

Nghiên cứu hiệu lực ức chế vi khuẩn khử sunphat của một số nano kim loại

Hoàng Anh Sơn*, Công Hồng Hạnh, Nguyễn Hồng Nhung, Vũ Hồng Sơn,
Phạm Duy Khánh, Trần Thị Hương, Trần Quế Chi

Viện Khoa học Vật liệu, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 9/11/2021; ngày chuyển phản biện 12/11/2021; ngày nhận phản biện 3/12/2021; ngày chấp nhận đăng 9/12/2021

Tóm tắt:

Vi khuẩn khử sunphat (*Desulfomicrobium baculatum*) là nhóm vi khuẩn kỵ khí có khả năng sinh ra khí H_2S làm chua hóa dầu thô, gây ăn mòn các thiết bị kim loại và hệ thống đường ống, thậm chí tạo thành các màng biofilm gây bít nhét vỉ, làm giảm khả năng tiếp nhận của nước bơm ép trong khai thác dầu khí. Hiện nay, các chất diệt khuẩn đang được sử dụng chủ yếu là andehit hoặc amin vòng kết hợp với chất hoạt động cation, rất độc hại đối với con người và môi trường. Sự phát triển của khoa học và công nghệ đã tạo ra vật liệu mới có kích thước nano, với khả năng thay thế các chất diệt khuẩn truyền thống và thân thiện với môi trường. Nghiên cứu này đã cho thấy, các nano kim loại bạc, đồng với kích thước trung bình 50 nm, nồng độ sử dụng từ 500 ppm có khả năng ức chế và diệt cả 2 chủng vi khuẩn khử sunphat bơi lội, bám dính trong các điều kiện nhiệt độ thường và cao.

Từ khóa: glutaraldehyde, nano bạc, nano đồng, vi khuẩn khử sunphat.

Chỉ số phân loại: 1.7

1. Đặt vấn đề

Trong khai thác dầu khí, việc xử lý vi khuẩn khử sunphat là một trong những vấn đề đã được nghiên cứu từ rất lâu, tuy nhiên cho đến nay vẫn chưa tìm được biện pháp khắc phục hiệu quả, đồng thời đảm bảo an toàn cho môi trường. Vi khuẩn khử sunphat là nhóm vi sinh vật chuyên biệt sống trong môi trường nước không có oxy, chúng là các vi khuẩn kỵ khí tuyệt đối có thể sống ở môi trường khắc nghiệt như nhiệt độ, áp suất, độ mặn cao, môi trường quá kiềm hoặc quá axit. Loại vi khuẩn này tồn tại khá phổ biến trong các mỏ dầu, giếng khai thác [1-3].

Từ lâu, các nhà khoa học trên thế giới đã chỉ ra những vấn đề nghiêm trọng mà vi khuẩn này gây ra trong hệ thống khai thác dầu mỏ như: i) Ăn mòn sắt trong điều kiện không có không khí (ăn mòn kỵ khí); ii) Tạo kết tủa sunphua sắt làm ảnh hưởng đến hệ thống bơm; iii) Sinh ra khí H_2S làm ô nhiễm khí nhiên liệu; iv) Làm chua hóa, giảm giá trị thương mại của dầu thô [4, 5]. Nhiều nghiên cứu trên thế giới đã chỉ ra rằng, các vi khuẩn này có khả năng phân hủy dầu thô ở điều kiện kỵ khí, chúng sử dụng dầu thô như là nguồn cacbon để sinh trưởng và phát triển. Trong thí nghiệm của mình, A.A.B.A. Asadi (2011) [6] đã chỉ ra khả năng phân hủy dầu thô của chủng vi khuẩn khử sunphat được phân lập từ mỏ dầu ở Basrah, Iraq đạt 88% sau 54 ngày ủ, lượng hydrocarbon còn lại trong môi trường có vi khuẩn khử sunphat chỉ là 22,06 $\mu g/l$, trong khi ở mẫu đối chứng là 190,84 $\mu g/l$.

*Tác giả liên hệ: Email: sonha@ims.vast.ac.vn

Như vậy, với những tác hại do vi khuẩn khử sunphat gây ra, việc loại bỏ chúng ra khỏi hệ thống giếng bơm nước và dầu khai thác là hết sức cần thiết. Hiện nay, các chất diệt khuẩn đang được sử dụng chủ yếu là các andehit hoặc amin 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” và giảm tác dụng.

Gần đây, các nhà khoa học đã thu được những thành tựu đáng kể nhờ việc sử dụng các nano kim loại có hoạt tính kháng khuẩn mạnh để ức chế sự phát triển của vi sinh vật. Tác dụng gây độc đối với vi khuẩn của đồng và đồng ôxit (CuO) là tạo ra các loại oxy phản ứng, gây ra quá trình peroxy hoá lipid, quá trình oxy hoá protein và phân huỷ DNA trong tế bào vi khuẩn [7]. Nano bạc cũng được biết đến với tính năng diệt khuẩn vượt trội, có rất nhiều ứng dụng trong đời sống. Với kích thước nhỏ, nano bạc 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 vật dẫn đến việc tiêu diệt chúng [8-10].

