

# Xây dựng phương pháp định lượng và đánh giá hàm lượng flavonoid toàn phần trong lá cây Đơn lá đỏ (*Folium Excoecariae*)

DEVELOPING A QUANTITATIVE METHOD AND EVALUATING THE TOTAL FLAVONOID CONTENT IN THE LEAVES OF THE *EXCOECARIA COCHINCHINENSIS* (*FOLIUM EXCOECARIAE*)

Phùng Thanh Long, Nguyễn Thị Hiền, Nguyễn Đức Tú

Lê Thị Linh Nhi, Ngô Thị Duyên

Học viện Y- Dược học cổ truyền Việt Nam

## TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Xây dựng phương pháp định lượng và đánh giá hàm lượng flavonoid toàn phần trong lá cây Đơn lá đỏ (*Folium Excoecariae*) tại các thời điểm khác nhau bằng quang phổ UV-Vis.

**Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Định lượng flavonoid toàn phần tính theo kaempferol bằng phương pháp UV-Vis dựa vào khả năng hấp thụ ánh sáng tử ngoại của kaempferol, tiến hành thẩm định phương pháp theo tiêu chuẩn AOAC năm 2019 và áp dụng phương pháp vừa xây dựng được để đánh giá hàm lượng flavonoid toàn phần trong lá cây Đơn lá đỏ thu hái tại các thời điểm khác nhau.

**Kết quả:** Hàm lượng kaempferol trong lá cây Đơn lá đỏ dao động từ 0,3527% đến 0,7218%. Phương pháp có độ đặc hiệu cao, tuyến tính trong khoảng nồng độ từ 0,65 đến 6,5  $\mu\text{g/l}$ , độ lặp lại đạt yêu cầu với  $\text{RSD} = 2,2554\%$  và độ thu hồi dao động từ 95-105%. Kết quả phân tích các mẫu thu hái vào các thời điểm khác nhau cho thấy hàm lượng flavonoid trong lá cây 3 năm tuổi cao hơn 0,2422% đến 0,2898% so với cây 1 năm tuổi. Hàm lượng flavonoid cao nhất vào tháng 5 và thấp nhất vào tháng 8 trong chu kỳ 1 năm.

**Kết luận:** Xây dựng và thẩm định thành công phương pháp định lượng flavonoid toàn phần bằng quang phổ UV-Vis. Phương pháp được thẩm định đạt yêu cầu về độ đặc hiệu, độ tuyến tính, độ lặp lại và độ đúng. Hàm lượng flavonoid cao nhất được ghi nhận ở lá của cây 3 năm tuổi vào tháng 5.

**Từ khóa:** Đơn lá đỏ, Kaempferol, UV-VIS, định lượng.

## ABSTRACT

**Objectives:** To develop a quantitative method and evaluate the total flavonoid content in the leaves of *Excoecaria cochinchinensis* (*Folium Excoecariae*) at different time points using UV-VIS spectroscopy.

**Subjects and methods:** The total flavonoid content was quantified as kaempferol using the UV-Vis spectrophotometric method based on the ultraviolet light absorption capability of kaempferol, the method was validated according to the AOAC 2019 guidelines and applied to evaluate the total flavonoid content in the leaves of *Excoecaria cochinchinensis* collected at different time points.

**Results:** The kaempferol content in the leaves of *Excoecaria cochinchinensis* ranged from 0,3527% to 0,7218%. The method demonstrated high specificity and good linearity in the concentration range of 0,65 to 6,5  $\mu\text{g/mL}$ . Repeatability met the required standard with an  $\text{RSD}$  of 2,2554%, and recovery ranged from 95% to 105%. Analysis of samples collected at different time points showed that the flavonoid content in the leaves of 3-year-old plants was 0,2422% to 0,2898% higher than that in 1-year-old plants. The highest flavonoid content was recorded in May and the lowest in August within a one-year cycle.

**Conclusion:** A UV-Vis spectrophotometric method for the quantification of total flavonoid content was successfully developed and validated. The validated method met the required criteria for specificity, linearity ( $\text{R}^2 = 0,999$ ), repeatability ( $\text{RSD} = 2,2554\%$ ), and accuracy (recovery ranged from 95% to 105%). The highest flavonoid content was observed in the leaves of 3-year-old plants collected in May.

