

**NGHIÊN CỨU PHƯƠNG PHÁP CHIẾT XUẤT
NHÓM ACID PHENOLIC VÀ FLAVONOID TRONG
LÁ CÂY MẮM ĐEN (*AVICENNIA OFFICINALIS*)**

*Nguyễn Văn Cường, Nguyễn Thị Ngọc Vân**

Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

**Email: nguyenthingocvanct@gmail.com*

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Mắm đen (*Avicennia officinalis*) là một trong những cây thực vật ngập mặn trồng nhiều ở các vùng ven biển Việt Nam. Các nhóm hợp chất acid phenolic, flavonoid trong cây có nhiều tác dụng dược lý quan trọng, nổi bật là kháng oxy hóa, kháng khuẩn, kháng ung thư. Tại Việt Nam, hiện chưa có nghiên cứu về phương pháp chiết xuất các nhóm hợp chất này trong lá cây. **Mục tiêu nghiên cứu:** Xây dựng quy trình chiết xuất các chất nhóm acid phenolic và flavonoid có trong lá cây Mắm đen ở huyện Thới Bình, tỉnh Cà Mau. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:**

Lá cây Mắm đen được thu hái ở huyện Thới Bình, tỉnh Cà Mau vào tháng 03/2022. Phương pháp chiết có hỗ trợ siêu âm được lựa chọn để tiến hành khảo sát với 6 yếu tố (dung môi chiết, tỉ lệ dung môi chiết, tỉ lệ dược liệu:dung môi, nhiệt độ chiết, thời gian chiết, số lần chiết). Hiệu quả chiết sẽ được đánh giá thông qua tổng diện tích pic của các chất nhóm acid phenolic và flavonoid bằng phương pháp HPLC đầu dò PDA. **Kết quả:** Dung môi chiết được lựa chọn là methanol với tỉ lệ MeOH/nước (80:20), tỉ lệ lượng dược liệu/dung môi chiết là 1:15, nhiệt độ chiết 45°C, thời gian siêu âm là 20 phút và chiết lặp lại 3 lần. **Kết luận:** Phương pháp chiết tối ưu hai nhóm hoạt chất acid phenolic và flavonoid từ lá cây Mắm đen (*Avicennia officinalis*) đạt hiệu suất chiết cao (>99%) và có độ lặp lại tốt với RSD <3%.

Từ khóa: Mắm đen, acid phenolic và flavonoid, chiết xuất có hỗ trợ siêu âm.

ABSTRACT

RESEARCH ON EXTRACTION METHOD OF PHENOLIC ACID AND FLAVONOID COMPOUNDS IN LEAVES OF AVICENNIA OFFICINALIS

Nguyen Van Cuong, Nguyen Thi Ngoc Van*
Can Tho University of Medicine and Pharmacy

Background: *Avicennia officinalis* is one of the many mangrove plants grown in the coastal areas of Vietnam. The groups of phenolic acid and flavonoid compounds in this plant have many important pharmacological effects such as antioxidant, antibacterial, and anti-cancer. In Vietnam, there is currently no research on the extraction method of these compounds in leaves. **Objective:** To develop an extraction method of phenolic acids and flavonoid compounds from the leaves of *Avicennia officinalis* in Thoi Binh district, Ca Mau province. **Subjects and methods:** The leaves of *Avicennia officinalis* were collected in Thoi Binh district, Ca Mau province in March 2022. The ultrasonic-assisted extraction method was selected to conduct the survey with 6 factors (extraction solvent, extraction solvent ratio, solid to liquid ratio, extraction temperature, extraction time, and times of extraction). The extraction efficiency will be evaluated through the total peak areas of phenolic acids and flavonoids by HPLC/PDA. **Results:** The extraction solvent selected was methanol with the ratio MeOH/water (80:20). The ratio of solid:liquid was 1:15. The ultrasonic-assisted extraction method was investigated in 20 minutes with 3 times of extraction at 45°C. **Conclusion:** The optimal extraction method of phenolic acids and flavonoids compounds from *Avicennia officinalis* leaves achieved high extraction efficiency (>99%) and good repeatability with RSD <3%.

