

NGHIÊN CỨU THỬ NGHIỆM KHẢ NĂNG DIỆT VI KHUẨN KHỬ SULPHATE BẰNG DUNG DỊCH NANO BẠC

Cù Thị Việt Nga, Trịnh Thanh Sơn, Lương Văn Tuyên
Hà Thu Hương, Kiều Anh Trung, Bùi Thị Hương, Đào Thị Hải Hà
Nguyễn Thị Ngọc Bích, Ngô Hồng Anh, Hoàng Thị Phương
Viện Dầu khí Việt Nam
Email: ngactv@vpi.pvn.vn

Tóm tắt

Trong ngành công nghiệp dầu khí, vi khuẩn khử sulphate có khả năng sinh ra khí H_2S , dẫn đến giảm giá trị thương mại của dầu thô, ăn mòn thiết bị kim loại, ảnh hưởng nghiêm trọng đến hiệu quả kinh tế, an toàn và kỹ thuật. Vì vậy, nhiều hệ chất diệt khuẩn được sử dụng để ngăn chặn tác hại do nhóm vi khuẩn này gây ra. Dung dịch nano bạc đã và đang được các nhà khoa học trên thế giới nghiên cứu phát triển do có hiệu quả diệt khuẩn cao và thân thiện với môi trường. Bài báo giới thiệu một số kết quả nghiên cứu tổng hợp dung dịch nano bạc và khảo sát hiệu quả diệt khuẩn lên vi khuẩn khử sulphate *Desulfomicrobium baculatum* được phân lập từ mẫu dầu thô mỏ Bạch Hổ.

Từ khóa: Nano bạc, chất diệt khuẩn, vi khuẩn khử sulphate, mỏ Bạch Hổ.

Giới thiệu

Vi khuẩn khử sulphate là nhóm vi khuẩn kỵ khí có khả năng sinh ra khí H_2S . Loại vi khuẩn này có thể sống ở môi trường khắc nghiệt như: nhiệt độ cao, áp suất cao, độ mặn cao, môi trường quá kiềm hoặc quá acid và đặc biệt là tồn tại khá phổ biến trong các mỏ dầu, giếng khai thác. Vi khuẩn khử sulphate sinh ra khí H_2S làm chua hóa, dẫn đến giảm giá trị thương mại của dầu thô, gây ăn mòn các thiết bị kim loại, hệ thống đường ống, ảnh hưởng đến sức khỏe của người lao động tại các giàn khoan [1, 2]. Bên cạnh đó, vi khuẩn khử sulphate gặp điều kiện thuận lợi sẽ phát triển tạo thành các màng biofilm gây bít nhét vỉa, làm giảm khả năng tiếp nhận của nước bơm ép.

Hiện nay, các chất diệt khuẩn đang được sử dụng chủ yếu là các aldehyde hoặc amine vòng kết hợp với chất hoạt động cation, rất độc hại đối với con người và môi trường. Khi sử dụng các chất diệt khuẩn này trong thời gian dài sẽ xảy ra hiện tượng “nhờn”, vì vậy cần thay thế bằng chất diệt khuẩn mới ưu việt và thân thiện với môi trường hơn.

Sự phát triển của công nghệ vật liệu đã tạo ra vật liệu mới có kích thước nano với tính chất ưu việt. Nano bạc là vật liệu mới được biết đến với tính năng diệt khuẩn vượt trội có rất nhiều ứng dụng trong đời sống. Nano bạc có kích thước rất nhỏ, diện tích bề mặt rất lớn nên có thể xâm nhập dễ dàng vào tế bào vi sinh vật, làm thay đổi cơ chế hóa sinh, bất hoạt các quá trình trao đổi chất của vi sinh dẫn đến việc tiêu diệt chúng [3].

Cơ chế diệt khuẩn của nano bạc là kết quả của quá trình biến đổi các nguyên tử bạc kim loại trên bề mặt hạt nano bạc thành các ion Ag^+ tự do và các ion tự do này sẽ tác dụng lên vi khuẩn. Một số cơ chế diệt khuẩn của nano bạc được đề xuất như sau:

- Ion Ag^+ ức chế khả năng vận chuyển oxy qua thành tế bào do có khả năng liên kết với peptidoglycan (thành phần cấu tạo của thành tế bào), dẫn đến làm chết tế bào. Ở động vật không có thành tế bào nên không bị ảnh hưởng khi tiếp xúc với các ion này.

- Ion Ag^+ có thể đi qua màng tế bào vi khuẩn vào bên trong tế bào và phản ứng với nhóm sunfuahydrin -SH của phân tử enzyme chuyển hóa oxy, vô hiệu hóa men này dẫn đến ức chế quá trình hô hấp của tế bào vi khuẩn.

- Các ion Ag^+ còn có khả năng liên kết với các base của DNA và trung hòa điện tích của gốc phosphate, ngăn chặn quá trình sao chép DNA.

Diệt khuẩn bằng dung dịch nano bạc là một hướng nghiên cứu mới trong việc chế tạo chất diệt khuẩn ứng dụng trong công nghiệp khai thác dầu khí. Bài báo trình bày một số kết quả tổng hợp dung dịch nano bạc và thử nghiệm hoạt tính diệt khuẩn của dung dịch nano bạc trên vi khuẩn khử sulphate phân lập được từ mẫu dầu thô mỏ Bạch Hổ.

2. Nguyên liệu và phương pháp

2.1. Nguyên liệu và thiết bị

2.1.1. Nguyên liệu

- Hóa chất chế tạo nano bạc: $AgNO_3$, độ tinh khiết

≥ 99,99% (Merck), NaBH_4 , độ tinh khiết 96,5% (Chemical Ltd.), $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, độ tinh khiết > 99,0% (Sigma Aldrich).

