

DOI: 10.58490/ctump.2025i92.4412

XÂY DỰNG QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG THỜI 6 CHẤT NHÓM PHENOLIC TRONG QUẢ THÙ LÙ CẠNH (*Physalis angulata* L.) BẰNG PHƯƠNG PHÁP HPLC/DAD

Nguyễn Quốc Huy¹, Phạm Tuấn Thành², Nguyễn Thị Ngọc Vân^{2*}

1. Trường Đại học Nam Cần Thơ

2. Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

*Email: ntnvan@ctump.edu.vn

Ngày nhận bài: 05/9/2025

Ngày phản biện: 11/10/2025

Ngày duyệt đăng: 25/10/2025

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Hiện nay, các nghiên cứu về định lượng các hợp chất có trong dược liệu thù lù cạnh (*Physalis angulata* L.) chủ yếu tập trung vào lá hoặc toàn cây, trong khi các nghiên cứu trên quả còn hạn chế. Việc xây dựng quy trình định lượng các hợp chất phenolic từ quả thù lù cạnh là cần thiết nhằm góp phần tiêu chuẩn hóa chất lượng dược liệu hiện nay. **Mục tiêu nghiên cứu:** Xây dựng quy trình định lượng đồng thời 6 hợp chất phenolic trong quả thù lù cạnh (*Physalis angulata* L.) bằng phương pháp HPLC/DAD và ứng dụng trên các mẫu quả được thu hái tại một số tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Quả thù lù cạnh được thu hái tại Cần Thơ đem đi phơi khô với hàm ẩm <13% được xây dựng quy trình định lượng các chất nhóm phenolic và thẩm định quy trình theo hướng dẫn của AOAC. **Kết quả:** Điều kiện sắc ký với hệ thống HPLC Shimadzu LC 20A, cột Phenomenex C₁₈ (250 x 4,6 mm; 5 μm), đầu dò DAD ở bước sóng 254 nm, chương trình gradient với hệ pha đồng methanol:acetonitril:dung dịch 0,2% acid acetic và 0,1% acid formic trong nước. Quy trình đạt tính tương tích hệ thống, độ đặc hiệu; khoảng tuyến tính các chất từ 1-150 μg/mL; giới hạn phát hiện 0,2-1,0 μg/mL và giới hạn định lượng 0,6-3,3 μg/mL; %RSD của độ chính xác trong ngày và liên ngày đều < 6%; Độ thu hồi ở 3 mức nồng độ đều trong khoảng 85 – 110%. Quy trình định lượng đã được thẩm định được ứng dụng định lượng đồng thời 6 chất nhóm phenolic trong các mẫu quả thù lù cạnh thu thập từ địa điểm Cần Thơ, Hậu Giang, Sóc Trăng. **Kết luận:** Nghiên cứu đã xây dựng và thẩm định quy trình định lượng đồng thời 6 hợp chất phenolic trong quả thù lù cạnh (*Physalis angulata* L.) bằng phương pháp HPLC/DAD. Quy trình được ứng dụng để phân tích 6 mẫu quả thu hái tại một số tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long.

Từ khóa: Quả thù lù cạnh (*Physalis angulata* L.), định lượng, nhóm phenolic, HPLC/DAD.

ABSTRACT

SIMULTANEOUS DETERMINATION OF 6 PHENOLIC COMPOUNDS IN *Physalis angulata* L. FRUIT BY HPLC/DAD

Nguyen Quoc Huy¹, Pham Tuan Thanh², Nguyen Thi Ngoc Van^{2*}

1. Nam Can Tho University

2. Can Tho University of Medicine and Pharmacy

Background: Currently, studies on the quantitative determination of compounds in the medicinal plant *Physalis angulata* L. mainly focus on the leaves or the whole plant, while studies on the fruit remain limited. Developing a procedure for quantifying phenolic compounds from *Physalis angulata* L. fruit is necessary to contribute to the standardization of the quality of this medicinal plant. **Objectives:** Simultaneous determination of 6 phenolic compounds in *Physalis angulata* L. fruit by HPLC/DAD and its application to fruit samples collected from several provinces in the Mekong Delta. **Materials and methods:** *Physalis angulata* L. fruits collected in Can Tho were dried

