

# MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF GREEN TEA AND EVALUATION OF THE Fe<sup>3+</sup> REDUCING CAPACITY OF A CATECHIN-RICH FRACTION

Luu Ngoc Linh<sup>1</sup> Le Thi Ngoc Mai<sup>2</sup> Nguyen Duy Nghia<sup>3</sup>  
Nguyen Duc Hung<sup>4</sup> Nguyen Thi Van Anh<sup>5</sup> Le Ngoc An<sup>6</sup> Pham Thi Mai Huong<sup>7</sup>

<sup>1,2,3,4,5,7</sup>Thanh Do University; <sup>6</sup>University of Medicine and Pharmacy, VNU

Email: [luulinh057@gmail.com](mailto:luulinh057@gmail.com)<sup>1</sup>; [ngocmaile1708@gmail.com](mailto:ngocmaile1708@gmail.com)<sup>2</sup>; [nguyenduyngphia665@gmail.com](mailto:nguyenduyngphia665@gmail.com)<sup>3</sup>; [hungcoca010176@gmail.com](mailto:hungcoca010176@gmail.com)<sup>4</sup>; [nguyenthivananh140690@gmail.com](mailto:nguyenthivananh140690@gmail.com)<sup>5</sup>; [anxeopharmacist@gmail.com](mailto:anxeopharmacist@gmail.com)<sup>6</sup>; [ptmhuong@thanhdouni.edu.vn](mailto:ptmhuong@thanhdouni.edu.vn)<sup>7</sup>

Received: 5/12/2025; Reviewed: 12/02/2026; Revised: 27/4/2026; Accepted: 7/5/2026

DOI: <https://doi.org/10.58902/nckhpt.e-v2i1.338>

**Abstract:** This study aimed to characterize the botanical morphology of green tea, *Camellia sinensis* var. *sinensis*, collected from Ba Qua Hamlet, Van Han Commune, Thai Nguyen Province, Vietnam, and to evaluate the antioxidant potential of a catechin-enriched fraction obtained from the leaves through ferric ion-reducing activity. Botanical identification was conducted based on detailed morphological characteristics in combination with specialized taxonomic keys. The catechin-enriched fraction (E-CS) was prepared by liquid-liquid extraction using 50% ethanol, chloroform, ethyl acetate, and citric acid to concentrate bioactive polyphenolic constituents. Quantitative analysis by high-performance liquid chromatography coupled with a diode-array detector (HPLC-DAD) revealed that the major catechins, namely (+)-catechin, (-)-epicatechin, and (-)-epigallocatechin gallate, were present at concentrations of 21.50%, 16.61%, and 12.26%, respectively. The ferric ion (Fe<sup>3+</sup>)-reducing capacity of the E-CS fraction was evaluated using the Oyaizu method at concentrations ranging from 66.67 to 125.00 µg/mL, demonstrating a concentration-dependent increase in reducing activity with a correlation coefficient of  $R^2 = 0.9846$ . The findings confirmed the identity of the collected plant material as *Camellia sinensis* var. *sinensis* and demonstrated that the catechin-enriched fraction exhibited strong ferric-reducing activity comparable to that of ascorbic acid, highlighting the potential of green tea leaves as a natural source of antioxidant compounds for applications in functional foods and phytopharmaceuticals.

**Keywords:** *Camellia sinensis* var. *sinensis*; Catechin; Green tea; HPLC-DAD; Ferric reducing power.

## 1. Giới thiệu

Chè xanh (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) là một trong những đồ uống được tiêu thụ rộng rãi nhất trên thế giới và được quan tâm đáng kể nhờ giá trị dinh dưỡng cùng tiềm năng hỗ trợ sức khỏe. Hoạt tính sinh học của chè xanh chủ yếu liên quan đến hàm lượng cao các hợp chất polyphenol, đặc biệt là nhóm catechin (Athirojthanakij & Rashidinejad, 2024). Các catechin chính bao gồm (+)-catechin (C), (-)-epicatechin (EC), (+)-gallocatechin (GC), (-)-epicatechin gallate (ECG), (-)-epigallocatechin (EGC) và (-)-epigallocatechin gallate (EGCG). Nhiều nghiên cứu đã chứng minh nhóm hợp chất này có khả năng chống oxy hóa mạnh và tham gia vào các tác dụng sinh học quan trọng như chống viêm, kháng

khẩn, bảo vệ tim mạch và hỗ trợ điều hòa rối loạn chuyển hóa liên quan đến stress oxy hóa (Wanasundara et al., 2005; Korkmaz et al., 2019; Fujioka et al., 2022).

Việt Nam là một trong những quốc gia có sản lượng chè lớn trên thế giới, trong đó Thái Nguyên được xem là vùng nguyên liệu đặc trưng nhờ điều kiện sinh thái thuận lợi cho sự tích lũy các hợp chất polyphenol trong lá chè. Mặc dù chè xanh Thái Nguyên được sử dụng rộng rãi trong thực phẩm và dược liệu, các dữ liệu khoa học liên quan đến đặc điểm thực vật, thành phần catechin và hoạt tính sinh học của nguồn nguyên liệu này vẫn còn chưa đầy đủ. Trong nghiên cứu dược liệu, việc xác định chính xác loài và thứ thực vật có ý nghĩa quan trọng nhằm đảm bảo độ tin cậy cho các nghiên cứu

hóa học và sinh học tiếp theo.

Hoạt tính chống oxy hóa của catechin thường được đánh giá thông qua khả năng cho electron và khử ion kim loại chuyển tiếp, trong đó phép thử khử  $Fe^{3+}$  theo phương pháp Oyaizu hoặc FRAP được sử dụng phổ biến nhờ độ nhạy cao và thao tác đơn giản (Martinovic et al., 2022). Phương pháp này dựa trên khả năng chuyển  $Fe^{3+}$  thành  $Fe^{2+}$  của các chất chống oxy hóa, tạo thành phức màu có thể định lượng bằng quang phổ UV-Vis. Tuy nhiên, các nghiên cứu về khả năng khử ion kim loại của phân đoạn giàu catechin từ chè xanh Thái Nguyên hiện còn hạn chế, đặc biệt là các nghiên cứu tích hợp đồng thời giữa định danh thực vật, phân tích thành phần catechin và đánh giá hoạt tính sinh học trên cùng nguồn nguyên liệu.

Xuất phát từ những cơ sở trên, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xây dựng dữ liệu khoa học nền tảng cho nguồn nguyên liệu chè xanh thu thập tại Thái Nguyên. Cụ thể, nghiên cứu tập trung vào: (1) khảo sát và mô tả đặc điểm hình thái thực vật nhằm xác nhận danh tính của mẫu chè xanh nghiên cứu; (2) xây dựng quy trình chiết tách và làm giàu phân đoạn catechin từ lá chè xanh, đồng thời định lượng một số catechin chính bằng phương pháp HPLC-DAD; và (3) đánh giá khả năng khử ion  $Fe^{3+}$  của phân đoạn giàu catechin như một chỉ thị ban đầu cho tiềm năng chống oxy hóa của nguồn nguyên liệu. Kết quả nghiên cứu góp phần bổ sung dữ liệu khoa học về chè xanh Thái Nguyên và tạo cơ sở cho các nghiên cứu chuyên sâu liên quan đến hoạt tính sinh học và ứng dụng của các hợp chất polyphenol tự nhiên.

## 2. Tổng quan nghiên cứu

Chi *Camellia* thuộc họ Theaceae, bao gồm khoảng 100-250 loài phân bố chủ yếu ở khu vực Đông Nam Á và Đông Á. Trong đó, loài *C. sinensis* (L.) O. Kuntze là loài có giá trị kinh tế cao nhất trong chi này, được trồng rộng rãi để sản xuất chè. Loài này được chia thành năm thứ: *C. sinensis* var. *sinensis*, *C. sinensis* var. *assamica*, *C. sinensis* var. *dehungensis*, *C. sinensis* var. *madoensis*, *C. sinensis* var. *pubilimba*, khác biệt về hình thái lá, hoa, vôi nhụy, quả và thành phần hóa học (Ming & Bartholomew, 2007). Những khác biệt này có thể ảnh hưởng trực tiếp đến hàm lượng các hợp chất chuyển hóa thứ cấp cũng như hoạt tính sinh học của nguyên liệu chè.

