

ĐIỀU CHẾ VÀ ỨNG DỤNG NANO BẠC ĐIỆN HÓA, HÓA HỌC PHÒNG NGỪA VÀ CHỮA BỆNH TIÊU CHẢY CHO HEO CON

NGUYỄN ĐỨC HÙNG^{1,*}, TRẦN BẢO LỘC², TRẦN THỊ NGỌC DUNG²

¹Viện Công nghệ Môi trường, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

²Trường Đại học Quy Nhơn

TÓM TẮT

Dung dịch nano bạc (AgPNs) có khả năng diệt được nhiều chủng khuẩn rất tốt, đặc biệt các khuẩn gây nên bệnh tiêu chảy là bệnh phổ biến cho người và gia cầm, gia súc. Chăn nuôi heo thường phải đối đầu với bệnh tiêu chảy, đặc biệt là đối với heo sữa. Việc nghiên cứu sử dụng AgPNs để diệt khuẩn tiêu chảy cho chăn nuôi heo để thay các chất kháng sinh đang hạn chế hoặc cấm sử dụng là nhu cầu cấp thiết và có ý nghĩa thực tiễn. Để phòng ngừa bệnh tiêu chảy, tồn tại và phát tán trong chuồng trại nuôi heo có thể sử dụng dung dịch AgPNs được điều chế bằng phương pháp hóa học với nồng độ: 80 ppm. Đối với heo con bị bệnh tiêu chảy có thể cho uống dung dịch AgPNs được điều chế bằng phương pháp điện hóa dòng DC cao áp với nồng độ 10 ppm.

Từ khóa: AgPNs hóa học, AgPNs DC cao áp, heo sữa, bệnh tiêu chảy.

ABSTRACT

Preparation and Application of Electrolytic and Chemical Silver Nanoparticles in Treating and Preventing Cholera in Piglets

Silver nanoparticles (AgPNs) are highly capable of killing many bacteria strains, especially those that cause cholera common in humans, poultry, and cattle. Pig farming is often confronted with cholera, especially for dairy pigs. Research using AgPNs to kill cholera for pig farming to replace the limited or prohibited use of antibiotics is in acute demand and is of practical values. In order to prevent cholera for piglets existing and spreading widely in pig farms, a AgPNs solution of 80 ppm prepared by a chemical method can be used for antiseptic. Piglets with cholera can be fed with a AgPNs solution of 10 ppm prepared by the high-voltage DC electrolytic method.

Keywords: Chemical AgPNs, high voltage AgPNs, piglets, diarrhea

1. Đặt vấn đề

Nano bạc nano (AgPNs) được nghiên cứu tại rất nhiều quốc gia [1] trong những năm gần đây do khả năng diệt hơn 650 chủng loại vi sinh vật như: vi khuẩn, vi trùng, siêu vi trùng, mốc, nấm [2] để ứng dụng bảo vệ môi trường [3] cũng như sức khỏe của con người [4] và vật nuôi [5]. Các nghiên cứu được tập trung tìm các phương pháp chế tạo AgPNs, các đặc tính và cơ chế diệt khuẩn, những phương pháp ứng dụng để xử lý ô nhiễm môi trường [6] cũng như phòng và chữa bệnh cho vật nuôi [7] và cho người [8]. Mỗi một phương pháp điều chế AgPNs đều có những ưu điểm và hạn chế nên cũng sẽ có những đối tượng ứng dụng thích hợp khác nhau. Các phương

