

Xác định taxifolin trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao với detector UV-Vis

Nguyễn Thị Quế Mai*, Đỗ Thị Hòa, Ngô Thị Thu Phương, Phạm Nguyệt Cẩm

Trung tâm kiểm nghiệm, Viện Thực Phẩm Chức Năng, Hà Nội, Việt Nam

(Ngày đến tòa soạn: 13/07/2022; Ngày chấp nhận đăng: 23/09/2022)

Tóm tắt

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao với detector UV-Vis được nghiên cứu để xác định taxifolin trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe. Trong nghiên cứu này, thực phẩm bảo vệ sức khỏe được đồng nhất mẫu, chiết taxifolin bằng kỹ thuật siêu âm với dung môi methanol. Taxifolin trong dung dịch mẫu thử được tách bằng cột sắc ký pha đảo C18 (250 × 4,6 mm, 5 μm) với pha động gồm methanol và dung dịch acid acetic 0,3% tỷ lệ 40 : 60 sử dụng kỹ thuật đẳng dòng, tốc độ dòng 1,0 mL/phút, bước sóng phát hiện 290 nm. Phương pháp đã được đánh giá về độ đặc hiệu, độ tuyến tính của đường chuẩn, độ lặp lại, độ đúng theo yêu cầu của AOAC. Trong đó đường chuẩn được xây dựng trong khoảng nồng độ taxifolin từ 1,04 đến 78,23 μg/mL cho hệ số xác định $R^2 = 0,9996$. Độ lặp lại được đánh giá qua độ lệch chuẩn tương đối (RSD) tương ứng từ 1,1 - 1,4 % cho thấy phương pháp có độ chụm tốt. Độ đúng được đánh giá qua hiệu suất thu hồi từ 98,1- 105,9 %. Phương pháp đã được áp dụng để xác định hàm lượng taxifolin trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe dạng rắn, dạng lỏng, dạng dầu.

Từ khóa: taxifolin, thực phẩm bảo vệ sức khỏe.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Taxifolin ((2R,3R)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-2,3-dihydrochromen-4-one) được biết với tên khác là dihydroquercetin, là một flavonoid, được phân lập đầu tiên từ vỏ cây Linh sam Douglas (*Pseudotsuga taxifolia*). Sau đó nó còn được tìm thấy trong các loài cây lá kim như cây thông Siberia (*Larix sibirica*, ...) ở Nga, thông Ấn Độ lá dài (*Pinus roxburghii*), cây tuyết tùng (*Cedrus deodara*), cây thủy tùng Trung quốc (*Taxus chinensis*), cây ké sữa, ... Ngoài ra taxifolin còn được tìm thấy trong các thực phẩm có nguồn gốc từ thực vật như trái cây, rau xanh, rượu, trà và ca cao, ... Taxifolin được chứng minh có khả năng trung hòa gốc tự do, đặc biệt gốc superoxide và peroxide. Nó có tác dụng ngăn chặn tác hại của môi trường lên các tế bào máu, tác dụng bảo vệ màng tế bào, cải thiện hoạt động tuần hoàn và mao mạch [1].

*Điện thoại: 0399408868

Email: mai.nguyen@vids.vn

Hiện nay taxifolin được tinh chế thành dạng nguyên liệu độ tinh khiết cao, bào chế dưới dạng thực phẩm bảo vệ sức khỏe (TPBVSK) với tác dụng chống viêm, chống oxy hóa, việc kiểm soát chất lượng sản phẩm là vấn đề vô cùng cấp thiết. Tuy nhiên các dược điển Việt Nam, Trung Quốc, dược điển Anh, dược điển Mỹ không có chuyên luận xác định hàm lượng hoạt chất này. Trong các nghiên cứu trên thế giới, taxifolin được phân tích bằng các kỹ thuật HPLC, LC-MS/MS trong các nền mẫu dược liệu, huyết tương, ... [2-5]. Trong nghiên cứu này chúng tôi lựa chọn phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao detector UV để xây dựng và thẩm định phương pháp xác định taxifolin trong TPBVSK dạng rắn, dạng lỏng, dạng dầu.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng khảo sát của nghiên cứu này gồm nguyên liệu taxifolin và các thực phẩm bảo vệ sức khỏe có thành phần taxifolin dạng rắn, dạng lỏng, dạng dầu.

