



(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)



1-0048671

(51)^{2024.01} A01N 59/16; C08B 37/08; A61P 31/02

(13) B

(21) 1-2023-01915

(22) 23/03/2023

(45) 25/07/2025 448

(43) 25/10/2023 427A

(73) Công ty Cổ phần Đầu tư và Ứng dụng Khoa học Công nghệ HTT (VN)
Số 25 ngõ 79, đường Nguyễn Chí Thanh, phường Láng Hạ, quận Đống Đa, Thành
phố Hà Nội

(72) Đỗ Hoàng Tùng (VN).

(54) QUY TRÌNH SẢN XUẤT DUNG DỊCH KHỬ TRÙNG TRÊN CƠ SỞ PHỨC HỢP
NANO BẠC PLASMA VÀ ĐỒNG CHELAT-CHITOSAN

(21) 1-2023-01915

(57) Sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất dung dịch sát khuẩn trên cơ sở nano bạc plasma. Bằng cách tạo ra các hạt nano bạc trong môi trường plasma trên cơ sở tổng hợp điện hóa, quy trình cho phép thu được vật liệu nano bạc plasma có hiệu quả sát khuẩn vượt trội. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến dung dịch sát khuẩn thu được bằng quy trình này. Sản phẩm dung dịch sát khuẩn chứa nano bạc plasma theo sáng chế cho phép ứng dụng làm dung dịch bảo vệ thực vật, khử khuẩn trong thủy sản và ứng dụng làm vật liệu làm sạch bề mặt.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế thuộc lĩnh vực vật liệu nano, y tế và vệ sinh môi trường, cụ thể là sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất dung dịch khử trùng trên cơ sở phức hợp nano bạc plasma và đồng kết hợp với chitosan cho phép diệt khuẩn và diệt nấm hiệu quả. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến dung dịch khử trùng được sản xuất theo quy trình này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Trong lĩnh vực vật liệu khử trùng, nano bạc được sử dụng như một chất tiềm năng và được dùng rộng rãi trong các chế phẩm khử trùng. Với đặc tính sát trùng hiệu quả, nano bạc được coi như một thành phần bổ sung cho phép tăng cường hiệu quả diệt khuẩn mà không gây hại đến vật chủ. Tuy nhiên, hiệu quả của bạc chỉ được phát huy ở ngưỡng nồng độ cao, nồng độ ức chế tối thiểu từ 10 đến 20 ppm. Ngoài ra, vật liệu này gần như không có tác dụng với nấm bệnh cũng như không chịu được trong điều kiện khắc nghiệt như độ kiềm, axit cao.

Có nhiều phương pháp sản xuất nano bạc, như cơ học hoặc hóa học, nhưng chủ yếu là từ phương pháp đồng kết tủa tiền chất muối bạc. Các phương pháp này, mặc dù cho phép tạo ra các hạt nano bạc có kích thước nhỏ, cỡ từ vài chục nm đến vài trăm nm, tuy nhiên có một khó khăn đó là hoặc là bị lẫn tạp chất và khó thu nano bạc tinh sạch dẫn đến chi phí sản xuất cao, hoặc là có xu hướng kết tụ trong quá trình sản xuất khiến sản phẩm cuối không đồng đều.

Tùy vào mục đích mà nano bạc được tổng hợp, ví dụ bằng phương pháp vật lý, ví dụ K.-H. Tseng, Y.-C. Chen, and J.-J. Shyue, "Continuous synthesis of colloidal silver nanoparticles by electrochemical discharge in aqueous solutions," *Journal of Nanoparticle Research*, vol. 13, no. 5, pp. 1865–1872, 2011, hóa học, ví dụ, C. Ortiz, R. Torres, and D. Paredes, "Synthesis, characterization, and evaluation of antibacterial effect of Ag nanoparticles against *Escherichia coli* O157:H7 and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)," *International Journal of Nanomedicine*, vol. 9, pp. 1717–1729, 2014 hoặc sinh học, ví dụ J. L. López-Miranda, M. Vázquez, N. Fletes, R. Esparza, and G. Rosas, "Biosynthesis of silver nanoparticles using a *Tamarix gallica* leaf extract and their antibacterial activity," *Materials Letters*, vol. 176, pp. 285–289,

2016. Tất cả các phương pháp này đều có ưu và nhược điểm riêng liên quan đến chi phí, thời gian, độ ổn định, phân bố kích thước, độ tinh khiết và các đặc tính khác. Một trong những phương pháp được sử dụng phổ biến nhất là khử hóa học do quy trình thuận tiện và thiết bị đơn giản, dễ kiểm (H. Wang, X. Qiao, J. Chen, and S. Ding, “Preparation of silver nanoparticles by chemical reduction method,” *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 256, no. 2-3, pp. 111–115, 2005). Tuy nhiên, phương pháp hóa học không thân thiện với môi trường, tốn kém và thu được hạt nano có độ tinh sạch thấp. Ngược lại, các phương pháp sinh học sử dụng các chất khử tự nhiên, ví dụ vi sinh vật (vi khuẩn hoặc nấm) hoặc chiết xuất thực vật để thu được nano bạc từ muối bạc thích hợp, phương pháp này thân thiện với môi trường và chi phí thấp hơn (S. Ahmed, M. Ahmad, B. L. Swami, and S. Ikram, “A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: a green expertise,” *Journal of Advanced Research*, vol. 7, no. 1, pp. 17–28, 2016), nhưng thu được dung dịch bạc thu được có nồng độ thấp và không kiểm soát được kích thước hạt (Q. H. Tran, V. Q. Nguyen, and A. T. Le, “Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives,” *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, Vol. 4, No. 3, article 033001, 2013).

So với các phương pháp hóa học và sinh học, phương pháp vật lý để tạo ra vật liệu nano bạc được cho là phương pháp sản xuất thu được nano bạc có độ tinh sạch tốt hơn, kích thước đảm bảo. Phương pháp vật lý còn cho phép thu được hạt nano bạc từ bạc khối bằng một quy trình duy nhất để thu được hạt nano bạc quy mô lớn với kích thước đồng nhất (M. N. Nadagouda, T. F. Speth, and R. S. Varma, “Microwave-assisted green synthesis of silver nanostructures,” *Accounts of Chemical Research*, vol. 44, no. 7, pp. 469–478, 2011). Tuy nhiên cấu trúc hạt nano thu được bằng phương pháp này có nhiều hình dạng khác nhau, điều này ảnh hưởng đến mức độ phân tán của hạt nano cũng như giảm hiệu quả sát khuẩn của hạt.

Nhằm tạo ra dung dịch bạc nano, đã có một số nghiên cứu dựa trên phương pháp điện hóa, ví dụ, V. S. Santosh, K. Kondeti, U. Gangal, S. Yatom, and P. J. Bruggeman, “Ag⁺reduction and silver nanoparticle synthesis at the plasma–liquid interface by an RF driven atmospheric pressure plasma jet: Mechanisms and the effect of surfactant,” *Journal of Vacuum Science and Technology A*, vol. 35, no. 6, article 061302, 2017 và N. M. Thuy, *Research on the Anaerobic Dissociation of the Anode to*

Generate Silver Nanoparticles Using High Voltage, Ph.D. thesis, Vietnam Academy of Science and Technology, 2015, đã tạo ra vật liệu nano bạc trên cơ sở tương tác plasma lỏng. Trong đó các tác giả đã sử dụng hai điện cực kim loại bạc nguyên chất, một điện cực được nhúng trong dung dịch và điện cực còn lại chạm vào bề mặt dung dịch. Với cấu hình này, có thể tạo ra dung dịch bạc nano khá tinh khiết. Tuy nhiên, dung dịch thu được vẫn còn loãng (nồng độ thấp hơn 300 ppm) với phân bố cỡ hạt khá rộng.

