

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA TRÀ HOA VÀNG (*CAMELLIA QUEPHONGNENSIS* HAKODA ET NINH) BẰNG KHỐI PHỔ PHÂN GIẢI CAO

A STUDY OF CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE *CAMELLIA QUEPHONGNENSIS* HAKODA ET NINH FLOWERS WITH HIGH RESOLUTION MASS SPECTROMETRY

Nguyễn Văn Minh Khôi¹, Phùng Văn Trung², Hoàng Minh Hảo³, Nguyễn Thị Ngọc Lan⁴, Giang Thị Kim Liên⁵,
Ngô Thị Phương⁶, Trần Quốc Thành⁷, Lê Ngọc Hùng¹, Lê Minh Hà⁶

¹Ban QLDA Phòng thí nghiệm chuyên ngành hóa dược, Trung tâm Đào tạo, Tư vấn và Chuyển giao công nghệ - VAST

²Viện Công nghệ Hóa học – VAST

³Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật thành phố Hồ Chí Minh

⁴Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

⁵Đại học Đà Nẵng; giangkimlien@gmail.com

⁶Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

⁷Sở Khoa học Công nghệ Nghệ An

Tóm tắt - 46 hợp chất đã được phát hiện có mặt trong cao tổng cồn/ nước và 20 hợp chất được phát hiện trong cao chiết phân đoạn ethyl axetat hoa trà hoa vàng *Camellia quephongensis* Hakoda et Ninh thu tại Quế Phong, Nghệ An bằng việc sử dụng kỹ thuật sắc ký lỏng phân giải cao ghép nối khối phổ. Các nhóm hợp chất chính có mặt trong cả hai cao chiết là flavonoid, phenol và este. Trong cao chiết phân đoạn ethyl axetat không thấy sự có mặt của đường và dẫn xuất đường, amino axit và amin, bên cạnh đó hàm lượng các chất chính như flavonoid, phenol, este đã tăng lên đáng kể so với cao cồn/ nước. Kết quả phân tích này là phù hợp với việc sử dụng dung môi ethyl axetat để làm giàu các hoạt chất polyphenol từ trà hoa vàng. Ngoài ra cũng xác định được sự có mặt của các nguyên tố vi lượng rất đáng quý trong hoa trà hoa vàng *Camellia quephongensis* như germanium, selenium. Đây là những công bố bước đầu về kết quả nghiên cứu thành phần hóa học của hoa trà hoa vàng *Camellia quephongensis*.

Từ khóa - *Camellia quephongensis*; Trà hoa vàng; *Camellia* sp; polyphenol; khối phổ phân giải cao

Abstract - 46 compounds are found to be present in ethanol / water extract and 20 compounds are detected in ethyl acetate fraction of the *Camellia quephongensis* Hakoda et Ninh collected in Que Phong, Nghe An by using high resolution liquid chromatography combined with mass spectrometry. The major compound groups present in both extracts are flavonoids, phenols and esters. In ethyl acetate extract no presence of sugars and derivatives of sugars, amino acids and amines is observed and the content of major compound groups such as flavonoids, phenols, and esters increases significantly compared with alcohol / water extract. The results are consistent with the use of ethyl acetate to enrich the active polyphenol ingredients from the yellow tea. In addition, we also identify the presence of valuable trace elements in *Camellia quephongensis* such as germanium, selenium. These are the initial publications on the chemical composition of *Camellia quephongensis*.

Key words - *Camellia quephongensis*; yellow tea; *Camellia* sp; polyphenol; high resolution mass spectrometry

1. Đặt vấn đề

Trà hoa vàng thuộc chi trà (*Camellia*) là một loài thực vật hạt kín trong họ Theaceae. Từ những năm 60 của thế kỷ XX, lần đầu tiên Trà hoa vàng được phát hiện ở Quảng Tây, Trung Quốc thu hút sự quan tâm của nhiều nhà khoa học. Từ đó, Trà hoa vàng được nhiều nước quan tâm nghiên cứu vì có nhiều giá trị và công dụng đặc biệt. Ở Việt Nam, cây Trà hoa vàng được tìm thấy ở tỉnh Quảng Ninh, Vĩnh Phúc (Tam Đảo), Tuyên Quang, Yên Bái, Ninh Bình (Cúc Phương), Nghệ An, Lâm Đồng...

