



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

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

(11)



1-0036258

(51)^{2020.01} A01N 25/00

(13) B

(21) 1-2020-07230

(22) 11/12/2020

(45) 25/07/2023 424

(43) 25/03/2021 396

(73) CÔNG TY CỔ PHẦN NÔNG NGHIỆP HP (VN)

Lô MD3, khu công nghiệp Đức Hòa 1-Hạnh Phúc, ấp 5, xã Đức Hòa Đông, huyện Đức Hoà, tỉnh Long An

(72) Bùi Thị Trúc Quỳnh (VN).

(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Hải Hân (HAI HAN IP CO., LTD.)

(54) CHẾ PHẨM BẢO VỆ THỰC VẬT DẠNG NHũ TƯƠNG DẦU TRONG NƯỚC
VÀ QUY TRÌNH SẢN XUẤT CHẾ PHẨM NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm bảo vệ thực vật dạng nhũ tương dầu trong nước, trong đó chế phẩm này chứa axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều được phân tán đều và ổn định trong pha nước kết hợp với chitosan được tạo ra bằng phản ứng N-deacetyl hoá chitin từ vỏ tôm và các thành phần khác. Chế phẩm theo sáng chế không gây độc cho động vật thử nghiệm và có hiệu quả phòng trừ các sinh vật gây hại cho thực vật. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến quy trình sản xuất chế phẩm bảo vệ thực vật dạng nhũ tương dầu trong nước này.

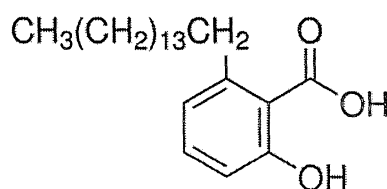
Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế thuộc lĩnh vực nông nghiệp và bảo vệ thực vật, cụ thể là sáng chế đề cập đến chế phẩm bảo vệ thực vật dạng nhũ tương dầu trong nước của axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều kết hợp với chitosan và các thành phần khác và quy trình sản xuất chế phẩm bảo vệ thực vật này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Trong lĩnh vực nông nghiệp, việc bảo vệ cây trồng và giúp cho cây trồng không bị côn trùng có hại phá hoại có vai trò quan trọng trong việc làm tăng sản lượng. Để giải quyết các vấn đề này, đã có nhiều loại chế phẩm bảo vệ thực vật khác nhau được tạo ra nhằm phòng trừ vật gây hại một cách hữu hiệu. Đối với các chế phẩm bảo vệ thực vật không gây độc cho người, đã biết một số loại chế phẩm sử dụng chất chiết từ thực vật như tỏi, ớt, gừng, cây xoan, cây thuốc lá, v.v..

Axit anacardic có tên hóa học là axit 2-hydroxy-6-pentadexylbenzoic, có công thức phân tử là $C_{22}H_{36}O_3$, có công thức cấu tạo sau:



Axit anacardic tinh khiết có dạng kết tinh màu trắng, không mùi, vị hơi cay, nhiệt độ nóng chảy nằm trong khoảng từ 33 đến 38°C, không tan trong nước, tan trong rượu và ete. Axit anacardic bền trong nước, không bị thủy phân, nhưng lại dễ bị phân hủy khi tiếp xúc với ánh sáng. Do đó, nhiều giải pháp sử dụng dạng muối clo của axit anacardic để tránh sự phân hủy khi tiếp xúc với ánh sáng hoặc tạo liên kết nhóm -OH với các gốc tạo phức để

axit anacardic bền hơn với môi trường. Tuy nhiên, dạng phức này có hiệu quả trừ sâu kém hơn so với dạng tinh khiết.

Axit anacardic chiết từ vỏ cây điều đã được sử dụng để sản xuất polyme, sơn, véc-ni, bên cạnh đó axit anacardic cũng được sử dụng trong y học hiện đại như điều trị các rối loạn, bệnh ung thư, tổn thương do viêm nhiễm và bệnh béo phì. Đây cũng là một hoạt chất được chú ý do phổ kháng rộng với nhiều loại sâu bệnh và bệnh hại cây trồng, đặc biệt không ảnh hưởng tới người sử dụng. Do đó, axit anacardic được xem như một hoạt chất có thể thay thế thuốc trừ sâu, thuốc bảo vệ thực vật hữu hiệu.

Tài liệu KR 1012702550000 đề cập đến chế phẩm chứa axit anacardic và phương pháp sử dụng chế phẩm này để tiêu diệt các loại tảo có hại và không gây độc cho môi trường. Chế phẩm này chứa 50% axit anacardic và ngoài ra còn chứa menadion, natri bisulphat menadion, nano bạc hoặc chrysophanol làm phụ gia. Tuy nhiên, tài liệu này không nêu điều kiện và phương pháp phối trộn để tạo ra chế phẩm nhũ tương dạng dầu trong nước ổn định, đồng thời các chất phụ gia phối trộn nhằm ổn định chế phẩm chưa tối ưu được các điều kiện, do đó chế phẩm này bị tách pha khiến hiệu quả tiêu diệt các loài tảo độc kém hiệu quả.

Tài liệu US 2230995 đã đề cập việc sử dụng axit anacardic chiết từ vỏ cây điều, trong đó phân chiết từ vỏ cây điều này được phối trộn với dung môi hữu cơ để tạo chế phẩm trừ ấu trùng gây hại và sâu. Tài liệu này sử dụng dung môi hữu cơ nhằm ngăn ngừa sự oxy hóa thành phần dịch chiết từ vỏ cây điều, cụ thể là muối của axit anacardic và mặc dù chế phẩm này chứng minh được hiệu quả trừ ấu trùng và sâu gây hại lên tới 100% trong khoảng thời gian từ 15 phút đến 2,5 giờ. Tuy nhiên, việc sử dụng dung môi hữu cơ với nồng độ cao lại trực tiếp ảnh hưởng tới cây trồng, cụ thể dung môi hữu cơ sẽ tạo ra lớp màng mỏng trên mặt lá khiến khả năng hô hấp và quang hợp của cây bị giảm.

Tài liệu US 2346256 đã đề cập đến chế phẩm trừ sâu chứa axit anacardic và các chất phụ gia như chất tạo nhũ, chất tạo đặc, tuy nhiên, chế phẩm theo giải pháp sử dụng dung môi hữu cơ để phối chế với hoạt chất là axit anacardic ở dạng đậm đặc và chế phẩm này

có thể sử dụng để phun trực tiếp hoặc pha loãng với nước trước khi sử dụng để trừ sâu hại. Theo đó, bằng cách phối chế trực tiếp, dạng nhũ tạo ra không đồng đều và khi phun lên cây, hiệu quả của chế phẩm trừ sâu theo giải pháp không cao.

Theo đó, mặc dù đã có nhiều tài liệu đề cập đến việc sử dụng axit anacardic làm thuốc trừ sâu, trừ tảo, nhưng phần lớn các tài liệu trên sử dụng dung môi hữu cơ làm pha dẫn và bảo vệ axit anacardic trước sự oxy hóa của môi trường nên có hạn chế chung là tác động trực tiếp lên cây trồng và để lại dư lượng dung môi hữu cơ. Ngoài ra, việc phối chế với dung môi hữu cơ trước khi pha với nước sẽ tạo ra dạng nhũ với hoạt chất phân tán không đồng đều và các hạt nhũ tương này có kích thước lớn, dễ gây phân lớp khi bảo quản và hiệu quả không cao. Do đó, cần một loại chế phẩm bảo vệ thực vật chứa thành phần axit anacardic ổn định, có khả năng phân tán đều, có khả năng bảo vệ được cây trồng trước nhiều loại sâu và bệnh hại và không gây độc cho con người.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế nhằm giải quyết các vấn đề nêu trên, cụ thể sáng chế đề cập đến chế phẩm bảo vệ thực vật dạng nhũ tương dầu trong nước và quy trình sản xuất chế phẩm bảo vệ thực vật này. Cụ thể, sáng chế nhằm tạo ra chế phẩm chứa thành phần axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều được phân tán đều trong nước đã được phân tán chitosan để tạo thành dạng nhũ tương dầu trong nước ổn định để làm thuốc bảo vệ thực vật.

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề cập đến chế phẩm bảo vệ thực vật dạng nhũ tương dầu trong nước của axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều có thành phần tính theo % khối lượng như sau:

axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều:	8-10
chitosan:	0,4-0,6
chất hoạt động bề mặt:	7-9
organo silicon:	1-2
trikali orthophosphat:	0,1-0,3
polydimetyl siloxan:	1,0-1,2

natri carboxymetyl xenluloza:	0,3-0,5
hỗn hợp axit 2-(N-morpholino)etansulfonic và axit dimethylarsinic:	0,1-0,3; và
nước:	vừa đủ 100;

trong đó:

chitosan thu được bằng cách N-deacetyl hoá chitin từ vỏ tôm trong môi trường dung dịch kiềm NaOH;

chất hoạt động bề mặt được chọn từ nhóm bao gồm alkyl polyoxyetylen ete, octoxynol-9, polyethylene glycol tert-octylphenyl ete hoặc hỗn hợp của chúng; và

axit anacardic tồn tại ở dạng vi nhũ có kích thước khoảng 1 μm và được phân tán đều trong nền nước đã được phân tán chitosan tạo hệ nhũ tương phức hợp axit anacardic-chitosan có độ nhớt nằm trong khoảng từ 1500 đến 2000 mPa.s.