*Email: nguyenduchung1946@gmail.com

Ngày nhận bài: 9/6/2017; Ngày nhận đăng: 12/7/2017

pháp điều chế AgPNs từ muối AgNO_3 bằng cách khử do các tác nhân: hóa chất [9-10], chất chiết thực vật [11-12], kết hợp với các hiệu ứng vật lý [13-14]... đều còn các hóa chất dạng ion, phân tử hoặc hợp chất hóa học [15-16] trong sản phẩm nên chỉ thích hợp để xử lý môi trường. Để ứng dụng phòng và chữa bệnh cho gia súc và cho người cần phải có các sản phẩm AgPNs tinh khiết, không còn các ion của các chất phản ứng như Na^+ , NO_3^- hoặc các hợp chất hóa học không xác định. Phương pháp điều chế AgPNs bằng dòng DC cao áp chỉ sử dụng anốt bạc và nước cất nên sản phẩm chỉ có AgPNs rất tinh khiết [17-18] sẽ thích hợp cho sử dụng để phòng và chữa bệnh cho gia súc và người. Nhằm chế tạo AgPNs tinh khiết bằng dòng DC tinh khiết kết hợp với AgPNs hóa học để diệt khuẩn gây bệnh tiêu chảy phòng và chữa bệnh tiêu chảy cho chăn nuôi heo là mục đích của bài báo này.

2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết bị để điều chế dung dịch AgPNs bằng dòng DC cao áp như [17, 18] nhưng chú ý điều khiển chế độ công nghệ kết hợp với quá trình plasma catốt để có thể tạo ra khí khử nhiều hơn và nhờ đó thu được nồng độ AgPNs cao hơn. Quá trình phản ứng được quay video để kiểm tra lại sự biến đổi màu và thời gian phản ứng. Khoảng cách giữa hai điện cực anốt và catốt là 500 mm, thể tích nước cất là 350 mL, đường kính anốt bạc hòa tan là 5 mm với thời gian 60 phút và nhiệt độ của dung dịch và nước làm mát trước và sau phản ứng được xác định. Các thông số của phản ứng như điện áp, dòng và thời gian. Nồng độ AgPNs của dung dịch thu được sẽ xác định bằng hao hụt trọng lượng anốt bạc bị hòa tan theo công thức: $c_{\text{AgPNs}}^{\Delta m} = \frac{m_1 - m_2}{V}$, (mg/L hoặc ppm) đồng thời tính theo định luật Faraday qua dòng hòa tan trung bình của phản ứng điện hóa theo công thức: $c_{\text{AgPNs}}^{\text{Far.}} = \frac{kIt}{V}$, (mg/L hoặc ppm). Nồng độ của AgPNs cũng sẽ được xác định bằng phương pháp AAS với thiết bị 3300 của hãng Perkinelmer của Mỹ tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam. Các đặc tính đặc thù của sản phẩm sẽ được xác định là UV-Vis, độ dẫn điện, thế zeta, hình dáng và kích thước hạt TEM. Đặc tính UV-Vis được xác định bằng với thiết bị Shimadzu UV 1800 tại Khoa Hóa, Đại học Quy Nhơn; thế Zeta được xác định bằng thiết bị của Pháp tại ĐH KHTN, ĐHQG Hà Nội; độ dẫn điện được xác định bằng thiết bị HI 8733 của hãng Hanna, Singapore tại Viện HH-VL QS và TEM được chụp bằng thiết bị JEM - 1010 của hãng JEOL tại Viện Paster Hà Nội. Khả năng diệt khuẩn gây tiêu chảy của trại nuôi heo cũng như phân của heo sữa trong quá trình điều trị được xác định theo TCVN 6187 - 2: 1996 tại Trung tâm Kiểm định Bình Định, Quy Nhơn. Để diệt khuẩn gây tiêu chảy môi trường sử dụng AgPNs hóa học 500 ppm pha loãng thành dung dịch 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm và phun vào môi trường chuồng nuôi heo với liều lượng 1 L/10 m² diện tích sàn, sau 24h lấy mẫu trên sàn để phân tích. Với heo sữa bị bệnh tiêu chảy, lô 1 sử dụng dung dịch AgPNs DC cao áp có nồng độ 10 ppm cho heo uống 20 mL/lần, ngày 2 lần sáng và chiều, bù điện giải, tăng cường vitamin cho heo bằng thuốc Dizavit-plus liều lượng 1g/10 kg trọng lượng/lần. Lô 2, sử dụng Lincoseptin 1 mL/5 kg trọng lượng heo, tiêm 1 lần/ngày với mục đích diệt khuẩn. Dùng song song với thuốc trợ lực bằng cách tiêm thêm Calci-Mg-B6 liều lượng 5 mL/con/ngày. Khuẩn gây tiêu chảy được xác định trước và sau khi uống hàng ngày.