Trà hoa vàng là loài cây quý hiếm, có nhiều giá trị để sử dụng như lấy gỗ, có thể làm cây trồng tầng dưới ở các đại rừng phòng hộ, trồng làm cây cảnh và làm đồ uống cao cấp, có tác dụng phòng và chống các bệnh huyết áp, tim mạch, tiểu đường, u bướu, ... Về thành phần hóa học, loài này chứa thành phần quan trọng như saponin, flavonoid, các hợp chất phenolic, amino acid, các nguyên tố vi lượng, các vitamin, ... [2]. Tại huyện Quế Phong, tỉnh Nghệ An, Trà hoa vàng có mặt hầu hết tại các xã của huyện nhưng tập trung nhiều nhất là ở xã Hạnh Dịch, xã Thông Thụ và xã Tiên Phong với loài *Camellia quephongensis* Hakoda et Ninh được phát hiện và đặt tên bởi GS. Hakoda và PGS. TS. Trần Ninh từ năm 2012-2013. Đây cũng là loài ưa bóng, thường mọc dưới tán rừng thứ sinh, thường phân bố

dọc khe suối. Sản phẩm hiện nay từ Trà hoa vàng chủ yếu dùng lá và hoa làm trà thực phẩm chức năng hỗ trợ chữa các bệnh huyết áp, tim mạch, tiểu đường, u bướu ... Thành phần hóa học của nước Trà hoa vàng từ lá và hoa chủ yếu là các hoạt chất được chiết ra trong nước ở nhiệt độ từ 70 – 90°C trong thời gian từ một giờ tới nhiều giờ khi được sử dụng pha trà.

Hiện nay ở Việt Nam việc sử dụng kỹ thuật sắc ký lỏng phân giải cao ghép nối khối phổ Ultimate 3000 RSLC và khối phổ phân giải cao Q Exactive Focus Orbitrap MS (Thermo Scientific) để phát hiện các hợp chất trong cao chiết tổng dựa trên mzCloud bằng việc ghép nối khối phổ MS/MS từ thư viện dữ liệu phổ HRAM MS² Spectral Library Match-mzCloud còn chưa được phát triển do chưa được đầu tư về trang thiết bị và các phần mềm phân tích xử lý số liệu, trong khi đó trên thế giới ứng dụng này đã sử dụng rất lâu và rất có hiệu quả trong việc phát hiện và phân tích nhanh các thành phần hoạt chất trong dịch chiết tổng. Trong bài báo này, chúng tôi công bố các kết quả đạt được ban đầu về thành phần hóa học của các hợp chất có mặt trong cao chiết tổng cồn/ nước và phân đoạn ethyl axetat giàu flavonoid của hoa Trà hoa vàng loài *Camellia Quephongnensis* Hakoda et Ninh cùng với các kết quả phân tích các thành phần khoáng vi lượng của chúng.

2. Thực nghiệm

2.1. Nguyên liệu, hóa chất và thiết bị

Nguyên liệu: Hoa trà hoa vàng (*Camellia quephongensis* Hakoda et Ninh) được thu hái tại Quê Phong, Nghệ An vào tháng 5 năm 2016 và được xác định tên khoa học bởi đoàn nghiên cứu Nhật Bản do GS. Hakoda phối hợp với PGS.TS. Trần Ninh.

Hóa chất: Ammonium Format, Methanol, Nước, Axit Formic dùng cho phân tích HPLC từ hãng Fisher Scientific.

Chất chuẩn: Chất chuẩn bao gồm Quercetin (độ tinh khiết 95%) và Rutin (độ tinh khiết 97%) được đặt mua từ hãng Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA).

Thiết bị sử dụng

Hệ thống Sắc ký lỏng phân giải cao ghép nối khối phổ phân giải cao bao gồm:

Sắc ký lỏng Ultimate 3000 RSLC và khối phổ phân giải cao Q Exactive Focus Orbitrap MS (Thermo Scientific).