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất chế phẩm bảo vệ thực vật dạng nhũ tương dầu trong nước của axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều theo sáng chế, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) chuẩn bị nguyên liệu, trong đó các thành phần được chuẩn bị theo tỷ lệ thành phần tính theo % khối lượng như sau:

axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều:	8-10
chitosan:	0,4-0,6
chất hoạt động bề mặt:	7-9
organo silicon:	1-2
trikali orthophosphat:	0,1-0,3
polydimetyl siloxan:	1,0-1,2
natri carboxymetyl xenluloza:	0,3-0,5
hỗn hợp axit 2-(N-morpholino)etansulfonic và axit dimethylarsinic:	0,1-0,3; và
nước:	vừa đủ 100;

b) tạo hỗn hợp chất phân tán bằng cách bổ sung axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều, organo silicon và chất hoạt động bề mặt vào bồn khuấy trộn rồi tiến hành trộn đều

với tốc độ khuấy nằm trong khoảng từ 70 đến 120 vòng/phút trong khoảng thời gian từ 20 đến 30 phút thu được hỗn hợp chất phân tán đồng nhất;

c) tạo hỗn hợp pha nền bằng cách bổ sung chitosan vào bồn khuấy, tiếp đó bổ sung 20% tổng lượng nước và tiến hành khuấy trộn với tốc độ khuấy nằm trong khoảng từ 100 đến 200 vòng/phút, bổ sung octyl phenol etoxylat và organo silicon và tăng tốc độ khuấy lên 2700 vòng/phút, duy trì trong 30 phút thu được hỗn hợp pha nền bao gồm chitosan được phân tán đều trong nước;

d) tạo hệ nhũ tương dầu trong nước bằng cách bổ sung từ từ hỗn hợp pha nền vào hỗn hợp chất phân tán, tiếp đó bổ sung lượng nước còn lại trong điều kiện khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 70 đến 120 vòng/phút trong 30 phút thu được hệ nhũ tương dầu trong nước;

e) tạo hệ vi nhũ dầu trong nước bằng cách chuyển hệ nhũ tương dầu trong nước vào thiết bị khuấy nghiền cắt tuần hoàn, tiến hành khuấy với tốc độ nghiền cắt là 2900 vòng/phút, nhiệt độ được duy trì trong khoảng từ 20 đến 25°C thời gian khoảng 30 phút thu được hệ vi nhũ dầu trong nước; và

f) thu chế phẩm bảo vệ thực vật bằng cách bổ sung vào hệ vi nhũ dầu trong nước các thành phần bao gồm trikali orthophosphat, polydimetyl siloxan, natri carboxymetyl xenluloza, hỗn hợp axit 2-(N-morpholino)etansulfonic và axit dimetylarsinic, duy trì điều kiện khuấy trong 20 phút, sau đó giảm áp để khử khí, thu được chế phẩm bảo vệ thực vật chứa phức hợp axit anacardic-chitosan ở dạng vi nhũ có kích thước khoảng 1 μm và được phân tán đều trong nền nước có độ nhớt nằm trong khoảng từ 1500 đến 2000 mPa.s.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, sáng chế được mô tả dưới dạng phương án thực hiện cụ thể, tuy nhiên, các phương án này chỉ nhằm mục đích minh họa để làm rõ bản chất của sáng chế, chứ không nhằm mục đích hạn chế phạm vi yêu cầu bảo hộ của sáng chế.

Sáng chế đề cập đến chế phẩm bảo vệ thực vật dạng nhũ tương dầu trong nước của axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều và quy trình sản xuất chế phẩm bảo vệ thực vật dạng nhũ tương dầu trong nước này.

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề cập đến chế phẩm bảo vệ thực vật dạng nhũ tương dầu trong nước của axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều theo sáng chế có thành phần tính theo % khối lượng như sau:

axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều:	8-10
chitosan:	0,4-0,6
chất hoạt động bề mặt:	7-9
organo silicon:	1-2
trikali orthophosphat:	0,1-0,3
polydimetyl siloxan:	1,0-1,2
natri carboxymetyl xenluloza:	0,3-0,5
hỗn hợp axit 2-(N-morpholino)etansulfonic và axit dimetylarsinic:	0,1-0,3; và
nước:	vừa đủ 100;

trong đó:

chitosan thu được bằng cách N-deacetyl hoá chitin từ vỏ tôm trong môi trường dung dịch kiềm NaOH;

chất hoạt động bề mặt được chọn từ nhóm bao gồm alkyl polyoxyetylen ete, octoxynol-9, polyethylene glycol tert-octylphenyl ete hoặc hỗn hợp của chúng; và

axit anacardic tồn tại ở dạng vi nhũ có kích thước khoảng 1 μm và được phân tán đều trong nền nước đã được phân tán chitosan tạo hệ nhũ tương phức hợp axit anacardic-chitosan có độ nhớt nằm trong khoảng từ 1500 đến 2000 mPa.s.

Axit anacardic được sử dụng trong chế phẩm là axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều bằng phương pháp theo sáng chế. Ở nhiệt độ thường, dầu vỏ hạt điều là chất lỏng màu vàng, vị chát, cay nóng, có thể gây phỏng da. Dầu vỏ điều chứa rất nhiều axit anacardic và các dẫn xuất như cardanol, cardol và 2-metyl cardol. Mỗi hợp chất gồm một axit salixylic

thay thế với một mạch alkyl bão hòa hoặc không bão hòa. Một số nghiên cứu đã cho thấy axit anacardic trong dầu vỏ hạt điều đóng vai trò như một trong những tác nhân điều trị các rối loạn, hoặc bệnh lý nghiêm trọng như ung thư, tổn thương do viêm nhiễm và bệnh béo phì.

Axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều được sử dụng theo sáng chế được chiết bằng cách tách lấy vỏ hạt điều (*Anacardium occidentale* L.), sấy khô. Tiếp đó, nghiền mịn vỏ hạt điều, dùng dung môi etanol tách lấy lớp dầu trong vỏ hạt điều và lọc dầu vỏ hạt điều để loại bỏ hết các tạp chất kích thước lớn. Nước và etanol được loại bỏ bằng cách chưng trong điều kiện áp suất giảm đến khi thu được dầu vỏ hạt điều. Tiếp theo hòa trộn dầu vỏ hạt điều thô sau khi sơ chế trong dung môi là một ete của dầu mỏ, ví dụ, pentyl ete, hexyl ete, heptyl ete hoặc và các ete tương tự. Sau khi trộn, tiến hành khuấy hỗn hợp rồi để yên trong một khoảng thời gian nằm trong khoảng từ 10 đến 20 phút trước khi lọc. Sau khi lọc, loại bỏ các chất không tan, hấp phụ dịch lọc vào chất hấp phụ tính theo tỷ lệ hàm lượng axit anacardic trong nguyên liệu vỏ hạt điều đầu vào. Sau đó khuấy để khuấy liên tục hỗn hợp trong thời gian từ 25 đến 35 phút và để lắng hỗn hợp trong thời gian từ 5 đến 9 giờ. Tiếp theo, lọc bỏ chất hấp phụ và chưng cất phân đoạn dịch lọc để loại bỏ ete. Nhiệt độ và áp suất được điều chỉnh thích hợp để loại bỏ hoàn toàn ete. Sản phẩm axit anacardic thu được ở dạng lỏng màu nâu được sử dụng làm nguyên liệu sản xuất chế phẩm bảo vệ thực vật dạng nhũ tương dầu trong nước.

Các tác giả sáng chế đã thử nghiệm và phát hiện ra rằng, ở dạng nhũ tương dầu trong nước với kích thước hạt axit anacardic khoảng 1µm được phân tán đồng đều, axit anacardic có hiệu quả diệt vi sinh vật gây hại ở nồng độ thấp hơn hẳn khi so với axit anacardic được sử dụng dưới dạng phối trộn với dung môi hữu cơ. Cụ thể, lượng axit anacardic được sử dụng chỉ cần ở nồng độ từ 8 đến 10% khối lượng là đã có hiệu quả hoạt tính tương đương với axit anacardic dạng phối trộn với dung môi hữu cơ với lượng khoảng 20% khối lượng.

Các hạt axit anacardic ở kích thước khoảng 1µm trong chế phẩm dạng nhũ tương dầu trong nước có diện tích tiếp xúc bề mặt lớn, nên có hiệu suất tác động lớn hơn. Ngoài ra, các hạt axit anacardic được phân tán trong môi trường nước, nên khi sử dụng, axit anacardic

sẽ được đưa trực tiếp vào môi trường và tác động thẳng lên sinh vật gây hại mà không bị ảnh hưởng bởi dung môi như trong các chế phẩm dạng phối trộn với dung môi hữu cơ khác.

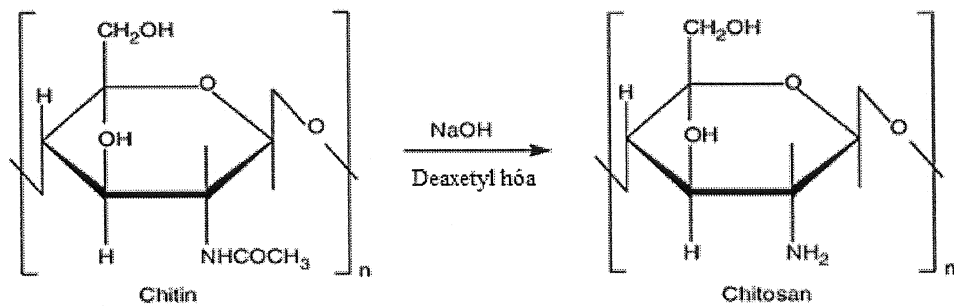
Với lượng axit anacardic nhỏ hơn 8% khối lượng thì chế phẩm bảo vệ thực vật thu được có hiệu lực sinh học thấp, cụ thể là khả năng trừ vi khuẩn và trừ nấm không đạt được hiệu lực như mong muốn, khả năng ức chế gây gián đoạn cơ chế sinh hóa của màng tế bào vi khuẩn giảm dần nhanh khi lượng axit anacardic giảm, đồng thời khả năng ức chế nảy mầm bào tử vô tính và tăng trưởng sợi nấm trong nấm kém. Ngược lại, nếu sử dụng axit anacardic với lượng lớn hơn 10% khối lượng chế phẩm thì không những lãng phí hoạt chất mà còn sẽ tạo ra chế phẩm bảo vệ thực vật có thể gây dị ứng cho người sử dụng, thậm chí có thể gây phỏng rộp da. Lượng axit anacardic trong chế phẩm là từ 8 đến 10% được coi là nồng độ tối ưu, vừa có khả năng tác dụng phổ rộng và hiệu quả, vừa không gây dị ứng cho người sử dụng.

