

- Transplant 28: 561–8.
5. **Lee TB, Ryu JH, Chu CW (2018).** "Diamond-shaped patch technique for right hepatic vein reconstruction in living-donor liver transplant: A simple method to prevent stenosis". *Medicine*, 97(34): e11815.
 6. **Koc S, Akbulut S, Soyer V (2017).** "Hepatic venous outflow obstruction after living-donor liver transplant: single center experience". *Experimental and clinical transplantation*, 19(8): 1-11.
 7. **Kim KS, Lee JS, Cho GS (2018).** "Long-term outcomes after stent insertion in patients with early and late hepatic vein outflow obstruction after living donor liver transplantation". *Ann Surg Treat Res*, 95(6): 333-339.
 8. **Sugawara Y, Makuuchi M, Akamatsu N (2004).** "Refinement of venous reconstruction using cryopreserved veins in right liver grafts". *Liver Transplantation*, 10(4): 541–547.
 9. **Hwang S, Lee SG, Ahn CS (2005).** "Cryopreserved iliac artery is indispensable interposition graft material for middle hepatic vein reconstruction of right liver grafts". *Liver Transplantation*, 11(6).

XÂY DỰNG QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG THỜI NARINGIN VÀ HESPERIDIN TRONG QUẢ BƯỞI NON BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐIỆN DI MAO QUẢN ĐẦU DÒ PDA

Phạm Ngọc Liên*, Nguyễn Hữu Lạc Thủy*, Trương Văn Đạt*,
Trương Minh Nhựt*, Lê Minh Trí*

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu xây dựng quy trình định lượng đồng thời naringin và hesperidin trong quả bưởi non. **Đối tượng và phương pháp:** Naringin và hesperidin trong quả bưởi non được định lượng bằng phương pháp điện di mao quản đầu dò PDA. **Kết quả:** Đã xây dựng được quy trình định lượng đồng thời naringin và hesperidin trong quả bưởi non bằng phương pháp điện di mao quản với các điều kiện nồng độ đệm borat 50 mM pH 10,0; điều kiện tiêm mẫu 50 mbar mỗi 10 giây; nhiệt độ cột 25°C, điện thế 20 kV và bước sóng phát hiện 254 nm. Quy trình định lượng đạt các chỉ tiêu thẩm định gồm tính phù hợp hệ thống, độ đặc hiệu, khoảng tuyến tính (naringin: 10,0 – 500,0 (ppm), $y = 0,0201x$; $r = 0,9993$ và hesperidin: 5,0 – 50,0 (ppm), $y = 0,0191x$; $r = 0,9996$), độ chính xác (RSD < 5,3 %) và độ đúng (tỷ lệ phục hồi từ 80 – 110 (%)). **Kết luận:** Quy trình đạt các yêu cầu về thẩm định, có thể ứng dụng quy trình trong đánh giá hàm lượng naringin và hesperidin trong quả bưởi non.

Từ khóa: naringin, hesperidin, quả bưởi non, CE.

SUMMARY

STIMULTANEOUS DETERMINATION OF NARINGIN AND HESPERIDIN IN YOUNG POMELO BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS METHOD

Objectives: To develop an analytical methodology to simultaneously determine naringin and hesperidin in young pomelo powder. **Subjects and methods:** Naringin and hesperidin in young

pomelo powder were determined by CE method. **Results:** The suitable conditions for separation of naringin and hesperidin were obtained using borate buffer 50 mM, pH 10.0; injection condition: 50 mbar per 10 seconds; column temperature 25 °C; voltage 20 kV and 254 nm PDA detector. The process was validated the system suitability; selectivity; linearity range naringin: 10.0 – 500.0 (ppm), $y = 0.0201x$; $r = 0.9993$ and hesperidin: 5.0 – 50.0 (ppm), $y = 0.0191x$; $r = 0.9996$; precision of both compounds with RSD < 5.3 %; and accuracy with recovery ratio in 80 – 110 (%). **Conclusion:** The process could be applied to determine the content of naringin and hesperidin in young pomelo powder.

Key words: naringin, hesperidin, young pomelo powder, CE.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Quả bưởi (*Citrus grandis* L. Osbeck, Rutaceae) là loại trái cây phổ biến tại Việt Nam được biết đến với nhiều công dụng mang lại lợi ích cho sức khỏe như chống oxy hóa, hạ lipid máu, hạ đường huyết, chống viêm, Nước ép bưởi có chất dinh dưỡng và flavonoid, coumarin, carotenoid, acid phenolic,... [2, 3, 5].

