

ABSTRACT

Vietnam is one of the world's centers of diversity for golden Camellia, a group of yellow-flowered species within the genus *Camellia* (Theaceae). Golden Camellia species are mainly distributed in southern China and northern Vietnam, and research on these plants has therefore been led primarily by Chinese and Vietnamese scientists. In recent years, the discovery of new species has increased scientific interest in Vietnamese Camellia. However, due to their high medicinal value, many endemic golden Camellia species have been overexploited as a result of insufficient management, utilization, and conservation efforts, leading to a sharp decline in natural populations and a reduction in their distribution areas. Consequently, in-depth studies on the metabolite systems of these valuable tea species are urgently needed. Such research provides essential information for chemical-based plant classification, biological activity screening, quality control, and the identification of origins, as well as supporting the development of applications in disease prevention and treatment.

The thesis is structured into four chapters, in addition to references and annexes. Chapter 1 provides a comprehensive review of the literature on the tea family (Theaceae), the genus *Camellia* L., Golden Camellia, and specifically six Golden Camellia species (*C. hakodae*, *C. phanii*, *C. tamdaoensis*, *C. tienii*, *C. petelotii*, and *C. euphlebia*) collected from Tam Dao - Vinh Phuc and Hai Ha - Quang Ninh. Chapter 2 outlines the materials and methodologies employed in the study, including LC-MS, GC-MS, and ICP-MS analyses, as well as DPPH and ABTS free radical scavenging assays. Chapter 3 presents and discusses the experimental results, while Chapter 4 summarizes the conclusions and perspectives.

Chapter 3 discusses the results of all experiments and their interpretation:

First, research on the Vietnamese golden *Camellia* should be expanded to address gaps in its chemical profile and pharmacological properties. This study identified a shared metabolite profile of 131 compounds across six Vietnamese Golden Camellia species using a widely targeted metabolomics approach based on ultra-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. The metabolite profiles were dominated by 41 flavonoids and 32 amino acids representing diverse aglycone skeletons, including anthocyanins, aurones, chalcones, flavan-3-ols, flavanones, flavones, and flavonols. Additional primary metabolites, such as amino acids and their derivatives, were also detected and are likely to contribute to the physicochemical properties as well as the taste and flavor of Golden Camellia tea products. Multivariate analysis revealed clear separation between oven-dried and freeze-dried samples, as well as between young and mature leaves, in PLS-DA score plots. Compounds such as catechin, epicatechin, L-glutamic acid, choline, and several bioactive flavonoids showed distinct accumulation patterns depending on species and thermal treatment. Amino acids were

generally more abundant in young leaves, whereas flavonoids accumulated at higher levels in mature leaves. These findings demonstrate that both harvest stage and processing methods significantly influence metabolite composition, thereby affecting the sensory, nutritional, and pharmacological properties of Golden Camellia materials

Second, presents the potential of six golden *Camellia* species by examining the presence and abundance of chemical components in flowers and leaves. The thesis identified 42 metabolites in leaf samples and 44 metabolites in flower samples using an untargeted GC-MS analysis. The groups that appeared most abundant included esters, fatty acids, and terpenoids with a high probability. Besides, there are natural compounds that contribute to the medicinal and nutritional value of precious tea varieties endemic to Vietnam, such as citral, dl- α -tocopherol, phytol, and squalene. Discrimination analysis, such as PLS-DA and PCA, can distinguish the GC-MS-based metabolite profiles of leaves and flowers, species-specific and tissue-specific. This result provides a tool for chemotaxonomy of these species and quality control of these materials.

The extensive profile revealed by these techniques could help understand the significant discrimination between two organs. *Camellia* flowers accumulated more flavonoids, amino acids, and fatty acids, while leaves contain more terpenes, suggesting different pharmacological properties of these materials. Overall, this pipeline can be applied to other *Camellia* species and the valorization of these valuable resources for health benefits.