Bài báo này tập trung vào nghiên cứu chế tạo các nano kim loại ở dạng dung dịch (nano bạc) và dạng bột (nano đồng hóa trị 0) bằng các tác nhân khử khác nhau; tiến hành nghiên cứu khả năng ức chế và diệt vi khuẩn khử sunphat được phân lập từ các giàn khoan mỏ Bạch Hổ và mỏ Rồng. Đặc biệt, các nghiên cứu được thực hiện đối với cả 2 chủng vi khuẩn khử sunphat là loại bơi lội, bám dính ở điều kiện nhiệt độ thường và cao.

Research on sulfate bacteriostatic effect of some metal nanos

Anh Son Hoang*, Hong Hanh Cong,
Hong Nhung Nguyen, Hong Son Vu,
Duy Khanh Pham, Thi Huong Tran, Que Chi Tran

Institute of Material Sciences, VAST,
18 Hoang Quoc Viet, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

Received 9 November 2021; revised 3 December 2021; accepted 9 December 2021

Abstract:

Sulfate-reducing bacteria (*Desulfomicrobium baculatum*) is a group of anaerobic bacteria capable of producing H_2S gas, which sours crude oil, corrodes metal equipment, pipeline systems, and even forms biofilms that cause blockages reservoir, reducing the reception capacity of pumped water in oil and gas exploitation. Currently, the biocides are mainly aldehydes or cyclic amines combined with cationic active substances, which are very toxic to humans and the environment. The development of materials technology has created new nano-sized materials that are capable of replacing traditional biocides and are environmentally friendly. This study has shown that silver and copper metal nanoparticles with an average size of 50 nm and concentration from 500 ppm can inhibit and kill both sulfate-reducing bacteria strains swimming and adhering in the water at normal and high temperature conditions.

Keywords: copper nanoparticles, glutaraldehyde, silver nanoparticles, sulfate-reducing bacteria.

Classification number: 1.7

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Nguyên liệu: hóa chất chế tạo nano bạc gồm: $AgNO_3$ độ tinh khiết $\geq 99,99\%$ (Hãng Merck), $NaBH_4$ độ tinh khiết $96,5\%$ (Chemical Ltd.), Chitosan độ tinh khiết $>99,0\%$ (Pháp). Hóa chất chế tạo nano đồng gồm: $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (GHTECH, $\geq 99,0\%$), NaOH (Xilong), nước cất 2 lần.

Vi khuẩn khử sunphat dùng cho thí nghiệm ở nhiệt độ thường gồm: hỗn hợp chủng phân lập từ các giàn khoan mỏ Bạch Hổ và mỏ Rồng, số lượng vi khuẩn khử sunphat 10^4 - 10^5 tế bào/ml do Phòng Vi sinh vật Dầu mỏ, Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam cung cấp.

Vi khuẩn khử sunphat dùng cho thí nghiệm ở nhiệt độ cao gồm: hỗn hợp chủng phân lập từ các giàn khoan mỏ Bạch Hổ và mỏ Rồng, số lượng vi khuẩn khử sunphat 10^4 - 10^5 tế bào/ml do Phòng Vi sinh vật Dầu mỏ, Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam cung cấp.

Thép dùng để đánh giá khả năng bám dính của vi khuẩn khử sunphat là CT3 có kích thước $1 \times 2 \times 0,2$ cm được xử lý rỉ sắt, đánh bóng và vô trùng trước khi cấy chủng vi khuẩn khử sunphat.

Môi trường nuôi cấy vi khuẩn khử sunphat là Postgate B với hỗn hợp nguồn cơ chất axit lactic/axetat đảm bảo cho sự sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn khử sunphat. Tiêu chuẩn nuôi cấy và thử nghiệm là API RP38.

Thiết bị: máy điện phân sinh khí H_2 HGH-300, công suất sinh khí H_2 là 300 ml/phút, lò ống có điều khiển nhiệt độ tối đa $1.200^\circ C$, hệ thống van dây dẫn khí đảm bảo an toàn cháy nổ, kính hiển vi điện tử quét (SEM) Philips CM 120, thiết bị đo kích thước hạt bằng phương pháp tán xạ ánh sáng laser LA-950.

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 $NaBH_4$ [11]: hạt nano bạc được hình thành trên dựa trên phản ứng sau:

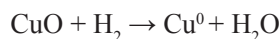


Dung dịch phức hệ nano bạc - chitosan được điều chế với tỷ lệ $NaBH_4/AgNO_3 = 0,25$, hàm lượng chitosan là 120 ppm và nồng độ $AgNO_3$ là 500 ppm, phản ứng tiến hành ở điều kiện nhiệt độ phòng, tốc độ nhỏ giọt của chất khử $NaBH_4$ vào dung dịch $AgNO_3$ là 10-11 giọt/phút.

