

TỐI ƯU HÓA QUY TRÌNH CHIẾT XUẤT CAO CHIẾT TỪ QUẢ CÂY THÙ LÙ CẠNH (*PHYSALIS ANGULATA* L.)

Lê Văn Liên¹, Nguyễn Ngọc Nhã Thảo², Dương Tuyết Ngân²,
Lê Thị Minh Ngọc², Nguyễn Thị Ngọc Vân^{2*}

1. Công ty trách nhiệm hữu hạn Dược phẩm VME

2. Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

*Email: ntnvan@ctump.edu.vn

Ngày nhận bài: 18/5/2025

Ngày phản biện: 13/7/2025

Ngày duyệt đăng: 25/7/2025

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Thù lù cạnh (*Physalis angulata* L.) là một loại cây thân thảo mọc ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới. Chất acid chlorogenic trong cây có nhiều tác dụng dược lý quan trọng, đặc biệt là kháng oxy hóa, kháng khuẩn, kháng viêm, kháng ung thư, gây độc tế bào và điều hòa miễn dịch. Tại Việt Nam, hiện chưa có nhiều công trình nghiên cứu về phương pháp chiết xuất chất này trong quả cây. **Mục tiêu nghiên cứu:** Nghiên cứu quy trình chiết xuất cao chiết chứa acid chlorogenic từ quả cây Thù lù cạnh ở tỉnh Kiên Giang. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Quả cây Thù lù cạnh được thu hái ở tỉnh Kiên Giang vào tháng 5/2024. Phương pháp ngâm nóng được lựa chọn để tiến hành khảo sát với 2 yếu tố gồm lượng dung môi chiết và nhiệt độ chiết. Hiệu quả chiết sẽ được đánh giá thông qua tổng diện tích pic của chất acid chlorogenic bằng phương pháp HPLC đầu dò PDA và lượng chất chiết được trong dịch chiết. Kết quả sẽ được đưa vào phần mềm BC Pharsoft để tìm thông số tối ưu. **Kết quả:** Đã thực hiện chiết xuất bằng phương pháp ngâm nóng với mức tỉ lệ dược liệu so với dung môi là gấp 10; 15 và 20 lần; nhiệt độ chiết 40°C, 60°C và 80°C, trong đó quy trình tối ưu tìm được với thông số tỉ lệ dung môi gấp 17,6 lần dược liệu và nhiệt độ tối ưu ~ 69°C, hàm lượng acid chlorogenic 37,97µg/g và lượng chất chiết được 270,52µg/g. **Kết luận:** Quy trình chiết và điều chế cao từ quả cây Thù lù cạnh (*Physalis angulata* L.) đã được nghiên cứu thành công bằng phương pháp ngâm nóng, đơn giản, dễ áp dụng ở quy mô công nghiệp.

Từ khóa: Thù lù cạnh, acid chlorogenic và phương pháp ngâm nóng.

ABSTRACT

OPTIMIZATION ON THE EXTRACTION PROCESS OF EXTRACT FROM THE FRUIT OF *PHYSALIS ANGULATA* L.

Le Van Lien¹, Nguyen Ngoc Nha Thao², Duong Tuyet Ngan²,
Le Thi Minh Ngoc², Nguyen Thi Ngoc Van^{2*}

1. VME Pharmaceutical Limited Liability Company

2. Can Tho University of Medicine and Pharmacy

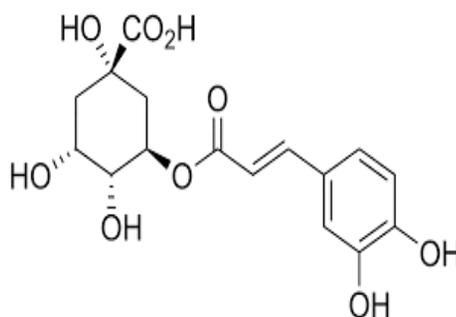
Background: *Physalis angulata* L., commonly known as ground cherry, is an herbaceous plant widely distributed in tropical and subtropical regions. Chlorogenic acid, a major bioactive compound found in this plant, exhibits a wide range of pharmacological activities, notably antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory, anticancer, cytotoxic, and immunomodulatory effects. In Vietnam, studies on the extraction of this compound from the fruit of *Physalis angulata* remain limited. **Objective:** To investigate the extraction process of chlorogenic acid-enriched extract from the fruit of *Physalis angulata* collected in Kien Giang province. **Materials and methods:** Fruits of *Physalis angulata* were collected in Kien Giang province in May 2024. Hot maceration was selected as the extraction method, focusing on two variables: solvent-to-material ratio and extraction

