ISSN 1859-3968

**TẠP CHÍ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**
TRƯỜNG ĐẠI HỌC HÙNG VƯƠNG
Tập 19, Số 2 (2020): 61-68

**JOURNAL OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**
HUNG VUONG UNIVERSITY
Vol. 19, No. 2 (2020): 61-68

*Email: tapchikhoahoc@hvu.edu.vn Website: www.hvu.edu.vn*

# ẢNH HƯỞNG CỦA NỒNG ĐỘ PHA LOÃNG, DUNG MÔI VÀ CHẤT BẢO QUẢN LÊN KHẢ NĂNG KHÁNG KHUẨN CỦA HỖN HỢP CAO CHIẾT THẢO DƯỢC

**Đặng Hoàng Lâm[1], Đặng Thị Hồng Phương[2], Trần Thị Hạnh[2], Hán Thị Hải Yến[2], Bùi Thị Hoàng Yến[1*], Nguyễn Thị Hà Phương[1], Nguyễn Tài Năng[3]**

*[1]Viện Nghiên cứu Ứng dụng và Phát triển, Trường Đại học Hùng Vương, Phú Thọ*
*[2]Lớp K14 Thú Y, Khoa Nông Lâm Ngư, Trường Đại học Hùng Vương, Phú Thọ*
*[3]Phòng Khoa học và Công nghệ, Trường Đại học Hùng Vương, Phú Thọ*

Ngày nhận bài: 08/6/2020; Ngày chỉnh sửa: 24/6/2020; Ngày duyệt đăng: 24/6/2020

## Tóm tắt

Nghiên cứu nhằm đánh giá ảnh hưởng của nồng độ độ pha loãng, dung môi pha loãng và chất bảo quản đến khả năng kháng khuẩn của hỗn hợp cao chiết thảo dược gồm Riềng (*Apinia officinarum* Hance), Cỏ sữa (*Euphorbia thymifolia* Burm), Rẻ quạt (*Belamcanda chinensis*). Các vi khuẩn thử nghiệm sử dụng gồm *E. coli*, *Salmonella* và *Staphylococcus*. Chế phẩm cao chiết thảo được pha loãng ở các tỷ lệ khác nhau, sử dụng dung môi pha loãng và chất bảo quản khác nhau, sau đó đánh giá khả năng kháng khuẩn. Kết quả cho thấy, ở tỷ lệ pha loãng thảo dược 1:1, đường kính vòng tròn kháng khuẩn lớn nhất (từ 14 đến 17 mm). Ở tỷ lệ pha loãng 1:1, số lượng vi khuẩn ở hồi tràng và manh tràng chuột giảm rõ rệt so với lô chuột không bổ sung thảo dược. Ở tất cả các tỷ lệ pha loãng, số lượng vi khuẩn trong hồi tràng chuột đều thấp hơn lô chuột có bổ sung kháng sinh. Sử dụng dung môi nước pha loãng cho đường kính vòng tròn kháng khuẩn lớn hơn dung môi glycerin. Bổ sung chất bảo quản (Nipazin và Nipazone) không làm ảnh hưởng đến khả năng kháng khuẩn của dịch chiết thảo dược.

**Từ khóa:** *Thảo dược, kháng khuẩn, dung môi, chất bảo quản.*

## 1. Đặt vấn đề

Trong chăn nuôi, kháng sinh đóng vai trò quan trọng trong phòng trị bệnh, kích thích tăng trưởng, nâng cao hiệu quả sử dụng thức ăn cho gia súc, gia cầm. Tuy nhiên, việc sử dụng kháng sinh phổ biến và không đúng cách trong chăn nuôi [1] đã làm tăng nguy cơ kháng kháng sinh và nguy hiểm hơn là khả năng biến chủng của các vi khuẩn gây bệnh. Từ đó ảnh hưởng đến hiệu quả sử dụng thuốc điều trị cho người và vật nuôi. Sự tồn dư kháng sinh tích lũy trong sản phẩm chăn nuôi như thịt, trứng, sữa không những gây độc mà có thể gây dị ứng cho người sử dụng.