Điều kiện phân tích HPLC: Phân tích HPLC được thực hiện trên Ultimate 3000 RSLC với đầu dò DAD (Thermo Scientific, Mỹ). Thực hiện phân tách trên cột Thermo Scientific Hypersil GOLD™ aQ Polar Endcapped cột C18, 1.9 μm , 2.1 mm $\times$ 100 mm. Pha động gồm 4mM Ammonium Format pha trong dung dịch 0,1% Axit Formic (Dung môi A) và 4mM Ammonium Format pha trong dung dịch Methanol 0,1% Axit Formic (Dung môi B). Chương trình gradient như sau: 0 – 1 phút: 5% (B), 1 – 7 phút: 98% (B), 7 – 10 phút: 98% (B), 10,1 – 13 phút: 5% (B). Nhiệt độ: 30°C. Thể tích tiêm mẫu: 10 μL . Tốc độ dòng: 300 $\mu\text{L}/\text{min}$.

Điều kiện chạy cho khối phổ phân giải cao Q Exactive Focus Orbitrap MS: Khối phổ tứ cực - phân giải cao (Quadrupole-Orbitrap MS) sử dụng nguồn ion hóa H-ESI (Ion hóa phun điện từ được gia nhiệt) với điện áp phun: 4500 V (positive), -4000 V (negative), nhiệt độ của bộ hóa hơi: 40°C, nhiệt độ ống chuyển ion: 275°C. Lưu lượng khí phun: 40 unit, lưu lượng khí hỗ trợ: 15 unit.

Sử dụng phương pháp scan sàng lọc hợp chất: FS-ddMS2 (Full Scan + Data-dependent MS/MS). Độ phân giải toàn dải quét: 70.000 FWHM tại m/z 200. Độ phân giải MS/MS: 17.500 FWHM tại m/z 200. Dải Scan: m/z 100 đến 1000, phân cực riêng. Tự động xử lý 10 tín hiệu phụ thuộc lớn nhất. Năng lượng va chạm được chuẩn hóa: được chia bậc với ba mức 10, 30 và 60. Độ rộng cách ly tiền chất: 1,2 m/z. Tự động thực hiện MS/MS trên ngưỡng cường độ: 1.5E4.

Phần mềm sử dụng

Phần mềm Thermo Scientific Compound Discoverer 2.0

Xử lý dữ liệu

Các hợp chất được xác định dựa trên mzCloud bằng việc ghép nối khối phổ MS/MS từ thư viện dữ liệu phổ HRAM MS² Spectral Library Match-mzCloud. Các dữ liệu chưa xử lý của dung môi blank và các mẫu chưa xác định đã được xử lý và phát hiện các đặc tính (các hợp chất giả định được đặc trưng bởi số khối của chúng) trong dữ liệu MS đầy đủ và ID giả định được chỉ định cho các tính năng này bằng cách tìm kiếm số khối chính xác và phổ MS/MS dựa vào thư viện phổ mzCloud. Các dữ liệu chưa

xử lý từ phân cực dương (positive) và âm (negative) được xử lý riêng.

2.2. Phương pháp tiến hành

2.2.1. Chuẩn bị mẫu

Chiết xuất cao tổng cồn/ nước: Hoa Trà hoa vàng khô (100 gam) được nghiền thành bột mịn và ngâm chiết trong 500ml cồn: nước (7:3), siêu âm ở 50°C trong 20 phút. Lọc thu dịch chiết và quá trình chiết được lặp lại 3 lần. Gộp dịch chiết và quay cất chân không để loại kiệt dung môi thu được cao tổng cồn nước, ký hiệu THV-1.

Chiết xuất phân đoạn giàu flavonoid: từ cao tổng cồn nước THV-1 đem phân bố lại trong nước theo tỷ lệ khối lượng dung dịch cao: nước là 1:1 và chiết phân bố với etyl axetat, cất loại dung môi thu cao chiết ethyl axetat giàu các hợp chất flavonoid, ký hiệu THV-2.