Để nano bạc phân tán trong dung dịch tốt, hiệu quả, phương pháp plasma điện hóa đã được phát triển, ví dụ tài liệu Nguyen Thi Thu Thuy et al, Green plasma electrochemical synthesized colloidal silver nanoparticles and their antibacterial activity, Journal of nanomaterials, Volume 2022, đã đề cập đến phương pháp plasma điện hóa. Trong đó các hạt nano bạc được tạo ra trực tiếp từ cực dương bạc bằng phương pháp plasma hóa trong chất lỏng với cả hai điện cực phóng điện từ kim loại bạc khối chìm trong dung dịch. Trong đó hai điện cực này được đặt trong hộp thủy tinh với nguồn điện áp cao xoay chiều lên tới 6kV, tần số 25kHz. Cả hai điện cực được phủ bởi ống Teflon sao cho một phần đầu nhỏ được tiếp xúc trực tiếp với dung dịch. Cực âm là một thanh molyden nhọn được đặt đối diện với cực dương khoảng 2mm. Cực dương là bạc tinh khiết, đường kính 6mm. Trong quá trình plasma hóa với dòng plasma cực đại 1,4A cho phép phóng điện liên tục giải phóng ion bạc để tạo hạt nano bạc hình cầu trong dung dịch keo, kích thước hạt trung bình khoảng 9,7 nm. Kích thước hạt nano có thể được điều khiển, được tích điện âm trong môi trường plasma nên bền và phân tán tốt.

Ngoài ra, để tăng khả năng sát khuẩn của nano bạc bằng cách giảm kích thước hạt để tăng diện tích bề mặt. Tuy nhiên cách này có giới hạn là hạt nano không thể bé hơn 2 nm, ngoài ra khi hạt nano bạc có kích thước quá bé có thể dẫn đến mất an toàn do chúng có thể dễ dàng thâm nhập tế bào người gây ngộ độc.

Ngoài bạc, đồng là 1 chất kháng nấm hiệu quả, có thể sử dụng ở dạng dung dịch Bordeaux hay dung dịch phèn xanh, là hỗn hợp kết hợp pha trộn giữa đồng sunfat (CuSO_4) và vôi bột (Ca(OH)_2) được sử dụng làm thuốc diệt nấm khuẩn phổ rộng cho nhiều loại cây. Nhưng hàm lượng diệt khuẩn/nấm tối thiểu rất cao nên có thể gây độc cho người và gia cầm, đặc biệt là tôm cá. Đồng chelat cũng đã được phát triển dùng làm thuốc trị nấm bệnh, đặc biệt nó còn giúp tăng khả năng chống chịu của cây trồng đối với các điều kiện bất lợi như thời tiết, sâu bệnh. Tuy nhiên ngưỡng ức chế nấm của đồng

chelate cũng khá cao. Ngưỡng ức chế nấm của đồng chelat thường vào khoảng vài trăm ppm.

Nano đồng cũng được dùng sử dụng như một chất kháng khuẩn tiềm năng, nhưng khó chế tạo, không bền để hình thành ion Cu^{2+} độc mà cây cối không thể hấp thụ. Bên cạnh đó hàm lượng ức chế tối thiểu của nano đồng cũng khá cao vào cỡ từ 20 đến 60 ppm đối với vi khuẩn và lên tới vài trăm ppm đối với nấm.

Tại liên minh châu Âu và vương quốc Anh, chitosan được coi như một chất nền dùng làm thuốc diệt nấm và diệt khuẩn sinh học trên nhiều loại cây trồng (European Commission (18/11/2021). “Expert group for technical advice on organic production. Final report on plant protection (III)” (PDF), 25/07/2021). Chitosan có thể kháng khuẩn với hàm lượng ức chế tối thiểu vào cỡ 0,3 g/L (<https://www.nature.com/articles/s41598-022-12150-3>) và kháng nấm với hàm lượng ức chế tối thiểu vào khoảng 12g/L (Sudipta Chatterjee, A study on antifungal activity of water-soluble chitosan against *Macrophomina phaseolina*, International Journal of Biological Macromolecules, Volume 67, 06/2014, p452-457). Nồng độ sát trùng tối thiểu đối với vi khuẩn và nấm ở ngưỡng cao, nên khó đưa vào áp dụng thực tế, đặc biệt là trong nuôi trồng thủy sản (Basic substances AHDB”, <http://ahdb.org.uk>. 18/11/2021).

Mặc dù đã có nhiều phương pháp nhằm thu được dung dịch nano bạc kết hợp với đồng để tăng hiệu quả diệt nấm và diệt khuẩn, tận dụng được đặc tính của hai vật liệu này. Tuy nhiên, các phương pháp chế tạo thường là tạo dung dịch nano bạc đồng, hoặc trộn nano bạc với hợp chất của đồng. Tuy nhiên quy trình chế tạo nano bạc đồng thường diễn ra theo nhiều bước và dung dịch thu được có độ ổn định không cao. Đặc biệt khi trộn nano bạc bình thường với các hợp chất của đồng rất dễ gây kết tủa hoặc dung dịch thu được không bền. Ngoài ra, chưa có phương pháp sản xuất cho phép sản xuất chế phẩm chứa nano bạc và đồng với các hạt nano bạc đồng nhất dựa trên kỹ thuật plasma.

Do đó, cần có quy trình sản xuất dung dịch sát trùng trên cơ sở phức hợp nano bạc bằng kỹ thuật plasma để tăng hiệu quả sát trùng bề mặt và đồng chelat để thu được dung dịch sát trùng có hiệu quả cho phép ứng dụng trong nông nghiệp cũng như trong thủy sản để sát khuẩn, bảo vệ cây trồng, vật nuôi trước các vi khuẩn và nấm gây bệnh, giảm thiểu việc sử dụng thuốc bảo vệ thực vật cũng như các chất kháng sinh. Ngoài ra, cũng cần có dung dịch sát khuẩn cho phép sát khuẩn hiệu quả, ổn định ngay cả ở nồng độ thấp, giảm chi phí và kéo dài thời gian sử dụng.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế nhằm khắc phục các tồn tại nêu trên, cụ thể là sáng chế đề xuất quy trình sản xuất dung dịch khử trùng trên cơ sở phức hợp nano bạc plasma và đồng chelat được phân tán trong nền chitosan tạo ra phức đồng chelat-chitosan nhằm tăng hiệu suất khử trùng, cho phép diệt khuẩn và diệt nấm hiệu quả. Sáng chế cũng đề cập đến dung dịch khử trùng trên cơ sở phức hợp nano bạc plasma và đồng chelat-chitosan thu được từ quy trình theo sáng chế.

