



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

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

(11) 
2-0002281

(51)⁷ **A01N 65/00**

(13) **Y**

(21) 2-2019-00547 (22) 04.04.2014

(67) 1-2014-01096

(45) 25.02.2020 383

(43) 26.10.2015 331

(76) 1. **TRẦN KIM QUI (VN)**

55D Trần Phú, phường 4, quận 5, thành phố Hồ Chí Minh

2. **TRẦN LÊ QUAN (VN)**

55D Trần Phú, phường 4, quận 5, thành phố Hồ Chí Minh

3. **TRẦN LÊ QUÂN (VN)**

55D Trần Phú, phường 4, quận 5, thành phố Hồ Chí Minh

(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Thảo Thọ Quyến (INVENCO.,LTD)

(54) **QUY TRÌNH CHIẾT XUẤT CHIẾT PHẨM CHỨA AZADIRACHTIN LIMONOIT
TRONG HẠT SÂU ĐẬU ĐỂ BÀO CHẾ THUỐC BẢO VỆ THỰC VẬT GỐC
THẢO MỘC**

(57) Giải pháp hữu ích đề xuất quy trình chiết xuất chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit trong hạt sâu đậu để bào chế thuốc bảo vệ thực vật gốc thảo mộc.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình chiết xuất chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit (gọi tắt là AZL) trong hạt sầu đâu để bào chế thuốc bảo vệ thực vật gốc thảo mộc, không lưu bã độc làm ô nhiễm môi trường, đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Hiện nay, đã có một vài đơn vị trong nước đã chiết xuất một số hoạt chất gốc thảo mộc để làm thuốc bảo vệ thực vật như nicotin từ cây thuốc lá *Nicotiana tabacum* L, rotenon từ cây thuốc cá *Derris elleptica* J, pyrethrin từ hoa cây cúc trừ sâu *Chrysanthemum cinerariaefolium* T.. Tuy nhiên các kết quả chỉ dừng lại ở quy mô phòng thí nghiệm.

Cây sầu đâu (còn được gọi là cây xoan Ấn Độ) được sử dụng làm thuốc bảo vệ thực vật có hiệu quả ở nhiều nơi trên thế giới. Ở nước ta, cây sầu đâu được trồng nhiều tại các tỉnh Nam Trung Bộ. Hiện nay, các nhà khoa học đã phân lập hơn 60 chất limonoit có khả năng xua đuổi côn trùng từ hạt và lá sầu đâu.

Việc chiết xuất chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit (AZL) trong hạt sầu đâu (*Azadirachta indica* A. Juss) đã được nghiên cứu và biết rõ bởi các chuyên gia trong lĩnh vực này. Theo đề tài “*Chiết tách, tinh sạch và khảo sát tác dụng đối kháng vi sinh vật của salanin từ nhân hạt cây xoan Ấn Độ (Azadirachta indica A. Juss) trồng tại Việt Nam*”, tiến sỹ Vũ Văn Độ và các cộng sự đã đề xuất quy trình chiết xuất salanin và xác định hợp chất này trên quy mô phòng thí nghiệm. Tuy nhiên, dung môi sử dụng để chiết tách là ete dầu hỏa và metanol. Những dung môi này nếu áp dụng trên quy mô công nghiệp, lượng dư sẽ gây những ảnh hưởng có hại đến môi trường, chưa kể đến

chi phí sản xuất. Ngoài ra, sản phẩm chiết thu được có chất lượng chưa cao do đục, còn chứa nước và hàm lượng kim loại. Đã có nghiên cứu sử dụng hỗn hợp dung dịch chiết bao gồm n-hexan và etanol (xem, *Extraction of neem oil ((Azadirachta indica A. Juss) using n-hexane and ethanol: studies of oil quality, kinetic and thermodynamic, Maria Yuliana Liauw et al.)*) Tuy sản phẩm thu được đã có độ tinh khiết cao hơn, nhưng vấn đề dư lượng dung môi khi đưa vào quy trình sản xuất theo quy mô công nghiệp vẫn là một thách thức trong lĩnh vực này.

Vì vậy, tồn tại nhu cầu về quy trình chiết xuất chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit (AZL) trong hạt sầu đâu (*Azadirachta indica A. Juss*) để bào chế thuốc bảo vệ thực vật gốc thảo mộc, không lưu bã độc làm ô nhiễm môi trường, đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là đề xuất quy trình chiết xuất chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit trong hạt sầu đâu để bào chế thuốc bảo vệ thực vật gốc thảo mộc, không lưu bã độc làm ô nhiễm môi trường, đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm.

Để thực hiện mục đích này, theo một khía cạnh giải pháp hữu ích đề xuất quy trình chiết xuất chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit trong hạt sầu đâu bao gồm các bước sau:

a) Xử lý nguyên liệu

Hạt sầu đâu khô được bảo quản trong kho mát ở nhiệt độ khoảng 25-27⁰C, độ ẩm dưới 40%, không có ánh sáng chiếu vào, trong thời gian tối thiểu 3 tháng để hàm lượng dầu và hoạt chất azadirachtin limonoit trong hạt sầu đâu được ổn định, sau đó hạt sầu đâu được đem nghiền thành bột đến cỡ hạt 0,1mm bằng máy nghiền đĩa để làm vỡ thành tế bào chứa dầu trong hạt.

b) Ép nguội dầu sầu đâu

Bột hạt sầu đâu thu được ở bước a được ép nguội bằng máy ép thủy lực trực đứng với lực ép 150kg/cm² ở nhiệt độ phòng để thu được dầu sầu đâu

chứa khoảng 0,19% AZL với hiệu suất 18,2% và phần bánh là bột hạt sấu đầu bị ép lại thành khối cứng đã loại dầu sấu đầu;

c) Tách chiết chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit thô trong hạt sấu đầu

Bánh hạt sấu đầu sau khi được nghiền thành bột mịn được trộn với dung môi etanol 95⁰ theo tỷ lệ 1:3 (trọng lượng/trọng lượng), tiến hành tách chiết ở nhiệt độ 50⁰C trong điều kiện khuấy 100 vòng/phút trong 24 giờ, sau đó ly tâm ở tốc độ 3000 vòng/phút để tách dung dịch chiết etanol khỏi xác bã hạt sấu đầu, chưng cất dung dịch chiết thu được ở nhiệt độ 50⁰C, trong điều kiện áp suất thấp dưới 50mmHg để thu được chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit thô

d) Tinh chế chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit thô

Chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit thô thu được được hòa tan trong dung môi etyl axetat (EtOAc) và nước cất theo tỷ lệ 1:2:2 (trọng lượng/trọng lượng), tiến hành chiết ở nhiệt độ 45⁰C trong điều kiện khuấy ở tốc độ 150 vòng/phút trong 90 phút, sau đó chưng cất dưới áp suất thấp dưới 50mmHg để thu được chiết phẩm chứa 5,14% AZL azadirachtin limonoit với hiệu suất 6,1%.

