

Điều chế rượu trà hoa đỏ với tác dụng chống oxy hóa từ cây Trà Yok-đôn (*Camellia yokdonensis* Dung & Hakoda) – Theaceae

Đỗ Thị Anh Thư, Nguyễn Thế Nhật,
Nguyễn Thị Hạnh và Lý Hồng Hương Hạ*
Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Trà Yok-đôn (*Camellia yokdonensis* Dung & Hakoda) là loài trà được phát hiện gần đây và mới chỉ được phát hiện ở vườn quốc gia Yok-đôn, tỉnh Đắk-lăk, Việt Nam vào năm 2007. Hiện nay, các chế phẩm từ dược liệu đang là xu thế sử dụng trong làm thuốc và thực phẩm chức năng dùng với mục đích chống oxy hóa điều trị và phòng ngừa các bệnh do các gốc tự do gây ra. **Mục tiêu nghiên cứu:** Điều chế và kiểm nghiệm rượu hoa trà Yok – đôn theo tiêu chuẩn DĐVN V; Khảo sát độc tính cấp trên chuột nhắt; Khảo sát hàm lượng polyphenol toàn phần; Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa in – vitro. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Hoa trà Yok-đôn. Điều chế rượu và kiểm nghiệm rượu hoa trà Yok – đôn theo tiêu chuẩn DĐVN V; độc tính cấp đường uống trên chuột nhắt; hàm lượng polyphenol toàn phần theo phương pháp Folin – Ciocalteu, hoạt tính chống oxy hóa in – vitro theo phương pháp DPPH. **Kết quả:** Rượu hoa Trà Yok-đôn đạt được các tiêu chí kiểm nghiệm rượu thuốc theo tiêu chuẩn DĐVN V. Xác định độc tính cấp bằng đường uống với liều cao nhất có thể qua kim không làm chết chuột D_{max} là 10000 mg cao/kg chuột. Hàm lượng polyphenol toàn phần tương đương 194.82 μg pyrogallol/g cao. Hoạt tính chống oxy hóa in-vitro có IC_{50} là 5.12 $\mu\text{g}/\text{mL}$. **Kết luận:** Rượu hoa trà Yok-đôn đạt tiêu chuẩn DĐVN V và có hoạt tính chống oxy hóa tốt.

Từ khóa: *Camellia yokdonensis*, chống oxy hóa, độc tính cấp, hàm lượng polyphenol toàn phần

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, các chế phẩm từ dược liệu đang là xu thế sử dụng trong làm thuốc và thực phẩm chức năng dùng điều trị và phòng ngừa các bệnh do các gốc tự do gây ra. Vì vậy, bổ sung một số thực phẩm hay thực phẩm chức năng có khả năng trung hòa các gốc tự do này là điều cần thiết để bảo vệ sức khỏe, trước khi đưa đến các bệnh quá nặng như ung thư hay tim mạch. Một số tác dụng dân gian cho thấy chi Chè (*Camellia*) có tác dụng khác như là chống oxy hóa, tăng tiêu hao năng lượng, chống đái tháo đường [1]. Trà Yok-đôn (*Camellia yokdonensis* Dung & Hakoda) là loài trà được phát hiện gần đây và mới chỉ được phát hiện ở vườn quốc gia Yok-đôn, tỉnh Đắk-lăk, Việt Nam vào năm 2007.

Tuy nhiên, hiện nay Trà Yok-đôn vẫn chưa được nghiên cứu một cách toàn diện để xác định các hoạt tính, giá trị y học, khoa học để có kế hoạch bảo tồn, nhân giống loài cây đặc hữu này. Trên thế giới hầu như chưa có nghiên cứu về đặc điểm hình

thái và giải phẫu của loài Trà Yok-đôn. Ở Việt Nam có luận án tiến sĩ của tác giả Lê Nguyệt Hải Ninh nghiên cứu về hình thái của loài này [2]. Dựa vào những tiền đề này, nghiên cứu tiến hành “Điều chế rượu Trà hoa đỏ với tác dụng chống oxy hóa từ cây trà Yok-đôn (*Camellia yokdonensis* Dung & Hakoda) – Theaceae” để góp phần xác định chính xác loài này có ở Việt Nam, đồng thời ứng dụng vào thực tế sản xuất rượu hoa trà Yok-đôn với tác dụng chống oxy hóa nhằm tạo tiền đề cho các nghiên cứu sâu hơn về công dụng làm thuốc của loài này.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

Hoa trà Yok-đôn (*Camellia yokdonensis* Dung & Hakoda) được thu hái từ tỉnh Đắk-lăk, Việt Nam. Dược liệu được lưu tại Bộ môn Dược liệu – Thực vật, Khoa Dược, Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng.

