

# KHẢO SÁT MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN QUÁ TRÌNH CHIẾT CAO TỪ NỤ HOA HÒE (*STYPHNOLOBIUM JAPONICUM* (L.) SCHOTT) THU HÁI TẠI HUYỆN CƯ KUIN, TỈNH ĐẮK LẮK VÀ ĐỊNH LƯỢNG RUTIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP HPLC

Phạm Thị Phương\*, Huỳnh Ngọc Thụy  
Trường Đại học Y Dược Buôn Ma Thuột

## TÓM TẮT

Nghiên cứu tiến hành khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất chiết cao từ nụ hoa hòe (*Styphnolobium japonicum* (L.) Schott) thu hái tại huyện Cư Kuin, tỉnh Đắk Lắk, đồng thời định lượng rutin bằng phương pháp HPLC. Các yếu tố khảo sát bao gồm: kích thước bột dược liệu, dung môi chiết xuất (nước, nồng độ ethanol), tỷ lệ dung môi/nguyên liệu, nhiệt độ, thời gian chiết, số lần chiết. Kết quả cho thấy điều kiện chiết tối ưu là: tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:200 (g/ml), ethanol 70%, chiết ở 70°C trong 60 phút, chiết 1 lần. Cao chiết thu được có hàm lượng rutin cao tới  $50,92 \pm 0,59\%$  được xác định bằng HPLC với độ chính xác và lặp lại tốt. Quy trình chiết và phương pháp định lượng được đánh giá là phù hợp để ứng dụng trong nghiên cứu, kiểm nghiệm và phát triển các sản phẩm dược liệu từ nụ hoa hòe được trồng tại huyện Cư Kuin, tỉnh Đắk Lắk.

**Từ khóa:** Nụ hoa hòe, rutin, chiết xuất, HPLC.

## INVESTIGATION OF FACTORS AFFECTING THE EXTRACTION PROCESS OF CRUDE EXTRACT FROM THE FLOWER BUDS OF *STYPHNOLOBIUM JAPONICUM* (L.) SCHOTT COLLECTED IN CU KUIN DISTRICT, DAK LAK PROVINCE AND QUANTIFICATION OF RUTIN BY HPLC METHOD

### SUMMARY

The study was conducted to investigate several factors affecting the extraction yield of crude extract from the flower buds of *Styphnolobium japonicum* (L.) Schott collected in Cu Kuin district, Dak Lak province, and to quantify rutin content using the HPLC method. The investigated parameters included: particle size of the herbal powder, extraction solvent (water and various ethanol concentrations), solvent-to-material ratio, extraction temperature, extraction time, and number of extraction cycles. The results indicated that the optimal extraction conditions were as follows: solvent-to-material ratio of 200:1 (mL/g), 70% ethanol as solvent, extraction at 70°C for 60 minutes, with a single extraction cycle. Under these conditions, the obtained extract exhibited a high rutin content of  $50.92 \pm 0.59\%$ , as determined by HPLC with good accuracy and repeatability. The extraction procedure and quantification method were evaluated to be appropriate for application in research, quality control, and the development of herbal products derived from the flower buds of *Styphnolobium japonicum* cultivated in Cu Kuin district, Dak Lak province.

**Keywords:** Flos *Styphnolobii japonici* imaturi, rutin, extraction, HPLC.

---

Chịu trách nhiệm: Phạm Thị Phương  
Email: phamphuong220591@gmail.com  
Ngày nhận: 02/7/2025  
Ngày phân biện: 10/7/2025  
Ngày duyệt bài: 25/7/2025

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây hoa hòe (*Styphnolobium japonicum* (L.) Schott) là một dược liệu quý, được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền và hiện đại nhờ chứa nhiều hợp chất có tác dụng sinh học, đặc biệt là rutin – một flavonoid có tác dụng chống oxy hóa, phòng xơ vữa động mạch, suy yếu tĩnh mạch, trĩ, chống xuất huyết, hỗ trợ điều trị tăng huyết áp [5], theo những nghiên cứu mới đây Hòe có tác dụng chống kết tập tiểu cầu [7], tiểu đường [10], chống viêm khớp [9]. Trong cây hoa hòe, nụ hoa là bộ phận chứa hàm lượng rutin cao nhất [1] và thường được dùng làm nguyên liệu chính trong sản xuất các chế phẩm dược và thực phẩm chức năng. Hiện nay, việc nghiên cứu tối ưu hóa quy trình chiết xuất nhằm thu được cao chiết có hàm lượng hoạt chất cao, ổn định và đáp ứng tiêu chuẩn chất lượng đang là hướng đi quan trọng trong khai thác và phát triển nguồn dược liệu. Tuy nhiên, các nghiên cứu về quy trình chiết xuất rutin từ nụ hoa hòe tại Việt Nam, đặc biệt là từ nguồn nguyên liệu thu hái tại huyện Cư Kuin, tỉnh Đắk Lắk, vẫn còn hạn chế. Đây là địa phương có điều kiện khí hậu và thổ nhưỡng thuận lợi cho sự phát triển của cây hoa hòe, nhưng giá trị kinh tế thu được từ loại dược liệu này vẫn chưa tương xứng do thiếu quy trình chế biến và đánh giá chất lượng hiệu quả. Bên cạnh việc tối ưu hóa quy trình chiết xuất, việc định lượng hàm lượng rutin trong cao chiết bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) là bước quan trọng giúp kiểm soát chất lượng, xác định hiệu quả của các điều kiện chiết và hướng đến tiêu chuẩn hóa sản phẩm. Xuất phát từ những vấn đề trên, đề tài “*Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết cao từ nụ hoa hòe (Styphnolobium japonicum (L.) schott) thu hái tại huyện Cư Kuin, tỉnh Đắk Lắk và định lượng rutin bằng phương pháp HPLC*” được nghiên cứu không chỉ có ý nghĩa khoa học trong việc hoàn thiện quy trình chiết và định lượng hợp chất có hoạt tính sinh học, mà còn mang lại tiềm năng phát triển kinh tế địa phương thông qua khai thác hợp lý và nâng cao giá trị gia tăng của nguồn dược liệu tại địa phương.

