



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

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

(11)



2-0004206

(51) **A61K 31/722**
2024.01

(13) **Y**

(21) 2-2025-00280

(22) 27/12/2022

(67) 1-2022-08530

(45) 25/07/2025 448

(43) 25/05/2023 422A

(73) **TRƯỜNG ĐẠI HỌC CÔNG NGHỆ, ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI (VN)**
E3, 144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội

(72) **Lê Thị Hiên (VN); Vũ Thị Huyền (VN); Nguyễn Thị Phương Huê (VN).**

(54) **QUY TRÌNH CHẾ TẠO HẠT NANO SẮT KIM LOẠI LÀM BỀN BẰNG
CHITOSAN ĐỂ KÍCH THÍCH NẢY MẦM HẠT CẢI BÓ XÔI VÀ PHƯƠNG
PHÁP KÍCH THÍCH NẢY MẦM HẠT CẢI BÓ XÔI**

(21) 2-2025-00280

(57) Sáng chế đề xuất quy trình chế tạo hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan ứng dụng kích thích nảy mầm hạt cải bó xôi, về cơ bản bao gồm các công đoạn:

- (i) Chế tạo hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan sử dụng dung dịch NaBH_4 và hỗn hợp bao gồm dung dịch FeCl_3 và chitosan;
- (ii) Khảo sát các đặc trưng của hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan.

Sản phẩm theo sáng chế là các hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan và các hạt nano này có tác dụng kích thích nảy mầm hạt cải bó xôi, rút ngắn thời gian và nâng cao tỷ lệ nảy mầm hạt cải bó xôi.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp kích thích nảy mầm hạt cải bó xôi bằng cách sử dụng dung dịch hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan thu được theo quy trình trên đây.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế thuộc lĩnh vực ứng dụng công nghệ nano trong nông nghiệp, cụ thể là đề cập đến quy trình chế tạo hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan (FeCS) ứng dụng kích thích nảy mầm hạt cải bó xôi, hạt vật liệu nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan thu được theo quy trình này và phương pháp kích thích nảy mầm hạt cải bó xôi. Hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan tạo ra có khả năng làm tăng tỷ lệ nảy mầm hạt cải bó xôi bằng cách ngâm hạt cải bó xôi trong dung dịch hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan này trước khi chuyển sang giá thể ươm hạt.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Việt Nam là đất nước nông nghiệp, đóng góp khoảng 15% GDP, với gần 40% dân số lao động trong lĩnh vực này (https://www.theglobaleconomy.com/rankings/Employment_in_agriculture/). Đối với cây trồng từ hạt, nảy mầm hạt là quá trình quan trọng đầu tiên, là tiền đề để cây phát triển và sinh trưởng tốt, giúp tăng năng suất và chất lượng cây trồng. Vì vậy, việc tăng tỷ lệ nảy mầm, rút ngắn thời gian nảy mầm, tạo sức sống cho cây con phát triển tốt là quá trình cần thiết để tăng năng suất và chất lượng cây trồng.

Cải bó xôi (*Spinacia Oleracea*) là một loại rau ăn lá giàu khoáng chất với hàm lượng sắt cao nhất trong số các loại rau ăn lá (2-5 mg/100g) (Xem tài liệu: Monica Butnariu, Alina Butu. 2015. “Handbook of Food Chemistry”. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp 627-692). Tỷ lệ nảy mầm của hạt cải bó xôi 7 ngày sau gieo dao động từ 65 – 85 % trong khoảng nhiệt độ 20-25°C (Xem tài liệu: Jessica Chitwood, Ainong Shi, Michael Evans, Curt Rom, Edward E. Gbur Jr, Dennis Motes, Pengyin Chen, and David Hensley. 2016. *Effect of Temperature on Seed Germination in Spinach (Spinacia oleracea)*. American Society for Horticultural Science (51) pp1475-1478).