Theo một khía cạnh khác, giải pháp hữu ích đề cập đến thuốc bảo vệ thực vật dạng bột rắc được sản xuất từ bã hạt sấu đầu. Bã hạt sấu đầu lấy ra từ bồn quay của máy ly tâm, được phơi hong khô trong mát trong 24 giờ để đuổi hết dung môi etanol và điều chỉnh độ ẩm đến 55%. Sau đó phối trộn chế phẩm vi sinh vật phân giải xenluloza (CDM) vào bã hạt sấu đầu theo tỷ lệ 0,15% và ủ thành đống trong 25 ngày để bã hạt sấu đầu được phân giải hoàn toàn; kế đó sấy đến độ ẩm 18% tạo ra thuốc bảo vệ thực vật dạng bột rắc vừa cung cấp dưỡng liệu cho cây trồng vừa diệt được các loại nấm bệnh và tuyến trùng trong đất. Định lượng azadirachtin limonoit trong thuốc bột rắc theo phương pháp phổ nghiệm với máy HPLC-UV, $\lambda = 217\text{nm}$.

Theo một khía cạnh, giải pháp hữu ích còn đề xuất thuốc bảo vệ thực vật dạng dung dịch có công thức sau đây:

Chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit (AZL=5,14%):	6%
Dầu sàu đàu (AZL=0,19%):	15%
Chất tạo nhũ, este sorbitan:	5%
Chất tăng hoạt, sesamin:	5%
Dung môi, dầu khoáng:	69%
	<u>100%</u>

Theo một khía cạnh khác, giải pháp hữu ích còn đề xuất thuốc bảo vệ thực vật dạng dầu có công thức sau đây:

Dầu sàu đàu:	53%
Chất tạo nhũ, este sorbitan:	15%
Chất tăng hoạt, sesamin:	5%
Dung môi, dầu khoáng:	<u>27%</u>
	100%

Theo một khía cạnh khác nữa, giải pháp hữu ích đề xuất thuốc bảo vệ thực vật dạng bột rắc có công thức sau đây:

Azadirachtin limonoit:	0,025%
Hợp chất sulfua (S):	0,175%
Đạm tổng số:	5,2%
Chất hữu cơ :	76,3%
Ẩm độ:	<u>18,3%</u>
	100%

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Hình 1: Sơ đồ quy trình chiết xuất hoạt chất azadirachtin limonoit từ hạt sàu đàu

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình chiết xuất hoạt chất azadirachtin limonoit từ hạt sàu đàu bao gồm các bước:

a) *Xử lý nguyên liệu*

Quả sầu đâu được thu hoạch mỗi năm 2 lần theo chu kỳ có trái vào tháng 6 và tháng 12, chỉ hái những quả chín có màu vàng, không hái quả còn xanh. Quả sầu đâu sau thu hoạch cần phải được sơ chế ngay, không để quá 48 giờ. Cho quả vào bao tải, ủ khoảng 24 giờ cho thịt quả mềm, sau đó cho vào rổ chà nhẹ cho nát thịt quả. Rửa sạch hạt sầu đâu loại hết thịt quả còn bám chung quanh hạt; để ráo nước, phơi hong khô trong mát cho hạt thật khô, độ ẩm còn khoảng 10-11%. Sau đó bảo quản hạt sầu đâu trong kho mát ở nhiệt độ khoảng 25-27⁰C, độ ẩm dưới 40%, không có ánh sáng chiếu vào và có trang bị một số gói canxi clorua (CaCl₂) để hút ẩm. Cần bảo quản hạt sầu đâu trong kho mát tối thiểu 3 tháng để hàm lượng hoạt chất azadirachtin limonoit và lượng dầu trong hạt sầu đâu được ổn định mới đưa ra chế biến tiếp.

Hạt sầu đâu khô (100kg) sau khi bảo quản ít nhất 3 tháng trong kho mát được đưa qua máy nghiền đĩa để nghiền nhuyễn nhân hạt sầu đâu đến cỡ hạt 0,1mm nhằm làm vỡ thành tế bào chứa dầu trong hạt và tăng hiệu suất ép dầu. Hạt sầu đâu được cho qua phễu nhập liệu rơi vào khe giữa 2 đĩa nghiền có đường kính 20cm làm bằng thép cứng có răng chịu ma sát, quay ngược chiều nhau; khoảng cách giữa 2 đĩa nghiền có thể điều chỉnh được do bộ vít điều chỉnh. Bột nhuyễn hạt sầu đâu ra khỏi đĩa nghiền rơi xuống máng hứng và được chuyển qua máy ép dầu.

b) Ép nguội thu dầu sầu đâu

Máy ép nguội dầu sầu đâu được thiết kế theo nguyên tắc máy ép thủy lực có trục ép đứng. Bột nhuyễn hạt sầu đâu thu được ở bước a được gói trong bao vải lọc sợi orlon, được xếp nằm vừa vặn trong khoang chứa nguyên liệu làm bằng inox dày 3,2mm và có thể tích V=20l. Mở máy ép cho ben thủy lực hoạt động, đẩy pít tông ép có diện tích mặt ép S=706 cm² ép thẳng đứng vào bao chứa bột nhuyễn hạt sầu đâu với lực ép 150kg/cm²; dầu sầu đâu được tách ra khỏi xác hạt sầu đâu, chảy qua lớp vải lọc đến phễu hứng dầu, thu được 18,2 kg (hiệu suất 18,2%) dùng để sản xuất thuốc bảo vệ thực vật dạng dầu. Xác hạt sầu đâu còn lại trong bao vải lọc bị ép mạnh thành một khối cứng gọi

là bánh hạt sấu đầu được dùng để chiết xuất chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit với dung môi.

