

# HÀM LƯỢNG MỘT SỐ THÀNH PHẦN HOÁ HỌC TỪ CÂY TRÀ HOA VÀNG BA VÌ (*Camellia tonkinensis* (Pit.) Cohen - Stuart)

Đặng Văn Hà<sup>1</sup>, Nguyễn Trọng Cường<sup>1</sup>, Lê Văn Quân<sup>1</sup>, Hà Công Chiến<sup>1</sup>,

Trần Văn Xuân<sup>1</sup>, Vũ Quang Nam<sup>1</sup>, Vũ Văn Sơn<sup>2</sup>

## TÓM TẮT

Chi Chè (*Camellia* L.) thuộc họ Chè (Theaceae) từ lâu đã rất thân thuộc với người dân của nhiều nước trên thế giới do có nhiều tác dụng chữa bệnh và được dùng phổ biến để làm đồ uống, thực phẩm chức năng. Đã có rất nhiều nghiên cứu cả ở trong nước và trên thế giới về chi *Camellia*, nhưng chưa có nghiên cứu về tách chiết các chất hoá học trong lá và hoa của loài Trà hoa vàng ba vì (*Camellia tonkinensis* (Pit.) Cohen-Stuart) - một loài được tái phát hiện ở tỉnh Hoà Bình, Việt Nam sau 100 năm và được xếp vào mức nguy cấp - Endangered B1ab (iii) ver 3.1 theo Tiêu chuẩn của IUCN (2015). Kết quả nghiên cứu đã khẳng định được các mẫu vật thu được từ Công ty TNHH một thành viên Lâm nghiệp Hoà Bình là loài Trà hoa vàng ba vì (*C. tonkinensis*). Các đặc điểm hình thái của loài đã được mô tả, kèm theo hình ảnh minh chứng cành lá, hoa, thân và mẫu tiêu bản chuẩn (type specimen) của loài. Hàm lượng về các chỉ tiêu của Zn, Saponin tổng số và 17 axit amin trong hoa khô loài *C. tonkinensis* đã được phân tích và so sánh với loài Trà hoa vàng cúc phương (*C. flava*), theo đó các chỉ tiêu của loài nghiên cứu đều thấp hơn so với loài *C. flava*. Cần tiếp tục thu thêm mẫu hoa và lá (kể cả tươi và khô) và thống nhất các phương pháp thử của 2 phòng thí nghiệm để rút ra được kết quả thống nhất hơn trong các mẫu phân tích.

Từ khoá: *Camellia tonkinensis*, *Camellia flava*, Theaceae, Trà hoa vàng.

## 1. BẠT VĂN ĐỀ

Chi Chè (*Camellia* L.) thuộc họ Chè (Theaceae) từ lâu đã rất thân thuộc với người dân của nhiều nước trên thế giới do có nhiều tác dụng chữa bệnh và được dùng phổ biến để làm đồ uống, thực phẩm chức năng. Đã có rất nhiều nghiên cứu cả ở trong nước và trên thế giới về chi *Camellia*, kết quả cho thấy phần lớn các loài trong chi này chứa các thành phần chủ yếu là flavonoid, triterpenoid và một số hợp chất polyphenolic khác; có nhiều hoạt tính quý, trong đó đáng chú ý là hoạt tính chống oxi hóa và hoạt tính gây độc tế bào [3], [5], [7], [10]. Trong chi *Camellia*, Trà hoa vàng (gold camellia) được coi là loại quý hiếm. Trên thế giới có khoảng trên 40 loài và ở Việt Nam, ước tính có khoảng trên 30 loài Trà hoa vàng, phân bố rộng khắp cả nước [6].