**Keywords:** *Excoecaria cochinchinensis*, Kaempferol, UV-Vis, quantitative.



## ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong y học cổ truyền, Đơn lá đỏ từ lâu đã được sử dụng để trị mụn nhọt, mẩn ngứa, mề đay, tiêu chảy lâu ngày, đại tiện ra máu [1]. Dịch chiết từ cây có tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm, kháng viêm, chống ung thư, chống oxy hóa, bảo vệ gan, thận và nhiều công dụng khác [2],[3],[4]. Các nghiên cứu về thành phần hóa học gần đây cho thấy, hoạt chất chính trong cây là các flavonoid như kaempferol, quercetin và một số hợp chất flavonoid khác [4].

Hiện nay, chuyên luận về đơn lá đỏ trong dược điển Việt Nam V chưa đưa ra tiêu chuẩn định lượng [5]. Các nghiên cứu mới chỉ chủ yếu tập trung vào việc xác định hàm lượng flavonoid toàn phần của loài cây này bằng phương pháp cân [4]. Có thể thấy phương pháp này gặp phải những hạn chế nhất định về độ chính xác. Tại Việt Nam, việc định lượng flavonoid toàn phần tính theo kaempferol bằng quang phổ UV-Vis đã được thực hiện trong cao lá Mơ lông (*Paederia lanuginosa* Wall.) ở bước sóng 365 nm [6]. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào tiến hành xây dựng và thẩm định một quy trình định lượng cụ thể cho flavonoid toàn phần của Đơn lá đỏ bằng quang phổ UV-Vis. Do vậy, nghiên cứu được tiến hành nhằm mục tiêu: Xây dựng phương pháp định lượng và đánh giá hàm lượng flavonoid toàn phần trong lá cây Đơn lá đỏ (*Folium Excoecariae*) tại các thời điểm khác nhau bằng quang phổ UV-Vis.

## ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### Đối tượng, hóa chất và thiết bị

- Đối tượng: Mẫu lá cây Đơn lá đỏ tại Phú Xuyên - Hà Nội. Mẫu nghiên cứu được sấy khô, sau đó được nghiền qua rây để thu bột dược liệu thô. Kích thước bột dược liệu thu được tương ứng với bột dược liệu thô theo phân loại của Dược điển Việt Nam V. Độ ẩm của bột dược liệu dao động từ 4% đến 5%. Mẫu tiến hành xây dựng phương pháp định lượng: Tháng 8/2024. Mẫu lá cây Đơn lá đỏ tiến hành đánh giá hàm lượng flavonoid theo thời điểm thu hái: Thu ngẫu nhiên 3 mẫu lá bánh tẻ từ cây 1 năm và 3 năm tuổi vào các tháng 5/2024, 8/2024, 11/2024, 02/2025, 04/2025. Giám định tên khoa học là *Excoecaria cochinchinensis* Lour. bởi PGS. TS. Nguyễn Thế Cường (Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật – Viện Hàn lâm Khoa học Công nghệ Việt Nam). Mẫu được sấy khô và bảo quản tại trong túi PE.

- Hóa chất và thiết bị: Kaempferol (Sigma-Aldrich),  $AlCl_3$ , Ethanol, Máy quang phổ UV – Vis U – 3900, Cân phân tích A&D GH – 202, Cân xác định độ ẩm Precisa XM 6), Máy cô quay chân không Buchi Rotavapor R-300, Tủ sấy: NABERTHERM GmbH, Micropipet 100 - 1000 $\mu$ L EX II Nichiryo

### Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Đề tài được triển khai tại Bộ môn Thực vật - Dược liệu, Học viện Y - Dược học cổ truyền từ tháng 08/2024 đến tháng 04/2025.

### Phương pháp nghiên cứu

### Xây dựng phương pháp định lượng flavonoid toàn phần:

- Khảo sát bước sóng cực đại hấp thụ:

Dung dịch chuẩn gốc: Pha dung dịch chuẩn có nồng độ 130  $\mu$ g/ml.

Lấy chính xác 0,5ml dung dịch chuẩn gốc cho vào bình định mức 10ml, thêm vào đó 0,5 ml thuốc thử  $AlCl_3$ , 5% và 5ml EtOH, lắc đều. Thêm EtOH vừa đủ tới vạch định mức, lắc đều. Sau 6 phút, tiến hành quét phổ trong vùng bước sóng 300 - 600 nm. Mẫu chứng là dung dịch tương tự nhưng không có thuốc thử  $AlCl_3$ , 5%.