to a moisture content below 13% and then used for the development and validation of phenolic compounds quantification method in accordance with AOAC guidelines. **Results:** Chromatographic conditions were performed using a HPLC Shimadzu LC-20A system, Phenomenex C₁₈ column (250 x 4.6 mm; 5 μm), DAD detector at a wavelength of 254 nm, gradient program with a phase system of methanol:acetonitrile:0.2% acetic acid and 0.1% formic acid in water. The procedure met system suitability and specificity requirements; linearity range of substances from 1-150 μg/mL; The limits of detection and quantification were 0.2–1.0 μg/mL and 0.6–3.3 μg/mL, respectively; The intra-day and inter-day precision showed %RSD values below 6%; recovery at all three concentration levels was within the range of 85-110%. The validated method was successfully applied to the simultaneous determination of 6 phenolic compounds in *Physalis angulata* L. fruit samples collected from Can Tho, Hau Giang, and Soc Trang. **Conclusions:** This study presents a validated HPLC/DAD method for the simultaneous determination of six phenolic compounds in *Physalis angulata* L. fruit. The method was applied to the analysis of six fruit samples collected from several provinces in the Mekong Delta.

Keywords: *Physalis angulata* L. fruit, quantification, phenolic compounds, HPLC/DAD.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thù lù cạnh (*Physalis angulata* L.) thuộc họ Cà (Solanaceae) là loại cây thân thảo mọc nhiều ở vùng nhiệt đới, cận nhiệt đới như ở Trung và Nam Mỹ, Châu Á, Châu Phi, Ấn Độ và các đảo Thái Bình Dương. Ở Việt Nam mọc hoang rất nhiều và cũng là vị thuốc dược liệu dân gian được sử dụng rộng rãi, lâu đời trong đời sống của người Việt Nam [1], [2], [3]. Thù lù cạnh chứa nhiều thành phần hóa học gồm có các hợp chất nhóm phenolic, flavonoid, glycoside, acid ascorbic, carotenoids, alkaloids và các steroid. Sự hiện diện của các nhóm hợp chất này cho thấy tiềm năng trong các tác dụng chống oxy hóa, kháng khối u, kháng viêm, hỗ trợ điều trị đái tháo đường... [2], [3], [5].

Hiện nay, nhiều nghiên cứu đã tiến hành nghiên cứu về định lượng các nhóm hoạt chất trong cây thù lù cạnh chủ yếu là các chất nhóm phenolic, flavonoid, physalin với các kỹ thuật như CE, LC-MS, HPLC,... [6], [7], [8]. Tuy nhiên, ở Việt Nam các nghiên cứu chủ yếu tập trung vào bộ phận lá hoặc toàn thân, còn về định lượng các hợp chất trên quả thù lù cạnh vẫn còn hạn chế. Việc nghiên cứu xây dựng quy trình định lượng nhóm phenolic, nhằm góp phần tiêu chuẩn hoá chất lượng từ quả thù lù cạnh hiện nay là rất cần thiết. Vì vậy nghiên cứu được tiến hành với mục tiêu: “Xây dựng quy trình định lượng đồng thời 6 chất nhóm phenolic trong quả thù lù cạnh (*Physalis angulata* L.) bằng phương pháp HPLC/DAD”.



Hình 1. Quả cây thù lù cạnh (*Physalis angulata* L.) (a) Quả chín; (b) Quả còn xanh

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Quả thù lù cạnh (*Physalis angulata* L.) được thu hái tại Cần Thơ, được phơi khô loại bỏ tạp, xay nhuyễn, rây qua cỡ rây 0,3 mm và được kiểm tra dựa trên các chỉ tiêu kiểm

nghiệm dược liệu của ĐĐVN V, với hàm ẩm đạt ($< 13\%$). Mẫu nguyên liệu đã được định danh bằng phương pháp PCR tại Trường Đại học Cần Thơ.

2.2. Hóa chất, dung môi, thiết bị

- **Hóa chất và dung môi:** Chuẩn gốc của acid gallic, acid *p*-hydroxylbenzoic, acid chlorogenic, acid caffeic, acid *p*-coumaric và rutin (Trung Quốc); Dung môi đạt chuẩn dùng trong HPLC: Methanol (MeOH) (Fisher, Hoa Kỳ), acetonitril (ACN) (Fisher, Hoa Kỳ), Nước cất được lọc qua màng lọc 0,45 μm ; Acid acetic, acid formic và một số hóa chất khác.

