



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



2-0002671

(51)⁷ **A61L 2400/12; A61K 33/38**

(13) **Y**

(21) 2-2021-00214

(22) 15/03/2019

(67) 1-2019-01324

(45) 25/07/2021 400

(43) 25/11/2019 380A

(73) **VIỆN KHOA HỌC VẬT LIỆU - VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ
VIỆT NAM (VN)**

Nhà A2, 18 Hoàng Quốc Việt, quận Cầu Giấy, thành phố Hà Nội

(72) **HÀ PHƯƠNG THƯ (VN); PHAN KẾ SƠN (VN).**

(54) **PHƯƠNG PHÁP CHẾ TẠO VẬT LIỆU KHÁNG SINH NANO DOXYCYCLIN**

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp chế tạo vật liệu kháng sinh nano doxycyclin, trong đó phương pháp này bao gồm các bước: (i) phân tán TiO_2 vào nước cất, rung siêu âm trong 15 phút; (ii) hòa tan một lượng dư NaBH_4 trong nước cất, sau đó nhỏ từ từ vào hỗn dịch TiO_2 thu được ở bước (i); (iii) hòa tan AgNO_3 vào nước cất, với tỉ lệ $\text{TiO}_2:\text{AgNO}_3$ là 10:1 (khối lượng/khối lượng), sau đó nhỏ từ từ vào hỗn hợp thu được ở bước (ii), khuấy đều trong 30 phút, duy trì ở nhiệt độ 10°C ; (iv) phân tán doxycyclin trong nước cất có chứa triethylamin (0,3% thể tích/thể tích), với tỉ lệ $\text{TiO}_2:\text{doxycyclin}$ là 1:2 (khối lượng/khối lượng), khuấy đều trong 15 phút đến khi phân tán hoàn toàn; (v) nhỏ từ từ hỗn dịch thu được ở bước (iv) vào hỗn hợp thu được ở bước (iii); và (vi) hòa tan alginat trong nước cất với tỉ lệ $\text{TiO}_2:\text{alginat}$ là 1:1 (khối lượng/khối lượng), sau đó nhỏ từ từ vào hỗn hợp thu được ở bước (v), hỗn hợp sau cùng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ để hệ đạt độ ổn định tối đa, thu được sản phẩm kháng sinh nano doxycyclin ở dạng dung dịch màu nâu, trong đó các tiểu phân nano có dạng hình cầu, kích thước nằm trong khoảng 50-70 nm. Trong đó, những hạt nano Ag với kích thước khoảng 10 nm phân bố trên bề mặt hạt nano TiO_2 . Vật liệu kháng sinh nano doxycyclin thu được theo sáng chế có khả năng làm tăng tính hiệu quả của thuốc, giảm liều kháng sinh cần sử dụng, giảm lượng kháng sinh tồn dư trong nông sản và hạn chế lượng thải ra ngoài môi trường, góp phần làm tăng chất lượng môi trường thủy sản. Điều này rất có ý nghĩa trước nhiều thách thức và khó khăn trong nuôi trồng thủy sản hiện nay.

BẰNG ĐỘC QUYỀN GIẢI PHÁP HỮU ÍCH SỐ: 2671

Danh sách các Tác giả tiếp theo:

2. PHAN KẾ SƠN (VN)

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phương pháp chế tạo vật liệu kháng sinh nano doxycyclin.

Tình trạng kỹ thuật sáng chế

Hiện nay, nuôi trồng thủy sản được coi là ngành kinh tế mũi nhọn của nhiều quốc gia, trong đó có Việt Nam. Nuôi trồng thủy sản đóng vai trò quan trọng không chỉ đối với việc gia tăng sản lượng thủy sản, cung cấp nguyên liệu cho các ngành công nghiệp, mang lại nguồn thu cho quốc gia, cải thiện đời sống mà còn giúp tái tạo và bảo vệ nguồn gen, môi trường sinh thái.

