

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM**



NGUYỄN ĐÌNH HUY

**NGHIÊN CỨU TẠO PHỨC CHẤT
CHITOSAN - NANO BẠC KHÁNG VI SINH VẬT
GÂY HƯ HỎNG QUẢ SAU THU HOẠCH**

LUẬN VĂN THẠC SĨ CÔNG NGHỆ SINH HỌC

THÁI NGUYÊN, NĂM 2018

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM**



NGUYỄN ĐÌNH HUY

**NGHIÊN CỨU TẠO PHỨC CHẤT
CHITOSAN - NANO BẠC KHÁNG VI SINH VẬT
GÂY HƯ HỎNG QUẢ SAU THU HOẠCH**

**Ngành: Công nghệ sinh học
Mã số ngành: 8.42.02.01**

LUẬN VĂN THẠC SĨ CÔNG NGHỆ SINH HỌC

Người hướng dẫn khoa học: TS. NGUYỄN VĂN DUY

THÁI NGUYÊN, NĂM 2018

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 **T.S Nguyễn Văn Duy** 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 **Th.S Lương Hùng Tiến** cùng các cán bộ, giảng viên khoa công nghệ sinh học, 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.

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, ngày tháng năm 2018

Học Viên

Nguyễn Đình Huy

MỤC LỤC

LỜI CẢM ƠN	i
MỤC LỤC	ii
DANH MỤC CÁC CỤM TỪ VIẾT TẮT	v
DANH MỤC CÁC BẢNG.....	vi
DANH MỤC CÁC HÌNH.....	viii
CHƯƠNG 1. MỞ ĐẦU	1
1.1 Đặt vấn đề.....	1
1.2 Mục đích và yêu cầu	2
1.3. Ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn.....	2
CHƯƠNG 2. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
2.1. Tổng quan về Chitosan.....	3
2.1.1 Nguồn gốc của Chitin và chitosan	3
2.1.2. Cấu trúc hóa học của chitosan.....	4
2.1.3. Đặc tính kháng vi sinh vật của chitosan.....	5
2.1.4. Ứng dụng của chitosan.....	6
2.2. Tổng quan về nano bạc	10
2.2.1. Giới thiệu về công nghệ nano	10
2.2.2. Giới thiệu về bạc kim loại.....	11
2.2.3. Tổng quan về hạt nano bạc	12
2.2.4 Đặc tính và khả năng ức chế vi sinh vật của nano bạc	15
2.2.5. Ứng dụng của nano bạc trong đời sống	18
2.3 Một số vi sinh vật thường gây hư hỏng sản phẩm rau quả	19
2.3.1. Vi khuẩn <i>Bacillus cereus</i>	19
2.3.2. Đặc điểm của nấm men gây hại (nấm men <i>Pichia</i>).....	21
2.3.3. Đặc điểm của nấm mốc gây hại (nấm mốc <i>penicillium</i>)	23
2.4 Tình hình nghiên cứu trong nước và ngoài nước.....	24
2.4.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới.....	24
2.4.2. Tình hình nghiên cứu trong nước.....	25

CHƯƠNG 3. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	27
3.1 Đối tượng, phạm vi và vật liệu nghiên cứu.....	27
3.1.1. Đối tượng nghiên cứu.....	27
3.1.2 Phạm vi nghiên cứu.....	27
3.1.3 Vật liệu nghiên cứu	27
3.2 Địa điểm và thời gian nghiên cứu	29
3.3 Nội dung nghiên cứu	29
3.4 Phương pháp nghiên cứu.....	30
3.4.1. Thí nghiệm 1: Xác định hoạt tính kháng một số vi sinh vật gây hư hỏng quả của chitosan.	30
3.4.1.1 Đánh giá khả năng kháng vi khuẩn <i>Bacillus cereus</i> của Chitosan	30
3.4.1.2 Đánh giá khả năng kháng nấm mốc <i>penicillium</i> của chitosan.....	31
3.4.2. Thí nghiệm 2: Đánh giá khả năng kháng một số vi sinh vật gây hư hỏng quả của nano bạc	33
3.4.3 Thí nghiệm 3: Đánh giá khả năng ức chế của phức hợp chitosan - nano bạc đối với một số vi sinh vật gây hư hỏng quả.....	36
3.4.4 Thí nghiệm 4: Đánh giá thử nghiệm phức chất chitosan - nano bạc trong bảo quản một số loại quả (vải thiều, bưởi...)	38
3.4.5. Phương pháp theo dõi	41
3.5.6. Phương pháp xử lý số liệu.....	43
CHƯƠNG 4. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN	44
4.1. Kết quả nghiên cứu khả năng kháng vi sinh vật của Chitosan, nano bạc.....	44
4.1.1. Kết quả nghiên cứu khả năng kháng vi sinh vật của Chitosan	44
4.1.2. Kết quả nghiên cứu khả năng kháng vi sinh vật của Nano bạc	48
4.2. Kết quả nghiên cứu khả năng ức chế của phức chất Chitosan-Nano bạc đối với một số vi sinh vật gây hư hỏng quả.....	53
4.2.1. Xác định khả năng ức chế vi khuẩn <i>Bacillus cereus</i> của phức chất chitosan-nano bạc.....	53