Hàm lượng flavonoid cao hơn cả bưởi trưởng thành, bưởi non (BN) đã được chứng minh có nhiều tác động dược lý. Sở khoa học và công nghệ Thành phố Hồ Chí Minh đã tài trợ cho dự án sản xuất viên nang BN với tác dụng chống rối loạn lipid và hỗ trợ điều trị béo phì. Để đa dạng phương pháp phân tích thành phần trong nguyên liệu và sản phẩm từ BN, các phương pháp sắc ký lỏng đầu dò dây diod quang, đầu dò khối phổ và điện di mao quản đã được phát triển. Báo cáo này trình bày phương pháp xác định hàm lượng naringin và hesperidin trong vỏ BN bằng phương

*Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

Chịu trách nhiệm chính: Lê Minh Trí

Email: leminhtri@ump.edu.vn

Ngày nhận bài: 6.2.2023

Ngày phản biện khoa học: 20.3.2023

Ngày duyệt bài: 30.3.2023

pháp điện di mao quản. Nhằm tạo thuận lợi cho quá trình phát triển phương pháp, một lượng thích hợp hesperidin được thêm vào trong quá trình xử lý mẫu.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguyên liệu và đối tượng nghiên cứu

Nguyên liệu: quả BN sau khi thu hái được rửa sạch, cắt lát, phơi khô và xay thành bột thô có độ ẩm được xác định.

Đối tượng nghiên cứu: 2 flavonoid naringin và hesperidin trong quả bưởi non

Dung môi, hóa chất: methanol, acetonitril (J.T.Baker, Mỹ); ethanol, natri tetraborat decahydrat (Merck, Đức); natri hydroxid PA (VWR, Séc), nước cất 2 lần dùng cho sắc ký lỏng. naringin (98,6%, số lô: LC61115, AK Scientific, Mỹ); hesperidin (88,0 %, số lô: QT214 050321, Viện Kiểm nghiệm thuốc Thành phố Hồ Chí Minh); rutin (88,5%, QT152 060420, Viện Kiểm nghiệm thuốc Thành phố Hồ Chí Minh)..

Thiết bị: hệ thống điện di mao quản 7100 (Agilent Technologies, Đức).

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Khảo sát điều kiện điện di

Mẫu thử: cân chính xác khoảng 0,1 g bột bưởi non, 5,0 mg hesperidin, 5,0 mg chuẩn nội cho vào bình định mức 100 ml. Thêm vào bình khoảng 50 ml methanol, lắc, siêu âm 30 phút, thêm dung dịch điện di nền tới vạch, lắc đều. Ly tâm ở 4000 vòng/phút trong 5 phút. Lấy phần dịch trong, lọc qua màng lọc 0,22 µm.

Điều kiện điện di dự kiến: cột silica nung

chày chiều dài 63 cm, chiều dài hiệu lực 54,5 cm, đường kính trong 50 µm, dung dịch điện di nền: đệm borat [6, 8], nhiệt độ: 25 °C, điều kiện tiêm mẫu: 50 mbar trong 10 giây.

Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tách đồng thời các pic phân tích bao gồm chuẩn nội, nồng độ, pH dung dịch điện di nền và điện thế.

Chuẩn nội khảo sát: quercetin, isoquercitrin, rutin. Nồng độ dung dịch điện di nền khảo sát: 20, 30, 40, 50 và 60 (mM).

pH dung dịch điện di nền khảo sát: 9,5; 10,0 và 10,5.

Điện thế khảo sát: 15, 20, 25 và 30 (kV).

Lựa chọn các điều kiện điện di cho thông số các pic chuẩn nội, naringin và hesperidin có thời gian di chuyển, độ phân giải, hệ số bất đối phù hợp yêu cầu định lượng: độ phân giải RS > 1,5; hệ số bất đối: AS ≤ 2,0 và số đĩa lý thuyết: N > 2000.

Khảo sát bước sóng để có thể phát hiện đồng thời naringin, hesperidin và chuẩn nội.

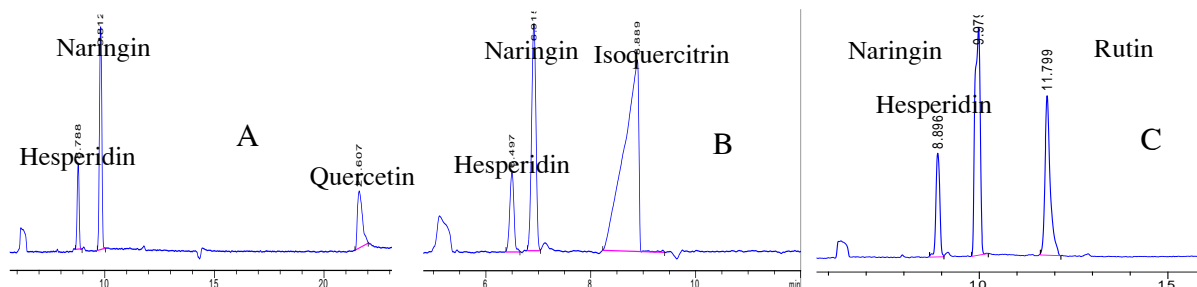
2.2. Thẩm định quy trình định lượng.

