

ĐỊNH LƯỢNG POLYPHENOL TOÀN PHẦN TRONG QUẢ VÀ CỦ HÀNH TẮM (*Allium schoenoprasum* L.) BẰNG PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ UV-VIS VỚI THUỐC THỬ FOLIN-CIOCALTEU

Trần Nguyễn An Sa^{1,2*}, An Phan Ngọc Quỳnh²,

Tạ Thị Hồng Nhung², Lê Phạm Thanh Tùng², Võ Lê Như Quỳnh²,

Nguyễn Kim Thịnh², Nguyễn Thu Trang²

¹Học viện Khoa học công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh

*Email: satna@huit.edu.vn

Ngày nhận bài: 14/01/2025; ngày nhận bài chỉnh sửa: 28/02/2025; Ngày chấp nhận đăng: 10/3/2025

TÓM TẮT

Nội dung của nghiên cứu nhằm phát triển phương pháp quang phổ UV-Vis, sử dụng thuốc thử Folin-Ciocalteu để định lượng nhanh và chính xác hàm lượng polyphenol toàn phần trong quả và củ hành tằm. Nghiên cứu đã xác định các điều kiện tối ưu cho phản ứng tạo phức màu, gồm pH dao động trong khoảng 8,67–8,95 và tỉ lệ mol Na_2CO_3 /Folin trong dung dịch đo quang là 3,6, tương ứng với nồng độ ban đầu của thuốc thử Folin là 0,20 mol/L và Na_2CO_3 là 1,2 mol/L, với thời gian phản ứng 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Phương pháp đề xuất đạt độ nhạy cao, MDL_S (US.EPA) = 0,049 mg/L; LOD (JAOAC) = 0,051 mg/L, LOQ = 0,155 mg/L, khoảng tuyến tính (0,2–20 mg/L) rộng, phù hợp để xác định hàm lượng polyphenol trong các mẫu thực vật có hàm lượng polyphenol cao, đồng thời giảm sai số do quá trình pha loãng mẫu. Nghiên cứu cũng đã xác định các điều kiện chiết xuất polyphenol từ củ và quả hành tằm, trong đó ethanol 70% được sử dụng làm dung môi chiết đối với củ và ethanol 50–70% đối với quả, kết hợp với phương pháp chiết siêu âm ở 30 °C trong 30 phút hoặc ngâm trong bể ổn nhiệt ở 70 °C trong 30 phút. Kết quả phân tích cho thấy hàm lượng polyphenol trong củ hành tằm cao hơn so với quả, lần lượt là $9,21 \pm 0,29$ mg/g chất khô (hay $2,48 \pm 0,08$ mg/g củ tươi) và $7,97 \pm 0,26$ mg/g chất khô (hay $2,38 \pm 0,08$ mg/g quả tươi).

Từ khóa: Polyphenol, Folin-Ciocalteu, hành tằm, *Allium schoenoprasum* L., UV-Vis.

1. MỞ ĐẦU

Polyphenol là các chất chuyển hóa thứ cấp của thực vật, không chỉ đóng vai trò bảo vệ thực vật mà còn mang lại nhiều lợi ích cho sức khỏe con người. Dựa trên cấu trúc hóa học, polyphenol được phân loại thành flavonoid, phenolic acid, stilbene, lignan, trong đó flavonoid là nhóm lớn nhất với các phân nhóm đa dạng như flavonol, flavone, isoflavone, flavanone và anthocyanidin [1, 2]. Do có khả năng trung hòa các gốc tự do, kháng viêm và phòng ngừa nhiều bệnh như ung thư, bệnh tim mạch và thoái hóa thần kinh [3], polyphenol trở thành đối tượng nghiên cứu quan trọng trong lĩnh vực thực phẩm và dược liệu.

Để phân tích các hợp chất nhóm polyphenol, phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) thường được sử dụng để định lượng chính xác từng hợp chất polyphenol riêng lẻ trong các mẫu như nước ép trái cây, rau củ, dịch chiết từ thảo dược [4, 5]. Tuy nhiên, phương pháp này đòi hỏi thiết bị hiện đại và quy trình phức tạp, nên chưa phù hợp để sử dụng trong các nghiên cứu ban đầu hoặc phân tích nhanh. Ngược lại, phương pháp quang phổ với thuốc thử Folin–Ciocalteu đơn giản hơn, hiệu quả và được ứng dụng rộng rãi để định lượng tổng hàm lượng polyphenol (TPs) trong thực phẩm [6, 7], dịch chiết từ thực vật [8, 9], trong chè theo TCVN 9745-1:2013 và ISO 14502-1:2005 [10, 11], cũng như trong dịch chiết từ hạt nho, vỏ nho, cà phê, ca cao và trà đen theo AOAC 2017.13 [12]. Nguyên lý của phương pháp này dựa trên phản ứng của các hợp chất phenolic với thuốc thử Folin–Ciocalteu (hỗn hợp

gồm phosphotungstate và molybdate). Trong môi trường sodium carbonate, các nhóm phenolic bị phân ly, tạo thành các anion phenolate, các anion này có khả năng khử ion Mo^{6+} trong thuốc thử thành Mo^{5+} , tạo phức chất màu xanh lam, có thể đo bằng quang phổ UV-Vis [2]. Mặc dù các quy trình phân tích polyphenol tổng bằng thuốc thử Folin–Ciocalteu dựa trên cùng một nguyên tắc hóa học, các quy trình phân tích vẫn có sự khác biệt đáng kể, đặc biệt ở trình tự thêm thuốc thử, nồng độ thuốc thử và điều kiện phản ứng. Do đó, để đảm bảo độ chính xác và độ tin cậy của kết quả phân tích, cần thiết phải xây dựng và tối ưu hóa quy trình phân tích phù hợp cho từng loại mẫu cụ thể.

Hành tằm hay nén (*Allium schoenoprasum* L.) là một loại thực vật thuộc họ hành (*Alliaceae*), có nguồn gốc từ châu Âu và châu Á. Hành tằm có lá mảnh, màu xanh đậm và hoa màu tím nhạt, hương vị cay nồng đặc trưng [9]. Trong số các loài *Allium* được khảo sát, hành tằm (*Allium schoenoprasum* L.) có hàm lượng polyphenol tổng cao nhất ($1.591 \pm 10,89$ mg/kg) [9]. Các nghiên cứu gần đây cũng xác định trong thân, lá và hoa hành tằm chứa lượng đáng kể các polyphenol quan trọng như p-coumaric acid, ferulic acid, gallic acid, kaempferol, quercetin, quercetol, isorhamnetin và rutin [13], cho thấy tiềm năng ứng dụng của loài cây này trong lĩnh vực công nghiệp thực phẩm và dược liệu.

Tại Việt Nam, hành tằm được trồng phổ biến ở miền Trung và Tây Nguyên [14, 15], không chỉ được biết đến như một gia vị quen thuộc mà còn là một thảo dược quý, có nhiều dược tính theo y học dân gian, với các công dụng như hỗ trợ tiêu hóa, giảm ho và kháng khuẩn. Đặc biệt, quả (hạt) hành tằm kết hợp với dầu tràm thường được dùng làm dầu xoa cho trẻ sơ sinh. Để đánh giá chất lượng và tiềm năng ứng dụng của loại cây này, việc định lượng chính xác hàm lượng polyphenol trong củ và quả (hạt) của hành tằm là cấp thiết. Kết quả nghiên cứu sẽ cung cấp cơ sở khoa học cho việc khai thác các hoạt tính sinh học cũng như tạo tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo về cây hành tằm. Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này là dựa trên phương pháp quang phổ UV-Vis với thuốc thử Folin–Ciocalteu, xây dựng một quy trình định lượng nhanh, chính xác và hiệu quả để xác định hàm lượng polyphenol toàn phần trong quả và củ hành tằm thu hái tại huyện Cam Lộ, tỉnh Quảng Trị, Việt Nam.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu và hóa chất

2.1.1. Nguyên liệu

Quả (hạt) và củ hành tằm tươi được trồng và thu hái ở khu vực huyện Cam Lộ, tỉnh Quảng Trị, Việt Nam vào tháng 4-5/2024. Quả và củ hành tằm tươi sau khi được rửa sạch, loại bỏ tạp chất, sẽ được bảo quản ở nhiệt độ 1–5 °C, dùng trong suốt quá trình thí nghiệm.