Phương pháp khử bởi hydro điện phân từ nước để khử CuO thành nano đồng hóa trị 0 (Cu^0) ở nhiệt độ thấp [12]: hòa tan hoàn toàn $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ trong nước cất để được dung dịch $CuSO_4$ 0,2 M. Cân chính xác lượng NaOH theo tỷ lệ tính toán và hòa tan trong nước được dung dịch NaOH 1 M. Nhỏ giọt NaOH 1 M vào dung dịch $CuSO_4$ với sự hỗ trợ của máy khuấy tốc độ 400 vòng/phút. Kết thúc phản ứng thu được kết tủa màu đen. Lọc và rửa kết tủa nhiều lần bằng nước cất để loại hết các ion tạp rồi sấy kết tủa ở $100^\circ C$ cho đến khi khô hoàn toàn thu được sản phẩm là bột CuO có màu đen.

Tiếp tục cho bột CuO vào buồng phản ứng bằng ống thạch anh trong lò nung có điều khiển nhiệt độ, lắp ống dẫn khí, van an toàn. Điện phân tạo khí H_2 lưu lượng 300 ml/phút đưa vào buồng phản ứng. Gia nhiệt và điều khiển nhiệt độ duy trì ở $300^\circ C$ trong 90 phút. Để lò nguội tự nhiên trong khi tiếp tục điện phân tạo khí H_2 để bảo vệ sản phẩm tránh bị ôxy hóa. Sau đó, lấy sản phẩm ra và bảo quản trong môi trường chân không, thu được bột nano Cu^0 .

Phản ứng khử CuO thành nano Cu⁰ như sau:



Đánh giá khả năng phân tán của các hạt nano: các dung dịch nano bạc được đo phổ phân bố kích thước hạt zeta nanosizer, thể zeta để xác định kích thước và đánh giá sự ổn định của hạt nano.

Tác dụng diệt khuẩn khử sulphat 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. Hàm lượng H₂S (mg/l) do hỗn hợp vi khuẩn khử sunphat sinh ra được xác định bằng cách sử dụng máy J605 Hydrogen Sulfide Analyzer.

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

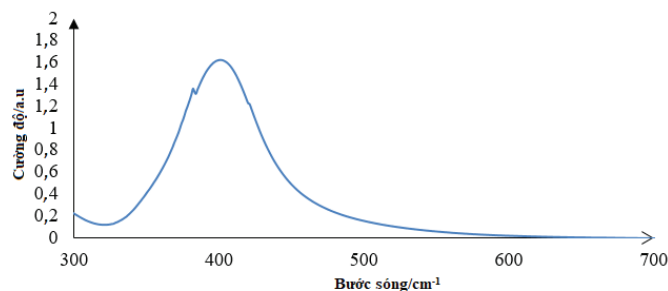
Các số liệu thu thập được tính toán các giá trị trung bình, sai số bằng chương trình Microsoft Excel 2016.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Chế tạo dung dịch nano bạc và hạt nano Cu⁰

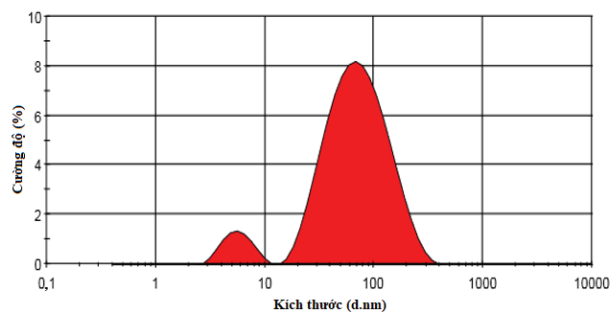
Chế tạo dung dịch nano bạc: phổ UV-Vis của mẫu dung dịch nano bạc đã pha loãng 10 lần cho thấy dung dịch phức hệ nano bạc - chitosan chủ yếu hấp thụ các sóng có bước sóng trong khoảng 350-450 nm và đỉnh ở 400 nm (hình 1), đây là giá trị đặc trưng hấp thụ plasmon của các hạt nano bạc. Xác định phân bố kích thước hạt của mẫu nano bạc bằng phương pháp đo tán xạ ánh sáng động (DLS) cho thấy, kích thước trung bình của mẫu là 46,19 (nm), các hạt nano bạc tập trung chủ yếu tại 2 vùng quanh 9 và 73 nm (hình 2). Hình ảnh SEM của hạt nano bạc (hình 3) cho thấy rõ sự phân bố ở 2 vùng kích thước bé và lớn hơn 50 nm.

