

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP.HCM
KHOA CÔNG NGHỆ SINH HỌC**

LÂM NGỌC VÂN THANH

**BUỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU CÁC CHẾ ĐỘ BẢO QUẢN
CHẾ PHẨM NEEM (*Azadirachta indica A.juss*) DẠNG
VIÊN NÉN ĐỂ PHÒNG TRỪ CÔN
TRÙNG HẠI KHO**

Luận văn kỹ sư

Chuyên ngành: CÔNG NGHỆ SINH HỌC

Thành phố Hồ Chí Minh

Tháng 9 / 2006

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP.HCM
KHOA CÔNG NGHỆ SINH HỌC**

**BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU CÁC CHẾ ĐỘ BẢO QUẢN
CHẾ PHẨM NEEM (*Azadirachta indica A.juss*) DẠNG
VIÊN NÉN ĐỂ PHÒNG TRỪ CÔN
TRÙNG HẠI KHO**

Luận văn kỹ sư

Chuyên ngành: Công Nghệ Sinh Học

Giáo viên hướng dẫn

Th.S Lê Thị Thanh Phượng

Sinh viên thực hiện

Tên: Lâm Ngọc Vân Thanh

Khóa 28

Thành phố Hồ Chí Minh

Tấtg 9 / 2006

**MINISTRY OF EDUCATION AND TRAINING
NONG LAM UNIVERSITY, HO CHI MINH CITY
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY**

**THE FIRSTSTEP SEARCH SOME ORDERS OF
REVERVATION THE PRODUCT NEEM (*Azadirachta indica*
A.juss) MANAGE THE INSECT**

Graduation thesis

Major: Biotechnology

Professor

Le Thi Thanh Phuong

Student

Lam Ngoc Van Thanh

Ho Chi Minh City

9/2006

LỜI CẢM TẠ

Tôi xin chân thành cảm ơn:

- Ban Giám hiệu trường Đại học Nông Lâm TPHCM, Ban chủ nhiệm Bộ môn Công nghệ sinh học cùng quý thầy cô trường Đại học Nông Lâm TPHCM đã giảng dạy trong suốt quá trình học tập.
- Thạc sỹ Lê Thị Thanh Phượng đã tận tình hướng dẫn, giúp đỡ tôi trong suốt quá trình thực hiện đề tài.
- Phòng Công nghệ biến đổi sinh học và phòng Nghiên cứu các chất có hoạt tính sinh học Viện Sinh học Nhiệt Đới TPHCM đã tạo điều kiện cho tôi thực hiện đề tài.
- Những người bạn đồng viên giúp đỡ tôi trong suốt thời gian thực hiện đề tài cùng tập thể lớp CNSH28 thân yêu đã chia sẻ vui buồn trong suốt thời gian học tập.

Sinh viên thực hiện

Lâm Ngọc Vân Thanh

TÓM TẮT

Sinh Viên Lâm Ngọc Vân Thanh, bộ môn Công nghệ sinh học, Đại học Nông Lâm Tp. Hồ chí Minh thực hiện đề tài: “Bước đầu nghiên cứu các chế độ bảo quản chế phẩm neem (*Azadirachta indica* A.juss) dạng viên nén để phòng trị côn trùng kho”. Đề tài được thực hiện từ ngày 20/2 đến 1/6/2006 với sự giúp đỡ và hướng dẫn của phòng Công nghệ biến đổi sinh học và phòng Các chất có hoạt tính sinh học thuộc viện Sinh học Nhiệt đới Tp. Hồ Chí Minh.

Nội dung chính của đề tài là nghiên cứu các chế độ bảo quản chế phẩm neem viên nén để phòng trị côn trùng kho bao gồm các chất bảo quản (BHT 3 và 5%, dầu mè 3 và 5%) kết hợp với 2 chế độ ánh sáng (sáng và che sáng) và 2 chế độ nhiệt độ (phòng và lạnh 5⁰C). Hiệu lực của chế phẩm được đánh giá sau 2, 4 và 8 tuần bảo quản. Đối tượng nghiên cứu là ngài gạo (*Corcyra Cephalonica*) và *Artemia salina* - một côn trùng chuẩn dùng để thử thuốc thảo mộc. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, các nghiệm thức lặp lại 3 lần. Số liệu được phân tích biến lượng ANOVA và phân hạng theo trắc nghiệm Duncan, thao tác trên phần mềm Statgraphic 7.0. LC₅₀ của *Artemia salina* được tính theo phương pháp probit. Kết quả thu được như sau:

- Dầu ép từ hạt neem ở Bình Thuận có đặc điểm tương tự với dầu neem Ấn Độ, với tỷ trọng là 0,916; chỉ số khúc xạ là 1,47; chỉ số xà phòng hóa là 208,8; với hàm lượng axit béo không bão hòa lên đến 60,44% trong đó axit oleic chiếm 41,67%.

- Kết quả thí nghiệm trên ngài gạo và *Artemia salina* tương tự nhau, cho thấy:

- ✓ Trong hai chất bảo quản BHT và dầu mè với hai nồng độ 3 và 5%, ta thấy dầu mè 5% hiệu quả nhất đặc biệt ở điều kiện lạnh 5⁰C. Còn BHT chỉ có hiệu lực cao ở điều kiện bảo quản nhiệt độ phòng và BHT 3 % hiệu quả gần tương đương BHT 5% qua thời gian bảo quản 2, 4 và 8 tuần.
- ✓ Trong 4 điều kiện bảo quản: nhiệt độ phòng - sáng, nhiệt độ phòng - che sáng, lạnh - sáng và lạnh - che sáng, ta thấy chế phẩm neem được bảo quản ở điều

kiện lạnh 5⁰C tốt hơn nhiệt độ phòng và chế độ bảo quản che sáng tốt hơn có ánh sáng.

Tóm lại bước đầu có thể xác định chất bảo quản dầu mè 5% kết hợp với điều kiện lạnh – che sáng là thích hợp nhất để bảo quản chế phẩm neem viên nén.

MỤC LỤC

CHƯƠNG	TRANG
Trạng tựa	
Lời cảm tạ -----	i
Tóm tắt -----	ii
Mục lục -----	iii
Danh sách các hình -----	vi
Danh sách đồ thị -----	vii
Danh sách các bảng-----	viii
Danh sách sơ đồ-----	ix
1. MỞ ĐẦU -----	1
2. TỔNG QUAN -----	3
2.1 Neem -----	3
2.1.1 Giới thiệu về neem -----	3
2.1.1.1 Nguồn gốc và tên gọi -----	3
2.1.1.2 Đặc điểm thực vật học -----	3
2.1.1.3 Điều kiện sinh trưởng và phát triển -----	5
2.1.1.4 Tình hình và kỹ thuật nhân giống -----	6
2.1.2 Vai trò của cây neem -----	6
2.1.2.1 Đối với môi trường sống -----	6
2.1.2.2 Quản lý dịch hại -----	7
2.1.3 Các ứng dụng khác của neem -----	10
2.1.4 Ý nghĩa kinh tế -----	11
2.2 Sơ lược về tình hình bảo quản trong kho lương thực -----	13
2.2.1 Những thiệt hại trong kho -----	13

2.2.2 Ngài gạo -----	14
2.2.3 Những cách phòng trừ côn trùng hại kho hiện nay -----	16
2.2.4 Công dụng của neem trong bảo quản kho lương thực-----	17
2.3 Một số chất phụ gia bảo quản -----	17
2.3.1 BHT (Butylhydroxytoluen) -----	17
2.3.1.1 Công thức hoá học -----	17
2.3.1.2 Tính chất vật lý -----	18
2.3.1.3 Công dụng -----	18
2.3.1.4 Tính an toàn của BHT -----	18
2.3.2 Dầu mè -----	19
2.3.2.1 Nguồn gốc -----	19
2.3.2.2 Công dụng -----	20
2.3.3 Talc -----	21
2.3.3.1 Công thức hoá học -----	21
2.3.3.2 Tính chất vật lý -----	22
2.3.3.3 Công dụng -----	23
2.4 Sắc ký -----	23
2.4.1 Giới thiệu -----	23
2.4.1.1 Định nghĩa -----	24
2.4.1.2 Phân loại -----	24
2.4.2 Sắc ký khí -----	24
2.4.2.1 Nguyên tắc -----	24
2.4.2.2 Các bộ phận của máy sắc ký -----	25
2.4.2.3 Nguyên lý sự xuất hiện các peak -----	26
2.4.2.4 Các lưu ý khi thực hiện sắc ký khí -----	27
2.4.2.5 Ưu điểm của sắc ký khí -----	27
2.4.2.6 Ứng dụng của sắc ký khí -----	28
3. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP -----	29
3.1 Nội dung nghiên cứu-----	29
3.2 Phương pháp nghiên cứu-----	29
3.2.1 Vật liệu máy móc, hoá chất chính -----	29
3.2.2 Tiến hành -----	30

3.2.2.1	Ép dầu từ nhân hạt neem thu từ Bình Thuận-----	30
3.2.2.2	Phân tích một số chỉ tiêu hoá lý cơ bản ----- trong dầu neem	31
3.2.2.3	Đánh giá tính ổn định của chế phẩm trong ----- quá trình bảo quản	39
4.	KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN -----	46
4.1	Đặc tính lý hoá của dầu neem -----	46
4.2	Kết quả thí nghiệm sinh học trên ngài gạo -----	49
4.2.1	Đánh giá theo nồng độ các chất bảo quản -----	49
4.2.1.1	Chất bảo quản BHT 3% -----	49
4.2.1.2	Chất bảo quản BHT 5% -----	51
4.2.1.3	Dầu mè 3% -----	53
4.2.1.4	Dầu mè 5%-----	54
4.2.1.5	Chế phẩm không có chất bảo quản -----	56
4.2.2	Theo chế độ bảo quản -----	58
4.2.2.1	Điều kiện nhiệt độ phòng – sáng-----	58
4.2.2.2	Điều kiện nhiệt độ phòng – che sáng-----	59
4.2.2.3	Điều kiện lạnh – sáng-----	60
4.2.2.4	Điều kiện lạnh – che sáng-----	61
4.3	Kết quả thử nghiệm dầu neem và dịch chiết bánh ----- dầu trên <i>Artemia salina</i>	63
5.	KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ-----	69
5.1	Kết luận-----	69
5.2	Đề nghị-----	70
6.	TÀI LIỆU THAM KHẢO-----	71
7.	PHỤ LỤC	

DANH SÁCH CÁC HÌNH

HÌNH	TRANG
Hình 2.1 Cây neem tại Việt Nam -----	4
Hình 2.2 Trái và hoa neem -----	5
Hình 2.3 Các sản phẩm thương mại của neem -----	12
Hình 2.4 Vòng đời ngài gạo -----	14
Hình 2.5 Tác hại của ngài gạo -----	15
Hình 2.6 Công thức hoá học của BHT -----	17
Hình 2.7 Dầu mè -----	20
Hình 2.8 Cấu trúc của Talc -----	22
Hình 3.1 Máy ép dầu -----	42
Hình 3.2 Một số máy khác dùng trong quá trình thí nghiệm -----	42
Hình 3.3 Các sản phẩm thô từ neem -----	43
Hình 3.4 Dụng cụ tạo chế phẩm viên nén từ neem -----	43
Hình 3.5 Quá trình tạo chế phẩm -----	44
Hình 3.6 Chế phẩm neem viên nén -----	44
Hình 3.7 Nuôi ngài gạo trong môi trường cám gạo -----	44
Hình 3.8 Thử nghiệm chế phẩm viên nén trên ngài gạo -----	45
Hình 3.9 Trứng <i>Artemia salina</i> -----	45
Hình 3.10 Ấu trùng nở ra từ trứng <i>Artemia salina</i> -----	45
Hình 4.1 Ấu trùng ngài gạo chết sau 3 ngày xông hơi -----	65
Hình 4.2 Đếm số lượng sâu chết sau thí nghiệm -----	65
Hình 4.3 Sâu chết sau thí nghiệm -----	66
Hình 4.4 Chế phẩm đang theo dõi -----	66
Hình 4.5 Sau 3 ngày xông hơi -----	66

Hình 4.6 Ngài gạo bị biến dạng sau khi thử nghiệm-----	67
Hình 4.7 Ngài gạo sau xử lý bị dính trong kén-----	67
Hình 4.8 Ngài gạo chết ở giai đoạn nhộng -----	68
Hình 4.9 <i>Artemia salina</i> trước khi xử lý -----	68
Hình 4.10 <i>Artemia salina</i> chết sau 48 giờ xử lý-----	68

DANH SÁCH CÁC ĐỒ THỊ

ĐỒ THỊ	TRANG
Đồ thị 4.1 Hiệu lực gây chết ngài gạo của chế phẩm bảo quản ----- ở nhiệt độ phòng – sáng	58
Đồ thị 4.2 Hiệu lực gây chết ngài gạo của chế phẩm bảo quản ở ----- nhiệt độ phòng – che sáng	59
Đồ thị 4.3 Hiệu lực gây chết ngài gạo của chế phẩm bảo quản ở ----- điều kiện lạnh – sáng	60
Đồ thị 4.4 Hiệu lực gây chết ngài gạo của chế phẩm bảo quản ở ----- điều kiện lạnh – che sáng	61
Đồ thị 4.5 Giá trị LD ₅₀ đối với <i>Artemia salina</i> của dầu neem và ----- dịch chiết bánh dầu sau 8 tuần bảo quản	64

DANH SÁCH CÁC BẢNG

BẢNG	TRANG
Bảng 2.1 Thành phần chất dự trữ (%) trong dầu mè -----	19
Bảng 2.2 Thành phần dầu (%) -----	20
Bảng 2.3 Ứng dụng của dầu mè trong công nghiệp và dược phẩm -----	21
Bảng 3.1 Công thức bảo quản các chế phẩm neem -----	40
Bảng 4.1 Đặc tính lý hoá của dầu neem -----	46
Bảng 4.2 Thành phần axit béo của dầu neem -----	48
Bảng 4.3 Hiệu lực gây chết ngài gạo của các chế phẩm ----- neem bảo quản với BHT 3%	49
Bảng 4.4 % Hiệu lực của chế phẩm bảo quản với ----- BHT 3% so với ban đầu	50
Bảng 4.5 Hiệu lực gây chết ngài gạo của các chế phẩm neem----- bảo quản với BHT 5%	51
Bảng 4.6 % Hiệu lực của chế phẩm bảo quản với ----- BHT 5% so với ban đầu	52
Bảng 4.7 Hiệu lực gây chết ngài gạo của các chế phẩm neem ----- bảo quản với dầu mè 3%	53
Bảng 4.8 % Hiệu lực của chế phẩm bảo quản với ----- dầu mè 3% so với ban đầu	54
Bảng 4.9 Hiệu lực gây chết ngài gạo của chế phẩm neem ----- bảo quản với dầu mè 5%	54
Bảng 4.10 % Hiệu lực của chế phẩm bảo quản với ----- dầu mè 5% so với ban đầu	55
Bảng 4.11 Hiệu lực gây chết ngài gạo của chế phẩm neem ----- không dùng chất bảo quản	56

Bảng 4.12 % Hiệu lực của chế phẩm không dùng -----	57
chất bảo quản so với ban đầu	
Bảng 4.13 Giá trị LC_{50} (%) của dầu neem và DCBD đối với -----	
<i>Artemian salina</i> sau 8 tuần bảo quản	

DANH SÁCH SƠ ĐỒ

SƠ ĐỒ	TRANG
Sơ đồ 2.1 Sự biến đổi của thuốc trừ sâu trong đất	6
Sơ đồ 3.1 Sơ đồ ép thu dầu neem và dịch chiết neem	29

Chương 1

MỞ ĐẦU

1.1 Đặt vấn đề

Việt Nam vốn là một nước nông nghiệp với nguồn nông sản dồi dào, trong đó lúa gạo ngoài việc là nguồn thức ăn chính trong nước mà còn là một trong những sản phẩm nông nghiệp xuất khẩu chiến lược và có thị phần ổn định. Từ năm 1989 đến nay sản xuất lúa gạo của nước ta tăng trưởng không ngừng với tốc độ bình quân khoảng 5%/1 năm (khoảng 1 triệu tấn /1năm). Kim ngạch xuất khẩu gạo thường chiếm khoảng 30% kim ngạch xuất khẩu nông lâm sản và chiếm 15 – 17% thị phần gạo thế giới. Hiện nay trên thế giới những tổn thất sau thu hoạch do côn trùng và các yếu tố khác khá cao chiếm 10 – 25% tổng sản lượng nông sản thế giới.

Nước ta nằm ở vùng khí hậu nhiệt đới là điều kiện thích hợp cho vi khuẩn và côn trùng phá hoại nên việc tồn trữ lương thực thực phẩm cũng gặp nhiều khó khăn. Các thuốc hóa học đang sử dụng hiện nay thì đang đối đầu với tình trạng kháng thuốc của nhiều loài côn trùng hoặc quá độc hại cho nên việc tìm ra một loại thuốc vừa có hiệu quả vừa an toàn đang là vấn đề được toàn thế giới quan tâm và nghiên cứu.

Theo Nguyễn Văn Tuất (2001), từ xa xưa con người chúng ta đã biết khai thác và sử dụng những cây hoang dại có tính độc để săn bắt, ruốc cá, trừ rệp, rận hại người và gia súc. Hơn 300 năm trước đây, người ta đã chú ý đến những hợp chất thiên nhiên bảo vệ mùa màng và cho đến nay những hợp chất từ thiên nhiên đang được hoan nghênh và ứng dụng.

Trong các hợp chất thứ cấp có tính diệt côn trùng thì các triterpenoid đang được chú ý, trong đó đặc biệt là azadirachtin chiết xuất từ cây neem (*Azadirachta indica* A. Juss) rất thành công trong việc khống chế côn trùng lại không ảnh hưởng đến thiên địch, người và gia súc. Đối với côn trùng, sản phẩm từ neem có thể không hiệu quả nhanh chóng bằng các loại thuốc hoá học khác nhưng những hoạt chất từ neem tác động lên hormone, lên thần kinh của côn trùng làm cho côn trùng chết dần huỷ diệt đời

sau của chúng và lại khó hình thành tính kháng thuốc - một vấn đề nan giải của thuốc trừ sâu hoá học (Rembold. H, 1993)

Ở Việt Nam, neem còn có tên là xoan chịu hạn do GS Lâm Công Định mang hạt giống từ Senegal về và gieo trồng thành công ở Ninh Thuận, Bình Thuận. Đây là một loại cây dễ trồng thích hợp với khí hậu nắng nóng giúp cải thiện sinh cảnh, giảm đi sự khắc nghiệt của môi trường. Hiện nay rừng neem chiếm một diện tích khá lớn ở hai tỉnh này. Việc thu hái trái neem theo mùa còn tạo thêm việc làm, góp phần cải thiện đời sống cho cư dân nghèo. Lượng sản phẩm thu được từ neem cũng rất lớn có thể đủ cho sản xuất công nghiệp.

Từ năm 1999 đến nay, Viện Sinh học Nhiệt Đới TPHCM đã thực hiện nhiều đề tài nghiên cứu và ứng dụng các bộ phận cây neem như là nguyên liệu sản xuất thuốc bảo vệ thực vật thảo mộc. Bước đầu viện cũng đã nghiên cứu phối chế hoạt chất neem thành các chế phẩm đa dạng để phòng trị nhiều loại côn trùng. Tuy nhiên, một trong những vấn đề hạn chế của thuốc thảo mộc nói chung là sự mất hoặc giảm nhanh hoạt lực của chúng nếu không có biện pháp bảo quản thích hợp. Vì vậy, đề tài này được thực hiện nhằm mục đích ổn định hoạt lực của chế phẩm neem viên nén, một trong những chế phẩm bảo vệ thực vật đang nghiên cứu tại Viện Sinh học Nhiệt đới.

1.2 Giới hạn đề tài

Việc ổn định được hoạt chất của thuốc thảo mộc theo thời gian để phục vụ cho sản xuất công nghiệp hiện nay vẫn còn là vấn đề phức tạp và cần có một quá trình nghiên cứu lâu dài. Do giới hạn về thời gian nên đề tài chỉ bước đầu khảo sát một số chất bảo quản được phép sử dụng trong thực phẩm kết hợp với một vài chế độ bảo quản cơ bản ở phòng thí nghiệm.

1.3. Địa điểm và thời gian thực hiện

Đề tài được thực hiện ở phòng Công Nghệ Biến Đổi Sinh Học và phòng Các chất có hoạt tính sinh học, Viện Sinh Học Nhiệt Đới, thành phố Hồ Chí Minh trong thời gian từ 20/2 – 15/6/2006.

Chương 2

TỔNG QUAN

2.1 Neem

2.1.1 Giới thiệu về neem

2.1.1.1 Nguồn gốc và tên gọi:

Neem có tên khoa học là *Azadirachta indica* A. Juss thuộc họ xoan (Meliaceae). Trong đó “Aza” có nghĩa là “tự do”, “diracht” có nghĩa là “cây” và “hind” là “có nguồn gốc Ấn Độ”. Tùy theo quốc gia mà *Azadirachta indica* được gọi theo nhiều tên khác nhau như: “neem” (ở Ấn Độ, Mỹ, Úc, Anh...), “Nim”, “Nimmin”, “Limba”, “Imba” (ở Madagasca, Châu Mỹ La Tinh, Ấn Độ)..., trong đó tên gọi phổ biến nhất là neem (Dennis, 1992; Schmutterer, 1996 và Biswas Kausik cùng ctv, 2002).

Bắt đầu được biết đến ở Ấn Độ nhưng theo thời gian cây neem được đưa nhiều nơi thích nghi khác như: Gana, vùng Caribbean, Ai Cập, Mỹ, Anh, Thái Lan. Tại Ấn Độ khu vực trồng neem được gọi là “làng dược” vì neem được coi như là một vị thuốc dân gian có giá trị và cho đến nay nó vẫn được sử dụng rộng rãi ở nhiều nơi trên thế giới.

2.2.1.2 Đặc điểm thực vật học (Dennis, 1992; Chudleigh.P, 2001).

Neem là cây thân gỗ, chiều cao có thể lên đến 30 m, tán rộng xoè ra như cây sồi, chu vi tán lá khoảng 2,5 m và có thể vươn xa đến 10 m. Bộ rễ của cây rất sâu, phát triển mạnh, rễ cái có thể dài gấp hai lần chiều dài của cây. Vỏ cây có chứa khoảng 3,43 % protein; 0,68 % alkaloid; 4,16% chất khoáng và một số axit amin. Vỏ cũng chứa nhiều hoạt chất như nimbin, nimbinin, nimbidin, interferon, acid gallic... có tính kháng dịch hại.

Cây neem có lá kép lông chim một lần, bìa lá răng cưa, màu xanh đậm. Neem rất ít rụng lá trừ khi bị ngập úng. Nhiều nghiên cứu cho thấy trong lá neem có chứa khoảng 50% carbohydrate, 20% chất xơ, 15% protein, 5% chất béo, 2% calcium và các axit amin cần thiết như alanine (1,2%), asparagine (3,4%), cystine (3,3%), axit glutamic (3,1%). Vì vậy, lá neem thường người Ấn Độ chế biến thành trà để uống hoặc làm

rượu thuốc. Ngoài ra, do có vị đắng đặc trưng, lá neem còn được làm thành bột gia vị, sử dụng trong chế biến nhiều món ăn Ấn Độ (The original Neem company, 2006).

Hoa neem mọc thành chùm, lưỡng tính, nhỏ, màu trắng, vị ngọt, hương thơm nên thu hút nhiều côn trùng như bướm, ong. Quả neem chín rất được trẻ em Ấn Độ ưa thích vì có lớp thịt quả ngọt, thơm, chứa 1 đến 2 hạt. Hạt neem có vỏ cứng, chứa 2 đến 3 nhân. Nhân chỉ chiếm khoảng một phần hai trọng lượng hạt nhưng là nơi tập trung nhiều hoạt chất sinh học.

Theo The original Neem company (2006) có hai loài neem khác là:

- *Azadirachta siamensis* ở Thái Lan. Hạt và lá non của nó được sử dụng làm gia vị thực phẩm nên được gọi là neem “ngọt”. Lá của loại neem này lớn gấp đôi lá neem Ấn Độ và ít đắng hơn. Hạt cũng lớn hơn và nhân hạt có màu xanh biếc, vị hắc và đắng hơn lá. Tác dụng về dược phẩm thì giống như *Azadirachta indica*.

- *Azadirachta excelsa*: cao tới 49m, được trồng ở những khu vực hẻo lánh của Malaysia, ở những hòn đảo ở Philipine, ở đây cây được quan tâm bảo vệ của chính quyền, việc xuất khẩu hạt được kiểm tra rất chặt chẽ. Cây này chỉ được dùng cho khoa học và bảo tồn nên hạt rất ít được mang ra nước ngoài. Cũng giống như *A. siamensis*, *A. excelsa* không được sử dụng rộng rãi cho mục đích thương mại, nó thường được dùng làm thuốc bản địa chữa về dạ dày, da, sốt rét rất hiệu quả.



Hình 2.1 Cây neem tại Việt Nam

2.1.1.3. Điều kiện sinh trưởng và phát triển

Theo HDRA (1992); Schmutterer (1996) Neem là cây chịu hạn tốt. Lượng mưa trung bình thích hợp cho neem là 400 - 1200 mm. Cây có thể sống nhưng phát triển chậm ở những nơi có lượng mưa thấp khoảng 130 mm hoặc cao khoảng 2500 mm. Neem có thể sống ở nhiệt độ cao khoảng 44⁰C hay thấp cỡ 4⁰C.

Neem chịu được độ cao 700 - 1000 m so với mực nước biển. Nhiều nghiên cứu cho thấy ở nơi ở độ cao lớn hơn 1000 m mà nhiệt độ thấp làm cho cây tăng trưởng chậm và sản lượng trái thấp. Độ cao thích hợp nhất cho cây là 1500 m so với mực nước biển.