Hình 1. Quả và củ hành tằm (*Allium schoenoprasum* L.)

2.1.2. Hóa chất

Hóa chất sử dụng cho nghiên cứu này là loại tinh khiết hóa học và tinh khiết dành cho phân tích: Gallic acid monohydrate ($(\text{HO})_3\text{C}_6\text{H}_2\text{CO}_2\text{H} \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\geq 98,0\%$, Sigma-Aldrich); thuốc thử Folin–Ciocalteu ($\text{C}_{10}\text{H}_5\text{NaO}_5\text{S}$, 99%, Merck); Sodium carbonate (Na_2CO_3 , $\geq 99,8\%$ Xilong, Trung Quốc); Ethanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, 99,7%, Xilong, Trung Quốc); Acetonitril (CH_3CN , $\geq 99,9\%$ Fisher, Mỹ).

2.2. Thiết bị

Máy quang phổ hai chùm tia Jasco-double beam spectrophotometer model V530 (Nhật) với cell đo có chiều dài đường truyền 1 cm. Bể siêu âm Elmasonic S 100 H (tần số siêu âm 37 kHz, Elma, Đức) và các thiết bị thông dụng khác.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

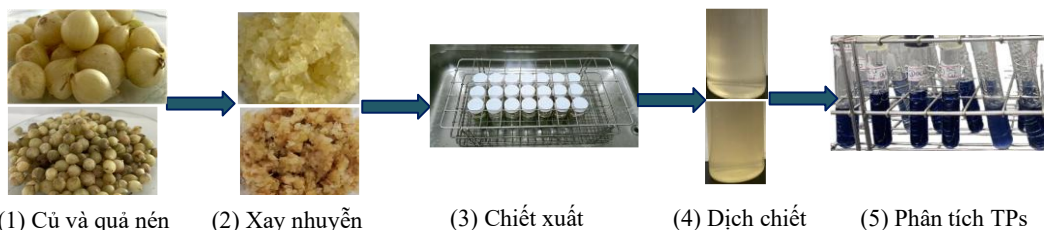
2.3.1. Chuẩn bị dung dịch chuẩn gốc và dung dịch chuẩn khảo sát

Cân chính xác 0,1000 g gallic acid, hòa tan và định mức 100 mL, thu được dung dịch chuẩn gốc 1.000 $\mu\text{g/mL}$. Dung dịch chuẩn khảo sát được pha loãng từ dung dịch chuẩn gốc để thu được các dung dịch có nồng độ trong khoảng 1–50 $\mu\text{g/mL}$.

2.3.2. Chiết xuất polyphenol từ quả và củ hành tằm

Quy trình chiết xuất trong nghiên cứu được thực hiện theo hướng thay thế các dung môi hữu cơ độc hại bằng ethanol và hỗn hợp ethanol/nước, nhằm giảm mức độ sử dụng dung môi có nguy cơ gây ảnh hưởng đến sức khỏe, môi trường và sử dụng thiết bị hiện đại để nâng cao hiệu suất quá trình chiết xuất [16, 17]. Nguyên liệu hành tằm tươi sau khi rửa sạch và loại bỏ tạp chất, được xử lý sơ bộ bằng cách cắt nhỏ và xay nhuyễn.

Quy trình chiết xuất bao gồm hai phương pháp: chiết xuất hỗ trợ siêu âm (30 °C trong 30 phút) và chiết xuất gia nhiệt (70 °C trong 30 phút). Cả hai phương pháp đều sử dụng tỉ lệ dung môi/nguyên liệu là 25,0 mL/0,2 g, với các dung môi gồm ethanol và hỗn hợp ethanol/nước ở các nồng độ 70%, 50% và 25% (v/v). Kết quả phân tích tổng polyphenol (TPs) từ hai quy trình được so sánh với nhau và với quy trình chiết xuất polyphenol theo tiêu chuẩn TCVN 9745-1:2013, sử dụng dung môi methanol 70% ở 70 °C trong 10 phút. Các bước thí nghiệm trong quy trình chiết xuất polyphenol từ quả và củ hành tằm được thực hiện theo Hình 2.



Hình 2. Các bước thí nghiệm trong quy trình chiết xuất polyphenol

2.3.3. Khảo sát và thẩm định phương pháp xác định polyphenol toàn phần (TPs)

2.3.3.1. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến phản ứng giữa thuốc thử Folin-Ciocalteu và chuẩn đối chứng gallic acid

Các thông số khảo sát bao gồm: (1) bước sóng hấp thụ cực đại; (2) trình tự phản ứng; (3) nồng độ Na_2CO_3 , pH, nồng độ thuốc thử Folin và tỉ lệ thuốc thử Folin- Na_2CO_3 ; (4) động học phản ứng. Quy trình tạo phức màu được thực hiện theo ISO 14502-1:2005 [11] có điều chỉnh theo hướng định lượng nhanh (test kit) và giảm lượng thuốc thử Folin cụ thể như sau: 1,0 mL dung dịch chuẩn gallic acid; 2,5 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu và 1,5 mL Na_2CO_3 , lắc đều, để yên ở nhiệt độ phòng trong thời gian 60 phút. Nước cất được sử dụng làm mẫu trắng. Độ hấp thụ (Abs) của dung dịch phức màu được đo bằng cuvet thạch anh (độ dài đường truyền 1 cm), và được dùng như là hàm mục tiêu để xác định điều kiện tối ưu cho phương pháp. Phân tích phương sai (ANOVA) một hoặc hai yếu tố và kiểm định HSD của Tukey ($p < 0,05$) được sử dụng để đánh giá thống kê và so sánh các giá trị Abs trung bình.

2.3.3.2. Thẩm định phương pháp xác định polyphenol toàn phần (TPs)

a. Tính đặc hiệu của phương pháp

Độ đặc hiệu của phương pháp là khả năng của phương pháp phân tích chính xác chất phân tích mà không bị nhiễu bởi dung môi và các chất khác có mặt trong mẫu, độ đặc hiệu được xác định bằng cách so sánh phổ hấp thụ trong khoảng khảo sát 600 đến 900 nm của phức tạo thành giữa thuốc thử Folin với dung môi, dung dịch chuẩn gallic acid, dịch chiết từ quả và củ hành tằm, dịch chiết thêm chuẩn gallic acid [18].

b. Xác định MDL, LOQ và khoảng tuyến tính (LOL) của phương pháp theo US.EPA

Các yếu tố như giới hạn phát hiện của phương pháp (MDL-Method Detection Limit) và giới hạn định lượng (LOQ- Limits of quantification) được xác định theo như hướng dẫn trong quy trình xác định

MDL, LOQ của US.EPA [19, 20]. MDL được US.EPA định nghĩa là nồng độ tối thiểu của một chất có thể được đo và cho kết quả với độ tin cậy 99%, MDL được xác định như công thức (1) và LOQ được xác định bằng 3,18 lần MDL_s [20].

$$MDL_s = t_{(n-1, 1-\alpha=0,99)} \times SD_s \quad (1)$$

Với MDL_s: Giới hạn phát hiện phương pháp dựa trên mẫu chuẩn; $t_{(n-1, 1-\alpha=0,99)} = 3,143$ và SD_s: Độ lệch chuẩn của các mẫu chuẩn được đo lặp lại nhiều lần.