Trong nuôi trồng thủy sản, người ta sử dụng nhiều loại thuốc, hóa chất khác nhau để sát trùng, phòng trị bệnh cho động vật thủy sản, có thể kể đến một số nhóm thuốc như: thuốc sát trùng, thuốc trừ dịch hại, thuốc diệt tảo, thuốc diệt kí sinh trùng, thuốc kháng sinh, v.v.. Kháng sinh – một loại hoạt chất được xem là có phổ tác dụng chọn lọc hơn đang được dùng phổ biến trong nuôi trồng thủy sản để phòng và trị các bệnh do vi khuẩn. Hiện nay sự phát triển của các hoạt động nuôi trồng thủy sản tập trung đã dẫn đến sự gia tăng của một số bệnh do vi khuẩn, do đó nhu cầu sử dụng kháng sinh ngày càng tăng. Doxycyclin cũng là một loại kháng sinh được ưa chuộng sử dụng trong chữa trị các bệnh trên cả người và động vật và được xem là kháng sinh có công dụng mạnh nhất trong nhóm tetracyclin với phổ ứng dụng rộng kháng lại nhiều chủng vi khuẩn. Doxycyclin là kháng sinh phổ rộng, có tác dụng kìm khuẩn. Thuốc ức chế vi khuẩn tổng hợp protein do gắn vào tiểu đơn vị 30S và có thể cả với 50S của ribosome vi khuẩn nhạy cảm; thuốc cũng có thể gây thay đổi ở màng bào tương. Doxycyclin có phạm vi kháng khuẩn rộng với vi khuẩn ưa khí và kỵ khí Gram dương và Gram âm, và cả với một số vi sinh vật kháng thuốc tác dụng với thành

tế bào, như *Rickettsia*, *Coxiella burnetii*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia* spp., *Legionella* spp., *Ureaplasma*, một số *Mycobacterium* không điển hình, và *Plasmodium* spp..

Tại các trang trại nuôi trồng thủy sản, thuốc kháng sinh không chỉ được sử dụng để điều trị các bệnh nhiễm khuẩn mà còn được dùng với mục đích kích thích tăng trưởng và phòng bệnh trên tôm, cá khỏe mạnh. Chính việc sử dụng tràn lan, không đúng mục đích của thuốc đã dẫn tới hiện tượng kháng thuốc nghiêm trọng và cả tình trạng dư lượng kháng sinh. Các hóa chất và thuốc dùng trong nuôi trồng thủy sản không chỉ tác dụng trên những sinh vật gây hại mà còn ảnh hưởng đến cả những sinh vật khác trong môi trường sống hoặc vùng nước thải từ trang trại nuôi trồng thủy sản. Một lượng kháng sinh không nhỏ có thể bị đào thải ra môi trường qua nước thải từ ao, bể dùng thuốc, từ lượng thức ăn dư thừa hay từ phân của cá, tôm và từ đó ảnh hưởng lên môi trường.

Một tác động đặc biệt quan trọng của việc dùng kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản đó là các dư lượng thuốc còn lại được pha loãng trong nguồn nước thải đã kích thích sự hình thành các chủng vi khuẩn kháng thuốc. Đây là nguy cơ rất lớn của việc dùng kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản, đặc biệt là dùng kháng sinh để phòng bệnh cho tôm cá với nồng độ thấp. Vi khuẩn kháng thuốc thường xuất hiện ở khu vực xung quanh các trang trại, tại đó vi khuẩn tiếp xúc với nồng độ kháng sinh thấp, không đủ để tiêu diệt toàn bộ vi khuẩn mà chỉ diệt một phần, do đó tạo điều kiện cho các vi khuẩn đột biến tồn tại và phát triển thành vi khuẩn kháng thuốc.

Vi khuẩn kháng thuốc đang là một vấn đề cực kì nghiêm trọng trong cả nuôi trồng thủy sản và đối với con người. Các nghiên cứu cho thấy, vi khuẩn kháng thuốc ngoài cơ chế tự hình thành đột biến đề kháng kháng sinh còn có thể chuyển cho nhau gen kháng thuốc, cùng loài hay khác loài.

