



Xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng Epicatechin trong viên nang cứng chứa cao khô hạt vải bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao

DEVELOPING AND VALIDATING AN HPLC METHOD FOR THE QUANTIFICATION OF EPICATECHIN IN HARD CAPSULES CONTAINING *LITCHI CHINENSIS* SEED DRY EXTRACT

Phạm Quốc Doanh¹, Phạm Bảo Tùng¹, Vũ Đức Lợi²

¹Trường Đại học Dược Hà Nội

²Học viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng epicatechin trong viên nang cứng chứa cao khô hạt vải bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Đối tượng nghiên cứu là viên nang cứng chứa cao khô hạt vải. Phương pháp HPLC ghép nối detector UV được sử dụng để định lượng epicatechin. Điều kiện sắc ký gồm cột C18 (250 × 4,6 mm; 5 μm), pha động acetonitrile và dung dịch acid phosphoric 0,085% theo chương trình gradient, tốc độ dòng 1,0 ml/phút, thể tích tiêm mẫu 10 μL, bước sóng phát hiện 202 nm. Phương pháp được thẩm định theo các tiêu chí: độ chọn lọc, độ thích hợp hệ thống, độ chính xác, khoảng tuyến tính và độ đúng.

Kết quả: Phương pháp HPLC-UV cho thấy tính đặc hiệu tốt, pic epicatechin trong mẫu thử có thời gian lưu khoảng 12 phút và không bị nhiễu bởi các thành phần khác trong nền mẫu. Khoảng tuyến tính của phương pháp nằm trong khoảng nồng độ từ 1,5–30 μg/ml với hệ số tương quan $R^2 = 0,9999$. Độ thích hợp hệ thống và độ chính xác đều đạt yêu cầu với $RSD < 2\%$. $LOD = 0,5 \mu\text{g/mL}$, $LOQ = 1,5 \mu\text{g/mL}$. Độ đúng được đánh giá bằng phương pháp thêm chuẩn ở ba mức nồng độ 50%, 100% và 150%, cho tỷ lệ thu hồi nằm trong khoảng chấp nhận được.

Kết luận: Phương pháp HPLC-UV đã được xây dựng và thẩm định để định lượng epicatechin trong viên nang cứng chứa cao khô hạt vải. Phương pháp có độ tin cậy cao và có thể áp dụng trong kiểm nghiệm và kiểm soát chất lượng các chế phẩm chứa cao khô hạt vải.

Từ khóa: Epicatechin, hạt vải, HPLC, thẩm định phương pháp, viên nang cứng.

ABSTRACT

Objective: To develop and validate a high-performance liquid chromatography (HPLC) method for the quantification of epicatechin in hard capsules containing *Litchi chinensis* seed dry extract.

Subjects and methods: The study subject was hard capsules containing litchi seed dry extract. A high-performance liquid chromatography method coupled with UV detector (HPLC-UV) was used for the quantification of epicatechin. The chromatographic conditions included a C18 column (250 × 4.6 mm; 5 μm), a mobile phase consisting of acetonitrile and 0.085% phosphoric acid solution with gradient elution, a flow rate of 1.0 ml/min, an injection volume of 10 μL, and a detection wavelength of 202 nm. The method was validated according to the following criteria: specificity, system suitability, precision, linearity, and accuracy.

Results: The developed HPLC-UV method showed good specificity. The epicatechin peak in the sample solution appeared at a retention time of approximately 12 minutes and was not interfered with by other components in the sample matrix. The linearity range of the method was 1.5–30 μg/ml with a correlation coefficient $R^2 = 0.9999$. System suitability and precision met the acceptance criteria with $RSD < 2\%$. $LOD = 0.5 \mu\text{g/mL}$, $LOQ = 1.5 \mu\text{g/mL}$. Accuracy was evaluated by the standard addition method at three concentration levels (50%, 100%, and 150%), yielding recovery rates within the acceptable range.

Conclusion: An HPLC-UV method has been successfully developed and validated for the quantification of epicatechin in hard capsules containing litchi seed dry extract. The method is highly reliable and can be applied for the quality control and quality assurance of preparations containing litchi seed dry extract.

Keywords: Epicatechin, *Litchi chinensis* seed, HPLC, method validation, hard capsules.