4.2.2. Xác định khả năng ức chế nấm men <i>Pichia</i> của phức chất chitosan-nano bạc.....	54
4.2.3. Xác định khả năng kháng nấm mốc <i>Penicillium digitatum</i> của phức chất chitosan/nano bạc	56
4.3. Kết quả đánh giá thử nghiệm phức chất chitosan - nano bạc trong bảo quản vải thiều	58
4.3.1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của các chế độ tiền xử lý tới vải sau 4 ngày bảo quản	58
4.3.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ chế phẩm (chitosan và nano bạc) tới quá trình bảo quản vải	60
4.3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ tới thời gian bảo quản vải.	62
4.4. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ chế phẩm (chitosan và nano bạc) tới quá trình bảo quản bưởi	63
4.4.1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của các chế độ tiền xử lý tới quá trình bảo quản bưởi	63
4.4.2. Ảnh hưởng của nồng độ chế phẩm tới hàm lượng chất khô tổng số trong quá trình bảo quản bưởi.....	67
4.4.3 Ảnh hưởng của nồng độ chế phẩm tới hàm lượng axit hữu cơ tổng số trong quá trình bảo quản bưởi	67
4.4.4 Ảnh hưởng của nồng độ chế phẩm chitosan và nano bạc tới sự biến đổi về màu sắc của vỏ quả bưởi trong quá trình bảo quản.....	68
4.4.5 Kết quả nghiên cứu theo dõi ảnh hưởng của chế phẩm chitosan và nano bạc tới bảo quản các giống bưởi khác nhau	71
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	72
TÀI LIỆU THAM KHẢO	74

DANH MỤC CÁC CỤM TỪ VIẾT TẮT

VSV	:	Vi sinh vật
CT	:	Công thức
CD	:	Chế độ
ĐC	:	Đối chứng

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 2.1:	Hàm lượng chitin có trong một số động vật giáp xác	4
Bảng 2.2:	Số nguyên tử bạc trong một đơn vị thể tích	11
Bảng 2.3:	Số nguyên tử và năng lượng bề mặt của hạt nano bạc.....	15
Bảng 3.1.	Các thiết bị, dụng cụ chính sử dụng trong nghiên cứu.....	28
Bảng 3.2:	Nồng độ dung dịch nano bạc pha loãng	33
Bảng 3.3:	Phương pháp phối hợp chitosan/nano bạc.....	37
Bảng 4.1:	Hiệu quả kháng vi khuẩn của các nồng độ chitosan	44
Bảng 4.2.	Ảnh hưởng của nồng độ chitosan đến khả năng sinh trưởng của một số loại nấm men gây hư hỏng quả.....	46
Bảng 4.3.	Ảnh hưởng của nồng độ chitosan đến hoạt tính kháng nấm mốc <i>Penicillium digitatum</i>	47
Bảng 4.4:	Kết quả kháng <i>Bacillus cereus</i> của các nồng độ nano bạc	49
Bảng 4.6:	Ảnh hưởng của nồng độ nano bạc đến khả năng kháng nấm men	50
Bảng 4.7.	Ảnh hưởng của nồng độ nano bạc đến hoạt tính kháng nấm mốc <i>Penicillium digitatum</i>	51
Bảng 4.8:	Hiệu quả kháng vi khuẩn <i>B.cereus</i> của chế phẩm chitosan - nano bạc.....	53
Bảng 4.9:	Kết quả kháng nấm men <i>Pichia</i> của phức chất chitosan và nano bạc.....	54
Bảng 4.10.	Ảnh hưởng của chế phẩm phối hợp Chitosan - Nano bạc ở các tỉ lệ phối trộn khác nhau đến hoạt tính kháng nấm mốc <i>Penicillium digitatum</i>	56
Bảng 4.11:	Sự biến đổi các thành phần của vải ở các chế độ tiền xử lý khác nhau.....	58