Thể zeta của phức hệ nano bạc thu được khá cao (đạt 41,0 mV) và tương đối tập trung (hình 4). Điều này chứng tỏ, các hạt nano bạc - chitosan có tính ổn định cao. Thực tế, hệ nano bạc - chitosan tổng hợp được không bị kết tủa sau nhiều tháng bảo quản.

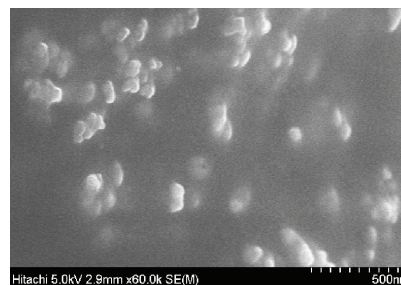


Hình 1. Phổ UV-Vis của nano bạc.

	Kích thước (d.nm)	% cường độ	Độ rộng (d.nm)
Kích thước trung bình (d. nm): 46,19	Đỉnh 1	83,60	92,5
Chỉ số phân bố kích thước Pdi: 0,468	Đỉnh 2	5,818	7,5
			1,721

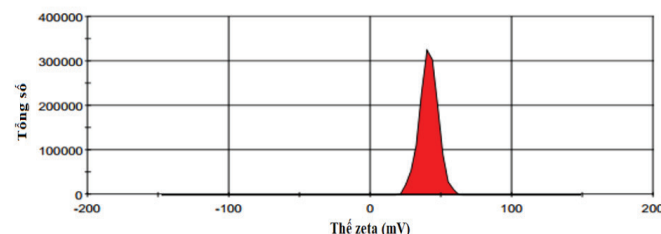


Hình 2. Phân bố kích thước hạt nano bạc.



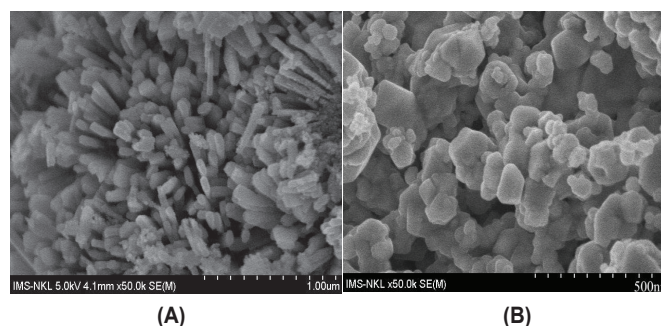
Hình 3. Ảnh SEM của hạt nano bạc.

	Kích thước (d.nm)	% cường độ	Độ rộng (d.nm)
Thể zeta (mV): 41,0	Đỉnh 1	41,0	100,0
Độ lệch zeta (mV): 6,49	Đỉnh 2	0,00	0,0
			0,00



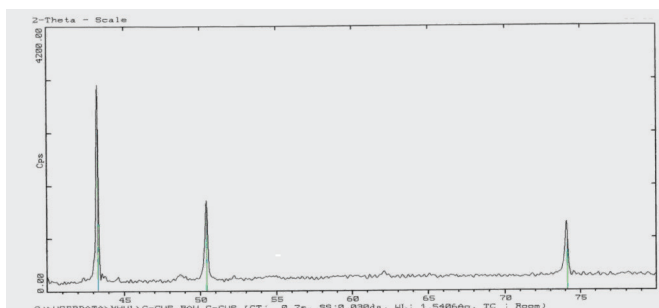
Hình 4. Thể Zeta của dung dịch nano bạc.

Chế tạo nano Cu⁰: phân tích hình ảnh SEM cho thấy, hình dạng và kích thước của sản phẩm sau hoàn nguyên đã giảm đáng kể so với nguyên liệu trước hoàn nguyên (CuO). Kích thước sản phẩm thấy rõ nằm ở thang 50-100 nm (hình 5 A, B).



Hình 5. Ảnh SEM của CuO (A) và nano Cu⁰ (B).

Quan sát giản đồ nhiễu xạ tia X ở hình 6 cho thấy, đỉnh đặc trưng của sản phẩm là nano kim loại Cu, tại góc 2 theta là 43,3, 50,4 và 74,0, phù hợp với mã tham chiếu nhiễu xạ có nguồn 03-065-9026 của pha Cu khối chuẩn.

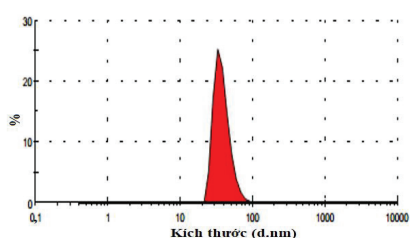


Hình 6. Giản đồ XRD của mẫu nano Cu.

