

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG KHÁNG KHUẨN CỦA DỊCH CHIẾT HẠT *Moringa oleifera* Lam. ĐỐI VỚI MỘT SỐ VI KHUẨN TRONG NƯỚC THẢI CHUỒNG NUÔI LỢN

Đặng Thúy Nhung¹, Huỳnh Thị Mỹ Lệ²

¹ Khoa Chăn nuôi và Nuôi trồng Thủy sản, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội,

² Khoa Thú y, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội

Email*: nhungthuydang@yahoo.ca/nhungthuydang@gmail.com

Ngày gửi bài: 30.06.2012

Ngày chấp nhận: 28.08.2012

TÓM TẮT

Moringa oleifera Lam. là một loại cây có giá trị dinh dưỡng cao đối với người và vật nuôi. Một vài nghiên cứu còn cho thấy chất chiết của hạt của cây này có khả năng kháng khuẩn. Các thử nghiệm nhằm đánh giá khả năng kháng khuẩn của dịch chiết từ hạt *Moringa oleifera* đối với *E.coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, vi khuẩn hiếu khí và các mẫu nước thải trực tiếp, mẫu nước thải sau hầm biogas của các trại lợn đã được thực hiện. Sử dụng dịch chiết của hạt nồng độ 20% và 40% cho tác động tới vi khuẩn trong phòng thí nghiệm và nước thải chăn nuôi. Các kết quả cho thấy dịch chiết hạt *Moringa oleifera* có khả năng ức chế mạnh đối với sinh trưởng của vi khuẩn gram dương *Staphylococcus*, làm giảm số lượng vi khuẩn hiếu khí, diệt được vi khuẩn hiếu khí và yếm khí trong nước thải trực tiếp từ chuồng lợn, diệt được vi khuẩn hiếu khí từ nước sau hầm biogas của trại chăn nuôi lợn.

Từ khóa: Kháng khuẩn, hạt *Moringa oleifera*, nước thải chăn nuôi lợn, xử lý nước.

Evaluate the Antibacterial Activity of *Moringa oleifera* Lam. Seed Extract for Some Bacteria in Wastewater from Pig Farm

ABSTRACT

Moringa oleifera Lam. is a plant with high nutritional value for humans and livestock. Several studies also showed that the extract of the seeds is antibacterial. The experiments were executed to evaluate the antibacterial activity of *Moringa oleifera* seed extracts against *E.coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, aerobic bacteria and direct wastewater samples, wastewater samples from biogas of pig farms. The results showed that *Moringa oleifera* seed extract has strong inhibitory effect on growth of gram-positive *Staphylococcus*, reduces the number of aerobic bacteria, kills bacteria in aerobic and anaerobic of direct wastewater, and kills aerobic bacteria from the wastewater discharged from biogas.

Keywords: Antibacterial, *Moringa oleifera* seeds, pig farm wastewater, water treatment.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ô nhiễm vi khuẩn từ nước thải chuồng nuôi ở các nông hộ và trang trại luôn là vấn đề được nhiều nhà chăn nuôi quan tâm (Trịnh Quang Tuyên và cs., 2010; Vu Dinh Ton và Nguyen Van Duy, 2010). Hiện nay, ở Việt Nam biện pháp xử lý nước thải chăn nuôi được sử dụng rộng rãi là xây hầm biogas. Tuy nhiên, một vài nghiên cứu gần đây đã thông báo rằng nước từ hệ thống biogas vẫn chứa nhiều vi khuẩn, ấu trùng giun sán và các kim loại nặng (Nguyễn

Văn Thọ, 2003; Vũ Đình Tôn và cs., 2008; Vu Dinh Ton và Nguyen Van Duy, 2010).