Trong thành phần hóa học của chè xanh,

catechin là nhóm polyphenol chiếm ưu thế, dao động khoảng 15–30% khối lượng chất khô của lá chè (Khan, 2014). Các catechin chính thường gặp bao gồm (+)-catechin (C), (–)-epicatechin (EC), (+)-gallocatechin (GC), (–)-epicatechin gallate (ECG), (–)-epigallocatechin (EGC) và (–)-epigallocatechin gallate (EGCG). Nhiều nghiên cứu cho thấy nhóm hợp chất này có vai trò quan trọng đối với hoạt tính sinh học của chè xanh nhờ khả năng chống oxy hóa mạnh, đồng thời tham gia vào các tác dụng chống viêm, bảo vệ tim mạch và hỗ trợ điều hòa chuyển hóa (Wanasundara et al., 2005; Korkmaz et al., 2019; Fujioka et al., 2022). Chính vì vậy, việc tối ưu hóa quy trình chiết xuất catechin từ nguyên liệu chè xanh đã thu hút sự quan tâm đáng kể trong những năm gần đây.

Hiệu suất thu hồi catechin phụ thuộc nhiều vào phương pháp chiết và hệ dung môi sử dụng. Ismail (2015) cho thấy điều kiện chiết có ảnh hưởng rõ rệt đến hàm lượng catechin, caffeine và acid gallic thu được từ chè xanh khi phân tích bằng HPLC. Serdar và cộng sự (2016) đã ứng dụng kỹ thuật hỗ trợ vi sóng để nâng cao hiệu suất chiết catechin và caffeine từ lá chè xanh. Athirojthanakij và Rashidinejad (2024) so sánh các phương pháp chiết bằng nước nóng, siêu âm và ethanol từ phế liệu chè xanh, trong đó ethanol cho hiệu suất thu hồi catechin và hoạt tính chống oxy hóa cao nhất. Bên cạnh đó, Fujioka và cộng sự (2022) đã tối ưu hóa quy trình chiết bằng dung môi xanh nhằm nâng cao hiệu quả thu nhận catechin và giảm tác động môi trường, đồng thời ghi nhận khả năng hỗ trợ giảm cholesterol máu của các phân đoạn giàu catechin.

Song song với nghiên cứu về chiết xuất, nhiều kỹ thuật phân tích hiện đại đã được phát triển để định tính và định lượng catechin trong chè xanh. Trong đó, HPLC-DAD được xem là phương pháp tiêu chuẩn nhờ độ nhạy cao và khả năng phân tách tốt các hợp chất polyphenol. Jin và cộng sự (2019) đã sử dụng HPLC-DAD để khảo sát ảnh hưởng của điều kiện pha trà đến hàm lượng catechin trong dịch chiết chè xanh. Qi và cộng sự (2020) kết hợp kỹ thuật chiết siêu âm với UHPLC và khối phổ phân giải cao nhằm xác định đồng thời các hợp chất polyphenol và các chất tạo hương trong chè xanh. Ngoài ra, Selvi và Nagarajan (2018) đã xây dựng quy trình phân lập catechin bằng kỹ thuật chiết siêu âm kết hợp acetyl hóa hỗ trợ vi sóng,

đồng thời đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của từng hợp chất riêng lẻ. Qian và cộng sự (2020) tiếp tục phát triển hệ thống HPLC–ABTS trực tuyến cho phép sàng lọc nhanh các chất chống oxy hóa tự nhiên trong nhiều loại chè khác nhau với độ nhạy cao và thời gian phân tích ngắn hơn.

Hoạt tính chống oxy hóa của catechin thường được đánh giá thông qua khả năng quét gốc tự do hoặc khả năng khử ion kim loại chuyển tiếp. Trong đó, phép thử khử  $Fe^{3+}$  theo phương pháp Oyaizu hoặc FRAP được sử dụng phổ biến để đánh giá sơ bộ tiềm năng chống oxy hóa của các dịch chiết giàu polyphenol. Martinovic và cộng sự (2022) cho thấy phương pháp chiết và loại dung môi sử dụng có thể ảnh hưởng đáng kể đến thành phần phenolic cũng như khả năng chống oxy hóa của dịch chiết. Korkmaz và cộng sự (2019) ghi nhận chè xanh có hoạt tính chống oxy hóa cao hơn chè trắng và chè đen, đồng thời hoạt tính này có mối liên quan chặt chẽ với hàm lượng catechin trong mẫu nghiên cứu. Gần đây, Sakao và cộng sự (2023) cũng cho thấy điều kiện pha trà khác nhau có thể ảnh hưởng đến hiệu suất chiết catechin và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của dịch chiết chè xanh.

Tuy nhiên, các nghiên cứu liên quan đến khả năng khử ion kim loại của phân đoạn giàu catechin từ nguồn nguyên liệu chè xanh Thái Nguyên hiện vẫn còn hạn chế, đặc biệt là các nghiên cứu tích hợp giữa định danh thực vật, xây dựng phân đoạn giàu catechin, phân tích bằng HPLC-DAD và đánh giá hoạt tính chống oxy hóa trên cùng mẫu nghiên cứu. Đây là khoảng trống khoa học cần được bổ sung nhằm cung cấp cơ sở dữ liệu cho việc khai thác và phát triển nguồn nguyên liệu chè xanh Việt Nam theo hướng ứng dụng trong thực phẩm chức năng và dược liệu tự nhiên.

### 3. Nguyên vật liệu và phương pháp nghiên cứu

#### 3.1. Nguyên vật liệu và thiết bị

**Nguyên vật liệu:** Mẫu chè xanh (*C. sinensis* var. *sinensis*) được thu thập tại xóm Ba Quả, xã Văn Hán, tỉnh Thái Nguyên vào tháng 11 năm 2025. Mẫu bao gồm cành mang lá, hoa và quả được thu thập để phục vụ cho việc mô tả hình thái học. Tiêu bản thực vật được làm khô, ép và lưu giữ tại Viện Y Dược, Trường Đại học Thành Đô với mã số CXTN-2025 (hình 1). Mẫu để tiến hành nghiên cứu chiết phân đoạn giàu catechin là lá thứ nhất, lá thứ 2 và chồi của búp của cây chè xanh.

**Hình 1. Tiêu bản mẫu chè xanh (*Camellia sinensis* var. *sinensis*)**



**Hóa chất:** Ethanol tuyệt đối, chloroform, ethyl acetate, axit citric, methanol, đệm phosphat pH là 6,6, potassium ferricyanide, axit trichloroacetic, ferric chloride, axit ascorbic, (+)-catechin, (–)-epicatechin và (–)-epigallocatechin gallate.

**Thiết bị:** Hệ thống HPLC gồm hai bơm Waters (Milford, MA, USA) Model 510, được điều khiển bởi bộ điều khiển gradient tự động Waters AGC-680, van tiêm Rheodyne (Cotati, CA, USA) Model 7120 với vòng tiêm 10  $\mu$ L, đầu dò hấp thụ tử ngoại Waters Model 486 đặt ở bước sóng 275 nm và bộ tích phân Carlo Erba (Milan, Italy) DP700. Cột sắc ký LiChrosorb RP-18 (Teknokroma, Barcelona, Spain; kích thước 25 cm  $\times$  4,6 mm, kích thước hạt 5  $\mu$ m) được sử dụng cho quá trình tách chất. Hệ thống máy cất quay chân không, máy quang phổ UV–Vis Shimadzu UV-1800, cân phân tích (PR224/E, Trung Quốc), máy đo pH/nhiệt độ để bàn (HI2210-02, Trung Quốc), bếp đun cách thủy (MEMMERT WTB15, Trung Quốc) và một số thiết bị thông dụng trong phòng thí nghiệm.

#### 3.2. Phương pháp nghiên cứu

Để thực hiện mục tiêu xây dựng dữ liệu nền tảng về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học ban đầu của chè xanh Thái Nguyên, nghiên cứu được triển khai theo quy trình gồm các bước: xác định và mô tả mẫu thực vật, chiết tách và làm giàu catechin, phân tích định lượng bằng HPLC-DAD, và đánh giá khả năng khử ion  $Fe^{3+}$  của phân đoạn thu được bằng phương pháp in vitro. Các bước nghiên cứu được thiết kế nhằm cung cấp bằng chứng hóa học và sinh học bước đầu, thay vì khảo sát cơ chế hay so sánh hiệu quả sinh học chuyên sâu.