Mẫu giả dược: lựa chọn mẫu TPBVSK các dạng rắn, dạng lỏng, dạng dầu không có thành phần taxifolin, mẫu không có tín hiệu trùng thời gian lưu với chất phân tích trong mẫu chuẩn.

2.2. Hóa chất, chất chuẩn

2.2.1. Chất chuẩn

Chuẩn taxifolin số lot: CFS202002 hàm lượng 98,2% (nguyên trạng), hạn dùng: 17/06/2023, nhà cung cấp: Chemfaces - Trung Quốc.

2.2.2. Hóa chất

Methanol (HPLC grade) được cung cấp từ hãng VWR, chloroform được cung cấp từ hãng Fisher, acid acetic băng được cung cấp từ hãng Merck, nước RO.

2.3. Thiết bị

Nghiên cứu sử dụng hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao hãng Hitachi, detector UV-PDA, sử dụng cột InertSustain C18 (250 × 4,6 mm, 5 μm) của GL Sciences. Một số thiết bị phụ trợ khác gồm: cân phân tích Shimadzu ATY-224, bể siêu âm Elma SH100.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Phương pháp xây dựng điều kiện phân tích

Khảo sát điều kiện phân tích (thành phần và tỷ lệ pha động, bước sóng phát hiện, thể tích tiêm mẫu). Khảo sát phương pháp xử lý mẫu: dung môi chiết mẫu.

2.4.2. Thẩm định phương pháp

Thẩm định các tiêu chí: Độ đặc hiệu, độ tuyến tính, độ lặp lại, độ đúng, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của phương pháp. Các kết quả được đánh giá theo AOAC [6].

2.4.3. Phương pháp xử lý số liệu

Xử lý các số liệu thống kê bằng phần mềm Microsoft Excel 2016, các thông số sắc ký được tính toán bằng phần mềm EZChrome 3.8b.

2.4.4. Phương pháp tính toán kết quả

Xây dựng phương trình hồi quy tuyến tính thể hiện mối quan hệ giữa diện tích pic và nồng độ taxifolin. Từ phương trình đường chuẩn xác định được nồng độ taxifolin của dung dịch mẫu thử, từ đó suy ra hàm lượng taxifolin có trong mẫu.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Lựa chọn điều kiện phân tích

3.1.1. Thành phần pha động

Qua tham khảo tài liệu [4-5], có hai điều kiện sắc ký được lựa chọn để khảo sát như sau:

- Điều kiện sắc ký 1:

Chương trình pha động đẳng dòng:

- Cột InertSustain C18 (250 × 4,6 mm, 5 μm).
- Pha động: methanol : dung dịch acid acetic 0,3% (40 : 60)
- Tốc độ dòng: 1,0 mL/phút.
- Nhiệt độ cột: 30°C.
- Bước sóng phát hiện: 290 nm.
- Thể tích tiêm mẫu: 10 μL.

- Điều kiện sắc ký 2:

Chương trình pha động gradient tỷ lệ pha động và tốc độ dòng:

- Cột InertSustain C18 (250 × 4,6 mm, 5 μm).
- Pha động (Bảng 1).

Bảng 1. Điều kiện pha động xác định taxifolin

	Thời gian (phút)						
	0	15	20	25	35	40	50
Pha động A^a (%)	94	88	88	88	80	94	94
Pha động B^b (%)	6	12	12	12	20	6	6
Tốc độ dòng (mL/phút)	1,0	1,2	1,2	1,0	1,0	1,0	1,0

^aacid formic 0,1 % trong nước; ^bacid formic 0,1 % trong acetonitrile.

- Nhiệt độ cột: 25°C.
- Bước sóng phát hiện: 288 nm.
- Thể tích tiêm mẫu: 10 μL.

