



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

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

(11)



2-0002432

(51)⁷ **G01N 33/44; G01N 33/52; A01G 23/10;
C07C 39/00**

(13) **Y**

(21) 2-2019-00574

(22) 29/12/2016

(67) 1-2016-05141

(45) 26/10/2020 391

(43) 25/05/2018 362A

(73) **VIỆN NGHIÊN CỨU CAO SU VIỆT NAM (VN)**

Quốc lộ 13, ấp Lai Khê, xã Lai Hưng, huyện Bàu Bàng, tỉnh Bình Dương

(72) **TRẦN THANH (VN); LÊ MẬU TÚY (VN); NGUYỄN VŨ NGỌC ANH (VN); VÕ
HOÀNG ANH (VN); HUỖNH ĐỨC ĐỊNH (VN); NGUYỄN THÀNH NHÂN (VN).**

(74) Công ty TNHH Nam Việt và Liên danh (VIPCO)

(54) **PHƯƠNG PHÁP CHẨN ĐOÁN NHANH HÀM LƯỢNG ĐƯỜNG SUCROZA TRONG
MỦ CAO SU THIÊN NHIÊN**

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến phương pháp chẩn đoán nhanh hàm lượng đường sucroza trong mủ (latex) cao su thiên nhiên bằng chỉ thị màu bao gồm các bước: chọn và lấy mủ cao su; sử dụng thuốc thử đặc hiệu; xúc tác nhiệt và so sánh và phân cấp màu hiển thị, trong đó thuốc thử sử dụng để xác định hàm lượng đường sucroza là loại hóa chất có tên thương mại là BMG-SUC, là chất lỏng, không màu và mùi hơi xốc được tạo ra bằng cách trộn cơ học 1,3 - benzenediol 5% với axit clohydric 9%, và phản ứng được xúc tác nhiệt bằng cách đốt nóng ống nghiệm trên ngọn lửa đèn cồn trong 2 phút.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích được áp dụng trong lĩnh vực phân tích các chỉ tiêu sinh lý mủ cao su thiên nhiên, cụ thể đề cập đến thuốc thử và phương pháp chẩn đoán nhanh hàm lượng đường sucroza trong mủ (latex) cao su thiên nhiên bằng chỉ thị màu nhằm chẩn đoán tình trạng sinh lý của cây cao su, tiết kiệm chi phí phân tích, thời gian phân tích, công lao động, dễ thực hiện với bộ kit gọn nhẹ và thực hiện đơn giản, không phụ thuộc vào công nhân cạo mủ, có thể thực hiện ngay tại vườn cây và ở mọi địa điểm, tại bất kỳ thời điểm nào.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Trên cây cao su, dòng chảy mủ sau khi cạo và sự tái sinh mủ tại chỗ giữa hai lần cạo là hai yếu tố chính ảnh hưởng đến sản lượng mủ. Với một dòng chảy dễ dàng và kéo dài sẽ cho sản lượng mủ cao. Tuy nhiên, mủ phải được tái tạo lại đầy đủ trước lần cạo tiếp theo, nếu không thì nó có thể trở thành yếu tố hạn chế. Nhiều nghiên cứu trước đây đã cho thấy hàm lượng đường sucroza trong mủ có liên hệ đến dòng chảy mủ và sự tái sinh mủ (Eschbach và cộng sự, 1984; Jacob và cộng sự, 1985). Thông qua hàm lượng đường sucroza trong mủ, có thể đánh giá được tình trạng của hệ thống ống mủ đang khai thác dưới mức hay quá mức cho phép, từ đó có thể chẩn nghiệm được khả năng đáp ứng với chất kích thích mủ của vườn cây cao su.

Đã có nhiều nghiên cứu trong và ngoài nước đã chứng minh có sự tương quan thuận rất ý nghĩa thống kê giữa hàm lượng đường sucroza trong mủ cây cao su và năng suất mủ, hàm lượng sucroza cao là một trong những yếu tố chính làm gia tăng năng suất mủ, đặc biệt là năng suất mủ sau khi áp dụng chất kích thích mủ (Tupy, 1973 & 1989; Lacrotte, 1991; Pakianathan và cộng sự, 1992; Pujade-Renaud và cộng sự, 1994; d'Auzac và cộng sự, 1997; Junaidi và Kuswanhadi, 1998; Gohet và Chantuma, 2003; Gohet và cộng sự, 2003; Chantuma và cộng sự, 2006; Silpi và cộng sự, 2006; Traoré và cộng sự, 2011; Sainoi và cộng sự, 2012; Lacote và cộng sự, 2013; Purwaningrum và cộng sự, 2013; Thuy và cộng sự, 2013; Putranto và cộng sự, 2015). Vì vậy, với giải pháp làm gia tăng năng suất mủ cây cao su thông qua chế độ cạo có áp dụng chất kích thích mủ như hiện nay thì vấn đề tiên quyết là phải chọn được những giống cao su có hàm lượng đường sucroza trong mủ cao (Lacote và cộng sự, 2013).