Tác giả liên hệ: ThS. Lý Hồng Hương Hạ

Email: halhh@hiu.vn

2.2. Động vật thí nghiệm

Các thử nghiệm được thực hiện trên chuột nhắt trắng đực (*Swiss albino*), 5 - 6 tuần tuổi, trọng lượng 25 ± 2 gram. Chuột được nuôi ổn định ít nhất một tuần trước khi thí nghiệm. Chuột được nuôi trong phòng chăn nuôi ở điều kiện duy trì onhiệt độ 25 ± 1 C với độ ẩm $65 \pm 5\%$ và chu kỳ 12 giờ sáng - tối (sáng từ 6:00 - 18:00). Chuột được nuôi trong các lồng nhựa, thực phẩm dạng viên (được cung cấp bởi Viện Vắc xin và Sinh phẩm Tp. Nha Trang), nước uống đầy đủ.

2.3. Hóa chất, thuốc thử

1,1-diphenyl-2- picrylhydrazyl(DPPH), acid ascorbic (Sigma-Aldrich Đức), pyrogallol, thuốc thử Folin – Ciocalteu, methanol, chloroform,

diethyl ether, natri carbonat (Trung Quốc), thuốc nhuộm kép son phen, lục iod, $H_2SO_{4đđ}$, $HCl_{đđ}$, $FeCl_3$ 5%, KOH 1%, NaOH 10%, HCl 10%, anhydrid acetic, Mg, Na_2CO_3 , Gelatin muối, thuốc thử Dragendorff.

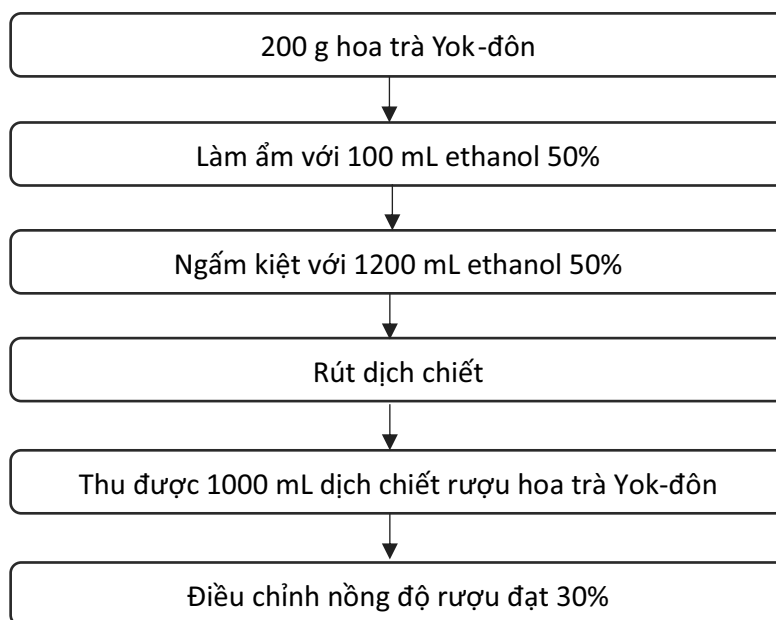
2.4. Thiết bị, dụng cụ

Cân hồng ngoại Ohaus MB 45, cân phân tích, bể cách thủy Memmert, tủ sấy Memmert, máy đo quang phổ Shimadzu UV-1800, máy siêu âm, kính hiển vi quang học Swift, becher, ống đong, bình nón, bình định mức, đĩa thủy tinh, ống nghiệm.

2.5. Phương pháp nghiên cứu

2.5.1. Điều chế và kiểm nghiệm rượu hoa trà Yok – đôn theo tiêu chuẩn DĐVN V

2.5.1.1. Điều chế rượu



Hình 1. Quy trình chiết rượu thuốc từ hoa trà Yok – đôn

2.5.1.2. Kiểm nghiệm rượu hoa trà Yok – đôn theo tiêu chuẩn DĐVN V

Bảng 1. Một số yêu cầu chất lượng theo DĐVN V [3]

Màu sắc	Theo yêu cầu quy định trong chuyên luận riêng. Cách tiến hành: Lấy ở 2 chai rượu trong mỗi lô sản xuất. mỗi chai 5 mL, cho vào 2 ống nghiệm (thủy tinh không màu, đồng cỡ). Quan sát màu của hai ống ở ánh sáng ban ngày bằng cách nhìn ngang, màu sắc của hai ống phải như nhau và đúng như màu sắc đã quy định trong chuyên luận riêng.
Độ trong và độ đồng nhất	Rượu thuốc phải trong, đồng nhất, không có cặn bã dược liệu và vật lạ. Cách tiến hành: Quan sát toàn chai rượu, không được có váng mốc. Hút 5 mL rượu thuốc ở vị trí cách đáy chai khoảng 2 cm, cho vào ống nghiệm (thủy tinh không màu, dung tích 10 mL đến 20 mL), quan sát ở ánh sáng ban ngày bằng cách nhìn ngang. Thuốc phải trong và đồng nhất. Nếu không đạt yêu cầu, thử lại lần thứ hai với một chai thuốc khác. Lần này không đạt thì lô thuốc coi như không đạt tiêu chuẩn.

