

DEVELOPING THE METHOD FOR SIMULTANEOUS DETERMINATION OF CROCIN I, PICROCROCIN AND SAFRANAL IN STIGMAS OF CROCUS SATIVUS L.

PHAM HOANG ANH^{1,✉}, LE HOANG THUONG THUONG¹, HA BA TIEN², TRUONG QUOC KY¹

¹ Faculty of Pharmacy, Pham Ngoc Thach University of Medicine, Ho Chi Minh City

² General Hospital of Phu Tho Province, Viet Tri city, Phu Tho province

✉ anhph@pnt.edu.vn

Received August 24th, 2024

Accepted October 30th, 2024

Abstract: Stigmas of *Crocus sativus* L. (Iridaceae), also known as saffron, is a very famous spice in the world and has many biological effects. Crocin I, picrocrocin and safranal are the main compounds that determine the quality and value of saffron. The aim of the research developed the method to determine the amount of crocin I, picrocrocin, and safranal in saffron using high performance liquid chromatography (HPLC) with PDA detector. The results showed extraction conditions, also HPLC conditions to quantify three markers. The method was validated about the specificity, precision, accuracy, linear range of picrocrocin, crocin I, safranal respectively was 125 - 350 µg/ml; 250 - 600 µg/ml; 0,5 - 2,0 µg/ml.

Keywords: saffron, *Crocus sativus* L., picrocrocin, crocin I, safranal, HPLC.

XÂY DỰNG QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG THỜI CROCIN I, PICROCROCIN VÀ SAFRANAL TRONG NHỤY HOA CÂY NGHỆ TÂY (CROCUS SATIVUS L.)

PHẠM HOÀNG ANH^{1,✉}, LÊ HOÀNG THƯƠNG THƯƠNG¹, HÀ BÁ TIẾN², TRƯƠNG QUỐC KỲ¹

¹ Khoa Dược, Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch, Thành phố Hồ Chí Minh

² Bệnh viện đa khoa tỉnh Phú Thọ, Thành phố Việt Trì, Phú Thọ

✉ anhph@pnt.edu.vn

Nhận bài ngày 24 tháng 8 năm 2024

Chấp nhận đăng ngày 30 tháng 10 năm 2024

Tóm tắt: Stigmas of *Crocus sativus* L. (Iridaceae), còn gọi là Nghệ tây, là một loại gia vị rất nổi tiếng trên thế giới và có nhiều tác dụng sinh học. Crocin I, picrocrocin và safranal là những hợp chất chính quyết định chất lượng và giá trị của Nghệ tây. Mục tiêu của nghiên cứu là xây dựng phương pháp xác định hàm lượng crocin I, picrocrocin và safranal trong nghệ tây bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp (HPLC) với đầu dò PDA. Kết quả tìm được điều kiện chiết xuất, cũng như điều kiện HPLC để định lượng ba chất đánh dấu. Phương pháp đã được xác nhận về độ đặc hiệu, độ chính xác, độ đúng, khoảng tuyến tính của picrocrocin, crocin I, safranal với các giá trị lần lượt là 125 - 350 µg/ml; 250 - 600 µg/ml; 0,5 - 2,0 µg/ml.

Từ khóa: Nhụy hoa Nghệ tây, *Crocus sativus* L., picrocrocin, crocin I, safranal, HPLC

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhụy hoa cây nghệ tây (*Crocus sativus* L., Iridaceae) hay còn được gọi là saffron, là một loại dược liệu có nhiều công dụng và là một gia vị rất nổi tiếng trên thế giới [1]. Saffron đã được sử dụng từ lâu trong y học cổ truyền Ấn Độ nhờ nhiều tác dụng sinh học như chống oxy hóa, chống ho, giảm huyết áp, chống co giật, giảm lo âu, gây độc tế bào, chống ung thư [1]. Trong saffron có crocin I, picrocrocin và safranal là những hợp chất chính, đặc trưng quyết định đến chất lượng, giá trị cũng như tác dụng sinh học của dược liệu này [1] [2]. Màu sắc của saffron chủ yếu là do crocin, là một carotenoid, tạo nên. Saffron có mùi thơm đặc trưng là nhờ safranal. Picrocrocin, glycosid của safranal, là chất tạo nên vị đắng của saffron [1] [2].