Third, the elemental composition of six endemic Vietnamese Golden Camellia species was quantified using a microwave digestion ICP-MS method developed to quantify 23 elements. Both leaves and flowers were analyzed for macro- and micro-minerals, as well as trace elements, providing the first comprehensive elemental profile for these species in Vietnam. In leaf samples, macro-minerals (Na, Mg, K, Ca) constituted the largest proportion of total elements. Calcium was the most abundant mineral, ranging from 0.0916 mg/g in *C. tamdaoensis* to 0.1963 mg/g in *C. hakodae*, equivalent to 0.916-1.963 mg per 10 g of dried leaves. Potassium content varied from 0.0408 mg/g (*C. euphlebia*) to 0.0883 mg/g (*C. phanii*). Among micro-minerals, Mn, Fe, Cu, and Zn predominated and are closely associated with antioxidant activity; Mn was highest in *C. phanii* and *C. tienii*, while Zn exceeded Cu in all species, with the highest Zn level in *C. tienii*.

Flower samples were also rich in essential minerals, particularly potassium (0.0498-0.0841 mg/g) and calcium (0.0330-0.0388 mg/g), with *C. tamdaoensis* showing notably higher levels of both elements. Mn, Fe, Zn, and Cu were the dominant micro-minerals in flowers, with Mn highest in *C. hakodae* and *C. tamdaoensis*, and Zn highest in *C. phanii* and *C. euphlebia*. Overall, mineral concentrations were significantly higher in leaves than in flowers.

Importantly, heavy metals such as Pb, As, Cd, and Ag were not detected or were present below permissible limits, confirming the safety of Golden Camellia for human consumption. The elemental profiles, particularly metal content, may serve as useful indicators for identifying raw materials in Golden Camellia tea production.

Four, this study presents and discusses the antioxidant bioactivity of six endemic Vietnamese Golden *Camellia* species, and represents the first comprehensive evaluation of antioxidant capacity in both leaves and flowers of these species. Antioxidant activity was assessed using DPPH and ABTS radical scavenging assays. In the DPPH assay, all species exhibited strong antioxidant capacity, with IC_{50} values ranging from 5.21 to 15.89 $\mu\text{g/mL}$, comparable to ascorbic acid ($IC_{50} = 4.97 \mu\text{g/mL}$). Among leaf samples, *C. hakodae* demonstrated the strongest activity ($IC_{50} = 5.21 \mu\text{g/mL}$), while *C. petelotii* showed the weakest. Flower extracts exhibited antioxidant activity similar to leaves, with *C. tamdaoensis* showing the strongest effect ($IC_{50} = 6.84 \mu\text{g/mL}$). Mature leaves consistently outperformed young leaves, and oven-dried samples showed slightly stronger activity than freeze-dried samples. The ABTS assay confirmed these trends, with IC_{50} values ranging from 6.91 to 17.50 $\mu\text{g/mL}$, comparable to Trolox ($IC_{50} = 5.84 \mu\text{g/mL}$). Leaves and flowers showed largely equivalent antioxidant effects across species. Phytochemical analysis revealed the presence of abundant antioxidant compounds, including phenolics, flavonoids, carotenoids, vitamin E, catechins, phytol, and stigmasterol, confirming a strong correlation between the chemical composition and antioxidant activity in Golden *Camellia*.

Chapter 4 presents the Conclusion and Perspectives section that summarizes the presence of valuable natural compounds, minerals, and antioxidants in six golden *Camellia* species. The integrated study provides a comprehensive overview of the metabolites found in six Golden *Camellia* species, including both organic compounds and elemental components. The antioxidant effects of six Golden *Camellia* species endemic to Vietnam were compared, and the relationships between their metabolite profiles and antioxidant activities were partially evaluated. It emphasizes their rich bioactive content and strong antioxidant effects in both leaves and flowers. In reality, the flowers bloom seasonally, while the leaves are available year-round, and the flowers are high-cost. Thus, using leaves is a practical choice for healthcare. In the future, continued research on other varieties of golden *Camellia* for comparison and widespread use will bring numerous benefits to healthcare. In the future, it's crucial to develop convenient products such as instant tea, hard capsules, and soft capsules using golden camellia leaf extracts. Research on the golden *Camellia* species plays a key role in conserving and developing Vietnam's precious medicinal resources.