Keywords: *Avicennia officinalis*, phenolic acid and flavonoid, ultrasonic-assisted extraction.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Mắm đen (*Avicennia officinalis* Acanthaceae) là một trong những cây thực vật ngập mặn phân bố rộng khắp từ châu Âu sang châu Á. Ở châu Á có thể gặp ở Trung Quốc, Nhật Bản, Hàn Quốc, Ấn Độ, Iran, Indonesia, Đài Loan, Việt Nam và các nước Đông Nam Á khác, ở các vùng bờ biển nước ta cây Mắm giá trị kinh tế không đáng kể nhưng là loài cây tiên phong lấn biển và góp phần rất lớn trong việc hình thành và phát triển của rừng ngập mặn. Qua các công trình nghiên cứu đã lược khảo, nhận thấy cây Mắm có những hoạt chất có tiềm năng kháng oxy hóa, dùng lá cây Mắm để làm giảm nồng độ men gan, cải thiện tổn thương gan do bệnh tiểu đường gây ra và có hoạt tính chống ung thư [9]. Cây Mắm là một cây thực vật có tiềm năng cho phát triển thuốc từ dược liệu. Tại Việt Nam chưa có công trình nghiên cứu về phương pháp chiết xuất hai nhóm hoạt chất này trong lá cây Mắm đen. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu với mục tiêu: Xây dựng quy trình chiết xuất các chất

nhóm acid phenolic và flavonoid có trong lá cây Mắm đen ở huyện Thới Bình tỉnh Cà Mau, Việt Nam.



Hình 1. Cây Mắm đen (*Avicennia officinalis* Acanthaceae)

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Lá cây Mắm đen được thu hái ở huyện Thới Bình tỉnh Cà Mau vào tháng 3/2022. Lá được loại bỏ tạp và phơi khô dưới bóng râm, xay nhỏ, rây qua cỡ rây 2mm, bảo quản ở nhiệt độ phòng và được kiểm tra dựa trên các chỉ tiêu kiểm nghiệm dược liệu của Dược điển Việt Nam V [2], với độ ẩm đạt (<13%).

- Dung môi - hóa chất:

+ Chất đối chiếu: Chlorogenic acid của Sigma-Aldrich, SDK, hàm lượng 98%, luteolin của Wuhan chemfaces, SDK, hàm lượng 98%.

+ Dung môi – hóa chất: Acetonitril (MeCN), methanol (MeOH), nước, ammonium acetat (HPLC, hãng Merck, Đức), *n*-hexan, acid formic (FA).

+ Trang thiết bị: Hệ thống UFLC Shidmadzu LC – 20AD của Nhật. Cột sắc ký Agilent C₁₈ (250mm x 4,6mm; 5µm) của Mỹ, cân phân tích OHAUS PIONEER PA214 của Mỹ, bể siêu âm ELMA S300 của Đức, máy ly tâm REXMED RCT-500 của Đài Loan.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Xây dựng quy trình chiết xuất tối ưu:

+ Qua tham khảo tài liệu [3] nhận thấy lá là bộ phận có thành phần các chất có hoạt tính sinh học cao nên nghiên cứu phương pháp chiết xuất được tiến hành trên lá.

+ Phương pháp chiết có hỗ trợ siêu âm được lựa chọn để tiến hành khảo sát vì những ưu điểm về thời gian chiết nhanh, không cần áp suất cao, điều chỉnh được thời gian và nhiệt độ, linh hoạt về dung môi chiết và phù hợp với quy mô kiểm nghiệm [10]. Tiến hành tối ưu 06 yếu tố với 05 mức độ khác nhau cho mỗi yếu tố: dung môi chiết (Methanol, ethanol, acetone, ethyl acetat, diclometan), tỉ lệ dung môi chiết:nước (100, 80, 70, 60, 50%), tỉ lệ lượng dược liệu và dung môi chiết (1:5, 1:10, 1:15, 20:1, 1:25), nhiệt độ chiết (30°C, 35°C, 40°C, 45°C, 50°C), thời gian chiết (5 phút, 10 phút, 15 phút, 20 phút, 25 phút), số lần chiết

(1, 2, 3, 4, 5 lần). Khi tiến hành khảo sát từng yếu tố ảnh hưởng thì điều kiện chiết cho những yếu tố còn lại được cố định.