Tác giả liên hệ: Vũ Đức Lợi
Điện thoại: 0917879959
Email: ducloi82@gmail.com

Ngày nhận bài: 06/01/2026
Ngày chấp nhận đăng: 27/3/2026
Mã DOI: <https://doi.org/10.60117/vjmap.v67i02.486>



ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây vải (*Litchi chinensis* Sonn.) là một trong những cây ăn quả có giá trị kinh tế cao tại Việt Nam, được trồng chủ yếu ở các tỉnh miền Bắc như Bắc Giang, Hải Dương và Hưng Yên [1]. Trong quá trình chế biến và tiêu thụ quả vải, phần hạt thường bị loại bỏ, tạo ra một lượng lớn phụ phẩm chưa được khai thác hiệu quả [2]. Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu gần đây cho thấy hạt vải chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học đáng chú ý, đặc biệt là các polyphenol như epicatechin, proanthocyanidin, acid gallic và acid ellagic [3]. Các hợp chất này được ghi nhận có hoạt tính chống oxy hóa mạnh, góp phần bảo vệ tế bào trước tác động của các gốc tự do, đồng thời hỗ trợ kháng viêm, kháng khuẩn và góp phần phòng ngừa một số bệnh mạn tính [4]. Những kết quả này cho thấy hạt vải là nguồn nguyên liệu tiềm năng cho việc nghiên cứu khai thác và phát triển các sản phẩm hỗ trợ chăm sóc sức khỏe.

Để phát huy giá trị của các hợp chất hoạt tính sinh học từ hạt vải và tạo ra sản phẩm có khả năng ứng dụng thực tiễn, việc nghiên cứu bào chế các dạng thuốc phù hợp là cần thiết. Trong số các dạng bào chế đường uống, viên nang cứng được sử dụng phổ biến nhờ những ưu điểm như tính ổn định cao, dễ bảo quản, thuận tiện khi sử dụng và khả năng định liều chính xác [5]. Do đó, việc chiết xuất và bào chế viên nang cứng từ cao khô hạt vải không chỉ có ý nghĩa về mặt khoa học mà còn góp phần tận dụng nguồn phụ phẩm nông nghiệp và phát triển nguồn nguyên liệu tự nhiên phục vụ chăm sóc sức khỏe. Xuất phát từ những cơ sở trên, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục tiêu: Xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng epicatechin trong viên nang cứng chứa cao khô hạt vải bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

ĐỐI TƯỢNG, CHẤT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nguyên liệu, hóa chất, thiết bị

Nguyên liệu nghiên cứu là Viên nang cứng chứa cao khô hạt vải với thành phần như sau:

Thành phần của viên nang cứng chứa cao khô hạt vải

Thành phần	Công thức cho 1 viên (mg)	Tỷ lệ khối lượng (%)
Cao khô hạt vải	350	70
Avicel	50	10
CaCO ₃	50	10
Natri croscarmellose	35	7
Talc	5	1
Magnesi stearat	5	1
PVP K30	5	1
Tổng	500	100

Quy trình bào chế: Viên nang cứng chứa cao khô hạt vải được thực hiện theo phương pháp tạo hạt ướt (xát hạt

ướt), gồm các bước cụ thể như sau. Trước tiên, các nguyên liệu được cân theo đúng tỷ lệ trong công thức. Tiếp theo, tiến hành rây nguyên liệu nhằm đảm bảo độ mịn và đồng đều: Avicel, CaCO₃ và natri croscarmellose được rây qua rây 0,25 mm; talc và magnesi stearat được rây qua rây 0,18 mm. Cao khô hạt vải, Avicel, CaCO₃ và natri croscarmellose được trộn khô đến khi thu được hỗn hợp đồng nhất. Sau đó, khối bột được nhào ẩm bằng dung dịch PVP K30 7% trong ethanol 70% (đóng vai trò tá dược dính) cho đến khi đạt thể chất thích hợp. Khối ẩm được xát hạt qua rây 1,00 mm, rồi sấy cốm ở 60°C cho đến khi độ ẩm còn dưới 5%. Cốm sau khi sấy được sửa cốm qua rây 1,00 mm để đồng đều kích thước. Cuối cùng, cốm được trộn hoàn tất với talc và magnesi stearat (tá dược trơn) và đóng vào vỏ nang cứng số 0, mỗi viên nặng 500 mg, tương ứng chứa 350 mg cao khô hạt vải.

Hóa chất: Chất chuẩn epicatechin (độ tinh khiết ≥ 98%, Chemfaces, Số lô: CFS 202505, HSD: 02/2027); methanol dùng cho HPLC; acetonitrile; dung dịch acid phosphoric 0,085%; màng lọc PTFE kích thước lỗ 0,2 μm.

