ảnh cực đại hấp thụ của quercetin.

Quercetin có cực đại hấp thụ tại bước sóng 430 nm nên sử dụng bước sóng này trong các bước nghiên cứu.

2. Xây dựng phương pháp chiết xuất flavonoid trong dược liệu lá vôi**a. Ảnh hưởng của dung môi**

Điều kiện chiết xuất: Chiết siêu âm ở 50°C, trong thời gian 60 phút; tỷ lệ nguyên liệu: Dung môi là 1:40. Chúng tôi tiến hành khảo sát các dung môi chiết mẫu khác nhau là methanol, methanol 80%, ethanol và ethanol 80%. Đánh giá hàm lượng flavonoid toàn phần chiết xuất được đối với mỗi loại dung môi. Kết quả được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1: Kết quả ảnh hưởng của dung môi đến hàm lượng flavonoid.

Dung môi	TFC (mg/g)
MeOH	5,10 ± 0,05
MeOH 80%	4,76 ± 0,05
EtOH	4,73 ± 0,04
EtOH 80%	4,54 ± 0,05

Dung môi đóng vai trò rất quan trọng trong quá trình chiết xuất. Dung môi hòa tan tốt hoạt chất sẽ nâng cao được hiệu suất chiết. Tùy vào độ phân cực của hợp chất mà lựa chọn được loại dung môi thích hợp. Kết quả nghiên cứu cho thấy, methanol là dung môi tối ưu để chiết xuất flavonoid trong lá vối.

b. Ảnh hưởng của thời gian chiết

Sử dụng methanol làm dung môi chiết xuất, chiết siêu âm ở 50°C; tỷ lệ nguyên liệu: Dung môi 1:40, tiến hành khảo sát các mức thời gian chiết xuất khác nhau. Kết quả trình bày ở bảng 2.

Bảng 2: Kết quả ảnh hưởng của thời gian chiết đến hàm lượng flavonoid.

Thời gian (phút)	TFC (mg/g)
15	2,92 ± 0,05
30	4,04 ± 0,10
45	5,02 ± 0,04
60	5,27 ± 0,01
75	6,17 ± 0,07
90	4,49 ± 0,04

Thời gian chiết phụ thuộc vào nguyên liệu, dung môi và nhiệt độ chiết. Khi thời gian càng dài thì hiệu suất chiết càng cao. Tuy nhiên, đến một ngưỡng thời gian nhất định đối với phương pháp chiết siêu âm thì việc tăng thời gian chiết không làm tăng hiệu suất chiết mà thay vào đó hàm lượng hoạt chất có thể giảm xuống. Lý do có thể là dưới tác dụng của cường độ sóng siêu âm trong một thời gian dài, một số flavonoid có cấu trúc hóa học yếu sẽ bị đứt gãy. Kết quả nghiên cứu cho thấy, 75 phút là thời gian thích hợp để chiết xuất flavonoid trong lá vối.

c. Ảnh hưởng của tỷ lệ dược liệu: Dung môi

Lá vối được chiết siêu âm với MeOH, trong thời gian 75 phút ở nhiệt độ 50°C. Tiến hành các thí nghiệm khác nhau với các tỷ lệ dược liệu: Dung môi khác nhau để xác định tỷ lệ tối ưu cho hiệu suất chiết flavonoid cao nhất.

Bảng 3: Kết quả ảnh hưởng của tỷ lệ dược liệu: Dung môi đến hàm lượng flavonoid.

Tỷ lệ dược liệu: Dung môi (g/mL)	TFC (mg/g)
1:20	4,66 ± 0,05
1:25	7,34 ± 0,05
1:30	7,15 ± 0,03
1:35	7,04 ± 0,08
1:40	7,21 ± 0,08

Kết quả nghiên cứu cho thấy, tỷ lệ dược liệu: Dung môi tối ưu là 1:25. Với tỷ lệ dược liệu: Dung môi này cho hiệu suất chiết flavonoid cao nhất. Điều này có thể giải thích là với tỷ lệ này, dung môi có thể hòa tan hoàn toàn lượng hoạt chất có trong dược liệu.

d. Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết

Từ các điều kiện chiết xuất tối ưu đã nghiên cứu ở thí nghiệm trước, ảnh hưởng của nhiệt độ chiết đến hàm lượng flavonoid toàn phần thu được từ lá vối được khảo sát như bảng sau:

Bảng 4: Kết quả ảnh hưởng của nhiệt độ chiết đến hàm lượng flavonoid.