Theo mục đích thứ nhất, quy trình sản xuất dung dịch khử trùng trên cơ sở phức hợp nano bạc plasma và đồng chelat-chitosan, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) điều chế dung dịch nano bạc plasma bằng cách plasma hóa bạc trong môi trường nước khử ion bổ sung chất hoạt động bề mặt PVA hoặc PVP với lượng từ 2 đến 7 g/l, trong đó điện cực âm là thanh molypden đầu nhọn được cho tiếp xúc gần với điện cực dương bạc trong khoảng từ 1,5 đến 2cm, cường độ dòng điện DC cao áp 6kV, tần số 25Hz để tạo ra dòng plasma cực đại 1,4A trên điện cực dương để phân tán các hạt nano bạc plasma hình cầu kích thước khoảng từ 5 đến 10 nm thu được dung dịch chứa nano bạc plasma;

b) thu dung dịch keo nano bạc plasma bằng cách duy trì điều kiện plasma, đồng thời bổ sung hỗn hợp axit ascorbic và natri carbonat được phối trộn theo tỷ lệ từ 1,6/1 đến 2/1 (theo khối lượng) vào dung dịch chứa nano bạc plasma thu được ở trên để tạo dạng keo, tiến hành khuấy trộn để phân tán hạt nano bạc plasma đến khi thu được dung dịch keo ổn định chứa nano bạc plasma với nồng độ từ 1000 đến 2000 ppm;

c) tạo phức hợp nền đồng chelat-chitosan bằng cách hòa tan chitosan trong dung dịch axit axetic nồng độ 15% đến hàm lượng 100 g/l, sau đó bổ sung đồng chelat theo tỷ lệ đồng chelat/chitosan là từ 5 đến 10% trọng lượng, sau khi khuấy trộn thu được phức hợp nền đồng chelat-chitosan ổn định; và

d) thu dung dịch khử trùng trên cơ sở phức hợp nano bạc plasma và đồng chelat-chitosan bằng cách bổ sung từ từ dung dịch keo chứa nano bạc plasma với phức hợp nền đồng chelat-chitosan theo tỷ lệ 1:1 theo thể tích, sau khi phối trộn đều thu được dung dịch khử trùng dạng lỏng.

Theo một phương án ưu tiên, trong đó quá trình plasma thu nano bạc plasma bằng cách cho điện cực âm molypden tiếp xúc gần với điện cực bạc ở khoảng cách 1,5 cm trong khi duy trì cường độ dòng điện DC cao áp 6kV, tần số 25Hz để tạo ra dòng plasma

cực đại 1,0 A trên điện cực dương nhằm tạo ra hạt nano bạc plasma hình cầu, đường kính khoảng từ 5 nm.

Theo một phương án ưu tiên, trong đó nồng độ của hạt nano bạc plasma này thu được trong dung dịch keo là 2000 ppm.

Theo mục đích thứ hai, sáng chế đề cập đến dung dịch khử trùng trên cơ sở phức hợp nano bạc plasma và đồng chelat-chitosan thu được từ quy trình theo sáng chế, trong đó dung dịch khử trùng này chứa nano bạc plasma nồng độ từ 500 đến 1000 ppm được phân tán trong nền keo, đồng chelat nồng độ từ 2,5 đến 5 g/l và chitosan nồng độ 50 g/l, trong đó:

nền keo phân tán nano bạc plasma bao gồm PVA hoặc PVP với lượng từ 1 đến 3,5 g/l được tạo keo với phức hợp axit ascorbic và natri carbonat, tỷ lệ từ 1,6/1 đến 2/1 theo khối lượng, và

nano bạc plasma có dạng hình cầu được tạo ra bằng cách plasma hóa bạc trong điều kiện điện cực âm là thanh molphden đầu nhọn được cho tiếp xúc gần với điện cực dương bạc trong khoảng từ 1,5 đến 2cm, cường độ dòng điện DC cao áp 6kV, tần số 25Hz để tạo ra dòng plasma cực đại 1,4A trên điện cực dương để thu được hạt nano bạc plasma hình cầu kích thước từ 5 đến 10 nm.

Theo phương án ưu tiên, trong đó hạt nano bạc plasma trong chế phẩm có dạng hình cầu với kích thước đường kính khoảng 8nm và được tạo ra bằng cách cho đầu điện cực âm molybden tiếp xúc gần với điện cực bạc ở khoảng cách 1,5 cm trong khi duy trì cường độ dòng điện DC cao áp 6kV, tần số 25Hz để tạo ra dòng plasma cực đại 1,0 A trên điện cực dương.

Dung dịch khử trùng trên cơ sở phức hợp nano bạc plasma và đồng chelat-chitosan thu được từ quy trình theo sáng chế được dựa trên các hạt bạc nano hình cầu đồng nhất được phân tán trong nền keo chứa PVA hoặc PVP với lượng 2 g/l cho thấy ổn định, chịu được điều kiện khắc nghiệt, cho phép ổn định trong khoảng pH từ 2 đến 13, độ mặn lên đến 1% thích hợp ứng dụng trong nhiều lĩnh vực, đặc biệt cho phép ứng dụng trong điều kiện thực địa bên ngoài môi trường để bảo vệ cây trồng và vật nuôi.

Dung dịch khử trùng thu được từ quy trình theo sáng chế kết hợp được thành phần nano bạc plasma, đồng chelat và chitosan trong nền keo phân tán cho phép duy trì được đặc tính kháng khuẩn của bạc, đặc tính kháng nấm của đồng chelat và có khả năng hỗ

trợ của chitosan cho phép ổn định, nâng cao đặc tính kháng khuẩn của nano bạc và đặc tính kháng nấm của đồng chelat.

Sáng chế còn đề cập đến dung dịch kháng nấm và kháng khuẩn thu được bằng cách pha chế dung dịch khử trùng theo sáng chế với dung dịch axit axetic loãng, trong đó dung dịch này bao gồm các thành phần tính theo % trọng lượng sau:

Nano bạc plasma:	0,05 - 0,1
Đồng chelat:	0,05 - 0,1
PVA hoặc PVP:	0,2 - 0,7
Axit ascorbic:	0,1 - 1,0
Natri carbonat:	0,01 - 0,1
Axit axetic:	1,0 - 2,0
Chitosan:	1 - 5

Nước RO vừa đủ

trong đó nano bạc plasma có dạng hình cầu, kích thước từ 5 đến 10 nm được tạo ra bằng phương pháp plasma hóa điện cực bạc.

Theo phương án ưu tiên, trong đó hạt nano bạc plasma trong chế phẩm có dạng hình cầu với kích thước đường kính khoảng 5nm và được tạo ra bằng cách cho đầu điện cực âm molybden tiếp xúc gần với điện cực bạc ở khoảng cách 1,5 cm trong khi duy trì cường độ dòng điện DC cao áp 6kV, tần số 25Hz để tạo ra dòng plasma cực đại 1,0 A trên điện cực dương.

Dung dịch kháng nấm và kháng khuẩn theo sáng chế chứa nano bạc plasma theo sáng chế ổn định với nồng độ ức chế tối thiểu tính theo bạc nano đạt 0,2 ppm, theo đồng đạt 0,4 ppm và chitosan đạt 4 ppm, nồng độ sát trùng tối thiểu tính theo bạc nano đạt 1 ppm, theo đồng đạt 2 ppm và theo chitosan đạt 20 ppm.