Chất lượng saffron rất thay đổi tùy thuộc vào nơi trồng, thu hoạch và bảo quản [2] [3]. Do đó, ngoài các đặc điểm cảm quan như kích thước, màu sắc, cần phải xác định được hàm lượng các chất đặc trưng có trong saffron là crocin I, picrocrocin và safranal để đánh giá chất lượng saffron [3]. Tiêu chuẩn ISO 3632 – 2011 sử dụng phương pháp UV-Vis để định lượng nên chưa thể đánh giá chính xác hàm lượng các chất điểm chỉ này trong saffron. Bên cạnh đó, saffron là một loại dược liệu có giá trị kinh tế cao nên có thể bị gian lận làm giảm chất lượng của dược liệu này [4] [5]. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xây dựng quy trình định lượng đồng thời crocin I, picrocrocin và safranal có trong saffron bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Trên cơ sở đó giúp đánh giá chất lượng dược liệu nhụy hoa nghệ tây (*Crocus sativus* L.) thông qua hàm lượng các chất điểm chỉ này.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu saffron là phần đầu nhụy màu đỏ được thu tại thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam vào tháng 2 năm 2023. Mẫu saffron này được kiểm tra đạt chất lượng theo tiêu chuẩn ISO 3632 - 2010. Các mẫu nghiên cứu được đóng gói trong túi nhựa kín và được bảo quản ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng tại Khoa Dược, Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch.

2.2. Trang thiết bị, chất chuẩn, dung môi

Nghiên cứu được thực hiện trên hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao Alliance e2695XE với đầu dò PDA của hãng Waters – Mỹ đặt tại Khoa Dược, Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch. Cột sắc ký Phenomenex C18 (250 x 4,6 mm x 5 μ m) và tiền cột tương ứng. Các thiết bị phục vụ cho phân tích gồm cân phân tích, máy lọc nước khử ion, bể siêu âm gia nhiệt và dụng cụ thủy tinh.

Các chất chuẩn Crocin I (độ tinh khiết 95,9 %; số lô PRF21080801) và Picrocrocin (độ tinh khiết 96,4 %; số lô PRF21041221) từ nhà cung cấp Chengdu Biopurify Phytochemicals Ltd., Safranal từ nhà cung cấp Toronto Research Chemicals (độ tinh khiết 97,68 %; số lô 1-KOP-140-1). Các dung môi sử dụng gồm methanol, ethanol, acetonitril và nước đạt tiêu chuẩn dùng cho HPLC.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Khảo sát điều kiện sắc ký

Dung dịch chuẩn gốc: các chất chuẩn crocin I, picrocrocin và safranal được hòa tan trong methanol để thu dung dịch chuẩn gốc có nồng độ 1000 μ g/ml.

Dung dịch chuẩn làm việc: các dung dịch chuẩn gốc được pha loãng với dung môi methanol 50 % trong nước đến nồng độ thích hợp, được dùng để xây dựng và thẩm định quy trình phân tích.

Khảo sát điều kiện sắc ký: Khảo sát bước sóng phát hiện crocin I, picrocrocin và safranal từ 200 – 600 nm với các dung dịch chuẩn trên hệ thống sắc ký HPLC đầu dò PDA. Nghiên cứu đánh giá khả năng phân tách crocin I, picrocrocin và safranal với pha tĩnh là cột C18 và các hệ pha động là acetonitril, methanol, nước có hoặc không có acid formic. Sau đó tiếp tục khảo sát thành phần, tỉ lệ, nồng độ, pH cũng như chương trình pha động phân tách tốt các pic mục tiêu và tối ưu dựa trên thông số sắc ký. Yêu cầu của điều kiện sắc ký là pic thành phần cần định lượng phải tinh khiết, tách khỏi các pic khác với thời gian lưu ngắn, hình dạng cân đối. Phân tích so sánh để chọn điều kiện sắc ký thích hợp.

