



(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)



1-0036318

(51)^{2020.01} A01N 65/00; A01N 65/24; A01N 65/44; (13) B
A01N 65/22

(21) 1-2020-05028

(22) 01/09/2020

(45) 25/07/2023 424

(43) 25/11/2020 392A

(73) Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
(VN)

A20, Số 18c, đường Hoàng Quốc Việt, quận Cầu Giấy, thành phố Hà Nội

(72) Lưu Đàm Ngọc Anh (VN).

(54) CHẾ PHẨM XUA ĐUỐI VÀ PHÒNG TRỪ CÔN TRÙNG

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng. Cụ thể, sáng chế đề xuất chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng bao gồm tinh dầu cây giổi chanh chiếm từ 10% đến 30% khối lượng chế phẩm, cồn etanol 70 độ chiếm từ 68% đến 85% khối lượng chế phẩm và dầu nền chiếm từ 2% đến 5% khối lượng chế phẩm. Sáng chế cũng đề xuất chế phẩm chứa hỗn hợp tinh dầu gồm giổi chanh, trầm, bạc hà, quế và sả nhằm xua đuổi và phòng chống côn trùng, đặc biệt là muỗi *Aedes aegypti*. Chế phẩm được sử dụng dưới dạng xịt, bôi lên da, rất an toàn với người và động vật, không gây độc hại và thân thiện với môi trường.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng, cụ thể như muỗi, kiến, gián, v.v..

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Côn trùng là lớp chiếm số lượng lớn nhất trong giới động vật, chiếm gần 80% các loài động vật trên trái đất, trong đó 10.000 loài được coi có hại hoặc gây nguy hiểm cho con người. Chúng thường gây nguy hiểm chia ra hai nhóm: trong y tế là các vector truyền bệnh cho người và động vật; trong nông nghiệp: chúng phá hoại mùa màng (50% nguyên nhân gây mất mùa lúa là do côn trùng, gây thất thu 1/3 vụ ngô, và gần 1/5 mùa lúa mỳ) (theo Riba và Silvy, 1989). Các loài côn trùng gây hại phổ biến quanh chúng ta như ruồi, muỗi, kiến, gián, mối... Chúng không những gây nhiều phiền toái cho cuộc sống con người khi chúng xuất hiện với số lượng lớn, mà còn là tác nhân trung gian lan truyền các mầm bệnh nguy hiểm cho con người và động vật... Trong số các loài côn trùng đóng vai trò là tác nhân truyền bệnh, muỗi là tác nhân nguy hiểm nhất, chúng từng là tác nhân lan truyền nguồn bệnh để gây ra các dịch bệnh lớn trên thế (sốt rét, sốt xuất huyết, viêm gan B,...). Do vậy, từ lâu trên thế giới đã hình thành và phát triển hướng nghiên cứu nhằm tìm kiếm các chất (cả tự nhiên và tổng hợp) nhằm tiêu diệt hoặc xua đuổi côn trùng.

Trong hệ thống phân loại thuốc theo hệ thống Giải phẫu – Điều trị – Hoá học, gọi tắt là hệ thống phân loại theo mã ATC (Anatomical – Therapeutic – Chemical Code) của Tổ chức Y tế thế giới (WHO) có hai nhóm hợp chất liên quan, đó là thuốc diệt côn trùng (Insecticide) và thuốc xua côn trùng (Repellent products).

Nhiều thế kỷ trước khi mà các thuốc diệt côn trùng tổng hợp còn chưa được tạo ra thì con người đã biết dùng cây cỏ, hoa lá để diệt côn trùng. Ví dụ: hoa khô của cây *Chrysanthemum cinerariaefolium*, lá cây thuốc lá và của nhiều loài cây có chứa

hợp chất nicotine khác. Chất rotenon (chiết từ *Derris* và nhiều loài thực vật khác) có cấu trúc là flavonoid có tác dụng mạnh với hầu hết côn trùng, đặc biệt là các loại bọ cánh cứng (Beetles), sâu bướm (Catepillars) và bọ cây (Aphids). Một thuận lợi lớn là rotenon ít độc với động vật có vú hơn côn trùng. Tuy nhiên, nó cũng không hoàn toàn vô hại với con người.

Ngoài các hợp chất diệt côn trùng/thuốc trừ sâu (Insecticide) còn có một nhóm hợp chất có tác dụng xua côn trùng (Repellent) làm cho côn trùng tránh xa những nơi có mặt của các hợp chất này. Có 2 nguồn gốc của nhóm hợp chất có tác dụng xua côn trùng là tổng hợp và thiên nhiên.

Mặc dù các chất xua côn trùng loài người đã biết từ lâu nhưng nghiên cứu một cách có hệ thống các chất này từ Đại chiến thế giới II. Việc nghiên cứu các chất phòng trừ côn trùng được phát triển mạnh mẽ sau chiến tranh thế giới II. Đến năm 1970, pyrethroid mới được tổng hợp lần đầu tiên, và vấp phải sự kháng thuốc, 15 năm sau đó các nghiên cứu tập trung việc tìm ra công thức phân tử có khả năng hạn chế côn trùng và được chiết xuất từ thực vật. Từ năm 1942-1945 Trung tâm nghiên cứu về côn trùng ở Orlando thuộc Bộ quốc phòng Mỹ đã thử tác dụng xua côn trùng của 7000 chất. Gantt (Anh) 1935-1944 đã nghiên cứu các chất diol và tìm ra Rutgers 612 có tác dụng xua côn trùng mạnh. Viện côn trùng Orlando đã tổng hợp được 65 chất của diethylamid (Diethylamide). Gramett, Hanes, và công ty Mc-lauchlin gormleixing Company đã tổng hợp một số dẫn xuất của alcon, sunfoxide có tác dụng xua muỗi tốt. Đặc biệt chất DMP và DETA đã được nhiều nước sản xuất và sử dụng. Ở Liên Xô DMP và DETA đã bào chế thành thuốc mỡ. Tại Đức DETA đã được bào chế thành dạng thuốc bôi và khí dung thương mại được sử dụng là “AUTAN” chống muỗi và rệp. DETA cũng được trang bị cho hải quân Mỹ với tên gọi là DEET. Những thuốc trên do độc tính cao nên chỉ dùng trên quần áo, đồ dùng mà không dùng trực tiếp lên da. Những hợp chất hữu cơ tổng hợp có thể diệt côn trùng trong thời gian ngắn, nhưng có độc tính mạnh, ảnh hưởng không tốt tới sức khỏe con người, nhất là trẻ em. Vì vậy, trong những năm gần đây các nhà khoa học trên thế giới đã đi theo

hướng nghiên cứu, tìm kiếm các hợp chất tự nhiên có trong thực vật để sử dụng với mục đích xua đuổi muỗi và các côn trùng gây hại như kiến, gián, mối,...

Kết quả nghiên cứu cho thấy nhiều loài cây tinh dầu đáp ứng được mục tiêu này; về thành phần hóa học trong tinh dầu lá cây sả Ấn Độ, sả chanh, màng tang, bạc hà,... có chứa các chất chính: menthol, camphor, linalool, xitronelal, xitronelol, α -xitrala, β -xitrala 1,8xineol, ... là những thành phần chất được chứng minh có khả năng xua đuổi một số loài côn trùng (muỗi, gián,...). Mặc dù việc phát hiện các vật liệu thực vật thay thế không độc hại đang được tiến hành, nhưng việc tìm ra và phát triển các loại chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng mới đáp ứng được các yêu cầu phức tạp vẫn còn thiếu.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Do vậy, mục đích của sáng chế là đề xuất một chế phẩm mới có nguồn gốc thảo mộc, có tác dụng phòng trừ và xua đuổi côn trùng, đặc biệt là muỗi *Aedes aegypti* là tác nhân trung gian lan truyền các bệnh nguy hiểm cho con người và động vật như sốt xuất huyết Dengue, sốt vàng da, virus Zika,... nhưng vẫn an toàn cho da của trẻ em và người lớn, và thân thiện với môi trường. Chế phẩm này được điều chế từ tinh dầu cây giổi chanh (*Magnolia citrata*), có chứa các thành phần chính như: linalool, sabinen (sabinene), xitronelal (citronelal), neral, geranial, xitrala (citral) đã được thế giới chứng minh có khả năng xua đuổi côn trùng. Việc phát hiện các chất này có trong tinh dầu cây giổi chanh chưa từng đề cập ở giải pháp đã biết nào. Sự kết hợp của các thành phần này trong tinh dầu, cùng với sự phối hợp với các tinh dầu phổ biến như quế, sả, bạc hà, trà để tạo nên chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng cũng là lần đầu tiên được nghiên cứu trên thế giới.