Một thành phần rất quan trọng khác có trong chế phẩm bảo vệ thực vật dạng nhũ tương dầu trong nước theo sáng chế là chitosan. Chitosan có các tên gọi khác như poliglusam, deaxetylchitin hay poly-(D)glucosamin. Tên hóa chất theo danh pháp hóa học quốc tế (IUPAC) là β -1,4-poly-D-glucosamin. Chitosan là một polysaccharit mạch thẳng được cấu tạo từ các D-glucosamin (đơn vị đã deaxetyl hóa) và N-axetyl-D-glucosamin (đơn vị chứa nhóm axetyl) liên kết tại vị trí β -(1-4). Chitosan có dạng bột không mịn, màu trắng đục hơi ngả màu be, nóng chảy khoảng từ 103°C có loại lên đến 300°C (phụ thuộc khối lượng phân tử). Chitosan không hòa tan trong nước và hầu hết các dung môi nhưng tan trong một số axit như axit axetic, axit nitric, axit hydrocloric, axit percloric và axit phosphoric, tan ít trong các axit hữu cơ pha loãng như axit axetic, lactic, malic, formic và succinic. Độ hòa tan của các dẫn xuất chitosan có thể được quan sát đặc biệt là trong các dung dịch axit, có giá trị pH thấp hơn 6,5. Đồng thời, phạm vi hòa tan cũng có thể được thay đổi khi khử polyme, biến đổi hóa học của các nhóm hydroxyl sơ cấp và thứ cấp.

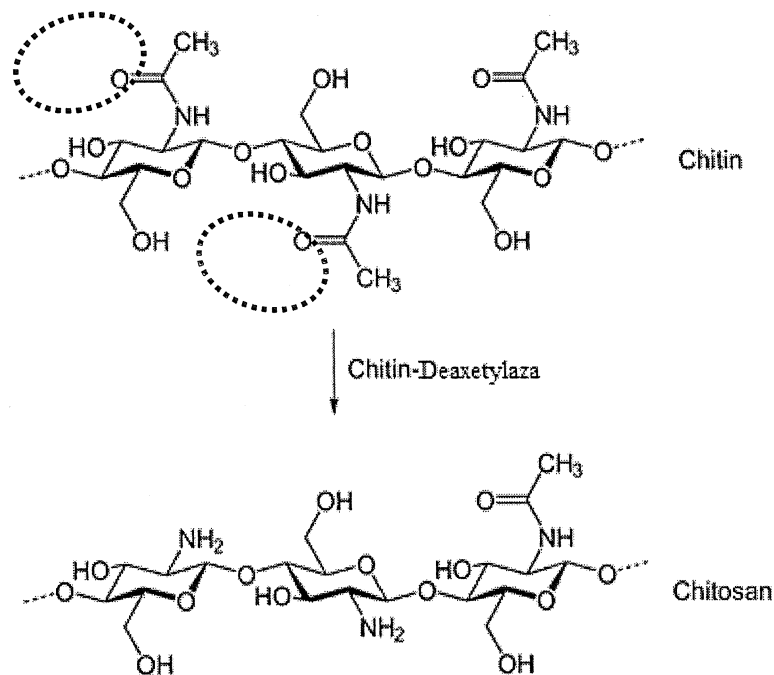
Để có được thành phần chitosan sử dụng cho sáng chế này, tác giả sáng chế đã sản xuất chitosan bằng phản ứng N-deaxetyl hoá chitin, là thành phần chính trong vỏ từ quá

trình xử lý vỏ các loài giáp xác (phổ biến là vỏ tôm, cua) trong môi trường dung dịch kiềm NaOH. Quá trình này còn gọi là quá trình khử axetyl của chitin.

Phương trình phản ứng:



Sơ đồ thể hiện gốc axetyl của chitin bị khử:



Để phối chế axit anacardic tạo thành dạng nhũ tương, thông thường anacardic thường được phối chế với dung môi hữu cơ trước khi phối trộn với nước để tạo ra dạng nhũ tương dầu trong nước. Mặc dù sử dụng các chất trợ giúp như các chất phân tán, chất hỗ trợ tạo nhũ, nhưng quá trình này tạo ra phức hệ nhũ không ổn định, cụ thể, các hạt nhũ ở dạng dầu trong nước có anacardic nằm trực tiếp trong hạt dầu, nhưng các gốc ưa nước lại trực tiếp được hướng ra bên ngoài, tiếp xúc với pha nước, nên sau một quá trình sử dụng, các hạt

nhũ tương này có xu hướng kết tụ với nhau tạo thành các hạt nhũ lớn hơn. Vì vậy, làm giảm hiệu quả tác dụng của chế phẩm.

Chitosan được sản xuất bằng phản ứng N-deacetyl hoá chitin với nguyên liệu lấy từ vỏ các loài giáp xác (phổ biến là vỏ tôm, cua) trong môi trường dung dịch kiềm NaOH và được cho kết hợp với thành phần chính axit anacardic. Thành phần chitosan theo sáng chế tính theo % khối lượng nằm trong khoảng từ 0,4 đến 0,6%. Với khối lượng chitosan sử dụng nhỏ hơn 0,6%, chitosan đã cho thấy có tác dụng tăng cường khả năng ứng phó với sự thay đổi điều kiện môi trường và khả năng oxy hóa tăng mạnh do sự tích lũy hydro peroxit (H_2O_2) dẫn đến tạo ra các enzym bảo vệ thực vật và tổng hợp các chất chuyển hóa thứ cấp, chẳng hạn như polyphenolic, lignin, flavonoid và phytoalexin được quan sát thấy ở nhiều loài thực vật được xử lý với chitosan. Những thay đổi sinh hóa và phân tử khác được quan sát thấy ở những cây được phun chế phẩm bảo vệ thực vật có hàm lượng chitosan nhỏ hơn 0,6% bao gồm: sự gắn kết của calozơ, tăng xytosolic Ca^{2+} , kích hoạt MAP-kinaza, ức chế H^+ -ATPaza trong màng huyết tương, thay đổi chromatin, tổng hợp alkaloid và chất điều biến phyto (axit jasmonic -JA, axit abscisic -ABA). Do cấu trúc phân tử lớn nên chitosan không lưu dẫn trong cây trồng, chitosan có thể bị phân huỷ thành dạng đơn phân do các tác động từ môi trường. Mặc dù chitosan được coi là một loại nguyên liệu thân thiện môi trường, hàm lượng sử dụng lớn hơn 0,6% không phải là lựa chọn phù hợp khi kết hợp với axit anacardic do sự hình thành các enzym bảo vệ thực vật và sự tổng hợp các chất chuyển hóa thứ cấp bị giảm xuống. Ngoài ra, hàm lượng chitosan nhỏ hơn 0,4% thì sự gắn kết của calozơ, nồng độ xytosolic Ca^{2+} trong màng tế bào của cây trồng bị giảm đáng kể dẫn đến khả năng bảo vệ cây trồng khỏi sâu bệnh không đạt được hiệu quả mong muốn.

Chất hoạt động bề mặt theo sáng chế được sử dụng để phối trộn với axit anacardic nhằm giúp cho hoạt chất được bền trong nước, không bị phá vỡ cấu trúc mixel trong nước, giúp cho hệ phân tán bền vững và giúp cho chế phẩm bảo vệ thực vật bám dính lâu dài trên bề mặt cây trồng được phun. Các tác giả đã nghiên cứu và phát hiện ra rằng, đối với axit anacardic, chất hoạt động bề mặt để trợ giúp phân tán axit anacardic tốt trong nước cần có

đầu kỵ nước phải đủ dài, do đó chất hoạt động bề mặt được chọn từ nhóm bao gồm alkyl polyoxyetylen ete, octoxynol-9, polyethylene glycol tert-octylphenyl ete hoặc sự kết hợp của các chất này đáp ứng yêu cầu đó.

Hàm lượng chất hoạt động bề mặt quyết định lớn đến chất lượng của cấu trúc sản phẩm thu được. Cụ thể, với lượng nhỏ hơn 7% khối lượng chế phẩm sẽ không đủ để thu được các hạt nhũ tương dầu có kích thước khoảng 1 μm và ảnh hưởng đến sự bám dính của chế phẩm trên bề mặt cây trồng được phun. Ngược lại, nếu lượng chất tạo nhũ lớn hơn 9% khối lượng chế phẩm, thì sức căng bề mặt của chế phẩm lớn, gây ảnh hưởng đến khả năng phun chế phẩm bằng cách thiết bị phun chuyên dùng. Do đó, các tác giả đã tối ưu được nồng độ chất hoạt động bề mặt theo sáng chế được sử dụng nằm trong khoảng từ 7 đến 9% khối lượng chế phẩm, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 8,5% đến 8,8% khối lượng chế phẩm. Với nồng độ này, hiệu quả tạo nhũ tương dầu trong nước cao nhất và thu được chế phẩm có hiệu lực sinh học vượt trội.

Organo silicon được bổ sung vào chế phẩm nhằm làm giảm sức căng bề mặt, tăng tính thấm ướt, tăng khả năng lan truyền, cải thiện độ bền không bị mưa cuốn trôi. Với lượng nhỏ hơn 1% khối lượng chế phẩm sẽ không đủ để giảm được sức căng bề mặt, độ nhớt của chế phẩm cao dẫn đến việc phun chế phẩm bằng các máy phun thông dụng không hiệu quả. Ngược lại, lượng organo silicon lớn hơn 2% thì sức căng bề mặt lại giảm đáng kể, ảnh hưởng đến khả năng bám dính của chế phẩm trên cây trồng. Tác giả đã tối ưu được nồng độ chất organo silicon nằm trong khoảng từ 1 đến 2%, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 1,3% đến 1,5% khối lượng chế phẩm. Với nồng độ này, hiệu quả giảm sức căng bề mặt và khả năng thấm ướt được đảm bảo.

Trikali orthophosphat được sử dụng với mục đích làm chất chống đông, đây là một chất phụ gia nhằm chống sự vón cục, đông tụ lại với nhau của chế phẩm. Theo đó, trikali orthophosphat được sử dụng để bảo vệ tính chất của chế phẩm, tránh phân lớp chế phẩm trong thời gian sử dụng. Trikali orthophosphat được sử dụng là hóa chất được bán sẵn trên thị trường. Nhờ việc sử dụng chất chống đông này, các thành phần trong chế phẩm bảo vệ

thực vật theo sáng chế có thể thích nghi được với nhiều điều kiện thời tiết khác nhau, đảm bảo tính hữu hiệu và bền vững của sản phẩm trong các điều kiện biến động của môi trường.