- **Thiết bị:** Hệ thống HPLC Shimadzu LC 20A, đầu dò DAD (Nhật Bản), cân phân tích 4 số Mettler Toledo ($d=0,01\text{mg}$) (Mettler Toledo, Hoa Kỳ), bể siêu âm Elma Ultrasonic (Đức), máy ly tâm EBA 200 (Hettich, Đức).

2.3. Nội dung nghiên cứu

2.3.1. Xây dựng quy trình định lượng đồng thời 6 chất nhóm phenolic (acid gallic, acid *p*-hydroxylbenzoic, acid chlorogenic, acid caffeic, acid *p*-coumaric và rutin)

Khảo sát điều kiện sắc ký tách đồng thời 6 chất nhóm phenolic

Các điều kiện sắc ký cố định như cột sắc ký Phenomenex C_{18} (4,6mm x 250mm; 5 μm), thể tích tiêm 20 μL và tốc độ dòng 1 mL/phút.

Tiến hành khảo sát các điều kiện sắc ký bao gồm chương trình rửa giải, bước sóng phát hiện, thành phần và tỉ lệ pha động để lựa chọn điều kiện sắc ký tối ưu. Hệ pha động bao gồm (A) acetonitril (ACN), (B) methanol (MeOH), (C) hỗn hợp 0,2% acid acetic và 0,1% acid formic trong nước.

Chuẩn bị mẫu:

- **Mẫu chuẩn:** Chuẩn bị hỗn hợp dung dịch mẫu chuẩn 100 $\mu\text{g/mL}$ trong methanol.

- **Mẫu thử:** Cân chính xác khoảng 1 g bột quả thù lù cạnh vào erlen 100 mL, thêm 15 mL dung môi pha mẫu methanol, siêu âm 15 phút. Đem dịch chiết lọc qua giấy lọc lấy dịch trong vào bình định mức 50 mL (chiết lặp lại 3 lần). Bổ sung methanol đến vạch thu được dịch chiết methanol quả thù lù cạnh. Hút 10 mL vào ống ly tâm, thổi khô tới cân bằng nitơ. Hoà cân với 1mL n-hexan, vortex, thêm 400 μL MeOH – nước (1:1) và 400 μL ACN – nước (1:1), vortex, ly tâm. Hút hết lớp dưới vào ống ly tâm. Thêm vào ống ly tâm 400 μL nước và 1mL n-hexan, vortex, ly tâm. Hút lớp dưới, lọc qua màng lọc PTFE 0,22 μm vào vial và tiến hành phân tích bằng HPLC.

2.3.2. Thẩm định quy trình định lượng

Thẩm định quy trình định lượng theo hướng dẫn của AOAC bao gồm các chỉ tiêu như tính tương thích hệ thống, tính đặc hiệu, tính tuyến tính, giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ), độ chính xác và độ đúng [9].

2.3.3. Ứng dụng quy trình định lượng đồng thời 6 chất nhóm phenolic trong các mẫu quả thù lù cạnh thu hái được tại một số tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long

Tiến hành định lượng mẫu chiết quả thù lù cạnh thu hái được tại các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

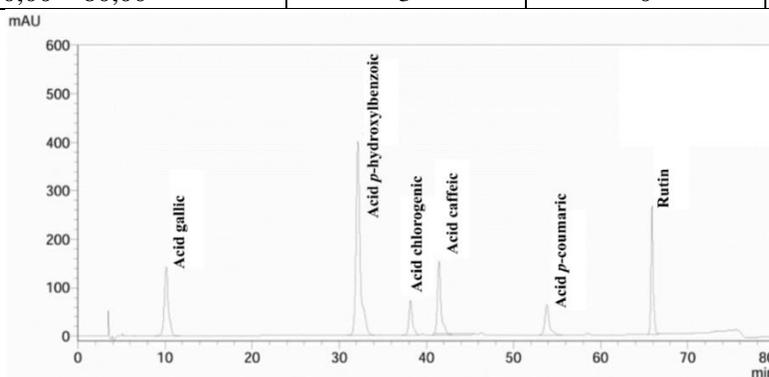
3.1. Xây dựng quy trình định lượng đồng thời 6 chất nhóm phenolic (acid gallic, acid *p*-hydroxylbenzoic, acid chlorogenic, acid caffeic, acid *p*-coumaric và rutin)

