



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

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

(11)



1-0050149

(51)^{2022.01} A01N 43/824; A01P 3/00; A01N 25/04 (13) B

(21) 1-2023-01409

(22) 10/08/2021

(86) PCT/CN2021/111791 10/08/2021

(87) WO2022/037442 24/02/2022

(30) 202010827321.4 17/08/2020 CN

(45) 25/08/2025 449

(43) 25/08/2023 425A

(73) 1. ZHEJIANG XINNONG CHEMICAL CO., LTD (CN)

11F, Poly Center, No.277 Xintang Road, Jianggan District Hangzhou City, Zhejiang 310021, China

2. JIANGSU XINNONG CHEMICAL CO., LTD. (CN)

22 Haibin 2nd Road, Rudong Coastal Economic Development Zone, Yangkou Town Nantong City, Jiangsu 226407, China

(72) WEI, Fanglin (CN); WEI, Xiaolin (CN); XU, Peidong (CN); LI, Jun (CN); ZHANG, Jun (CN).

(74) Công ty TNHH Trường Xuân (AGELESS CO.,LTD.)

(54) CHẤT CÔ ĐẶC HUYỀN PHÙ CHỨA KẼM THIAZOL NANO VÀ PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU CHẾ NÓ

(21) 1-2023-01409

(57) Sáng chế đề cập đến chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano và phương pháp điều chế nó. Chất cô đặc huyền phù chứa các hạt kẽm thiazol nano. Tỷ lệ phần trăm của tổng trọng lượng của các hạt kẽm thiazol nano với trọng lượng của chất cô đặc huyền phù là 1%–70%. Các hạt kẽm thiazol nano có D_{90} trong phạm vi $400\text{ nm} < D_{90} \leq 1100\text{ nm}$ và D_{50} trong phạm vi $D_{50} < 90\text{ nm}$; hoặc D_{90} của các hạt kẽm thiazol nano là $D_{90} \leq 400\text{ nm}$ và D_{50} của các hạt kẽm thiazol nano là $90\text{ nm} \leq D_{50} < 120\text{ nm}$. Kẽm thiazol SC được đề xuất trong sáng chế có sự phân bố kích thước hạt đặc biệt. Kẽm thiazol SC có khả năng cải thiện hiệu quả việc kiểm soát dịch bệnh cây trồng và cũng cải thiện đáng kể về tác dụng hoạt tính nhanh và lâu dài.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến lĩnh vực hóa nông nghiệp, và đề cập đến sản phẩm diệt nấm và thuốc trừ sâu nano, cụ thể là đề cập đến chất cô đặc huyền phù (suspension concentrate: SC) chứa kẽm thiazol nano để cải thiện hiệu quả bảo vệ và kiểm soát dịch bệnh cho cây trồng và phương pháp điều chế nó.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Kẽm thiazol có tên hóa học là kẽm 2-amino-5-mercapto-1,3,4-thiadiazol, và công thức phân tử là $C_4H_4N_6S_4Zn$. Vật liệu kỹ thuật (TC) của kẽm thiazol là bột trắng nhạt, có độ hòa tan thấp trong nước và các dung môi hữu cơ như metanol, etanol, DMF, axeton, isopropanol, axetonitril, etyl axetat và metan, và hầu như không hòa tan. Để đạt được hiệu quả tốt hơn của kẽm thiazol, có nhu cầu điều chế chế phẩm kẽm thiazol có kích thước hạt nhỏ hơn. Chế phẩm kẽm thiazol hiện có sẵn trên thị trường chủ yếu là chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano. Các hạt kẽm thiazol trong "Bisheng" (tên thương mại của chất cô đặc huyền phù chứa 20% kẽm thiazol) có D_{90} khoảng 3 đến 5 micro, và "Bisheng" có hiệu quả phòng trừ và kiểm soát dịch bệnh cây trồng tốt (đặc biệt là bệnh vi khuẩn).

Trong quá trình nghiên cứu micro hóa hạt kẽm thiazol, các tác giả đã phát hiện ra rằng kẽm thiazol được micro hóa có phạm vi ứng dụng rộng hơn so với kẽm thiazol không được micro hóa. Ví dụ, làm giảm kích thước hạt của hạt kẽm thiazol trong chế phẩm, như SC kẽm thiazol, tạo điều kiện cho phát huy tác dụng của chế phẩm. Tuy nhiên, khi kích thước hạt giảm xuống dưới một mức nhất định, ví dụ, khi D_{50} được giảm dưới 300 nm, SC kẽm thiazol được micro hóa có thể có độ tính thực

vật đối với một số bộ phận của một số loại cây trồng do phạm vi phân bố không hợp lý của kích thước hạt (xem kết quả thử nghiệm hoạt tính của kẽm thiazol SC trong đơn sáng chế số CN109122699A).

Do đó, sáng chế cần giải quyết vấn đề về hiệu quả và độc tính thực vật của kẽm thiazol SC, điều này là có nhu cầu cải thiện hiệu quả trong khi làm giảm độc tính thực vật của kẽm thiazol SC.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Để giải quyết vấn đề kỹ thuật nêu trên, sáng chế đề xuất chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano, trong đó chất cô đặc huyền phù chứa các hạt kẽm thiazol nano, tỷ lệ phần trăm của tổng trọng lượng của các hạt kẽm thiazol nano với trọng lượng của chất cô đặc huyền phù là 1%–70%, các hạt kẽm thiazol nano có D_{90} trong phạm vi $400\text{ nm} < D_{90} \leq 1100\text{ nm}$, và D_{50} trong phạm vi $D_{50} < 90\text{ nm}$.

Mô tả chi tiết sáng chế

Tốt hơn nếu, trong chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano, các hạt kẽm thiazol nano có D_{90} trong phạm vi $400\text{ nm} < D_{90} \leq 1100\text{ nm}$, và D_{50} trong phạm vi $40\text{ nm} \leq D_{50} < 90\text{ nm}$.

Tốt hơn nếu, trong chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano, các hạt kẽm thiazol nano có D_{90} trong phạm vi $430\text{ nm} \leq D_{90} \leq 850\text{ nm}$, và D_{50} trong phạm vi $45\text{ nm} \leq D_{50} \leq 90\text{ nm}$.

Tốt hơn nếu, trong chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano, các hạt kẽm thiazol nano có D_{90} trong phạm vi $430\text{ nm} \leq D_{90} \leq 1090\text{ nm}$, và D_{50} trong phạm vi $45\text{ nm} \leq D_{50} \leq 85\text{ nm}$.

Tốt hơn nếu, trong chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano, các hạt kẽm thiazol nano có D_{90} trong phạm vi $420\text{ nm} \leq D_{90} \leq 630\text{ nm}$, và D_{50} trong phạm vi 45

$\text{nm} \leq D_{50} \leq 80 \text{ nm}$.

Sáng chế còn đề xuất chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano, trong đó chất cô đặc huyền phù chứa các hạt kẽm thiazol nano, tỷ lệ phần trăm của tổng trọng lượng của các hạt kẽm thiazol nano với trọng lượng của chất cô đặc huyền phù là 1%–70%, các hạt kẽm thiazol nano có D_{90} trong phạm vi $D_{90} \leq 400 \text{ nm}$, và D_{50} trong phạm vi $90 \text{ nm} \leq D_{50} < 120 \text{ nm}$.