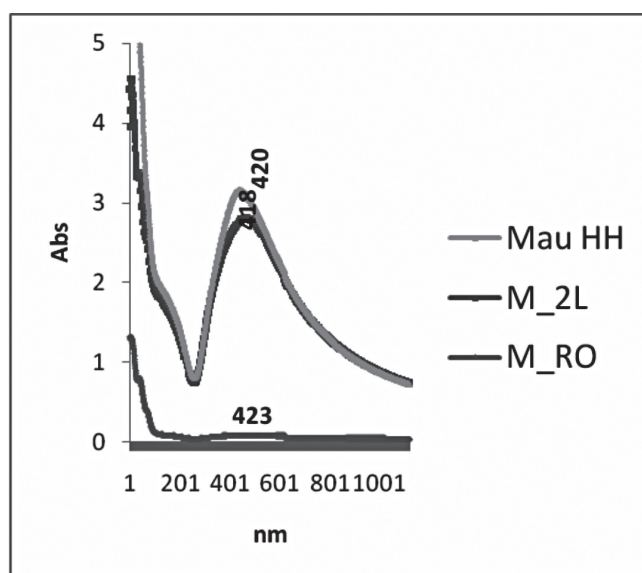
3. Kết quả và biện luận

Hình 1 trình bày sự xuất hiện plasma điện hóa trên cực catốt và sự biến đổi màu của sản phẩm AgPNs. Đo nhiệt độ của nước làm mát và nước cất trong bình phản ứng điện hóa cao áp đã biến đổi tương ứng từ 25°C đến 43°C và đến 60°C. Kiểm tra lại trên video xác định thời gian xuất hiện plasma catốt là 15 phút khi nhiệt độ của dung dịch tại điện cực đủ lớn. Từ hình 1 có thể nhận thấy màu của sản phẩm DC cao áp cũng giống như màu của sản phẩm điều chế bằng phương pháp hóa học.



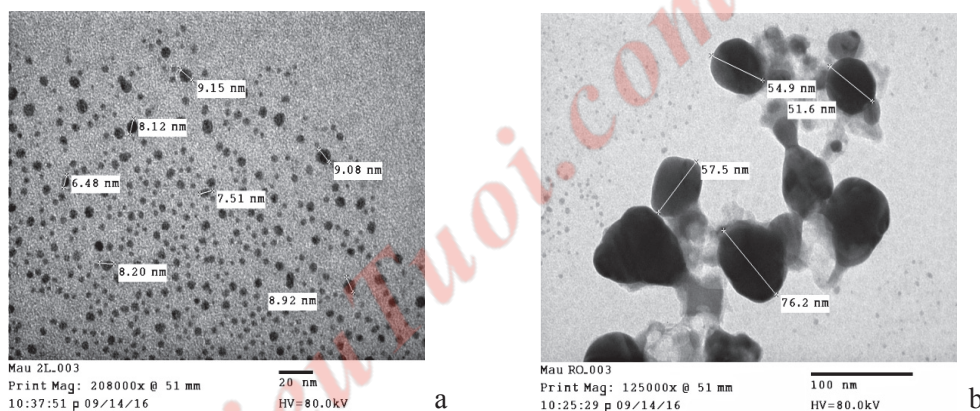
Hình 1. Sự xuất hiện plasma catốt (a) và màu của AgPNs so với phương pháp hóa học trái (b)

Hình 2 trình bày phổ UV-Vis đặc trưng của AgPNs được điều chế bằng dòng DC cao áp. Từ hình 2 có thể nhận thấy bước sóng phổ UV-Vis của AgPNs DC cũng có giá trị vùng 420 nm như các phổ đặc trưng của các dung dịch AgPNs được điều chế bằng các phương pháp khác nhau.