## 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Nguyên liệu: 100% nụ hoa hòe (*Styphnolobium japonicum* (L.) Schott) thu hái tại huyện Cư Kuin, tỉnh Đắk Lắk vào tháng 6, 7 và 8 năm 2023 theo đúng chuyên luận dược liệu Hòe (nụ hoa) (*Flos Styphnolobii japonici imaturi*) của Dược điển Việt Nam V [1, 2] được làm khô, bảo quản đúng điều kiện để giữ ổn định hàm lượng hoạt chất.

- Cao chiết từ nụ hoa hòe được thu nhận qua các khảo sát điều kiện chiết.

- Hoạt chất khảo sát: Định lượng rutin trong cao chiết tại các điều kiện tối ưu.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Thẩm định quy trình định lượng rutin bằng phương pháp HPLC/PDA

Định lượng rutin bằng phương pháp HPLC/PDA dựa theo tài liệu [4], tuy nhiên đã chỉnh sửa cho phù hợp với điều kiện máy móc và mẫu cao nghiên cứu.

*Điều kiện sắc ký:*

Hệ thống Shimadzu LC-2030C 3D plus, Detector DAD, cột C18 Shim-pack GIST, 250 x 4,6 mm, 5 µm, nhiệt độ cột 30°C, thể tích tiêm 10 µl, tốc độ dòng 1 ml/phút, bước sóng phát hiện 256 nm, dung môi pha động Acetonitril: H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0,1% (20:80; 95:5; 80:20).

*Các tiến hành:*

- Chuẩn bị dung dịch chuẩn rutin: Pha dung dịch chuẩn gốc có nồng độ rutin là 1,1784 mg/ml trong hỗn hợp pha động. Pha loãng dung dịch chuẩn gốc trong bình định mức 10 ml bằng hỗn hợp pha động thu được dãy chuẩn có khoảng nồng độ làm việc: 0,01 mg/ml; 0,04 mg/ml; 0,09 mg/ml; 0,12 mg/ml; 0,17 mg/ml; 0,22 mg/ml. Lọc qua màng lọc 0,22 µm.

- Chuẩn bị dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 10 mg cao vào bình định mức 25 ml. Thêm 20 ml methanol, siêu âm 30 phút, để nguội đến nhiệt độ phòng, bổ sung methanol đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,22 µm.

- Thẩm định quy trình định lượng: Kiểm tra độ đặc hiệu, tính tương thích hệ thống, tuyến tính, độ đúng- độ lặp lại, khoảng xác định.

- Xây dựng đường chuẩn và tính hàm lượng rutin dựa trên diện tích pic.

- Xử lý số liệu: Sử dụng phần mềm thống kê Excel để biểu diễn kết quả dưới dạng bảng, biểu đồ.

**Phương pháp tính kết quả:** Xác định nồng độ rutin có trong các mẫu thử dựa vào diện tích pic của rutin thu được từ sắc đồ của mẫu thử và đường chuẩn biểu thị mối tương quan giữa nồng độ rutin có trong các mẫu chuẩn với diện tích pic tương ứng của mẫu chuẩn.

Dựa vào công thức:

$$\text{rutin (\%)} = \frac{(\text{St} - \text{b}) \times \text{k} \times 100}{\text{a} \times 1000 \times \text{mt} \times (100 - \text{B})}$$

Trong đó:

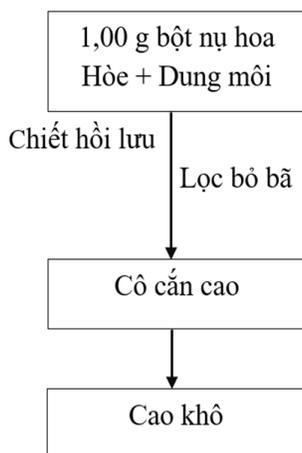
St là diện tích pic sắc ký rutin trong mẫu thử;

a và b là các hệ số của đường chuẩn ( $y = ax+b$ );

k là hệ số pha loãng của mẫu thử, mt là khối lượng mẫu thử (g);

B là hàm ẩm của mẫu thử (%).