Hình 2.2 Trái và hoa neem

a. Trái neem khô

b. Hoa neem

c. Trái neem tươi

Neem sống tốt trên đất sét, đất có độ mặn cao hoặc đất có độ kiềm cao (pH = 8.5). Neem thích nghi với pH từ 6,2 đến 7,0 ngưỡng chịu đựng là 5,9 và 10. Tuy nhiên, cây neem không phát triển được ở vùng đất ngập úng. Neem vốn nổi tiếng là loài cây chịu được khí hậu khắc nghiệt như nắng nóng, đất thiếu nước, khô cằn, nghèo dinh dưỡng, nơi mà các loại cây khác hầu như không thể sống nổi. Bên cạnh những yếu tố trên thì nhân tố ánh sáng cũng đóng một vai trò quan trọng. Cây trưởng thành cần nhiều ánh sáng cho sự hình thành hoa và trái, đồng thời neem cần khoảng cách đáng kể giữa các cây với khoảng cách phù hợp là khoảng 3m.

Cây cho quả sau 3 - 5 năm tuổi và cho năng suất cao nhất ở 10 năm tuổi. Sau ba tháng trở hoa thì quả sẽ chín. Thông thường một cây trưởng thành cho 37 – 55 kg quả mỗi năm và khoảng 25 kg hạt/ năm. Ở những nơi có điều kiện thuận lợi như Kenya thì năng suất hạt có thể cao hơn, đặc biệt thu được 100 kg hạt/ cây. Cây tăng trưởng nhanh nên có thể lấy gỗ sau 5 - 7 năm. Năng suất cao nhất ở miền nam Nigeria cho khoảng 169 m³ gỗ sau tám năm trồng.

Theo GSTS.Lâm Công Định (1981, 1991 và 1998), tại Việt Nam cây neem có thể trồng bằng phương pháp gieo hạt trực tiếp hay trồng bầu, tỷ lệ sống khoảng 90%. Mùa ra hoa là từ tháng 1 - 4, kết quả từ tháng 4 - 6, có đợt phụ vào cuối tháng 7.

2.1.1.4 Tình hình và kỹ thuật nhân giống

Theo Schmutterer (1996), ở những khu vực có lượng mưa trung bình từ 800 – 1200 mm/ năm thì neem có thể nảy mầm tự nhiên từ hạt. Tuy nhiên, hạt neem để ở điều kiện bình thường sau vài tuần sẽ mất khả năng nảy mầm. Hạt neem giống nên được phơi khô và bảo quản lạnh (4⁰C) thời gian bảo quản tối đa là một năm. Trong điều kiện nhân tạo hạt nảy mầm sau 8 – 15 ngày tùy thuộc vào nhiệt độ và lượng nước cung cấp. Cây con sau 12 tuần cao khoảng 7,5 – 10 cm. Ngày nay, neem còn được nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô hay tạo các stump trong môi trường thích hợp với cytokinin.

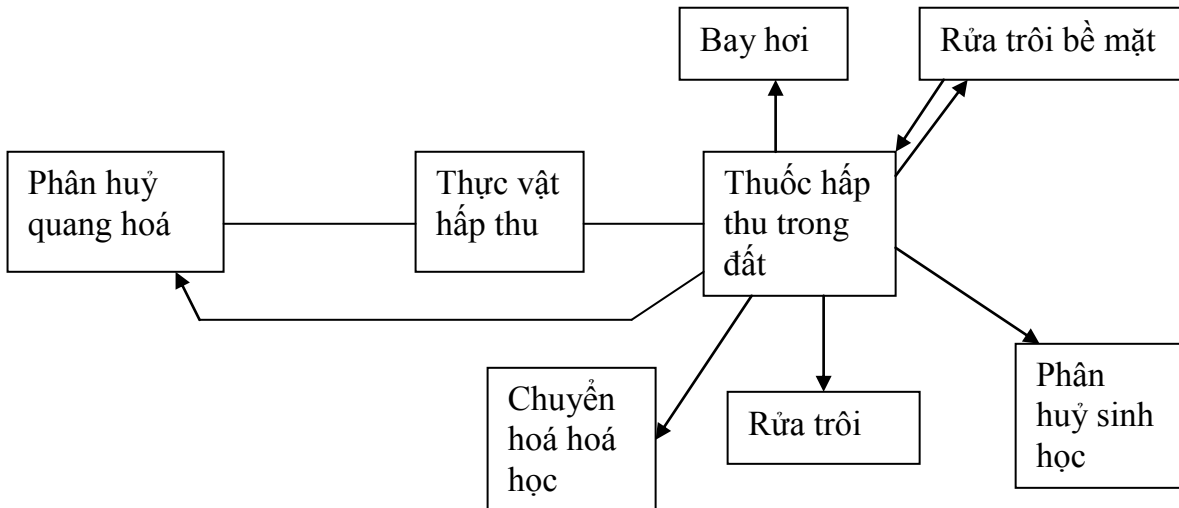
Đất trồng phải xới kỹ ít nhất một lượt, đào hố sâu, bón lót 3 - 5 kg phân chuồng hay một ký phân vi sinh hay 30 – 50 g NPK cho một hố cây trồng. Thời vụ trồng tốt nhất là tháng 6 – 8, sau khi trồng 3 – 4 tháng phải vun xới gốc cây.

Theo Wewetzer (1998), có thể nuôi cấy nhân tạo *Azadirachta indica* và neem nuôi cấy mô cũng chứa azadirachtin. Số lượng azadirachtin tạo ra nhiều hay ít phụ thuộc vào dòng tế bào đem nuôi cấy, môi trường dinh dưỡng, nguồn carbohydrate.

2.1.2 Vai trò của cây Neem

2.1.2.1 Đối với môi trường sống

Việc lạm dụng thuốc bảo vệ thực vật hoá học trong thời gian dài đã để lại nhiều hậu quả nghiêm trọng đối với con người và môi trường sống. Sơ đồ 2.1 trình bày tính độc của chúng với môi trường (Phạm Văn Biên cùng cộng sự, 2005)



Sơ đồ 2.1 Sự biến đổi của thuốc trừ sâu trong đất

Qua những chu trình trên cho thấy con người là điểm cuối cùng của tất cả sự ô nhiễm, chất độc của thuốc. Do đó việc tìm những loại thuốc bảo vệ thực vật có nguồn gốc sinh học phân huỷ tốt không tồn dư trong môi trường là một vấn đề cấp bách hiện nay. Neem là một đáp án cho bài toán này, với những hoạt chất sinh học hiệu quả, có khả năng tự phân huỷ sinh học tốt, không có tác dụng phụ, cũng như tồn dư trong sản phẩm thu hoạch, không độc cho người và động vật. Với những điều đó neem là một ứng viên sáng giá cho sự thân thiện với môi trường, an toàn hiệu quả cho nông nghiệp.

Theo Dennis (1992), neem là một loại cây hiệu quả cho việc tái tạo rừng phòng hộ cân bằng oxygen, hay trồng ở trong làng để lấy gỗ, chắn gió, đường phố tạo bóng che mát làm hạ thấp nhiệt độ ở những vùng có tháng hè nắng nóng. Trong mùa hè nắng nóng ở Ấn Độ, nhiệt độ dưới vườn neem thấp hơn nhiệt độ bên ngoài khoảng 10⁰C.

2.1.2.2 Quản lý dịch hại

Neem cùng với những hoạt chất sinh học từ lâu đã thu hút sự quan tâm của nhiều nước trên thế giới. Ngày nay dần dần những sản phẩm của neem được sử dụng rộng rãi trong trồng trọt, bảo quản lương thực, hạt giống sau thu hoạch. Với nhiều hợp chất có

hoạt tính sinh học đặc biệt là các terpenoid có ở những phần khác nhau của cây, neem trở thành một công cụ hữu hiệu chống lại các loài dịch hại.

● **Dịch chiết neem**

Một số biện pháp đơn giản của nông dân để lấy dịch chiết từ neem (theo HDRA, 1998):

- Dịch chiết từ nhân hạt neem: Hạt thu hoạch đem về tách vỏ, pha nước theo công thức 50g hạt /1 lít nước sau đó đem đi nghiền. Phần bột nhân hạt neem đã nghiền xong cho vào túi vải mịn ngâm qua đêm trong nước sau đó túi được ép để thu lấy dịch chiết. Để lọc dịch chiết người ta thường thêm vào chất nhũ hoá (1ml/1lít nước). Hạt dùng để lấy dịch chiết không nên để lâu từ 8 -10 tháng vì khi đó hàm lượng Azadirachtin thấp không hiệu quả trong việc khống chế dịch hại.

- Dịch chiết từ lá: Lá tươi ngâm nước để qua đêm 1kg lá cần 5 lít nước sau đó được nghiền và lọc lấy nước, chất nhũ hoá cũng được thêm vào.

- Dịch chiết từ bánh dầu neem: Bánh neem được cho vào túi mỏng ủ qua đêm trong nước sau đó lọc lấy dịch chiết. Cần cho thêm chất nhũ hoá ở nồng độ 1ml/1lít dịch chiết

● **Dầu hạt neem**

Theo Dennis (1992), dầu hạt neem có màu vàng tối, mùi tối nặng, vị đắng do chứa nhiều hợp chất chứa sulfur. Dầu neem đông ở nhiệt độ dưới 23⁰C, không khô. Thành phần của nó tương đồng với dầu đậu nành, dầu ô liu, với các thành phần acid béo như sau: acid oleic: 52,8%, acid stearic: 21,4% acid palmitic: 12,6%, acid linoleic: 2,1% và các acid béo khác: 2,3%

Hạt neem được thu bằng nhiều cách: từ trái chín rụng rơi xuống đất, nhân hạt trần thu được do chim ăn trái thả ra, hay do trái rụng xuống đất một thời gian lâu bị phân huỷ lớp vỏ bên ngoài chỉ còn lại nhân hạt. Sau khi thu hoạch hạt xong cần đem rửa sạch bóc bỏ lớp vỏ bên ngoài, đem phơi khô dưới ánh sáng mặt trời. Năng suất và chất lượng dầu phụ thuộc nhiều vào điều kiện xử lý, bảo quản hạt và kỹ thuật lấy dầu.

Thông thường, có ba cách lấy dầu từ nhân hạt:

- Cách cổ điển: cho nhân hạt vào một bồn dùng công cụ ép dưới áp lực mạnh đến khi dầu chảy ra.
- Cách thứ hai: sử dụng hơi nước và áp suất cao. Làm nóng nhân hạt bằng hơi nước, sau đó ép với áp lực cao. Theo cách này hầu hết dầu từ hạt được lấy ra nhưng chất lượng xấu có màu tối, có mùi hôi do các hoạt chất sinh học trong nhân hạt bị phân huỷ ở nhiệt độ cao.
- Cách thứ ba: sử dụng dung môi như hexane, ether dầu hỏa. Cách này có thể lấy hầu hết lượng dầu trong hạt. Tuy nhiên một số hoạt chất không tan trong dung môi sẽ còn lại trong phần bã.

● Tác động của neem đối với côn trùng

Hạt neem và lá neem chứa nhiều hoạt chất diệt côn trùng. Những hoạt chất này tác động lên hormone của côn trùng chứ không ảnh hưởng trực tiếp lên hệ thần kinh, hệ tiêu hoá, cơ quan sinh sản như các loại thuốc hoá học do đó khó phát triển tính kháng thuốc ở thế hệ sau (Dennis, 1992); neem là một loại thuốc diệt côn trùng phổ rộng, tác động lên 400 - 500 loại côn trùng từ bộ cánh thẳng (châu chấu), bộ cánh giồng (rệp rừng, bướm trắng, rệp cây); bộ Thysanoptera (bọ trĩ); bộ cánh cứng (bọ ruồi); bộ cánh vảy: ngài.

Neem tác động lên côn trùng theo một số cách chủ yếu sau:

- Gây ngán ăn, làm mất khả năng nuốt. Theo Isman (2002), có ba nhóm hoạt chất thứ cấp chính gây ngán ở côn trùng là: alkaliod, phenoliod, terpenoid, đặc biệt những là những triterpenoid. Trong đó những limonoid ở *Azadirachta indica* được quan tâm nghiên cứu và được đánh giá là rất hiệu quả trong việc khống chế côn trùng gây hại.
- Gây chết ấu trùng và con trưởng thành.
- Gây biến dạng.
- Cản trở sự hình thành lớp kitin bên ngoài cơ thể.
- Làm gián đoạn và cản trở sự phát triển của trứng, ấu trùng, nhộng.
- Ngăn cản sự giao phối, giao tiếp quần thể, giảm khả năng sinh sản.

Dennis (1992) đã nhận thấy châu chấu sa mạc sau khi tấn công những cây trồng đã được xử lý bằng dầu neem 2,5l/ hecta thì trở nên hôn mê, bất động và trở thành miếng mồi cho động vật ăn thịt như chim. Những con còn sống thì què quặt, không bắt kịp

bây. Ông cho rằng azadirachtin đã ngăn thông tin hormone và pheromone do chúng tiết ra làm giảm đáng kể số lượng bầy.

Dịch chiết từ nhân hạt neem hạn chế khả năng đẻ trứng của loài châu chấu hoang mạc *Schistocera gregaria* và loài *Bemisia tabaci* (Schmutterer, 1996).

* Ngoài tác động lên côn trùng neem cũng hiệu quả trong việc phòng trừ các loại vi khuẩn, virus, tuyến trùng và nấm (Schmutterer, 1996, HDRA, 1998). Theo Vũ Đăng Khánh (2004), dịch chiết thô từ lá và hạt neem trong methanol được chứng minh là có tính kháng nấm *Fusarium oxysporum*, *Alternaria passiflorae*. Trong điều kiện invitro, dầu chiết xuất từ nhân hạt neem làm giảm sự sinh trưởng và phát triển của nấm *Pyricularia oryzae* (gây bệnh tàn lụi ở lúa) và làm giảm sự lây lan của bệnh này trong điều kiện nhà kính (Amadioha, A.C, 2000). Dịch chiết từ lá neem có thể ngăn cản hai loài nấm *A. flavus* và *A. parasiticus* sản sinh ra độc tố aflatoxin trong kho lương thực (Hampden và ctv, 1993). Bánh dầu neem còn có thể dùng làm phân bón do nó có chứa hàm lượng nitrogen cao, cùng với một số khoáng chất quan trọng như potassium, canxi, magie, phospho. Ngoài việc cung cấp chất dinh dưỡng cho đất neem còn bảo vệ cây trồng trước những tác nhân gây hại đồng thời làm giảm lượng alkaline trong đất, cản trở các con đường gây thất thoát nitrate. Đặc biệt khi sử dụng kết hợp bánh dầu neem với ure sẽ giúp tăng năng suất cây trồng, ví dụ lúa tăng 9.6%, mía tăng 7% (Dennis, 1992)

Trong hơn hai thập niên vừa qua với cuộc cách mạng xanh việc sản xuất nông nghiệp gia tăng đòi hỏi một số lượng lớn phân, thuốc trừ sâu, máy móc điều này gây ra một sức ép rất lớn cho môi trường. Neem với những công dụng đặc biệt vừa hiệu quả trong việc khống chế côn trùng vừa an toàn cho môi trường và sức khỏe con người.

2.1.3 Các ứng dụng khác của Neem

Ngoài nguồn nguyên liệu quý đối với nông nghiệp, neem còn là một dược phẩm hiệu quả cho sức khỏe con người. “cây tuyệt vời”, “làng dược phẩm” là những từ người Ấn Độ ca tụng tác dụng kỳ diệu của neem. Hơn 5000 năm trước, người Ấn Độ đã biết sử dụng neem để chữa những căn bệnh thông thường như mụn nhọt, vết

thương, viêm da, dạ dày... Tất cả các phần của cây đều được sử dụng từ lá, vỏ, thân, trái, dịch chiết, dầu cho đến rễ (Dennis, 1992).

Sau đây là một số bệnh có thể chữa trị bằng neem ở Ấn Độ và trên thế giới:

- Bệnh sốt rét: đây là một căn bệnh nguy hiểm ở vùng nhiệt đới, nhờ hoạt chất gedunin là một limonoid hiệu quả như quinine. Thường dịch chiết từ lá và hạt hiệu quả nhất đối với *Plasmodium falciparum* – ký sinh trùng sốt rét.
- Bệnh về dạ dày: neem là một loại thảo dược giúp cho hệ thống tiêu hoá khoẻ mạnh, bảo vệ dạ dày, loại bỏ độc tố và vi khuẩn, giảm rối loạn tiêu hoá.
- Bệnh về da: những hợp chất gedunin, nimbinol có tính kháng khuẩn, hạn chế được các loại nấm *Candida*, *Trichophyton*. Do không gây tác dụng phụ nên rất an toàn khi sử dụng trên da.
- Viêm khớp: hoạt chất từ lá neem làm giảm đau bằng cách tác động lên prostaglandin, đồng thời các polysaccharide làm giảm viêm và sưng của bệnh viêm khớp.
- Ung thư: neem bước đầu được thử trên nhiều dạng ung thư khác nhau thu được kết quả rất khả quan. Các nhà khoa học ở Ấn Độ, Châu Âu, Nhật Bản thấy rằng polysaccharide và limonoid ở vỏ lá, dầu từ hạt làm giảm bướu và tế bào ung thư.

Neem còn được báo cáo có tác dụng lên một số bệnh mãn tính như: Bệnh AIDS, bệnh đái tháo đường, bệnh tim, hiệu quả trong việc chống viêm nhiễm.

Ngoài ra neem còn có tác dụng điều khiển tỷ lệ sinh, chăm sóc răng miệng, giảm stress. Theo Eppler, (1996), sản phẩm của neem hiện đang được nghiên cứu trên một số bệnh liên quan đến lây nhiễm virus truyền bệnh cho người và động vật chứng tỏ tiềm năng của neem trong lĩnh vực dược phẩm là rất lớn.

* Ngoài ứng dụng trong dược phẩm, ngày nay neem còn được ứng dụng trong lâm nghiệp. Dầu neem kết hợp với chất lỏng từ vỏ hạt điều dùng để bảo vệ cây gỗ khỏi sự tấn công của các sinh vật phá hoại ảnh hưởng đến sản lượng và chất lượng gỗ (Venmalar. D and Nagaveni. H.C, 2005).

2.1.4 Ý nghĩa kinh tế

Với những ứng dụng trong nhiều lĩnh vực, neem đã được đưa vào thị trường với nhiều loại sản phẩm khác nhau:



- a, b, c, d, m là những sản phẩm neem ứng dụng trong nông nghiệp
 e là thuốc dưỡng móng từ neem
 g là kem đánh răng
 f là viết chì có phần gỗ bên ngoài từ neem
 h,k là các loại mỹ phẩm dùng ban ngày và ban đêm

Hình 2.3 Các sản phẩm thương mại của neem

Những sản phẩm của neem ứng dụng cho nông nghiệp còn rất nhiều, đặc biệt là các sản phẩm quản lý dịch hại như: (Parmar.B.S, 1998)

- Godrej Achook: chứa 2800 ppm những hợp chất có nguồn gốc từ neem như azadirachtin (300 ppm), azadiradione, nimbecinol và epinimbecinol. Không chế các loài: *Dysdercus sp*, *Thrips tabaci*, *Spodoptera*, *Bemisia tabaci*, *Trichogramma sp...* ở giai đoạn trứng, ấu trùng, nhộng và con trưởng thành.
- Neemhit: được sản xuất dựa trên công thức tự nhiên của Ayurvedic, có thể phối hợp với các loại thuốc trừ sâu khác, quản lý dịch hại ở cotton, mía, đậu phộng, đậu nành, ngũ cốc, rau quả, hoa và các hoa màu ngắn ngày.
- Neemark: gồm 15% sinh khối từ neem, 40% dịch chiết neem đã được làm giàu thêm vào đó là chất nhũ hoá. Dùng để khống chế dịch hại trên cây cotton, rau quả, cà chua, trà, hành và táo.

Ngoài ra hiện còn rất nhiều sản phẩm như Neemta 2100, Neem Top, Nimba, Vapacide...

Điều này có ý nghĩa tạo thêm thu nhập và việc làm cho những nông dân ở vùng quê Ấn Độ, Châu Phi, Châu Mỹ La Tinh đồng thời tăng lợi nhuận kinh tế cho những nước trồng và xuất khẩu neem. Riêng tại nước ta cho đến nay, hơn 1000 ha neem phát triển xanh tốt tại các tỉnh miền Trung, trong đó nhiều nhất là Ninh Thuận và Bình Thuận ngày càng khẳng định vai trò của nó trong việc cải thiện môi trường sinh thái, phủ xanh đất trống đồi trọc, bảo vệ tốt vùng ven biển. Ngoài ra, neem cũng là nguồn nguyên liệu quý để sản xuất thuốc bảo vệ thực vật và góp phần tăng thu nhập, cải thiện đời sống cho cư dân nghèo ở vùng này.

2.2 Sơ lược về tình hình bảo quản kho lương thực

Theo Trần Văn Chương (1999), lúa gạo là lương thực chính ở nước ta và là một mặt hàng xuất khẩu chủ yếu trong nông nghiệp. Vì thế nên công nghệ bảo quản chế biến gạo sau thu hoạch rất quan trọng. Gạo là đối tượng rất dễ bị sâu mọt, vi sinh, nấm tấn công nên yêu cầu kỹ thuật tương đối chặt chẽ. Thường gạo được trữ trong bao với độ ẩm nhỏ hơn 15%. Mỗi lô xếp tối đa 200 tấn, độ cao 3,5 m. Để chống ẩm, kho gạo thường được làm thông thoáng. Khi nhiệt độ hạ dưới 15⁰C trong vài ngày cần làm nóng kho bằng cách sử dụng máy hút ẩm cải tiến hoặc các kỹ thuật khác

2.2.1 Những thiệt hại trong kho

Theo FAO, lượng mất mát trong dự trữ trên toàn thế giới chiếm khoảng 10%, tương đương 13 triệu tấn ngũ cốc mỗi năm. Ở Châu Phi, thất thoát trong các trang trại khi bảo quản lên đến 25 - 40%. Trên thế giới khoảng 1000 loài côn trùng được xem là tác nhân phá hoại lương thực dự trữ như: *Rhyzoperthar dominica*, *Sitophilus granarius*, *S. oryza*, *S. zeamais* and *Corcyra Cephalonica*... Mặc dù những biện pháp như cải tiến cấu trúc kho, ứng dụng những kỹ thuật vật lý và hoá học hiện đại nhưng vẫn còn 10 – 30 % lương thực bị tổn thất (Saxena, 1996).

Theo Bùi Công Hiến (1995), các nguyên nhân gây ra tổn thất trong kho là: con người, những yếu tố phi vi sinh như khí hậu, thời tiết, bụi, rác..., những yếu tố vi sinh vật như chim, chuột, nấm mốc..., trong đó côn trùng là đối tượng phá hoại nghiêm trọng nhất. Sự phá hoại của côn trùng đối với hàng hoá:

- Làm giảm hoặc phá huỷ vật chất, mất giá trị của hàng hoá.

- Xuất hiện những chất cặn bã : tơ làm tổ, xác ấu trùng nhộng, chất thải của chúng.
- Côn trùng có thể là vật mang trên mình nhiều loại vi sinh vật gây bệnh, là một nguồn gián tiếp sản sinh ra mycotoxin.
- Khi côn trùng hiện diện với số lượng lớn tạo nên những “điểm nóng cục bộ” với nhiệt độ có thể lên đến 60⁰C làm cho độ ẩm tăng lên theo, tạo điều kiện cho nấm phát triển.

Côn trùng là đối tượng khó phòng trị nhất vì đa số các côn trùng hại kho có tuổi trước sinh sản rất dài, ở tuổi này chúng phá hoại mạnh nhất, tuổi sinh sản thường ngắn 2 - 3 ngày và giai đoạn thành trùng là giai đoạn ít tác hại nhất. Do có vòng đời ngắn nên rất dễ hình thành tính kháng thuốc đối với các loại thuốc hóa học.

2.2.2 Ngài gạo

Ngài gạo có tên khoa học là *Corcyra Cephalonica*, thuộc bộ cách thẳng.

Theo Bùi Công Hiến (1995), Lê Thị Thanh Phượng (2004), ngài gạo có thân màu xám hay vàng nâu, bụng có pha màu đen. Cánh trước màu xám đen và hẹp hơn cánh sau, màu sắc cánh từ giữa cách trở vào gốc cánh đậm hơn, rìa cánh có những chấm nhỏ. Cánh sau rộng màu xám trắng, đầu ngực có màu nâu nhạt. thường con đực nhỏ hơn con cái. Ngài hoạt động nhiều lúc bình minh và chập tối, thường đẻ trứng vào lúc sáng sớm. Con cái mang sản rất nhiều trứng đến khi được thụ tinh thì đẻ, sau khi đẻ trứng khoảng 3 - 4 ngày thì chết. Trứng ngài rất nhỏ, màu trắng, thông thường một lần ngài đẻ trên 30 trứng, con cái trưởng thành có thể đẻ từ 150 – 350 trứng trong một đến vài ngày sau khi vũ hoá.

Trứng tự nở trong môi trường thích hợp từ 1 - 2 tuần. Ấu trùng và nhộng thường tiết ra những sợi tơ kết dính các hạt gạo lại với nhau để làm tổ gây nên hiện tượng nông sản bị đóng cục lại, đồng thời bài tiết chất thải, xác ngài chết, vỏ nhộng, kén... nên làm ảnh hưởng đến trạng thái cảm quan và phẩm chất gạo.



Hình 2.4 Vòng đời ngài gạo



Hình 2.5 Tác hại của ngài gạo

Theo Phạm Văn Sô và cộng sự (1975), trong quá trình kiểm nghiệm gạo gồm độ ẩm không quá 14%, độ chua không quá 4⁰, hàm lượng vitamin B1, tỷ lệ hạt gãy, trạng thái cảm quan: hạt đều, không lẫn hạt lép, ít rạn nứt, rắn chắc, màu từ hồng nhạt đến trắng tinh, không mốc, không mốc mùi vị thơm ngon, không có mùi lạ. Trong mọi trường hợp đều kết hợp với trạng thái cảm quan để quyết định chất lượng gạo. Nếu các chỉ số khác bình thường nhưng cảm quan không tốt cũng không dùng để ăn nữa.