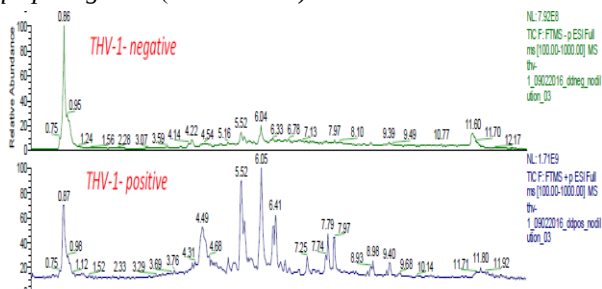
2.2.2. Khảo sát thành phần hóa học

Việc khảo sát thành phần hóa học được thực hiện bằng các phương pháp phổ Hệ thống khối phổ phân giải cao Q Exactive Focus Orbitrap MS (Thermo Scientific), và so sánh số liệu phổ với tài liệu tham khảo.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Thành phần hóa học của cao chiết cồn/nước

Kết quả phân tích cho thấy sự có mặt của 46 hợp chất trong cao chiết tổng cồn/ nước của Trà hoa vàng *quephongensis* (mẫu THV-1).



Hình 1. Sắc ký đồ cao cồn/ nước hoa trà hoa vàng

Thành phần hóa học và thành phần phần trăm tổng (theo diện tích pic) của cao chiết cồn/ nước của hoa Trà hoa vàng loài *Camellia quephongensis* Hakoda et Ninh được thể hiện ở Hình 1 và Bảng 1. Kết quả cho thấy trong cao chiết cồn nước chứa các nhóm flavonoid, polyphenol, amino axit, axit hữu cơ, đường và dẫn xuất đường, ... Trong đó, các axit hữu cơ chiếm tỷ lệ cao nhất (55,22%), tiếp đến là các amino axit và amin (12,24%), flavonoid (7,38%), phenol (1,97%), este (10,02%) và còn lại là các nhóm hợp chất khác.

Bảng 1. Thành phần hóa học cao cồn/ nước hoa trà hoa vàng THV-1

TT	Tên chất	Tỷ lệ %	KLPT	Thời gian lưu (phút)	Mz
	Đường và dẫn xuất đường	6,90			
1	Gluconic acid	0,49	196,0578	0,83	94
2	L-Glutamic acid	0,94	147,0531	0,84	86
3	α,α -Trehalose	5,47	342,1155	0,85	92
	Axit	55,22			
4	D-(-)-Quinic acid	24,79	192,0629	0,85	89

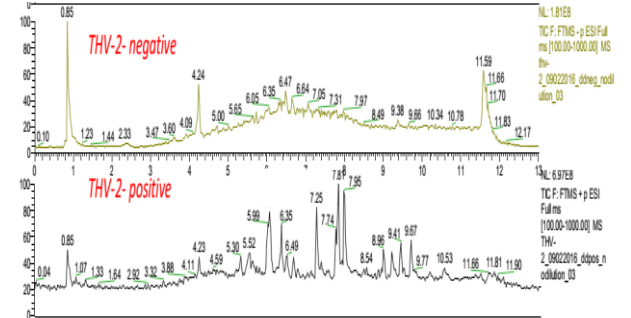
5	DL-Malic acid	21,63	134,0212	0,89	96
6	Pipecolic acid	3,65	129,0789	0,9	89
7	Citric acid	1,74	192,0269	1,21	74
8	Methylmalonic acid	0,43	118,0263	1,23	86
9	Succinic acid	0,68	118,0263	1,42	87
10	2,4-Dihydroxybenzoic acid	0,24	154,0263	3,45	88
11	Adipic acid	0,12	146,0577	3,58	90
12	Gentisic acid	0,55	154,0262	3,59	92
13	2-Isopropylmalic acid	0,13	176,0682	4,11	74
14	Isophthalic acid	0,07	166,0263	4,14	92
15	Suberic acid	0,03	174,0889	5,27	79
16	3-Phenyllactic acid	0,02	166,0627	5,3	82
17	Salicylic acid	0,16	138,0313	5,42	90
18	Benzoic acid	0,31	122,0365	5,55	92
19	Azelaic acid	0,08	188,1046	5,84	83
20	Atenolol acid	0,58	267,1471	6,76	86
21	Stearic acid	0,01	284,2711	9,94	97
	Amino axit và amin	12,24			
22	D-(+)-Proline	12,05	115,0632	0,86	94
23	4-Oxoproline	0,07	129,0423	1,21	88
24	Adenosine	0,12	267,0967	2,71	94
	Flavonoid	7,38			
25	Isorhamnetin	0,11	316,0596	1,02	75
26	Catechol	0,15	110,0365	3,5	94
27	Epicatechin	3,85	290,0788	4,21	93
28	Rutin	2,65	610,1523	5,7	90
29	Quercetin-3β-D-glucoside	0,62	464,0949	5,72	83
	Phenol	1,97			
30	Pyrogallol	0,08	126,0314	1,61	83
31	Gallic acid	1,62	170,0213	2,33	92
32	Vanillin	0,03	152,047	5,59	79
33	Piceatannol	0,24	244,0736	7,11	70
	Aldehyde và keton	0,34			
34	Phthaldialdehyde	0,19	134,0366	4,97	94
35	Benzophenone	0,15	182,0732	7,13	86
	Ester	10,02			
37	Diallyl phthalate	0,45	246,0892	6,14	79
38	1-Stearoylglycerol	9,57	358,3081	9,41	87
	Hydrocacbon	1,30			
39	1,2,3,4-Tetramethyl-1,3-cyclopentadiene	0,14	122,1095	4,66	78
40	Methoxsalen	1,16	216,0423	6,31	95
	Nhóm hợp chất khác	4,64			
41	5-Hydroxymethyl-2-furaldehyde	2,53	126,0316	0,85	80
42	4-Acetamidobutanoic acid	0,07	145,0737	1,93	74
43	α-Lapachone	1,71	242,0942	6,61	73
44	K	0,01	272,2348	8,75	89