2.3.2. Khảo sát điều kiện chiết xuất

Quy trình chuẩn bị mẫu: cân chính xác 25 mg bột saffron đã nghiền mịn, thêm 10 ml dung môi và ngâm ở nhiệt độ phòng trong 15 phút, lọc vào bình định mức 10 ml và điền dung môi đến vạch thu được dịch chiết. Dịch chiết được lọc qua màng lọc 0.45 μ m trước khi tiêm vào hệ thống sắc ký.

Khảo sát điều kiện chiết xuất: khảo sát các dung môi chiết như nước, ethanol, methanol và hỗn hợp methanol – nước với tỷ lệ thể tích methanol 75 %, 50 %; phương pháp chiết xuất như ngâm, siêu âm, siêu âm gia nhiệt; thời gian chiết từ 15 phút, 30 phút, 60 phút cũng như sự ảnh hưởng của ánh sáng đến hiệu quả chiết thông qua hàm lượng crocin I, picrocrocin và safranal. Lựa chọn điều kiện chiết xuất thu được hàm lượng ba chất crocin I, picrocrocin và safranal cao nhất. Kết quả tốt nhất của mỗi yếu tố sẽ được dùng cho thử nghiệm tiếp theo. Các số liệu kết quả thử nghiệm được biểu thị trung bình qua 3 lần đo khác nhau.

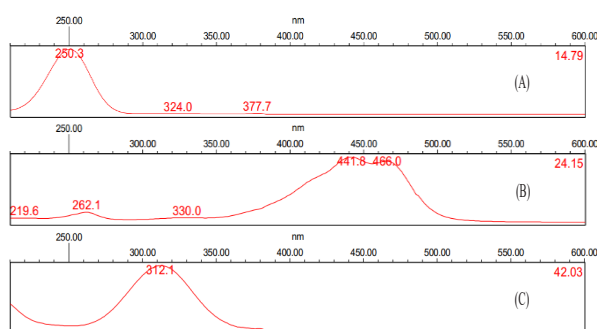
2.3.3. Thẩm định quy trình định lượng

Quy trình định lượng đồng thời crocin I, picrocrocin và safranal trong saffron bằng phương pháp HPLC với đầu dò PDA được thẩm định dựa theo quy định của AOAC International (2016) và ICH – Q2(R1) (2005) bao gồm tính phù hợp hệ thống, độ đặc hiệu, tính tuyến tính, độ đúng, độ chính xác.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Khảo sát điều kiện sắc ký

Kết quả quét phổ hấp thu xác định được bước sóng phát hiện picrocrocin là 250 nm, crocin I là 442 nm và safranal là 312 nm (hình 1). Các bước sóng này được sử dụng trong các thử nghiệm phân tích các chất điểm chỉ trong saffron tiếp theo.



Hình 1. Phổ hấp thu ở vùng bước sóng tử ngoại khả kiến: (A) picrocrocin, (B) crocin I, (C) safranal.

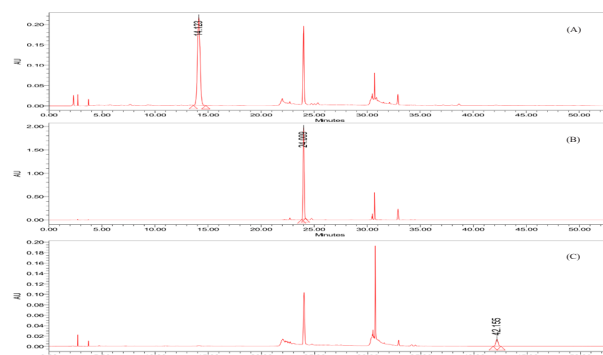
Khảo sát các hệ pha động acetonitril – acid formic 0,1 % trong nước, acetonitril – acid formic 0,05 % trong nước, methanol – acid formic 0,05 % trong nước, methanol – nước với các chương trình pha động khác nhau trên mẫu dung dịch chuẩn và mẫu thử đều thu được kết quả không đạt yêu cầu về thông số tách và độ tinh khiết pic. Trong khi đó, hệ acetonitril – nước cho khả năng tách tốt pic crocin I,