Để đạt được mục đích nêu trên, theo một phương án của sáng chế, chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng bao gồm tinh dầu cây giổi chanh chiếm từ 10% đến 30% khối lượng chế phẩm, cồn etanol 70 độ chiếm từ 68% đến 85% khối lượng chế phẩm và dầu nền chiếm từ 2% đến 5% khối lượng chế phẩm, trong đó:

tinh dầu cây giổi chanh có chứa: linalool chiếm từ 8% đến 25% khối lượng tinh dầu, sabinen chiếm từ 5% đến 20% khối lượng tinh dầu, xitronelal chiếm từ 5% đến 20% khối lượng tinh dầu, neral chiếm từ 10% đến 25% khối lượng tinh dầu, geranial chiếm từ 10% đến 25% khối lượng tinh dầu và xitrala chiếm từ 8% đến 40% khối lượng tinh dầu.

Theo một khía cạnh của sáng chế, tinh dầu cây giổi chanh được điều chế từ lá của cây giổi chanh, trong đó: linalool chiếm từ 10% đến 15% khối lượng tinh dầu, xitronelal chiếm từ 8% đến 15% khối lượng tinh dầu, xitrala a chiếm từ 10% đến 20% khối lượng tinh dầu, xitrala chiếm từ 8% đến 20% khối lượng tinh dầu.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, tinh dầu cây giổi chanh được điều chế từ lá của cây giổi chanh, trong đó: linalool chiếm 11,79% khối lượng tinh dầu, xitronelal chiếm 10,51% khối lượng tinh dầu, xitrala a chiếm 13,51% khối lượng tinh dầu, xitrala b chiếm 10,91% khối lượng tinh dầu.

Theo khía cạnh khác nữa của sáng chế, tinh dầu cây giổi chanh được điều chế từ áo hạt của cây giổi chanh, trong đó: linalool chiếm từ 15% đến 25% khối lượng tinh dầu, sabinen chiếm từ 10% đến 15% khối lượng tinh dầu, xitronelal chiếm từ 10% đến 20% khối lượng tinh dầu, neral chiếm từ 10% đến 20% khối lượng tinh dầu, geranial chiếm từ 10% đến 20% khối lượng tinh dầu.

Theo khía cạnh khác nữa của sáng chế, tinh dầu cây giổi chanh được điều chế từ áo hạt của cây giổi chanh, trong đó: linalool chiếm 19,1% khối lượng tinh dầu, sabinen chiếm 12,4% khối lượng tinh dầu, xitronelal chiếm 14,1% khối lượng tinh dầu, neral chiếm 13,5% khối lượng tinh dầu, và geranial chiếm 15,7% khối lượng tinh dầu.

Theo khía cạnh khác nữa của sáng chế, tinh dầu cây giổi chanh được điều chế bằng phương pháp chưng cất hơi nước.

Theo khía cạnh khác nữa của sáng chế, chế phẩm này ở dạng lỏng, hoặc ngâm tắm.

Theo khía cạnh khác nữa của sáng chế, chế phẩm ở dạng xịt để bôi lên da người.

Theo khía cạnh khác nữa của sáng chế, dầu thực vật là dầu dừa hoặc dầu hạt hướng dương.

Theo phương án khác của sáng chế, chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng bao gồm hỗn hợp tinh dầu chiếm từ 20% đến 50% khối lượng của chế phẩm và cồn etanol 70 độ chiếm từ 48% đến 75% khối lượng của chế phẩm và dầu nền chiếm từ 2% đến 5% khối lượng chế phẩm, trong đó hỗn hợp tinh dầu bao gồm:

tinh dầu sả chanh chiếm từ 30% đến 60% khối lượng hỗn hợp tinh dầu,

tinh dầu tràm chiếm từ 18% đến 27% khối lượng hỗn hợp tinh dầu,

tinh dầu bạc hà chiếm từ 10% đến 20% khối lượng hỗn hợp tinh dầu,

tinh dầu cây giổi chanh chiếm từ 10% đến 20% khối lượng hỗn hợp tinh dầu,

tinh dầu quế chiếm từ 2% đến 3% khối lượng hỗn hợp tinh dầu.

Theo khía cạnh khác nữa của sáng chế, chế phẩm này ở dạng lỏng, hoặc ngâm tắm.

Theo khía cạnh khác nữa của sáng chế, chế phẩm ở dạng xịt để bôi lên da người.

Theo khía cạnh khác nữa của sáng chế, chế phẩm có chứa dầu nền là dầu thực vật.

Theo khía cạnh khác nữa của sáng chế, dầu thực vật là dầu dừa hoặc dầu hạt hướng dương.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả một cách chi tiết hơn thông qua các phương án cụ thể được ưu tiên theo sáng chế. Nhưng cần hiểu rằng, sáng chế không bị giới hạn bởi các phương án cụ thể này.

Chi Giỏi (*Magnolia* L.) thuộc họ Ngọc Lan (Magnoliaceae), trên thế giới có khoảng 70 loài. Tại Việt Nam, theo Nguyễn Tiến Bân và nnk (2003), chi Giỏi - *Magnolia* L. có 18 loài và 1 thứ, các loài trong chi này thường phân bố ở khu vực núi cao như: Hà Giang, Sơn La, Lai Châu, Lào Cai, v.v... Loài Giỏi chanh/Giỏi xanh quả to (*Magnolia citrata* (Noot. & Chalermglin) Q.N.Vu & N.H. Xia.) được ghi nhận có ở Việt Nam và Thái Lan. Tại Việt Nam loài Giỏi chanh phân bố tự nhiên ở các tỉnh: Gia Lai (K'Bang: Kon Hà Nừng), Hà Giang (Quản Bạ: Tùng Vài), Lâm Đồng (Đam Rông: Đạ K'Nàng). Một số loài trong chi Giỏi được trồng phổ biến để lấy hương liệu và làm cảnh. Hoa của *Michelia*, *Magnolia* được kết thành vòng hoa, thờ cúng, hay để trong túi áo làm thơm quần áo với mùi hương dễ chịu. Tại Thái Lan, một số bộ phận trong cây của *Michelia*, *Magnolia* được dùng làm hương liệu và nguyên liệu cho mỹ phẩm. Ở Indonesia, vỏ thân của cây này được đun uống chữa hạ sốt. Theo Đỗ Tất Lợi (2000), các loài trong chi Giỏi được dùng làm thuốc chữa đau bụng, ăn uống không tiêu, xoa bóp khi đau nhức, tê thấp. Gỗ Giỏi thường có màu vàng, có mùi thơm, được ưa chuộng sử dụng trong đóng đồ gia dụng, đồ thủ công mỹ nghệ. Đến nay, ở Việt Nam đã có một số công bố về thành phần hóa học của một số loài trong chi Giỏi - *Magnolia* L., chủ yếu phân tích thành phần tinh dầu trong hoa của một số loài như: Ngọc lan hoa trắng (*Michelia alba* D.C.), Ngọc lan hoa vàng (*Michelia champaca* L.). Trên thế giới đây là lần đầu tiên thành phần hóa học cũng như tác dụng sinh học loài *Magnolia citrata* được nghiên cứu.

Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo sáng chế được điều chế từ tinh dầu của cây giỏi chanh. Tinh dầu theo sáng chế được điều chế từ tất cả các phần của cây giỏi chanh như: lá, thân, vỏ, gỗ, áo hạt ...

Các chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo sáng chế được điều chế từ đơn chất tinh dầu của cây giổi chanh hoặc hỗn hợp có chứa tinh dầu của cây giổi chanh, cụ thể là các thành phần: linalool, sabinen, xitronelal, neral, geranial, xitrala.