Theo hiểu biết của người nộp đơn, hiện tại, để chẩn đoán hàm lượng đường sucroza trong mủ cao su, mẫu mủ phải được lấy, bảo quản và sơ chế qua nhiều bước nghiêm ngặt ngay tại vườn cây như thời điểm lấy mẫu (mẫu mủ phải được lấy trong khoảng thời gian từ 5-35 phút sau khi cạo), phương pháp bảo quản và sơ chế mẫu (mẫu mủ phải được bảo quản trong điều kiện lạnh sau khi thêm axit trichloroacetic vào). Sau khi lấy mẫu và sơ chế tại vườn cây, mẫu mủ phải ngay lập tức mang về phòng thí nghiệm để tiến hành các bước phân tích phức tạp và nghiêm ngặt hơn như mẫu mủ phải được lọc bằng giấy lọc Whatman trước khi thêm vào các hóa chất và thuốc thử khác nhau (anthrone lạnh, axit sulphuric đậm đặc), sau đó tiến hành đun sôi và làm nguội mẫu, cuối cùng mẫu được đo giá trị OD (optical density) bằng máy đo mật độ quang. Trong quá trình phân tích, mẫu mủ phải được làm song song với các mẫu đối chứng (dung dịch đường sucroza chuẩn và mẫu không có latex), hàm lượng đường sucroza trong mủ được tính toán dựa trên giá trị OD của mẫu và của đối chứng.

Hiện nay, tại tất cả các quốc gia trồng và phát triển cao su trên thế giới, việc phân tích hàm lượng đường sucroza trong mủ cao su chỉ có thể được thực hiện đối với những vườn cao su ở gần phòng thí nghiệm chuyên biệt. Đối với các vườn cao su ở xa phòng thí nghiệm với những cách trở về mặt địa lý thì việc phân tích hàm lượng đường sucroza trong mủ hầu như không thể thực hiện được.

Bên cạnh đó, chi phí cho việc lấy mẫu và phân tích hàm lượng đường sucroza trong mủ tại phòng thí nghiệm là tương đối cao với các bước phân tích phức tạp.

Giải pháp kỹ thuật đề xuất nhằm khắc phục các nhược điểm của các giải pháp kỹ thuật đã biết.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là đề xuất phương pháp chẩn đoán nhanh hàm lượng đường sucroza trong mủ cao su thiên nhiên bằng chỉ thị màu, tiết kiệm chi phí phân tích, thời gian phân tích, công lao động, dễ thực hiện với bộ kit gọn nhẹ và đơn giản, không phụ thuộc vào công nhân cạo mủ, có thể thực hiện ngay tại vườn cây và ở mọi địa điểm với độ chính xác cao, đơn giản hơn so với qui trình phân tích hàm lượng đường sucroza trong mủ cao su thiên nhiên hiện đang áp dụng tại Việt Nam và trên thế giới.

Để đạt được mục đích nêu trên, phương pháp theo giải pháp hữu ích bao gồm các bước:

- Chọn và lấy mủ (latex) của nhiều giống cao su khác nhau;

- Sử dụng thuốc thử đặc hiệu;
- Xúc tác nhiệt;
- So sánh và phân cấp màu hiển thị.

Khác biệt ở chỗ, phương pháp theo giải pháp hữu ích sử dụng thuốc thử đặc hiệu để phản ứng tạo màu với lượng đường sucroza có trong mủ, và phản ứng được tiến hành thông qua xúc tác nhiệt (đốt nóng hoặc đun sôi).

Bản chất của giải pháp hữu ích được hiểu rõ hơn trong phần mô tả chi tiết kèm theo các ảnh chụp minh họa dưới đây.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 là ảnh chụp thể hiện màu của dung dịch bên trong ống nghiệm của các mẫu mủ (latex) từ các giống cao su khác nhau sau khi đốt nóng 2 phút trên ngọn lửa đèn cồn theo phương pháp của giải pháp hữu ích.

Hình 2 là ảnh chụp thể hiện thang chuẩn phân cấp bằng chỉ thị màu và hàm lượng đường sucroza theo phương pháp của giải pháp hữu ích.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Phương pháp theo giải pháp hữu ích bao gồm các bước:

- Chọn và lấy mủ của nhiều giống cao su khác nhau;
- Sử dụng thuốc thử đặc hiệu;
- Xúc tác nhiệt;
- So sánh và phân cấp màu hiển thị.