Từ các điều kiện điện di đã lựa chọn, tiến hành thẩm định quy trình định lượng đồng thời naringin và hesperidin theo hướng dẫn của ICH và AOAC [1, 4].

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Điều kiện điện di

- Các chuẩn nội khảo sát là quercetin, isoquercitrin và rutin. Quan sát tại bước sóng 254 nm, điện di đồ ở Hình 1 cho thấy chuẩn nội rutin phù hợp về thời gian di chuyển và các thông số điện di đạt yêu cầu của pic định lượng.



Hình 1. Điện di đồ khảo sát chuẩn nội quercetin (A), isoquercitrin (B) và rutin (C)

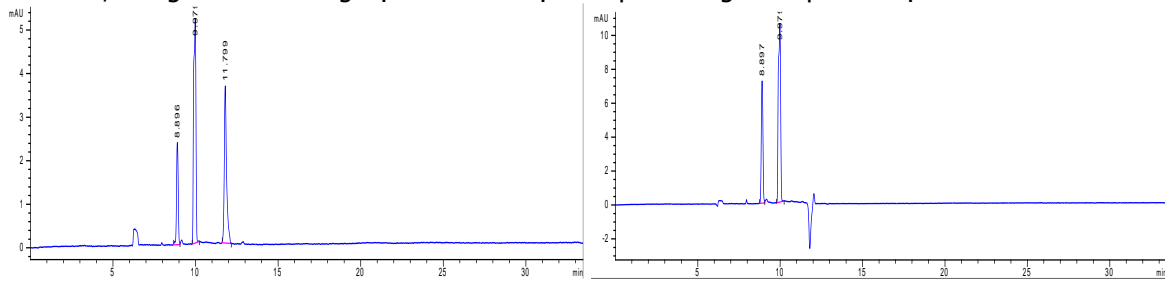
Bảng 1. Kết quả khảo sát chuẩn nội

	Hesperidin			Naringin			IS		
	Rt (phút)	As	Rs	Rt (phút)	As	Rs	Rt (phút)	As	Rs
Quercetin	8,8	1,18	-	9,8	1,02	5,60	21,6	0,54	37,41
Isoquercitrin	6,5	1,08	-	6,9	1,08	2,72	8,9	8,58	5,65
Rutin	8,9	0,89	-	10,0	2,02	4,61	11,8	0,69	7,12

Bước sóng 283 nm là bước sóng hấp thụ cực đại của naringin và hesperidin; tuy nhiên, không phát hiện được pic chuẩn nội. Khi quan sát ở bước sóng 254 nm (cực đại hấp thụ của rutin), cả 3 pic naringin, hesperidin và chuẩn nội đều có hấp thụ.

Các điện di đồ ở Hình 3 cho thấy 3 pic naringin, hesperidin và chuẩn nội rutin phù hợp khi phân

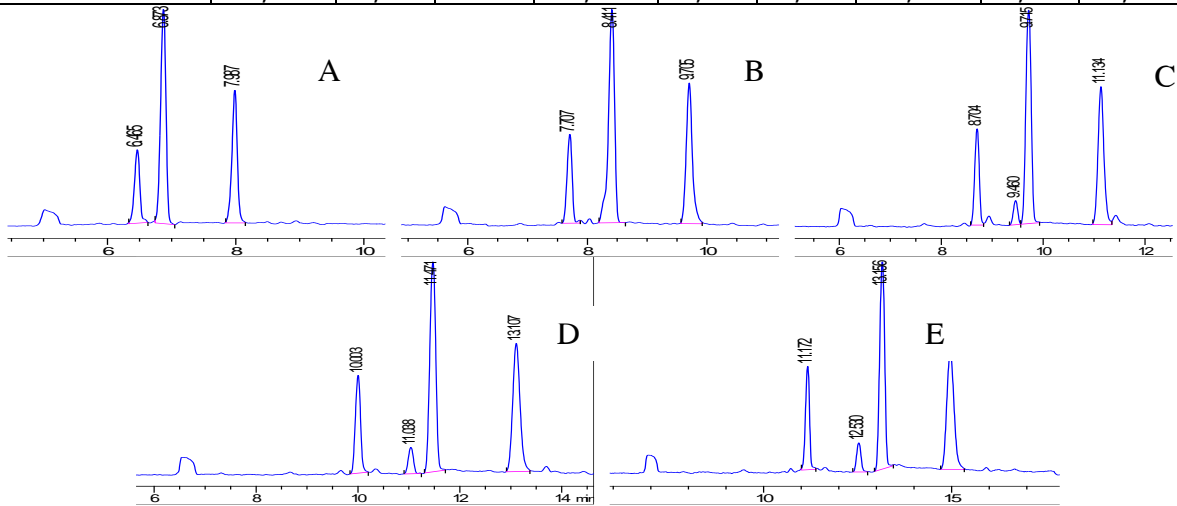
tích với nồng độ dung dịch điện di nền 50 mM. Ở nồng độ 20 và 30 mM, pic hesperidin chưa tách hoàn toàn, trong khi đó ở nồng độ 40 mM có sự dính pic naringin với pic lân cận.