Sự ra đời của công nghệ nano mở ra những cơ hội mới, đầy tiềm năng cho nhiều lĩnh vực ứng dụng khoa học và công nghệ, trong đó bao gồm nuôi trồng thủy sản. Vật liệu nano có kích thước từ một đến vài trăm nanomet với những ưu điểm vượt trội hơn so với vật liệu khối như là: nhẹ hơn, khỏe hơn, thông minh hơn, rẻ hơn, sạch hơn và bền hơn. Chính vì thế, ngoài các ứng dụng trong công nghiệp và điện tử, một số ứng dụng tiềm năng của nano có thể kể đến như: ứng dụng trong thực phẩm và nông nghiệp tạo ra các sản phẩm rẻ, an toàn; trong lĩnh vực y tế, vật liệu nano được sử dụng để chẩn đoán và điều trị ung thư. Đặc biệt, công nghệ nano giúp phát hiện và xử lý ô nhiễm môi trường, nâng cao hiệu quả những kháng sinh hiện tại cũng như ngăn chặn sự kháng thuốc trong nuôi trồng thủy sản, tạo điều kiện cho thủy sản sinh trưởng và phát triển tốt.

Thực trạng này dẫn đến nhu cầu cấp thiết phải sử dụng công nghệ mới để có thể tăng cường hiệu quả điều trị của thuốc, nhờ đó giảm liều lượng sử dụng, giảm dư lượng kháng sinh, giảm kháng thuốc. Một trong những công nghệ đang được nghiên cứu rộng rãi hiện nay là công nghệ nano, đặc biệt là hệ dẫn thuốc nano. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh được tính hiệu quả.

Bản chất của kỹ thuật sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất phương pháp chế tạo vật liệu kháng sinh nano doxycyclin. Vật liệu kháng sinh nano doxycyclin thu được theo sáng chế có khả năng tan tốt trong nước, tạo thành dung dịch màu nâu, với kích thước tiểu phân nano nằm trong khoảng từ 50 – 70nm.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp chế tạo vật liệu kháng sinh nano doxycyclin, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

- (i) phân tán TiO_2 vào nước cất, rung siêu âm trong 15 phút;
- (ii) hòa tan một lượng dư NaBH_4 trong nước cất, sau đó nhỏ từ từ vào hỗn dịch TiO_2 thu được ở bước (i);

- (iii) hòa tan AgNO_3 vào nước cất, với tỉ lệ $\text{TiO}_2:\text{AgNO}_3$ là 10:1 (khối lượng/khối lượng), sau đó nhỏ từ từ vào hỗn hợp thu được ở bước (ii), khuấy đều trong 30 phút, duy trì ở nhiệt độ 10°C ;
- (iv) phân tán doxycyclin trong nước cất có chứa triethylamin (0,3% thể tích/thể tích), với tỉ lệ $\text{TiO}_2:\text{doxycyclin}$ là 1:2 (khối lượng/khối lượng), khuấy đều trong 15 phút đến khi phân tán hoàn toàn;
- (v) nhỏ từ từ hỗn dịch thu được ở bước (iv) vào hỗn hợp thu được ở bước (iii); và
- (vi) hòa tan alginat trong nước cất với tỉ lệ $\text{TiO}_2:\text{alginat}$ là 1:1 (khối lượng/khối lượng), sau đó nhỏ từ từ vào hỗn hợp thu được ở bước (v), hỗn hợp sau cùng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ để hệ đạt độ ổn định tối đa, thu được sản phẩm kháng sinh nano doxycyclin ở dạng dung dịch màu nâu, trong đó các tiểu phân nano có dạng hình cầu, kích thước nằm trong khoảng 50-70nm.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 là sơ đồ phương pháp chế tạo vật liệu kháng sinh nano doxycyclin.

Hình 2 là hình vẽ minh họa hình thái học của vật liệu kháng sinh nano doxycyclin được khảo sát bởi phương pháp hiển vi điện tử truyền qua (TEM).

Hình 3 là hình vẽ minh họa hình thái học của vật liệu kháng sinh nano doxycyclin được khảo sát bởi phương pháp hiển vi điện tử quét (FESEM).

Hình 4 là phổ hấp thụ hồng ngoại (FTIR) của vật liệu kháng sinh nano doxycyclin.

Hình 5 là hình vẽ thể hiện thế zeta của vật liệu kháng sinh nano doxycyclin.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề xuất phương pháp chế tạo vật liệu kháng sinh nano doxycyclin bao gồm các bước được mô tả dưới đây.

Trước hết, cân một lượng TiO_2 và AgNO_3 với tỉ lệ $\text{TiO}_2:\text{AgNO}_3$ là 10:1 (khối lượng/khối lượng), sau đó phân tán đều TiO_2 trong nước cất, rung siêu âm trong 15 phút để hệ phân tán hoàn toàn. Tiếp đó, cân một lượng dư NaBH_4 , hòa tan vào nước và nhỏ từ từ vào hỗn dịch TiO_2 ở trên.

