HÀM LƯỢNG MỘT SỐ HỢP CHẤT CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC TRONG LÁ VÀ NỤ HOA CÂY TRÀ HOA VÀNG (*Camellia chrysanthoides*) THU THẬP TẠI QUẢNG NINH

Đặng Quang Bích[1], Đặng Quang Hưng[2]
Trần Văn Cao[3], Hoàng Nguyễn Việt Hoa[4]

TÓM TẮT

Trà hoa vàng (*Camellia chrysanthoides*) là loài cây dược liệu quý chứa nhiều hợp chất có hoạt tính chống viêm, hỗ trợ và điều trị ung thư và một số bệnh khác. Bằng kỹ thuật sắc ký lỏng hiệu năng cao đã xác định được hàm lượng một số hợp chất có trong lá và nụ hoa cây trà hoa vàng thu thập tại Quảng Ninh. Các chất được xác định có nhóm flavonoid gồm: catechin (C); epicatechin (EC); epigallocatechin 3-gallate (EGCG); epicatechin 3-gallate (ECG). Hàm lượng rutin và hàm lượng quercetin cũng được xác định trên lá và nụ hoa. Ngoài ra, các chất resveratrol; coumarin và nhóm axit phenolic gồm: axit caffeic (CF), axit p-coumaric (PCA), axit salicylic (SLA), axit vanillic (VA) cũng được định lượng trên lá và nụ hoa. Kết quả định lượng cho thấy, các hợp chất trên mẫu nụ hoa đều cao hơn trên mẫu lá, điều này chứng tỏ giá trị dược liệu của nụ hoa là ưu việt hơn lá. Mẫu nụ hoa được thu lấy tại Nam Mẫu, huyện Yên Tử, tỉnh Quảng Ninh có giá trị hàm lượng hoạt chất là cao nhất. Ngoài ra, nghiên cứu cũng chỉ ra rằng các mẫu lá và nụ hoa thu tại các địa điểm khác nhau thì hàm lượng các hợp chất được xác định ở các mẫu cũng khác nhau.

Từ khoá: *Hoạt chất sinh học, trà hoa vàng, Quảng Ninh.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trà hoa vàng (*Camellia chrysanthoides* Hung T. Chang) là loài thực vật hạt kín thuộc họ chè (Theaceae). Cho đến nay trà hoa vàng được tìm thấy ở một số vùng thuộc Trung Quốc, Việt Nam và đã được ghi vào Sách Đỏ (Orel và Anthony, 2013). Bên cạnh giá trị làm cây cảnh, trà hoa vàng được đặc biệt quan tâm do các tác dụng dược lý. Các hoạt chất sinh học trong trà hoa vàng có khả năng chống oxy hoá, phòng chống lão hoá, ung thư và một số các tác dụng khác (Song *et al.*, 2016).

Những năm gần đây, đánh giá tác dụng dược lý các hoạt chất sinh học có trong trà hoa vàng đã được tiến hành trên mô hình động vật cho kết quả khả quan. Một thử nghiệm trên chuột cho thấy, dịch chiết từ lá và hoa của cây trà hoa vàng có khả năng ức chế tế bào tiền ung thư gan (Cuiyun *et al.*, 2007). Nghiên cứu khác của Chen *et al.* (2009) và Qin *et al.* (2008) đã chỉ ra rằng trà hoa vàng có tác dụng rõ rệt trong việc giảm lượng lipid máu, rất tốt cho bệnh cao huyết áp do khả năng làm giảm và điều hòa huyết áp, tăng cường hệ miễn dịch và kéo dài tuổi thọ. Ngoài ra, các hợp chất chống oxy hóa polyphenol trong trà hoa vàng cao hơn so với các chất polyphenol trong các loại trà khác (Qin *et al.*, 2008; Lixia *et al.,* 2011). Các flavonids, polyphenol, polysaccharide, trong trà hoa vàng có tác dụng chống viêm, ức chế ung thư gan, chống quá trình oxi hóa, điều chỉnh lipid huyết thanh giảm, kích thích sự thèm ăn và đặc biệt là không có tác dụng phụ (Wei *et al.,* 2015).

Tại Việt Nam, trà hoa vàng được tìm thấy ở một số địa phương thuộc các tỉnh miền núi phía Bắc, trong đó Quảng Ninh là nơi xuất hiện nhiều trà hoa vàng. Theo kinh nghiệm dân gian, loài cây này được sử dụng trong các bài thuốc giải nhiệt, điều trị các bệnh về da như lở loét, ngứa. Tuy nhiên, các nghiên cứu về trà hoa vàng ở nước ta mới dừng lại ở mức phân loại và đánh giá đặc điểm thực vật học, nghiên cứu về các hợp chất có hoạt tính sinh học có trong trà hoa vàng còn ít hoặc chưa được công bố. Vì vậy, việc xác định hàm lượng một số hợp chất có hoạt tính sinh học trong lá và nụ hoa trà hoa vàng sẽ làm cơ sở để đánh giá giá trị, khai thác hiệu quả loài cây

[1] Trường Đại học Hải Phòng
[2] Viện Nghiên cứu Sinh thái và Môi trường rừng, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam
[3] Trung tâm Nghiên cứu thực nghiệm Môi trường, Viện Nghiên cứu Sinh thái và Môi trường rừng, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam
[4] Ban Khoa học, Đào tạo và Hợp tác quốc tế, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

này trong y học và đời sống, cũng như tiền đề để phát triển một số sản phẩm thương mại từ cây trà hoa vàng.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu lá và nụ hoa trà hoa vàng được thu hái tại Quảng Ninh. Các mẫu được xác định tên khoa học bởi Ngô Thị Thảo và cs (2016). Mẫu được xử lý và lưu trữ tiêu bản tại Bộ môn Thực vật - Trường Đại học Dược Hà Nội (Số hiệu tiêu bản: HNIP/18146/15) (Bảng 1).