### 3.2.1. Phương pháp giám định hình thái

Mẫu thực vật được quan sát và mô tả các đặc điểm hình thái bao gồm: dạng sống, đặc điểm thân, cành, lá (hình dạng, kích thước, mép lá, đỉnh, gốc, bề mặt, hệ gân), hoa (cấu tạo, màu sắc, kích thước các bộ phận), quả và hạt. Phương pháp giám định dựa trên so sánh hình thái với các khóa phân loại của chi *Camellia* theo Ming và Bartholomew (2007). Danh pháp thực vật được kiểm tra theo các cơ sở dữ liệu quốc tế: International Plant Names Index (<https://ipni.org>), World Flora Online (<https://www.worldfloraonline.org>), và Plants of the World Online (<https://powo.science.kew.org>).

### 3.2.2. Phương pháp tạo phân đoạn giàu catechin

Lá chè xanh tươi được rửa sạch, diệt men polyphenol oxidase (PPO) bằng cách sấy ở nhiệt độ 95-100°C trong 5-7 phút. Sau đó, mẫu được sấy khô ở 60°C trong 5 giờ và nghiền thành bột mịn.

Quy trình chiết xuất được thực hiện theo các bước sau:

1. Bột được hòa vào ethanol 50% theo tỉ lệ 1:10, đun trên bếp cách thủy ở 80°C, ngâm 10 phút để tăng sự thâm thấu vào tế bào, các thành phần trong trà được hòa tan vào nước và khuếch tán ra khỏi tế bào.

2. Lọc dịch chiết thu được dịch chiết ethanol 50% của lá chè xanh.

3. Cô quay để loại ethanol ra khỏi dịch chiết ở điều kiện 50-52°C ở 60 atm.

4. Hòa tan dịch ethanol của lá chè xanh vào nước và bổ sung chloroform tỉ lệ 1:1 để hòa tan các chất không phân cực có trong trà như caffeine, lipids và chlorophyll. Thao tác được lặp lại 3 lần với tỉ lệ tương tự, thu phân lớp nước.

5. Tiến hành bổ sung ethyl acetate vào phân lớp nước, ethyl acetate có khả năng hòa tan catechin. Thao tác được lặp lại 3 lần với tỉ lệ tương tự, thu phân lớp ethyl acetate.

6. Phân lớp ethyl acetate được bổ sung dung dịch axit citric với tỉ lệ 1:1. Thao tác được lặp lại 2 lần với tỉ lệ tương tự và thu nhận lại phân lớp ethyl acetate.

7. Phân lớp ethyl acetate được đem đi cô quay ở nhiệt độ 50°C ở 65 atm đuổi toàn bộ dung môi, thu hồi được phần cao phân đoạn ethyl acetate giàu catechin (E-CS) với hàm lượng catechin đạt 50,37%. Sản phẩm được bảo quản ở 4°C trong lọ.

### 3.2.3. Phương pháp phân tích hàm lượng catechin bằng HPLC-DAD

Phân tích HPLC được thực hiện theo các chương trình:

Đối với C và EGCG tiến hành rửa giải gradient hai dung môi, với lưu lượng 1 mL/phút. Thành phần dung môi được sử dụng là (A) nước-acetonitril-axit formic (94,7:4,3:1 v/v) và (B) nước-acetonitril-axit formic (49,5:49,5:1 v/v). Thành phần pha động bắt đầu ở mức 90% dung môi A và 10% dung môi B, tăng tuyến tính lên 30% dung môi B trong 10 phút, sau đó tăng tuyến tính dung môi B lên 80% trong 5 phút, giữ nguyên điều kiện cuối cùng trong 5 phút nữa.

Đối với EC tiến hành rửa giải gradient bằng cách thay đổi tỷ lệ dung môi A (nước cất chứa 0,05% axit orthophosphoric) với dung môi B (acetonitril), với tốc độ dòng chảy 1,5 mL/phút và thời gian 31 phút. Thành phần ban đầu của pha động, bao gồm 85% dung môi A và 15% dung môi B, được duy trì trong 10 phút. Dung môi B được tăng tuyến tính lên 16% sau 11 phút, 17% sau 12 phút, 18% sau 13 phút, 20% sau 14 phút, 30% sau 15 phút, 40% sau 16 phút và 50% sau 17 đến 31 phút. Cột được rửa bằng 100% dung môi B trong 10 phút, giữ nguyên điều kiện cuối cùng trong 5 phút nữa. Tất cả mẫu được lọc qua màng trước khi tiêm sắc ký.

Nhận diện hợp chất dựa trên so sánh thời gian lưu và phổ UV với chất chuẩn đối chiếu. Định lượng được thực hiện bằng phương pháp chuẩn ngoại. Các đường chuẩn được xây dựng trong khoảng nồng độ khảo sát và cho thấy mối quan hệ tuyến tính tốt giữa diện tích pic và nồng độ. Độ lặp lại của phép đo được đánh giá thông qua độ lệch chuẩn tương đối giữa các lần tiêm.

Do mục tiêu nghiên cứu là khảo sát thành phần hóa học bước đầu của phân đoạn nên phương pháp được sử dụng theo hướng định lượng tương đối. Việc thẩm định đầy đủ các thông số theo hướng dẫn ICH (LOD, LOQ, độ đúng, độ chính xác liên ngày) sẽ được tiến hành trong các nghiên cứu tiếp theo nếu hướng tới chuẩn hóa được liệu.

### 3.2.4. Phương pháp đánh giá khả năng khử ion $Fe^{3+}$

Khả năng khử ion  $Fe^{3+}$  được đánh giá theo phương pháp của Oyaizu (1986) với một số cải tiến. Phương pháp này dựa trên phản ứng chuyển đổi  $Fe^{3+}$  thành  $Fe^{2+}$  trong điều kiện có các hợp chất có tính khử, tạo phức màu Prussian blue có thể đo được ở bước sóng 700 nm.

**Chuẩn bị dung dịch chuẩn:** Hòa tan 5 mg axit ascorbic trong 10 mL nước cất để thu được dung dịch gốc 500  $\mu\text{g/mL}$ . Từ dung dịch gốc, pha loãng để thu được các nồng độ chuẩn: 66,67; 71,43; 83,33; 90,91; 100,0; 111,11 và 125,00  $\mu\text{g/mL}$ .

**Chuẩn bị mẫu thử:** Hòa tan 5 mg phân đoạn giàu catechin trong 10 mL methanol để thu được dung dịch gốc 500  $\mu\text{g/mL}$ . Pha loãng tạo các nồng độ thử tương ứng với dãy chuẩn.

**Quy trình phân tích:** Lấy 1,0 mL mẫu chuẩn hoặc mẫu thử ở các nồng độ khác nhau, trộn với 2,5 mL đệm phosphat (pH 6,6) và 2,5 mL dung dịch potassium ferricyanide 1%. Hỗn hợp được ủ ở 50°C trong 20 phút trong bồn điều nhiệt. Sau khi làm nguội, thêm 2,5 mL axit trichloroacetic 10% và ly tâm ở 3.000 vòng/phút trong 10 phút. Lấy 2,5 mL dịch nổi, trộn với 2,5 mL nước cất và 0,5 mL dung dịch  $\text{FeCl}_3$  0,1% mới pha. Đo độ hấp thụ tại bước sóng 700 nm bằng máy quang phổ UV-Vis. Mẫu trắng được chuẩn bị tương tự nhưng không chứa dịch chiết. Mỗi mẫu được phân tích lặp lại 3 lần.

**Xử lý số liệu:** Kết quả được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn. Đường chuẩn và đường biểu diễn khả năng khử của mẫu được xây dựng bằng phương pháp hồi quy tuyến tính, xác định hệ số tương quan  $R^2$ . Do nghiên cứu này mang tính khảo sát ban đầu nhằm xây dựng dữ liệu nền tảng về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của phân đoạn chè xanh, cỡ mẫu thí nghiệm còn hạn chế. Vì vậy, chúng tôi không áp dụng các kiểm định suy luận thống kê mạnh (như ANOVA đa nhóm hoặc mô hình hồi quy suy luận), mà chủ yếu sử dụng phân tích mô tả và đánh giá xu hướng tuyến tính giữa nồng độ và đáp ứng quang phổ. Cách tiếp cận này phù hợp với mục tiêu nghiên cứu định hướng ban đầu, đồng thời giúp hạn chế diễn giải quá mức từ bộ dữ liệu nhỏ.