### 2.2.2. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất (phương pháp đơn yếu tố)



Hình 1. Quy trình chiết cao từ nụ hoa hòe

Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quy trình chiết cao:

- Thí nghiệm được tiến hành theo phương pháp thay đổi từng yếu tố một (giữ cố định các yếu tố còn lại), nhằm đánh giá

ảnh hưởng của từng yếu tố riêng lẻ đến hiệu suất chiết suất và chất lượng cao chiết.

- Các yếu tố khảo sát bao gồm:

+ Kích thước bột nụ hoa hòe (sử dụng rây để phân loại kích thước): < 0,5 mm; < 1 mm; > 2 mm.

+ Dung môi chiết (loại dung môi và nồng độ ethanol): nước, ethanol 30%, 50%, 70%, 96%, xác định hàm lượng rutin có trong mẫu bằng phương pháp HPLC đã thẩm định.

+ Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi: 1:50; 1:100; 1:150; 1:200; 1:300 (g/ml).

+ Nhiệt độ chiết: 30°C; 40°C; 60°C; 70°C; 80°C.

+ Thời gian chiết: 30 phút, 60 phút, 90 phút, 120 phút.

+ Số lần chiết: 1, 2, 3 lần, kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng so sánh với chuẩn rutin với hệ dung môi triển khai: ethyl acetat:MeOH:nước (100:17:13). Quan sát và phát hiện các vết dưới UV 254 nm, 365 nm, thuốc thử vanillin – acid sulfuric 5% và FeCl<sub>3</sub>, sau đó so sánh vết của cao chiết với vết của mẫu chuẩn.

- Tiêu chí đánh giá: Hiệu suất chiết (g cao chiết/1g nguyên liệu khô), hàm lượng rutin (%) có trong cao chiết. So sánh, đánh giá ảnh hưởng của từng yếu tố đến hiệu suất, chất lượng cao chiết và hàm lượng rutin (%), lựa chọn điều kiện phù hợp nhất cho từng yếu tố nhằm chiết cao.

### 2.3. Hóa chất

Cồn 96%, nước cất, chất chuẩn rutin 98% (Chengdu Biopurity Phytochemicals Ltd. (Trung Quốc)), acetonitril (Merck), acid phosphoric -H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (Xilong Trung Quốc), methanol (Fisher), thuốc thử vanillin – acid sulfuric 5%, FeCl<sub>3</sub> 1% (Xilong Trung Quốc). Tất cả các dung môi được siêu âm khử khí trước khi phân tích trên hệ thống HPLC.

### 2.4. Thiết bị nghiên cứu

Hệ thống Shimadzu LC-2030C 3D plus, Detector DAD, cột C18 Shim-pack GIST (250 x 4,6 mm, 5 μm), đèn soi sắc kí bản mỏng WFH-203B (Trung Quốc). Bể siêu âm Elma S300H- Đức. Vial, đầu lọc mẫu, xi lanh và các dụng cụ thủy tinh thông thường.

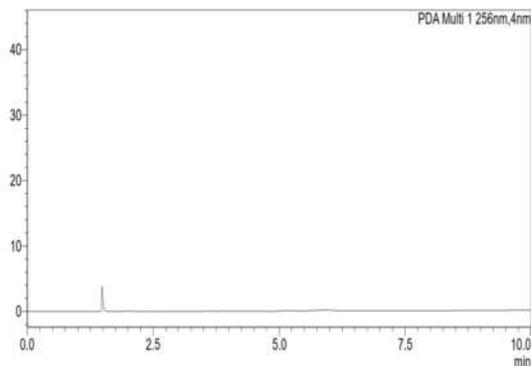
### 3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

#### 3.1. Kết quả thẩm định phương pháp

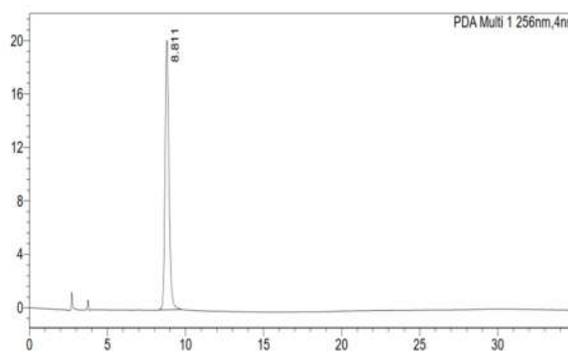
##### 3.1.1. Độ đặc hiệu

Các mẫu trắng và mẫu đối chiếu chứa rutin được phân tích theo phương pháp

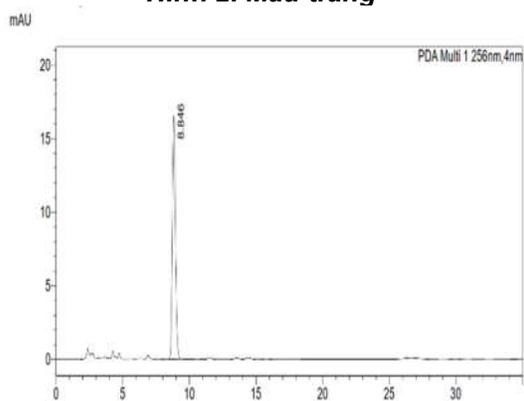
HPLC đã thiết lập, sau đó ghi nhận sắc ký đồ để đánh giá độ đặc hiệu và độ phù hợp hệ thống, kết quả được thể hiện trong hình 2; 3; 4 và 5.