Bảng 1. Danh sách 15 mẫu lá và nụ hoa trà hoa vàng

TT	Ký hiệu mẫu lá	Ký hiệu mẫu hoa	Nơi lấy mẫu
1	CspL1	CspH1	Khe Sút, Hoành Bồ, Quảng Ninh
2	CspL2	CspH2	Bằng Cả, Hoành Bồ, Quảng Ninh
3	CspL3	CspH3	Cài, Hoành Bồ, Quảng Ninh
4	CspL4	CspH4	Sơn Dương, Hoành Bồ, Quảng Ninh
5	CspL5	CspH5	Khe Càn, Hoành Bồ, Quảng Ninh
6	CspL6	CspH6	Bình Lược, Vân Đồn, Quảng Ninh
7	CspL7	CspH7	Đạp Thanh, Ba Chẽ, Quảng Ninh
8	CspL8	CspH8	Xóm Mới, Ba Chẽ, Quảng Ninh
9	CspL9	CspH9	Đài Van, Ba Chẽ, Quảng Ninh
10	CspL10	CspH10	Nam Mẫu,Yên Tử, Quảng Ninh
11	CspL11	CspH11	Việt Hưng, Hoành Bồ, Quảng Ninh
12	CspL12	CspH12	Van Tốc, Móng Cái, Quảng Ninh
13	CspL13	CspH13	Lương Mông, Ba Chẽ, Quảng Ninh
14	CspL14	CspH14	Đồng Trà, Ba Chẽ, Quảng Ninh
15	CspL15	CspH15	Minh Cầm, Ba Chẽ, Quảng Ninh

Hóa chất: Ammonium format, methanol, nước, axít formic dùng cho phân tích HPLC từ hãng Fisher Scientific.

Chất chuẩn: Chất chuẩn bao gồm quercetin (độ tinh khiết 95%) và rutin; catechin; epicatechin; epigallocatechin 3-gallate; epicatechin 3-gallate; caffeic; P-coumaric; salicylic; vanillic; resveratrol; coumarin (độ tinh khiết 97%) được đặt mua từ Hãng Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thu thập mẫu

Các mẫu được thu thập theo tuyến, có thể tóm tắt như sau: Dựa trên cơ sở bản đồ địa hình của khu vực để xác lập các tuyến thu mẫu, mỗi mẫu lấy đầy đủ cành, lá và hoa. Tiến hành ghi chép đặc điểm dễ nhận biết ngoài thiên nhiên như: vỏ, kích thước cây, màu sắc hoa, quả, có hay không có nhựa mủ, mùi vị. Đánh dấu để phân biệt giữa các mẫu, khi đặt mẫu vào túi phải nhẹ nhàng (Hoàng Chung, 2006). Mẫu được lấy, bảo quản và xử lý theo Tiêu chuẩn ISO/IEC 17025 : 2005 ngày 26/11/2005. Các mẫu lá và nụ hoa được thu lấy vào cuối mùa đông, đầu mùa xuân vào chiều mát không mưa, trên cây trà hoa vàng từ 8 - 10 năm tuổi, mẫu lá được thu lấy là các mẫu lá bánh tẻ tại các cành ở vị trí 2/3 tán lá phía trên, mẫu nụ được thu lấy ở thời điểm nụ hơi hé mở sắp nở thành hoa.

2.2.2. Phương pháp chuẩn bị mẫu

Mẫu lá và nụ hoa được cắt nhỏ cho vào ống eppendorf (2 ml) khoảng 0,1 - 0,2 g sấy đông khô trong 72 giờ, sau đó nghiền thành bột bằng máy nghiền bi với 25 nhịp/giây trong 2 phút. Thêm vào chính xác 1 ml methanol 80%, lắc ở nhiệt độ phòng trong 7 giờ, li tâm ở 4°C, 10.000 vòng/phút trong 10 phút, thu phần dịch trong. Phần kết tủa tiếp tục được chiết bằng 1 ml methanol 80% và lặp lại thao tác trên thu dịch chiết lần 2 và lần 3. Gộp dịch chiết của 3 lần, lọc qua màng lọc 0,45 µm, dung dịch thu được sử dụng phân tích các hợp chất bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

2.2.3. Phương pháp xác định thành phần hàm lượng một số hợp chất thứ cấp

Áp dụng phương pháp HPLC được mô tả theo Zhang *et al.* (2013) để đánh giá thành phần, hàm lượng hợp chất sinh học trong trà hoa vàng. Việc định lượng các hợp chất được dựa vào phân tích phổ trên máy HPLC và so sánh với các hợp chất chuẩn,

các hợp chất chuẩn được đặt mua từ Hãng Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA).

Bảng 2. Chế độ gradient với 2 kênh A và kênh B

Thời điểm (phút)	Kênh A	Kênh B
0	100	0
2	100	0
8	70	30
22	20	80
26	0	100
30	0	100
32	100	0
34	100	0

Điều kiện sắc ký: Việc phân tách và phân tích các hợp chất hữu cơ, hợp chất thứ cấp dựa trên quy trình chuẩn của hãng Shimadzu (Nhật Bản). Cột: C18ODS (4,6 x 250 mm, 5 µm); dung môi kênh A: acetic acid 1%, kênh B: Acetonitrile: acetic acid (99:1); nhiệt độ cột: 30^{0}C; Detector: DAD; tốc độ dòng: 1 ml/min; thể tích bơm mẫu: 20 µl; chương trình chạy: sử dụng chế độ gradient với 2 kênh A và kênh B (Bảng 2).

2.2.4. Phương pháp xử lí số liệu

Xử lý số liệu bằng phần mềm Microsolf Excel.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hàm lượng một số hợp chất có hoạt tính sinh học trong lá cây trà hoa vàng

3.1.1. Hàm lượng hợp chất nhóm flavonoid, rutin, quercetin trong lá trà hoa vàng

Kết quả xác định hàm lượng các hợp chất trên trong lá trà hoa vàng được trình bày tại bảng 3.