Tốt hơn nữa, trong chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano, các hạt kẽm thiazol nano có D_{90} trong phạm vi $110 \text{ nm} \leq D_{90} \leq 400 \text{ nm}$, và D_{50} trong phạm vi $90 \text{ nm} \leq D_{50} < 120 \text{ nm}$.

Tốt hơn nữa, trong chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano, các hạt kẽm thiazol nano có D_{90} trong phạm vi $110 \text{ nm} \leq D_{90} \leq 350 \text{ nm}$, và D_{50} trong phạm vi $90 \text{ nm} \leq D_{50} \leq 110 \text{ nm}$.

Tốt hơn nữa, trong chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano, các hạt kẽm thiazol nano có D_{90} trong phạm vi $260 \text{ nm} \leq D_{90} \leq 390 \text{ nm}$, và D_{50} trong phạm vi $95 \text{ nm} \leq D_{50} \leq 115 \text{ nm}$.

Tốt hơn nữa, trong chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano, các hạt kẽm thiazol nano có D_{90} trong phạm vi $220 \text{ nm} \leq D_{90} \leq 395 \text{ nm}$, và D_{50} trong phạm vi $95 \text{ nm} \leq D_{50} \leq 115 \text{ nm}$.

Tốt hơn nữa, trong chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano, các hạt kẽm thiazol nano có D_{10} trong phạm vi $10 \text{ nm} \leq D_{10} \leq 50 \text{ nm}$; hoặc tốt hơn nữa, các hạt kẽm thiazol nano có D_{10} trong phạm vi $17 \text{ nm} \leq D_{10} \leq 49 \text{ nm}$.

Tốt hơn nữa, trong chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano, sự phân bố kích thước hạt (span) của các hạt kẽm thiazol nano là từ 0,705 đến 22,060.

Tốt hơn nữa, trong chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano, span của

các hạt kẽm thiazol nano là từ 0,705 đến 17,410.

Tốt hơn nếu, trong chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano, span của các hạt kẽm thiazol nano là từ 1,898 đến 22,060.

Tốt hơn nếu, trong chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano, span của các hạt kẽm thiazol nano là 1,636 đến 12,442.

Công thức tính toán của span của các hạt kẽm thiazol nano trong chất cô đặc huyền phù là như sau:

$$\text{Span} = (D_{90} - D_{10}) / D_{50}.$$

Tốt hơn nếu, trong chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano, tỷ lệ phần trăm của tổng trọng lượng của các hạt kẽm thiazol nano với trọng lượng của chất cô đặc huyền phù là 5%–60%.

Tốt hơn nếu, chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano chứa một hoặc nhiều chất phụ của chất bề mặt, chất cô đặc, chất bảo quản, chất khử bọt, và chất chống đông.

Tốt hơn nếu, trong chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano, chất bề mặt được chọn từ một hoặc nhiều trong số polyete khối EO/PO, muối natri ngưng tụ của axit naphtalensulfonic, muối natri ngưng tụ của axit phenolsulfonic, natri metyl naphtalen sulfonat-formaldehyt ngưng tụ, natri metylen dinaphtalen sulfonat, natri dioctyl sulfosuccinat, natri tinh bột octenyl succinat, ete sulfat của alkylphenol formaldehyt polyoxyetylen, ete sulfat của lauryl polyoxyetylen propylen, alkylphenol polyoxyetylen ete, ete polyoxyetylen của rượu béo, alkylnaphtalen sulfonat, lignosulfonat, ete sulfat polyoxyetylen của rượu béo, muối natri homopolyme của axit acrylic, polycarboxylat có trọng lượng phân tử cao, và muối natri của copolyme của axit maleic-axit acrylic.

Tốt hơn nếu, trong chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano, chất cô đặc được chọn từ một hoặc nhiều trong số xanthan gum, natri carboxy methyl xenluloza, rượu polyvinyl, và magie nhôm silicat; chất bảo quản được chọn từ một hoặc nhiều trong số phenyl salixylat, butyl p-hydroxybenzoat, kali sorbat, 2-metyl-4-isothiazolin-3-on, 5-cloro-2-metyl-4-isothiazolin-3-on, 1,2-benzisothiazolin-3-on, 2-bromo-2-nitro-1,3-propandirol, và 3-iodo-2-propynyl-butyl carbamat; chất khử bọt được chọn từ một hoặc nhiều trong số chất khử bọt silicon, chất khử bọt GP polyete, chất khử bọt GPE polyete, và chất khử bọt GPES polyete; và chất chống đông được chọn từ một hoặc nhiều trong số etylen glycol, propylen glycol, glyxerol, isopropanol, và ure.

Tốt hơn nếu, sáng chế còn đề xuất phương pháp điều chế chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano, trong đó phương pháp này bao gồm:

trộn đều kẽm thiazol, một hoặc nhiều trong số chất bề mặt, chất cô đặc, chất bảo quản, chất khử bọt, và chất chống đông, và nước, sau đó xử lý hỗn hợp thu được để xay theo chu kỳ hoặc xay nhiều giai đoạn thông qua máy xay cát, và lọc bỏ môi trường xay sau khi đạt được kích thước hạt nano, để thu được chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano, trong đó môi trường xay trong ít nhất một trong số máy xay cát có đường kính là 0,1 mm đến 0,6 mm.

Tốt hơn nếu, trong phương pháp này, môi trường xay là các hạt zirconia, và có tỷ lệ lấp đầy là từ 0,7 đến 0,8, và việc xay được tiến hành ở nhiệt độ 30°C hoặc thấp hơn.

Tốt hơn nếu, trong phương pháp này, việc xay được tiến hành ở nhiệt độ 25°C hoặc thấp hơn.

Tốt hơn nếu, trong phương pháp này, hỗn hợp thu được được nghiền và sau

đó chịu cắt tốc độ cao để thu được chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano.

Tốt hơn nếu, trong chất cô đặc huyền phù nano, chất cô đặc huyền phù nano có thể còn bao gồm thêm một chất diệt khuẩn bổ sung theo yêu cầu để phòng trừ và kiểm soát bệnh cây trồng, và tỷ lệ của trọng lượng của chất diệt khuẩn bổ sung với trọng lượng của kẽm thiazol là từ 1:100 đến 100:1.

Sáng chế còn đề xuất việc sử dụng chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano để phòng trừ và kiểm soát bệnh cây trồng.

Tốt hơn nếu, khi sử dụng, bệnh cho cây trồng là bệnh do vi khuẩn.

Hiệu quả đạt được của sáng chế:

So với kẽm thiazol SC có $D_{50} > 120$ nm và $D_{90} < 400$ nm, đặc biệt là kẽm thiazol SC có $D_{50} > 120$ nm và $D_{90} < 400$ nm mà được phát triển trong suốt quá trình phát triển của kẽm thiazol micro hóa, chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano được đề xuất trong sáng chế có sự phân bố kích thước hạt đơn nhất D_{50} và D_{90} . Ngoài ra, mặc dù kẽm thiazol trong sáng chế có D_{50} nhỏ hơn, kẽm thiazol SC này không gây độc cho cây trồng do sự phân bố của các hạt kẽm thiazol lớn và nhỏ.