temperature. Extraction efficiency was evaluated based on the total peak area of chlorogenic acid determined by HPLC with PDA detection, along with the total extractable solids obtained. Optimization of extraction parameters was performed using BC Pharsoft software. **Results:** The extraction was carried out using hot maceration with solvent-to-material ratios of 10, 15, and 20 (v/w), and extraction temperatures of 40°C, 60°C, and 80°C. The optimal extraction conditions were determined to be a solvent-to-material ratio of 17.6 l and an extraction temperature of approximately 69°C. Under these conditions, the chlorogenic acid content reached 37.97 µg/g, and the extract yield was 270.52µg/g. **Conclusion:** The extraction and preparation process for obtaining chlorogenic acid-enriched extract from *Physalis angulata* fruits was successfully developed using the hot maceration method. This method is simple and can be feasibly applied on an industrial scale.

Keywords: *Physalis angulata* L., chlorogenic acids and hot maceration method.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Thù lù cạnh (*Physalis angulata* L.) là một loại cây thân thảo mọc ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới ở nhiều nơi trên thế giới bao gồm Châu Á, Trung và Nam Mỹ, Châu Phi và Quần đảo Thái Bình Dương. Thù lù cạnh (*Physalis angulata* L.) có nhiều tác dụng dược lý có giá trị bao gồm chống viêm, kháng khuẩn, chống ung thư, gây độc tế bào và điều hòa miễn dịch, chống oxy hóa... [1], [2]. Đây cũng là một dược liệu được sử dụng lâu đời, khá phổ biến trong dân gian Việt Nam và được sử dụng trong Y học cổ truyền với nhiều công dụng như trị các bệnh sốt siêu vi, sốt xuất huyết, sỏi, hồng ban, thủy đậu, bệnh tay chân miệng... [3], [4]. Thành phần hóa học chính trong cây bao gồm acid phenolic, flavonoid, alkaloid và các steroid; Trong đó, hai nhóm acid phenolic và flavonoid được chứng minh có tính kháng oxy hóa trong cây [5], [6]. Tại Việt Nam, chưa có nhiều công trình nghiên cứu về phương pháp chiết xuất hoạt chất acid chlorogenic trong quả cây Thù lù cạnh. Do đó, nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu: Xây dựng quy trình chiết xuất chất acid chlorogenic có trong quả cây Thù lù cạnh ở tỉnh Kiên Giang, Việt Nam.



Hình 1. Cây Thù lù cạnh (*Physalis angulata* L.) và cấu trúc acid chlorogenic

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Quả cây Thù lù cạnh được thu hái ở tỉnh Kiên Giang vào tháng 5/2024, quả còn non và được định danh bởi Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ. Quả được loại bỏ bao vỏ và phơi khô dưới bóng râm, xay nhỏ, rây qua cỡ rây 2 mm, 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 [7], với độ ẩm đạt (< 13%).

- **Chất đối chiếu:** Chlorogenic acid của Sigma-Aldrich, hàm lượng 98%.

- **Dung môi - hóa chất:** Acetonitril (ACN), 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 (250 mm x 4,6 mm; 5 μm) 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

Qua tham khảo tài liệu [8], [9] nhận thấy quả cây Thù lù cạnh là bộ phận có thành phần các chất hoạt tính sinh học, đặc biệt chất acid chlorogenic và để chiết được hoạt chất này, phương pháp chiết xuất ngâm nóng được tiến hành khảo sát.

Phương pháp ngâm nóng là phương pháp ngâm được thực hiện ở nhiệt độ cao hơn ở nhiệt độ phòng nhưng dưới nhiệt độ sôi của dung môi. Tiến hành khảo sát trên 2 yếu tố với 3 mức độ khác nhau cho mỗi yếu tố. Các yếu tố bao gồm tỉ lệ lượng dung môi chiết so với dược liệu (gấp 10, 15 và 20 lần), nhiệt độ chiết (40°C, 60°C và 80°C). Khi tiến hành khảo sát từng yếu tố ảnh hưởng thì điều kiện chiết cho những yếu tố còn lại được cố định bao gồm: thời gian chiết (60 phút), số lần chiết (1 lần) và dung môi chiết (Hỗn hợp EtOH/Nước).

Dịch chiết thu được từ các lô khảo sát sẽ được đánh giá lựa chọn dựa vào hàm lượng chất acid chlorogenic bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) và lượng chất chiết được từ dược liệu.