+ Hiệu suất chiết sẽ được đánh giá thông qua tổng diện tích pic của các acid phenolic và flavonoid bằng phương pháp HPLC với đầu dò PDA.

- Phương pháp định lượng acid phenolic và flavonoid trong dịch chiết bằng phương pháp HPLC – PDA:

+ Cân 2g lá cây Mắm đen cho vào bình nón, thêm B mL dung môi A, sau đó siêu âm trong C phút, ở nhiệt độ D, lặp lại với E lần chiết. Gộp dịch chiết vào bình định mức, sau lần chiết cuối cùng, định mức đến vạch bằng MeOH, lắc đều, hút 10 mL dịch chiết qua ống ly tâm 15 mL. Sau đó thổi khô đến cân bằng khí N₂ ở 45⁰C, hòa tan cân với 2 mL hỗn hợp MeCN: MeOH: H₂O (25: 25: 50), lắc n-hexan loại tạp, lọc lớp dưới qua màng lọc Nylon 0,22 μm vào vial và tiến hành phân tích. Các yếu tố A, B, C, D, và E là kết quả của khảo sát quy trình.

+ Đánh giá: Tổng diện tích pic của hai nhóm hợp chất acid phenolic và flavonoid càng lớn phương pháp chiết càng hiệu quả.

+ Điều kiện sắc ký cụ thể như sau:

Cột: Cột sắc ký Agilent C₁₈ (250mm x 4,6mm; 5μm).

Pha động: Chương trình gradient gồm 03 thành phần thể hiện trong bảng 1.

Bước sóng phát hiện: 280nm

Thể tích tiêm mẫu: 20μL.

Bảng 1. Chương trình rửa giải gradient

Thời gian (phút)	Tỉ lệ pha động (tt/tt/tt)			Tốc độ dòng (mL/phút)
	MeCN	MeOH	0,2 % ammonium acetat, 0,1 % acid formic/H ₂ O	
0,0	3,0	7,0	90,0	1,0
17,0	7,0	3,0	90,0	1,0
32	7,0	9,0	84,0	1,0
41,0	7,0	10,0	83,0	1,0
48,0	7,0	11,0	82,0	1,0
55,0	11,0	15,0	74,0	1,0
72,0	9,0	18,0	73,0	1,0
86,0	0,0	20,0	80,0	1,0
90,0	3,0	7,0	90,0	1,0

- Xác định hiệu suất chiết nhóm hợp chất acid phenolic và flavonoid:

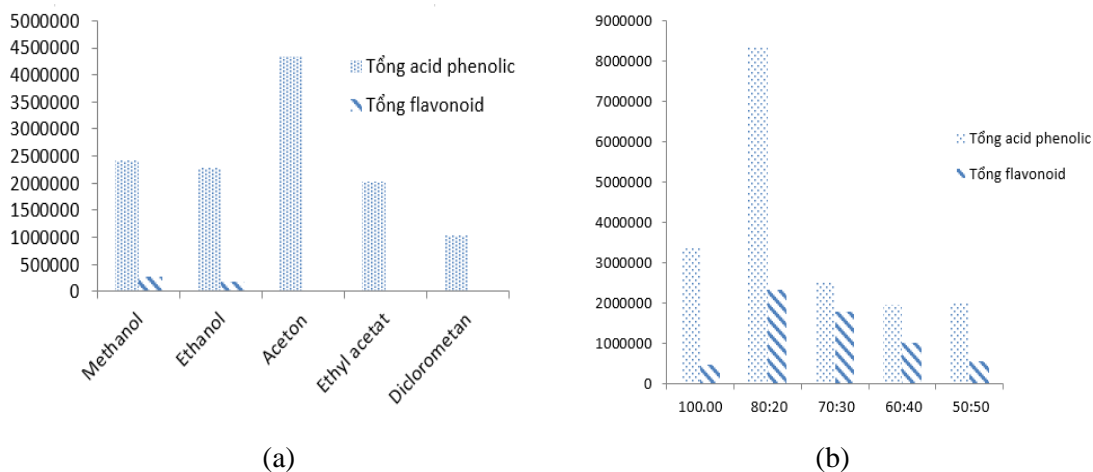
+ Sau khi chọn được phương pháp chiết tối ưu, tiến hành đánh giá hiệu suất chiết. Sau E lần chiết tối ưu, tiến hành phân tích thu được tổng diện tích đỉnh của acid phenolic và flavonoid là thông số X_r; bã dược liệu được chiết thêm một lần nữa với cùng điều kiện và tiến hành phân tích thu được thông số tổng diện tích đỉnh của hai nhóm hợp chất là X_b. Từ đó tính ra tỉ lệ phục hồi (hiệu suất chiết) của phương pháp theo công thức: $Y = \frac{X_r}{X_r + X_b} \times 100$

+ Trong đó: Y: Hiệu suất chiết (%), X_r: Tổng diện tích đỉnh sau E lần chiết tối ưu; X_b: Tổng diện tích đỉnh sau lần chiết cuối trên bã dược liệu.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Xây dựng phương pháp chiết tối ưu

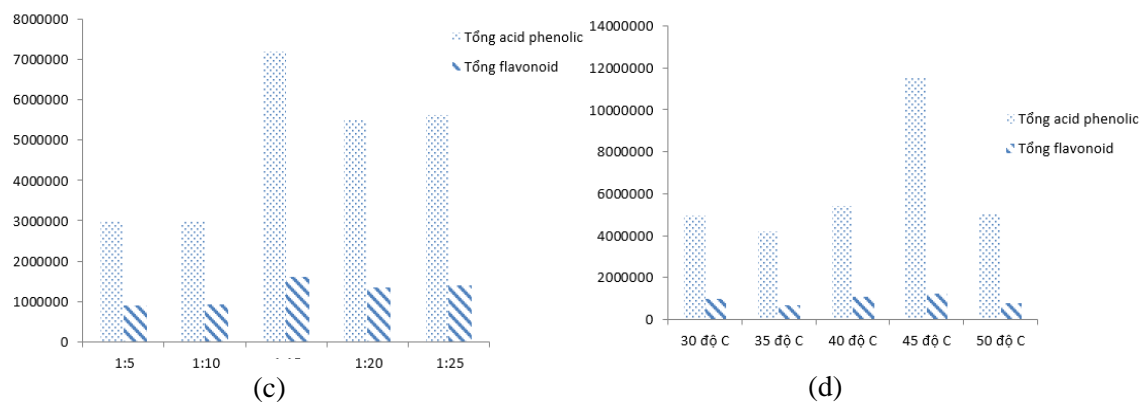
- Khảo sát dung môi chiết và tỉ lệ dung môi:



Hình 2. Đồ thị biểu diễn kết quả khảo sát dung môi chiết (a) và tỉ lệ dung môi chiết (b)

Nhận xét: Dựa vào độ phân cực của hai nhóm acid phenolic và flavonoid nằm trong khoảng phân cực đến phân cực trung bình [3], tiến hành khảo sát 5 loại dung môi chiết là methanol, ethanol, aceton, ethyl acetat, diclorometan thì trong đó dung môi Methanol (MeOH) cho hiệu suất chiết cao hơn dung môi ethanol (Hình 2a). Sau đó, khảo sát tỉ lệ dung môi chiết MeOH:H₂O từ 50% đến 100%, kết quả cho thấy nhóm hợp chất khảo sát cao nhất tại tỷ lệ MeOH:H₂O (80:20) (Hình 2b). Do đó, chọn tỉ lệ MeOH:H₂O (80:20) để tiếp tục khảo sát các bước tiếp theo.