Sau đó, hòa tan AgNO_3 vào nước cất, nhỏ từ từ vào hệ thu được ở bước trên. Tiếp theo, cân một lượng doxycyclin với tỉ lệ $\text{TiO}_2:\text{Doxycyclin}$ là 1:2 (khối lượng/khối lượng), sau phân tán doxycyclin trong nước cất có chứa triethylamin (0,3% thể tích/thể tích), khuấy đều trong 15 phút đến khi phân tán hoàn toàn, rồi nhỏ từ từ vào hỗn hợp thu được ở bước trên. Nhỏ từ từ dung dịch alginat với tỉ lệ $\text{TiO}_2:\text{alginat}$ là 1:1 (khối lượng/khối lượng) vào hệ trên và tiếp tục khuấy ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ để hệ đạt độ ổn định tối đa, thu được sản phẩm kháng sinh nano doxycyclin ở dạng dung dịch màu nâu, trong đó các tiểu phân nano có dạng hình cầu, kích thước nằm trong khoảng 50-70nm. Trong đó, những hạt nano Ag với kích thước khoảng 10nm phân bố trên bề mặt hạt nano TiO_2 .

Các tác giả sáng chế đã tiến hành đo phổ hấp thụ hồng ngoại của vật liệu kháng sinh nano doxycyclin được trình bày trong hình 4. Dễ dàng nhận thấy một số đỉnh hấp thụ đặc trưng của doxycyclin đã bị dịch chuyển khi được nano hóa trong sản phẩm. Cụ thể, trong sản phẩm vật liệu kháng sinh nano xuất hiện dao động mạnh của nhóm $-\text{OH}$ (3417cm^{-1}) và dao động trung bình 2908cm^{-1} thuộc về các dao động hóa trị của C-H (sp^3) của doxycyclin, alginat. Dao động trung bình ở 1651cm^{-1} thuộc về dao động động hóa trị của nhóm C = O. Các dao động ở 1450cm^{-1} đến 1600cm^{-1} thuộc về dao động của C = C trong vòng thơm của doxycyclin. Những kết quả này chỉ ra rằng sự nano hóa doxycyclin trong sản phẩm vật liệu kháng sinh nano doxycyclin đã xảy ra.

Hình 2 và 3 là hình ảnh TEM và FESEM của vật liệu kháng sinh nano doxycyclin, kích cỡ của các tiểu phân nano kháng sinh khá nhỏ và đồng đều, có dạng hình cầu và phân bố đồng đều với đường kính trong phạm vi 50-70nm. Trong đó, những hạt nano Ag với kích thước khoảng 10nm phân bố trên bề mặt hạt nano TiO_2 . Vật liệu nano kháng sinh nano doxycyclin được đánh giá khá bền vững thông qua giá trị thế zeta âm là -34mV (hình 5).

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1. Phương pháp chế tạo vật liệu nano kháng sinh nano doxycyclin.

Phân tán 2,0g TiO_2 trong 600mL nước cất, rung siêu âm trong 15 phút. 0,40g NaBH_4 được hòa tan trong 20mL H_2O , sau đó được cho vào hỗn dịch TiO_2 . 0,2g AgNO_3 được hòa tan trong 200mL H_2O , sau đó được nhỏ từ từ vào hỗn hợp trên và khuấy 30 phút (duy trì nhiệt độ bên trong phản ứng khoảng 10°C). Phân tán 4,0g doxycyclin được phân tán trong 100mL H_2O chứa 0,3ml triethylamin, khuấy đều 15 phút, sau đó nhỏ từ từ vào hỗn hợp thu được ở bước trên. Hòa tan hoàn toàn 2,0g alginat trong 100mL nước, sau đó nhỏ từ từ vào hỗn hợp trên. Hỗn hợp sau cùng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ để hệ đạt độ ổn định tối đa, thu được sản phẩm kháng sinh nano doxycyclin ở dạng dung dịch màu nâu, trong đó các tiểu phân nano có dạng hình cầu, kích thước nằm trong khoảng 50-70 nm.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Vật liệu kháng sinh nano có tiềm năng ứng dụng trong phòng các bệnh nhiễm khuẩn trên tôm, cá, với các ưu điểm như: (1) Tăng cường thời gian tồn tại của thuốc trong cơ thể vật nuôi thủy sản, chống lại sự phân hủy của thuốc do các emzym trong đường ruột của vật nuôi thủy sản. (2) Giảm thiểu sự phân rã của thuốc trong môi trường nuôi thủy sản, giảm thiểu sự tác động của thuốc sử dụng đối với môi trường nuôi trồng cũng như môi trường tự nhiên. Qua đó, giảm thiểu tác nhân gây ô nhiễm môi trường. (4) Giảm thiểu lượng thuốc sử dụng trong nuôi trồng thủy sản nhưng vẫn đảm bảo được hiệu quả điều trị của