Cũng như các loại côn trùng hại kho khác ngoài gạo cũng chịu ảnh hưởng bởi các yếu tố vật lý sau:

- Nhiệt độ: thích hợp ở nhiệt độ 25 – 35⁰C
- Hàm lượng nước trong hàng hoá bị xâm hại
- Ảnh hưởng tổ hợp của nhiệt độ và ẩm độ
- Ảnh hưởng tổ hợp của nhiệt độ và thủy phần đến tập tính côn trùng.
- Ánh sáng: ngoài hoạt động về đêm, vũ hoá lúc trời vừa sáng .

2.2.3 Những cách phòng trừ côn trùng hại kho hiện nay

Theo Bùi Công Hiền (1995), các cách phòng hiện nay là:

- Phòng trừ bằng luật lệ: kiểm dịch nghiêm ngặt các hàng hoá nhập từ nước ngoài.
- Phòng trừ bằng sinh học: sử dụng ký sinh gây bệnh cho côn trùng. Nhiều tài liệu đã công bố vai trò của *Bacillus thuringensis* đối với việc phòng trừ ngoài gạo. Dùng pheromone là một yếu tố trong thông tin sinh học giữa các sinh vật đây là hướng trừ côn trùng gây hại theo hướng ngăn cản sự xâm nhiễm hơn là diệt, ngoài ra có thể phòng trừ bằng cách tạo dòng kháng, sử dụng côn trùng bắt thụ, điều khiển các nội tiết tố..
- Phòng trừ bằng vật lý: chú ý đến vệ sinh trong kho, kho phải thông thoáng, cân đối giữa nhiệt độ và ẩm độ, sử dụng bức xạ ion hoá làm chết, bắt thụ hay suy nhược, bụi tro có nguồn gốc silicat có đặc tính hút nước cao làm cho côn trùng mất nước, ánh sáng.
- Phòng trừ bằng thuốc hóa học hoặc thảo mộc (cây xoan, cỏ mật, cây ruốc cá, cây thuốc lá).

- Phòng trừ tổng hợp: hệ thống phòng trừ côn trùng hại kho hiện nay theo quan điểm phòng trừ tổng hợp, là sự kết hợp của nhiều biện pháp như biện pháp sinh học, biện pháp hóa học, biện pháp cơ học, biện pháp lý học, kết hợp giữa phòng và diệt.

2.2.4 Công dụng của neem trong bảo quản kho lương thực

Theo Saxena (1996), trước khi thuốc diệt côn trùng xuất hiện, những làng quê Ấn Độ thường trộn lá neem khô với ngũ cốc để trừ hạn chế được mọt và nấm mốc. Ngày nay, ở Ấn Độ và Pakistan, lá neem (2 - 5%) được trộn với gạo, lúa mì và những ngũ cốc khác. Những cách bảo quản lương thực truyền thống dựa trên neem rất đa dạng tùy theo vùng.

Những sản phẩm của neem ở bất kỳ dạng nào tươi, làm giàu, tinh sạch chứa azadirachtin cũng đều ảnh hưởng lên tập tính, sinh trưởng và phát triển, sống sót và sinh sản của côn trùng hại kho. Đồng thời, cây con nảy mầm từ những hạt được bảo quản bằng neem thì mạnh mẽ, rễ dài hơn và phát triển nhanh hơn những cây không được bảo quản bằng neem. Neem rất hiệu quả trong việc bảo quản gạo khi sử dụng một mình hay kết hợp với thuốc xông hơi hoá học. Khi xử lý gạo với 0,05- 0,1% dầu neem kết hợp với thuốc phostoxin có thể ngừa được *Tribolium castaneum* trong tám tháng.

Hạt *Pisum sativum* và *Cajanus cajan* khi được bảo quản với dầu chiết xuất từ hạt neem ở tỷ lệ 1% và 3% phòng trừ được *Corcyra matulatus* trong 6 và 12 tháng. Tương tự, một nghiên cứu ở Kenya cho thấy bắp sau khi được xử lý với dầu neem 0,02% hạn chế được sự tấn công của *Sitophylus zeamais* trong 6 tháng (Singh và Pillai, 1998).

2.3 Một số chất phụ gia và bảo quản

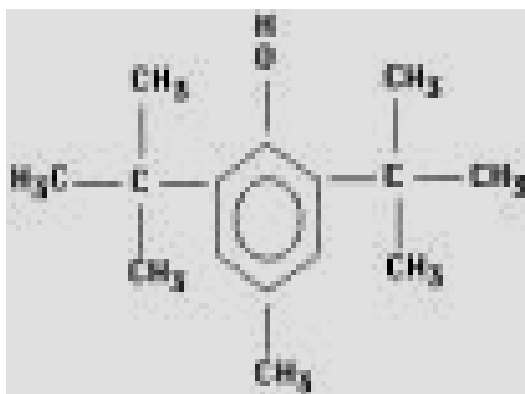
2.3.1 BHT (BUTYLHYDROXYTOLUEN)

Theo OMRI, (2002), BHT được biết đến từ năm 1947 và được dùng như là một chất phụ gia thực phẩm từ năm 1954 bởi FDA (Food Drug Administration). Từ năm 1959, BHT được đưa vào danh sách Generally Regconized as safe (GRAS) của FDA. Kể từ đó BHT là chất chống oxy hoá được sử dụng nhiều nhất trong thực phẩm béo.

2.3.1.1 Công thức hoá học

BHT: $C_{15}H_{24}O$ trọng lượng phân tử là 220.34

Với tên là 2,6-di-tert-butyl-4-hydroxytoluen hay 2,6- tert- butyl- ρ -cresol hay với tên thông thường khác là Dibutylparacresol. Tên thương mại là Antracine 8,



Hình 2.6 Công thức hoá học của BHT

Tenox BHT, Dalpac...

2.3.1.2 Tính chất vật lý

BHT có màu trắng, không mùi, cứng ở nhiệt độ phòng, tan ở 70⁰C. Áp suất hơi thấp 6,5mm Hg ở 120⁰C. BHT không tan trong nước nhưng tan trong các dung môi hữu cơ như: methanol, ethanol, toluen, acetone, xăng...và tan trong dầu ăn, mỡ. BHT khi ở trong nước bị phân hủy bởi ánh sáng, khoảng 94% trong 30 ngày, nếu trong nước có đất và vi khuẩn thì sự phân hủy này nhanh hơn.

2.3.1.3 Công dụng

BHT được dùng làm chất chống oxy hoá trong thức ăn của người và gia súc, các sản phẩm của xăng, tổng hợp cao su, plastic, dầu thực vật động vật và xà bông. Ngoài ra BHT được thêm vào vật liệu gói thức ăn.

BHT kết hợp với BHA (butylated hydroxyanisole) như là một chất bảo quản.

Gần đây BHT được chứng minh là có thể kết hợp với pheromone của côn trùng, tạo ra sản phẩm hoàn hảo phòng trừ dịch hại thay thế các loại thuốc trừ sâu hoá học.

2.3.1.4 Tính an toàn của BHT

Do khả năng tự phân hủy sinh học nên BHT an toàn cho môi trường đất. BHT cũng được chứng minh là không ảnh hưởng đến sức khoẻ của người và gia súc. Theo OMRI (2002), sau mười năm sử dụng thuốc trừ sâu có pheromone không thấy ảnh hưởng nào. Độc tố của BHT ở dưới mức gây hại và được chứng minh là không nằm trong nhóm tác nhân gây ung thư ở người, BHT cũng không ảnh hưởng đến sự sinh sản, thói quen, ít khi gây dị ứng được thử nghiệm ở chuột, thỏ, khỉ và chỉ gây đột biến với liều cao.

2.3.2 Dầu mè

2.3.2.1. Nguồn gốc

Mè có tên khoa học là *Sesamum indicum*. Nó xuất hiện hàng ngàn năm trước và là cây đầu tiên được trồng hàng loạt để lấy hạt. Theo Morris (2002), mè có mặt ở Babylon và Assyria 4000 năm trước và sau dần lan đến Trung Quốc, ai Cập, Mỹ... Ở Brahmin mè là một cây tượng trưng cho sự may mắn và bất tử.

Theo Morris (2003); Mcgee (2002), dầu mè có màu vàng sáng, lỏng, tính ổn định cao hơn các loại dầu thực vật khác ít bị ôi trong thời tiết nóng, đông ở -2 đến -40C. Dầu mè giàu protein (25%), acid béo (50%).

Theo Nguyễn Cảnh Cửu (2006):

Bảng 2.1 Thành phần chất dự trữ (%) trong dầu mè

STT	Thành phần	Hàm lượng (%)
01	Nước (độ ẩm)	5 - 6
02	Protein (chất đạm)	20 - 22
03	Chất không N	6,3 – 6,87
05	Dầu	50
05	Tro (chất khoáng)	5
06	Ngoài ra còn có lecithin, pentosan, phytin và cholin	



Hình 2.7 Dầu mè

Bảng 2.2 Thành phần dầu (%)

STT	Thành phần	Hàm lượng (%)
01	Axít béo đặc	12 - 16
02	Axít palmitic	7,7
03	Lignoceric	0,04
04	Axít béo lỏng	7,5 – 8,5
05	Axít oleic	48

2.3.2.2 Công dụng

Mè là nổi tiếng khắp thế giới là một loại thực phẩm tốt cho sức khỏe. Nhật Bản là nước sử dụng mè nhiều nhất cho món cá sống, kể đó là Châu Âu và Mỹ. Ở Việt Nam, mè được dùng làm gia vị thức ăn ở hai dạng: hạt mè và dầu mè. Trong chế biến thức ăn thông thường dùng mè đen hay vàng rang chín làm gia vị hoặc là thành phần bổ sung chất đạm, béo cho các hạt ngũ cốc chỉ giàu bột rất tốt cho phụ nữ và trẻ em.

Ở Châu Phi người ta sử dụng mè làm gia vị, dầu, chiên rau quả và thịt, ăn sống hay dùng làm đèn cầy. Mè có hai dạng thành phẩm khác là bột nhão gọi là Tahini, bột mè mịn giàu protein, có methionine, tryptophane và 10 - 20% dầu mè. Ngoài ra dầu mè còn được dùng làm xà phòng và margarine (Nguyễn Cảnh Cửu, 2006; Mcgee, 2003).

Theo Morris (2002), dầu mè còn là nguồn dược liệu quý.

Bảng 2.3 Ứng dụng của dầu mè trong công nghiệp và dược phẩm

Ứng dụng		Chất hoá học
Trong công nghiệp	Chống nấm	Chlorosesamone
	Diệt vi khuẩn và côn trùng	Sesamin, sesamolin
	Mỹ phẩm	Myristic axit
	Dung môi, xà phòng	
Trong dược phẩm	Chống oxi hoá	Lecithin
	Ngăn ngừa ung thư	Axit myristic, chất xơ
	Ngăn ngừa bệnh tim	Sesamoil
	Làm mềm da	
	Nhuận trường	Sesamoil
	Ngăn cản hình thành khối u ác tính	Lecileteate ở dạng triglycerid

2.3.3 Talc

2.3.3.1 Công thức hoá học

Talc có công thức hoá học là $Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$

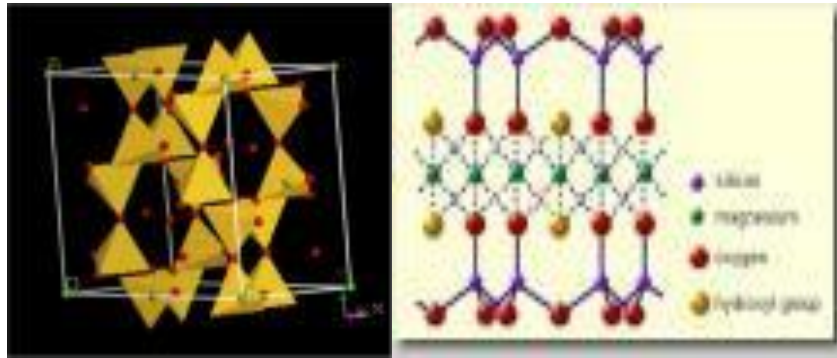
Tên: Magnesium Silicate Hydroxide. Lớp: Silicates

Phụ lớp: phyllosilicates

Cấu trúc:

Một tấm cấu trúc cơ bản gồm một lớp magnesium-oxygen (hydroxyl octahedra) bị kẹp giữa hai lớp silicon-oxygen tetrahedra theo dạng sandwich. Bề mặt chính của tấm

không chứa nhóm hydroxyl hay những ion hoạt động làm cho tacl có tính tro (EUROTACL, 2003).



Hình 2.8 Cấu trúc của talc

2.3.3.2 Tính chất vật lý

Theo Ciulo, Anderson (2002), Tacl có trọng lượng: 2,7 – 2,8, chống nhiệt, điện và acid

Tacl mềm, có màu xanh, xám, trắng cho tới bạc. Kích thước của một lớp tacl khoảng 1 - 100 μm . Một lớp tacl gồm hàng ngàn tấm cơ bản chồng lên nhau, chúng được liên kết với nhau bằng lực hút VanderWaal nên rất yếu do đó tacl có tính chất mềm.

Thông thường tacl không tan trong nước, tan yếu trong acid và bazơ. Tacl không gây nổ và cháy. Tacl thường không kết hợp hay có ái lực với các phân tử hoá học khác. Trên 900°C tacl bị mất đi nhóm hydroxyl, trên 1050°C nó tạo thành hai dạng khác nhau của enstatite (anhydroduos magnesium silicate). Điểm tan chảy của tacl là 1500°C . Tacl được chia thành hai dạng chính:

- Tacl-cloride: Gồm chủ yếu là tacl tinh khiết đến 100% phần còn lại là cloride hydrat hoá magnesium và aluminium silicate. Cloride cũng mềm và organophilic giống như tacl.
- Tacl-carbonate: gồm tacl carbonate và một phần nhỏ chloride. Carbonate cơ bản là magnesite (magnesium carbonate) hay dolomite (magnesium và calcium carbonate).

2.3.3.4 Công dụng

Theo EUROTACL (2003), Tacl là một khoáng chất quan trọng trong công nghiệp, là một phần sống còn trong đời sống hàng ngày, báo, những polymer trong xe, đường đi đều có sự đóng góp của tacl. Ứng dụng thông thường được biết đến nhiều nhất là thành phần cơ bản trong bột tacl, dùng làm phấn thơm cho em bé...

- Trong nông nghiệp và thực phẩm:

Một thuốc trừ sâu cơ bản gồm ba thành phần: chất rắn, chất lỏng, gas. Công thức có thể chứa nhiều thành phần hoạt động cộng với những chất không có tác dụng diệt côn trùng được gọi là chất trợ. Tacl có thể được sử dụng như một chất tạo bụi là một phần trong chất rắn của thuốc trừ sâu.

Ngoài ra tacl còn được dùng như một thành phần trong thức ăn của gia súc, trong hoá học nông nghiệp tacl là một chất mang trợ lý tương.

Tacl còn là một tác nhân chống bám ở nhiều loại thức ăn như kẹo cao su, thức ăn bổ dưỡng, hay để đánh bóng gạo. Trong quá trình sản xuất dầu oliu tacl làm tăng sản lượng và độ trong của dầu.

- Trong lĩnh vực đồ gốm:

Tacl là một thành phần trong gạch lát trần và tường nhà do khả năng chịu nhiệt cao. Trong những sử dụng nhiệt độ cao tacl giàu chloride được chuyển thành cordierite để hỗ trợ thêm cho quá trình gia nhiệt.

Ngoài ra tacl còn được dùng trong nhiều lĩnh vực khác như phủ bên ngoài và bên trong bức hoạ để làm tăng hiệu quả của titanium dioxide, cải thiện những vết rạn nứt chỗ lõm, tacl còn giúp chống mòn và dính tranh, hỗ trợ trong việc sản xuất giấy, plastics, cao su: làm giảm độ nhớt của cao su, cải thiện chất lượng cho quá trình ép khuôn, tăng khả năng kháng tia UV. Đặc biệt tacl còn hữu ích trong các sản phẩm chăm sóc sắc đẹp như phấn mắt: làm tăng độ tương phản, tạo tính trong suốt và rục rờ cho kem, xà phòng.

2.4 Sắc ký

2.4.1 Giới thiệu

Đầu thế kỷ 19, nhà thực vật học người Nga đã cho ra đời phương pháp sắc ký, cung cấp cho hoá học một công cụ tách màu nhiệm. mở ra một giai đoạn phát triển rực rỡ của ngành hoá học, đặc biệt là hoá học các hợp chất thiên nhiên.

2.4.1.1 Định nghĩa

Theo GS Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Viết Tựu (1985), sắc ký là một phương pháp vật lý dùng để tách các thành phần ra khỏi hỗn hợp bằng cách phân bố chúng thành hai pha: một pha có bề mặt rộng gọi là pha cố định, pha kia là một chất lỏng hoặc khí gọi là pha động chuyển động qua lại pha cố định.

2.4.1.2 Phân loại

- Sắc ký lỏng: pha lỏng là pha di động

* Sắc ký giấy: pha tĩnh là giấy.

* Sắc ký lớp mỏng.

*Sắc ký cột gồm:

Cột cổ điển: cột đơn giản với các chất hấp phụ thông thường vô cơ và hữu cơ.

Cột trao đổi ion: cột là một chất trao đổi ion âm hoặc dương.

Cột gel hoặc lọc gel: pha cố định là một loại keo tổng hợp có lỗ xốp dùng để lọc các chất có thành phần phân tử khác nhau.

* Sắc ký lỏng cao áp

- Sắc ký khí: dùng chất khí làm pha di động. Gồm:

* Sắc ký khí –rắn

* Sắc ký khí –lỏng.

2.4.2. Sắc ký khí

2.4.2.1 .Nguyên tắc

Theo Phùng Doãn Cẩm Hồng (2004); GS Nguyễn Văn Đán, Nguyễn Viết Tựu (1985), sắc ký khí dựa trên nguyên tắc phân bố của mẫu dạng khí giữa hai pha tĩnh (hay tương tĩnh) và pha động (tương động). Pha tĩnh có bề mặt tiếp xúc rộng, pha động là chất khí thường là khí trơ được thổi qua pha tĩnh.

Chất thử hay mẫu khảo sát ở dạng khí hay lỏng, rắn được chuyển thành thể hơi nhờ gia nhiệt. Sau đó mẫu được pha tĩnh lôi qua cột sắc ký. Nếu pha tĩnh là chất rắn thì gọi là sắc ký khí rắn. Chất rắn thường được dùng là silicagel, than hoạt, oxyt nhôm. Nếu pha tĩnh là chất lỏng thì gọi là sắc ký khí lỏng.

Tùy theo mức độ phân bố của mẫu giữa hai tương tĩnh và động, những cấu tử phân bố nhiều trong tương tĩnh sẽ được giữ lại cột lâu hơn. Do đó các cấu tử có tính chất khác nhau sẽ tách rời nhau khi đi ra khỏi cột.

Các cấu tử lần lượt đi đến bộ phận ghi nhận và chuyển thành tín hiệu. Tín hiệu này gọi là peak. Tập hợp tất cả các peak là sắc ký đồ.

Mỗi cấu tử sẽ lưu lại trong cột với thời gian xác do đó trên sắc ký đồ, mỗi peak sẽ ứng với một vị trí và độ lớn nhất định.

Nên định tính mẫu dựa vào thời gian lưu, định lượng dựa vào diện tích hay chiều cao của các peak.

2.4.2.2. Các bộ phận chính của máy sắc ký

Theo GS Nguyễn Văn Đán; Nguyễn Việt Tụ (1983); Phùng Doãn Cẩm Hồng (2004), máy sắc ký khí gồm 5 bộ phận chính:

- Bình tải khí có hệ thống điều chỉnh lưu lượng khí mang.
- Hệ thống đưa mẫu vào cột: mẫu trước khi đưa vào máy phải qua công đoạn xử lý mẫu gồm: trích mẫu, làm sạch, làm giàu mẫu, mẫu được giữ ở dạng lỏng. Lượng mẫu đưa vào cột rất ít khoảng 1 - 5 μ l. Tại hệ thống này mẫu sẽ được gia nhiệt tạo thể hơi ngay khi đưa vào và được khí mang đưa vào cột sắc ký.

Có ba kỹ thuật bơm:

- Bơm chia dòng
- Bơm chia dòng ngắt đoạn
- Bơm trực tiếp vào cột

Theo Nguyễn Thu Vân (2000), kỹ thuật bơm mẫu vào buồng hoá hơi là kỹ thuật bơm kim đầy nhưng thể tích chết ở đầu kim rất lớn (1 μ l) đối với cột mao quản sai số trên là rất lớn có thể khắc phục bằng cách bơm chia dòng. Người ta thường dùng kỹ thuật bơm mẫu trực tiếp từ syringe vào đầu cột tách mà không cần hoá hơi ở buồng bay hơi. Ưu điểm:

- Mẫu được đưa trực tiếp vào cột nên làm giảm được khả năng bị phân huỷ.
- Mẫu không bị chia dòng nên loại trừ sự đối xử giữa các cấu tử.
- Không dùng quá nhiều dung môi đối với cấu tử có thời gian lưu ngắn.
- Kim của syringe rất nhỏ nên tránh được thể tích chết ở đầu kim.

- Cột sắc ký: Gồm cột và chất mang.

Có hai dạng cột nhồi và cột mao quản. Theo Nguyễn Thu Vân, (2000) để cột đạt hiệu quả tối ưu nhất cần chú ý đến hiệu ứng cột. Hiệu ứng cột được đo bằng số đĩa lý thuyết

$N = 16(x/y)^2$ với:

N: số đĩa lý thuyết

Y: đoạn cắt b ở tiếp tuyến tại trục gốc

X: khoảng cách từ điểm xuất phát đến điểm cực đại của peak.

Các yếu tố làm tăng hiệu ứng cột:

- Chất rắn làm nền phải có kích thước hạt bé và đồng đều
- Chất lỏng có độ nhớt thấp, áp suất hơi thấp, hoà tan hoàn toàn chất thử và có độ hoà tan khác đối với mỗi thành phần trong hỗn hợp.
- Lớp chất lỏng phải thật mỏng
- Tốc độ khí tải thích hợp
- Nhiệt độ cột thấp
- Cột có đường kính bé

- Bộ phận phát hiện: hay gọi là đầu dò (detector). Có nhiều loại đầu dò như :

Detector dẫn nhiệt TCD, detector ion hoá ngọn lửa FID, detector cộng kết điện tử ECD, detector nitơ photpho NPD, detector quang hoá ngọn lửa FPD và detector phát xạ nguyên tử AED.

- Bộ phận ghi nhận kết quả: được nối với máy tính, kết quả cho ra dưới dạng peak

2.4.2.3. Nguyên lý của sự xuất hiện các peak

Sắc khí chạy với một chu trình nhiệt được kiểm soát rất chặt chẽ trong suốt quá trình phân tích. Mục đích của chu trình này là thúc đẩy và nâng cao quá trình tách mẫu nhanh chóng và triệt để.

Khi nhiệt độ không đổi, các chất có độ sôi thấp sẽ xuất hiện sớm và nhanh chóng hình thành những peak nhọn, rất xít có khi chồng lên nhau, các chất có độ sôi cao hơn sẽ xuất hiện sau thành những peak rộng và thấp rất khó đọc.

Do đó, ta sử dụng nhiệt độ thấp lúc khởi đầu các chất có nhiệt độ sôi thấp xuất hiện trước với những peak nhọn và riêng biệt. Sau đó khi nâng dần nhiệt độ lấy các chất có nhiệt độ sôi cao hơn. Như vậy làm cho các chất có nhiệt độ sôi cao xuất hiện sớm hơn hình thành những peak nhọn GS Nguyễn Văn Đàn (1983).

2.4.2.4 Các lưu ý khi thực hiện sắc ký khí

Theo Nguyễn Thu Vân (2000), chất chọn làm khí mang phải có những đặc điểm sau:

- Trơ với cấu tử khảo sát.
- Có tỷ khối nhỏ nghĩa là độ nhớt thấp để làm tăng vận tốc của khí mang.
- Tồn tại tinh khiết hoặc dễ dàng làm tinh khiết.
- Khi xét mối quan hệ giữa chiều cao đĩa lý thuyết H và tốc độ tuyến tính của dòng khí mang, loại khí mang nào cho cực tiểu càng trải rộng càng tốt.

Khi lựa chọn khí mang phải lưu ý đến detector sử dụng. Detector độ dẫn nên dùng khí mang có độ dẫn cao như H_2 nhưng ít dùng vì dễ cháy nổ dù cực tiểu trải rộng, khí nitơ rẻ tiền nhất nhưng độ nhạy không cao. Detector ion hoá ngọn lửa có thể dùng tất cả các khí mang trừ O_2 . Khi vận hành thì cần dùng khí H_2 và N_2 để đốt cháy ngọn lửa.

2.4.2.5 Ưu điểm của sắc ký khí Theo GS Nguyễn Văn Đan, Nguyễn Viết Tựu (1983); Phùng Doãn Cẩm Hồng (2004)

- ✓ Nhanh: việc dùng khí làm pha động có ưu điểm là nhanh chóng đạt được sự cân bằng.
- ✓ Khả năng tách lớn: có thể tách được nhiều hỗn hợp mà các phương pháp khác không giải quyết được.
- ✓ Định tính: Thời gian duy trì (RT) là thời gian từ khi chất thử bắt đầu di chuyển cho đến khi đạt đỉnh cực đại. RT đặc trưng cho mỗi chất với pha lỏng và nhiệt độ nhất định. Với tốc độ di chuyển nhất định và nhiệt độ được kiểm soát, độ lặp lại có thể đạt đến 100%. Có thể có một vài chất có kích thước giống hoặc gần giống nhưng mỗi chất chỉ có một thời gian lưu và nó không bị ảnh hưởng bởi các thành phần khác trong hỗn hợp. Để nhận biết các chất trong hỗn hợp đơn giản là so sánh thời gian lưu của chất phân tích với thời gian lưu của chất chuẩn tinh khiết ở cùng điều kiện sắc ký, có thể là đơn chất hay hỗn hợp chất. Nhưng cách này đòi hỏi phòng thí nghiệm phải đủ tất cả các chất chuẩn tinh khiết, điều này tốn kém và giá thành cao.
- ✓ Định lượng: Diện tích mỗi peak trên sắc ký đồ tỷ lệ với nồng độ chất đó. Hoặc có thể lập đường chuẩn
- ✓ Độ nhạy cao có thể tính được ở mức ppm
- ✓ Đơn giản.

