

NGHIÊN CỨU CHẤT CHIẾT LÁ DIẾP CÁ ỨC CHẾ VI KHUẨN *ESCHERICHIA COLI* VÀ *SALMONELLA* SPP. GÂY BỆNH TRÊN GÀ TẠI TRÀ VINH

Nguyễn Thị Đầu, La Mỹ Anh
Trường Đại học Trà Vinh

TÓM TẮT

Nghiên cứu sử dụng chất chiết lá diếp cá để ức chế vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* spp. phân lập từ gà đã được thực hiện tại trường Đại học An Giang. Kết quả nghiên cứu cho thấy điều kiện chiết xuất tối ưu để thu được chất chiết có tác dụng ức chế vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* spp. với hiệu quả cao nhất bao gồm: lá diếp cá được sấy khô ở nhiệt độ 40°C, nghiền thành bột mịn, tách chiết trong dung môi hỗn hợp (nước và cồn 70°C với tỷ lệ 10:90) ở nhiệt độ 70°C trong thời gian 100 phút.

Từ khóa: Diếp cá, ức chế vi khuẩn.

Study on the extracted substances of *Houttuynia cordata* leaves to inhibit *E. coli* and *Salmonella* spp. caused disease in chickens in Tra Vinh province

Nguyen Thi Dau, La My Anh

SUMMARY

Study on using the extracted substances of *Houttuynia cordata* leaves to inhibit *E. coli* and *Salmonella* spp. isolated from chickens was conducted at An Giang University. The studied result showed that the optimum extract conditions to obtain the extracted substances having the best efficacy for inhibiting *E. coli* and *Salmonella* spp. bacteria included: *Houttuynia cordata* leaves were dried at 40°C, crushed into the fine powders and extracted in the mixed solvent (water and alcohol with a ratio of 10:90) at 70°C in a duration of 100 minutes.

Keywords: *Houttuynia cordata* leaves, bacterial inhibition.

I. MỞ ĐẦU

Môi trường xung quanh chúng ta có rất nhiều loại vi khuẩn gây bệnh nguy hiểm cho người và động vật như *Escherichia coli*, *Salmonella* spp.,...từ đó việc sử dụng kháng sinh trong điều trị bệnh do vi khuẩn gây ra ngày càng tăng. Tuy nhiên, nếu sử dụng kháng sinh tổng hợp trong một thời gian dài sẽ dẫn đến tình trạng kháng thuốc và khó kiểm soát. *E. coli* kháng ampicillin lên tới 81,4%; *Staphylococcus aureus* kháng methicillin và các kháng sinh liên quan (Nguyễn Thanh Hải và Bùi Thị Tho, 2013).

Diếp cá là một loại cây thảo, mọc rất phổ biến ở Việt Nam và một số nước châu Á dùng để

chữa nhiều bệnh như trĩ, phù thũng, thoát mủ, thông tiểu tiện, viêm, giải độc, thanh nhiệt... Sở dĩ như vậy là vì trong cây diếp cá có chứa một số hoạt chất có tính kháng khuẩn và chống oxy hoá (Viện Dược liệu, 2006; Nguyễn Văn Đán và Nguyễn Việt Tựu, 1985).

Tinh dầu trong diếp cá có khả năng ức chế các loại virus như: virus gây bệnh herpes (HSV-1), virus gây bệnh cúm, HIV chủng 1 ở người (HIV-1), các vi khuẩn tụ cầu vàng, liên cầu khuẩn dung huyết, phế cầu khuẩn, trực khuẩn lỵ, nấm... Diếp cá cũng được dùng để chữa táo bón, trĩ, mụn nhọt, lở ngứa, trẻ con lên sởi, viêm phổi, đau mắt hoặc đau mắt đỏ do nhiễm trực khuẩn mủ xanh, viêm ruột, bí tiểu tiện, kiết lỵ (Đỗ Tất Lợi, 2006).