Xác định các chỉ tiêu kỹ thuật của dầu sấu đầu cho kết quả sau đây:

TT	Tên chỉ tiêu	Phương pháp thử	Kết quả	Tiêu chuẩn Ấn Độ
1	Tỷ trọng d_{20}^{20}	TCVN 8444:2010	0,9098	0,9087-0,9189
2	Chiết xuất n_D^{20}	Khúc xạ kế RA-600	1,4622	1,4617-1,4627
3	Chỉ số axit mg/g	AOAC	3,90	$\leq 5,4$
4	Azadirachtin limonoit %	HPLC-UV ($\lambda=$ 217nm)	0,19	$\geq 0,05$
5	Sulfua (S)	TCVN 363:99	0,46	$\geq 0,03$

Dầu sấu đầu thu được đạt các tiêu chuẩn của ngành Lâm nghiệp Ấn Độ (Việt Nam chưa có tiêu chuẩn về dầu sấu đầu).

c) Chiết xuất chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit trong hạt sấu đầu

Bánh hạt sấu đầu lấy ra từ máy ép dầu cần được nghiền mịn để việc chiết xuất azadirachtin limonoit trong bánh dầu đạt hiệu quả cao. Máy nghiền mịn là một máy nghiền trục gồm 3 trục cán hình trụ làm bằng thép cứng, đường kính 18cm dài 60cm, quay ngược chiều nhau, tỉ lệ vòng quay các trục là 1:1:4. Bánh hạt sấu đầu được đưa qua phễu nhập liệu của máy nghiền, đi vào khe hẹp giữa các trục cán và được nghiền mịn do sự ép lại và chà sát giữa các trục với nhau. Khe hẹp giữa các trục được điều chỉnh để bánh dầu sấu đầu được nghiền mịn thành bột hạt sấu đầu có cỡ hạt nhỏ hơn 0,1mm. Kết quả thu được 81,5 kg bột hạt sấu đầu (hiệu suất 81,5%).

Sau đó bột hạt sấu đầu được trộn với etanol (EtOH) 95⁰ theo tỉ lệ 1:3 (trọng lượng/trọng lượng) và cho toàn bộ hỗn hợp vào bồn chiết hoạt chất azadirachtin limonoit để chiết trong 24 giờ. Bồn chiết azadirachtin limonoit

có 2 lớp, thể tích $V=600l$ ($H \times D = 0,9m \times 1m$) lớp trong bằng inox dày 3,2mm, lớp ngoài bằng sắt dày 4,0mm; giữa 2 lớp vỏ có chứa lớp nước được đun nóng đến $50^{\circ}C$ bằng một thanh điện trở (nằm trong lớp nước) có bộ phận biến trở và rơ le ngắt điện. Bồn có trang bị máy khuấy 100 vòng/phút kèm bộ phận điều chỉnh vận tốc và van xả ở đáy để thu hỗn hợp sản phẩm trong bồn. Đun nóng lớp nước giữa 2 lớp vỏ của bồn chiết đến $50^{\circ}C$ và cho máy khuấy hoạt động với tốc độ 100 vòng/phút trong 24 giờ; chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit được chiết xuất ra từ bột hạt sầu đâu và hòa tan trong etanol. Thu hỗn hợp sản phẩm trong bồn và dùng máy ly tâm với vận tốc quay 3.000 vòng/phút để tách dung dịch chiết etanol và xác bột hạt sầu đâu còn nằm trong bồn quay của máy ly tâm gọi là bã hạt sầu đâu được dùng để bào chế thuốc bảo vệ thực vật dạng bột rắc.

Dung dịch chiết etanol được cho vào bồn chưng cất áp suất thấp để thu hồi etanol cho ra chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit thô, còn bã hạt sầu đâu (75,2kg) được dùng để chế biến thuốc bảo vệ thực vật dạng bột rắc nhằm cung cấp dưỡng liệu cho đất đồng thời diệt các loại nấm bệnh và tuyến trùng trong đất. Bồn chưng cất áp suất thấp có 2 lớp, thể tích $V=400l$ ($H \times D = 0,9m \times 0,8m$), lớp trong bằng inox dày 3,2mm, lớp ngoài bằng sắt dày 4mm; giữa 2 lớp có lớp nước được đun nóng bằng 1 thanh điện trở có bộ phận biến trở và rơ le ngắt điện. Bồn có nắp đậy thật kín, van xả ở đáy bồn và kết nối với một máy bơm chân không có hệ thống bẫy khí để tạo áp suất thấp trong bồn chưng cất. Đun nóng lớp nước giữa 2 lớp của bồn chưng cất đến $50^{\circ}C$; cho máy bơm chân không hoạt động, tạo áp suất thấp dưới 50mmHg trong bồn; dung môi etanol bốc hơi, qua ống sinh hàn được hóa lỏng và sau đó đưa vào bình hứng. Cặn còn lại trong nồi chưng cất là chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit thô được lấy ra từ van xả ở đáy bồn, sau đó đưa qua khâu tinh chế.

d) Tinh chế chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit thô

Chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit thô thu được được tinh chế trong bồn tinh chế 2 lớp thể tích $V=30l$, giữa 2 lớp vỏ bồn có thanh điện trở

ngâm trong nước và có bộ phận biến trở; phía trên bồn có gắn máy khuấy kèm theo bộ phận điều chỉnh vận tốc, dưới đáy bồn có van xả thu sản phẩm. Chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit thô được hòa tan trong etyl axetat (EtOAc) và nước cất theo tỷ lệ 1:2:2 (trọng lượng/trọng lượng), sau đó cho toàn bộ vào bồn tinh chế.