Mặc dù các nghiên cứu về chi *Camellia* có từ rất sớm và đã có rất nhiều công bố về chi này, nhưng riêng đối với Trà hoa vàng, cho đến nay chưa có nhiều nghiên cứu, cả về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học. Đa phần các nghiên cứu về Trà hoa

vàng mới chỉ tập trung vào các đặc tính thực vật và làm cảnh của chúng. Các nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của Trà hoa vàng mới bắt đầu có từ năm 2011 trở lại đây, nhưng chưa có nghiên cứu nào về tách chiết các chất hoá học trong lá và hoa của loài Trà hoa vàng ba vì (*Camellia tonkinensis* (Pit.) Cohen-Stuart) - một loài được tái phát hiện ở tỉnh Hoà Bình, Việt Nam sau 100 năm và được xếp vào mức nguy cấp - Endangered B1ab (iii) ver 3.1 theo Tiêu chuẩn của IUCN (2015) [8]. Do đó, việc nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của Trà hoa vàng nói chung và Trà hoa vàng ba vì (*Camellia tonkinensis* (Pit.) Cohen-Stuart) nói riêng để từ đó góp phần định hướng khai thác một cách có hiệu quả nguồn dược liệu quý này ở Việt Nam nhằm phát triển thành các sản phẩm có giá trị chăm sóc sức khỏe cộng đồng là cần thiết và có ý nghĩa thực tiễn.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Các tiêu bản (dùng cho giám định hình thái) và các mẫu lá, hoa (được sấy khô, dùng cho phân tích các hợp chất) đều được lấy từ khu rừng tự nhiên thuộc sự quản lý của Chi nhánh Lâm trường Lương Sơn (gọi tắt là Lâm trường Lương Sơn) - Công ty

<sup>1</sup> Trường Đại học Lâm nghiệp

\* Email: hadv@vnuf.edu.vn

<sup>2</sup> Vườn Quốc gia Ba Vì

TNHH một thành viên Lâm nghiệp Hòa Bình, gồm khoảng 30 ha, chủ yếu là rừng tự nhiên phục hồi (trạng thái IIIA1 và IIA2). Thời gian thu mẫu: Tháng 3/2022; thời gian phân tích hoạt chất: Tháng 4/2022.

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### - Phương pháp giám định các mẫu Trà hoa vàng:

Dựa theo phương pháp hình thái so sánh và được thực hiện tại Phòng thí nghiệm Thực vật học, Viện Công nghệ sinh học, Trường Đại học Lâm nghiệp (tháng 3 - 4/2022). Các mẫu Trà hoa vàng thu từ Hoà Bình (gồm các mẫu lá và hoa) sau khi được xử lý được phân tích kỹ lưỡng dưới kính hiển vi soi nổi hiệu Optika SZM-1 (Italy). Các đặc điểm về hình dạng phiến lá, chiều dài cuống lá, mép lá, hệ gân, đặc điểm (lông/không lông) ở mặt dưới lá và các đặc điểm về hoa (cấu tạo bộ nhị, số lá noãn, hợp/rời của lá noãn) được đặc biệt chú ý. Các đặc điểm trên được so sánh với tiêu bản chuẩn (type) có số hiệu mẫu *Balansa 3860* [12] và các mô tả của loài [11].

- Phương pháp xác định hàm lượng một số thành phần hóa học: Chỉ tiêu Kẽm (Zn) được xác định theo phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử sau khi đã phân hủy bằng vi sóng (PP được mô tả trong TCVN-8126: 2009) [9]. Hàm lượng Saponin tổng số được xác định bằng phương pháp cân, tiến hành như sau:

Bước 1: Cân chính xác M (g) mẫu nguyên liệu, mẫu nguyên liệu nghiên cứu đã được xác định độ ẩm (d) trước đó bằng phương pháp xác định hàm ẩm (theo Dược điển Việt Nam, 2017 [1]).

Bước 2: Loại chất béo bằng một lượng M x 10 mL *n*-Hexane (hoặc ether dầu hoả), chiết Soxhlet trong khoảng 6 giờ, lặp lại thí nghiệm đến khi hết chất béo, sau đó lấy bã sấy cho bay hơi hết dung môi (bằng phương pháp sấy).

Bước 3: Tiếp tục chiết như trên bằng M x 10 mL chloroform (hoặc DCM) trong 3 giờ, lặp lại 3 lần, lấy bã sấy cho bay hết dung môi (bằng phương pháp sấy).