Khoảng tuyến tính (LOL) được tính từ LOQ đến nồng độ lớn nhất sao cho phương trình hồi quy tuyến tính $A = f(C)$ có hệ số tương quan hồi quy (Coefficient of correlation) $R^2 \geq 0,99$.

c. Thiết lập đường chuẩn và xác định độ đúng, độ chính xác của phương pháp

Dựa vào kết quả khảo sát sơ bộ hàm lượng polyphenol trong mẫu và khoảng tuyến tính của phương pháp để thiết lập đường chuẩn với khoảng nồng độ gallic acid phù hợp. Độ đúng của phương pháp phân tích được đánh giá bằng cách áp dụng phương pháp phân tích đã hiệu chỉnh để phân tích polyphenol trong dịch chiết quả và củ hành tằm có và không có bổ sung lượng gallic acid đã biết, đảm bảo độ hấp thụ của cả mẫu thêm chuẩn và không thêm đều thuộc khoảng tuyến tính xác định. Độ đúng được đánh giá thông qua hiệu suất thu hồi gallic acid (công thức (2)) và phương pháp được xem là đạt yêu cầu về độ đúng nếu hiệu suất thu hồi trong khoảng từ 85% đến 115% [21, 22].

$$H(\%) = \frac{m_{m+c} - m_m}{m_c} \times 100 \quad (2)$$

Với: m_{m+c} là lượng acid gallic (tính bằng mg) có trong mẫu thêm chuẩn

m_m là lượng acid gallic (tính bằng mg) có trong mẫu không thêm chuẩn

m_c là lượng acid gallic (tính bằng mg) thêm vào

Độ chính xác của phương pháp được xác định thông qua xác định độ lặp lại (RSD(%)) của 6 lần phân tích các mẫu dịch chiết và mẫu chuẩn có nồng độ khác nhau trong khoảng tuyến tính, độ lệch chuẩn SD và độ lệch chuẩn tương đối RSD(%) được tính theo các công thức (3) [23].

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}; \quad RSD(\%) = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \quad (3)$$

Trong đó: SD: độ lệch chuẩn; n: số lần thí nghiệm; x_i : giá trị tính được của lần thử nghiệm thứ “i”, $\bar{x}$: giá trị trung bình của các lần thử nghiệm và RSD(%): độ lệch chuẩn tương đối.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

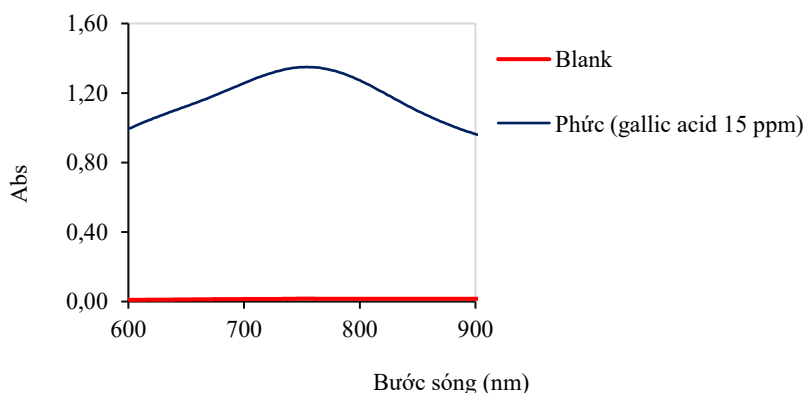
Tất cả các thí nghiệm được bố trí lặp lại 3 lần để đảm bảo tiến hành phân tích ANOVA. Số liệu được phân tích ANOVA bằng phần mềm Microsoft Excel và so sánh sự khác nhau giữa các giá trị trung bình sau phân tích phương sai theo kiểm định Tukey HSD với độ tin cậy 95% trên phần mềm SPSS 16.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến phản ứng giữa thuốc thử Folin-Ciocalteu và chuẩn đối chứng acid gallic

3.1.1. Khảo sát phổ hấp thụ và lựa chọn bước sóng hấp thụ tối ưu

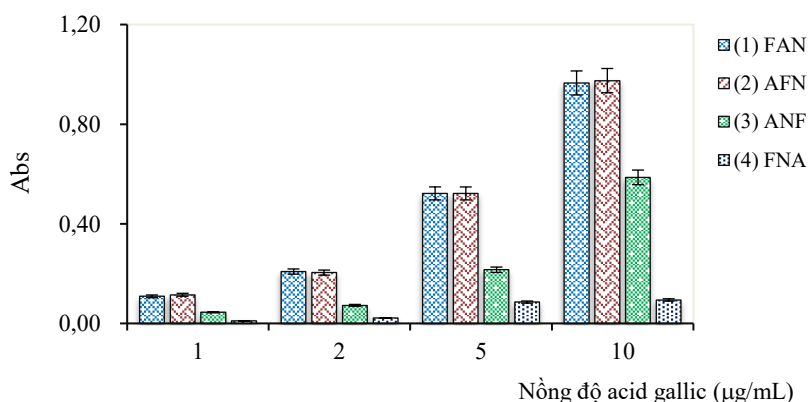
Kết quả so sánh phổ hấp thụ của dung dịch phức màu và dung dịch nền (không chứa gallic acid) trong dải bước sóng 600–900 nm (Hình 3) cho thấy phức màu có đỉnh hấp thụ cực đại tại 754 nm, trong khi dung dịch mẫu trắng hấp thụ không đáng kể ($A = 0,017$). Kết quả này có sự chênh lệch nhỏ so với tiêu chuẩn ISO 14502-1:2005 (đỉnh hấp thụ cực đại 765 nm) [12], sự khác biệt này có thể được giải thích là do sự điều chỉnh tỷ lệ, nồng độ thuốc thử Folin-Ciocalteu và Na_2CO_3 trong nghiên cứu này so với quy trình theo ISO 14502-1:2005.



Hình 3. Phổ hấp thụ của phức màu tạo thành khi acid gallic phản ứng thuốc thử Folin (Gallic acid (15 ppm); Folin 10%, Na_2CO_3 1,2 M; thời gian lên màu 60 phút)

3.1.2. Ảnh hưởng của trình tự phản ứng

Kết quả phân tích ANOVA một yếu tố cho thấy trình tự phản ứng ảnh hưởng đáng kể đến khả năng tạo phức màu, thể hiện qua sự khác biệt về độ hấp thụ (Abs) ($p < 0,05$ và $F > F_{\text{crit}} = 2,606$) [24]. Bên cạnh đó, kết quả so sánh các giá trị trung bình Abs bằng SPSS (Tukey, với khoảng tin cậy 95%) chỉ ra rằng, ở cùng nồng độ gallic acid, không có sự khác biệt đáng kể về độ hấp thụ Abs giữa trình tự AFN và FAN và đều cho độ hấp thụ Abs cao hơn đáng kể so với hai trình tự còn lại (Hình 4). Xét cùng trình tự phản ứng, hệ số tương quan R^2 của dãy gồm 4 nồng độ acid gallic tăng dần (1, 2, 5, 10 $\mu\text{g/mL}$) thu được cao ở trường hợp AFN và FAN (lần lượt 0,9994 và 0,9992). Kết quả nghiên cứu cho thấy Na_2CO_3 được thêm ngay sau khi chuẩn acid gallic hay thuốc thử Folin sẽ ảnh hưởng đến tính chất của acid gallic và thuốc thử, nên ảnh hưởng đến phản ứng tạo phức sau đó. Kết quả nghiên cứu phù hợp với các nghiên cứu khác, trong đó, trình tự phản ứng gallic acid - Folin - Na_2CO_3 (AFN), tương ứng với trình tự được quy định trong tiêu chuẩn ISO 14502-1:2005 [11] cũng phù hợp với nhiều nghiên cứu khác [6, 7, 8, 9]. Ngược lại, trình tự Folin - gallic acid - Na_2CO_3 (FAN) tuân theo quy trình được mô tả trong tiêu chuẩn AOAC 2017.13 [12].