Các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng, nếu chất lượng trikali orthophosphat được sử dụng lớn hơn 0,3% khối lượng chế phẩm thì lại gây ra sự vón cục một phần trong quá trình sản xuất chế phẩm khiến hiệu quả của hoạt chất giảm sút. Ngược lại, nếu sử dụng lượng trikali orthophosphat với lượng nhỏ hơn 0,1% khối lượng chế phẩm thì chế phẩm lại kém bền vững. Theo đó, hàm lượng trikali orthophosphat tối ưu cho sản phẩm nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,3%, tốt nhất là 0,2%.

Chất chống tạo bọt polydimetyl siloxan được sử dụng nhằm xử lý những bất lợi như sự tách rời của chất tạo nhũ khỏi phân tử hoạt chất, sự khó khăn khi phun, sự kém an toàn cho người phun xịt và sự khó khăn trong việc vệ sinh dụng cụ phun. Nhờ chất chống tạo bọt, chế phẩm bảo vệ thực vật sẽ được phân bố đều hơn khi phun lên cây trồng và trong quá trình sản xuất không xuất hiện bọt khí ảnh hưởng đến chất lượng của các hạt vi nhũ trong chế phẩm. Chất chống tạo bọt được dùng theo sáng chế là những chất chống tạo bọt được bán sẵn trên thị trường. Cụ thể, có thể sử dụng chất tạo bọt polydimetyl siloxan được bán trên thị trường với tên thương mại là dầu silicon.

Lượng chất chống tạo bọt được sử dụng theo sáng chế với nồng độ tối ưu nằm trong khoảng từ 1,0 đến 1,2% khối lượng chế phẩm. Tác giả sáng chế đã nhận ra rằng, với lượng chất tạo bọt nêu trên, chế phẩm thu được sẽ không có bọt và khi sử dụng, lượng chế phẩm được phun đều lên bề mặt. Lượng chất chống tạo bọt nhiều hơn 1,2% khối lượng chế phẩm là không cần thiết. Ngược lại lượng chất chống tạo bọt thấp lại dễ gây ra việc sinh bọt vượt mức trong chế phẩm khi vận chuyển, sang chiết và tạo bọt trong quá trình sản xuất. Lượng chất tạo bọt quá nhỏ, ví dụ nhỏ hơn 1,0% khối lượng chế phẩm sẽ ít có khả năng ngăn chặn được sự tách rời của chất tạo nhũ khỏi phân tử axit anacardic.

Natri carboxymetyl xenluloza được sử dụng với vai trò làm chất tạo đặc, đây là một thành phần được sử dụng nhiều trong lĩnh vực kỹ thuật này. Natri carboxymetyl xenluloza ngoài việc được sử dụng như một chất làm đặc để ổn định nhũ hóa còn đóng vai trò là chất ổn định chế phẩm hiệu quả khi thay đổi nhiệt độ và độ pH trong phạm vi lớn. Các

tác giả sáng chế đã bất ngờ phát hiện ra rằng, bằng việc sử dụng natri carboxymetyl xenluloza, cấu trúc của các hạt vi nhũ được bảo quản tốt, tránh được tình trạng hợp nhất các hạt vi nhũ tạo thành các hạt vi nhũ lớn hơn. Ngoài ra, natri carboxymetyl xenluloza được cho thấy là có khả năng tạo phức và tạo thành các khung phân tử ngăn cách các hạt vi nhũ axit anacardic với nhau rất tốt.

Hàm lượng natri carboxymetyl xenluloza được sử dụng trong sáng chế chỉ với một lượng rất nhỏ, tối ưu nằm trong khoảng từ 0,3% đến 0,5% khối lượng. Các tác giả sáng chế đã thử nghiệm và bất ngờ phát hiện ra rằng, với hàm lượng natri carboxymetyl xenluloza nằm trong khoảng từ 0,3% đến 0,5% khối lượng chế phẩm sẽ thu được chế phẩm đủ ổn định trong điều kiện môi trường ngoại cảnh. Nếu hàm lượng natri carboxymetyl xenluloza được sử dụng lớn hơn 0,5%, chế phẩm bị đông cứng, không sử dụng được và gây đông đặc trong quá trình sản xuất khiến việc tạo nhũ không được tối ưu, ngược lại nếu lượng natri carboxymetyl xenluloza sử dụng nhỏ hơn 0,3% khối lượng chế phẩm thì độ ổn định của chế phẩm giảm nhanh chóng.

Hỗn hợp bao gồm axit 2-(N-morpholino)etansulfonic và axit dimethylarsinic được sử dụng trong chế phẩm theo sáng chế đóng vai trò là chất phụ gia đệm pH giúp độ pH của hỗn hợp được duy trì trong khoảng tối ưu. Hỗn hợp bao gồm axit 2-(N-morpholino)etansulfonic và axit dimethylarsinic được sử dụng trong lĩnh vực kỹ thuật này được bán sẵn trên thị trường. Với hàm lượng hỗn hợp này nằm trong khoảng từ 0,1% đến 0,3% khối lượng chế phẩm thì độ pH của chế phẩm được duy trì nằm trong khoảng từ 5,5 đến 7 (dung dịch 1%). Nếu hàm lượng hỗn hợp bao gồm axit 2-(N-morpholino)etansulfonic và axit dimethylarsinic được sử dụng lớn hơn 0,3% thì độ pH sẽ giảm xuống dưới 5,5 làm cho chế phẩm theo sáng chế có tính axit cao, không phù hợp với hầu hết các loại cây trồng, ngược lại nếu hàm lượng hỗn hợp này nhỏ hơn 0,1% khối lượng chế phẩm thì độ pH sẽ tăng, gây ra tính bazơ cao cho chế phẩm theo sáng chế và cũng không phù hợp với nhiều loại cây trồng.

Chế phẩm theo sáng chế được điều chế dạng nhũ tương dầu trong nước ổn định với kích thước hạt nhũ tương chứa axit anacardic khoảng 1 μm và độ nhớt nằm trong khoảng

từ 1500 đến 2000 mPa.s. Chế phẩm theo sáng chế có dạng lỏng, màu nâu nhạt đến nâu có tỷ trọng nằm trong khoảng từ 1,016 đến 1,02g/ml, có khả năng trừ sâu và các tác nhân gây hại cho cây trồng thông qua tác động gây gián đoạn sinh lý cơ chế sinh hóa của màng tế bào vi khuẩn hoặc ức chế quá trình nảy mầm của nấm. Chế phẩm theo sáng chế là chế phẩm nông dụng được sử dụng để bảo vệ thực vật.

Chế phẩm theo sáng chế ổn định, kích thước hạt nhũ tương thay đổi không đáng kể trong quá trình vận chuyển, bảo quản. Thử nghiệm cho thấy rằng, Sau khi bảo quản ở $54 \pm 2^\circ\text{C}$ trong 14 ngày, thành phẩm vẫn đảm bảo phù hợp các chỉ tiêu đã công bố về hàm lượng axit anacardic và chitosan cũng như độ pH, độ bền nhũ và tái nhũ và độ bền của bọt. Điều này cho thấy khả năng vượt trội của chế phẩm theo sáng chế.

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất sản xuất chế phẩm bảo vệ thực vật dạng nhũ tương dầu trong nước của axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều theo điểm 1, trong đó quy trình này bao gồm các bước: a) chuẩn bị nguyên liệu; b) tạo hỗn hợp chất phân tán; tạo hỗn hợp pha nền; tạo hệ nhũ tương dầu trong nước; tạo hệ vi nhũ dầu trong nước; và f) thu chế phẩm bảo vệ thực vật.

Trong bước chuẩn bị nguyên liệu, trong đó các thành phần được chuẩn bị theo tỷ lệ thành phần tính theo % khối lượng như sau:

axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều:	8-10
chitosan:	0,4-0,6
chất hoạt động bề mặt:	7-9
organo silicon:	1-2
trikali orthophosphat:	0,1-0,3
polydimetyl siloxan:	1,0-1,2
natri carboxymetyl xenluloza:	0,3-0,5
hỗn hợp axit 2-(N-morpholino)etansulfonic và axit dimetylarsinic:	0,1-0,3; và
nước:	vừa đủ 100;

Thành phần axit anacardic được sử dụng theo sáng chế là axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều có thể được sử dụng từ nguồn có sẵn hoặc được điều chế bằng cách thu vỏ hạt điều khô, nghiền mịn và chiết bằng etanol. Sau khi lọc bỏ tạp chất và loại bỏ dung môi, hòa phần dầu thu được trong dung môi ete dầu mỏ trong khoảng từ 10 đến 20 phút rồi bổ sung chất hấp phụ và khuấy trong khoảng từ 25 đến 35 phút thu phần dịch. Chất hấp phụ là đã biết, được bán trên thị trường và có thể dễ dàng được lựa chọn và sử dụng bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Tiếp đó chưng cất dịch để loại bỏ dung môi thu được sản phẩm axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều ở dạng lỏng, màu nâu để sử dụng làm nguyên liệu.

Thành phần chitosan được sử dụng theo sáng chế được sản xuất bằng phản ứng N-deacetyl hoá chitin, là thành phần chính trong vỏ từ quá trình xử lý vỏ các loài giáp xác (phổ biến là vỏ tôm, cua) trong môi trường dung dịch kiềm NaOH. Quá trình này còn gọi là quá trình khử axetyl của chitin có thể thực hiện như sau:

Bước 1: Vỏ tôm được rửa sạch, phơi khô và nghiền thành bột.

Bước 2: Cho bột nghiền vỏ tôm vào dung dịch natri hydroxit 4% ngâm, sau đó khuấy đều và đun sôi trong vòng 1 giờ. Trong lúc đun sôi cần khuấy để bột không bị lắng và cháy. Lọc lấy phần bã.

Bước 3: Phần bã tiếp tục được cho vào dung dịch axit clohydric 1%, khuấy đều để axit clohydric tác dụng với canxi thành muối canxi clorua tan, loại bỏ được thành phần canxi trong vỏ tôm. Quá trình này thực hiện ở nhiệt độ thường (25-30°C), trong khoảng 30 phút. Sau đó lọc lấy phần bã.

Bước 4: Tiếp tục xử lý phần bã rắn thu được bằng dung dịch natri hydroxit 2% để phân hủy albumen thành các axit amin hòa tan trong nước. Phần rắn thu được là chitin.