Bảng 3. Hàm lượng C, EC, EGCG, ECG, rutin và quercetin trong lá trà hoa vàng

Ký hiệu mẫu	Hoạt chất					
	C (mg/g CK)	EC (mg/g CK)	EGCG (mg/g CK)	ECG (mg/g CK)	RT (µg/g CK)	QC (µg/g CK)
CspL1	0,39 ± 0,02	0,19 ± 0,02	0,25 ± 0,00	0,73 ± 0,21	88,65± 12,05	64,10±3,25
CspL2	0,29 ± 0,02	0,15 ± 0,08	0,31 ± 013	0,79 ± 0,10	41,99 ± 2,68	30,44 ± 6,32
CspL3	0,37 ± 0,03	0,16 ± 0,01	0,32 ± 0,20	0,46 ± 0,14	78,95 ± 4,46	48,38 ± 3,48
CspL4	0,28 ± 0,01	0,29 ± 0,07	0,21 ± 0,13	0,54 ± 0,02	57,92 ± 5,84	56,40± 14,02
CspL5	0,40 ± 0,13	0,14 ± 0,01	0,24 ± 0,11	0,46 ± 0,22	84,68 ± 6,48	91,37±7,34
CspL6	0,71 ± 0,27	0,15 ± 0,03	0,33 ± 0,14	0,41 ± 0,08	71,60 ± 0,00	37,08 ± 7,83
CspL7	0,48 ± 0,16	0,26 ± 0,23	0,36 ± 0,22	0,50 ± 0,02	75,22± 15,53	31,24 ± 0,00
CspL8	0,54 ± 0,08	0,40 ± 0,26	0,25 ± 0,05	0,45 ± 0,18	33,07 ± 7,01	35,03±0,00
CspL9	0,56 ± 0,21	0,06 ± 0,03	0,39 ± 0,08	0,17 ± 0,07	75,50 ± 7,50	54,11±3,73
CspL10	0,12 ± 0,04	0,23 ± 0,00	0,24 ± 0,02	0,29 ± 0,04	68,35± 12,34	38,79± 6,38
CspL11	0,20 ± 0,02	0,31 ± 0,09	0,43 ± 0,14	0,62 ± 0,20	58,17 ± 5,02	54,39± 21,70
CspL12	0,59 ± 0,18	0,16 ± 0,01	0,23 ± 0,06	0,29 ± 0,13	57,05±13,32	40,74 ± 0,00
CspL13	0,51 ± 0,09	0,17 ± 0,05	0,20 ± 0,04	0,32 ± 0,06	47.59 ± 4,12	31,20± 12,42
CspL14	0,40 ± 0,05	0,25 ± 0,02	0,27 ± 0,06	0,26 ± 0,07	69,48±14,31	36,01 ± 8,72
CspL15	0,47 ± 0,06	0,14 ± 0,04	0,23 ± 0,02	0,15 ± 0,02	86,36 ± 2,86	55,02 ± 3,75
Trung bình	0,43	0,20	0,28	0,41	66,53	45,58

Ghi chú: C: Catechin; EC: Epicatechin; EGCG: epigallocatechin 3-gallate; ECG: Epicatechin 3-gallate; RT: Rutin; QC: quercetin. CK: Chất khô.

Bảng 3 cho thấy, trong các mẫu lá trà hoa vàng thu ở các nơi khác nhau, hàm lượng catechin giữa các mẫu cũng khác nhau. Mẫu được xác định có hàm lượng catechin thấp nhất 0,12 mg/g CK là mẫu lá trà hoa vàng kí hiệu CspL10 thu tại Nam Mẫu, Yên Tử, Quảng Ninh. Mẫu xác định có hàm lượng hợp chất catechin đạt cao nhất (0,71 mg/g CK) là mẫu trà hoa vàng ký hiệu CspL6 được thu tại Bình Lược, Vân Đồn, Quảng Ninh. Như vậy, hàm lượng catechin trong lá trà hoa vàng được thu thập biến động tương đối lớn trong các mẫu thu thập, trung bình ở các mẫu đạt 0,43 mg/g CK. Hàm lượng catechin: EC, EGCG, ECG trong các mẫu lá trà hoa vàng thu thập ở các khu vực khác nhau cũng có sự biến động giữa các địa điểm thu thập khác nhau là khác nhau. Hàm lượng

các chất này đạt cao ở các mẫu lá được thu tại Xóm Mới, Ba Chẽ (CspL8); Việt Hưng, Hoành Bồ (CspL11) và Băng Cả, Hoành Bồ (CspL2) hàm lượng các chất EC, EGCG, ECG lần lượt đạt 0,40; 0,43 và 0,79 mg/g CK. Các mẫu có hàm lượng hoạt chất thấp được thu tại Đài Van, Ba Chẽ (CspL9), Lương Mông, Ba Chẽ (CspL13) và Minh Cầm, Ba Chẽ (CspL15) đạt hàm lượng: 0,06, 0,20 và 0,15 mg/g CK. Giá trị trung bình hàm lượng các chất được xác định giữa các mẫu thu thập đạt cao nhất là hàm lượng ECG đạt 0,41; EGCG đạt 0,28 và EC 0,20 mg/g CK.

Hàm lượng rutin và quercetin cũng có sự biến động tương đối lớn trong các mẫu lá trà thu thập ở các địa điểm khác nhau, cụ thể: hàm lượng rutin đạt cao nhất là của mẫu CspL1 thu tại Khe Sút, Hoành Bồ, quercetin đạt cao nhất là của mẫu CspL5 thu tại Khe Càn, Hoành Bồ. Ngược lại các mẫu đạt hàm lượng thấp là: CspL8 thu tại Xóm Mới, Ba Chẽ đạt 33,07 µg/g CK và mẫu CspL2 thu tại Băng Cả, Hoành Bồ đạt 30,44 µg/g CK. Như vậy, hàm lượng rutin và quercetin trong các mẫu lá trà hoa vàng thu thập tại các địa điểm khác nhau thuộc địa phận Quảng Ninh có sự biến động khá lớn về hàm lượng giữa các địa điểm thu thập.