Dung dịch khử trùng và dung dịch kháng nấm và kháng khuẩn theo sáng chế trên cơ sở nano bạc plasma, đồng chelat và chitosan được ổn định theo sáng chế có thể ứng dụng trong bảo vệ thực vật, nuôi trồng thủy sản và sát trùng bề mặt.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 là ảnh chụp mẫu nano bạc plasma thu được trên kính hiển vi điện tử (ảnh TEM).

Hình 2 là kết quả phổ cộng hưởng plasmon đánh giá mức độ phân bố kích thước của mẫu hạt nano bạc plasma.

Mô tả chi tiết của sáng chế

Sau đây, sáng chế được mô tả chi tiết với các ví dụ và phương án thực hiện cụ thể, tuy nhiên, các ví dụ và các phương án thực hiện cụ thể này chỉ nhằm làm rõ bản chất của sáng chế chứ không nhằm giới hạn phạm vi yêu cầu bảo hộ. Phạm vi yêu cầu bảo hộ của sáng chế được đề cập trong yêu cầu bảo hộ kèm theo.

Sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất dung dịch sát trùng trên cơ sở phức hợp nano bạc plasma và đồng chelat được phân tán trong nền chitosan và dung dịch khử trùng trên cơ sở phức hợp nano bạc plasma và đồng chelat-chitosan thu được từ quy trình theo sáng chế. Dung dịch khử trùng này có thể được pha chế để tạo ra dung dịch kháng nấm và kháng khuẩn để ứng dụng trong bảo vệ thực vật, nuôi trồng thủy sản và sát trùng bề mặt.

Hạt nano bạc plasma theo sáng chế được tạo ra trên cơ sở plasma điện hóa điện cực bạc. Thiết bị thu hạt nano bạc plasma bao gồm hộp thủy tinh đựng dung dịch điện ly (điện môi) chứa điện cực. Điện cực bạc được bọc ống Teflon đóng vai trò điện cực dương. Điện cực molypden đóng vai trò là điện cực âm, bao gồm thanh điện cực được bao bởi ống Teflon có đầu nhọn. Phần đầu nhọn của điện cực âm molypden được cho tiếp xúc với điện môi và được bố trí sát với điện cực dương ở vị trí hở tiếp xúc với điện môi. Dưới tác dụng của dòng điện DC cao áp sẽ tạo ra điều kiện plasma bề mặt để ăn mòn điện cực dương, tạo ra các hạt bạc nano có kích thước đồng đều và ở dạng cầu hoàn chỉnh.

Quá trình plasma hóa điện cực được xác định xảy ra bao gồm ba giai đoạn với giai đoạn 1 bao gồm bước điện phân để điện phân nước tạo ra khí hidro, các phân tử bạc ở cực dương bị điện phân tạo ra Ag^+ giải phóng vào dung dịch. Giai đoạn 2 xảy ra khi lượng hydro sinh ra bao phủ bề mặt catốt và dưới điện áp cao, xảy ra hiện tượng phóng điện liên tục để tạo ra plasma. Khi điện trường giữa cực âm và cực dương bị phá vỡ, hồ quang plasma hình thành giữa hai điện cực. Ban đầu là plasma giữa hydro và hơi nước, tiếp đó giữa hai điện cực phân thành ba vùng, vùng điện phân, ở đầu cực dương, tại đó các ion Ag^+ liên tục thoát ra và di chuyển về phía cực âm, vùng khử là nơi các ion Ag^+ bị khử thành nguyên tử bạc Ag^0 bởi nguyên tử hydro và các electron, cuối cùng là vùng tạo hạt là vùng hình thành và phát triển thành các hạt nano bạc plasma.

Các hạt bạc nano thu được này có kích thước đồng đều phụ thuộc vào điện trường, dung dịch điện môi và khoảng cách của các điện cực, do đó có thể điều chỉnh kích thước

hạt nano bạc plasma theo khoảng cách và cường độ dòng điện và hạt nano bạc thu được không bị lẫn tạp chất trong quá trình khử, ví dụ muối bạc nitrat.

Theo đó, hạt nano bạc plasma theo sáng chế chỉ hạt nano bạc có cấu trúc hình cầu đồng đều thu được bằng quy trình plasma điện cực bạc nêu trên. Lưu ý rằng các hạt nano bạc thu được từ quy trình khác nhau, ví dụ hóa học, cơ học hoặc sinh học, nhưng không có kích thước hình cầu đồng nhất và có độ đồng nhất không nằm trong phạm vi khái niệm hạt nano bạc plasma theo sáng chế.

Theo mục đích thứ nhất, quy trình sản xuất dung dịch khử trùng trên cơ sở phức hợp nano bạc plasma và đồng chelat, trong đó quy trình này bao gồm các bước: a) điều chế dung dịch nano bạc plasma; b) thu dung dịch keo nano bạc plasma; c) tạo phức hợp nền đồng chelat-chitosan; và d) thu dung dịch khử trùng trên cơ sở phức hợp nano bạc plasma và đồng chelat-chitosan.

Trong bước điều chế dung dịch nano bạc plasma, tiến hành plasma hóa bạc trong môi trường nước khử ion. Theo cơ chế plasma điện cực bạc ở trên, các hạt nano bạc hình cầu sinh ra có kích thước khác nhau nếu không được chặn kịp thời. Cụ thể, các tác giả đã thấy rằng, khi bổ sung các chất hoạt động bề mặt, ví dụ PVA hoặc PVP với lượng từ 2 đến 7 g/l thì quá trình plasma xảy ra, các hạt bạc nano sinh ra sẽ ngay lập tức được bao bọc bởi các chất hoạt động bề mặt này. Khi đó hạt nano bạc plasma sinh ra có kích thước đồng nhất, có dạng hình cầu và được phân tán vào trong dung dịch điện môi. Do đó chất hoạt động bề mặt và tạo dung dịch keo nhằm thu nhận hạt nano bạc plasma được nghiên cứu và các tác giả nhận thấy rằng, khi bổ sung PVA hoặc PVP với lượng từ 2 đến 7 g/l, tốt nhất là 2g/l trong điều kiện môi trường chứa natri carbonat và axit ascorbic sẽ tạo ra phức hợp dạng keo, cho phép ngay lập tức bao và phân tán hạt nano sinh ra.

