

Xây dựng quy trình định lượng flavonoid trong trà túi lọc hoa Dâm bụt (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) bằng phương pháp quang phổ

Võ Thị Ngọc Mỹ^{1,*}, Lê Thu Thủy², Nguyễn Thị Hồng Thoa¹

¹Khoa Kỹ thuật Xét nghiệm Y học, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

²Khoa Dược, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

*vtnmy@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Xây dựng quy trình định lượng flavonoid trong trà túi lọc hoa Dâm bụt thực hiện bằng phương pháp quang phổ tạo cơ sở dữ liệu đánh giá chất lượng sản phẩm. Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng flavonoid toàn phần trong trà túi lọc hoa Dâm bụt thay đổi theo điều kiện chiết xuất và phương pháp phân tích. Phương pháp đọc đĩa ELISA cho kết quả cao hơn so với phương pháp UV-Vis trong hầu hết các điều kiện. Hàm lượng flavonoid cao nhất đạt được khi chiết bằng nước ở 90 °C (3,04 mgQE/g với phương pháp ELISA và 2,83 mgQE/g với phương pháp UV-Vis). Giá trị RSD của phương pháp đọc đĩa ELISA (0,05 %) và phương pháp UV-Vis (0,2 %) đều nhỏ hơn 2 %; quy trình đã được thẩm định và đáp ứng đầy đủ các chỉ tiêu cần thiết cho phân tích mẫu trà túi lọc hoa Dâm bụt. Đây là cơ sở lựa chọn điều kiện chiết xuất trà túi lọc hoa Dâm bụt, đảm bảo chất lượng sản phẩm, gia tăng kinh tế và tận dụng nguồn hoa có sẵn đồng thời tạo điều kiện phát hiện nhanh hàm lượng flavonoid giúp tối ưu thời gian, chất chuẩn và thuốc thử.

Nhận 03/01/2025
Được duyệt 26/03/2025
Công bố 28/04/2025

Từ khóa

Trà túi lọc hoa Dâm bụt,
Hibiscus rosa-sinensis,
flavonoid, UV-Vis,
ELISA

© 2025 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Giới thiệu

Dâm bụt (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) thuộc họ Bông (Malvaceae) được phân bố rộng khắp Việt Nam, có vị ngọt, tính bình, không độc [1]. Đặc biệt, hoa Dâm bụt (HDB) có thể sử dụng điều trị tiểu đường, điều hòa kinh nguyệt, hỗ trợ tình trạng rối loạn gan, huyết áp cao, thuốc chống ho, đau dạ dày, chữa các vấn đề về mắt,...[2]. Trong HDB có một số hợp chất như

flavonoid, polyphenol, saponin, tannin, anthraquinon, quinin, alkaloid, terpenoid, protein, glycosid tim, carbohydrat và acid amin [3]. Theo công bố trước đây, trong cánh HDB, flavonoid chiếm tỷ lệ cao trong dịch chiết với cấu trúc điển hình là quercetin [4, 5]. Hợp chất này trong cánh hoa có tác dụng giảm đường huyết do ức chế maltase đường ruột, ức chế các enzym α -glucosidase [6]. Trong y học cổ truyền, sử dụng cánh

hoa vào trước bữa sáng có thể giảm đường huyết [7]. Đồng thời, tình hình nghiên cứu trong và ngoài nước đã có nhiều nghiên cứu cho thấy HDB có tác dụng hạ đường huyết, chống oxy hóa, hỗ trợ tăng cường đề kháng [7, 8]. Bên cạnh đó, xu hướng sử dụng các thực phẩm hỗ trợ sức khỏe có nguồn gốc từ thực vật để phòng ngừa, kiểm soát bệnh tật ngày càng tăng do hiệu quả và tính an toàn của chúng. Trong đó, HDB là một trong những loại dược liệu có lợi ích sức khỏe. Các sản phẩm như trà túi lọc (TTL) từ loại thực vật này cũng khá phổ biến nhưng không phải sản phẩm nào cũng đạt được yêu cầu về chất lượng. Đồng thời, có rất ít những công bố khoa học chính thức và chưa có quy định trong Dược điển về chất lượng sản phẩm trà từ HDB ở Việt Nam. Phương pháp đo quang phổ như UV-Vis hay đọc đĩa ELISA để xác định hàm lượng hoạt chất có trong chế phẩm là một trong những kỹ thuật cơ bản nhất và có thể tiến hành ở hầu hết các phòng kiểm nghiệm. Do đó, nghiên cứu "Xây dựng quy trình định lượng flavonoid trong trà túi lọc hoa Dâm bụt (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) bằng phương pháp quang phổ" được thực hiện nhằm cung cấp thêm cơ sở để kiểm tra chất lượng của các chế phẩm TTL HDB.