Qua kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng catechin trong các mẫu trà hoa vàng thu thập ở Quảng Ninh cao gấp 6 lần so với trà hoa vàng murô (*C. murauchii* Ninh & Hakoda) là 83,40 µg/g, hàm lượng EC gấp 5 lần so với trà hoa vàng (*C. nitidissima* var. *microcarpa*) là 41,06 µg/g, hàm lượng EGCG thấp hơn 1,25 lần và ECG thấp hơn 1,35 lần so với trà hoa vàng murô với hàm lượng các chất lần lượt là 353,29 µg/g, hàm lượng ECG là 404,47 µg/g (Lin *et al.,* 2013). Tuy nhiên, hàm lượng của các hợp chất catechin trong mẫu lá trà hoa vàng thu thập tại Quảng Ninh lại thấp hơn trong trà xanh (Giang Trung Khoa và cs., 2013).

3.1.2. Hàm lượng nhóm axitphenolic, resveratrol và coumarin trong lá trà hoa vàng

Hàm lượng các axit phenolic, resveratrol và coumarin trong các mẫu lá trà hoa vàng thu thập được định lượng và được tổng hợp trong bảng 4.

Bảng 4. Hàm lượng axit phenolic (CF, PCA, SLA, VA), resveratrol và coumarin trong lá trà hoa vàng

Kí hiệu mẫu	Hoạt chất					
	CF (µg/g CK)	PCA (µg/g CK)	SLA (µg/g CK)	VA (µg/g CK)	RES (µg/g CK)	CR (µg/g CK)
CspL1	114,40±0,53	66,96±1,61	54,21±3,69	39,43±2,93	85,01±15,35	91,58±1,54
CspL2	218,66±16,75	42,78±0,97	0	40,45±3,62	61,03±14,54	26,54±0,96
CspL3	287,85±12,50	61,31±1,09	0	42,76±0,59	80,74 ± 6,56	26,93±3,16
CspL4	178,06±8,89	88,82±3,76	72,32±0,00	49,59±5,87	69,85 ± 5,63	43,44±6,04
CspL5	172,03±11,00	60,43±2,43	36,57±0,00	42,95±5,06	65,69 ± 8,11	65,44±4,22
CspL6	155,55±4,97	40,89±4,28	67,70±4,17	37,24±4,05	76,37 ± 6,64	30,77±3,87
CspL7	168,43±9,48	40,98±3,88	0	32,49±10,33	41,86 ± 8,88	29,89±5,74
CspL8	141,81±0,37	55,61±0,31	49,85±1,26	26,20 ± 0,33	61,02 ± 1,26	94,65±5,32
CspL9	129,97±3,31	40,25±5,50	0	38,65 ± 4,23	58,53 ± 2,31	20,25±0,85
CspL10	116,05±14,91	32,39±4,85	0	44,58±10,26	46,75±5,75	24,44±3,72
CspL11	280,31±18,38	34,68±0,53	51,28±1,78	57,88 ± 1,14	55,63±0,12	25,02±0,17
CspL12	204,23±4,00	86,24±1,20	41,91±1,83	25,46 ± 2,86	46,39±1,90	40,82±18,56
CspL13	90,76±3,70	48,31±4,06	46,18±3,87	28,10±3,54	59,24±9,38	57,75±4,88
CspL14	115,35±4,03	84,41±12,50	48,59±1,35	36,79±17,42	44,77±3,86	50,17±7,67
CspL15	142,02±20,70	59,20±1,50	49,34±2,22	37,96±0,46	79,79±4,31	88,86±21,03
Trung bình	174,50	56,75	52,10	39,85	63,42	47,55

Ghi chú: CF: Caffeic; PCA: P-coumaric; SLA: Salicylic; VA: Vanillic; RES: Resveratrol; CR: coumarin; CK: Chất khô.

Bảng 4 cho thấy, hàm lượng các chất trong nhóm phenolic bao gồm axit caffeic (CF); axit p-coumaric (PCA); axit salicylic (SLA); axit vanillic (VA) biến động khác nhau giữa các mẫu được thu

thập, đạt cao nhất ở các mẫu CspL3 thu tại Cài, Hoành Bồ; mẫu CspL4 thu tại Sơn Dương, Hoành Bồ và mẫu CspL11 thu tại Việt Hưng, Hoành Bồ. Các mẫu này đều có hàm lượng các chất mục tiêu (CF, PCA, SLA và VA) cao nhất lần lượt là: 287,85; 88,82; 72,32; 57,88 µg/g CK. Trong số các mẫu phân tích, hàm lượng hợp chất axit phenolic cao nhất ở các mẫu thu thập tại Sơn Dương, Hoành Bồ như coumaric (PCA) và axit salicylic (SLA). Ngược lại, mẫu CspL13 thu tại Lương Mông, Ba Chẽ; CspL10 thu tại Nam Mẫu, Yên Tử và mẫu CspL12 thu tại Van Tốc, Móng Cái có hàm lượng hợp chất phonelic thấp nhất. Riêng với hoạt chất acid salicylic (SLA) có tới năm mẫu CspL2; CspL3; CspL7; CspL9 và CspL10 thu lần lượt tại Băng Cả, Hoành Bồ; Cài, Hoành Bồ; Đạp Thanh, Ba Chẽ; Đài Van, Ba Chẽ và Nam Mẫu, Yên Tử, là trong quá trình xác định không thấy có sự xuất hiện của chất này trong lá tại các địa điểm thu thập trên.

Như vậy, hàm lượng các axit phenolic trong các mẫu lá trà hoa vàng được thu tại các địa điểm khác nhau theo thứ tự giảm dần là: CF > PCA > SLA > VA.

Resveratrol và coumarin trong các mẫu lá thu được tại các địa điểm khác nhau cũng có sự biến động tương đối lớn. Hàm lượng resveratrol và coumarin cao nhất trong các mẫu CspL1 và CspL8, đạt 85,01 và 94,65 µg/g CK, đây là các mẫu được thu tại các địa điểm Khe Sút, Hoành Bồ và Xóm Mới, Ba Chẽ. Các mẫu có hàm lượng hoạt chất resveratrol và coumarin thấp nhất là các mẫu CspL7 và CspL9 và đạt tương ứng là 41,86 và 20,25 µg/g CK. Đây là các mẫu thu thập tại Đạp Thanh, Ba Chẽ và Đài Van, Ba Chẽ.

Về tổng thể, các mẫu lá trà hoa vàng thu thập được ở các địa điểm khác nhau của Quảng Ninh có hàm lượng resveratrol cao hơn coumarin.

Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng axit caffeic (CF) của trà hoa vàng thu tại Quảng Ninh thấp hơn hàm lượng CF trà Ô Long được trồng và chế biến tại Thái Lan.

Theo như công bố của Theppakorn (2016) thì hàm lượng CF của trà Ô Long trước và sau chế biến ít có sự biến động và được xác định là trong ngưỡng 35.500 - 36.100 µg/g CK, cao hơn so với trà hoa vàng Quảng Ninh là 174,50 µg/g CK. Theo kết quả nghiên cứu của Canbay và Gida (2017) khi sử dụng phương pháp HPLC để xác định hàm lượng axit p-coumaric là 656 µg/g CK, axit caffeic nằm trong ngưỡng từ 112,70-1.545,5 µg/g CK trong các mẫu chè được bán ở Thổ Nhĩ Kỳ. Như vậy, có thể thấy hàm lượng axit p-coumaric và axit caffeic trong các mẫu chè được bán ở Thổ Nhĩ Kỳ cao hơn hàm lượng axit p-coumaric và axit caffeic trong trà hoa vàng ở Quảng Ninh.

3.2. Hàm lượng một số hợp chất có hoạt tính sinh học trong nụ hoa cây trà hoa vàng

3.2.1. Hàm lượng hợp chất nhóm flavonoid, rutin, quercetin trong nụ hoa trà hoa vàng

Hàm lượng hợp chất nhóm flavonoid, rutin, quercetin trong nụ hoa trà hoa vàng thu thập tại Quảng Ninh được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5 cho thấy, hàm lượng catechin C, EC, EGCG, ECG trong nụ hoa trà hoa vàng có sự biến động lớn giữa các mẫu thu thập được tại các địa điểm khác nhau. Hàm lượng catechin C, EC, EGCG, ECG là lớn nhất lần lượt ở các mẫu CspH5, CspH9, CspH1 và CspH15, đây là các mẫu được thu thập tại Khe Càn (Hoành Bồ), Đài Van (Ba Chẽ), Khe Sút (Hoành Bồ) và Minh Cầm (Ba Chẽ). Các mẫu có hàm lượng hoạt chất thấp là các mẫu được thu tại Lương Mông, Ba Chẽ (CspH13), Cài, Hoành Bồ (CspH3), Sơn Dương, Hoành Bồ (CspH4), trong đó mẫu thu tại Lương Mông, Ba Chẽ có hàm lượng catechin C và EGCG là thấp nhất và chỉ đạt tương ứng là 0,5 và 0,13 mg/g CK.

Như vậy, hàm lượng catechin C, EC, EGCG, ECG được xác định có sự khác nhau giữa các mẫu thu thập được từ các địa điểm thu thập, và đạt được hàm lượng trung bình lần lượt là 7,07 mg/g CK với catechin (C), 1,08 mg/g CK với catechin (EC), 0,89 mg/g CK với catechin (EGCG) và 3,39 mg/g CK với catechin (ECG).

Hàm lượng rutin và quercetin có sự biến động tương đối lớn trong các mẫu nụ hoa trà thu thập ở các địa điểm khác nhau và đạt cao nhất ở mẫu CspH10 thu tại Nam Mẫu, Yên Tử, quercetin đạt cao nhất ở mẫu CspH3 thu tại Cài, Hoành Bồ. Ngược lại, hàm lượng rutin và quercetin là thấp nhất ở mẫu CspH12 thu tại Van Tốc, Móng Cái và đạt tương ứng là 776,1 µg/g CK và 96,2 µg/g CK. Như vậy, hàm lượng rutin và quercetin trong các mẫu nụ hoa trà hoa vàng thu thập tại các địa điểm khác nhau trên địa phận Quảng Ninh có sự khác biệt rõ rệt về hàm lượng.

Kết quả phân tích trên cho thấy, hàm lượng các chất trong nhóm catechin, rutin và quercetin trong

nụ hoa cao hơn rất nhiều trong lá. Điều này phản ánh phần nào giá trị của nụ trà hoa vàng ngoài thị trường được đánh giá cao hơn so với các bộ phận khác trong cây.

Bảng 5. Hàm lượng C, EC, EGCG, ECG, rutin và quercetin trong nụ hoa trà hoa vàng

Ký hiệu mẫu	Hoạt chất					
	C (mg/g CK)	EC (mg/g CK)	EGCG (mg/g CK)	ECG (mg/g CK)	RT (µg/g CK)	QC (µg/g CK)
CspH1	16,4±0,5	0,37 ± 0,05	3,44 ± 0,58	0,31 ± 0,04	853,9±13,4	194,2±38,0
CspH2	5,9±0,5	0,89 ± 0,12	0,22 ± 0,01	6,62±0,68	809,9±47,3	185,5±11,8
CspH3	5,8±0,5	0,18±0,01	0,48 ± 0,05	0,88 ± 0,14	1092,3±53,6	272,3±30,2
CspH4	7,5±0,2	0,39 ± 0,01	0,58 ± 0,06	0,16 ± 0,03	803,7±0,7	194,2±7,2
CspH5	17,5±1,0	1,16 ± 0,12	0,46 ± 0,06	7,44 ± 0,00	1509,1±140,2	265,4±26,4
CspH6	10,8±0,1	2,36 ± 1,19	2,27 ± 0,04	2,12 ± 0,10	1156,00±0,9	148,7±38,3
CspH7	6,2±0,8	1,23 ± 0,21	0,83 ± 0,03	1,40 ± 0,07	1085,9±165,7	148,8±10,7
CspH8	1,6±0,2	0,88 ± 0,06	0,29 ± 0,01	1,33 ± 0,08	1167,5±59,9	206,9±10,6
CspH9	5,2±0,9	2,41 ± 0,38	1,05 ± 0,06	0,40 ± 0,04	1867,6±69,9	187,2±10,5
CspH10	11,9±0,9	0,16 ± 0,07	0,23 ± 0,05	5,75 ± 0,58	2565,0±86,9	182,6±4,9
CspH11	4,7±0,5	1,49 ± 0,26	1,22 ± 0,08	0,36 ± 0,12	1108,5±8,6	126,7±10,1
CspH12	4,2±0,5	1,06 ± 0,23	1,21 ± 0,21	10,41±1,96	776,1±43,4	96,2±13,1
CspH13	0,5±0,2	0,56 ± 0,04	0,13 ± 0,00	1,27 ± 0,09	790,8±49,0	101,3±10,6
CspH14	0,7±0,0	0,71 ± 0,02	0,20 ± 0,01	0,35 ± 0,01	1261,7±30,0	109,3±2,2
CspH15	7,5±0,1	1,13 ± 0,00	0,91 ± 0,24	12,13±0,01	1547,4±0,0	113,5±3,4
Trung bình	7,07	1,08	0,89	3,39	1226,37	168,87