Thiết bị: Hệ thống HPLC Shimadzu ghép nối detector UV; cột sắc ký ODS (C18) kích thước 250 × 4,6 mm, kích thước hạt nhỏ 5 μm; micropipet và các dụng cụ thủy tinh phòng thí nghiệm phù hợp.

Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Từ tháng 1 đến tháng 8 năm 2025 tại Trường Đại học Dược Hà Nội.

Phương pháp nghiên cứu

Xử lý mẫu: Cân chính xác 20 viên nang, mở vỏ nang và lấy cốm ra, lau sạch vỏ nang và cân chính xác tất cả vỏ nang. Khối lượng cốm trong 20 viên nang bằng khối lượng 20 viên trừ cho khối lượng của 20 vỏ nang. Cốm được lấy ra từ 20 viên nang được trộn đều và nghiền mịn. Cân chính xác lượng bột tương đương với 1,05 g cao khô hạt vải vào bình định mức 25,0 ml, thêm methanol siêu âm cho tan hoàn toàn, thêm methanol đến vạch, lắc đều thu được dung dịch thử gốc. Hút chính xác 1,5 ml dung dịch thử gốc vào bình định mức 25,0 ml, thêm methanol đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc PTFE 0,2 μm thu được dung dịch thử.

Điều kiện sắc ký: Điều kiện sắc ký được tham khảo từ phương pháp định lượng hợp chất epicatechin trong dược liệu Kê huyết đằng [6]. Phân tích được thực hiện trên hệ thống HPLC ghép nối detector UV của Shimadzu. Pha tĩnh sử dụng cột ODS (C18) có kích thước 250 × 4,6 mm, kích thước hạt nhỏ 5 μm. Pha động gồm acetonitrile và dung dịch acid phosphoric 0,085%, được chạy theo chương trình gradient như sau: từ 0–10 phút sử dụng 11% acetonitrile; từ 10–15 phút tăng dần từ 11% lên 15%; từ 15–25 phút tiếp tục tăng lên 30%; và từ 25–30 phút tăng lên 45%. Tốc độ dòng được duy trì ở mức 1,0 ml/phút, nhiệt độ cột 30°C, thể tích tiêm mẫu 10 μL. Detector UV được cài đặt phát hiện tại bước sóng 202 nm.



Phương pháp tiến hành:

Dung dịch chuẩn được chuẩn bị bằng cách cân chính xác khoảng 0,0100 g chất chuẩn epicatechin (độ tinh khiết $\geq 98\%$), hòa tan trong methanol HPLC và định mức đến 50,0 mL để thu được dung dịch chuẩn gốc có nồng độ khoảng 200 $\mu\text{g/mL}$. Từ dung dịch chuẩn gốc, tiến hành pha loãng để thu được dãy dung dịch chuẩn có nồng độ lần lượt là 1,5; 5; 10; 15; 20; 25 và 30 $\mu\text{g/mL}$. Tất cả các dung dịch chuẩn được lọc qua màng lọc PTFE 0,2 μm trước khi tiêm vào hệ thống HPLC. Đối với mẫu thử, dung dịch thử được chuẩn bị theo quy trình Xử lý mẫu nêu trên và lọc qua màng lọc PTFE 0,2 μm trước khi tiêm vào hệ thống HPLC.

Hàm lượng epicatechin trong mẫu được tính theo công thức:

$$X (\text{mg/viên}) = (C \times V \times K \times 10^{-3}) / m_{\text{bột cân}} \times m_{\text{bột trung bình 1 viên}}$$

Trong đó: C = nồng độ epicatechin đọc từ đường chuẩn ($\mu\text{g/mL}$); V = thể tích dung dịch chiết (25,0 mL); m bột cân = khối lượng bột cốm cân vào bình định mức (g); m 1 viên = khối lượng cốm trung bình trong 1 viên (g); K: Hệ số pha loãng = $25/1,5 \approx 16,67$

Phương pháp được thẩm định theo hướng dẫn của ICH và AOAC [7],[8], bao gồm các chỉ tiêu: Độ chọn lọc, độ thích hợp hệ thống, độ chính xác, khoảng tuyến tính và đường chuẩn và độ đúng.