*Email: hoangyen.vp@gmail.com

Dư lượng kháng sinh trong sản phẩm chăn nuôi còn là rào cản xuất khẩu của doanh nghiệp Việt Nam.

Hiện nay, việc sử dụng kháng sinh trong thức ăn chăn nuôi với mục đích kích thích sinh trưởng và ngăn ngừa bệnh tật đã bị cấm ở hầu hết các nước phát triển trên thế giới. Các giải pháp thay thế việc bổ sung kháng sinh vào thức ăn chăn nuôi đã được đưa ra như bổ sung axit hữu cơ, probiotic, thảo dược... trong đó giải pháp bổ sung thảo dược được đánh giá là tốt hơn và an toàn hơn [2]. Đến nay đã có một số nghiên cứu sản xuất các chế phẩm thảo dược để ứng dụng trong chăn nuôi, nghiên cứu một số chế phẩm có nguồn gốc từ 10 loại thảo dược, kết quả cho thấy việc bổ sung chế phẩm thảo dược bột khô cải thiện đáng kể mức tiêu tốn thức ăn/kg tăng trọng, ngăn ngừa tiêu chảy của lợn [3].

Tuy nhiên, thảo dược chủ yếu được chế biến ở dạng bột sấy khô. Dạng chế biến này cho chi phí sản xuất thấp nhưng nồng độ các hợp chất có tính kháng khuẩn thấp nên đòi hỏi tỷ lệ bổ sung cao. Tỷ lệ bổ sung này gây khó khăn cho quá trình sử dụng và khó cân đối trong quá trình lập khẩu phần ăn cho vật nuôi. Phương pháp cao chiết thảo dược đã được ứng dụng phổ biến trong sản xuất dược liệu cho người, nhằm làm giảm khối lượng dược liệu trong mỗi lần sử dụng thuốc. Sử dụng cao dược liệu có thể làm giảm nồng độ thảo dược bổ sung vào thức ăn chăn nuôi. Phương pháp chiết trong dung môi nước ở nhiệt độ 100°C cho phép sản xuất các chế phẩm có nồng độ hợp chất có dược tính cao hơn so với sử dụng bột thô. Việc sử dụng cao chiết thảo dược trong thực tiễn chăn nuôi cần tính toán đến nồng độ pha loãng, lựa chọn dung môi pha nhằm đảm bảo ổn định tính kháng khuẩn của hỗn hợp thảo dược, Ngoài ra, trong quá trình bảo quản thảo dược dạng cao chiết cần bổ sung chất bảo quản nhằm duy trì chất lượng và tính kháng khuẩn của thảo dược.

Xuất phát từ thực tiễn đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu "Ảnh hưởng của nồng độ pha loãng, dung môi và chất bảo quản lên khả năng kháng khuẩn của hỗn hợp cao chiết thảo dược".

## 2. Phương pháp nghiên cứu

### *2.1. Vật liệu*

- Cao chiết thảo dược:

+ Sơ chế thảo dược: thảo dược gồm Riềng (*Apinia officinarum* Hance), Cỏ sữa (*Euphorbia thymifolia* Burm), Rẻ quạt (*Belamcanda chinensis*) thu hái, rửa sạch, để ráo, thái lát, sấy ở 55°C đến khi đạt độ ẩm 13%. Nghiền nhỏ qua mắt sàng kích thước ≤ 1 mm.

+ Hỗn hợp thảo dược khô gồm 50% Riềng (*Apinia officinarum* Hance), 25% Cỏ sữa (*Euphorbia thymifolia* Burm), 25% Rẻ quạt (*Belamcanda chinensis*) chiết trong dung môi nước ở 100°C trong 2 giờ. Dịch chiết của 2 lần chiết sẽ được làm bay hơi nước bằng máy cô quay chân không đến khi thu được khối lượng dịch chiết có tỷ lệ tương ứng 1/10 khối lượng nguyên liệu đầu vào.

- Vi khuẩn: *E. coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus* được sử dụng từ nguồn lưu giữ giống tại Phòng thí nghiệm khoa học động vật, trường Đại học Hùng Vương.