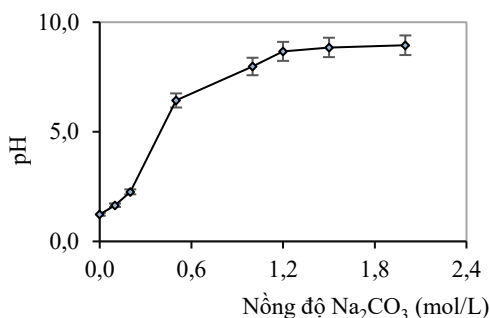


Hình 4. Ảnh hưởng của trình tự phản ứng
(1) Folin-Gallic acid- Na_2CO_3 (FAN); (2) Gallic acid-Folin- Na_2CO_3 (AFN);
(3) Gallic acid- Na_2CO_3 -Folin (ANF); (4) Folin- Na_2CO_3 -Gallic acid (FNA)
(nồng độ gallic acid 1, 2, 5 và 10 $\mu\text{g/mL}$, nồng độ Folin là 5 %, Na_2CO_3 0,36 M)

3.1.3. Ảnh hưởng của nồng độ Na_2CO_3 , pH và nồng độ thuốc thử Folin

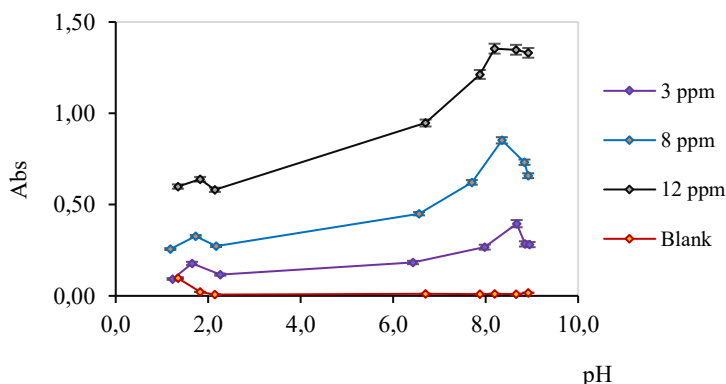
Để khảo sát ảnh hưởng của nồng độ Na_2CO_3 đến phản ứng tạo phức màu, nồng độ thuốc thử Folin-Ciocalteu được giữ cố định ở mức 5% (tương đương 10% nồng độ ban đầu). Do thuốc thử Folin-Ciocalteu có tính acid, việc tăng nồng độ dung dịch Na_2CO_3 sẽ dẫn đến tăng pH của dung dịch phản ứng. Kết quả thực nghiệm (Hình 5) cho thấy pH của dung dịch phản ứng tăng khi tăng nồng độ Na_2CO_3 , nhưng mức độ tăng không đồng đều trong toàn bộ khoảng khảo sát. Ở nồng độ Na_2CO_3 thấp (0–0,5

mol/L), pH tăng nhanh, từ khoảng 1,2 lên 6,4. Đặc biệt, khi nồng độ Na_2CO_3 tăng từ khoảng 0,2 lên 0,5 mol/L, pH tăng mạnh. Khi nồng độ Na_2CO_3 tiếp tục tăng từ 0,5 đến 1,2 mol/L, pH tiếp tục tăng nhưng với mức độ thấp hơn, đạt khoảng 8,7. Từ 1,2 đến 2,0 mol/L, pH gần như ổn định, dao động quanh 8,67–8,95. Kết quả cho thấy nồng độ Na_2CO_3 có ảnh hưởng rõ rệt đến pH của dung dịch phản ứng ở vùng nồng độ thấp, và do đó, có thể ảnh hưởng đến phản ứng tạo phức màu trong khi ở nồng độ từ khoảng 1,2 mol/L trở lên, sự gia tăng Na_2CO_3 không làm pH thay đổi đáng kể.



Hình 5. Ảnh hưởng của nồng độ Na_2CO_3 đến pH dung dịch sau tạo phức

Kết quả phân tích phương sai (ANOVA) cho thấy sự thay đổi pH dung dịch đo, thông qua việc điều chỉnh nồng độ Na_2CO_3 có ảnh hưởng đáng kể đến phản ứng giữa gallic acid với thuốc thử Folin ($F > F_{\text{crit}} = 3,19$, $p_{\text{value}} < 0,05$) [24]. So sánh giá trị trung bình của độ hấp thụ (Abs) bằng kiểm định Tukey với khoảng tin cậy 95% cho thấy, ở cùng nồng độ gallic acid, sự khác biệt về độ hấp thụ giữa các mức pH có ý nghĩa thống kê; cụ thể, độ hấp thụ tăng khi pH tăng, tương ứng với sự gia tăng nồng độ Na_2CO_3 (Hình 6). Trong khoảng pH 8,19–8,67, độ hấp thụ đạt giá trị cao và có mối quan hệ tuyến tính với nồng độ gallic acid, với $R^2 = 0,9958$. Giá trị pH tối ưu của dung dịch phản ứng trong nghiên cứu này thấp hơn so với nghiên cứu của Maria Pérez (pH ≈ 10) [25].



Hình 6. Ảnh hưởng của pH đến độ hấp thụ dung dịch phức màu

Do thuốc thử Folin-Ciocalteu có tính acid, nên ở thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của nồng độ thuốc thử Folin, để duy trì pH của dung dịch đo quang trong khoảng phù hợp (8,19–8,67), nồng độ Na_2CO_3 được điều chỉnh sao cho tỉ lệ mol Na_2CO_3 /Folin trong 5,0 mL dung dịch đo quang luôn ổn định ở mức 3,6. Kết quả đo độ hấp thụ quang tại các nồng độ Folin khác nhau được trình bày trong Bảng 1. Kết quả phân tích phương sai (ANOVA) cho thấy sự thay đổi nồng độ Folin có ảnh hưởng đáng kể ($F > F_{\text{crit}} = 3,4$; $p < 0,05$) [24] đến phản ứng màu giữa gallic acid và thuốc thử Folin trong khoảng pH nghiên cứu. Kiểm định Tukey ($\alpha = 0,05$) cho thấy sự khác biệt về độ hấp thụ quang giữa các mức nồng độ Folin là có ý nghĩa, độ hấp thụ quang tăng dần theo nồng độ Folin và đạt giá trị cực đại khi nồng độ Folin là 0,30 mol/L (tương đương 15%) và Na_2CO_3 là 1,8 mol/L. Điều kiện phản ứng tối ưu thu được trong nghiên cứu này bao gồm tỉ lệ mol Na_2CO_3 /Folin, nồng độ Folin, Na_2CO_3 trong dung dịch đo quang (nồng độ Folin, Na_2CO_3 lần lượt là 0,15 mol/L và 0,54 mol/L) đều cao hơn so với các nghiên cứu đã công bố (Bảng 2).

Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ thuốc thử Folin (trong dung dịch thuốc thử ban đầu)

Nồng độ dung dịch thuốc thử ban đầu Folin và Na ₂ CO ₃ (mol/L)	Nồng độ gallic acid (µg/mL)			Hệ số tương quan tuyến tính (R ²)
	3	6	12	
0,02-0,12	0,221 ^a ±0,001	0,362 ^a ±0,001	0,775 ^a ±0,008	0,9928
0,10-0,6	0,285 ^b ±0,008	0,507 ^b ±0,001	0,957 ^b ±0,002	0,9974
0,20-1,2	0,320 ^c ±0,003	0,645 ^c ±0,009	1,191 ^c ±0,009	0,9980
0,30-1,8	0,354 ^d ±0,005	0,680 ^d ±0,003	1,323 ^d ±0,003	0,9996

a, b, c, d, e trong cùng cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%

Bảng 2. So sánh nồng độ thuốc thử, Na₂CO₃, pH (trong dung dịch nghiên cứu)