45	Hexadecanamide	0,18	255,2562	9,13	76
46	Tridemorph	0,14	297,3032	10,33	84

3.2. Thành phần hóa học của phân đoạn chiết ethyl axetat giàu flavonoid

Kết quả cho thấy đã xác nhận sự có mặt của 20 hợp chất có trong phân đoạn chiết ethyl axetat mẫu Trà hoa vàng (mẫu THV-2).

Thành phần hóa học và thành phần phần trăm tổng (theo diện tích pic) của các nhóm chất có trong phân đoạn chiết ethyl axetat hoa Trà hoa vàng loài *Camellia quephongnensis* Hakoda et Ninh thể hiện ở Bảng 2 và Hình 2.



Hình 2. Sắc ký đồ phân đoạn ethyl axetat hoa trà hoa vàng

Bảng 2. Thành phần hóa học của cao chiết ethyl axetat hoa Trà hoa vàng THV-1

TT	Tên chất	Tỷ lệ %	KLPT	Thời gian lưu (phút)	Mz
	Axit	12,91			
1	D-(-)-Quinic acid	1,28	192,063	0,86	91
2	DL-Malic acid	3,85	134,0212	0,86	96
3	Methylmalonic acid	0,83	118,0263	1,45	86
4	Succinic acid	1,16	118,0263	0,86	87
5	2,4-Dihydroxybenzoic acid	0,38	154,0263	0,89	88
6	Gentisic acid	2,40	154,0263	3,6	92
7	Isophthalic acid	0,12	166,0262	4,17	73
8	Salicylic acid	1,08	138,0314	4,02	87
9	Benzoic acid	0,86	122,0365	4,59	93
10	Atenolol acid	0,91	267,1471	6,66	87
11	Stearic acid	0,05	284,271	9,95	94
	Flavonoid	34,10			
12	Catechol	0,85	110,0365	3,52	90
13	Epicatechin	22,63	290,0789	4,23	93
14	Rutin	3,60	610,1529	5,7	87
15	Quercetin-3β-D-glucoside	7,03	464,0949	5,72	83
	Phenol	12,20			
16	Pyrogallol	0,81	126,0313	0,86	80
17	Gallic acid	11,39	170,0212	0,85	94
	Aldehyde và keton	0,58			
18	Benzophenone	0,58	182,0732	7,13	80
	Ester	39,65			
19	1-Stearoylglycerol	39,65	358,3081	9,42	88
	Hydrocacbon	0,56			

20	1,2,3,4-Tetramethyl-1,3-cyclopentadiene	0,56	122,1094	4,79	81
----	---	------	----------	------	----

Kết quả cho thấy, trong phân đoạn chiết ethyl axetat hàm lượng các hợp chất flavonoid chiếm 34,10%, phenol chiếm 12,2%, axit hữu cơ chiếm 12,91%, còn lại là các hợp chất khác như hidrocarbon, este, aldehyd và keton.