Mủ cao su thiên nhiên dùng để xác định hàm lượng đường sucroza theo phương pháp của giải pháp hữu ích được chọn từ các cây cao su có độ tuổi từ 5 - 6 năm tuổi trở lên (vườn cây đã được khai thác mủ), có thể chọn theo nhiều giống cao su khác nhau, được trồng ở các vùng khác nhau tại khu vực Đông Nam Bộ (Bình Dương, Bình Phước, Tây Ninh và Đồng Nai).

Thuốc thử sử dụng để xác định hàm lượng đường sucroza theo phương pháp của sáng chế là loại hóa chất đặc hiệu được đặt tên là BMG-SUC.

- BMG-SUC được tạo ra bằng cách trộn cơ học các chất: 1,3-benzenediol 5% và axit clohydric 9%. BMG-SUC là chất lỏng, không màu và mùi hơi xốc.

Phương pháp theo giải pháp hữu ích có xúc tác nhiệt bằng cách đốt nóng hoặc đun sôi ống nghiệm chứa mẫu trên ngọn lửa cồn.

Khi có xúc tác nhiệt phản ứng trong ống nghiệm chứa mẫu sẽ chuyển màu. Màu của dung dịch trong ống nghiệm sẽ thay đổi theo dãy màu.

Quan sát và so sánh dãy màu, nếu dung dịch trong ống nghiệm có màu vàng chanh có nghĩa hàm lượng đường sucroza trong mủ cao su tương ứng là rất thấp, nếu dung dịch trong ống nghiệm có màu đỏ tía có nghĩa hàm lượng đường sucroza trong mủ cao su tương ứng là rất cao.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

- Pha trộn để tạo thuốc thử BMG-SUC:

+ Pha dung dịch axit clohydric đậm đặc với nước cất sao cho dung dịch axit clohydric đạt nồng độ cuối cùng là 9%.

+ Thuốc thử BMG-SUC được tạo ra bằng cách hòa tan 1,3-benzenediol trong dung dịch axit clohydric 9% vừa pha ở trên sao cho dung dịch 1,3-benzenediol đạt nồng độ cuối cùng là 5%. Dụng cụ dùng để pha trộn các chất trên là ống đong và ống nghiệm thủy tinh, cân điện tử, máy khuấy từ,...

- Trên các giống cao su khác nhau ở thí nghiệm sơ tuyển STLK 03 trồng năm 2003 tại Lai Hưng - Bàu Bàng - Bình Dương, lấy mẫu mủ (latex) bằng cách dùng pipet hút lấy 1 ml mủ từ trong chén hứng mủ (nếu cây không được cạo mủ vào thời điểm lấy mẫu thì mẫu latex có thể được lấy bằng cách dùng máng hứng mủ chích vào cây cho mủ chảy ra), mẫu latex có thể được lấy trên 1 cây hoặc trên nhiều cây của cùng một giống).

- Lấy 1 ml mủ của từng giống cây cao su cho vào từng ống nghiệm riêng biệt có ghi tên từng giống.

- Cho vào mỗi ống nghiệm 2 ml thuốc thử đặc hiệu BMG-SUC.

- Đốt nóng ống nghiệm trên ngọn lửa đèn cồn trong 2 phút. Quan sát thấy rõ sự chuyển màu của dung dịch bên trong từng ống nghiệm, màu của dung dịch bên trong

tùng ống nghiệm lấy từ các mẫu latex của các giống cao su khác nhau (như thể hiện trên H.1).

- So sánh và phân cấp màu hiển thị với thang chuẩn phân cấp màu về nồng độ đường sucroza có trong mủ của từng giống cao su. Quan sát nếu dung dịch trong ống nghiệm có màu vàng chanh có nghĩa hàm lượng đường sucroza của mủ cao su tương ứng là rất thấp (<1 mm), nếu dung dịch trong ống nghiệm có màu đỏ tía có nghĩa hàm lượng đường sucroza trong mủ cao su tương ứng là rất cao (>10 mm). Thang chuẩn phân cấp bằng chỉ thị màu như thể hiện trên H.2 được xây dựng dựa trên kết quả phân tích song song hàm lượng đường sucroza trong mủ của 371 mẫu latex từ 90 giống cao su khác nhau ở nhiều tuổi cạo khác nhau tại khu vực Đông Nam Bộ bằng cả hai phương pháp: phân tích trong phòng thí nghiệm theo phương pháp truyền thống hiện đang được áp dụng tại Việt Nam và trên thế giới và phân tích nhanh bằng chỉ thị màu ngay tại vườn cây theo phương pháp của giải pháp hữu ích.