- Môi trường nuôi cấy vi khuẩn Postgate B cải tiến được sử dụng để nuôi cấy vi khuẩn: KH_2PO_4 0,5g/l; Na_2SO_4 1g/l; NH_4Cl 1g/l; MgSO_4 2g/l; NaCl 4g/l; CaCl_2 0,1g/l; nước biển 200ml; nước cất 800ml; $\text{C}_4\text{H}_5\text{NaO}_2$ 2g/l; pH 7,2g/l; $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 1,75g/l; FeSO_4 0,5g/l; cao nấm men 0,5g/l; $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{SNa}$ 0,1g/l; Na_2S 0,025g/l; Agar 12g/l; NaHCO_3 0,5g/l. Môi trường được tiệt trùng ở 121°C trong 15 phút. Môi trường Postgate B đã tiệt trùng được chỉnh pH với NaHCO_3 .

- Chủng vi khuẩn: chủng vi khuẩn khử sulphate được phân lập từ mẫu dầu thô giàn 10 mỏ Bạch Hổ và định tên bằng phương pháp giải và phân tích trình tự gen 16S rRNA.

2.1.2. Thiết bị

- Phổ tử ngoại và khả kiến UV-VIS;
- Kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM) Philips CM 120;
- Thiết bị đo kích thước hạt bằng phương pháp tán xạ ánh sáng laser LA-950;
- Bình phản ứng.

2.2. Phương pháp

Phương pháp khử hóa học được sử dụng cho quá trình chế tạo dung dịch nano bạc từ AgNO_3 , với chất khử NaBH_4 hoặc $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ [4]. Quy trình chế tạo nano bạc như Hình 1.

Đánh giá khả năng phân tán của dung dịch nano bạc: Dung dịch nano bạc được pha loãng ở các nồng độ khác nhau và được đo phổ UV-VIS để đánh giá sự tồn tại và co cụm của hạt nano bạc.

Phân lập và định tên vi khuẩn khử sulphate: Vi khuẩn được phân lập từ mẫu dầu mỏ Bạch Hổ. Vi khuẩn khử sulphate được phân lập trên môi trường Postgate B và làm sạch đến đơn chủng bằng phương pháp pha loãng tới hạn. Chủng vi khuẩn khử sulphate được tiến hành nhuộm Gram. Quan sát hình dạng tế bào trên kính hiển vi quang học.

- Nuôi cấy và làm giàu vi khuẩn. Định tên bằng phương pháp giải và phân tích trình tự gen 16S rRNA.

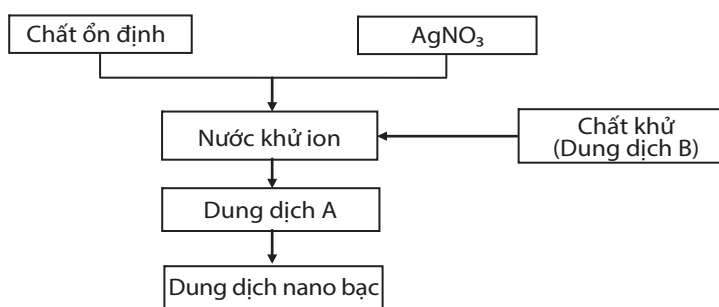
- Tác dụng diệt khuẩn khử sulphate được đánh giá theo sự phát triển của vi khuẩn sau các khoảng thời gian tiếp xúc với dung dịch nano bạc theo tiêu chuẩn API RP38.