Điều kiện sắc ký: Hệ thống HPLC Shimadzu LC 20A, đầu dò DAD; Cột sắc ký Phenomenex C_{18} (250 x 4,6 mm; 5 μm); Nhiệt độ cột được duy trì ở $30 \pm 0,5$ $^{\circ}\text{C}$; Bước sóng

phát hiện: 254 nm; Tốc độ dòng: 1 mL/phút; Thể tích tiêm mẫu: 20 µL; Pha động gồm hỗn hợp (A) methanol:(B) acetonitril:(C) dung dịch 0,2% acid acetic và 0,1% acid formic trong nước (Bảng 1)

Bảng 1. Chương trình rửa giải gradient

Thời gian (phút)	Ti lệ pha động		
	A%	B%	C%
0,00 – 17,50	3	0	97
17,50 – 35,00	5	9	86
35,00 – 53,00	13	5	82
53,00 – 60,00	12	15	73
60,00 – 65,00	11	21	68
65,00 – 69,50	14	28	58
69,50 – 70,00	28	30	42
70,00 – 80,00	3	0	97



Hình 2. Sắc ký đồ hỗn hợp chuẩn ở điều kiện sắc ký lựa chọn

Nhận xét: Ở các điều kiện đã chọn, các pic chuẩn được tách biệt rõ ràng và không xảy ra hiện tượng chồng pic.

3.2. Thẩm định quy trình định lượng

3.2.1. Tính tương thích hệ thống

Tiến hành tiêm lặp lại 6 lần mẫu hỗn hợp chuẩn 6 chất nhóm phenolic nồng độ 100 µg/mL với điều kiện sắc ký đã chọn.

Bảng 2. Kết quả khảo sát tính phù hợp hệ thống trên mẫu chuẩn (n = 6)

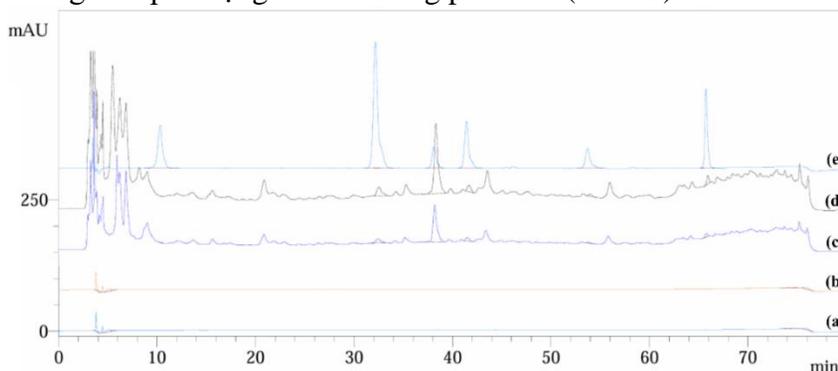
Chất phân tích	Giá trị thống kê	t _R (phút)	S (mAu)	As	Rs	N
Acid gallic	Trung bình	10,266	2802219	1,011	-	2693
	RSD %	0,511	0,489	0,862	-	0,948
Acid p-hydroxybenzoic	Trung bình	32,107	8138390	1,451	28,108	28341
	RSD %	0,186	0,324	0,377	0,559	1,466
Acid chlorogenic	Trung bình	38,068	1166663	1,238	8,178	48057
	RSD %	0,124	0,726	0,981	1,307	4,423
Acid caffeic	Trung bình	41,369	2704371	1,392	4,743	56350
	RSD %	0,120	0,328	0,700	2,252	3,633
Acid p-coumaric	Trung bình	53,688	1346193	1,434	16,221	68307
	RSD %	0,083	0,488	0,750	1,746	3,474
Rutin	Trung bình	65,768	2753516	1,204	18,866	328894
	RSD %	0,027	0,239	1,525	1,919	5,179

(t_R : thời gian lưu; S : diện tích đỉnh; As : hệ số đối xứng; Rs : độ phân giải; N : số đĩa lý thuyết)

Nhận xét: Kết quả cho thấy RSD của các thông số sắc ký t_R , S và As của 6 chất phân tích trong mẫu chuẩn đều < 2%, độ phân giải các pic $\geq 1,5$, hệ số đối xứng của các pic nằm trong khoảng 0,8–1,5, số đĩa lý thuyết đều > 2000. Như vậy, quy trình định lượng đồng thời đạt tính tương thích hệ thống.

3.2.2. Độ đặc hiệu

Tiến hành phân tích mẫu thử quả thù lù cạnh, mẫu hỗn hợp chuẩn, mẫu thử thêm chuẩn, mẫu dung môi pha động và mẫu dung pha mẫu (Hình 3).