Hình 2. Điện di đồ ở bước sóng 254 nm (hình bên trái) và 283 nm (hình bên phải)

Bảng 2. Kết quả khảo sát nồng độ dung dịch điện di nền

Nồng độ (mM)	Hesperidin			Naringin			IS		
	Rt (phút)	As	Rs	Rt (phút)	As	Rs	Rt (phút)	As	Rs
20	6,465	1,15	-	6,873	1,16	2,59	7,987	1,17	7,17
30	7,707	1,15	-	8,411	1,38	4,13	9,705	0,92	7,20
40	8,704	1,09	-	9,715	1,07	1,39	11,134	0,92	6,87
50	10,003	1,11	-	11,471	1,07	2,08	13,107	0,90	6,73
60	11,172	1,18	-	13,156	1,08	2,65	14,962	0,86	5,84



Hình 3. Điện di đồ khảo sát dung dịch điện di nền nồng độ 20 mM (A), 30 mM (B), 40 mM (C), 50 mM (D) và 60 mM (E)

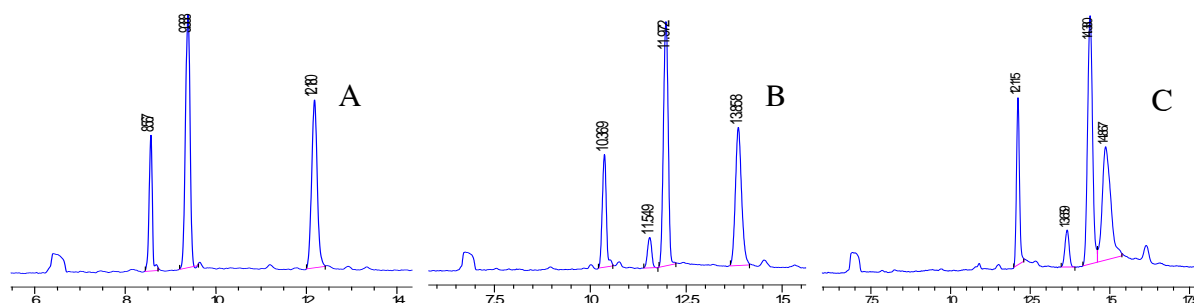
Các pH dung dịch điện di nền khảo sát là 9,5; 10,0 và 10,5.

Tại pH 10,0 cả 3 pic naringin, hesperidin và rutin được tách hoàn toàn, các thông số điện di đạt yêu cầu. pH 9,5 không phù hợp do có dính pic naringin với pic lân cận. Với pH 10,5, pic chuẩn nội có hệ số phân giải không đạt yêu cầu.

Bảng 3. Kết quả khảo sát pH dung dịch điện di nền

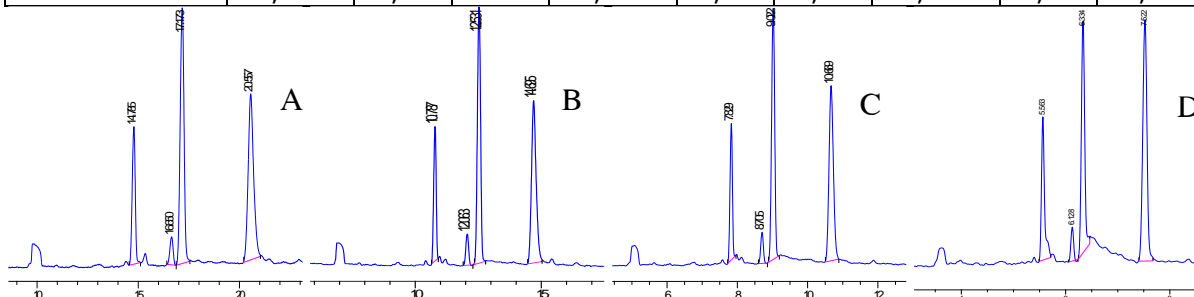
pH	Hesperidin			Naringin			IS		
	Rt (phút)	As	Rs	Rt (phút)	As	Rs	Rt (phút)	As	Rs
9,5	8,567	1,21	-	9,388	1,30	5,07	12,180	1,02	13,38
10,0	10,369	1,09	-	11,972	1,09	1,90	13,858	0,86	7,14
10,5	12,115	0,94	-	14,380	0,99	2,70	14,867	0,66	1,26

Điện di đồ ở Hình 5 và kết quả Bảng 4 cho thấy quy trình đạt các thông số sắc ký và R_s của naringin lớn nhất tại 20 kV, chọn đây là điện thế phù hợp cho quá trình phân tích naringin và hesperidin trong mẫu bột BN.