## 4. Kết quả nghiên cứu

### 4.1. Đặc điểm hình thái cây chè xanh

**Dạng sống:** Cây gỗ nhỏ, thường mọc thành bụi, cao 1-5 m.

**Thân và cành:** Cành non ít lông đến gần như nhẵn, màu xanh; cành già màu xám, vỏ nhẵn.

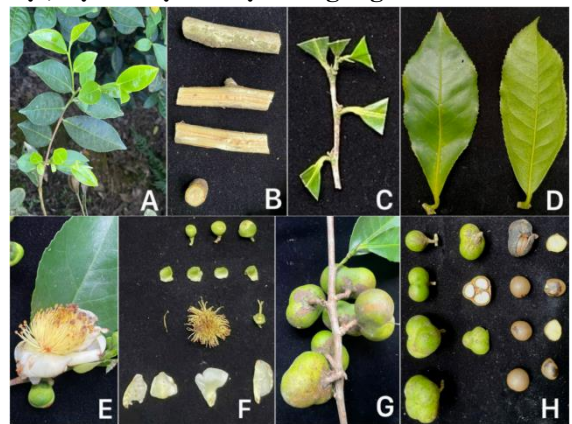
**Lá:** Lá đơn, mọc cách; phiến lá hình bầu dục-thuôn dài, kích thước 7,0-10,5  $\times$  3,0-4,7 cm; mép có răng cưa nhỏ, đều; đỉnh lá nhọn đến hơi thuôn; góc lá thuôn tròn; mặt trên xanh đậm, bóng và nhẵn; mặt dưới xanh nhạt hơn, có lông thưa chủ

yếu dọc theo gân giữa. Hệ gân lông chim, gồm 7-10 cặp gân bên nổi rõ ở mặt dưới; gân giữa hơi lõm ở mặt trên và nổi rõ ở mặt dưới. Cuống lá ngắn, dài khoảng 5 mm, hơi cong, màu xanh nhạt.

**Hoa:** Hoa mọc đơn độc hoặc 2-3 hoa tại nách lá, dạng hơi rủ; màu trắng, có mùi thơm đặc trưng. Cuống hoa dài 1,2-1,5 cm, hơi dày ở phần đỉnh, nhẵn. Lá bắc 2-3, kích thước 1,8-2,0  $\times$  1,0-1,5 mm, màu xanh, dễ rụng. Lá đài 5, hình tròn đến bầu dục rộng, màu xanh nhạt, kích thước 3,0-4,5  $\times$  3,0-4,0 mm, nhẵn. Cánh hoa 6, trắng, gần cầu, kích thước 1,1-1,5  $\times$  0,8-1,3 cm, nhẵn. Nhị nhiều, xếp 3-4 vòng; chỉ nhị mảnh, dài 0,8-2,2 cm, màu vàng nhạt, nhẵn; bao phấn vàng. Bầu có lông mịn, gồm 3 ô; vòi nhụy 3, rời gần phía đỉnh.

**Quả:** Quả nang, hình cầu đến hơi dẹt, gồm 1-4 múi, vỏ quả dày trung bình; mỗi múi chứa 1-2 hạt. Hạt hình cầu hoặc nửa cầu, màu nâu sẫm, bề mặt nhẵn. (hình 1 và 2).

**Hình 2. Chè xanh (*Camellia sinensis* var. *sinensis*). (A) cây chè xanh tại Thái Nguyên; (B) thân; (C) cành đã loại bỏ phiến lá; (D) lá mặt trên và mặt dưới; (E) cành mang hoa và nụ; (F) chi tiết nụ, lá bắc, nhị, nhụy và cánh hoa; (G) cành mang quả; (H) quả nguyên, quả bổ ngang, hạt, hạt bổ dọc và hạt bổ ngang**



### 4.2. Quy trình chiết xuất phân đoạn giàu catechin

Quy trình chiết xuất được thực hiện theo sơ đồ sau:

Lá chè xanh tươi  $\rightarrow$  Diệt men (95-100°C, 5-7 phút)  $\rightarrow$  Sấy khô (60°C, 5 giờ)  $\rightarrow$  Nghiền bột mịn  $\rightarrow$  Chiết xuất ethanol 50% (80°C, 10 phút, tỉ lệ 1:10)  $\rightarrow$  Lọc  $\rightarrow$  Quay đuôi ethanol  $\rightarrow$  Bổ sung thêm nước chiết lỏng-lỏng với chloroform (1:1, 3 lần)  $\rightarrow$  Thu lớp nước  $\rightarrow$  Chiết với ethyl acetate (1:1, 3 lần)  $\rightarrow$  Thu lớp ethyl acetate  $\rightarrow$  Chiết với

axit citric (1:1, 2 lần) → Cô quay (50°C, 65 atm) → Đông khô → Phân đoạn E-CS (hàm lượng catechin (gồm (+)-catechin (C), (-)-epicatechin (EC), và (-)-epigallocatechin gallate (EGCG)) đạt 50,37%).

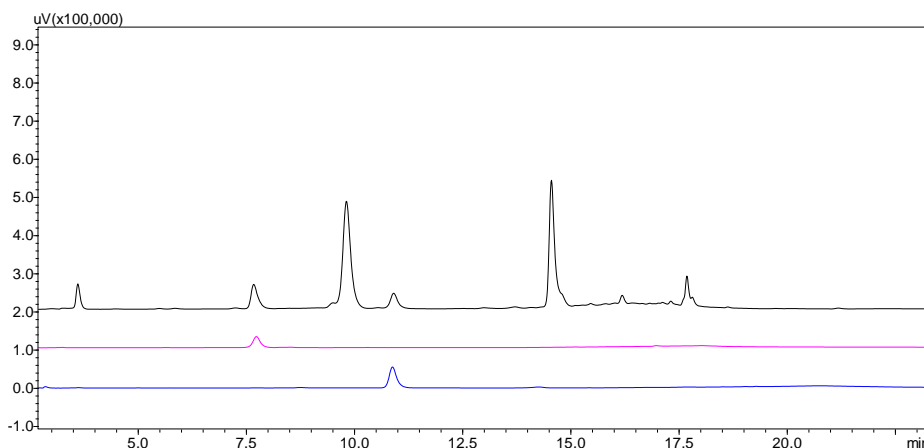
Hiệu suất chiết cao tổng ethanol là 31.03%, hiệu suất chiết phân đoạn E-CS là 11.88%. Phân đoạn E-CS với hàm lượng catechin gồm C, EC và EGCG đạt 50,37%, cho thấy hiệu quả của phương pháp chiết xuất phân đoạn sử dụng các dung môi có độ phân cực khác nhau.

**4.3. Kết quả phân tích HPLC-DAD**

Phân tích HPLC-DAD cho thấy sự tách biệt hoàn toàn của ba hợp chất C, EC và EGCG phân đoạn E-CS từ dịch chiết lá chè xanh (Hình 3 và 4). Sắc ký đồ HPLC thu được ở bước sóng 275 nm cho thấy ba pic đặc trưng tương ứng với các

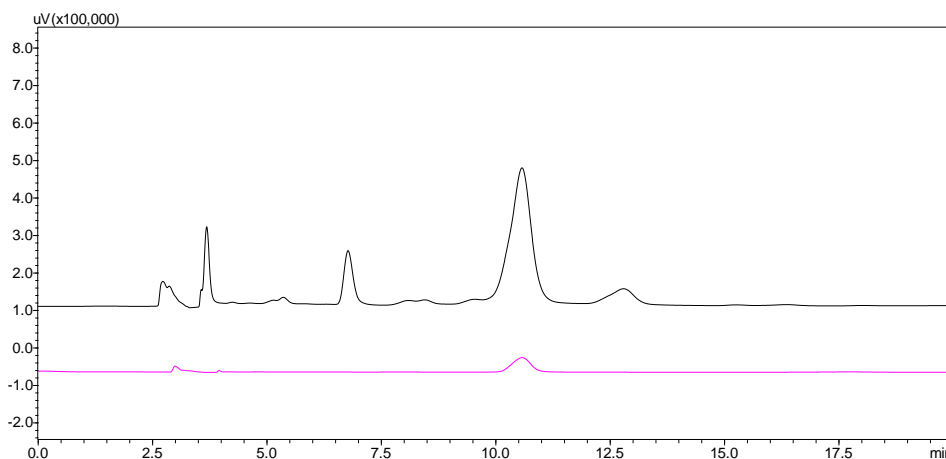
catechin chính trong phân đoạn giàu catechin từ dịch chiết lá chè xanh. Với điều kiện sắc ký mô tả ở mục phương pháp, thứ tự thời gian lưu (RT) quan sát được là: C (RT ≈ 7,7–8,1 min), EC (RT ≈ 9,9–11,1 min) và EGCG (RT ≈ 10,8–11,2 min). Các pic được tách biệt tốt, không thấy dấu hiệu chồng lấn đáng kể giữa các đỉnh, cho phép thực hiện tích phân và định lượng riêng rẽ. Diện tích tích phân sau hiệu chuẩn với đường chuẩn từng hợp chất cho thấy hàm lượng tương đối theo thứ tự: C ≈ 21,5% > EC ≈ 16,6 % > EGCG ≈ 12,3 %. Tổng hàm lượng ba hợp chất xác định được trong mẫu phân đoạn E-CS là khoảng 50,37 % mẫu khô (Bảng 1). Kết quả này cho thấy quy trình chiết xuất đã làm giàu đáng kể hàm lượng catechin so với lá chè xanh ban đầu.