2.4.2.6 Ứng dụng của sắc ký khí

Ngày nay sắc ký đã trở nên quen thuộc và được sử dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực.

Trong lĩnh vực lương thực thực phẩm: dùng để kiểm nghiệm các loại thực phẩm như : rượu, bia, bơ...nhằm mục đích quản lý đảm bảo về vệ sinh an toàn thực phẩm.

Trong lĩnh vực hoá học: Dùng phân tích phát hiện các chất độc với một lượng rất nhỏ.

Trong việc xác định các thành phần dầu mỏ và sản phẩm của chúng: Giúp cho việc xác định nhanh các nguồn tài nguyên dưới đất bao gồm dầu mỏ khí đốt. Đối với những phân đoạn cao hơn của dầu mỏ có thể dùng sắc ký mao quản để tách tỉ mỉ các hỗn hợp phức tạp nhờ số đĩa lý thuyết rất lớn của cột mao quản.

Ngoài các lĩnh vực trên sắc ký khí còn được ứng dụng trong các lĩnh vực: nông nghiệp, lâm nghiệp, hải sản, khoa học hình sự, pháp y... Đặc biệt sắc ký rất hiệu quả trong việc phân tích các hợp chất tự nhiên ở thực vật nhất là các hợp chất thứ cấp. Ngày nay sắc ký dần càng hoàn thiện, để thực hiện những phân tích khó người ta kết hợp nhiều loại sắc ký lại với nhau hay với các kỹ thuật phân tích khác: hồng ngoại, phổ phổ, cộng hưởng từ.

Chương 3

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

3.1 Nội dung nghiên cứu

- Phân tích những chỉ tiêu hoá lý cơ bản trong dầu neem, làm cơ sở bước đầu cho việc nghiên cứu cải thiện tính ổn định của chế phẩm neem theo thời gian.
- Đánh giá tính ổn định của chế phẩm neem trong quá trình bảo quản.

3.2 Phương pháp nghiên cứu

3.2.1 Vật liệu, hoá chất, máy móc chính

* Tạo chế phẩm

- Dầu hạt neem thu được bằng phương pháp ép nguội với máy ép dầu Komet (Model D85 – 1G, Đức) tại Viện Sinh Học Nhiệt Đới.
- Dịch chiết bánh dầu neem thu được bằng phương pháp chiết xuất trong ethanol.
- Chất bảo quản: BHT (butylhydroxytoluen), dầu mè đen.
- Bột Talc, dầu thông làm chất hấp phụ và chất hỗ trợ thăng hoa.

* Phân tích

- Hoá chất

Kali sufat khan, ete dầu hoả, ete trung tính, cồn 95⁰ trung tính, dung dịch KOH 0,5N trong cồn 95⁰, dung dịch KOH 0,1N, dung dịch acid HCL 0,5N trong nước, dung dịch phenoltalein trong nước, dung dịch phenoltalein 1% trong cồn 90⁰, H₂SO₄dd, H₂SO₄ 2N: 0,1N, NaOH (40%); 0,1N, dung dịch Chloroform : methnol (2 : 1)

- Máy móc, thiết bị

Dụng cụ, vật liệu thông thường của phòng thí nghiệm

Hệ thống lọc nhanh, khăn lau mềm, khúc xạ kế, bình Kjeldahl 50ml, máy cất có ống sinh hàn hồi lưu, có ống nối nhám, bộ cất đậm, máy sắc ký khí HP 6890, series I – GC system (+ plus)

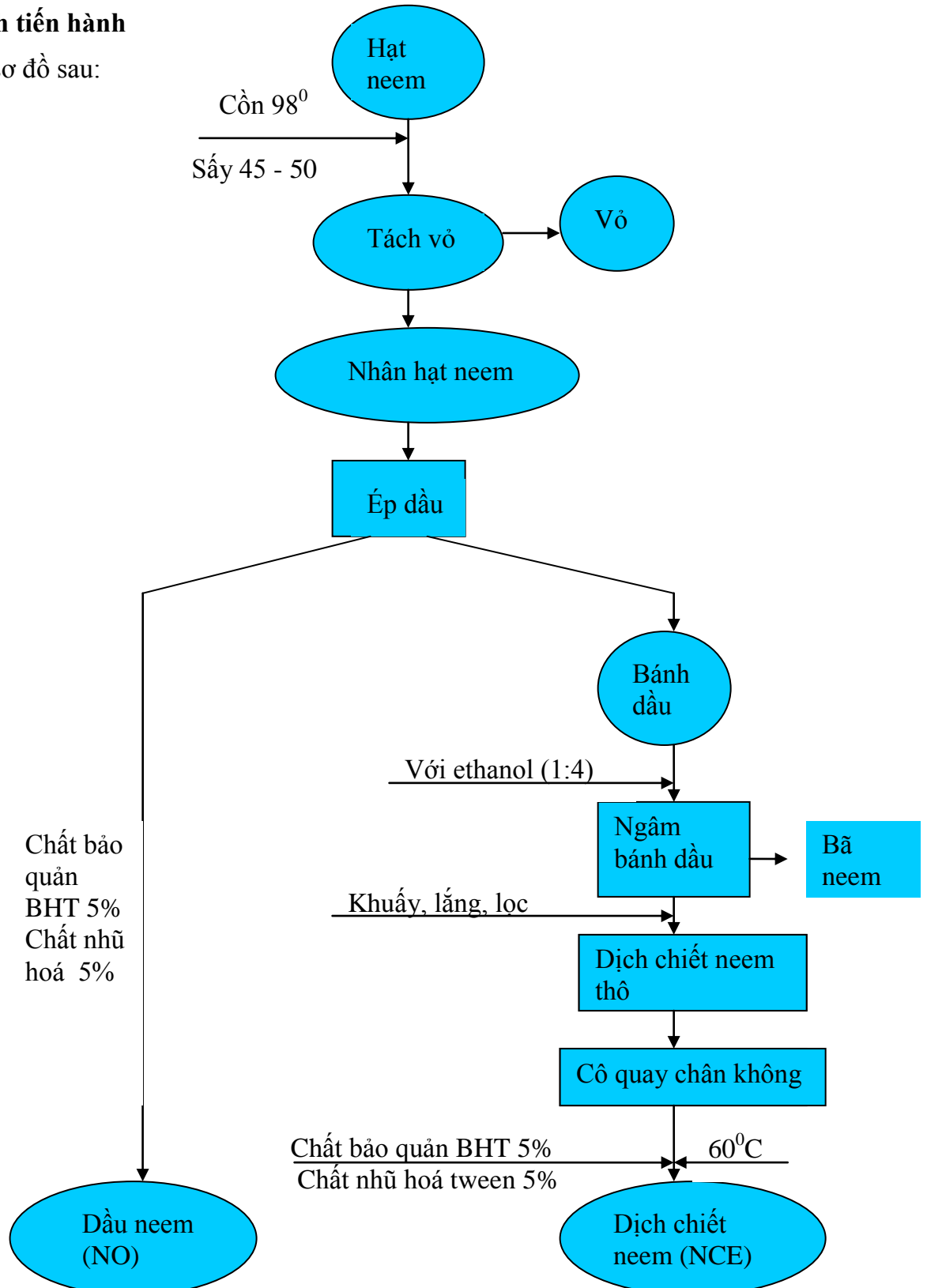
* Ấu trùng ngài gạo tuổi 3 nhân nuôi tại tổ Sinh Học Động Vật Viện Sinh Học Nhiệt Đới: sâu được nuôi trong phòng thí nghiệm, trên môi trường cám gạo, nhiệt độ 28 – 30⁰C.

3.2.2 Tiến hành

3.2.2.1 Ép dầu từ hạt neem thu ở tỉnh Bình Thuận

* Cách tiến hành

Theo sơ đồ sau:



Sơ đồ 3.1 Sơ đồ ép thu dầu neem và dịch chiết neem

3.2.2.2 Phân tích một số chỉ tiêu hoá lý cơ bản trong dầu neem

● **Xác định tỷ trọng bằng bình đo tỷ trọng kế picomet** (Phạm Văn Sổ và ctv, 2001)

*** Định nghĩa**

Tỷ trọng của một chất là tỷ số giữa khối lượng riêng của chất đó so với khối lượng riêng của nước cất ở cùng thể tích, cùng nhiệt độ.

$$d^{t_{t^0}} = \frac{d_t}{d_{t_0}}$$

*** Tiến hành**

Rửa bình picomet thật sạch bằng nước cất, tráng lại bằng cồn, rồi ete. Để ete bay hơi hết bình đã thật khô, cân bình không theo nguyên tắc cân kép:

Cho nước cất đã làm lạnh ở nhiệt độ cao hơn quy định và điều chỉnh thể tích bằng cách cho mức nước đến vạch đúng lúc nhiệt độ quy định, đem cân (chú ý cân không để nước dính ngoài bình làm sai số).

Đổ nước tráng bình bằng cồn, ete, để ete bay hơi hết và khi bình đã thật khô, cho dầu vào bình đúng thể tích và nhiệt độ quy định sau đó đem cân.

Tính kết quả đo tỷ trọng $d^{20} = \frac{m - m_1}{m - m_2}$

Trong đó m: khối lượng bình không

m_1 : khối lượng nước cất

m_2 : khối lượng dầu

● **Xác định chỉ số khúc xạ**

*** Định nghĩa**

Chỉ số khúc xạ hay chiết quang của một chất ký hiệu là n_D là tỷ giữa vận tốc ánh sáng trong không khí chia cho vận tốc ánh sáng trong chất đó. Nó cũng chính là tỷ số giữa sin góc tới chia cho sin góc khúc xạ của những tia sáng từ không khí truyền qua.

Nhiệt độ quy định là nhiệt độ mà chất đó lỏng hoàn toàn. Với dầu nhiệt độ quy định là 20⁰C, với nhiệt độ quy định là 40⁰C, 60⁰C hay 80⁰C tùy theo loại. Chỉ số khúc xạ đo trên dầu mỡ không có nước và lọc bỏ cặn.

*** Thiết bị, dụng cụ và hoá chất**

Natrisufat khan

Hệ thống lọc nhanh

Ete dầu hoả

Khăn lau mềm

Khúc xạ kế Abbe với hệ thống điều hoà nhiệt

*** Tiến hành**

Lọc chất thử để có dung dịch trong suốt, nếu chất thử có nước thì trộn với kalisufat khan, sau đó lọc lấy dịch lọc.

Lau sạch hai lăng kính của khúc xạ kế bằng ete dầu hoả, sau đó lau khô bằng khăn mềm. Chính lý hệ thống điều chỉnh nhiệt độ quy định. Bỏ trực tiếp hoặc dùng đũa thuỷ tinh đưa một giọt chất thử vào giữa mặt lăng kính. Áp hai lăng kính lại với nhau, chờ hai đến ba phút để nhiệt độ của giọt chất thử đến nhiệt độ quy định, nhìn vào thị kính và dịch chuyển thị kính để tìm được đường phân chia rõ nhất giữa nửa tối và nửa sáng của đường quan sát. Điều chỉnh đường phân chia sao cho trùng với đường chấm chấm hay tâm của vòng tròn quan sát.

Đọc kết quả trên thang đo. Làm lại nhiều lần mỗi lần cần đúng nhiệt độ quy định

● **Xác định chỉ số xà phòng hóa** (Phạm Thị Ánh Hồng, 2003; Phạm Văn Sở và ctv, 2001)

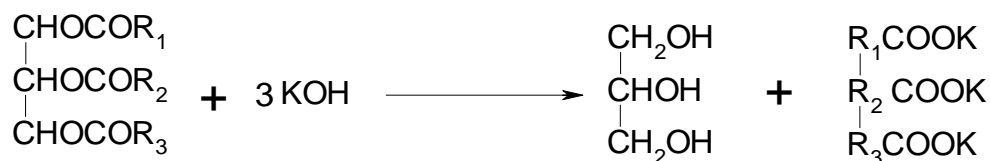
*** Định nghĩa**

Chỉ số xà phòng hoá là số gram natrihydroxit cần thiết để trung hoà các acid béo tự do và xà phòng hoá các este chứa trong một gram chất thử.

*** Phương pháp xác định chỉ số xà phòng hóa**

Nguyên tắc

Cho chất cần thử kết hợp với một lượng KOH thừa, để xác định các chất béo chuyển thành xà phòng. Phần KOH dư được định lượng bằng acid chuẩn với phenoltalein làm chất chỉ thị màu.



Vật liệu, thiết bị và hoá chất

Dụng cụ thông thường của phòng thí nghiệm

Máy cất có ống sinh hàn đối lưu

Dung dịch KOH 0,5N trong cồn 95⁰

Dung dịch HCL 0,5N trong nước

Dung dịch phenoltalein 5% trong nước

Tiến hành

Cân chính xác 0,5 g dầu cho vào bình cầu của máy cất, với 15 ml dung dịch KOH 0,5N trong cồn. Lắp ống sinh hàn hồi lưu vào bình cầu và đun cách thủy sôi nhẹ từ 30 đến 60 phút cho đến khi phản ứng xà phòng hoá kết thúc (dung dịch trong bình vẫn trong suốt đồng đều không biến đổi khi pha loãng với nước).

Song song làm một mẫu không có chất thử với 0,5 ml nước cất 15 ml dung dịch KOH 0,5N trong cồn và tiến hành trong cùng một điều kiện như trên.

Ngay sau khi xà phòng hoá hoàn toàn pha loãng mỗi bình với 15 ml nước cất mới đun sôi để nguội, thêm vào mỗi bình 1 ml phenolalein 1% và định lượng bằng dung dịch acid HCL 0,5N cho đến khi mất màu.

Tính kết quả

$$\text{Chỉ số xà phòng hoá: } X_p = \frac{(a - b) * 28,05 * T}{m}$$

Trong đó 28,05 l là số gram KOH tương ứng với 1 ml KOH 0,5N

a là lượng dung dịch HCL 0,5N dùng để chuẩn độ mẫu màu trắng

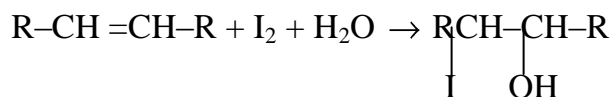
b là lượng dung dịch HCL 0,5N dùng để chuẩn độ mẫu cần thử

T l là hệ số hiệu chỉnh nồng độ của dung dịch HCL 0,5N

● Xác định chỉ số iod (Phạm Thị Ánh Hồng, 2003)

*** Định nghĩa**

Chỉ số Iod là số gram Iod kết hợp với 100g chất béo



*** Tiến hành**

Lấy hai erlen cho vào đó theo bảng sau:

Hóa chất	Mẫu thử	Mẫu trắng
Dầu (g)	0,1 – 0,2	0
Nước cất (ml)	0	0,1 – 0,2
Ethanol (ml)	10	10
Iod 0,1N trong cồn	10	10

Lắc đều để yên trong 15 phút. Sau 15 phút chuẩn độ bằng $Na_2S_2O_3$ 0,1N, lắc đều đến khi có màu vàng nhạt, gần cuối cùng cho thêm vào 2ml dung dịch hồ tinh bột, 2 – 3 ml clorofoc, chuẩn độ đến khi mất màu.

*** Tính kết quả**

$$A_I = \frac{(a-b) * T * 12,69 * 100}{m * 1000}$$

a là số ml $Na_2S_2O_3$ 0,1N dùng để chuẩn độ mẫu trắng

b là số ml $Na_2S_2O_3$ 0,1N dùng để chuẩn độ mẫu Iod

m là khối lượng chất thử (g)

T là hệ số hiệu chỉnh của dung dịch $Na_2S_2O_3$ 0,1N (T = 0,96)

12,96 là số mg $Na_2S_2O_3$ 0,1N tương ứng với 1 ml dung dịch $Na_2S_2O_3$

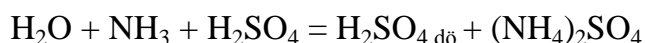
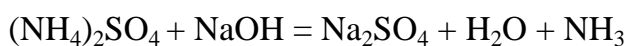
● **Xác định hàm lượng Nitơ tổng theo phương pháp MICRO-KJEIDAHL**
(Nguyễn Văn Mùi, 2001)

*** Nguyên tắc**

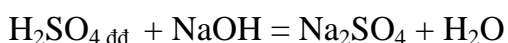
Gồm hai giai đoạn

- Giai đoạn vô cơ: Nitơ tổng số là tất cả các dạng Nitơ có trong mẫu. Khi đốt nóng mẫu cần phân tích với H_2SO_4 đậm đặc có mặt chất xúc tác, tất cả các dạng đạm có trong mẫu đều biến thành dạng vô cơ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ tan trong dung dịch.

- Giai đoạn cất đạm: sau khi vô cơ hoá ta đuổi NH_3 ra khỏi dung dịch bằng NaOH , lượng dư lọc còn qua máy Parmas và dẫn đến 1 erlen chứa một lượng thừa H_2SO_4 đã biết chính xác nồng độ.



Định lượng H_2SO_4 còn lại bằng dung dịch NaOH , qua đó tính được lượng nitơ có trong mẫu



* **Vật liệu thiết bị và hoá chất**

Dụng cụ thông thường của phòng thí nghiệm

Bình Kjeldahl 50 ml

Bộ cất đạm

H_2SO_4 đđ, H_2SO_4 2N: 0,1N, NaOH đ đ, (40%), 0,1N

Phenoltalein, Methyl đỏ, giấy quỳ

* **Cách tiến hành**

- Vô cơ hoá: tiến hành trong tủ hotte

Cho mẫu vào bình Kjendahl; hút 1 hoặc 2 ml (chú ý sao cho nguyên liệu không dính vào thành cổ bình. Thêm 10 ml H_2SO_4 đđ và 0,5 g xúc tác.

Chất xúc tác có thể dùng một trong các hỗn hợp sau:

K_2SO_4 : CuSO_4 : Se (100 : 10 : 1)

CuSO_4 : K_2SO_4 (1:3)

Se kim loại (0,05 g)

Đun nhẹ hỗn hợp tránh để sôi trào, đun mạnh khi hỗn hợp hoàn toàn chuyển sang dịch lỏng đến khi dung dịch chuyển hoàn toàn thành màu trắng. Chuyển dung dịch vào bình định mức 100 ml, thêm nước cất cho đến vạch định mức. Chú ý phải làm nguội và lắc đều.

- Cất đạm: Lấy vào erlen 10 ml dung dịch H_2SO_4 0,1N cho thêm ba giọt phenoltalein lắp vào hệ thống. Hút 10 ml dung dịch đã vô cơ hoá từ bình định mức cho chảy từ từ vào phễu. Đun sôi, mở van cho dịch chảy từ từ vô. Tráng phễu với nước cất. Cho 10

ml NaOH đậm đặc vào. Quá trình cất đậm kết thúc sau 25 phút. Có thể kiểm tra xem NH_3 đã cất hoàn toàn chưa bằng cách đưa giấy quỳ vào ống xem có đổi màu hay không nếu không coi như NH_3 được cất hoàn toàn. Định lượng H_2SO_4 0,1N thừa bằng dung dịch chuẩn NaOH 0,1N cho đến khi có màu hồng nhạt

* **Tính kết quả**

Hàm lượng Nitơ trong mẫu được tính theo công thức sau:

$$X = \frac{(a - b * T) * 0,0014 * 100 * 1000}{10 * V}$$

Trong đó:

X: hàm lượng Nitơ tính bằng g/l

a : số ml H_2SO_4 đem hấp thụ NH_3

b : số ml NaOH 0,1N tiêu tốn khi hấp thụ H_2SO_4 thừa

V : số ml mẫu đem vô cơ hoá

0,0014 : lượng gram nitơ ứng với 1 ml H_2SO_4 0,1N

T : hệ số hiệu chỉnh nồng độ dung dịch NaOH 0,1N (T = 0,84)

● **Phương pháp xác định thành phần của acid béo trong dầu neem bằng kỹ thuật sắc ký khí (GC – Gas Chromatography)**

Mẫu dầu neem trước khi chạy GC phải được loại nước và methyl ester hoá. Xác định thành phần và phần trăm axit béo trong mẫu trên máy sắc ký khí HP 6890, series I – GC system (+ plus) với các thông số sau:

- Cột: Inowax - kapilar

- Detector: FDP

- Khí mang H_2

- Chạy chương trình nhiệt: 3 phút ở 50°C , nâng lên $8^{\circ}/\text{phút}$ đến 240°C và duy trì nhiệt độ này trong 15 phút.

Chất chuẩn (các axit béo) cũng được chạy theo các thông số dùng cho mẫu phân tích để định tính thành phần axit béo có trong mẫu.

* **Tính toán**

Thành phần % axit béo = (Diện tích peak của axit béo đó/ tổng diện tích peak của tất cả các axit béo trong dầu neem) × 100%.

● **Xác định Lipid tổng theo phương pháp Foch** (Lê Thị Thanh Mai, 2001)

* **Nguyên tắc**

Tách lipid ra khỏi cơ chất hay nguyên liệu bằng hỗn hợp chloroforme : methanol (2:1). Rửa chất phi lipid, sấy khô một phần và cân kết tủa.

* **Vật liệu, thiết bị và hoá chất**

Dụng cụ thông thường của phòng thí nghiệm

Chloroforme: menthol (2: 1)

Nước cất

* **Tiến hành**

Cân 0,5g mẫu cho vào bình định mức 25 ml, cho 10 ml hỗn hợp chloroforme, methanol vào và lắc mạnh cho tiếp hỗn hợp chloroforme : methanol cho đủ 25 ml, lắc đều 5 – 10 phút. Lọc qua giấy lọc, thu toàn bộ dịch chiết.

Cho dung dịch thu được qua phễu chiết để qua đêm. Hôm sau tách thành ba lớp:

Lớp 1: lớp trên trong suốt là methanol và nước

Lớp 2: lớp màu trắng ở giữa là proteolipid

Lớp 3: lớp dưới đục là chloroforme hoà tan lipid

Tách lấy lớp thứ hai và thứ ba cho vào đĩa petri. Sấy ở nhiệt độ phòng sau đó sấy ở nhiệt độ 50 – 60⁰C cho đến khi khối lượng không đổi

* **Tính kết quả**

Lượng lipid có trong mẫu được tính theo công thức sau:

$$L = \frac{m * V}{10 * 0,5} * 100\%$$

Trong đó V là thể tích dịch chiết thu được sau khi lọc

m l à khối lượng lipid thu được từ 10 ml dịch chiết

0,5 là số gram mẫu mang đi xác định lipid.

● **Định lượng đường tổng số** (Nguyễn Thị Ánh Hồng, 2003)

Định lượng đường tổng số bằng phương pháp so màu.

* Nguyên tắc

Dựa trên phản ứng màu đặc trưng của đường với sự hiện diện của H_2SO_4 . Sự chính xác của kết quả phụ thuộc vào:

- Độ sạch của dụng cụ
- Độ tinh khiết của thuốc thử, nhất là H_2SO_4
- Nhiệt độ phải cố định trong suốt thời gian đun

Để tạo phản ứng màu, có thể dùng nhiều loại thuốc thử khác nhau như: Phenol, antron hay orcinol.

Trong thí nghiệm này thuốc thử sử dụng là Phenol.

* Vật liệu, thiết bị và hóa chất

- Dụng cụ thông thường của phòng thí nghiệm
- Máy đo quang phổ tử ngoại khả kiến (UV – Vis).
- Cồn 80^0 , 96^0
- H_2SO_4 đậm đặc
- Thuốc thử phenol 60%: 6 thể tích H_2SO_4 đậm đặc và 4 thể tích nước cất.
- Các dung dịch đường chuẩn gồm: saccharose 0,1%; glucose 0,01%.

* Tiến hành

Gồm 2 bước

- Bước 1: Ly trích đường

Nghiền nguyên liệu cân định lượng đường, sau đó cân chính xác 1 – 2 g nguyên liệu đã nghiền nhuyễn có chứa khoảng 5 – 50 mg đường cho vào cốc thủy tinh 50 ml và thêm 10 ml cồn 96^0 vào. Đun cốc trên nồi cách thủy cho sôi 3 lần (mỗi lần sôi, lấy cốc ra cho nguội bớt rồi đặt trở lại). Khuấy đều bằng que thủy tinh, để nguội, lọc qua giấy lọc (giữ cặn, không đổ cặn lên giấy lọc)

Sau đó thêm 10 ml cồn 80^0 vào cốc chứa cặn, khuấy đều, đun sôi hai lần trên nồi cách thủy. Để nguội, lọc. Tiếp tục làm như vậy khoảng hai lần. Sau đó đưa cặn lên giấy lọc và tráng cốc 2 – 3 lần bằng cồn 80^0 nóng (nước tráng cũng cho cả lên lọc). Dịch lọc cho bay hơi ở nhiệt độ phòng hoặc đun nhẹ trên nồi cách thủy để còn bay hơi hết.

Pha loãng cặn thu được với nước cất thành 50 ml. Để lắng, dung dịch này được dùng để xác định hàm lượng đường, có thể pha loãng dung dịch 5 – 10 lần tùy theo nồng độ đường có trong dung dịch nhiều hay ít.

- **Bước 2:** Thực hiện phản ứng màu bằng cách sử dụng thuốc thử là phenol

Hút 1 ml dung dịch đường cần định lượng cho vào ống nghiệm rồi cho thêm vào 1 ml dung dịch phenol 5%. Sau đó, cho chính xác 5 ml acid H_2SO_4 đậm đặc vào ống nghiệm (không để dính acid vào thành ống nghiệm). Để 10 phút rồi lắc, giữ trên nồi cách thủy 10 – 20 phút ở $25 - 30^{\circ}C$ để hiện màu.

Xây dựng đồ thị chuẩn

Lấy 7 bình định mức 100 ml cho vào đó theo thứ tự 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ml dung dịch saccharose 0,1%, cho thêm nước đến vạch mức. Từ mỗi bình lấy ra 1 ml đã pha loãng cho vào ống nghiệm rồi nhuộm màu bằng phenol và H_2SO_4 như đã nói ở trên. Trong mỗi ống nghiệm sẽ chứa tương ứng là 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 μg saccharose. Phải làm ống thử không với 1 ml nước cất thay thế dung dịch đường.