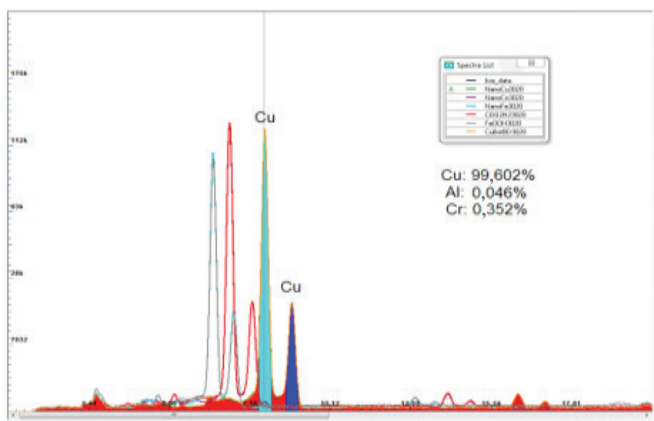
Qua quan sát đặc điểm của các đỉnh trên các giản đồ nhiễu xạ cho thấy đỉnh sắc nét, nền đỉnh thấp chứng tỏ mức độ tinh thể của sản phẩm cao, chân đỉnh rộng cho thấy các hạt thu được có kích thước nhỏ.

Kích thước hạt trung bình của nano Cu được xác định theo phương pháp DLS là 58,94 nm (hình 7), độ tinh khiết xác định được theo phương pháp huỳnh quang tia X là 99,602% (hình 8).

Kích thước (d.nm)		%	Độ rộng (d.nm)
Kích thước trung bình (d. nm): 58,94	Đỉnh 1	38,00	100,0
Chỉ số phân bố kích thước Pdi: 0,142	Đỉnh 2	0,000	0,0



Hình 7. Kích thước hạt trung bình của nano Cu⁰.



Hình 8. Hàm lượng kim loại nano Cu⁰ xác định bằng phương pháp quang phổ huỳnh quang tia X (XRF).

3.2. Hiệu lực diệt vi khuẩn khử sunphat của các nano kim loại

Hiệu lực diệt vi khuẩn khử sunphat của dung dịch nano bạc: hiệu lực diệt vi khuẩn khử sunphat của dung dịch nano bạc được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả thử nghiệm dung dịch nano bạc lên hỗn hợp vi khuẩn khử sunphat theo tiêu chuẩn API RP38 (thời gian tiếp xúc chất diệt khuẩn là 24 giờ và 4 ngày).

Nồng độ nano bạc (ppm)	Nhiệt độ thường				Nhiệt độ cao			
	24 giờ		4 ngày		24 giờ		4 ngày	
	Bơi lội	Bám dính	Bơi lội	Bám dính	Bơi lội	Bám dính	Bơi lội	Bám dính
5	+	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	+	+
20	+	+	+	+	+	+	+	+
30	+	+	+	+	+	+	+	+
40	+	+	+	+	+	+	+	+
100	+	+	+	+	+	+	+	+
200	±	+	-	+	+	+	±	+
300	±	±	-	-	+	+	±	+
400	-	±	-	-	-	±	-	±

Ghi chú: +: phát triển; ±: phát triển yếu; -: không phát triển.

- Điều kiện nhiệt độ thường: ở các nồng độ 5, 10, 20, 30, 40, 100 ppm, dung dịch nano bạc không có tác dụng diệt cả 2 loại vi khuẩn khử sunphat phân lập từ giếng khoan dầu khí sau 24 giờ và 4 ngày tiếp xúc. Ở nồng độ thí nghiệm 200 ppm, dung dịch nano bạc có tác dụng làm suy yếu vi khuẩn loại bơi lội sau 24 giờ tiếp xúc, không diệt được loại vi khuẩn bám dính. Đến thời điểm 4 ngày thử nghiệm, dung dịch nano bạc 200 ppm diệt được vi khuẩn loại bơi lội nhưng không diệt được loại vi khuẩn bám dính. Ở nồng độ thí nghiệm 300 ppm, dung dịch nano bạc có tác dụng làm suy yếu cả 2 loại vi khuẩn bơi lội và bám dính sau 24 giờ tiếp xúc. Đến thời điểm 4 ngày, dung dịch nano bạc 300 ppm diệt được cả 2 loại vi khuẩn. Ở nồng độ thí nghiệm 400 ppm, dung dịch nano bạc diệt được vi khuẩn loại bơi lội và làm suy yếu vi khuẩn loại bám dính sau 24 giờ tiếp xúc. Đến thời điểm 4 ngày, dung dịch nano bạc 400 ppm diệt được cả 2 loại vi khuẩn bơi lội và bám dính.