3. Kết quả và thảo luận

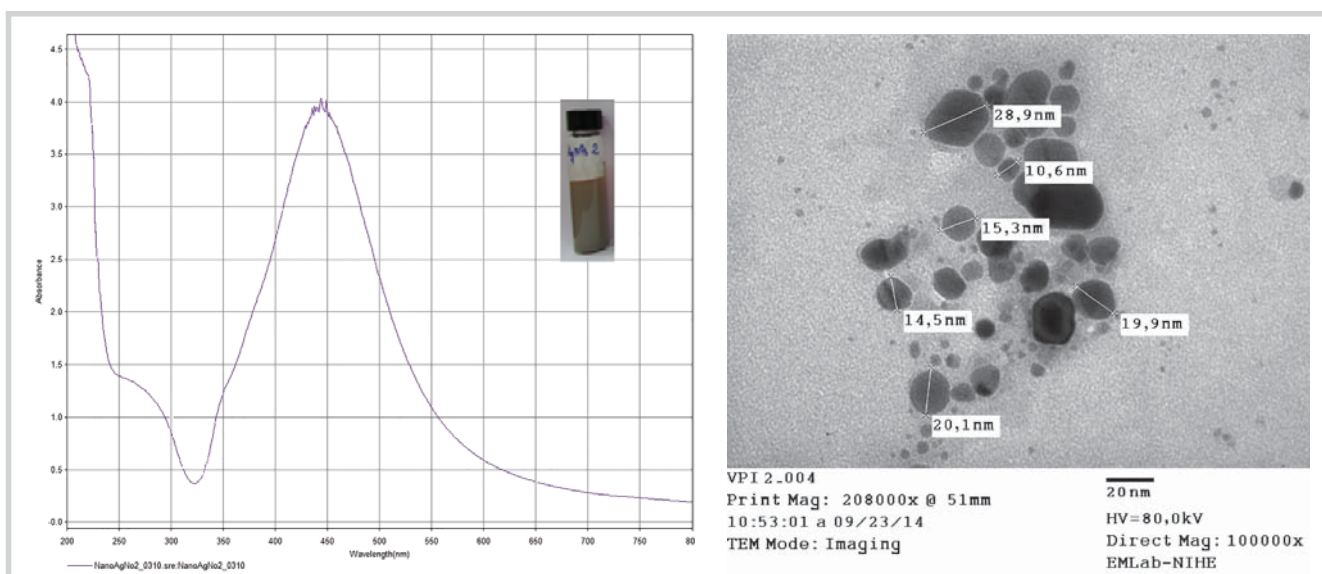
3.1. Chế tạo dung dịch nano bạc

3.1.1. Lựa chọn chất khử

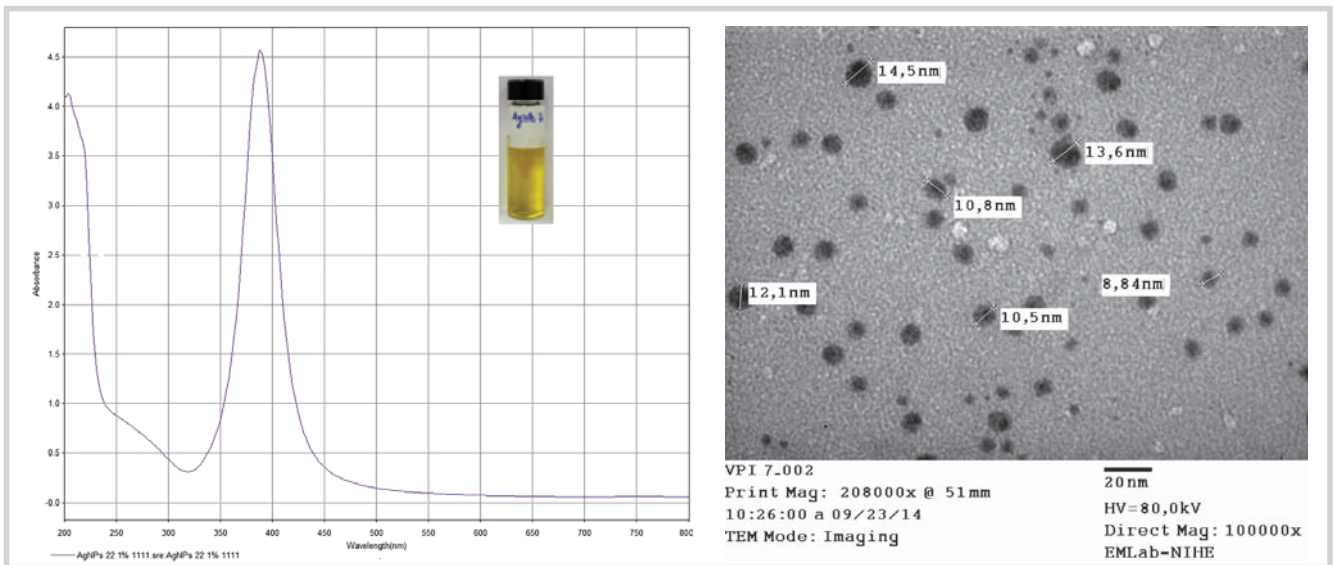
Kết quả thí nghiệm trong Hình 2 và 3 cho thấy khi sử dụng chất khử Na_3Cit ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$), sản phẩm thu được có kích thước



Hình 1. Sơ đồ chế tạo dung dịch nano bạc



Hình 2. Phổ UV-VIS và hình TEM mẫu dung dịch nano bạc với chất khử Na_3Cit



Hình 3. Phổ UV-VIS và hình TEM mẫu nano dung dịch bạc với chất khử NaBH_4

nano bạc lớn hơn khi sử dụng chất khử NaBH_4 . Khi sử dụng chất khử Na_3Cit có bước sóng hấp thụ UV-VIS khi đó dung dịch nano bạc lên tới 450nm và hiệu suất phản ứng thấp hơn khi sử dụng chất khử NaBH_4 chứng tỏ hiệu suất phản ứng khử ion Ag^+ thành Ag^0 bằng NaBH_4 cao hơn khi khử bằng Na_3Cit . Vì vậy, nhóm tác giả lựa chọn NaBH_4 cho nghiên cứu tổng hợp dung dịch nano bạc.

3.1.2. Khảo sát điều kiện tổng hợp nano bạc

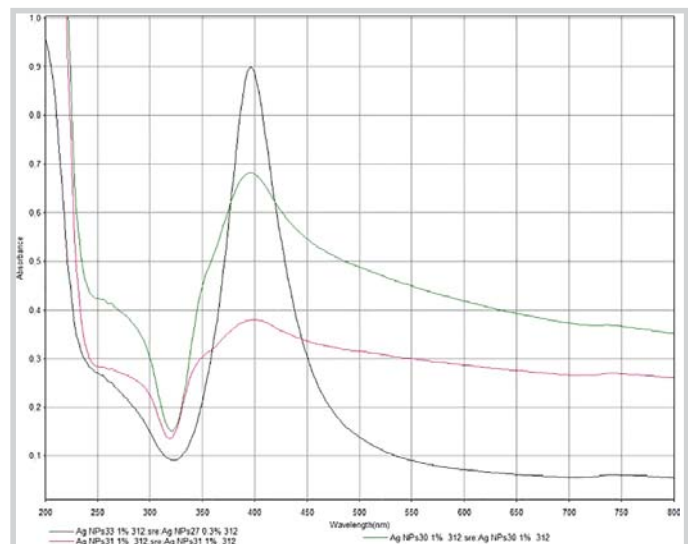
- Ảnh hưởng của tỷ lệ nồng độ $\text{NaBH}_4/\text{AgNO}_3$

Trong phản ứng tổng hợp dung dịch nano bạc với chất khử NaBH_4 , để đảm bảo lượng AgNO_3 được khử hoàn toàn và hiệu suất phản ứng đạt được cao nhất, nhóm tác giả đã sử dụng một lượng dư chất khử trong quá trình tổng hợp.