3.3. So sánh thành phần hóa học của cao tổng cồn nước và cao chiết phân đoạn ethyl axetat

So sánh thành phần hóa học của cao tổng cồn nước và cao chiết phân đoạn ethyl axetat của hoa trà hoa vàng *Camellia quephongensis* được thể hiện ở Bảng 3.

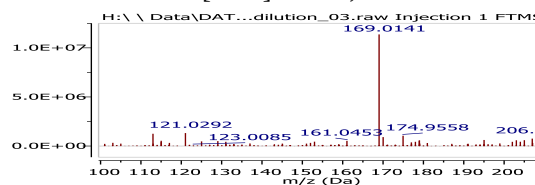
Bảng 3. So sánh thành phần hóa học cao tổng cồn nước và cao chiết phân đoạn ethyl axetat hoa trà hoa vàng *Camellia quephongensis*

T	Tên chất	Tỷ lệ % chất trong cao tổng cồn nước	Tỷ lệ % chất trong cao chiết ethyl axetat
	Đường và dẫn xuất đường	6,90	0
1	Gluconic acid	0,49	0
2	L-Glutamic acid	0,94	0
3	α,α -Trehalose	5,47	0
	Axit	55,22	12,91
4	D-(-)-Quinic acid	24,79	1,28
5	DL-Malic acid	21,63	3,85
6	Pipecolic acid	3,65	0
7	Citric acid	1,74	0
8	Methylmalonic acid	0,43	0,83
9	Succinic acid	0,68	1,16
10	2,4-Dihydroxybenzoic acid	0,24	0,38
11	Adipic acid	0,12	0
12	Gentisic acid	0,55	2,40
13	2-Isopropylmalic acid	0,13	0
14	Isophthalic acid	0,07	0,12
15	Suberic acid	0,03	0
16	3-Phenyllactic acid	0,02	0
17	Salicylic acid	0,16	1,08
18	Benzoic acid	0,31	0,86
19	Azelaic acid	0,08	0
20	Atenolol acid	0,58	0,91
21	Stearic acid	0,01	0,05
	Amino axit và amin	12,24	0,00
22	D-(+)-Proline	12,05	0
23	4-Oxoproline	0,07	0
24	Adenosine	0,12	0
	Flavonoid	7,38	34,10
25	Isorhamnetin	0,11	0
26	Catechol	0,15	0,85
27	Epicatechin	3,85	22,63
28	Rutin	2,65	3,60
29	Quercetin-3-O- β -D-glucoside	0,62	7,03
	Phenol	1,97	12,20

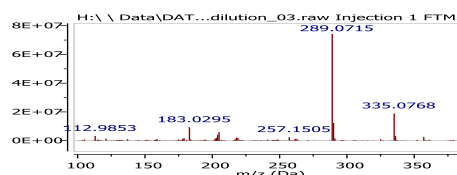
30	Pyrogallol	0,08	0,81
31	Gallic acid	1,62	11,39
32	Vanillin	0,03	0
33	Piceatannol	0,24	0
	Aldehyde và keton	0,34	0,58
34	Phthalaldehyde	0,19	0
35	Benzophenone	0,15	0,58
	Ester	10,02	39,65
37	Diallyl phthalate	0,45	0
38	1-Stearoylglycerol	9,57	39,65
	Hydrocarbon	1,30	0,56
39	1,2,3,4-Tetramethyl-1,3-cyclopentadiene	0,14	0,56
40	Methoxsalen	1,16	0
	Nhóm hợp chất khác	4,64	0,00
41	5-Hydroxymethyl-2-furaldehyde	2,53	0
42	4-Acetamidobutanoic acid	0,07	0
43	α -Lapachone	1,71	0
44	K	0,01	0
45	Hexadecanamide	0,18	0
46	Tridemorph	0,14	0