Bước 4: Chiết bằng M x 10 mL methanol (MeOH) trong khoảng 6 giờ (lặp lại 3 lần), sau đó gộp dịch chiết, tiến hành thu hồi dung môi dưới áp suất giảm (bằng hệ thống cô quay) thu được cao chiết MeOH.

Bước 5: Hoà tan cao chiết MeOH bằng 3/5 x M (mL) nước cất. Sau đó tiến hành chiết phân đoạn với

dung môi *n*-butanol (BuOH) cho đến khi lớp *n*-butanol không còn màu. Gộp dịch chiết BuOH rồi rửa 3 lần với nước cất, sau đó tiến hành quay khô dưới dung môi thu hồi cao BuOH.

Bước 6: Hoà tan cao BuOH bằng 2/5 x M mL ethanol 80% rồi chuyển phần dung dịch vào một cốc đã được xác định khối lượng trước. Bốc hơi dung môi được cần. Sau đó sấy khô cần ở 105°C, trong 3 giờ, rồi tiến hành cân xác định khối lượng cao khô còn lại (A).

Hàm lượng saponin tổng theo nguyên liệu khô được tính theo công thức:

$$X (\%) = (A \times 100) / (M - d)$$

Trong đó: X: Hàm lượng saponin (%); A: khối lượng cao khô thu được (g); d: độ ẩm của mẫu nguyên liệu ban đầu (%); M: khối lượng nguyên liệu đem phân tích (g).

Các chỉ tiêu về axit amin được thực hiện theo phương pháp phân tích bằng HPLC (Sắc ký lỏng cao áp) của phòng thí nghiệm xây dựng dựa trên cơ sở tham khảo phương pháp của hãng Agilent [4] và hàm lượng acid amin được tính dựa theo phương pháp đường chuẩn. Các chỉ tiêu trên được phân tích tại Phòng phân tích hoá học, Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên, thuộc Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

## 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Xác định tên khoa học mẫu Trà hoa vàng thu từ Hoà Bình

Các mẫu vật (gồm thân, cành, lá và hoa) của các mẫu Trà hoa vàng thu được từ Hoà Bình được khẳng định là loài Trà hoa vàng ba vì (*Camellia tonkinensis* (Pit.) Cohen - Stuart). Đặc điểm hình thái của loài như sau:

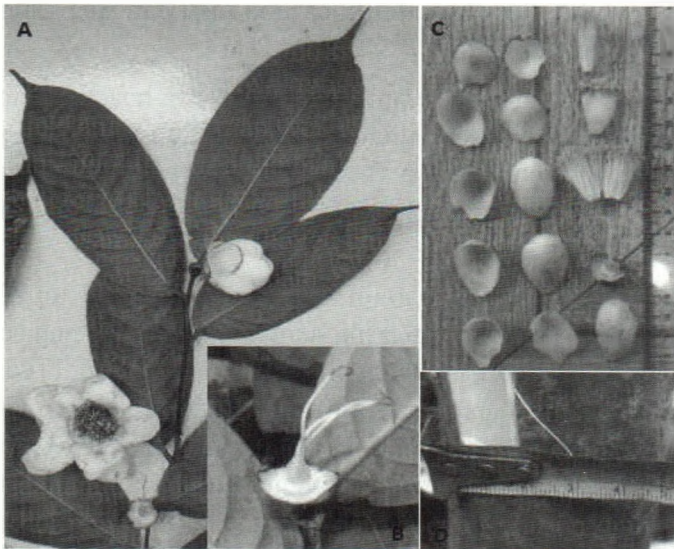
Cây gỗ nhỏ, cao tới 6 m, đường kính gốc tới 20 cm; vỏ cây nhẵn, gỗ trắng hồng lúc tươi. Cành non có lông nâu xám, mỏng mảnh, không lông. Cuống lá dài cỡ 1 cm, mập, lông sớm rụng; phiến lá mỏng, mặt trên xanh đậm, bóng, không lông, mặt dưới xanh nhạt, có lông tơ gắn ở gân giữa (quan sát dưới kính hiển vi soi nổi), dạng xoan rộng, cỡ 15-23 x 5-7,5 cm; chóp lá nhọn đến có đuôi, dài tới 3 cm; gốc lá tròn đến tù; mép lá răng cưa nông, thưa, các răng cưa cách nhau cỡ 3-5 mm; hệ gân dạng lông chim, 8-11 gân ở mỗi bên gân chính, vắn hợp nhau, cách mép lá cỡ 0,5-0,6 mm. Nụ hoa trước khi nở hình cầu, cỡ 2,5-3