thuốc, qua đó giảm thiểu đến mức tối đa dư lượng thuốc tồn dư trong vật nuôi thủy sản. (5) Tăng tính khả dụng đối với các loại thuốc sử dụng trong nuôi trồng thủy sản, đặc biệt đối với các loại thuốc không tan trong môi trường nuôi trồng thủy sản. (6) Xử lý môi trường nuôi trồng thủy sản hiệu quả, hạn chế các tác nhân gây bệnh trong môi trường nuôi, phòng và chống các bệnh gây hại trên vật nuôi thủy sản. (7) Giảm thiểu chi phí đầu tư đối với thuốc kháng sinh và chi phí xử lý môi trường nuôi trồng thủy sản nhưng vẫn đảm bảo được hiệu quả.

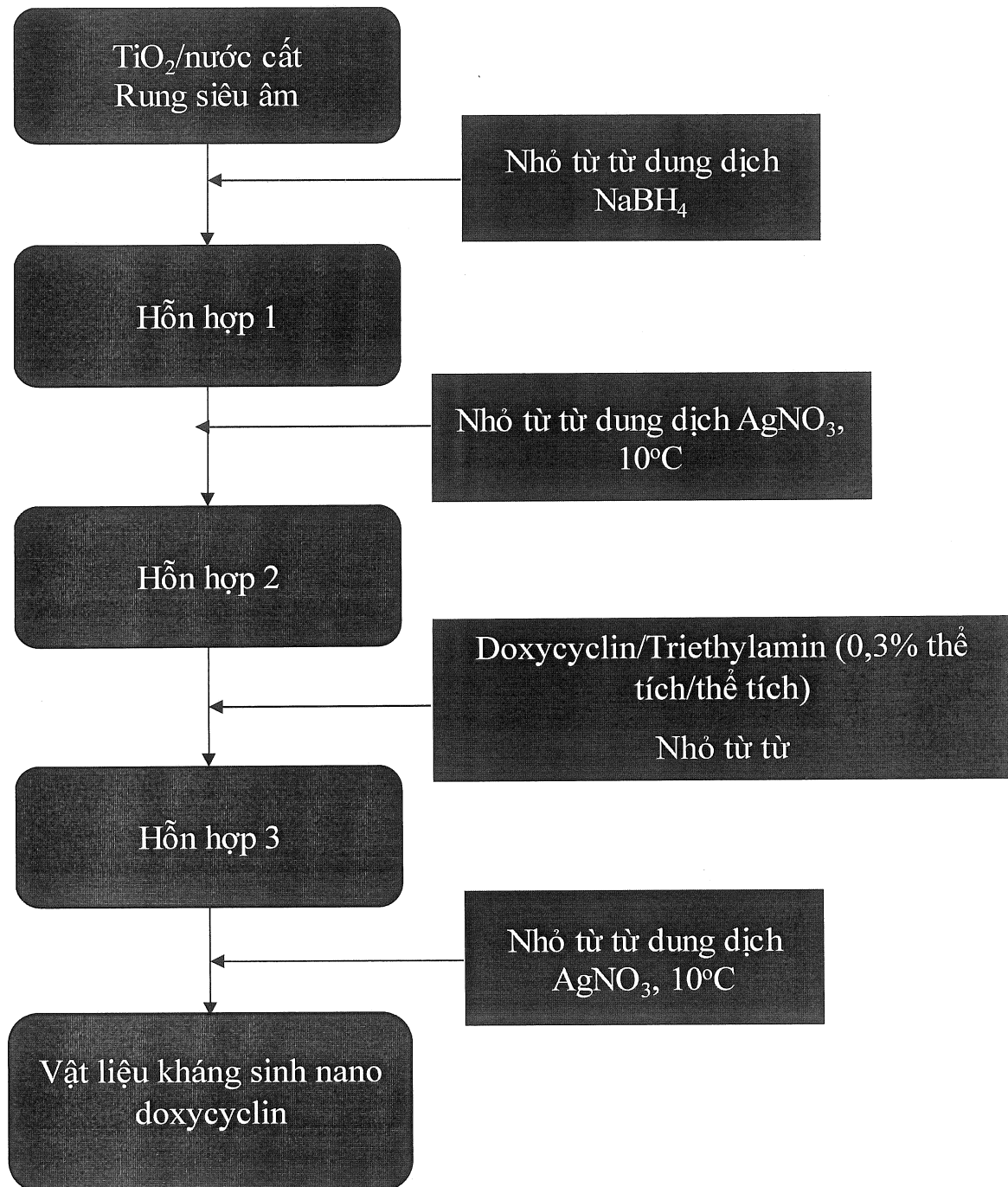
Vật liệu kháng sinh nano có ý nghĩa rất quan trọng trong nuôi trồng thủy sản. Nhiều loại thuốc được sử dụng trong nuôi trồng thủy sản như một cách phòng ngừa hoặc điều trị thông qua thức ăn hoặc tiêm. Những ứng dụng của công nghệ nano ở cấp độ tế bào và khả năng phục hồi của chúng có thể được kiểm tra cho phép chúng có tiềm năng ứng dụng to lớn trong nuôi trồng thủy sản. Các tiểu phân nano chứa thuốc sẽ cung cấp đến chính xác khu vực mục tiêu và hấp thụ tốt hơn các loại thuốc cùng loại nhưng không được nano hóa, qua đó làm tăng tính khả dụng của thuốc, dẫn đến giảm dư lượng kháng sinh trên tôm.