Màu bền vững trong vài giờ. Xác định cường độ màu bằng máy so màu ở bước sóng 490 nm.

*** Tính kết quả**

Trị số mật độ quang của những ống mẫu phải trừ đi trị số mật độ quang của ống thử không. Từ đó ta xây dựng một đường cong chuẩn. Mặt khác, trị số mật độ quang của dung dịch đường cần định lượng cũng phải trừ đi trị số mật độ quang của ống thử không rồi dựa vào đường cong chuẩn để suy ra nồng độ x, từ đó tính ra % lượng đường trong mẫu.

3.2.2.3 Đánh giá tính ổn định của chế phẩm trong quá trình bảo quản

* Tạo các chế phẩm neem để phòng trừ ngài gạo theo công thức cơ bản của Viện Sinh Học Nhiệt Đới. Công thức cơ bản của chế phẩm là dầu neem và dịch chiết bánh dầu ở một tỷ lệ nhất định, trộn đều với chất hấp thụ (bột talc), chất bảo quản, chất hỗ trợ thăng hoa (tinh dầu thông) trộn đều sau đó dùng khuôn để ép thành chế phẩm dạng viên, hình tròn.

Riêng chất bảo quản thì sử dụng BHT (3% v à 5%), dầu mè đen (3% v à 5%). Các chế phẩm này được giữ ở hai mức nhiệt độ (phòng và $5^{\circ}C$) kết hợp với ánh sáng phòng và che sáng tạo thành 16 công thức bảo quản. Đối chứng là không dùng chất bảo quản khảo sát trong cùng điều kiện như trên.

Bảng 3.1: Các công thức bảo quản chế phẩm neem

	Chất		Chế độ bảo quản	

STT	bảo quản	Nồng độ (%)	Nhiệt độ phòng	5°C	Ánh sáng phòng	Tối	Ký hiệu công thức
Nhóm 1	BHT	3	X		X		1
			X			X	2
				X	X		3
				X		X	4
		5	X		X		1
			X			X	2
				X	X		3
				X		X	4
Nhóm 2	Dầu mè	3	X		X		1
			X			X	2
				X	X		3
				X		X	4
		5	X		X		1
			X			X	2
				X	X		3
				X		X	4
Nhóm 3 Đối chúng	-	-	X		X		1
			X			X	2
				X	X		3
				X		X	4

*** Thử nghiệm trên ngai gạo**

Ở mỗi điều kiện bảo quản theo chế độ như trên, các chế phẩm được đem xử lý ngai gạo theo phương pháp như sau: (ASEAN Food Handling Bureau, 1989; Nguyễn Hữu Đạt, 1997)

Nuôi ấu trùng ngài gạo trong các lọ nhựa thể tích một lít chứa 400 g gạo sạch. Đặt chế phẩm lên trên bề mặt gạo rồi đậy kín trong 3 ngày ghi nhận số ấu trùng chết sau 7 ngày. Số còn sống tiếp tục theo dõi mức độ vũ hoá.

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với ba lần lặp lại. Kết quả các nghiệm thức được phân tích ANOVA và phân hạng theo trắc nghiệm Duncan thao tác trên phần mềm Statgraphic 7.0

* Thử nghiệm trên *Artemia salina*

Artemia salina từ lâu được xem là một trong vài sinh vật chuẩn để thử nghiệm độc tính của nhiều loại hợp chất, đặc biệt là các hợp chất thứ cấp có nguồn gốc thảo mộc (Vũ Đình Quốc, 2005).

Artemia salina sử dụng nguồn trứng bào xác *Artemia salina* do công ty Ocean Star (Mỹ) sản xuất.

- Ấp trứng thành ấu trùng

Nước biển thiên nhiên được tiệt trùng bằng cách đun sôi, để nguội và chỉnh lại độ Ph từ 7,5 – 7,9; độ mặn từ 29 – 30%.

Lấy 60 mg trứng *Artemia salina* cho vào becher chứa 200 ml nước biển đã chuẩn bị và để nơi có ánh sáng để trứng nở ra ấu trùng.

Ấu trùng dùng để thí nghiệm là ấu trùng nở sau 24 giờ.

- Tiến hành thí nghiệm

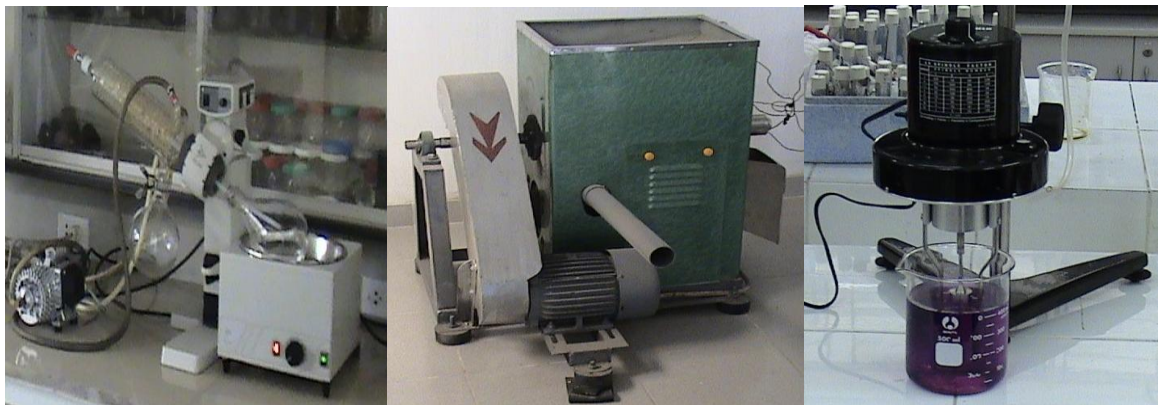
Cho vào mỗi ống nghiệm (chứa 10 ml nước biển) 10 ấu trùng *Artemia salina* và chế phẩm. Các ống nghiệm đều được sục khí để đảm bảo lượng oxy cần thiết cho quá trình sống của *Artemia salina* cũng như giúp cho các chế phẩm hoà tan đều trong môi trường nước biển.

Đếm số lượng *Artemia salina* chết sau 6, 24, 48, và 72 giờ.

Thí nghiệm được thiết kế theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với ba lần lặp lại.



Hình 3.1 Máy ép dầu



a

b

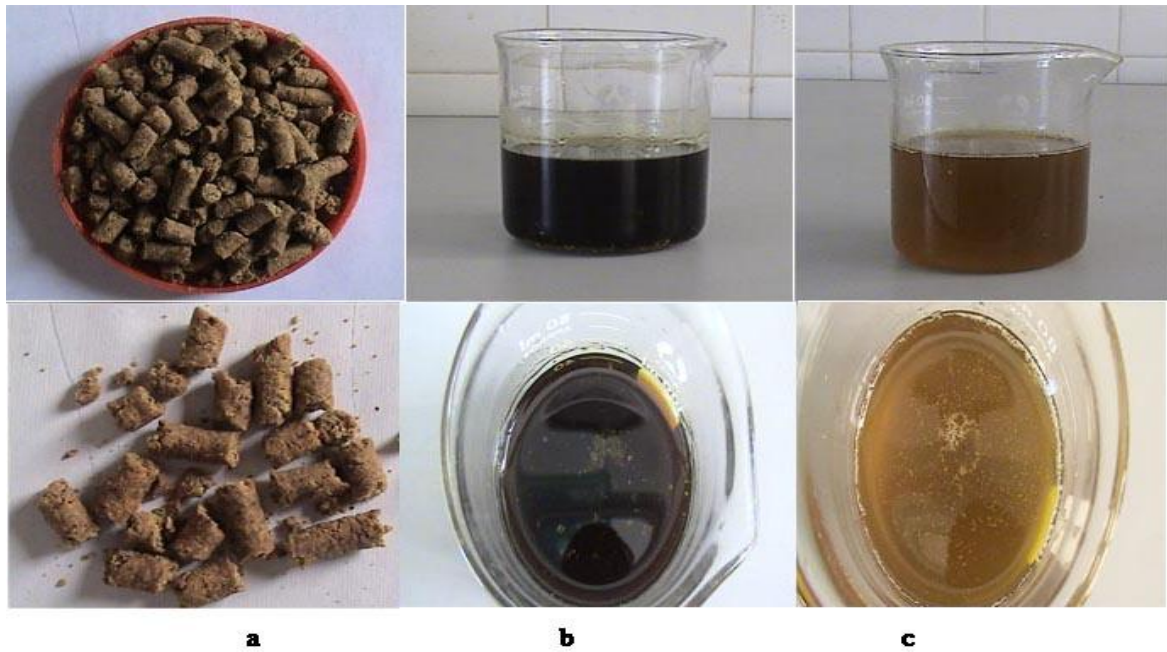
c

Hình 3.2 Một số máy khác dùng trong quá trình thí nghiệm

a. Máy tách vò

b. Máy cô quay chân không

c. Máy đo độ nhớt



Hình 3.3 Các sản phẩm thô từ neem

a. Bánh dầu neem

b. Dịch chiết bánh dầu

c. Dầu neem



Hình 3.4 Dụng cụ tạo chế phẩm viên nén từ neem



Hình 3.5 Quá trình tạo chế phẩm



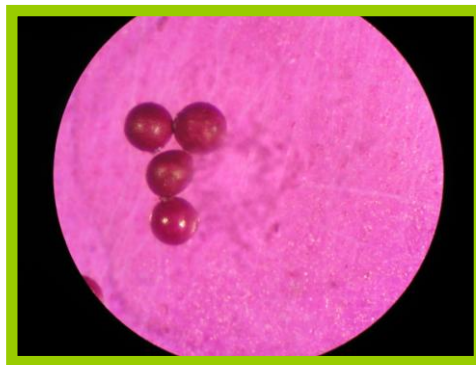
Hình 3.6 Chế phẩm viên nén



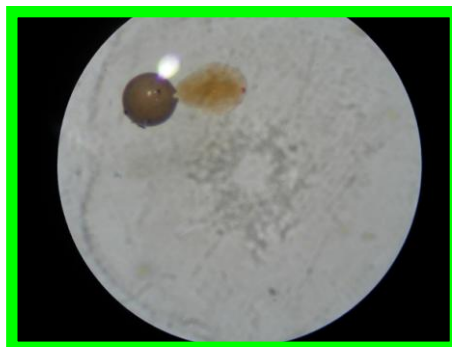
Hình 3.7 Nuôi ngài gạo trong môi trường cám gạo



Hình 3.8 Thử nghiệm chế phẩm viên nén trên ngàì gạo



Hình 3.9 Trứng *Artemia salina*



Hình 3.10 Ấu trùng nở ra từ trứng *Artemia salina*

Chương 4

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**4.1 Đặc tính lý hoá của dầu neem**

Dầu neem sau được ép bằng máy Komet được lọc bỏ cặn, để lạnh ở 10⁰C, lấy phần dầu phía trên để tiến hành phân tích. Kết quả cho thấy dầu neem ở Việt Nam có nhiều đặc điểm tương tự dầu neem Ấn Độ (Lim, 1994 và Tewari, 1992).

Bảng 4.1: Đặc điểm lý hóa của dầu neem

STT	Chỉ tiêu	Kết quả	
		Dầu neem Việt Nam	Dầu neem Ấn Độ
1	Màu sắc	Vàng nâu	Vàng nâu
2	Mùi	Mùi tỏi	Mùi tỏi
3	Vị	Đắng	Đắng
4	pH	5,73	-
5	Tỷ trọng	0,916	0,9087 - 0,9189
6	Hệ số nhớt	38,97	
7	Độ khúc xạ	$n_D^{20}=1,47$	$n_D^{20}=1,4617 - 1,4627$
8	Chỉ số xà phòng hóa	208,8	193 - 204
9	Chỉ số Iod	70,43	68 - 76
10	Lipid tổng số	84%	-
11	Nitơ tổng số	0,435%	-
12	Đường hoà tan tổng	1,65%	-

Dầu neem cũng tương tự như các loại dầu thực vật khác, màu của dầu là do sự tồn tại của một số chất màu có tính tan trong dầu, ta biết các carotenoid gồm khoảng 65 - 70 màu khác nhau từ màu vàng sáng đến đỏ thẫm. Dầu neem có màu vàng nâu đặc

trung cho phương pháp ép lạnh, do không gia nhiệt nên những hoạt chất có trong dầu neem không bị phân huỷ làm do dầu có màu che sáng, có mùi khét.

Dầu neem có mùi tỏi, vị đắng là do có chứa hợp chất của sulfur, đó là 2-methyl-2-pentenal; 2,4 – dimethylthipene; 3,4 – dimethylthipene; dipropyl disulfide; cis - và trans – 3,5 – diethyl – 1,2,4 – trithiolanes (Dennis, 1992; Vũ Đăng Khánh, 2004). Đối với các loại dầu thông thường thì có thể khử mùi bằng cách dùng hơi của nhiệt cộng với hệ thống hút chân không thật tốt và nhiệt độ của dầu lên đến 200 -220⁰C. Nhưng đối với dầu neem chứa nhiều chất có hoạt tính sinh học, dễ bị phân huỷ bởi nhiệt độ nên biện pháp này không thể áp dụng để khử mùi dầu neem.

Tỷ trọng của dầu neem là 0,916 tương thích với dầu neem Ấn Độ. Thông thường dầu mỡ có chỉ số khúc xạ vào khoảng 1,448 – 1,474. Chỉ số khúc xạ càng lớn thì mức độ không no của dầu càng lớn.

Chỉ số xà phòng hoá của dầu neem 208,8; chỉ số xà phòng hoá càng cao chứng tỏ trong dầu mỡ có nhiều axit béo có phân tử lượng thấp và ngược lại.

Chỉ số iod của dầu neem Việt Nam là 10,43 thấp hơn rất nhiều so với dầu neem Ấn Độ (68 - 72). Chỉ số iod càng cao thì trong dầu mỡ có nhiều axit béo không no và ngược lại. Dựa vào chỉ số iod người ta phân dầu mỡ thành 3 loại:

- Dầu khô $I > 130$
- Dầu bán khô $I = 100 - 130$
- Dầu không khô $I < 100$

Như vậy dầu neem thuộc loại dầu không khô.

Lipid tổng số của dầu neem là 84% cao hơn trong lá neem (4,9%), bánh dầu neem (6,5%), nhân hạt (32,25%) theo (Trà Quang Vũ, 2005) do đó trong các sản phẩm trừ dịch hại dạng lỏng người ta thường phải thêm chất nhũ hoá vào dung dịch dầu neem, ngoài ra với hàm lượng lipid cao, dầu neem có thể làm chất bôi trơn, mỹ phẩm.

Nitơ tổng của dầu neem là 0,435% thấp hơn rất nhiều so với lá (24,27%); bánh dầu (44,25%); nhân (31,77%) do đó bánh dầu neem, lá với hàm lượng nitơ cao có thể dùng làm phân bón còn dầu neem với hàm lượng nitơ tổng rất thấp thì hoàn toàn không thích hợp.

Hàm lượng đường tổng số trong dầu neem thấp 1,65%; trong nhân (7,25%); bánh dầu (8,63%) và trong lá (7,3%) (Trà Quang Vũ, 2005).

Qua phân tích ở trên ta thấy dầu neem còn thuộc nhóm dầu không khô đồng thời chỉ số xà phòng hoá của dầu neem cũng thấp nên trong dầu có ít axit béo có phân tử lượng nhỏ.

Sau khi loại nước, dầu neem được phân tích các thành phần axit béo bằng kỹ thuật sắc ký khí. Kết quả trình bày ở bảng 4.2. Dầu neem có hàm lượng axit béo không bão hòa cao, chiếm trên 60% tổng số các axit béo, trong đó chủ yếu là axit oleic (41%). Theo nhiều nghiên cứu, axit béo không bão hòa cũng có tác dụng tiêu diệt nhiều loài côn trùng như mối, mọt, ruồi đục quả, bọ rầy.

Bảng 4.2 Thành phần axit béo của dầu neem

Axit béo		Tỷ lệ các axit béo (%)	
		Dầu neem Việt Nam	Dầu neem Ấn Độ
Không bão hòa	a.Oleic (C18=)	41,67	41,0
	a. Linoleic (C18 2=)	17,31	20,0
	a.Linolenic (C18 3=)	1,46	1,0
Bão hòa	a.Stearic (C18)	20,38	20
	a.Palmitic (C16)	16,02	18
	a.Mistiric (C14)	2,1	2,6
	a.Lauric (C12)	0,32	
	a.Captic (C10)	0,38	

**Kết quả phân tích do Viện hoá cung cấp*

Thành phần và hàm lượng các axit béo trong dầu neem khác nhau tùy thuộc vào vùng, tùy vào cây, cách thu hái quả và cách ép dầu. Trong nghiên cứu gần đây cho thấy thành phần axit béo trong hạt thu từ các tỉnh khác nhau ở cùng một quốc gia có sự khác nhau (Kaushik. N and Vir. S, 2000).

Dầu neem ép từ hạt neem Ninh Thuận có nồng độ axit béo không no khá cao chiếm gần 60%, các axit béo không no này rất nhạy cảm với nhiệt độ và ánh sáng. Các axit

béo không no tác dụng với oxy trong không khí tạo ra các gốc hydrocacbua tự do và các gốc peroxyt, quá trình này cứ lặp đi lặp lại cho đến khi hết các hoá trị tự do. Vì vậy trong bảo quản dầu neem hay những chế phẩm từ dầu neem cần sử dụng chất chống oxy hoá và chất chống ánh sáng tan có khả năng trong dầu kết hợp với các chế độ bảo quản thích hợp.

4.2 Kết quả thí nghiệm sinh học trên ngài gạo

4.2.1 Đánh giá theo nồng độ các chất bảo quản

4.2.1.1 Chất bảo quản BHT 3%

Bảng 4.3. Hiệu lực gây chết ngài gạo của các chế phẩm neem được bảo quản với BHT 3%

Công thức bảo quản	Tỉ lệ sâu chết (%)			
	T ₀	2 tuần	4 tuần	8 tuần
1	93,3	78,3 c	63,3 c	56,7 b
2		86,7 b	60,0 c	60,0 b
3		90,0 ab	68,3 b	63,3 ab
4		91,7 a	76,7 a	70,0 a

* Các trị số đồng ký tự trong cùng một cột thì không có khác biệt về thống kê ở $P < 0,05$

Kết quả ở bảng 4.3 cho thấy khi sử dụng chất bảo quản BHT ở nồng độ 3%, kết quả sử dụng chế phẩm mới phối trộn gây chết 93,3% ngài gạo thí nghiệm.

Sau 2 tuần, hiệu lực gây chết ngài gạo của các chế phẩm bảo quản đều giảm nhưng ở các mức độ khác nhau. Trong đó, hiệu lực của các chế phẩm bảo quản ở nhiệt độ phòng giảm nhanh hơn (chỉ gây chết từ 78,3 – 86,7%) so với các chế phẩm bảo quản ở 5⁰C (gây chết từ 90,0 - 91,7%). Ở thời điểm này, khi bảo quản lạnh, không có sự khác biệt về hiệu lực gây chết giữa 2 chế độ sáng và che sáng; nhưng ở nhiệt độ phòng thì chế phẩm bảo quản ngoài sáng bị giảm hiệu lực rõ rệt, chỉ gây chết 78,3%.

Sau 4 tuần, nhìn chung hiệu lực gây chết của các chế phẩm tiếp tục giảm. Chế phẩm bảo quản ở nhiệt độ phòng có hiệu lực yếu hơn (chỉ gây chết 60 – 63,3%) so với bảo quản ở nhiệt độ lạnh (gây chết 68,3 – 78,7%). Ở nhiệt độ phòng, không có sự khác biệt về hiệu lực chế phẩm giữa 2 chế độ sáng và che sáng. Trong khi bảo quản ở điều

kiện lạnh thì hiệu lực chế phẩm khác biệt rõ rệt giữa 2 chế độ này, tương ứng với tỉ lệ gây chết là 68,3 và 76,7%.

Sau 8 tuần, chế phẩm bảo quản ở nhiệt độ lạnh có hiệu lực cao hơn chế phẩm bảo quản ở nhiệt độ phòng. Tuy nhiên, trong cùng điều kiện nhiệt độ thì không có sự khác biệt về hiệu lực chế phẩm giữa hai chế độ sáng và che sáng với tỉ lệ chết tương ứng là 56,7%; 60% (nhiệt độ phòng) và 63,3%; 70% (nhiệt độ lạnh)

Nhìn chung, hiệu lực gây chết ngòi gạo của các chế phẩm bảo quản giảm dần theo thời gian. So với thời điểm T_0 , sau hai tuần chế phẩm được bảo quản ở nhiệt độ phòng – che sáng, lạnh – sáng và lạnh - che sáng giảm hoạt lực chậm, tương ứng với sự giảm tỉ lệ chết là 6,6%; 3,3%, 2,4%; trong khi hiệu lực gây chết của chế phẩm bảo quản ở nhiệt độ phòng - sáng giảm nhanh đến 15%.

So với thời điểm hai tuần, chế phẩm được bảo quản 4 tuần có hiệu lực gây chết giảm nhanh đến 26,7% (nhiệt độ phòng – che sáng), 21,7% (lạnh - sáng) và 15% (nhiệt độ phòng – sáng và lạnh - che sáng). So với thời điểm 4 tuần, chế phẩm sau 8 tuần bảo quản ít giảm hiệu lực hơn, với tỉ lệ chết giảm chỉ từ 5 – 6,7%.

Bảng 4.4. % Hiệu lực của chế phẩm bảo quản với BHT 3% so với ban đầu

Công thức bảo quản	Thời gian bảo quản		
	2 tuần	4 tuần	8 tuần
1	83,9	67,8	60,8
2	92,9	64,3	64,3
3	96,5	73,2	67,8
4	98,3	82,2	75

Bảng 4.4 cho thấy sau 2 tuần, trong khi hiệu lực gây chết của các chế phẩm bảo quản ở nhiệt độ phòng (công thức 1, 2) chỉ còn từ 83,9 – 92,9% (tương ứng với sáng và che sáng) so với ban đầu thì các chế phẩm bảo quản ở nhiệt độ lạnh 5⁰C (công thức 3, 4) còn từ 96,5 – 98,3% (tương ứng sáng và che sáng).

Nhìn chung, chế phẩm bảo quản trong che sáng đa số có hiệu lực mạnh hơn các chế phẩm ngoài sáng, đặc biệt khi kết hợp với bảo quản lạnh 5⁰C, hiệu lực sau 2 tuần là

98,3%; sau 4 tuần 82,2%; sau 8 tuần 75% còn chế phẩm được bảo quản ở nhiệt độ phòng – sáng thì hiệu lực chỉ còn 83,9% sau 2 tuần; 67,8 sau 4 tuần và 60,8 sau 8 tuần.

4.2.1.2 Bảo quản với BHT 5%

Bảng 4.5 Hiệu lực gây chết ngài gạo của các chế phẩm neem được bảo quản với BHT 5%

Công thức bảo quản	Thời gian bảo quản			
	T ₀	2 tuần	4 tuần	8 tuần
5	91,7	81,7 b	70,0 c	61,7 a
6		86,7 ab	76,7 bc	65,0 a
7		91,7 a	83,3 ab	65,0 a
8		91,7 a	86,7 a	66,7 a

* Các trị số đồng ký tự trong cùng một cột thì không có khác biệt về thống kê ở $P < 0,05$

Khi sử dụng chất bảo quản BHT ở nồng độ 5%, kết quả sử dụng chế phẩm mới phối trộn gây chết trung bình 91,7% ngài gạo thí nghiệm.

Sau 2 tuần bảo quản, chế phẩm được bảo quản ở điều kiện lạnh không bị giảm hiệu lực gây chết, trong khi hiệu lực của chế phẩm bảo quản ở nhiệt độ phòng – sáng giảm ở mức thấp (81,7%).

Sau 4 tuần, hiệu lực gây chết ngài gạo của chế phẩm ở điều kiện bảo quản nhiệt độ phòng và lạnh tương đối có sự khác biệt, tương ứng 70 - 76,7% và 83,3 - 86,7%. Tuy nhiên, sau 8 tuần bảo quản theo các chế độ, không có khác biệt ý nghĩa về hiệu lực gây chết của các chế phẩm. Ở công thức 5 (nhiệt độ phòng – sáng), sự giảm hiệu lực là 10%; 21,7% và 30% tương ứng ở thời điểm sau 2, 4 và 8 tuần bảo quản. Ở công thức 6 (nhiệt độ phòng – che sáng), sự giảm hiệu lực là 5%, 10% và 6,7% tương ứng ở thời điểm sau 2, 4 và 8 tuần bảo quản. Ở công thức 7 và 8, sau 2 tuần bảo quản, tỷ lệ ngài gạo chết không giảm và bằng với thời điểm chế phẩm chưa bảo quản 91,7%. Tuy nhiên sau 8 tuần tỷ lệ ngài gạo thí nghiệm chết giảm còn 65 - 66,7% tương ứng với điều kiện bảo quản lạnh – sáng và lạnh - che sáng.

Qua đó cho thấy khi phối trộn chế phẩm với chất bảo quản BHT ở nồng độ 5% thì theo thời gian chế phẩm giảm hiệu lực không đáng kể đồng đều, trong đó cao nhất là

30% (nhiệt độ phòng – sáng) thấp nhất là 25% (lạnh - che sáng) còn chế phẩm với BHT 3% hiệu lực gây chết giảm nhanh, không đồng đều cao nhất là 39,9% (nhiệt độ phòng – che sáng) và thấp nhất là 24,3% (lạnh - che sáng).

Bảng 4.6 % Hiệu lực của chế phẩm bảo quản với BHT 5% so với ban đầu

Công thức bảo quản	Thời gian bảo quản		
	2 tuần	4 tuần	8 tuần
5	89,0	76,3	67,3
6	94,5	83,6	70,9
7	100,0	90,8	70,9
8	100,0	94,5	72,7

Với BHT 5%, những chế phẩm bảo quản ở nhiệt độ phòng sau 2 tuần hiệu lực giảm 89% và 94,5% ứng với điều kiện sáng, che sáng còn những chế phẩm bảo quản trong điều kiện lạnh 5⁰C vẫn giữ được hiệu lực như ban đầu. Sau 4 tuần, hiệu lực gây chết ngòi gạo ở công thức 5 và 6 giảm còn 76,3% - 83,6% (tương ứng với nhiệt độ phòng – sáng, nhiệt độ phòng - che sáng), trong khi đó ở công thức 7 và 8 hiệu lực chế phẩm là 90,8% và 94,5% (ứng với lạnh – sáng và lạnh - che sáng).