x 2-2,5 cm. Hoa màu vàng; đài hoa 5, gần bằng nhau, hình tròn hoặc gần tròn, dai, cứng, phủ lớp lông tơ dày ở mặt ngoài, mặt trong không lông, mép mỏng; tràng hoa 9-12, màu vàng nhạt, dạng lòng máng, cỡ 1,5-2 x 1,3-1,8 cm; bộ nhị nhiều nhị, dính nhau tới 2/3 chiều dài nhị, tạo lớp màng phía ngoài; bộ nhụy gồm 3 lá noãn, bầu hợp, 3 vòi nhụy rời. Quả đóng, cỡ 1,7 x 2,5-3 cm, 3 ô. Hạt 1/mỗi ô. Mùa hoa: tháng 3-4, mùa quả: tháng 5-10 (Hình 1, 2).



Hình 1. Tiêu bản chuẩn của Trà hoa vàng ba vì (*Camellia tonkinensis*) (Số hiệu mẫu Balansa 3860 – PI, P01903515)



Hình 2. Trà hoa vàng ba vì (*Camellia tonkinensis*) thu từ Hoà Bình. A. Cành lá mang hoa; B. Bộ nhụy với 3 lá noãn, vòi nhụy rời; C. Các phần rời của một hoa; D. Vỏ cây.

3.2. Kết quả xác định hàm lượng một số thành phần hóa học từ Trà hoa vàng ba vì

Các chỉ tiêu về Zn, Saponin tổng số và 17 axit amin được phân tích tại Phòng phân tích hoá học, Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên, thuộc Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Kết quả được thể hiện ở bảng 1 và 2.

Bảng 1. Kết quả phân tích chỉ tiêu kẽm và saponin tổng số trong mẫu lá và hoa loài *C. tonkinensis*

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị tính <sup>a</sup>	Phương pháp <sup>b</sup>	Kết quả	
				Mẫu lá	Mẫu hoa
1.	Kẽm (Zn)	mg/kg	Quang phổ hấp thụ nguyên tử	10,2	13,4
2.	Saponin ts.	mg/g	Cân	58,3	87,1

Ghi chú: <sup>a</sup> Đơn vị tính theo trạng thái mẫu cung cấp; <sup>b</sup> Phương pháp của phòng thí nghiệm xây dựng dựa trên cơ sở tham khảo Dược điển Việt Nam.

Bảng 2. Kết quả phân tích thành phần và hàm lượng các axit amin trong mẫu lá và hoa loài *C. tonkinensis*

STT	Tên chỉ tiêu phân tích	Thời gian lưu	Đơn vị tính <sup>a</sup>	Kết quả	
				Mẫu lá	Mẫu hoa
1	Aspartate	3.512	g/kg	0,58	1,614
2	Glutamate	7.302	g/kg	1,158	2,121
3	Serine	13.931	g/kg	0,187	0,906
4	Histidine	16.766	g/kg	NQ	NQ
5	Glycine	17.461	g/kg	0,712	0,344
6	Threonine	17.872	g/kg	0,237	0,176
7	Arginine	20.935	g/kg	0,636	2,794
8	Alanine	21.401	g/kg	1,569	1,247
9	Tyrosine	24.941	g/kg	0,679	0,071
10	Cysteine	27.938	g/kg	0,083	NQ
11	Valine	29.729	g/kg	1,237	0,856
12	Methionine	30.482	g/kg	0,211	NQ
13	Phenylalanine	33.917	g/kg	0,589	0,133
14	Isoleucine	34.269	g/kg	0,557	0,187
15	Leucine	36.130	g/kg	1,054	0,461
16	Lysine	37.964	g/kg	0,055	0,037
17	Proline	42.087	g/kg	0,816	0,385

Ghi chú: Phương pháp phân tích bằng HPLC của phòng thí nghiệm xây dựng dựa trên cơ sở tham khảo phương pháp của hãng Agilent; NQ = Không định lượng (dưới mức giới hạn định lượng của phương pháp).