- Khảo sát quy trình xử lý mẫu: Thực hiện các thí nghiệm đơn biến, đánh giá kết quả dựa vào hàm lượng flavonoid toàn phần tính theo kaempferol. Nghiên cứu tiến hành các khảo sát: Dung môi chiết xuất, nhiệt độ chiết và tỷ lệ được liệu/dung môi chiết. Trong quá trình khảo sát quy trình xử lý mẫu, một số yếu tố được giữ cố định nhằm đảm bảo tính đồng nhất và độ tin cậy của kết quả. Cụ thể, mỗi mẫu được chiết ba lần liên tiếp, mỗi lần 1 giờ, bằng phương pháp chiết hồi lưu trong bình nón. Tổng thời gian chiết cho mỗi mẫu là 3 giờ, đảm bảo thu được tối đa lượng flavonoid có trong dược liệu. Các yếu tố này được duy trì ổn định trong tất cả các thí nghiệm đơn biến nhằm đánh giá riêng lẻ ảnh hưởng của từng điều kiện chiết xuất.

### Tiến hành thẩm định phương pháp phân tích theo tiêu chuẩn AOAC năm 2019 [7]:

- Độ đặc hiệu: Tiến hành quét phổ hấp thụ của 3 mẫu: Mẫu chứng, mẫu thử và mẫu chuẩn sau phản ứng tạo màu. Yêu cầu mẫu chứng phải có độ hấp thụ không đáng kể so với độ hấp thụ của dung dịch chuẩn.

- Độ tuyến tính: Tiến hành khảo sát trên một dãy dung dịch chuẩn có nồng độ biến thiên. Xác định sự phụ thuộc tuyến tính giữa độ hấp thụ và nồng độ bằng phương trình hồi quy tuyến tính. Yêu cầu hệ số tương quan giữa độ hấp thụ và nồng độ  $R^2 \geq 0,995$ .

- Độ lặp lại: Tiến hành định lượng một mẫu dược liệu 6 lần song song. Xác định kết quả định lượng theo phương trình đường chuẩn. Tính độ lệch chuẩn tương đối giữa các giá trị của các lần định lượng. Yêu cầu: Tại mức hàm lượng 0,1 – 1%, độ lặp lại của phương pháp  $RSD \leq 3,7\%$ .

- Độ đúng: Thêm vào mẫu thử một lượng chính xác dung dịch chuẩn sao cho tổng nồng độ của chúng vẫn nằm trong khoảng tuyến tính đã khảo sát, chiết và tiến hành phân tích. Tính lượng chuẩn tìm lại được. Làm 6 lần song song. Yêu cầu: Đối với mẫu có hàm lượng 0,1 – 1%, lượng chuẩn tìm lại phải nằm trong khoảng 95 – 105%.

### Đánh giá hàm lượng flavonoid toàn phần trong lá cây Đơn lá đỏ tại các thời điểm khác nhau:

Áp dụng phương pháp định lượng flavonoid toàn phần để đánh giá các mẫu lá Đơn lá đỏ, xây dựng cơ sở dữ liệu xác định thời điểm thu hái tối ưu.

Hàm lượng flavonoid toàn phần được tính theo công thức:

$$HL = \frac{C \times k \times V_{pd} \times 100}{m_{\text{dược liệu}} \times 10^6 \times (100\% - A\%)} \quad (\%)$$



(Trong đó: C là nồng độ kaempferol trong dung dịch thử ( $\mu\text{g/ml}$ ); A là độ hấp của dược liệu (%);  $V_{bd}$  là thể tích ban đầu (ml);  $m_{dược\ li\ u}$  là khối lượng dược liệu (g); k là hệ số pha loãng.

## Phương pháp xử lý và phân tích số liệu

Xử lý kết quả thực nghiệm bằng phần mềm Microsoft Office Excel 2010 và được biểu diễn dưới dạng  $M \pm SE$  (M:

Giá trị trung bình từng lô, SE: Sai số chuẩn). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi  $p < 0,05$ .