Tiến hành phân tích dung dịch chuẩn taxifolin nồng độ 25 µg/mL với hai điều kiện sắc ký trên. Với điều kiện sắc ký 1, taxifolin có thời gian lưu ở khoảng 8,0 phút sớm hơn so với điều kiện sắc ký 2 cho thời gian lưu ở khoảng 38,7 phút. Ngoài ra ở điều kiện sắc ký 1, taxifolin được tách ra khỏi nền tốt so với điều kiện sắc ký 2. Do đó lựa chọn điều kiện sắc ký 1 để tiếp tục khảo sát.

3.1.2. Bước sóng phát hiện

Tiến hành phân tích dung dịch chuẩn taxifolin trong dung môi methanol nồng độ 25 µg/mL theo điều kiện sắc ký 1 (mục 3.1.1). Quét phổ hấp thụ tại vị trí thời gian lưu của taxifolin với dải bước sóng từ 200 - 400 nm, nhận thấy taxifolin cho đỉnh hấp thụ tại bước sóng khoảng 289 nm. Do vậy bước sóng 290 nm được lựa chọn là bước sóng phát hiện.

3.1.3. Thể tích tiêm mẫu

Tiến hành phân tích dung dịch chuẩn taxifolin trong dung môi methanol nồng độ 25 µg/mL theo điều kiện sắc ký 1 (mục 3.1.1) với các thể tích tiêm mẫu khác nhau: 10, 20, 30, 50 µL. Với thể tích tiêm mẫu 10 µL, hình dạng pic đẹp, cân đối. Khi tăng thể tích tiêm mẫu lên 20, 30 và 50 µL xảy ra hiện tượng cột quá tải cho nên hình dạng pic taxifolin xấu, không cân đối. Do vậy, thể tích tiêm mẫu 10 µL được lựa chọn để tiếp tục khảo sát. Điều kiện sắc ký 1 (mục 3.1.1) được sử dụng để tiến hành phân tích taxifolin trong các chế phẩm bảo vệ sức khỏe.

3.2. Cách xử lý mẫu

3.2.1. Khảo sát dung môi

Tiến hành khảo sát xử lý mẫu dạng rắn với 4 loại dung môi: methanol, methanol 80%, methanol 50%, methanol 20%.

Đồng nhất và nghiền mịn bột của 20 viên nang cứng. Cân chính xác khoảng 1 g bột vào bình định mức 50 mL, thêm khoảng 30 mL dung môi, siêu âm 20 phút, để nguội, bổ sung vừa đủ thể tích bằng dung môi, lắc đều, lọc qua giấy lọc. Hút chính xác 2,0 mL dịch lọc vào bình định mức 20 mL, bổ sung vừa đủ thể tích bằng methanol. Lọc qua màng lọc 0,45 µm. Tiến hành phân tích theo điều kiện sắc ký 1 (mục 3.1.1), xác định hàm lượng taxifolin trong mẫu (Bảng 2).

Bảng 2. Kết quả khảo sát dung môi chiết mẫu

<i>Dung môi chiết</i>	<i>Hàm lượng taxifolin (mg/g)</i>
Methanol	10,44
Methanol 80 %	10,23
Methanol 50 %	9,92
Methanol 20 %	1,27

Kết quả cho thấy, dung môi methanol cho hàm lượng taxifolin được chiết ra cao nhất. Do đó methanol được lựa chọn để chiết mẫu. Ngoài ra việc sử dụng methanol để xử lý mẫu dạng dầu sẽ là thuận tiện nhất vì methanol đồng tan với chloroform, dung môi được sử dụng để phân tán mẫu dạng dầu.

3.2.2. Xử lý mẫu

Mẫu thử dạng rắn: Cân chính xác khoảng 1 g chế phẩm vào bình định mức bình định mức 50 mL, thêm khoảng 30 mL methanol, siêu âm 20 phút, để nguội, bổ sung vừa đủ thể tích bằng methanol, lắc đều. Pha loãng bằng methanol nếu cần. Lọc qua màng lọc 0,45 μ m sau đó đem phân tích trên hệ thống HPLC.