picrocrocin và safranal với các pic tạp, hình dạng pic cân đối, đồng thời các pic này đạt độ tinh khiết nên được lựa chọn để phân tích mẫu.

Điều kiện sắc ký được lựa chọn phân tích sử dụng pha tĩnh là cột Phenomenex C18 (250 x 4,6 mm; 5 μ m) và tiên cột tương ứng ở nhiệt độ 25 °C, thể tích tiêm mẫu 20 μ l. Pha động gồm acetonitril – nước với tốc độ dòng 1,0 ml/phút. Chương trình pha động được thể hiện ở bảng 1 với tổng thời gian phân tích mẫu là 53 phút. Sắc ký đồ của các chất phân tích được thể hiện qua hình 2 và các thông số sắc ký được trình bày trong bảng 2.

Bảng 1. Chương trình pha động

Phút	Acetonitril (%)	Nước (%)
0 – 17	14	86
17 – 26	25	75
26 – 52	53	47
52 – 53	14	86



Hình 2. Sắc ký đồ mẫu hỗn hợp chuẩn : (A) Picrocrocin ở bước sóng phát hiện 250 nm với $t_R = 14,123$ phút; (B) Crocin I ở bước sóng phát hiện 442 nm với $t_R = 24,009$ phút; (C) Safranal ở bước sóng phát hiện 312 nm với $t_R = 42,155$ phút

Bảng 2. Kết quả đáp ứng pic tiêu biểu của 3 chất phân tích trên dung dịch chuẩn hỗn hợp.

Chất phân tích	Thời gian lưu (phút)	Diện tích pic (μ V*giây)	Purity Angel	Purity Threshold	Độ phân giải	Hệ số đối xứng	Số đĩa lý thuyết
Picrocrocin	14,12	3.781.649	0,154	0,303	3,03	1,03	15.100
Crocin I	24,01	14.368.224	0,129	0,849	3,54	1,00	242.000
Safranal	42,16	201.719	0,346	0,480	2,66	0,99	187.000

3.2. Khảo sát điều kiện chiết xuất

Kết quả khảo sát dung môi cho thấy ethanol chiết được picrocrocin, crocin I và safranal ít hơn dung môi methanol. Đối với dung môi nước, hàm lượng picrocrocin mặc dù cao hơn so với dung môi methanol nhưng hàm lượng crocin I và safranal vẫn thấp hơn. Giảm nồng độ methanol trong dung môi chiết từ 100 % đến 50 % thu được lượng crocin I cao hơn nhưng picrocrocin và safranal lại ít hơn. Khi quá trình

chiết có sự hỗ trợ của siêu âm và nhiệt độ, mặc dù lượng picrocrocin và crocin I thu được cao hơn nhưng lại ghi nhận sự giảm hàm lượng safranal rõ rệt. Bên cạnh đó, thời gian chiết kéo dài cũng không nâng cao hàm lượng picrocrocin và safranal. Đặc biệt, quá trình chiết saffron trong điều kiện tránh ánh sáng trực tiếp cho kết quả hàm lượng cả ba chất picrocrocin, crocin I và safranal đều cao hơn so với chiết ở điều kiện ánh sáng thường. Kết quả được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả khảo sát điều kiện chiết xuất định lượng picrocrocin, crocin I và safranal.