- Khảo sát tỉ lệ khối lượng dược liệu/thể tích dung môi chiết:



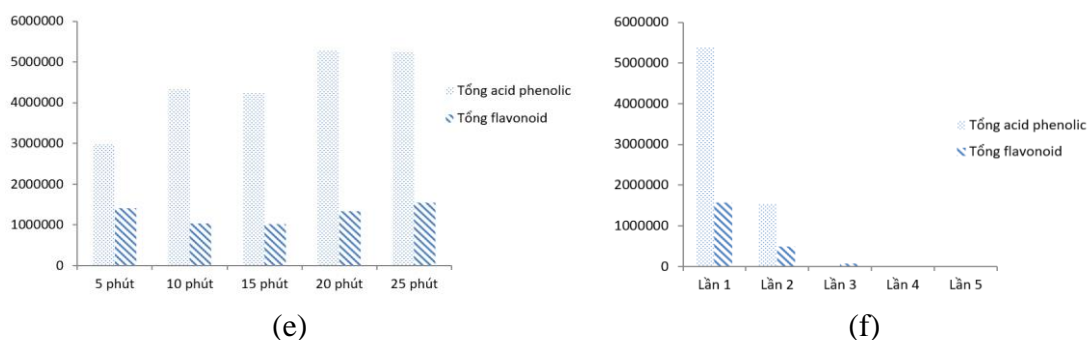
Hình 3. Đồ thị biểu diễn kết quả khảo sát tỉ lệ lượng dược liệu/thể tích dung môi chiết (c) và nhiệt độ chiết (d)

Nhận xét: Qua kết quả cho thấy khi tăng dần thể tích dung môi chiết, tổng diện tích đỉnh của acid phenolic và flavonoid tăng dần đến bão hòa tại tỉ lệ 1:15, sau đó giảm xuống ở tỉ lệ 1:20. Do đó, nhóm nghiên cứu chọn tỉ lệ 1:15 để tiếp tục khảo sát yếu tố tiếp theo (hình 3c).

- Khảo sát nhiệt độ chiết: Nhiệt độ chiết khảo sát từ 30⁰C đến 50⁰C, kết quả cho thấy chiết ở nhiệt độ từ 30⁰C đến 35⁰C thì tổng diện tích đỉnh của hai nhóm không tăng, sau khi tăng nhiệt độ lên 40⁰C tổng diện tích đỉnh hai nhóm bắt đầu tăng lên. Tổng diện tích đỉnh của nhóm acid phenolic tăng lên đạt cực đại tại nhiệt độ 45⁰C, từ đó cho thấy tại nhiệt độ 45⁰C là quá trình có hiệu suất chiết đạt cao nhất (hình 3d).

- Khảo sát thời gian chiết siêu âm: Chiết có hỗ trợ siêu âm, hiệu suất chiết hoạt chất nhóm acid phenolic tăng dần theo thời gian và đạt cực đại tại 20 phút. Nhóm flavonoid có dấu hiệu giảm ở thời gian chiết 10 và 15 phút nhưng tăng lên và ổn định ở thời gian 20 phút. Tổng diện tích đỉnh 2 nhóm hợp chất ở thời gian 20 và 25 phút gần như tương đương nhưng tạp chất thu được ở thời gian 25 phút cao hơn. Do đó, chọn thời gian chiết siêu âm cho mỗi lần chiết là 20 phút (hình 4e).

Khảo sát số lần chiết: Tiến hành khảo sát số lần chiết từ 1 đến 5 lần. Kết quả cho thấy sau khi chiết lần 3, lượng hoạt chất còn lại trong bã dược liệu của flavonoid, do đó, sau 3 lần chiết, hoạt chất đã được chiết kiệt ra khỏi dược liệu (hình 4f).