**Hình 3. Kết quả chạy HPLC của phân đoạn E-CS từ dịch chiết lá chè xanh. (C) là đường màu hồng; (EGCG) là đường màu xanh**



*Chú thích: Đường màu đen là kết quả chạy HPLC của phân đoạn E-CS; Đường màu xanh là kết quả chạy HPLC của C; Đường màu hồng là kết quả chạy HPLC của EGCG*

**Hình 4. Kết quả chạy HPLC của phân đoạn E-CS từ dịch chiết lá chè xanh. (EC) là đường màu hồng**



Chú thích: Đường màu đen là kết quả chạy HPLC của phân đoạn E-CS; Đường màu hồng là kết quả chạy HPLC của EC

**Bảng 1. Hàm lượng các catechin chính trong phân đoạn E-CS từ lá chè xanh (n = 2)**

Mẫu	Hàm ẩm (%)	Catechin (C) (%)	Epicatechin (EC) (%)	EGCG (%)	Tổng catechin (%)
E-CS	18	21,50 ± 1,02	16,61 ± 0,86	12,56 ± 0,99	50,37 ± 0,84

Chú thích: Giá trị được biểu diễn dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn, tính từ hai lần lặp độc lập.

**4.4. Khả năng khử ion Fe<sup>3+</sup>**

Khả năng khử ion Fe<sup>3+</sup> của phân đoạn giàu catechin (E-CS) được đánh giá bằng mô hình khử sắt, sử dụng axit ascorbic làm chất chuẩn đối chiếu. Tất cả các phép thử được thực hiện lặp lại độc lập ba lần và kết quả được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn.

Kết quả cho thấy độ hấp thụ quang của cả axit ascorbic và phân đoạn E-CS đều tăng theo sự gia tăng nồng độ (bảng 2 và bảng 3), phản ánh xu hướng tăng dần của khả năng khử Fe<sup>3+</sup> theo nồng độ mẫu thử.

**Bảng 2. Độ hấp thụ của axit ascorbic (AAE) ở các nồng độ khác nhau trong mô hình xác định khả năng khử ion Fe<sup>3+</sup>**

Nồng độ (µg/mL)	Độ hấp thụ (OD) ± SD
66,67	0,248 ± 0,008
71,43	0,295 ± 0,010
83,33	0,411 ± 0,012
90,91	0,469 ± 0,015
100,00	0,531 ± 0,014
111,11	0,591 ± 0,016
125,00	0,651 ± 0,018

**Bảng 3. Độ hấp thụ của phân đoạn E-CS ở các nồng độ khác nhau trong mô hình xác định khả năng khử ion Fe<sup>3+</sup>**

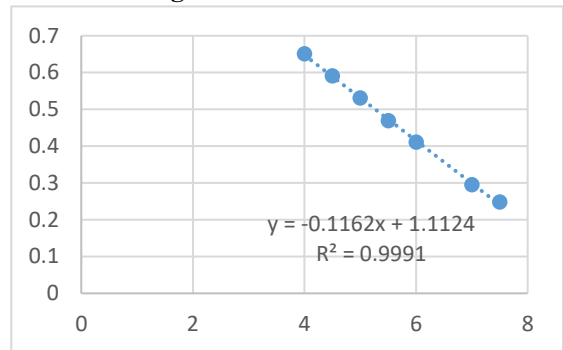
Nồng độ (µg/mL)	Độ hấp thụ (OD) ± SD
66,67	0,328 ± 0,011
71,43	0,365 ± 0,009
83,33	0,420 ± 0,013
90,91	0,453 ± 0,012
100,00	0,529 ± 0,015
111,11	0,568 ± 0,014
125,00	0,655 ± 0,017

Kết quả cho thấy hoạt tính khử của cả axit ascorbic chuẩn và phân đoạn giàu catechin đều tăng theo sự gia tăng nồng độ. Mối tương quan giữa nồng độ và độ hấp thụ (phản ánh khả năng

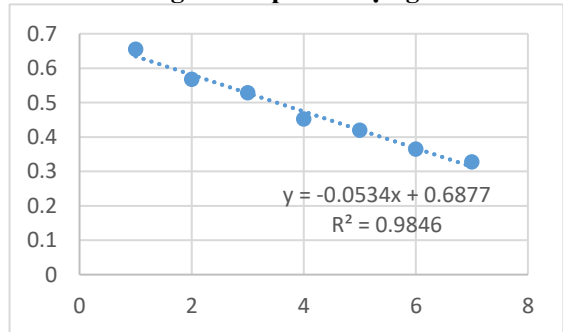
khử) thể hiện tính tuyến tính cao.

Đường chuẩn axit ascorbic (Hình 5) có phương trình hồi quy:  $y = 0,0069x + 0,0054$  với hệ số tương quan  $R^2 = 0,991$ . Đường biểu diễn khả năng khử của phân đoạn E-CS (Hình 6) có phương trình hồi quy:  $y = 0,0065x + 0,0089$  với hệ số tương quan  $R^2 = 0,9846$ . Hệ số tương quan cao của cả hai phương trình cho thấy mối quan hệ tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ và đáp ứng quang phổ, đồng thời chứng tỏ mô hình hồi quy phù hợp với dữ liệu thực nghiệm.

**Hình 5. Đường chuẩn axit ascorbic**



**Hình 6. Đường chuẩn phân đoạn giàu catechin**



Từ đường chuẩn axit ascorbic, các giá trị hấp thụ của phân đoạn E-CS đã được quy đổi sang hàm lượng tương đương axit ascorbic (Ascorbic Acid Equivalent, AAE) để phục vụ so sánh định lượng với chất chuẩn. Giá trị tương đương axit ascorbic (AAE) được tính bằng cách nội suy từ phương trình hồi quy của đường chuẩn axit ascorbic theo công thức  $AAE = (OD - b)/a$ , trong đó  $a$  và  $b$  là hệ số góc và hệ số chặn của đường chuẩn.

**Bảng 4. Khả năng khử  $Fe^{3+}$  của phân đoạn E-CS biểu diễn dưới dạng tương đương axit ascorbic (AAE)**

Nồng độ ( $\mu\text{g/mL}$ )	OD (700 nm) $\pm$ SD	AAE ( $\mu\text{g}$ axit ascorbic/mL)
66,67	0,328 $\pm$ 0,011	46,75
71,43	0,365 $\pm$ 0,009	52,12
83,33	0,420 $\pm$ 0,013	60,09
90,91	0,453 $\pm$ 0,012	64,87
100,00	0,529 $\pm$ 0,015	75,88
111,11	0,568 $\pm$ 0,014	81,54
125,00	0,655 $\pm$ 0,017	94,14

Dữ liệu độ hấp thụ của phân đoạn E-CS sau đó được quy đổi sang giá trị tương đương axit ascorbic (AAE) dựa trên phương trình đường chuẩn, cho phép so sánh định lượng khả năng khử giữa mẫu và chất chuẩn trong cùng hệ thống thử nghiệm. Kết quả quy đổi cho thấy hoạt tính khử  $Fe^{3+}$  của phân đoạn E-CS tăng tuyến tính theo nồng độ và nằm trong khoảng tương đương với hoạt tính của axit ascorbic trong điều kiện thí nghiệm. Độ lệch chuẩn thấp giữa các lần lặp ở tất cả các nồng độ khảo sát cho thấy phương pháp có độ lặp lại tốt và dữ liệu thu được đáng tin cậy cho mục tiêu đánh giá định hướng hoạt tính khử của phân đoạn.