Kẽm thiazol SC được đề xuất trong sáng chế có sự phân bố kích thước hạt đặc biệt và do đó kẽm thiazol SC có thể nâng cao hiệu quả phòng ngừa và kiểm soát dịch bệnh cây trồng. Đối với hiệu quả trên đồng ruộng của bệnh đạo ôn lá lúa, kẽm thiazol SC theo sáng chế có hiệu quả trên đồng ruộng tăng khoảng 13% 17 ngày sau khi xử lý, lên đến 16% 6 ngày sau xử lý, và lên đến 22% 10 ngày sau xử lý, so với kẽm thiazol SC có $D_{50} > 120$ nm và $D_{90} < 400$ nm. Đối với phòng trừ và kiểm soát bệnh thối mềm của cải thảo, kẽm thiazol SC theo sáng chế có hiệu quả phòng trừ và kiểm soát tăng lên đến 18% 2 ngày sau xử lý, và lên đến 36% 3 ngày sau xử lý, so với kẽm thiazol SC có $D_{50} > 120$ nm và $D_{90} < 400$ nm. Kẽm thiazol nano theo

sáng chế cũng có cải thiện đáng kể tác dụng nhanh và dai dẳng đối với các bệnh.

Sau 2 năm bảo quản, kích thước hạt và hiệu quả phòng trừ và kiểm soát của SC kẽm thiazol nano được đề xuất trong sáng chế hầu như không thay đổi. Sự khác biệt giữa hiệu quả phòng trừ và kiểm soát của SC kẽm thiazol nano được bảo quản và của SC kẽm thiazol nano được điều chế mới lên bệnh thối mềm của cải thảo là khoảng 1% 2 ngày sau xử lý và khoảng 5% 3 ngày sau xử lý.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ điều chế

Ví dụ điều chế 1:

Lần lượt lấy 20,0% kẽm thiazol TC, 3,0% ete sulfat của lauryl polyoxyetylen polyoxypropylen, 2,0% natri tinh bột octenyl succinat, 1,0% muối homopolyme natri của axit acrylic, 2,0% polycarboxylat cao phân tử, 0,1% xanthan gum, 2,0% magie nhôm silicat, 3,0% glyxerol, 0,01% 1,2-benzisothiazolin-3-on, 0,01% 2-metyl-4-isothiazolin-3-on, và 0,2% chất khử bọt polyete GPES dựa trên tỷ lệ trong lượng, và bổ sung nước cho đến khi tỷ lệ tổng trọng lượng là 100%. Bổ sung hỗn hợp thu được vào máy khuấy phân tán, khuấy và phân tán đồng nhất, và sau đó chuyển vào máy xay cát để xay ba giai đoạn. Môi trường xay được sử dụng trong máy xay cát giai đoạn thứ nhất là các hạt zirconia có đường kính là 1,2 mm, và tiến hành xay trong 40 phút. Môi trường xay được sử dụng trong máy xay cát giai đoạn thứ hai là các hạt zirconia có đường kính là 0.6 mm, và tiến hành xay trong 30 phút. Môi trường xay được sử dụng trong máy xay cát giai đoạn thứ ba là các hạt zirconia có đường kính là 0,3 mm và hạt zircona được làm ổn định bằng ytri có đường kính là 0,1 mm (tỷ lệ của hai môi trường xay là 2:1). Khi hoạt động xay trong máy xay cát giai đoạn thứ ba bắt đầu, mẫu được lấy sau 15 phút, và sau đó lấy mẫu mỗi 10

phút để đo kích thước hạt của các hạt kẽm thiazol trong mỗi mẫu. Dữ liệu kích thước hạt được thể hiện trong bảng 1 dưới đây.

Bảng 1: Dữ liệu kích thước hạt của kẽm thiazol SC được điều chế mới

Số SC	Thời gian lấy mẫu (phút)	D ₁₀ (nm)	D ₅₀ (nm)	D ₉₀ (nm)	Span
FF-024-1	75	47,0	90,2	110,6	0,705
FF-024-2	65	46,4	96,2	182,4	1,414
FF-024-3	55	47,4	103,1	211,0	1,587
FF-024-4	45	37,6	107,3	349,8	2,910
FF-024-5	35	23,6	85,7	439,1	4,848
FF-024-6	25	18,0	52,8	767,6	14,197
FF-024-7	15	17,5	47,8	849,7	17,410

Sau 2 năm bảo quản, các mẫu kẽm thiazol SC vẫn đáp ứng yêu cầu chất lượng đối với chất cô đặc huyền phù, mà không tách lớp và tích tụ. Kích thước hạt của hạt kẽm thiazol trong kẽm thiazol SC đã được đo lại và dữ liệu kích thước hạt của hạt kẽm thiazol được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2: Dữ liệu kích thước hạt của kẽm thiazol SC được bảo quản trong hai năm

Số SC	D ₁₀ (nm)	D ₅₀ (nm)	D ₉₀ (nm)	Span
FF-024-1C	46,6	114,1	263,2	1,898
FF-024-2C	46,9	114,8	257,5	1,834
FF-024-3C	46,7	110,6	242,3	1,769
FF-024-4C	29,2	97,0	385,4	3,672
FF-024-5C	22,5	80,7	436,9	5,135
FF-024-6C	18,3	54,6	660,8	11,767
FF-024-7C	17,6	48,2	1080,9	22,060

Ví dụ điều chế 2:

Theo phương pháp trong ví dụ điều chế 1, lần lượt lấy 20,0% kẽm thiazol TC, 3,0% ete sulfat của lauryl polyoxyetylen polyoxypropylen, 2,0% natri tinh bột octenyl succinat, 1,0% muối homopolyme natri của axit acrylic, 2,0% polycarboxylat cao phân tử, 0,1% xanthan gum, 2,0% magie nhôm silicat, 3,0% glyxerol, 0,01% 1,2-benzisothiazolin-3-on, 0,01% 2-metyl-4-isothiazolin-3-on, và 0,2% chất khử bột GPES polyete sự trên tỷ lệ trọng lượng, và bổ sung nước cho đến khi tổng trọng lượng ratio là 100%. Bổ sung hỗn hợp thu được vào máy khuấy phân tán, khuấy và phân tán đồng nhất, và sau đó chuyển vào máy xay cát để xay. Môi trường xay được sử dụng trong máy xay cát là các hạt zirconia có đường kính là 1,2 mm. Lần lượt lấy mẫu sau khi xay trong 160 phút và 180 phút để thu được các mẫu của kẽm thiazol SC có $D_{50} > 120$ nm. Dữ liệu kích thước hạt của SC kẽm thiazol nano được thể hiện trong bảng 3 dưới đây.

Bảng 3: Dữ liệu kích thước hạt của kẽm thiazol SC có $D_{50} > 120$ nm được điều chế thông qua máy xay cát

Số SC	Thời gian lấy mẫu (phút)	D_{10} (nm)	D_{50} (nm)	D_{90} (nm)	Span
FD-024-1	180	67,4	126,8	243,9	1,392
FD-024-2	160	80,3	193,5	362,3	1,457

II. Thử nghiệm hoạt tính sinh học

Ví dụ thử nghiệm hoạt tính sinh học 1: Thử nghiệm bệnh bạc lá do vi khuẩn hại lúa

1. Điều chế dung dịch thuốc trừ sâu

Các mẫu chất cô đặc huyền phù được sử dụng trong thử nghiệm bệnh bạc lá do

vi khuẩn hại lúa chủ yếu bao gồm:

SC kẽm thiazol nanos FF-024-7, FF-024-6, FF-024-5, FF-024-4, FF-024-3, FF-024-2 và FF-024-1 được điều chế trong ví dụ điều chế 1.