Hình 4. Đồ thị biểu diễn kết quả khảo sát thời gian chiết (e) và số lần chiết (f)

Kết luận: Phương pháp chiết được lựa chọn bao gồm dung môi chiết là methanol với tỉ lệ MeOH/nước (80:20), tỉ lệ lượng dược liệu/dung môi chiết là 1:15, nhiệt độ chiết 45⁰C, thời gian siêu âm là 20 phút và chiết lặp lại 3 lần.

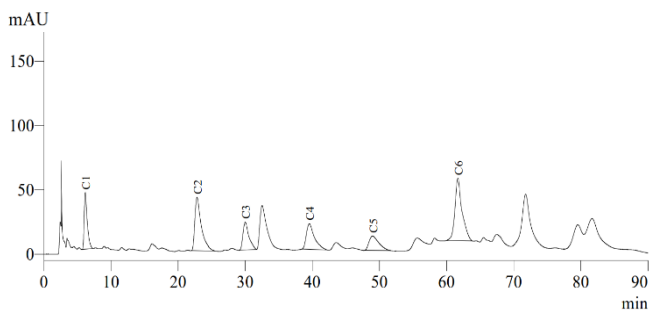
3.2. Xác định hiệu suất chiết nhóm hợp chất acid phenolic và flavonoid

Bảng 2. Hiệu suất chiết acid phenolic và flavonoid trong lá cây Mắm đen

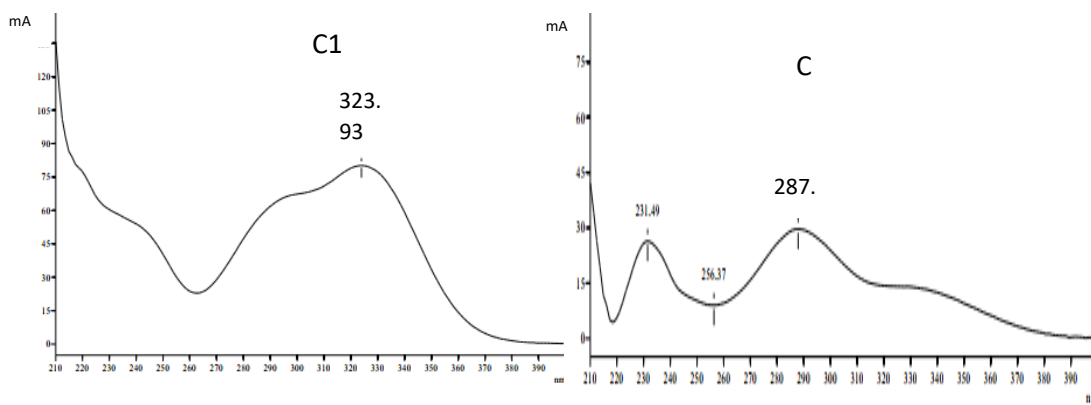
STT	Acid phenolic		Flavonoid	
	Diện tích đỉnh (mAu)	Hiệu suất chiết (%)	Diện tích đỉnh (mAu)	Hiệu suất chiết (%)
1	7285417	99,92	2292473	99,99
2	7006890	99,84	2233099	99,99
3	7181256	99,82	2370579	99,99
4	7282183	99,49	2311008	99,50
5	7259079	99,99	2374701	99,05
6	7465316	99,99	2349438	99,12
Trung bình	7246690,167	99,84	2321883	99,61
RSD %	2,06		2,34	

Nhận xét: Kết quả cho thấy phương pháp chiết có hỗ trợ siêu âm đã xây dựng có hiệu suất chiết cao (>99%) và có độ lặp lại tốt với RSD% lần lượt là 2,06% và 2,34% cho

acid phenolic và flavonoid. Từ đó cho thấy có thể ứng dụng phương pháp này để định lượng hoạt chất trong dược liệu.