### *2.2. Nội dung và phương pháp nghiên cứu*

*2.2.1. Nội dung nghiên cứu*

- Khả năng kháng khuẩn của cao chiết thảo dược ở các tỷ lệ pha loãng, dung môi pha loãng và chất bảo quản khác nhau.

*2.2.2. Phương pháp nghiên cứu*

*2.2.2.1. Bố trí thí nghiệm*

* Thí nghiệm 1: Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn *in vitro* của hỗn hợp cao chiết thảo dược ở các nồng độ pha loãng 1:1; 1:2; 1:3; 1:6.

- Dung môi pha loãng hỗn hợp cao chiết: nước.

- Tỷ lệ pha loãng: 1:1; 1:2; 1:3; 1:6 (khối lượng cao : khối lượng nước).

- Đánh giá thông qua xác định đường kính vòng vô khuẩn trên đĩa thạch với các chủng vi khuẩn *E. coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus*

* Thí nghiệm 2: Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn *in vitro* của hỗn hợp cao chiết thảo dược pha loãng với các loại dung môi khác nhau.

- Dung môi pha loãng: nước và glycerin.

- Tỷ lệ pha loãng: Căn cứ vào kết quả của thí nghiệm 1.

- Đánh giá: xác định đường kính vòng vô khuẩn trên đĩa thạch.

* Thí nghiệm 3: Đánh giá ảnh hưởng của chất bảo quản lên khả năng kháng khuẩn *in vitro* của hỗn hợp cao chiết thảo dược.

- Dung môi pha loãng: căn cứ vào kết quả thí nghiệm 2.

- Tỷ lệ pha loãng: Căn cứ vào kết quả thí nghiệm 1.

- Chất bảo quản: lô ĐC không bổ sung chất bảo quản.

Lô TN có bổ sung chất bảo quản (100 mg Nipazin + 1000 mg Nipazone/lít).

- Đánh giá: Xác định đường kính vòng vô khuẩn trên đĩa thạch.

* Thí nghiệm 4: Đánh giá ảnh hưởng của cao chiết thảo dược lên khu hệ vi sinh vật đường ruột.

+ 24 chuột thí nghiệm chia ngẫu nhiên chia thành 6 lô. Chuột được nuôi dưỡng đồng đều về dinh dưỡng và thức ăn. Thảo dược và kháng sinh được bổ sung theo đường nước uống trong thời gian 21 ngày, cụ thể:

+ ĐC (-): Nước lọc RO
+ ĐC (+): Gentamicin 50 ppm
+ $TN_1$: 100 mg cao chiết/con/ngày
+ $TN_2$: 70 mg cao chiết/con/ngày
+ $TN_3$: 50 mg cao chiết/con/ngày
+ $TN_4$: 35 mg cao chiết/con/ngày

+ Sau 21 ngày thí nghiệm xác định số lượng tổng số vi khuẩn hiếu khí, *Coliform*, *E. coli* và *Salmonella* trong hồi tràng và manh tràng.

*2.2.2.2. Phương pháp đánh giá*

* Đánh giá khả năng kháng khuẩn *in vitro* theo Nguyễn Tài Năng và cộng sự [5]:

Thử hoạt tính kháng khuẩn: Các vi khuẩn *Staphylococcus*, *E. coli*, *Salmonella* lần lượt được láng đều trên bề mặt thạch Muller Hilton với số lượng 0,15 × $10^6$ CFU/đĩa thạch, sau đó để trong tủ ấm khoảng 10 phút.

- Chuẩn bị các lỗ thạch để nhỏ cao chiết thảo dược hoặc kháng sinh: Các lỗ thạch có đường kính 6mm được đục bằng thanh kim loại vô trùng, mỗi lỗ thạch cách nhau 2 cm.

- Tiến hành nhỏ cao chiết thảo dược vào lỗ thạch đã được láng vi khuẩn thử nghiệm, mỗi lỗ thạch nhỏ 0,1ml cao chiết thảo dược. Mỗi đĩa thạch đặt thêm một lỗ đối chứng lỗ chứa Gentamycin (50 ppm) làm đối chứng dương.

- Các đĩa thạch được nuôi trong tủ ấm ở 37°C trong 18 - 24 giờ. Khả năng kháng khuẩn được xác định dựa trên đường kính vòng vô khuẩn.