Trong những năm gần đây, nhiều nhà nghiên cứu đã chứng minh rằng trong thân, lá, quả một số loài thực vật chứa những chất có khả năng ức chế hoặc kháng khuẩn được gọi chung là phytonxit - kháng sinh thực vật (Portz và cs., 2008; Mabrouk và cs., 2011). Kháng sinh thực vật có thể ức chế hoặc kháng nhiều vi sinh vật như: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Salmonella*, *E.coli*, *Shigella*, vi khuẩn thối rữa... Cây *Moringa*

Đánh giá khả năng kháng khuẩn của dịch chiết hạt *Moringa oleifera* Lam. đối với một số vi khuẩn trong nước thải chuồng nuôi lợn

oleifera hay còn được gọi là cây Chùm ngây, Độ sinh (Tree of Life), Thần diệu (Mirecla Tree) là một loại cây có giá trị dinh dưỡng cao đối với người và vật nuôi. Hạt *Moringa oleifera* đã được chứng minh là có khả năng lọc và làm lắng vi khuẩn ở nước bẩn thành nước sạch dùng cho sinh hoạt ở Châu Phi. Một số nghiên cứu khác cho thấy chất chiết của hạt *Moringa oleifera* còn có khả năng kháng khuẩn (Kim, 2012).

Ở nước ta, cây *Moringa oleifera* được trồng nhiều ở các tỉnh miền Trung và miền Nam. Cây *Moringa oleifera* có nguồn gốc từ Châu Phi được gieo trồng tại trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội và hiện nay đã được nhân giống ở một số nông hộ quanh khu vực quanh Hà Nội. Tuy nhiên, hiểu biết và ứng dụng các ưu điểm của cây *Moringa oleifera* là vấn đề cần thiết và đang được đặt ra. Để biết được khả năng kháng khuẩn của hạt *Moringa oleifera* chúng tôi đã tiến hành thử nghiệm loài hạt này đối với một số vi khuẩn trong nước thải chuồng nuôi và biogas.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu là dịch chiết của hạt *Moringa oleifera*, nước thải trực tiếp của chuồng nuôi và sau hầm biogas. Nước thải chuồng nuôi và nước sau hầm biogas được lấy từ trại lợn Quang Trung, khoa Chăn nuôi - Nuôi trồng Thủy sản, trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội. Ngoài ra, nước sau hầm biogas còn được lấy từ hai trại lợn ở Văn Giang, Hưng Yên.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Chuẩn bị chất chiết hạt *Moringa oleifera*: 30 gam bột hạt *Moringa oleifera* được cho vào 150ml nước cất và khuấy từ tối 60 phút. Dung dịch chiết *Moringa oleifera* 20% thu được qua giấy lọc (đã sấy ở nhiệt độ 150°C trong thời gian 60 phút) sau đó được thử tính kháng khuẩn theo thể tích 50, 100, 150 và 200 μ L theo phương pháp Kirby Bauer. Làm tương tự với dung dịch chiết *Moringa oleifera* 40%.

Mẫu: nước thải trực tiếp từ chuồng nuôi lợn và sau hầm biogas trại lợn. Các dung dịch chiết

này dùng để xác định khả năng kháng khuẩn của nước chiết hạt *Moringa oleifera* đối với vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí.

* **Đánh giá ảnh hưởng của chất chiết đến vi khuẩn**

Thí nghiệm 1: Sử dụng các chủng chuẩn vi khuẩn *E.coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*. Tiến hành thử khả năng kháng khuẩn của chất chiết hạt theo phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch Kirby Bauer. Sử dụng 2 nồng độ hạt chiết 20% và 40%, đối chứng không sử dụng hạt chiết. Nồng độ chất chiết tạo ra vòng vô khuẩn ức chế sự sinh trưởng của vi khuẩn lớn hơn 13mm được coi là mẫn cảm (Albuquerque và cs., 2007; Al-Bayati và Al-Mola, 2008; Vieira và cs., 2010).

Thí nghiệm 2: Canh trùng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* nuôi cấy 24 giờ trong môi trường Nutrient Broth, pha loãng thành nồng độ 10⁻⁶, trộn với dịch chiết hạt 20 và 40%, tiến hành nuôi cấy vi khuẩn trên các môi trường (Quinn và cs., 1999). Đối chứng không sử dụng chất chiết.