2 Phương pháp nghiên cứu

2.1 Đối tượng nghiên cứu



Hình 1 Cảm quan trà trước khi pha

Sản phẩm trà túi lọc hoa Dâm bụt (TTLHDB) đang được nghiên cứu tại Khoa Dược – Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, Việt Nam. HDB được thu hái tại Quận 7, Thành phố Hồ Chí Minh, hoa thu về được khảo sát hoạt tính và chế biến thành TTL. TTL được đóng theo quy cách 2 g/túi lọc bao gồm cao HDB (0,6 g), cao cỏ ngọt (0,048 g) và bột cánh HDB (vừa đủ gói 2 g).

2.2 Hóa chất, dụng cụ

Hóa chất: nước cất, methanol (Xilong, China), nhôm clorua (Xilong, China), natri acetat (Xilong, China), chuẩn quercetin (do Viện Kiểm nghiệm Thuốc TP HCM cung cấp – Số lô: QT 104 0723)

Dụng cụ: đĩa 96 giếng, micropipet và các dụng cụ cơ bản dùng trong thí nghiệm: pipet bầu, bình định mức, cốc có mỏ, ống nhỏ giọt

Thiết bị: máy đọc ELISA (Thermo-Multiskan FC, China); máy quang phổ tử ngoại khả kiến (Shimadzu, Japan), Bể điều nhiệt (Memmert-WNB14, Germany), cân phân tích (Sartorius – BCR 224i-1S 0001, Germany)

2.3 Phương pháp nghiên cứu

2.3.1 Khảo sát đặc điểm TTL

- *Mô tả cảm quan*: khảo sát màu sắc dịch trà của TTLHDB khi được ngâm trong nước ở nhiệt độ từ (70-90) °C. Quan sát với điều kiện ánh sáng thường; mô tả màu sắc, mùi, vị của dịch trà.

- *Độ ẩm*: tiến hành khảo sát mất khối lượng do làm khô theo quy trình của Dược điển Việt Nam V (ĐDVN V) [9].

2.3.2 Xây dựng quy trình định lượng flavonoid toàn phần

Hàm lượng flavonoid toàn phần trong mẫu được định lượng dựa vào phản ứng tạo phức có màu của nhóm keton ở vị trí C-4; nhóm hydroxyl ở C-3 hoặc C-5 của flavon và flavonol với nhôm clorua, sau đó đo bằng máy đọc đĩa ELISA, máy quang phổ UV-Vis [10].

2.3.2.1 Chuẩn bị dung dịch chuẩn quercetin

Dung dịch quercetin chuẩn nồng độ 1 000 mg/L được pha bằng cách cân chính xác 10 mg quercetin chuẩn cho vào bình định mức 10 mL, hòa tan bằng methanol, lắc đều. Dãy dung dịch quercetin có nồng độ 3,2 mg/L; 6,4 mg/L; 12,5 mg/L đến 100 mg/L được pha loãng từ dung dịch gốc bằng methanol.

2.3.2.2 Quy trình định lượng flavonoid toàn phần bằng phương pháp đọc đĩa ELISA (Quy trình 1)

Hút chính xác 50 μ L mẫu chuẩn các nồng độ, 10 μ L CH_3COONa 1 M, 10 μ L AlCl_3 10 % và 150 μ L methanol vào đĩa 96 giếng. Đĩa được đặt ở khu vực tránh ánh sáng và nhiệt độ phòng trong 40 phút. Sau đó, tiến hành đo với bước sóng 415 nm. Đối với mẫu trắng, thay AlCl_3 bằng nước cất và thực hiện tương tự như mẫu chuẩn.