Các hạt nano là một trong số các vật liệu đang được quan tâm nghiên cứu để rút ngắn thời gian nảy mầm và tăng tỷ lệ nảy mầm hạt cải bó xôi. Một số loại vật liệu nano được nghiên cứu ứng dụng trong quá trình nảy mầm hạt như: hạt nano bạc, sắt, silic,... Trong số đó, hạt nano sắt là loại vật liệu thân thiện với cây trồng hơn cả bởi sắt chính là một trong những dinh dưỡng vi lượng cần thiết cho cây trồng. Bên cạnh đó, chitosan là một polyme được điều chế từ polyme thiên nhiên chitin, có tính tương thích sinh học và phân hủy sinh học tốt. Đồng thời chitosan có tính kháng khuẩn, kháng nấm và kích thích sinh trưởng. Do đó, việc kết hợp hạt nano sắt kim loại và chitosan với mục đích tăng hiệu quả nảy mầm sẽ là tiền đề để giúp cây phát triển và sinh trưởng tốt.

Trong công bố đơn đăng ký sáng chế số 2-2018-00351 của nhóm tác giả Lê Thế Tâm, Nguyễn Xuân Phúc và Trần Đại Lâm đã đề cập đến “Quy trình chế tạo hệ dẫn thuốc curcumin trên nền hạt nano sắt từ/chitosan”. Tuy nhiên, sản phẩm theo quy trình này là hạt nano oxit sắt từ và sản phẩm này được ứng dụng trong hệ dẫn thuốc. Trong công bố đơn đăng ký sáng chế số 1-2014-00729 của nhóm tác giả Vũ Tân Cảnh, Nguyễn Thế Anh, Đặng Quốc Hiệu, Đặng Quốc Toàn, Trần Lưu Kiên và Thiệu Quốc Hân đã đề cập đến “Quy trình xử lý nước thải bằng nhũ tương nano sắt hóa trị 0”. Theo quy trình này, hạt nano sắt hóa trị 0 này được ứng dụng trong lĩnh vực môi trường. Quy trình không đề cập đến việc chế tạo hạt nano sắt hóa trị 0, và cũng không đề cập đến việc sử dụng chất làm bền như chitosan cho loại hạt nano sắt này.

Hạt nano sắt hóa trị 0 đã được sử dụng để nghiên cứu khả năng kích thích nảy mầm hạt giống lúa thơm và cho hiệu quả kích thích nảy mầm tốt ở các nồng độ từ 10 đến 160 ppm. Chất làm bền/chất ổn định ở được sử dụng trong công bố này là axit etylenediaminetetraacetic (ethylenediaminetetraacetic acid - EDTA). Bên cạnh đó, điều kiện tổng hợp hạt nano sắt hóa trị 0 trong công trình này khá phức tạp, đòi hỏi cần sự có mặt của khí nitơ và phản ứng diễn ra ở nhiệt độ 60°C. (Xem: Titir Guha, K. V. G. Ravikumar, Amitava Mukherjee, Anita Mukherjee, Rita Kundu. 2018. “*Nanoprimering with zero valent iron (nZVI) enhances germination and growth in aromatic rice cultivar (Oryza sativa cv. Gobindabhog L.)*”. Plant Physiol Biochem. (127) pp. 403 – 413).

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là nâng cao tỉ lệ nảy mầm và rút ngắn thời gian nảy mầm hạt cải bó xôi bằng các hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan.

Để đạt được mục đích này, sáng chế đề xuất quy trình chế tạo hạt nano sắt kim loại bền bằng chitosan ứng dụng kích thích nảy mầm hạt cải bó xôi. Hạt nano sắt kim loại tạo thành theo sáng chế bằng cách sử dụng NaBH_4 làm chất khử và chitosan là chất làm bền hạt nano. Đây là phương pháp tổng hợp đơn giản, không cần thực hiện bước khử khí oxy (degasification) trong các dung dịch phản ứng và bước sấy khô hạt nano trong chân không. Sản phẩm nano sắt thu được theo sáng chế này là hạt nano sắt kim loại.