Thí nghiệm 3: Đánh giá ảnh hưởng của chất chiết đến vi khuẩn trong nước thải và nước biogas theo phương pháp được mô tả bởi Quinn và cs. (1999): tiến hành trộn chất chiết ở nồng độ 20% và 40% với mẫu nước thải. Pha loãng hỗn dịch trên theo cơ số 10. Vi khuẩn được nuôi cấy trên môi trường thạch thường, thạch Macconkey và thạch yếm khí TSC (Tryptose Sulphite Cycloserine agar) (hãng Merck), trong tủ ấm 37°C từ 24- 48 giờ. Mẫu đối chứng không sử dụng chất chiết.

Phương pháp lấy mẫu nước thải chuồng nuôi và sau hầm biogas được thực hiện theo mô tả của Lê Văn Khoa và cs. (2000). Thí nghiệm được tiến hành tại phòng thí nghiệm Bộ môn Dinh dưỡng - Thức ăn, Khoa Chăn nuôi - Nuôi trồng Thủy sản và Bộ môn Vi sinh vật - Truyền nhiễm, Khoa Thú y, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội.

Phương pháp xử lý số liệu: sử dụng phần mềm MS Excel 2003; so sánh sự sai khác giữa các yếu tố bằng phép thử χ^2 (phần mềm Minitab 14.0).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thử tính kháng khuẩn của dịch chiết *Moringa oleifera*

Dung dịch chiết *Moringa oleifera* 20% có khả năng ức chế hiệu quả sự sinh trưởng của vi khuẩn hiếu khí *Staphylococcus* (vòng vô khuẩn >13mm) (Bảng 1). Đặc biệt, dung dịch chiết có khả năng ức chế *Staphylococcus* ở tất cả các thể tích thử. Ngược lại, dung dịch chiết không có khả năng ức chế vi khuẩn hiếu khí *Escherichia coli* (*E.coli*) và *Salmonella* ở tất cả các thể tích thử. Vòng kháng khuẩn lớn nhất (37mm) đạt được tại thể tích 200 μ L/đĩa.

Dung dịch chiết 40% có khả năng kháng mạnh với vi khuẩn *Staphylococcus* tại thể tích thấp. Vòng kháng khuẩn lớn nhất (42mm) đạt được tại 100 μ L/đĩa. Các thí nghiệm thử khả năng kháng khuẩn đều cho thấy khi thể tích thử tăng hơn 100 μ L/đĩa, vòng kháng khuẩn không tăng thêm.

Như vậy, kết quả này tương tự như thông báo của Vieira và cs. (2010) trên *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *E.coli* (từ cá biển, sông và hồ) và *Salmonella enteritidis*.

Ngược lại, nghiên cứu của Madsen và cs. (1987) chứng minh rằng dung dịch chiết *Moringa* có khả năng ức chế vi khuẩn *Salmonella typhimurium* trong nước đục tại nhiệt độ 30°C. Sự khác nhau này có thể do điều kiện thí nghiệm và chủng vi khuẩn khác nhau.

Tóm lại, dung dịch chiết hạt *Moringa oleifera* 20 và 40% đều có khả năng kháng vi khuẩn *Staphylococcus* và kháng mạnh nhất là nồng độ *Moringa oleifera* 40%



Hình 1. Tác dụng kháng khuẩn của dịch chiết *Moringa oleifera* 20% với *Staphylococcus*

Bảng 1. Tác dụng kháng khuẩn của dung dịch chiết *Moringa oleifera*

Dung dịch	Thể tích μ L/đĩa	Đường kính ức chế (mm)		
		<i>E.coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Staphylococcus</i>
<i>Moringa oleifera</i> 20%	50	-	-	30,5
	100	-	-	35,5
	150	-	-	37
	Đối chứng (ĐC)	-	-	-
<i>Moringa oleifera</i> 40%	50	-	-	35
	100	-	-	42
	ĐC	-	-	-