* Đánh giá khả năng kháng khuẩn *in vivo* trên khu hệ vi sinh vật đường ruột

Chuột sau nuôi thí nghiệm 21 ngày, mổ lấy dịch hồi tràng và manh tràng. Pha loãng dịch ruột với nước muối sinh lý 0,9%. Dịch ruột pha loãng được phân lập trên các môi trường Muller Hinton, EMB, SS và Endo để xác định tổng số vi khuẩn hiếu khí, *Coliform*, *E. coli* và *Salmonella*.

### *2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu*

- Thời gian: tháng 9/2019 - 4/2020.

- Địa điểm: Phòng Thí nghiệm Khoa học động vật - Trường Đại học Hùng Vương

### *2.4. Phương pháp xử lý số liệu*

Các số liệu theo dõi trong các thí nghiệm được ghi chép đầy đủ. Các số liệu được xử lý thống kê theo mô hình ANOVA một nhân tố bằng phần mềm Excel và SPSS 20. Các giá trị trung bình có sai khác thống kê ở mức $P < 0,05$; có xu hướng sai khác với $0,05 < P < 0,1$.

## 3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

### *3.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ pha loãng lên khả năng kháng khuẩn của cao chiết thảo dược*

**Bảng 1. Khả năng kháng khuẩn của hỗn hợp thảo dược ở các nồng độ pha loãng**

| Thảo dược /kháng sinh | *E. coli* | *Salmonella* | *Staphylococcus* |
|---|---|---|---|
| | $\overline{X} \pm SD\ (mm)$ | | |
| Tỷ lệ 1:1 | $15,00^{b} \pm 0,25$ | $13,50^{b} \pm 0,50$ | $16,50^{b} \pm 0,15$ |
| Tỷ lệ 1:2 | $13,00^{c} \pm 0,35$ | $10,50^{c} \pm 0,20$ | $14,00^{c} \pm 0,43$ |
| Tỷ lệ 1:3 | $11,50^{d} \pm 0,36$ | $9,00d \pm 0,30$ | $11,00^{d} \pm 0,30$ |
| Tỷ lệ 1:6 | $9,50^{e} \pm 0,25$ | $8,00^{e} \pm 0,37$ | $10,00^{e} \pm 0,25$ |
| Gentamicin (50 ppm) | $27,50^{a} \pm 0,36$ | $26,00^{a} \pm 0,24$ | $30,00^{a} \pm 0,50$ |

*Ghi chú: các chữ số trong cùng một cột không mang những chữ cái giống nhau thì khác nhau về mặt thống kê ($P < 0,05$).*

Hỗn hợp riềng, cỏ sữa, rẻ quạt đã được chứng minh có hoạt tính kháng khuẩn ở cả dạng tươi và dạng sấy khô [4]. Cao chiết thảo dược được chế biến ở nhiệt độ cao nhưng không làm thay đổi hoạt tính kháng khuẩn của hỗn hợp thảo dược. Hỗn hợp cao chiết thảo dược pha loãng ở các nồng độ khác nhau đều có khả năng kháng cả

3 loại vi khuẩn thử nghiệm. Đường kính ức chế vi khuẩn của thảo dược ở các nồng độ pha loãng với vi khuẩn *E. coli* dao động từ 9,5-15mm, đối với vi khuẩn *Salmonella* dao động từ 8,0-13,5 mm, đối với vi khuẩn *Staphylococcus* dao động từ 10,0-16,5 mm. Trong đó hỗn hợp cao thảo dược có hoạt tính kháng khuẩn giảm dần khi tỷ lệ pha loãng tăng lên. Ở nồng độ pha loãng 1:1, thảo dược có hoạt tính kháng khuẩn cao nhất (P < 0,05) đối với cả 3 chủng vi khuẩn so với các nồng độ pha loãng còn lại.

### *3.2. Ảnh hưởng của dung môi pha loãng đến khả năng kháng khuẩn của hỗn hợp cao chiết thảo dược*

Kết quả của thí nghiệm 1 cho thấy tỷ lệ pha loãng hỗn hợp cao chiết thảo dược 1:1 có hoạt tính kháng khuẩn cao nhất. Do đó, sử dụng tỷ lệ pha loãng này để đánh giá ảnh hưởng của các dung môi khác nhau đến khả năng kháng khuẩn của hỗn hợp cao chiết thảo dược. Kết quả được thể hiện trong bảng 2.