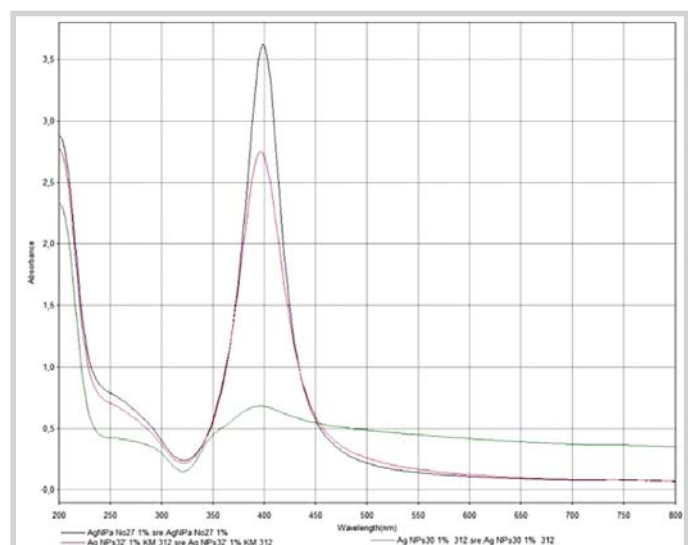
Kết quả phân tích đánh giá ảnh hưởng của tỷ lệ mol $\text{NaBH}_4/\text{AgNO}_3$ cho thấy với tỷ lệ 2:1 $\text{NaBH}_4/\text{AgNO}_3$ (cho mẫu nano bạc - AgNPs 30), tỷ lệ 3:1 (cho mẫu AgNPs 33), tỷ lệ 4:1 (mẫu AgNPs 31) thì cường độ hấp thụ đỉnh UV-VIS lần lượt là 0,380; 0,900; 0,683 chứng tỏ khi tăng hàm lượng chất khử lên quá cao hay quá thấp cũng ảnh hưởng tới số lượng hạt nano bạc được tạo ra. Trong 3 tỷ lệ mol được khảo sát thì tỷ lệ mol $\text{NaBH}_4/\text{AgNO}_3$ 3:1 tạo được dung dịch nano bạc có cường độ hấp thụ UV-VIS là cao nhất.

- Ảnh hưởng tỷ lệ chất làm bền/ AgNO_3

Kết quả thí nghiệm cho thấy khi sử dụng tỷ lệ mol chất làm bền/ AgNO_3 là 0,05 cường độ hấp thụ đỉnh UV-VIS tương đối thấp so với các mẫu có tỷ lệ 0,275 và



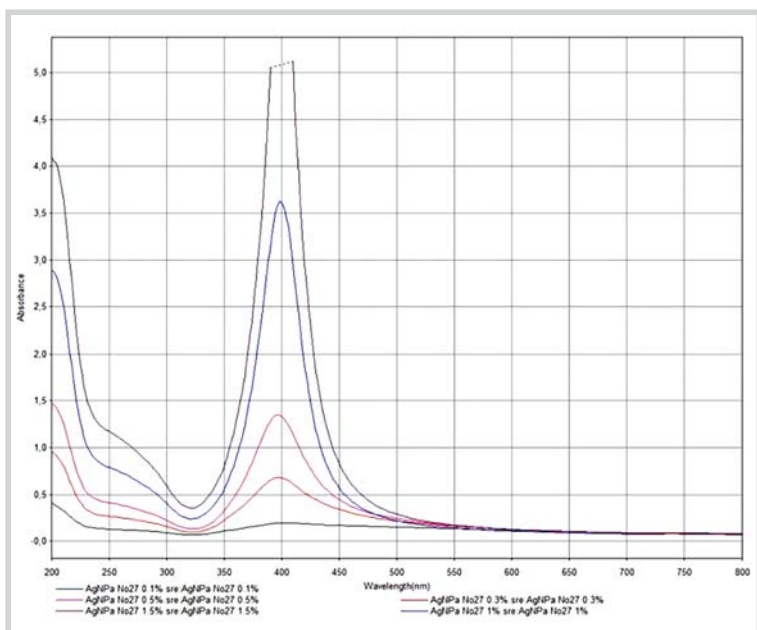
Hình 4. UV-VIS của các mẫu dung dịch nano bạc (AgNPs 30, 31, 33)