3.2. Khả năng kháng khuẩn của dung dịch chiết *Moringa oleifera* với vi khuẩn hiếu khí

Để xác định khả năng kháng *Staphylococcus* của dịch chiết hạt *Moringa oleifera*, dịch chiết các nồng độ khác nhau được trộn với canh trùng vi khuẩn *Staphylococcus aureus*. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Khả năng kháng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* của dịch chiết *Moringa oleifera*

Nồng độ dịch chiết (%)	Số lượng vi khuẩn hiếu khí (CFU/ml)
20	$9,06 \times 10^5$
40	$8,11 \times 10^5$
ĐC	$10,20 \times 10^6$

Đánh giá khả năng kháng khuẩn của dịch chiết hạt *Moringa oleifera* Lam. đối với một số vi khuẩn trong nước thải chuồng nuôi lợn

Kết quả nêu trong bảng trên cho thấy số lượng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* ở cả hai nồng độ *Moringa oleifera* 20 và 40% đã giảm rõ rệt so với đối chứng ($P < 0,05$).

3.3. Thử nghiệm dịch chiết hạt *Moringa oleifera* trong xử lý nước thải chuồng nuôi và nước sau hầm biogas

Kết quả thử tác dụng diệt khuẩn của *Moringa oleifera* vào dịch chiết trong nước thải chuồng nuôi lợn trại Quang Trung và nước sau hầm biogas tại trại lợn Quang Trung và Hưng Yên đã cho thấy: sau 24 giờ nuôi cấy, số lượng vi khuẩn hiếu khí ở các mẫu M1, M2, M3 và M4 tại các nồng độ dung dịch chiết 20 và 40% đều giảm so với đối chứng (Bảng 3). Số lượng vi khuẩn hiếu khí giảm nhiều nhất là trại 1-HY (250 lần) và thấp nhất là trại 2-HY (6,67 lần) so với đối chứng. Đối với nước thải chuồng nuôi, dung dịch chiết *Moringa oleifera* cũng làm giảm đáng kể số lượng vi khuẩn hiếu khí, cụ thể nồng độ dung dịch chiết 20% và 40% giảm 100 và 200 lần so với đối chứng.

Dung dịch chiết *Moringa oleifera* có tác dụng kháng khuẩn tốt với vi khuẩn hiếu khí và yếm khí trong nước thải chuồng nuôi. Số lượng vi khuẩn yếm khí của M4 trong dung

dịch chiết 20 và 40% đã giảm 6,67 và 7,46 lần so với đối chứng. Tuy nhiên, thí nghiệm thử tác dụng kháng vi khuẩn yếm khí trong các mẫu nước sau hầm biogas của dịch chiết tại hai nồng độ thì kết quả chưa có sự sai khác vì có thể nước thải sau hầm biogas đã diệt vi khuẩn yếm khí.

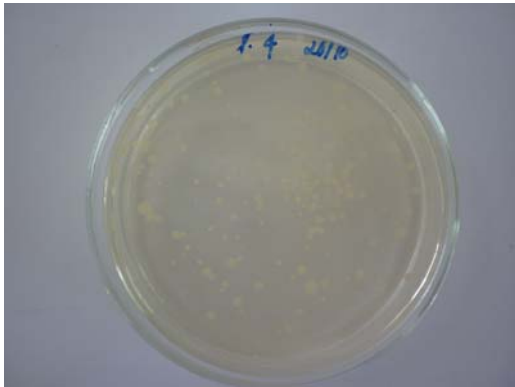
Tác dụng diệt khuẩn của hạt *Moringa oleifera* là do chứa các hợp chất pterygospermin, moringine, glycosides 4-(α -L-rhamnosyloxy)-benzylisothiocyanate và 4-(α -L-rhamnosyloxy)-phenylacetoneitrile. Các chất này có khả năng ức chế *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium phlei*, *Serratia marcescens*, *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella* và *Streptococcus* (Jahn và cs., 1986). Ngoài ra, chiết xuất hạt *Moringa oleifera* có hoạt tính diệt khuẩn đối với *Staphylococcus pyogenus* và *Pseudomonas aerogenosa* (Suarez và cs., 2005). Harvey (2005) cũng báo cáo rằng pterygospermin, một hợp chất diệt khuẩn và diệt nấm có trong chiết xuất dung dịch nước từ hạt *Moringa oleifera* có hiệu quả diệt khuẩn cao đối với *Staphylococcus aureus* như neomycin. Những vi khuẩn trên đều là các vi khuẩn hiếu khí có rất nhiều trong môi trường và nước thải chuồng nuôi.