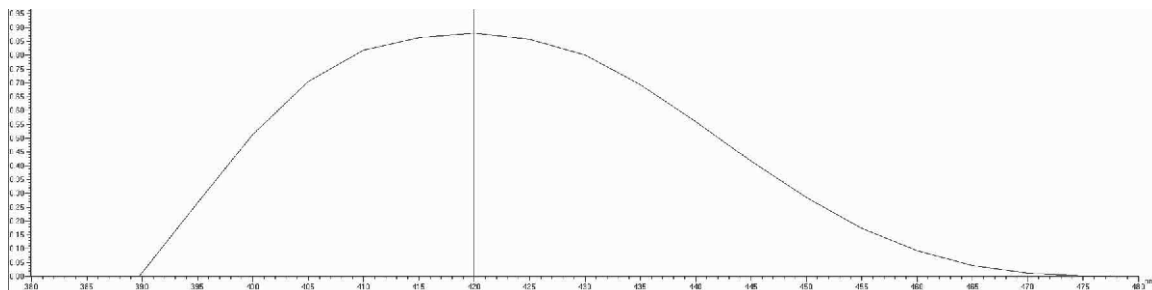
## Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu tuân thủ các quy định đạo đức trong khoa học và kiểm nghiệm. Mẫu Đơn lá đồ được thu hái hợp pháp, giám định chính xác, xử lý đúng quy trình. Dữ liệu phân tích được ghi nhận trung thực, đảm bảo độ tin cậy và khách quan.

## KẾT QUẢ

### Xây dựng phương pháp định lượng flavonoid toàn phần

#### Khảo sát bước sóng cực đại hấp thụ:



Biểu đồ 1. Hình ảnh cực đại hấp thụ của kaempferol

Dung dịch chuẩn kaempferol có cực đại hấp thụ tại bước sóng 420 nm nên chúng tôi sử dụng bước sóng này trong các bước nghiên cứu tiếp theo.

**Khảo sát quy trình xử lý mẫu:** Qua quá trình khảo sát bằng cách thay đổi đơn biến, chúng tôi lựa chọn được quy trình chiết xuất tối ưu cho định lượng, bao gồm: Dung môi là Ethanol 60%, nhiệt độ là  $80^{\circ}\text{C}$ , tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1/12 (g/ml).

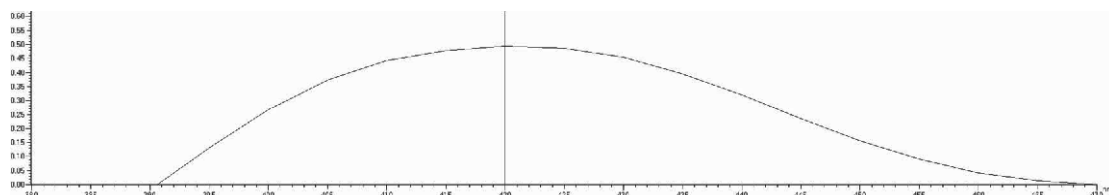
**Quy trình định lượng:** Cân chính xác khoảng 1,3g bột lá. Cho bột dược liệu vào bình nón, thêm 15,6ml dung môi chiết EtOH 60%, lắc nhẹ bình để dược liệu được thấm đều dung môi. Tiến hành chiết hồi lưu ở nhiệt độ  $80^{\circ}\text{C}$ , chiết 3 lần. Thời gian chiết của 3 lần chiết liên tiếp là: 1h, 1h, 1h.

Lọc dịch chiết, định mức lại bằng bình định mức 50ml. Hút 3ml dịch hòa tan vào bình định mức 10ml, thêm EtOH 60% đến vạch. Lấy 1ml dịch hòa tan thêm vào đó 1ml thuốc thử  $\text{AlCl}_3$ , 5%, lắc đều. Định mức đến thể tích 10 ml bằng EtOH, lắc đều. Sau 6 phút, đo độ hấp thụ quang tại bước sóng 420nm. Mẫu chứng là dung dịch tương tự nhưng không có thuốc thử  $\text{AlCl}_3$ , 5%.

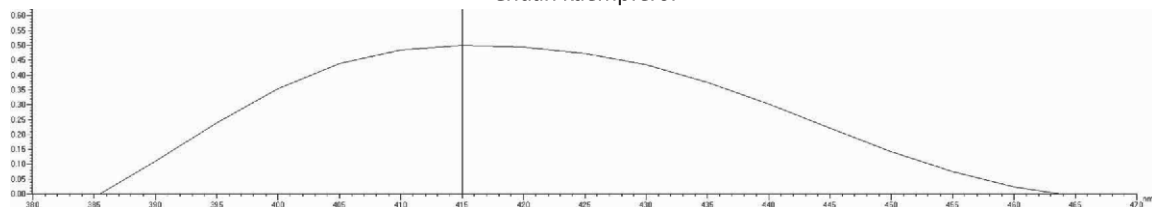
## Thẩm định phương pháp định lượng

### Độ đặc hiệu:

Tiến hành quét phổ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử cho phản ứng tạo phức với thuốc thử, quét phổ trong vùng bước sóng 350 - 600nm.