Theo một phương án của sáng chế, chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo sáng chế bao gồm tinh dầu cây giổi chanh chiếm từ 10% đến 30% khối lượng chế phẩm, còn etanol 70 độ chiếm từ 68% đến 85% khối lượng chế phẩm và dầu nền chiếm từ 2% đến 5% khối lượng chế phẩm, trong đó:

tinh dầu cây giổi chanh chứa từ 8% đến 25% linalool theo khối lượng tinh dầu, từ 5% đến 20% sabinen theo khối lượng tinh dầu, từ 5% đến 20% xitronelal theo khối lượng tinh dầu, từ 10% đến 25% neral theo khối lượng tinh dầu, từ 10% đến 25% geranial theo khối lượng tinh dầu và từ 8% đến 40% xitrala theo khối lượng tinh dầu. Các thành phần này đã được thể giới chứng minh có khả năng xua đuổi và phòng trừ côn trùng.

Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo sáng chế trong đó tinh dầu được điều chế từ lá của cây giổi chanh tốt hơn là chứa từ 10% đến 15% linalool b theo khối lượng tinh dầu, tốt nhất là 11,79% linalool b theo khối lượng tinh dầu, từ 8% đến 15% xitronelal theo khối lượng tinh dầu, tốt nhất là 10,51% xitronelal theo khối lượng tinh dầu, từ 10% đến 20% xitrala a theo khối lượng tinh dầu, tốt nhất là 13,51% xitrala a theo khối lượng tinh dầu, từ 8% đến 20% xitrala b theo khối lượng tinh dầu, tốt nhất là 10,91% xitrala b theo khối lượng tinh dầu.

Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng trong đó tinh dầu được điều chế từ áo hạt của cây giổi chanh tốt hơn là chứa từ 15% đến 25% linalool theo khối lượng tinh dầu, tốt nhất là 19,1% linalool theo khối lượng tinh dầu, từ 10% đến 15% sabinen theo khối lượng tinh dầu, tốt nhất là 12,4% sabinen theo khối lượng tinh dầu, từ 10% đến 20% xitronelal theo khối lượng tinh dầu, tốt nhất là 14,1% xitronelal theo khối lượng tinh dầu, từ 10% đến 20% neral theo khối lượng tinh dầu, tốt nhất là 13,5%

neral theo khối lượng tinh dầu, từ 10% đến 20% geranial theo khối lượng tinh dầu, tốt nhất là 15,7% geranial theo khối lượng tinh dầu.

Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo sáng chế ở dạng lỏng có thể phun được, hoặc ngâm tẩm. Chế phẩm theo sáng chế thích hợp nhất là được điều chế ở dạng phun xịt. Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo sáng chế tốt nhất là được phun lên da người, mặc dù chế phẩm cũng có thể được phun lên áo quần, lông hoặc da của chó, mèo, ngựa, hoặc trâu, bò, hoặc trên các tấm rèm, thảm trong nhà để xua đuổi côn trùng.

Phương pháp chưng cất để thu được các hợp chất từ cây giổi chanh là phương pháp chưng cất lôi cuốn theo hơi nước có hồi lưu của Bộ Y tế (2002). Hàm lượng tinh dầu được xác định trên thiết bị chưng cất tinh dầu có hồi lưu của Hiệp hội Dược phẩm Châu Âu theo phương pháp chưng cất lôi cuốn theo hơi nước có hồi lưu của Bộ Y tế (2002), cụ thể như sau: Cân 50g nguyên liệu đã cắt nhỏ cho vào bình cầu 500ml, cho 200ml nước cất vào bình sao cho thể tích nước trong bình không vượt quá 2/3 thể tích của bình cầu. Lắp bình cầu vào hệ thống gồm ống hứng tinh dầu và ống sinh hàn. Bình cầu được đun cách nhiệt để nhiệt độ tỏa đều, ổn định hơn và không gây vỡ bình cầu khi đun quá lâu. Điều chỉnh nhiệt độ của bếp để tránh sôi mạnh. Tiến hành chưng cất trong 3-4h. Ngừng chưng cất sau 15 phút, đọc thể tích tinh dầu thu được ở phần chia vạch.

Theo đó, chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo sáng chế này có tinh dầu chứa các thành phần linalool, sabinen, xitronelal, neral, geranial và xitrala, trong đó tinh dầu cây giổi chanh nguyên chất pha trong cồn 70 độ. Việc định tính và định lượng thành phần tinh dầu được thực hiện bằng phương pháp sắc ký khí - khối phổ liên hợp (GC/MS) trên máy THERMO SCIENTIFIC, Trace 1310 ghép nối với detector ITQ 900 (Thermo, bẫy ion).

Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo sáng chế được qua các thử nghiệm của tác giả sáng chế đã chứng minh là có tác dụng đẩy lùi côn trùng gây hại. Ngoài ra chế phẩm theo sáng chế được chứng minh tính an toàn đối với con người.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề xuất chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo sáng chế kết hợp tinh dầu giổi chanh với tinh dầu trầm, bạc hà, quế và sả thành hỗn hợp có tác dụng xua đuổi và phòng trừ côn trùng như muỗi, kiến, gián. Các loại tinh dầu này có thể trộn vào hỗn hợp theo bất kỳ thứ tự nào. Tất cả các loại tinh dầu của chế phẩm hoạt động cùng nhau có tác dụng xua đuổi và phòng trừ côn trùng.

Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo sáng chế tốt hơn là phun vào các khu vực chậu cây, ngăn muỗi đẻ trứng, tốt nhất là được áp dụng cho các gia đình có trẻ em, đối tượng nhạy cảm với các chất hóa học như DEET. Phương thức hiện tại tốt nhất là đổ vào chai xịt, tốt nhất là phun sương mịn được phun lên da người dùng. Chế phẩm theo sáng chế có hiệu quả trong việc đuổi muỗi, ruồi, mối, kiến, gián và bọ chét, bọ nhậy trong số các loài côn trùng khác trong khu vực được phun. Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo sáng chế được sử dụng tốt nhất đối với xua đuổi muỗi *Aedes aegypti*.

Chế phẩm theo sáng chế cũng có hiệu quả trong việc đẩy lùi côn trùng từ các loài vật nuôi như chó, mèo, ngựa hoặc trâu bò.

Cụ thể, theo một phương án ưu tiên này, chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo sáng chế bao gồm hỗn hợp tinh dầu chiếm từ 20% đến 50% khối lượng của chế phẩm và cồn ethanol 70 độ chiếm từ 48% đến 75% khối lượng của chế phẩm và dầu nền chiếm từ 2% đến 5% khối lượng chế phẩm, trong đó hỗn hợp tinh dầu bao gồm:

tinh dầu sả chanh chiếm từ 30% đến 60% khối lượng hỗn hợp tinh dầu,

tinh dầu trầm chiếm từ 18% đến 27% khối lượng hỗn hợp tinh dầu,

tinh dầu bạc hà chiếm từ 10% đến 20% khối lượng hỗn hợp tinh dầu,

tinh dầu cây giổi chanh chiếm từ 10% đến 20% khối lượng hỗn hợp tinh dầu, tinh dầu quế chiếm từ 2% đến 3% khối lượng hỗn hợp tinh dầu.

Chế phẩm theo sáng chế bao gồm tinh dầu sả chanh, *Cymbopogon citratus*, có nguồn gốc từ Ấn Độ. Tinh dầu có màu đậm nhẹ, nhẹ hơn nước, có khả năng tẩy rửa bề mặt cao. Tinh dầu sả chanh có tác dụng kháng khuẩn, xua đuổi côn trùng (muỗi, kiến, ruồi, gián,...), có khả năng ức chế tế bào ung thư.

Chế phẩm theo sáng chế bao gồm tinh dầu trà, *Melaleuca* spp., có nguồn gốc từ Việt Nam. Tinh dầu có màu trắng xanh nhẹ, nhẹ hơn nước. Tinh dầu trà có tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm, xua đuổi côn trùng (muỗi, kiến, ruồi, gián,...).

