



TÁCH CHIẾT HOẠT CHẤT SINH HỌC TỪ CÂY CỎ SỮA LÁ NHỎ (*EUPHORBIA THYMIFOLIA* BURM. (L.)) VÀ ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG KHÁNG KHUẨN ĐỐI VỚI VI KHUẨN *E. COLI* VÀ *SALMONELLA* SP. GÂY TIÊU CHẢY TRÊN LỢN CON TẠI TỈNH THỪA THIÊN HUẾ

Phan Văn Cự^{1*}, Nguyễn Quang Linh^{1,2}, Huỳnh Thị Ngọc Nữ³,
Huỳnh Thị Thanh Hoa³

¹Trung tâm Ươm tạo và Chuyển giao công nghệ, Viện công nghệ sinh học, Đại học Huế, Tinh Lộ 10,
Phú Vang, Thừa Thiên Huế, Việt Nam

²Cơ quan Đại học Huế, 03 Lê Lợi, Huế, Việt Nam

³Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế, 102 Phùng Hưng, Huế, Việt Nam

Tóm tắt: Cây Cỏ sữa lá nhỏ có tên khoa học là *Euphorbia thymifolia* Burm. (L.), thuộc họ Thầu dầu (Euphorbiaceae), là thực vật có khả năng sản sinh chất kháng sinh để trị bệnh đường ruột và ngoài da. Bài báo trình bày kết quả tách chiết hoạt chất chính theo phương pháp đun hồi lưu, hoạt chất chính là flavonoid, polyphenol và tanin được tách chiết và phân tích định tính. Trong đó, cao chiết butanol cho hiệu suất hoạt chất lớn nhất (lá: 5,03%; thân: 1,4%) nên đây là cao chiết quan trọng để khảo sát hoạt tính kháng khuẩn. Đã xác định được nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của 2 loài vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* sp. là 10^3 ppm và nồng độ tiêu diệt tối thiểu (MBC) là 10^4 ppm từ cao butanol của cây Cỏ sữa lá nhỏ *in vitro*. Để điều chế chế phẩm sinh học từ cây Cỏ sữa lá nhỏ với lượng lớn chúng tôi đã tách chiết theo phương pháp công nghiệp và đông y và cho hiệu suất cao chế phẩm trung bình lần lượt là 36,48% và 10,9%. Cao chế phẩm theo phương pháp công nghiệp chứa hoạt chất polyphenol (2,78 mg đương lượng acid gallic) lớn hơn 3,02 lần so với mẫu thử đông y (0,92 mg đương lượng acid gallic) trên một gam mẫu nguyên liệu khô.

Từ khóa: *Euphorbia thymifolia*, polyphenol, tách chiết

1 Đặt vấn đề

Theo Đỗ Tất Lợi, Cỏ sữa lá nhỏ (CSLN) có tên khoa học là *Euphorbia thymifolia* Burm. (L.), thuộc họ Thầu dầu (Euphorbiaceae), thường được dùng toàn cây làm thuốc. Cây mọc lan trên mặt đất, thân cành có màu tím đỏ. Lá mọc đối hình bầu dục hoặc thon dài, dài nhất khoảng 7 mm, lá hơi khía tai bèo. Dung dịch cỏ sữa đưa vào ruột sẽ ức chế sự sinh sản của các loại vi khuẩn ly (Sonner, Shigella, Flexneri...).

* Liên hệ: phanvanqu1520@gmail.com

Nhận bài: 15-05-2018; Hoàn thành phản biện: 26-10-2018; Ngày nhận đăng: 30-10-2018

Được liệu từ cây CSLN được tách chiết theo phương pháp đun hồi lưu cách thủy, định tính, định lượng cao chiết [1], sau đó khảo sát hoạt tính kháng khuẩn. Nghiên cứu nhằm phát huy việc sử dụng hiệu quả cây CSLN để phòng trị bệnh tiêu chảy do các loài vi khuẩn gây ra ở lợn con trong chăn nuôi nông hộ [4].

2 Nội dung và phương pháp

2.1 Đối tượng và nội dung

Nguyên liệu được thu lấy phần thân và lá tại 2 địa điểm: phường Hương Chũ, thị xã Hương Trà và xã Quảng Thọ, huyện Quảng Điền, tỉnh Thừa Thiên Huế vào tháng 9 năm 2016 và 2017.

Vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* sp. được phân lập từ các mẫu phân lợn mắc bệnh tiêu chảy.

Tách chiết các cao, định tính và định lượng hoạt chất. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết n-butanol đối với vi khuẩn gây bệnh tiêu chảy trên lợn con.