Hình 3. Sắc ký đồ (a) dung môi pha mẫu; (b) dung môi pha động; (c) mẫu thử; (d) mẫu thử thêm chuẩn; (e) mẫu hỗn hợp chuẩn

Nhận xét: Sắc ký đồ của mẫu thử và mẫu thử thêm chuẩn cho thấy các pic của các chất có thời gian lưu tương đương với thời gian lưu các pic trên sắc ký đồ của mẫu hỗn hợp chuẩn. Sắc ký đồ của mẫu thử thêm chuẩn cho thấy các đỉnh của các chất phân tích tăng lên về chiều cao và diện tích đỉnh. Sắc ký đồ của dung môi pha mẫu và dung môi pha động không xuất hiện các đỉnh có thời gian lưu tương đương với thời gian lưu của các chất phân tích trong mẫu hỗn hợp chuẩn.

Kết luận: Quy trình có tính đặc hiệu với các chất phân tích acid chlorogenic, acid *p*-hydroxylbenzoic, acid caffeic, acid *p*-coumaric và rutin trên mẫu quả thù lù cạnh.

3.2.3. Tính tuyến tính, giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ)

Tiến hành phân tích ở 7 mức nồng độ khác nhau, từ 1 đến 150 $\mu\text{g/mL}$ cho tất cả 6 chất phân tích. Để đánh giá tính tuyến tính, mỗi mẫu chuẩn hỗn hợp được tiêm ba lần vào hệ thống HPLC, và đường cong hiệu chuẩn được thu được bằng cách vẽ đồ thị trung bình của diện tích tích đỉnh so với nồng độ của từng mẫu.

Bảng 3. Kết quả khảo sát tính tuyến tính, LOD và LOQ

Chất phân tích	Phương trình hồi quy	R^2	LOD ($\mu\text{g/mL}$)	LOQ ($\mu\text{g/mL}$)
Acid gallic	$y = 55489x$	0,9995	0,3	1,1
Acid <i>p</i> -hydroxylbenzoic	$y = 175032x$	0,9999	0,2	0,6
Acid chlorogenic	$y = 27472x$	0,9996	1,0	3,3
Acid caffeic	$y = 53583x$	0,9999	0,5	1,7
Acid <i>p</i> -coumaric	$y = 27551x$	0,9999	1,0	3,3
Rutin	$y = 54560x$	0,9999	0,3	0,8

Nhận xét: Hệ số tương quan bình phương (R^2) lớn hơn hoặc bằng 0,995. Giới hạn phát hiện (LOD) của các chất phân tích dao động từ 0,2-1,0 $\mu\text{g/mL}$ và giới hạn định lượng (LOQ) từ 0,6-3,3 $\mu\text{g/mL}$ (Bảng 3).

3.2.4. Độ chính xác

Độ chính xác trong ngày (n=6)

Chuẩn bị 6 mẫu thử quả thù lù cạnh trong ngày. Tiến hành sắc ký 6 mẫu thử rồi xác định hàm lượng các chất phân tích trong mỗi mẫu thử.

Độ chính xác liên ngày (n=18)

Chuẩn bị 6 mẫu thử quả thù lù cạnh trong 1 ngày và trong tương tự 3 ngày liên tiếp.

Bảng 4. Kết quả khảo sát độ chính xác trong ngày và liên ngày

Chất phân tích	Độ chính xác trong ngày (n=3)		Độ chính xác liên ngày (n=18)	
	Trung bình (µg/g)	RSD (%)	Trung bình (µg/g)	RSD (%)
Acid gallic	23,72	2,21	22,81 ± 0,80	3,49
Acid <i>p</i> -hydroxylbenzoic	26,89	1,17	26,20 ± 0,72	2,73
Acid chlorogenic	291,11	3,96	283,82 ± 7,53	2,65
Acid caffeic	24,18	1,79	23,71 ± 1,23	5,17
Acid <i>p</i> -coumaric	22,70	2,79	23,51 ± 1,03	4,40
Rutin	31,60	1,06	31,21 ± 0,35	1,11

Nhận xét: Kết quả cho thấy %RSD độ chính xác trong ngày (n=3) và liên ngày (n=18) đều nhỏ hơn 6% (Bảng 4). Giá trị độ chính xác phù hợp với hướng dẫn của AOAC.