Bước 5: Chitin còn lại được rửa bằng nước và cho vào dung dịch natri hydroxit 50% đun sôi trong vòng 2 giờ để khử nhóm axetyl thành chitosan. Lọc thu giữ lại chất rắn là chitosan.

Bước 6: Tiếp tục rửa lại chitosan bằng dung dịch natri hydroxit 50% nhiều lần để đạt được độ tinh khiết cao hơn

Bước 7: Phần tạp chất thô không hòa tan trong natri hydroxit được loại bỏ bằng cách lọc qua màng. Chitosan được kết tủa lại bằng dung dịch natri hydroxit cho đến khi độ pH nằm trong khoảng từ 8 đến 9.

Bước 8: Dùng nước rửa kết tủa chitosan ít nhất 3 lần.

Trường hợp thử nghiệm chất lượng chitosan chưa đạt hàm lượng mong muốn, tiếp tục dùng dung dịch natri dodecyl sulphat để hòa tan tạp chất protein còn lại, sau đó dùng EDTA để loại bỏ kim loại nặng trong chitosan.

Bước 9: Dùng nước rửa tiếp. Sau đó sấy khô thu được chitosan hàm lượng cao để làm nguyên liệu gia công.

Các thành phần khác được sử dụng theo sáng chế đều có thể được mua sẵn trên thị trường và người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể lựa chọn được các loại sản phẩm phù hợp với thành phần như đã nêu trên đây.

Trong bước tạo hỗn hợp chất phân tán, tiến hành bổ sung axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều, organo silicon và chất hoạt động bề mặt vào bồn khuấy trộn. Sau đó tiến hành trộn đều với tốc độ khuấy nằm trong khoảng từ 70 đến 120 vòng/phút trong khoảng thời gian từ 20 đến 30 phút thu được hỗn hợp chất phân tán đồng nhất.

Trong bước tạo hỗn hợp pha nền, tiến hành bổ sung chitosan vào bồn khuấy. Quá trình này được thực hiện độc lập nhằm thu pha nền gốc nước chứa chitosan. Bổ sung 20% tổng lượng nước và tiến hành khuấy trộn với tốc độ khuấy nằm trong khoảng từ 100 đến 200 vòng/phút trong khoảng thời gian từ 30 đến 45 phút để hòa tan chitosan, sau đó bổ sung octyl phenol etoxylat và organo silicon và tăng tốc độ khuấy lên 2700 vòng/phút, duy trì trong 30 phút thu được hỗn hợp pha nền bao gồm chitosan được phân tán đều trong nước.

Trong bước tạo hệ nhũ tương dầu trong nước, tiến hành bổ sung từ từ hỗn hợp pha nền vào hỗn hợp chất phân tán. Tiếp đó bổ sung lượng nước còn lại trong điều kiện khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 70 đến 120 vòng/phút trong 30 phút thu được hệ nhũ tương dầu trong nước.

Trong bước tạo hệ vi nhũ dầu trong nước, quá trình này nhằm tạo ra vi nhũ bằng cách chuyển hệ nhũ tương dầu trong nước vào thiết bị khuấy nghiền cắt tuần hoàn. Tiếp đó, tiến hành khuấy với tốc độ nghiền cắt là 2900 vòng/phút. Nhiệt độ được duy trì trong khoảng từ 20 đến 25°C thời gian khoảng 30 phút thu được hệ vi nhũ dầu trong nước.

Trong bước thu chế phẩm bảo vệ thực vật, tiến hành bổ sung vào hệ vi nhũ dầu trong nước các thành phần bao gồm trikali orthophosphat, polydimetyl siloxan, natri carboxymetyl xenluloza, hỗn hợp axit 2-(N-morpholino)etansulfonic và axit dimetylarsinic, duy trì điều kiện khuấy trong 20 phút, sau đó giảm áp để khử khí để ổn định phức hệ. Cuối cùng, thu được chế phẩm bảo vệ thực vật chứa phức hợp axit anacardic-chitosan ở dạng vi nhũ có kích thước khoảng 1 μm và được phân tán đều trong nền nước có độ nhớt nằm trong khoảng từ 1500 đến 2000 mPa.s.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: **Sản xuất** chế phẩm bảo vệ thực vật dạng nhũ tương dầu trong nước của axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều

Nghiền 10 kg vỏ hạt điều khô thành hạt mịn, tiếp đó bổ sung 10 lít etanol để chiết dầu, sau khi lọc loại bỏ chất không tan, dịch chiết được chuyển sang thiết bị cô để loại dung môi trong điều kiện áp suất giảm, thu được phần dầu thô. Phần dầu này được hòa với một thể tích tương đương dung dịch pentyl ete. Tiếp đó khuấy trộn hỗn hợp trong 20 phút, sau khi để ổn định pha, tiến hành lọc, loại bỏ các chất không tan. Phần dịch được bổ sung chất hấp phụ theo tỷ lệ 1:1 rồi khuấy liên tục hỗn hợp trong thời gian 30 phút. Sau khi khuấy xong, để lắng hỗn hợp trong thời gian từ 6 đến 8 giờ, sau đó lọc bỏ chất hấp phụ. Bước tiếp theo là bước chưng cất phân đoạn trong điều kiện áp suất giảm để loại bỏ ete. Kết quả thu được 1,2 lít axit anacardic dạng lỏng, màu nâu.

Sau khi xác định bằng phương pháp sắc ký HPLC, sản phẩm thu được là axit anacardic có độ tinh khiết 98% để làm nguyên liệu sản xuất chế phẩm bảo vệ thực vật.

Rửa sạch 100g vỏ tôm, phơi khô và nghiền thành bột. Cho bột nghiền vỏ tôm vào 100ml dung dịch natri hydroxit 4% ngâm, sau đó khuấy đều và đun sôi trong vòng 1 giờ. Trong lúc đun sôi cần khuấy để bột không bị lắng và cháy sau đó lọc lấy phần bã. Phần bã tiếp tục được cho vào 100ml dung dịch axit clohydric 1%, khuấy đều để axit clohydric tác dụng với canxi thành muối canxi clorua tan, loại bỏ được thành phần canxi trong vỏ tôm. Quá trình này thực hiện ở nhiệt độ thường (25-30°C), trong khoảng 30 phút. Sau đó lọc lấy phần bã. Tiếp theo xử lý phần bã rắn thu được bằng 50ml dung dịch natri hydroxit 2% để phân hủy albumen thành các axit amin hòa tan trong nước. Phần rắn thu được là chitin. Chitin còn lại được rửa bằng nước và cho vào 50ml dung dịch natri hydroxit 50% đun sôi trong vòng 2 giờ để khử nhóm axetyl để thu được chitosan dưới dạng chất rắn. Sau đó tiếp tục rửa lại chitosan bằng 50ml dung dịch natri hydroxit 50% nhiều lần để đạt được độ tinh khiết cao hơn. Phần tạp chất thô không hòa tan trong natri hydroxit được loại bỏ bằng cách lọc qua màng. Chitosan được kết tủa lại bằng 50ml dung dịch natri hydroxit cho đến khi độ pH nằm trong khoảng từ 8 đến 9. Tiếp theo dùng nước rửa kết tủa chitosan ít nhất 3 lần, trường hợp thử nghiệm chất lượng chitosan chưa đạt hàm lượng mong muốn, tiếp tục dùng 50ml dung dịch natri dodexyl sulphat để hòa tan tạp chất protein còn lại, sau đó dùng EDTA để loại bỏ kim loại nặng trong chitosan. Sau đó dùng nước rửa tiếp và sấy khô để thu được chitosan để làm nguyên liệu sản xuất chế phẩm theo sáng chế.

Các thành phần nguyên liệu được chuẩn bị theo bảng sau:

Thành phần	Lượng (g)
Axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều	100
Chitosan	5
chất hoạt động bề mặt	80
Organo silicon	1,5
Trikali orthophosphat	0,2

Polydimethyl siloxan	11
Natri carboxymetyl xenluloza	4
hỗn hợp axit 2-(N-morpholino)etansulfonic và axit dimethylarsinic	2
Nước	749,5

Lấy 100 g axit anacardic chuyển vào bình khuấy, bổ sung 1,5 g organo silicon và 80 g chất hoạt động bề mặt octoxynol-9 vào bình khuấy trộn. Tiến hành mở máy khuấy cho khuấy trộn hỗn hợp cho đồng nhất, tốc độ khuấy được điều chỉnh 70 vòng/phút, thời gian khuấy 30 phút.

Cân 5 g chitosan chuyển vào bồn khuấy phụ, bổ sung một lượng nước vừa đủ khoảng 20% tổng lượng nước vào bồn khuấy. Tiến hành khuấy trộn đều để chitosan hòa tan trong nước, trong đó tốc độ khuấy 100 vòng/phút, thời gian khuấy 30 phút thu được hỗn hợp pha nền bao gồm chitosan phân tán đều trong nước.

Bổ sung đồng thời 70 g octyl phenol etoxylat và 2 g chất chống tạo bọt silicon vào bồn khuấy. Khi bổ sung octyl phenol etoxylat và chất tạo bọt silicon, tốc độ khuấy vẫn được giữ nguyên. Sau khi bổ sung hai thành phần, điều chỉnh tốc độ khuấy lên 2700 vòng/phút và thực hiện khuấy trong 30 phút để thu được hệ nhũ tương dầu trong nước.

Tiếp theo chuyển toàn bộ dung dịch hoạt chất chitosan đã hòa tan vào nước cho từ từ vào bồn khuấy chính chứa hỗn hợp hoạt chất axit anacardic và chất hoạt động bề mặt đã khuấy đều, tốc độ cho vào mở 1/2 van xả vào bồn và tiếp tục cho lượng nước còn lại vào bồn khuấy, tốc độ chậm, van xả nước mở 1/2 van. Sau khi cho hết lượng nước vào tiến hành khuấy khoảng 30 phút, tốc độ khuấy nằm trong khoảng từ 70 đến 120 vòng/phút.

Hỗn hợp sau khi khuấy trộn được nghiền cắt lại bằng máy nghiền cắt tuần hoàn tốc độ cao, tốc độ nghiền khuấy là 2900 vòng/phút, nhiệt độ nước làm lạnh nằm trong khoảng từ 20 đến 25°C, hỗn hợp được nghiền cắt tuần hoàn lên bồn khuấy lại, thời gian nghiền cắt tốc độ cao tuần hoàn khoảng 30 phút.