Tỷ trọng	Theo yêu cầu quy định trong chuyên luận. Xác định tỷ trọng theo Phụ lục 6.5. DĐVN V.
Độ lắng cặn	Theo yêu cầu quy định trong từng chuyên luận. Cách tiến hành: Quan sát toàn chai rượu (thể tích 500 mL, nếu không có qui định khác), nếu thấy có cặn thì để yên khoảng 48h, sau đó mở nút và thận trọng dùng ống cao su hay ống nhựa làm xiphông, hút phần rượu ở phía trên, để còn lại 15 mL đến 20 mL (đối với rượu có thể tích cặn không quá 0.5 mL) hoặc 40 – 50 ml (đối với rượu có thể tích cặn trên 0.5 mL). Lắc cặn trong chai cho tan, rót hết sang ống đong 25mL (chia độ 0.5 mL) hoặc 50 ml (chia độ 1 mL) có nút. Lấy phần rượu trong đã hút xiphông để tráng chai, đổ vào ống đong rồi thêm rượu thuốc vừa đủ 25 mL hoặc 50 mL. Để lắng 48h, đọc kết quả trên vạch chia của ống đong. Mỗi loại rượu phải đạt được yêu cầu của tiêu chuẩn đề ra. Sau khi đọc kết quả, nghiêng ống đong nhẹ để gạn lớp rượu ở trên, lấy lớp cặn ra bát sứ trắng để quan sát. Trong lớp cặn phải không được có bã được liệu và vật lạ.
Cẩn sau khi sấy khô	Theo yêu cầu quy định trong từng chuyên luận. Tiến hành theo một trong hai phương pháp sau đây: Phương pháp 1: Áp dụng với các rượu thuốc có chứa đường hoặc mật ong. Lấy chính xác 50mL chế phẩm vào cốc miệng rộng, bốc hơi đến khô trên cách thủy, chiết bằng ethanol (TT) bằng cách thêm vào cẩn lần lượt, 4 lần, mỗi lần 10mL ethanol (TT), dùng đũa thủy tinh khuấy kỹ, lọc. Gộp các dịch lọc vào một chén sứ đã được xác định khối lượng, bay hơi trên cách thủy đến khô, sấy cẩn ở 105°C trong 3h. Để nguội trong hình hút ẩm 30 phút, cân. Xác định khối lượng cẩn thu được. Phương pháp 2: Áp dụng với các rượu thuốc không chứa đường hoặc mật ong. Lấy chính xác 50 mL chế phẩm vào một chén sứ đã được xác định khối lượng, bay hơi trên cách thủy đến khô, sấy cẩn ở 105°C trong 3h. Để nguội trong bình hút ẩm 30 phút, cân. Xác định khối lượng cẩn thu được.

2.5.2. Khảo sát sơ bộ thành phần hóa thực vật

Khảo sát hóa thực vật bằng phương pháp Ciuleys cải tiến. Dùng dịch chiết cồn và nước [4]

2.5.3. Khảo sát độc tính cấp đường uống trên chuột nhắt của rượu hoa trà Yok-Đôn

Nguyên tắc: Cho chuột thử nghiệm dùng cùng một liều trong điều kiện ổn định như nhau, quan sát các phản ứng xảy ra trong vòng 72 giờ [5].

Thử nghiệm sơ khởi: Cho 6 chuột uống rượu hoa trà Yok – đôn liều duy nhất tối đa có thể (cho chuột nhịn đói ít nhất 12 giờ, thể tích tối đa là 0.2 ml/10g chuột đối với đường uống). Nếu tất cả đều tử vong thì thử với liều giảm ½ liều đầu. Tiếp tục giảm liều đến khi tìm được liều tối thiểu gây chết 100% chuột (LD₁₀₀) và liều tối đa không gây chết chuột nào (LD₀).

Thử nghiệm xác định: Chia chuột làm 4 lô, mỗi lô ít

nhất 6 con. Chia 4 liều theo cấp số cộng khoảng từ LD₀ đến LD₁₀₀. Ở những liều gần LD₅₀, tăng số lượng chuột lên để sự đo lường được chính xác hơn. Nếu không có chuột nào chết thì ghi nhận liều D_{max}.

Chỉ tiêu đánh giá: Theo dõi chuột trong 72 giờ, ghi nhận đầy đủ, chi tiết các diễn biến của chuột trong thời gian thử nghiệm, số lượng chuột chết và sống ở mỗi lô, lập phân suất tử vong để tìm LD₅₀.