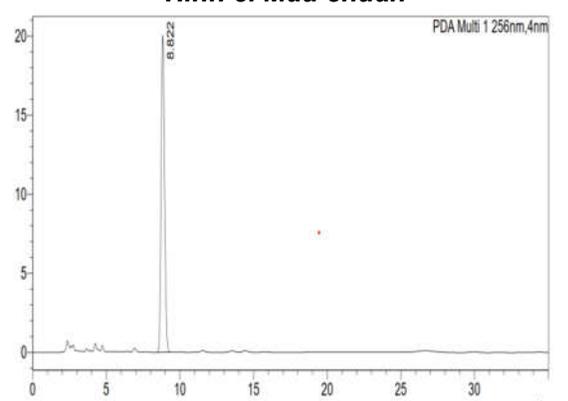
Hình 2. Mẫu trắng



Hình 3. Mẫu chuẩn



Hình 4. Mẫu thử



Hình 5. Mẫu thử thêm chuẩn

Trên sắc ký đồ (SKĐ) của mẫu chuẩn và mẫu thử (hình 3; 4; 5) xuất hiện pic tại các thời điểm 8,811; 8,846 phút và 8,822 của chuẩn rutin và rutin có trong mẫu thử và mẫu thử thêm chuẩn. SKĐ của mẫu trắng (hình 2) không xuất hiện pic tại thời điểm trên. Do vậy, phương pháp phân tích có độ

đặc hiệu chọn lọc với rutin để phân tích các chất này trong cao chiết.

##### 3.1.2. Tính tương thích hệ thống

Kết quả đánh giá thông qua giá trị RSD (%) của diện tích peak và thời gian lưu sau 6 lần phân tích lặp lại cùng mẫu chuẩn rutin nồng độ 0,019 mg/ml theo điều kiện sắc ký. Kết quả được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Kết quả tính tương thích của hệ thống sắc ký được đánh giá

							$\bar{X} \pm SD; RSD (\%)$
<b>Thời gian lưu (phút)</b>	8,841	8,779	8,806	8,815	8,793	8,735	$8,808 \pm 0,02$ 0,23
<b>Diện tích pic</b>	285107	283035	281177	279993	282389	281428	$282188,17 \pm$ 1771,79 0,63

Nhận xét: ở bảng 1 cho thấy, độ lệch chuẩn tương đối RSD (%) về diện tích pic 0,63 và thời gian lưu 0,23 đều < 2%. Như vậy, phương pháp phù hợp với hệ thống phân tích.

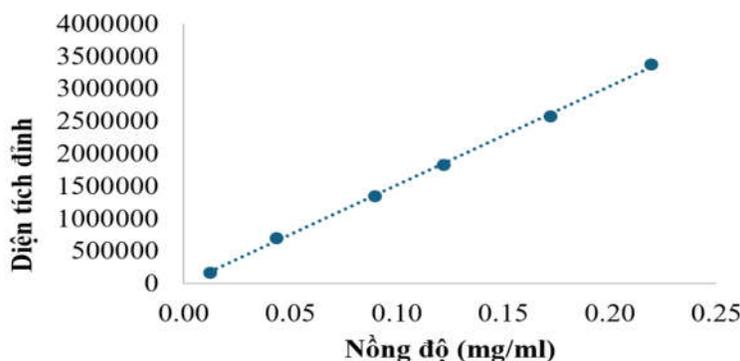
### 3.1.3. Độ tuyến tính

Các mẫu chuẩn chứa rutin với nồng độ từ

0,01 mg/mL đến 0,22 µg/mL được phân tích theo quy trình HPLC đã thiết lập. Mối tương quan giữa nồng độ rutin và diện tích pic thu được trên sắc ký đồ được xác định bằng phương pháp hồi quy tuyến tính. Kết quả mối tương quan này được trình bày trong bảng 2 và hình 6.

**Bảng 2. Kết quả thẩm định khoảng tuyến tính của phương pháp**

Rutin	Nồng độ (mg/ml)	0,01	0,04	0,09	0,12	0,17	0,22
	Diện tích pic	173795	705945	1340542	1835852	2584723	3371892
Phương trình hồi quy: $y = 15209537,2917x - 2520,6729$ ; $R^2 = 0,9993$							



**Hình 6. Đồ thị khảo sát sự tương quan tuyến tính giữa nồng độ và diện tích pic của rutin**

Kết quả phân tích cho thấy trong khoảng nồng độ từ 0,01 mg/mL đến 0,22 µg/mL, tồn tại mối tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ rutin và diện tích pic, với hệ số tương quan  $R^2 = 0,9993$ . Nồng độ rutin xác định từ đường chuẩn so với giá trị lý thuyết đều nằm trong giới hạn cho phép theo tiêu chuẩn phân tích (80% – 120%).