Chuẩn kaempferol



Mẫu thử

Biểu đồ 2. Phổ hấp thụ UV-Vis của dung dịch mẫu thử và dung dịch mẫu chuẩn



Mẫu thử và mẫu chuẩn có hình dạng phổ tương tự với duy nhất một đỉnh trong vùng bước sóng khảo sát. Tuy nhiên đỉnh hấp thụ của mẫu thử và mẫu chuẩn không trùng khớp, cụ thể đỉnh của mẫu chuẩn ở bước sóng 420nm và mẫu thử là 415nm, cách nhau 5nm.

**Độ tuyến tính:** Chuẩn bị mẫu chuẩn: Từ dung dịch chuẩn gốc kaempferol pha loãng chính xác để được các dung dịch chuẩn làm việc có nồng độ 0,65; 1,3; 2,6; 3,9; 5,2; 6,5 µg/ml. Đo độ hấp thụ của các dung dịch này ở bước sóng 420nm.

Bảng 1. Kết quả khảo sát tính tuyến tính của quy trình định lượng

| Nồng độ (µg/ml)      | 0,65                | 1,3   | 2,6   | 3,9   | 5,2   | 6,5   |
|----------------------|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Độ hấp thụ           | 0,106               | 0,208 | 0,363 | 0,520 | 0,700 | 0,879 |
| Phương trình hồi quy | $y = 0,13x + 0,026$ |       |       |       |       |       |
| Hệ số tương quan     | 0,999               |       |       |       |       |       |

Kết quả cho thấy trong khoảng nồng độ khảo sát của kaempferol từ 0,65 µg/ml đến 6,5 µg/ml có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ kaempferol và độ hấp thụ, đạt yêu cầu AOAC với hệ số

tương quan  $R^2 = 0,999 > 0,995$ .

**Độ lặp lại:**

Tiến hành chiết 6 mẫu độc lập, đo UV – Vis 3 lần tại bước sóng 420nm và lấy giá trị trung bình.

Bảng 2. Kết quả đánh giá độ lặp lại của phương pháp

| Mẫu | Hàm ẩm (%) | Khối lượng bột lá (g) | Độ hấp thụ | Hàm lượng (%) | Trung bình (%)      | RSD (%) |
|-----|------------|-----------------------|------------|---------------|---------------------|---------|
| 1   | 5,58       | 1,3038                | 0,367      | 0,3551        | $0,3527 \pm 0,0080$ | 2,2554  |
| 2   |            | 1,3016                | 0,374      | 0,3630        |                     |         |
| 3   |            | 1,3052                | 0,359      | 0,3464        |                     |         |
| 4   |            | 1,3023                | 0,354      | 0,3420        |                     |         |
| 5   |            | 1,3031                | 0,362      | 0,3501        |                     |         |
| 6   |            | 1,3040                | 0,371      | 0,3592        |                     |         |

Tại mức hàm lượng 0,1-1%, độ lặp lại của phương pháp (RSD) phải đạt  $\leq 3,7\%$  (Theo AOAC). Kết quả phân tích cho thấy  $RSD = 2,2554\%$ , như vậy độ lặp lại của phương pháp định lượng flavonoid tổng số (tính theo kaempferol) trong lá cây đơn lá đỏ đạt yêu cầu của phép phân tích.

**Độ đúng:**

Tiến hành chiết bột lá Đơn lá đỏ và thêm một lượng chính xác chuẩn kaempferol có nồng độ lần lượt bằng 80, 100, 120% nồng độ tuyến tính bất kỳ vào mẫu thử đã xác định hàm lượng sao cho tổng nồng độ nằm trong khoảng tuyến tính đã khảo sát. Thực hiện mỗi nồng độ 3 mẫu lặp lại riêng biệt. Sau đó đem đo mật độ quang và dựa vào phương trình đường chuẩn, tính được hàm lượng chuẩn thu hồi.