Mẫu thử dạng lỏng: Hút chính xác khoảng 5 mL chế phẩm vào bình định mức 50 mL, thêm khoảng 30 mL methanol, siêu âm 20 phút, để nguội, bổ sung vừa đủ thể tích bằng methanol, lắc đều. Pha loãng bằng methanol nếu cần. Lọc qua màng lọc 0,45 μ m sau đó đem phân tích trên hệ thống HPLC.

Mẫu thử dạng dầu: Cân chính xác khoảng 1 g chế phẩm vào bình định mức bình định mức 50 mL, thêm khoảng 5 mL chloroform phân tán mẫu, thêm khoảng 30 mL dung môi methanol, siêu âm 20 phút, để nguội, bổ sung vừa đủ thể tích bằng methanol, lắc đều. Pha loãng bằng methanol nếu cần. Lọc qua màng lọc 0,45 μ m sau đó đem phân tích trên hệ thống HPLC.

3.3. Đánh giá phương pháp

Phương pháp được thẩm định theo đúng yêu cầu của AOAC với các thông số trên cả ba nền mẫu TPBVSK dạng rắn, dạng lỏng, dạng dầu.

3.3.1. Độ chọn lọc

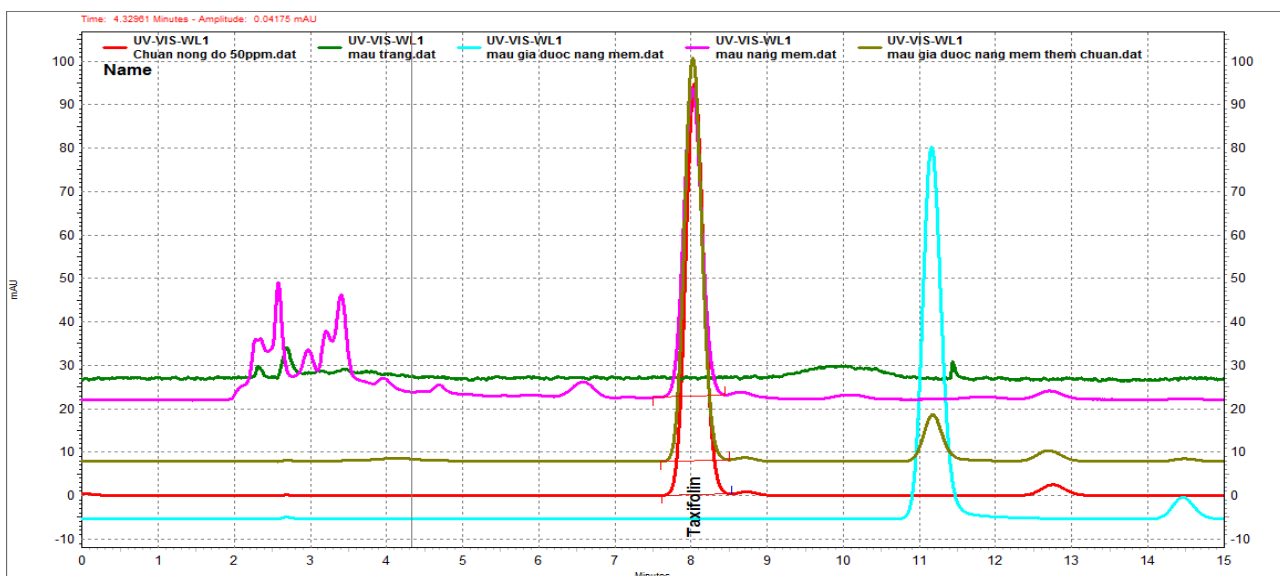
Tiến hành phân tích theo điều kiện sắc ký đã lựa chọn với mẫu dung dịch chuẩn taxifolin nồng độ 25 μ g/mL, mẫu dung môi methanol, mẫu giả dược, mẫu giả dược thêm chuẩn, mẫu thử ghi lại sắc ký đồ. Kết quả thu được cho thấy (Bảng 3).

- Sắc ký đồ các dung dịch dung môi methanol, mẫu giả dược không xuất hiện pic ở trong khoảng thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của chất chuẩn.