Hình 5. Sắc ký đồ mẫu lá cây Mắm đen chiết theo phương pháp chiết tối ưu trong đó C1, C2, C3 và C6 là nhóm acid phenolic; C4 và C5 là nhóm flavonoid



Hình 6. Phổ UV chất C1 là nhóm acid phenolic và chất C4 là nhóm flavonoid của mẫu lá cây Mắm đen

IV. BÀN LUẬN

Dựa vào độ phân cực của hai nhóm acid phenolic và flavonoid nằm trong khoảng phân cực đến phân cực thấp [5], do đó tiến hành khảo sát 5 loại dung môi chiết là MeOH, EtOH, aceton, EtOAc, CH₂Cl₂ thì trong đó dung môi MeOH và EtOH là chiết được hai nhóm acid phenolic và flavonoid, với 3 dung môi chiết còn lại chiết được nhóm acid phenolic, trong đó dung môi chiết MeOH cho hiệu suất chiết cao hơn dung môi EtOH (hình 2a). Sau đó, khảo sát tỉ lệ dung môi chiết từ 50% đến 100% MeOH:H₂O, kết quả cho thấy khi tăng dần tỉ lệ MeOH trong hỗn hợp, tổng diện tích đỉnh của cả acid phenolic và flavonoid đều tăng và đạt cực đại tại 80%, sau đó giảm xuống tại 100% (hình 2b). Khi tăng dần tỉ lệ dung môi hữu cơ trong hỗn hợp, độ nhớt của dung môi chiết giảm dần, giúp cho dung môi hữu cơ dễ dàng thấm vào mô tế bào dược liệu làm cho cấu trúc tế bào dược liệu được phá vỡ và quá trình chiết hiệu quả hơn. Tuy nhiên, khi tỉ lệ dung môi hữu cơ tăng qua điểm cực đại, hỗn hợp dung môi trở nên kém phân cực hơn, thể hiện qua việc có hiệu suất chiết acid phenolic và flavonoid kém hơn cũng như chiết ra nhiều tạp kém phân cực hơn.

Tiếp tục khảo sát tỉ lệ lượng dược liệu và thể tích dung môi chiết thì khi tăng dần thể tích dung môi chiết, tổng diện tích đỉnh của acid phenolic và flavonoid tăng dần đến bão

hòa tại tỉ lệ 1:15, sau đó giảm xuống ở tỉ lệ 1:20, từ tỉ lệ 1:20 cố định đến tỉ lệ 1:25 (hình 3c). Sau đó, khảo sát nhiệt độ chiết từ 30⁰C đến 50⁰C, kết quả cho thấy chiết ở nhiệt độ từ 30⁰C đến 35⁰C thì tổng diện tích đỉnh của hai nhóm không tăng, sau khi tăng nhiệt độ thì thấy tổng diện tích đỉnh hai nhóm bắt đầu tăng. Tuy nhiên, khi nhiệt độ tăng thì tổng diện tích đỉnh của nhóm acid phenolic tăng đạt cực đại tại nhiệt độ 45⁰C. Sau nhiệt độ 45⁰C diện tích đỉnh của hai nhóm không tăng mà giảm xuống nhiều, cho thấy tại nhiệt độ 45⁰C là quá trình chiết đạt hiệu suất cao nhất (hình 3d).

Chiết có hỗ trợ siêu âm từ 5 phút đến 25 phút, hiệu suất chiết hoạt chất nhóm acid phenolic tăng dần theo thời gian và đạt cực đại tại 20 phút và cố định tại 25 phút. Tuy nhiên, hiệu suất chiết tổng diện tích đỉnh nhóm flavonoid có dấu hiệu giảm xuống từ 10 phút đến 15 phút, nhưng tạp chất tăng cao, sau đó tổng diện tích đỉnh của hai nhóm acid phenolic và flavonoid tăng đạt cực đại tại 20 phút, trong đó tổng diện tích đỉnh các tạp chất giảm xuống nhiều ở tại 20 phút. Do đó, chọn thời gian chiết siêu âm của mỗi lần chiết là 20 phút (hình 4e). Kết quả cho thấy sau khi chiết lần 3, lượng hoạt chất còn lại trong bã dược liệu của flavonoid lần lượt là khoảng 0,005% và 0,846% (<2%), do đó, sau 3 lần chiết, hoạt chất đã được chiết kiệt ra khỏi dược liệu (bảng 2).