LD₅₀ được tính theo phương pháp Karber – Behrens: $LD_{50} = LD_{100} - \frac{\sum a.d/n_{tb}}{n_{tb}}$ (trong đó: a= số thú chết trung bình của 2 liều kế tiếp; d: hiệu số của 2 liều kế tiếp; n_{tb}: số thú trung bình/nhóm). Tiếp tục theo dõi chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống dịch thử.

2.5.4. Khảo sát hàm lượng polyphenol toàn phần của rượu hoa trà Yok – đôn

Dựa trên sự khử của tungstat/molybdat trong

thuốc thử Folin - Ciocalteu bởi hợp chất phenol/môi trường kiềm tạo ra sản phẩm có màu, đo độ hấp thụ ở bước sóng cực đại của sản phẩm thu được (phương pháp chiết đo quang). Sử dụng pyrogallol xây dựng đường chuẩn [6].

2.6. Khảo sát tác dụng chống oxy hóa in - vitro của rượu hoa trà Yok – đôn theo phương pháp DPPH

Nguyên tắc: Các chất nghiên cứu có tác dụng chống oxy hóa theo cơ chế dập tắt gốc tự do sẽ làm giảm màu tím của gốc tự do 1.1 – diphenyl – 2 –

picrylhydrazyl (DPPH). Xác định khả năng này bằng cách đo quang ở bước sóng có hấp thụ cực đại tại $\lambda = 517 \text{ nm}$ [7].

Cách tiến hành: Cho mẫu thử (Bảng 2) ở các nồng độ khảo sát được cho phản ứng với đồng lượng dung dịch DPPH 0.5 mM pha trong methanol. Hỗn hợp sau khi pha được để trong tối ở nhiệt độ phòng 30 phút. Đo quang ở bước sóng $\lambda = 515 \text{ nm}$. Các số liệu thử nghiệm được biểu thị bằng trị số trung bình của 3 lần đo khác nhau. Acid ascorbic được sử dụng làm chứng dương.

Bảng 2. Nguyên tắc pha mẫu trắng, chứng và thử

Ống	Rượu hoa trà Yok - đôn (mL)	Dung môi methanol (mL)	Dung dịch DPPH (mL)
Trắng	0	4	0
Chứng	0	3.5	0.5
Thử	1	2.5	0.5

Tính toán kết quả: HTCO của dung dịch thử được tính theo công thức:

$$\text{HTCO (\%)} = \left[\frac{\text{OD}_{\text{chứng}} - \text{OD}_{\text{thử}}}{\text{OD}_{\text{chứng}} - \text{OD}_{\text{trắng}}} \right] \times 100$$

$\text{OD}_{\text{chứng}}$: độ hấp thụ của ống chứng

$\text{OD}_{\text{thử}}$: độ hấp thụ của ống thử

$\text{OD}_{\text{trắng}}$: độ hấp thụ của ống trắng

Xác định IC_{50} : IC_{50} là nồng độ mà tại đó chất thử loại bỏ được 50% gốc tự do DPPH.

Cách tính giá trị IC_{50} : pha một giai mẫu ít nhất 5 nồng độ, trong đó phải bao hàm nồng độ cho HTCO 50%, vẽ đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc của

HTCO (%) theo nồng độ chất khảo sát bằng phần mềm excel. Từ đồ thị, suy ra giá trị nồng độ có HTCO 50% tức là IC_{50} từ phương trình hồi quy tuyến tính có dạng $y = ax + b$ thế $y = 50$ vào để suy ra IC_{50} .

3. KẾT QUẢ

3.1. Điều chế và kiểm nghiệm rượu hoa trà Yok – đôn theo tiêu chuẩn DĐVN V

Điều chế rượu

Kiểm nghiệm rượu hoa trà Yok – đôn theo tiêu chuẩn DĐVN V

Bảng 3. Kết quả kiểm nghiệm rượu trà Yok - đôn

Các chỉ tiêu	Mô tả
Màu sắc	Hai ống nghiệm có cùng màu nâu đỏ, trong
Độ trong và độ đồng nhất	Trong, đồng nhất, không lẫn cặn
Tỷ trọng	Tỷ trọng tương đối: 0.9897
Độ lắng cặn	Không có cặn lắng
Cẩn sau khi sấy khô	0.925

Nhận xét: Rượu Trà Yok-đôn đạt được một số các tiêu chí kiểm nghiệm rượu thuốc theo tiêu chuẩn DĐVN V [3].