2.3.2.3 Quy trình định lượng flavonoid toàn phần bằng phương pháp UV-Vis (Quy trình 2)

Hút chính xác 2 mL mẫu chuẩn các nồng độ, 500 μ L CH_3COONa 1 M, 500 μ L AlCl_3 10 % và 5 mL methanol trong ống falcon. Các ống falcon được đặt ở khu vực tránh ánh sáng và nhiệt độ phòng trong 40 phút. Sau đó, tiến hành đo với bước sóng 415 nm. Đối với mẫu trắng, thay AlCl_3 bằng nước cất và thực hiện tương tự như mẫu chuẩn.

2.3.3 Thẩm định quy trình định lượng flavonoid toàn phần

Tiến hành thẩm định tính thích hợp, tính tuyến tính, độ chính xác và độ đúng của quy trình định lượng flavonoid toàn phần bằng phương pháp đọc đĩa ELISA và quang phổ UV-Vis [11].

Tính thích hợp hệ thống: từ dung dịch chuẩn gốc quercetin chuẩn bị dung dịch chuẩn có nồng độ 20 $\mu\text{g/mL}$. Sau đó, tiến hành theo Quy trình 1 và Quy trình 2. Thực hiện 6 mẫu đồng thời, ghi nhận kết quả.

Tính tuyến tính: từ dung dịch chuẩn gốc quercetin pha loãng thành các dung dịch chuẩn có nồng độ thích hợp, sau đó, tiến hành theo Quy trình 1 và Quy trình 2. Thực hiện 3 mẫu với từng nồng độ, tính giá trị trung bình. Xác định độ tương quan giữa độ hấp thụ và nồng độ của dung dịch quercetin chuẩn.

Độ chính xác: chuẩn bị dung dịch mẫu thử sau đó tiến hành theo từng Quy trình 1 và Quy trình 2. Cùng 1 ngày lặp lại 6 lần song song. Xác định hàm lượng flavonoid trong mẫu thử (mg/g) dựa vào đường chuẩn (độ chính xác trong ngày). Ngày tiếp theo lặp lại cả Quy trình 1 và Quy trình 2 trên 6 mẫu để xác định hàm lượng flavonoid (độ chính xác khác ngày). Tính RSD (%) về hàm lượng của mẫu trong 2 ngày.

Độ đúng: áp dụng phương pháp thêm chuẩn. Cho quercetin chuẩn vào nền mẫu thử trong dung môi methanol 70 % ở các mức khoảng 80 %, 100 %, và 120 % so với nồng độ mẫu thử đã chọn. Thực hiện 3 mẫu với từng nồng độ. Căn cứ vào đường chuẩn quercetin đã xây dựng, xác định tính lượng chuẩn tìm lại. Sau đó, tính phần trăm tìm lại chuẩn.

2.3.4. Định lượng flavonoid trong TTL

2.3.4.1 Chiết trà HDB trong dung môi nước

Cân chính xác 1 g TTLHDB vào cốc có mỏ 50 mL, thêm 30 mL nước ở các nhiệt độ (70; 80; và 90) $^{\circ}\text{C}$, chiết siêu âm ở tần số 40 kHz với công suất 150 W trong 15 phút, lọc vào bình định mức thể tích 50 mL. Chiết siêu âm lần 2 với 15 mL nước ở các nhiệt độ (70; 80; và 90) $^{\circ}\text{C}$ trong 15 phút, lọc vào bình định mức thể tích 50 mL. Bổ sung dung môi đến vạch sau đó lắc đều.

Chiết TTLHDB trong dung môi methanol: quy trình tương tự với chiết TTLHDB trong dung môi nước, sử dụng methanol 70 %; 99 % thay thế dung môi nước.

2.3.4.2 Đánh giá kết quả hàm lượng flavonoid toàn phần trong TTL

Hàm lượng flavonoid toàn phần trong TTLHDB được thực hiện theo Quy trình 1 và Quy trình 2.