Hình 4. Điện di đồ khảo sát dung dịch điện di nền ở pH 9,5 (A), 10,0 (B) và 10,5 (C)
 Bảng 4. Kết quả khảo sát điện thế

Điện thế (kV)	Hesperidin			Naringin			IS		
	Rt (phút)	As	Rs	Rt (phút)	As	Rs	Rt (phút)	As	Rs
15	14,785	1,14	-	17,173	1,09	1,60	20,557	0,83	8,05
20	10,787	1,24	-	12,531	1,07	2,14	14,695	0,81	7,74
25	7,829	1,14	-	9,022	1,07	2,03	10,669	0,87	8,27
30	5,563	0,70	-	6,334	0,94	1,87	7,522	1,03	8,84



Hình 5. Điện di đồ khảo sát điện thế 15 kV (A), 20 kV (B), 25 kV (C) và 30 kV (D)

3.2. Dự thảo quy trình định lượng

Mẫu thử: cân 0,2 g bột BN cho vào bình định mức 100 ml, thêm chính xác 5 ml dung dịch hesperidin nồng độ 400 µg/ml, 5 ml dung dịch chuẩn nội 900 µg/ml và khoảng 40 ml methanol, chiết siêu âm trong 30 phút, để nguội và điền đến vạch bằng dung dịch điện di nền, lắc đều. Ly tâm 4000 vòng/phút trong 5 phút, lấy phần dịch trong, lọc qua màng lọc 0,22 µm.

Mẫu chuẩn: các chuẩn naringin, hesperidin và chuẩn nội rutin hòa tan hỗn hợp methanol – dung dịch điện di nền (1 : 1) thu được dung dịch có nồng độ lần lượt là 200, 20 và 45 µg/ml. Lọc qua màng lọc 0,22 µm.

Mẫu trắng: methanol – dung dịch điện di nền (1 : 1).

Điều kiện điện di: - Cột silica nung chảy chiều dài 63 cm, chiều dài hiệu lực 54,5 cm, đường kính trong 50 µm

- Dung dịch điện di nền: đệm borat nồng độ 50 mM, pH 10
- Nhiệt độ: 25 °C
- Điều kiện tiêm mẫu: 50 mbar trong 10 giây
- Điện thế: 20 kV

- Bước sóng phát hiện: 254 nm

Tiến hành phân tích mẫu thử, mẫu chuẩn theo các điều kiện điện di đã lựa chọn.

Hàm lượng (mg/g) naringin/hesperidin trong mẫu bột BN được tính theo công thức:

$$X (\%) = \frac{S_T/S_{IS(T)} \times C_C \times D \times \alpha}{S_C/S_{IS(C)} \times m \times (1 - h) \times 10^3}$$

Trong đó:

$S_C/S_{IS(C)}$: tỷ số diện tích pic naringin/hesperidin và pic chuẩn nội của mẫu chuẩn

$S_T/S_{IS(T)}$: tỷ số diện tích pic naringin/hesperidin và pic chuẩn nội của mẫu thử

C_C : nồng độ của mẫu chuẩn (µg/ml)

m : khối lượng mẫu thử (g)

α : độ tinh khiết CDC naringin/hesperidin (%)

h : độ ẩm của dược liệu (%)

D : độ pha loãng của mẫu thử (ml)

3.3. Thẩm định quy trình định lượng

3.3.1. Tính phù hợp hệ thống. Tiến hành phân tích 6 lần lặp lại trên mẫu chuẩn và 6 lần lặp lại trên mẫu thử, kết quả khảo sát tính phù hợp hệ thống được trình bày ở Bảng 5.

Bảng 5. Tính phù hợp hệ thống của mẫu chuẩn (n = 6) và mẫu thử (n = 6)

	Rt/Rt _s	Sc/S _{is} (c)	As	Rs	N
Mẫu chuẩn					
Hesperidin	0,74(RSD = 1,02 %)	0,36(RSD = 1,35 %)	1,14 Đạt	-	45813 Đạt
Naringin	0,86 (RSD = 1,10%)	4,26 (RSD = 1,11 %)	1,21 Đạt	7,49 Đạt	35611 Đạt
Mẫu thử					
Hesperidin	0,75 (RSD = 0,98%)	0,37 (RSD = 1,96 %)	1,21 Đạt	-	39238 Đạt
Naringin	0,87 (RSD = 1,09%)	4,48 (RSD = 1,85 %)	1,32 Đạt	1,68 Đạt	33896 Đạt

Nhận xét: RSD (%) tỉ lệ thời gian di chuyển và tỷ lệ diện tích pic so với chuẩn nội rutin của mẫu chuẩn và mẫu thử đều < 2,0%, hệ số phân giải > 1,5, hệ số bất đối ≤ 2,0 và số đĩa lý thuyết > 2000.

Kết luận: quy trình đạt tính phù hợp hệ thống.