Theo nghiên cứu của y khoa hiện đại, trong cây diếp cá có chất decanoyl-acetaldehyd mang tính kháng sinh; có tác dụng kháng khuẩn như ức chế tụ cầu vàng, liên cầu, phế cầu, trực khuẩn bạch hầu, *E. coli*... Diếp cá còn diệt ký sinh trùng và nấm.

Ưu điểm của việc sử dụng kháng sinh từ thiên nhiên trong điều trị bệnh là an toàn, không tác dụng phụ, không biến chứng, sử dụng lâu không ảnh hưởng đến gan, thận, dạ dày và không gây ra hiện tượng kháng thuốc. Vì vậy, việc nghiên cứu khả năng kháng khuẩn của cây diếp cá và những yếu tố ảnh hưởng đến hoạt chất kháng sinh của cây diếp cá là rất cần thiết.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Lá diếp cá được thu hái trên địa bàn Trà Vinh
- Vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* spp. phân lập từ phân gia cầm được cung cấp từ Phòng thí nghiệm Vi sinh vật học, Bộ môn Chăn nuôi Thú y, khoa Nông nghiệp - Thủy sản, trường Đại học Trà Vinh.

2.2. Dụng cụ, thiết bị

Nồi hấp thanh trùng, tủ sấy, tủ ẩm, bếp đun, buồng cấy vô trùng, nhiệt kế, cân điện tử, máy đo pH, tủ lạnh, máy lắc, kính hiển vi. Các dụng cụ khác gồm ống nghiệm, đĩa petri, bình tam giác, đèn cồn, bình định mức, ống đong, micropipet, giấy lọc, khăn,... Các loại que cấy: que trang, que đầu tròn, dụng cụ đục lỗ, thước.

Hóa chất, môi trường nuôi cấy vi khuẩn: nước cất, cồn 70⁰, Nutrient broth (NB), Nutrient agar (NA), *Salmonella*-*Shigella* agar (SS), Triple Sugar Iron (TSI), MacConkey agar (MC), Xylose Lysine Deoxycholate (XLD), nước muối sinh lý, Mueller Hinton agar (MHA).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Xử lý nguyên liệu

Nguyên liệu sau khi hái được rửa sạch, để

ráo nước, sau đó đem sấy ở 40⁰C đến khi khối lượng không đổi. Nguyên liệu sau khi sấy khô được nghiền thành bột mịn, bảo quản nơi khô ráo để sử dụng cho việc nghiên cứu.

Sử dụng phương pháp ngâm nóng để tách chiết diếp cá. Bột diếp cá đem chiết với tỷ lệ 10g/100ml dung môi ở các điều kiện nhiệt độ và thời gian khác nhau. tiến hành lọc, thu được 80ml dung dịch, đem dung dịch cô đặc còn 30ml và bảo quản ở 4⁰C.

2.3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ lên khả năng kháng khuẩn của dịch chiết lá diếp cá

Bảng 1. Thí nghiệm về nhiệt độ lên khả năng kháng khuẩn của dịch chiết lá diếp cá

Công thức	Nhiệt độ (°C)
N1	50
N2	60
N3	70
N4	80

2.3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian lên khả năng kháng khuẩn của dịch chiết diếp cá

Bảng 2. Thí nghiệm về thời gian lên khả năng kháng khuẩn của dịch chiết lá diếp cá

Công thức	Thời gian (phút)
T1	60
T2	80
T3	100
T4	120

2.3.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi lên khả năng kháng khuẩn của dịch chiết lá diếp cá

Bảng 3. Thí nghiệm về dung môi lên khả năng kháng khuẩn của dịch chiết lá diếp cá

Công thức	Tỷ lệ	
	Nước	Cồn 70 ⁰
A1	100	0
A2	10	90
A3	20	80
A4	30	70
A5	40	60

Sau khi đã có kết quả nghiên cứu về nhiệt độ và thời gian chiết thích hợp, tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của dung môi đến khả năng kháng khuẩn của dịch chiết điệp cá theo các công thức ở bảng 4.

2.3.5. Thử khả năng kháng khuẩn

Kiểm tra khả năng kháng khuẩn bằng phương pháp khuếch tán qua giếng thạch, các thao tác đều thực hiện trong tủ cấy vô trùng.