Kết quả hàm lượng flavonoid toàn phần được thể hiện bởi mg quercetin tương đương (mg QE)/g dược liệu. Mỗi thí nghiệm lặp lại 3 lần để tính giá trị trung bình. Hàm lượng flavonoid toàn phần trong trà được tính theo công thức:

$$W_T = \frac{(A_T - A_0) \times d}{S_{chuẩn} \times m \times 1000 \times (1-h)} \quad (2)$$

Trong đó:

W_T : hàm lượng flavonoid toàn phần trong TTLHDB (mg QE/g dược liệu)

A_T : độ hấp thu của mẫu thử; A_0 : độ hấp thu tại điểm đường chuẩn giao với trục tung

d : độ pha loãng; $S_{chuẩn}$: độ dốc của đường chuẩn

m : khối lượng mẫu thử (g)

h : độ ẩm của dược liệu (%)

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Một số đặc điểm TTLHDB

Bảng 1 Kết quả khảo sát thành phần hóa học của TTLHDB

STT	Nhóm hợp chất	Phản ứng	Hiện tượng	Kết quả	Kết luận
1	Định tính alkaloid	Phản ứng Mayer	Xuất hiện tủa	+++	Có alkaloid
		Phản ứng Bouchardat	Có tủa nâu đen	+++	
		Phản ứng dragendorff	Có kết tủa đỏ sậm	+	
2	Định tính saponin	Hiện tượng tạo bọt	Xuất hiện bọt bền ít nhất trong 20 phút	+	Có saponin
3	Định tính flavonoid	Phản ứng Cyanidin	Có sự chuyển màu từ vàng cam sang màu đỏ hồng	+	Có flavonoid
		Phản ứng với NaOH 10 %	- Có tủa xanh lá - Tủa tan và màu xanh của dung dịch tăng thêm	+++	
		Phản ứng với kiềm (amoniac)	Có màu vàng đậm hơn và có thêm màu xanh	++	

3.1.1 Cảm quan

Mô tả sản phẩm: chế phẩm dạng bột, màu hồng đỏ, mùi thơm nhẹ, được đóng gói trong túi giấy lọc.

Mô tả dịch trà: túi trà được pha trong nước ở nhiệt độ (70-90) °C. Dịch trà có màu đỏ nhạt và chuyển dần sang đỏ thẫm khi tăng nhiệt độ của nước từ 70 °C, 80 °C, và 90 °C, có mùi đặc trưng của HDB, vị hơi ngọt và không có cảm giác gắt cổ sau khi uống.

Như vậy, chỉ tiêu cảm quan của TTLHDB được mô tả theo đặc trưng của sản phẩm về bột trà và dịch trà.

3.1.2 Độ ẩm

Độ ẩm của TTLHDB theo thực nghiệm là 8,01 %, đạt so sánh với quy định của Dược Điển Việt Nam đối với dược liệu (10 %) và Tiêu chuẩn Việt Nam chè thảo mộc túi lọc (10 %).

3.2 Thành phần hóa học của TTLHDB

Sử dụng phương pháp hóa học để khảo sát thành phần của TTLHDB, kết quả có các nhóm hợp chất: alkaloid, saponin, flavonoid, tannin, (Bảng 1).