TÓM TẮT

Chi trà hay chè (*Camellia* L.) là một chi thực vật có hoa trong họ chè Theaceae. Dựa vào hình thái màu sắc hoa thì chi này có số lượng rất lớn các loài trà hoa vàng (*Golden Camellia*). Trà hoa vàng, chủ yếu phân bố ở miền nam Trung Quốc và miền bắc Việt Nam. Trong những năm gần đây, việc liên tục phát hiện các loài mới đã làm gia tăng sự quan tâm của giới khoa học đối với chi *Camellia* ở Việt Nam. Tuy nhiên, do có giá trị dược liệu cao, nhiều loài Trà hoa vàng đặc hữu đã bị khai thác quá mức do công tác quản lý, sử dụng và bảo tồn còn hạn chế, dẫn đến sự suy giảm mạnh quần thể tự nhiên và thu hẹp vùng phân bố. Vì vậy, các nghiên cứu chuyên sâu về hệ chất chuyển hóa của những loài trà quý này là hết sức cần thiết. Những nghiên cứu này cung cấp thông tin quan trọng cho việc phân loại thực vật dựa trên thành phần hóa học, sàng lọc hoạt tính sinh học, kiểm soát chất lượng và xác định nguồn gốc, đồng thời hỗ trợ phát triển các ứng dụng trong phòng ngừa và điều trị bệnh.

Luận án gồm 04 chương cùng phần tài liệu tham khảo và phụ lục. Chương 1 trình bày tổng quan tài liệu về họ chè (Theaceae), chi *Camellia* L., trà hoa vàng (*Golden Camellia*) và đặc biệt là sáu loài trà hoa vàng (*C.hakodae*, *C.phanii*, *C.tamdaoensis*, *C.tienii*, *C.petelotii* và *C. euphlebia*) thu hái tại Tam Đảo - Vĩnh Phúc và Hải Hà - Quảng Ninh. Chương 2 mô tả nguyên liệu và các phương pháp nghiên cứu trên sáu loài trà hoa vàng, bao gồm các phương pháp: LC-MS, GC-MS, ICP-MS và khả năng bắt gốc tự do DPPH và ABTS. Chương 3 trình bày kết quả và thảo luận cho toàn bộ các thực nghiệm. Chương 4 là kết luận và đề xuất.

Chương 3 bao gồm các kết quả sau:

Thứ nhất, nghiên cứu đánh giá các hệ chất chuyển hóa hữu cơ trong trà hoa vàng bằng phương pháp sắc ký lỏng - khối phổ (LC-MS). Kết quả thu được dữ liệu chung của 131 chất chuyển hóa bằng cách sử dụng phân tích chuyển hóa hóa học có mục tiêu rộng rãi sử dụng sắc ký lỏng hiệu năng cao kết hợp với khối phổ. Hồ sơ chuyển hóa chủ yếu gồm 41 flavonoid và 32 axit amin, đại diện cho nhiều bộ khung aglycon khác nhau như flavan-3-ol, flavanone, flavone, flavonol, anthocyanin, aurone và chalcone. Ngoài ra, các chất chuyển hóa sơ cấp khác, bao gồm axit amin và các dẫn xuất của chúng, cũng được phát hiện và có khả năng góp phần tạo nên các đặc tính lý hóa cũng như hương vị của các sản phẩm trà Trà hoa vàng. Phân tích đa biến cho thấy sự phân tách rõ rệt giữa các mẫu sấy nhiệt và sấy đông khô, cũng như giữa lá non và lá trưởng thành trên biểu đồ điểm PLS-DA. Các hợp chất như catechin, epicatechin, L-glutamic acid, choline và một số flavonoid có hoạt tính sinh học thể hiện các xu hướng tích lũy khác nhau tùy theo loài và phương pháp xử lý nhiệt. Axit amin nhìn chung phong phú hơn trong lá non, trong khi flavonoid tích lũy ở mức cao hơn trong lá trưởng thành. Những kết quả này chứng minh rằng cả giai đoạn thu hoạch và phương pháp chế biến đều ảnh hưởng đáng kể đến

thành phần chuyển hóa, từ đó tác động đến các đặc tính cảm quan, dinh dưỡng và dược lý của nguyên liệu Trà hoa vàng.