SC kẽm thiazol FD-024-1 và FD-024-2 có $D_{50} > 120$ nm được điều chế trong ví dụ điều chế 2.

Bisheng (20% kẽm thiazol SC) và thiediazol đồng (chất cô đặc huyền phù 20% thiediazol đồng) mà có sẵn trên thị trường.

Mỗi mẫu chất cô đặc huyền phù nên trên được pha loãng 700 lần cho đến khi nồng độ kẽm thiazol hoặc thiediazol đồng trong dung dịch thuốc trừ sâu là 286 mg/L. Sử dụng nước làm đối chứng trống, và dùng nước với lượng bằng với dung dịch thuốc trừ sâu. Chi tiết được thể hiện trong bảng 4.

Bảng 4: Hệ số pha loãng và nồng độ của mẫu kẽm thiazol SC

Số mẫu SC	Hệ số pha loãng	Nồng độ của thành phần hoạt tính (mg/L)
FF-024-1	700	286
FF-024-2	700	286
FF-024-3	700	286
FF-024-4	700	286
FF-024-5	700	286
FF-024-6	700	286
FF-024-7	700	286
FD-024-1	700	286
FD-024-2	700	286
Bisheng	700	286

Đồng thiodiazol	700	286
-----------------	-----	-----

2. Đánh giá thử nghiệm

2.1. Hiệu quả phòng trừ và kiểm soát trong thời gian dài và tính an toàn của chất cô đặc huyền phù lên bệnh bạc lá do vi khuẩn hại lúa

Thử nghiệm phòng trừ và kiểm soát lên rice bacterial leaf blight được tiến hành ở Trung tâm phân tích sinh học Xianju của chủ đơn bằng cách nhiễm mầm bệnh lên cây trong chậu.

Phương pháp thử nghiệm: tham khảo “SOP-SC-1113 Phương pháp trồng trong chậu đối với bệnh bạc lá lúa do vi khuẩn” (Kang Zhuo và Gu Baogen, *Mô tả tiêu chuẩn cho thử nghiệm hoạt tính sinh học thuốc trừ sâu-Thể tích thuốc diệt khuẩn*), Chọn lúa cuối đẻ nhánh, cắt lá cách ngọn 2 cm và nhúng vào dịch huyền phù vi khuẩn để lây nhiễm ($OD_{600}:1,0$), và 10–15 lá được cắt ở mỗi chậu và giữ trong môi trường tối ẩm ở 28°C trong 24 giờ ($RH>90\%$). Phun thuốc trừ sâu theo quy trình xử lý thử nghiệm, mỗi lần xử lý 3 chậu lúa (1 chậu/xử lý lặp lại), 50 mL thuốc trừ sâu được sử dụng cho mỗi lần xử lý, và trồng các cây được xử lý trong ánh sáng ở 28°C và ở $RH > 60\%$.

Phương pháp đánh giá: phương pháp đánh giá trong Mô tả nêu trên được điều chỉnh theo yêu cầu, và chiều dài tổn thương thay vì vùng tổn thương đã được đo: sau 17 ngày trồng, chiều dài tổn thương trong nhóm đối chứng được xử lý bằng nước và nhóm được xử lý bằng thuốc trừ sâu được đo, chiều dài tổn thương trung bình đối với mỗi xử lý đã được tính toán và sau đó hiệu quả phòng trừ và kiểm soát được tính toán dựa trên công thức sau:

Hiệu quả phòng trừ và kiểm soát = (chiều dài tổn thương trong nhóm đối chứng được xử lý bằng nước – chiều dài tổn thương trong nhóm được xử lý bằng

thuốc trừ sâu)/chiều dài tổn thương trong nhóm đối chứng được xử lý bằng nước $\times$ 100%.

Trong các thử nghiệm sau, "++++" trong đánh giá độ an toàn có nghĩa là không gây độc thực vật; và khi có ít hơn 4 dấu cộng "+" trong đánh giá độ an toàn, ví dụ, "+++", "++", hoặc "+", nó chỉ ra rằng không gây độc thực vật. Số lượng dấu cộng "+" càng ít thì độc tố thực vật càng nghiêm trọng.

Các kết quả thử nghiệm cụ thể được thể hiện trong bảng 5 dưới đây.

Bảng 5: Hiệu quả phòng trừ và kiểm soát trong thời gian dài của SC kẽm thiazol nano lên vi khuẩn gây bệnh bạc lá ở lúa

Xử lý	17 ngày sau xử lý		Độ an toàn
	Chiều dài tổn thương (cm)	Hiệu quả phòng trừ và kiểm soát (%)	
FF-024-1	4,37	56,90	++++
FF-024-2	3,54	65,09	++++
FF-024-3	4,12	59,37	++++
FF-024-4	4,82	52,47	++++
FF-024-5	3,16	68,84	++++
FF-024-6	3,13	69,13	++++
FF-024-7	4,21	58,48	++++
FD-024-1	5,16	49,11	+++
FD-024-2	5,23	48,42	+++
Bisheng	5,46	46,15	++++
Thiadiazole copper	5,68	43,98	++++

Nhóm đối chứng được xử lý bằng nước	10,14	/	++++
--	-------	---	------

Có thể thấy từ dữ liệu hiệu quả phòng trừ và kiểm soát trong bảng 5 rằng chất cô đặc huyền phù có D_{90} trong phạm vi từ 110,6 nm đến 849,7 nm và D_{50} trong phạm vi từ 47,8 nm đến 90,2 nm được điều chế trong sáng chế có thể đạt được hiệu quả phòng trừ và kiểm soát trên 52%, mà không gây độc tính thực vật. Tuy nhiên, kẽm thiazol có $D_{50} > 120$ nm, như FD-024-1 và FD-024-2 mà có D_{90} lần lượt là 243,9 nm và 362,3 nm, và D_{50} lần lượt là 126,8 nm và 193,5 nm đã thể hiện độc tính thực vật, mặc dù hiệu quả phòng trừ và kiểm soát của nó tốt hơn so với cả Bisheng và đồng thiediazol. Độc tính thực vật chủ yếu được thể hiện khi có hình ống và độ cứng của lá mới của cây lúa. Tỷ lệ cây lúa bị nhiễm độc thực vật bởi FD-024-1 là 34,5% và tỷ lệ cây lúa bị nhiễm độc thực vật bởi FD-024-2 là 28,7%.

2.2. Hiệu quả phòng trừ và kiểm soát trong thời gian ngắn của chất cô đặc huyền phù lên bệnh bạc lá ở lúa

Lúa ở giai đoạn bắt đầu đẻ nhánh được chọn, cắt lá cách ngọn 3 cm và nhúng vào huyền phù vi khuẩn để cấy ($OD_{600}: 1,0$), và 10–15 lá được cắt trên mỗi chậu và giữ trong môi trường tối ẩm ở 28°C trong 24 giờ ($RH > 90\%$). Phun thuốc trừ sâu theo quy trình xử lý thử nghiệm, mỗi lần xử lý 3 chậu lúa (1 chậu/xử lý lặp lại), 50 mL thuốc trừ sâu được sử dụng cho mỗi lần xử lý; và cây được xử lý được trồng trong phòng có ánh sáng (28°C–30°C và $RH > 60\%$). Sau 6 ngày và 10 ngày trồng, cây đã được xử lý được đánh giá và phân loại. Các kết quả thử nghiệm được thể hiện trong bảng 6 dưới đây.