3.2.5. Độ đúng

Thêm vào mẫu thử một lượng xác định hỗn hợp chuẩn các chất phân tích tương ứng với ba mức nồng độ thấp (80%), trung bình (100%) và cao (120%). Ở mỗi mức nồng độ, thí nghiệm được tiến hành trên ba mẫu độc lập. Độ đúng được xác định dựa trên % lượng chất thu hồi so với lượng chuẩn đã thêm vào.

Bảng 5. Kết quả khảo sát độ đúng tại ba mức nồng độ

Chất phân tích	Độ thu hồi (%) tại các mức nồng độ					
	Thấp (80%)		Trung bình (100%)		Cao (120%)	
	Trung bình	RSD (%)	Trung bình	RSD (%)	Trung bình	RSD (%)
Acid gallic	93,42	1,64	102,71	2,47	96,28	1,50
Acid <i>p</i> -hydroxylbenzoic	91,05	0,61	100,90	2,18	96,15	2,72
Acid chlorogenic	105,94	1,88	100,14	5,57	99,99	3,43
Acid caffeic	96,94	0,93	101,15	3,05	92,96	4,12
Acid <i>p</i> -coumaric	89,41	3,52	103,34	1,98	95,59	4,04
Rutin	94,71	3,36	98,60	3,10	99,26	4,36

Nhận xét: Tỷ lệ thu hồi các của các chất đều trong khoảng 85 – 110%, %RSD các chất đều đạt ≤ 6% theo hướng dẫn của AOAC (Bảng 5).

3.3. Ứng dụng quy trình định lượng đồng thời 6 chất nhóm phenolic trong các mẫu quả thù lù cạnh thu hái được tại một số tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long

Quy trình đã được thẩm định được sử dụng để định lượng đồng thời 6 chất nhóm phenolic trong 6 mẫu quả thù lù cạnh thu thập tại Cần Thơ, Hậu Giang, Sóc Trăng (bảng 6).

Bảng 6. Ứng dụng quy trình đã thẩm định định lượng nhóm phenolic trong quả thù lù cạnh

Chất phân tích	Hàm lượng (µg/g)					
	Acid gallic	Acid <i>p</i> -hydroxybenzoic	Acid chlorogenic	Acid caffeic	Acid <i>p</i> -coumaric	Rutin
Mẫu quả xanh Cần Thơ ^a	4,38	81,48	3542,54	155,82	75,70	111,15
Mẫu quả chín Cần Thơ ^a	-	2,18	1365,71	15,20	7,76	29,90
Mẫu quả xanh Hậu Giang ^a	10,35	44,67	654,17	104,60	90,14	387,76
Mẫu quả chín Hậu Giang ^a	19,78	66,64	760,01	37,42	81,37	82,83
Mẫu quả xanh Sóc Trăng ^a	7,17	32,13	1593,12	41,83	52,27	105,47
Mẫu quả chín Sóc Trăng ^a	4,76	20,50	1007,70	11,30	7,03	19,92

^aTên các địa danh thu hái mẫu theo đơn vị hành chính trước thời điểm sáp nhập (trước ngày 01/07/2025)

Nhận xét: Hàm lượng các chất nhóm phenolic trong quả thù lù cạnh (*Physalis angulata* L.) khác biệt rõ rệt giữa giai đoạn phát triển quả (mẫu quả xanh-chín) và các địa điểm lấy mẫu ảnh hưởng đến các phenolic. Ở tất cả mẫu phân tích, acid chlorogenic có hàm lượng cao nhất, dao động trong khoảng 654,17-3542,54 µg/g, trong khi acid gallic có hàm lượng thấp nhất, chỉ từ 0,00-19,78 µg/g. Mẫu quả chín tại các địa điểm, hàm lượng các phenolic thấp hơn so với mẫu quả xanh. Tuy nhiên, tại Hậu Giang hàm lượng các chất acid gallic, acid *p*-hydroxybenzoic và acid chlorogenic của mẫu quả chín cao hơn mẫu quả xanh. Những khác biệt này liên quan đến quá trình sinh trưởng quả và đặc điểm thổ nhưỡng tại địa điểm đó.