**Bảng 2. Ảnh hưởng của dung môi pha loãng đến khả năng kháng khuẩn của hỗn hợp cao chiết thảo dược**

| Thảo dược/Kháng sinh | *E. coli* | *Salmonella* | *Staphylococcus* |
|---|---|---|---|
| | $\overline{X} \pm SD\ (mm)$ | | |
| Nước | $12,00^{b} \pm 0,25$ | $11,50^{b} \pm 0,56$ | $12,50^{b} \pm 0,45$ |
| Glycerine | $11,50^{b} \pm 0,45$ | $10,50^{b} \pm 0,50$ | $12,30^{c} \pm 0,43$ |
| Gentamicin (50 ppm) | $25,00^{a} \pm 0,76$ | $23,50^{a} \pm 0,74$ | $22,50^{a} \pm 0,70$ |

*Ghi chú: các chữ số trong cùng một cột không mang những chữ cái giống nhau thì khác nhau về mặt thống kê (P <0,05).*

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, đường kính vòng vô khuẩn cao nhất ở mẫu sử dụng kháng sinh Gentamicin với nồng độ 50 ppm (P < 0,05). Hỗn hợp cao chiết thảo dược được pha loãng tỷ lệ 1:1 bằng dung môi nước và glycerin đều có khả năng kháng khuẩn với *E. coli* dao động từ 11-12 mm, đối với *Salmonella* dao động từ 10,50-12, đối với *Staphylococcus* dao động từ 10-12 mm.

Không có sự sai khác về mặt thống kê (P > 0,05) khi so sánh đường kính vòng vô khuẩn của cao chiết thảo dược sử dụng dung môi pha loãng khác nhau. Điều này cho thấy, nước và glycerin là những dung môi không làm ảnh hưởng lên hoạt tính kháng khuẩn của thảo dược. Tuy nhiên, trong thực tế sử dụng, khi pha loãng cao chiết thảo dược bằng glycerin thì xuất hiện hiện tượng phân lớp. Điều này do đặc tính vật lý của glycerine dẫn đến cao chiết không tan hoàn toàn trong dung môi này. Do đó, có thể kết luận dung môi nước là dung môi phù hợp để pha loãng cao chiết thảo dược.

### *3.3. Ảnh hưởng của chất bảo quản đến khả năng kháng khuẩn của hỗn hợp cao chiết thảo dược*

Trên cơ cở kết quả của thí nghiệm 1 và 2, lựa chọn nước là dung môi pha loãng và tỷ lệ pha loãng cao chiết thảo dược là 1:1. Tiếp tục đánh giá ảnh hưởng của chất bảo quản lên khả năng kháng khuẩn của hỗn hợp cao chiết thảo dược. Kết quả được thể hiện ở bảng 3.

**Bảng 3. Ảnh hưởng của chất bảo quản lên khả năng kháng khuẩn của hỗn hợp cao chiết thảo dược**

| Thảo dược/Kháng sinh | *E. coli* | *Salmonella* | *Staphylococcus* |
|---|---|---|---|
| | $\bar{X} \pm SD\ (mm)$ | | |
| Có chất bảo quản (ĐC) | $11,80^{b} \pm 0,25$ | $11,50^{b} \pm 0,56$ | $11,00^{b} \pm 0,45$ |
| Không có chất bảo quản (TN) | $12,00^{b} \pm 0,45$ | $11,30^{b} \pm 0,30$ | $11,20^{b} \pm 0,53$ |
| Gentamicin (50 ppm) | $21,50^{a} \pm 0,76$ | $22,00^{a} \pm 0,74$ | $21,00^{a} \pm 0,70$ |

*Ghi chú: các chữ số trong cùng một cột không mang những chữ cái giống nhau thì khác nhau về mặt thống kê (P <0,05).*

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, đường kính vòng vô khuẩn của kháng sinh Gentamicin (50ppm) đạt cao nhất, dao động từ 21,5 đến 22 mm đối với cả 3 chủng vi khuẩn. Không có sự sai khác (P>0,05) về đường kính vòng vô khuẩn giữa các mẫu bổ sung và không bổ sung chất bảo quản. Điều này cho thấy, cao chiết thảo dược pha loãng bằng dung môi nước với tỷ lệ 1:1 có chất bảo quản và không có chất bảo quản không khác nhau về hoạt tính kháng khuẩn. Sự bổ sung chất bảo quản không làm ảnh hưởng đến hoạt tính kháng khuẩn của thảo dược.