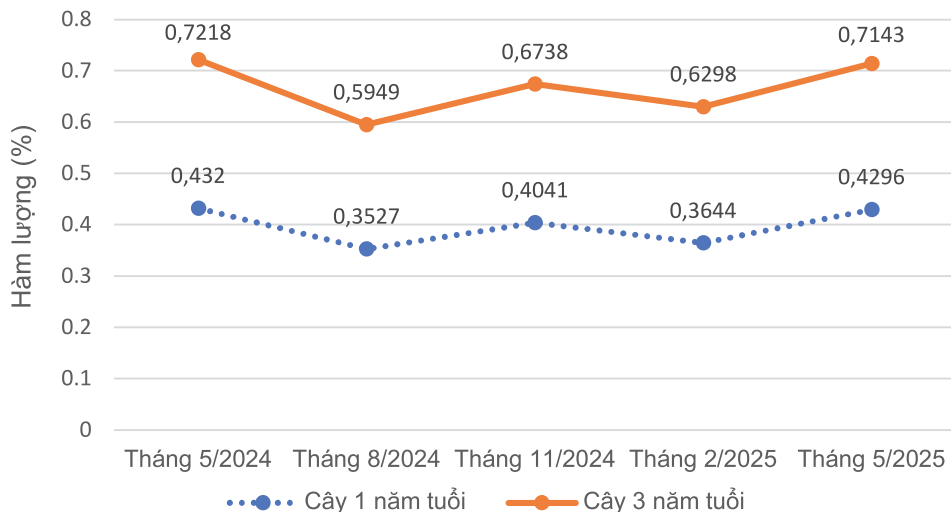
Bảng 3. Kết quả đánh giá độ đúng của phương pháp

| Mức (%) | Stt | Lượng Kaempferol thêm vào (µg/ml) | Lượng Kaempferol thu được (µg/ml) | Nồng độ ban đầu (µg/ml) | Độ thu hồi (%) | Trung bình (%)        | RSD (%) |
|---------|-----|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------|----------------|-----------------------|---------|
| 80      | 1   | 2,08                              | 2,03                              | 2,6                     | 97,5962        | $97,9167 \pm 2,4198$  | 2,4198  |
|         | 2   | 2,08                              | 1,99                              | 2,6                     | 95,6731        |                       |         |
|         | 3   | 2,08                              | 2,08                              | 2,6                     | 100,4808       |                       |         |
| 100     | 1   | 2,6                               | 2,57                              | 2,6                     | 98,8462        | $98,5897 \pm 1,1750$  | 1,1750  |
|         | 2   | 2,6                               | 2,59                              | 2,6                     | 99,6154        |                       |         |
|         | 3   | 2,6                               | 2,53                              | 2,6                     | 97,3077        |                       |         |
| 120     | 1   | 3,12                              | 3,08                              | 2,6                     | 98,7179        | $100,4274 \pm 1,7652$ | 1,7652  |
|         | 2   | 3,12                              | 3,13                              | 2,6                     | 100,3205       |                       |         |
|         | 3   | 3,12                              | 3,19                              | 2,6                     | 102,2436       |                       |         |

Định lượng flavonoid toàn phần (tính theo kaempferol) đã nghiên cứu trên nền mẫu thử có độ thu hồi từ 95,67 – 102,24%, đều nằm trong giới hạn cho phép thẩm định về phương pháp đối với phân tích mẫu của AOAC (đối với mẫu có hàm lượng 0,1 – 1%, lượng

chuẩn tìm lại phải nằm trong khoảng 95 – 105%). Phương pháp đạt yêu cầu về độ đúng.

**Đánh giá hàm lượng flavonoid toàn phần trong lá cây Đơn lá đỏ tại các thời điểm khác nhau**



Biểu đồ 3. Kết quả hàm lượng flavonoid toàn phần (%) theo thời điểm thu hái và tuổi cây

Hàm lượng flavonoid trong lá cây đơn lá đỏ tăng theo tuổi cây và đạt cao nhất vào tháng 5/2024 ( $0,4320 \pm 0,0062$  (%)) đối với cây 1 năm tuổi và  $0,7218 \pm 0,0045$  (%) đối với cây 3 năm tuổi) và thấp nhất vào tháng 8/2024 ( $0,3527 \pm 0,0077$  (%)) đối với cây 1 năm tuổi và  $0,5949 \pm 0,0102$  (%) đối với cây 2 năm tuổi). Cây 3 năm tuổi luôn có hàm lượng cao hơn cây 1 năm tuổi (chênh lệch  $0,2422\% - 0,2898\%$ ). Mức flavonoid ổn định giữa các năm nếu thu hái cùng mùa. Để tối ưu, chúng tôi đề xuất nên thu hái lá từ cây 3 năm tuổi vào tháng 5.