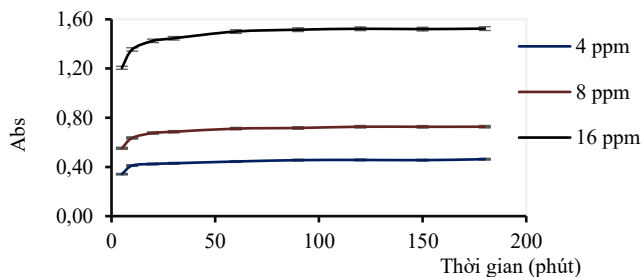
STT	Tỷ lệ mol Na ₂ CO ₃ /Folin	Nồng độ Na ₂ CO ₃ (mol/L)	Nồng độ Folin (mol/L)	pH
Trong nghiên cứu	3,6	0,36±0,54	0,10±0,15	8,19÷8,67
AOAC 2017.13 [12]	2,8	0,28	0,10	
ISO 14502-1:2005 [11]	0,3	0,03	0,10	
Petra Matic và cộng sự [2]	2,8	0,28	0,10	

Tuy nhiên, kết quả ở Bảng 1 cho thấy hệ Folin 0,20 mol/L–Na₂CO₃ 1,2 mol/L cũng cho độ hấp thụ cao và mối quan hệ tuyến tính tốt với nồng độ gallic acid (R² = 0,9980), trong khi lượng thuốc thử sử dụng thấp hơn so với hệ 0,30 mol/L–1,8 mol/L (R² = 0,9996). Do đó, xét đồng thời khả năng tạo phức màu, độ tuyến tính và yêu cầu tiết kiệm lượng thuốc thử, nồng độ Folin 0,20 mol/L và Na₂CO₃ 1,2 mol/L được lựa chọn làm điều kiện khảo sát tiếp theo.

Khi quy đổi theo thể tích thuốc thử sử dụng trong 5,0 mL dung dịch đo quang, nồng độ thực tế của Folin và Na₂CO₃ lần lượt nằm trong khoảng 0,10–0,15 mol/L và 0,36–0,54 mol/L, với tỉ lệ mol Na₂CO₃/Folin được duy trì ở mức 3,6 (Bảng 2). So với các quy trình đã công bố, điều kiện khảo sát trong nghiên cứu này có tỉ lệ Na₂CO₃/Folin và nồng độ các thuốc thử trong dung dịch đo quang khác nhau, đồng thời duy trì pH trong khoảng 8,19–8,67.

3.1.4. Thời gian phản ứng và bền màu của phức

Kết quả khảo sát cho thấy ở điều kiện thực nghiệm (nhiệt độ phòng, 30 °C), phản ứng tạo phức màu giữa gallic acid và thuốc thử Folin hoàn thành và ổn định sau 60 phút. Đồ thị biểu diễn biến thiên độ hấp thụ Abs theo thời gian (Hình 7) không ghi nhận sự thay đổi đáng kể về cường độ hấp thụ trong khoảng thời gian từ 60 đến 180 phút, chứng tỏ phức tạo thành tương đối bền màu trong khoảng thời gian nghiên cứu. Kết quả này tương đồng với quy trình theo ISO 14502-1:2005 [11] (ổn định ở nhiệt độ phòng trong 60 phút), nhưng khác biệt so với Petra Matic và cộng sự [2] và AOAC 2017.13 [12] trong đó phản ứng được thực hiện ở nhiệt độ 40 °C, thời gian 30 phút.



Hình 7. Thời gian phản ứng và bền màu

3.1.5. Nhận xét và đề xuất quy trình tạo phức màu tối ưu

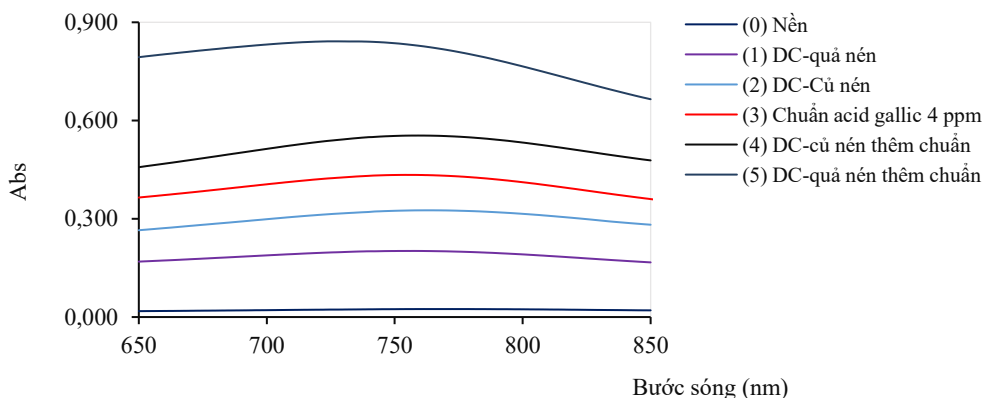
Dựa vào kết quả nghiên cứu, quy trình tạo phức màu giữa acid gallic và thuốc thử Folin được đề xuất gồm các bước theo trình tự như sau: 1,0 mL dung dịch chuẩn gallic acid (hoặc 1,0 mL dịch chiết đã pha loãng phù hợp) được cho vào ống nghiệm, thêm 2,5 mL thuốc thử Folin 10% (nồng độ 0,20

mol/L), lắc nhẹ, thêm tiếp 1,5 mL dung dịch Na_2CO_3 1,2 mol/L, lắc đều và để ổn định trong vòng 60 phút ở nhiệt độ phòng, đo Abs ở 754 nm trong khoảng thời gian từ 60-180 phút.

3.2. Kết quả thẩm định phương pháp

3.2.1. Tính đặc hiệu của phương pháp

Tính đặc hiệu của phương pháp Folin-Ciocalteu trong việc xác định tổng hàm lượng polyphenol đã được đánh giá thông qua việc so sánh phổ hấp thụ UV-Vis của phức chất tạo thành giữa thuốc thử Folin (theo quy trình 3.1.5) với các dung dịch sau: dung dịch nền, dung dịch chuẩn gallic acid, dịch chiết từ quả và củ hành tằm, dịch chiết từ quả và củ hành tằm có bổ sung chuẩn gallic acid. Kết quả phổ hấp thụ ở Hình 8 cho thấy phổ hấp thụ của dung môi và thuốc thử Folin không có cực đại hấp thụ trong khoảng bước sóng khảo sát và độ hấp thụ ở 754 nm là không đáng kể. Ngược lại, khi có mặt gallic acid và các hợp chất polyphenol trong dung dịch chuẩn, dịch chiết hoặc dịch chiết thêm chuẩn, phổ hấp thụ của dung dịch tạo thành có cực đại hấp thụ tại bước sóng 754 nm, đặc trưng cho sự hình thành phức màu giữa polyphenol và thuốc thử Folin. Sự trùng khớp cao giữa các phổ hấp thụ của các mẫu khác nhau chứng tỏ rằng phương pháp Folin-Ciocalteu có thể được sử dụng để định lượng chính xác tổng hàm lượng polyphenol trong dịch chiết từ quả và củ hành tằm với chất đối chứng gallic acid.



Hình 8. Phổ hấp thụ khảo sát tính đặc hiệu của phương pháp

3.2.2. Xác định MDL, LOD, LOQ và khoảng tuyến tính của phương pháp

Kết quả khảo sát MDL, LOQ và khoảng tuyến tính của phương pháp (LOL) được xác định theo quy trình trình bày tại mục 2.3.3.2(b) của báo cáo; kết quả này được đối chiếu với LOD và LOQ tính theo Petra Matic và cộng sự [2] (Bảng 3). So với phương pháp trong nghiên cứu của Petra Matic và cộng sự [2], quy trình đề xuất có giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng cao hơn, đồng nghĩa với độ nhạy thấp hơn. Đồng thời, phương pháp còn có khoảng tuyến tính rộng, phù hợp để xác định hàm lượng polyphenol trong các mẫu thực vật có hàm lượng polyphenol cao, đồng thời hạn chế sai số phát sinh do quá trình pha loãng mẫu.