Phương pháp xử lý và phân tích số liệu

Số liệu thu được được xử lý và phân tích bằng các hàm thống kê trong phần mềm Microsoft Excel 365. Giá trị trung bình được tính bằng hàm AVERAGE, độ lệch chuẩn bằng hàm STDEV và độ lệch chuẩn tương đối (RSD) được tính theo công thức $RSD = SD/TB \times 100\%$. Phương trình hồi quy tuyến tính được xác định theo dạng $y = ax + b$, trong đó hệ số góc a được tính bằng hàm SLOPE, hệ số chặn b bằng hàm INTERCEPT và hệ số tương quan R^2 bằng hàm CORREL.

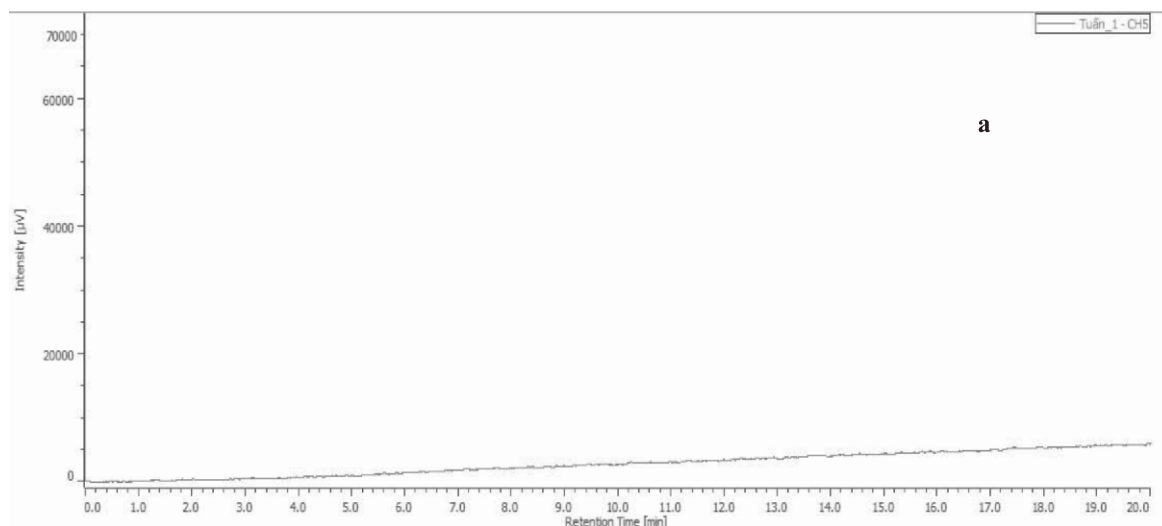
Đạo đức trong nghiên cứu

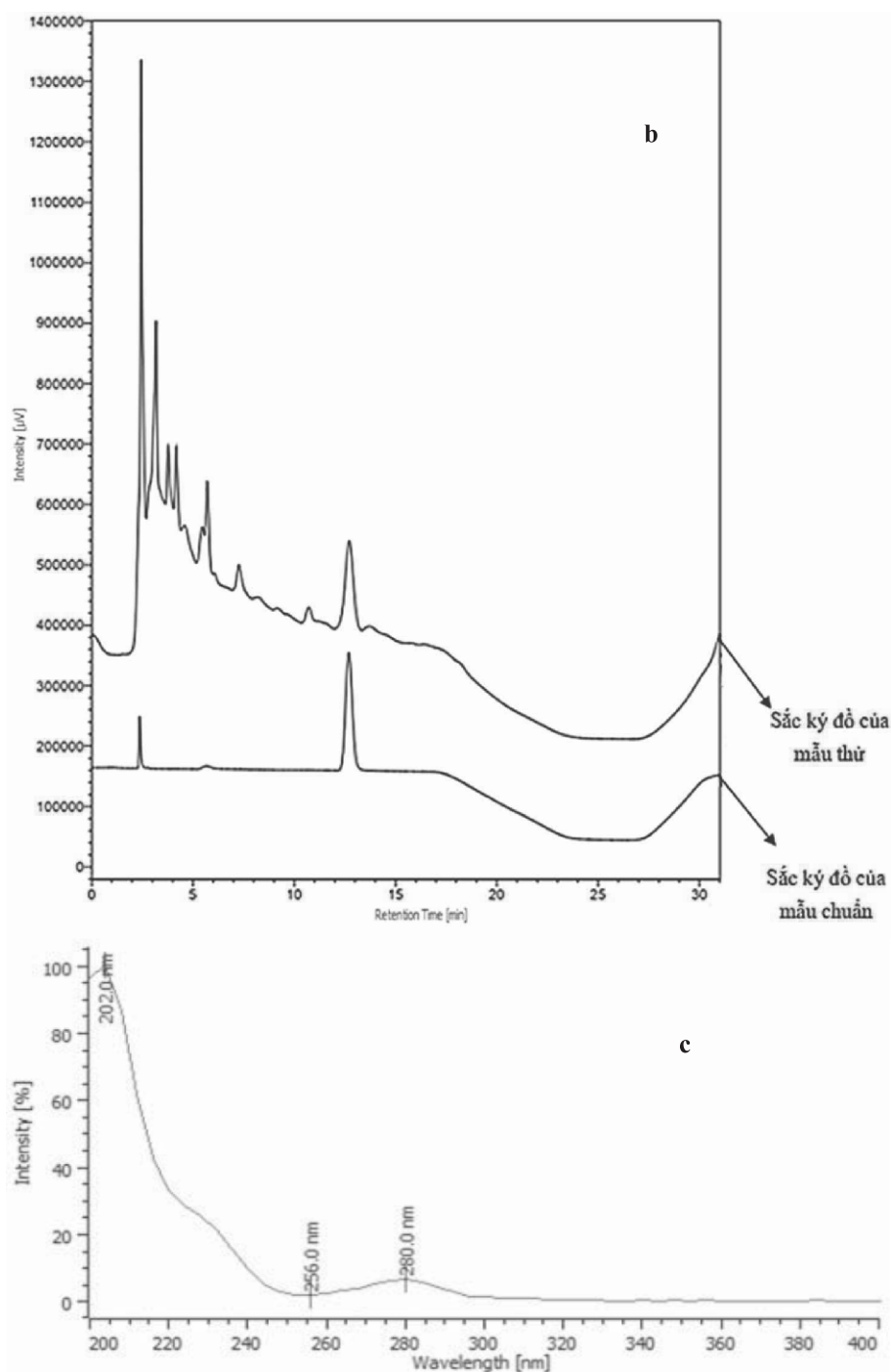
Kết quả nghiên cứu là khách quan, trung thực và đảm bảo liêm chính trong khoa học.

