

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM  
VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT**

**NGUYỄN THỊ THANH NGA**

**NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG CHẾ PHẨM NANO CHITOSAN  
TINH DẦU NGHỆ TRONG QUÁ TRÌNH BẢO QUẢN QUẢ CAM**

Chuyên ngành : Vi sinh vật học

Mã số : 60 42 01 03

**LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC**

**Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. PHẠM VIỆT CƯỜNG**

*Hà Nội – Năm 2014*

## LỜI CẢM ƠN

Để có thể hoàn thành luận văn thạc sĩ một cách hoàn chỉnh, bên cạnh sự nỗ lực cố gắng của bản thân còn có sự hướng dẫn nhiệt tình của quý Thầy Cô, cũng như sự động viên ủng hộ của gia đình và bạn bè trong suốt thời gian học tập nghiên cứu và thực hiện luận văn thạc sĩ.

Xin chân thành bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến PGS.TS. Phạm Việt Cường – Phòng Công nghệ Sinh học – Viện Hóa sinh biển, người đã hết lòng giúp đỡ và tạo mọi điều kiện tốt nhất cho tôi hoàn thành luận văn này.

Đồng thời, tôi xin được gửi lời cảm ơn tới PGS.TS. Nguyễn Thị Kim Cúc, ThS. Trần Thị Kim Dung cùng các anh chị em trong phòng Công nghệ sinh học - Viện Hóa sinh Biển đã tận tình giúp đỡ tôi trong quá trình nghiên cứu để hoàn thành đề tài luận văn.

Xin chân thành biết ơn đến toàn thể quý Thầy Cô trong bộ môn Vi sinh vật học đã tận tình truyền đạt những kiến thức quý báu cũng như tạo mọi điều kiện thuận lợi nhất cho tôi trong suốt quá trình học tập nghiên cứu và cho đến khi thực hiện đề tài luận văn.

Cuối cùng xin chân thành bày tỏ lòng biết ơn đến gia đình, bạn bè, những người đã không ngừng động viên, hỗ trợ và tạo mọi điều kiện tốt nhất cho tôi trong suốt thời gian học tập và thực hiện luận văn.

*Hà Nội, Ngày 30 tháng 09 năm 2014*

**Học viên**

**Nguyễn Thị Thanh Nga**

## MỤC LỤC

LỜI CẢM ƠN .....	1
MỞ ĐẦU .....	4
PHẦN I: TỔNG QUAN .....	6
1.1. Nano chitosan .....	6
1.1.1. Chitosan .....	6
1.1.2. Phương pháp điều chế nanochitosan từ chitosan .....	7
1.1.3. Hoạt tính đối kháng vi sinh vật của chitosan .....	10
1.1.4. Ứng dụng nano chitosan .....	11
1.2. Tinh dầu nghệ .....	12
1.2.1. Giới thiệu chung về nghệ .....	12
1.2.2. Thành phần hóa học .....	13
1.2.3. Hoạt tính sinh học của tinh dầu nghệ .....	15
1.2.4. Phương thức kháng khuẩn của tinh dầu .....	18
1.3. Cây Cam .....	20
1.3.1. Giới thiệu về cây Cam .....	20
1.3.2. Giá trị dinh dưỡng trong 100g quả Cam .....	22
1.3.3. Vi sinh vật gây hỏng quả Cam .....	22
1.3.4. Biện pháp bảo quản rau hoa quả tươi sau thu hoạch .....	25
1.4. Những nghiên cứu trong nước và thế giới về quá trình bảo quản Cam .....	27
1.4.1. Trên thế giới .....	27
1.4.2. Trong nước .....	29
PHẦN II: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....	31
2.1. Nguyên vật liệu .....	31
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu .....	31
2.1.2. Hóa chất sử dụng .....	32