Đun hỗn hợp trong bồn tinh chế đến 45°C và khuấy ở tốc độ 150 vòng/phút trong 90 phút, hỗn hợp được tách thành 2 lớp, lớp trên là chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit tan trong EtOAc, lớp dưới là tạp chất tan trong nước. Cho hỗn hợp vào bình lóng, tách bỏ lớp nước ở dưới, lấy dung dịch chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit tan trong etyl axetat, rửa dung dịch này 2 lần với nước cất. Sau đó chưng cất dưới áp suất thấp dưới 50mmHg thu hồi dung môi etyl axetat thu được chiết phẩm chứa 5,14% AZL azadirachtin limonoit, cân được 6,1kg (hiệu suất 6,1%) và có các chỉ tiêu kỹ thuật như sau:

TT	Tên chỉ tiêu	Phương pháp thử	Kết quả
1	Tỷ trọng d_{20}^{20}	TCVN 8444:2010	0,128
2	Chỉ số màu g/100ml	TCVN 2627:1993 (Thang màu $K_2Cr_2O_7$)	0,35 Màu vàng nâu
3	Mùi (<i>cảm quan</i>)	TCVN 2627:1993	Mùi tỏi hăng
4	Độ hòa tan	TCVN 8383:2010	- Tan tốt trong etanol, axeton, etyl axetat - Không tan trong hexane, ete dầu hỏa ...
5	Azadirachtin limonoit %	HPLC-UV (217nm)	5,14
6	Sulfua (s)	TCVN 363:99	0,52

Chiết phẩm chứa azadirachtin limonoid thu được đạt các tiêu chuẩn của TCVN 8383:2010.

Theo một phương án, giải pháp hữu ích đề cập đến thuốc bảo vệ thực vật dạng bột rắc được sản xuất từ bã hạt sầu đâu. Bã hạt sầu đâu sau khi chiết chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit với etanol vẫn còn chứa một lượng nhỏ hoạt chất có khả năng diệt một số nấm bệnh và tuyến trùng trong đất, được lấy ra từ bồn quay của máy ly tâm. Sau đó, bã hạt sầu đâu được phơi hong khô trong mát trong 24 giờ để đuổi hết dung môi etanol và điều chỉnh độ ẩm đến 55%. Sau đó, phối trộn chế phẩm vi sinh vật phân giải xenluloza (CDM) vào bã hạt sầu đâu theo tỷ lệ 0,15% và ủ thành đống trong 25 ngày để xác hạt sầu đâu được phân giải hoàn toàn, rồi sấy đến độ ẩm khoảng 18% để tạo ra thuốc bảo vệ thực vật dạng bột rắc có các chỉ tiêu kỹ thuật như sau:

TT	Chỉ tiêu	ĐVT	Kết quả	Theo 36/2010/TT-BNNPTNT
1	Ẩm độ	%	18,3	Không vượt quá 25%
2	Hàm lượng hữu cơ tổng số	%	76,3	Không thấp hơn 22%
3	Hàm lượng đạm tổng số (N _{ts})	%	5,2	Không thấp hơn 2,5%
4	Azadirachtin limonoit	%	0,025	Không bắt buộc
5	Hàm lượng Sulfua (S)	%	0,175	Không bắt buộc

Kết quả trên cho thấy thuốc bảo vệ thực vật dạng bột rắc sản xuất từ xác bột hạt sầu đâu đạt tất cả các chỉ tiêu chất lượng về theo thông tư 36/2010/TT-BNNPTNT.

Với chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit (AZL) có các chỉ tiêu kỹ thuật như trên có thể sử dụng để sản xuất thuốc bảo vệ thực vật gốc thảo mộc không lưu bã độc làm ô nhiễm môi trường, đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm.

Theo một phương án khác, giải pháp hữu ích đề cập đến thuốc bảo vệ thực vật là chế phẩm dung dịch Limo 3000SC chứa 3,300ppm azadirachtin limonoit (AZL) có công thức bào chế sau:

Thành phần	Tỷ lệ % theo trọng lượng
Chiết phẩm chứa 5,14% AZL:	6,0
Dầu sàu đậu chứa 0,19% AZL:	15,0
Sesamin, chất làm bền AZL:	5,0
Este sorbitan, chất tạo nhũ:	5,0
Dầu khoáng, dung môi:	69,0
	100,0

Chế phẩm Limo 3000SC được bào chế bằng cách dùng máy khuấy trộn chất lỏng vận tốc khuấy 500 vòng/phút, trộn thật đều trong 1 giờ, chiết phẩm chứa 5,14% AZL, dầu sàu đậu chứa 0,19% AZL, sesamin, este sorbitan và dầu khoáng theo công thức pha chế; sau đó rót chế phẩm Limo 3000SC vào chai, mỗi chai chứa 300ml dùng để làm thuốc bảo vệ thực vật dạng dung dịch.

Trong chế phẩm Limo 3000SC, sesamin sử dụng là một chất rắn, điểm nóng chảy 125°C và được điều chế bằng cách chưng cất lôi cuốn hơi nước dầu mè ở áp suất 3kg/cm². Sesamin được hơi nước lôi cuốn qua bình hứng, sau đó làm lạnh để kết tinh lại trong nước và lọc thu sesamin, được sử dụng rộng rãi để làm bền các hợp chất tự nhiên như azadirachtin limonoit. Este sorbitan sử dụng là một chất lỏng màu vàng sáng có độ nhớt cao, nhiệt độ kết tinh -2°C, được điều chế bằng phản ứng xuyên este hóa dầu dừa với đường sorbitol, sau đó làm lạnh hỗn hợp phản ứng đến -2°C để thu hồi este sorbitan kết tinh dưới dạng rắn. Este sorbitan là một chất hoạt diện không ion được dùng rộng rãi trong công nghiệp thực phẩm và dược phẩm để tạo nhũ tương bền giữa dầu và nước. Dầu khoáng sử dụng làm dung môi là một loại dung môi thông dụng trong lĩnh vực thuốc bảo vệ thực vật.

Đo độ bền nhiệt của chế phẩm Limo 3000SC theo tiêu chuẩn CIPAC Vol F/MT 46.1.3 của Hiệp hội Thuốc Sát Trùng Quốc tế kết quả cho thấy

Limo 3000SC có độ bền nhiệt là 89,84% (theo Tiêu chuẩn quy định là $\geq 50\%$) và đo độ bền nhũ của chế phẩm Limo 3000SC theo tiêu chuẩn CIPAC Vol F/MT36 thì thời gian tách lớp hoàn toàn của nhũ là 75 phút (theo tiêu chuẩn quy định là ≥ 20 phút).