Thứ hai, luận án làm rõ tiềm năng của sáu loài trà hoa vàng thông qua việc khảo sát sự hiện diện và hàm lượng của các thành phần hóa học trong hoa và lá. Kết quả phân tích GC-MS cho thấy có 42 chất chuyển hóa được xác định trong mẫu lá và 44 chất chuyển hóa trong mẫu hoa. Các nhóm hợp chất chiếm ưu thế bao gồm este, axit béo và terpenoid. Bên cạnh đó, nhiều hợp chất tự nhiên quý của các loài trà quý đặc hữu ở Việt Nam đã được phát hiện, như citral, dl- α -tocopherol, phytol và squalene. Các phân tích phân biệt như PLS-DA và PCA cho phép phân tách rõ ràng hồ sơ chất chuyển hóa dựa trên GC-MS giữa lá và hoa, cũng như giữa các loài và các bộ phận khác nhau. Kết quả này cung cấp công cụ hữu ích cho phân loại hóa học (chemotaxonomy) và kiểm soát chất lượng các nguyên liệu này.

Hồ sơ hóa học toàn diện thu được từ các kỹ thuật trên giúp làm rõ sự khác biệt đáng kể giữa lá và hoa. Hoa trà tích lũy nhiều flavonoid, axit amin và axit béo hơn, trong khi lá chứa hàm lượng terpen cao hơn, cho thấy các vật liệu này có thể sở hữu những đặc tính dược lý khác nhau. Quy trình nghiên cứu này có thể được áp dụng cho các loài *Camellia* khác và góp phần nâng cao giá trị sử dụng của những nguồn tài nguyên quý này cho mục đích chăm sóc sức khỏe.

Thứ 3, nghiên cứu về thành phần khoáng chất có trong các loài trà hoa vàng. Đây là nghiên cứu đầu tiên đánh giá và so sánh tổng thể các nguyên tố có trong 6 loài trà hoa vàng ở cả lá và hoa. Phân tích sử dụng phương pháp phá mẫu vi sóng kết hợp ICP-MS để định lượng toàn diện 23 nguyên tố trong trà hoa vàng. Phân tích các nguyên tố trong lá và hoa cho thấy hàm lượng nguyên tố trong lá cao hơn đáng kể. Trong các mẫu lá, các nguyên tố đa lượng (Na, Mg, K, Ca) chiếm tỷ lệ lớn nhất trong tổng hàm lượng nguyên tố. Canxi là nguyên tố phong phú nhất, dao động từ 0,0916 mg/g ở *C. tamdaoensis* đến 0,1963 mg/g ở *C. hakodae*, tương đương 0,916-1,963 mg trong 10 g lá khô. Hàm lượng kali thay đổi từ 0,0408 mg/g (*C. euphlebia*) đến 0,0883 mg/g (*C. phanii*). Trong nhóm vi lượng, Mn, Fe, Cu và Zn chiếm ưu thế và có mối liên hệ chặt chẽ với hoạt tính chống oxy hóa; Mn cao nhất ở *C. phanii* và *C. tienii*, trong khi Zn luôn cao hơn Cu ở tất cả các loài, với hàm lượng Zn cao nhất ở *C. tienii*. Các mẫu hoa cũng giàu khoáng chất thiết yếu, đặc biệt là kali (0,0498-0,0841 mg/g) và canxi (0,0330-0,0388 mg/g), trong đó *C. tamdaoensis* có hàm lượng hai nguyên tố này cao hơn rõ rệt. Mn, Fe, Zn và Cu là các vi lượng chiếm ưu thế trong hoa; Mn cao nhất ở *C. hakodae* và *C. tamdaoensis*, còn Zn cao nhất ở *C. phanii* và *C. euphlebia*. Nhìn chung, hàm lượng khoáng chất trong lá cao hơn đáng kể so với hoa.

Đáng chú ý, các kim loại nặng như Pb, As, Cd và Ag không được phát hiện hoặc nằm dưới ngưỡng cho phép, khẳng định tính an toàn của Trà hoa vàng đối với người sử dụng. Hồ sơ

nguyên tố, đặc biệt là hàm lượng kim loại, có thể được sử dụng như chỉ thị hữu ích để nhận diện nguyên liệu trong sản xuất trà Trà hoa vàng.