### 3.1.4. Độ đúng

Đánh giá độ đúng bằng cách thêm rutin chuẩn vào nền placebo để tạo mẫu giả, sau

đó xử lý theo quy trình phân tích, sao cho dung dịch cuối cùng chứa rutin ở ba mức 80%, 100% và 120%. Mỗi mức được chuẩn bị thành ba mẫu song song. Hàm lượng rutin trong các mẫu được xác định thông qua đường chuẩn dưới cùng điều kiện sắc ký. Độ đúng của phương pháp được tính bằng tỷ lệ phần trăm giữa nồng độ rutin thu được và nồng độ lý thuyết. Kết quả xác định độ đúng được trình bày trong bảng 3.

**Bảng 3. Kết quả thẩm định độ đúng**

Độ thu hồi (%)	Rutin		
	80%	100%	120%
Tỉ lệ thu hồi trung bình (%)	99,15%	100,38%	99,64%
% RSD	0,58%	1,22%	1,31%

Kết quả thẩm định cho thấy tại các mức nồng độ thấp, trung bình và cao, phương pháp phân tích đạt độ đúng gần tương đương 100%, cho thấy khả năng đo lường

chính xác hàm lượng rutin trong mẫu. Phương pháp định lượng rutin đã xây dựng đạt yêu cầu về độ đúng.

### 3.1.5. Độ lặp lại

Chuẩn bị mẫu thử: 1,0 g bột dược liệu chiết trong ethanol 70%, với tỉ lệ dược liệu/dung môi là 1/100, ở nhiệt độ 70°C trong 60 phút thu được khối lượng cao chiết 0,5827g, độ ẩm 3,4%. Chuẩn bị dung dịch thử theo 2.2.2.

Độ lặp lại của hệ thống sắc ký được thẩm định bằng cách đo 6 mẫu thử vào hệ thống HPLC với cùng điều kiện sắc ký. Kết quả được đánh giá qua độ lệch chuẩn tương đối RSD (%) của diện tích peak và thời gian lưu rutin trong mẫu thử được trình bày trong bảng 4.

**Bảng 4. Kết quả độ lệch chuẩn tương đối RSD (%) của diện tích pic và thời gian lưu rutin trong mẫu thử**

Khối lượng cao	Diện tích pic	Hàm lượng (%)
10,14	283766	45,99
9,95	275902	45,58
9,86	271123	45,23
9,47	261506	45,41
10,24	282305	45,33
9,18	252497	45,23
	$\bar{X} \pm SD$ RSD (%)	45,46 $\pm$ 0,29 0,64

Từ kết quả thẩm định độ lặp lại trong ngày và khác ngày trình bày bảng 4, nhận thấy độ lệch chuẩn tương đối RSD (%) của hàm lượng rutin có trong mẫu thử là 0,64 < 2,0%. Điều này cho thấy hệ thống HPLC có độ lặp lại tốt, quy trình phân tích ổn định.

Dựa trên các kết quả thẩm định về độ

tuyến tính, độ đúng và độ chính xác, khoảng xác định hiệu quả của phương pháp đối với rutin nằm trong khoảng từ 0,01 mg/mL đến 0,22 mg/mL.

Vậy áp dụng phương pháp đã thẩm định định lượng rutin trong nụ hoa hòe trồng tại Đắk Lắk trong điều kiện chiết.

## 3.2. Kết quả khảo sát tối ưu hóa điều kiện chiết

### 3.2.1. Kết quả khảo sát của kích thước bột nụ hoa hòe lên khối lượng cao chiết

**Bảng 5. Kết quả khối lượng cao khô trong quá trình khảo sát kích thước bột nụ hoa hòe**

Nồng độ ethanol (%)	Tỷ lệ DL/DM (g/ml)	Thời gian (phút)	Nhiệt độ (°C)	Kích thước (mm)	Cao khô (g)	Độ ẩm (%)
70	1/100	30	60	< 0,5	0,5862	3,5
				> 1,0	0,5523	3,7
				2,0	0,5305	3,4

**Nhận xét:** Bột nụ hoa hòe < 0,5 mm cho hiệu suất chiết cao nhất. Lựa chọn kích thước bột < 0,5 mm để khảo sát các yếu tố khác.

### 3.2.2. Khảo sát dung môi chiết

Khảo sát dung môi chiết trong điều kiện bột kích thước nụ hoa hòe < 0,5 mm, tỉ lệ dược liệu/dung môi (g/ml) là 1/100, đun hồi

lưu tại nhiệt độ 60°C trong thời gian 60 phút, lọc, cô thành cao đặc, sau đó khảo sát hàm lượng rutin có trong cao chiết tại các dung môi khác nhau bằng phương pháp HPLC đã thẩm định tại mục 3.1. Kết quả ảnh hưởng của nồng độ dung môi chiết lên khối lượng cao khô được trình bày trong bảng 6.