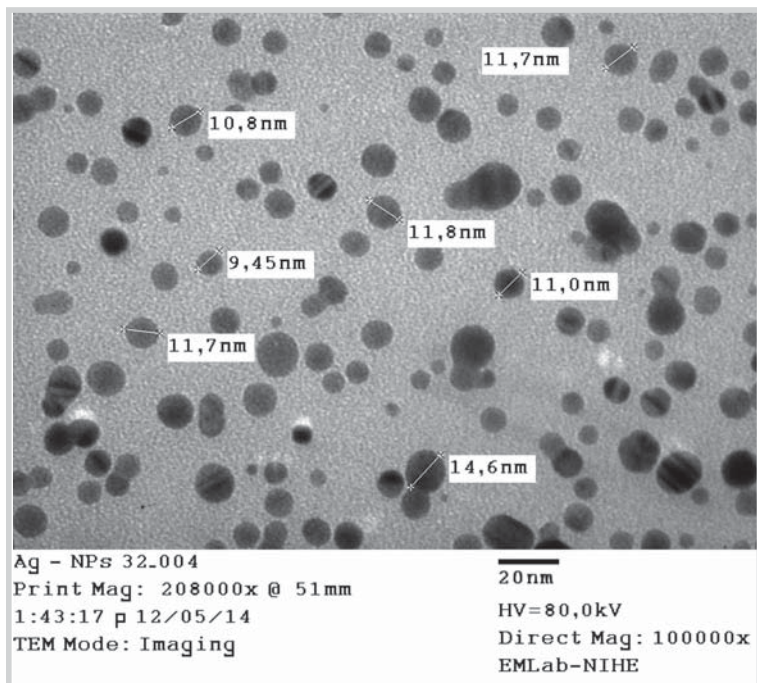
Hình 5. Phổ UV-VIS các mẫu dung dịch nano bạc với tỷ lệ nồng độ chất làm bền/ AgNO_3 là: 0,05; 0,275 và 0,5



Hình 6. Dung dịch nano bạc ở các nồng độ khác nhau



Hình 7. Phổ UV-VIS của dung dịch nano bạc AgNPs 27 ở các nồng độ 0,1%, 0,3%, 0,5%, 1% và 1,5%



Hình 8. Hình TEM của mẫu nano bạc AgNPs 32

0,5. Điều này chứng tỏ khi sử dụng tỷ lệ mol chất làm bền quá thấp sẽ không tạo được các phân tử mixen bao quanh hạt nano bạc dẫn tới tăng kích thước hạt và giảm số lượng hạt nano bạc tạo ra (Hình 5). Với tỷ lệ mol chất làm bền/ AgNO_3 là 0,5, chiều cao peak là lớn nhất.

Điều kiện tối ưu chế tạo dung dịch nano bạc là: nhiệt độ phản ứng 4°C , tỷ lệ chất làm bền/ AgNO_3 là 0,5, tỷ lệ mol $\text{NaBH}_4/\text{AgNO}_3$ là 3:1, với nồng độ nano bạc tối đa là 2.000ppm.

3.1.3. Đánh giá các đặc trưng của dung dịch nano bạc

Dung dịch nano bạc được chuẩn bị ở các nồng độ khác nhau từ 0,2ppm đến 2.000ppm (Hình 6). Phổ hấp thụ UV-VIS của dung dịch nano bạc ở các nồng độ khác nhau được thể hiện ở Hình 7. Các mẫu pha loãng đều xuất hiện peak tại bước sóng 400nm, chứng tỏ tính chất của nano bạc không bị ảnh hưởng khi pha loãng trong nước.

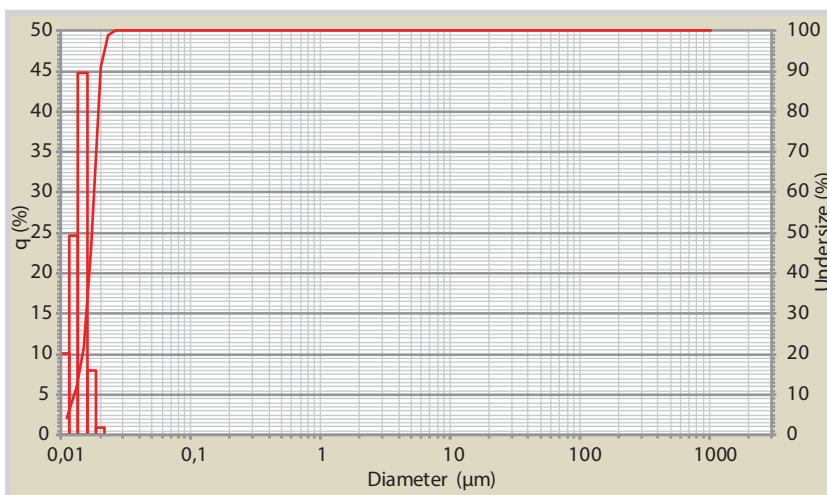
Hình ảnh TEM của mẫu nano bạc ở nồng độ 2.000ppm (Hình 8) cho thấy các hạt nano bạc có kích thước khoảng $15 \pm 4\text{nm}$, đáp ứng yêu cầu về kích thước hạt nano sử dụng làm chất diệt khuẩn ($< 100\text{nm}$).

Theo kết quả phân bố kích thước hạt nano bạc nồng độ 2.000ppm trong dung dịch ở Hình 9, các hạt nano bạc đạt được kích thước hạt trung bình là 19nm.

3.2. Phân lập và định tên vi khuẩn

Vi khuẩn khử sulphate EPC-KK2 được phân lập từ mẫu dầu thuộc MSP10-1014. Trên kính hiển vi quang học, đây là các tế bào hình que ngắn, thuộc nhóm vi khuẩn Gram âm, bơi lội. Loại vi khuẩn này kỵ khí bắt buộc, hô hấp kỵ khí sử dụng sulphate làm chất nhận điện tử cuối cùng, tạo ra H_2S . Sinh trưởng trên môi trường với cơ chất lactate. Các điều kiện sinh trưởng bao gồm: nhiệt độ thích hợp là $30 - 32^\circ\text{C}$; pH 7,5; nồng độ muối NaCl là 2,5g/l.