Bảng 3. Kết quả khảo sát MDL, LOD, LOQ và LOL (mg/L)

STT	MDL (US.EPA)*	LOD [2]**	LOQ (US.EPA)*	LOQ [2]**	LOL
Trong nghiên cứu	0,049	0,051	0,155	0,155	0,2-20
Petra Matic và cộng sự [2]		0,0179		0,0544	0,01-5,0

*MDL tính theo công thức (1) với $n = 7$ và $t_{n-1, 0,99} = 3,143$; **LOD tính theo Petra Matic và cộng sự [2]

3.2.3. Kết quả xây dựng đường chuẩn và xác định độ đúng, độ chính xác của phương pháp

Để định lượng polyphenol trong quả và củ hành tằm, đường chuẩn với chất chuẩn đối chứng là gallic acid được thiết lập với nồng độ nằm trong khoảng 0,5-10,0 $\mu\text{g/mL}$. Kết quả khảo sát thu được đường chuẩn gallic acid là $A = 0,1021x + 0,0103$, $R^2 = 0,9992$ (với x là hàm lượng gallic acid (mgGAE/mL)), đạt yêu cầu sử dụng để xác định polyphenol tổng trong củ và quả hành tằm.

Kết quả phân tích độ đúng (hiệu suất thu hồi, %H) và độ chính xác (độ lệch chuẩn tương đối, %RSD) trên mẫu dung dịch gallic acid chuẩn và mẫu dịch chiết thêm chuẩn (Bảng 4) cho thấy phương pháp phân tích đề xuất có độ tin cậy cao. Cụ thể, %RSD của tất cả các lần thử đều nhỏ hơn giới hạn chấp nhận được ($<5,3\%$), và hiệu suất thu hồi trung bình đều nằm trong khoảng giới hạn cho phép (80-110%) [26].

Bảng 4. Kết quả khảo sát độ lặp và độ đúng

	Chuẩn acid gallic			Dịch chiết củ hành tằm thêm chuẩn	Dịch chiết quả hành tằm thêm chuẩn
	Nước	Ethanol 50 %	Methanol 50 %		
m-acid gallic (lý thuyết)	150 mg				
m (mg) acid gallic (thực tế)	139,96±1,91 ^a	147,94±1,85 ^b	147,36±1,99 ^b	146,55±2,74	141,20±2,67
(%) H	93,3±1,3 ^a	98,6±1,2 ^b	98,2±1,3 ^b	97,70±1,8	94,1±1,8
(%) RSD	1.37	1.25	1.35	1.87	1.89

a, b, c, d, e trong cùng hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%

Nghiên cứu cũng cho thấy dung môi hoà tan có ảnh hưởng đáng kể đến kết quả phân tích, theo kiểm định Tukey ($\alpha = 0,05$), không có sự khác biệt về hiệu suất thu hồi gallic acid giữa methanol và ethanol, nhưng cả hai dung môi này đều cho hiệu suất thu hồi khác biệt có ý nghĩa thống kê và cao hơn so với dung môi nước. Điều này có thể giải thích do phenolic là hợp chất có độ phân cực thấp nên có độ hòa tan trong methanol và ethanol cao hơn so với nước, kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Gustavo Araujo Pereira và cộng sự [27].

3.3. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của dung môi và phương pháp chiết xuất đến quy trình phân tích hàm lượng polyphenol trong quả và củ hành tằm

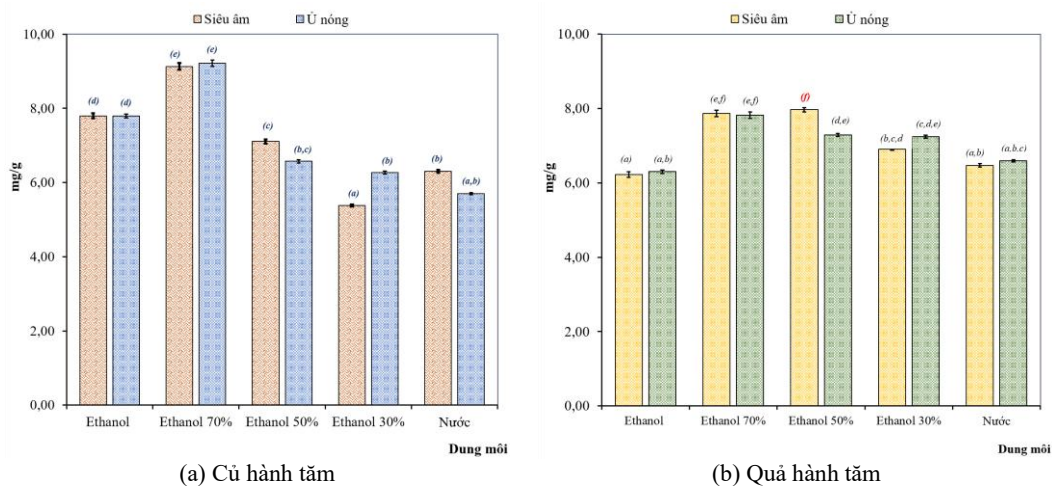
Để chiết xuất polyphenol trong thực vật và thực phẩm, nhiều dung môi có tính phân cực thường được sử dụng như: theo TCVN 9745-1:2013 (ISO 14502-1:2005), polyphenol trong chè xanh được chiết bằng methanol 70% (v/v) ở nhiệt độ 70 °C (nồi cách thuỷ) [10]; theo AOAC 2017.13, mẫu rượu vang và nước ép quả việt quất được hoà tan tỷ lệ (1:1) với nước [12]; polyphenol trong các mẫu củ quả theo nghiên cứu của Gustavo Araujo Pereira và cộng sự được chiết xuất bằng ethanol 50% với hỗ trợ của siêu âm ở tốc độ 11000 vòng/phút trong 30 giây [27]. Đối với các cây cùng họ với cây hành tằm, các nghiên cứu cũng sử dụng hỗn hợp dung môi gồm nước và ethanol với nồng độ ethanol 48,46% (v/v) [28] và 80% (v/v) [9] để chiết xuất polyphenol từ hoa và từ củ một số cây họ hành.

Trong nghiên cứu này, dung môi dùng chiết xuất polyphenol từ hoa và quả hành tằm là ethanol, ethanol 70%, 50%, 30% và nước, phương pháp chiết xuất bao gồm ngâm kết hợp nhiệt độ (70 °C) và sử dụng bể siêu âm ở nhiệt độ 30 °C, tỷ lệ chiết dung môi/nguyên liệu là (50:1), số lần chiết 3 lần. Kết quả khảo sát được đối sánh với quy trình chiết xuất polyphenol bằng methanol 70% theo TCVN 9745-1:2013 (ISO 14502-1:2005).

Kết quả phân tích phương sai (ANOVA) 2 biến cho thấy có sự tương tác đáng kể giữa phương pháp và dung môi chiết xuất đối với hàm lượng polyphenol trong củ và quả hành tằm ($F = 10,07$ và $4,15$ cho củ và quả, lần lượt lớn hơn $F_{crit} = 2,87$). Kết quả phân tích ANOVA cũng cho thấy phương pháp chiết xuất trong cả 2 trường hợp đều không ảnh hưởng đến kết quả phân tích polyphenol ($p > 0,05$, $F < F_{crit} = 4,35$) và dung môi chiết xuất có ảnh hưởng rất lớn đến kết quả phân tích polyphenol ($p < 0,05$, $F > F_{crit} = 2,87$). Ngoài ra, kiểm định Tukey ($\alpha = 0,05$) cho thấy hàm lượng polyphenol đạt giá trị cực đại khi sử dụng dung môi ethanol 70% cho củ và 50-70% cho quả, kết hợp với các điều kiện chiết xuất siêu âm ở 30 °C trong 30 phút hoặc ngâm trong bể ổn nhiệt ở 70 °C trong 30 phút. Điều này cho thấy phương pháp siêu âm ở nhiệt độ thấp có hiệu quả tương đương với phương pháp ngâm trong bể ổn nhiệt ở nhiệt độ cao đối với việc chiết xuất polyphenol.