Những lợi ích (hiệu quả) có thể đạt được

Phương pháp chẩn đoán nhanh hàm lượng đường sucroza trong mủ cao su thiên nhiên bằng chỉ thị màu có nhiều ưu điểm so với phương pháp truyền thống, khi áp dụng vào thực tế đạt được những lợi ích như sau:

- Tiết kiệm chi phí phân tích, thời gian phân tích, công lao động.
- Dễ thực hiện với bộ kit gọn nhẹ và đơn giản, không phụ thuộc vào công nhân cạo mủ, có thể thực hiện ngay tại vườn cây và ở mọi địa điểm với độ chính xác cao.
- Đơn giản hơn so với quy trình phân tích hàm lượng đường sucroza trong mủ cao su thiên nhiên hiện đang áp dụng tại Việt Nam và trên thế giới.
- Phương pháp chẩn đoán nhanh hàm lượng đường sucroza trong mủ cao su thiên nhiên bằng chỉ thị màu còn là công cụ hỗ trợ qua trọng trong việc chọn lọc các giống cao su có hàm lượng đường sucroza trong mủ cao, qua đó giúp đánh giá khả năng đáp ứng của từng giống cao su đối với chất kích thích mủ để có thể khuyến cáo chế độ áp dụng chất kích thích mủ cụ thể (số lần và nồng độ áp dụng chất kích thích mủ) cho từng giống ở từng thời điểm cụ thể.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp chẩn đoán nhanh hàm lượng đường sucroza trong mủ cao su thiên nhiên, đặc trưng ở chỗ, với mục đích tiết kiệm chi phí, thời gian phân tích, giảm công lao động, dễ thực hiện với bộ kit gọn nhẹ và đơn giản, không phụ thuộc vào công nhân cạo mủ, có thể thực hiện ngay tại vườn cây và ở mọi địa điểm với độ chính xác cao, phương pháp này bao gồm các bước:

- chọn và lấy mủ cao su;
- sử dụng thuốc thử đặc hiệu;
- xúc tác nhiệt;
- so sánh và phân cấp màu hiển thị;

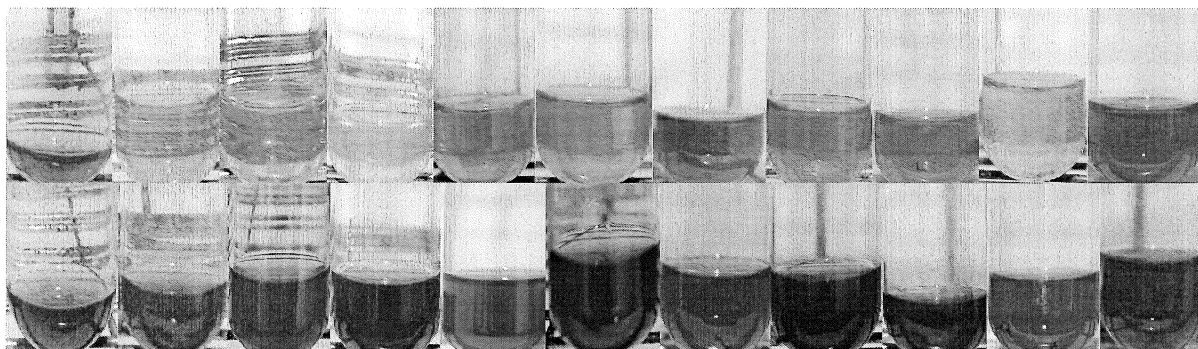
trong đó:

- mủ cao su thiên nhiên dùng để xác định hàm lượng đường sucroza được chọn từ các cây cao su có độ tuổi từ 5 - 6 năm tuổi trở lên, thuộc nhiều giống cao su khác nhau, được trồng ở các vùng khác nhau tại khu vực Đông Nam Bộ (Bình Dương, Bình Phước, Tây Ninh và Đồng Nai);

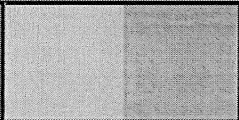
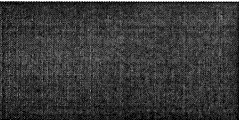
- thuốc thử dùng chẩn đoán nhanh hàm lượng đường sucroza trong mủ cao su thiên nhiên là loại hóa chất được đặt tên là BMG-SUC là chất lỏng, không màu và mùi hơi xốc được tạo ra bằng cách trộn cơ học 1,3 - benzenediol 5% với axit clohydric 9%;

- tỷ lệ sử dụng giữa mủ cao su và thuốc thử BMG-SUC là 1:2;

- phản ứng được xúc tác nhiệt bằng cách đốt nóng ống nghiệm trên ngọn lửa đèn cồn trong 2 phút.



Hình 1

									
CẤP 1 $\leq 1,00 \text{ mM}$		CẤP 2 $1,01 - 2,50 \text{ mM}$		CẤP 3 $2,51 - 5,50 \text{ mM}$		CẤP 4 $5,51 - 10,00 \text{ mM}$		CẤP 5 $\geq 10,00 \text{ mM}$	

Hình 2