	Picrocrocin (mg/g)	Crocin I (mg/g)	Safranal (mg/g)
Khảo sát dung môi (ngâm, 15 phút, ánh sáng thường)			
Ethanol	118,2	61,8	0,456
Nước	196,4	244,7	0,431
Methanol 100 %	194,5	282,7	0,692
Methanol 75 %	191,0	311,4	0,512
Methanol 50 %	182,3	301,7	0,492
Khảo sát phương pháp chiết (methanol 100 %, 15 phút, ánh sáng thường)			
Chiết lạnh	194,5	282,7	0,692
Siêu âm 25 °C	213,1	320,7	0,558
Siêu âm 60 °C	212,2	316,6	0,463
Khảo sát thời gian chiết (ngâm, methanol 100 %, ánh sáng thường)			
15 phút	194,5	282,7	0,692
30 phút	175,2	300,4	0,684
60 phút	183,8	313,6	0,650
Khảo sát ảnh hưởng của ánh sáng (ngâm, methanol 100 %, 15 phút)			
Ánh sáng thường	194,5	282,7	0,692
Tránh ánh sáng	208,9	318,9	0,761

Khi chiết đến lần thứ 3 thì hầu như lượng picrocrocin và crocin I còn lại không đáng kể (lần lượt là 0,14 % và 1,24 %), trong khi ngay từ lần chiết thứ 2 đã không còn phát hiện được safranal. Vì vậy, điều kiện chiết xuất thu được hàm lượng ba chất crocin I, picrocrocin và safranal tốt nhất sử dụng dung môi methanol 100 %, ngâm ở nhiệt độ phòng trong 15 phút. Dịch chiết được lọc và bã được liệu được chiết tiếp lần 2. Quá trình chiết được thực hiện trong điều kiện tránh ánh sáng trực tiếp.

Bảng 4. Kết quả khảo sát tính phù hợp của hệ thống.

Chất phân tích	Thời gian lưu trung bình (phút) (n = 6)	Diện tích pic trung bình ($\mu V \cdot giây$) (n = 6)	Hệ số dung lượng	Hệ số bất đối xứng	Số đĩa lý thuyết	Độ phân giải
Picrocrocin	14,17	3.762.303	8,29	1,02	15.000	3,05
% RSD	1,12	0,63	-	-	-	-
Crocin I	24,03	14.334.048	1,50	0,99	232.000	3,52
% RSD	0,13	0,82	-	-	-	-
Safranal	42,15	201.877	2,71	0,99	185.000	2,61
% RSD	0,03	0,21	-	-	-	-

3.3.2. Độ đặc hiệu

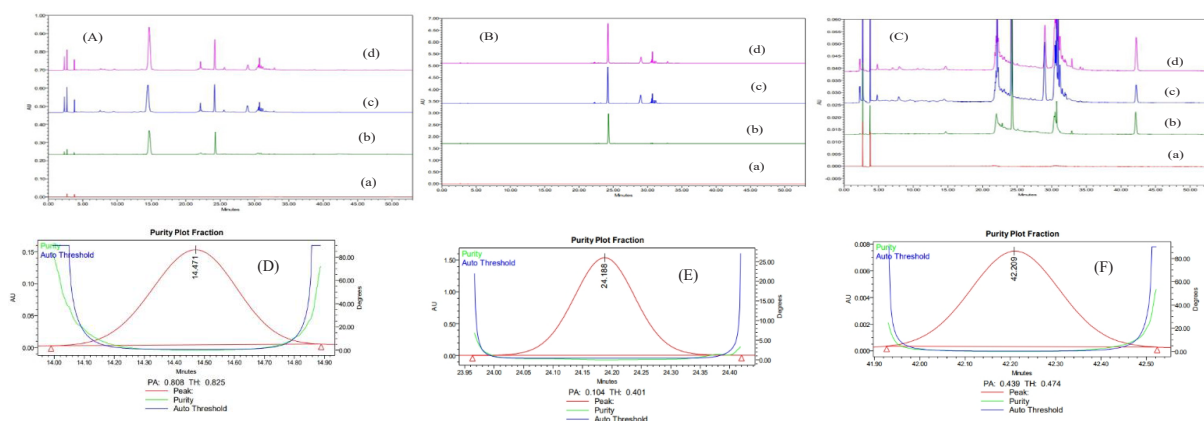
Sắc ký đồ mẫu trắng không xuất hiện pic ở trong khoảng thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic picrocrocin, crocin I và safranal trên sắc ký đồ mẫu chuẩn. Sắc ký đồ mẫu thử cho pic picrocrocin, crocin I và safranal có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của các pic này trên sắc ký đồ mẫu chuẩn và tách hoàn toàn khỏi các pic tạp. Đồng thời, các pic chính này đạt độ tinh khiết, thể