IV. BÀN LUẬN

4.1. Xây dựng quy trình định lượng đồng thời 6 chất nhóm phenolic (acid gallic, acid *p*-hydroxybenzoic, acid chlorogenic, acid caffeic, acid *p*-coumaric và rutin)

Việc lựa chọn và tối ưu điều kiện sắc ký ảnh hưởng rất lớn đối với khả năng tách và độ phân giải giữa các pic. Dựa trên độ tan của các chất phân tích và tham khảo qua các nghiên cứu trước đó [7], [8], dung môi khảo sát chương trình gradient phổ biến để phân tích các chất nhóm phenolic là ACN và MeOH. Trong nghiên cứu này, nhóm sử dụng pha động đậm acid acetic giúp cải thiện các pic đạt các yêu cầu về As và Rs. Đệm acid acetic có pH acid (3,75-5,75) phù hợp phân tích các phenolic có tính acid (pKa khoảng 4 đến 5) ngoại trừ rutin là 6,17. Ngoài ra, đệm acid acetic còn giúp tăng cường tín hiệu và độ ổn định thời gian lưu cho các chất phân tích [10], [11].

4.2. Thẩm định quy trình định lượng

Trước khi tiến hành thẩm định quy trình định lượng đồng thời các chất nhóm phenolic trong quả thù lù cạnh, cần kiểm tra tính tương thích hệ thống của quy trình phân tích. Kết quả cho thấy các thông số sắc ký đều đạt yêu cầu, bao gồm độ phân giải ($R_s \geq 1,5$), hệ số bất đối ($0,8 \leq A_s \leq 1,5$) và số đĩa lý thuyết ($N > 2000$); đồng thời, RSD% của thời gian lưu và diện tích đỉnh sau 6 lần tiêm liên tiếp đều nằm trong giới hạn cho phép (< 2%). Phương pháp đáp ứng yêu cầu về độ đặc hiệu giúp quy trình đảm bảo độ chọn lọc và không

bị ảnh hưởng bởi các thành phần khác trong nền mẫu. Khoảng tuyến tính của phương pháp rộng (nồng độ khảo sát mỗi chất là 1-150 $\mu\text{g/mL}$), với hệ số tương quan giữa nồng độ đạt $R^2 > 0,995$, phù hợp cho việc định lượng các hoạt chất trong dược liệu vốn có sự biến động cao về nồng độ. Độ chính xác trong ngày và liên ngày đều đáp ứng yêu cầu theo hướng dẫn AOAC ($< 6\%$), chứng tỏ quy trình cho kết quả tin cậy khi phân tích ở các thời điểm khác nhau và không phụ thuộc vào ngày làm việc. Do đó, quy trình phân tích này đủ khả năng để thực hiện chạy mẫu liên tục và tiến hành sắc ký các mẫu pha sẵn trong nhiều ngày, đảm bảo định lượng nhóm phenolic trong các mẫu dược liệu thực tế với độ chính xác và hiệu quả cao. Độ đúng của phương pháp được đánh giá ở 3 mức nồng độ, mỗi mức thực hiện 3 lần, tỉ lệ thu hồi trung bình đều nằm trong khoảng chấp nhận 85,0-110,0%, cho thấy quy trình định lượng xây dựng có sai số hệ thống được kiểm soát và nằm trong giới hạn cho phép [9].

4.3. Ứng dụng quy trình định lượng đồng thời 6 chất nhóm phenolic trong các mẫu quả thù lù cạnh thu hái được tại một số tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long