Theo một phương án khác nữa, giải pháp hữu ích đề cập đến thuốc bảo vệ thực vật là chế phẩm dầu Limo 1000EC chứa 1000ppm azadirachtin limonoit (AZL) có công thức bào chế sau:

Thành phần	Tỷ lệ % theo trọng lượng
Dầu sàu đầu chứa 0,19% AZL:	53,0
Sesamin, chất làm bền AZL:	5,0
Este sorbitan, chất tạo nhũ:	15,0
Dầu khoáng, dung môi:	27,0
	100,0

Chế phẩm dầu Limo 1000EC được bào chế bằng cách dùng máy khuấy trộn chất lỏng với vận tốc khuấy 500 vòng/phút, trộn thật đều trong 1 giờ, dầu sàu đầu chứa 0,19% AZL, sesamin, este sorbitan và dầu khoáng theo công thức pha chế; sau đó rót chế phẩm Limo 1000EC vào chai 300ml dùng để làm thuốc bảo vệ thực vật.

Đo độ bền nhiệt của chế phẩm Limo 1000EC theo tiêu chuẩn CIPAC Vol F/MT 46.1.3 của Hiệp hội Thuốc Sát Trùng Quốc tế kết quả cho thấy Limo 1000EC có độ bền nhiệt là 82,15% (theo Tiêu chuẩn quy định là $\geq 50\%$) và đo độ bền nhũ của chế phẩm Limo 1000EC theo tiêu chuẩn CIPAC Vol F/MT36 thì thời gian tách lớp hoàn toàn của nhũ là 62 phút (theo tiêu chuẩn quy định là ≥ 20 phút).

Theo một phương án khác nữa, giải pháp hữu ích đề cập đến thuốc bảo vệ thực vật là chế phẩm bột rắc Limo 250SP chứa 250ppm azadirachtin limonoit (AZL) có công thức sau:

Thành phần	Tỷ lệ % theo trọng lượng
Azadirachtin limonoit (AZL):	0,025

Hợp chất sulfua (S):	0,175
Đạm tổng số (Nts):	5,2
Chất hữu cơ:	76,3
Ẩm độ:	<u>18,3</u>
	100,0

Chế phẩm bột rắc Limo 250SP đạt các chỉ tiêu chất lượng về phân bón hữu cơ theo Thông tư số 36/2010/TT-BNNPTNT.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Quy trình chiết xuất chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit (AZL)

1.1. Xử lý nguyên liệu

Hàng năm cây sầu đâu cho trái 2 lần vào tháng 6 và tháng 12; thu hoạch những quả sầu đâu chín màu vàng, không hái những quả chưa chín có màu xanh. Cân 200 kg quả sầu đâu chín cho vào 1 bao tải ủ kín trong 24 giờ cho thịt quả mềm nhũn ra, kế đó cho vào rổ chà nhẹ cho nát thịt quả, rửa sạch hết thịt quả còn bám vào hạt sầu đâu và thu lấy hạt sầu đâu. Rãi hạt sầu đâu ra nong tre thành lớp mỏng phơi khô trong mát khoảng 2-3 ngày cho hạt thật khô, độ ẩm còn khoảng 11%, thu được 120kg hạt sầu đâu khô.

Sau đó đưa hạt sầu đâu khô vào bảo quản trong kho mát ở nhiệt độ khoảng 25-27°C, độ ẩm dưới 40%, không có ánh sáng chiếu vào và có trang bị một số gói canxi clorua (CaCl_2) để hút ẩm. Cần bảo quản hạt sầu đâu trong kho mát tối thiểu 3 tháng để hàm lượng hoạt chất azadirachtin limonoit và dầu trong hạt sầu đâu được ổn định rồi mới đưa ra chế biến tiếp. Cân 100kg hạt sầu đâu đưa qua máy nghiền đĩa để nghiền nhuyễn nhân hạt sầu đâu đến cỡ hạt 0,1mm nhằm làm vỡ thành tế bào chứa dầu trong hạt và tăng hiệu suất ép dầu.

1.2. Ép nguội dầu sầu đâu

Chuyển bột nhuyễn hạt sầu đâu qua máy ép nguội dầu sầu đâu thiết kế theo nguyên tắc máy ép thủy lực có trục ép đứng; bồn ép có thể tích $V = 20\text{l}$,

mặt ép $S = 706\text{cm}^2$, lực ép 150kg/cm^2 . Dầu sàu đậu được tách ra khỏi xác hạt sàu đậu, chảy ra lớp vải lọc, cân được 18,2kg (hiệu suất 18,2%) dùng để sản xuất thuốc bảo vệ thực vật dạng dầu; xác hạt sàu đậu còn lại được ép mạnh tạo thành một khối khô cứng gọi là bánh hạt sàu đậu, cân được 81,7kg (hiệu suất 81,7%).

Đo hàm lượng azadirachtin limonoit (AZL) trong dầu sàu đậu bằng máy HPLC-UV ($\lambda = 217\text{nm}$) và đo hàm lượng sulfua (S) theo phương pháp 10TCN 363:99 cho kết quả như sau:

Hàm lượng AZL trong dầu sàu đậu là: 0,19%

Hàm lượng S trong dầu sàu đậu là: 0,46%

Dầu sàu đậu thu được có màu vàng nhạt, mùi tỏi nhẹ đặc trưng và đạt tiêu chuẩn ngành Lâm nghiệp Ấn Độ số 4765-1975 (Việt Nam chưa có tiêu chuẩn về dầu sàu đậu).

1.3. Chiết xuất chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit thô trong hạt sàu đậu

Bánh hạt sàu đậu lấy ra từ máy ép dầu (81,7kg) được nghiền mịn để việc chiết xuất chiết phẩm azadirachtin limonoit trong bánh hạt sàu đậu đạt hiệu quả cao. Máy nghiền mịn là một máy nghiền trục gồm 3 trục cán hình trụ làm bằng thép cứng quay ngược chiều nhau, tỷ lệ vòng quay các trục là 1:1:4; máy được điều chỉnh để bánh hạt sàu đậu được nghiền mịn thành bột hạt sàu đậu có cỡ hạt nhỏ hơn 0,1mm, kết quả thu được 81,6kg bột hạt sàu đậu khô có màu vàng sáng, mùi tỏi nhẹ.