## BÀN LUẬN

### Xây dựng và thẩm định được phương pháp định lượng flavonoid toàn phần trong lá cây đơn lá đỏ bằng quang phổ UV-Vis

Phương pháp quang phổ UV-Vis là một kỹ thuật đơn giản, nhanh, chi phí thấp nhưng vẫn tương đối chính xác. Nghiên cứu sử dụng phương pháp quang phổ UV-Vis để định lượng flavonoid toàn phần dựa trên phản ứng tạo phức màu giữa flavonoid và ion  $Al^{3+}$ , với kaempferol làm chất chuẩn, đo tại 420 nm. Phản ứng này tạo phức màu ổn định, giúp định lượng chính xác flavonoid trong mẫu thực vật. Trong thẩm định độ đặc hiệu, mẫu thử và mẫu chuẩn đều cho một đỉnh hấp thụ, tuy nhiên đỉnh của mẫu thử lệch 5 nm so với chuẩn (415 nm so với 420 nm). Sự lệch này có thể do mẫu thử có chứa hỗn hợp flavonoid tạo phức với  $Al^{3+}$ , góp phần làm dịch chuyển bước sóng hấp thụ. Tuy nhiên, sự chênh lệch này không lớn, thể hiện rằng kaempferol là flavonoid chiếm tỷ trọng lớn trong hỗn hợp flavonoid toàn phần của đơn đỏ. Trong khoảng nồng độ  $0,65 - 6,5 \mu\text{g/mL}$ , phương trình hồi quy tuyến tính thu được là  $y = 0,13x + 0,026$  với hệ số tương quan  $R^2 = 0,999$ , chứng tỏ mối quan hệ tuyến tính rõ ràng. Độ lặp lại của phương pháp đạt yêu cầu với  $RSD = 2,2554\%$ , phù hợp với tiêu

chuẩn AOAC ( $\leq 3,7\%$ ). Đồng thời, độ đúng của phương pháp được xác nhận khi kết quả thu hồi dao động trong khoảng 95 - 105%, đáp ứng yêu cầu theo tiêu chuẩn AOAC.

Khi so sánh với các nghiên cứu trước đây, có thể nhận thấy sự chênh lệch đáng kể về giá trị định lượng. Kết quả cho thấy hàm lượng flavonoid toàn phần dao động từ  $0,3527\% - 0,7218\%$ , thấp hơn đáng kể so với nghiên cứu của Nguyễn Thái An [4] ( $4,19\% - 4,41\%$ ) do khác biệt về phương pháp. Phương pháp cân thường mắc sai số do lẫn nhiều tạp chất, ít được sử dụng trong các chuyên luận dược điển. Nghiên cứu của Đỗ Thị Anh Thư (2024) sử dụng phương pháp đo quang phổ UV - Vis với chất chuẩn là kaempferol đã xác định hàm lượng flavonoid toàn phần trong cao lá Mơ lông đạt trung bình  $8,558\%$  [6]. So với kết quả của nghiên cứu ( $0,3527\% - 0,7218\%$ ), hàm lượng flavonoid của cao lá Mơ lông cao hơn rõ rệt. Điều này có thể xuất phát từ sự khác biệt về bản chất dược liệu, quy trình chiết xuất và dạng mẫu thử (cao đặc so với dược liệu khô).

### Đánh giá hàm lượng flavonoid toàn phần trong lá cây Đơn lá đỏ tại các thời điểm khác nhau

Việc theo dõi hàm lượng flavonoid theo thời gian nhằm tối ưu hóa chất lượng dược liệu và đảm bảo hiệu quả điều trị. Nghiên cứu cho thấy hàm lượng flavonoid trong lá cây đơn lá đỏ biến động theo mùa, cao nhất vào tháng 5 – giai đoạn đầu hè và ra hoa. Điều kiện ánh sáng mạnh, nhiệt độ tăng và pha sinh sản kích thích các con đường sinh tổng hợp flavonoid, đặc biệt là phenylpropanoid. Ngược lại, tháng 8 – giữa mùa mưa bão – cho hàm lượng thấp nhất do ánh sáng suy giảm, ngập úng kéo dài và cây chuyển sang pha sinh dưỡng. Tháng 11 (cuối thu) có hàm lượng cao hơn tháng 2 (cuối đông) nhờ cơ chế tích lũy chất chuyển hóa để thích nghi với điều kiện khắc nghiệt, trong khi tháng 2 là giai