Ứng dụng quy trình đã thẩm định để định lượng 6 mẫu quả thu hái từ một số tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long. Hầu hết các mẫu đều có 6 chất acid gallic, acid *p*-hydroxylbenzoic, acid chlorogenic, acid caffeic, acid *p*-coumaric và rutin. Hàm lượng các chất không đồng đều giữa các mẫu. Hàm lượng của các chất đều có sự giảm khi quả từ xanh đến quả chín. Các mẫu thu hái ở Cần Thơ và Sóc Trăng hàm lượng khi quả chín thấp hơn quả xanh tương đồng với nghiên cứu của Oliveira và cộng sự (2020) [8] (acid gallic, acid *p*-hydroxylbenzoic, acid caffeic và acid *p*-coumaric). Riêng mẫu ở Hậu Giang không có sự tương đồng này mà hàm lượng các chất tăng khi quả chín. Acid chlorogenic có hàm lượng cao nhất trong tất cả các mẫu tương đồng với nghiên cứu của Nguyen Huynh Kim Ngan và cộng sự (2021) [7] trên lá thù lù thu hái tại Kiên Giang. Kết luận rằng thành phần và hàm lượng các hợp chất thuộc nhóm phenolic trong quả thù lù cạnh (*Physalis angulata* L.) có sự biến đổi tùy theo giai đoạn phát triển quả hay vị trí địa lý, điều kiện thổ nhưỡng và khí hậu.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng được quy trình định lượng đồng thời 6 chất nhóm phenolic trong quả thù lù cạnh (*Physalis angulata* L.) bằng phương pháp HPLC/DAD. Quy trình định lượng với điều kiện sắc ký phù hợp, độ đặc hiệu, độ chính xác, độ đúng phù hợp với hướng dẫn AOAC, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng thấp. Quy trình định lượng đã thẩm định được ứng dụng định lượng trên 6 mẫu quả thù lù cạnh thu hái được tại một số tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vargas-Ponce O., Sánchez Martínez J., Zamora Tavares M.D., Valdivia Mares L.E. Traditional management of a small-scale crop of *Physalis angulata* in Western Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2016. 63(8), 1383–1395. <https://doi.org/10.1007/s10722-015-0326-3>.
2. Ayodhyareddy P., Rupa P. Ethno medicinal, phyto chemical and therapeutic importance of *Physalis angulata* L.: a review. *International Journal of Scientific Research (IJSR)*. 2016. 5(5), 2122–2127, <https://doi.org/10.21275/v5i5.nov163891>.
3. Hoang Le Tuan Anh, Vinh Le Ba, Thi Thao Do, Van Kiem Phan, Hai Yen Pham Thi, Long Giang Bach, et al. Bioactive compounds from *Physalis angulata* and their anti-inflammatory and cytotoxic activities. *Journal of Asian Natural Products Research*. 2021. 23(8), 809-817, <https://doi.org/10.1080/10286020.2020.1825390>.

4. Lima L.G.B., Montenegro J., Abreu J.P.D., Santos M.C.B., Nascimento T.P.D., Santos M.D.S., Ferreira A.G., Cameron L.C., Ferreira M.S.L., Teodoro A.J. Metabolite profiling by UPLC-MSE, NMR, and antioxidant properties of Amazonian fruits: Mamey apple (*Mammea americana*), camapu (*Physalis angulata*), and uxi (*Endopleura uchi*). *Molecules*. 2020. 25(2), 342, <https://doi.org/10.3390/molecules25020342>.
 5. Vieceli P.S., Juiz P.J.L., Lauria P.S.S., Couto R.D., Tomassini T.C.B., Ribeiro I.M., *et al.* *Physalis angulata* reduces the progression of chronic experimental periodontitis by immunomodulatory mechanisms. *Journal of Ethnopharmacology*. 2021. 273, 113986, <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.113986>.
 6. Kim Ngan Huynh Nguyen, Lam Hoang Tran, Ngoc Van Thi Nguyen, Ngan Tuyet Duong, Xuan Trang Thi Dai, Cam Thuy Thi Le, Kien Trung Nguyen. New QuEChERS method for quantification of physalin B and D in *Physalis angulata* L. in Vietnam. *Pharmacia*. 2022. 69(3), 883–890, DOI 10.3897/pharmacia.69.e89582.
 7. Huynh Nguyen Kim Ngan, Thi Nguyen Ngoc Van, Kim Kyeong Ho. Determination of phenolic acids and flavonoids in leaves, calyces, and fruits of *Physalis angulata* L. in Viet Nam. *Pharmacia*. 2021. 68(2), 501–509, <https://doi.org/10.3897/pharmacia.68.e66044>.
 8. de Oliveira A.M., Malunga L.N., Perussello C.A., Beta T., Ribani R.H. Phenolic acids from fruits of *Physalis angulata* L. in two stages of maturation. *South African Journal of Botany*. 2020. 131, 448–453, <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.02.029>.
 9. AOAC. Standard format and guidance for AOAC standard method performance requirement (SMPR) documents. 2019.
 10. Cajka T., Hricko J., Rudl Kulhava L., Paucova M., Novakova M., Kuda O. Optimization of mobile phase modifiers for fast LC-MS-based untargeted metabolomics and lipidomics. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. 24(3), 1987, <https://doi.org/10.3390/ijms24031987>.
 11. Monnin C., Ramrup P., Daigle Young C., Vuckovic D. Improving negative liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry lipidomic analysis of human plasma using acetic acid as a mobile phase additive. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2018. 32(3), 201–211. <https://doi.org/10.1002/rcm.8024>.
-