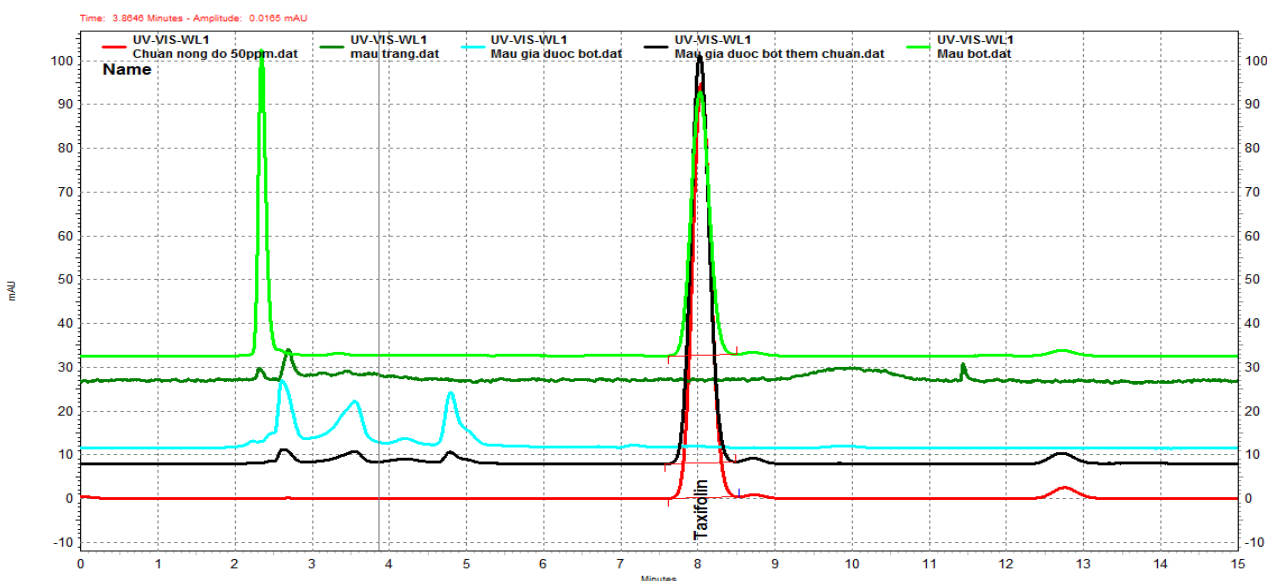
- Sắc ký đồ các dung dịch thử, dung dịch mẫu giả dược thêm chuẩn cho pic có thời gian lưu tại vị trí của pic chuẩn trong sắc ký đồ dung dịch chuẩn.

Bảng 3. Kết quả độ đặc hiệu phương pháp

<i>STT</i>	<i>Dung dịch</i>	<i>Thời gian lưu chất phân tích</i>
1	Dung dịch chuẩn taxifolin 25 μ g/mL	8,020 phút
2	Dung môi pha mẫu (methanol)	Không xuất hiện pic
3	Mẫu giả dược dạng rắn	Không xuất hiện pic
4	Mẫu giả dược dạng rắn thêm chuẩn	8,023 phút
5	Mẫu giả dược dạng lỏng	Không xuất hiện pic
6	Mẫu giả dược dạng lỏng thêm chuẩn	8,020 phút
7	Mẫu giả dược dạng dầu	Không xuất hiện pic
8	Mẫu giả dược dạng dầu thêm chuẩn	8,023 phút



Hình 1. Sắc ký đồ độ chọn lọc mẫu dạng dầu (màu đỏ: dung dịch chuẩn 50 ppm, màu xanh lá: mẫu trắng, màu xanh da trời: mẫu giả dược nang mềm, màu hồng: mẫu nang mềm, màu vàng: mẫu giả dược nang mềm thêm chuẩn)



Hình 2. Sắc ký đồ độ chọn lọc mẫu dạng bột (màu đỏ: dung dịch chuẩn 50 ppm, màu xanh đậm: mẫu trắng, màu xanh da trời: mẫu giả dược dạng bột, màu đen: mẫu giả dược thêm chuẩn, màu xanh là: mẫu bột)

3.3.2. Độ tuyến tính

Tiến hành phân tích dãy dung dịch chuẩn taxifolin nồng độ 1,04; 5,22; 13,04; 26,08; 52,16; 78,23 $\mu\text{g/mL}$ trong methanol, ghi lại sắc ký đồ. Các kết quả phân tích được trình bày ở Bảng 4.