Nhiệt độ (°C)	TFC (mg/g)
30	4,55 ± 0,04
40	8,35 ± 0,10
50	7,28 ± 0,07
60	5,84 ± 0,09

Khi tăng nhiệt độ từ 30 - 40°C, hàm lượng flavonoid tăng lên đáng kể. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nhiệt độ lên 50°C, 60°C thì hàm lượng flavonoid có xu

hướng giảm đi. Điều này có thể lý giải là khi tăng nhiệt độ, khả năng khuếch tán của các chất trong tế bào ra môi trường chiết tốt hơn nhưng nếu nhiệt độ tăng quá cao, không chỉ độ tan của chất tăng mà độ tan của tạp chất cũng tăng theo, khi đó dịch chiết sẽ lẫn nhiều tạp gây cản trở cho quá trình tách chiết nên hàm lượng flavonoid toàn phần giảm xuống.

Sau khi thực hiện khảo sát, quy trình chiết được tối ưu như sau: Cân chính xác khoảng 0,5g dược liệu vào bình nón, thêm vào chính xác 12,5 mL methanol và tiến hành siêu âm ở nhiệt độ 40°C trong vòng 75 phút. Lọc dịch chiết làm mẫu thử tiến hành nghiên cứu.

3. Thẩm định phương pháp

a. Tính thích hợp hệ thống

Pha dung dịch quercetin chuẩn có nồng độ 10 µg/mL từ dung dịch chuẩn gốc. Hút chính xác 1 mL dung dịch này, thực hiện phản ứng với AlCl₃. Đo độ hấp thụ quang tại bước sóng 430 nm. Thực hiện đồng thời 6 mẫu. Kết quả được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5: Khảo sát tính thích hợp hệ thống của phương pháp.

Dung dịch	1	2	3	4	5	6
Độ hấp thụ (A)	0,3465	0,3581	0,3601	0,3594	0,3475	0,3586
$\bar{A} \pm SD$	0,3550 ± 0,0063					
RSD (%)	1,77					

Kết quả cho thấy RSD về độ hấp thụ của dung dịch chuẩn sau khi phản ứng với thuốc thử AlCl₃ < 2%. Như vậy, máy quang phổ UV-Vis sử dụng là phù hợp để phân tích mẫu lá vối.

b. Tính tuyến tính

Chuẩn bị các dung dịch chuẩn với nồng độ thích hợp, tiến hành phản ứng với thuốc thử AlCl₃, song song làm một mẫu trắng. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 430 nm. Mỗi nồng độ tiến hành 3 mẫu, lấy giá trị trung bình.

Tương quan giữa nồng độ và độ hấp thụ của dung dịch quercetin chuẩn được trình bày trong bảng 6.

Bảng 6: Kết quả khảo sát tính tuyến tính.

Nồng độ quercetin (µg/mL)	5,88	9,80	12,25	14,70	17,15	19,60
Độ hấp thụ	0,2024	0,3568	0,4627	0,5469	0,6434	0,7369

Các số liệu cho thấy có sự tương quan tuyến tính giữa nồng độ (C) và độ hấp thụ của quercetin (A: µg/mL) theo phương trình $A = 0,0389.C - 0,0222$ với $R^2 = 0,9993$, trong khoảng hàm lượng quercetin từ 5,88 - 19,60 µg/mL.

c. Độ chính xác của phương pháp

Khảo sát theo quy trình xử lý mẫu nêu trên, tiến hành phản ứng với $AlCl_3$, sau đó đo hấp thụ quang tại 430 nm. Lặp lại thí nghiệm 6 lần song song trong cùng ngày. Xác định hàm lượng flavonoid trong mẫu thử (mg/g) dựa vào đường chuẩn (độ chính xác trong ngày). Lặp lại cả quy trình như trên vào ngày tiếp theo trên 6 mẫu và quy trình xử lý tương tự (độ chính xác khác ngày). Tính RSD (%) về hàm lượng tất cả 12 mẫu phân tích của 2 ngày. Kết quả thể hiện ở bảng 7 và bảng 8.