So sánh độ hấp thụ ở cùng nồng độ cho phân đoạn E-CS có khả năng khử  $Fe^{3+}$  tương đương hoặc cao hơn axit ascorbic chuẩn. Các kết quả thu được chứng minh phân đoạn E-CS có khả năng khử ion  $Fe^{3+}$  trong điều kiện in vitro, với đáp ứng phụ thuộc nồng độ và có thể định lượng thông qua giá trị tương đương axit ascorbic, cho thấy phân đoạn E-CS có khả năng khử ion  $Fe^{3+}$  rõ rệt trong khoảng nồng độ khảo sát. Kết quả phản ánh khả năng khử ion kim loại của phân đoạn trong điều kiện in vitro.

## 5. Bàn luận

Dựa trên các đặc điểm hình thái ghi nhận được, mẫu chè thu thập tại Thái Nguyên phù hợp với loài *C. sinensis* (L.) O. Kuntze. Các đặc điểm đặc trưng bao gồm: lá đơn, mọc cách, phiến lá bầu dục-thuôn dài (7,0-10,5  $\times$  3,0-4,7 cm), mép có răng cưa nhỏ đều, mặt trên lá sẫm màu, bóng và nhẵn, mặt dưới lá nhạt màu hơn; quả nang chứa 1-2 hạt mỗi múi, vỏ quả dày vừa, hạt hình cầu hoặc bán cầu với bề mặt nhẵn (Ming & Bartholomew 2007). Mẫu chuẩn tại Quý Châu, Trung Quốc, độ cao 1800m,

07/09/1959, số hiệu 1362 (Paratype, PE01513424).

Đặc biệt, các đặc điểm như cánh hoa nhẵn, bầu có lông mịn, vòi nhụy 3 rời gần phía đỉnh, và kích thước lá nhỏ hơn cho phép xác định mẫu nghiên cứu thuộc thứ *C. sinensis* var. *sinensis*, phân biệt với thứ *C. sinensis* var. *assamica* thường có lá lớn hơn (10-20 cm) và các đặc điểm hình thái khác biệt. Kết quả này phù hợp với đặc điểm của chè Thái Nguyên, được biết đến là giống chè được trồng và phát triển tại Việt Nam.

Hiệu suất chiết cao tổng ethanol là 31.03%, hiệu suất chiết phân đoạn E-CS là 11.88%. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Perva et al. (2006) trên cùng đối tượng cho hiệu suất thu hồi là 31,86%  $\pm$  0,24 (Perva et al., 2006). Sự khác biệt nhỏ của kết quả đó có thể là do thời gian lấy mẫu, khu vực lấy mẫu, kỹ thuật tách chiết và các yếu tố khác quan khác. Quy trình chiết xuất phân đoạn sử dụng các dung môi có độ phân cực khác nhau (ethanol 50%, chloroform, ethyl acetate, axit citric) đã cho phép loại bỏ các tạp chất như caffeine, lipid, chlorophyll và làm giàu catechin. Kết quả chiết phân lớp thu được phân đoạn E-CS gồm 3 hợp chất C, EC và EGCG có hàm lượng 50,37% cho thấy sự hiệu quả của phương pháp. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Athirojthanakij và Rashidinejad (2024), cho thấy phương pháp chiết xuất sử dụng ethanol cho hiệu suất thu hồi catechin cao. Một hạn chế của nghiên cứu là chưa định lượng đầy đủ phổ catechin trong phân đoạn, đặc biệt là EGC và ECG – những hợp chất thường hiện diện với hàm lượng đáng kể trong chè xanh và có thể đóng góp quan trọng vào hoạt tính sinh học. Nguyên nhân chủ yếu là do tại thời điểm tiến hành nghiên cứu chưa có đầy đủ các chất chuẩn đối chiếu cần thiết để xây dựng đường chuẩn định lượng cho toàn bộ nhóm catechin. Do đó, nghiên cứu hiện tại chỉ tập trung định lượng ba catechin chính có sẵn chuẩn nhằm cung cấp dữ liệu ban đầu về thành phần polyphenol của phân đoạn. Do đó, các nghiên cứu trong tương lai cần định lượng đầy đủ phổ catechin để củng cố và mở rộng các phát hiện hiện tại về tiềm năng sinh học của phân đoạn chè xanh.

Hàm lượng catechin trong phân đoạn E-CS được xác định bằng HPLC-DAD tổng các catechin thường gặp là 50.37%, cao hơn đáng kể so với hàm lượng catechin trong lá chè xanh thô (thường 15-

30%) (Khan, 2014). Kết quả này chứng tỏ quy trình chiết xuất phân đoạn đã làm tăng nồng độ catechin khoảng 4-5 lần. Phương pháp HPLC-DAD với detector tại bước sóng 275 nm cho độ nhạy và độ chọn lọc cao, phù hợp với các nghiên cứu của Jin và cộng sự (2019) và Qi và cộng sự (2020), đây là cơ sở cung cấp dữ liệu định lượng cho chè xanh tại xã Xóm Ba Quả, xã Văn Hán, tỉnh Thái Nguyên. Trong nghiên cứu này, các đường chuẩn của các chất đối chiếu được xây dựng trong khoảng nồng độ khảo sát và cho thấy mối quan hệ tuyến tính tốt giữa diện tích pic và nồng độ, thể hiện qua hệ số tương quan cao. Độ lặp lại của phép đo được đánh giá thông qua độ lệch chuẩn tương đối (RSD) giữa các lần tiêm mẫu, cho thấy hệ thống phân tích vận hành ổn định trong điều kiện thí nghiệm.

Cần lưu ý rằng mục tiêu của nghiên cứu chủ yếu là khảo sát bước đầu thành phần catechin trong phân đoạn chè xanh và so sánh tương đối hàm lượng giữa các hợp chất chính. Vì vậy, phương pháp HPLC trong nghiên cứu này được sử dụng theo hướng định lượng tương đối, chưa nhằm mục tiêu xác nhận định lượng theo tiêu chuẩn dược điển. Do đó, các thông số thẩm định đầy đủ như giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ), độ đúng và độ chính xác liên ngày chưa được khảo sát toàn diện. Chúng tôi đã làm rõ điểm này trong bản sửa đề tránh hiểu nhầm về phạm vi áp dụng của phương pháp.

Trong các nghiên cứu tiếp theo, nếu hướng tới mục tiêu chuẩn hóa định lượng hoặc kiểm soát chất lượng dược liệu, việc thẩm định phương pháp theo hướng dẫn ICH, bao gồm đánh giá LOD, LOQ, độ đúng, độ chính xác và độ lặp lại liên ngày, sẽ là bước cần thiết.

Việc sử dụng ethyl acetate để chiết catechin là phù hợp vì ethyl acetate có độ phân cực trung bình, phù hợp với cấu trúc của catechin (có nhiều nhóm hydroxyl phenolic), đồng thời ít hòa tan caffeine và các hợp chất không phân cực khác. Nghiên cứu của Selvi và Nagarajan (2018) cũng đã sử dụng ethyl acetate để tách catechin từ chè xanh với hiệu quả cao. Ngoài ra, trong quá trình hoàn thiện nghiên cứu, chúng tôi đã tiến hành khảo sát bổ sung bước chiết có sử dụng axit citric nhằm đánh giá khả năng cải thiện hiệu quả thu nhận các hợp chất polyphenol. Việc bổ sung môi trường axit nhẹ được kỳ vọng góp phần ổn định cấu trúc catechin và hạn chế quá trình oxy hóa trong giai đoạn chiết,

từ đó tạo cơ sở cho các nghiên cứu tối ưu hóa quy trình chiết trong tương lai.

Kết quả đánh giá khả năng khử ion  $Fe^{3+}$  cho thấy phân đoạn E-CS có hoạt tính khử mạnh, tương đương hoặc cao hơn axit ascorbic chuẩn. Hệ số tương quan  $R^2 = 0,9846$  của đường biểu diễn khả năng khử theo nồng độ cho thấy mối quan hệ tuyến tính cao, phù hợp với nguyên lý của phương pháp Oyaizu (1986). Độ hấp thụ tăng theo nồng độ phản ánh sự hình thành phức Prussian blue ( $Fe^{3+}$ - $Fe^{2+}$ ) do quá trình khử  $Fe^{3+}$  thành  $Fe^{2+}$  bởi các nhóm hydroxyl phenolic trong catechin. Khả năng khử  $Fe^{3+}$  của phân đoạn E-CS có thể được giải thích dựa trên đặc điểm cấu trúc hóa học của các catechin – nhóm flavan-3-ol giàu các nhóm hydroxyl phenolic. Nhiều nghiên cứu về polyphenol cho thấy sự hiện diện của hệ ortho-dihydroxyl trên vòng B (cấu trúc catechol), điển hình ở EGC và EGCG, giúp phân tử dễ dàng cho electron và tương tác hiệu quả với các ion kim loại. Sau khi nhường electron, gốc phenoxyl hình thành được ổn định nhờ hiệu ứng cộng hưởng trên hệ vòng thơm, từ đó làm giảm năng lượng trạng thái oxy hóa và tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình khử các ion kim loại chuyển tiếp như  $Fe^{3+}$  (Rice-Evans et al., 1996; Heim et al., 2002).