Trong thiết bị để tạo ra hạt nano bạc plasma, điện cực âm là thanh molypden đầu nhọn. Điện cực dương là điện cực bạc. Hai điện cực này được đặt trong bể thủy tinh với dung dịch điện ly đóng vai trò là điện môi. Để tập trung dòng điện tại đầu điện cực, điện cực âm là điện cực molypden được bọc Teflon với có đầu nhọn tiếp xúc với dung dịch. Điện cực dương đóng vai trò điện cực phân tán là bạc nguyên chất được bọc Teflon với vị trí phân tán tiếp xúc với điện môi. Khi hai điện cực này được cho tiếp xúc gần nhau trong điều kiện cường độ dòng cao áp sẽ phát sinh dòng plasma trên bề mặt điện cực dương ăn mòn điện cực này. Do đó, khi điện cực âm molypden được đặt gần với điện cực dương bạc trong khoảng từ 1,5 đến 2cm. Dưới tác dụng của cường độ dòng điện DC

cao áp sẽ tạo ra dòng plasma. Theo phương án cụ thể, cường độ dòng điện để tạo ra hạt nano bạc plasma theo sáng chế là 6kV, tần số 25Hz để tạo ra dòng plasma cực đại 1,4A trên điện cực dương. Với các bố trí này, khi đó sẽ tạo ra hạt nano. Các hạt nano này sẽ ngay lập tức được bao bởi dung dịch điện phân, phân tán các hạt nano bạc plasma hình cầu kích thước khoảng từ 5 đến 10 nm thu được dung dịch chứa nano bạc plasma.

Theo một phương án ưu tiên, trong đó quá trình plasma để thu nano bạc plasma bằng cách cho điện cực âm molybden tiếp xúc gần với điện cực bạc ở khoảng cách 1,5 cm trong khi duy trì cường độ dòng điện DC cao áp 6kV, tần số 25Hz để tạo ra dòng plasma cực đại 1,0 A trên điện cực dương nhằm tạo ra hạt nano bạc plasma hình cầu, đường kính khoảng từ 5 nm.

Để phân tán tốt các hạt nano bạc plasma, các tác giả nhận thấy các dung dịch chứa chất hoạt động bề mặt tạo ra dạng keo có khả năng bắt giữ và bao hiệu quả. Theo đó, để thu dung dịch keo nano bạc plasma, trong quá trình plasma xảy ra, tiến hành bổ sung hỗn hợp axit ascorbic và natri carbonat được phối trộn theo tỷ lệ từ 1,6/1 đến 2/1 (theo khối lượng) vào dung dịch chứa nano bạc plasma đang được hình thành. Quá trình này nhằm tạo ra dung dịch dạng keo cho phép phân tán hạt nano bạc plasma hiệu quả. Quá trình phân tán hành tốt nhất là được thực hiện trong điều kiện khuấy trộn để phân tán hạt nano bạc plasma. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ xác định, tùy theo điều kiện khuấy, để thu được dung dịch phân tán hạt nano bạc plasma. Quá trình plasma và phân tán này được duy trì đến khi thu được dung dịch keo ổn định chứa nano bạc plasma với nồng độ từ 1000 đến 2000 ppm. Theo một phương án ưu tiên, tốt nhất là dung dịch thu được có nồng độ nano bạc plasma từ 1500 đến 2000 ppm, tốt nhất là 2000 ppm.

Trong bước tạo phức hợp nền đồng chelat-chitosan, quá trình này nhằm thu phức hợp phân tán đồng chelat trong chitosan. Tiến hành hòa tan chitosan với dung dịch axit axetic 15% đến hàm lượng 100 g/l. Tiếp đó bổ sung đồng chelat theo tỷ lệ đồng chelat/chitosan là từ 5 đến 10% trọng lượng. Quá trình này được thực hiện trong điều kiện khuấy, sau khi khuấy trộn đều, thu được phức hợp nền đồng chelat-chitosan ổn định.

Để thu dung dịch khử trùng trên cơ sở phức hợp nano bạc plasma và đồng chelat-chitosan tiến hành bổ sung từ từ dung dịch keo chứa nano bạc plasma với phức hợp nền

đồng chelat-chitosan theo tỷ lệ 1:1 theo thể tích. Các dung dịch này sau khi phối trộn đều thu được dung dịch khử trùng dạng lỏng.

Dung dịch khử trùng dạng lỏng theo sáng chế trên cơ sở phức hợp nano bạc plasma và đồng chelat thu được từ quy trình theo sáng chế có thành phần chứa nano bạc plasma nồng độ từ 500 đến 1000 ppm được phân tán trong nền keo, đồng chelat nồng độ từ 2,5 đến 5 g/l và chitosan nồng độ từ 10 đến 50 g/l. Dung dịch này cho phép khử trùng này khác biệt ở chỗ nền keo phân tán nano bạc plasma bao gồm poly(vinyl alcohol) (PVA) hoặc polyvinylpyrrolidon (PVP) với lượng từ 1 đến 3,5 g/l. Nền keo này được tạo phức với phức hợp axit ascorbic và natri carbonat, tỷ lệ từ 1,6/1 đến 2/1 theo khối lượng để tạo thành dạng keo cho phép bao hạt nano bạc chitosan trong quá trình plasma hóa để thu được hạt nano bạc hình cầu đồng nhất. Ngoài ra, phức hợp keo này cho phép ổn định và phân tán đồng đều hạt nano bạc, giữ cho hạt nano bạc không bị kết tụ đồng thời tăng khả năng chống chịu của phức hợp trước các điều kiện ngoại cảnh bất lợi. Ngoài ra, dung dịch khử trùng dạng lỏng theo sáng chế khác biệt ở chỗ nano bạc plasma có trong dung dịch tồn tại ở dạng hình cầu. Hạt nano bạc plasma này được tạo ra bằng cách plasma hóa bạc trong điều kiện điện cực âm là thanh molphden đầu nhọn. Đầu này được cho tiếp xúc gần với điện cực dương bạc trong khoảng từ 1,5 đến 2cm. Điều kiện plasma được thực hiện trong môi trường cường độ dòng điện DC cao áp 6kV, tần số 25Hz để tạo ra dòng plasma cực đại 1,4A trên điện cực dương để thu được hạt nano bạc plasma hình cầu kích thước từ 5 đến 10 nm.

Dung dịch khử trùng trên cơ sở phức hợp nano bạc plasma và đồng chelat thu được từ quy trình theo sáng chế được dựa trên các hạt bạc nano hình cầu đồng nhất được phân tán trong nền keo chứa PVA hoặc PVP với lượng 2 g/l cho thấy ổn định, chịu được điều kiện khắc nghiệt, cho phép ổn định trong khoảng pH từ 2 đến 13, độ mặn lên đến 1% thích hợp ứng dụng trong nhiều lĩnh vực, đặc biệt cho phép ứng dụng trong điều kiện thực địa bên ngoài môi trường để bảo vệ cây trồng và vật nuôi.

Dung dịch khử trùng thu được từ quy trình theo sáng chế kết hợp được thành phần nano bạc plasma, đồng chelat và chitosan trong nền keo phân tán. Dung dịch này cho phép duy trì được đặc tính kháng khuẩn của bạc, đặc tính kháng nấm của đồng chelat và có khả năng hỗ trợ của chitosan cho phép ổn định, nâng cao đặc tính kháng khuẩn của nano bạc và đặc tính kháng nấm của đồng chelat.