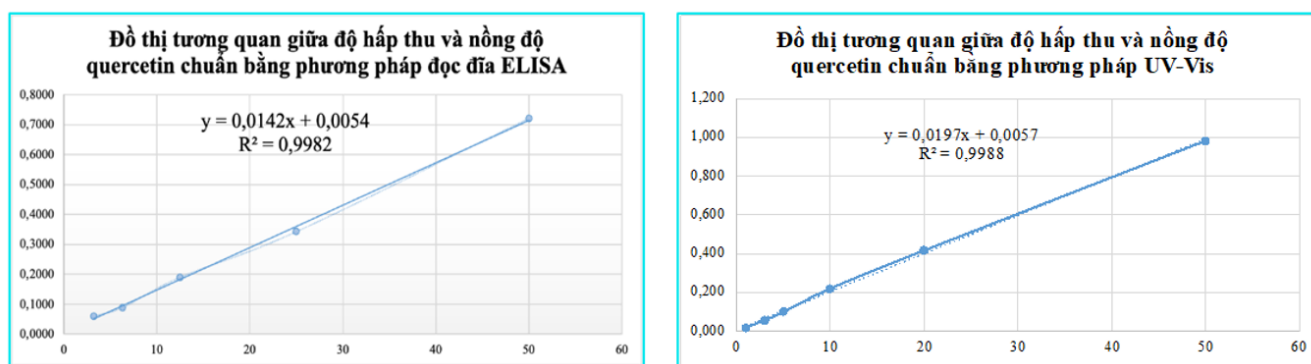
		Phản ứng tạo phức với muối kim loại FeCl_3	Xuất hiện tủa xanh, nâu	+++	
4	Định tính tannin	Phản ứng với FeCl_3 5 %.	Có tủa màu xanh đen	+++	Có tannin
		Phản ứng với $\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$ 10 %.	Có tủa bông	++	
		Phản ứng với gelatin 1 %.	Xuất hiện tủa	+	

Ghi chú: (+): dương tính; (++) : dương tính rõ; (+++) : dương tính cực rõ

Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Al-Snafi [3].

3.3 Đường tuyến tính giữa độ hấp thu và nồng độ quercetin chuẩn bằng phương pháp đọc đĩa ELISA và UV-Vis

Đồ thị tương quan giữa độ hấp thu và nồng độ quercetin chuẩn bằng phương pháp đọc đĩa ELISA và UV-Vis được thể hiện ở Hình 2.



Hình 2 Đồ thị tương quan tuyến tính giữa độ hấp thu và nồng độ của quercetin chuẩn bằng phương pháp đọc đĩa ELISA và UV-Vis

Áp dụng phương pháp phân tích ANOVA, kiểm tra hệ số có nghĩa của phương trình tuyến tính. Với phương pháp định lượng bằng máy ELISA có phương trình hồi quy là đường thẳng: $y = 0,0142x - 0,0402$, với Hệ số tương quan (R^2) là 0,9982. Phương pháp định lượng bằng máy UV-Vis có phương trình hồi quy là đường thẳng: $y = 0,0197x$, với $R^2 = 0,9988$.

3.4 Thẩm định quy trình định lượng flavonoid toàn phần

3.4.1 Tính thích hợp hệ thống

Để đánh giá tính thích hợp hệ thống quy trình định lượng flavonoid toàn phần bằng phương pháp đọc đĩa ELISA và UV-Vis căn cứ vào độ hấp thu của mẫu dung dịch chuẩn quercetin, thực hiện đồng thời 6 mẫu.

Bảng 2 Kết quả khảo sát tính thích hợp hệ thống của phương pháp đo 96 giếng - ELISA và UV-Vis

Dung dịch	1	2	3	4	5	6	$\bar{\Delta A}$	RSD (%)
Độ hấp thu (PP ELISA)	0,2429	0,2432	0,2438	0,2439	0,2440	0,2443	0,2437	0,0500
Độ hấp thu (PP UV-Vis)	0,4150	0,4130	0,4120	0,4160	0,4180	0,4150	0,4150	0,2000

Từ Bảng 2, giá trị RSD của phương pháp đọc đĩa ELISA (0,05 %) và phương pháp UV-Vis (0,2 %) đều

nhỏ hơn 2 % [10]. Như vậy, Quy trình 1 và Quy trình 2 sử dụng là phù hợp để phân tích mẫu TTLHDB.

3.4.2 Tính tuyến tính

Phương pháp ELISA: đồ thị ở Hình 2 thể hiện sự tương quan tuyến tính theo phương trình $y = 0,0142x - 0,0402$, $R^2 = 0,9982$ trong khoảng hàm lượng quercetin từ (3,20-50,00) $\mu\text{g/mL}$.