Ghi chú: C: Catechin; EC: Epicatechin; EGCG: epigallocatechin 3-gallate; ECG: Epicatechin 3-gallate; RT: Rutin; QC: quercetin; CK: Chất khô.

3.2.2. Hàm lượng nhóm axit phenolic, resveratrol và coumarin trong nụ hoa trà hoa vàng

Hàm lượng nhóm axit phenolic, resveratrol và coumarin trong nụ hoa trà hoa vàng thu thập tại Quảng Ninh được thể hiện ở bảng 6.

Bảng 6. Hàm lượng phenolic (CF, PCA, SLA, VA), resveratrol và coumarin trong nụ hoa trà hoa vàng

Kí hiệu mẫu	Hoạt chất					
	CF (µg/g CK)	PCA (µg/g CK)	SLA (µg/g CK)	VA (µg/g CK)	RES (µg/g CK)	CR (µg/g CK)
CspH1	390,03±19,9	48,80±3,05	123,4±13,4	57,48±11,03	604,5±85,0	263,6±2,6
CspH2	471,2±45,8	43,4±3,39	261,1±1,4	73,07±4,97	387,4±3,5	124,6±7,1
CspH3	302,5±55,4	43,55±1,86	502,7±34,2	91,90±0,24	321,8±18,7	365,4±28,4
CspH4	368,3±61,7	43,85±2,05	227,5±7,5	37,98±1,58	896,8±82,8	112,0±29,8
CspH5	493,4±57,1	52,45±3,95	875,1±41,0	31,79±4,42	271,3±14,2	132,7±29,2
CspH6	628,8±29,6	50,07±2,07	324,0±15,2	59,24±11,91	1968,1±34,7	81,4±10,2
CspH7	658,3±69,7	57,06±6,78	1095,4±36,9	59,84±9,25	579,1±41,6	443,2±35,6
CspH8	461,6±7,6	55,26±2,33	742,9±37,1	60,75±0,55	326,01±45,7	430,6±17,6
CspH9	634,4±84,4	62,41±3,91	591,9±51,6	49,20±1,13	1861,5±21,9	224,1±1,2
CspH10	673,6±31,1	91,26±5,44	2024,3±5,2	38,53±8,40	345,0±31,4	221,7±16,8
CspH11	386,7±19,4	69,18±1,40	166,5±14,0	58,35±0,69	553,8±24,7	70,1±4,6
CspH12	529,4±20,6	117,69±6,32	984,7±69,1	33,75±1,65	1510,9±2,2	230,9±26,3
CspH13	306,8±4,1	77,17±9,42	621,7±83,9	55,11±0,27	929,2±53,1	172,1±4,6
CspH14	344,03±4,3	70,66±6,61	218,0±6,1	67,39±5,76	916,2±91,5	84,5±5,8
CspH15	428,5±0,0	39,79±1,76	1423,6±35,8	47,59±0,00	916,0±45,3	92,9±0,0
Trung bình	512,10	59,30	676,98	57,67	825,83	203,31

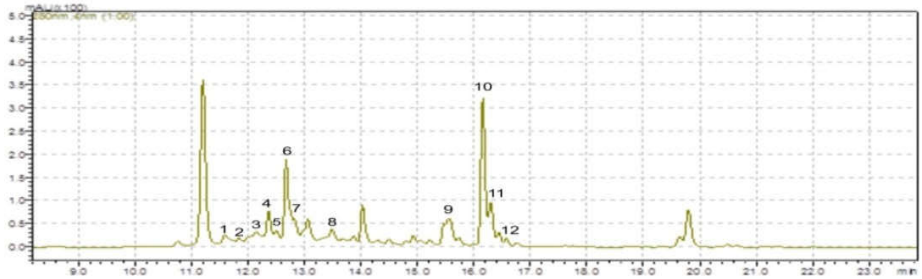
Ghi chú: CF: Caffeic; PCA: P-coumaric; SLA: Salicylic; VA: Vanillic; RES: Resveratrol; CR: coumarin; CK: Chất khô.

Bảng 6 cho thấy, hàm lượng các hợp chất trong nhóm phenolic bao gồm axit caffeic (CF); axit p-coumaric (PCA); axit salicylic (SLA); axit vanillic (VA) có sự biến động rõ rệt trong các mẫu được thu thập và đạt cao nhất ở các mẫu CspH10 (thu tại Nam Mẫu, Yên Tử), CspH12 (thu tại Van Tốc, Móng Cái) và CspH3 (thu tại Cài, Hoành Bồ). Các mẫu này đều tích lũy các hợp chất CF, PCA, SLA, VA với lượng cao nhất với lượng tương ứng là 673,6; 117,7; 2024,3; 91,9 µg/g CK. Mẫu thu tại Nam Mẫu, Yên Tử (CspH10) có cả axit caffeic (PCA) và axit salicylic (SLA) đều tích lũy với lượng cao nhất. Ngược lại, nhóm các mẫu CspH3 thu tại Cài, Hoành Bồ; CspH15 thu tại Minh Cầm, Ba Chẽ, mẫu CspH1 thu tại Khe Sút, Hoành Bồ và mẫu CspH5 thu tại Khe Càn, Hoành Bồ cho hàm lượng nhóm hợp chất phonelic là thấp nhất. Như vậy, hàm các axit phenolic trong các mẫu nụ hoa của cây trà hoa vàng được thu tại các địa điểm khác nhau đạt giá trị trung bình giữa các mẫu có thứ tự giảm dần là: SLA> CF > PCA > VA với hàm lượng tương ứng lần lượt là: 676,98 µg/g CK; 512,10 µg/g CK; 59,30 µg/g CK; 57,67 µg/g CK.