Sáng chế còn đề cập đến dung dịch kháng nấm và kháng khuẩn thu được bằng cách pha chế dung dịch khử trùng theo sáng chế với dung dịch axit axetic loãng. Dung dịch này cho phép sử dụng trực tiếp để bảo vệ cây trồng khỏi bệnh hại hoặc bảo vệ vật nuôi trước dịch bệnh. Dung dịch này cũng cho phép sát trùng trực tiếp các bề mặt, trong đó dung dịch này bao gồm các thành phần tính theo % trọng lượng sau:

Nano bạc plasma:	0,05 - 0,1
Đồng chelat:	0,05 – 0,1
PVA hoặc PVP:	0,2 – 0,7
Axit ascorbic:	0,1 - 1,0
Natri carbonat:	0,01 - 0,1
Axit axetic:	1,0 - 2,0
Chitosan:	1 -5

Nước RO vừa đủ

trong đó nano bạc plasma có dạng hình cầu, kích thước từ 5 đến 10 nm được tạo ra bằng phương pháp plasma hóa điện cực bạc.

Dung dịch kháng nấm và kháng khuẩn theo sáng chế chứa nano bạc plasma theo sáng chế ổn định với nồng độ ức chế tối thiểu tính theo bạc nano đạt 0,2 ppm, theo đồng đạt 0,4 ppm và chitosan đạt 4 ppm, nồng độ sát trùng tối thiểu tính theo bạc nano đạt 1 ppm, theo đồng đạt 2 ppm và theo chitosan đạt 20 ppm.

Dung dịch khử trùng và dung dịch kháng nấm và kháng khuẩn theo sáng chế trên cơ sở nano bạc plasma, đồng chelat và chitosan được ổn định theo sáng chế có thể ứng dụng trong bảo vệ thực vật, nuôi trồng thủy sản và sát trùng bề mặt.

Dung dịch khử trùng và dung dịch kháng nấm và kháng khuẩn theo sáng chế có hiệu quả trong việc diệt khuẩn *E. coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Streptococcus agalactiae* đồng thời cho phép diệt nấm *Pantoea stewartii*. Điều này cho thấy hiệu quả diệt nấm và vi khuẩn của các dung dịch thu được. Ngoài ra, các dung dịch này cho thấy các hạt nano bạc plasma được bao bởi PVP hoặc PVA có độ ổn định cao, không bị biến đổi và giảm hiệu quả ít nhất trong 24 tháng ở điều kiện bình thường.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Sản xuất dung dịch khử trùng trên cơ sở phức hợp nano bạc plasma và đồng chelat-chitosan

Tiến hành bố trí thiết bị để plasma điện cực bạc bao gồm điện cực âm là thanh molybden bọc Teflon có đầu nhọn hở. Điện cực dương là điện cực bạc được bọc Teflon với vị trí tiếp xúc với điện cực âm hở. Trong đó điện cực bạc là bạc nguyên chất 0,5 g, điện cực molybden được bố trí với đầu nhọn cho tiếp xúc cách điện cực bạc 1,5cm. Cả hai điện cực được nhúng trong bể thủy tinh chứa dung dịch RO với có hòa 3,5 g PVP 4000 ($(C_6H_9NO)_n$) khối lượng 40000 g/mol. Cường độ dòng điện DC cao áp 6kV, tần số 25Hz để tạo ra dòng plasma cực đại 1,4A. Các thành phần nguyên liệu được chuẩn bị như trên bảng sau:

Hoá chất	Công thức phân tử	Khối lượng phân tử	Số lượng (g)
Bạc kim loại (> 99,9%)	Ag	108g/mol	0,5
PVP 40000 98%	$(C_6H_9NO)_n$	40000g/mol	3,5
Axit ascobic	$C_6H_8O_6$	176g/mol	0,5
Axit axetic	$C_2H_4CO_2$	60g/mol	15
Natri carbonat	Na_2CO_3	106g/mol	0,3
Chitosan 90%	NA	NA	10
Đồng chelat	$C_{10}H_{12}N_2O_8CuNa_2$	397,7g/mol	6,67
Nước RO	H_2O	18g/mol	vừa đủ 1 lít

Tiến hành hoà tan 3,5 g PVP vào 450ml nước RO. Tiến hành khuấy trộn đến khi có dung dịch đồng nhất. Cân 0,5 g axit ascobic và 0,3 g natri carbonat hoà tan vào 20ml nước RO thu được hỗn hợp 20ml dung dịch đậm.

Tiến hành kích hoạt plasma trong dung dịch để tạo ra chế độ plasma ổn định, bổ sung từ từ dung dịch hỗn hợp axit ascobic và natri carbonat vào buồng phản ứng. Trong quá trình plasma tạo hạt nano bạc plasma, tiến hành khuấy đều tay cho đến khi thu được dung dịch chứa nồng độ nano bạc plasma 1000 ppm.

Hoà tan 15g axit axetic vào 85g nước RO thu được dung dịch axit axetic 15%. Cân 10 g chitosan cho vào dung dịch axit axetic 15% này khuấy đều và để qua đêm để thu được dung dịch chitosan có hàm lượng 100g/L.

Cân 6,67g đồng chelat cho từ từ vào dung dịch chitosan 100g/L thu được ở trên, khuấy đều đến khi thu được dung dịch đồng chelat-chitosan đồng nhất.

Cho từ từ dung dịch nano bạc plasma được ổn định bề mặt này vào dung dịch đồng chelat chitosan, khuấy đều cho đến khi đạt nồng độ nano bạc plasma:đồng

chelate:chitosan theo tỉ lệ 0,5:1:10 (theo khối lượng) thu được dung dịch khử trùng trên cơ sở phức hợp bạc plasma và đồng chelat-chitosan. Trong đó nano bạc plasma được xác định đạt nồng độ 500 ppm.

Ví dụ 2: Thử nghiệm hoạt tính khử trùng của dung dịch nano bạc plasma

Để đánh giá hiệu quả khử trùng của dung dịch nano bạc plasma, dung dịch khử trùng trên cơ sở phức hợp bạc plasma và đồng chelat-chitosan thu được từ Ví dụ 1 được đánh giá các đặc tính hoá lý. Các phương pháp đánh giá bao gồm:

Xác định cộng hưởng plasmon và độ ổn định của dung dịch sát khuẩn bằng thiết bị đo phổ hấp thụ ánh sáng tử ngoại – khả kiến (UV-vis);

Xác định đường kính và sự phân bố hạt nano bạc (Ag) trong dung dịch sát khuẩn bằng kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM);

Xác định hiệu quả khử trùng trên mẫu. Trong đó mẫu được pha loãng đến nồng độ từ 0,1 đến 10ppm (tính theo hàm lượng bạc nano). Mẫu được thử nghiệm đánh giá khả năng ức chế sinh trưởng của các chủng vi khuẩn *E.coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Streptococcus agalactiae* và nấm *Pantoea stewartii*. Các phương pháp đánh giá dựa trên khả năng ức chế vi khuẩn và nấm trên môi trường thạch để đánh giá nồng độ ức chế tối thiểu.

Kết quả thử nghiệm cho thấy ảnh chụp trên kính hiển vi điện tử (ảnh TEM) thu được các hạt bạc nano có dạng hình cầu đồng nhất với kích thước phân bố tập trung từ 5 đến 15nm (Hình 1). Kết quả phổ cộng hưởng plasmon có pic cực đại là 408 nm kích thước hạt phân bố khoảng từ 5 nm đến 15 nm, trong đó kích thước phân bố tập trung là 8nm (Hình 2).