Tối ưu hóa quy trình chiết cao

Dữ liệu nghiên cứu từ các quy trình chiết sẽ được đưa vào tối ưu hóa bằng phần mềm BC-Pharsoft để xác định mối liên quan nhân quả và xác định công thức tối ưu.

Phương pháp đánh giá lượng chất chiết được trong dịch chiết

Cách tiến hành: Chén sứ chứa dịch chiết được sấy đến khối lượng không đổi và sau đó cân bì chén sứ. Lấy chính xác 30mL dịch chiết quả cây Thù lù cạnh (*Physalis angulata* L.) cho vào chén sứ đã cân bì trước đó, làm bay hơi đến khô trên bếp cách thủy và sấy khô ở 100°C đến 105°C trong 3 giờ, để nguội và cân. Tính số gam cần thu được. Từ đó, suy ra lượng chất chiết được trong dịch chiết.

$$\text{Lượng chất chiết được} = \frac{a \cdot b \cdot 10^3}{30 \cdot c}$$

Trong đó:

a: Khối lượng cần thu được (g).

b: Thể tích dịch chiết thu được từ c (g) dược liệu (mL).

c: Khối lượng dược liệu chiết (g).

Phương pháp định lượng acid chlorogenic trong cao chiết bằng phương pháp HPLC-PDA

- Cách tiến hành: Cân 0,2g cao chiết quả cây Thù lù cạnh (*Physalis angulata* L.) cho vào bình định mức 10mL, bổ sung thể tích vừa đủ đến vạch bằng dung môi pha động, sau đó lọc qua màng lọc 0,45μm vào vial và tiến hành phân tích.

- Đánh giá: Tổng diện tích pic hoạt chất acid chlorogenic càng lớn phương pháp chiết càng hiệu quả.

- Điều kiện sắc ký cụ thể như sau:

+ Cột: Cột sắc ký Kromasil RP-C₁₈ (150mm 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)
	0,1 % FA/MeCN	MeOH	0,2 % ammonium acetat, 0,1 % FA/H ₂ O	
0,0	0,0	5,0	95,0	1,0
1,0	0,0	5,0	95,0	1,0
18	5,0	10,0	85,0	1,0
48,0	20,0	10,0	70,0	1,0

Hàm lượng acid chlorogenic được tính theo công thức sau:

$$\text{Hàm lượng acid chlorogenic} = \frac{x \cdot d \cdot 10^3}{y}$$

Trong đó:

x: Nồng độ (µg/g)

d: Độ pha loãng

y: Khối lượng cao (g)

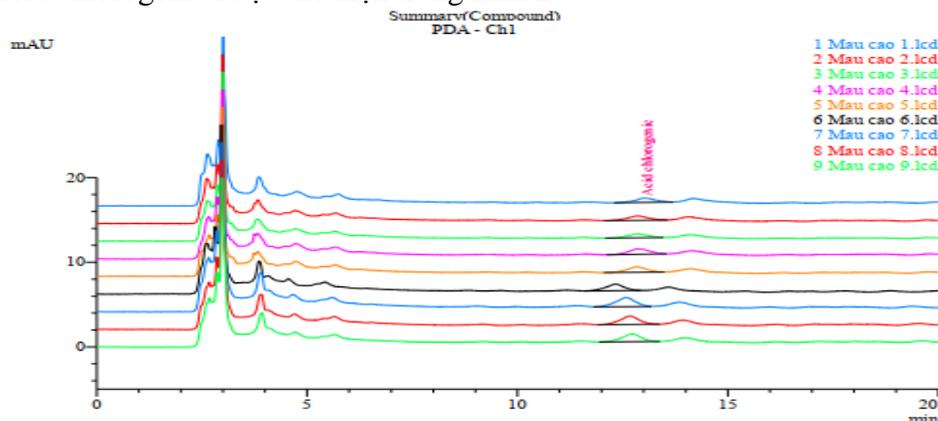
III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Tiến hành chiết xuất bằng phương pháp ngâm nóng với 2 yếu tố, mỗi yếu tố 3 mức độ khác nhau bao gồm: lượng dung môi chiết so với dược liệu (gấp 10, 15, và 20), nhiệt độ chiết (40°C, 60°C và 80°C). Khi tiến hành khảo sát từng yếu tố ảnh hưởng thì điều kiện chiết cho những yếu tố còn lại được cố định: thời gian chiết (60 phút), số lần chiết (1 lần) và dung môi chiết (Hỗn hợp EtOH/Nước).