Bảng 6: Hiệu quả phòng trừ và kiểm soát trong thời gian ngắn của SC kẽm

thiazol nano lên bệnh bạc lá ở lúa

Xử lý	6 ngày sau xử lý		10 ngày sau xử lý	
	Chiều dài tổn thương (cm)	Hiệu quả phòng trừ và kiểm soát (%)	Chiều dài tổn thương (cm)	Hiệu quả phòng trừ và kiểm soát (%)
FF-024-1	0,87	78,09	1,78	61,22
FF-024-2	0,73	81,61	1,68	63,40
FF-024-3	0,60	84,89	1,45	68,41
FF-024-4	0,84	78,84	1,57	65,80
FF-024-5	0,97	75,57	1,32	71,24
FF-024-6	0,72	81,86	1,83	60,13
FF-024-7	0,90	77,33	1,25	72,77
FD-024-1	1,19	70,03	2,08	54,68
FD-024-2	1,13	71,54	2,14	53,38
Bisheng	1,26	68,26	2,75	40,09
Đồng thiediazol	1,39	64,99	2,53	44,88
Nhóm đối chứng được xử lý bằng nước	3,97	/	4,59	/

Có thể thấy từ bảng 6 rằng đối với việc phòng trừ và kiểm soát bệnh bạc lá lúa ở giai đoạn đầu dễ nhảh, mỗi SC kèm thiazol nano từ FF-024-1 đến FF-024-7 được điều chế trong sáng chế có hiệu quả phòng trừ và kiểm soát trên 73% 6 ngày sau xử lý. Chất cô đặc huyền phù FD-024-1 và FD-024-2 có hiệu quả phòng trừ và

kiểm soát thấp so với SC kẽm thiazol nano trong sáng chế, nhưng không có khác biệt đáng kể. Tuy nhiên, đã thể hiện rằng SC kẽm thiazol nano từ FF-024-1 đến FF-024-7 theo sáng chế có hiệu quả phòng trừ và kiểm soát tương đối tốt so với chất cô đặc huyền phù FD-024-1 và FD-024-2 10 ngày sau xử lý, và hiệu quả tăng khoảng 6% đến 18%. Điều này chỉ ra rằng SC kẽm thiazol nano từ FF-024-1 đến FF-024-7 trong sáng chế tốt hơn so với SC kẽm thiazol FD-024-1 và FD-024-2 có $D_{50} > 120$ nm trong việc duy trì hiệu quả của chúng.

Ví dụ thử nghiệm hoạt tính sinh học 2: Thử nghiệm lên bệnh thối mềm của cải thảo

1. Điều chế dung dịch thuốc trừ sâu

Các mẫu chất cô đặc huyền phù được sử dụng trong thử nghiệm lên bệnh thối mềm của cải thảo chủ yếu bao gồm:

SC kẽm thiazol nano FF-024-7, FF-024-6, FF-024-5, FF-024-4, FF-024-3, FF-024-2 và FF-024-1 được điều chế trong ví dụ điều chế 1.

Kẽm thiazol SC FD-024-1 và FD-024-2 với $D_{50} > 120$ nm được điều chế trong ví dụ điều chế 2.

Bisheng (kẽm thiazol SC 20%) và đồng thiediazol (chất cô đặc huyền phù đồng thiediazol 20%) mà có sẵn trên thị trường.

Các mẫu chất cô đặc huyền phù nêu trên, mỗi mẫu được pha loãng 400 lần đến khi nồng độ của kẽm thiazol hoặc đồng thiediazol trong dung dịch thuốc trừ sâu là 500 mg/L. Nước được sử dụng làm đối chứng trống, và nước được sử dụng cùng một lượng với dung dịch thuốc trừ sâu. Chi tiết được thể hiện trong bảng 7.

Bảng 7: Hệ số pha loãng và nồng độ của các mẫu SC kẽm thiazol

Mẫu SC	Hệ số pha loãng	Nồng độ của dung dịch thuốc trừ sâu được pha loãng (mg/L)
FF-024-1	400	500
FF-024-2	400	500
FF-024-3	400	500
FF-024-4	400	500
FF-024-5	400	500
FF-024-6	400	500
FF-024-7	400	500
FD-024-1	400	500
FD-024-2	400	500
Bisheng	400	500
Đồng thiediazol	400	500

2. Đánh giá thử nghiệm

Thử nghiệm phòng trừ và kiểm soát lên bệnh thối mềm của cải thảo được tiến hành ở Trung tâm phân tích sinh học Xianju của chủ đơn bằng cách nhiễm mầm bệnh lên cây trong chậu. Phương pháp thử nghiệm: cải thảo trong giai đoạn có 3 lá sinh trưởng và 1 lá mới được lựa chọn, và phun thuốc trừ sâu theo quy trình xử lý thử nghiệm. Mỗi xử lý được lặp lại 3 lần, và mỗi lần xử lý 4 chậu cải thảo (2 cây/chậu), và 50 mL thuốc trừ sâu được sử dụng cho mỗi lần xử lý. 24 giờ sau xử lý, từng cuống lá bị thủng, nhỏ 10 μ L dung dịch vi khuẩn (OD_{600} : 0,2), và giữ cải thảo trong môi trường ẩm tối trong 24 giờ ở 25°C – 28°C. Sau 24 giờ giữ (tức là, 2 ngày sau xử lý) trong phòng ẩm, cải thảo được lấy ra khỏi phòng ẩm để đánh giá hiệu quả phòng trừ và kiểm soát, và sau đó, 24 giờ sau khi lấy ra khỏi phòng ẩm (tức là, 3

ngày sau xử lý), hiệu quả phòng trừ và kiểm soát và độ an toàn được đánh giá.

Phương pháp đánh giá: các lá được nhiễm được đánh giá và phân loại dựa trên tỷ lệ phần trăm của chiều dài tổn thương với toàn bộ chiều dài cuống lá của mỗi lá.

Cách tính điểm (cho từng lần nghĩ):

Loại 0: không tổn thương;

Loại 1: chiều dài tổn thương là 1%–10% của chiều dài cuống lá;

Loại 3: chiều dài tổn thương là 11%–30% của chiều dài cuống lá;

Loại 5: chiều dài tổn thương là 31%–50% của chiều dài cuống lá;

Loại 7: chiều dài tổn thương là 51%–100% của chiều dài cuống lá; và

Loại 9: toàn bộ cây bị mềm và thối.

Phương pháp tính toán của chỉ số bệnh như sau:

Chỉ số bệnh = $[\Sigma(\text{số lá bệnh của mỗi loại} \times \text{giá trị loại tương ứng}) / \text{tổng số lá được đánh giá} \times \text{giá trị đại diện của loại cao nhất}] \times 100$

Phương pháp tính toán hiệu quả phòng trừ và kiểm soát như sau:

Hiệu quả phòng trừ và kiểm soát = $[(\text{chỉ số bệnh của nhóm đối chứng} - \text{chỉ số bệnh của nhóm điều trị}) / \text{chỉ số bệnh của nhóm đối chứng}] \times 100\%$.