### *3.4. Ảnh hưởng của cao chiết thảo dược đến khu hệ vi sinh vật đường ruột*

Kết quả đánh giá khả năng kháng khuẩn của thảo dược trên đường hồi tràng của chuột thể hiện trong bảng 4.

**Bảng 4. Ảnh hưởng của cao chiết thảo dược lên khu hệ vi sinh vật hồi tràng chuột**

| Lô thí nghiệm | Tổng số VK hiếu khí ($10^6$ CFU) | *Coliform* ($10^6$ CFU) | *E. coli* ($10^6$ CFU) | *Salmonella* ($10^4$ CFU) |
|---|---|---|---|---|
| ĐC | $108,0^{a} \pm 6,5$ | $54,6^{a} \pm 6,7$ | $40,0^{a} \pm 6,1$ | $27,4^{a} \pm 4,9$ |
| KS | $17,0^{f} \pm 2,9$ | $26,0^{c} \pm 0,7$ | $15,6^{d} \pm 0,6$ | $15,8^{c} \pm 1,9$ |
| TN1 | $40,0^{c} \pm 1,9$ | $16,0^{d} \pm 3,1$ | $14,0^{d} \pm 7,1$ | $16,7^{c} \pm 5,1$ |
| TN2 | $54,0^{d} \pm 7,7$ | $19,4^{d} \pm 1,9$ | $17,3^{d} \pm 0,3$ | $18,6^{bc} \pm 1,9$ |
| TN3 | $68,0^{c} \pm 8,4$ | $31,0^{bc} \pm 7,8$ | $25,0^{c} \pm 2,3$ | $21,5^{b} \pm 2,7$ |
| TN4 | $83,6^{b} \pm 4,0$ | $39,4^{b} \pm 5,9$ | $32,8^{b} \pm 2,3$ | $25,8^{ab} \pm 0,3$ |

*Ghi chú: ĐC: bổ sung nước lọc RO; KS: bổ sung kháng sinh với liều 10mg/con/ngày: $TN_1$: bổ sung 100 mg/con/ngày cao chiết thảo dược; $TN_2$: bổ sung 70 mg/con/ngày cao chiết thảo dược; $TN_3$: bổ sung 50 mg/con/ngày cao chiết thảo dược; $TN_4$: bổ sung 35 mg/con/ngày cao chiết thảo dược.*

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, cao chiết thảo dược có tác dụng làm giảm số lượng vi khuẩn trong hồi tràng chuột. Bổ sung ở nồng độ 100 mg/con/ngày có tác dụng giảm rõ rệt số lượng tổng vi khuẩn hiếu khí, *Coliform*, *E. coli* và *Salmonella* so với lô ĐC. Mặc dù số lượng vi khuẩn hiếu khí ở lô $TN_1$ vẫn cao hơn lô bổ sung kháng sinh nhưng lô $TN_1$ lại có số lượng vi khuẩn *Coliform* thấp hơn lô KS (P<0,05). Không có sự sai khác về số lượng hai chủng vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* giữa lô $TN_1$ và lô KS có bổ sung kháng sinh (P>0,05). Điều này cho thấy, bổ sung cao chiết thảo dược có tác dụng kháng khuẩn tương đương với kháng sinh trong hồi tràng chuột thí nghiệm. Ở lô bổ sung nồng độ 70 mg/con/ngày ($TN_2$) cho

kết quả kháng khuẩn với *Coliform*, *E. coli* và *Salmonella* tương đương với lô $TN_1$ (P>0,05). Ở các nồng độ bổ sung thấp hơn, hiệu quả kháng khuẩn thấp hơn rõ rệt và đạt thấp nhất ở lô $TN_4$.