Kết quả nghiên cứu cho thấy dung môi và điều kiện chiết tối ưu trong nghiên cứu có hiệu quả chiết xuất polyphenol cao hơn so với methanol 70% theo tiêu chuẩn TCVN 9745-1:2013 (ISO 14502-1:2005) [10], cụ thể là $9,21 \pm 0,29$ mg/g so với $6,24 \pm 0,21$ mg/g đối với củ hành tằm, và tương đương đối với quả hành tằm ($7,97 \pm 0,26$ mg/g so với $7,85 \pm 0,26$ mg/g). Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Gustavo Araujo Pereira và cộng sự [29]. Phenolic là các hợp chất có độ phân cực thấp và do đó, có độ hòa tan cao trong methanol và ethanol. Từ các kết quả trên, ethanol có thể được sử dụng thay

thể cho methanol trong quy trình chiết xuất và phân tích TP bằng phương pháp Folin-Ciocalteu, việc sử dụng ethanol trong quy trình đề xuất làm giảm tác động đến môi trường, an toàn hơn so với quy trình theo TCVN 9745-1:2013 (ISO 14502-1:2005) [10].



a, b, c, d, e thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%
 Hình 9. Kết quả khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quy trình chiết xuất polyphenol

Kết quả so sánh hàm lượng TP trong củ và quả hành tằm ở Quảng Trị theo quy trình chiết xuất và phân tích của nghiên cứu cho thấy hàm lượng TP lần lượt đạt $9,21 \pm 0,29$ mg/g chất khô và $7,97 \pm 0,26$ mg/g chất khô. Các giá trị này cao hơn so với hàm lượng TP trong cây hành tằm (*Allium schoenoprasum* L.) được Marianna Lenková và cộng sự công bố ($1591 \pm 10,89$ mg/kg) [9]. Khi quy đổi về cùng đơn vị, hàm lượng TP trong nghiên cứu tương ứng là 9210 ± 290 mg/kg chất khô đối với củ và 7970 ± 260 mg/kg chất khô đối với quả, đều cao hơn giá trị $1591 \pm 10,89$ mg/kg được công bố [9]. So với củ tỏi ở Hải Dương, sử dụng quy trình chiết xuất tương tự với dung môi ethanol 70%, hàm lượng TP trong củ tỏi đạt $5,363 \pm 0,017$ mgGAE/g chất khô, thấp hơn so với hàm lượng TP trong củ ($9,21 \pm 0,29$ mg/g chất khô) và quả (hạt) ($7,97 \pm 0,26$ mg/g chất khô) hành tằm trong nghiên cứu này [16].

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã khảo sát và đề xuất quy trình định lượng polyphenol toàn phần trong quả và củ hành tằm bằng phương pháp quang phổ UV-Vis với thuốc thử Folin-Ciocalteu, với các điều kiện tối ưu gồm bước sóng, trình tự phản ứng, pH, nồng độ Na_2CO_3 , nồng độ thuốc thử Folin và thời gian phản ứng. Quy trình tạo phức màu giữa chất đối chứng acid gallic và thuốc thử Folin-Ciocalteu được thực hiện theo trình tự như sau: thêm 1,0 mL dung dịch chuẩn acid gallic (hoặc dịch chiết đã pha loãng phù hợp), tiếp theo thêm 2,5 mL thuốc thử Folin 10% (0,20 mol/L), lắc nhẹ, sau đó thêm 1,5 mL dung dịch Na_2CO_3 1,2 mol/L, lắc đều và để ổn định trong 60 phút ở nhiệt độ phòng; đo độ hấp thụ (Abs) tại 754 nm trong khoảng thời gian từ 60–180 phút. Phương pháp đề xuất có độ chính xác và độ lặp lại cao, phù hợp phân tích các mẫu thực vật giàu polyphenol. Nghiên cứu cũng đã xác định điều kiện chiết xuất và phân tích hàm lượng polyphenol trong củ và quả hành tằm. Kết quả cho thấy hàm lượng polyphenol trong củ cao hơn so với quả, lần lượt đạt $9,21 \pm 0,29$ mg/g chất khô (tương đương $2,48 \pm 0,08$ mg/g củ tươi) và $7,97 \pm 0,26$ mg/g chất khô (tương đương $2,38 \pm 0,08$ mg/g quả tươi).

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này do Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh bảo trợ và cấp kinh phí theo Hợp đồng số 93/HĐ-DCT ngày 15 tháng 8 năm 2023.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] R. K. Singla, A. K. Dubey, A. Garg, R. K. Sharma, M. Fiorino, S. M. Ameen, M. A. Haddad, and M. Al-Hiary-Natural, “Natural polyphenols: Chemical classification, definition of classes,

- subcategories, and structures,” *Journal of AOAC International*, vol. 102, no. 5, pp. 1397–1400, 2019. <https://doi.org/10.1093/jaoac/102.5.1397>
- [2] P. Matić, M. Sabljčić, and L. Jakobek, “Validation of spectrophotometric methods for the determination of total polyphenol and total flavonoid content,” *Journal of AOAC International*, vol. 100, no. 6, pp. 1795–1803, 2017. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0066>
- [3] S. Suwal and A. Marciniak, “Technologies for the extraction, separation and purification of polyphenols – A review,” *Nepal Journal of Biotechnology*, vol. 6, no. 1, pp. 74–91, 2018. <https://doi.org/10.3126/njb.v6i1.22341>
- [4] R. Uddin, M. R. Saha, N. Subhan, H. Hossain, I. A. Jahan, R. Akter, and A. Alam, “HPLC-analysis of polyphenolic compounds in *Gardenia jasminoides* and determination of antioxidant activity by using free radical scavenging assays,” *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, vol. 4, no. 3, pp. 273–281, 2014. <https://doi.org/10.5681/apb.2014.040>
- [5] N. Dürüst, Y. Dürüst, N. İkinci, S. Banko, E. Z. Hoşgün, and B. Bozan, “HPLC determination of polyphenols of the flowers of *Digitalis lamarckii*, *Xeranthemum annuum*, *Epilobium hirsutum* and *Silene compacta* from Bolu (Turkey),” *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 17, no. 5, pp. 164–179, 2023. <https://doi.org/10.5897/JMPR2022.7282>
- [6] A. Blainski, G. C. Lopes, and J. C. P. de Mello, “Application and analysis of the Folin-Ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L.,” *Molecules*, vol. 18, no. 6, pp. 6852–6865, 2013. <https://doi.org/10.3390/molecules18066852>
- [7] N. C. Nguyễn, N. T. Thảo, P. N. Q. Dinh, V. T. M. Châu, and H. N. T. Dung, “Xác định hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết từ lá chanh (chi cam chanh – *Citrus*),” *Tạp chí Nghiên cứu khoa học và Phát triển kinh tế Trường Đại học Tây Đô*, no. 12, pp. 238–251, 2021
- [8] P. T. N. Mai, L. T. Bình, P. H. Đông, N. T. T. Nhung, P. T. Đức, và N. T. Á. Hường, “Xác định hàm lượng polyphenol và EGCG trong chè và sản phẩm chè bằng phương pháp UV-Vis và HPLC,” *Tạp chí Kiểm nghiệm và An toàn thực phẩm*, vol. 1, no. 1, pp. 8–12, 2018. <https://doi.org/10.47866/2615-9252/vjfc.692>
- [9] M. Lenková, J. Bystrická, T. Tóth, and M. Hrstková, “Evaluation and comparison of the content of total polyphenols and antioxidant activity of selected species of the genus *Allium*,” *Journal of Central European Agriculture*, vol. 17, no. 4, pp. 1119–1133, 2016. <https://doi.org/10.5513/JCEA01/17.4.1820>
- [10] TCVN 9745-1:2013 (ISO 14502-1:2005), *Chè – Xác định các chất đặc trưng của chè xanh và chè đen – Phần 1: Hàm lượng polyphenol tổng số trong chè – Phương pháp đo màu dùng thuốc thử Folin-Ciocalteu*, 2013.
- [11] ISO 14502-1:2005, *Determination of substances characteristic of green and black tea – Part 1: Content of total polyphenols in tea – Colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent*, 2005.
- [12] AOAC International, *AOAC Official Method 2017.13: Total Phenolic Content in Extracts, Folin-C (Folin and Ciocalteu) Colorimetric Method*, 2017.
- [13] V. Singh, G. Chauhan, P. Krishan, and R. Shri, “*Allium schoenoprasum* L.: A review of phytochemistry, pharmacology and future directions,” *Natural Product Research*, vol. 32, no. 18, pp. 2202–2216, 2018. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1367783>
- [14] V. Singh, G. Chauhan, P. Krishan, and R. Shri, “*Allium schoenoprasum* L.: A review of phytochemistry, pharmacology and future directions,” *Natural Product Research*, vol. 32, no. 18, pp. 2202–2216, 2018. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1367783>
- [15] N. V. Tuấn, N. V. Thành, D. N. Phước, N. T. Tâm, N. N. Truyền, T. C. Úy, and C. T. Thuyết, “Đặc điểm sản xuất và chuỗi giá trị sản phẩm cây hành tằm (*Allium schoenoprasum* L.) ở vùng cát tỉnh Thừa Thiên Huế,” *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, vol. 128, no. 3A, pp. 107–119, 2019. <https://doi.org/10.26459/hueuni-jard.v128i3A.5008>
- [16] H. K. Toàn, T. Sáu, T. Đ. Hòa, T. T. T. Giang, and N. Đ. Thi, “Đánh giá thực trạng sản xuất hành tằm (*Allium schoenoprasum*) trên các vùng đất cát ven biển từ năm 2010 đến 2014 tại