3.2. Sơ bộ thành phần hóa thực vật của hoa trà Yok – đôn

Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hóa thực vật

cho thấy hoa cây Trà Yok-đôn có chứa các hợp chất như polyphenol, proanthocyanin, saponin, chất khử, acid hữu cơ, và hợp chất polyuronic. Các nhóm hợp chất này có nhiều hoạt tính sinh học, trong đó chiếm hàm lượng lớn là các polyphenol.

Bảng 4. Sơ bộ thành phần hóa thực vật của hoa trà Yok - đôn

Nhóm hợp chất	Thuốc thử/Phản ứng	Kết quả định tính trên các dịch chiết	
		Dịch chiết cồn	Dịch chiết nước
Chất béo	Mờ giấy lọc		
Carotenoid	Carr-Price		
Tinh dầu	Có mùi thơm		

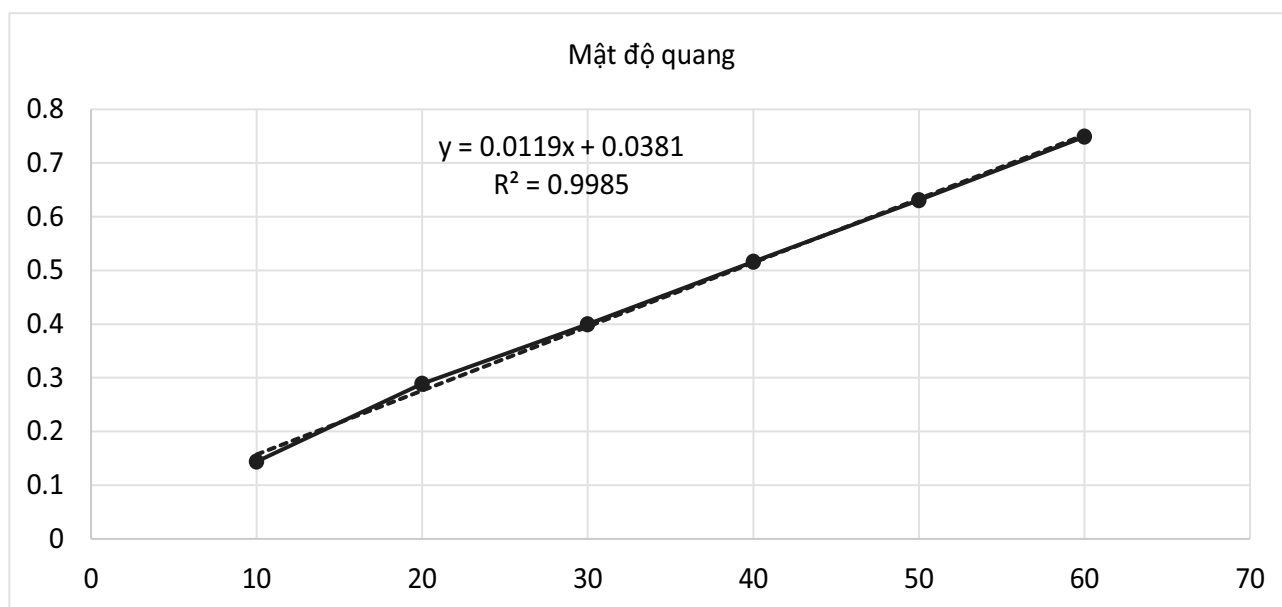
Nhóm hợp chất	Thuốc thử/Phản ứng	Kết quả định tính trên các dịch chiết	
		Dịch chiết cồn	Dịch chiết nước
Triterpenoid tự do	Liebermann-Burchard		
Alkaloid	TT chung alkaloid	-	-
Courmarin	Phát quang/kiềm	+	
Antraglycosid	KOH 10%		
Flavonoid	Mg/HCl _{dđ}	±	±
Glycosid tim	Thuốc thử vòng lacton	-	-
	TT đường 2-dexoxy	-	-
Anthocyanosid	HCl/KOH	-	-
Proanthocyanin	HCl/t°C	+	+
Tanin	Dd FeCl ₃	+	+
	Dd gelatin muối	-	-
Saponin	TT. Liebermann		
	Lắc mạnh/nước	+	+
Triterpenoid	Liebermann-Burchard		
Acid hữu cơ	Na ₂ CO ₃	+	+
Chất khử	TT. Felling	+	+
Hợp chất polyuronic	Pha loãng/cồn 90%		+

3.3. Độc tính cấp của rượu hoa trà Yok – đôn trên chuột nhắt

Hòa tan cao rượu hoa trà Yok-đôn trong nước cất đến nồng độ tối đa qua được kim là 500mg/mL. Sau khi cho chuột thử nghiệm uống đồng lượng cao liều 0.2mL/10g trọng lượng (tương đương 10g cao/kg trọng lượng), chuột thay đổi cử động tổng quát, giảm di chuyển trong khoảng 3 phút.

