ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM

NGUYỄN THỊ HỒNG NGỌC

NGHIÊN CỨU CHIẾT SUẤT HOẠT CHẤT TỪ CÂY GAI XANH (*Boehmeria nivea* L.Gaud) VÀ ỨNG DỤNG TRONG SẢN XUẤT THỰC PHẨM BẢO VỆ SỨC KHỎE

LUẬN VĂN THẠC SĨ CÔNG NGHỆ SINH HỌC

Thái Nguyên – 2019

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu và Công nghệ thông tin – ĐHTN http://lrc.tnu.edu.vn

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM

NGUYỄN THỊ HỒNG NGỌC

NGHIÊN CỨU CHIẾT SUẤT HOẠT CHẤT TỪ CÂY GAI XANH (*Boehmeria nivea* L.Gaud) VÀ ỨNG DỤNG TRONG SẢN XUẤT THỰC PHẨM BẢO VỆ SỨC KHỎE

Chuyên ngành: Công nghệ sinh học
Mã số ngành: 84 20 201

LUẬN VĂN THẠC SĨ CÔNG NGHỆ SINH HỌC

Người hướng dẫn khoa học: TS. Trần Văn Chí

Thái Nguyên - 2019

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu và Công nghệ thông tin – ĐHTN http://lrc.tnu.edu.vn

LỜI CẢM ƠN

Trong quá trình học tập và hoàn thành luận văn tốt nghiệp, em đã nhận được sự giúp đỡ về nhiều mặt của các cấp lãnh đạo, các tập thể và các cá nhân.

Trước tiên, em xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành đến **TS.Trần Văn Chí** đã luôn tận tình hướng dẫn, giúp đỡ em trong suốt quá trình thực hiện và hoàn thành luận văn này.

Em xin bày tỏ lời cảm ơn đến **ThS. Lưu Hồng Sơn** cùng các cán bộ, các bạn sinh viên Khoa Công nghệ sinh học và công nghệ thực phẩm trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên đã tạo điều kiện thuận lợi cho em hoàn thành đề tài nghiên cứu này.

Em xin chân thành cảm ơn **ThS. Nguyễn Sinh Huỳnh**, chủ nhiệm đề tài "Nghiên cứu công nghệ chế biến một số sản phẩm từ cây gai xanh tại tỉnh Cao Bằng", của sở Khoa học và công nghệ tỉnh Cao Bằng năm 2018, giám đốc công ty cổ phần giống và chăn nuôi Cao Bằng đã giúp đỡ em trong quá trình thực tập và nghiên cứu, cũng như hỗ trợ kinh phí để thực hiện luận văn.

Cuối cùng em xin gửi lời cảm ơn chân thành và sâu sắc nhất tới gia đình, người thân và bạn bè đã động viên, giúp đỡ em trong suốt quá trình học tập và thực hiện đề tài.

Em xin chân thành cảm ơn!

Thái Nguyên, tháng 10 năm 2019

Học Viên

Nguyễn Thị Hồng Ngọc

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu và Công nghệ thông tin – ĐHTN http://lrc.tnu.edu.vn

MỤC LỤC

Trang
LỜI CẢM ƠN i
MỤC LỤC ii
DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT v
DANH MỤC BẢNG vi
DANH MỤC HÌNH vii
MỞ ĐẦU 1
1. Tính cấp thiết 1
1.1. Mục tiêu nghiên cứu 2
1.1.1. Mục tiêu chung 2
1.1.2. Mục tiêu cụ thể 2
1.2. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn 2
1.2.1. Ý nghĩa khoa học 2
1.2.2. Ý nghĩa thực tiễn 2
Chương 1 3
CƠ SỞ KHOA HỌC VÀ TỔNG QUAN TÀI LIỆU NGHIÊN CỨU 3
1.1. Cơ sở khoa học 3
1.1.1. Tổng quan về cây gai xanh 3
1.1.2. Các hoạt chất sinh học trong cây gai xanh và tính chất của chúng 5
1.1.3. Tổng quan về gốc tự do và các chất chống oxi hóa 6
1.1.4. Định nghĩa thực phẩm chức năng 7
1.1.5. Đặc điểm và tác dụng của thực phẩm chức năng 8
1.2. Tình hình nghiên cứu sản xuất và sử dụng cây gai xanh 8
1.2.1. Tình hình nghiên cứu sản xuất và sử dụng cây gai xanh tại Việt Nam 8
1.2.2. Tình hình nghiên cứu sản xuất và sử dụng cây gai xanh trên thế giới 9
Chương 2 12
ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU 12
2.1. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu 12
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu 12

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu và Công nghệ thông tin – ĐHTN http://lrc.tnu.edu.vn