Ngoài ra, các catechin mang nhóm galloyl (như EGCG và ECG) còn có khả năng phối trí với ion  $Fe^{3+}$  thông qua nhiều nguyên tử oxy phenolic, dẫn tới sự hình thành các phức kim loại tương đối bền. Khả năng liên kết và khử ion sắt là một trong những cơ chế quan trọng của hoạt tính chống oxy hóa của polyphenol, giúp ngăn chặn phản ứng Fenton tạo gốc hydroxyl (Perron & Brumaghim, 2009). Do đó, sự hiện diện đồng thời của catechin tự do và catechin mang nhóm galloyl trong phân đoạn E-CS có thể tạo ra tác dụng hiệp đồng, qua đó giải thích xu hướng tăng hoạt tính khử  $Fe^{3+}$  theo nồng độ quan sát được trong thí nghiệm.

Những kết quả này cũng cố quan điểm rằng hoạt tính chống oxy hóa của polyphenol không chỉ phụ thuộc vào hàm lượng tổng mà còn gắn chặt với đặc điểm cấu trúc phân tử, đặc biệt là số lượng, vị trí các nhóm hydroxyl và khả năng tương tác với ion kim loại (Rice-Evans et al., 1996; Perron & Brumaghim, 2009). Tuy nhiên, các phân tích trên chỉ mang tính giải thích cơ chế khả dĩ; các nghiên cứu sâu hơn về tương tác kim loại và động học phản ứng sẽ cần thiết để khẳng định đầy đủ vai trò của từng catechin trong phân đoạn nghiên

cứu.

Khả năng khử ion kim loại là một trong những cơ chế quan trọng của hoạt tính chống oxy hóa. Các hợp chất catechin với cấu trúc đa phenol có khả năng cho electron, khử ion  $Fe^{3+}$  thành  $Fe^{2+}$ , từ đó ngăn chặn các phản ứng oxy hóa gây hại trong cơ thể. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Martinovic và cộng sự (2022) và Korkmaz và cộng sự (2019), cho thấy catechin trong chè xanh có hoạt tính chống oxy hóa mạnh thông qua nhiều cơ chế khác nhau.

Phân tích hồi quy tuyến tính cho thấy mối quan hệ giữa nồng độ và độ hấp thụ có tính tuyến tính cao trong khoảng khảo sát. Đối với axit ascorbic, phương trình hồi quy thu được là  $y = 0,0069x + 0,0054$  ( $R^2 = 0,991$ ), trong khi phân đoạn E-CS có phương trình  $y = 0,0065x + 0,0089$  ( $R^2 = 0,9846$ ). Giá trị  $R^2$  lớn trong cả hai trường hợp cho thấy phép đo có độ ổn định và khả năng tái lập tốt. Mặc dù các kết quả cho thấy xu hướng đáp ứng rõ ràng theo nồng độ và độ lặp lại thí nghiệm tốt, nghiên cứu này vẫn mang tính thăm dò ban đầu với cỡ mẫu hạn chế. Do đó, các phân tích hiện tại chủ yếu mang tính mô tả, và các nghiên cứu tiếp theo với cỡ mẫu lớn hơn cùng thiết kế thống kê suy luận đầy đủ sẽ cần thiết để khẳng định chắc chắn các khác biệt sinh học quan sát được.

Từ đường chuẩn axit ascorbic, các giá trị hấp thụ của phân đoạn E-CS đã được quy đổi sang tương đương axit ascorbic nhằm cho phép so sánh định lượng giữa mẫu nghiên cứu và chất chuẩn. Kết quả cho thấy phân đoạn có khả năng khử  $Fe^{3+}$  đáng kể trong khoảng nồng độ khảo sát, phù hợp với sự hiện diện của các hợp chất thuộc nhóm catechin giàu nhóm hydroxyl có khả năng cho electron.

Các kết quả cho thấy khả năng khử  $Fe^{3+}$  của phân đoạn E-CS tương đương hoặc vượt trội so với chất chuẩn. Hiệu quả này có thể xuất phát từ sự hiện diện đồng thời của các catechin đặc trưng gồm C, EC, EGCG, vốn được biết đến với khả năng chống oxy hóa mạnh. Kết quả trình bày trong Bảng 2 và Bảng 3 cho thấy ở cả hai mẫu, giá trị độ hấp thụ tăng dần theo nồng độ, phản ánh xu hướng gia tăng khả năng cho electron khi lượng chất thử tăng lên. Tuy nhiên, cần lưu ý rằng phép thử này chỉ phản ánh khả năng khử ion kim loại trong điều kiện *in vitro*. Theo Sakao và cộng sự (2023), sự tương tác hiệp đồng giữa nhiều catechin có thể làm tăng hiệu quả cho – electron và khả năng khử ion

kim loại. Do đó, kết quả được hiểu như một chỉ dấu về tiềm năng cho electron của phân đoạn catechin, chứ không đại diện cho toàn bộ năng lực chống oxy hóa sinh học hay hiệu quả trong cơ thể.

Để đánh giá đầy đủ hơn hoạt tính chống oxy hóa của phân đoạn, các nghiên cứu trong tương lai cần kết hợp thêm các phép thử dựa trên những cơ chế khác nhau, chẳng hạn như DPPH, ABTS, ORAC hoặc CUPRAC, cũng như các mô hình sinh học thích hợp. Việc sử dụng nhiều phương pháp bổ trợ sẽ giúp làm rõ hơn mối liên hệ giữa thành phần hóa học và việc tiếp cận đa phương pháp sẽ giúp làm rõ hơn vai trò của từng nhóm catechin, xác định chính xác tiềm năng ứng dụng của phân đoạn chè xanh trong lĩnh vực dược liệu và thực phẩm chức năng.

Nghiên cứu này cũng góp phần làm phong phú thêm dữ liệu về đặc điểm thực vật học và thành phần hóa học của chè Thái Nguyên, tạo cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo về giống, quy trình canh tác và chế biến để tối ưu hóa hàm lượng catechin và hoạt tính sinh học.

## 6. Kết luận

Nghiên cứu đã xác định được mẫu chè xanh thu tại xóm Ba Quả, xã Văn Hán, tỉnh Thái Nguyên là *C. sinensis* var. *sinensis* dựa trên các đặc điểm đặc trưng về lá, hoa và quả. Quy trình chiết xuất phân đoạn sử dụng ethanol 50%, chloroform, ethyl acetate và axit citric thu được phân đoạn E-CS với hàm lượng 3 hợp chất catechin chính chiếm 50,37%.

Phân tích HPLC-DAD xác định hàm lượng các hợp chất catechin chính trong phân đoạn E-CS là C  $\approx$  21,50%, EC  $\approx$  16,6%, EGCG  $\approx$  12,3%, cao hơn đáng kể so với lá chè xanh thô. Đánh giá khả năng khử ion  $Fe^{3+}$  cho thấy phân đoạn E-CS có hoạt tính khử mạnh, tương đương hoặc cao hơn axit ascorbic chuẩn, với hệ số tương quan  $R^2 = 0,9846$ , chứng tỏ tiềm năng chống oxy hóa cao.

Ngoài ra, việc khảo sát bổ sung chiết trong môi trường có axit citric bước đầu cho thấy hướng tiếp cận này có thể góp phần ổn định catechin và cải thiện hiệu quả thu nhận, cần được nghiên cứu sâu hơn trong các thử nghiệm tối ưu hóa quy trình. Trong tương lai, việc kết hợp thêm các phép thử chống oxy hóa dựa trên nhiều cơ chế khác nhau, cùng với đánh giá trên mô hình sinh học phù hợp, sẽ cần thiết để xác định đầy đủ hơn giá trị sinh học và khả năng ứng dụng của phân đoạn thu được.