Bảng 4. Các kết quả của độ tuyến tính

<i>STT</i>	<i>Nồng độ taxifolin (µg/mL)</i>	<i>Diện tích pic (mAu.s)</i>	<i>Nồng độ taxifolin tính lại từ đường chuẩn (µg/mL)</i>	<i>Bias (%)</i>
1	1,04	101898	1,14	9,4
2	5,22	628225	5,52	5,8
3	13,04	1470139	12,52	-4,0
4	26,08	3053080	25,68	-1,5
5	52,16	6353365	53,12	1,8
6	78,23	9320294	77,79	-0,6

Nhận xét: kết quả cho thấy trong khoảng nồng độ khảo sát (1,04 - 78,23 µg/mL) có sự tương quan tuyến tính giữa diện tích pic và nồng độ của taxifolin, phương trình hồi quy tuyến tính: $y = 120268,9960x - 35360,9449$, hệ số xác định $R^2 = 0,9996$.

3.3.3. Độ lặp lại

Tiến hành phân tích mẫu thực phẩm bảo vệ sức khỏe có thành phần taxifolin với các dạng bào chế: dạng rắn, dạng lỏng, dạng dầu (n = 7), kết quả phân tích độ lặp lại được trình bày trong Bảng 5.

Bảng 5. Kết quả độ lặp lại phương pháp

<i>Dạng bào chế</i>	<i>Hàm lượng taxifolin</i>	<i>Yêu cầu (RSD %)</i>	<i>Kết quả (RSD %)</i>	<i>Kết luận</i>
<i>Dạng rắn</i>	5,0 mg/g	2,7	1,4	Đạt
<i>Dạng lỏng</i>	0,5 mg/mL	3,7	1,1	Đạt
<i>Dạng dầu</i>	5,0 mg/g	2,7	1,4	Đạt

Nhận xét: Kết quả thẩm định cho thấy phương pháp có độ lặp lại tốt, RSD đáp ứng yêu cầu của AOAC [6].

3.3.4. Độ đúng

Độ đúng của phương pháp được đánh giá qua độ thu hồi khi thêm chuẩn taxifolin vào nền mẫu giả dược ở 3 mức nồng độ, mỗi mức nồng độ tiến hành lặp lại 7 lần. Lượng chuẩn tìm lại được xác định dựa trên đường chuẩn đã được xây dựng ở trên.

Cân chính xác khoảng 1 g mẫu giả dược (đối với mẫu dạng rắn, dạng dầu) hoặc hút chính xác 5,0 mL mẫu giả dược (đối với mẫu dạng lỏng) vào bình định mức 50 mL, thêm chính xác lượng chuẩn tương ứng với mỗi mức nồng độ, để yên 15 phút. Tiến hành xử lý mẫu như mục 3.2.2 để được các dung dịch có nồng độ taxifolin 1,5; 25; 50 µg/mL.

Kết quả độ thu hồi được tóm tắt ở Bảng 6.

Bảng 6. Kết quả đánh giá độ thu hồi trên nền mẫu dạng rắn, dầu, lỏng

Dạng bào chế	Mức nồng độ thêm chuẩn vào mẫu	Kết quả độ thu hồi (%)	Yêu cầu (%)	Kết luận
Dạng rắn	75 µg/g	103,7 - 104,9	95 - 105	Đạt
	1,25 mg/g	100,6 - 101,0	95 - 105	
	2,50 mg/g	99,9 - 100,4	97 - 103	
Dạng dầu	75 µg/g	98,8 - 99,8	95 - 105	Đạt
	1,25 mg/g	98,1 - 98,6	95 - 105	
	2,50 mg/g	99,7 - 101,1	97 - 103	
Dạng lỏng	15 µg/mL	103,9 - 105,1	90 - 107	Đạt
	250 µg/mL	99,5 - 100,0	95 - 105	
	500 µg/mL	98,2 - 101,0	95 - 105	

Kết quả thẩm định cho thấy phương pháp đạt độ đúng theo yêu cầu AOAC [6].