Nghiên cứu đánh giá hàm lượng H₂S (mg/l) do hỗn hợp vi khuẩn khử sunphat sinh ra khi xử lý bằng dung dịch nano bạc (bảng 2) cho thấy, hàm lượng H₂S do vi khuẩn khử sunphat tạo ra ở các nồng độ 5, 10, 20, 30, 40 và 100 ppm khá cao so với mẫu đối chứng không có nano bạc. Điều này chứng tỏ ở điều kiện nhiệt độ thường dung dịch nano bạc không có tác dụng ức chế sự tạo thành H₂S của vi khuẩn khử sunphat ở các nồng độ 5, 10, 20, 30, 40 và 100 ppm sau 24 giờ và 4 ngày thử nghiệm. Dung dịch nano bạc chỉ có tác dụng ức chế một phần sự tạo thành H₂S của nhóm vi khuẩn khử sunphat nhiệt độ thường ở nồng độ 200-300 ppm sau 24

Bảng 2. Hàm lượng H_2S (mg/l) do hỗn hợp vi khuẩn khử sunphat sinh ra khi xử lý bằng dung dịch nano bạc (thời gian tiếp xúc chất diệt khuẩn là 24 giờ và 4 ngày).

Nồng độ nano bạc (ppm)	Nhiệt độ thường		Nhiệt độ cao	
	24 giờ	4 ngày	24 giờ	4 ngày
5	89±1,1	243±2,6	92±4,3	248±6,8
10	86±1,5	235±1,8	89±2,8	239±2,5
20	82±1,2	228±4,6	84±1,1	230±7,1
30	79±2,3	220±4,7	81±1,6	223±3,2
40	76±2,2	215±1,3	78±1,7	218±4,3
100	68±1,4	180±5,3	70±3,9	185±2,4
200	59±3,5	85±2,1	67±3,1	150±2,1
300	36±1,6	38±1,8	60±1,9	105±1,8
400	30±0,5	32±0,9	40±1,1	84±1,1
500	25±1,2	28±0,4	28±0,9	30±0,2
ĐC	94±2,5	253±2,6	98±5,4	255±3,4

ĐC: đối chứng.

giờ và 4 ngày thử nghiệm. Ở nồng độ 400 ppm trở lên, dung dịch nano bạc có tác dụng ức chế hoàn toàn sự tạo thành H_2S của vi khuẩn khử sunphat sau 24 giờ và 4 ngày thử nghiệm.

- Điều kiện nhiệt độ cao: ở các nồng độ thí nghiệm 5, 10, 20, 30, 40, 100 và 200 ppm, dung dịch nano bạc không có tác dụng diệt vi khuẩn khử sunphat phân lập từ giếng khoan dầu khí cả loại bám dính và bơi lội sau 24 giờ tiếp xúc. Đến thời điểm 4 ngày thử nghiệm, dung dịch nano bạc ở các nồng độ trên cũng không có tác dụng diệt vi khuẩn khử sunphat cả loại bám dính và bơi lội. Ở nồng độ 300 ppm, dung dịch nano bạc không diệt được vi khuẩn khử sunphat cả loại bám dính và bơi lội sau 24 giờ tiếp xúc. Đến thời điểm 4 ngày thử nghiệm dung dịch nano bạc chỉ có tác dụng làm suy yếu vi khuẩn khử sunphat loại bơi lội mà không có tác dụng diệt vi khuẩn khử sunphat loại bám dính. Ở nồng độ 400 ppm, dung dịch nano bạc diệt được vi khuẩn khử sunphat loại bơi lội và ức chế được loại vi khuẩn bám dính sau 24 giờ và 4 ngày tiếp xúc.

Hàm lượng H_2S do vi khuẩn khử sunphat tạo ra ở các nồng độ 5, 10, 20, 30 và 40 ppm sau 24 giờ và 4 ngày thử nghiệm đều đạt khá cao, lần lượt là 92, 89, 84, 81 và 78 mg/l (sau 24 giờ) và 248, 239, 230, 223, 218 mg/l (sau 4 ngày) (bảng 2). Điều này chứng tỏ, ở điều kiện nhiệt độ cao, dung dịch nano bạc không có tác dụng ức chế sự tạo thành H_2S của vi khuẩn khử sunphat ở các nồng độ 5, 10, 20, 30 và 40 ppm sau 24 giờ và 4 ngày thử nghiệm. Dung dịch nano bạc chỉ có tác dụng ức chế một phần sự tạo thành H_2S của nhóm vi khuẩn khử sunphat nhiệt độ cao ở nồng độ 100-300 ppm sau 24 giờ và 4 ngày thử nghiệm. Ở nồng độ 500 ppm, dung dịch nano bạc có tác dụng ức chế hoàn toàn sự tạo thành H_2S của nhóm vi khuẩn khử sunphat nhiệt độ cao sau 24 giờ và 4 ngày thử nghiệm.

Hiệu lực diệt vi khuẩn khử sunphat của dung dịch nano Cu^0 : kết quả thử nghiệm hiệu lực diệt vi khuẩn của nano Cu^0 được thể hiện ở bảng 3 và 4.