Tiếp tục đánh giá khả năng kháng khuẩn của thảo dược bổ sung trên khu hệ vi sinh vật manh tràng chuột. Kết quả thể hiện trong bảng 5.

**Bảng 5. Ảnh hưởng của cao chiết thảo dược lên khu hệ vi sinh vật manh tràng chuột thí nghiệm**

| Lô thí nghiệm | Tổng số VK hiếu khí ($10^6$ CFU) | *Coliform* ($10^6$ CFU) | *E. coli* ($10^6$ CFU) | *Salmonella* ($10^4$ CFU) |
|---|---|---|---|---|
| ĐC | $476,0^{a} \pm 2,0$ | $53,0^{a} \pm 1,2$ | $38,7^{a} \pm 4,3$ | $66,0^{a} \pm 1,3$ |
| KS | $400,0^{a} \pm 1,1$ | $50,0^{a} \pm 9,8$ | $15,4^{d} \pm 0,2$ | $42,0^{b} \pm 4,1$ |
| TN1 | $147,0^{d} \pm 6,2$ | $30,0^{c} \pm 1,1$ | $20,6^{c} \pm 5,5$ | $15,6^{d} \pm 3,0$ |
| TN2 | $180,0^{d} \pm 1,4$ | $37,8^{c} \pm 8,0$ | $28,3^{bc} \pm 3,0$ | $14,6^{d} \pm 1,2$ |
| TN3 | $224,0^{c} \pm 0,2$ | $46,0^{b} \pm 1,4$ | $31,3^{b} \pm 3,5$ | $22,6^{c} \pm 0,5$ |
| TN4 | $310,0^{b} \pm 0,1$ | $56,0^{a} \pm 2,5$ | $38,5^{a} \pm 4,4$ | $25,8^{c} \pm 1,2$ |

*Ghi chú: ĐC: bổ sung nước lọc RO; KS: bổ sung kháng sinh với liều 10mg/con/ngày: $TN_1$: bổ sung 100 mg/con/ngày cao chiết thảo dược; $TN_2$: bổ sung 70 mg/con/ngày cao chiết thảo dược; $TN_3$: bổ sung 50 mg/con/ngày cao chiết thảo dược; $TN_4$: bổ sung 35 mg/con/ngày cao chiết thảo dược.*

Kết quả ở bảng 5 cho thấy, lô KS có bổ sung kháng sinh nhưng có số lượng vi khuẩn tương đương với lô ĐC không bổ sung kháng sinh hay thảo dược (P>0,05). Điều này chứng tỏ, kháng sinh không còn có tác dụng kháng khuẩn ở manh tràng đường tiêu hoá. Các lô thí nghiệm có bổ sung thảo dược có số lượng vi khuẩn giảm rõ rệt so với hai lô ĐC và KS (P<0,05). Đặc biệt, lô $TN_1$ và $TN_2$ cho kết quả số lượng vi khuẩn thấp nhất. Ở các lô còn lại do bổ sung ở nồng độ thấp hơn nên có số lượng vi khuẩn tăng lên, tuy vậy, số lượng vi khuẩn vẫn thấp hơn hai lô ĐC và KS. Điều này cho thấy, thảo dược không chỉ có tác dụng kháng khuẩn trên hồi tràng mà trên cả manh tràng. Đây là lợi ích vượt trội hơn so với việc bổ sung kháng sinh.

## 4. Kết luận và đề nghị

### *4.1. Kết luận*

- Cao chiết thảo dược pha loãng ở tỷ lệ 1:1 (khối lượng cao chiết : khối lượng nước) cho kết quả hoạt tính kháng khuẩn với vi khuẩn *E. coli*, *Salmonella* và *Staphylococcus* cao nhất.

- Pha loãng cao chiết thảo dược bằng dung môi nước cho hiệu quả hoạt tính kháng khuẩn cao, dễ sử dụng, dễ dàng hoà tan hoàn toàn cao chiết.

- Bổ sung chất bảo quản không làm ảnh hưởng đến hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết thảo dược pha loãng.