Cụ thể, sáng chế đề xuất quy trình chế tạo hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan để kích thích nảy mầm hạt cải bó xôi, quy trình này gồm các bước:

i) cho từ từ dung dịch NaBH_4 vào hỗn hợp dung dịch FeCl_3 và chitosan dưới điều kiện khuấy từ với tốc độ vừa phải ở 25°C, phản ứng được diễn ra trong một ngày để tạo thành hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan có kích thước dưới 100 nm,

ii) ly tâm, thu lấy tủa và đông khô mẫu, sau đó bảo quản ở 4°C.

Theo một phương án, trong bước i):

nồng độ của NaBH_4 là 1 M;

nồng độ cuối của FeCl_3 là 50 mM;

nồng độ cuối của Chitosan là 100 mg/L.

Theo phương án khác, trong bước i), tốc độ khuấy là khoảng 400 vòng/phút.

Theo phương án khác, trong bước ii), ly tâm thu lấy tủa bằng máy ly tâm lạnh ở tốc độ 5000 vòng/phút trong 5 phút.

Theo phương án khác, quy trình còn bao gồm bước iii) xác nhận sự tạo thành hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan bằng cách phân tích các đặc trưng của hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan, trong đó:

hình thái học được quan sát bằng phương pháp kính hiển vi điện tử quét phát xạ trường (FESEM), tương tác của sắt và chitosan được phân tích bằng phương pháp phân tích bằng quang phổ hồng ngoại biến đổi chuỗi Fourier (FTIR) và cấu trúc tinh thể được phân tích bằng phương pháp nhiễu xạ tia X (XRD).

Sáng chế còn đề xuất vật liệu nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan để kích thích nảy mầm hạt cải bó xôi thu được theo quy trình theo mục bất kỳ trên đây.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp kích thích nảy mầm hạt cải bó xôi bao gồm các bước:

i) ngâm hạt giống cải bó xôi trong dung dịch nước javel 0,07% trong 30 phút, sau đó ngâm trong dung dịch hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan thu được theo mục bất kỳ trên đây ở nồng độ trong khoảng từ 1 nM đến 50 nM, tốt hơn là 10 nM;

ii) chuyển hạt giống đã xử lý ra giấy ẩm để nảy mầm.

Quy trình theo sáng chế có một số đặc trưng sau:

- Hạt nano sắt tạo thành là hạt nano sắt kim loại.
- Hạt nano sắt kim loại bền bằng chitosan được tổng hợp bằng một phương pháp đơn giản, bỏ qua bước khử khí oxy trong dung dịch và bước sấy khô hạt nano trong chân không.
- Hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan tạo thành có kích thước trong khoảng từ 30 nm đến 60 nm, kích thước tinh thể nano khoảng 12 nm.

Với các đặc trưng trên, quy trình này đã tạo ra hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan để ứng dụng kích thích nảy mầm hạt cải bó xôi.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 là hình ảnh kính hiển vi điện tử quét phát xạ trường (FESEM) của hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan;

Hình 2 là giản đồ nhiễu xạ tia X của hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan;

Hình 3 là quang phổ hồng ngoại biến đổi chuỗi Fourier (FTIR) của hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan và chitosan;

Hình 4 thể hiện hạt nảy mầm và cây con của mẫu đối chứng (ngâm trong nước) và mẫu mỗi hạt bằng hạt nano sắt kim loại chitosan nồng độ 10 mM.

Mô tả chi tiết sáng chế

Quy trình sản xuất chế tạo hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan ứng dụng kích thích nảy mầm hạt cải bó xôi được thực hiện như sau:

a. Chế tạo hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan

Vật liệu để tổng hợp hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan bao gồm sắt clorua (FeCl_3), natri borohydrat (NaBH_4) và chitosan; trong đó, NaBH_4 đóng vai trò là chất khử, còn chitosan là chất làm bền hạt nano.