**Bảng 6. Kết quả khối lượng cao khô và hàm lượng rutin có trong quá trình khảo sát nồng độ dung môi chiết**

Nồng độ ethanol (%) và nước sôi	Cao khô (g)	Độ ẩm (%)	Khối lượng cân (mg)	Diện tích pic	Hàm lượng rutin (%)	Hàm lượng rutin trung bình (%)
Nước sôi (100°C)	0,5155	10,60	10,72	350054	6,02	5,97
			10,31	334276	5,97	
			10,50	338243	5,92	
30	0,5413	3,7	10,12	265231	42,76	42,39
			9,72	251702	42,55	
			9,16	233152	41,85	
50	0,5526	3,5	9,97	263157	44,96	44,71
			10,40	271356	44,44	
			10,22	268468	44,74	
70	0,5852	3,4	10,52	275115	45,62	45,53
			10,30	270108	45,66	
			9,75	252486	45,32	
96	0,4617	3,5	10,14	268716	45,49	45,61
			9,82	260206	45,57	
			10,37	276741	45,78	

**Nhận xét:** Dựa vào khối lượng cao chiết thu được và hàm lượng rutin có trong các cao chiết cho thấy hàm lượng rutin trong cao ethanol 70% và 90% cao hơn các cao khác (45,53 - 45,61%), đồng thời ethanol 70% cho hiệu suất chiết cao nhất. Vì vậy

lựa chọn ethanol 70% để khảo sát các yếu tố khác.

### 3.2.3. Khảo sát tỷ lệ dược liệu và dung môi

Kết quả ảnh hưởng của tỷ lệ dược liệu/dung môi lên khối lượng cao được trình bày trong bảng 7.

**Bảng 7. Kết quả khối lượng cao khô trong quá trình khảo sát tỷ lệ dược liệu/dung môi**

Kích thước (mm)	Nồng độ ethanol (%)	Tỷ lệ DL/DM (g/ml)	Thời gian (phút)	Nhiệt độ (°C)	Cao khô (g)	Độ ẩm (%)
< 0,5	70	1/50	60	60	0,5647	3,5
		1/100	60	60	0,5833	3,4
		1/150	60	60	0,5925	3,3
		1/200	60	60	0,6127	3,3
		1/300	60	60	0,6162	3,4

**Nhận xét:** Kích thước bột nụ hoa hòe < 0,5 mm, ethanol 70%, tỷ lệ dược liệu/dung môi 1/200, thời gian chiết 60 phút và nhiệt độ 60°C cho hiệu suất chiết cao tương

đương tỷ lệ 1/300 vì vậy lựa chọn tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1/200 cho để khảo sát các yếu tố khác.

### 3.2.4. Khảo sát thời gian chiết

Ảnh hưởng của thời gian chiết lên khối lượng cao được trình bày trong bảng 8.

**Bảng 8. Kết quả khối lượng cao khô trong quá trình khảo sát thời gian chiết**

Kích thước (mm)	Nồng độ ethanol (%)	Tỷ lệ DL/DM (g/ml)	Thời gian (phút)	Nhiệt độ (°C)	Cao khô (g)	Độ ẩm (%)
< 0,5	70	1/200	30	60	0,5731	3,3
			60	60	0,6125	3,2
			90	60	0,6137	3,4
			120	60	0,6146	3,4

**Nhận xét:**

Kích thước bột nụ hoa hòe < 0,5 mm, ethanol 70%, tỉ lệ dược liệu/dung môi 1/200, tại nhiệt độ 60°C và thời gian chiết 60, 90 và 120 phút cho hiệu suất chiết cao nhất. Tuy nhiên khối lượng cao chiết thu được không

chênh lệch đáng kể, đồng thời tiết kiệm thời gian chiết nên lựa chọn thời gian chiết là 60 phút để khảo sát các yếu tố khác.

### 3.2.5. Khảo sát nhiệt độ chiết

Kết quả khảo sát nhiệt độ chiết lên khối lượng cao được trình bày trong bảng 9.

**Bảng 9. Kết quả khối lượng cao khô trong quá trình khảo sát nhiệt độ chiết**

Kích thước (mm)	Nồng độ ethanol (%)	Tỷ lệ DL/DM (g/ml)	Thời gian (phút)	Nhiệt độ (°C)	Cao khô (g)	Độ ẩm (%)
< 0,5	70	1/200	60	30	0,2978	3,7
				45	0,3733	3,5
				60	0,6118	3,4
				70	0,6207	3,4
				80	0,6247	3,3

**Nhận xét:** Trong quá trình khảo sát nhiệt độ chiết, dựa vào kết quả ở mục 3.2.1→ 3.2.5 các yếu tố đã được tối ưu thì hiệu suất chiết tại nhiệt độ chiết 80°C cao nhất, tuy nhiên dung môi sử dụng là ethanol 70% khi đun hồi lưu tại nhiệt độ 80°C không an toàn, tại nhiệt độ 70°C khối lượng cao thu được không chênh lệch nhiều so với 80°C, vì vậy

lựa chọn ethanol 70°C để tiến hành thử nghiệm yếu tố tiếp theo.