Chế phẩm theo sáng chế bao gồm tinh dầu bạc hà, *Mentha arvensis*, có nguồn gốc từ Việt Nam. Tinh dầu có màu trắng, nhẹ hơn nước. Tinh dầu bạc hà có tác dụng kháng khuẩn, giảm đau, xua đuổi côn trùng (muỗi, kiến, ruồi, gián,...).

Chế phẩm theo sáng chế bao gồm tinh dầu quế, *Cinnamomum* spp., có nguồn gốc từ Việt Nam. Tinh dầu có màu cánh gián, nhẹ hơn nước, rất nóng có thể gây bỏng da, có thể gây kích ứng da nếu pha hàm lượng trên 5% do tinh dầu có tính nóng. Tinh dầu quế có tác dụng kháng khuẩn, xua đuổi côn trùng (muỗi, kiến, ruồi, gián, bọ nhày,...).

Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo sáng chế ở dạng lỏng có thể phun được, hoặc ngâm tắm. Chế phẩm theo sáng chế thích hợp nhất là được điều chế ở dạng phun xịt.

Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo sáng chế tốt nhất là được phun lên da người, mặc dù chế phẩm cũng có thể được phun lên áo quần, lông hoặc da của chó, mèo, ngựa, hoặc trâu, bò, hoặc trên các tấm rèm, thảm trong nhà để xua đuổi côn trùng.

Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng đã chứng minh được tính an toàn của chế phẩm là từ nguồn gốc thảo mộc, không gây độc hại, an toàn và thân thiện với môi trường vì không có chất điều chỉnh pH và hoàn toàn không có chất bảo quản

nhân tạo, không có bất kỳ mùi hương hóa học nào. Chế phẩm có chứa dầu nền là dầu thực vật, tốt nhất là dầu dừa hoặc dầu hạt hướng dương.

Các chế phẩm theo sáng chế được chứng minh là có khả năng ức chế sự phát triển của một số chủng vi khuẩn và nấm men do đó các chế phẩm theo sáng chế có tác dụng sát trùng tại chỗ, kháng khuẩn, chống viêm, nên rất hữu ích trong việc điều trị các vết cắn của côn trùng.

Chế phẩm theo sáng chế có thể được tạo ra bằng bất kỳ phương pháp thông thường phù hợp nào trong đó bốn loại tinh dầu nêu trên được kết hợp để tạo ra một công thức phù hợp để áp dụng cho bề mặt da người hoặc lông của vật nuôi, hoặc bất kỳ bề mặt nào mà việc xua đuổi côn trùng là thuận lợi.

Sáng chế dự tính các phương tiện khác để phân phối chế phẩm theo sáng chế trên da người, trên các mặt hàng quần áo hoặc trên vật nuôi, ngoài việc phun xịt. Bất kỳ phương tiện phù hợp nào để phân phối chế phẩm theo sáng chế đều có thể được sử dụng. Ví dụ, một que bôi hoặc khăn lau ngâm trong chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng.

Sau đây, sáng chế sẽ được minh họa một cách chi tiết hơn bằng các ví dụ không giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Sản xuất 1,5 lít chế phẩm từ lá của cây giổi chanh

1. Chuẩn bị trang thiết bị để chưng cất: 01 nồi chưng cất tinh dầu theo phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước do hãng Machinex sản xuất, có dung tích khoang nấu 150 lít. Chuẩn bị nguồn chất đốt, nguồn nước.

Chuẩn bị nguyên liệu để chưng cất gồm 210 kg nguyên liệu lá tươi cây giổi chanh và 1400 lít nước (cho 14 mẻ chưng cất).

Quá trình chưng cất như sau:

Thực hiện chưng cất theo mẻ như sau: Cân 15kg nguyên liệu tươi cho vào nồi chưng cất 150 lít, cho 100 lít nước vào nồi chưng cất. Điều chỉnh nhiệt độ của nồi chưng cất để tránh sôi mạnh. Tiến hành chưng cất trong 3h. Ngừng chưng cất sau 15 phút, đọc thể tích tinh dầu thu được ở phần chia vạch nếu chưa đạt thể tích 30ml, thì tiến hành chưng cất tiếp để đạt được thể tích tinh dầu 30ml cần có. Thu được 30ml tinh dầu lá giổi chanh. Tương tự như vậy, tiến hành chưng cất 14 mẻ sẽ được 420ml tinh dầu lá giổi chanh.

Sản phẩm đầu ra: 420ml tinh dầu lá giổi chanh.

2. Chuẩn bị hóa chất để sản xuất chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng sử dụng 420ml tinh dầu lá giổi chanh thu được ở trên: 1030ml cồn etanol y tế 70 độ, 50ml dầu thực vật là dầu dừa. Chuẩn bị trang thiết bị gồm: 01 nồi chưng cất, có dung tích khoang nấu 150 lít, do hãng Machinex sản xuất, nguồn chất đốt, nguồn nước.

Các bước tiến hành: Hòa tan 420ml tinh dầu lá giổi chanh trong 1.030ml cồn y tế 70, dùng đũa thủy tinh khuấy đều. Sau đó đổ 50ml dầu thực vật vào hỗn hợp dùng đũa thủy tinh khuấy đều.

Dung dịch được đóng chai thủy tinh tối màu, bảo quản nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng trực tiếp. Thời hạn sử dụng trong 6 tháng.

Ví dụ 2: Sản xuất 1,5 lít chế phẩm từ áo hạt của cây giổi chanh

1. Chuẩn bị trang thiết bị để chưng cất: 01 nồi chưng cất tinh dầu theo phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước, do hãng Machinex sản xuất, có dung tích khoang nấu 150 lít. Chuẩn bị nguồn chất đốt, nguồn nước.

Chuẩn bị nguyên liệu để chưng cất gồm 135 kg áo hạt cây giổi chanh tươi và 900 lít nước.

Thực hiện chưng cất theo mẻ như sau: Cân 15kg nguyên liệu tươi cho vào nồi chưng cất 150 lít, cho 100 lít nước vào nồi chưng cất. Điều chỉnh nhiệt độ của nồi chưng cất để tránh sôi mạnh. Tiến hành chưng cất trong 3h. Tắt bếp ngừng chưng cất sau 15 phút, đọc thể tích tinh dầu thu được ở phần chia vạch nếu chưa đạt thể tích

45ml, thì tiến hành chưng cất tiếp để đạt được thể tích tinh dầu 45ml cần có. Thu được 45ml tinh dầu áo hạt giổi chanh. Tương tự như vậy, tiến hành chưng cất 9 mẻ cất sẽ cho 405ml tinh dầu áo hạt giổi chanh.

Sản phẩm đầu ra: 405ml tinh dầu áo hạt giổi chanh.

2. Chuẩn bị hóa chất để sản xuất chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng sử dụng 405ml tinh dầu áo hạt giổi chanh thu được ở trên: 1045ml cồn etanol y tế 70 độ, 50ml dầu thực vật là dầu dừa.

Chuẩn bị trang thiết bị gồm: 01 nồi chưng cất do hãng Machinex sản xuất, có dung tích khoang nấu 150 lít. Chuẩn bị, nguồn chất đốt, nguồn nước.

Các bước tiến hành: Hòa tan 405ml tinh dầu trong 1045ml cồn y tế 70, dùng đũa thủy tinh khuấy đều. Sau đó đổ 50ml dầu thực vật vào dùng đũa thủy tinh khuấy đều cho hỗn hợp hòa tan. Hỗn hợp chế phẩm thu được có thể tích 1500ml.

Dung dịch được đóng chai thủy tinh tối màu, bảo quản nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng trực tiếp. Thời hạn sử dụng trong 6 tháng.

Ví dụ 3: Sản xuất 1,5 lít chế phẩm làm từ hỗn hợp tinh dầu giổi chanh, tinh dầu sả chanh, tinh dầu trà, tinh dầu bạc hà và tinh dầu quế

1. Trang thiết bị để chưng cất: 01 nồi chưng cất tinh dầu theo phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước do hãng Machinex sản xuất, khoang nấu có dung tích 150 lít. Chuẩn bị củi đun hoặc chất đốt.

Các loại nguyên liệu sẽ được chưng cất riêng biệt cùng điều kiện.