Nhỏ từ từ dung dịch NaBH_4 1M vào dung dịch FeCl_3 (nồng độ cuối 50mM) và chitosan (nồng độ cuối 100 mg/L) trên máy khuấy từ với tốc độ 400 rpm ở nhiệt độ 25°C . Phản ứng diễn ra trong 24 giờ ở 25°C . Ly tâm thu tủa bằng máy ly tâm lạnh ở tốc độ 5000 rpm trong 5 phút. Đông khô mẫu và bảo quản kín ở 4°C .

b. Khảo sát các đặc trưng của hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan

Hình thái học của FeCS được chụp bằng kính hiển vi điện tử quét phát xạ trường (FESEM) Hitachi S4800. Các tương tác của sắt với chitosan được phân tích bằng quang phổ hồng ngoại biến đổi chuỗi Fourier (FTIR) trên thiết bị Shimadzu IR Prestige-21. Các nghiên cứu về cấu trúc tinh thể của các hạt nano sắt chitosan được thực hiện bằng phương pháp nhiễu xạ tia X (XRD) trên thiết bị D8-Advance (Bruker). Các phương pháp này được thực hiện nhằm xác nhận sự hình thành hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan theo bước a.

c. Xử lý hạt cải bó xôi bằng hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan

Hạt giống rau cải bó xôi được ngâm trong nước Javel 0,07% trong 30 phút, sau đó được rửa lại năm lần bằng nước cất. Ngâm hạt giống cải bó xôi trong dung dịch FeCS ở các nồng độ trong khoảng từ 1 mM đến 50 mM trong thời gian 18 giờ, sau đó chuyển ra giấy thấm trong đĩa petri tại nhiệt độ $20^\circ\text{C} - 21^\circ\text{C}$, thời gian chiếu sáng 12 giờ/ ngày. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Đối chứng: ngâm hạt trong nước cất một lần thay vì dung dịch FeCS. Tỷ lệ nảy mầm sau 5 ngày được tính theo công thức (1):

$$TLNM(\%) = \left(\frac{N_i}{N_o} \right) \cdot 100\% \quad (1)$$

Trong đó, N_o là tổng số hạt, N_i là tổng số hạt nảy mầm sau 5 ngày.

Thời gian nảy mầm tối đa là thời gian cần thiết để hạt nảy mầm được nhiều nhất có thể.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Chế tạo 500 mL hạt nano sắt kim loại dùng để kích thích nảy mầm hạt cải bó xôi

Nhỏ từ từ dung dịch NaBH_4 1M vào dung dịch FeCl_3 (nồng độ cuối 50mM) và chitosan (nồng độ cuối 100 mg/L) trên máy khuấy từ với tốc độ 400 rpm ở 25°C trong 24 giờ. Thu tủa bằng máy ly tâm lạnh ở 4°C ở tốc độ 5000 rpm trong 5 phút. Đông khô mẫu ở -40°C trong 30 phút và bảo quản kín ở 4°C .

Ví dụ 2: Sử dụng hạt nano sắt kim loại kích thích nảy mầm hạt cải bó xôi

300 hạt giống cải bó xôi sau khi ngâm javel trong 30 phút được rửa sạch và ngâm trong 15 mL dung dịch FeCS 10 mM trong 18 giờ. Sau đó chuyển hạt giống ra giấy ẩm để nảy mầm.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Quy trình chế tạo hạt nano kim loại sắt làm bền bằng chitosan ứng dụng kích thích nảy mầm hạt cải bó xôi đã sử dụng muối clorua (FeCl_3), chất khử natri borohydrat NaBH_4 và chất làm bền chitosan để tạo thành hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan. Sản phẩm hạt nano tạo thành được sử dụng để ngâm ủ hạt cải bó xôi để làm tăng tỷ lệ nảy mầm và giảm thời gian nảy mầm của hạt cải bó xôi.

Hạt nano sắt tạo thành theo quy trình này là hạt nano sắt kim loại được làm bền bằng chitosan, có kích thước trong khoảng từ 30 nm đến 60 nm.