KẾT QUẢ

Độ chọn lọc

Độ chọn lọc của phương pháp được đánh giá bằng cách tiến hành phân tích sắc ký đối với mẫu trắng, mẫu thử và mẫu chuẩn (Hình 1a, 1b) theo điều kiện sắc ký đã lựa chọn, sau đó ghi nhận và so sánh các sắc ký đồ thu được. Thời gian lưu của chất phân tích trong các mẫu được xác định và đối chiếu giữa các sắc ký đồ. Kết quả thể hiện trên hình 1 cho thấy pic epicatechin trong mẫu thử xuất hiện tại thời gian lưu khoảng 12 phút, tương tự với thời gian lưu của pic epicatechin trong mẫu chuẩn, đồng thời không bị ảnh hưởng bởi các thành phần khác trong nền mẫu. Điều này chứng tỏ phương pháp có tính đặc hiệu tốt đối với epicatechin.





Hình 1. Sắc ký đồ của mẫu trắng (a), mẫu chuẩn và mẫu thử (b), phổ UV của epicatechin (c)

Phổ UV của epicatechin chuẩn (Hình 1c) cho thấy độ hấp thụ tại 202 nm cao hơn đáng kể so với vùng 256 và 280 nm.

Do hàm lượng epicatechin trong nền mẫu thấp, bước

sóng 202 nm được lựa chọn nhằm tăng độ nhạy; độ chọn lọc tại bước sóng này đã được khẳng định qua sắc ký đồ mẫu trắng không xuất hiện pic gây nhiễu tại thời gian lưu của epicatechin.



Độ thích hợp hệ thống

Chuẩn bị mẫu chuẩn dung dịch epicatechin nồng độ khoảng 30 µg/ml rồi tiến hành sắc ký, lặp lại thao tác 6 lần.

Độ thích hợp hệ thống được đánh giá thông qua độ lệch chuẩn tương đối của thời gian lưu pic, với yêu cầu giá trị RSD không vượt quá 2%.