Cụ thể chuẩn bị nguyên liệu theo số lượng như sau:

Loài cây	Số kg nguyên liệu/ 1 mẻ chưng cất	Số mẻ chưng cất	Tổng trọng lượng nguyên liệu	Tổng thể tích tinh dầu đạt được
Sả chanh	15kg lá tươi	4	60kg	228ml
Bạc hà	15kg lá tươi	3	45kg	99ml

Tràm	15kg cành lá tươi	3	45kg	99ml
Giỏi chanh	15kg cành lá	4	60kg	100ml
Quế	5kg cành lá	1	5kg cành lá	12ml
Lượng nước	100 lít	15	1500 lít	

Quá trình chưng cất:

Thực hiện chưng cất theo từng mẻ như sau: Cân từng loại nguyên liệu của 1 mẻ chưng cất theo bảng nêu trên cho vào nồi chưng cất, cho 100 lít nước vào nồi chưng cất. Điều chỉnh nhiệt độ của lò cất để tránh sôi mạnh. Tiến hành chưng cất trong 3h. Ngừng chưng cất, sau 15 phút tiến hành đọc thể tích tinh dầu thu được ở phần chia vạch, trong đó:

- Đối với tinh dầu sả chanh nếu chưa đạt thể tích 57ml, thì tiến hành chưng cất mẻ tiếp để đạt được thể tích tinh dầu 57ml cần có. Tiến hành chưng cất 4 mẻ theo bảng nêu trên để thu được 228ml tinh dầu sả chanh.

- Đối với tinh dầu bạc hà nếu chưa đạt thể tích 33ml, thì tiến hành chưng cất tiếp để đạt được thể tích tinh dầu 33ml cần có. Tiến hành chưng cất 3 mẻ theo bảng nêu trên để thu được 99ml tinh dầu bạc hà.

- Đối với tinh dầu tràm nếu chưa đạt thể tích 33ml, thì tiến hành chưng cất tiếp để đạt được thể tích tinh dầu 33ml cần có. Tiến hành chưng cất 3 mẻ theo bảng nêu trên để thu được 99ml tinh dầu tràm.

- Đối với tinh dầu giổi chanh nếu chưa đạt thể tích 25ml, thì tiến hành chưng cất tiếp để đạt được thể tích tinh dầu 25ml cần có. Tiến hành chưng cất 4 mẻ theo bảng nêu trên để thu được 100ml tinh dầu giổi chanh.

- Đối với tinh dầu quế nếu chưa đạt thể tích 12ml, thì tiến hành chưng cất tiếp để đạt được thể tích tinh dầu 12ml cần có. Tiến hành chưng cất 1 mẻ theo bảng nêu trên để thu được 12ml tinh dầu quế.

Sản phẩm đầu ra thu được: 538ml hỗn hợp tinh dầu gồm 228ml tinh dầu sả chanh, 99ml tinh dầu trầm, 99ml tinh dầu bạc hà, 100ml tinh dầu lá giổi chanh, 12ml tinh dầu quế. Các loại tinh dầu này có thể trộn vào hỗn hợp theo bất kỳ thứ tự nào.

2. Chuẩn bị hóa chất để sản xuất chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng sử dụng 538ml hỗn hợp tinh dầu thu được ở trên: 912ml cồn etanol y tế 70 độ, 50ml dầu thực vật là dầu dừa.

Chuẩn bị trang thiết bị gồm: 01 nồi chưng cất do hãng Machinex sản xuất, có dung tích khoang nấu 150 lít. Chuẩn bị nguồn chất đốt, nguồn nước.

Các bước tiến hành: Hòa tan 538ml hỗn hợp tinh dầu thu được ở trên trong 912ml cồn y tế 70, dùng đĩa thủy tinh khuấy đều. Sau đó đổ 50ml dầu thực vật vào hỗn hợp dùng đĩa thủy tinh khuấy đều. Hỗn hợp chế phẩm thu được có dung tích 1500ml.

Dung dịch được đóng chai thủy tinh tối màu, bảo quản nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng trực tiếp. Thời hạn sử dụng trong 6 tháng.

Ví dụ 4: Xác định thành phần hóa học tinh dầu lá giổi chanh thu được từ Ví dụ 1 dựa vào phương pháp sắc ký khối phổ

Thành phần hóa học được phân tích dựa trên phương pháp sắc ký khối phổ, thành phần các chất xác định dựa vào RI (Retention Indices), và n-alkanes chuẩn (Sigma-Aldrich) được phân tích cùng điều kiện và bơm song song với mẫu tinh dầu.

Xác định thành phần hóa học tinh dầu: sử dụng phương pháp sắc ký khí GC-MS. Tinh dầu được làm khô bởi muối Na_2SO_4 khan. Định tính và định lượng thành phần tinh dầu bằng Phương pháp sắc ký - khối phổ liên hợp (GC/MS) trên máy THERMO SCIENTIFIC, Trace 1310 ghép nối với detector ITQ 900 (Thermo, bẫy ion). Cột phân tích TG - 5MS 30m, kích thước 30m x 0,25 μm x 0,25mm. Chương trình nhiệt độ 60°C (4 phút) sau đó tăng tới 220°C (trong 5 phút), mỗi phút tăng 4°C. Khí mang heli với tốc độ 0,9ml/ phút, bộ phát hiện khối phổ MS; bộ phát hiện nhiệt độ và buồng bơm mẫu 230°C. Pha loãng mẫu trong n-hexan, bơm mẫu ở chế độ chia

dòng 1:50. Các chất được nhận biết bằng khối phổ (MS) so sánh với thư viện phổ Database/NIST 14.

Việc xác định các thành phần được thực hiện trên cơ sở của các chỉ số RI, xác định với các tài liệu đồng đẳng của n-alkan (C_4 - C_{30}), trong điều kiện như nhau của các thử nghiệm, theo các chất chuẩn (Sigma – Aldrich, St. Louis, MO, USA) hoặc các thành phần tinh dầu đã được biết tìm kiếm trong thư viện NIST 14, so sánh dữ liệu (Adam, 1995; Joulain & Koenig, 1998) không sử dụng các yếu tố điều chỉnh.

Các thí nghiệm lặp lại 3 lần, số lượng thí nghiệm được xử lý thống kê bằng Phần mềm SPSS và Microsoft Excel.

Bằng phương pháp sắc ký khí - khối phổ (GC/MS) đã tách và bước đầu xác định được 27 chất từ tinh dầu trong lá, chiếm 92,89% tổng khối lượng tinh dầu. Các thành phần có tỷ lệ lớn trong tinh dầu từ lá của loài giổi chanh là linalool chiếm 11,79% khối lượng chế phẩm, xitronelal (11,51%), α -xitrala chiếm 13,51% khối lượng chế phẩm, β -xitrala chiếm 10,91% khối lượng chế phẩm, xitronelol (9,36%). Các thành phần còn lại có hàm lượng từ 0,24 đến 6,18% tổng khối lượng tinh dầu (Bảng 1). Trong tinh dầu lá giổi chanh thu được từ Ví dụ 1, 92,89% đọc được tên chất, còn lại 7,11% là các chất chưa biết (chưa thể xác định), không có trong thư viện tra hoặc ở dạng vết, tỷ lệ quá nhỏ để xác định.

Bảng 1. Thành phần hóa học từ tinh dầu trong lá của cây giổi chanh thu được từ Ví dụ 1

TT	RI	Thành phần	Hàm lượng
1	930	Origanen	0,52
2	940	Pinen <a>	6,18
3	979	Pinen 	0,24

4	985	2-Metyl-2-hepten-6-one	2,07
5	997	Myrxen	0,72
6	1019	Terpinen <a>	0,60
7	1023	xymen <o>	0,41
8	1031	Limonen <D>	0,47
9	1040	1,3,6-Oxtatrien, 3,7-dimetyl	4,38
10	1054	Oximen <trans>	0,34
11	1114	Linalool 	11,79
12	1148	Isopulegol	0,89
13	1157	Xitronelal	10,51
14	1179	L-4-terpinneol	4,90
15	1228	Nerol	0,95
16	1238	Xitronelol 	9,63
17	1244	Xitrala 	10,91
18	1251	Lemonol	1,09
19	1264	Metyl xitronelat	0,85
20	1272	Xitrala <a>	13,51
21	1307	Xitronelic axit	1,53
22	1319	Neric axit	3,03
23	1360	Eugenol	4,01
24	1417	Caryophylen 	0,73
25	1437	Aloaromadendren	0,86

26	1640	Eudesmen 	1,10
27	1723	Selinen <a>	0,67
Tổng			92,89

Ví dụ 5: Xác định thành phần hóa học tinh dầu áo hạt cây giổi chanh thu được từ Ví dụ 2 dựa vào phương pháp sắc ký khối phổ

Thực hiện lặp lại như Ví dụ 4 đối với tinh dầu áo hạt cây giổi chanh thu được từ Ví dụ 2.