đoạn cây mới khởi động trao đổi chất, chưa tối ưu cho tổng hợp flavonoid. Cây 3 năm tuổi luôn có hàm lượng flavonoid cao hơn cây 1 năm tuổi (chênh lệch 0,2422%–0,2898%). Theo dõi định kỳ flavonoid giúp tiêu chuẩn hóa trồng trọt, thu hái, nâng cao độ tin cậy của sản phẩm và cung cấp dữ liệu về ảnh hưởng của môi trường, hỗ trợ cải tiến quy trình chiết xuất. Như vậy, kết quả theo dõi flavonoid không chỉ mang ý nghĩa khoa học mà còn giúp tối ưu nguồn dược liệu và nâng cao chất lượng sản phẩm.

Do thời gian có hạn, nghiên cứu hiện tại chỉ tập trung phân tích mẫu Đơn lá đỏ được thu hái tại khu vực Phú Xuyên - Hà Nội, nên chưa đảm bảo tính đại diện cao. Vì vậy, cần mở rộng nghiên cứu, phân tích những mẫu cây tại các khu vực khác nhau để có số liệu chính xác hơn về hàm lượng flavonoid toàn phần trong lá cây đơn lá đỏ. Ngoài ra, chúng tôi đề xuất mở rộng nghiên cứu trên nhiều độ tuổi cây hơn để xác định chính xác hơn mối liên hệ giữa thời gian thu hái và hàm lượng flavonoid.

## KẾT LUẬN

Quy trình chiết được tiến hành bằng cách cân khoảng 1,3g bột lá, chiết hồi lưu với 15,6ml ethanol 60% ở 80°C trong 3 lần liên tiếp, mỗi lần 1 giờ. Dịch chiết được lọc, định mức 50ml, sau đó lấy 3ml pha loãng thành 10ml. Lấy 1ml dịch hoàn tan thêm vào đó 1ml  $AlCl_3$  5%. Sau 6 phút, đo độ hấp thụ tại bước sóng 420nm; mẫu chứng được chuẩn bị tương tự nhưng không thêm thuốc thử  $AlCl_3$ .

Phương pháp được thẩm định đạt yêu cầu về độ đặc hiệu, độ tuyến tính ( $R^2 = 0,999$ ), độ lặp lại ( $RSD = 2,2554\%$ ) và độ đúng (thu hồi đạt 97,6–100,5%).

Hàm lượng flavonoid cao nhất được ghi nhận ở lá của cây 3 năm tuổi vào tháng 5.

## LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được hỗ trợ kinh phí từ đề tài cấp cơ sở: Xây dựng và áp dụng phương pháp định lượng flavonoid toàn phần trong lá cây đơn lá đỏ (*Excoecaria cochinchinensis* Lour.) bằng quang phổ UV-Vis của Học Viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam. Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **N.T. An.** Nghiên cứu tác dụng chống u thực nghiệm trên chuột nhắt trắng của dược liệu Đơn lá đỏ. *Tạp chí Dược liệu* 2009, 14 (3), tr.155-158.
2. **N.T. An, P.X. Sinh, C.V. Thư, N.T.A. Thư.** Sơ bộ thăm dò một số tác dụng sinh học của lá cây Đơn lá đỏ. *Tạp chí Dược liệu*, 2000, 4, tr.20-21.
3. **N.T. An, P.X. Sinh.** Bước đầu nghiên cứu thành phần hóa học của dược liệu Đơn lá đỏ (*Excoecaria cochinchinensis* Lour.). *Tạp chí Dược liệu*, 2000, 4, tr.9.
4. **Nguyễn Thái An.** Nghiên cứu dược liệu đơn lá đỏ (*Excoecaria cochinchinensis* Lour. var. *cochinchinensis*), Luận án tiến sĩ Trường Đại học Dược Hà Nội, 2003.
5. **Bộ Y Tế.** *Dược điển Việt Nam V*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 2017, tập 2, tr.1173.
6. **Đỗ Thị Anh Thư.** Định lượng flavonoid toàn phần trong cao lá Mơ lông (*Paederia lanuginosa* Wall.) bằng phương pháp quang phổ. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Trường Đại học Bình Dương*, 2024, quyển 7, số 2, tr.173-178.
7. **AOAC Official Methods Of Analysis.** *AOAC Guidelines for Single - Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals*, 2019, pp.6-9.