- Quảng Trị,” *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, vol. 126, no. 3C, pp. 123–133, 2017. <https://doi.org/10.26459/hueuni-jard.v126i3C.3958>
- [17] L. Q. Vinh, N. N. L. Nhi, H. P. Q. Như, and N. T. T. Huyền, “Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly polyphenol và flavonoid từ cần tây, cần ta và tỏi tươi,” *Tạp chí Công Thương*, vol. 15, pp. 162–167, 2022.
- [18] N. T. Y. Phương and H. N. D. Bảo, “Nghiên cứu chiết xuất hoạt chất chống oxy hóa từ củ tỏi (*Allium sativum* L.) theo cách tiếp cận công nghệ xanh,” *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, vol. 56, no. 1B, pp. 124–135, 2020. <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2020.013>
- [19] F. de S. Barbosa, V. C. Rodrigues, N. M. Volpato, E. E. S. Schapoval, M. Steppe, C. V. Garcia, and A. S. L. Mendez, “UV spectrophotometric method for quantitative determination of Agomelatine in coated tablets,” *Drug Analytical Research*, vol. 1, no. 2, pp. 24–29, 2017. <https://doi.org/10.22456/2527-2616.79219>
- [20] U.S. Environmental Protection Agency, *Definition and Procedure for the Determination of the Method Detection Limit, Revision 2*, EPA 821-R-16-006, 2016.
- [21] L. Vaclavik, F. Benes, M. Fenclova, J. Hricko, A. Krmela, V. Svobodova, J. Hajslova, and K. Mastovska, “Quantitation of cannabinoids in cannabis dried plant materials, concentrates, and oils using liquid chromatography–diode array detection technique with optional mass spectrometric detection: Single-laboratory validation study, First Action 2018.11,” *Journal of AOAC International*, vol. 102, no. 6, pp. 1822–1833, 2019. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0426>
- [22] AOAC International, *AOAC Official Methods of Analysis, Appendix K: Guidelines for Single-Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals*, 2013, pp. 8–9.
- [23] T. C. Sơn, *Thẩm định phương pháp phân tích trong hóa học và vi sinh vật*. Hà Nội, Việt Nam: NXB Khoa học và Kỹ thuật, 2010, pp. 23–36.
- [24] AOAC International, *AOAC Official Methods of Analysis, Appendix K: Guidelines for Single-Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals*, 2013, p. 9.
- [25] Đ. T. Hiệp, N. X. Hoàn, and N. T. Khanh, *Các phương pháp thống kê ứng dụng trong hóa học, môi trường và thực phẩm*. Hà Nội, Việt Nam: NXB Khoa học và Kỹ thuật, 2020, pp. 115–152.
- [26] M. Pérez, I. Dominguez-López, and M. Lamuela-Raventós, “The chemistry behind the Folin–Ciocalteu method for the estimation of (poly)phenol content in food: Total phenolic intake in a Mediterranean dietary pattern,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 71, no. 46, pp. 17543–17553, 2023. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c04022>
- [27] AOAC International, *Official Methods of Analysis, Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements*, 2016.
- [28] G. A. Pereira, H. S. Arruda, and G. M. Pastore, “Modification and validation of Folin–Ciocalteu assay for faster and safer analysis of total phenolic content in food samples,” *Brazilian Journal of Food Research*, vol. 9, no. 1, pp. 12–14, 2018. <https://doi.org/10.3895/rebrapa.v9n1.6062>
- [29] G. Janarny, K. D. P. P. Gunathilake, and K. K. D. S. Ranaweera, “Optimizing the extraction of phenolic compounds from edible flowers of onion (*Allium cepa*) using response surface methodology,” *Ceylon Journal of Science*, vol. 51, no. 4, pp. 437–447, 2022. <https://doi.org/10.4038/cjs.v51i4.8061>

ABSTRACT

QUANTIFICATION OF TOTAL POLYPHENOL CONTENT IN FRUITS AND BULBS OF *Allium schoenoprasum* L. USING UV-VIS SPECTROSCOPY WITH FOLIN-CIOCALTEU REAGENT

Tran Nguyen An Sa^{1,2*}, An Phan Ngoc Quynh², Ta Thi Hong Nhung²,
Le Pham Thanh Tung², Vo Le Nhu Quynh², Nguyen Kim Thinh², Nguyen Thu Trang²
¹Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology
²Ho Chi Minh City University of Industry and Trade
*Email: satna@huit.edu.vn

This study was conducted to develop a UV-Vis spectrophotometric method using the Folin-Ciocalteu reagent for the rapid and accurate quantification of total polyphenol content in the fruits and bulbs of *Allium schoenoprasum* L. The optimal conditions for the complexation reaction were determined, including a pH range of 8.67–8.95 and a molar ratio of Na₂CO₃/Folin of 3.6, corresponding to an initial Folin reagent concentration of 0.20 mol/L (10% Folin reagent) and a Na₂CO₃ concentration of 1.2 mol/L, with a reaction time of 2 h at room temperature. The proposed method demonstrated high sensitivity, with MDL_S (US.EPA) = 0.049 mg/L; LOD (AOAC) = 0.051 mg/L, LOQ = 0.155 mg/L, and exhibited a wide linear range (LOL) of 0.2–20 mg/L, making it suitable for determining polyphenol content in plant samples with high polyphenol concentrations while reducing errors associated with sample dilution. The study also established the conditions for polyphenol extraction from the fruits and bulbs of *Allium schoenoprasum* L., using 70% ethanol for the bulbs and 50–70% ethanol for the fruits. Extraction was performed using ultrasonic treatment at 30 °C for 30 min or immersion in a thermostatic bath at 70 °C for 30 min. The results revealed that the polyphenol content in the bulbs of *Allium schoenoprasum* L. was higher than that in the fruits, at 9.21 ± 0.29 mg/g dry weight (or 2.48 ± 0.08 mg/g fresh bulb), compared with 7.97 ± 0.26 mg/g dry weight (or 2.38 ± 0.08 mg/g fresh fruit), respectively.

Keywords: Polyphenol, Folin-Ciocalteu, chives, *Allium schoenoprasum* L., UV-Vis.