Hiệu quả phòng trừ và kiểm soát của thuốc trừ sâu lên bệnh thối mềm của cải thảo được thể hiện trong bảng 8 dưới đây.

Bảng 8: Đánh giá hiệu quả phòng trừ và kiểm soát và độ an toàn của kẽm thiazol SC lên bệnh thối mềm của cải thảo

Xử lý	2 ngày sau xử lý		3 ngày sau xử lý		Độ an toàn
	Chỉ số	Hiệu quả	Chỉ số	Hiệu quả	

	bệnh	phòng trừ và kiểm soát (%)	bệnh	phòng trừ và kiểm soát (%)	
FF-024-1	9,11	67,57	23,70	67,37	++++
FF-024-2	10,36	63,12	29,17	59,84	++++
FF-024-3	8,94	68,17	17,33	76,14	++++
FF-024-4	10,54	62,48	39,73	45,30	++++
FF-024-5	9,02	67,89	26,34	63,73	++++
FF-024-6	8,61	69,35	30,79	57,61	++++
FF-024-7	11,18	60,20	34,16	52,97	++++
FD-024-1	11,03	60,73	45,22	37,74	+++
FD-024-2	10,81	61,52	46,12	36,50	+++
Bisheng	13,60	51,58	57,60	20,69	++++
Đồng thiediazol	22,50	19,90	65,59	9,69	++++
Nhóm đối chứng được xử lý bằng nước	28,09	/	72,63	/	++++

Có thể thấy từ bảng 8 rằng hiệu quả phòng trừ và kiểm soát của mỗi trong số các SC kẽm thiazol nano từ FF-024-1 đến FF-024-7 được điều chế trong sáng chế lên bệnh thối mềm của cải thảo là trên 45% 3 ngày sau xử lý, và hiệu quả lên đến 76%, mà không gây độc tính thực vật. Hiệu quả phòng trừ và kiểm soát của mỗi

trong số FD-024-1 và FD-024-2 lên bệnh thối mềm của cải thảo là khoảng 37% 3 ngày sau xử lý, mà cao hơn so với hiệu quả của Bisheng và đồng thiediazol. Tuy nhiên, triệu chứng gây độc thực vật với các đốm màu vàng nhạt đã được quan sát thấy ở mặt trước của một số lá của một số cải thảo được xử lý bằng FD-024-1 và FD-024-2, và tỷ lệ phần trăm của lá triệu chứng nhiễm độc thực vật được xử lý bằng FD-024-1 là 23,2%, và tỷ lệ phần trăm của lá có triệu chứng nhiễm độc thực vật được xử lý bằng FD-024-2 là 19,5%.

Ví dụ thử nghiệm 3: Kiểm tra hiệu quả của SC kẽm thiazol được lưu trữ

1. Điều chế dung dịch thuốc trừ sâu

Sau 2 năm lưu trữ, mỗi mẫu trong số các mẫu SC kẽm thiazol nano FF-024-1C, FF-024-2C, FF-024-3C, FF-024-4C, FF-024-5C, FF-024-6C và FF-024-7C được điều chế trong ví dụ điều chế 1 được pha loãng 400 lần đến khi nồng độ của kẽm thiazol trong dung dịch thuốc trừ sâu là 500 mg/L. Nước được sử dụng làm đối chứng trống, và nước được dùng ở lượng bằng với dung dịch thuốc trừ sâu. Chi tiết được thể hiện trong bảng 9.

Bảng 9: Hệ số pha loãng và nồng độ của các mẫu SC kẽm thiazol nano được lưu trữ trong 2 năm

Mẫu SC số	Hệ số pha loãng	Nồng độ của dung dịch thuốc trừ sâu được pha loãng (mg/L)
FF-024-1C	400	500
FF-024-2C	400	500
FF-024-3C	400	500
FF-024-4C	400	500

FF-024-5C	400	500
FF-024-6C	400	500
FF-024-7C	400	500

2. Thử nghiệm đánh giá

Thử nghiệm phòng trừ và kiểm soát lên bệnh thối mềm của cải thảo được tiến hành ở Trung tâm phân tích sinh học Xianju của chủ đơn bằng cách nhiễm mầm bệnh lên cây trong chậu. Phương pháp thử nghiệm: cải thảo ở giai đoạn có 3 lá sinh trưởng và một lá mới được lựa chọn và phun thuốc trừ sâu theo quy trình xử lý thử nghiệm. Mỗi quy trình xử lý được lặp lại 3 lần, và 4 chậu cải thảo (2 cây/chậu) đã được xử lý mỗi lần, và sử dụng 50 mL thuốc trừ sâu cho mỗi lần xử lý. 24 giờ sau xử lý, từng cuống lá bị thủng, phun 10 μ L dung dịch vi khuẩn (OD_{600} : 0,2) và cải thảo được giữ trong môi trường ẩm tối trong 24 giờ ở 25°C – 28°C. Sau 24 giờ giữ (tức là, 2 ngày sau xử lý) trong phòng ẩm, lấy cải thảo ra khỏi phòng ẩm để đánh giá hiệu quả phòng trừ và kiểm soát, và sau đó 24 giờ sau khi lấy ra khỏi phòng ẩm (tức là, 3 ngày sau xử lý), hiệu quả phòng trừ và kiểm soát và độ an toàn được đánh giá sử dụng phương pháp đánh giá đã được mô tả ở trên. Các kết quả cụ thể được thể hiện trong bảng 10 dưới đây.

Bảng 10: Hiệu quả phòng trừ và kiểm soát của SC kẽm thiazol nano được lưu trữ trong 2 năm lên bệnh thối mềm của cải thảo

Xử lý	2 ngày sau xử lý		3 ngày sau xử lý		Độ an toàn
	Chỉ số bệnh	Hiệu quả phòng trừ và kiểm soát (%)	Chỉ số bệnh	Hiệu quả phòng trừ và kiểm soát (%)	

FF-024-1C	10,91	60,15	29,55	60,89	++++
FF-024-2C	9,82	64,13	30,66	59,42	++++
FF-024-3C	8,18	70,12	34,84	53,88	++++
FF-024-4C	9,81	64,17	38,64	48,86	++++
FF-024-5C	8,62	68,52	30,27	59,93	++++
FF-024-6C	10,27	62,49	31,11	58,82	++++
FF-024-7C	10,64	61,14	38,42	49,15	++++
Nhóm đối chứng được xử lý bằng nước	27,38	/	75,55	/	++++

SC kẽm thiazol nano được lưu trữ trong 2 năm theo sáng chế, từ FF-024-1C đến FF-024-7C, đã không có sự khác biệt đáng kể so với SC kẽm thiazol nano được điều chế mới từ FF-024-1 đến FF-024- 7 trong hiệu quả phòng trừ và kiểm soát trong bệnh thối mềm của cải thảo. SC kẽm thiazol nano được điều chế mới từ FF-024-1 đến FF-024-7 có giá trị trung bình là 65,54% đối với hiệu quả phòng trừ và kiểm soát lên bệnh thối mềm của cải thảo 2 ngày sau xử lý, và SC kẽm thiazol nano được lưu trữ trong 2 năm từ FF-024-1C đến FF-024-7C có giá trị trung bình là 64,39% đối với hiệu quả phòng trừ và kiểm soát lên bệnh thối mềm của cải thảo 2 ngày sau xử lý, nên sự khác nhau trong hiệu quả phòng trừ và kiểm soát là không đáng kể. SC kẽm thiazol nano được điều chế mới từ FF-024-1 đến FF-024-7 có giá trị trung bình là 60,42 % đối với hiệu quả phòng trừ và kiểm soát lên bệnh thối mềm của cải thảo 3 ngày sau xử lý, và SC kẽm thiazol nano được lưu trữ trong 2 năm từ FF-024-1C đến FF-024-7C có giá trị trung bình là 55,85% đối với hiệu quả

phòng trừ và kiểm soát lên bệnh thối mềm của cải thảo 3 ngày sau xử lý, nên sự khác nhau là không đáng kể.