Sau 8 tuần hiệu lực gây chết của chế phẩm hầu như gần bằng nhau ở cả 4 công thức bảo quản, chế phẩm bảo quản ở nhiệt độ phòng – sáng có hiệu lực thấp nhất 67,3%, còn hiệu lực của chế phẩm ở điều kiện lạnh - che sáng cao nhất 72,7%.

Nhìn chung, hiệu lực của chế phẩm bảo quản với BHT ở nồng độ 5% không khác biệt so với bảo quản bằng BHT ở nồng độ 3%. Với BHT 3% hiệu lực gây chết sau 8 tuần lần lượt là 60,8; 64,3; 67,8; 75% còn với BHT 5% hiệu lực gây chết sau 8 tuần lần lượt là 67,3; 70,9; 70,9; 72,7% ứng với các điều kiện bảo quản nhiệt độ phòng – sáng, nhiệt độ phòng – che sáng, lạnh – sáng, lạnh - che sáng. Qua đó ta thấy khi tăng nồng độ BHT từ 3 lên 5% cũng không tăng cường được hiệu quả của chế phẩm về lâu dài. BHT được chứng minh không độc hại cho môi trường và hệ sinh thái và nằm

trong danh mục một số chất chống oxy hoá thông dụng dùng trong thực phẩm, trong thực phẩm BHT thường được dùng với nồng độ khoảng 5%.

4.2.1.3 Bảo quản với dầu mè 3%

Bảng 4.7 Hiệu lực gây chết ngài gạo của các chế phẩm neem được bảo quản với dầu mè 3%

Công thức bảo quản	Thời gian bảo quản			
	T ₀	2 tuần	4 tuần	8 tuần
9	95,0	81,7 b	66,7 b	61,7 c
10		85,0 b	68,3 b	65,0 bc
11		91,7 a	85,0 a	71,7 ab
12		95,0 a	86,7 a	78,3 a

* Các trị số đồng ký tự trong cùng một cột thì không có khác biệt về thống kê ở $P < 0,05$

Khi sử dụng dầu mè 3% làm chất bảo quản chế phẩm, kết quả sử dụng ngay chế phẩm mới phối trộn làm chết 95% ngài gạo thí nghiệm.

Khi thay đổi chế độ ánh sáng, hiệu lực gây chết tỏ ra không khác biệt trong cùng điều kiện nhiệt độ sau thời gian 2, 4 và 8 tuần.

Các chế phẩm bảo quản ở nhiệt độ phòng giảm hoạt tính nhanh hơn các chế phẩm ở 5°C khác biệt có ý nghĩa thống kê. Trong đó chế phẩm bảo quản ở điều kiện lạnh - che sáng không giảm hoạt tính sau 2 tuần, với tỷ lệ gây chết ổn định là 95%. Sau 4 và 8 tuần, các chế phẩm vẫn còn hiệu lực mạnh, tương ứng với tỉ lệ gây chết là 86,7 và 78,3%. Trái lại, chế phẩm bảo quản ở nhiệt độ phòng kết hợp ánh sáng bị giảm hoạt lực nhiều nhất với tỉ lệ gây chết tương ứng sau 2, 4 và 8 tuần là 81,7; 66,7 và 61,7%.

Bảng 4.8 % Hiệu lực hiệu lực gây chết của chế phẩm bảo quản với dầu mè 3% so với ban đầu

Công thức bảo quản	Thời gian bảo quản		
	2 tuần	4 tuần	8 tuần
9	86,0	70,21	64,95
10	89,47	71,89	68,42

11	96,52	89,47	75,47
12	100,0	91,26	82,42

Như vậy, sau 2 tuần các chế phẩm bảo quản ở nhiệt độ phòng (công thức 9, 10) hiệu lực chỉ còn 86,0 – 89,47% (ứng với sáng, che sáng), còn chế phẩm ở 5⁰C thì hoạt lực của chế phẩm giảm không đáng kể so với thời điểm ban đầu, cụ thể là 96,52 và 100% (ứng với sáng và che sáng).

Sau 8 tuần % hoạt lực giảm dần lần lượt là 64,95; 68,42; 75,47 và 82,42% tương ứng với các điều kiện bảo quản nhiệt độ phòng – sáng, nhiệt độ phòng – che sáng, lạnh – sáng và lạnh - che sáng. Trong đó các chế phẩm bảo quản ở 5⁰C kết hợp với che sáng còn giữ được hoạt tính cao nhất 82,42%.

4.2.1.4 Bảo quản với dầu mè 5%

Bảng 4.9 Hiệu lực gây chết ngài gạo của các chế phẩm neem được bảo quản với dầu mè 5%

Công thức bảo quản	Thời gian bảo quản			
	T ₀	2 tuần	4 tuần	8 tuần
13	93,3	83,3 a	68,3 b	61,7 c
14		83,3 a	73,3 b	68,3 b
15		86,7 a	83,3 a	75,0 a
16		88,3 a	86,7 a	80,0 a

* Các trị số đồng ký tự trong cùng một cột thì không có khác biệt về thống kê ở $P < 0,05$

Khi sử dụng chất bảo quản là dầu mè 5%, kết quả xử lý ngay làm chết 93,3% ngài gạo thí nghiệm.

Ở thời điểm 2 tuần, hiệu lực gây chết ngài gạo là như nhau về ý nghĩa thống kê học đối với 4 điều kiện bảo quản nhiệt độ phòng – sáng, nhiệt độ phòng – che sáng, lạnh – sáng và lạnh - che sáng (83,3%; 83,3%; 86,7% và 88,3).

Sau 4 tuần có sự khác biệt về phương diện thống kê giữa chế phẩm bảo quản ở nhiệt độ phòng và lạnh (5°C). Cụ thể 68,3%; 73,3% (nhiệt độ phòng – sáng, nhiệt độ phòng – che sáng) và 83,3%; 86,7% (lạnh – sáng, lạnh - che sáng).

Sau 8 tuần đã có sự khác biệt giữa từng điều kiện bảo quản có ý nghĩa thống kê. Hoạt lực của chế phẩm ở nhiệt độ phòng – sáng thấp hơn của chế phẩm ở nhiệt độ phòng - che sáng ứng với tỷ lệ gây chết ngài gạo là 61,7% và 68,3%. Cho thấy che sáng có tác dụng khi chế phẩm được bảo quản ở nhiệt độ phòng.

Ta thấy chế phẩm bảo quản ở nhiệt độ phòng – sáng, trong 2 tuần đầu giảm 10% hoạt tính, 2 tuần kế tiếp giảm 15% hoạt tính, 4 tuần sau đó giảm 6,6% hoạt tính; chế phẩm ở như trên nhưng kết hợp che sáng trong 2 tuần đầu hoạt giảm bằng với trường hợp không che sáng (sáng), 2 tuần kế cũng giảm 10% hoạt tính, 4 tuần kế tiếp giảm 5% hoạt tính. Trong trường chế phẩm được bảo quản lạnh – sáng thì 2 tuần đầu hoạt tính giảm 6,6%, 2 tuần kế tiếp giảm 10%, 4 tuần kế tiếp giảm 8,3%; còn khi bảo quản lạnh kết hợp che sáng thì 2 tuần đầu hoạt lực giảm 5%, 2 tuần tiếp giảm 6,6%, 4 tuần tiếp theo giảm 6,7%. Qua nhận xét trên ta thấy với chất bảo quản dầu mè 5% thời gian càng lâu hoạt tính bị mất đi càng ít và ở công thức bảo quản 16 (lạnh - che sáng) hoạt lực mất đi ít, đồng đều và giảm dần theo thời gian.

Bảng 4.10 % Hiệu lực hiệu lực gây chết của chế phẩm bảo quản với dầu mè 5% so với ban đầu

Công thức bảo quản	Thời gian bảo quản		
	2 tuần	4 tuần	8 tuần
13	89,2	73,2	66,1
14	89,2	78,6	73,2
15	92,9	89,2	80,4
16	94,6	92,2	85,7

Ta thấy, sau 4 tuần hoạt lực của chế phẩm bảo quản ở nhiệt độ phòng giảm còn 73,2 – 78,6% (công thức 13, 14) ứng với sáng và che sáng còn chế phẩm ở điều kiện lạnh cao hơn với hoạt lực còn 89,2 – 92,2% (công thức 15, 16) ứng với sáng, che sáng.

Chế phẩm giữ ở điều kiện lạnh hoạt tính bị mất thấp hơn, sau 8 tuần hoạt tính còn từ 80,4 – 85,7% trong khi các chế phẩm ở nhiệt độ phòng chỉ còn từ 66,1 – 73,2% hoạt lực.

So sánh hai bảng 4.7 và 4.9 ta thấy khi tăng nồng độ dầu mè từ 3% đến 5% nhưng theo thời gian hiệu lực của chế phẩm vẫn chưa có gì thay đổi đáng kể. Thậm chí chế phẩm với dầu mè 5% ở điều kiện bảo quản lạnh - che sáng sau 8 tuần hoạt lực thấp hơn so với chế phẩm với dầu mè 3% bảo quản cùng điều kiện (85,7% và 87%).

4.2.1.5 Chế phẩm không có chất bảo quản

Bảng 4.11 Hiệu lực gây chết ngài gạo của chế phẩm neem không chứa chất bảo quản

Công thức bảo quản	Thời gian bảo quản			
	T ₀	2 tuần	4 tuần	8 tuần
17	91,7	70,0 a	51,7 c	48,3 b
18		73,3 a	58,3 bc	50,0 b
19		76,7 a	65,0 ab	63,3 a
20		78,3 a	70,0 a	63,3 a

* Các trị số đồng ký tự trong cùng một cột thì không có khác biệt về thống kê ở $P < 0,05$

Chế phẩm không pha trộn chất bảo quản sau khi thử nghiệm ngay, tỷ lệ gây chết ngài gạo thí nghiệm là 91,7%.

Sau 2 tuần ở cả 4 công thức bảo quản tỷ lệ ngài chết đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Lần lượt là 70%; 73,3%; 76,7% và 78,3% ứng với 4 điều kiện: nhiệt độ phòng – sáng, nhiệt độ phòng – che sáng, lạnh – sáng và lạnh - che sáng.

Tương tự sau 4 tuần hiệu lực gây chết ngài gạo giống nhau về phương diện thống kê giữa công thức 17 và 18 với tỷ lệ chết là 51,7%; 58,3% (nhiệt độ phòng – sáng và nhiệt độ phòng – che sáng), 19 và 20 với tỷ lệ chết là 65%; 70% (lạnh – sáng và lạnh - che sáng). Bên cạnh đó giữa điều kiện bảo quản nhiệt độ phòng và lạnh 5⁰C hiệu lực gây chết ngài gạo có sự khác biệt, trong đó các chế phẩm được bảo quản ở 5⁰C tỏ ra tốt hơn hẳn so với các chế phẩm bảo quản ở nhiệt độ phòng.

Tương tự như vậy, hiệu lực gây chết ngài gạo của chế phẩm sau 8 tuần cho thấy sự khác biệt giữa hai chế độ bảo quản nhiệt độ phòng và lạnh (5⁰C). Cụ thể tỷ lệ gây chết là 48,3%, 50% (sáng, che sáng) và 63,3% (giống nhau ở điều kiện sáng, che sáng).

Với chế phẩm không dùng chất bảo quản hiệu lực đã giảm đáng kể ngay sau 2 tuần đầu tiên giảm 21,7%, 18,4%, 15%, 13,4%, sau 4 tuần là 40%; 33,4%; 26,6%; 21,7%; sau 8 tuần là 43,4%; 41,7%; 28,4%; 28,4% hoạt lực ứng với các điều kiện bảo quản: nhiệt độ phòng – sáng, nhiệt độ phòng - che sáng, lạnh – sáng và lạnh - che sáng.

Bảng 4.12 % Hiệu lực hiệu lực gây chết của chế phẩm không dùng chất bảo quản so với ban đầu

Công thức bảo quản	Thời gian bảo quản		
	2 tuần	4 tuần	8 tuần
17	76,3	56,4	52,7
18	79,9	63,6	54,5
19	83,6	70,9	69
20	85,4	76,3	69

Khi không dùng chất bảo quản sau 2 tuần hoạt lực chỉ còn 76,3%, 79,9%, 83,6% và 85,4% ứng với 4 công thức bảo quản.

Sau 8 tuần hoạt lực cao nhất chỉ còn 69% (chế phẩm được giữ ở điều kiện lạnh) so với ban đầu. Và đối với chế phẩm giữ ở nhiệt độ phòng thì hoạt lực giảm xuống chỉ còn 52,7%; 54,5% ứng với nhiệt độ phòng - sáng, nhiệt độ phòng - che sáng.

Ta thấy vẫn là chế phẩm đặt ở điều kiện lạnh thì tốt hơn nhiệt độ phòng, cụ thể là khi không có chất bảo quản chế phẩm đặt ở điều kiện lạnh thì lượng hoạt tính bị mất đi thấp nhất.

Nhìn chung, so chế phẩm không dùng chất bảo quản với các chế phẩm sử dụng chất bảo quản ta thấy chế phẩm không dùng chất bảo quản mất hoạt tính nhanh và nhiều hơn chế phẩm có dùng chất bảo quản, sau 8 tuần tỷ lệ gây chết ngài gạo ở công thức 13 là 61,7% (chất bảo quản dầu mè 5% ở nhiệt độ phòng – sáng); công thức 1 là 56,7% (chất bảo quản BHT 3% nhiệt độ phòng – sáng) trong khi đó cùng điều kiện

trên nhưng những chế phẩm không dùng chất bảo quản thì tỷ lệ gây chết chỉ còn 48,3%.

Như vậy, trong bốn công thức sử dụng chất bảo quản là BHT 3%, BHT 5%, dầu mè 3% và dầu mè 5% theo thời gian ta thấy chế phẩm có chất bảo quản là dầu mè có hoạt tính ổn định, giảm chậm và thấp hơn các chế phẩm dùng chất bảo quản là BHT ở cả 4 chế độ bảo quản nhiệt độ phòng - sáng, nhiệt độ phòng – che sáng, lạnh - sáng và lạnh – che sáng. Trong đó dầu mè 5% tỏ ra hiệu quả hơn dầu mè 3%. Ta biết trong dầu mè có lecithin là một tác nhân chống oxy hoá hữu hiệu.

4.2.2 Theo chế độ bảo quản

4.2.2.1 Điều kiện nhiệt độ phòng – sáng

Đồ thị 4.1 Hiệu lực gây chết ngài gạo của chế phẩm bảo quản ở nhiệt độ phòng - sáng

Qua biểu đồ trên ta thấy, hiệu lực của các chế phẩm giảm dần theo thời gian. Chế phẩm đối chứng không dùng chất bảo quản luôn có hoạt lực giảm nhanh và thấp nhất so với các chế phẩm có dùng chất bảo quản.

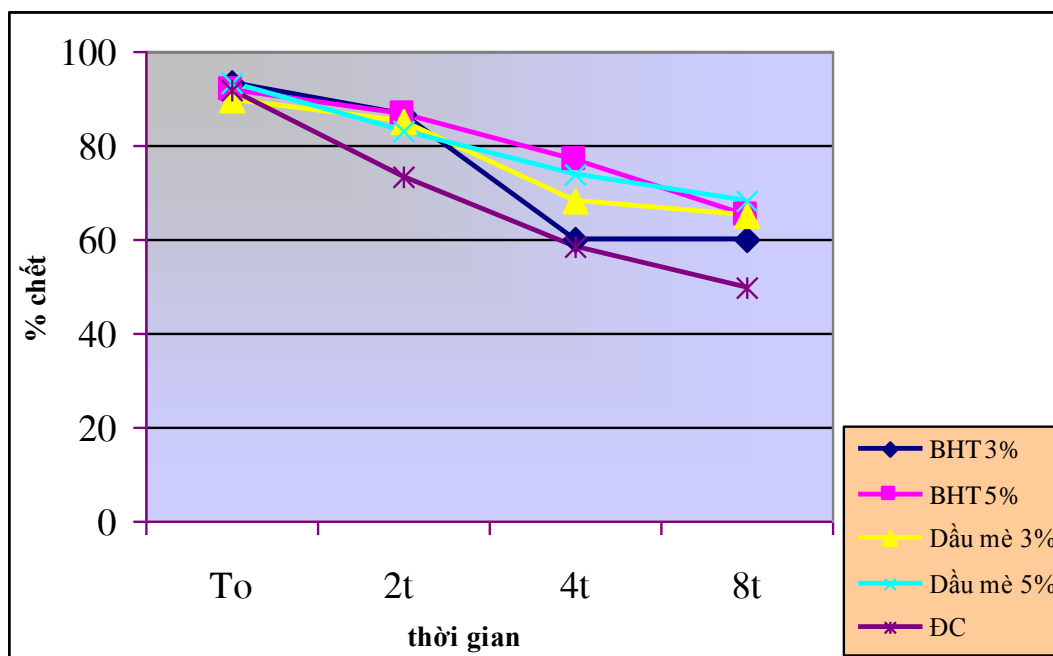
Thời điểm T_0 hiệu lực của chế phẩm gần như bằng nhau, sau 2 tuần, trong 4 công thức bảo quản thì chế phẩm với dầu mè 5% giữ được hoạt lực mạnh nhất, kế đó là các công thức còn lại có hiệu lực không chênh lệch nhiều so với công thức có dầu mè 5%.

Sau 4 tuần, chế phẩm được bảo quản với BHT 5% giữ được hoạt lực mạnh nhất xấp xỉ với nó là dầu mè 5% và dầu mè 3%, thấp nhất là BHT 3%. Ta thấy lúc này chế phẩm không dùng chất bảo quản có hoạt tính rất thấp thể hiện rõ trên đồ thị.

Ở thời điểm 8 tuần, hiệu lực của chế phẩm có dầu mè 5%, BHT 5% và dầu mè 3% là gần bằng nhau.

Như vậy, trong các chế phẩm được bảo quản ở điều kiện nhiệt độ phòng – sáng thì chế phẩm với chất bảo quản dầu mè 5% và BHT 5% giữ được hoạt tính tốt hơn chế phẩm có dầu mè 3%, BHT 5% và chế phẩm đối chứng không dùng chất bảo quản.

4.2.2.2 Điều kiện nhiệt độ phòng – che sáng



Đồ thị 4.2 Hiệu lực gây chết ngài gạo của chế phẩm bảo quản ở điều kiện nhiệt độ phòng – che sáng

Ở điều kiện nhiệt độ phòng – che sáng, chế phẩm không dùng chất bảo quản giảm hoạt lực rất nhanh, từ thời điểm ban đầu đến sau 4 tuần bảo quản hoạt lực giảm nhanh (trên đồ thị biểu hiện gần như một đường thẳng) và sau đó tiếp tục giảm.

Sau hai tuần các chế phẩm ở 4 công thức bảo quản có hiệu lực tương đương nhau (trên đồ thị BHT 3% trùng với BHT 5% kể đó là dầu mè 5% trùng với dầu mè 3%).

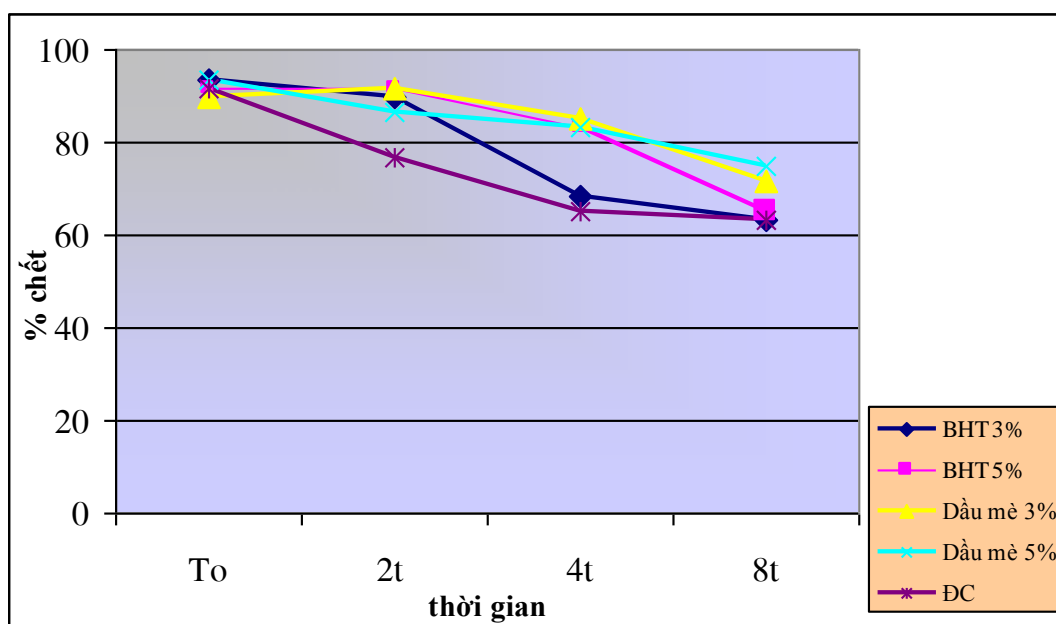
Chế phẩm dùng chất bảo quản là BHT 3% ở điều kiện này có hoạt tính không ổn định. Ở thời điểm 2 tuần, chế phẩm này có hoạt tính cao nhất (trùng với chế phẩm có BHT 5%), nhưng sau đó 2 tuần hoạt tính lại giảm xuống rất thấp gần bằng với chế phẩm đối chứng và tiếp tục giữ mức hiệu lực đó ở thời điểm 8 tuần (đường thẳng thể hiện song song với trục hoành).

Ở thời điểm 2 tuần, 4 tuần các chế phẩm với BHT 5% luôn có hoạt lực cao nhất so với các chế phẩm còn lại, theo sát đó là dầu mè 5%. Sau 8 tuần, chế phẩm được phối trộn với dầu mè 5% có hiệu lực cao nhất, kế tiếp là chế phẩm với BHT 5%, dầu mè 3%, lúc hiệu lực của chế phẩm có dầu mè 3% và BHT 5% là tương đương nhau.

Như vậy, theo thời gian trong các chế phẩm được bảo quản ở nhiệt độ phòng – che sáng thì chế phẩm bảo quản với BHT 5% và dầu mè là giữ được hoạt tính ổn định

nhất. Đặc biệt, chế phẩm với dầu mè 5% có hoạt tính ổn định theo thời gian ở thời điểm 8 tuần hiệu lực gây chết của nó là cao nhất.

4.2.2.3 Điều kiện lạnh - sáng



Đồ thị 4.3 Hiệu lực gây chết ngài gạo của chế phẩm bảo quản ở điều kiện lạnh – sáng

Theo đồ thị ta thấy, chế phẩm đối chứng không dùng chất bảo quản luôn có hoạt tính thấp hơn so với các chế phẩm có dùng chất bảo quản theo thời gian.

Ở thời điểm 2 tuần, hoạt tính của chế phẩm có cao hơn so với thời điểm ban đầu. Lúc này hoạt tính của các chế phẩm là tương đương nhau, trong đó chế phẩm với dầu mè 3% và BHT 5% trùng nhau và là cao nhất, kế đó là BHT 3% và dầu mè 5%.

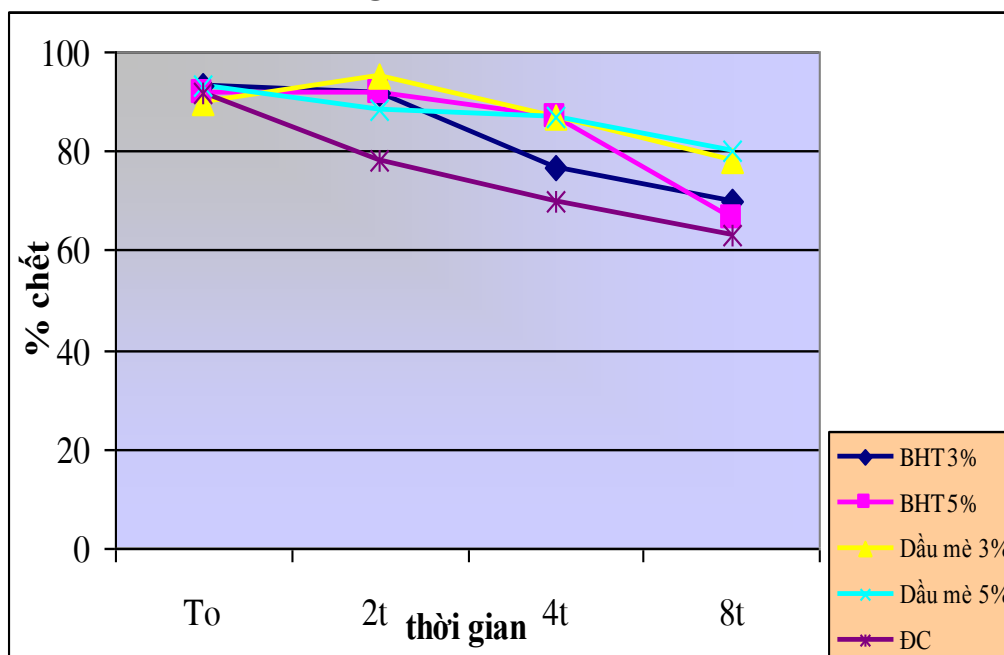
Chế phẩm với BHT 3% có hoạt tính không ổn định trong điều kiện lạnh – sáng, cụ thể hoạt tính của chế phẩm với BHT 3% tăng rất cao ở thời điểm 2 tuần nhưng sau đó lại giảm xuống rất nhanh ở thời điểm 4 tuần, 8 tuần (gần bằng với chế phẩm đối chứng không có chất bảo quản).

Sau 4 tuần, hiệu lực gây chết ngài gạo của các chế phẩm có BHT 5%, dầu mè 5%, dầu mè 3% hầu như là như nhau. Từ thời điểm 2 tuần đến thời điểm 4 tuần ta thấy đường thẳng biểu diễn có độ dốc không nhiều chứng tỏ hoạt lực của các chế phẩm không giảm đáng kể ở ba công thức bảo quản BHT 5%, dầu mè 3%, dầu mè 5%.