3.3. Thẩm định quy trình định lượng

3.3.1. Tính phù hợp của hệ thống sắc ký

Tính phù hợp của hệ thống sắc ký được đánh giá với dung dịch chuẩn có nồng độ picrocrocin là 230 $\mu g/ml$, crocin I là 415 $\mu g/ml$, safranal là 1 $\mu g/ml$. Từ kết quả phân tích cho thấy $RSD < 2,0 \%$ với thời gian lưu và $< 1,0 \%$ với diện tích pic ($n = 6$), do đó phương pháp đạt yêu cầu về tính tương thích hệ thống. Kết quả được trình bày trong bảng 4.

hiện qua giá trị purity angel thấp hơn giá trị auto threshold. Phổ UV-Vis của 3 chất điểm chỉ này tương đồng trên sắc ký đồ của mẫu chuẩn và mẫu thử. Pic picrocrocin, crocin I và safranal trên sắc ký đồ của mẫu thử thêm chuẩn có diện tích pic lớn hơn diện tích pic các chất này trên sắc ký đồ của mẫu thử. Quy trình định lượng đặc hiệu với picrocrocin, crocin I và safranal trong mẫu saffron. Kết quả độ đặc hiệu thể hiện ở hình 3.



Hình 3. Sắc ký đồ độ đặc hiệu: (a) mẫu trắng, (b) mẫu chuẩn, (c) mẫu thử, (d) mẫu thử thêm chuẩn, (A) picrocrocin ở bước sóng phát hiện 250 nm; (B) crocin I ở bước sóng phát hiện 442 nm; (C) safranal ở bước sóng phát hiện 312 nm; (D) độ tinh khiết pic picrocrocin của mẫu thử; (E) độ tinh khiết pic crocin I của mẫu thử; (F) độ tinh khiết pic safranal của mẫu thử.

3.3.3. Tính tuyến tính

Kết quả phân tích cho thấy có sự tương quan giữa nồng độ picrocrocin, crocin I và safranal và diện tích pic qua hệ số tương quan r lần lượt là 0,9996; 0,9995; 0,9990

(> 0,998). Các phương trình hồi quy đã được phân tích thống kê xác định có tính tuyến tính cũng như giá trị có ý nghĩa của tung độ gốc và độ dốc.

Kết quả tính tuyến tính được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Kết quả tính tuyến tính

Tiêu chí	Picrocrocin	Crocin I	Safranal
Phương trình tuyến tính	$y = 13139x + 165271$ ($r = 0,9996$)	$y = 30552x - 729878$ ($r = 0,9995$)	$y = 158419x$ ($r = 0,9990$)
Khoảng tuyến tính (µg/ml)	60 - 400	150 - 700	0,20 - 2,00

3.3.4. Độ đúng

Tỷ lệ phục hồi của phương pháp trong khoảng 95 – 105 % và giá trị $RSD \leq 2,0 \%$ đạt yêu cầu của AOAC International. Như vậy quy trình phân tích đạt yêu cầu về độ đúng. Kết quả độ đúng được trình bày ở bảng 6.