Về mặt xã hội, hiện nay ngành nuôi trồng thủy sản đang phải đối mặt với dịch bệnh và tình trạng sản phẩm xuất khẩu từ tôm, cá tra đã từng bị Nhật và Mỹ trả về do dư lượng thuốc kháng sinh vượt mức cho phép, việc chế tạo thành công vật liệu kháng sinh nano doxycyclin có khả năng phòng chống bệnh trên tôm mà không để lại dư lượng thuốc kháng sinh là việc làm có ý nghĩa khoa học, thực tiễn và có tính thời sự cao. Với nhu cầu ngày càng tăng như vậy, việc có một sản phẩm có hiệu quả, giá thành rẻ do được tổng hợp trong nước sẽ đáp ứng được mong đợi của thị trường. Và nhân văn hơn là người nuôi tôm, cá tra sẽ được sử dụng loại thuốc có hiệu quả tăng lên nhiều lần khi giá thành của sản phẩm rẻ phù hợp với kinh tế của nước ta hiện nay. Đồng thời góp phần làm giảm chảy máu ngoại tệ khi phải nhập thuốc ở nước ngoài. Việc sản xuất vật liệu nano trong nước sẽ góp phần tạo thêm công việc cho người lao động.

YÊU CẦU BẢO HỘ

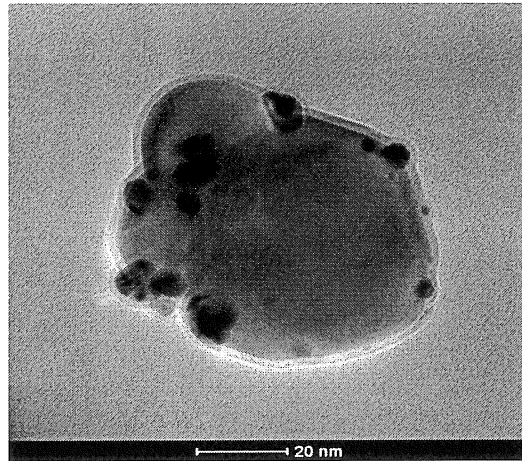
1. Phương pháp chế tạo vật liệu kháng sinh nano doxycyclin bao gồm các bước:
 - (i) phân tán TiO_2 vào nước cất, rung siêu âm trong 15 phút;