Tiếp theo, bổ sung vào hệ nhũ tương dầu thu được ở trên 2 g trikali orthophosphat, 11 g polydimethyl siloxan, 4 g natri carboxymetyl xenluloza và 2 g hỗn hợp bao gồm axit 2-(N-morpholino)etansulfonic và axit dimethylarsinic và tiếp tục khuấy khuấy đều và giữ nhiệt độ ổn định trong 20 phút để ổn định phức hệ. Sau đó khử khí bằng cách giảm áp suất để không khí có trong chế phẩm thoát hết ra ngoài để thu được chế phẩm bảo vệ thực vật dạng nhũ tương dầu trong nước của axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều theo sáng chế.

Ví dụ 2. Đánh giá độ ổn định của chế phẩm bảo vệ thực vật dạng nhũ tương dầu trong nước của axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều

Để xác định kích thước và đánh giá độ ổn định của chế phẩm bảo vệ thực vật theo sáng chế. Chế phẩm theo ví dụ 1 được đưa đi kiểm tra các thông số liên quan đến kích thước, độ phân tán, độ nhớt, độ bền trong khi bảo quản (TN). Phương pháp thực hiện để đánh giá được thực hiện theo các phương pháp chuẩn theo TCVN. Cụ thể, để đánh giá độ nhớt, phương pháp đo được thực hiện bằng nhớt kế, để đánh giá độ phân tán và xác định kích thước hạt nhũ tương được thực hiện bằng phương pháp nhiễu xạ tia X. Đánh giá độ bền trong bảo quản được thực hiện thực tế so sánh với mẫu được thực hiện bằng phương pháp thông thường, cụ thể là bằng phương pháp phối trộn với dung môi hữu cơ trước khi phối trộn tạo nhũ (ĐC). Kết quả được tổng hợp trong Bảng 1 sau:

Bảng 1. Kết quả thử nghiệm đánh giá độ ổn định của chế phẩm theo sáng chế

Chỉ số đánh giá	TN	ĐC
Độ nhớt (mPa.s)	1610	3120
Kích thước trung bình hạt nhũ (ban đầu)	1	6
Kích thước trung bình hạt nhũ sau 1 tháng (μm)	1,2	7,2
Kích thước trung bình hạt nhũ sau 3 tháng (μm)	1,5	10,2
Kích thước trung bình hạt nhũ sau 6 tháng (μm)	1,8	20,3

Kết quả trên cho thấy, bằng phương pháp theo sáng chế, độ nhớt được cải thiện rõ rệt, điều này tương ứng với kích thước hạt nhũ được giảm xuống với kích thước trung bình xuống còn $1\mu\text{m}$. Ngoài ra, trong quá trình bảo quản, kích thước hạt trung bình của nhũ tương theo sáng chế thay đổi không đáng kể, ngược lại chế phẩm được bào chế bằng

phương pháp phối với dung môi hữu cơ, kích thước trung bình của hạt nhũ tăng lên đáng kể (1,8 μ m so với 20,3 μ m sau 6 tháng bảo quản) trong điều kiện môi trường.

Ví dụ 3: Đánh giá độc tính của chế phẩm bảo vệ thực vật theo sáng chế

Đánh giá độc tính cấp:

Để thử nghiệm độc tính cấp, tiến hành thử nghiệm trên chuột. Theo đó, chuột bạch khoảng 5 tuần tuổi được chia thành các lô thử nghiệm, mỗi lô gồm 5 con, thử nghiệm theo đường miệng với liều đơn và được lặp lại 3 lần với đối chứng và chế phẩm thu được từ Ví dụ 1. Các công thức được thực hiện với hàm lượng axit anacardic theo thể trọng như sau:

Nhóm đối chứng (ĐC) được cho sử dụng giả dược. Nhóm 1 (CT1) cho sử dụng liều đơn, 20 mg/kg thể trọng. Nhóm 2 (CT2) cho sử dụng 100 mg/kg thể trọng, nhóm 3 (CT3) cho sử dụng với liều 500 mg/kg thể trọng. Nhóm 4 (CT4) cho sử dụng với liều lượng 1000 mg/kg thể trọng. Nhóm 5 (CT5) cho sử dụng với liều lượng 2000 mg/kg thể trọng.

Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm đánh giá về mức độ gây tử vong và tác động đến hành vi, thời gian theo dõi 3 ngày. Kết quả cho thấy, sau 3 ngày các con chuột thử nghiệm không có ghi nhận chuột bị tử vong và chuột vẫn có biểu hiện bình thường. Điều đó có thể cho thấy rằng, chế phẩm bảo vệ thực vật theo sáng chế không gây độc cấp tính cho chuột qua đường miệng.

Đánh giá độc tính trường diễn:

Để đánh giá mức độ gây độc trường diễn trên chuột. Các thử nghiệm được thực hiện như trên, trong đó:

Nhóm đối chứng (ĐC) được cho sử dụng giả dược. Nhóm 1 (CT1) cho sử dụng với liều 20 mg/kg thể trọng. Nhóm 2 (CT2) cho sử dụng 50 mg/kg thể trọng, nhóm 3 (CT3) cho sử dụng với liều 100 mg/kg thể trọng. Nhóm 4 (CT4) cho sử dụng với liều lượng 150 mg/kg thể trọng. Nhóm 5 (CT5) cho sử dụng với liều lượng 200 mg/kg thể trọng. Nhóm 6 (CT6) được thử nghiệm với liều lượng 300 mg/kg thể trọng. Nhóm 7 (CT7) được thử

nghiệm với liều 600 mg/kg thể trọng. Nhóm 8 (CT8) được thử nghiệm với liều lượng 1000 mg/kg thể trọng. Lượng sử dụng 2 lần/ngày, thời gian sử dụng 4 tuần.

Sau 4 tuần, chuột được phân tích các chỉ số về hóa sinh, mô học. Kết quả cho thấy, với những liều lượng dưới 300 mg/kg (CT1 đến CT5) không phát hiện thấy có bất thường về gan, thận, dạ dày cũng như không phát hiện được các biến đổi về hóa sinh, mô học khác. Tuy nhiên, với các công thức CT6-CT8, chuột cái có biểu hiện phản ứng ngộ độc với biểu hiện giảm hematocrit và hemoglobin cấp, đồng thời tăng ure. Tuy nhiên, không ghi nhận có trường hợp bị ngộ độc cấp hoặc tử vong. Ngoài ra, khi xét nghiệm mô học, với CT8 cũng không phát hiện có đột biến.

Kết luận, chế phẩm theo giải pháp an toàn cho động vật thử nghiệm, không gây độc trường diễn kể cả với liều lượng lên tới 200 mg/kg thể trọng trong thời gian lên tới 30 ngày liên tục. Điều này cho thấy chế phẩm thuốc bảo vệ thực vật theo sáng chế an toàn để sử dụng.

Ví dụ 4: Thử nghiệm trừ nấm *Alternaria solani* gây bệnh đốm lá trên cây cà tím

Để đánh giá hiệu quả của chế phẩm bảo vệ thực vật theo giải pháp trong việc trừ nấm *Alternaria solani* gây bệnh đốm lá. Thử nghiệm được tiến hành trên cây cà tím theo quy trình khảo nghiệm thuốc trừ bệnh cho cây họ cà của Cục Bảo vệ thực vật. Các công thức thử nghiệm bao gồm:

- ĐC1: Sử dụng nước (đối chứng âm).
- ĐC2: Thuốc ROVRAL 50WP thương mại với lượng 0,4 kg/ha (16 g/16 lít nước).
- CT1: Chế phẩm thu được từ Ví dụ 1 với lượng 1 lít/ha (40 ml/16 lít nước).
- CT2: Chế phẩm thu được từ Ví dụ 1 với lượng 1,5 lít/ha (60 ml/16 lít nước).

Các công thức được thử nghiệm trên diện rộng theo ô với mỗi công thức thử nghiệm là 300 m²/ô (20x15 m). Dải phân cách giữa các ô 1 m. Thuốc được phun đều trên diện tích, phun ướt toàn bộ cây trồng. Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm tỷ lệ bệnh (TLB, %) và chỉ số bệnh (CSB, %) tại các thời điểm trước khi phun và sau 1, 3, 5, 10 ngày phun. Các phương

pháp đánh giá, tính toán được thực hiện theo tiêu chuẩn khảo nghiệm. Kết quả được thể hiện trên Bảng 2.

Bảng 2. Kết quả thử nghiệm trừ nấm *Alternaria solani* gây bệnh đốm lá trên cây cà tím

CT	TLB (%)		
	TP	5 NSP	10 NSP
ĐC1	5,17	17,65	23,76
ĐC2	5,19	7,25	9,01
CT1	5,08	7,46	8,25
CT2	5,12	6,36	6,88

TP - trước phun; NSP - ngày sau phun

Kết quả trên Bảng 1 cho thấy, đối với các công thức thử nghiệm, đều thấy có tỷ lệ bệnh đốm lá ở 5 ngày sau phun và 10 ngày sau phun thấp hơn ĐC1 (đối chứng âm, sử dụng nước). Đối với CT1 và CT2 thì đều có tỷ lệ bệnh đốm lá, nhưng CT2 có tỷ lệ bệnh đốm lá ở 5, 10 ngày sau phun thuộc thấp hơn công thức phun thuốc CT1 và ĐC2.

Bảng 3. Kết quả thử nghiệm trừ nấm *Alternaria solani* gây bệnh đốm lá trên cây cà tím

CT	CSB (%)		
	TP	5 NSP	10 NSP
ĐC1	1,46	6,54	9,32
ĐC2	1,41	2,52	2,79
CT1	1,46	2,44	2,56
CT2	1,42	2,00	2,21

TP - trước phun; NSP - ngày sau phun

Kết quả trên Bảng cho thấy, đối với các công thức thử nghiệm, đều thấy có chỉ số bệnh đốm lá ở 5 ngày sau phun và 10 ngày sau phun thấp hơn ĐC1 (đối chứng âm, sử dụng nước). Đối với CT1 và CT2 thì đều có chỉ số bệnh đốm lá, nhưng CT2 có tỷ lệ bệnh đốm lá ở 5, 10 ngày sau phun thuộc thấp hơn công thức phun thuốc CT1 và ĐC2.