Số hóa bởi trung tâm Học liệu– ĐHTN <http://www.lrc.tnu.edu.vn>

2.1.3. Thiết bị, dụng cụ sử dụng trong nghiên cứu.....	32
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	33
2.2.1. Đánh giá hoạt tính kháng nấm mốc của chế phẩm nano chitosan kết hợp với tinh dầu nghệ. ....	33
2.2.2. Nghiên cứu sử dụng chế phẩm nano chitosan – tinh dầu nghệ để xử lý Cam trước thu hoạch.....	34
2.2.3. Nghiên cứu sử dụng chế phẩm nanochitosan - tinh dầu nghệ trong quá trình bảo quản cam sau khi thu hoạch.....	35
<b>PHẦN III: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN .....</b>	<b>38</b>
3.1. Đánh giá khả năng đối kháng nấm mốc gây hỏng quả của chế phẩm nano chitosan với tinh dầu nghệ in vitro.....	38
3.2. Nghiên cứu sử dụng chế phẩm nano chitosan - tinh dầu nghệ xử lý Cam trước thu hoạch. ....	41
3.3. Nghiên cứu sử dụng chế phẩm nano chitosan – tinh dầu nghệ để bảo quản Cam sau thu hoạch.....	46
<b>PHẦN IV: KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ .....</b>	<b>55</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO .....</b>	<b>56</b>
<b>PHỤ LỤC: HÌNH ẢNH CAM THÍ NGHIỆM TRƯỚC THU HOẠCH. ....</b>	<b>64</b>

## DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CHỮ VIẾT TẮT.

ĐC	: Đối chứng.
NCS – TDN	: Nano chitosan kết hợp với tinh dầu nghệ.
NC	: Nanochitosan
TDN	: Tinh dầu nghệ
TD	: Tinh dầu
CS	: Chitosan
CT	: Công thức
CS1	: Chín sớm 1
ĐBSCL	: Đồng bằng sông cửu long
MIC	: Nồng độ ức chế nấm tối thiểu
MFC	: Nồng độ tiêu diệt nấm tối thiểu
BVTV	: Bảo vệ thực vật
Cz	: Czapek – dok
ĐTG	: Độ thường gặp
CV%	: Sai số tương quan (CV% của thí nghiệm trong phòng phải < 5%, còn thí nghiệm ngoài đồng CV phải < 10%).

## DANH MỤC CÁC BẢNG

<b>Bảng 1.1: Giá trị dinh dưỡng trong 100 g quả Cam) [58].....</b>	<b>22</b>
<b>Bảng 3.1: Khả năng kháng nấm của các chế phẩm .....</b>	<b>39</b>
<b>Bảng 3.2: Một số chỉ tiêu sinh trưởng của cây Cam CS1.....</b>	<b>42</b>
<b>Bảng 3.3: Ảnh hưởng của việc phun NCS-TDN lên năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất của cam CS1.....</b>	<b>43</b>
<b>Bảng 3.4: Ảnh hưởng của việc phun NCS-TDN lên chất lượng quả Cam CS1 .....</b>	<b>44</b>
<b>Bảng 3.5: Ảnh hưởng của việc phun NCS-TDN lên thành phần sâu bệnh hại chính trên Cam CS1 .....</b>	<b>45</b>
<b>Bảng 3.6: Một số chỉ tiêu chất lượng đặc trưng của quả Cam CS1 .....</b>	<b>46</b>
<b>Bảng 3.7: Ảnh hưởng thời gian bảo quản lên cam chín sớm CS1.....</b>	<b>48</b>
<b>Bảng 3.8: Tỷ lệ quả bị hư hỏng, thối mốc trong quá trình bảo quản, (%) .....</b>	<b>49</b>
<b>Bảng 3.9: Sự biến đổi chất lượng cảm quan của Cam CS1 trong quá trình bảo quản.....</b>	<b>51</b>
<b>Bảng 3.10: Sự biến đổi tỷ lệ nhân vỏ cam CS1 trong quá trình tồn trữ (%) .....</b>	<b>52</b>

## DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ

<b>Hình 1.1: Cấu trúc hóa học của chitosan được điều chế từ chitin. ....</b>	<b>6</b>
<b>Hình 1.2: Hình thái cây nghệ .....</b>	<b>13</b>
<b>Hình 1.3: Cấu trúc của các hợp chất curcumin trong nghệ.....</b>	<b>14</b>
<b>Hình 1.4: Cấu trúc của một số hợp chất trong tinh dầu nghệ .....</b>	<b>14</b>
<b>Hình 1.5: Vị trí và các cơ chế trong tế bào vi khuẩn được cho là điểm hoạt tính của tinh dầu:.....</b>	<b>18</b>
<b>Hình 1.6: Hình thái <i>Fusarium oxysporum</i>.....</b>	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>Hình 1.7: Hình thái nấm <i>Aspergillus awamori</i> Nakazawa: .....</b>	<b>24</b>
<b>Hình 1.8: Hình thái của <i>Penicillium italicum</i>.....</b>	<b>24</b>
<b>Hình 1.9: Sự phát triển của <i>Penicillium italicum</i> trên môi trường Czapek có bổ sung chế phẩm ở các nồng độ khác nhau: (a) môi trường không có chế phẩm, (b) môi trường có bổ sung kháng sinh Miconazole 20 µg/ml, (c) môi trường có bổ sung Chitosan 100 µg/ml, (d) môi trường có bổ sung Tinh dầu nghệ 100 µg/ml, (e) môi trường có bổ sung Nanochitosan 100 µg/ml, (f) môi trường có bổ sung Nanochitosan - tinh dầu 100 µg/ml. ....</b>	<b>65</b>

## MỞ ĐẦU

Tinh dầu nghệ được biết đến như là một chất có khả năng chống oxy hóa và có tính đối kháng vi sinh vật tốt, nhất là ức chế các vi sinh vật có khả năng gây hỏng quả. Trong khi chitosan là một loại polymer carbohydrate tự nhiên được tạo ra bằng cách deacetyl hóa chitin, có thể tìm thấy trong nhiều loài động vật giáp xác, côn trùng và một vài loại nấm. Với nhiều tính năng như tính tương thích sinh học, phân hủy sinh học, bám dính màng và không độc hại nên hiện nay nó trở thành nguyên liệu cho nhiều ứng dụng trong dược sinh học và thực phẩm chức năng. Vì những tính chất ưu việt của nó mà trong những năm gần đây, chitosan đã được nghiên cứu sử dụng để tạo ra các hạt nano chitosan. Cùng với tinh dầu nghệ, nano chitosan là chất có khả năng kháng nấm và vi khuẩn mạnh.

Tinh dầu nghệ còn là một sản phẩm phụ của quá trình tách chiết curcumin nên việc tận dụng tinh dầu nghệ để tạo hạt nanochitosan tinh dầu nghệ dùng để bảo quản trái cây sau thu hoạch không những mở ra hướng mới trong lĩnh vực bảo quản mà còn có giá trị về mặt kinh tế.

Quả tươi và rau rất dễ bị hỏng và mất cảm đối với các bệnh sau thu hoạch, hạn chế thời gian bảo quản và đưa chúng ra thị trường. Ngoài ra, hư hỏng sau thu hoạch gây thất thu kinh tế đáng kể trên toàn thế giới. Như đã biết, các loại thuốc diệt nấm tổng hợp được sử dụng từ lâu như phương thức chính để kiểm soát các bệnh sau thu hoạch. Nhưng hiện người ta lo ngại về ảnh hưởng của các chất này đến sức khỏe người tiêu dùng cũng như sự xuất hiện của các nguồn bệnh kháng thuốc. Vì vậy cần có các biện pháp thay thế để kiểm soát nguồn bệnh sau thu hoạch có hiệu quả, dư lượng thấp, ít độc hoặc không độc đối với cơ thể và môi trường.



Trong sản phẩm rau hoa quả của Việt Nam, quả Cam đang chiếm vị trí quan trọng trong xuất khẩu, mang lại hiệu quả kinh tế cao. Nên việc sử dụng các chất hoạt tính sinh học tự nhiên để bảo quản rau quả đang thu hút được nhiều sự quan tâm và chú ý.