2.1.2. Phạm vi nghiên cứu 12
2.1.2.1. Phạm vi nội dung 12
2.1.2.2. Phạm vi không gian nghiên cứu: 12
2.1.2.3. Vật liệu, hoá chất và thiết bị sử dụng 12
2.2. Nội dung nghiên cứu 13
2.3. Phương pháp nghiên cứu 13
2.3.1. Phân tích, thử nghiệm hoạt tính sinh học của một số hợp chất trong cây gai xanh 13
2.3.1.1. Xác định hàm lượng flavonoid tổng số bằng phương pháp cân 13
2.3.1.2. Phương pháp xác định hoạt động chống oxy hóa tế bào 14
2.3.2. Bố trí thí nghiệm tối ưu hóa quá trình chiết suất cao củ gai 15
2.3.3. Phương pháp thử khả năng kháng khuẩn 19
2.3.4. Nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất trà túi lọc và cao củ gai 19
2.3.4.1. Nghiên cứu, xây dựng quy trình công nghệ sản xuất trà túi lọc từ lá Gai .. 19
2.3.4.2. Nghiên cứu, xây dựng quy trình công nghệ sản xuất cao từ rễ (củ) Gai: ... 26
2.3.4.3. Phương pháp phân tích chỉ tiêu chất lượng các sản phẩm thu được 27
2.3.5. Phương pháp xử lý số liệu 28
Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU 29
3.1. Kết quả nghiên cứu một số hoạt chất sinh học trong dịch chiết lá và củ gai 29
3.1.1. Kết quả phân tích hoạt chất sinh học trong một số bộ phận cây gai xanh 29
3.1.2. Kết quả thử hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết lá gai 30
3.2. Kết quả tối ưu hóa quá trình chiết suất cao củ gai 32
3.2.1. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi chiết suất. 33
3.2.2. Ảnh hưởng của thời gian chiết suất. 33
3.2.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết suất 34
3.2.4. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi 35
3.2.5. Kết quả tối ưu các điều kiện chiết suất dịch củ gai. 36
3.2.6. Ảnh hưởng của nhiệt độ cô đặc đến chất lượng sản phẩm. 39
3.2.7. Kết quả phân tích hàm lượng flavonoid trong cao củ gai 39

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu và Công nghệ thông tin – ĐHTN http://lrc.tnu.edu.vn

3.3. Kết quả nghiên cứu khả năng kháng khuẩn của một số hoạt chất sinh học của cây gai xanh; 40
3.4. Kết quả nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất trà túi lọc và cao củ gai 42
3.4.1. Kết quả nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất trà túi lọc 42
3.4.1.1.Kết quả xác định thành phần hóa học của nguyên liệu..... 42
3.4.1.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố trong quá trình sản xuất43
3.4.1.3 Quy trình sản xuất 46
3.4.1.4. Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cho sản phẩm trà túi lọc từ lá gai 47
3.4.2. Kết quả nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất cao củ gai 48
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ 50
DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO......51
I. Tài liệu tiếng Việt: 51
II. Tài liệu tiếng Anh:.....51

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu và Công nghệ thông tin – ĐHTN http://lrc.tnu.edu.vn

DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

CT	: Công thức
IFIC	: Hiệp hội thông tin thực phẩm quốc tế
DPPH	: 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography - Sắc ký lỏng hiệu năng cao
LB	: Luria Bertani
ROS	: Reactive oxygen species - Gốc tự do oxy hóa
SSR	: Simple sequence repeat - Chuỗi lặp lại đơn giản

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu và Công nghệ thông tin – ĐHTN http://lrc.tnu.edu.vn

DANH MỤC BẢNG

Trang

Bảng 2.1. Bảng mã hóa các điều kiện tối ưu.....18
Bảng 2.2. Ma trận thực nghiệm Box- Behnken ba yếu tố và hàm lượng hoạt chất sinh học của cao củ gai.....18
Bảng 3.1. Bảng kết quả phân tích các hoạt chất sinh học trong một số bộ phận của cây gai xanh.....29
Bảng 3.2. Hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết được thể hiện qua giá trị IC_{50}....32
Bảng 3.3. Ảnh hưởng của nồng độ ethanol đến hàm lượng flavonoid 33
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của thời gian chiết đến hàm lượng flavonoid tổng số 34
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết đến hàm lượng flavonoid tổng số 34
Bảng 3.6. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/ dung môi đến hàm lượng flavonoid tổng số 35
Bảng 3.7: Ma trận thực nghiệm Box-Behken ba yếu tố chiết củ Gai 36
Bảng 3.8: Phân tích phương sai ANOVA của mô hình chiết suất từ củ Gai.....37
Bảng 3.9. Kết quả của ảnh hưởng của nhiệt độ cô đặc đến chất lượng sản phẩm..... *39*
Bảng 3.10. Kết quả phân tích hàm lượng flavonoid trong cao củ gai 40
Bảng 3.11. Đường kính vòng vô khuẩn của cao chiết lá gai kháng *E. coli*, *B. subtilis* và *S. aureus* 41
Bảng 3.12. Bảng kết quả phân tích một số chỉ tiêu từ lá và rễ của cây gai xanh.....42
Bảng 3.13. Kết quả đánh giá cảm quan nhiệt độ đến quá trình sấy 43
Bảng 3.14. Ảnh hưởng của thời gian sấy.....44
Bảng 3.15. Ảnh hưởng của kích thước nguyên liệu.....45
Bảng 3.16. Tỷ lệ nguyên liệu phụ bổ sung vào trong sản phẩm 45
Bảng 3.17. Kết quả đánh giá chất lượng sản phẩm.....47
Bảng 3.18. Kết quả đánh giá chỉ tiêu vi sinh vật 48