3.3.5. Giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ)

Thực hiện phân tích các mẫu giả dược thêm chuẩn taxifolin ở nồng độ thấp, xác định LOD và LOQ của phương pháp tại nồng độ thêm chuẩn cho tỷ lệ tín hiệu/nhiều S/N = 3 và S/N = 10, lần lượt tương ứng. Ngoài ra tại điểm LOQ, phương pháp phải đạt yêu cầu về độ thu hồi theo AOAC [6]. Kết quả được trình bày trong Bảng 7.

Bảng 7. Kết quả LOD, LOQ của phương pháp

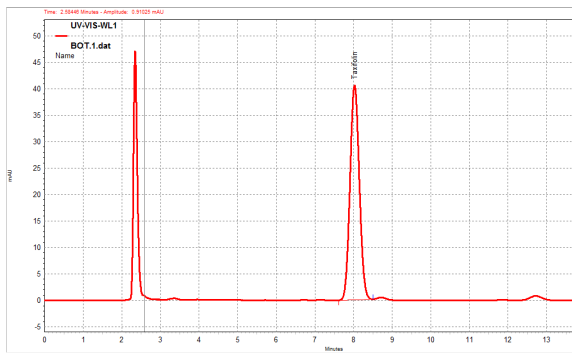
STT	Dạng mẫu	LOD	LOQ
1	Dạng rắn	23,9 µg/g	83,4 µg/g
2	Dạng lỏng	1,4 µg/mL	4,7 µg/mL
3	Dạng dầu	24,6 µg/g	87,0 µg/g

3.4. Kết quả phân tích mẫu thực tế

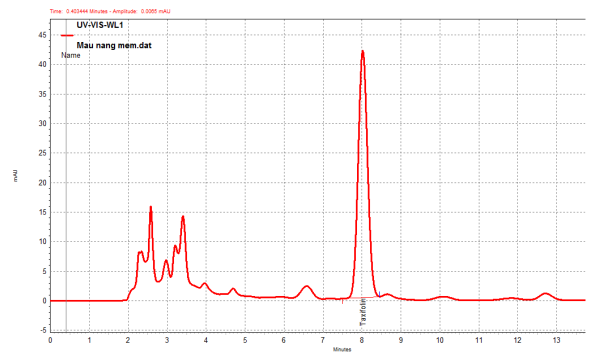
Sau khi thẩm định đạt yêu cầu của AOAC, quy trình phân tích đã được áp dụng để phân tích hàm lượng taxifolin trong 7 mẫu (n = 3) bao gồm 2 mẫu bột nguyên liệu, 2 mẫu viên nang cứng, 2 mẫu viên nén, 1 mẫu viên nang mềm, phương pháp tính toán theo đường chuẩn. Kết quả phân tích được trình bày trong Bảng 8.

Bảng 8. Kết quả phân tích taxifolin trong mẫu thực tế

STT	Dạng mẫu	Kết quả
1	Bột nguyên liệu 1	100,3 %
2	Bột nguyên liệu 2	66,7 %
3	Viên nang cứng 1	5,02 mg/viên
4	Viên nang cứng 2	5,54 mg/viên
5	Viên nén 1	81,75 mg/viên
6	Viên nén 2	4,9 mg/viên
7	Viên nang mềm	21,4 mg/viên



Hình 3. Sắc ký đồ mẫu viên nang cứng 2.



Hình 4. Sắc ký đồ mẫu viên nang mềm.