Tách chiết các cao chế phẩm, định tính và định lượng hoạt chất polyphenol theo phương pháp công nghiệp và đông y.

2.2 Phương pháp

Tách chiết cao chiết bằng phương pháp đun hồi lưu cách thủy có phân đoạn (phương pháp tách chiết rắn – lỏng, lỏng – lỏng) với các dung môi có độ phân cực tăng dần [1]

Cân 100 g nguyên liệu khô đã xác định độ ẩm cho vào bình cầu 1000 mL sau đó cho 200 mL methanol vào để làm ẩm nguyên liệu trong khoảng 1 giờ để nguyên liệu trương nở, sau đó cho tiếp 300 mL methanol tuyệt đối vào và tiến hành đun hồi lưu cách thủy trong 3,5–4 giờ. Sau đó gạn lấy dịch chiết 1.

Tiếp tục cho 200 mL methanol 90% vào bã nguyên liệu vừa gạn xong và đun hồi lưu cách thủy tiếp khoảng 3,5–4 giờ để lấy dịch chiết 2. Gộp dịch chiết 1 và 2, sau đó lắc đều. Tiếp tục tiến hành chưng cất cô áp suất giảm thu được cao methanol. Sau đó hòa tan cao methanol trong nước nóng, rồi tiến hành chiết với các dung môi có độ phân cực tăng dần gồm n-hexan, chloroform, ethyl acetate, n-butanol, cất thu hồi dung môi thu được cao n-hexan, cao chloroform, cao ethyl acetate và cao n-butanol.

+ Định tính hợp chất flavonoid, tanin, phenol bằng các phản ứng đặc trưng [1].

Định tính các nhóm hợp chất trong cao n-hexan, cao chloroform, cao ethyl acetate và cao n-butanol.

+ Định lượng hoạt chất chính polyphenol bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử UV-Vis [6, 7].

+ Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết có hiệu suất hoạt chất bằng phương pháp khuếch tán trên thạch có đối chứng kháng sinh tetracyclin và enrofloxacin.

Tách chiết cao chế phẩm Cỏ sữa lá nhỏ [1]

Để điều chế chế phẩm Cỏ sữa lá nhỏ với lượng lớn hơn chúng tôi sử dụng 2 phương pháp:

Điều chế cao chế phẩm bằng phương pháp công nghiệp [1]

Cân 120 g nguyên liệu khô (75 g lá, 45 g thân) được cắt ngắn 1–2 cm, nghiền cho vào nồi sắc thuốc dung tích 3 lít. Sau đó cho 200 mL dung dịch NH_4OH 10% vào trộn đều, ngâm trong 2 giờ để nguyên liệu được làm ẩm và trương nở. Sau đó cho 500 mL nước tiến hành đun sôi nhẹ trong 2–3 giờ. Sau đó chắt lọc dịch chiết nước lần 1. Tiếp tục cho thêm 500 mL nước vào bã nguyên liệu vừa chắt xong đun sôi nhẹ 2–3 giờ, chắt lọc dịch chiết nước lần 2. Gộp dịch chiết 1 và 2, sau đó lắc đều. Cho hỗn hợp vào bình chung cất dung tích 1000 mL, tiến hành chung cất loại dung môi nước sau đó cô quay ở áp suất thấp thu được cao chế phẩm cỏ sữa công nghiệp.

Điều chế cao chế phẩm bằng phương pháp đông y

Cân 120 g nguyên liệu khô (75 g lá, 45 g thân) được cắt ngắn 1–2 cm, nghiền cho vào nồi sắc thuốc dung tích 3 lít. Sau đó cho 500 mL nước tiến hành đun sôi nhẹ trong 2–3 giờ và chắt lọc dịch chiết nước lần 1. Tiếp tục cho thêm 500 mL nước vào bã nguyên liệu vừa chắt xong đun sôi nhẹ 2–3 giờ, chắt lọc dịch chiết nước lần 2. Gộp dịch chiết 1 và 2, sau đó lắc đều.

Cho hỗn hợp vào bình chung cất dung tích 1000 mL, tiến hành chung cất loại nước rồi cô quay ở áp suất thấp để thu cao chế phẩm Cỏ sữa đông y. Tiến hành phân tích định tính chế phẩm và định lượng các hoạt chất flavonoid, polyphenol và tanin.

Xác định hàm lượng polyphenol tổng

Hàm lượng polyphenol tổng được xác định theo phương pháp thuốc thử Folin-Ciocalteu [2, 6, 7], bằng cách xây dựng đường chuẩn với acid gallic chuẩn có nồng độ 0,05–0,3 mg/mL [6, 7]. Acid gallic được sử dụng làm chất chuẩn tham khảo và kết quả được qui định tương đương theo số miligam acid gallic/1 gam mẫu khô nguyên liệu.