Bảng 7: Kết quả khảo sát độ chính xác trong ngày của mẫu thử.

Lần thử	Khối lượng bột lá (g)	Độ hấp thụ quang	Hàm lượng flavonoid toàn phần tính theo quercetin (mg/g)	Thống kê
1	0,5	0,2184	8,45	TB = 8,33 ± 0,11 mg/g RSD = 1,30%
2		0,2182	8,35	
3		0,2105	8,14	
4		0,2114	8,28	
5		0,2209	8,34	
6		0,2143	8,40	

Bảng 8: Kết quả khảo sát độ chính xác khác ngày của mẫu thử.

Lần thử	Khối lượng bột lá (g)	Độ hấp thụ quang	Hàm lượng flavonoid toàn phần tính theo quercetin (mg/g)	Thống kê
1	0,5	0,2184	8,45	TB = 8,34 ± 0,12 mg/g RSD = 1,48%
2		0,2182	8,35	
3		0,2105	8,14	
4		0,2114	8,28	
5		0,2209	8,34	
6		0,2143	8,40	
7		0,2122	8,39	
8		0,2109	8,07	
9		0,2142	8,39	
10		0,2158	8,40	
11		0,2217	8,48	
12		0,2232	8,43	

Độ chính xác trong ngày và độ chính xác khác ngày đều đạt yêu cầu cho một quy trình định lượng với hàm lượng hoạt chất trong dược liệu < 1% (Yêu cầu đối với dược liệu chứa hoạt chất có hàm lượng 1%: RSD ≤ 2% [3]).

d. Độ đúng của phương pháp

Thực hiện theo phương pháp thêm chuẩn. Thêm quercetin chuẩn vào nền mẫu dược liệu ở các mức khoảng 80%, 100%, 120% so với nồng độ phân tích trong mẫu thử. Tiến hành xử lý mẫu và phân tích theo quy trình đã khảo sát. Mỗi mức nồng độ thêm làm 3 mẫu. Thực hiện phản ứng với thuốc thử AlCl₃ sau đó đo

quang. Dựa vào đường chuẩn, tính lượng chuẩn tìm lại. Từ đó, xác định phần trăm tìm lại chuẩn, kết quả được trình bày ở bảng 9.

Bảng 9: Kết quả khảo sát độ đúng.

Tỷ lệ chuẩn thêm vào (%)	Lượng chuẩn thêm vào (mg)	Lượng chuẩn tìm thấy (mg)	Tỷ lệ hồi phục (%)	Tỷ lệ hồi phục trung bình (%), RSD (%)
80	3,2	3,22	100,63	TB = 100,52 SD = 0,79 RSD = 0,78
		3,24	101,25	
		3,19	99,69	
100	4,1	4,22	102,93	TB = 102,12 SD = 1,41 RSD = 1,38
		4,12	100,49	
120	5	5,08	101,60	TB = 101,13 SD = 1,75 RSD = 1,73
		5,13	102,60	
		4,96	99,20	

Kết quả khảo sát cho thấy phương pháp phân tích có độ thu hồi từ 99,2 - 102,93% với giá trị RSD < 2%. Tỷ lệ phục hồi trung bình ở mỗi mức đều nằm trong giới hạn cho phép (đối với hoạt chất trong dược liệu có hàm lượng 1% yêu cầu tỷ lệ hồi phục là 92 - 105% [3]). Phương pháp đạt yêu cầu về độ đúng.

Có thể định lượng flavonoid bằng phương pháp quang phổ UV-Vis bởi vì flavonoid có hệ thống nối đôi liên hợp và vòng thơm nên hấp thụ mạnh trong vùng quang phổ tử ngoại và khả kiến.