Nhận xét: đối với các mẫu bột nguyên liệu có hàm lượng taxifolin dao động, do vậy các đơn vị sản xuất cần kiểm soát chất lượng nguyên liệu trước khi đưa vào sản phẩm. Đối với các mẫu thành phẩm thực phẩm bảo vệ sức khỏe, hàm lượng taxifolin trong mẫu đều phù hợp chỉ tiêu công bố trên nhãn sản phẩm.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng và thẩm định quy trình phân tích taxifolin trong nền mẫu thực phẩm bảo vệ sức khỏe dạng rắn, dạng lỏng, dạng dầu bằng phương pháp HPLC-DAD. Quy trình xử lý mẫu đơn giản bằng cách chiết với methanol với sự hỗ trợ của siêu âm trong 20 phút, thời gian phân tích ngắn. Phương pháp đã được thẩm định về độ đặc hiệu, độ tuyến tính, độ lặp lại, độ đúng, giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng, đạt yêu cầu của AOAC nên có thể áp dụng để phân tích hàm lượng taxifolin trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe như một phương pháp thường quy trong phòng thí nghiệm. Kết quả phân tích thực tế một số mẫu trên thị trường cho thấy, hàm lượng taxifolin không đồng đều trong cùng một dạng bào chế và giữa các dạng bào chế khác nhau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. A. Das, R. Baidya, T. Chakraborty, A. K. Samanta, S. Roy, "Pharmacological basic and new insights of taxifolin: A comprehensive review," *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 142, pp. 1-17, 2021.
- [2]. C. J. Yang, Z. B. Wang, Y. Y. Mi, M. J. Gao, J. N. Lv, Y. H. Meng, B. Y. Yang, H. X. Kuang, "UHPLC-MS/MS Determination, Pharmacokinetic, and Bioavailability Study of Taxifolin in Rat Plasma after Oral Administration of its Nanodispersion," *Molecules*, 21, 494, 2016.
- [3]. O. N. Pozharitskaya, M. V. Kalina, A. N. Shikov, V. M. Kosman, M. N. Makarova, V. G. Makarov, "Determination and pharmacokinetic study of taxifolin in rabbit plasma by high-performance liquid chromatography," *Phytomedicine*, vol.16, no. 2-3, pp. 244-251, 2009.
- [4]. Y. Wei, X. Chen, X. Jiang, Z. Ma, J. Xiao, "Determination of taxifolin in *Polygonum orientale* and study on its antioxidant activity," *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 22, no. 2, pp. 154-157, 2009.

- [5]. Priscila A. de Almeida, Carla AP. Bhering, Michele C. Alves, Marcone AL de Oliveira, Nádia RB Raposo, Anderson O. Ferreira, Marcos AF Brandão, “Development, Optimization and Validation of an HPLC-PDA Method for Quantification of Taxifolin in the Bark Extract of *Pinus pinaster*,” *Journal of the Brazilian Chemical Society*, vol.27, no. 9, 2016.
- [6]. AOAC, “Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements”, 2016.

Determination of taxifolin in functional food samples by high - performance liquid chromatography (HPLC - UV Vis)

Nguyen Thi Que Mai, Do Thi Hoa, Ngo Thi Thu Phuong, Pham Nguyet Cam
Quality of Control, Vietnam Institute of Dietary Supplements, Hanoi, Vietnam

Abstract

A method using high performance liquid chromatography with UV - Vis detector was developed for quantification of taxifolin in supplements. In this study, the supplements were homogenized, extracted by ultrasonication with methanol. Taxifolin in test solution was separated on C18 column (250 × 4.6 mm, 5 μm) with mobile phase containing methanol and 0.3 % acetic acid solution (40 : 60) using isocratic elution at a flow rate of 1.0 mL/min, with UV detection at 290 nm. The analytical method was validated for specificity, linearity, precision and accuracy according to AOAC. The detector response for taxifolin was linear over the selected concentration range from 1.04 to 78.23 μg/mL with a correlation coefficient 0.9996. The repeatability (RSD, n = 7) were from 1.1 to 1.4 % respectively. The recovery was between 98.1 and 105.9 %. The method was successfully applied for analysis of taxifolin in 7 supplements at solid, liquid and oil form.

Keywords: *taxifolin, supplements.*