Kết quả phân tích cho thấy trong cao chiết phân đoạn ethyl axetat không chứa các nhóm chất đường và dẫn xuất đường, amino axit và amin cùng với nhóm các hợp chất khác, cho thấy việc chiết phân đoạn ethyl axetat khá chọn lọc so với cao chiết cồn/ nước. Ngoài ra trong cao chiết ethyl axetat hàm lượng một số chất chính là flavonoid và phenol đã tăng lên đáng kể. Hàm lượng flavonoid trong cao tổng cồn/ nước chiếm 7,38% còn trong cao chiết phân đoạn ethyl axetat tăng lên thành 34,1%; hàm lượng phenol trong cao cồn là 1,97% và trong cao ethyl axetat tăng lên thành 12,2%. Các hợp chất chính được nhận dạng cả trong cao cồn nước và cao ethyl axetat là axit gallic (số khối là 170,02, thời gian lưu là 2,33 phút), epicatechin (số khối là 290,08, thời gian lưu là 4,21 phút), quercetin-3-O- β -D-glucopyranoside (số khối là 302,04, thời gian lưu là 6,39 phút) và rutin (số khối là 610,15, thời gian lưu là 5,70 phút).

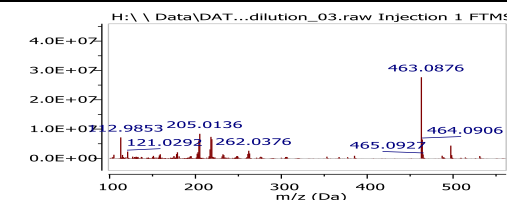
- Gallic acid: $m/z = [M-H]^- = 169,0141$



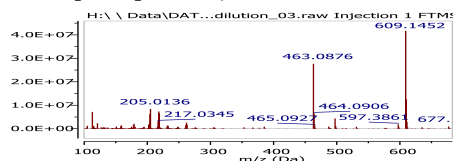
- Epicatechin: $m/z = [M-H]^- = 289,0715$; $[M+FA]^+ = 335,0768$



- Quercetin-3-O- β -D-glucopyranoside: $m/z = [M-H]^- = 463,0876$



-Rutin: [M-H]⁻ = 609,1452



Hình 3. Sắc ký đồ khối phổ của một số chất chính trong cao tổng cồn/ nước và cao chiết phân đoạn ethyl axetat của hoa Trà hoa vàng *Camellia quephongnensis*

So với các tài liệu đã công bố khi phân tích hoa khô của Kim hoa trà (*Camellia chrysantha*) thì trong cao cồn nước không phát hiện được các chất sau:

1. vitexin, số khối là 432,38;
2. kaempferol, số khối là 286,23;
3. kaempferol-3-O-β-D-glucopyranoside, số khối là 448,37;
4. lupeol, số khối là 426,7174;
5. oleanolic acid, số khối là 456,70032;
6. daucosterol, số khối là 576,8473;
7. β-sitosterol, số khối là 414,7067;
8. protocatechuic acid, số khối là 154,12;
9. vanillin, số khối là 152,15.

3.4. Thành phần các chất vi lượng

Một trong giá trị quan trọng của hoa Trà hoa vàng là chứa các nguyên tố vi lượng như Germanium, Selenium và Vanadium. Đây là các chất hiếm trong cây, có nhiều ý nghĩa trong quá trình trao đổi chất của thực vật và giúp cho quá trình chuyển hóa, bảo vệ đời sống trong cây. Ngoài ra, các hợp chất này còn có ý nghĩa trong cuộc sống của con người như bổ sung các chất này cho cơ thể con người mà không thể tự tổng hợp được. Qua phân tích thành phần các chất Germanium, Selenium, Vanadium có trong hoa từ 0,0035 - 0,0433 μg/g; trong lá từ 0,0009 - 0,0015 μg/g. Như vậy, muốn khai thác và sử dụng các hợp chất này thì nên chiết xuất hoặc sử dụng trực tiếp dưới dạng trà ở hoa là tốt nhất.