Đo độ đục chuẩn McFarland (vi khuẩn đạt 10^8 tế bào/ml), lắc đều ống nghiệm chứa vi khuẩn. Sử dụng micropipet hút 100 μ l dung dịch vi khuẩn vào giữa đĩa thạch chứa môi trường MHA dùng que trang trang đều đến khi mặt thạch khô. Để 15 phút, dùng dụng cụ đục lỗ trên môi trường thạch với đường kính 0,6cm, đục 5-6 giếng cách nhau 2-3 cm. Dùng micropipet hút 70 μ l dịch chiết điệp cá cho vào giếng thạch. Sử dụng đối chứng là nước cất, để đĩa thạch trong tủ lạnh 30 phút để dịch chiết điệp cá khuếch tán ra môi trường nuôi cấy; sau đó để vào tủ ấm 37°C , sau 24 giờ đo kích thước vòng kháng khuẩn

Vòng kháng khuẩn được xác định bằng công thức D-d, trong đó D là đường kính vòng kháng khuẩn, d là đường kính giếng thạch (Hauser, Alan R., 2013; Phạm Hùng Văn, 2013).

2.3.6. Xử lý số liệu

Dùng phần mềm Minitab 16.0 và Excel 2010.

III. KẾT QUẢ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả khả năng kháng khuẩn của dịch chiết lá điệp cá đối với vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* trên gà

Bảng 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết của dịch chiết lá điệp cá đối với vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* trên gà

Nhiệt độ ($^{\circ}\text{C}$)	Kích thước vòng kháng khuẩn (mm)	
	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>
N1 = 50	13,8	12,2
N2 = 60	14,1	16,3
N3 = 70	14,3	16,7
N4 = 80	12,7	11,2

Như vậy, điều kiện nhiệt độ có ảnh hưởng đến khả năng kháng khuẩn của dịch chiết lá điệp cá đối với vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* trên gà (Sunhee Shin và cs., 2010; Jiangang Fu và cs., 2013). Điều kiện nhiệt độ thích hợp nhất để khả năng kháng khuẩn đạt cao nhất là 70°C , kết quả về các điều kiện nhiệt độ trên đều không có ý nghĩa thống kê.

3.2. Kết quả ảnh hưởng của thời gian chiết của dịch chiết lá điệp cá đối với vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* trên gà

Bảng 5. Ảnh hưởng của thời gian chiết của dịch chiết lá điệp cá đối với vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* trên gà

Thời gian (phút)	Kích thước vòng kháng khuẩn (mm)	
	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>
T1 = 80	10,8	12,7
T2 = 100	15,8	13,3
T3 = 120	12,9	10,4

Việc thay đổi thời gian chiết có ảnh hưởng đến khả năng kháng khuẩn của dịch chiết lá điệp cá. Ở nghiên cứu này, chiết trong thời gian 100 phút là thích hợp nhất vì có tác dụng tốt trên cả 2 chủng vi khuẩn.

3.3. Kết quả ảnh hưởng của dung môi chiết của dịch chiết lá điệp cá đối với *E. coli* và *Salmonella* trên gà

Bảng 6. Ảnh hưởng của dung môi của dịch chiết lá điệp cá đối với vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* trên gà

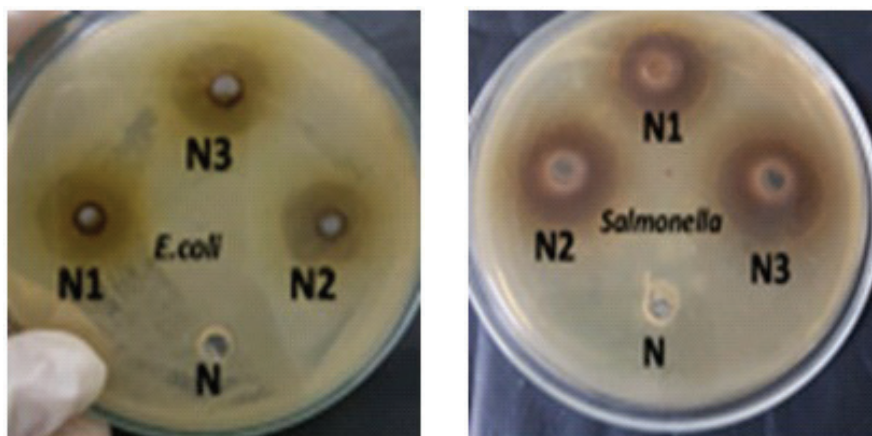
Dung môi (Nước : ethanol)	Kích thước vòng kháng khuẩn (mm)	
	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>
A1=100:0	4,8	4,2
A2=40:60	5,8	4,5
A3=30:70	5,7	5,1
A4=20:80	7,3	5,7
A5=10:90	9,1	7,3