Cho 81,6 kg bột hạt sàu đậu khô trộn với 244,8 kg etanol (EtOH) theo tỷ lệ 1:3 vào bồn trích 2 lớp, lớp trong bằng inox dày 3,2mm, lớp ngoài bằng sắt dày 4,0mm, thể tích $V = 600\text{l}$ ($H \times D = 0,9\text{m} \times 1\text{m}$) giữa 2 lớp có chứa nước được đun nóng bằng một thanh điện trở và có trang bị một máy khuấy đứng. Cho bồn trích hoạt động ở nhiệt độ 50°C với vận tốc khuấy 100 vòng/phút trong thời gian 24 giờ. Sau đó để nguội, đưa toàn bộ dung dịch trích qua máy ly tâm quay 3000 vòng/phút để tách lấy dung dịch trích, bã trích còn lại trong máy ly tâm cân nặng 75,2kg được dùng để bào chế thuốc bảo vệ thực vật

dạng bột rắc. Dung dịch trích qua máy lọc ly tâm được đưa vào bồn chưng cất áp suất thấp để chưng cất ở áp suất p nhỏ hơn 50mmHg để thu hồi etanol; lượng etanol thu hồi được 228,5kg (hao hụt 16,3kg etanol), chất chiết còn lại trong bồn chưng cất có màu nâu, mùi tỏi, cân được 6,4kg là chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit thô.

1.4. Tinh chế chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit thô

Cho chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit thô (6,4kg) vào bồn tinh chế, cho tiếp dung môi etyl axetat (12,8kg) và nước (12,8kg) theo tỷ lệ 1:2:2 vào bồn. Mở máy khuấy trộn 150 vòng/phút và đun ấm đến 45°C trong 90 phút. Sau đó đưa toàn bộ dung dịch vào bình lóng để tách lớp rồi xả bỏ lớp nước chứa tạp chất phía dưới, thu lấy lớp trên có chứa chiết phẩm azadirachtin limonoit tan trong etyl axetat. Chưng cất thu hồi etyl axetat dưới áp suất thấp $p \leq 50\text{mm Hg}$, thu lại được 11,6 kg etyl axetat (hao hụt 1,2kg etyl axetat) còn chất cao còn lại trong bồn chưng cất có màu vàng nâu, mùi tỏi hăng là chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit (AZL) cân được 6,1kg (hiệu suất 6,1%).

Đo hàm lượng azadirachtin limonoit (AZL) trong chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit với máy HPLC-UV ($\lambda = 217\text{nm}$) và đo hàm lượng sulfua (S) theo phương pháp 10 TCN 363:99 cho kết quả như sau:

Hàm lượng AZL trong chiết phẩm là: 5,14%

Hàm lượng S trong chiết phẩm là: 0,52%

Chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit đạt các tiêu chuẩn TCVN 8383:2010.

Ví dụ 2: Sản xuất thuốc bảo vệ thực vật dạng bột rắc

Bã hạt sấu đầu lấy ra từ bồn quay của máy ly tâm (75,2kg) được phơi hong khô trong mát trong 24 giờ để đuổi hết dung môi etanol còn sót lại trong bã; kế đó phun nước vào bã để nâng độ ẩm lên 55% và phối trộn đều 113g (tỷ lệ 0,15%) chế phẩm vi sinh vật phân giải xenluloza (CDM). Sau đó cho hỗn hợp vào bồn ủ háo khí và ủ trong 25 ngày để bã hạt sấu đầu được phân giải

hoàn toàn. Kế tiếp hỗn hợp được sấy đến ẩm độ 18% tạo ra thuốc bảo vệ thực vật dạng bột rắc, cân được 63,9kg, tỷ lệ 63,9% tính theo lượng hạt sấu đầu sử dụng.

Do hàm lượng azadirachtin limonoit (AZL) trong thuốc bảo vệ thực vật dạng bột rắc với máy HPLC-UV ($\lambda = 217\text{nm}$) và đo hàm lượng sulfua (S) theo phương pháp 10 TCN 363:99 cho kết quả như sau:

Hàm lượng AZL trong thuốc bột rắc là: 0,025%

Hàm lượng sulfur (S) trong thuốc bột rắc là: 0,175%

Ví dụ 3: Sản xuất chế phẩm thuốc bảo vệ thực vật dạng dung dịch chứa 0,33% azadirachtin limonoit (AZL)

Cho vào máy khuấy trộn, kiểu trộn dung dịch với vận tốc khuấy 500 vòng/phút các thành phần theo tỷ lệ trọng lượng sau:

Thành phần	Trọng lượng (g)
Chiết phẩm chứa 5,14% AZL:	600
Dầu sấu đầu chứa 0,19% AZL:	1.500
Sesamin, chất làm bền AZL:	500
Este sorbitan, chất tạo nhũ:	500
Dầu khoáng, dung môi:	6.900
	<hr/> 10.000g

Sau khi khuấy trộn đều trong 1 giờ, rót chế phẩm vào chai, mỗi chai 300ml và khi sử dụng thì pha loãng ra 100 lần.

Ví dụ 4: Sản xuất chế phẩm thuốc dạng dầu chứa 0,1% azadirachtin limonoit (AZL)

Cho vào máy khuấy trộn, kiểu trộn dung dịch với vận tốc khuấy 500 vòng/phút các thành phần theo tỷ lệ trọng lượng sau:

Thành phần	Trọng lượng (g)
Dầu sấu đầu chứa 0,19% AZL:	5.300
Sesamin, chất làm bền AZL:	500
Este sorbitan, chất tạo nhũ:	1.500

Dầu khoáng, dung môi:	<u>2.700</u>
	10.000g

Sau khi khuấy trộn đều trong 1 giờ, rót chế phẩm vào chai, mỗi chai 300ml và khi sử dụng thì pha loãng ra 50 lần.

Ví dụ 5: Sản xuất chế phẩm thuốc dạng bột rắc chứa 0,025% azadirachtin limonoit (AZL)

Cho vào máy nghiền, loại máy nghiền đĩa kết hợp với nghiền răng, nghiền thật mịn đến cỡ hạt 10 μ m, 10kg chế phẩm bột rắc có thành phần sau:

Thành phần	Tỷ lệ % theo trọng lượng
Azadirachtin limonoit (AZL):	0,025
Hợp chất sulfua (S):	0,175
Đạm tổng số (Nts):	5,2
Chất hữu cơ:	76,3
Ẩm độ:	<u>18,3</u>
	100,0%

Sau đó đổ bột rắc ra từng gói 1kg và khi sử dụng thì rải đều bột lên diện tích cần xử lý.