Bảng 3. Kết quả thử nghiệm dung dịch nano Cu^0 lên hỗn hợp vi khuẩn khử sunphat theo tiêu chuẩn API RP38.

Nồng độ nano Cu^0 (ppm)	Nhiệt độ thường				Nhiệt độ cao			
	24 giờ		4 ngày		24 giờ		4 ngày	
	Bơi lội	Bám dính	Bơi lội	Bám dính	Bơi lội	Bám dính	Bơi lội	Bám dính
200	-	±	-	±	-	+	-	+
300	-	±	-	±	-	+	-	+
400	-	-	-	-	-	±	-	±
500	-	-	-	-	-	±	-	-
600	-	-	-	-	-	-	-	-

Ghi chú: +: phát triển; ±: phát triển yếu; -: không phát triển.

- Điều kiện nhiệt độ thường: ở nồng độ thí nghiệm 200-300 ppm, dung dịch nano Cu^0 chỉ diệt được vi khuẩn loại bơi lội và làm suy yếu vi khuẩn loại bám dính sau 24 giờ và 4 ngày tiếp xúc. Ở nồng độ thí nghiệm từ 400 ppm trở lên, dung dịch nano Cu^0 diệt được vi khuẩn khử sunphat cả loại bơi lội và bám dính sau 24 giờ và 4 ngày tiếp xúc.

Hàm lượng H_2S do vi khuẩn khử sunphat tạo ra sau 24 giờ và 4 ngày thử nghiệm tương ứng đạt 34 và 66 mg/l; 36 và 58 mg/l ở nồng độ 200 và 300 ppm. Hàm lượng này khá thấp so với mẫu đối chứng không có nano Cu^0 , đạt 94 và 253 mg/l sau 24 giờ và 4 ngày thử nghiệm. Như vậy, ở điều kiện nhiệt độ thường, dung dịch nano Cu^0 nồng độ 200-300 ppm chỉ có tác dụng ức chế một phần sự tạo thành H_2S của vi khuẩn khử sunphat. Dung dịch nano Cu^0 có tác dụng ức chế hoàn toàn sự tạo thành H_2S của nhóm vi khuẩn khử sunphat nhiệt độ thường ở nồng độ từ 400 ppm trở lên sau 24 giờ và 4 ngày thử nghiệm.

Bảng 4. Hàm lượng H_2S (mg/l) do hỗn hợp vi khuẩn khử sunphat sinh ra khi xử lý bằng dung dịch nano Cu^0 .

Nồng độ nano Cu^0 (ppm)	Nhiệt độ thường		Nhiệt độ cao	
	24 giờ	4 ngày	24 giờ	4 ngày
200	34±1,2	66±2,6	67±2,8	150±6,7
300	36±1,3	58±1,2	60±3,2	105±1,9
400	28±1,5	30±1,8	40±1,2	84±2,4
500	24±1,1	25±1,3	36±1,1	30±7,8
600	24±1,8	24±0,9	25±0,8	25±1,2
ĐC	94±2,6	253±5,3	98±3,4	255±8,8

- Điều kiện nhiệt độ cao: ở nồng độ thí nghiệm 200-300 ppm, dung dịch nano Cu^0 diệt được vi khuẩn loại bơi lội nhưng không diệt được vi khuẩn loại bám dính cả sau 24 giờ và 4 ngày tiếp xúc. Ở nồng độ thí nghiệm 400 ppm, dung dịch nano Cu^0 diệt được vi khuẩn loại bơi lội và làm suy yếu vi khuẩn loại bám dính sau 24 giờ, cũng như 4 ngày tiếp xúc.

Ở nồng độ thí nghiệm 500 ppm, dung dịch nano Cu⁰ diệt được vi khuẩn khử sunphat loại bơi lội và làm suy yếu vi khuẩn loại bám dính sau 24 giờ tiếp xúc. Đến thời điểm 4 ngày thử nghiệm dung dịch nano Cu⁰ diệt được cả 2 loại vi khuẩn ở nồng độ 500 ppm.

Hàm lượng H₂S do vi khuẩn khử sunphat tạo ra ở các nồng độ 200, 300 ppm sau 24 giờ và 4 ngày thử nghiệm đều đạt khá cao, lần lượt là 67 và 150 mg/l, 60 và 105 mg/l. Điều này chứng tỏ, ở điều kiện nhiệt độ cao dung dịch nano Cu⁰ không có tác dụng ức chế sự tạo thành H₂S của vi khuẩn khử sunphat ở các nồng độ 200-300 ppm sau 24 giờ và 4 ngày thử nghiệm. Dung dịch nano Cu⁰ bắt đầu có tác dụng ức chế một phần sự tạo thành H₂S của nhóm vi khuẩn khử sunphat nhiệt độ cao ở nồng độ 400 ppm sau 24 giờ và sau 4 ngày thử nghiệm. Ở nồng độ 600 ppm, dung dịch nano Cu⁰ ức chế hoàn toàn vi khuẩn khử sunphat sau 24 giờ và 4 ngày thử nghiệm.