Kết quả thử nghiệm khả năng ức chế vi sinh cho thấy, dung dịch thu được từ Ví dụ 1 có nồng độ ức chế tối thiểu tính theo lượng bạc nano đối với *E.coli* là 0,1 ppm, *Vibrio parahaemolyticus* là 0,2 ppm, *Streptococcus agalactiae* là 0,2 ppm và nấm *Pantoea stewartii* là 5 ppm. Điều này cho thấy hiệu quả vượt trội của dung dịch thu được từ Ví dụ 1 cho phép ức chế cả vi khuẩn và vi nấm với nồng độ rất thấp, chỉ khoảng 0,1 ppm (tính theo lượng bạc nano).

Ví dụ 3: Thử nghiệm khả năng diệt vi khuẩn *S.agalactiae* gây bệnh trên cá và vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh trên tôm

Để đánh giá hiệu quả ức chế vi khuẩn *S. agalctiae* gây bệnh trên cá và vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh trên tôm. Tiến hành nuôi cấy phục hồi vi khuẩn *S. agalctiae*

trên thạch Tryptic Soy Agar (TSA) và vi khuẩn *V. parahaemolyticus* trên thạch Thiosulfate-Citrate Bile–Sucrose Agar (TCBS) ở 28°C trong 24 giờ. Các mẫu này được sử dụng để đánh giá hiệu quả ức chế của dung dịch thu được từ Ví dụ 1.

Các chủng vi khuẩn trên được nuôi tăng sinh trong môi trường NB (Nutrient Broth) ở 28°C trong 24 giờ. Sau thời gian nuôi, các loại vi khuẩn phát triển thành các khuẩn lạc có đặc điểm đặc trưng, các khuẩn lạc được nhuộm gram để xác định hình thái vi khuẩn và kiểm định lại bằng PCR. Mật độ vi khuẩn sau tăng sinh được điều chỉnh về 10^8 CFU/ml bằng phương pháp đo mật độ quang (OD600) bằng máy UV/VIS (Lambda 36, Hàn Quốc), kết hợp với cháng cấy trên đĩa thạch. Dịch khuẩn vi khuẩn sau khi tăng sinh được pha loãng ở nồng độ 10^6 CFU/ml.

Dung dịch nano bạc plasma thu được từ Ví dụ 1 được pha loãng với nước dấy nồng độ 0; 0.125; 0.5; 1; 2; 4; 8; 16 ppm vào ống Fancol và đánh số thứ tự tương ứng được sử dụng làm dung dịch thử nghiệm. Tiến hành hút 1ml vi khuẩn có nồng độ 10^6 CFU/ml cho vào 9ml dung dịch nano bạc plasma. Ủ mẫu ở 28°C trong các khoảng thời gian khác nhau gồm: 3 giờ, 6 giờ, 12 giờ, 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ.

Sau mỗi khoảng thời gian ngâm, tiến hành hút 50 µl trang đều trên các đĩa thạch. Sau 24 giờ nuôi cấy, kiểm tra đếm mật độ khuẩn lạc và xác định khả năng bất hoạt các vi khuẩn gây bệnh của dung dịch thu được từ Ví dụ 1 ở các nồng độ pha loãng khác nhau và các khoảng thời gian ủ khác nhau. Kết quả thử nghiệm được thể hiện trên các Bảng 1 và Bảng 2.

Bảng 1. Khả năng ức chế sự phát triển của dung dịch bạc nano plasma đối với vi khuẩn *S. agalctiae*

Nồng độ nano bạc (ppm)	Tỷ lệ bất hoạt sau các khoảng thời gian (%)					
	3 giờ	6 giờ	12 giờ	24 giờ	48 giờ	72 giờ
0	0	0	0	0	0	0
0,125	42,7 ± 10,2	49,1 ± 16,8	20,6 ± 13,6	28,6 ± 14,7	51,5 ± 16,7	8,7 ± 0,8
0,25	55,9 ± 7,9	61 ± 10,1	31,2 ± 5,2	36,3 ± 7,7	53,5 ± 11,6	9,4 ± 0,8
0,5	97,8 ± 0,7	98 ± 0,4	97,3 ± 1	97,1 ± 0,3	97,7 ± 0,6	99,8 ± 0
1	98,4 ± 0,2	99 ± 0,3	99,6 ± 0,1	99,9 ± 0,2	99,9 ± 0,1	99,9 ± 0,1
2	99,5 ± 0,3	99,9 ± 0	99,9 ± 0,1	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
4	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
8	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
16	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0

Bảng 2. Khả năng ức chế sự phát triển của dung dịch bạc nano plasma đối với vi khuẩn *V. parahaemolyticus*

Nồng độ nano bạc (ppm)	Tỷ lệ bất hoạt sau các khoảng thời gian (%)					
	3h	6h	12h	24h	48h	72h
0	0	0	0	0	0	0
0,125	77,7 ± 0,1	18,9 ± 9,7	66,8 ± 0,5	14,5 ± 4	18,5 ± 0,8	7,5 ± 4,2
0,25	99,9 ± 0	89,7 ± 6,2	75,4 ± 3,9	27,4 ± 5	36,2 ± 7,4	76,7 ± 11,2
0,5	99,9 ± 0	100 ± 0	99,9 ± 0	95,4 ± 0,3	96,1 ± 1,2	95,3 ± 0,3
1	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	99,9 ± 0
2	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
4	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
8	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
16	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0

Kết quả cho thấy, dung dịch thu được từ Ví dụ 1 có khả năng ức chế hiệu quả hai vi khuẩn gây bệnh *S. agalctiae* gây bệnh trên cá và vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh trên tôm hiệu quả. Với nồng độ bổ sung rất thấp, chỉ khoảng 1ppm (theo nồng độ bạc), chế phẩm cho phép ức chế vi khuẩn gây bệnh trên tôm và cá hiệu quả. Điều này cho phép ứng dụng chế phẩm trong bảo vệ vật nuôi trong môi trường nuôi trồng thủy hải sản hiệu quả.

Ví dụ 4: Đánh giá khả năng diệt khuẩn của dung dịch nano bạc plasma trong môi trường nước nuôi tôm thẻ chân trắng

Để đánh giá khả năng diệt khuẩn của dung dịch thu được từ Ví dụ 1 với các nồng độ khác nhau trên tôm. Tôm thẻ chân trắng có trọng lượng khoảng từ 10 đến 13 g/con được nuôi thuần trong vòng 7 ngày. Tôm được dùng thử nghiệm đánh giá là tôm đã được nuôi thuần, khỏe mạnh, không bị tổn thương hoặc dị hình và không có biểu hiện bệnh được vào 7 bể nhựa có thể tích nước 100L (30 con/bể). Sau 7 ngày nuôi trong bể, thu mẫu nước nuôi tại mỗi bể kiểm tra mật độ vi khuẩn tổng số ban đầu xác định mật độ vi khuẩn ban đầu (ngày 0).

Bổ sung dung dịch nano bạc plasma thu được từ Ví dụ 1 lần lượt vào các bể nuôi tính theo m³ nước là 2 ml/m³, 4 ml/m³, 8 ml/m³, 16 ml/m³, 32 ml/m³ và 64 ml/m³ và một bể đối chứng không sử dụng thu được từ Ví dụ 1. Sau từ 1, 2 và 3 ngày khử trùng, mẫu nước được cấy trải trên môi trường thạch và nuôi cấy để xác định vi khuẩn lây nhiễm,

thử nghiệm được lặp lại 3 lần. Xác định mật độ vi khuẩn tổng số nhằm đánh giá khả năng diệt khuẩn của dung dịch nano bạc plasma thu được từ Ví dụ 1 trong các bể thử nghiệm. Kết quả thử nghiệm được thể hiện trên Bảng 3.