 - (ii) hòa tan một lượng dư NaBH_4 trong nước cất, sau đó nhỏ từ từ vào hỗn dịch TiO_2 thu được ở bước (i);
 - (iii) hòa tan AgNO_3 vào nước cất, với tỉ lệ $\text{TiO}_2:\text{AgNO}_3$ là 10:1 (khối lượng/khối lượng), sau đó nhỏ từ từ vào hỗn hợp thu được ở bước (ii), khuấy đều trong 30 phút, duy trì ở nhiệt độ 10°C ;
 - (iv) phân tán doxycyclin trong nước cất có chứa triethylamin (0,3% thể tích/thể tích), với tỉ lệ $\text{TiO}_2:\text{doxycyclin}$ là 1:2 (khối lượng/khối lượng), khuấy đều trong 15 phút đến khi phân tán hoàn toàn;
 - (v) nhỏ từ từ hỗn dịch thu được ở bước (iv) vào hỗn hợp thu được ở bước (iii); và
 - (vi) hòa tan alginat trong nước cất với tỉ lệ $\text{TiO}_2:\text{alginat}$ là 1:1 (khối lượng/khối lượng), sau đó nhỏ từ từ vào hỗn hợp thu được ở bước (v), hỗn hợp sau cùng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ để hệ đạt độ ổn định tối đa, thu được sản phẩm kháng sinh nano doxycyclin ở dạng dung dịch màu nâu, trong đó các tiểu phân nano có dạng hình cầu, kích thước nằm trong khoảng 50-70 nm.

Hình 1

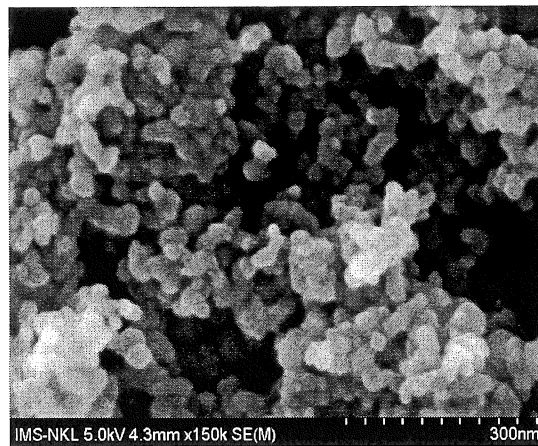


2671

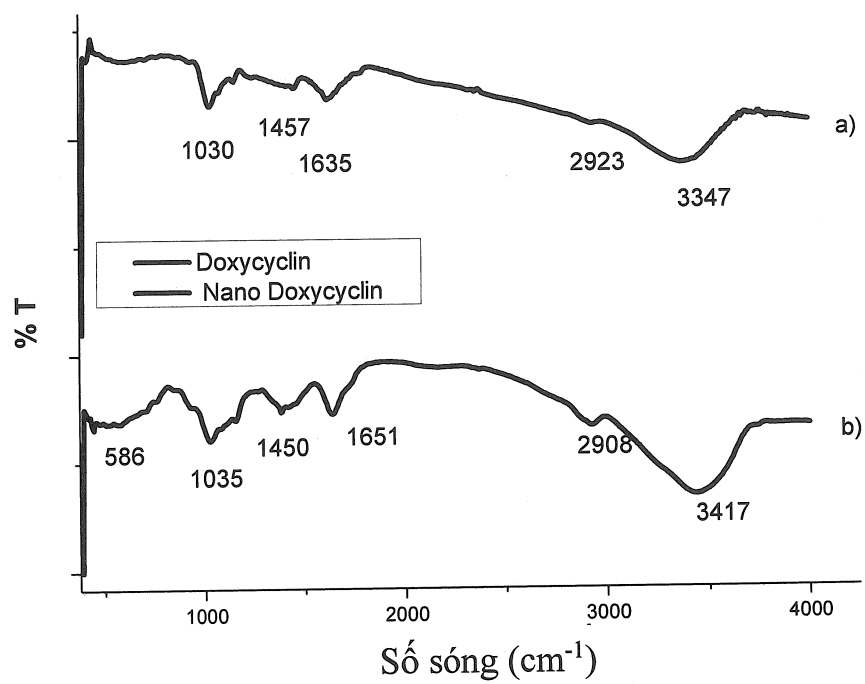
Hình 2



Hình 3



Hình 4



Hình 5

Phân bố thể Zeta