Bằng phương pháp sắc ký khí - khối phổ (GC/MS) đã tách và bước đầu xác định được các hợp chất hóa học từ tinh dầu từ áo hạt cây giổi chanh có thành phần chính gồm: sabinen chiếm 12,4%, linalool chiếm 19,1% khối lượng chế phẩm, xitronelal chiếm 14,1% khối lượng chế phẩm, neral chiếm 13,5% khối lượng chế phẩm, và geranial chiếm 15,7% khối lượng chế phẩm (Bảng 2). Trong tinh dầu áo hạt giổi chanh thu được từ Ví dụ 2, 97,5% đọc được tên chất, còn lại 2,5% là các chất chưa biết (chưa thể xác định), không có trong thư viện tra hoặc ở dạng vết, tỷ lệ quá nhỏ để xác định.

Bảng 2. Thành phần hóa học từ tinh dầu trong áo hạt của cây giổi chanh thu được từ Ví dụ 2

TT	*RI_{exp}	**RI_{lit}	Thành phần	Hàm lượng
1	851	850	(Z)-3-hexen-1-ol	0,6
2	920	924	α -Thujen	0,4
3	926	932	α -Pinen	0,1
4	968	969	Sabinen	12,4

5	971	974	β -Pinen	0,5
6	981	981	6-Methyl-5-hepten-2-one	1,2
7	985	988	Myrxen	0,4
8	1020	1020	<i>p</i> -Xymene	0,8
9	1024	1024	Limonen	0,4
10	1026	1026	1,8-Xineol	0,3
11	1032	1032	(<i>Z</i>)- β -Oximen	1,2
12	1043	1044	(<i>E</i>)- β -Oximen	0,1
13	1053	1054	α -Terpinen	0,1
14	1064	1065	<i>cis</i> -Sabinen hidrat	0,9
15	1082	1067	<i>cis</i> -Linalool oxit (furanoid)	0,3
16	1101	1095	Linalool	19,1
17	1107	1118	<i>cis-p</i> -menth-2-en-1-ol	0,1
18	1120	1136	<i>trans-p</i> -menth-2-en-1-ol	0,1
19	1137	1144	neo-isopulegol	0,1
20	1142	1145	Isopulegol	0,8
21	1150	1148	Xitronelal	14,1
22	1157	1167	Neo-isopulegol	0,1
23	1165	1173	Rosefuran epoxit	0,1
24	1174	1174	Lerpinen-4-ol	1,6

25	1190	1186	α -terpineol	0,2
26	1220	1227	Nerol	0,4
27	1226	1223	Xitronelol	6,5
28	1235	1235	Neral	13,5
29	1245	1249	Piperiton	0,1
30	1252	1257	Methy xitranelat	0,9
31	1265	1264	Geranial	15,7
32	1268	1271	Xitronelyl formate	0,4
33	1323	1312	Xitronelic axit	3,4
34	1405	1417	α -Caryophylen	0,1
35	1439	1452	α -Humulen	<0,1
36	1443	1458	aloaromadendren	0,2
37	1472	1489	α -Selinen	0,4
38	1480	1498	β -Selinen	0,1
39	1562	1582	Caryophylen oxit	0,3
40	1584	1602	Ledol	<0,1
41	1589	1608	Humulen epoxit II	<0,1
			Tổng	97,5

Ví dụ 6: Phương pháp thử tác dụng xua muỗi *Aedes aegypti* của chế phẩm chứa đơn chất tinh dầu giổi chanh theo sáng chế

Chuẩn bị:

- Mẫu thử: tinh dầu pha chế ở nồng độ kế tiếp nhau bằng dung môi etanol để được 1ml thuốc thử: 10%, 20%, 40%, 60%, 80%. Mỗi nồng độ thuốc thử pha thành 03 mẫu dùng thử nghiệm.

- Mỗi tình nguyện viên sử dụng liều tăng dần trên cẳng tay thử nghiệm tay trái. Các thử nghiệm được diễn ra từ 7h00 - 17h00 trong ngày.

- Người tình nguyện cần lắc tay khi muỗi chạm mà không cho muỗi hút máu.

- Phải rửa sạch cánh tay bằng xà phòng không mùi, rửa lại bằng nước, tiếp theo rửa bằng etanol 70% trước khi tiến hành thử nghiệm.

- Đo chiều dài trên cẳng tay (L), đo khoanh tròn ở cổ tay (C) và khoanh tròn chỗ hõ của khuỷu tay (K), sau đó tính diện tích cánh tay nơi để hõ cho muỗi chạm của bốn người tương đương nhau từ 300cm^2 - 600cm^2 theo công thức:

$$S = L \times \frac{(K+C)}{2} (\text{cm}^2).$$

- Bôi thuốc thử trước khi bắt đầu thử nghiệm 30 phút.

- Muỗi cái đạt tiêu chuẩn *Aedes aegypti* từ 5-7 ngày tuổi.

- Địa điểm khảo nghiệm: Phòng thí nghiệm Bộ môn Sốt rét – Ký sinh trùng và côn trùng, Học viện Quân y. Mẫu thử nghiệm và đối chứng được bố trí ở hai buồng khác nhau nhưng phải tương đồng về các điều kiện nhiệt độ và ẩm độ.

Thử nghiệm

- Thả vào mỗi lồng 200 muỗi cái *Aedes aegypti* từ 5-7 ngày tuổi.

- Cho tay trái đã bôi etanol vào lồng nhốt muỗi. Một giờ 10 phút đếm số muỗi chạm vào tay hõ, nếu số muỗi chạm trên 200 con là đạt yêu cầu. Thử nghiệm theo dõi sau: 01h, 02h, 03h, 04h, 05h, 06h.

- Cho tay trái bôi thuốc thử nghiệm vào lòng mỗi giờ 10 phút, đếm số muỗi chạm vào chỗ da tay hở. Theo dõi theo giờ: 01h, 02h, 03h, 04h, 05h, 06h. Sau mỗi giờ theo dõi cần tiến hành kiểm tra số muỗi chạm vào cẳng tay hở không thuốc, nếu số muỗi chạm trong 30 giây >10 muỗi chạm là đạt yêu cầu. Trong 30 giây nếu < 10 muỗi chạm thì cần thay 200 muỗi mới.

- Thử nghiệm lặp lại 03 lần trong điều kiện tương tự nhau, những người tham gia thử nghiệm đối nhau ở ngày thứ 02 và thứ 03.

Chỉ tiêu đánh giá

Hiệu lực được tính theo công thức: $P = \frac{C-T}{C}$

P: % tỷ lệ giảm muỗi đốt.

C: Số lượng muỗi đậu trên tay bôi chứng âm.

T: Số lượng muỗi đậu trên tay bôi thuốc thử.

Tỷ lệ P từ 90%-100%: đạt yêu cầu.

Đánh giá an toàn.

Dựa vào bảng câu hỏi để đánh giá tác dụng không mong muốn của thuốc thử xua muỗi khảo nghiệm với những người tham gia thử nghiệm.

Phương pháp đánh giá kết quả

Phần mềm Excel 2010, các số liệu được trình bày dưới dạng Số trung bình của 3 giá trị $\pm$ Sai số chuẩn (Mean $\pm$ SD).