Kết quả thử nghiệm trong bảng 10 thể hiện rằng sau 2 năm lưu trữ của SC kẽm thiazol nano theo sáng chế, kích thước hạt của các hạt kẽm thiazol trong SC kẽm thiazol nano đã không thay đổi đáng kể, và hiệu quả phòng trừ và kiểm soát lên bệnh thối mềm của cải thảo đã không thay đổi đáng kể.

III. Ví dụ kiểm tra

1. Điều chế chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano

Lần lượt lấy 60% kẽm thiazol, 3,0% lauryl polyoxyetylen polyoxypropylen ete sulfat, 3,0% natri tinh bột octenyl succinat, 2,0% polycarboxylat cao phân tử, 1% muối copolyme natri của axit maleic acid-axit acrylic, 0,1% xanthan gum, 2,0% isopropanol, và 0,02% 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol dựa vào tỷ lệ trọng lượng, và bổ sung nước cho đến khi tỷ lệ tổng trọng lượng là 100%. Bổ sung hỗn hợp thu được vào máy khuấy phân tán, khuấy đều và phân tán đồng nhất, sau đó vận chuyển đến máy xay cát để xay ba giai đoạn. Môi trường xay được sử dụng trong máy xay cát giai đoạn thứ nhất là các hạt zirconia có đường kính là 1,2 mm, và tiến hành xay trong 30 phút. Môi trường xay được sử dụng trong máy xay cát giai đoạn thứ hai là các hạt zirconia có đường kính là 1,0 mm, và tiến hành xay trong 40 phút. Môi trường xay được sử dụng trong máy xay cát giai đoạn thứ ba là các hạt zirconia có đường kính là 0,3 mm, và 5 phút sau khi xay trong máy xay cát giai đoạn thứ ba bắt đầu, lấy mẫu mỗi 5 phút, và lấy mẫu cuối cùng khi tiến hành xay trong 105 phút, để thu được 60% SC kẽm thiazol nano với các kích thước hạt khác nhau. Kích thước hạt của kẽm thiazol trong mỗi mẫu được đo và kết quả được thể hiện trong bảng 11 dưới đây.

Bảng 11: Kích thước hạt của SC kẽm thiazol nano được lấy mẫu ở các thời gian khác nhau

Mẫu SC số	Thời gian nghiền (phút)	Phạm vi nhiệt độ của vật liệu (°C)	D ₁₀ (nm)	D ₅₀ (nm)	D ₉₀ (nm)	Span
FF-Y-01	5	21,0–24,0	17,7	49,1	628,6	12,442
FF-Y-02	10	23,0–25,5	18,5	56,1	550,8	9,488
FF-Y-03	15	23,0–25,5	19,1	62,3	532,6	8,242
FF-Y-04	20	23,0–25,5	21,1	73,5	451,2	5,852
FF-Y-05	25	23,0–25,5	22,4	80,0	426,3	5,049
FF-Y-06	35	22,0–28,0	27,8	97,6	394,1	3,753
FF-Y-07	45	22,0–27,5	36,2	105,0	335,0	2,846
FF-Y-08	55	23,0–29,0	42,1	110,8	301,4	2,340
FF-Y-09	65	19,5–24,5	44,7	109,2	270,9	2,071
FF-Y-10	75	21,3–26,8	40,3	111,6	281,0	2,157
FF-Y-11	85	21,4–27,6	47,3	108,5	240,7	1,782
FF-Y-12	95	22,8–29,0	47,8	107,8	231,6	1,705
FF-Y-13	105	23,0–29,8	48,4	107,6	224,4	1,636

2. Điều chế dung dịch thuốc trừ sâu

Pha loãng các mẫu chất cô đặc huyền phù trên trên, mỗi mẫu 1.200 lần đến khi nồng độ của kẽm thiazol hoặc đồng thiediazol trong dung dịch thuốc trừ sâu là 500 mg/L. Nước được sử dụng là đối chứng trống, và nước được dùng cùng một lượng với dung dịch thuốc trừ sâu.

3. Đánh giá thử nghiệm

Thử nghiệm phòng trừ và kiểm soát lên bệnh thối mềm của cải thảo đã được tiến hành ở Trung tâm xét nghiệm sinh học Xianju của chủ đơn bằng cách truyền mầm bệnh cho cây trồng trong chậu. Phương pháp thử nghiệm: cải thảo ở giai đoạn có ba lá sinh trưởng và một lá mới được lựa chọn, và phun thuốc trừ sâu theo quy trình xử lý thử nghiệm. Mỗi xử lý được lặp lại 3 lần, và 4 chậu cải thảo (2 cây/chậu) được xử lý mỗi lần, và 50 mL thuốc trừ sâu được áp dụng cho mỗi lần xử lý. 24 giờ sau khi xử lý, từng cuống lá bị thủng, nhỏ 10 μ L dung dịch vi khuẩn (OD_{600} : 0,2), và cải thảo được giữ trong môi trường ẩm tối trong 24 giờ ở $25^{\circ}\text{C} - 28^{\circ}\text{C}$. Sau 24 giờ để chờ (tức là, 2 ngày sau xử lý) trong phòng ẩm, cải thảo được lấy ra khỏi phòng ẩm để đánh giá hiệu quả phòng trừ và kiểm soát, và sau đó, 24 giờ sau khi lấy ra khỏi phòng ẩm (tức là, 3 ngày sau xử lý), đánh giá hiệu quả phòng trừ và kiểm soát và độ an toàn sử dụng phương pháp đánh giá như được mô tả ở trên. Kết quả cụ thể được thể hiện trong bảng 12 dưới đây.