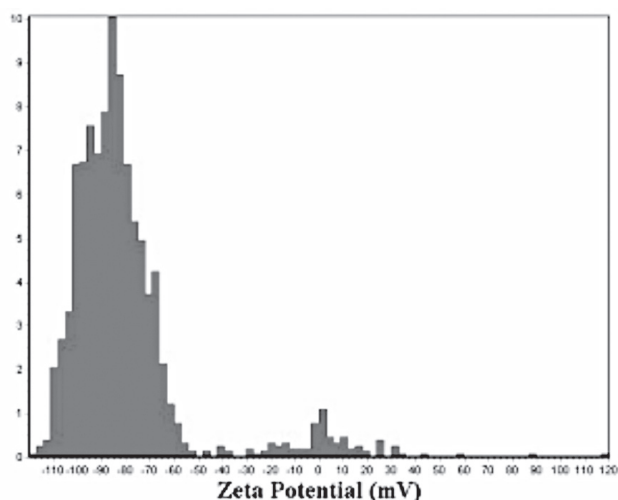
Hình 2. Phổ UV-Vis của dung dịch AgPNs được điều chế bằng DC cao áp với nước cất 2 lần và RO

Hình 3 trình bày hình dáng và kích thước của AgPNs được điều chế bằng dòng DC cao áp cũng cho thấy hình dáng hạt nano chủ yếu là hình cầu với kích thước nhỏ hơn 10 nm và hình gần cầu nhưng kích thước lớn hơn đến 76,2 nm khi môi trường điện ly là nước RO.



Hình 3. Ảnh TEM của AgPNs được điều chế bằng DC cao áp: a) nước cất 2 lần, b) nước RO

Hình 4 trình bày phổ đo thế zeta của các hạt keo từ dung dịch AgPNs được điều chế bằng dòng DC cao áp cho thấy giá trị thế zeta trung bình là -80,33 mV chứng tỏ dung dịch AgPNs rất bền với thời gian. Hình 4 cũng cho thấy kích thước các hạt keo được phân bố khá rộng, nhưng tập trung nhất trong vùng giá trị âm từ - (60 ÷ 110) mV.



Hình 4. Phân bố thế zeta của dung dịch AgPNs điều chế bằng DC cao áp

Độ dẫn điện của AgPNs được điều chế bằng dòng DC cao áp với nước cất và nước RO so sánh với dung dịch hóa học được trình bày tại bảng 1.

Bảng 1. Giá trị độ dẫn điện, μS , của nước RO và các sản phẩm AgPNs DC và hóa học

Lần đo	Nước cất 2 lần	Nước RO	DC với NC 2L	DC với nước RO	HH, 500 ppm
1	7,5	21,0	50,5	97,4	682
2	6,4	21,3	52,4	100,4	689
3	6,2	21,0	53,4	101,1	683
4	6,2	21,0	54,0	101,2	683
TB	7,0	21,1	52,6	100,0	684

Từ bảng 1 có thể nhận thấy giá trị nước cất 2 lần mua ngoài thị trường có giá trị khá lớn, có thể đã để lâu do vậy giá trị độ dẫn điện của sản phẩm có giá trị đến 52,6 μS song vẫn nhỏ hơn so với giá trị được điều chế từ nước RO và rất nhỏ so với sản phẩm AgPNs được điều chế bằng phương pháp hóa học. Điều đó cũng chứng tỏ AgPNs được điều chế bằng dòng DC cao áp có plasma catốt không có các ion Na^+ hoặc NO_3^- ,... như sản phẩm hóa học.

Nồng độ của các dung dịch AgPNs được điều chế bằng dòng DC cao áp với các loại nước khác nhau xác định theo các phương pháp khác nhau được trình bày tại bảng 2.