Hàm lượng resveratrol và coumarin trong các mẫu nụ hoa tại các địa điểm khác nhau cũng có sự biến động tương đối lớn, cao nhất ở các mẫu CspH6 (Bình Lược, Vân Đồn) và CspH7 (Đạp Thanh, Ba Chẽ) đạt hàm lượng tương ứng là 1968,1 và 443,2 µg/g CK. Mẫu có hàm lượng hoạt chất resveratrol thấp nhất là các mẫu CspH5 thu được tại Khe Càn, Hoành Bồ và mẫu có hàm lượng coumarin thấp nhất là mẫu CspH11 được thu tại Việt Hưng, Hoành Bồ với hàm lượng thấp nhất với lượng tương ứng là 271,3 và 70,1 µg/g CK.

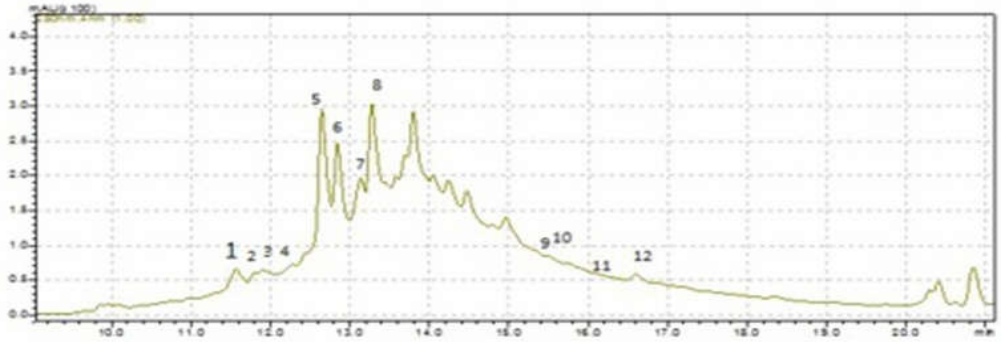
Như vậy, resvertrol được tích lũy với lượng cao hơn so với coumarin trong nụ trà hoa vàng thu thập trên địa bàn tỉnh Quảng Ninh.

Từ các kết quả phân tích trên cho thấy, hàm lượng CF, PCA, SLA, VA, resveratrol và coumarin trong nụ trà hoa vàng là cao hơn lá. Điều này chứng tỏ giá trị dược liệu của nụ hoa là ưu việt hơn. Điều này cũng được thể hiện rõ qua thời gian lưu và giá trị diện tích tín hiệu đo được thu lại giữa mẫu lá và mẫu nụ hoa, kết quả được thể hiện ở hình 1 và 2.



Hình 1. Sắc kí đồ các chất trong mẫu nụ hoa trà hoa vàng Nam Mẫu, Yên Tử, Quảng Ninh

Ghi chú: (1) Catechin; (2) EC; (3)EGCG; (4) caffeic acid; (5) vanillic acid; (6) rutin; (7) ECG; (8) p-coumaric acid; (9) resveratrol; (10) salicylic acid; (11) quercetin; (12) coumarin



Hình 2. Sắc kí đồ các chất trong mẫu lá trà hoa vàng Khe Sút, Hoành Bồ, Quảng Ninh

Ghi chú: (1) Catechin; (2) EC; (3)EGCG; (4) caffeic acid; (5) vanillic acid; (6) rutin; (7) ECG; (8) p-coumaric acid; (9) resveratrol; (10) salicylic acid; (11) quercetin; (12) coumarin.

4. KẾT LUẬN

Bằng kỹ thuật sắc ký lỏng hiệu năng cao đã xác định được hàm lượng một số hợp chất có hoạt tính sinh học trong lá và nụ hoa trà hoa vàng thu thập tại Quảng Ninh.

Trung bình hàm lượng các chất trong lá thuộc nhóm flavonoid như catechin (C): 0,43 mg/g CK; epicatechin (EC): 0,2 mg/g CK; epigallocatechin 3-gallate (EGCG): 0,28 mg/g CK; epicatechin 3-gallate (ECG): 0,41 mg/g CK; hàm lượng rutin: 66,53 µg/g CK; hàm lượng quercetin: 45,58 µg/g CK. Các chất trong nhóm axit phenolic: axit caffeic (CF): 174,50 µg/g CK; axit p-coumaric (PCA): 56,75 µg/g CK; axit salicylic (SLA): 52,1 µg/g CK; axit vanillic (VA): 39,85 µg/g CK. Nhóm chất resveratrol và coumarin trong lá trà hoa vàng lần lượt đạt: 63,43 µg/g CK và 47,56 µg/g CK.

Trung bình hàm lượng các chất trong nụ thuộc nhóm flavonoid như catechin (C): 7,07 mg/g CK; epicatechin (EC): 1,08 mg/g CK; epigallocatechin 3-gallate (EGCG): 0,89 mg/g CK; epicatechin 3-gallate (ECG): 3,39 mg/g CK. Hàm lượng rutin: 1226,37 µg/g CK; hàm lượng quercetin: 168,87 µg/g CK. Các chất trong nhóm phenolic axit gồm: axit caffeic (CF): 512,10 µg/g CK; axit p-coumaric (PCA): 59,30 µg/g CK; axit salicylic (SLA): 676,98 µg/g CK; axit vanillic (VA): 57,67 µg/g CK. Nhóm chất resveratrol và coumarin trong nụ hoa trà hoa vàng lần lượt đạt: 825,83 µg/g CK và coumarin: 203,31 µg/g CK. Kết quả xác định hàm lượng các chất có hoạt tính sinh học trên mẫu lá và nụ hoa cây trà hoa vàng cho thấy các chất được xác định trên mẫu nụ đều cao hơn trên mẫu lá, điều này chứng tỏ giá trị dược liệu của nụ hoa là ưu việt hơn lá. Mẫu nụ hoa được thu hái từ Nam Mẫu, Yên Tử, Quảng Ninh, cho giá trị hàm lượng hoạt chất là cao nhất (cả axit caffeic (PCA) và axit salicylic (SLA) đều tích lũy với lượng cao nhất tương ứng là 673,6; 2024,3 µg/g CK.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Zhang A, Wan L, Wu C, Fang Y, Han G, Li H, Zhang Z and Wang H (2013). *Simultaneous Determination of 14 Phenolic Compounds in Grape Canes by HPLC-DAD-UV Using Wavelength Switching Detection*. (18): 14241-14257.