Sau đó chuột di chuyển, ăn cám viên và uống nước bình thường. Các phản ứng xảy ra trên chuột trong vòng 72 giờ cũng như 14 ngày cho thấy chuột khỏe mạnh bình thường, không có chuột chết trong thời gian quan sát. Cân nặng chuột được theo dõi 3 lần/tuần và không có sự thay đổi có ý nghĩa giữa cân nặng của chuột thử độc tính cấp và lô chuột chứng.

3.4. Hàm lượng polyphenol toàn phần của rượu hoa trà Yok – đôn



Hình 2. Phương trình đường tuyến tính của chuẩn pyrogallol với TT FC

Bảng 5. Hàm lượng hợp chất polyphenol toàn phần của rượu Trà Yok - đôn

Thể tích rượu hoa trà Yok - đôn (mL)	Khối lượng cao thử (g)	OD trung bình	TP (μg pyrogallol/g cao)
10	0.185	0.467	194.82

Tiến hành xác định hàm lượng phenol toàn phần bằng phương pháp đo quang sử dụng thuốc thử Folin – Ciocalteu với mục tiêu khảo sát hàm lượng toàn phần có tác dụng chống oxy hóa của rượu Trà Yok-đôn làm cơ sở xét mối liên hệ giữa thành phần hóa học, hàm lượng và tác dụng trên *in-vitro*. Đây là phương pháp đặc trưng để định

lượng phenol toàn phần, để thực hiện có độ chính xác cao. Phương pháp này được quy định trong dược điển của nhiều nước trên thế giới và được áp dụng trong rất nhiều nghiên cứu. Kết quả thu được cho thấy hàm lượng hợp chất polyphenol toàn phần tương đương 194.82 μg pyrogallol/g cao.

3.5. Hoạt tính chống oxy hóa in - vitro của rượu hoa trà Yok – đôn theo phương pháp DPPH

Bảng 6. Kết quả hoạt tính chống oxy hóa của rượu Trà Yok-đôn

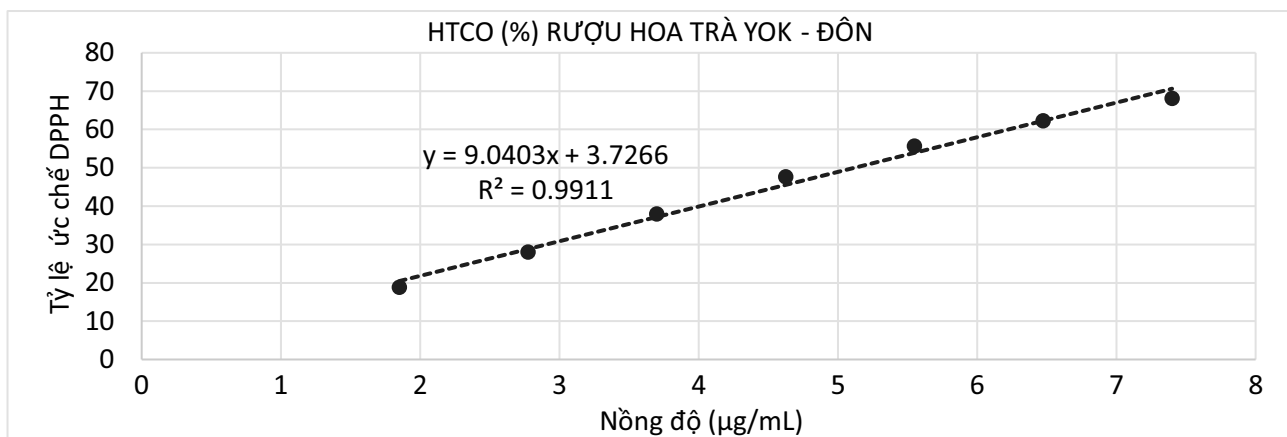
Ống	Nồng độ khi pha ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Nồng độ khi đo ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Abs mẫu			Abs trung bình	HTCO (%)
			Lần 1	Lần 2	Lần 3		
Chứng	0	0	0.541	0.531	0.616	0.563	-
1	29.6	7.400	0.256	0.241	0.236	0.244	68.158
2	25.9	6.475	0.286	0.289	0.292	0.289	62.337
3	22.2	5.550	0.342	0.342	0.336	0.340	55.691
4	18.5	4.625	0.401	0.403	0.400	0.401	47.698
5	14.8	3.700	0.477	0.478	0.473	0.476	37.967
6	11.1	2.775	0.553	0.555	0.549	0.552	28.020
7	7.4	1.850	0.620	0.624	0.623	0.622	18.900