Bảng 2. Nồng độ của AgPNs DC cao áp được xác định theo các phương pháp khác nhau

Nước phản ứng	Tính theo Faraday	Theo hao hụt lượng anot	Theo AAS
RO	592,9 mg/L	134,3 mg/L	36,25 mg/L
Nước cất 2 lần	831,4 mg/L	491,4 mg/L	91,25 mg/L

Từ kết quả bảng 2 có thể nhận thấy nồng độ tính theo Faraday có giá trị lớn nhất vì bên cạnh phản ứng điện hóa hòa tan anot bạc còn có các phản ứng khác như điện lý nước thoát khí. Nồng độ xác định theo AAS có giá trị nhỏ nhất vì trong quá trình phản ứng, lượng AgPNs bám cũng đã bám vào thiết bị. Xu hướng này cũng phù hợp với tài liệu đã công bố [16-17].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành theo dõi sự biến động số lượng vi khuẩn E.coli và coliforms trong mẫu nước thải tại khu vực có phun AgNPs và không phun AgNPs. Kết quả thử nghiệm khả năng diệt khuẩn gây tiêu chảy của môi trường chuồng heo được trình bày tại bảng 3.

Bảng 3. Khả năng diệt khuẩn của AgPNs trong môi trường trại nuôi heo

Nồng độ	Chỉ tiêu (MPN/100 mL)	Khu vực không phun AgPNs	Phun AgPNs		Giới hạn TC	Ghi chú
			Trước	Sau		
60, ppm	E. coli	$2,4 \times 10^7$	$4,6 \times 10^7$	$2,4 \times 10^4$	5×10^2	Không đạt
	Coliform	$4,6 \times 10^7$	$4,6 \times 10^7$	$4,6 \times 10^5$	5×10^3	Không đạt
80, ppm	E. coli	$1,5 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$	$2,4 \times 10^2$	5×10^2	Đạt
	Coliform	$2,1 \times 10^7$	$2,4 \times 10^9$	$4,6 \times 10^3$	5×10^3	Đạt
100, ppm	E. coli	$9,3 \times 10^6$	$4,6 \times 10^7$	$1,5 \times 10^2$	5×10^2	Đạt
	Coliform	$2,4 \times 10^7$	$1,5 \times 10^9$	$2,4 \times 10^3$	5×10^3	Đạt

Từ kết quả bảng 3 có thể nhận thấy khi phun từ nồng độ 80 ppm AgPNs dung dịch hóa học, lượng khuẩn coliform đã giảm từ $1,1 \times 10^7$ xuống còn $2,4 \times 10^2$ đạt tiêu chuẩn quy định, còn khuẩn E. coli giảm từ $2,4 \times 10^9$ xuống còn $4,6 \times 10^3$ dưới giá trị quy định của tiêu chuẩn VN.

Bảng 4 trình bày kết quả xác định vi khuẩn E. coli từ các mẫu phân heo bị bệnh cho thấy tất cả các mẫu đều dương tính với vi khuẩn E. coli.

Bảng 4. Khả năng diệt khuẩn của AgPNs trong quá trình điều trị heo sữa

Số lô	Số mẫu phân kiểm tra	Kết quả phân lập E. coli	
		Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Lô 1	04	04	100
Lô 2	03	03	100

Bảng 5 trình bày kết quả điều trị bệnh tiêu chảy cho heo sữa cho thấy quá trình giảm khuẩn gây tiêu chảy theo thời gian uống dung dịch AgPNs nồng độ 5 ÷ 10 ppm và hình 5 ảnh heo sữa trước và sau khi điều trị.

Bảng 5. Khả năng diệt khuẩn của AgPNs trong quá trình điều trị heo sữa

Lô	Chỉ tiêu (CFU/g)	Thời gian				
		Ban đầu	Ngày thứ 1	Ngày thứ 3	Ngày thứ 5	Ngày thứ 7
Lô 1 (Sử dụng nano bạc)	E. coli	$3,5 \times 10^{10}$	$3,6 \times 10^9$	$9,6 \times 10^8$	$3,2 \times 10^8$	$3,0 \times 10^7$
	Tổng số VSV hiếu khí	$5,6 \times 10^{10}$	$7,5 \times 10^9$	$3,2 \times 10^9$	$5,4 \times 10^8$	$4,4 \times 10^7$
Lô 2 (tiêm KS Lincoseptin)	E. coli	$3,0 \times 10^{10}$	$9,6 \times 10^8$	$3,0 \times 10^8$	$3,0 \times 10^7$	-
	Tổng số VSV hiếu khí	$5,4 \times 10^{10}$	$5,6 \times 10^9$	$5,4 \times 10^8$	$4,2 \times 10^7$	-