Bảng 4.12:	Sự biến đổi các thành phần của vải ở các nồng độ chế phẩm (chitosan và nano bạc) khác nhau.....	60
Bảng 4.13.	Sự thay đổi chỉ số L, a, b của các nồng độ chế phẩm chitosan và nano bạc trong quá trình bảo quản vải	61
Bảng 4.14:	Ảnh hưởng của nhiệt độ tới chất lượng vải sau 7 ngày bảo quản	62
Bảng 4.15.	Sự biến đổi chất khô tổng số của bươi ở các chế độ tiền xử lý khác nhau.....	64
Bảng 4.16:	Sự biến đổi của hàm lượng axit hữu cơ tổng số ở các chế độ tiền xử lý khác nhau trong quá trình bảo quản bươi	65
Bảng 4.17:	Tỷ lệ hư hỏng của các chế độ tiền xử lý khác nhau tới quá trình bảo quản bươi.....	66
Bảng 4.18:	Sự thay đổi của các nồng độ chế phẩm chitosan và nano bạc tới hàm lượng chất khô tổng số trong quá trình bảo quản bươi.....	67
Bảng 4.19.	Sự thay đổi hàm lượng axit hữu cơ tổng số của các nồng độ chế phẩm chitosan và nano bạc trong quá trình bảo quản bươi	68
Bảng 4.20.	Sự thay đổi chỉ số L của các nồng độ chế phẩm chitosan và nano bạc trong quá trình bảo quản bươi.....	68
Bảng 4.21:	Sự thay đổi chỉ số a của các nồng độ chế phẩm chitosan và nano bạc trong quá trình bảo quản bươi.....	69
Bảng 4.22:	Sự thay đổi chỉ số b của các nồng độ chế phẩm chitosan và nano bạc trong quá trình bảo quản bươi.....	70
Bảng 4.23:	Tỷ lệ hư hỏng của các giống bươi khác nhau trong quá trình bảo quản.....	71

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 2.1a.	Cấu trúc hóa học của Chitin.....	4
Hình 2.1b.	Cấu trúc hóa học của Chitosan.....	5
Hình 2.2.	Hiện tượng cộng hưởng plasmon của hình cầu [41].....	13
Hình 2.3:	Ion bạc vô hiệu hóa enzym chuyển hóa oxy của vi khuẩn	16
Hình 2.4:	<i>Bacillus cereus</i> trên kính hiển vi.....	20
Hình 3.1:	Phương pháp đánh giá hoạt tính của chitosan.....	31
Hình 3.2:	Sơ đồ phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu của chitosan Thuyết minh quy trình.....	32
Hình 3.3:	Phương pháp đánh giá hoạt tính kháng vi khuẩn <i>Bacillus cereus</i> của nano bạc	34
Hình 3.4.	Phương pháp đánh giá khả năng kháng nấm men <i>Pichia</i> của nano bạc.....	35
Hình 3.5:	Sơ đồ phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu của nano bạc	36
Hình 3.6:	Phương pháp đánh giá hoạt tính kháng vi sinh vật của phức hợp chitosan - nano bạc.....	38
Hình 4.1:	Khả năng kháng <i>St.aureus</i> (c) và <i>B.cereus</i> (d) của chitosan ở các nồng độ khác nhau	45
Hình 4.2:	Ảnh hưởng của các nồng độ Chitosan đến sự phát triển của một số loại nấm men: A - Nấm men <i>Pichia</i> , B - Nấm men <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	46
Hình 4.3.	Ảnh hưởng của nồng độ chitosan đến hoạt tính kháng nấm mốc <i>Penicillium digitatum</i>	48
Hình 4.4:	Hình ảnh kháng <i>Bacillus cereus</i> của các nồng độ nano bạc khác nhau.	49
Hình 4.5:	Hình ảnh đối kháng của nano bạc với nấm men trên đĩa thạch	50