Bảng 3. Kết quả đánh giá khả năng diệt khuẩn dung dịch theo Ví dụ 1

Nồng độ (ppb)	Tốc độ vi khuẩn phát triển ở các khoảng thời gian khác nhau (%)			
	0 giờ	24 giờ	48 giờ	72 giờ
0	100	228,9	498,3	751,7
1	100	125,3	183,4	711,3
2	100	89,3	130,4	263,8
4	100	65,5	95,8	128,4
8	100	10,2	65,7	89,5
16	100	2,3	10,7	40,9
32	100	0,4	2,6	17,4

Kết quả cho thấy, chỉ với nồng độ rất thấp của chế phẩm theo sáng chế (cỡ ppb), dung dịch bạc nano plasma thể hiện khả năng ức chế rõ ràng khi nồng độ đạt chỉ 2ppb kéo dài tới 48 giờ. Điều này cho thấy hiệu quả vượt trội của chế phẩm thu được từ Ví dụ 1 trong việc ức chế vi khuẩn trong nước, giúp giảm thiểu được các tác nhân gây hại ngay cả khi được sử dụng với nồng độ rất thấp. Hiệu quả cho phép kéo dài tới 72 giờ khi sử dụng với lượng chỉ 8 ppb với hiệu suất ức chế sự phát triển của vi khuẩn lên tới khoảng 1000%. Hiệu suất này được xác định cao hơn so với nồng độ bạc nano thông thường khoảng 100 lần.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Bằng cách sử dụng kỹ thuật nano plasma trong môi trường bổ sung chất hoạt động bề mặt dạng keo (PVP, PVA) để ngay lập tức bao bọc các hạt nano bạc sinh ra trong điều kiện plasma cho phép thu được các hạt plasma hình cầu có kích thước mong muốn. Điều này cho phép tăng hiệu quả hoạt động bề mặt của các hạt nano, cho phép giảm được nồng độ chế phẩm, tăng hiệu quả khử trùng.

Quy trình sản xuất dung dịch khử trùng theo sáng chế cho phép kết hợp hạt nano bạc plasma có kích thước từ 5 đến 10 nm, hình cầu với đồng chelat và chitosan tạo ra phức hợp giữa nano bạc plasma và đồng chelat-chitosan cho phép tăng cường hiệu quả

diệt khuẩn và diệt nấm. Quy trình thực hiện đơn giản, các hạt nano bạc sinh ra được bao bọc trong phức keo cho phép phân tán tốt, giảm thiểu sự kết tụ cho phép sản xuất và ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực, từ nông nghiệp đến y học để bảo vệ cây trồng, vật nuôi trước các tác nhân gây bệnh.

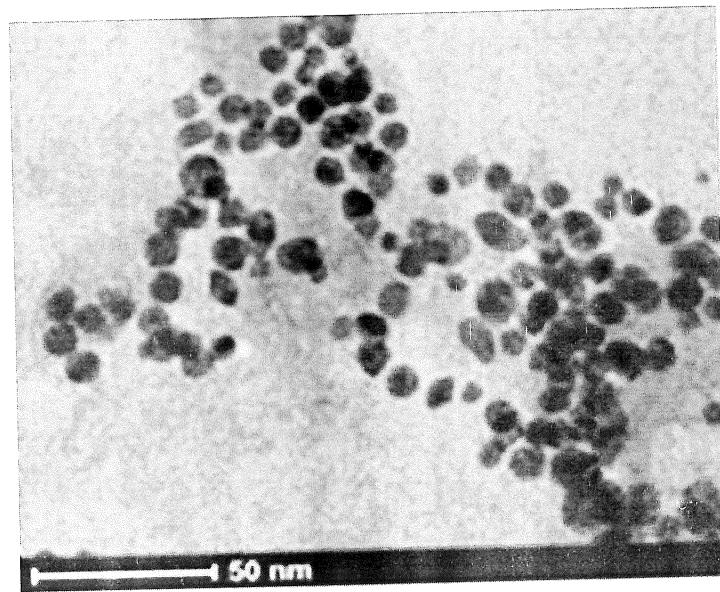
Dung dịch khử trùng trên cơ sở phức hợp nano bạc plasma và đồng chelat-chitosan theo sáng chế cho thấy hiệu quả diệt nấm và diệt khuẩn đồng thời. Chế phẩm cho phép ức chế sự phát triển của vi khuẩn gây bệnh trên cá và trên tôm trong thử nghiệm ngay cả khi sử dụng với nồng độ rất thấp, chỉ từ khoảng 1ppm, giảm nồng độ ức chế tối thiểu lên tới 100 lần so với các thành phần riêng lẻ.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất dung dịch khử trùng trên cơ sở phức hợp nano bạc plasma và đồng chelat-chitosan, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

- a) điều chế dung dịch nano bạc plasma bằng cách plasma hóa bạc trong môi trường nước khử ion bổ sung chất hoạt động bề mặt PVA hoặc PVP với lượng từ 2 đến 7 g/l, trong đó điện cực âm là thanh molypden đầu nhọn được cho tiếp xúc gần với điện cực dương bạc trong khoảng từ 1,5 đến 2cm, cường độ dòng điện DC cao áp 6kV, tần số 25Hz để tạo ra dòng plasma cực đại 1,4A trên điện cực dương để phân tán các hạt nano bạc plasma hình cầu kích thước khoảng từ 5 đến 10 nm thu được dung dịch chứa nano bạc plasma;
- b) thu dung dịch keo nano bạc plasma bằng cách duy trì điều kiện plasma, đồng thời bổ sung hỗn hợp axit ascorbic và natri carbonat được phối trộn theo tỷ lệ từ 1,6/1 đến 2/1 (theo khối lượng) vào dung dịch chứa nano bạc plasma thu được ở trên để tạo dạng keo, tiến hành khuấy trộn để phân tán hạt nano bạc plasma đến khi thu được dung dịch keo ổn định chứa nano bạc plasma với nồng độ từ 1000 đến 2000 ppm;
- c) tạo phức hợp nền đồng chelat-chitosan bằng cách hòa tan chitosan trong dung dịch axit axetic nồng độ 15% đến hàm lượng 100 g/l, sau đó bổ sung đồng chelat theo tỷ lệ đồng chelat/chitosan là từ 5 đến 10% trọng lượng, sau khi khuấy trộn thu được phức hợp nền đồng chelat-chitosan ổn định; và
- d) thu dung dịch khử trùng trên cơ sở phức hợp nano bạc plasma và đồng chelat-chitosan bằng cách bổ sung từ từ dung dịch keo chứa nano bạc plasma với phức hợp nền đồng chelat-chitosan theo tỷ lệ 1:1 theo thể tích, sau khi phối trộn đều thu được dung dịch khử trùng dạng lỏng.

HÌNH 1



HÌNH 2