Sử dụng hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan trong xử lý hạt cải bó xôi giúp tăng tỷ lệ nảy mầm hạt cải bó xôi từ 78% ở mẫu đối chứng đến 100% ở mẫu sử dụng FeCS. Rút ngắn thời gian nảy mầm tối đa từ 7 ngày xuống còn 5 ngày.

Yêu cầu bảo hộ

1. Quy trình chế tạo hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan để kích thích nảy mầm hạt cải bó xôi, quy trình này gồm các bước:

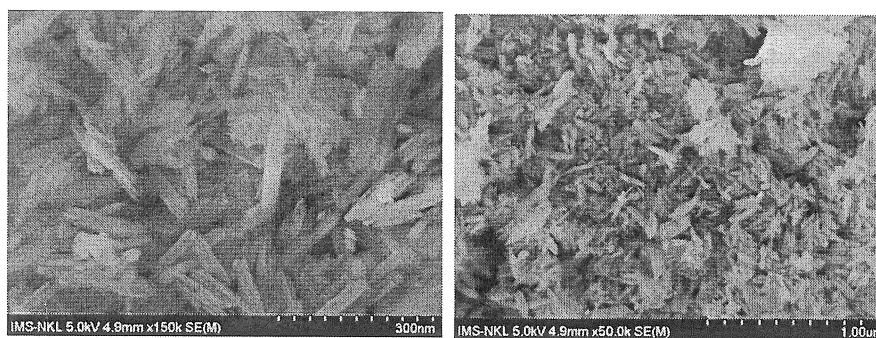
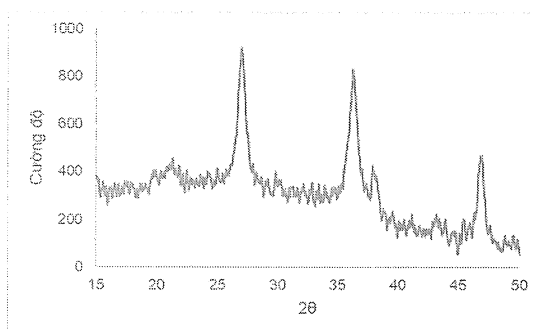
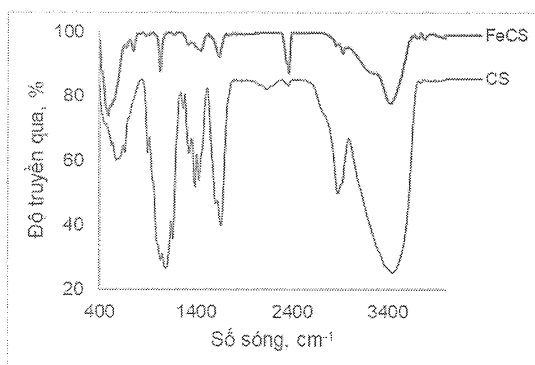
i) cho từ từ dung dịch NaBH_4 1M vào hỗn hợp dung dịch FeCl_3 50mM và chitosan 100 mg/L dưới điều kiện khuấy từ với tốc độ 400 vòng/phút ở 25°C , phản ứng được diễn ra trong một ngày để tạo thành hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan có kích thước dưới 100 nm;

ii) ly tâm ở 5000 vòng/phút trong 5 phút, thu lấy tủa và đông khô mẫu, sau đó bảo quản ở 4°C .

2. Phương pháp kích thích nảy mầm hạt cải bó xôi bao gồm các bước:

i) ngâm hạt giống cải bó xôi trong dung dịch nước javel 0,07% trong 30 phút, sau đó ngâm trong dung dịch chứa hạt nano sắt kim loại làm bền bằng chitosan thu được bằng quy trình theo điểm 1 ở nồng độ trong khoảng từ 5 nM đến 50 nM, tốt hơn là 10 nM; và

ii) chuyển hạt giống đã xử lý ra giấy ẩm để nảy mầm.

Hình 1**Hình 2****Hình 3****Hình 4**