Hình 5. Heo sữa đang bị bệnh tả (a) và sau thời gian điều trị (b)

4. Kết luận

Nano bạc được điều chế bằng dòng DC cao áp điều khiển xuất hiện plasma catốt cho sản phẩm chỉ có AgPNs và nước cất nên không có lẫn các ion và hóa chất của các chất phản ứng. Các đặc trưng của AgPNs DC cao áp có giá trị sóng phổ UV-Vis là $(418\div 423)$ nm và độ dẫn điện nhỏ: $(50,4\div 55,0)$ μ S với hình cầu, kích thước nhỏ hơn 10 nm và giá trị thế zeta trung bình của hệ keo bền là: -80,33 mV.

Nồng độ AgPNs tính được theo các phương pháp hao hụt trọng lượng anốt, tính từ dòng trung bình theo định luật Faraday và xác định bằng phổ AAS là khác nhau do có các phản ứng điện hóa đồng thời và do AgPNs dễ bám dính vào thiết bị phản ứng. Với giá trị 91,25 mg/L tính theo AAS chứng tỏ AgPNs được điều chế theo dòng DC cao áp có plasma catốt đủ lớn có giá trị thực tiễn.

Ứng dụng diệt khuẩn gây tiêu chảy chuồng trại nuôi lợn bằng AgPNs được điều chế bằng phương pháp hóa học với nồng độ 80 mg/L cho diện tích mặt sàn 10 m². Heo sữa bị bệnh tả gây tiêu chảy có thể uống trực tiếp AgPNs tinh khiết được điều chế bằng dòng DC cao áp với liều lượng 20 mL/lần, sáng và chiều với nồng độ dung dịch 10 ppm. Lượng khuẩn gây tiêu chảy giảm hàng ngày và heo khỏi bệnh trong thời gian điều trị: 07 ngày. Kết quả này có thể cho phép không phải sử dụng kháng sinh trong điều trị bệnh tiêu chảy cho heo sữa.

Lời cảm ơn. Tác giả chân thành cảm ơn ông Vũ Duy Nhân, trưởng phòng Hóa Sinh, Viện Hóa học Vật liệu về những đóng góp chuyên môn Sinh hóa và gia đình các ông Nguyễn Xuân Quang, Nhơn Mỹ cũng như trại heo của ông Nguyễn Văn Chương, Nhơn Hậu, An Nhơn, Bình Định đã tạo điều kiện trang trại và heo sữa cho thử nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Natalia L. Pacioni, Claudio D. Borsarelli, Valentina Rey, Alicia V. Veglia, *Synthetic Routes for Preparation of Silver Nanoparticles*, (E.I. Alarcon: *Silver Nanoparticle Applications*, Engineering Materials), Springer International Publishing Switzerland, pp. 13-46, (2015).
2. Sang Woo Kim et al., *Antifungal effects of silver nanoparticles against various plant pathogenic fungi*, Mycobiology, 40 (1), 53-58, (2012).