Dịch chiết thu được từ các lô khảo sát được đánh giá dựa vào hàm lượng chất acid chlorogenic bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) và lượng chất chiết được từ dược liệu.

Kết quả định lượng acid chlorogenic trong cao chiết bằng phương pháp HPLC-PDA

Tiến hành thu mẫu cao chiết và xử lý mẫu đồng thời pha mẫu để định lượng hàm lượng acid chlorogenic bằng phương pháp HPLC-PDA. Sắc ký đồ các mẫu xác định hàm lượng acid chlorogenic được thể hiện trong hình 2.

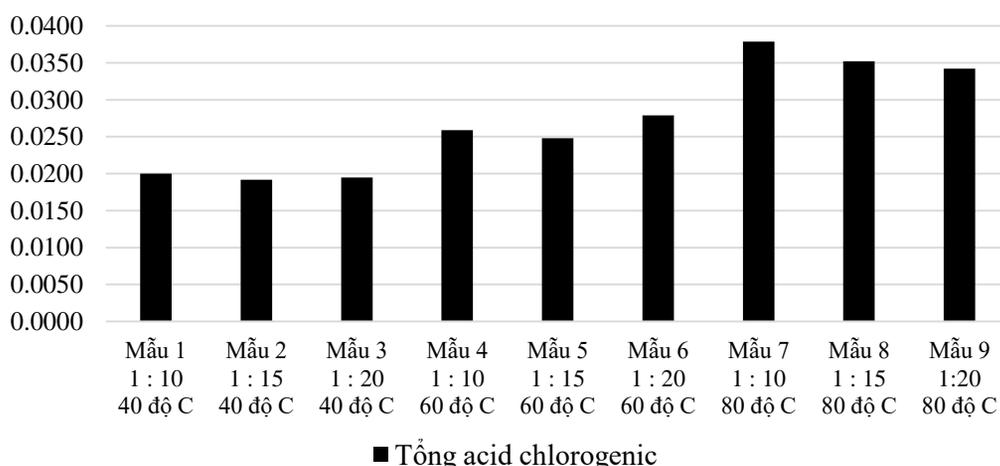


Hình 2. Sắc ký đồ mẫu quả cây Thù lù cạnh chiết theo phương pháp chiết tối ưu, tại mẫu 7 có diện tích pic và hàm lượng acid chlorogenic cao nhất với 37,97µg/g

Nhận xét: Từ kết quả diện tích pic tính được hàm lượng acid chlorogenic trong 1g cao chiết. Kết quả thể hiện ở Hình 2 và Bảng 2.

Bảng 2. Hàm lượng acid chlorogenic chiết được của các mẫu

Mẫu	Diện tích đỉnh (mAu)	Hàm lượng acid chlorogenic ($\mu\text{g/g}$ cao)
1	17390	20,08
2	17698	19,23
3	16250	19,53
4	22731	25,93
5	20980	24,86
6	23538	27,93
7	35142	37,97
8	31829	35,27
9	28919	34,20



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

Nhận xét: Kết quả cho thấy ở mẫu số 7 cho hàm lượng acid chlorogenic trong 1g cao chiết cao nhất. Các mẫu cao 7, 8 và 9 ở nhiệt độ chiết là 80°C đều đạt hàm lượng cao hơn so với 2 nhiệt độ còn lại.

Kết quả đánh giá lượng chất chiết được từ dược liệu

Lượng chất chiết được trong dược liệu được trình bày trong bảng 3 như sau:

Bảng 3. Lượng chất chiết được trong dược liệu

Mẫu	Khối lượng dược liệu chiết (g)	Thể tích dịch chiết thu được (mL)	Khối lượng cân thu được (g)	Lượng chất chiết được ($\mu\text{g/g}$ dược liệu)
1	5	34	0,7869	178,36
2	5	58	0,5498	212,59
3	5	82	0,3178	173,73
4	5	34	0,8132	184,33
5	5	57	0,7119	270,52
6	5	82	0,4203	229,76
7	5	33	0,8545	187,99
8	5	57	0,5870	223,06
9	5	79	0,4626	243,64

Nhận xét: Qua kết quả cho thấy khi tăng dần thể tích dung môi chiết và tăng dần nhiệt độ chiết ở các mức 40°C, 60°C và 80°C thì lượng chất chiết được trong dịch chiết có thay đổi tăng dần. Lượng chất chiết được đạt cao nhất ở mẫu số 5.