4. Kết luận

Ở nhiệt độ thường, dung dịch nano Ag 400 ppm diệt được vi khuẩn loại bơi lội và làm suy yếu vi khuẩn loại bám dính sau 24 giờ tiếp xúc. Đến thời điểm 4 ngày thử nghiệm dung dịch nano Ag 400 ppm diệt được cả 2 loại vi khuẩn bơi lội và bám dính. Ở nhiệt độ cao, dung dịch nano Ag 500 ppm có tác dụng ức chế sự tạo thành H₂S của nhóm vi khuẩn khử sunphat sau 24 giờ và 4 ngày thử nghiệm, diệt được cả 2 loại vi khuẩn khử sunphat bơi lội và bám dính.

Ở nhiệt độ thường, dung dịch nano Cu⁰ đã có tác dụng ức chế sự tạo thành H₂S của nhóm vi khuẩn khử sunphat ở nồng độ từ 400 ppm sau 24 giờ và 4 ngày thử nghiệm, diệt được vi khuẩn khử sunphat cả loại bơi lội và bám dính. Ở nhiệt độ cao, dung dịch nano Cu⁰ 600 ppm diệt được vi khuẩn khử sunphat cả loại bơi lội và bám dính sau 24 giờ và sau 4 ngày tiếp xúc.

Từ kết quả này mở ra một hướng mới để thử nghiệm ứng dụng các nano kim loại bạc, đồng làm chất diệt khuẩn trong công nghiệp dầu khí Việt Nam.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi Nhiệm vụ hỗ trợ hoạt động nghiên cứu khoa học cho nghiên cứu viên cao cấp năm 2021, mã số NVCC 04.03/21-21. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] G. Muyzer, A.J.M. Stams (2008), "The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria", *Nature Reviews Microbiology*, **6**(6), pp.441-454, DOI: 10.1038/nrmicro1892.
- [2] L.T. Popoola, A.S. Grema, G.K. Latinwo, et al. (2013), "Corrosion problems during oil and gas production and its mitigation", *Int. J. Ind. Chem.*, **4**, DOI: 10.1186/2228-5547-4-35.
- [3] P.M.D. Souza, F.R.D.V. Goulart, J.M. Marques, et al. (2017), "Growth inhibition of sulfate-reducing bacteria in produced water from the petroleum industry using essential oils", *Molecules*, **22**(4), DOI: 10.3390/molecules22040648.
- [4] L.T. Hien, D.P. Nga (1998), "Physiological and biochemical characteristics of several KSF strains isolated from Bach Ho oilfield", *Journal of Biology*, **20**(2), pp.33-38 (in Vietnamese).
- [5] L.T. Hien, D.P. Nga (1992), "Study on the metal corrosion ability of *Desulfovibrio vulgaris*", *Journal of Biology*, **14**(4), pp.26-29 (in Vietnamese).
- [6] A.A.B.A. Asadi (2011), "Anaerobic degradation of crude oil by sulphate reducing bacteria", *J. Thi-Qar. Sci.*, **2**(4), pp.3-12.
- [7] K.A. Zarasvand, V.R. Rai (2016), "Inhibition of a sulfate reducing bacterium, *Desulfovibrio marinisediminis* GSR3, by biosynthesized copper oxide nanoparticles", *3 Biotech*, **6**(1), DOI: 10.1007/s13205-016-0403-0.
- [8] C.M. Jones, E.M.V. Hoek (2010), "A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment", *Journal of Nanoparticle Research*, **12**(5), pp.1531-1551, DOI: 10.1007/s11051-010-9900-y.
- [9] G. Franci, A. Falanga, S. Galdiero, et al. (2015), "Silver nanoparticles as potential antibacterial agents", *Molecules*, **20**(5), pp.8856-8874, DOI: 10.3390/molecules20058856.
- [10] C.T.V. Nga, T.T. Son, L.V. Tuyen, et al. (2017), "Experimental study on eliminate bactericidal performance of nano-silver solution", *Journal of Petroleum*, **1**, pp.47-54 (in Vietnamese).
- [11] A.S. Hoang, C. Phan (2017), "Synthesis and application of silver nanoparticles to protect grapevines from anthracnose and downy mildew", *Proceedings The 6th Asian Symposium on Advanced Materials: Chemistry, Physics & Biomedicine of Functional and Novel Materials*, pp.693-697.
- [12] S.H. Anh, N.N. Hong, C.T. Que, et al. (2017), "Preparation and study physicochemical characterization of zero - valent iron, copper and cobalt nanoparticles", *Proceedings The 8th International Workshop on Advanced Materials Science and Nanotechnology*, pp.405-415.