Ví dụ 6: Khảo nghiệm tác dụng của chế phẩm thuốc dạng dung dịch chứa 0,33% azadirachtin limonoit (AZL)

a. Đơn vị khảo nghiệm: Viện Công nghệ Hóa Sinh ứng dụng Tp Hồ Chí Minh phối hợp với Trung tâm nghiên cứu và Phát triển Nông Dược, Công ty CP Thuốc Sắt Trùng Việt Nam.

Địa điểm khảo nghiệm: Ấp Bàu Sim, xã Thông Tân Hội, huyện Củ Chi, Tp Hồ Chí Minh.

Thời gian khảo nghiệm: 27/11/2010 – 6/12/2010

b. Đối tượng khảo nghiệm: 4 loại sâu phá hại nhiều nhất các loại cây trồng.

Sâu tơ *Plutella Xylostella* phá hại cây họ Thập tự

Sâu xanh sọc trắng *Diaphania indica* phá hại cây dưa leo, bầu bí

Sâu ăn tạp *Sopodotera litura* phá hại các loại rau cải.

Rầy mềm *Aphis gossypii* phá hại các loại cây bắp đầu.

c. Phương pháp khảo nghiệm

Bố trí khảo nghiệm: khảo nghiệm mỗi loại sâu trên diện tích 50m², trồng một loại rau quả gần đến ngày thu hoạch (1 nghiệm thức).

Cách phun thuốc: pha loãng 100 lần chế phẩm dạng dung dịch trong nước sạch, dùng bình phun tay 4 lít, phun qua lá, lượng nước phun là 2 lít nước thuốc cho 1 nghiệm thức 50m².

d. Các chỉ tiêu theo dõi

Đếm số sâu sống trên mỗi nghiệm thức 50m² trồng rau, trước khi phun thuốc và sau khi phun thuốc 24 giờ, 48 giờ.

Tính hiệu lực của thuốc H% theo công thức Henderson Tilton.

e. Kết quả và nhận xét: Tác dụng của thuốc Limo 3000SC đối với 4 loại sâu phá hại nhiều nhất cây trồng được trình bày trong bảng sau đây:

TT	Loại sâu	Số sâu sống TP	24 giờ SP		48 giờ SP	
			Số sâu sống	H%	Số sâu sống	H%
1	Sâu tơ	270	120	55,56	45	83,33
2	Sâu xanh sọc trắng	310	160	48,39	68	78,06
3	Sâu ăn tạp	290	140	51,72	53	81,72
4	Rầy mềm	320	125	60,94	33	89,69

TP: trước phun

SP: sau phun

H: hiệu lực thuốc

Chế phẩm thuốc dạng dung dịch có tác dụng tốt đối với 4 loại sâu gây thiệt hại nhiều nhất cho các loại cây trồng, hiệu lực cao nhất trên 80% đối với rầy mềm, sâu tơ và sâu ăn tạp.

Ví dụ 7: Khảo nghiệm tác dụng của chế phẩm thuốc dạng dầu chứa 0,1% azadirachtin limonoit

a. Đơn vị khảo nghiệm: Viện Công nghệ Hóa Sinh ứng dụng Tp Hồ Chí Minh phối hợp với Trung tâm nghiên cứu và Phát triển Nông Dược, Công ty CP Thuốc Sắt Trùng Việt Nam.

b. Đối tượng khảo nghiệm: 4 loại nấm bệnh phá hại nhiều nhất các loại cây trồng.

Nấm lở cổ rễ *Sclerotium rolfsii* gây bệnh lở cổ rễ cho cây trồng.

Nấm đốm nâu *Cladosporium fulvum* gây bệnh đốm màu nâu làm hại thân, lá, hoa, quả cây trồng.

Nấm lá héo rũ *Fusarium* sp làm cho cây bị héo rũ như thiếu nước rồi chết.

Nấm thối rễ *Xanthomonas campestris* làm cho cây bị thối rễ rồi chết.

c. Phương pháp khảo nghiệm

Phương pháp pha loãng trên môi trường thạch: Pha loãng 50 lần thuốc Limo 1000EC trong nước cất, hòa nước thuốc vào môi trường nuôi nấm PGA và cho vào 4 đĩa petri, mỗi đĩa cấy một loại hạch nấm. Đĩa đối chứng chứa môi trường PGA hòa trong nước cất không có thuốc, trong đó cấy 4 loại nấm.

Chỉ tiêu theo dõi: theo dõi sự phát triển của khuẩn ty nấm trong các đĩa. Tính tỷ lệ ức chế khuẩn ty.

$$I\% = \left(1 - \frac{D_{tn}}{D_{dc}}\right) \times 100$$

D_{tn} : đường kính khuẩn lạc thí nghiệm

D_{dc} : đường kính khuẩn lạc đối chứng

Thí nghiệm thực hiện 3 lần lặp lại, phân tích thống kê đánh giá mức độ tin cậy của thí nghiệm bằng chương trình MSTATC.

d. Kết quả và nhận xét: Tác dụng của chế phẩm thuốc dạng dầu đối với 4 loại nấm bệnh gây hại nhiều nhất các loại cây trồng được trình bày trong bảng sau đây.

TT	Các loại nấm bệnh	Đường kính trung bình của khuẩn lạc (mm)	I% sau 4 ngày

		Thí nghiệm	Đôi chứng	
1	Nấm lở cổ rễ	4,13	27,38 a	84,92
2	Nấm đốm nâu	3,25	25,12 b	87,06
3	Nấm héo rũ	3,15	28,43 a	88,87
4	Nấm thối rễ	3,95	21,25 c	81,41

$$CV\% = 1,25$$

$$LSD_{0,01} = 2,30$$

Chế phẩm thuốc dạng dầu có tác dụng ức chế mạnh đối với 4 loại nấm bệnh gây hại nhiều nhất cho các loại cây trồng, tỷ lệ ức chế 4 loại nấm này đều đạt trên 80%.

Ví dụ 8: Khảo nghiệm tác dụng của thuốc bột rắc đối với tuyến trùng trong đất

a. Đơn vị khảo nghiệm: Viện Công nghệ Hóa Sinh ứng dụng Tp Hồ Chí Minh phối hợp với Trung tâm nghiên cứu và Phát triển Nông Dược, Công ty CP Thuốc Sát Trùng Việt Nam.