- Bổ sung thảo dược ở nồng độ 70-100 mg/con/ngày có tác dụng giảm số lượng tổng vi khuẩn hiếu khí, *Coliform*, *E. coli* và *Salmonella*.

- Thảo dược có tác dụng kháng khuẩn trên cả hồi tràng và manh tràng chuột thí nghiệm.

### *4.2. Đề nghị*

- Tiếp tục đánh giá hiệu quả của việc bổ sung cao chiết hỗn hợp thảo dược trên động vật nuôi.

- Đánh giá hiệu quả của việc bổ sung chất bảo quản đến thời gian và khả năng kháng khuẩn của dung dịch pha loãng cao chiết thảo dược bảo quản.

## Tài liệu tham khảo

[1] Dương Thị Toan & Nguyễn Văn Lưu (2015). Tình hình sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi lợn thịt, gà thịt ở một số trại chăn nuôi trên địa bàn tỉnh Bắc Giang. Tạp chí Khoa học và Phát triển, 13(5), 717 - 722.

[2] Brenes A. & Roura E. (2010). Essentialoils in poultry nutrition. Main effects and modes of action. AnimalFeed Science Technology, 158, 1-14.

[3] Lã Văn Kính, Phan Văn Kiệm, Trần Công Luận, Nguyễn Thị Thu Hương, Dương Bích Ngọc, Nguyễn Thị Lệ Hằng & Lã Thị Thanh Huyền (2015). Nghiên cứu bào chế chế phẩm thảo dược dùng để thay thế kháng sinh trong thức ăn nhằm kích thích sinh trưởng và phòng bệnh tiêu chảy cho lợn và gà. Kỷ yếu hội thảo MARD.

[4] Nguyễn Thị Quyên, Trần Anh Tuyên, Nguyễn Tài Năng, Bùi Thị Hoàng Yến, Đỗ Thị Phương Thảo & Nguyễn Thị Hà Phương (2018). Sử dụng hỗn hợp thảo dược trong chăn nuôi lợn thịt, Tạp chí Khoa học kỹ thuật Chăn nuôi, 237 (10/2018), 32-38.

[5] Nguyễn Tài Năng (2013). Phương pháp đánh giá khả năng kháng khuẩn của dịch chiết thảo dược. Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Trường Đại học Hùng Vương, 3(28), 55-58.

## EFFECTS OF DILUTION, SOLVEN AND PRESERVATIVES ON ANTIBACTERIAL ABILITY OF HERBAL EXTRACTS INCLUDING

**Dang Hoang Lam[1], Dang Thi Hong Phuong[2], Tran Thi Hanh[2], Han Thi Hai Yen[2], Bui Thi Hoang Yen[1], Nguyen Thi Ha Phuong[1], Nguyen Tai Nang[3]**

*[1]Institute of Applied research and Development, Hung Vuong University, Phu Tho*
*[2]K14 Veterinary Medicine class, Faculty of Agro-forestry and Aquaculture, Hung Vuong University, Phu Tho*
*[3]Department of Science and Technology, Hung Vuong University, Phu Tho*

## Abstract

This study was conducted to evaluate the effects of dilution, solvent and preservatives on the antibacterial ability of herbal extracts including *Apinia officinarum* Hance, *Euphorbia thymifolia* Burm, *Belamcanda chinensis*. Highly concentrated herbal extracts are diluted at different ratios, using different dilutions and preservatives then, the *in vitro* antibacterial activity against *E. coli*, *Salmonella* and *Staphylococcus* was evaluated. The effects of herbal extracts supplementation on the bacterial flora in the digestive tract of rats was tested. The results showed that, at the herbal dilution ratio of 1: 1, the diameter of antibacterial circle was largest (from 14 to 17 mm). Water was suitable for diluting extrac herbal. Adding preservatives (Nipazin and Nipazone) does not affect the antibacterial ability of herbal extracts. At all levels of herbal supplements, the number of bacteria in the ileum and cecum of mice was significantly reduced compared to that of mice without herbal supplements. In particularly, the number of bacteria in the cecum of mice with herbal supplementation was significant lower than that of mice with antibiotic supplementation.

**Keywords:** *Herbal, antibacterial, dilutions, preservatives.*