Bảng 1. Diện tích pic và thời gian lưu của các lần thử nghiệm

Lần	Diện tích pic (mAu.s)	Thời gian lưu (phút)
1	2557540	12,285
2	2558724	12,003
3	2546112	11,970
4	2589880	12,024
5	2565759	11,921
6	2542352	11,859
RSD	0,7 %	1,2 %
Yêu cầu	≤ 2,0 %	≤ 2,0 %

Độ thích hợp hệ thống được đánh giá bằng cách tiêm lặp lại dung dịch chuẩn epicatechin 6 lần liên tiếp trên hệ thống HPLC trong cùng điều kiện sắc ký. Kết quả cho thấy diện tích pic và thời gian lưu của epicatechin có độ lệch chuẩn tương đối (RSD) lần lượt là 0,7% và 1,2%. Các giá trị

này đều nằm trong giới hạn cho phép (RSD diện tích pic ≤ 2,0% và RSD thời gian lưu ≤ 2%). Điều này chứng tỏ hệ thống sắc ký hoạt động ổn định và phương pháp phân tích có độ thích hợp hệ thống đạt yêu cầu.

Độ chính xác

Bảng 2. Độ chính xác của phương pháp

Mẫu	Diện tích peak (mAu.s)	Hàm lượng epicatechin (mg/viên)
1	857 300	1,35
2	882 700	1,39
3	870 000	1,37
4	889 100	1,40
5	876 400	1,38
6	863 700	1,36
TB ± SD		1,38 ± 0,02
RSD		1,4%
Yêu cầu		≤ 2,0 %

Độ chính xác của phương pháp được đánh giá thông qua độ lặp lại bằng cách cân và pha chế độc lập 6 mẫu thử từ cốm viên nang, mỗi mẫu được xử lý và phân tích riêng biệt theo đúng quy trình đã xây dựng. Hàm lượng epicatechin trong 6 mẫu thử dao động từ 1,35 đến 1,40 mg/viên, với giá trị trung bình đạt $1,38 \pm 0,02$ mg/viên và RSD = 1,4%, nhỏ hơn giới hạn cho phép (≤ 2%). Kết quả

này chứng tỏ phương pháp có độ lặp lại tốt và đảm bảo độ chính xác trong định lượng epicatechin.

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

Tiến hành phân tích các dung dịch chuẩn epicatechin ở dãy nồng độ từ 0,5 đến 5,0 µg/mL theo điều kiện sắc ký đã thiết lập, ghi nhận diện tích peak và giá trị S/N tương ứng.

Bảng 3. Kết quả xác định LOD và LOQ của phương pháp

Nồng độ epicatechin (µg/ml)	Diện tích peak (mAu.s)	S/N	Đánh giá
0,5	42 700	3,2	LOD
1,0	85 300	6,5	
1,5	128 000	10,4	LOQ
2,0	170 700	13,8	
3,0	256 000	21,2	
5,0	426 700	35,6	



Tại nồng độ 0,5 µg/ml, tỷ lệ S/N đạt 3,2 (≥ 3), do đó LOD của phương pháp được xác định là 0,5 µg/ml. Tại nồng độ 1,5 µg/ml, tỷ lệ S/N đạt 10,4 (≥ 10), do đó LOQ của phương pháp được xác định là 1,5 µg/ml. Nồng độ thấp nhất của khoảng tuyến tính (1,5 µg/ml) trùng với LOQ, có S/N = 10,4, khẳng định toàn bộ khoảng tuyến tính 1,5–30 µg/ml nằm trong vùng định lượng tin cậy của phương pháp.

Khoảng tuyến tính và đường chuẩn

Khoảng tuyến tính của phương pháp được khảo sát trong khoảng nồng độ từ 1,5 đến 30 µg/ml - bắt đầu từ giới hạn định lượng (LOQ = 1,5 µg/ml). Kết quả cho thấy diện tích pic có mối tương quan tuyến tính chặt chẽ với nồng độ epicatechin, phương trình đường chuẩn $y = 85\,233x + 2\,696$, với hệ số tương quan $R^2 = 0,9999$ ($> 0,99$), chứng tỏ phương pháp có độ tuyến tính cao trong toàn bộ khoảng nồng độ khảo sát.

Bảng 4. Khoảng tuyến tính và đường chuẩn

Nồng độ (µg/ml)	Diện tích peak (mAu.s)
1,5	128 000
5,0	426 700
10,0	853 400
15,0	1 280 000
20,0	1 706 700
25,0	2 133 400
30,0	2 560 100
Phương trình đường chuẩn	$y = 85\,233x + 2\,696$
R^2	0,9999

Độ đúng

Trong nghiên cứu này, nồng độ epicatechin trong mẫu nền (Cn) được xác định là 10,27 µg/ml. Để đánh giá độ đúng của phương pháp phân tích, tiến hành thêm chuẩn epicatechin vào mẫu nền ở ba mức nồng độ khác nhau. Cụ thể, tại mức 50% lượng chuẩn

thêm vào (Cx) là 5,18 µg/ml; tại mức 100% lượng chuẩn thêm vào là 10,36 µg/ml; và tại mức 150% lượng chuẩn thêm vào là 15,54 µg/ml. Các mẫu sau khi thêm chuẩn được xử lý và phân tích theo quy trình đã xây dựng để xác định hiệu suất thu hồi của phương pháp.