Địa điểm khảo nghiệm: Phường Hiệp Thành, Quận 12, Tp Hồ Chí Minh

Thời gian khảo nghiệm: Tháng 11/2011 – 12/2011

b. Đối tượng khảo nghiệm: tuyến trùng trong đất

Hiện nay một số vùng chuyên canh trong nước đã bị nhiễm tuyến trùng làm cho rau không phát triển và người dân thường mua thuốc hóa học để xử lý đất, điều này dẫn đến việc không đảm bảo an toàn thực phẩm và ảnh hưởng đến sức khỏe con người, do ăn rau ăn lá có thời gian thu hoạch ngắn và con người có thể dùng tươi, không qua chế biến. Do đó khảo nghiệm hiệu lực của thuốc bột rắc so sánh với các loại thuốc hóa học hiện nay đang sử dụng như thuốc Suncho nhập của B.I.G Co., Ltd, Korea là cần thiết.

c. Phương pháp thực hiện

Bố trí thử nghiệm: Đất trồng cây cải ngọt giống Greenboy (nhập của Nhật) diện tích 20m² dùng cho mỗi nghiệm thức, trên đất đã trồng cây cải ngọt 9 ngày tuổi sau khi gieo.

Các nghiệm thức: 3 nghiệm thức

Rắc đều 1kg thuốc bột rắc vào nền đất 20m², rắc 2 lần, mỗi lần cách nhau 5 ngày.

Phun đẫm 2 lit dung dịch 1% Suncho pha loãng trong nước vào nền đất 20m², phun 2 lần, mỗi lần cách nhau 5 ngày.

Đối chứng: Phun nước sạch vào nền đất 20m², phun 2 lần, mỗi lần cách nhau 5 ngày.

Chỉ tiêu theo dõi:

Năng suất cây cải (kg/m²).

Quan sát tuyến trùng rễ qua kính hiển vi.

d. Kết quả khảo nghiệm

Năng suất thu hoạch (5 ngày sau khi phun lần 2)

TT	Nghiệm thức	Chiều cao trung bình cây cải (cm)	Diện tích trung bình lá cải (cm ²)	Năng suất thực tế (kg/m ²)
1	Limo 250SP	13,3	14,3	1,9
2	Suncho	13,1	11,8	1,7
3	Đối chứng	10	8,7	1,1

Nhận xét:

Sau 5 ngày phun thuốc lần 2, nghiệm thức thuốc bột rắc và Suncho có chiều cao sinh trưởng của cây cải gần tương đương nhau, cao hơn đối chứng và màu xanh của lá đậm hơn, diện tích lá và năng suất thực tế của nghiệm thức thuốc bột rắc và Suncho cũng cao hơn hẳn đối chứng.

Mật độ tuyến trùng (5 ngày sau khi phun lần 2): Lấy ngẫu nhiên 10 cây cải ở mỗi nghiệm thức, tiến hành quan sát mật độ tuyến trùng tại vùng rễ qua kính hiển vi.

TT	Nghiệm thức	Mật độ tuyến trùng (con)	Mật độ tuyến trùng chết (con)	Tỷ lệ chết (%)
1	Limo 250SP	27	21	77,8
2	Suncho	24	18	75,0
3	Đối chứng	25	0	0

Nhận xét:

Quan sát mật độ tuyến trùng ở 10 rễ cây/nghiệm thức cho thấy các nghiệm thức xử lý thuốc có mật độ tuyến trùng sống giảm rõ rệt nhất là thuốc bột rắc.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Với hoạt chất azadirachtin limonoit có trong hạt sầu đâu có thể ứng dụng để sản xuất thuốc bảo vệ thực vật diệt trừ sâu bọ, nấm bệnh, tuyến trùng trong đất mà không có lưu bã độc làm ô nhiễm môi trường, đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình chiết xuất chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit (AZL) trong hạt sầu đâu để bào chế thuốc bảo vệ thực vật gốc thảo mộc, quy trình này bao gồm các bước:

a) Xử lý nguyên liệu

Hạt sầu đâu khô được bảo quản trong kho mát ở nhiệt độ khoảng 25-27⁰C, độ ẩm dưới 40%, không có ánh sáng chiếu vào, trong thời gian tối thiểu 3 tháng để hàm lượng dầu và hoạt chất azadirachtin limonoit trong hạt sầu đâu được ổn định, sau đó hạt sầu đâu được đem nghiền thành bột đến cỡ hạt 0,1mm bằng máy nghiền đĩa để làm vỡ thành tế bào chứa dầu trong hạt;

b) Ép nguội thu dầu sầu đâu

Bột hạt sầu đâu thu được ở bước a) được ép nguội bằng máy ép thủy lực trực đứng với lực ép 150kg/cm² ở nhiệt độ phòng để thu được dầu sầu đâu chứa khoảng 0,19% AZL với hiệu suất 18,2% và phần bánh là bột hạt sầu đâu bị ép lại thành khối cứng đã loại dầu sầu đâu;

c) Tách chiết chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit thô trong hạt sầu đâu

Bánh hạt sầu đâu được trộn với dung môi etanol 95⁰ theo tỷ lệ 1:3 (trọng lượng/trọng lượng), tiến hành tách chiết ở nhiệt độ 50⁰C trong điều kiện khuấy 100 vòng/phút trong 24 giờ, sau đó ly tâm ở tốc độ 3000 vòng /phút để tách dung dịch chiết etanol khỏi xác bã hạt sầu đâu, chưng cất dung dịch chiết thu được ở nhiệt độ 50⁰C, trong điều kiện áp suất thấp dưới 50mmHg để thu được chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit thô;

d) Tinh chế chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit thô

Chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit thô thu được được hòa tan trong dung môi etyl axetat (EtOAc) và nước cất theo tỷ lệ 1:2:2 (trọng lượng/trọng lượng), tiến hành chiết ở nhiệt độ 45⁰C trong điều kiện khuấy ở tốc độ 150 vòng/phút trong 90 phút, sau đó chưng cất dưới áp suất thấp dưới 50mmHg để

thu được chiết phẩm chứa 5,14% AZL azadirachtin limonoit với hiệu suất 6,1%.

Hình 1: Sơ đồ quy trình chiết xuất chiết phẩm chứa azadirachtin limonoit (AZL) từ hạt sầu đâu