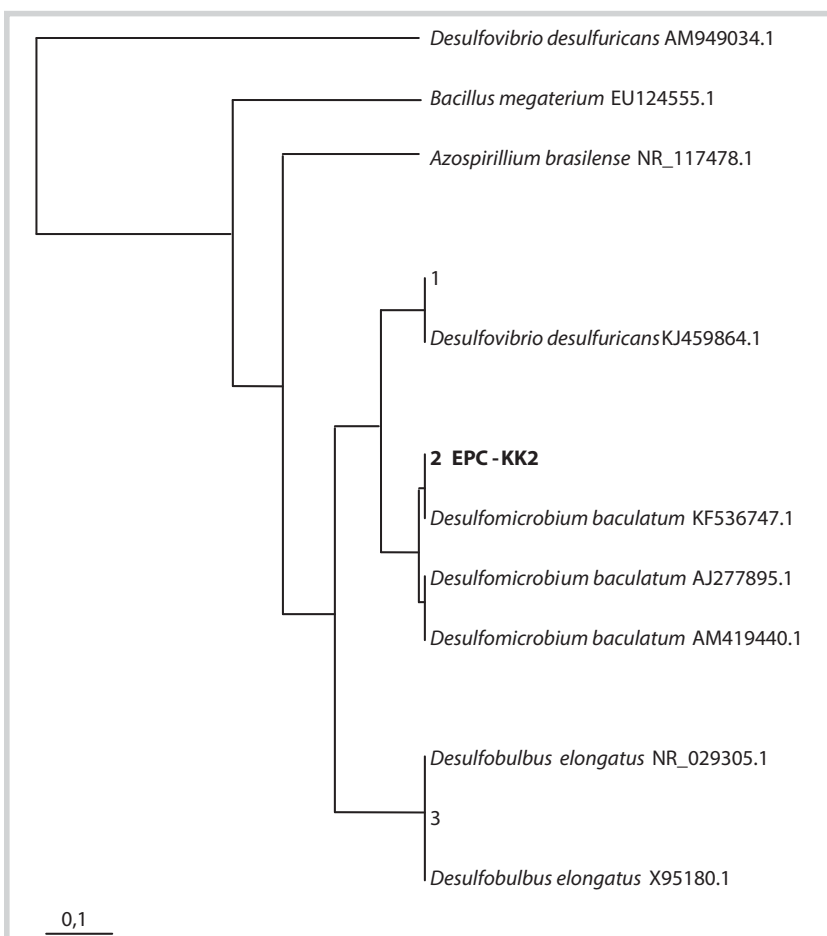
Vi khuẩn được phân loại và định tên bằng phương pháp giải và phân tích trình tự gen 16S rRNA dựa trên ngân hàng gen của thế giới về phân loại.



Hình 9. Phân bố kích thước hạt nano bạc trong mẫu dung dịch AgNPs 27

```
AGTCAATGAACGCTGGCGGCTGCCTAACACATGCAAGTCGTACGAGAAAGGGGCTTTCGGGCCCTGAGT
AGAGTGGCGCACGGGTGAGTAACGCGTGGTAATCTACCCTTGGATTGGGATAACTCTGCGAAAGTGG
GCTAATACCGGATAGTCTGGCTTTAATTAAGAAGTCGGTAAAGGATGCCTCTGCATATGCATTCGTCCGA
GGATGAGCCCGCTCTCATTAGCTAGTTGGTAGGGTAATGGCCTACCAAGGCAACGATGAGTAGCTGGTC
TGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAACGAAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAT
ATTGCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGCAGCAACGCGGTGTGAGGGATGAAGGCTTTCGGGTCGTAACCT
CTGTCGGAAGGAAGAACGGCATTGGTCTAATAGGCCTTTGTTTTGACGGTACCTTTAGAGGAAGCACC
GGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTATTCGGAATTACTGGGCGTAA
```

Hình 10. Đoạn trình tự gen của vi khuẩn EPC-KK2



Hình 11. Vị trí phân loại của chủng EPC-KK2 với các loài có quan hệ họ hàng dựa vào trình tự gen 16S rRNA

Kết quả phân tích gen (Hình 10) của EPC-KK2 cho thấy các đoạn gen nhân lên được có sự tương đồng với vi khuẩn *Desulfovibrio baculatum* KF536747.1 (Hình 11). Từ các kết quả trên và hình thái tế bào (Hình 12) có thể khẳng định EPC-KK2 thuộc nhánh *Bacteria*; *Proteobacteria*; *Deltaproteobacteria*; *Desulfovibrionales*; *Desulfomicrobiaceae*; *Desulfovibrio baculatum*.

Đặc điểm chung của nhóm vi khuẩn *Desulfovibrio baculatum*:

- Tế bào: dạng rod hoặc elip, 0,5 - 0,9 x 1,3 - 2,9µm, đầu tròn, đơn hoặc đôi (Sharak Genthner et al., 1994). Chủng Gram âm và có cấu trúc thành tế bào. Tế bào di động, thường sử dụng 1 đuôi. Không tạo bào tử.

- Môi trường sống: sống kỵ khí. Môi trường khử hoặc dùng tác nhân khử trong môi trường sinh trưởng. Có thể sinh trưởng nhờ hô hấp kỵ khí với sulphate hoặc sulfoxyanion làm chất nhận điện tử cuối cùng, tạo H₂S. Nhiệt độ tối ưu 25 - 30°C.

- Sử dụng cơ chất: Các hợp chất hữu cơ đơn giản làm chất nhận điện tử trong quá trình hô hấp sulphate gồm: lactate, pyruvate, ethanol, formate và hydro. Hô hấp sulphate với lactate như chất nhận điện tử là không hoàn toàn, với sự tạo thành acetate và CO₂. Có mặt enzyme hydrogenase. Tế bào chứa cytochrome dạng b và c. Trao đổi chất có thể lên men với cơ chất hữu cơ đơn giản bao gồm pyruvate, malate hoặc fumarate, không lên men với đường. Không có nhu cầu đặc biệt với vitamin.