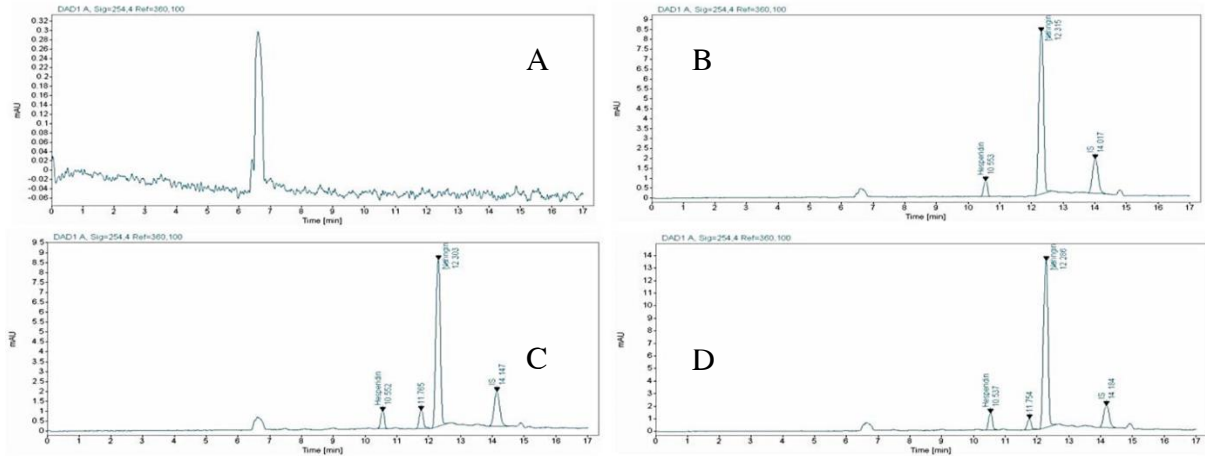
3.3.2. Độ đặc hiệu. Tiến hành phân tích các mẫu trắng, mẫu thử, mẫu chuẩn và mẫu thử thêm chuẩn. Kết quả được trình bày ở Hình 6.

Điện di đồ của mẫu trắng không xuất hiện pic có thời gian di chuyển tương ứng với pic naringin và hesperidin trong điện di đồ mẫu chuẩn.

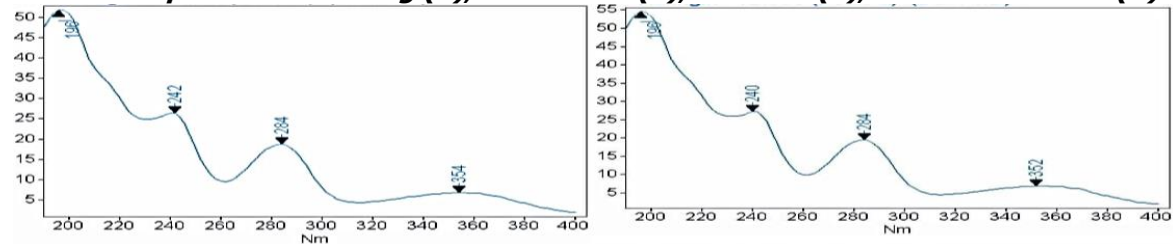
Điện di đồ của mẫu thử có tín hiệu pic có thời gian di chuyển (10,55 và 12,30 phút) tương ứng với pic hesperidin và naringin (10,55 và 12,32 phút) trong điện di đồ mẫu chuẩn.

Điện di đồ mẫu thử thêm chuẩn có sự tăng tỉ số diện tích pic so với chuẩn nội rutin (0,68 và 7,07) so với điện di đồ của mẫu thử (0,42 và 4,38).

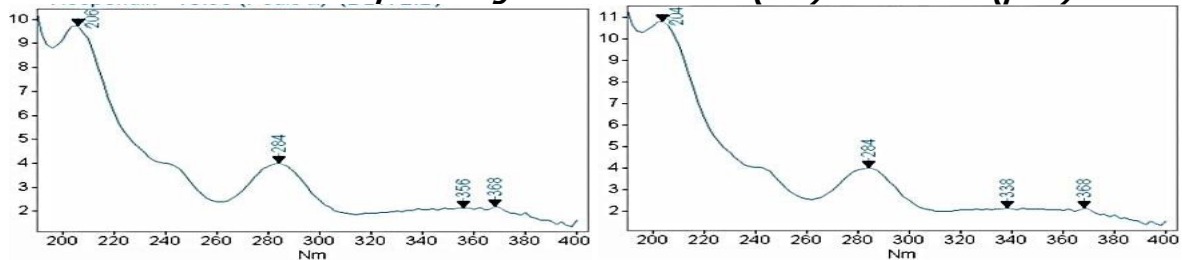
Phổ UV-Vis của naringin và hesperidin trong mẫu thử và chuẩn tương tự nhau. Quy trình đạt độ đặc hiệu.