Ở thời điểm 8 tuần, có sự giảm hiệu lực đáng kể của chế phẩm có BHT 5%, BHT 3% (gần bằng với chế phẩm đối chứng). Đứng đầu là các chế phẩm với dầu mè 5%, kế đó là chế phẩm với dầu mè 3%.

Như vậy, ở điều kiện bảo quản lạnh (5°C) có ánh sáng, theo thời gian các chế phẩm với chất bảo quản là dầu mè có hiệu lực ổn định hơn chế phẩm với chất bảo quản là BHT, trong đó ổn định nhất là dầu mè 5%.

4.2.2.4 Điều kiện lạnh - che sáng



Đồ thị 4.4 Hiệu lực gây chết ngòi gạo của chế phẩm bảo quản ở điều kiện lạnh - che sáng

Trong điều kiện bảo quản lạnh - che sáng, hiệu lực của các chế phẩm ban đầu tương đương nhau nhưng sau hai tuần hiệu lực của chế phẩm tăng lên ở công thức bảo quản với dầu mè 3%, BHT 5% và BHT 3% (cao nhất là dầu mè 3%).

Sau 4 tuần, hiệu lực của chế phẩm bắt đầu giảm xuống, trong đó các chế phẩm bảo quản với dầu mè 3%, dầu mè 5% và BHT 5% có hiệu lực giảm không đáng kể và gần như bằng nhau. Tuy nhiên chế phẩm với BHT 3% giảm nhanh hơn, cách biệt một khoảng cách khá xa so với các công thức bảo quản khác.

Ở thời điểm 8 tuần, hiệu lực của dầu mè 5% cao nhất, kế đó là dầu mè 3%, còn hiệu lực của chế phẩm với chất bảo quản là BHT 5% giảm đột ngột gần bằng với chế phẩm không dùng chất bảo quản, thấp hơn chế phẩm có BHT 3%.

Như vậy, ở điều kiện bảo quản lạnh kết hợp với che sáng, các chế phẩm có BHT không giữ được hoạt tính ổn định theo thời gian. Ngược lại, chế phẩm dùng chất bảo quản là dầu mè có hoạt tính ổn định hơn.

Qua 4 đồ thị trên ta thấy, có sự khác biệt giữa các công thức bảo quản nhiệt độ phòng và lạnh. Ở công thức bảo quản ở nhiệt độ phòng, BHT 5% rất hiệu quả, còn với nhiệt độ lạnh 5°C BHT 5% có hoạt tính không ổn định theo thời gian, cụ thể là sau thời điểm 8 tuần hiệu lực gây chết ngài gạo của chế phẩm với BHT 5% giảm xuống nhanh so với các thời điểm khác.

Trong các điều kiện bảo quản ta thấy chế phẩm với công thức bảo quản dầu mè 5% có hoạt tính mạnh và ổn định nhất theo thời gian (ở thời điểm 8 tuần hiệu lực gây chết ngài gạo của chế phẩm có dầu mè 5% luôn cao nhất). So với dầu mè 3%, dầu mè 5% hiệu quả ổn định hơn trong các điều kiện bảo quản.

Nhìn chung, ở điều kiện nhiệt độ phòng chế phẩm dùng chất bảo quản BHT có hiệu lực gần như tương đương với dầu mè theo thời gian, nhưng ở điều kiện lạnh BHT lại không tỏ ra hiệu quả bằng dầu mè. Đặc biệt khi kết hợp với điều kiện có ánh sáng và che sáng thì sự khác biệt rõ ràng hơn giữa hai chất bảo quản này, cụ thể các chế phẩm với BHT khi ở điều kiện che sáng không phát huy được đặc tính chống oxy hoá mạnh như trong điều kiện lạnh - che sáng hoạt lực của chế phẩm dùng chất bảo quản là BHT giảm, thấp hơn so với chế phẩm dùng chất bảo quản là dầu mè.

Các hoạt chất từ neem thường không bền nhanh chóng bị phân huỷ mất hoạt tính dưới tia UV, oxy, nhiệt độ, PH thay đổi... Và dầu thực vật là một trong những chất có khả năng cản quang và chống oxy hoá tốt, chúng được xem là chất làm ổn định các hoạt chất. Do đó xét về lâu dài dầu mè tỏ ra hiệu quả hơn hẳn BHT.

Xét về các điều kiện bảo quản ta thấy điều kiện lạnh – che sáng là hữu hiệu nhất, hoạt lực của chế phẩm giảm thấp nhất sau 2, 4 và 8 tuần so với các chế phẩm bảo quản ở điều kiện nhiệt độ phòng – sáng, nhiệt độ phòng – che sáng và lạnh – sáng.

4.3 Kết quả thử nghiệm dầu neem và dịch chiết bánh dầu trên *Artemia salina*

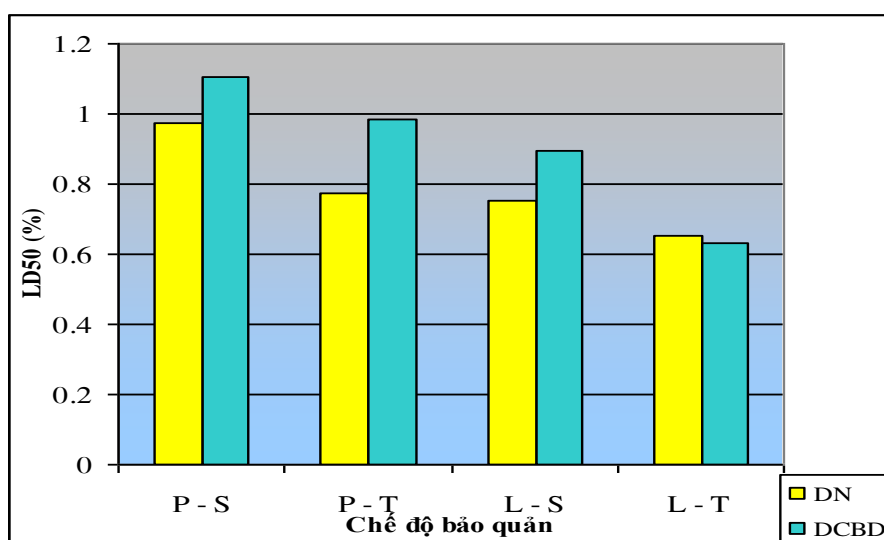
Bảng 4.13 Giá trị LC₅₀ (%) của dầu neem và DCBD đối với *Artemian salina* sau 8 tuần bảo quản

Chế phẩm neem thô	Trước bảo quản (T_0)	Chế độ bảo quản			
		Nhiệt độ phòng - sáng	Nhiệt độ phòng – che sáng	Lạnh (5^0C) - sáng	Lạnh (5^0C) – che sáng
Dầu neem	0,523	0,972	0,776	0,753	0,655
Dịch chiết bánh dầu	0,628	1,105	0,985	0,897	0,734

Nhận xét: Kết quả thử nghiệm dầu neem và dịch chiết bánh dầu trên *Artemia salina* cũng tương tự như ngài gạo:

Dầu neem và dịch chiết bánh bảo quản ở nhiệt độ phòng – sáng bị giảm hoạt tính mạnh nhất, cụ thể LC_{50} đối với *Artemia salina* tăng từ 0,523% đến 0,972% (tương ứng với dầu neem) và tăng từ 0,628% đến 1,105% (tương ứng với dịch chiết bánh dầu) sau 8 tuần bảo quản.

Ngược lại, dầu neem và dịch chiết bánh dầu được bảo quản ở điều kiện lạnh – che sáng là ít giảm hoạt tính nhất, chứng tỏ qua sự tăng trị số LC_{50} không nhiều: từ 0,523% ở thời điểm ban đầu lên 0,655% sau 8 tuần bảo quản.



Đồ thị 4.5 Giá trị LC_{50} đối với *Artemia salina* của dầu neem và dịch chiết bánh dầu sau 8 tuần bảo quản

Tương tự như thí nghiệm trên ngài gạo, những thử nghiệm trên *Artemia saliana* dùng dầu neem và dịch chiết bánh dầu được bảo quản 8 tuần ở 4 chế độ bảo quản khác

nhau cho thấy chế độ bảo quản lạnh – che sáng vẫn là tối nhất, khả năng gây chết đối tượng thí nghiệm là hơn so với 3 điều kiện bảo quản còn lại: nhiệt độ phòng – sáng, nhiệt độ phòng – che sáng, lạnh – sáng.

Như vậy, qua những thí nghiệm sơ khởi ta thấy các chế phẩm có nguồn gốc thảo mộc rất khó bảo quản do những hoạt chất sinh học rất nhạy cảm với môi trường nên rất dễ bị phân huỷ làm giảm hoạt tính của chế phẩm theo thời gian. Bên cạnh đó, nhiều nghiên cứu cho thấy, hàm lượng azadirachtin, nimbin, salanin trong dầu neem giảm dần theo thời gian, sau 1 tháng hoạt tính giảm từ 1,55 – 0,85%, sau 4 tháng hoạt tính chỉ còn 71,87% và sau 6 tháng hoạt tính chỉ còn khoảng 36%.

Như ta biết, quá trình oxy hoá phụ thuộc vào các yếu tố như:

- Hoạt chất các chất chống oxy hoá
- Nồng độ các chất chống oxy hoá
- Ánh sáng và nhiệt độ

Do đó việc lựa chọn chất bảo quản, nồng độ, điều kiện bảo quản là hết sức quan trọng quyết định hoạt lực của chế phẩm theo thời gian.



Hình 4.1 Ấu trùng ngài gạo chết sau 3 ngày xông hơi



Hình 4.2 Đếm số lượng sâu chết sau thử nghiệm



Hình 4.3 Sâu chết sau thí nghiệm



Hình 4.4 Chế phẩm đang theo dõi



Hình 4.5 Sau 3 ngày xông hơi



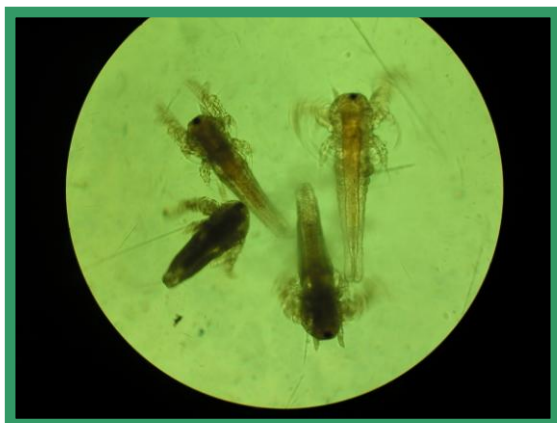
Hình 4.6 Ngài gạo bị biến dạng sau khi bị xử lý bằng chế phẩm neem viên nén



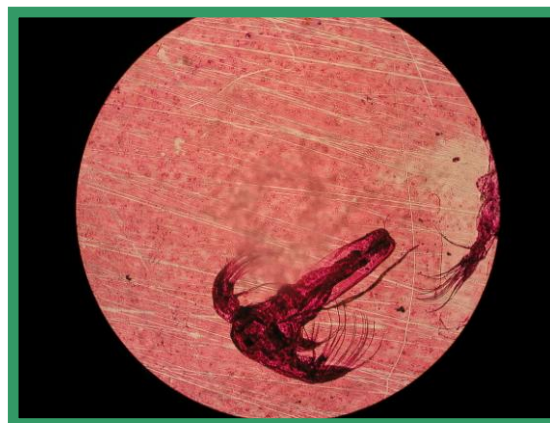
Hình 4.7 Ngài gạo sau xử lý bị dính trong kén



Hình 4.8 Ngài gạo chết ở giai đoạn nhộng



Hình 4.9 Artemia salina trước khi xử lý



Hình 4.10 Artemia salina chết sau 48 giờ xử lý

Chương 5

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

5.1 Kết luận

- Xác định được những chỉ tiêu cơ bản như Ph, hệ số nhớt, độ khúc xạ, chỉ số xà phòng hoá, chỉ số iod, hàm lượng lipid tổng, hàm lượng đường tổng và đạm tổng số trong dầu neem. Kết quả cho thấy dầu neem Việt Nam cơ bản gần giống với dầu neem Ấn Độ, hàm lượng lipid tổng trong dầu neem là 84% cao hơn trong lá, bánh dầu và nhân hạt neem. Ngược lại, hàm lượng đường tổng và đạm tổng số trong dầu neem thấp hơn nhiều so với trong lá, bánh dầu và nhân hạt neem.

- Xác định được thành phần các axit béo trong dầu neem. Ta thấy hàm lượng axit béo không no cao (chiếm đến 60%), trong các axit béo không no này thì chủ yếu là axit oleic còn lại là axit linoleic và linolenic. 40% còn lại là các axit béo no trong đó phần lớn là axit stearic và palmitic, axit myristic, lauric và capric chỉ chiếm một phần rất nhỏ tương ứng là 2,1; 0,32 và 0,38%.

- Qua những thử nghiệm sinh học trên ngài gạo dùng chế phẩm neem viên nén với 20 công thức bảo quản khác nhau sau 2, 4 và 8 tuần bảo quản, ta thấy:

* Chế phẩm không dùng chất bảo quản có hoạt tính giảm nhanh và thấp hơn nhiều so với chế phẩm có dùng chất bảo quản.

* Chế phẩm dùng được bảo quản ở điều kiện lạnh (5^0) kết hợp che sáng còn giữ được hoạt lực cao nhất, kế tiếp là chế phẩm ở điều kiện lạnh – sáng, nhiệt độ phòng – che sáng, hoạt lực còn thấp nhất là chế phẩm bảo quản ở nhiệt độ phòng - sáng. Ở công thức số 12 chế phẩm được bảo quản sau 8 tuần (dầu mè 3% lạnh – che sáng) hiệu lực gây chết ngài gạo là 78,3% còn chế phẩm cũng dùng dầu mè 3% làm chất bảo quản nhưng bảo quản ở nhiệt độ phòng – sáng, nhiệt độ phòng – che sáng và lạnh – sáng có hiệu lực gây chết thấp hơn tương ứng là 61,7; 65 và 71,7%.

* Giữa chất bảo quản BHT và dầu mè thì dầu mè tỏ ra có hiệu quả ổn định hơn nhất là ở điều kiện lạnh. Khi ở nhiệt độ phòng thì các chế phẩm được bảo quản với BHT giữ được hoạt tính tốt, nhưng ở điều kiện lạnh thì lại giảm hoạt lực nhiều hơn chế phẩm dùng dầu mè. Nên kết hợp với nhận định phía trên ta nên chọn dầu mè làm chất bảo quản chế phẩm này. Giữa hai nồng độ dầu mè 3 và 5% thì chế phẩm dùng chất bảo quản là dầu mè 5% có hiệu lực ổn định hơn theo thời gian.

- Xác định được LD_{50} của *Artemia salina* bằng dầu neem và dịch chiết bánh dầu

- Thử nghiệm trên *Artemia salina* bằng dầu neem và dịch chiết bánh dầu cho thấy kết quả tương tự như trên về các chế độ bảo quản. LC_{50} của *Artemia salina* với dầu neem và dịch chiết bánh dầu cao nhất bảo quản sau 8 tuần là 1,105 (dịch chiết bánh dầu bảo quản ở nhiệt độ phòng - sáng) ứng với LD_{50} ban đầu là 0,628 và thấp nhất là 0,655 (dầu neem được bảo quản ở điều kiện lạnh – che sáng) với LD_{50} ban đầu là 0,523.

Tóm lại, bước đầu nghiên cứu các chế độ bảo quản chế phẩm neem viên nén để phòng trừ côn trùng hại kho ta thấy chất bảo quản là dầu mè 5% kết hợp với điều kiện bảo quản lạnh – che sáng là thích hợp nhất.

5.2 Đề nghị

Với kết quả nghiên cứu bước đầu vẫn còn nhiều hạn chế chúng tôi có những đề nghị sau:

- Tiếp tục nghiên cứu và cải tiến các kỹ thuật bảo quản để ổn định hơn nữa hiệu lực của chế phẩm theo thời gian.

- Thử nghiệm bảo quản chế phẩm với những chất bảo quản khác.
- Tiếp tục nghiên cứu bảo quản chế phẩm ở thời gian lâu hơn. Ít nhất kéo dài thời gian bảo quản đến sáu tháng hoặc hơn nữa.
- Nghiên cứu xây dựng quy trình chuẩn kiểm tra độc tính của hoạt chất từ neem và các chế phẩm neem trên *Artemia salina* nhằm đáp ứng nhu cầu đánh giá hiệu lực chế phẩm theo tiêu chí tiết kiệm thời gian, chi phí và dễ thực hiện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

TIẾNG VIỆT

1. Phạm Văn Biên, Bùi Cách Tuyền, Nguyễn Mạnh Chinh, 2005. *Cẩm nang thuốc bảo vệ thực vật*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, TPHCM.
2. Nguyễn Cảnh Cửu, 2006. *Tạp chí Thuốc và sức khoẻ số 306*. Hội dược học Việt Nam, trang 13.
3. Trần Văn Chương, 1999. *Công nghệ bảo quản - chế biến nông sản sau thu hoạch, tập 1*. Nhà xuất bản Văn hoá dân tộc, trang 19 – 21.
4. Nguyễn Hữu Đạt, 1997. *Đặc điểm hình thái, sinh học và sinh thái mọt cứng đốt (Trogoderma granarium Everts) và đánh giá hiệu lực thuốc xông hơi đối với chúng*. Luận án Thạc sỹ Nông nghiệp, trường đại học Nông Lâm TPHCM, 235 trang.
5. GS Nguyễn Văn Đán, Ds Nguyễn Việt Tựu, 1985. *Phương pháp nghiên cứu hóa học cây thuốc*. Nhà xuất bản Y học, chi nhánh TPHCM, trang 1 - 23, 75 – 89.
6. Lâm Công Định, 1985. *Xoan chịu hạn (Azadirachta indica A. Juss)- Một loài cây mới thích ứng với vùng nóng Thuận Hải*. Tạp chí Lâm Nghiệp 8/1985

7. Lâm Công Định, 1991. *Giới thiệu cây xoan chịu hạn nhập nội vào vùng cát nóng Phan Thiết-Tuy Phong*. Sở Nông lâm nghiệp Thuận Hải.
8. Lâm Công Định, 1998. *Xoan chịu hạn- Một loài cây chống sa mạc hoá, làm giàu sinh cảnh vùng nóng hạn*. Tạp chí Lâm nghiệp 1/1998.
9. Bùi Công Hiền, 1995. *Côn trùng hại kho*. Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật Hà Nội.
10. Phạm Thị Ánh Hồng, 2003. *Kỹ thuật Sinh hóa*. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, trang 156 – 158.
11. Phạm Thị Ánh Hồng, 2003. *Thực hành Sinh hoá*. NXB Đại học Quốc Gia TPHCM, trang 142.
12. Phùng Doãn Cẩm Hồng, 2004. *Giáo trình kỹ thuật phân tích*. Đại học Nông Lâm TPHCM, trang 1 - 15, 41 - 49.
13. Vũ Đăng Khánh, 2004. *Khảo sát tính kháng nấm gây bệnh cây và nấm sinh độc tố aflatoxin của sản phẩm chiết xuất từ xoan chịu hạn (Azadirachta indica A. Juss) trồng tại Việt Nam*. Khóa luận thạc sỹ khoa học, Đại học Khoa Học Tự Nhiên, TP. Hồ Chí Minh.
14. Lê Thị Thanh Mai, 2001. *Giáo trình thực tập Sinh hoá*. , trang 36 – 37.
15. Nguyễn Văn Mùi, 2001. *Thực hành sinh hoá học*. NXB Khoa học kỹ thuật Hà Nội, trang 53- 60.
16. Lê Thị Thanh Phượng, 2004. *Chiết xuất hoạt chất từ nhân hạt neem (Azadirachta indica A. Juss) và khảo sát tác động của chúng đối với ngài gạo (Corcyra Cephalonica St)*. Khóa luận thạc sỹ khoa học nông nghiệp, Đại học Nông Lâm, TP. Hồ Chí Minh.
17. Vũ Đình Quốc, 2005. *Đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm phối trộn giữa dầu neem và Bt (Baccillus thuringensis) đối với sâu tơ, sâu xanh và Artemia salina*. Khóa luận cử nhân công nghệ sinh học, Đại học Mở Bán công Tp. Hồ Chí Minh.
18. Nguyễn Văn Tuất – TS, PGS.TS – Lê Văn Thuyết, 2001. *Sản xuất, chế biến và sử dụng thuốc BVTV thảo mộc và sinh học*. Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội.
19. Phạm Văn Sỏ - Ts KHTN, Bùi Thị Như Thuận - Ts dược học, Bùi Minh Đức - Bs y khoa, 1975. *Kiểm nghiệm lương thực thực phẩm*. NXB Khoa học Kỹ thuật, trang 191 - 197, 450 - 455.

20. Nguyễn Thị Thu Vân, 2003. *Phân tích định lượng*. Nhà xuất bản Đại học quốc gia TP HCM, trang 507 – 516
21. Nguyễn Thị Thu Vân, 2001. *Giáo trình thực tập Sinh hoá*. Trang 37- 36
22. Trà Quang Vũ, 2005. Đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm phối trộn giữa dịch chiết từ nhân hạt xoan chịu hạn (*Azadirachta indica* A.Juss) trồng tại Việt Nam và Cypermethrin đối với sâu xanh (*Heliothis armigera*). Khóa luận tốt nghiệp kỹ sư công nghệ sinh học. Đại học Nông Lâm, Tp. Hồ Chí Minh.

TIẾNG ANH

23. Amadioha, A.C, 2000. Controlling rice blast invitro and invivo with extracts of *Azadirachta indica*. *Crop protection* 19, 287 – 290.
24. ASEAN Food Handling Bureau, 1989. *Suggested recommendations for the fumigation of grain in the asean region. Part 1: Principles and general practice*. Media Works Enterprise, Malaysia, 131 pages.
25. Biswas Kausik, Ishita Chattopadhyay, Ranajit K. Banerjee and Uday Bandyopahyay, 2002. Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*). In *Current Science*, Vol 82, NO 11, 10 June 2002, page 1336 – 1345.
26. Chudleigh Peter, Agtrans research, 2001. *Growing Neem trees in Australia*. A report for the Rural Industrial Land and Water Australia forest and wood products. Research and development corporations. Joint Venture Agroforestry Programme.6/2001.
27. Dennis. D.I.R, 1992. *A tree for solving global proplems*. National academy press, Washington,D.C, USA, 139 pages.
28. Eppler.A, 1996. *Neem tree and other Meliaceous plants*, (Eds Schmutterer. H) VCH Verlasge sellchaft, Weinheim (Federal republic of Germany), page 453 – 456.
29. Ermel.K, 1996. *Neem tree and other Meliaceous plants*, (Eds. Schmutterer. H) VCH Verlasge sellchaft, Weinheim (Federal republic of Germany), page 89 - 92.

30. EUROTALC, 2003. *Talc*. The European Talc Association (Member of IMA – Europe) Bd Sylvain Dupuis 233, box 124, B – 1070 Brussels, Belgium

< www.ima-eru.org >

31. HDRA, 1998, *Neem tree*. The organic organisation. 20 pages.

32. Hampden J., Zeringue J.R. and Deepak B., 1993. Neem and control of aflatoxin contamination. In *Neem and Environment. Volume II*. World Neem Conference, Bangalore, India, 24 - 28 Feb. 1993. (Eds. Singh R.P, Chari M.S., Raheja A.K. and Kraus W.). Science Publishers, Inc., USA, pp. 714 - 727.

33. Isman Murray, 2002. Insect antifeedants, review the chemistry and biological properties of insect antifeedants, and discusses their potential deployment for pest management, *Pesticides Outlook*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge.

< www.Rirdc.gov.au/reports/AFT/01-061.pdf >.

34. Lim G.S., 1994. *Neem pesticides in rice, potential and limitation*. IRRI, Philippines, 69 pages.

35. Kaushik. N and Vir. S, 2000. Variations in fatty acid composition of neem seed collected from Rajasthan state of India. In *Biochemical Society Transactions 2000 Volume 28, part 6*. 2000, Biochemical Society published, page 880 – 882.

36. McGee Barbara, 2003. *Sesame*. Epicenter.

<www.theepicentre.com/Spice/sesame.html>

37. Morris Bradley. J, 2002. Food, industrial, nutraceutical, and pharmaceutical uses of Sesame Genetic resources. In *Trends in new crop and new uses* (J. Janick and A. Whipkey). ASHS press, Alexandria, VA, page 153-156.

38. Myers Robert. L, 2002. *Alternative Crop guide, Sesame*. Jefferson Institute, Comlumbia, MO, a non- profit research and education center supporting crop diversification.

< www.jeffersoninstitute.org/pub/sesame_guide.pdf >

39. OMRI, 2002. *Butylated Hydroxytoluene (BHT) Crop*. National Organic Standards Board Technical Advisory Panel Review. USDA National Organic Program. 30/12/2002.