Đối với *E. coli*: chiết bằng nước có tác dụng chống lại *E. coli* với vòng kháng khuẩn 4,8 mm. Còn các hỗn hợp nước: ethanol lần lượt là 30:70 và 40:60 có vòng kháng khuẩn gần bằng nhau, cao hơn cả là tỷ lệ 10:90 với vòng kháng khuẩn là 9,1 mm. Như vậy, hỗn hợp nước: ethanol 10:90 có tác dụng mạnh nhất đối với vi khuẩn *E. coli*.

Dung môi có ảnh hưởng đến khả năng kháng khuẩn của dịch chiết lá diếp cá. Dung môi phù

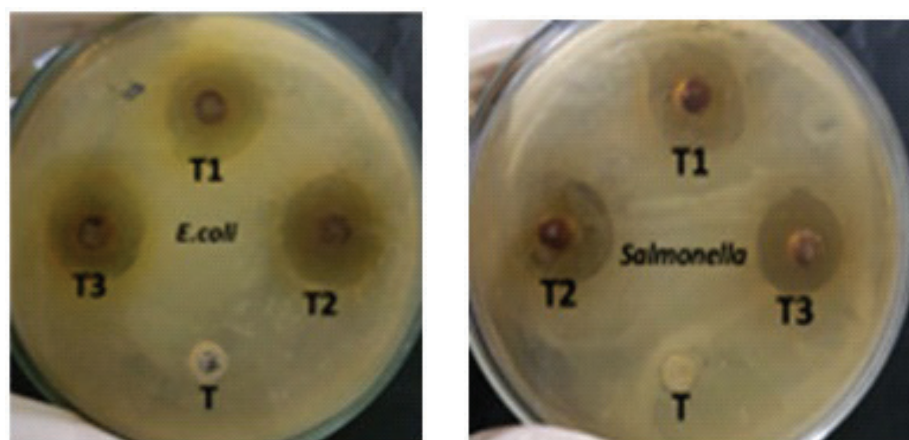
hợp nhất có thể lựa chọn là hỗn hợp nước: ethanol 10:90 do có tác dụng kháng khuẩn tốt đối với cả 2 chủng vi khuẩn thử nghiệm.

Kết quả nghiên cứu của Hoàng Văn Tuấn và cs. (2013) cho biết kích thước vòng kháng khuẩn của dịch chiết lá diếp cá đối với *E. coli* là 18mm; đối với *Salmonella* là 10,1mm; cao hơn nghiên cứu này. Điều này có thể giải thích do khả năng kháng khác nhau của vi khuẩn ở mỗi vùng.



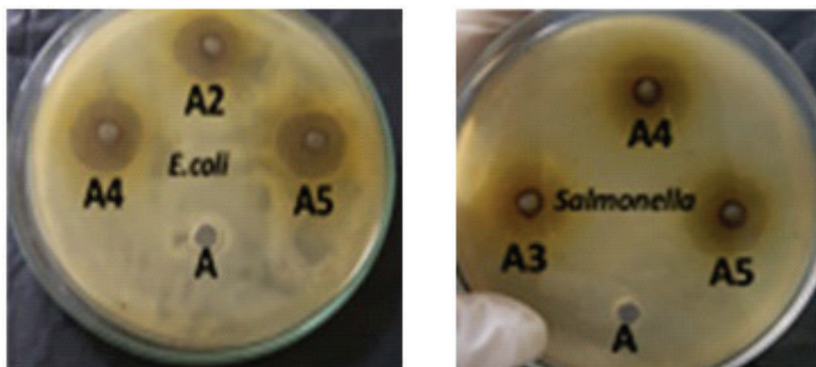
Hình 1. Vòng kháng khuẩn của dịch chiết lá diếp cá ở các mức nhiệt độ trên vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* spp.