Bảng 12: Đánh giá hiệu quả phòng trừ và kiểm soát của kẽm thiazol SC lên bệnh thối mềm của cải thảo

Xử lý	2 ngày sau xử lý		3 ngày sau xử lý		Độ an toàn
	Chỉ số bệnh	Hiệu quả phòng trừ và kiểm soát (%)	Chỉ số bệnh	Hiệu quả phòng trừ và kiểm soát (%)	
FF-Y-01	12,04	60,11	32,61	57,24	++++
FF-Y-02	9,65	68,03	28,20	63,02	++++
FF-Y-03	12,73	57,82	30,08	60,56	++++

FF-Y-04	11,05	63,39	31,22	59,06	++++
FF-Y-05	9,61	68,16	34,17	55,19	++++
FF-Y-06	8,99	70,21	33,93	55,51	++++
FF-Y-07	11,51	61,86	30,07	60,57	++++
FF-Y-08	12,80	57,59	32,27	57,68	++++
FF-Y-09	11,68	61,30	36,44	52,22	++++
FF-Y-10	10,32	65,81	35,27	53,75	++++
FF-Y-11	8,28	72,56	38,08	50,07	++++
FF-Y-12	10,57	64,98	39,40	48,33	++++
FF-Y-13	11,35	62,39	38,25	49,84	++++
Nhóm đối chứng được xử lý bằng nước	30,18	/	76,26	/	++++

Có thể xem từ bảng 12 mà FF-Y-01 đến FF-Y-013 có D_{90} trong phạm vi 224,4 nm đến 628,6 nm và D_{50} trong phạm vi 49,1 nm đến 111,6 nm có giá trị trung bình 64,17% đối với hiệu quả phòng trừ và kiểm soát lên bệnh thối mềm của cải thảo 2 ngày sau xử lý, mà có thể so sánh được với giá trị trung bình 65,54% của FF-024-1 đến FF-024-7 trong bảng 8 đối với hiệu quả phòng trừ và kiểm soát lên bệnh thối mềm của cải thảo 2 ngày sau xử lý. Từ FF-Y-01 đến FF-Y-013 có giá trị trung bình 55,62% đối với hiệu quả phòng trừ và kiểm soát lên bệnh thối mềm của cải thảo 3 ngày sau xử lý, mà có thể so sánh được với giá trị trung bình 60,42% của FF-024-1

đến FF-024-7 trong bảng 8 đối với hiệu quả phòng trừ và kiểm soát lên bệnh thối mềm của cải thảo 3 ngày sau xử lý. Ngoài ra, FF-Y-01 đến FF-Y-013 đã thể hiện không có độc tính thực vật lên cải thảo khi chúng được sử dụng để phòng trừ và kiểm soát bệnh thối mềm của cải thảo. Thông qua thử nghiệm kiểm tra của SC kẽm thiazol nano, đã xác nhận rằng kẽm thiazol nano có D_{90} trong phạm vi 224,4 nm đến 628,6 nm và D_{50} trong phạm vi 49,1 nm đến 111,6 nm có thể đạt được hiệu quả phòng trừ và kiểm soát có thể so sánh được khi được so sánh với kẽm thiazol có D_{90} trong phạm vi 110,6 nm đến 849,7 nm và D_{50} trong phạm vi từ 47,8 nm đến 90,2 nm.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chất cô đặc huyền phù (suspension concentrate: SC) chứa kẽm thiazol nano, trong đó chất cô đặc huyền phù chứa các hạt kẽm thiazol nano, tỷ lệ phần trăm của tổng trọng lượng của các hạt kẽm thiazol nano với trọng lượng của chất cô đặc huyền phù là 1%–70%, các hạt kẽm thiazol nano có D_{90} trong phạm vi $400\text{ nm} < D_{90} \leq 1100\text{ nm}$, và D_{50} trong phạm vi $D_{50} < 90\text{ nm}$.
2. Chất cô đặc huyền phù theo điểm 1, trong đó các hạt kẽm thiazol nano có D_{90} trong phạm vi $400\text{ nm} < D_{90} \leq 1100\text{ nm}$, và D_{50} trong phạm vi $40\text{ nm} \leq D_{50} < 90\text{ nm}$.
3. Chất cô đặc huyền phù theo điểm 2, trong đó các hạt kẽm thiazol nano có D_{90} trong phạm vi $430\text{ nm} \leq D_{90} \leq 850\text{ nm}$, và D_{50} trong phạm vi $45\text{ nm} \leq D_{50} \leq 90\text{ nm}$.
4. Chất cô đặc huyền phù theo điểm 2, trong đó các hạt kẽm thiazol nano có D_{90} trong phạm vi $430\text{ nm} \leq D_{90} \leq 1090\text{ nm}$, và D_{50} trong phạm vi $45\text{ nm} \leq D_{50} \leq 85\text{ nm}$.
5. Chất cô đặc huyền phù theo điểm 2, trong đó các hạt kẽm thiazol nano có D_{90} trong phạm vi $420\text{ nm} \leq D_{90} \leq 630\text{ nm}$, và D_{50} trong phạm vi $45\text{ nm} \leq D_{50} \leq 80\text{ nm}$.
6. Chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano, trong đó chất cô đặc huyền phù chứa các hạt kẽm thiazol nano, tỷ lệ phần trăm của tổng trọng lượng của các hạt kẽm thiazol nano với trọng lượng của chất cô đặc huyền phù là 1%–70%, các hạt kẽm thiazol nano có D_{90} trong phạm vi $D_{90} \leq 400\text{ nm}$, và D_{50} trong phạm vi $90\text{ nm} \leq D_{50} < 120\text{ nm}$.
7. Chất cô đặc huyền phù theo điểm 6, trong đó các hạt kẽm thiazol nano có D_{90} trong phạm vi $110\text{ nm} \leq D_{90} \leq 400\text{ nm}$, và D_{50} trong phạm vi $90\text{ nm} \leq D_{50} < 120\text{ nm}$.
8. Chất cô đặc huyền phù theo điểm 7, trong đó các hạt kẽm thiazol nano có D_{90} trong phạm vi $110\text{ nm} \leq D_{90} \leq 350\text{ nm}$, và D_{50} trong phạm vi $90\text{ nm} \leq D_{50} \leq 110\text{ nm}$.

9. Chất cô đặc huyền phù theo điểm 7, trong đó các hạt kẽm thiazol nano có D_{90} trong phạm vi $260\text{ nm} \leq D_{90} \leq 390\text{ nm}$, và D_{50} trong phạm vi $95\text{ nm} \leq D_{50} \leq 115\text{ nm}$.
10. Chất cô đặc huyền phù theo điểm 7, trong đó các hạt kẽm thiazol nano có D_{90} trong phạm vi $220\text{ nm} \leq D_{90} \leq 395\text{ nm}$, và D_{50} trong phạm vi $95\text{ nm} \leq D_{50} \leq 115\text{ nm}$.
11. Chất cô đặc huyền phù theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10, trong đó các hạt kẽm thiazol nano có D_{10} trong phạm vi $10\text{ nm} \leq D_{10} \leq 50\text{ nm}$, hoặc các hạt kẽm thiazol nano có D_{10} trong phạm vi $17\text{ nm} \leq D_{10} \leq 49\text{ nm}$.
12. Chất cô đặc huyền phù theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 11, trong đó span của các hạt kẽm thiazol nano là 0,705 đến 22,060.
13. Chất cô đặc huyền phù theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 12, trong đó chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano chứa một hoặc nhiều chất phụ của chất bề mặt, chất cô đặc, chất bảo quản, chất khử bọt, và chất chống đông.
14. Phương pháp điều chế chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 13, trong đó phương pháp này bao gồm:

trộn kẽm thiazol, một hoặc nhiều trong số chất bề mặt, chất cô đặc, chất bảo quản, chất khử bọt, và chất chống đông, và nước đồng nhất, sau đó xử lý hỗn hợp thu được để nghiền theo chu kỳ hoặc nghiền nhiều giai đoạn máy xay cát, và lọc bỏ môi trường xay sau khi đạt được kích thước hạt nano để thu được chất cô đặc huyền phù chứa kẽm thiazol nano, trong đó môi trường xay trong ít nhất một trong số các máy xay cát có đường kính là 0,1 mm đến 0,6 mm.