40. Parmar.B.S, 1996. . *Neem tree and other Meliaceous plants*, (Eds Schmutterer. H) VCH Verlasge sellchaft, Weinheim (Federal republic of Germany), page 418 – 451.
41. Parma P. S, 1996. *Neem tree and other Meliaceous plants*, (Eds Schmutterer. H) VCH Verlasge sellchaft, Weinheim (Federal republic of Germany), page 455 - 465.
42. Peter A.Ciullo and Janis Anderson, 2002. *Industrial Talc*. Presented at 79th Annual Meeting of the Ferderation of Societies for Coatings Technogogy, on Nov 5 -7, 2001 in Atlanta, GA Technology Forum. Vol 74, No. 934, 11/2002, page 15 – 19.
43. Rembold.H, 1996. *Neem tree and other Meliaceous plants*, (Eds Schmutterer. H) VCH Verlasge sellchaft, Weinheim (Federal republic of Germany), page 177 – 187.
44. Saxena.R.C, 1996. *Neem tree and other Meliaceous plants*, (Eds Schmutterer. H) VCH Verlasge sellchaft, Weinheim (Federal republic of Germany), page 418 - 451.
45. Schmutterer. H, 1996. *Neem tree and other Meliaceous plants*, VCH Verlasge sellchaft, Weinheim (Federal republic of Germany), pages 1-29, 167-191.
46. Singh R. and Pillai S.R.M., 1998. Neem in integrated pest management. In *Neem (Azadirachta indica A.Juss.) a wonder tree*. (Eds.Gupta, B.N and Sharma K.K). Indian Council of Forestry Research and Education, Dehra Dun, India, pp 133 - 138.
47. Tewari D.N., 1992. *Monograph on neem*. International Book Distributors. New Delhi, pp. 279.
48. The original Neem company, 2006. *Neem – Its Botanical Description and Cultivation*. 5111- A NM 13th St, Grainsville. FL 32609 USA Florida.
<www.bytheplanet.com/neem/WhatisNeem/botanicaldescription.htm>
49. Venmalar. D and Nagaveni. H.C, 2005. Evaluation of copperised cashew nut shell liquid and neem oil as wood preservatives. In *Internation research group on*

wood protection, section 3: Wood protecting chemicals. Institute of Wood Science and Technology, P.O Malleswaram, Bangalore – 560 003, India, 20 pages.

49. Wewetzer Antjie, 1998. Callus Culture of *Azadirachta indica* and Their Potential for the Production of Azadirachtin. In *Phytoparasitica* 26:1. Department of Phytomedicine, Humboldt – University, 14195 Berlin, Germany, page 47 – 52.

< [www.phytoparasitica.org/phyto.pdfs/1998/inssue 1/new](http://www.phytoparasitica.org/phyto.pdfs/1998/inssue%201/new) >

Bảng 1: Thông kê hiệu lực gây chết ngòi gạo của chế phẩm neem được bảo quản sau 2 tuần với BHT 3%

One-Way Analysis of Variance

Data: B3T1.TLC

Level codes: B3T1.nt

Labels:

Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: Duncan

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	316.66667	3	105.55556	16.889	.0008
Within groups	50.00000	8	6.25000		
Total (corrected)	366.66667	11			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for B3T1.TLC by B3T1.nt

Level	Count	Std. Error Average	Std. Error (internal)	95 % LSD (pooled s)	95 % LSD intervals for mean
1	3	78.333333	1.6666667	1.4433757	75.979119 80.687548
2	3	86.666667	1.6666667	1.4433757	84.312452 89.020881
3	3	90.000000	.0000000	1.4433757	87.645786 92.354214
4	3	91.666667	1.6666667	1.4433757	89.312452 94.020881
Total	12	86.666667	.7216878	.7216878	85.489560 87.843774

Method: 95 Percent Duncan

Level Count Average Homogeneous Groups

1	3	78.333333	*
2	3	86.666667	*
3	3	90.000000	**
4	3	91.666667	*

contrast	difference
1 - 2	-8.33333 *
1 - 3	-11.6667 *
1 - 4	-13.3333 *
2 - 3	-3.33333
2 - 4	-5.00000 *
3 - 4	-1.66667

* denotes a statistically significant difference.

Bảng 2: Thông kê hiệu lực gây chết ngải gạo của chế phẩm neem được bảo quản sau 4 tuần với BHT 3%

One-Way Analysis of Variance

Data: B3T2.tlc

Level codes: B3T2.nt

Labels:

Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: Duncan

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	472.91667	3	157.63889	25.222	.0002
Within groups	50.00000	8	6.25000		
Total (corrected)	522.91667	11			

0 missing value(s) have been excluded.

06-24-06 01:08 Ý GO BÝ TOOLS BÝ QUIT B
PROCESS STATGRAPHICS Vers.7.0 Ý (F6) BÝ (F10) BÝ (Esc) B

Table of means for B3T2.tlc by B3T2.nt

Level	Count	Std. Error Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean
1	3	63.333333	1.6666667	1.4433757	60.979119 65.687548
2	3	60.000000	.0000000	1.4433757	57.645786 62.354214
3	3	68.333333	1.6666667	1.4433757	65.979119 70.687548
4	3	76.666667	1.6666667	1.4433757	74.312452 79.020881
Total	12	67.083333	.7216878	.7216878	65.906226 68.260440

Multiple range analysis for B3T2.tlc by B3T2.nt

Method: 95 Percent Duncan

Level Count Average Homogeneous Groups

2	3	60.000000	*
1	3	63.333333	*
3	3	68.333333	*
4	3	76.666667	*

contrast	difference
1 - 2	3.33333
1 - 3	-5.00000 *
1 - 4	-13.33333 *
2 - 3	-8.33333 *
2 - 4	-16.66667 *
3 - 4	-8.33333 *

* denotes a statistically significant difference.

Bảng 3: Thông kê hiệu lực gây chết ngài gạo của chế phẩm neem được bảo quản sau 8 tuần với BHT 3%

One-Way Analysis of Variance

Data: B3T3.tlc

Level codes: B3T3.nt

Labels:

Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: Duncan

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	291.66667	3	97.222222	5.833	.0206
Within groups	133.33333	8	16.666667		
Total (corrected)	425.00000	11			

0 missing value(s) have been excluded.

06-24-06 01:12 Ý GO ĐÝ TOOLS ĐÝ QUIT Đ
 PROCESS STATGRAPHICS Vers.7.0 Ý (F6) ĐÝ (F10) ĐÝ (Esc) Đ
 Table of means for B3T3.tlc by B3T3.nt

Level	Count	Std. Error Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	Lower	Upper
1	3	56.666667	1.6666667	2.3570226	52.822251	60.511083	
2	3	60.000000	2.8867513	2.3570226	56.155584	63.844416	
3	3	63.333333	1.6666667	2.3570226	59.488917	67.177749	
4	3	70.000000	2.8867513	2.3570226	66.155584	73.844416	
Total	12	62.500000	1.1785113	1.1785113	60.577792	64.422208	

Multiple range analysis for B3T3.tlc by B3T3.nt

Method: 95 Percent Duncan

Level Count Average Homogeneous Groups

1	3	56.666667	*
2	3	60.000000	*
3	3	63.333333	**
4	3	70.000000	*

contrast	difference
1 - 2	-3.33333
1 - 3	-6.66667
1 - 4	-13.3333 *
2 - 3	-3.33333
2 - 4	-10.0000 *
3 - 4	-6.66667

* denotes a statistically significant difference.

Bảng 4: Thông kê hiệu lực gây chết ngài gạo của chế phẩm neem được bảo quản sau 2 tuần với BHT 5%

One-Way Analysis of Variance

Data: B5T1.tlc

Level codes: B5T1.nt

Labels:

Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: Duncan

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	206.25000	3	68.750000	8.250	.0079
Within groups	66.66667	8	8.333333		
Total (corrected)	272.91667	11			

0 missing value(s) have been excluded.

06-24-06 01:16 Ý GO BÝ TOOLS BÝ QUIT B
PROCESS STATGRAPHICS Vers.7.0 Ý (F6) BÝ (F10) BÝ (Esc)

Table of means for B5T1.tlc by B5T1.nt

Level	Count	Std. Error Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean
1	3	81.666667	1.6666667	1.6666667	78.948254 84.385079
2	3	86.666667	1.6666667	1.6666667	83.948254 89.385079
3	3	91.666667	1.6666667	1.6666667	88.948254 94.385079
4	3	91.666667	1.6666667	1.6666667	88.948254 94.385079
Total	12	87.916667	.8333333	.8333333	86.557460 89.275873

Multiple range analysis for B5T1.tlc by B5T1.nt

Method: 95 Percent Duncan

Level Count Average Homogeneous Groups

1	3	81.666667	*
2	3	86.666667	**
3	3	91.666667	*
4	3	91.666667	*

contrast	difference
1 - 2	-5.00000
1 - 3	-10.0000 *
1 - 4	-10.0000 *
2 - 3	-5.00000
2 - 4	-5.00000
3 - 4	0.00000

* denotes a statistically significant difference.

Bảng 5: Thông kê hiệu lực gây chết ngòi gạo của chế phẩm neem được bảo quản sau 4 tuần với BHT 5%

One-Way Analysis of Variance

Data: B5T2.tlc

Level codes: B5T2.nt

Labels:

Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: Duncan

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	491.66667	3	163.88889	13.111	.0019
Within groups	100.00000	8	12.50000		
Total (corrected)	591.66667	11			

0 missing value(s) have been excluded.

06-24-06 01:19 Ý GO BÝ TOOLS BÝ QUIT B
 PROCESS STATGRAPHICS Vers.7.0 Ý (F6) BÝ (F10) BÝ (Esc) B

Table of means for B5T2.tlc by B5T2.nt

Level	Count	Std. Error Average	Std. Error (internal)	95 % LSD (pooled s)	intervals for mean
1	3	70.000000	2.8867513	2.0412415	66.670638 73.329362
2	3	76.666667	1.6666667	2.0412415	73.337305 79.996028
3	3	83.333333	1.6666667	2.0412415	80.003972 86.662695
4	3	86.666667	1.6666667	2.0412415	83.337305 89.996028
Total	12	79.166667	1.0206207	1.0206207	77.501986 80.831348

Multiple range analysis for B5T2.tlc by B5T2.nt

Method: 95 Percent Duncan

Level Count Average Homogeneous Groups

1	3	70.000000	*
2	3	76.666667	**
3	3	83.333333	**
4	3	86.666667	*

contrast	difference
1 - 2	-6.66667
1 - 3	-13.3333 *
1 - 4	-16.6667 *
2 - 3	-6.66667
2 - 4	-10.0000 *
3 - 4	-3.33333

* denotes a statistically significant difference.

Bảng 6: Thông kê hiệu lực gây chết ngài gạo của chế phẩm neem được bảo quản sau 8 tuần với BHT 5%

One-Way Analysis of Variance

Data: B5T3.tlc

Level codes: B5T3.nt

Labels:

Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: Duncan

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	39.58333	3	13.194444	.373	.7752
Within groups	283.33333	8	35.416667		
Total (corrected)	322.91667	11			

0 missing value(s) have been excluded.

06-24-06 01:23 Ý GO BÝ TOOLS BÝ QUIT B
PROCESS STATGRAPHICS Vers.7.0 Ý (F6) BÝ (F10) BÝ (Esc) B

Table of means for B5T3.tlc by B5T3.nt

Level	Count	Std. Error Average	Std. Error (internal)	95 % LSD (pooled s)	95 % LSD intervals for mean
1	3	61.666667	1.6666667	3.4359214	56.062516 67.270818
2	3	65.000000	2.8867513	3.4359214	59.395849 70.604151
3	3	66.666667	3.3333333	3.4359214	61.062516 72.270818
4	3	65.000000	5.0000000	3.4359214	59.395849 70.604151
Total	12	64.583333	1.7179607	1.7179607	61.781258 67.385409

Multiple range analysis for B5T3.tlc by B5T3.nt

Method: 95 Percent Duncan

Level Count Average Homogeneous Groups

1	3	61.666667	*
2	3	65.000000	*
4	3	65.000000	*
3	3	66.666667	*

contrast	difference
1 - 2	-3.33333
1 - 3	-5.00000
1 - 4	-3.33333
2 - 3	-1.66667
2 - 4	0.00000
3 - 4	1.66667

* denotes a statistically significant difference.

Bảng 7: Thống kê hiệu lực gây chết ngòi gạo của chế phẩm được bảo quản sau 2 tuần với dầu mè 3%

One-Way Analysis of Variance

Data: M3T1.tlc

Level codes: M3T1.nt

Labels:

Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: Duncan

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	333.33333	3	111.11111	26.667	.0002
Within groups	33.33333	8	4.16667		
Total (corrected)	366.66667	11			

0 missing value(s) have been excluded.

06-24-06 01:28 Ý GO ÞÝ TOOLS ÞÝ QUIT Þ
PROCESS STATGRAPHICS Vers.7.0 Ý (F6) ÞÝ (F10) ÞÝ (Esc) Þ

Table of means for M3T1.tlc by M3T1.nt

Level	Count	Std. Error Average	Std. Error (internal)	95 % LSD (pooled s)	95 % LSD intervals for mean
1	3	81.666667	1.6666667	1.1785113	79.744459 83.588875
2	3	85.000000	.0000000	1.1785113	83.077792 86.922208
3	3	91.666667	1.6666667	1.1785113	89.744459 93.588875
4	3	95.000000	.0000000	1.1785113	93.077792 96.922208
Total	12	88.333333	.5892557	.5892557	87.372229 89.294437

Multiple range analysis for M3T1.tlc by M3T1.nt

Method: 95 Percent Duncan

Level Count Average Homogeneous Groups

1	3	81.666667	*
2	3	85.000000	*
3	3	91.666667	*
4	3	95.000000	*

contrast	difference
1 - 2	-3.33333
1 - 3	-10.0000 *
1 - 4	-13.3333 *
2 - 3	-6.66667 *
2 - 4	-10.0000 *
3 - 4	-3.33333

* denotes a statistically significant difference.

Bảng 8: Thống kê hiệu lực gây chết ngòi gạo của chế phẩm neem được bảo quản sau 4 tuần với dầu mè 3%

One-Way Analysis of Variance

Data: M3T2.tlc

Level codes: M3T2.nt

Labels:

Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: Duncan

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	1016.6667	3	338.88889	18.074	.0006
Within groups	150.0000	8	18.75000		
Total (corrected)	1166.6667	11			

0 missing value(s) have been excluded.

06-24-06 01:31 Ý GO BÝ TOOLS BÝ QUIT B
PROCESS STATGRAPHICS Vers.7.0 Ý (F6) BÝ (F10) BÝ (Esc) B

Table of means for M3T2.tlc by M3T2.nt

Level	Count	Std. Error Average	Std. Error (internal)	95 % LSD (pooled s)	95 % LSD intervals for mean
1	3	66.666667	1.6666667	2.5000000	62.589048 70.744285
2	3	68.333333	1.6666667	2.5000000	64.255715 72.410952
3	3	85.000000	2.8867513	2.5000000	80.922381 89.077619
4	3	86.666667	3.3333333	2.5000000	82.589048 90.744285
Total	12	76.666667	1.2500000	1.2500000	74.627857 78.705476

Multiple range analysis for M3T2.tlc by M3T2.nt

Method: 95 Percent Duncan

Level Count Average Homogeneous Groups

1	3	66.666667	*
2	3	68.333333	*
3	3	85.000000	*
4	3	86.666667	*

contrast	difference
1 - 2	-1.66667
1 - 3	-18.3333 *
1 - 4	-20.0000 *
2 - 3	-16.6667 *
2 - 4	-18.3333 *
3 - 4	-1.66667

* denotes a statistically significant difference.

Bảng 9: Thống kê hiệu lực gây chết của chế phẩm neem được bảo quản sau 8 tuần với đầu mè 3%

One-Way Analysis of Variance

Data: M3T3.tlc

Level codes: M3T3.nt

Labels:

Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: Duncan

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	491.66667	3	163.88889	8.741	.0066
Within groups	150.00000	8	18.75000		
Total (corrected)	641.66667	11			

0 missing value(s) have been excluded.

06-24-06 01:34 Ý GO ÞÝ TOOLS ÞÝ QUIT Þ
PROCESS STATGRAPHICS Vers.7.0 Ý (F6) ÞÝ (F10) ÞÝ (Esc) Þ

Table of means for M3T3.tlc by M3T3.nt

Level	Count	Std. Error Average	Std. Error (internal)	95 % LSD (pooled s)	95 % LSD intervals for mean
1	3	61.666667	1.6666667	2.5000000	57.589048 65.744285
2	3	65.000000	2.8867513	2.5000000	60.922381 69.077619
3	3	71.666667	1.6666667	2.5000000	67.589048 75.744285
4	3	78.333333	3.3333333	2.5000000	74.255715 82.410952
Total	12	69.166667	1.2500000	1.2500000	67.127857 71.205476

Multiple range analysis for M3T3.tlc by M3T3.nt

Method: 95 Percent Duncan

Level Count Average Homogeneous Groups

1	3	61.666667	*
2	3	65.000000	**
3	3	71.666667	**
4	3	78.333333	*

contrast	difference
1 - 2	-3.33333
1 - 3	-10.0000 *
1 - 4	-16.6667 *
2 - 3	-6.66667
2 - 4	-13.3333 *
3 - 4	-6.66667

* denotes a statistically significant difference.

Bảng 10: Thống kê hiệu lực gây chết ngòi gạo của chế phẩm neem được bảo quản sau 2 tuần với dầu mè 5%

One-Way Analysis of Variance

Data: M5T1.tlc

Level codes: M5T1.nt

Labels:

Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: Duncan

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	56.25000	3	18.750000	1.286	.3437
Within groups	116.66667	8	14.583333		
Total (corrected)	172.91667	11			

0 missing value(s) have been excluded.

06-24-06 01:38 Ý GO ÞÝ TOOLS ÞÝ QUIT Þ
PROCESS STATGRAPHICS Vers.7.0 Ý (F6) ÞÝ (F10) ÞÝ (Esc) Þ

Table of means for M5T1.tlc by M5T1.nt

Level	Count	Std. Error Average	Std. Error (internal)	95 % LSD (pooled s)	95 % LSD intervals for mean
1	3	83.333333	1.6666667	2.2047928	79.737212 86.929455
2	3	83.333333	1.6666667	2.2047928	79.737212 86.929455
3	3	86.666667	3.3333333	2.2047928	83.070545 90.262788
4	3	88.333333	1.6666667	2.2047928	84.737212 91.929455
Total	12	85.416667	1.1023964	1.1023964	83.618606 87.214728

Multiple range analysis for M5T1.tlc by M5T1.nt

Method: 95 Percent Duncan

Level Count Average Homogeneous Groups

1	3	83.333333	*
2	3	83.333333	*
3	3	86.666667	*
4	3	88.333333	*

contrast	difference
1 - 2	0.00000
1 - 3	-3.33333
1 - 4	-5.00000
2 - 3	-3.33333
2 - 4	-5.00000
3 - 4	-1.66667

* denotes a statistically significant difference.

Bảng 11: Thống kê hiệu lực gây chết ngòi gạo của chế phẩm neem được bảo quản sau 4 tuần với dầu mè 5%

One-Way Analysis of Variance

Data: M5T2.tlc

Level codes: M5T2.nt

Labels:

Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: Duncan

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	656.25000	3	218.75000	26.250	.0002
Within groups	66.66667	8	8.33333		
Total (corrected)	722.91667	11			

0 missing value(s) have been excluded.

06-24-06 01:50 Ý GO ÞÝ TOOLS ÞÝ QUIT Þ
 PROCESS STATGRAPHICS Vers.7.0 Ý (F6) ÞÝ (F10) ÞÝ (Esc) Þ

Table of means for M5T2.tlc by M5T2.nt

Level	Count	Std. Error Average	Std. Error (internal)	95 % LSD (pooled s)	95 % LSD intervals for mean
1	3	68.333333	1.6666667	1.6666667	65.614921 71.051746
2	3	73.333333	1.6666667	1.6666667	70.614921 76.051746
3	3	83.333333	1.6666667	1.6666667	80.614921 86.051746
4	3	86.666667	1.6666667	1.6666667	83.948254 89.385079
Total	12	77.916667	.8333333	.8333333	76.557460 79.275873

Multiple range analysis for M5T2.tlc by M5T2.nt

Method: 95 Percent Duncan

Level Count Average Homogeneous Groups

1	3	68.333333	*
2	3	73.333333	*
3	3	83.333333	*
4	3	86.666667	*

contrast	difference
1 - 2	-5.00000
1 - 3	-15.0000 *
1 - 4	-18.3333 *
2 - 3	-10.0000 *
2 - 4	-13.3333 *
3 - 4	-3.33333

* denotes a statistically significant difference.

Bảng 12: Thống kê hiệu lực gây chết ngài gạo của chế phẩm neem được bảo quản sau 8 tuần với dầu mè 5%

One-Way Analysis of Variance

Data: M5T3.tlc

Level codes: M5T3.nt

Labels:

Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: Duncan

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	572.91667	3	190.97222	18.333	.0006
Within groups	83.33333	8	10.41667		
Total (corrected)	656.25000	11			

0 missing value(s) have been excluded.

06-24-06 01:51 Ý GO BÝ TOOLS BÝ QUIT B
PROCESS STATGRAPHICS Vers.7.0 Ý (F6) BÝ (F10) BÝ (Esc) B

Table of means for M5T3.tlc by M5T3.nt

Level	Count	Std. Error Average	Std. Error (internal)	95 % LSD (pooled s)	95 % LSD intervals for mean
1	3	61.666667	1.6666667	1.8633900	58.627389 64.705944
2	3	68.333333	1.6666667	1.8633900	65.294056 71.372611
3	3	75.000000	.0000000	1.8633900	71.960722 78.039278
4	3	80.000000	2.8867513	1.8633900	76.960722 83.039278
Total	12	71.250000	.9316950	.9316950	69.730361 72.769639

Multiple range analysis for M5T3.tlc by M5T3.nt

Method: 95 Percent Duncan

Level Count Average Homogeneous Groups

1	3	61.666667	*
2	3	68.333333	*
3	3	75.000000	*
4	3	80.000000	*

contrast	difference
1 - 2	-6.66667 *
1 - 3	-13.3333 *
1 - 4	-18.3333 *
2 - 3	-6.66667 *
2 - 4	-11.6667 *
3 - 4	-5.00000

* denotes a statistically significant difference.

Bảng 13: Thống kê hiệu lực gây chết ngòi gạo của chế phẩm neem được bảo quản sau 2 tuần không dùng chất bảo quản

One-Way Analysis of Variance

Data: DC1.tlc

Level codes: DC1.nt

Labels:

Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: Duncan

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	122.91667	3	40.972222	2.185	.1676
Within groups	150.00000	8	18.750000		
Total (corrected)	272.91667	11			

0 missing value(s) have been excluded.

06-24-06 01:53 Ý GO BÝ TOOLS BÝ QUIT B
PROCESS STATGRAPHICS Vers.7.0 Ý (F6) BÝ (F10) BÝ (Esc) B

Table of means for DC1.tlc by DC1.nt

Level	Count	Std. Error Average	Std. Error (internal)	95 % LSD (pooled s)	intervals for mean
1	3	70.000000	2.8867513	2.5000000	65.922381 74.077619
2	3	76.666667	1.6666667	2.5000000	72.589048 80.744285
3	3	73.333333	3.3333333	2.5000000	69.255715 77.410952
4	3	78.333333	1.6666667	2.5000000	74.255715 82.410952
Total	12	74.583333	1.2500000	1.2500000	72.544524 76.622143

Multiple range analysis for DC1.tlc by DC1.nt

Method: 95 Percent Duncan

Level Count Average Homogeneous Groups

1	3	70.000000	*
3	3	73.333333	*
2	3	76.666667	*
4	3	78.333333	*

contrast	difference
1 - 2	-6.66667
1 - 3	-3.33333
1 - 4	-8.33333
2 - 3	3.33333
2 - 4	-1.66667
3 - 4	-5.00000

* denotes a statistically significant difference.

Bảng 14: Thống kê hiệu lực gây chết ngòi gạo của chế phẩm neem được bảo quản sau 4 tuần không dùng chất bảo quản

One-Way Analysis of Variance

Data: DC2.tlc

Level codes: DC2.nt

Labels:

Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: Duncan

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	572.91667	3	190.97222	8.333	.0076
Within groups	183.33333	8	22.91667		
Total (corrected)	756.25000	11			

0 missing value(s) have been excluded.

06-24-06 01:55 Ý GO BÝ TOOLS BÝ QUIT B
PROCESS STATGRAPHICS Vers.7.0 Ý (F6) BÝ (F10) BÝ (Esc) B

Table of means for DC2.tlc by DC2.nt

Level	Count	Std. Error Average	Std. Error (internal)	95 % LSD (pooled s)	intervals for mean
1	3	51.666667	1.6666667	2.7638540	47.158689 56.174644
2	3	58.333333	3.3333333	2.7638540	53.825356 62.841311
3	3	65.000000	2.8867513	2.7638540	60.492023 69.507977
4	3	70.000000	2.8867513	2.7638540	65.492023 74.507977
Total	12	61.250000	1.3819270	1.3819270	58.996011 63.503989

Multiple range analysis for DC2.tlc by DC2.nt

Method: 95 Percent Duncan

Level Count Average Homogeneous Groups

1	3	51.666667	*
2	3	58.333333	**
3	3	65.000000	**
4	3	70.000000	*

contrast	difference
1 - 2	-6.66667
1 - 3	-13.3333 *
1 - 4	-18.3333 *
2 - 3	-6.66667
2 - 4	-11.6667 *
3 - 4	-5.00000

* denotes a statistically significant difference.

Bảng 15: Thống kê hiệu lực gây chết ngài gạo của chế phẩm neem được bảo quản sau 8 tuần không dùng chất bảo quản

One-Way Analysis of Variance

Data: DC3.tlc

Level codes: DC3.nt

Labels:

Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: Duncan

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	606.25000	3	202.08333	10.778	.0035
Within groups	150.00000	8	18.75000		
Total (corrected)	756.25000	11			

0 missing value(s) have been excluded.

06-24-06 01:56 Ý GO BÝ TOOLS BÝ QUIT B
PROCESS STATGRAPHICS Vers.7.0 Ý (F6) BÝ (F10) BÝ (Esc) B

Table of means for DC3.tlc by DC3.nt

Level	Count	Std. Error Average	Std. Error (internal)	95 % LSD (pooled s)	95 % LSD intervals for mean
1	3	50.000000	2.8867513	2.5000000	45.922381 54.077619
2	3	48.333333	3.3333333	2.5000000	44.255715 52.410952
3	3	63.333333	1.6666667	2.5000000	59.255715 67.410952
4	3	63.333333	1.6666667	2.5000000	59.255715 67.410952
Total	12	56.250000	1.2500000	1.2500000	54.211191 58.288809

Multiple range analysis for DC3.tlc by DC3.nt

Method: 95 Percent Duncan

Level Count Average Homogeneous Groups

2	3	48.333333	*
1	3	50.000000	*
3	3	63.333333	*
4	3	63.333333	*

contrast	difference
1 - 2	1.66667
1 - 3	-13.3333 *
1 - 4	-13.3333 *
2 - 3	-15.0000 *
2 - 4	-15.0000 *
3 - 4	0.00000

* denotes a statistically significant difference.