3.3. Khả năng diệt khuẩn của dung dịch nano bạc

Theo một số nhà khoa học, hiện nay có nhiều lý thuyết về cơ chế tác dụng diệt vi khuẩn của nano bạc, trong đó lý thuyết hấp thụ thuyết phục hơn cả. Bản chất của thuyết này là tế bào vi khuẩn bị vô hiệu hóa do kết quả của quá trình

tương tác tĩnh điện giữa bề mặt mang điện tích âm của tế bào và ion Ag⁺ được hấp thụ lên đó, các ion này sau đó xâm nhập vào bên trong tế bào vi khuẩn và vô hiệu hóa chúng.

Các mẫu nano bạc tổng hợp được khảo sát khả năng diệt khuẩn theo kích thước hạt. Theo các nghiên cứu được công bố, kích thước hạt nano bạc là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến khả năng



Hình 12. Vi khuẩn EPC-KK2 trên kính hiển vi quang học Leica DM750

năng diệt khuẩn. Với từng loại cỡ hạt khác nhau, phổ hoạt động của dung dịch nano bạc trên các nhóm vi khuẩn rất khác nhau [5]. Nhìn chung, kích thước hạt có hiệu quả với các loại vi khuẩn nằm trong khoảng từ 1 - 50nm. Với vi khuẩn phân lập được, kích thước hạt nano bạc có hiệu quả diệt khuẩn nằm trong khoảng 1 - 50nm. Nồng độ nano bạc trong dung dịch có hiệu quả gây bất hoạt các chủng vi khuẩn khác nhau cũng rất khác nhau. Thông thường nồng độ ức chế tối thiểu của nano bạc lên vi khuẩn nằm trong khoảng 10 - 75ppm. Các mẫu nano bạc đạt được kích thước nano trong dung dịch tổng hợp được gồm có: AgNPs 25, AgNPs 27, AgNPs 31, AgNPs 34 không có hiện tượng kết tủa được đưa vào khảo sát sơ bộ đối với chủng EPC-KK2, kết quả được thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1 cho thấy các mẫu dung dịch nano bạc AgNPs 25 và AgNPs 27 có hiệu quả diệt vi khuẩn EPC-KK2 với kích thước hạt trung bình < 25nm. Trong khi đó, các mẫu AgNPs 31 và AgNPs 34 với kích thước hạt trung bình > 25nm không có hiệu quả diệt vi khuẩn EPC-KK2.

Bảng 1. Ảnh hưởng của kích thước hạt và nồng độ nano bạc đến hiệu quả diệt khuẩn EPC-KK2 của các mẫu dung dịch nano bạc

TT	Ký hiệu mẫu	Kích thước hạt nano bạc trung bình (nm)	Nồng độ nano bạc trong dung dịch (ppm)	Số lượng vi khuẩn EPC-KK2 ban đầu (tb/ml)	Số lượng vi khuẩn EPC-KK2 sau 24 giờ tiếp xúc với dung dịch nano bạc (tb/ml)	Số lượng vi khuẩn EPC-KK2 sau 96 giờ tiếp xúc với dung dịch nano bạc (tb/ml)	Đối chứng vi khuẩn K _{EPC-KK2}
1	AgNPs 25_30	21,45	30	10 ⁶	nd	nd	10 ⁶
2	AgNPs 25_60	21,45	60	10 ⁶	nd	nd	10 ⁶
3	AgNPs 25_100	21,45	100	10 ⁶	nd	nd	10 ⁶
4	AgNPs 27_30	18,45	30	10 ⁶	nd	nd	10 ⁶
5	AgNPs 27_60	18,45	60	10 ⁶	nd	nd	10 ⁶
6	AgNPs 27_100	18,45	100	10 ⁶	nd	nd	10 ⁶
7	AgNPs 31_30	25,28	30	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁶
8	AgNPs 31_60	25,28	60	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁴	10 ⁶
9	AgNPs 31_100	25,28	100	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁶
10	AgNPs 34_30	25,38	30	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁶
11	AgNPs 34_60	25,38	60	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁶
12	AgNPs 34_100	25,38	100	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁶

Bảng 2. Khảo sát nồng độ diệt khuẩn EPC-KK2 của dung dịch nano bạc AgNPs 25

TT	Nồng độ nano bạc (ppm)	Số lượng vi khuẩn EPC-KK2 ban đầu (tb/ml)	Số lượng vi khuẩn EPC-KK2 sau 24 giờ tiếp xúc với AgNPs 25 (tb/ml)	Số lượng vi khuẩn EPC-KK2 sau 96 giờ tiếp xúc với AgNPs 25 (tb/ml)	Đối chứng vi khuẩn K _{EPC-KK2}
1	0	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁶
2	5	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁶
3	10	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁴	10 ⁶
4	15	10 ⁶	10 ⁴	10 ³	10 ⁶
5	20	10 ⁶	~10	nd	10 ⁶
6	25	10 ⁶	nd	nd	10 ⁶
7	30	10 ⁶	nd	nd	10 ⁶

nd: không phát hiện

Bảng 3. Khảo sát nồng độ diệt khuẩn EPC-KK2 của dung dịch nano bạc AgNPs 27

TT	Nồng độ nano bạc (ppm)	Số lượng vi khuẩn EPC-KK2 ban đầu (tb/ml)	Số lượng vi khuẩn EPC-KK2 sau 24 giờ tiếp xúc với AgNPs 27 (tb/ml)	Số lượng vi khuẩn EPC-KK2 sau 96 giờ tiếp xúc với AgNPs 27 (tb/ml)	Đối chứng vi khuẩn $K_{EPC-KK2}$
1	0	10^6	10^6	10^6	10^6
2	5	10^6	10^6	10^6	10^6
3	10	10^6	10^4	10^4	10^6
4	15	10^6	10^4	10^3	10^6
5	20	10^6	~10	nd	10^6
6	25	10^6	nd	nd	10^6
7	30	10^6	nd	nd	10^6

nd: không phát hiện



Hình 13. Vi khuẩn khử sulphate EPC-KK2 sinh trưởng trở lại trong thử nghiệm hiệu quả diệt khuẩn của dung dịch nano bạc