Vì vậy chúng tôi đã tiến hành thực hiện đề tài “***Nghiên cứu sử dụng chế phẩm Nano Chitosan- Tinh dầu Nghệ trong quá trình bảo quản quả Cam***” với hy vọng đóng góp thêm phương pháp bảo quản rau hoa quả mới vừa an toàn vừa hiệu quả.

***Mục tiêu của đề tài:***

- Thử nghiệm *in vitro* chế phẩm nano chitosan và tinh dầu nghệ với vi sinh vật gây hỏng quả Cam.
- Thử nghiệm chế phẩm nano chitosan và tinh dầu nghệ trên quả để kéo dài thời gian bảo quản Cam, đảm bảo Cam còn tươi, không bị vi sinh vật làm hỏng quả.

***Nội dung nghiên cứu:***

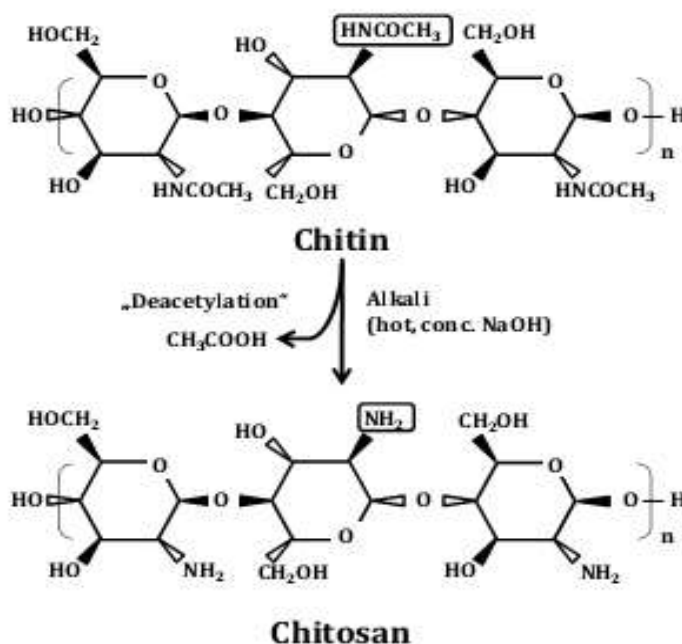
- Đánh giá hoạt tính kháng nấm gây hỏng quả của chế phẩm nano chitosan kết hợp với tinh dầu nghệ.
- Nghiên cứu sử dụng chế phẩm nanochitosan - tinh dầu nghệ để xử lý Cam trước khi thu hoạch.
- Nghiên cứu sử dụng chế phẩm nanochitosan - tinh dầu nghệ để bảo quản Cam sau khi thu hoạch.

## PHẦN I: TỔNG QUAN

### 1.1. Nano chitosan

#### 1.1.1. Chitosan

Chitosan, được phát hiện bởi Rouget vào năm 1859 [55], là một loại polymer polysaccharide sinh học quan trọng. Về mặt hóa học, đó là một phân tử có trọng lượng phân tử cao, polycationic gồm hai monosaccharides, N-acetyl-D-glucosamine và D-glucosamine, liên kết với nhau bởi cầu nối  $\beta$ -(1  $\rightarrow$  4) glycosidic (Hình 1.1). Hàm lượng tương đối của hai monosaccharides trong chitosan có thể khác nhau, phụ thuộc vào mức độ deacetyl hóa (75-95%), khối lượng phân tử (50-2.000 kDa), độ nhớt, giá trị pKa, v.v... [23]. Do đó, chitosan không thể được định nghĩa là một hợp chất duy nhất, nó chỉ đơn thuần là họ của các copolymer với các phân số khác nhau của các đơn vị acetyl.



**Hình 1.1: Cấu trúc hóa học của chitosan được điều chế từ chitin. Chitosan liên kết (1 $\rightarrow$ 4) 2- amino-2-deoxy- $\beta$ -D-glucan, được điều chế từ chitin qua quá trình thủy phân nhóm N-acetyl- bằng kiềm.**