2. Chen, Y. Y., Y. L. Huang, Y. X. Wen, D. P. Li, J. L. Liu and X. Wei (2009). Analysis of volatile components in *Camellia nitidssima* by GC-MS*. Food Science and Technology*. Vol 8. pp. 078.

3. Orel G and S. Anthony C (2013). Preliminary morphological assessment of six new, yellow flowering Camellia (Theaceae) species from Viet Nam. *Camellia International Journal*. 45, ISSN 0159 - 656X.

4. Giang Trung Khoa, Nguyễn Thanh Hải, Ngô Xuân Mạnh, Nguyễn Thị Bích Thủy, Phạm Đức Nghĩa, Nguyễn Thị Oanh, Phan Thu Hương và P. Duez (2013). Ảnh hưởng của nguồn nguyên liệu đến thành phần hóa học cơ bản của giống chè trung du (*Camellia sinensis var. sinensis*). *Tạp chí Khoa học và Phát triển*. 11(3): 373-379.

5. Hoàng Chung (2006). *Các phương pháp nghiên cứu quần xã thực vật*. Nhà xuất bản Giáo dục.

6. Cuiyun L, Xiaozuo D, Jianjia S, Yun W; Chao O; Zuo L; Zuo C; Chun Y; Huifen Y and Jingyuan J (2007). Impact of leaves and flowers of Camellia chrysantha (Hu) tuyama of different concentrations on diethylnitrosaminal-induced precancerous lision to liver of rat and hepatoma cells bel-7404. *Journal of guangxi medical university.* 5: 660-663.

7. Song L. M., G. D. Wang, H. P. Wang and N. Z. Xing (2016*).* Effect of 2-methoxyestradiol combined with quercetin on prostate cancer *in vitro*. *Zhonghua yi xue za zhi*. Vol 96(2). pp. 95-99.

8. Ngô Thị Thảo, Nguyễn Thị Hà Ly, Thị Linh Giang, Hoàng Quỳnh Hoa và Trần Văn Ơn (2016). Nghiên cứu đặc điểm hình thái, xác định hàm lượng polyphenol, EGCG và thử nghiệm tác dụng sinh học *in vitro* của trà hoa vàng thu hái tại Ba Chẽ - Quảng Ninh. *Tạp chí Y học Việt Nam;* tập 449. Số chuyên đề - 2016: 145-154.

9. Canbay S. H. and Gıda MDA (2017). *Phenolic Content of Some Dietetic Tea Products in Turkey*. Akademik Gıda 15 (4): 350-354.

10. Theppakorn T. (2016). Stability and chemical changes of phenolic compounds during Oolong tea Processing. *International Food Research Journa.l*. 23(2):564-574.

11. Wei J. B., X. Li, H. Song, Y. H. Liang, Y. Z. Pan, J. X. Ruan and Z. H. Su (2015). Characterization and determination of antioxidant components in the leaves of *Camellia chrysantha* (Hu) Tuyama based on composition–activity relationship approach. *Journal of Food and Drug Analysis*. *23*(1): 40-48.

12. Qin X. M., H. J. Lin and E. C. Ning (2008).

Antioxidative properties of extracts from the leaves of *Camellia chrysantha* (Hu) *Tuyama, Food Sci Technol*. Vol 2.189 -191.

13. Lixia Song A., Xiangshe Wang, A. Xueqin, A. Zheng and Dejian Huang (2011). Polyphenolic antioxidant profiles of yellow *Camellia*, *Food Chemistry*. Vol (129). pp. 351–357.

14. Lin J. N., H. Y. Lin, N. S. Yang, Y. H. Li, M. R. Lee C. H. Chuang and T. D. Way (2013). Chemical constituents and anticancer activity of yellow *Camellias* against MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Journal of agricultural and food chemistry*. Vol 61(40). pp. 9638-9644.

CONTENT OF SOME BIOTOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS HAVING IN THE LEAVES AND BUDS OF *Camellia chrysanthoides* COLLECTED IN QUANG NINH PROVINCE

Dang Quang Bich, Dang Quang Hung,

Tran Van Cao, Hoang Nguyen Viet Hoa

Summary

Golden Camelia (*Camellia chrysanthoides*. Hung T. Chang) is a medicinal plant species containing a wide range of bioactive compounds that can be used for diseases treatment such as in anti - inflammatory, cancer and other diseases. By high - resolution liquid chromatography technique, contents of some the bioactive compounds in leaves and flowers buds collected in Quang Ninh, were identified. Flavonoids such as: catechin (C); epicatechin (EC); epigallocatechin 3 - gallate (EGCG); epicatechin 3 - gallate (ECG). Rutin and quercetin contents were also determined in both leaf and flower buds. In addition, resveratrol; coumarin and phenolic acid groups including caffeic acid (CF); p - coumaric acid (PCA); salicylic acid (SLA); vanillic acid (VA) were also specifically measured on these two materials. The study results showed bioactive compounds contents in flower buds were higher in leaves. The flower bud samples from Nam Mau, Yen Tu district of Quang Ninh province having the highest active compounds content. This shows that medicinal value of flower buds was superior to leaves. In addition, the study results also showed that leaf and flower buds samples at different sites were differ in the content of compounds.

Keywords: *Biologically active substances, Camellia chrysanthoides, Quang Ninh.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Văn Khiêm

Ngày nhận bài: 21/8/2020

Ngày thông qua phản biện: 22/9/2020

Ngày duyệt đăng: 29/9/2020