Ngoài ra, đối với độc tính tác động lên cây, qua theo dõi ở thời điểm 1, 3, 5, 10 ngày sau phun thuốc, các công thức thử nghiệm đều không ảnh hưởng đến cây, các chỉ số thu được tương ứng với ĐC1.

Ví dụ 5: Thử nghiệm trừ nấm *Pseudoperonospora cubensis* gây bệnh giả sương mai trên cây dưa leo

Để đánh giá hiệu quả của chế phẩm bảo vệ thực vật theo giải pháp trong việc trừ nấm *Pseudoperonospora cubensis* gây bệnh giả sương mai. Thử nghiệm được tiến hành trên cây dưa leo theo quy trình khảo nghiệm thuốc trừ bệnh cho dưa leo của Cục Bảo vệ thực vật. Các công thức thử nghiệm bao gồm:

ĐC1: Sử dụng nước (đối chứng âm).

ĐC2: Thuốc ROVRAL 50WP thương mại với lượng 0,4 kg/ha (16 g/16 lít nước).

CT1: Chế phẩm thu được từ Ví dụ 1 với lượng 1 lít/ha (40 ml/16 lít nước).

CT2: Chế phẩm thu được từ Ví dụ 1 với lượng 1,5 lít/ha (60 ml/16 lít nước).

Các công thức được thử nghiệm trên diện rộng theo ô với mỗi công thức thử nghiệm là 300 m²/ô (20x15m). Dải phân cách giữa các ô 1m. Thuốc được phun đều trên diện tích, phun ướt toàn bộ cây trồng. Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm tỷ lệ bệnh (TLB, %) và chỉ số bệnh (CSB, %) tại các thời điểm trước khi phun và sau 1, 3, 5, 10 ngày phun. Các phương pháp đánh giá, tính toán được thực hiện theo tiêu chuẩn khảo nghiệm. Kết quả được thể hiện trên Bảng 4.

Bảng 4. Kết quả thử nghiệm trừ nấm *Pseudoperonospora cubensis* gây bệnh giả sương mai trên cây dưa leo

CT	TLB (%)		
	TP	5 NSP	10 NSP
ĐC1	5,23	16,45	25,67
ĐC2	5,03	8,56	11,28
CT1	5,28	8,55	9,98

CT2	5,35	7,21	8,76
-----	------	------	------

TP - trước phun; NSP - ngày sau phun

Kết quả trên Bảng 4 cho thấy, đối với các công thức thử nghiệm, đều thấy có tỷ lệ bệnh sương mai 5 ngày sau phun và 10 ngày sau phun thấp hơn ĐC1 (đối chứng âm, sử dụng nước). Đối với CT1 và CT2 thì đều có tỷ lệ bệnh đốm lá, nhưng CT2 có tỷ lệ bệnh đốm lá ở 5, 10 ngày sau phun thấp hơn công thức phun thuốc CT1 và ĐC2.

Bảng 5. Kết quả thử nghiệm trừ nấm *Pseudoperonospora cubensis* gây bệnh giả sương mai trên cây dưa leo

CT	CSB (%)		
	TP	5 NSP	10 NSP
ĐC1	1,36	6,84	10,80
ĐC2	1,23	2,97	3,50
CT1	1,42	2,89	3,37
CT2	1,38	2,36	3,00

TP - trước phun; NSP - ngày sau phun

Kết quả trên Bảng 5 cho thấy, đối với các công thức thử nghiệm, đều thấy có chỉ số bệnh đốm lá ở 5 ngày sau phun và 10 ngày sau phun thấp hơn ĐC1 (đối chứng âm, sử dụng nước). Đối với CT1 và CT2 thì đều có chỉ số bệnh đốm lá, nhưng CT2 có tỷ lệ bệnh đốm lá ở 5, 10 ngày sau phun thấp hơn công thức phun thuốc CT1 và ĐC2.

Ngoài ra, đối với độc tính tác động lên cây, qua theo dõi ở thời điểm 1, 3, 5, 10 ngày sau phun thuốc, các công thức thử nghiệm đều không ảnh hưởng đến cây, các chỉ số thu được tương ứng với ĐC1.

Ví dụ 6: Xác định ảnh hưởng của chế phẩm bảo vệ thực vật theo sáng chế đến chất lượng của quả thanh long ruột đỏ

Mục đích của thử nghiệm nhằm đánh giá thời gian bảo quản của thanh long so với các bảo quản thông dụng hiện nay, đánh giá thời gian bệnh xuất hiện trên trái thanh long và đánh giá màu sắc trái, chất lượng trái (hàm lượng đường và độ Brix).

Thời gian xử lý thuốc: xử lý dung dịch giai đoạn sau thu hoạch trái. Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 17 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức theo dõi, đánh giá trên 5 quả, 4 lần nhắc (n=20 quả/nghiệm thức). Mẫu quả của các công thức được bảo quản trong điều kiện nhiệt độ phòng (bảo quản thường). Các mẫu được theo dõi và đánh giá đến thời điểm không còn thời gian tồn trữ.

Bảng 6: Nồng độ và thời gian ngâm mẫu của các nghiệm thức

Nghiệm thức	Nồng độ	Mẫu	Thời gian ngâm
1	Clo (150ppm)	Đối chứng	Không xử lý, bảo quản theo điều kiện các doanh nghiệp đang thực hiện
2	0,50%	Mẫu A	1 phút; 3 phút; 5 phút
3	1,0%		
4	1,50%		
5	2,0%		
6	2,50%		
7	0,50%	Mẫu C	
8	1,0%		
9	1,50%		
10	2,0%		
11	2,50%		

Kết quả thử nghiệm cho thấy sau thời gian tồn trữ 11 ngày sau thu hoạch quả thanh long không có xuất hiện bệnh, điều này thấy được rằng sử dụng sản phẩm hữu cơ sinh học thì thời gian tồn trữ thanh long bằng nhau so với nghiệm thức Đối chứng. Nhưng đến ngày thứ 12 thì một số nghiệm thức bắt đầu xuất hiện bệnh, trong khi đó nghiệm thức xử lý đối với chế phẩm theo sáng chế (chất C) xử lý ngâm ở 3 phút, 5 phút chưa thấy sự xuất hiện hay xuất hiện rất ít của tỷ lệ bệnh (%) và chỉ số bệnh và khác biệt rất có ý nghĩa qua thống kê 1% so với nghiệm thức đối chứng.

Mẫu A: ở thời điểm 12 ngày sau khi xử lý ở nồng độ 3 phút và 5 phút thì sử dụng nồng độ 1%; 1,5%; 2% và 2,5% chưa thấy sự xuất hiện bệnh sau thu hoạch so với các nồng độ còn lại và nghiệm thức đối chứng.

Mẫu C: ở thời điểm 12 ngày sau khi xử lý ở nồng độ 3 phút và 5 phút thì sử dụng nồng độ 0,3%; 0,5%; 1%; 1,5%; thấy sự xuất hiện bệnh sau thu hoạch so với các nồng độ còn lại và nghiệm thức đối chứng. Đặc biệt chất C xử lý ở 2 nồng độ 2% và 2,5% ở cả 3 thời gian là 1 phút, 3 phút, 5 phút và 10 phút thì chưa thấy xuất hiện bệnh so với các nghiệm thức còn lại.

Ngoài ra, thông qua thử nghiệm đã xác định được ở thời điểm sau khi tồn trữ 18 ngày, các nghiệm thức sử dụng đều có sự khác biệt ý nghĩa qua thống kê 1%. Trong đó Mẫu C ở 2 nồng độ 2% và 2,5% và xử lý ở 3 phút, 5 phút có độ Brix cao nhất nằm trong khoảng từ 15,13 đến 15,51%. Đối với màu sắc vỏ quả thì việc xử lý sản phẩm bằng chế phẩm theo sáng chế cho độ sáng vỏ quả và tạo nên màu sắc vỏ quả thanh long đẹp.

Ví dụ 7: Xác định ảnh hưởng của chế phẩm bảo vệ thực vật theo sáng chế đến chất lượng của quả xoài

Mục đích của thử nghiệm nhằm đánh giá thời gian bảo quản của xoài cát chu so với các bảo quản thông dụng hiện nay, đánh giá thời gian bệnh xuất hiện trên quả xoài sau thu hoạch và đánh giá màu sắc trái, chất lượng trái (hàm lượng đường và độ Brix).

Thời gian xử lý thuốc: xử lý dung dịch giai đoạn sau thu hoạch trái. Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 11 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức theo dõi, đánh giá trên 5 quả, 4 lần nhắc (n=20 quả/nghiệm thức). Mẫu quả của các công thức được bảo quản trong điều kiện nhiệt độ phòng (bảo quản thường). Các mẫu được theo dõi và đánh giá đến thời điểm không còn thời gian tồn trữ.

Bảng 7: Nồng độ và thời gian ngâm mẫu của các nghiệm thức

Nghiệm thức	Nồng độ	Mẫu	Thời gian ngâm
-------------	---------	-----	----------------

1	Clo (150ppm)	Đối chứng	Không xử lý, bảo quản theo điều kiện các doanh nghiệp đang thực hiện
2	0,50%	Mẫu A	1 phút; 3 phút; 5 phút
3	1,0%		
4	1,50%		
5	2,0%		
6	2,50%		
7	0,50%	Mẫu C	
8	1,0%		
9	1,50%		
10	2,0%		
11	2,50%		

Kết quả thử nghiệm cho thấy sau thời gian tồn trữ 16 ngày sau thu hoạch quả xoài không có xuất hiện bệnh, điều này thấy được rằng sử dụng sản phẩm hữu cơ sinh học thì thời gian tồn trữ xoài bằng nhau so với nghiệm thức Đối chứng. Nhưng đến ngày thứ 18 thì một số nghiệm thức bắt đầu xuất hiện bệnh, trong khi đó nghiệm thức xử lý sản phẩm hữu cơ sinh học (Mẫu C) xử lý ngâm ở 3 phút, 5 phút có tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh thấp và khác biệt rất có ý nghĩa qua thống kê 1% so nghiệm thức đối chứng.

Mẫu A: ở thời điểm 18 ngày sau khi xử lý ở nồng độ 3 phút và 5 phút thì sử dụng nồng độ 2% và 2,5% có tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh thấp khác biệt có ý nghĩa so với nghiệm thức còn lại và nghiệm thức đối chứng.