N: Đối chứng, N1: 50°C, N2: 60°C, N3: 70°C



Hình 2. Vòng kháng khuẩn của dịch chiết lá diếp cá ở các mốc thời gian trên vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* spp.

T: Đối chứng, T1: 60 phút, T2: 80 phút, T3: 100 phút



Hình 3. Vòng kháng khuẩn của dịch chiết lá diếp cá ở các mức độ dung môi trên vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* spp.

A: Đối chứng, A1: nước:ethanol=100:0, A2: nước:ethanol=40:60, A3: nước:ethanol=70:30

IV. KẾT LUẬN

Dịch chiết lá diếp cá có tác dụng kháng khuẩn đối với cả 2 chủng vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* spp.

Việc thay đổi điều kiện nhiệt độ, thời gian và dung môi cũng ảnh hưởng đến khả năng kháng khuẩn của dịch chiết:

- Nhiệt độ thích hợp nhất là 70°C
- Thời gian chiết tốt nhất là 100 phút
- Tỷ lệ dung môi tốt nhất là hỗn hợp nước với ethanol =10:90.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Viện Dược liệu, 2006. Nghiên cứu thuốc từ thảo dược. *Nxb Khoa học và Kỹ thuật*, Hà Nội.
2. Viện Dược liệu, 2008. Kỹ thuật chiết xuất dược liệu. *Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật*, Hà Nội.
3. Đỗ Tất Lợi, 2006. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. *Nxb Khoa học và Kỹ thuật*, Hà Nội.
4. Hoàng Văn Tuấn, Phạm Hương Sơn, Nguyễn Thị Hiền, Nguyễn Đình Luyện, Nguyễn Thanh Hào, 2013. Nghiên cứu tách chiết và xác định một số hoạt tính sinh học của dịch chiết flavonoid từ diếp cá (*Houttuynia cordata*) thu hái tại Hà Nội. *Tạp chí Sinh học* số 35: 183-187
5. Hauser, Alan R.. 2013. Antibiotic basics for

Clinicians. *Internal Medicine Laboratory Medicine*, 25-28.

6. Jiangang Fu, Ling Dai, Zhang Lin, Hongmei Lu, 2013. *Houttuynia cordata*: A review of phytochemistry and pharmacology and quality control. *Chinese medicine*, 101-123.
7. Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Việt Tựu, 1985. Phương pháp nghiên cứu hoá học cây thuốc. *Nxb Y học*, Thành phố Hồ Chí Minh
8. Nguyễn Thanh Hải, Bùi Thị Tho, 2013. Nghiên cứu tác dụng diệt khuẩn *in vitro* của dịch chiết tỏi (*Allium sativum* L.) đối với *E. coli* gây bệnh và *E. coli* kháng ampicillin, kanamycin. *Tạp chí Khoa học và phát triển*, số 11(6): 804 - 808.
9. Phạm Hùng Văn, Phạm Thái Bình, 2013. Kháng sinh - Đề kháng kháng sinh - Kỹ thuật kháng sinh đồ, các vấn đề cơ bản thường gặp. *Nhà xuất bản Y học*, 61 - 63.
10. Sunhee Shin, Seong Soo Joo, Jeong Hee Jeon, Dongsun Park, 2010. Anti-inflammatory effect of *Houttuynia cordata* supercritical extract. *Journal of Veterinary science*, 11(3): 273-275.
11. <https://rau-diep-ca-loai-rau-gia-vi-mang-than-duoc.html>.

Ngày nhận 15-6-2020

Ngày phản biện 4-7-2020

Ngày đăng 1-1-2021