Phương pháp UV-Vis: đồ thị ở Hình 2 thể hiện sự tương quan tuyến tính theo phương trình $y = 0,0197x$, $R^2 = 0,9988$ trong khoảng hàm lượng quercetin từ (1,00-50,00) $\mu\text{g/mL}$.

Mối quan hệ giữa độ hấp thu với nồng độ chất chuẩn là tuyến tính với hệ số tương quan $R^2 > 0,99$ ($R^2_{\text{ELISA}} = 0,9982$ và $R^2_{\text{UV-Vis}} = 0,9988$). Vì vậy, khoảng nồng độ khảo sát là phù hợp để định lượng flavonoid tổng trong mẫu.

3.4.3 Độ chính xác

Lựa chọn mẫu thử chiết với dung môi methanol 70 % để khảo sát độ chính xác

Bảng 3 Kết quả khảo sát độ chính xác trong ngày của mẫu thử chiết với dung môi methanol 70 % bằng phương pháp đọc đĩa ELISA và UV-Vis

Lần thử		Khối lượng cân	Phương pháp đọc đĩa ELISA			Phương pháp UV-Vis		
			Độ hấp thu	w _T (mg QE/g dược liệu)	Thống kê	Độ hấp thu	W _T (mg QE/g dược liệu)	Thống kê
Ngày 1	1	1,0110	0,3845	2,5659	TB = 2,6121 RSD = 0,0600	0,398	2,1721	TB = 2,2458 RSD = 0,0400
	2		0,3941	2,6386		0,410	2,2376	
	3		0,3877	2,5902		0,421	2,2976	
	4		0,3846	2,5667		0,411	2,2430	
	5		0,3867	2,5826		0,417	2,2758	
	6		0,4060	2,7287		0,412	2,2485	
Ngày 2	1	1,0110	0,3840	2,5621	TB = 2,6175 RSD = 0,0700	0,395	2,1557	TB = 2,2285 RSD = 0,0400
	2		0,3938	2,6363		0,405	2,2103	
	3		0,3880	2,5924		0,412	2,2485	
	4		0,3849	2,5690		0,409	2,2321	
	5		0,3870	2,5849		0,420	2,2922	
	6		0,4102	2,7605		0,409	2,2321	
Ghi chú: TB: trung bình, RSD: Relative Standard Deviation - Độ lệch chuẩn tương đối								

Nếu hàm lượng dược chất chính trong dược liệu $< 1 \%$ thì giá trị $RSD \leq 2 \%$ [10], theo kết quả từ Bảng 3 hàm lượng flavonoid trong dược liệu $< 1 \%$ và giá trị RSD của phương pháp ELISA (0,06-0,07) % và phương pháp UV-Vis (0,04 %) đều nhỏ hơn 2 %. Do đó, độ

chính xác trong ngày và độ chính xác khác ngày đều đạt yêu cầu cho Quy trình 1 và Quy trình 2.

3.4.4 Độ đúng

Kết quả khảo sát độ đúng bằng phương pháp đọc đĩa ELISA theo Bảng 4.

Bảng 4 Kết quả khảo sát độ đúng bằng phương pháp đọc đĩa ELISA

Mẫu	Lần đo	Độ hấp thu	Độ hấp thu trung bình	W_T (mg QE/g dược liệu)	Lượng chuẩn tìm thấy (mg)	Lượng chuẩn thêm vào (mg)	Tỷ lệ phục hồi (%)
1	1	0,3941	0,3888	2,5985	0,000	0,000	
	2	0,3877					
	3	0,3846					
2	1	0,6591	0,6611	4,6604	2,0619	2,0788	99,1800 (RSD = 0,0200)
	2	0,6602					
	3	0,6641					
3	1	0,7310	0,7306	5,1869	2,5884	2,5985	99,6100 (RSD = 0,0200)
	2	0,7330					
	3	0,7280					
4	1	0,7950	0,7980	5,6967	3,0982	3,1182	99,3600 (RSD = 0,0200)
	2	0,8020					
	3	0,7970					

Kết quả khảo sát độ đúng bằng máy UV-Vis theo Bảng 5.