Tối ưu hóa quy trình chiết cao

Mô hình thực nghiệm với 2 biến x_1 (Tỉ lệ dược liệu/dung môi) và x_2 (Nhiệt độ (°C)) mỗi biến 3 mức và các dữ liệu kiểm nghiệm các biến phụ thuộc là y_1 và y_2 từ bảng 2 và bảng 3 được đưa vào phần mềm BC-Pharsoft để xác định mối liên quan nhân quả và tối ưu hóa thông số quy trình.

Điều kiện tối ưu hóa cho biến phụ thuộc: y_1 (Hàm lượng acid chlorogenic ($\mu\text{g/g}$ cao)): Càng lớn càng tốt; y_2 (Lượng chất chiết được ($\mu\text{g/g}$ dược liệu)): Càng lớn càng tốt.

Kết quả luyện mạng: y_1 cho R^2 luyện=0,9; R^2 thử=0,95 và $R^2=0,92$. y_2 cho R^2 luyện=0,93; R^2 thử=0,9 và $R^2=0,93$.

Khoảng ràng buộc của biến đầu vào: $10 \leq x_1 \leq 20$; $40 \leq x_2 \leq 80$.

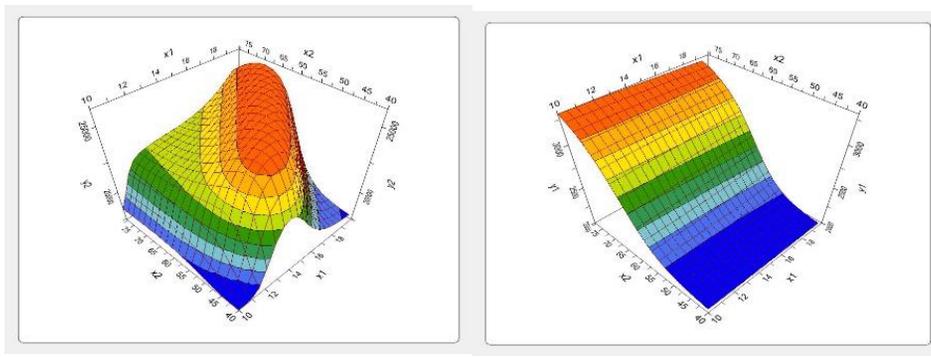
Khoảng ràng buộc của biến đầu ra: $y_1 \geq 28,61$; $y_2 \geq 222,12$.

Kết quả đề xuất công thức tối ưu đạt được bao gồm $x_1 = 17,6$ và $x_2 = 68,7$; Các giá trị y từ kết quả tối ưu đạt được gồm $y_1 = 30,30$ ($\mu\text{g/g}$ cao) và $y_2 = 253,03$ ($\mu\text{g/g}$ dược liệu).

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng quy trình chiết cao dược liệu bằng phương pháp ngâm nóng với dung môi là hỗn hợp ethanol-nước. Phương pháp ngâm nóng đã xây dựng có lượng chất chiết được đạt 253,03 ($\mu\text{g/g}$ dược liệu), hàm lượng acid chlorogenic đạt 30,30 ($\mu\text{g/g}$ cao) và đã chứng minh phương pháp ngâm nóng ở nhiệt độ phù hợp không ảnh hưởng đến độ ổn định của chất chiết được trong quả cây Thù lù cạnh (trong đó có chất acid chlorogenic). Do có sự gia nhiệt nên quá trình chiết xảy ra nhanh hơn, dịch chiết thu được có nồng độ cao hơn và ít tổn dung môi [10].