Bảng 3. Tác dụng của dịch chiết *Moringa oleifera* đến vi khuẩn trong nước thải chuồng nuôi và sau hầm biogas

Ký hiệu	Địa điểm	Loại mẫu	Nồng độ chất chiết (%)	Số lượng vi khuẩn	
				Hiếu khí	Yếm khí
M1	Trại 1-HY	Biogas	20	27x10 ⁴	-
			40	16x10 ⁴	-
			ĐC	40x10 ⁶	-
M2	Trại 2-HY	Biogas	20	15x10 ⁴	-
			40	2x10 ⁴	-
			ĐC	1x10 ⁶	-
M3	QT	Biogas	20	55x10 ⁴	-
			40	46x10 ⁴	-
			ĐC	78x10 ⁶	-
M4	QT	Nước thải chuồng nuôi	20	4 x10 ⁴	75x10 ⁴
			40	2x10 ⁴	67x10 ⁴
			ĐC	4 x10 ⁶	5x10 ⁶

Chú thích: M: mẫu, QT: Quang Trung, HY: Hưng Yên, (-): âm tính

Tóm lại, dung dịch chiết hạt *Moringa oleifera* có tác dụng kháng khuẩn tốt với vi khuẩn hiếu khí và yếm khí trong nước thải chuồng nuôi và vi khuẩn hiếu khí trong nước sau hầm biogas có ý nghĩa quan trọng trong việc xử lý nước thải chuồng nuôi và làm sạch nước sau hầm biogas.



Hình 2. Vi khuẩn hiếu khí QT-biogas (dung dịch chiết *Moringa oleifera* 20%) trên môi trường thạch thường

4. KẾT LUẬN

- Dung dịch chiết hạt *Moringa oleifera* 20 và 40% đều có khả năng kháng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* và kháng mạnh nhất là nồng độ *Moringa oleifera* 40%.

- Chất chiết hạt *Moringa oleifera* có tác dụng kháng khuẩn tốt với vi khuẩn hiếu khí và yếm khí trong nước thải chuồng nuôi và vi khuẩn hiếu khí trong nước sau hầm biogas.

- Phương pháp xử lý nước thải bằng hạt *Moringa oleifera* bước đầu cho kết quả khả quan về khả năng diệt vi khuẩn hiếu khí và yếm khí trong nước thải chuồng nuôi và vi khuẩn hiếu khí trong nước hầm sau biogas. Phương pháp này dễ áp dụng và nâng cao được chất lượng nước thải từ chuồng nuôi và sau hầm biogas trong chăn nuôi nông hộ và trang trại. Tuy nhiên, nó chưa có hiệu quả rõ rệt đối với vi khuẩn yếm khí trong nước sau hầm biogas.

LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn dự án Việt - Bỉ trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội đã