Thứ tư, đánh giá khả năng chống oxy hóa của sáu loài Trà hoa vàng đặc hữu của Việt Nam. Đây là công trình đầu tiên đánh giá một cách toàn diện khả năng chống oxy hóa ở cả lá và hoa của sáu loài này. Hoạt tính chống oxy hóa được xác định thông qua hai phép thử bắt gốc tự do DPPH và ABTS. Trong phép thử DPPH, tất cả các loài đều thể hiện khả năng chống oxy hóa mạnh, với giá trị IC_{50} dao động từ 5,21 đến 15,89 $\mu\text{g/mL}$, tương đương với axit ascorbic ($IC_{50} = 4,97 \mu\text{g/mL}$). Trong các mẫu lá, *C. hakodae* cho hoạt tính mạnh nhất ($IC_{50} = 5,21 \mu\text{g/mL}$), trong khi *C. petelotii* thể hiện hoạt tính yếu nhất. Dịch chiết từ hoa có hoạt tính chống oxy hóa tương tự lá, trong đó *C. tamdaoensis* cho hiệu quả mạnh nhất ($IC_{50} = 6,84 \mu\text{g/mL}$). Lá già luôn thể hiện hoạt tính cao hơn lá non, và các mẫu sấy nhiệt cho hoạt tính chống oxy hóa nhỉnh hơn so với các mẫu sấy đông khô. Bên cạnh đó, kết quả từ phép thử ABTS đã xác nhận các xu hướng này, với giá trị IC_{50} trong khoảng 6,91-17,50 $\mu\text{g/mL}$, tương đương với Trolox ($IC_{50} = 5,84 \mu\text{g/mL}$). Cả lá và hoa đều thể hiện hiệu quả chống oxy hóa tương đương nhau giữa các loài. Phân tích hóa thực vật cho thấy sự hiện diện phong phú của các hợp chất có hoạt tính chống oxy hóa như polyphenol, flavonoid, carotenoid, vitamin E, catechin, phytol và stigmasterol có trong trà hoa vàng.

Chương 4, phần Kết luận và kiến nghị đã trình bày những kết luận chính yếu về các nghiên cứu phân tích các chất hữu cơ, vô cơ và tác dụng chống oxy hóa của sáu loài trà hoa vàng thu hái tại Vĩnh Phúc và Quảng Ninh, Việt Nam. Các nội dung nghiên cứu cũng được đánh giá và so sánh với những công bố ở các nghiên cứu trước đây. Các loài trà hoa vàng này đều chứa các hợp chất tự nhiên, các khoáng chất có hoạt tính chống oxy hóa rất mạnh ở cả sáu loài nghiên cứu. Đây là một nghiên cứu đầu tiên tích hợp, đánh giá tổng thể các chất chuyển hóa trong 6 loài trà hoa vàng cả về hệ chất hữu cơ và các thành phần nguyên tố. Đã so sánh tác dụng chống oxy hóa của 6 loài trà hoa vàng đặc hữu tại Việt Nam.

Thực tế hoa chỉ ra theo mùa nhưng lá có quanh năm và giá thành của hoa rất đắt, trong khi đó hoạt chất và tác dụng lại gần tương đương ở cả lá và hoa trên cả sáu loài. Do vậy việc sử dụng lá trà hoa vàng sẽ là một lựa chọn thiết thực cho việc chăm sóc sức khỏe. Việc tiếp tục nghiên cứu về các loài trà hoa vàng khác để so sánh và đưa vào sử dụng phổ biến có ý nghĩa rất quan trọng trong việc chăm sóc sức khỏe cộng đồng. Tiến xa hơn nữa là tạo ra các sản phẩm tiện lợi như trà hòa tan, viên nang cứng và viên nang mềm sử dụng chiết xuất từ lá cây trà hoa vàng trên nhiều loài là rất cần thiết. Việc nghiên cứu về các loài trà hoa vàng cũng đóng vai trò quan trọng để bảo tồn và phát triển nguồn dược liệu quý của Việt Nam.