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu và Công nghệ thông tin – ĐHTN http://lrc.tnu.edu.vn

DANH MỤC HÌNH

Trang

Hình 1.1. Cây gai xanh và củ của cây gai xanh 3
Hình 2.1. Phản ứng khử gốc DPPH 14
Hình 3.1. Hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết lá gai 31
Hình 3.2. Hoạt tính chống oxy hóa của Acid ascorbic 31
Hình 3.3. Bề mặt đáp ứng hàm lượng flavonoid.....38
Hình 3.4. Hàm kỳ vọng và điều kiện tối ưu hàm lượng flavonoid trong dịch chiết .38
Hình 3.5. Kết quả khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của lá gai với vi khuẩn lần lượt A: *Escherichia coli*, B: *Bacillus subtilis*, C: *Staphylococcus. aureus* và D: Đối chứng dương Ampicillin, đối chứng âm nước cất. 40
Hình 3.6. Khả năng kháng khuẩn của cao củ gai đối với *Bacillus subtilis* và *Escherichia coli*.....42
Hình 3.7. Sơ đồ quy trình sản xuất trà túi lọc lá gai 46
Hình 3.8. Quy trình sản xuất cao củ gai.....48

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu và Công nghệ thông tin – ĐHTN http://lrc.tnu.edu.vn

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết

Cây gai xanh - *Boehmeria nivea* (L.) Gaud đã được sử dụng từ 5.000 - 3.300 trước công nguyên trong các loại vải xác ướp ở Ai Cập. Nó được trồng như một loại cây lấy sợi ở nhiều quốc gia bao gồm Trung Quốc, Nhật Bản, Thái Lan, Philippines, Ấn Độ và Hàn Quốc. Phần vỏ ngoài của thân cây gai xanh chứa hàm lượng chất xơ cao, khi thu hoạch chủ yếu đã và đang được sử đụng để sản suất vải sợi. Ngoài ra trong thành phần chất xơ này có hoạt chất với khả năng chống vi khuẩn, côn trùng tấn công và nấm mốc [12].

Ở Hàn Quốc đã có rất nhiều nghiên cứu về việc sử dụng cây gai xanh trong thực phẩm, chẳng hạn như nhiều loại bánh gạo truyền thống của Hàn Quốc [12]. Đặc biệt, phần lá của cây gai xanh rất giàu các yếu tố dinh dưỡng như khoáng chất, protein, vitamin, và nhiều chất hoạt tính sinh học khác nhau [18].

Trong thuốc thảo dược truyền thống của Trung Quốc đã sử dụng rễ của cây gai xanh để điều trị cảm lạnh thông thường, phù nề, sốt, nhiễm trùng đường tiết niệu, viêm thận và an thai rất tốt [12].

Những nghiên cứu trước đây đã tìm thấy các hợp chất quý có trong cây gai xanh như alkaloids, lignans, flavon, terpenoids và glycosides và axit behenic, axit ursolic, β- sitosterol, cholesterol, kiwiionoside, rutin, uracil, quercetin, α-amyrin, nonacosanol, emodin, emodin-8-O-β-glucoside, physcion, polydatin, catechin, epicatechin và epicatechin gallate [12].

Theo dược lý hiện đại, lá gai có chlorogenic acid, flavonoid rhoifolin, apogenin. Trong đó chlorogenic acid có tác dụng diệt nấm, vi khuẩn và chống oxy hóa mạnh gấp 10 lần vitamin E. Nó phong tỏa nhóm "tự do", ngăn chặn sự oxy hóa lipoprotein LDL, là khởi điểm của xơ động mạch để dẫn tới cao huyết áp và nhồi máu cơ tim.

Các báo cáo đã chỉ ra rằng các chất chiết xuất từ rễ cây gai xanh đã biểu hiện các hoạt động bảo vệ gan chống lại các tổn thương gan do CCl4 gây ra và các tác dụng chống oxy hóa trên FeCl2-ascorbate gây ra lipid peroxid hóa trong gan homogenate [12]. Trong nghiên cứu Xiaoning Wang và cs đã chỉ ra rằng chiết xuất