hỗ trợ kinh phí cho nghiên cứu này. Ngoài ra, chúng tôi cũng cảm ơn nhóm sinh viên Lê Quang Huy-TY51C, Đinh Thị Yên-TY51C, Đào Thị Ánh Tuyết-CNTY53A và Đỗ Trọng Hiệp-CNTY53A đã tham gia một phần trong đề tài.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Al-Bayati F.A., H.F. Al-Mola (2008). Antibacterial and antifungal activities of different parts of *Tribulus terrestris* L. growing in Iraq. *J Zhejiang Univ Sci B.*, Vol. 9, pp. 154-9.
- Albuquerque W.F., A. Macrae, O.V. Sousa, G.H.F. Vieira, R.H.S.F. Vieira (2007). Multiple drug resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from a fish market and from fish handlers. *Braz J Microbiol.*, Vol. 38, pp. 131-4.
- Harvey M. (2005). *Moringa* leaf powder-The world's greatest unknown supplement, pp. 23-34.
- Jahn S.A., H.A. Musnad, H. Burgstaller (1986). The tree that purifies water: cultivating multipurpose *Moringaceae* in the Sudan. *Unasyuva*, Vol. 38, pp. 23-8.
- Kim T.K. (2012). Edible medicinal and non medicinal plants, Volume 3: Fruits. Springer, pp. 453-485
- Lê Văn Khoa, Nguyễn Xuân Cự, Bùi Thị Ngọc Dung, Lê Đức, Trần Khắc Hiệp, Cái Văn Tranh (2000). Phương pháp phân tích đất, nước, phân bón, cây trồng. NXB Giáo dục, trang 197-214.
- Mabrouk H.A., E.M.H. Labib and M.A. Zaki (2011). Response of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings to different replacement levels of fish meal with soybean meal using Garlic and Onion, <http://en.engormix.com/MA-aquaculture/articles/garlic-onion-on-growth-of-tilapia-t2108/p0.htm>
- Madsen M., J. Schlundt, E.F. Omer (1987). Effect of water coagulation by seeds of *Moringa oleifera* on bacterial concentrations. *J Trop Med Hyg.*, Vol. 90, pp. 101-9.
- Nguyễn Văn Thọ (2003). Sự phân tán và khả năng phát triển của một số trứng giun, sán lợn qua hệ thống Biogas. *Khoa học Kỹ thuật Thú y*, số 3, trang 22-27.
- Portz D., E. Koch, and A.J. Slusarenko (2008). Effects of garlic (*Allium sativum*) juice containing allicin on *Phytophthora infestans* and downy mildew of cucumber caused by *Pseudoperonospora cubensis*. *Eur J Plant Pathol*, Vol. 122, pp. 197-206.
- Quinn P.J., M.E. Carter, B. Markey, G.R. Carter (1999), *Clinical veterinary microbiology*, Elsevier Limited.
- Suarez M., M. Haenni, S. Canarelli, F. Fish, P. Chodanowski, O. Michielin, R. Freitag, P.

Đánh giá khả năng kháng khuẩn của dịch chiết hạt *Moringa oleifera* Lam. đối với một số vi khuẩn trong nước thải chuồng nuôi lợn

- Moreillon and N. Mermoud (2005). Structure-function characterization and optimization of a plant-derived antibacterial peptide. *Antimicrob Agents Chemother.*, Vol. 49, No 9, pp. 3847-57.
- Trịnh Quang Tuyên, Nguyễn Quế Côi, Nguyễn Thị Bình, Nguyễn Tiến Thông và Đàm Tuấn Tú (2010). Thực trạng ô nhiễm môi trường và xử lý chất thải trong chăn nuôi lợn trang trại tập trung. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Chăn nuôi*, số 23, trang 55-62.
- Vieira Gustavo Hitzschky Fernandes, Jozeanne Alves Mourão, Ângelo Ângela Maria, Costa Renata Albuquerque and Vieira Regine Helena Silva dos Fernandes (2010). Antibacterial effect (*in vitro*) of *Moringa oleifera* and *Annona muricata* against Gram positive and Gram negative bacteria. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, Vol. 52, No 3, pp.129-132.
- Vu Dinh Ton and Nguyen Van Duy (2010). Studying on Pig Manure Treatment to Minimize Environmental Pollution and Use Bioenergy *International Journal of Environmental and Rural Development*, Vol. 1, pp.73-77.
- Vũ Đình Tôn, Lại Thị Cúc, Nguyễn Văn Duy, Đặng Vũ Bình (2008). Chất lượng nước dùng trong trang trại chăn nuôi lợn vùng đồng bằng Sông Hồng. *Tạp chí Khoa học và Phát triển -Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội*, tập 6, số 3, trang 279-283.