Bảng 6. Kết quả độ đúng

Mẫu	Picrocrocin		Crocin I		Safranal	
	Hàm lượng (mg/g)	Tỷ lệ thu hồi trung bình (%)	Hàm lượng (mg/g)	Tỷ lệ thu hồi trung bình (%)	Hàm lượng (mg/g)	Tỷ lệ thu hồi trung bình (%)
50 %	90,0	97,98	166,5	99,50	0,365	95,90
% RSD		1,85		1,30		1,48
100 %	180,0	99,53	333,0	102,65	0,730	103,33
% RSD		1,22		0,61		0,64
200 %	360,0	103,03	666,0	103,23	1,460	103,50
% RSD		1,01		1,48		0,87

3.3.5. Độ chính xác

Kết quả độ lặp lại của quy trình định lượng picrocrocin có độ lệch chuẩn tương đối (RSD) là 2,56 %, crocin I là 1,80 % và safranal là 2,11 % (n = 6). Kết quả độ chính xác trung gian của quy trình định lượng picrocrocin có độ lệch chuẩn tương đối (RSD) là 2,35 %, crocin I là

2,37 % và safranal là 3,40 % (n = 6). Với mức hàm lượng của picrocrocin, crocin I yêu cầu độ lặp lại theo AOAC International là độ lệch chuẩn tương đối (RSD) $\leq 3,7 \%$, với safranal là $RSD \leq 11 \%$. Như vậy có quy trình định lượng độ lặp lại tốt, đạt yêu cầu về độ chính xác trung gian. Kết quả độ lặp lại và độ chính xác trung gian được trình bày ở bảng 7.

Bảng 7. Kết quả độ lặp lại

Tiêu chí	Hàm lượng picrocrocin trung bình (mg/g) (n = 6)	Hàm lượng crocin I trung bình (mg/g) (n = 6)	Hàm lượng safranal trung bình (mg/g) (n = 6)
Độ lặp lại	179,1	335,7	0,742
RSD (%)	2,56	1,80	2,11
Độ chính xác trung gian	180,4	330,6	0,720
RSD (%)	2,35	2,37	3,40

3.4. Kết quả định lượng mẫu nghiên cứu

Hàm lượng ba chất điểm chỉ trong mẫu saffron sử dụng làm đối tượng nghiên cứu được trình bày ở bảng 8 (n = 12).

Bảng 8. Kết quả xác định hàm lượng ba chất điểm chỉ trong mẫu nghiên cứu.

Hàm lượng picrocrocin (mg/g) *	Hàm lượng crocin I (mg/g) *	Hàm lượng safranal (mg/g) *
179,75 ± 0,42	333,15 ± 0,42	0,731 ± 0,002

* kết quả được thể hiện là giá trị trung bình ± SD.

4. BÀN LUẬN

Kết quả quét phổ hấp thu của picrocrocin, crocin I và safranal trong saffron phù hợp với các nghiên cứu đã công bố trước đây của Solmaz Tabatabaei [3], Caballero-Ortega [6] và Javad Mottaghipisheh [7].

Quy trình phân tích sử dụng là pha tĩnh C18 phổ biến trong các phòng thí nghiệm. Hệ pha động chỉ sử dụng dung môi tinh khiết mà không sử dụng chất thêm vào nào khác như dung dịch đệm hay acid. Bên cạnh đó, tỷ lệ thành phần của pha động dùng rửa giải gradient đã được tối ưu đã giúp tăng khả năng tách và rút ngắn thời gian phân tích.

Quá trình chiết saffron trong điều kiện tránh ánh sáng trực tiếp cho kết quả hàm lượng cả ba chất picrocrocin, crocin I và safranal đều cao hơn so với chiết ở điều kiện ánh sáng thường. Các nghiên cứu trước đây của Caballero-Ortega [6], Maryam Vahedi [8] cũng cho kết quả tương tự. Điều này cho thấy ánh sáng có ảnh hưởng đến hiệu quả chiết. Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu cũng cho thấy cách chiết bằng siêu âm, có hoặc không có gia nhiệt làm giảm lượng safranal trong dịch chiết, nguyên nhân do siêu âm làm bay hơi một phần safranal. Lượng thất thoát safranal nhỏ nên chỉ được phát hiện với phương pháp có độ nhạy cao như HPLC.