## Tài liệu tham khảo

- Athirojthanakij, W., & Rashidinejad, A. (2024). Optimizing catechin extraction from green tea waste: Comparative analysis of hot water, ultrasound-assisted, and ethanol methods for enhanced antioxidant recovery. *Food Science & Nutrition*, *12*(4), 2891–2903. <https://doi.org/10.1002/fsn3.4161>.
- Fujioka, K., Salaheldin, T. A., Godugu, K., Meyers, H. V., & Mousa, S. A. (2022). Edible green solvent for optimized catechins extraction from green tea leaves: Anti-hypercholesterolemia. *Journal of Pharmacy and Pharmacology Research*, *6*(2), 91–98. <https://doi.org/10.26502/fjppr.053>.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure–activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, *13*(10), 572–584. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(02\)00208-5](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(02)00208-5).
- Ismail, N. N. (2015). Determination of phenolic and antioxidant properties in tea and spent tea under various extraction methods and determination of catechins, caffeine and gallic acid by HPLC. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, *5*(3), 171–177. <https://doi.org/10.18517/IJASEIT.5.3.520>.
- Jin, L., Zhao, Y., Kim, D., Kim, K. H., & Kang, S. N. (2019). Comprehensive investigation of the effects of brewing conditions in sample preparation of green tea infusions. *Molecules*, *24*(9), 1735. <https://doi.org/10.3390/molecules24091735>.
- Khan, S. H. (2014). The use of green tea (*Camellia sinensis*) as a phyto-genic substance in poultry diets. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, *81*(1), Article 706. <https://doi.org/10.4102/ojvr.v81i2.706>.
- Korkmaz, N., Sener, S. O., Akkaya, S., Badem, M., & Aliyazicioglu, R. (2019). Investigation of antioxidant, cytotoxic, tyrosinase inhibitory activities, and phenolic profiles of green, white, and black teas. *Turkish Journal of Biochemistry*, *44*(3), 278–288. <https://doi.org/10.1515/TJB-2017-0345>.
- Martinovic, M., Krgović, N., Nešić, I., Zugić, A., & Tadić, V. (2022). Conventional vs. green extraction using natural deep eutectic solvents—Differences in the composition of soluble unbound phenolic compounds and antioxidant activity. *Antioxidants*, *11*(11), 2295. <https://doi.org/10.3390/antiox11112295>.
- Ming, T. L., & Bartholomew, B. (2007). Theaceae. In *Flora of China* (Vol. 12, pp. 366–478). Science Press & Missouri Botanical Garden Press.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, *44*(6), 307–315. <https://doi.org/10.5264/eiyogakuzashi.44.307>.
- Perron, N. R., & Brumaghim, J. L. (2009). A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell Biochemistry and Biophysics*, *53*(2), 75–100. <https://doi.org/10.1007/s12013-009-9043-x>.
- Perva, U. A., Škerget, M., Knez, Ž., Weinreich, B., Otto, F., & Grüner, S. (2006). Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. *Food Chemistry*, *96*(4), 597–605.
- Qi, C., Tianyang, G., Jian, Y., Renyi, L., & Peng, W. (2020). Microwave-assisted extraction combined with UHPLC and quadrupole/Q-Exactive high-resolution mass spectrometry for the determination of main flavor substances in green tea. *Journal of AOAC International*, *103*(6), 1590–1596. <https://doi.org/10.5740/JAOACINT.19-0265>.
- Qian, M., Fang, M., Chen, J., Li, Y., & Huang, Y. (2020). Online liquid microextraction coupled with HPLC-ABTS for rapid screening of natural antioxidants: Case study of three different teas. *Journal of Chromatographic Science*, *58*(9), 866–873. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmaa047>.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, *20*(7),

- 933–956. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02227-9](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02227-9).
- Sakao, K., Miyata, T., & Hou, D. X. (2023). Extraction efficiency and alpha-glucosidase inhibitory activities of green tea catechins by different infusion methods. *Foods*, 12(13), 2611. <https://doi.org/10.3390/foods12132611>.
- Selvi, I. K., & Nagarajan, S. (2018). Separation of catechins from green tea (*Camellia sinensis* L.) by microwave assisted acetylation, evaluation of antioxidant potential of individual components and spectroscopic analysis. *LWT – Food Science and Technology*, 95, 113–120. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2018.01.042>.
- Serdar, G., Demir, E., Bayrak, S., & Sökmen, M. (2016). New approaches for effective microwave assisted extraction of caffeine and catechins from green tea. *International Journal of Secondary Metabolite*, 3(2), 2–14. <https://doi.org/10.21448/IJSM.240697>.
- Wanasundara, P. K. J. P. D., & Shahidi, F. (2005). Antioxidants: Science, technology, and applications. In Bailey's Industrial Oil and Fat Products. John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/047167849X.bio002>.

## KHẢO SÁT ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI VÀ ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG KHỬ ION $Fe^{3+}$ CỦA PHÂN ĐOẠN GIÀU CATECHIN CHIẾT XUẤT TỪ CÂY CHÈ XANH

**Lưu Ngọc Linh<sup>1</sup> Lê Thị Ngọc Mai<sup>2</sup> Nguyễn Duy Nghĩa<sup>3</sup>  
Nguyễn Đức Hùng<sup>4</sup> Nguyễn Thị Vân Anh<sup>5</sup> Lê Ngọc An<sup>6</sup> Phạm Thị Mai Hương<sup>7</sup>**

<sup>1,2,3,4,5,7</sup>Trường Đại học Thành Đô; <sup>6</sup>Trường Đại học Y Dược - Đại học Quốc gia Hà Nội  
Email: [luulinh057@gmail.com](mailto:luulinh057@gmail.com)<sup>1</sup>; [ngocmaile1708@gmail.com](mailto:ngocmaile1708@gmail.com)<sup>2</sup>; [nguyenduyngphia665@gmail.com](mailto:nguyenduyngphia665@gmail.com)<sup>3</sup>;  
[hungcoca010176@gmail.com](mailto:hungcoca010176@gmail.com)<sup>4</sup>; [nguyenthivananh140690@gmail.com](mailto:nguyenthivananh140690@gmail.com)<sup>5</sup>;  
[anxeopharmacist@gmail.com](mailto:anxeopharmacist@gmail.com)<sup>6</sup>; [ptmhuong@thanhdowni.edu.vn](mailto:ptmhuong@thanhdowni.edu.vn)<sup>7</sup>

Ngày nhận bài: 5/12/2025; Ngày phản biện: 12/02/2026; Ngày tác giả sửa: 27/4/2026;  
Ngày duyệt đăng: 7/5/2026

**DOI:** <https://doi.org/10.58902/nckhpt.e-v2i1.338>

**Tóm tắt:** Nghiên cứu này được thực hiện nhằm mô tả đặc điểm hình thái thực vật của cây chè xanh (*Camellia sinensis* var. *sinensis*) thu tại xóm Ba Quả, xã Văn Hán, tỉnh Thái Nguyên, đồng thời đánh giá tiềm năng chống oxy hóa thông qua khả năng khử ion  $Fe^{3+}$  của phân đoạn giàu catechin từ lá chè xanh. Mẫu thực vật được giám định dựa trên các đặc điểm hình thái học kết hợp khóa phân loại thực vật chuyên ngành. Phân đoạn giàu catechin (E-CS) được thu nhận bằng phương pháp chiết lỏng-lỏng sử dụng ethanol 50%, chloroform, ethyl acetate và axit citric nhằm làm giàu các hợp chất polyphenol có hoạt tính sinh học. Hàm lượng các catechin chính gồm (+)-catechin, (-)-epicatechin và (-)-epigallocatechin gallate được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao ghép đầu dò DAD (HPLC-DAD), với hàm lượng tương ứng lần lượt là 21,50%, 16,61% và 12,26%. Khả năng khử ion  $Fe^{3+}$  của phân đoạn E-CS được đánh giá theo phương pháp Oyaizu trong khoảng nồng độ 66,67–125,00  $\mu\text{g/mL}$ , cho thấy hoạt tính khử tăng tỷ lệ thuận với nồng độ mẫu thử với hệ số tương quan  $R^2 = 0,9846$ . Kết quả nghiên cứu không chỉ khẳng định mẫu thực vật thu được là *Camellia sinensis* var. *sinensis* mà còn cho thấy phân đoạn giàu catechin có khả năng khử  $Fe^{3+}$  mạnh, tương đương với axit ascorbic chuẩn, qua đó góp phần cung cấp cơ sở khoa học cho việc khai thác lá chè xanh như một nguồn nguyên liệu giàu chất chống oxy hóa tự nhiên trong lĩnh vực thực phẩm chức năng và dược liệu.

**Từ khóa:** *Camellia sinensis* var. *sinensis*; Catechin; Chè xanh; HPLC-DAD; Khả năng khử  $Fe^{3+}$ .