### 3.2.6. Khảo sát số lần chiết

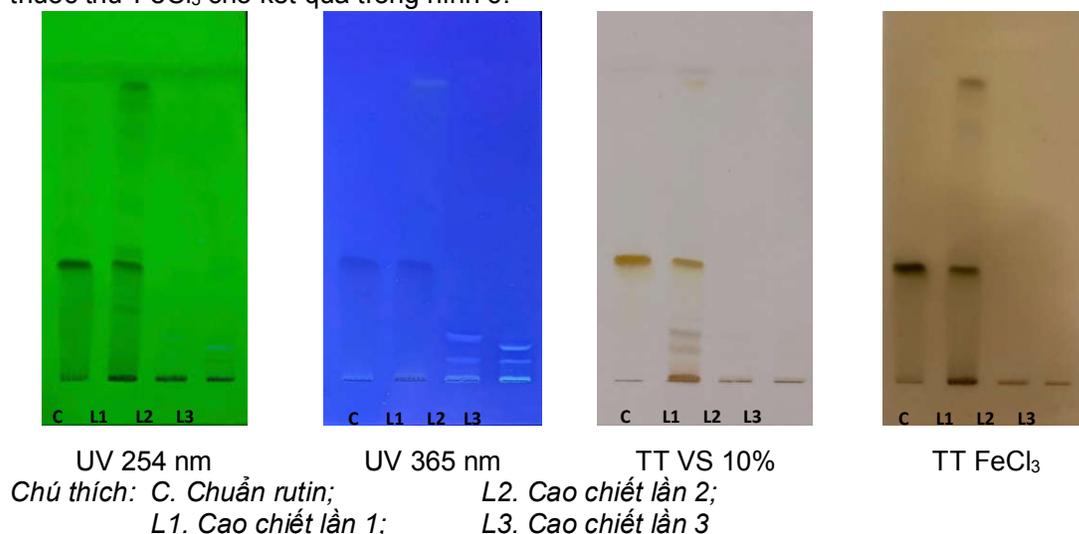
Bã dược liệu sau khi chiết trong các điều kiện tối ưu đã khảo sát, được chiết lại lần thứ 2 và 3 trong các điều kiện như lần chiết 1. Cô cạn dịch lọc, cân khối lượng cao của 3 lần chiết riêng biệt. Kết quả khảo sát số lần chiết được trình bày trong bảng 10.

**Bảng 10. Kết quả khảo sát khối lượng cao khô trong các lần chiết**

Số lần chiết	Kích thước (mm)	Nồng độ ethanol (%)	Tỷ lệ DL/DM (g/ml)	Thời gian (phút)	Nhiệt độ (°C)	Cao khô (g)	Độ ẩm (%)
1	< 0,5	70	1/200	60	70°C	0,6215	3,7
2						0,02	3,5
3						0,01	3,3

### 3.2.7. Kiểm tra các lần chiết bằng sắc ký lớp mỏng

Triển khai chất chuẩn rutin và cao chiết của 3 lần bằng hệ dung môi ethyl acetat:MeOH:nước (100:17:13), soi UV 245, 365 nm, phun thuốc thử Vanillin Sulfuric và thuốc thử FeCl<sub>3</sub> cho kết quả trong hình 6.



**Hình 6. Sắc kí đồ cao chiết của lần chiết 1, 2 và 3**

**Nhận xét:** Lần chiết thử nhất xuất hiện 1 vết màu đen cùng Rf của chuẩn rutin ở UV 254 nm và màu xanh sẫm ở UV 365 nm, màu vàng khi phun thuốc thử VS 10%, màu đen khi nhúng FeCl<sub>3</sub>, lần chiết thứ 2 và 3 không xuất hiện vết cùng Rf cùng với chuẩn rutin. Vậy chỉ chiết 1 lần.

Xác định được các điều kiện chiết tối ưu gồm: kích thước bột dược liệu < 0,5 mm, ethanol 70%, nhiệt độ chiết 70°C, tỉ lệ dung môi/dược liệu là 1/200 trong thời gian 60 phút chiết 1 lần cho hiệu suất chiết cao nhất,

từ 1,00 g nụ hoa hòe thu được khối lượng trung bình cao chiết là 0,6215 g (độ ẩm 3,7%). Cao chiết trong các điều kiện tối ưu có dạng bột màu vàng nâu.

Khảo sát hàm lượng rutin trong cao chiết của nụ hoa hòe bằng phương pháp HPLC/PDA trong cao chiết tối ưu.

Sử dụng phương pháp thẩm định trong mục 3.1, tiến hành định lượng rutin trong cao chiết trong các điều kiện tối ưu tại mục 3.2. Kết quả trình bày ở bảng 11.

**Bảng 11. Hàm lượng rutin có trong mẫu thử**

Mẫu	Khối lượng dược liệu (g)	Diện tích pic (μV*s)	Hàm lượng (%)
Mẫu 1	10	296982	50,69
Mẫu 2	9,4	279869	50,82
Mẫu 3	9,6	288333	51,26
$\bar{X} \pm SD$			50,92 ± 0,59

Kết quả cho thấy hàm lượng rutin trong nụ hoa hòe là 50,92 ± 0,59%. Phương pháp đã xây dựng cho độ chính xác và tin cậy cao.