Khả năng xua muỗi *Aedes aegypti* của tinh dầu loài *Magnolia citrata* 10% cho kết quả tỉ lệ giảm đốt là trên 90% trong 1 giờ. Thử nghiệm tác dụng xua muỗi *Aedes aegypti* của tinh dầu có nồng độ 20%, 40%, 60% cho kết quả tỉ lệ giảm đốt đạt hơn 90% trong 2 giờ thử nghiệm, sau đó giảm dần tác dụng vào các giờ tiếp theo; tinh dầu có nồng độ 80% cho kết quả tỉ lệ giảm đốt 99,53% giờ đầu, 98,31% ở giờ thứ 2 và 93,38% ở giờ thứ 3. Sau đó tỉ lệ giảm muỗi đốt giảm xuống > 50% ở giờ 4, 5. Sang giờ thử nghiệm thứ 6 tỉ lệ giảm muỗi đốt < 50%. Vậy các mẫu thử trên đạt yêu

cầu làm thuốc xua muỗi *Aedes aegypti*. Thuốc đối chứng DEET 20% tỉ lệ giảm muỗi *Aedes aegypti* đốt của thuốc rất tốt đạt hơn 90% trong 5 giờ thử nghiệm.

Bảng 3: Hiệu quả xua đuổi muỗi của đơn chất tinh dầu giổi chanh

Liều lượng thử nghiệm (1ml/600cm ²)	Tỉ lệ giảm muỗi đầu P (%)					
	Thời gian thử nghiệm					
	Giờ 1	Giờ 2	Giờ 3	Giờ 4	Giờ 5	Giờ 6
10%	91,47±1,05	68,35±1,32	38,86±1,58	-	-	-
20%	94,82±0,90	90,33±0,94	78,01±1,75	45,71±2,65	-	-
40%	96,94±0,60	92,01±0,65	82,96±0,83	59,44±1,88	30,81'±1,65	-
60%	98,63±0,37	95,55±0,75	89,09±0,65	65,70±1,33	36,94±2,07	-
80%	99,53±0,37	98,31±0,57	93,38±0,85	87,80±1,00	66,53±2,56	24,11±1,62
DEET 20%	99,85±0,21	98,46±0,44	97,39±0,59	93,74±0,63	90,96±0,83	87,96±0,53

Số trung bình của 3 giá trị ± Sai số chuẩn (Mean ± SD).

(-): Không có tác dụng xua muỗi (tỉ lệ giảm muỗi đốt ≈ 0)

Đánh giá an toàn.

Tình nguyện viên tham gia thử nghiệm đều không có một trong những dấu hiệu: kích ứng da, đau đầu, chóng mặt. Thuốc thử đạt yêu cầu về tính an toàn.

Ví dụ 7: Tác dụng xua đuổi kiến, gián của chế phẩm bao gồm hỗn hợp tinh dầu gồm giổi chanh, trầm, bạc hà, quế và sả theo sáng chế

* / Đối với kiến: Tổng số kiến thử: 30 con/lần

Quy trình

+ Chuẩn bị đĩa petri thử nghiệm:

- Đĩa petri (đường kính 9cm), thành bên trong đĩa bôi phấn để tránh kiến bò lên thành đĩa.
- 01 tờ giấy thấm hình tròn (giấy thấm Whatman No.1, đường kính 9 cm) được cắt thành 2 phần bằng nhau (một nửa thử nghiệm và một nửa đối chứng).
- Tẩm 0,5ml dung dịch trong chai tinh dầu (đã chuẩn bị ở trên) lên phần giấy

thử nghiệm và 0,5ml còn lên phần giấy đối chứng. Để giấy thấm khô trong điều kiện phòng thí nghiệm.

- Ghép 2 nửa giấy thấm trên và dán vào đáy đĩa petri
 - Đặt tube kiến vào ngăn đá tủ lạnh (- 14°C) trong 30 giây.
 - Thả 30 con kiến vào trong đĩa petri.
 - Bọc đĩa petri bằng màng bọc thực phẩm với các lỗ nhỏ để tinh dầu bốc hơi và đảm bảo lưu thông không khí.
- + Mỗi thí nghiệm lặp lại 3 lần.
- + Đếm số lượng kiến trên 2 phần giấy thấm (đối chứng và thử nghiệm) trên đĩa petri sau 30 phút, theo dõi theo chu kỳ 30 phút cho đến 3 giờ. Ghi kết quả số lượng kiến vào biểu mẫu.
- + Hiệu lực xua kiến (%) được tính theo công thức của Liu (2011&2013)

$$PR (\%) = \frac{C - T}{C + T} \times 100$$

- + Trong đó:
- + PR (%): Hiệu lực xua kiến (sử dụng hiệu lực xua trung bình, phân lớp từ 0 – V, nếu PR = 0 = không có hiệu quả xua, nếu PR = V = có hiệu quả xua mạnh).
- + C: Số lượng kiến ở lô đối chứng
- + T: Số lượng kiến ở lô thử nghiệm

Bảng 4. Thang đo được sử dụng để phân loại hiệu lực xua kiến của chế phẩm

Hiệu lực xua (%)	Phân loại hiệu lực xua
0,01 - 0,1	0
0,1 - 20	I
20,1 - 40	II

40,1 - 60	III
60,1 - 80	IV
80,1 - 100	V

Bảng 5: Tổng số kiến thử: 30 con/lần

Thời gian	Lần 1		Lần 2		Lần 3	
	TN	Đ/C	TN	Đ/C	TN	Đ/C
30'	0	30	0	30	0	30
1h	0	30	0	30	0	30
1h30'	0	30	0	30	0	30
2h	0	30	0	30	0	30
2h30'	0	30	0	30	0	30
3h	0	30	0	30	0	30

Kết luận: Hiệu lực xua kiến 100% - loại V

*/ Đối với gián:

Quy trình:

Chuẩn bị khay thử nghiệm:

- Khay nhựa hình chữ nhật kích thước 24 x 18,5 x 7,5 cm được sử dụng trong thử nghiệm xua gián trong phòng thí nghiệm. 4 thành bên trong khay được bôi vaselin để tránh gián bò lên thành khay.
- 01 tờ giấy thấm (giấy thấm Whatman No.1, kích thước 24 x 18,5 cm) được cắt thành 2 phần bằng nhau (một nửa thử nghiệm và một nửa đối chứng).
- Tẩm 2ml dung dịch trong chai tinh dầu (đã chuẩn bị ở trên) lên phần giấy thử nghiệm và 2ml cồn lên phần giấy đối chứng. Để giấy thấm khô trong điều kiện

phòng thí nghiệm.

- Ghép 2 nửa giấy thấm trên và dán vào đáy khay nhựa
- Đặt đĩa thức ăn và nước cho gián vào giữa khay.
- Nắp khay được làm bằng màng bọc thực phẩm với các lỗ nhỏ để tinh dầu bốc hơi và đảm bảo lưu thông không khí.
- Thả 7 con gián vào trong khay nhựa.

Mỗi thử nghiệm được lặp lại 5 lần.

Theo dõi và đếm số lượng gián sau 30', 1h30', 2h30', 3h30'. Ghi kết quả số lượng gián vào biểu mẫu.

Hiệu lực xua gián (%) được tính theo công thức

$$I = (NS - NC) / (NS + NC)$$

$$PC (\%) = [1 - (NS) / (NS + NC)] \times 100\%$$

$$PS (\%) = 100\% - PC$$

Trong đó:

PC (%): Hiệu lực xua gián (Tỷ lệ gián thu được ở nửa đối chứng) (sử dụng hiệu lực xua trung bình, phân lớp từ 0 – V, nếu PR = 0 = không có hiệu quả xua, nếu PR = V = có hiệu quả xua mạnh.

PS: Hiệu lực hấp dẫn gián (Tỷ lệ gián thu được ở nửa thử nghiệm)

NS: Số gián quan sát được ở nửa thử nghiệm

NC: Số gián quan sát được ở nửa đối chứng

I: Chỉ số hiệu lực xua gián (Nếu $I < 0$ thì dung dịch có hiệu quả xua gián, nếu $I > 0$ thì dung dịch có hiệu quả thu hút gián, nếu $I = 0$ thì dung dịch không có hiệu quả xua hay thu hút gián).