Hình 6. Điện di đồ mẫu trắng (A), mẫu chuẩn (B), mẫu thử (C), mẫu thử + chuẩn (D)



Hình 7. Phổ UV-Vis pic naringin của mẫu chuẩn (trái) và mẫu thử (phải)



Hình 8. Phổ UV-Vis pic hesperidin của mẫu chuẩn (trái) và mẫu thử (phải)

3.3.3. Khoảng tuyến tính. Pha chế dung dịch chuẩn gốc naringin và hesperidin trong hỗn hợp điện di nền – methanol (1 : 1) có nồng độ lần lượt khoảng 1000,0 và 100,0 ($\mu\text{g/ml}$). Từ các dung dịch chuẩn gốc, chuẩn bị 6 mẫu chuẩn hỗn hợp có nồng độ naringin từ 10,0 – 500,0

($\mu\text{g/ml}$), nồng độ hesperidin từ 5,0 – 50,0 ($\mu\text{g/ml}$) và nồng độ chuẩn nội 45 $\mu\text{g/ml}$.

Xác định sự tương quan giữa nồng độ naringin/hesperidin và tỷ lệ diện tích pic so với chuẩn nội thu được bằng phương pháp hồi quy tuyến tính.

Bảng 7. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính

STT	Hesperidin		Naringin	
	Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$)	$S_c/S_{IS(c)}$	Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$)	$S_c/S_{IS(c)}$
1	-	-	10,09	0,19
2	5,01	0,09	50,44	1,10
3	10,02	0,18	100,89	2,15
4	20,04	0,37	201,78	4,15
5	30,07	0,58	302,66	6,40
6	40,09	0,77	403,55	8,32
7	50,11	0,94	504,44	10,02

Phương trình hồi quy tuyến tính của:

- Naringin: $y = 0,0201x$; hệ số tương quan $r = 0,9993$.

- Hesperidin: $y = 0,0191x$; hệ số tương quan $r = 0,9996$.

3.3.4. Độ chính xác. Tiến hành thử nghiệm độ chính xác bằng cách phân tích 6 mẫu thử khác nhau và được thực hiện bởi 2 kiểm nghiệm viên khác nhau.

Bảng 8. Kết quả thử nghiệm độ chính xác ($n = 12$)

STT	Hesperidin		Naringin	
	$S_T/S_{IS(T)}$	Hàm lượng (mg/g)	$S_T/S_{IS(T)}$	Hàm lượng (mg/g)
Kiểm nghiệm viên 1				
1	0,34	10,6	4,42	108,3
2	0,35	10,7	4,45	109,0
3	0,35	10,9	4,46	109,6
4	0,34	10,7	4,40	107,9
5	0,37	11,5	4,44	108,6
6	0,36	11,1	4,54	111,2
Kiểm nghiệm viên 2				
1	0,36	10,5	4,54	112,6
2	0,38	11,2	4,30	106,5
3	0,34	9,9	4,36	108,2
4	0,36	10,4	4,42	109,5
5	0,35	10,2	4,40	109,2
6	0,36	10,4	4,44	110,2
Trung bình = 10,7 mg/g RSD = 4,24 %			Trung bình = 109,2 mg/g RSD = 1,47 %	

RSD của hàm lượng naringin và hesperidin của 2 kiểm nghiệm viên $\leq 5,3\%$ [1] và kết quả định lượng khác nhau không có ý nghĩa thống kê, quy trình đạt độ chính xác.

Hàm lượng naringin và hesperidin trong vỏ BN lần lượt là 109,2 và 0,13 (mg/g).

3.4.5. LOD và LOQ. Pha loãng mẫu chuẩn đến nồng độ cho tín hiệu trên nhiễu (S/N) khoảng 3 : 1 (LOD) và khoảng 10 : 1 (LOQ). Tiêm lặp lại 6 lần vào hệ thống điện di, kết quả ở Bảng 9.

Bảng 9. Kết quả thử nghiệm LOD và LOQ ($n = 6$)

	Giới hạn phát hiện			Giới hạn định lượng		
	LOD ($\mu\text{g/ml}$)	S/S_{IS}	S/N	LOQ ($\mu\text{g/ml}$)	S/S_{IS}	S/N
Hesperidin	4,0	0,06	3,76	7,5	0,12	10,38
Naringin	4,0	0,07	3,75	9,9	0,19	10,07

Tín hiệu trên nhiễu (S/N) ở LOD và LOQ đều đạt yêu cầu, LOD của naringin và hesperidin lần lượt là 4,0 và 4,0 ($\mu\text{g/ml}$) và LOQ là 9,9 và 7,5 ($\mu\text{g/ml}$).

3.4.6. Độ đúng. Độ đúng được thực hiện bằng phương pháp thử thêm một lượng chuẩn tương ứng với 3 mức nồng độ LOQ, 50%, 100% và 150% so với nồng độ định lượng. Phân tích và xác định

tỷ lệ phục hồi của lượng chuẩn thêm vào.