Bảng 5. Kết quả khảo sát độ đúng của phương pháp

Mức thêm chuẩn	Lần	Cn (µg/ml)	Cx thêm (µg/ml)	Ct đo được (µg/ml)	Thu hồi R (%)
50%	1	10,27	5,18	15,41	99,23
50%	2	10,27	5,18	15,49	100,77
50%	3	10,27	5,18	15,45	100,00
TB ± SD					100,00 ± 0,77
RSD (%)					0,77
100%	1	10,27	10,36	20,63	100,39
100%	2	10,27	10,36	20,57	99,81
100%	3	10,27	10,36	20,70	101,06
TB ± SD					100,42 ± 0,63
RSD (%)					0,62
150%	1	10,27	15,54	25,70	99,68
150%	2	10,27	15,54	25,88	100,84
150%	3	10,27	15,54	25,76	100,06
TB ± SD					100,19 ± 0,59
RSD (%)					0,59

Hiệu suất thu hồi của epicatechin tại các mức thêm chuẩn 50%, 100% và 150% dao động từ 99,23% đến 101,06%, với giá trị trung bình lần lượt 100,00%; 100,42%

và 100,19%. Giá trị RSD đều nhỏ hơn 1%, nằm trong giới hạn chấp nhận (97–103%, $RSD \leq 2\%$). Kết quả cho thấy phương pháp có độ đúng phù hợp để định lượng



epicatechin trong mẫu thử.

Áp dụng định lượng epicatechin trong viên nang cứng chứa cao khô hạt vải

Áp dụng phương pháp HPLC đã được xây dựng và thẩm định để định lượng epicatechin trong viên nang

cứng chứa cao khô hạt vải. Tiến hành cân khối lượng toàn bộ viên nang, sau đó tách vỏ nang để xác định khối lượng thuốc trong nang. Mẫu được xử lý theo quy trình chuẩn bị mẫu đã xây dựng và tiến hành phân tích trên hệ thống HPLC theo các điều kiện sắc ký đã thiết lập.

Bảng 6. Hàm lượng epicatechin trong viên nang cứng

STT	Khối lượng viên nang (g)	Khối lượng vỏ nang (g)	Khối lượng thuốc trong nang (g)	Hàm lượng Epicatechin (mg)
1	0,5788	0,0939	0,4849	1,42
2	0,5925	0,0927	0,4998	1,35
3	0,5797	0,0983	0,4814	1,37
Trung bình				1,38 ± 0,04

BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu này, phương pháp HPLC ghép nối detector UV đã được xây dựng và thẩm định nhằm định lượng epicatechin trong viên nang cứng chứa cao khô hạt vải. Điều kiện sắc ký được lựa chọn dựa trên phương pháp định lượng epicatechin trong dược liệu Kê huyết đằng [6] và được điều chỉnh để phù hợp với nền mẫu của chế phẩm. Kết quả khảo sát tính đặc hiệu cho thấy pic epicatechin trong mẫu thử có thời gian lưu khoảng 12 phút và trùng với thời gian lưu của pic epicatechin trong dung dịch chuẩn. Đồng thời, trên sắc ký đồ của mẫu trắng không xuất hiện pic tại thời gian lưu tương ứng, chứng tỏ phương pháp có tính đặc hiệu tốt và các thành phần trong nền mẫu không gây nhiễu đến quá trình định lượng epicatechin.

Khoảng tuyến tính của phương pháp được khảo sát trong khoảng nồng độ từ 1,5 đến 30 µg/ml, bắt đầu từ giới hạn định lượng (LOQ = 1,5 µg/ml). Kết quả phân tích cho thấy diện tích pic có mối tương quan tuyến tính chặt chẽ với nồng độ epicatechin, với hệ số tương quan $R^2 = 0,9999$. Giá trị này đáp ứng yêu cầu đối với các phương pháp định lượng bằng HPLC, chứng tỏ phương pháp có độ tuyến tính cao trong khoảng nồng độ khảo sát và có thể áp dụng để xác định hàm lượng epicatechin trong các mẫu phân tích.