Hình 14. Vi khuẩn khử sulphate EPC-KK2 không sinh trưởng trở lại trong thử nghiệm hiệu quả diệt khuẩn của dung dịch nano bạc

Với kích thước hạt nano AgNPs < 25nm, dung dịch nano AgNPs 25 và nano AgNPs 27 lần lượt được khảo sát hiệu quả diệt khuẩn ở các nồng độ trong khoảng 0 - 30ppm. Kết quả ở Bảng 2 và 3 cho thấy không phát hiện thấy EPC-KK2 sinh trưởng trở lại sau thời gian thử nghiệm với các mẫu nano AgNPs 25 và mẫu nano AgNPs 27 ở nồng độ 20ppm. Một số hình ảnh vi khuẩn khử sulphate EPC-KK2 trong thử nghiệm đánh giá tác dụng diệt khuẩn của dung dịch nano bạc (Hình 13 và 14).

Các kết quả đánh giá cho thấy hiệu quả diệt khuẩn của các mẫu dung dịch nano bạc AgNPs 27 và AgNPs 25 rất cao với nồng độ ở 20ppm đối với chủng EPC-KK2.

4. Kết luận

Vi khuẩn khử sulphate EPC-KK2 phân lập được từ mẫu dầu thô mỏ Bạch Hổ có tên phân loại là *Desulfomicrobium baculatum*, được sử dụng để đánh giá hiệu quả diệt khuẩn của dung dịch nano bạc. Dung dịch nano bạc (kích thước hạt bạc trung bình 18 - 21nm) có hiệu quả diệt khuẩn khử sulphate từ số lượng ban đầu là 10^6 tb/ml xuống < 10tb/ml (99%) ở nồng độ 20ppm. Kết quả cho thấy dung dịch nano bạc có hiệu quả diệt khuẩn khử sulphate rất cao, mở ra một hướng mới để thử nghiệm ứng dụng nano bạc làm chất diệt khuẩn trong công nghiệp dầu khí Việt Nam.

Tài liệu tham khảo

1. Lại Thúy Hiền, Đặng Phương Nga. *Một số đặc điểm sinh lý, sinh hóa của một số chủng vi khuẩn KSF phân lập từ mỏ dầu Bạch Hổ*. Tạp chí Sinh học. 1998; 20(2): trang 33 - 38.
2. Lại Thúy Hiền, Lê Phi Nga. *Nghiên cứu khả năng gây ăn mòn kim loại của vi khuẩn *Desulfovibrio vulgaris**. Tạp chí Sinh học. 1992; 14(4): trang 26 - 29.
3. Catalina Marambio-Jones, Eric M.V.Hoek. *A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment*. Journal of Nanoparticle Research. 2010; 12(5): p.1531 - 1551.
4. Shuai He, Honglin Chen, Zanru Guo, Biqing Wang, Chongli Tang, Yujun Feng. *High-concentration silver colloid stabilized by a cationic geminisurfactant*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 2013; 429: p. 98 - 105.
5. G.Franci, A.Falanga, S.Galdiero, L.Palomba, M.Rai, G.Morelli, M.Galdiero. *Silver nanoparticles as potential antibacterial agents*. Molecules. 2015; 20(5): p. 8856 - 8874.
6. Sebastian Wojtysiak, Andrzej Kudelski. *Influence of oxygen on the process of formation of silver nanoparticles during citrate/borohydride synthesis of silver sols*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 2012; 410: p. 45 - 51.
7. H.S.Shin, H.J.Yang, S.B.Kim, M.S.Lee. *Mechanism of growth of colloidal silver nanoparticles stabilized by polyvinyl pyrrolidone in γ -irradiated silver nitrate solution*. Journal of Colloid and Interface Science. 2004; 274(1): p. 89 - 94.

Study on testing of the antibacterial effect of silver nanoparticles on sulfate-reducing bacteria

Cu Thi Viet Nga, Trinh Thanh Son, Luong Van Tuyen
Ha Thu Huong, Kieu Anh Trung, Bui Thi Huong
Dao Thi Hai Ha, Nguyen Thi Ngoc Bich
Ngo Hong Anh, Hoang Thi Phuong
Vietnam Petroleum Institute
Email: ngactv@vpi.pvn.vn

Summary

In the oil and gas industry, sulfate-reducing bacteria can create hydrogen sulfide (H_2S), thus decreasing the commercial value of crude oil, causing metal equipment corrosion and great damages to the economic efficiency and the health of staff working on drilling rigs. Because of their strong antibacterial and environmental friendly characteristics, silver nanoparticles have been studied and developed by scientists in the world. This paper presents some research results on silver nanoparticle synthesis and antibacterial survey of sulfate-reducing bacteria *desulfomicrobium baculatum* isolated from crude oil samples taken from Bach Ho field.

Key words: Silver nanoparticle, biocide, sulfate-reducing bacteria.