Nguyên tắc cơ bản là nhôm clorid sẽ phản ứng với nhóm ceton ở C4 và nhóm hydroxyl ở C3 hoặc C5 trong flavon và flavonol hoặc với nhóm orthodihydroxyl trong vòng A hoặc B để tạo màu [4]. Quercetin được chọn là chất đối chiếu do nó là một flavonoid có mặt trong dịch chiết lá vối [9]. Ngoài ra, quercetin còn là một flavonoid phổ biến rộng rãi trong thực vật, hợp chất này có thể phát hiện cực đại hấp thụ trong vùng bước sóng 415 - 440 nm. Việc thiết kế mẫu trắng đã giúp quy trình có tính chọn lọc hơn.

Dựa vào quy trình định lượng đã xây dựng và thẩm định, hàm lượng flavonoid toàn phần trong lá vối đã được xác định là $8,34 \pm 0,12$ mg/g dược liệu khô. Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu của Phuong Thi Mai Nguyen và CS vào năm 2017, hàm lượng flavonoid toàn phần trong lá vối là 6,8 mg/g [8].

KẾT LUẬN

Đề tài đã xây dựng và thẩm định quy trình định lượng flavonoid toàn phần trong lá vối tính theo quercetin bằng phương pháp quang phổ UV-Vis. Quy trình chiết xuất flavonoid của lá vối được nghiên cứu là: Chiết siêu âm với methanol, ở 40°C trong 75 phút với tỷ lệ dược liệu: Dung môi là 1:25. Với điều kiện này, quy trình định lượng flavonoid tổng trong lá vối đạt các yêu cầu thẩm định, các kết quả đều nằm trong giới hạn cho phép: Độ chính xác có RSD < 2%, độ thu hồi từ 99,2 - 102,93%. Hàm lượng flavonoid toàn phần là $8,34 \pm 0,12$ mg/g dược liệu khô tính theo quercetin. Kết quả nghiên cứu góp phần hỗ trợ công tác kiểm tra nhanh hàm lượng nguyên liệu đầu vào, có thể triển khai vào thực tế sản xuất của các xí nghiệp dược phẩm trong nước.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi (2000). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nxb. Y học; 423.
2. A. Pekal and K. Pyrzynska (2014). Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Analytical Methods*; 7(9): 1776-1782.
3. AOAC Official Methods Of Analysis (2019). AOAC Guidelines for Single -Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals; 6-9.
4. Chang C.C., Yang M.H., Wen H.M., Chern J.C. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*; 10(3): 178-182.
5. Dung N.T., Bajpai V.K., Yoon J.I., Kang S.C. (2009). Anti-inflammatory effects of essential oil isolated from the buds of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.). Merr and Perry. *Food Chem Toxicol*; 47(2): 449-453.
6. Layzon Antonio Lemos da Silva, Bianca Ramos Pezzini, Luciano Soares (2014). Spectrophotometric determination of the total flavonoid content in *Ocimum basilicum* L (Lamiaceae) leaves. *Pharmacognosy magazine*; 11(41): 96-101.

7. Nguyen T.D., Kim J.M., Kang S.C. (2008). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry buds. *Food Chem Toxicol*; 46: 3632-3639.
8. Phuong Thi Mai Nguyen, Nadin Schultze, Christin Boger, Zeyad Alresley, Albert Bolhuis, Ulrike Lindequist. (2017). Anticancer and antimicrobial activities of methanolic extract from leaves of *Cleistocalyx operculatus* L.. *Asian Pac J Trop Biomed*; 7(1): 43-48.
9. Phan Minh Giang, Vu Thi Thu Phuong, Truong Thi To Chinh. (2016). A new taraxastane-type triterpenoid from *Cleistocalyx operculatus*; 11(1): 29-30.
10. Renata J.G., Jadranka V., Dario K., Sanda V.K. (2007). Flavonoid Content Assay: Prevalidation and Application on *Plantago L.* Species. *Acta Chim. Slov*; 54: 397-406.
11. Ye C.L., Lu Y.H., Wei D.Z. (2004). Flavonoids from *Cleistocalyx operculatus*. *Phytochemistry*; 65: 445-447.