Các chất hiếm này có ý nghĩa rất quan trọng cho cơ thể người và động vật, nó là nguồn nguyên liệu để điều hòa enzym. Ngoài ra, các hợp chất này còn có tác dụng chống ung thư như: Germanium có khả năng cải thiện và tăng cường hệ miễn dịch, tăng cường quá trình cung cấp oxy cho cơ thể, tiêu diệt các gốc tự do gây hại. Bảo vệ cơ thể chống lại những tia bức xạ của môi trường.

Kết quả phân tích hàm lượng các nguyên tố vi lượng trong cao cồn nước và cao ethyl axetat thể hiện ở Bảng 4.

Bảng 4. Hàm lượng các nguyên tố vi lượng trong cao tổng cồn nước và cao phân đoạn ethyl axetat của hoa Trà hoa vàng *Camellia quephongnensis*

Nguyên tố vi lượng (μg/g)	Cao tổng cồn nước	Cao chiết phân đoạn ethyl axetat
Germanium	0,0430	0,0430
Selenium	0,0035	0,0038
Vanadium	0,0086	0,0085

4. Kết luận

Bằng kỹ thuật sắc ký lỏng phân giải cao ghép nối khối phổ gồm: Sắc ký lỏng Ultimate 3000 RSLC và khối phổ phân giải cao Q Exactive Focus Orbitrap MS (Thermo Scientific) và phát hiện các hợp chất dựa trên mzCloud bằng việc ghép nối khối phổ MS/MS từ thư viện dữ liệu phổ HRAM MS² Spectral Library Match-mzCloud, 46 hợp chất đã được phát hiện có mặt trong cao tổng cồn nước và 20 hợp chất được phát hiện trong cao chiết phân đoạn ethyl axetat của hoa Trà hoa vàng *Camellia quephongnensis* Hakoda et Ninh thu tại Quế Phong, Nghệ An. Các nhóm hợp chất chính có mặt trong cả hai cao chiết là flavonoid, phenol và este. Trong cao chiết ethyl axetat không thấy sự có mặt của đường và dẫn xuất đường, amino axit và amin và hàm lượng các chất chính như flavonoid, phenol, este đã tăng lên đáng kể so với cao cồn nước. Kết quả phân tích này là hoàn toàn phù hợp với việc sử dụng dung môi ethyl axetat để làm giàu các hoạt chất poliphenol theo thông dụng trong hóa học. Ngoài ra, cũng xác định được sự có mặt của các nguyên tố vi lượng rất đáng quý trong hoa Trà hoa vàng như germanium, selenium và vanadium. Đây là các kết quả sơ bộ ban đầu của nhóm chúng tôi về phân tích hoa Trà hoa vàng *Camellia quephongnensis*. Các nghiên cứu tiếp theo về thành phần hóa học các loài trà hoa vàng đang được trồng và phát triển tại Việt Nam đang được chúng tôi tiếp tục nghiên cứu.

Kết quả nghiên cứu cho thấy sắc ký lỏng phân giải cao ghép nối khối phổ là phương pháp hữu hiệu, nhanh và đơn giản, có độ chính xác cao để nhận dạng và xác định thành phần hóa học của cao chiết tổng và các cao chiết phân đoạn của các dược liệu.

Lời cảm ơn: Các tác giả cảm ơn Dự án Đầu tư xây dựng phòng thí nghiệm chuyên ngành hóa dược đã đầu tư thiết bị và kinh phí để thực hiện bài báo này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Peng Xiao, YU Da-Yong, Feng Bao-Min, Tang Ling, Wang Yong-Qi, Shi Li-Ying, *Chemical constituents from the flowers of Camellia chrysantha*, Institute of Materia Medica, Dalian University, Dalian 116622, China.
- [2] Li Shi Rong, *Study on Isolation and Antioxidation of Flavonoids from the Flowers of Camelliachrysantha*, Guangdong Ocean University, Master's thesis, 2012.
- [3] Li Cuiyun, Duan Xiaoxian, Su Jianjia, et al., impact of leaves and flowers of camellia chrysantha (hu) tuyama of different concentrations on diethylnitrosamine-induced precancerous lesion to liver of rat and hepatoma cells bel-7404, *Journal of Guangxi Medical University* 2007-05.