3. Tran Hong Con, Dong Kim Loan, Pham Phuong Thao, *Preparation of nanodimensional silver metal and application for drinking water treatment*, Journal of Science and Technology, T. 47, No. 2, (83 - 90), (2009).
4. Ngo Quoc Buu, Nguyen Hoai Chau, Tran Thi Ngoc Dung, Nguyen Gia Tien, *Studies on manufacturing of topical wound dressings based on nanosilver produced by aqueous molecular solution method*, Journal of Experimental Nanoscience, Vol. 6, No. 4, pp. 409-421, (2011).
5. Meeri Visnapuu, Urmas Joost, Katre Juganson, Kai Künns-Beres, Anne Kahru, Kambola Kisand, Angele Ivask, *Dissolution of Silver Nanowires and Nanospheres Dictates Their Toxicity to Escherichia coli*, BioMed Research International, Hindawi Publishing Corporation, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/819252>, (2013).
6. DV Quang, PB Sarawade, SJ Jeon, SH Kim, JK Kim, YG Chai, HT Kim, (2013), *Effective water disinfection using silver nanoparticle containing silica beads*, Applied Surface Science 266, 280-287.
7. Nguyễn Thị Minh Trang, Nguyễn Quỳnh Nga, Nguyễn Thị Kim Quyên, *Tình hình nhiễm và sự nhạy cảm kháng sinh của vi khuẩn E. Coli gây bệnh tiêu chảy trên heo con từ 1 - 60 ngày tuổi tại tỉnh Trà Vinh*, Tạp chí Khoa học Công nghệ Thú Y, Số 01, 46-53, (2011).
8. Karla Chaloupka, Yogeshkumar Malam, Alexander M. Seifalian, *Nanosilver as a new generation of nanoproduct in biomedical applications*, Trends in Biotechnology Vol.28 No.11, 580-588, (2010).
9. Ratyakshi, R.P. Chauhan, *Colloidal Synthesis of Silver Nano Particles*, Asian Journal of Chemistry Vol. 21, No. 10, 113-116, (2009).
10. Tran Thi Ngoc Dung, Ngo Quoc Buu, Dang Viet Quang, Huynh Thi Ha, Le Anh Bang, Nguyen Hoai Chau, Nguyen Thi Ly, Nguyen Vu Trung, *Synthesis of nanosilver particles by reverse micelle method and study of their bactericidal properties*, Journal of Physics, Conference Series, 187, (1), 012054, doi:10.1088/1742-6596/187/1/012054, pp. 1-8, (2009).
11. Devendra Jain, Sumita Kachhwaha, Rohit Jain, Garima Srivastava, S.L. Kothari, *Novel microbial route to synthesize silver nanoparticles using spore crystal mixture of Bacillus thuringiensis*, Indian Journal of Experimental Biology, Vol. 48, November, pp. 1152-1156, (2010).
12. Alireza Ebrahimezhad, Mahboobeh Bagheri, Seyedeh-Masoumeh Taghizadeh, Aydin Berenjian and Younes Ghasemi, *Biomimetic synthesis of silver nanoparticles using microalgal secretory carbohydrates as a novel anticancer and antimicrobial*, Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol. 7, 015018, 1-8, (2016).
13. Natalia L. Pacioni, Claudio D. Borsarelli, Valentina Rey, Alicia V. Veglia, *Synthetic Route for Preparation of Silver Nanoparticles*, Springer International Publishing Switzerland, DOI 10.1007/987-3-319-11262-6_2, (2015).
14. Nguyễn Đức Hùng, Mai Văn Phước, Nguyễn Minh Thùy, *Độ dẫn điện của dung dịch nano bạc*, Tạp chí Nghiên cứu KH&CN Quân sự, Số 17, 02, 96-101, (2012).
15. Rashid A. Khaydarov, Renat R. Khaydarov, Olga Gapurova, Yuri Estrin, Thomas Scheper, *Electrochemical method for the synthesis of silver nanoparticles*, J. Nanopart Res. 11, 1193-1200, DOI 10.1007/s11051-008-9513-x, (2009).
16. Nguyen Minh Thuy, Nguyen Duc Hung, Mai Van Phuoc, Nguyen Nhi Tru, *Characterization of particles size distribution for nano silver solution prepared by high DC voltage electrochemical technique*, Vietnam journal of chemistry, Vol. 52(5), 543-547, (2014).
17. Nguyen Duc Hung, Mai Van Phuoc, Nguyen Minh Thuy, Nguyen Nhi Tru, *Preparation of Nanosilver Colloidal Solution by Anodic Dissolution under High DC Voltage*, Electrochemistry, 81(6), 454-459, (2013).