Theo nghiên cứu của Farzin Hadizadeh và cộng sự [9], hàm lượng safranal trong saffron khi định lượng bằng HPLC là 0,17 mg/g, trong khi phương pháp UV-Vis theo hướng dẫn của ISO thu được 5,6 mg/g. Điều này được lý giải là ISO chọn bước sóng 330 nm để đo safranal, bước sóng này cũng trùng với một đỉnh hấp thu của crocin I. Vì vậy, tác giả Farzin Hadizadeh nhận thấy rằng phương pháp ISO 3632 hiện tại không phải là phương pháp chính xác để đo lượng safranal trong nghệ tây. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương đồng với nghiên cứu của Farzin Hadizadeh và cộng sự, cho thấy phương pháp HPLC là phương pháp định lượng có độ chính xác cao hơn so với

phương pháp UV-Vis, đặc biệt là safranal trong saffron.

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng thành công quy trình định lượng đồng thời picrocrocin, crocin I và safranal trong nhụy hoa cây nghệ tây (saffron) bằng phương pháp HPLC với đầu dò PDA. Phương pháp đã xây dựng có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa diện tích pic đáp ứng và nồng độ 3 chất điểm chỉ chính của saffron. Quy trình định lượng có tính đặc hiệu, độ chính xác và độ đúng cao với khoảng tuyến tính của picrocrocin, crocin I, safranal lần lượt là 60 - 400 µg/ml; 150 - 700 µg/ml; 0,2 - 2,0 µg/ml. Phương pháp HPLC đơn giản và hiệu quả của nghiên cứu này có thể được sử dụng để kiểm soát chất lượng saffron thông qua hàm lượng ba chất điểm chỉ chính là picrocrocin, crocin I, safranal.

LỜI CẢM ƠN

Bài báo này là một phần kết quả của đề tài nghiên cứu khoa học cấp cơ sở thuộc Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch. Nghiên cứu được tiến hành tại Khoa Dược, Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Deepu Pandita (2021), Chapter 14: Saffron (*Crocus sativus* L.): phytochemistry, therapeutic significance and omics based biology, *Medicinal and Aromatic Plants: Expanding their Horizons through Omics*, pp. 325-396.
- Kothari D., Thakur R., Kumar R., (2021), Saffron (*Crocus sativus* L.): gold of the spices - a comprehensive review, *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, **62**, pp. 661-677, 2021.
- Tabatabaei S., et al, (2019), Geographical classification of Iranian and Italian saffron sources based on HPLC analysis and UV-Vis spectra of aqueous extracts, *European Food Research and Technology*, **245**, pp. 2435-2446.
- Sabatino L., et al, (2011), HPLC/PDA/ESI-MS Evaluation of Saffron (*Crocus sativus* L.) Adulteration, *Natural Product Communications*, **6(12)**, pp. 1873-1876.
- Chu Đức Hà, Lê Bá Ngọc, Lê Tiến Dũng (2018), Saffron - Loại gia vị quý và tiềm năng phát triển ở Việt Nam, *Tạp chí Khoa học & Công nghệ Việt Nam*, **5(1)**, tr. 72-75.
- Caballero-Ortega H., Pereda-Miranda R., Abdullaev FI., (2007), HPLC quantification of major active components from 11 different saffron (*Crocus sativus* L.) sources, *Food Chemistry*, **100**, pp. 1126-1131.
- Mottaghipisheh J., et al, (2020), Comprehensive chemotaxonomic analysis of saffron crocus tepal and stamen samples, as raw materials with potential antidepressant activity, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **184**, 113183.
- Vahedi M., Rezadoost H., et al, (2018), Quantitative HPLC-based metabolomics of some Iranian saffron (*Crocus sativus* L.) accessions, *Industrial Crops & Products*, **118**, pp. 26-29.
- Hadizadeh F., et al, (2007), Evaluation of ISO Method in Saffron Qualification, *Acta Horticulturae*, **739**, pp. 405-410.