Bảng 5 Kết quả khảo sát độ đúng bằng phương pháp UV-Vis

Mẫu	Lần đo	Độ hấp thu	Độ hấp thu trung bình	W_T (mg QE/g dược liệu)	Lượng chuẩn tìm thấy (mg)	Lượng chuẩn thêm vào (mg)	Tỷ lệ phục hồi (%)
1	1	0,4100	0,4140	2,2594	0,0000	0,0000	
	2	0,4210					
	3	0,4110					
2	1	0,7380	0,7410	4,0422	1,7964	1,8021	99,6800 (RSD = 0,0300)
	2	0,7400					
	3	0,7440					
3	1	0,8210	0,8230	4,4934	2,2476	2,2500	99,7700 (RSD = 0,0200)
	2	0,8300					
	3	0,8190					
4	1	0,9010	0,9050	4,9409	2,6951	2,7031	99,7000 (RSD = 0,0200)
	2	0,9100					
	3	0,9050					

Nếu hàm lượng dược chất chính trong dược liệu < 1% thì yêu cầu tỷ lệ hồi phục là (92-105) % [9]. Từ kết quả khảo sát trong Bảng 4 và Bảng 5, tỷ lệ hồi phục trung bình ở mỗi mức đều nằm trong giới hạn cho phép. Phương pháp (1) và (2) đạt yêu cầu về độ đúng.

3.5. Hàm lượng flavonoid toàn phần trong TTLHDB
Ứng dụng Quy trình 1 và Quy trình 2 đã được thẩm định để định lượng flavonoid toàn phần trong TTLHDB. Kết quả định lượng flavonoid toàn phần được ghi nhận theo Bảng 6.

Bảng 6 Kết quả flavonoid toàn phần của TTLHDB trong 5 điều kiện dung môi bằng phương pháp đọc đĩa ELISA và UV-Vis

Dung môi	m cân (g)	Độ pha loãng	Độ ẩm	Phương pháp đọc đĩa ELISA với $A_{\text{trắng}} = 0,0456$		Phương pháp UV-VIS với $A_{\text{trắng}} = 0,000$	
				Độ hấp thu trung bình	W_T (mg QE/g dược liệu)	Độ hấp thu trung bình	W_T (mg QE/g dược liệu)
H ₂ O 70 °C	0,9936	100	8,0100	0,3491	2,3200	0,3910	2,1700
H ₂ O 80 °C	1,0017	100	8,0100	0,4044	2,7400	0,4370	2,4100
H ₂ O 90 °C	1,0110	100	8,0100	0,4427	3,0400	0,5180	2,8300
Methanol 70 %	1,0274	100	8,0100	0,3906	2,6400	0,4190	2,2500
Methanol 99 %	1,0067	100	8,0100	0,2934	1,9000	0,3630	1,9900

Từ Bảng 6, kết quả hàm lượng flavonoid toàn phần trong TTLHDB được khảo sát với dung môi nước ở các nhiệt độ (70, 80, và 90) °C bằng phương pháp ELISA và UV-Vis. Kết quả này phù hợp với những nghiên cứu về hàm lượng flavonoid trong HDB đã được Jadhav [2] và Priya [7] công bố.

Bên cạnh đó, ngoài việc định lượng bằng phương pháp UV-Vis thì có thể ứng dụng máy ELISA trong quá trình định lượng hàm lượng flavonoid toàn phần giúp tiết kiệm thời gian, chất chuẩn và thuốc thử.

4 Kết luận

Xây dựng quy trình định lượng flavonoid trong TTLHDB bằng phương pháp quang phổ. Đây là cơ sở cho việc lựa chọn điều kiện chiết xuất TTL phù hợp,

nâng cao chất lượng TTL trên thị trường. Nghiên cứu cho thấy mẫu TTLHDB chiết với nước 90 °C sẽ cho hàm lượng flavonoid toàn phần cao hơn so với dung môi khác tương ứng với 3,04 mg QE/g (phương pháp đọc đĩa ELISA) và 2,83 mg QE/g (UV-Vis). Bên cạnh đó, hàm lượng flavonoid trong TTLHDB phù hợp với các nghiên cứu đã được công bố trước đó. Ngoài ra, nghiên cứu còn tạo điều kiện phát hiện nhanh hàm lượng flavonoid bằng phương pháp ELISA giúp tiết kiệm thời gian, chất chuẩn và thuốc thử.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, TP HCM, Việt Nam, đề tài mã số 2024.01.171/HĐ-KHCN.