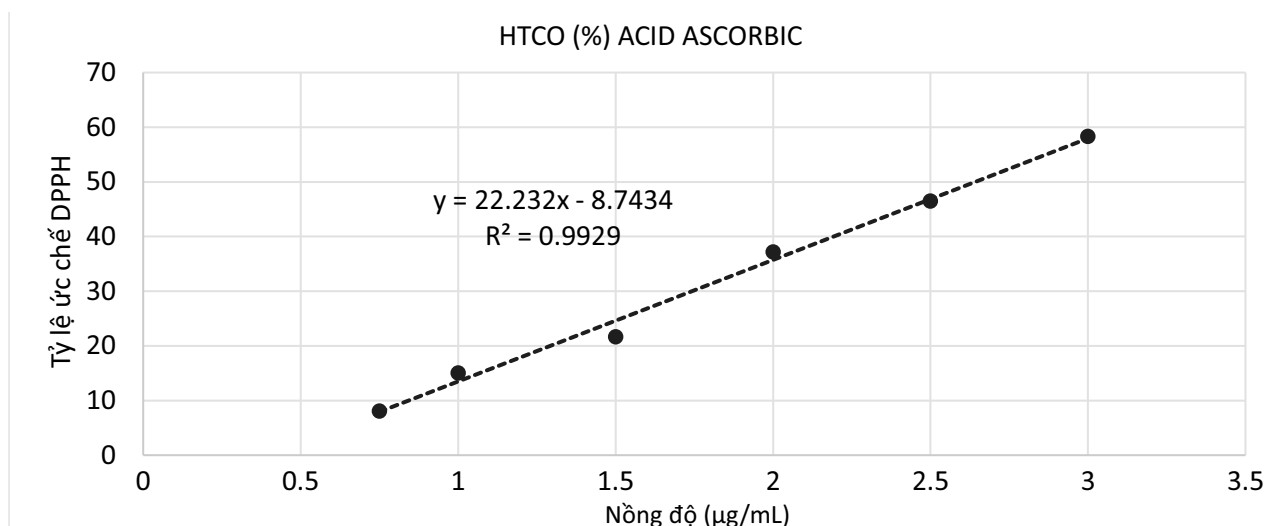
Kết quả: IC_{50} (ở nồng độ khi đo) = 5.12 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Bảng 7. Kết quả hoạt tính chống oxy hóa của acid ascorbic

Ống	Nồng độ khi pha ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Nồng độ khi đo ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Abs mẫu			Abs trung bình	HTCO (%)
			Lần 1	Lần 2	Lần 3		
Chứng	0	0	0,541	0.531	0.616	0.563	-
1	12	3	0.318	0.317	0.325	0.320	58.30
2	10	2.5	0.418	0.419	0.396	0.411	46.44
3	8	2	0.480	0.487	0.480	0.482	37.14
4	6	1.5	0.618	0.589	0.597	0.601	21.63
5	4	1	0.649	0.651	0.657	0.652	14.99
6	3	0.75	0.706	0.699	0.712	0.706	8.04

Kết quả: IC_{50} (ở nồng độ khi đo) = 2.64 $\mu\text{g}/\text{mL}$

**Hình 3.** Đường tuyến tính HTCO% của rượu hoa Trà Yok-đôn



Hình 4. Đường tuyến tính HTCO% của acid ascorbic

Hình 3 cho thấy nồng độ càng cao của rượu Trà Yok-đôn càng tăng thể hiện sự giảm màu càng nhiều của DPPH (giảm độ hấp thụ ở bước sóng 517 nm). Điều đó chứng tỏ rượu hoa Trà Yok-đôn có chứa các nhóm hợp chất có hoạt tính chống oxy hóa. Như vậy, rượu Trà Yok-đôn có hoạt tính chống oxy hóa theo cơ chế bắt gốc tự do, phản ứng với thuốc thử DPPH làm giảm màu của gốc tự do này. Dựa vào phương trình tuyến tính về hoạt tính chống oxy hóa, ta có giá trị IC₅₀ của rượu hoa Trà Yok-đôn là 5.12µg/mL.

4. BÀN LUẬN

Điều chế rượu hoa trà Yok – đôn đạt một số tiêu chuẩn theo ĐVN V.

Độc tính cấp đường uống của rượu hoa Trà Yok-đôn cho thấy không làm chết chuột với nồng độ ở liều qua kim cao nhất là 10000 mg/kg, cho thấy kết quả tương đồng với các cây cùng chi *Camellia* như *Camellia sinensis* có LD₅₀ là 12g/kg chuột [8].

Tác dụng chống oxy hóa của rượu hoa trà Yok-đôn được thể hiện qua tổng hàm lượng polyphenol và thử nghiệm DPPH cho thấy hàm lượng polyphenol là 194,82 µg pyrogallol/g cao như các nghiên cứu đã được thực hiện trên các dược liệu cùng chi như *C.impressinervis* 475.6 ± 15.8 µmol GAE/g, *C. tunghinensis* 67.2 ± 4.1 µmol GAE/g [9]. Thử nghiệm DPPH của rượu hoa trà Yok-đôn có IC₅₀ là 5.12 µg/mL cho thấy có hoạt tính chống oxy hóa cao hơn một số loài trong chi *Camellia* như *C. japonica* là IC₅₀ là 12.5 µg/mL [10].