Bảng 6. Thang đo được sử dụng để phân loại hiệu lực xua gián của chế phẩm

Hiệu lực xua (%)	Phân loại hiệu lực xua
0,01 - 0,1	0
0,1 - 20	I
20,1 - 40	II
40,1 - 60	III
60,1 - 80	IV
80,1 - 100	V

Bảng 7: Hiệu lực xua gián của chế phẩm

Thời gian	Lần 1		Lần 2		Lần 3		Lần 4		Lần 5	
	TN	Đ/C	TN	Đ/C	TN	Đ/C	TN	ĐC	TN	ĐC
30'	0	7	0	7	0	7	0	7	0	7
1h	0	7	0	7	0	7	0	7	0	7
1h30'	0	7	0	7	0	7	0	7	0	7
2h	0	7	0	7	0	7	0	7	0	7
2h30'	0	7	0	7	0	7	0	7	0	7
3h	0	7	0	7	0	7	0	7	0	7

Kết luận: Hiệu lực xua gián 100% - loại V

**Ví dụ 8: Xác định hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của tinh dầu
giỏi chanh**

3 mẫu tinh dầu giỏi chanh: GC lá, GC thân, GC cành

Bảng 8: Kết quả hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định

TT		Tên chủng						
		Gram (+)			Gram (-)			Nấm men
	Mẫu	<i>E. faecalis</i> ATCC29212	<i>S. aureus</i> ATCC25923	<i>B. cereus</i> ATCC13245	<i>E. coli</i> ATCC25922	<i>P.aeruginosa</i> ATCC27853	<i>S. enterica</i> ATCC13076	<i>C. albicans</i> ATCC10231
MIC(μ g/ml)								
1.	GC Cành	64	128	64	128	256	128	128
2.	GC lá	64	64	64	128	256	64	64
3.	GC Thân	64	64	64	128	256	128	64
Kháng sinh	Streptomycin	256	256	128	32	256	128	-
	Cyclohexamit							32
IC ₅₀ (μ g/ml)								
1.	GC Cành	32.33	65.44	32.44	65.56	128.33	64.57	64.55
2.	GC lá	33.67	33.22	32.67	65.33	128.44	32.44	32.33
3.	GC Thân	31.22	32.67	32.66	64.22	127.67	65.33	32.56

- 3 Mẫu GC thân , GC cành và GC lá có khả năng ức chế sự phát triển của cả 3 chủng vi khuẩn gram âm và 3 chủng vi khuẩn gram dương và có khả năng kháng nấm *C. albicans* (ATCC10231).

- Mẫu GC lá biểu hiện khả năng ức chế sự phát triển của chủng vi khuẩn *S. enterica* (ATCC13076) tốt nhất với giá trị $IC_{50} = 32.44 \mu g/ml$.
- Bên cạnh đó, mẫu GC thân kháng chủng vi khuẩn *E. faecalis* (ATCC29212) và chủng *S. aureus* (ATCC25923) rất tốt với giá trị IC_{50} lần lượt là 31.22 và 32.67 $\mu g/ml$.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

- Sử dụng một cách hiệu quả nguồn tài nguyên của Việt Nam, cụ thể chiết xuất tinh dầu từ cây giổi chanh, phối hợp với tinh dầu của một số loài thực vật phổ biến như trầm, bạc hà, sả, quế để sản xuất ra chế phẩm sinh học có tác dụng xua đuổi và phòng trừ côn trùng. Trong khi nhiều chế phẩm sinh học hiện nay ta vẫn đang phải nhập khẩu từ nước ngoài.

- Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng như muỗi, kiến, gián, bọ chét, bọ nhậy,...nhằm phòng ngừa các bệnh truyền nhiễm như sốt xuất huyết, sốt vàng da, virus zika,..

- Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng có nguồn gốc từ thảo dược rất an toàn cho người, đặc biệt là trẻ em (đối tượng nhạy cảm với chất hóa học như DEET,...) và cho một số loài vật nuôi.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng bao gồm:

tinh dầu cây giổi chanh chiếm từ 10% đến 30% khối lượng chế phẩm, cồn etanol 70 độ chiếm từ 68% đến 85% khối lượng chế phẩm và dầu nền chiếm từ 2% đến 5% khối lượng chế phẩm, trong đó:

tinh dầu cây giổi chanh, có chứa: linalool chiếm từ 8% đến 25% khối lượng tinh dầu, sabinen chiếm từ 5% đến 20% khối lượng tinh dầu, xitronelal chiếm từ 5% đến 20% khối lượng tinh dầu, neral chiếm từ 10% đến 25% khối lượng tinh dầu, geranial chiếm từ 10% đến 25% khối lượng tinh dầu và xitrala chiếm từ 8% đến 40% khối lượng tinh dầu.

2. Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo điểm 1, trong đó tinh dầu cây giổi chanh được điều chế từ lá của cây giổi chanh, trong đó: linalool b chiếm từ 10% đến 15% khối lượng tinh dầu, xitronelal chiếm từ 8% đến 15% khối lượng tinh dầu, xitrala a chiếm từ 10% đến 20% khối lượng tinh dầu, xitrala b chiếm từ 8% đến 20% khối lượng tinh dầu.

3. Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo điểm 1 hoặc 2, trong đó tinh dầu cây giổi chanh được điều chế từ lá của cây giổi chanh, trong đó: linalool b chiếm 11,79% khối lượng tinh dầu, xitronelal chiếm 10,51% khối lượng tinh dầu, xitrala a chiếm 13,51% khối lượng tinh dầu, xitrala b chiếm 10,91% khối lượng tinh dầu.

4. Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo điểm 1, trong đó tinh dầu cây giổi chanh được điều chế từ áo hạt của cây giổi chanh, trong đó: linalool chiếm từ 15% đến 25% khối lượng tinh dầu, sabinen chiếm từ 10% đến 15% khối lượng tinh dầu, xitronelal chiếm từ 10% đến 20% khối lượng tinh dầu, neral chiếm từ 10% đến 20% khối lượng tinh dầu, và geranial chiếm từ 10% đến 20% khối lượng tinh dầu.

5. Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo điểm 1 hoặc 4, trong đó tinh dầu cây giổi chanh được điều chế từ áo hạt của cây giổi chanh, trong đó: linalool chiếm

19,1% khối lượng tinh dầu, sabinen chiếm 12,4% khối lượng tinh dầu, xitronelal chiếm 14,1% khối lượng tinh dầu, neral chiếm 13,5% khối lượng tinh dầu, và geranial chiếm 15,7% khối lượng tinh dầu.

6. Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó tinh dầu cây giổi chanh được điều chế bằng phương pháp chưng cất hơi nước.

7. Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó chế phẩm này ở dạng lỏng hoặc ngâm tẩm.

8. Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó chế phẩm ở dạng xịt để bôi lên da người.

9. Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, trong đó chế phẩm này còn bao gồm dầu nền là dầu thực vật.

10. Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo điểm 9, trong đó dầu thực vật là dầu dừa hoặc dầu hạt hướng dương.

11. Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng bao gồm hỗn hợp tinh dầu chiếm từ 20% đến 50% khối lượng của chế phẩm và cồn etanol 70 độ chiếm từ 48% đến 75% khối lượng của chế phẩm và dầu nền chiếm từ 2% đến 5% khối lượng chế phẩm, trong đó hỗn hợp tinh dầu bao gồm:

tinh dầu sả chanh chiếm từ 30% đến 60% khối lượng hỗn hợp tinh dầu,

tinh dầu trà xanh chiếm từ 18% đến 27% khối lượng hỗn hợp tinh dầu,

tinh dầu bạc hà chiếm từ 10% đến 20% khối lượng hỗn hợp tinh dầu,

tinh dầu cây giổi chanh chiếm từ 10% đến 20% khối lượng hỗn hợp tinh dầu,

tinh dầu quế chiếm từ 2% đến 3% khối lượng hỗn hợp tinh dầu.

12. Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo điểm 11, trong đó chế phẩm này ở dạng lỏng hoặc ngâm tẩm.

13. Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 11 đến 12, trong đó chế phẩm này ở dạng xịt để bôi lên da người.
14. Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 11 đến 13, trong đó chế phẩm này có chứa dầu nền là dầu thực vật.
15. Chế phẩm xua đuổi và phòng trừ côn trùng theo điểm 14, trong đó dầu thực vật là dầu dừa hoặc dầu hạt hướng dương.