Bảng 7. Kết quả thử nghiệm độ đúng (n = 12)

Mức nồng độ	Tỷ lệ phục hồi trung bình	
	Naringin	Hesperidin
LOQ	TB 106,2 %; RSD 3,23 %	TB 86,9 %; RSD 5,14 %
50 %	TB 103,6 %; RSD 0,21 %	TB 94,1 %; RSD 3,54 %
100 %	TB 99,7 %; RSD 0,28 %	TB 97,6 %; RSD 1,78 %
150 %	TB 95,2 %; RSD 0,15 %	TB 100,1 %; RSD 2,43 %

Tỷ lệ phục hồi của naringin và hesperidin tại các mức nồng độ đều trong khoảng 80,0 – 110,0 (%) và RSD ≤ 7,3 %, quy trình đạt độ đúng [1].

3.4.7. Khoảng xác định. Khoảng xác định của phương pháp được xác định từ kết quả khảo sát độ đúng:

- Khoảng nồng độ định lượng của naringin: 10,0 – 240,0 (µg/ml).

- Khoảng nồng độ định lượng của hesperidin: 7,5 – 24,0 (µg/ml).

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng thành công quy trình định lượng đồng thời naringin và hesperidin trong bột bưởi non bằng phương pháp điện di mao quản. Mẫu thử được xử lý bằng dung môi methanol bởi hesperidin là một flavonoid glycosid không tan trong nước và tan ít trong methanol.

Trong dung dịch điện di nền pH 10, cả 3 hợp chất naringin, hesperidin và rutin đều có khả năng phân ly thành dạng anion. Với cấu tạo nhiều nhóm –OH phenol (4 nhóm), rutin có nhiều gốc mang điện tích âm hơn do đó di chuyển chậm nhất trong điện trường. Đối với naringin và hesperidin đều có 2 nhóm –OH phenol trên vòng C của flavonoid; tuy nhiên, trên phân tử hesperidin có một gốc –OCH₃ với hiệu ứng đẩy điện tử vào vòng thơm, làm giảm khả năng phân ly H⁺ của hesperidin. Do đó, hesperidin có xu hướng tích điện âm ít hơn naringin nên di chuyển nhanh hơn trong điện trường.

Quy trình được thẩm định cho thấy có khoảng nồng độ tuyến tính khá rộng, khoảng 10,0 – 500,0 (µg/ml) đối với naringin và 5,0 – 50,0 (µg/ml) đối với hesperidin, có độ đặc hiệu, độ đúng và độ chính xác đều đạt yêu cầu theo hướng dẫn của ICH. Như vậy, phương pháp xây dựng đạt độ tin cậy cao nên có thể áp dụng để định lượng đồng thời naringin và hesperidin trong bột bưởi non.

V. KẾT LUẬN

Quy trình định lượng đồng thời naringin và

hesperidin trong bột bưởi non bằng phương pháp điện di mao quản đạt các yêu cầu về thẩm định như tính phù hợp hệ thống, độ đặc hiệu, tính tuyến tính, độ chính xác và độ đúng. Có thể ứng dụng quy trình trong kiểm soát hàm lượng naringin và hesperidin trong bột bưởi non. Hàm lượng naringin và hesperidin trong bột bưởi non khảo sát lần lượt là 109,2 và 0,13 (mg/g).

VI. LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Sở Khoa học và Công nghệ TP. Hồ Chí Minh cho PGS. TS. Lê Minh Trí, theo Quyết định số 1055/QĐ-SKHCHN và Hợp đồng số 52/2021/HĐ-QKHCN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 1. AOAC International.** AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals. Section 3.4. 2002:17-22.
- 2. Ani PN, Abel HC.** Nutrient, phytochemical, and antinutrient composition of Citrus maxima fruit juice and peel extract. Food Sci Nutr. 2018;6(3):653-658.
- 3. Đỗ Tất Lợi.** Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản Y học. 2006.
- 4. ICH Harmonised Tripartite Guideline.** Validation of analytical procedures: text and methodology 2005:1-13.
- 5. Tocomo R, Pena-Fronteras J, Calumba KF, Mendoza M, Johnson JJ.** Valorization of pomelo (Citrus grandis Osbeck) peel: A review of current utilization, phytochemistry, bioactivities, and mechanisms of action. Compr Rev Food 2020;19(4):1969-2012.
- 6. Wu T, Guan Y, Ye J.** Determination of flavonoids and ascorbic acid in grapefruit peel and juice by capillary electrophoresis with electrochemical detection. Food Chem. 2007;100(4):1573-1579.
- 7. Yu EA, Kim GS, Lee JE, et al.** Flavonoid profiles of immature and mature fruit tissues of Citrus grandis Osbeck (Dangyuja) and overall contribution to the antioxidant effect. Biomed Chromatogr. 2015;29(7):1131.
- 8. Zhong H, Yao Q, Breadmore MC, Li Y, Lu Y.** Analysis of flavonoids by capillary zone electrophoresis with electrokinetic supercharging. Analyst. 2011;136(21):4486-4491.