Mẫu C: ở thời điểm 18 ngày sau khi xử lý ở nồng độ 3 phút và 5 phút thì sử dụng nồng độ 1,5%; 2%; 2,5% thấy sự xuất hiện bệnh sau thu hoạch thấp hơn so với các nồng độ còn lại và nghiệm thức đối chứng. Đặc biệt Mẫu C xử lý ở 2 nồng độ 2% và 2,5% ở cả 3 thời gian là 1 phút, 3 phút, 5 phút có tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh thấp.

Ngoài ra, thông qua thử nghiệm đã xác định được ở thời điểm sau khi tồn trữ 21 ngày, các nghiệm thức sử dụng đều có sự khác biệt ý nghĩa qua thống kê 1%. Trong đó chất C ở

2 nồng độ 2% và 2,5% và xử lý ở 1 phút; 3 phút, 5 phút có độ Brix cao nhất nằm trong khoảng từ 17,13 đến 17,89 %.

Như vậy, có thể sử dụng mẫu A ở nồng độ 2,5% và mẫu C ở nồng độ 1%; 1,5%; 2% và 2,5%, ngâm quả xoài cát chu từ 1 phút; 3 phút đến 5 phút để giảm được chỉ số bệnh và tỷ lệ bệnh trong thời gian tồn trữ.

Ví dụ 8: Xác định ảnh hưởng của chế phẩm bảo vệ thực vật theo sáng chế đến chất lượng của quả chuối:

Mục đích của thử nghiệm nhằm đánh giá thời gian bảo quản quả chuối so với các bảo quản thông dụng hiện nay, đánh giá thời gian bệnh xuất hiện trên quả chuối sau thu hoạch và đánh giá màu sắc trái, chất lượng trái (hàm lượng đường và độ Brix).

Thời gian xử lý thuốc: xử lý dung dịch giai đoạn sau thu hoạch trái. Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 11 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức theo dõi, đánh giá trên 6 nải chuối, 4 lần nhắc (n=20 quả/nghiệm thức). Mẫu quả của các công thức được bảo quản trong điều kiện nhiệt độ phòng (bảo quản thường). Các mẫu được theo dõi và đánh giá đến thời điểm không còn thời gian tồn trữ.

Bảng 8: Nồng độ và thời gian ngâm mẫu của các nghiệm thức

Nghiệm thức	Nồng độ	Mẫu	Thời gian ngâm
1	Clo (150ppm)	Đối chứng	Không xử lý, bảo quản theo điều kiện các doanh nghiệp đang thực hiện
2	0,50%	Mẫu A	1 phút; 3 phút; 5 phút
3	1,0%		
4	1,50%		
5	2,0%		
6	2,50%		
7	0,50%	Mẫu C	
8	1,0%		
9	1,50%		
10	2,0%		
11	2,50%		

Kết quả thử nghiệm cho thấy sau thời gian tồn trữ 16 ngày thì các nghiệm thức bắt đầu xuất hiện bệnh khá cao ở các nghiệm thức và nồng độ khác nhau giữa sản phẩm sinh học Mẫu A và Mẫu C có tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh khác nhau và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng.

Mẫu A: ở thời điểm 16 ngày sau khi xử lý ở nồng độ 3 phút phút thì ở các nồng độ sử dụng nồng độ thấy sự xuất hiện bệnh thấp nhất là có tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh trên 6,68% so với nghiệm thức đối chứng 8,25%.

Mẫu C: ở thời điểm 16 ngày sau khi xử lý ở nồng độ 1 phút; 3 phút và 5 phút thì sử dụng nồng độ càng cao cho thấy sự xuất hiện bệnh càng thấp như ở 1 phút (2% và 2,5%) có tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh 16,81% so với nghiệm thức đối chứng 18,51%, nghiệm thức xử lý 2% và 2,5% ngâm ở 3 phút có tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh thấp và khác biệt có ý nghĩa qua thống kê.

Ngoài ra, ở thời điểm sau khi tồn trữ 17 ngày các nghiệm thức không có sự khác biệt về độ Brix so với nghiệm thức đối chứng. Đối với màu sắc vỏ quả thì không đánh giá được

vì đến 17 ngày, quả quá chín và trên vỏ quả chuối có nhiều đốm đen máy không đọc được số liệu.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Chế phẩm bảo vệ thực vật theo sáng chế được chứng minh không gây độc cho động vật thử nghiệm và có thể được sử dụng để phòng trừ nhiều loại vi khuẩn và nấm có hại cho thực vật. Đây là một loại chế phẩm bảo vệ thực vật có nguồn gốc từ thực vật nên được đánh giá là an toàn cho người sử dụng. Trên cơ chế tác động của axit anacardic là gây gián đoạn sinh lý cơ chế sinh hóa của màng tế bào, làm tế bào vi khuẩn bị phá hủy (chủ yếu là khuẩn Gram +), axit anacardic còn gây ức chế nảy mầm bào tử vô tính và tăng trưởng sợi nấm trong nấm, chế phẩm chứa axit anacardic ở dạng nhũ tương dầu trong nước có kích thước hạt nhũ nhỏ, khoảng 1 µm và còn được phân tán đều, ổn định trong pha nước nên có bề mặt hoạt động lớn, tác động hiệu quả đến sinh vật gây hại. Ngoài ra, chế phẩm bảo vệ thực vật theo sáng chế không có bất kỳ tác động xấu nào đến đất và các sinh vật có lợi sống trong đất, không gây rủi ro cho hệ sinh thái.

Quy trình theo sáng chế cho phép sản xuất được chế phẩm bảo vệ thực vật trên cơ sở axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều. Điều này vừa tận dụng được nguồn phế liệu nông nghiệp, vừa tạo ra được chế phẩm bảo vệ thực vật an toàn cho động vật, có tác động tương đương với các chế phẩm bảo vệ thực vật có nguồn gốc hóa học độc hại được sử dụng trên thị trường.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm bảo vệ thực vật dạng nhũ tương dầu trong nước của axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều có thành phần tính theo % khối lượng sau:

axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều:	8-10
chitosan:	0,4-0,6
chất hoạt động bề mặt:	7-9
organo silicon:	1-2
trikali orthophosphat:	0,1-0,3
polydimetyl siloxan:	1,0-1,2
natri carboxymetyl xenluloza:	0,3-0,5
hỗn hợp axit 2-(N-morpholino)etansulfonic và axit dimethylarsinic:	0,1-0,3; và
nước:	vừa đủ 100;

trong đó:

chitosan thu được bằng cách N-deacetyl hoá chitin từ vỏ tôm trong môi trường dung dịch kiềm NaOH;

chất hoạt động bề mặt được chọn từ nhóm bao gồm alkyl polyoxyetylen ete, octoxynol-9, polyethylene glycol tert-octylphenyl ete hoặc hỗn hợp của chúng; và

axit anacardic tồn tại ở dạng vi nhũ có kích thước khoảng 1 μm và được phân tán đều trong nền nước đã được phân tán chitosan tạo hệ nhũ tương phức hợp axit anacardic-chitosan ổn định có độ nhớt nằm trong khoảng từ 1500 đến 2000 mPa.s.

2. Quy trình sản xuất chế phẩm bảo vệ thực vật dạng nhũ tương dầu trong nước của axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều theo điểm 1, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) chuẩn bị nguyên liệu, trong đó các thành phần được chuẩn bị theo tỷ lệ thành phần tính theo % khối lượng như sau:

axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều:	8-10
chitosan:	0,4-0,6
chất hoạt động bề mặt:	7-9
organo silicon:	1-2
trikali orthophosphat:	0,1-0,3

polydimetyl siloxan:	1,0-1,2
natri carboxymetyl xenluloza:	0,3-0,5
hỗn hợp axit 2-(N-morpholino)etansulfonic và axit dimetylarsinic:	0,1-0,3; và
nước:	vừa đủ 100;

b) tạo hỗn hợp chất phân tán bằng cách bổ sung axit anacardic được chiết từ vỏ hạt điều, organo silicon và chất hoạt động bề mặt vào bồn khuấy trộn rồi tiến hành trộn đều với tốc độ khuấy nằm trong khoảng từ 70 đến 120 vòng/phút trong khoảng thời gian từ 20 đến 30 phút thu được hỗn hợp chất phân tán đồng nhất;

c) tạo hỗn hợp pha nền bằng cách bổ sung chitosan vào bồn khuấy, tiếp đó bổ sung 20% tổng lượng nước và tiến hành khuấy trộn với tốc độ khuấy nằm trong khoảng từ 100 đến 200 vòng/phút, bổ sung octyl phenol etoxylat và organo silicon và tăng tốc độ khuấy lên 2700 vòng/phút, duy trì trong 30 phút thu được hỗn hợp pha nền bao gồm chitosan được phân tán đều trong nước;

d) tạo hệ nhũ tương dầu trong nước bằng cách bổ sung từ từ hỗn hợp pha nền vào hỗn hợp chất phân tán, tiếp đó bổ sung lượng nước còn lại trong điều kiện khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 70 đến 120 vòng/phút trong 30 phút thu được hệ nhũ tương dầu trong nước;

e) tạo hệ vi nhũ dầu trong nước bằng cách chuyển hệ nhũ tương dầu trong nước vào thiết bị khuấy nghiền cắt tuần hoàn, tiến hành khuấy với tốc độ nghiền cắt là 2900 vòng/phút, nhiệt độ được duy trì trong khoảng từ 20 đến 25°C thời gian khoảng 30 phút thu được hệ vi nhũ dầu trong nước; và

f) thu chế phẩm bảo vệ thực vật bằng cách bổ sung vào hệ vi nhũ dầu trong nước các thành phần bao gồm trikali orthophosphat, polydimetyl siloxan, natri carboxymetyl xenluloza, hỗn hợp axit 2-(N-morpholino)etansulfonic và axit dimetylarsinic, duy trì điều kiện khuấy trong 20 phút, sau đó giảm áp để khử khí, thu được chế phẩm bảo vệ thực vật chứa phức

hợp axit anacardic-chitosan ở dạng vi nhũ có kích thước khoảng 1 μm và được phân tán đều trong nền nước có độ nhớt nằm trong khoảng từ 1500 đến 2000 mPa.s.