### 3.3. Thảo luận

Trà hoa vàng ba v ( *Camellia tonkinensis*) được lấy tên theo địa danh nơi đầu tiên phát hiện ra loài (công bố năm 1910, tại vùng núi Ba Vi, vallée de Lankok (Mont. Bavi), thu mẫu ngày 24/10/1887, số hiệu mẫu *Balansa 3860*, mã vạch tại Bảo tàng thực vật của Pháp: barcode P01903514!). Loài có phân bố ở độ cao từ 120 - 750 m so với mực nước biển. Loài *C. tonkinensis* khác biệt rõ nhất với loài *C. flava* (Pit.) Sealy bởi chúng có 3 ô bầu và gốc lá hình tròn hoặc tù, trong khi đó loài *C. nitidissima* C. W. Chi khác với loài *C. tonkinensis* bởi đặc điểm bầu và vòi nhụy của chúng không lông [11].

So sánh thành phần hoá học của mẫu hoa khô loài *C. tonkinensis* với loài *C. flava* [2], nhận thấy thành phần Zn và Saponin tổng số của chúng lần lượt là 13,4 mg/kg; 87,1 mg/g và 294,16 mg/kg; 15,63 mg/g. Như vậy chỉ tiêu về Zn của loài *C. tonkinensis* thấp hơn rất nhiều so với loài *C. flava*, còn chỉ tiêu về Saponin tổng số của loài *C. tonkinensis* lại cao hơn khá nhiều so với loài *C. flava*. Có giải thích sơ bộ về sự khác nhau do khi lấy mẫu và sự khác nhau do áp dụng tiêu chuẩn khác nhau của 2 phòng thí nghiệm (TCVN - 8126: 2009 vs. TCVN - 8626: 2009 đối với tiêu kẽm và PTN/ ĐĐVN vs. TCCS 2019 đối với Saponin tổng số). Các chỉ tiêu về axit amin của hoa loài *C. tonkinensis* cũng thấp hơn so với loài *C. flava* (dùng TCVN 9522: 2012). Trong khi 3 axit amin: Histidine, Cysteine và Methionine trong hoa khô loài *C. tonkinensis* không định lượng được do chúng nằm dưới mức định lượng của phương pháp (phương pháp phân tích bằng HPLC).

### 4. KẾT LUẬN

Đã khẳng định được các mẫu vật thu được từ Công ty TNHH một thành viên Lâm nghiệp Hòa Bình là loài Trà hoa vàng ba v ( *C. tonkinensis*). Các đặc điểm hình thái của loài đã được mô tả, kèm theo hình ảnh minh chứng cành lá, hoa, thân và mẫu tiêu bản chuẩn (type specimen) của loài.

- Đã cung cấp chỉ tiêu về Zn, Saponin tổng số và 17 axit amin, được phân tích tại Phòng phân tích hoá học, Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên, thuộc Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Loài *C. tonkinensis* khác biệt rõ nhất với loài *C. flava* bởi chúng có 3 ô bầu và gốc lá hình tròn hoặc tù, trong khi đó loài *C. nitidissima* khác với loài *C.*

*tonkinensis* bởi đặc điểm bầu và vòi nhụy của chúng không lông.

- Các kết quả về các chỉ tiêu Zn, Saponin tổng số và 17 axit amin trong mẫu hoa khô của loài *C. tonkinensis* đều thấp hơn loài *C. flava*.