Tài liệu tham khảo

1. Trương Thị Đẹp. (2010). *Thực vật dược*, NXB Giáo dục. Hà Nội, tr. 176.
2. V. M. Jadhav, R. M. (2009). *Hibiscus rosa sinensis* L.– ‘Rudrapuspa’: A Review, *Journal of Pharmacy Research*, p. 1168.
3. A. E. Al-Snafi. (2018). Chemical constituents, pharmacological effects, and therapeutic importance. *IOSR Journal of Pharmacy*, 8, p. 101.



4. A. M. P. Purushothaman. (2016). Quantifying total phenolic content, HPLC analysis of flavonoids, and assessment of antioxidant and anti-haemolytic activities of *Hibiscus rosa-sinensis* L. flowers in vitro. *Int J Pharma Res Health Sci*, 4, p. 1342.
5. Priya K. and Sharma HP. (2021). Phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Hibiscus Rosa Sinensis*. *European Journal of Biotechnology and Bioscience*, 9, p. 21.
6. Võ Thị Ngọc Mỹ, Nguyễn Thị Yến Linh, Nguyễn Thanh Nga, Lê Thu Thủy. (2024). Investigated of alpha-glucosidase and alpha-amylase inhibitory effect of extracts from leaf *Hibiscus rosa-sinensis* L.,. *TNU Journal of Science and Technology*, 229, tr. 217.
7. Đỗ Tất Lợi (2004). 'Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. NXB Y học, Hà Nội, Tập 1, tr. 603.
8. B. Adhikari. (2021). Roles of alkaloids from medicinal plants in the management of diabetes mellitus. *Journal of Chemistry*, 2021, tr. 1.
9. Bộ Y tế. (2009), Dược điển Việt Nam V, NXB Y học, Hà Nội, tr. 907.
10. Pekal A. and Pyrzynska K.. (2014). Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Analytical Methods*; 7, p. 1776.'
11. AOAC Official Methods Of Analysis (2019). *AOAC Guidelines for Single -Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals*; 6-9.'

Development of a procedure for quantifying flavonoids in *Hibiscus rosa-sinensis* L. tea bags using spectrophotometric method

Vo Thi Ngoc My^{1,*}, Le Thu Thuy², Nguyen Thi Hong Thoa¹

¹Medical Laboratory Faculty, Nguyen Tat Thanh University

²Faculty of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh University

*vtnmy@ntt.edu.vn

Abstract According to research, flavonoids are known to be a component with a high proportion in *Hibiscus rosa-sinensis* L. flower extract. Therefore, the present study was performed to evaluate the flavonoids content in *Hibiscus rosa-sinensis* L. tea bags, by using spectrophotometric method. The study results indicate that the total flavonoid content in *Hibiscus rosa-sinensis* L. tea bags varies depending on extraction conditions and analytical methods. The ELISA-based method generally yielded higher values than the UV-Vis method. The highest flavonoid content was observed with water extraction at 90 °C (3.04 mgQE/g by ELISA and 2.83 mgQE/g by UV-Vis). The RSD values for the ELISA (0.05%) and UV-Vis (0.2%) methods were both below 2%, demonstrating good precision. The analytical procedure was validated and met all required criteria for the analysis of *Hibiscus rosa-sinensis* L. tea bags samples. Findings from this study provided essential platform for selecting the conditions for *Hibiscus rosa-sinensis* L. tea bags extraction, thereby ensuring product quality, increasing economic value, utilizing available flower resources while suggesting optimal conditions for rapid detection of flavonoid content.

Keywords *Hibiscus rosa-sinensis* tea bag, *Hibiscus rosa-sinensis* , flavonoid, UV-Vis, ELISA.