Kết quả tối ưu hóa quy trình đã xác định được lượng dung môi cần thiết gấp 17,6 lần dược liệu và nhiệt độ chiết ở 68,7°C. Biểu đồ 3D thể hiện mối quan hệ của các biến độc lập và biến phụ thuộc được thể hiện trong hình 4. Khi khảo sát tỉ lệ lượng dược liệu/thể tích dung môi chiết và nhiệt độ thì khi tăng dần thể tích dung môi chiết với tỉ lệ 1:10, 1:15, 1:20 và nhiệt độ chiết ở những mức độ khác nhau 40°C, 60°C và 80°C thì tổng diện tích đỉnh của chất acid chlorogenic có thay đổi từ mẫu 1 đến mẫu 9. Kết quả cho thấy khi nhiệt độ tăng thì lượng chất chiết được càng nhiều trong khi ở cùng mức nhiệt độ hầu như tỉ lệ dung môi tăng lên cũng không làm thay đổi lượng chất chiết được đáng kể hình 4. Xét về ảnh hưởng của các yếu tố khảo sát đến hàm lượng acid chlorogenic chiết được trong 1 g cao thì cho thấy nhiệt độ chiết hầu như không ảnh hưởng đến lượng acid chlorogenic chiết được trong 1 g cao trong khi lượng dung môi tối ưu là khoảng gấp 17,6 lần so với dược liệu. Lượng dung môi ít hơn thì hàm lượng đạt được thấp hơn trong khi lượng dung môi cao hơn thì lượng acid chlorogenic chiết được trong 1 g cao lại giảm lại. Điều này có thể là do khi lượng dung môi dư thừa đã chiết đến phần tạp chất có trong dược liệu và làm giảm tỉ lệ hoạt chất trong cao chiết [5], [10]. Từ những nhận định và kết quả trên, nhóm nghiên cứu chọn lượng dung môi cần thiết gấp 17,6 lần dược liệu và nhiệt độ chiết ở ~ 69°C để thực hiện các nghiên cứu.



Hình 4. Biểu đồ 3D thể hiện mối liên quan giữa biến độc lập x_1 : Lượng dung môi so với dịch chiết; x_2 : Nhiệt độ chiết với biến phụ thuộc y_1 : Hàm lượng acid chlorogenic ($\mu\text{g/g}$ cao) và biến phụ thuộc y_2 : Lượng chất chiết được ($\mu\text{g/g}$ dược liệu).

V. KẾT LUẬN

Đã khảo sát được phương pháp chiết tối ưu hoạt chất acid chlorogenic từ quả cây Thù lù cạnh (*Physalis angulata* L.) bằng kỹ thuật ngâm nóng. Với các thí nghiệm khảo sát chiết xuất bằng phương pháp ngâm nóng với mức tỉ lệ dung môi so với dược liệu là gấp 10; 15 và 20 lần; nhiệt độ chiết 40°C, 60°C và 80°C đã tìm được quy trình tối ưu với thông số tỉ lệ dung môi gấp 17,6 lần dược liệu và nhiệt độ tối ưu ~ 69°C. Phương pháp ngâm nóng đơn giản, dung môi chiết ít độc hại, có thể ứng dụng trong việc sản xuất cao ở quy mô công nghiệp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hoàng Thái Hòa. Nghiên cứu đặc điểm thực vật, thành phần hóa học và một số tác dụng sinh học của cây Tầm bóp (*Physalis angulata* L.), họ Cà (Solanaceae). Viện Dược liệu. 2023. 24.
2. Ayodhyareddy P., Rupa P.. Ethno medicinal, phyto chemical and therapeutic importance of *Physalis angulata* L.: A review. *International Journal of Science and Research*. 2016. 5(5), 2122-2127.
3. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương và cộng sự. Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội. 2006. 792. Tập II.
4. Phạm Hoàng Hộ. Cây cỏ Việt Nam. Nhà xuất bản Trẻ, TP. Hồ Chí Minh. 2003. 755. Tập 2.
5. Nguyễn Huỳnh Kim Ngân, Nguyễn Thành Duy và cộng sự. Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa và sơ bộ định lượng phenolic, flavonoid toàn phần trong cây dược liệu Thù lù cạnh (*Physalis angulata* L.). *Tạp chí Y Dược học Cần Thơ*. 2021. 34, 170-177.
6. Rengifo-Salgado E., Vargas-Arana G. *Physalis angulata* L. (Bolsa Mullaca): A review of its traditional uses, chemistry and pharmacology. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 2013. 12(5), 431-445.
7. Bộ Y tế. Dược điển Việt Nam V. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội. 2017.
8. Nguyễn Huỳnh Kim Ngân, Nguyễn Thị Ngọc Vân. Nghiên cứu phương pháp chiết xuất nhóm hợp chất có tính kháng oxy hóa trong cây Thù lù cạnh (*Physalis angulata* L.). *Tạp chí Y Dược học*. 2020. 2, 25-28.
9. Nguyen K.N.H., Kim K.H. Determination of phenolic acids and flavonoids in leaves, calyces, and fruits of *Physalis angulata* L. in Viet Nam. *Pharmacia*. 2021. 68(2), 501-509. DOI: 10.3897/pharmacia.68.e66044 .
10. Nguyễn Kim Phi Phụng. Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia, TP. Hồ Chí Minh. 2007. 17.