- Cần tiếp tục thu thêm mẫu hoa và lá (kể cả tươi và khô) và cần thống nhất các phương pháp thử của 2 phòng thí nghiệm để rút ra được kết quả thống nhất hơn trong các mẫu phân tích.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2017). *Dược điển Việt Nam*. Nxb Y học, Hà Nội.
2. Đỗ Hữu Đoàn (2020). *Phiếu kết quả thử nghiệm loài Trà hoa vàng cúc phương (Camellia flava)*. Phòng phân tích hoá học, Viện Khoa học sự sống, Thái Nguyên.
3. He D., Wang X., Zhang P., Luo X., Li X., Wang L., Li S. & Xu S. (2015). *Evaluation of the anxiolytic and antidepressant activities of the aqueous extract from Camellia euphlebica Merr. ex Sealy in Mice*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Article ID 618409.
4. Henderson J. W., Ricker R. D., Bidlingmeyer B. A. & Woodward C. (2000). *Rapid, Accurate, Sensitive, and Reproducible HPLC Analysis of Amino Acids: Amino Acid Analysis Using Zorbax Eclipse-AAA Columns and the Agilent 1100 HPLC*. Agilent Technologies.
5. Huang Y. L., Chen Y. Y., Wen Y. X., Li D. P., Liang R. G. & Wei X. (2009). Effects of the extracts from *Camellia nitidissimas* leaves on blood lipids. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 4: 5.
6. Le N. H. N. & Luong V. D. (2016). *General information about the Yellow Camellia species in Vietnam*. In Proceedings of Dali International Camellia Congress. Dali, Yunnan. Pp. 80 - 84.
7. Qin X. M., Lin H. J., Ning E. C. & Lu W. (2008). Antioxidative properties of extracts from the leaves of *Camellia chrysantha* (Hu) Tuyama. *Food Science and Technology*, 2:189e91.
8. Rivers, M. C. (2015). *Camellia tonkinensis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2015: e.T191442A1982634. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-2.RLTS.T191442A1982634.en>



9. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN - 8126: 2009 (Ban hành ngày 21/12/2009).

10. Wei J. B., Li X., Song H., Liang Y. H., Pan Y. Z., Ruan J. X., Qin X., Chen Y. X., Nong C. L. & Su Z. H. (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: 40 - 48.

11. Yang S. X., Nguyen H., Zhao D. W. & Shui Y. M. (2014). Rediscovery of *camellia tonkinensis* (Theaceae) after more than 100 years. *Plant diversity and resources*, 36 (5): 585 - 589.

12. Zhao D. W., Parnell J. A. N. & Hodgkinson T. R. (2017). Typication of name in the genus *Camellia* (Theaceae). *Phytotaxa*, 292 (2): 171 - 179.

CONTENTS OF SOME CHEMICALS FROM BAVI GOLDEN CAMELLIA (*Camellia tonkinensis* (Pit.) Cohen - Stuart)

Dang Van Ha<sup>1</sup>, Nguyen Trong Cuong<sup>1</sup>, Le Van Quan<sup>1</sup>, Ha Cong Chien<sup>1</sup>,  
Tran Van Xuan<sup>1</sup>, Vu Quang Nam<sup>1</sup>, Vu Van Son<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Forestry University of Vietnam

<sup>2</sup>Bavi National Park

Summary

The genus *Camellia* L. (Theaceae) has long been very familiar to people of many countries around the world due to its many medicinal effects and is widely used to make beverages and functional foods. There were many studies on the genus *Camellia*, but there has been no study on the extraction of chemical substances from the leaves and flowers of *Camellia tonkinensis* (Pit.) Cohen - Stuart) - a species rediscovered in Hoa Binh province, Vietnam after 100 years and listed as Endangered - B1ab(iii) ver 3.1 according to IUCN. Research results have confirmed that the specimens obtained from Hoa Binh are *C. tonkinensis*. The morphological characteristics of the species have been described, together with pictures demonstrating the branches, leaves, flowers, stems and the type specimen of the species. The contents of Zn, total Saponin and 17 amino acids in dried flowers of *C. tonkinensis* were analyzed and compared with that of *C. flava*, according to which the parameters of the species studied were lower than that of *C. flava*. It is necessary to continue to collect more flower and leaf samples (both fresh and dried) and unify the test methods of the two laboratories to obtain more consistent results in the analyzed samples.

Keywords: *Camellia tonkinensis*, *Camellia flava*, golden camellias, Theaceae.

Người phản biện: TS. Lê Thị Kim Loan

Ngày nhận bài: 18/4/2022

Ngày thông qua phản biện: 18/5/2022

Ngày duyệt đăng: 24/5/2022