Phương pháp chiết có hỗ trợ siêu âm đã xây dựng có hiệu suất chiết cao (>99%) và có độ lặp lại tốt với RSD% lần lượt là 2,06 % cho acid phenolic và 2,34 % cho flavonoid, đã chứng minh chiết hoạt chất bằng siêu âm không ảnh hưởng đến độ ổn định của chất chiết được trong lá mầm (trong đó có nhóm flavonoid và acid phenolic). Từ đó cho thấy có thể ứng dụng phương pháp này để định lượng nhóm hoạt chất trong lá cây mầm [10].

V. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, đã bước đầu khảo sát được phương pháp chiết tối ưu hai nhóm hoạt chất acid phenolic và flavonoid từ lá cây Mắm đen (*Avicennia officinalis* Acanthaceae) bằng phương pháp chiết hỗ trợ siêu âm. Phương pháp chiết đã xây dựng có thời gian chiết nhanh (20 phút), đơn giản, dung môi chiết ít độc hại, hiệu suất chiết cao (>99%) và có độ lặp lại tốt với RSD < 3%, đây là phương pháp đơn giản, nhanh có thể ứng dụng trong việc xây dựng phương pháp định lượng chất chỉ điểm sinh học trong lá cây Mắm đen nhằm góp phần cho việc kiểm soát chất lượng của dược liệu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Huy Bích (2006), Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam. Tập II, NXB khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, tr.238-239.
2. Hội đồng Dược điển (2018), Dược điển Việt Nam V, NXB Y học.
3. Ngọc Van Thi Nguyen và cộng sự (2021), “Effect of extraction solvent on total phenol, flavonoid content, and antioxidant activity of *Avicennia officinalis*”, *Biointerface research in applied chemistry*, volume 12, issue 2, 2022, 2678-2690.
4. Phạm Hoàng Hộ (2003), Cây cỏ Việt Nam, Quyển II, Nhà xuất bản, tr.843.
5. Viện Dược liệu (2006), Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo, NXB khoa học và kỹ thuật, Hà Nội, tr.279-293.
6. Das, S.K.; Samantaray, D.; Sahoo, S.K.; Patra, J.K.; Samanta, L.; Thatoi, H. (2019), “Bioactivity guided isolation and structural characterization of the antidiabetic and antioxidant compound from bark extract of *Avicennia officinalis* L”. *South African Journal of Botany*, 125, 109-115.

7. Kaurinovic B, Vastag D (2019), “ Flavonoid and phenolic acids as potential natural antioxidants” *Intech open*, pp,1-4.
8. K.shanmugapriya, P.S.saravana, Harsha payal, S.Peer mohammed, Williams binnie (2011), “Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents contents of artocarpus heterophyllus and manilkara zapota seeds and its reduction petential”, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol 3, Suppl 5, 256-260.
9. P.Lalitha, A.Parthiban, V.Sachithanandam, R.Purvaja, R.Ramesh (2021), “Antibacterial and antioxidant potential of GC-MS analysis of crude ethyl acetate extract from the tropical mangrove plant Avicennia officinalis L”, *South African Journal of Botany*, 142, 149-155
- 10.Tarun Belwal, Shahira M. Ezzat, Luca Rastrelli *and et al.* (2018);“A critical analysis of extraction techniques used for botanicals: Trends, priorities, industrial uses and optimization strategies”, *Trends in Analytical Chemistry*, 0165-9936.

(Ngày nhận bài: 14/8/2022 – Ngày duyệt đăng: 30/9/2022)