5. KẾT LUẬN

Rượu hoa trà Yok – Đôn đạt được các chỉ tiêu cải kiểm nghiệm rượu theo ĐVN V, có các hợp chất như polyphenol, proanthocyanin, saponin, chất khử, acid hữu cơ và hợp chất polyuronic. Hàm lượng polyphenol và các hoạt tính chống oxy hóa tốt hơn một số loài trong chi *Camellia*. Từ đó cho thấy, rượu hoa trà Yok – Đôn có nhiều tiềm năng cho các nghiên cứu tiếp theo hướng hỗ trợ điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Đ. H. Bích, *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam tập I*. Hà Nội: Nhà xuất bản khoa học kỹ thuật, 419-422, 2006.
 [2] Lê Nguyệt Hải Ninh, "Nghiên cứu phân loại chi trà (*Camellia* L.) thuộc họ Chè (*Theaceae* D. Don) ở Việt Nam", Luận án tiến sĩ, Đại học quốc gia Hà Nội trường đại học khoa học tự nhiên, 2018.
 [3] Bộ Y tế, "Dược điển Việt Nam V". Hà Nội: NXB Y học, 2018.
 [4] Trần Hùng. "Giáo trình Phương pháp nghiên

cứu dược liệu". Bộ môn Dược liệu. Khoa Dược. Trường Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh, 2014.
 [5] WHO, *General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine*, 2000.
 [6] R. L. Prior, X. Wu, and K. Schaich, "Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, pp. 4290-4302, 2005.

[7] F. Cosme, T. Pinto and A. Vilela, "Phenolic compounds and antioxidant activity in grape juices: A chemical and sensory view," *Beverages*, 4(1), pp. 22, 2018.

[8] Bedrood Z, Rameshrad M, Hosseinzadeh H. Toxicological effects of *Camellia sinensis* (green tea): A review. *Phytother Res.* 32(7), 1163-1180, 2018.

[9] Lixia Song; Xiangshe Wang; Xueqin Zheng;

Dejian Huang. "Polyphenolic antioxidant profiles of yellow camellia", *Food Chemistry*, 129(2), 351–357, 2011.

[10] Piao MJ, Yoo ES, Koh YS, Kang HK, Kim J, Kim YJ, Kang HH, Hyun JW. "Antioxidant Effects of the Ethanol Extract from Flower of *Camellia japonica* via Scavenging of Reactive Oxygen Species and Induction of Antioxidant Enzymes." *International Journal of Molecular Sciences*, 12(4), 2618-263, 2011.

Formulate red flower tea wine with antioxidant effects from *Camellia yokdonensis* Dung & Hakoda – Theaceae

Do Thị Anh Thư, Nguyen The Nhut,
Nguyen Thi Hanh and Ly Hong Huong Ha

ABSTRACT

Background: Camellia yokdonensis Dung & Hakoda is a recently discovered tea species and was only discovered in Yok-don National Park, Dak-lak Province, Vietnam in 2007. Currently, medicinal preparations are a trend used in medicine and functional foods for antioxidant, treating and preventing diseases caused by free radicals. *Objectives: Formulate wine and test Camellia yokdonensis* flower wine according to Vietnamese Pharmacopoeia V standards; Survey of acute toxicity in mice; Survey of total polyphenol content; Survey of in-vitro antioxidant activity. *Materials and method: Camellia yokdonensis* flower. Formulate wine and test *Camellia yokdonensis* flower wine according to Vietnamese Pharmacopoeia V standards; Acute oral toxicity on mice; Total polyphenol content according to Folin - Ciocalteu method, in-vitro antioxidant activity according to DPPH method. *Results: Camellia yokdonensis* flower wine fulfill requirement testing medicinal wine according to Vietnamese Pharmacopoeia V standards. Determining acute oral toxicity with the highest dose that can overcome syringe without killing mice (D_{max}) is 10,000 mg/kg of mice. The total polyphenol content equivalent to 194.82 μ g pyrogallol/g dry material of flower wine. In vitro antioxidant activity has an IC_{50} of 5.12 μ g/mL. *Conclusion: Camellia yokdonensis* flower fulfill requirement Vietnamese Pharmacopoeia V standards and has good antioxidant activity.

Keywords: *Camellia yokdonensis*, antioxidant, acute toxicity, total polyphenol content

Received: 24/10/2023

Revised: 14/12/2023

Accepted for publication: 20/01/2024