Độ thích hợp hệ thống được đánh giá thông qua các thông số sắc ký như thời gian lưu và diện tích pic của dung dịch chuẩn khi tiêm lặp lại nhiều lần. Kết quả cho thấy độ lệch chuẩn tương đối (RSD) của các thông số này đều nhỏ hơn 2%, chứng tỏ hệ thống sắc ký hoạt động ổn định và đảm bảo độ tin cậy của kết quả phân tích. Độ chính xác (độ lặp lại) được đánh giá bằng cách cân và pha chế độc lập 6 mẫu thử, kết quả RSD = 1,4% < 2%, cho thấy phương pháp có độ lặp lại tốt. Độ đúng của phương pháp được đánh giá bằng phương pháp thêm chuẩn ở ba mức nồng độ 50%, 100% và 150%. Kết quả thu được cho thấy tỷ lệ thu hồi của epicatechin nằm trong khoảng chấp nhận được và có độ lệch chuẩn tương đối nhỏ. Điều này chứng tỏ phương pháp có độ đúng và ít bị ảnh hưởng bởi các thành phần của nền mẫu. Như vậy, phương pháp HPLC được xây dựng

trong nghiên cứu này đáp ứng các yêu cầu thẩm định phương pháp phân tích và có thể sử dụng để định lượng epicatechin trong viên nang cứng chứa cao khô hạt vải. Kết quả định lượng cho thấy hàm lượng epicatechin trong các mẫu viên nang dao động từ 1,35 đến 1,42 mg/viên, với giá trị trung bình đạt $1,38 \pm 0,04$ mg/viên. Sự dao động hàm lượng giữa các mẫu là nhỏ, thể hiện qua độ lệch chuẩn thấp, bước đầu cho thấy sự đồng đều tương đối tốt của hàm lượng hoạt chất trong các viên nang khảo sát.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng và thẩm định được phương pháp HPLC ghép nối detector UV để định lượng epicatechin trong viên nang cứng chứa cao khô hạt vải. Phương pháp cho thấy độ chọn lọc tốt, khoảng tuyến tính phù hợp trong khoảng nồng độ 1,5–30 µg/ml với hệ số tương quan cao, hệ thống sắc ký ổn định, đồng thời độ chính xác và độ đúng đều đạt yêu cầu thẩm định. Kết quả cho thấy phương pháp có độ tin cậy cao và có thể áp dụng để định lượng viên nang cứng chứa cao khô hạt vải. Phương pháp HPLC đã xây dựng có thể áp dụng hiệu quả để định lượng epicatechin trong viên nang cứng chứa cao khô hạt vải, phục vụ cho mục đích kiểm soát chất lượng chế phẩm. Kết quả định lượng cho thấy hàm lượng epicatechin trong các mẫu viên nang dao động từ 1,35 đến 1,42 mg/viên, với giá trị trung bình đạt $1,38 \pm 0,04$ mg/viên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Menzel C. *The lychee crop in Asia and the Pacific*, RAP publication, 16, 2002.
2. Choi SA, Lee JE, Kyung MJ, Youn JH, et al. Anti-diabetic functional food with wasted litchi seed and standard of quality control. *Appl Biol Chem*, 2017, 60, pp.197-204, doi:10.1007/s13765-017-0269-9.
3. Sai-Ut S, Kingwascharapong P, Mazumder MAR, Rawdkuen S. Optimization of ethanolic extraction of phenolic antioxidants from lychee and longan seeds using response surface methodology. *Foods*, 2023, 12(15):2827, doi:10.3390/foods12152827.



4. **Zhu XR, Wang H, Sun J, Yang B, et al.** Pericarp and seed of litchi and longan fruits: Constituent, extraction, bioactive activity, and potential utilization. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2019, 20(6), pp.503-512, doi:10.1631/jzus.B1900161.
5. **Hoag SW.** Capsules dosage form: Formulation and manufacturing considerations. In: Developing solid oral dosage forms. *Elsevier*, 2017, pp.723-747. Doi:10.1016/B978-0-12-802447-8.00027-3.
6. **Wagner H, Bauer R, Melchart D, Xiao PG, et al.** Caulis Spatholobi – Jixueteng. In: *Chromatographic Fingerprint Analysis of Herbal Medicines Volume III: Thin-layer and High Performance Liquid Chromatography of Chinese Drugs*, 2015, pp.235-242.
7. **ICH Harmonised Tripartite Guideline.** *Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2(R1)*, 2005.
8. **AOAC International.** *Guidelines for Standard Method Performance Requirements (Appendix F)*, 2016.