## 4. BÀN LUẬN

Lần đầu tiên nụ hoa Hòe được thu hái tại huyện Cư Kuin, tỉnh Đắk Lắk được nghiên

cứu về khảo sát điều kiện chiết và đánh giá hàm lượng rutin có trong cao chiết. Kết quả khảo sát cho thấy các yếu tố như nồng độ dung môi, nhiệt độ, thời gian chiết và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất chiết. Trong đó, ethanol 70% cho hiệu suất chiết rutin cao nhất so với

nước và nồng độ ethanol khác, phù hợp với tính chất phân cực trung bình của rutin. Điều này cũng phù hợp với nhiều nghiên cứu trước đây khi chiết rutin từ nụ hoa hòe [8]. Tỷ lệ dung môi 1:200 (g/ml) giúp tối đa hóa khả năng tiếp xúc giữa dược liệu và dung môi mà không gây lãng phí. Nhiệt độ chiết 70°C và thời gian chiết 60 phút là điều kiện đủ để giải phóng rutin mà không gây phân hủy hoạt chất do nhiệt. Phương pháp HPLC được sử dụng trong nghiên cứu đã cho đường chuẩn tuyến tính tốt ( $R^2 > 0,999$ ), độ lặp lại cao, sai số thấp và độ thu hồi đạt yêu cầu theo tiêu chuẩn phân tích dược liệu, khẳng định tính định lượng chính xác và khả năng áp dụng vào kiểm soát chất lượng cao chiết. Hàm lượng rutin đạt  $50,92 \pm 0,59\%$  trong cao chiết từ nụ hoa hòe cao hơn rất nhiều mức yêu cầu tiêu chuẩn theo Dược điển Việt Nam V [2] và một số nghiên cứu trước đây [6, 8], khẳng định hiệu quả của quy trình chiết tách đồng thời tiềm năng sử dụng dược liệu nụ hoa hòe tại huyện Cư Kuin, tỉnh Đắk Lắk trong nghiên cứu, sản xuất các chế phẩm chứa rutin có nguồn gốc tự nhiên.

#### V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được điều kiện chiết xuất tối ưu cao chiết từ nụ hoa hòe là: kích thước bột < 0,5 mm, dung môi ethanol 70%, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:200, nhiệt độ 70°C, thời gian 60 phút, chiết 1 lần. Kết quả của quy trình chiết cũng như định lượng rutin bằng phương pháp HPLC cho thấy hàm lượng rutin trong nụ hoa hòe thu hái tại huyện Cư Kuin, tỉnh Đắk Lắk cho hiệu suất chiết lên tới 62% và hàm lượng rutin là  $50,92 \pm 0,59\%$ , phương pháp phân tích có độ lặp lại và độ tin cậy tốt, có thể áp dụng trong kiểm soát chất lượng và phát triển sản phẩm từ nụ hoa hòe.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Huy Bích và cộng sự (2006), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Nhà xuất bản khoa học kỹ thuật, tập 1, tr. 971-976.

2. Dược điển Việt Nam 5 (2018), Bộ Y tế, Tập 2, tr. 1195-1196.

3. Nguyễn Thành Đạt và cộng sự (2019), "Xác định hàm lượng rutin trong một số cao dược liệu hoa hòe được sử dụng làm nguyên liệu trong các chế phẩm thực phẩm bảo vệ sức khỏe bằng phương pháp HPLC-UV", *Tạp chí kiểm nghiệm và an toàn thực phẩm*, 2 (3), tr. 51-55.

4. Nguyễn Thị Thanh Phương, Nguyễn Thị Hồng Hạnh, Đàm Thị Thu (2020), "Xác định đồng thời hàm lượng rutin, hesperidin, quercetin trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe dạng rắn bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao", *Tạp chí kiểm nghiệm và an toàn thực phẩm*, 3(1), tr. 38-44.

5. Trần Hùng (2021), *Nhận thức cây thuốc và Dược liệu*, Nhà xuất bản Y học, Thành phố Hồ Chí Minh, tr. 169.

6. Phạm Thị Thủy (2021), "Nghiên cứu hoàn thiện quy trình chế biến cốm hòa tan thảo dược hoa hòe có tác dụng ổn định huyết áp", *TNU Journal of Science and Technology*, 226(10), pp. 268 - 276.

7. Jeong Mi Kim et al (2008), "Anti-platelet effects of flavonoids and flavonoid glycosides from *Sophora japonica* L.", *Archives of Pharmacal Research*, 31 (7), pp. 886 - 890.

8. S. Bahchevanska & I. Koleva, N. (2014). "A Study on the Autohydrolysis of Rutin to Quercetin from *Sophora Japonica* Blossoms", *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 10 (1), pp. 56 - 58.

9. Tiansheng Liu and Bin Su (2021), "Styphnolobium japonicum (L.) Schott Flower Extract Alleviates Oxidative Stress and Inflammatory Factors in the Adjuvant-Induced Arthritis Rat Model, National Library of medicine", *National Library of medicine*, 2021 (14), pp. 2907 - 2919.

10. Ting Wang et al (2017), "Effect of *sophora japonica* total flavonoids on pancreas, kidney tissue morphology of streptozotocin-induced diabetic mice model", *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24 (3), pp. 741-747.