Lấy 0,5 mL dịch chiết hoặc dung dịch acid gallic chuẩn (Merck) (có nồng độ 0,05–0,3 mg/mL), thêm vào 2,5 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu (Merck) (đã được pha loãng) và lắc đều. Giữ hỗn hợp phản ứng trong 4 phút, thêm vào hỗn hợp 2 mL dung dịch Na_2CO_3 10%, lắc đều, để yên trong 2 giờ ở 25 °C trong bóng tối. Độ hấp thụ của dung dịch sau phản ứng được đo ở bước sóng 760 nm. Tiến hành đo lần lượt 2 mẫu thử cao công nghiệp và cao đông y; số lần lặp lại của mỗi mẫu là 3 lần; đọc và tính kết quả.

Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết Cỏ sữa lá nhỏ

Hoạt tính kháng khuẩn được xác định bằng phương pháp khuếch tán trên thạch; đo đường kính vòng kháng khuẩn; kháng sinh sử dụng là tetracyclin và enrofloxacin [5].

Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm Minitab 16.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Xác định độ ẩm của mẫu nguyên liệu

Độ ẩm trung bình của mẫu nguyên liệu (%): lá ($9,99 \pm 2,38$), thân ($10,43 \pm 0,29$).

Độ ẩm của dược liệu Cỏ sữa lá nhỏ trung bình 9,99% nằm trong tiêu chuẩn dược liệu (<12%).

Khối lượng mẫu khô thu được là 1,2 kg.

3.2 Tách chiết các nhóm hợp chất hữu cơ thiên nhiên trong nguyên liệu

Tách chiết các cao hoạt chất bằng phương pháp đun hồi lưu cách thủy với methanol

Kết quả các phần chiết được chỉ ra ở Bảng 1.

Bảng 1. Khối lượng các cao thu được từ các phần chiết của Cỏ sữa lá nhỏ

Bộ phận NL	Khối lượng cao (g)			
	n-Hexan	Chloroform	Ethyl acetate	n-Butanol
Lá	$0,40 \pm 0,22$	$0,09 \pm 0,1$	$0,90 \pm 0,16$	$4,53 \pm 1,79$
Thân	$0,17 \pm 0,55$	$0,22 \pm 0,01$	$0,10 \pm 0,02$	$1,25 \pm 0,64$

Bảng 2. Hiệu suất trung bình các cao của thân và lá

Các phần chiết	Hiệu suất trung bình (%)	
	Lá	Thân
n-Hexan	0,44	0,19
Chloroform	0,09	0,25
Ethyl acetate	1,00	0,11
n-Butanol	5,03	1,40

Bảng 2 cho thấy hiệu suất phần chiết (các cao) có sự chênh lệch nhau khá lớn, trong đó hoạt chất từ phần lá lớn hơn hoạt chất từ phần thân. Đặc biệt, phân đoạn n-butanol của phần lá cho

hiệu suất hoạt chất lớn nhất (5,03%), gấp gần 5 lần so với thân (1,4%). Rõ ràng đây là phần chiết quan trọng (hoạt chất flavonoid, polyphenol và tanin) và được sử dụng để điều chế chế phẩm.

Phân tích định tính các nhóm hợp chất bằng các phản ứng đặc trưng

Kết quả phân tích định tính nhóm hợp chất trong các cao bằng các phản ứng đặc trưng được tổng hợp ở Bảng 3.

Bảng 3. Kết quả phân tích định tính các nhóm hợp chất của nguyên liệu cây Cỏ sữa lá nhỏ

STT	Phần chiết (cao chiết)	Nhóm hợp chất	Phản ứng định tính	Kết quả
1	n-Hexan	Sterol	Liebermann- Burchard	+++
		Flavonoid	Shinoda	-
2	Chloroform	Alkaloid	Dragendoff	+
		Flavonoid	Shinoda	-
			NaOH 10%	+
			Phenol	FeCl ₃ 5%
3	Ethyl acetate	Flavonoid	Shinoda	++
			NaOH 10%	+++
		Phenol	FeCl ₃ 5%	+++
			NaOH 10%	+++
			Shinoda	+++
			Flavonoid	NaOH 10%
4	n-Butanol	Phenol	FeCl ₃ 5%	+++
			NaOH 10%	+++
			FeCl ₃ 5%	+++
		Tanin	Gelatin	++
			CuSO ₄	++
			Berberin	++

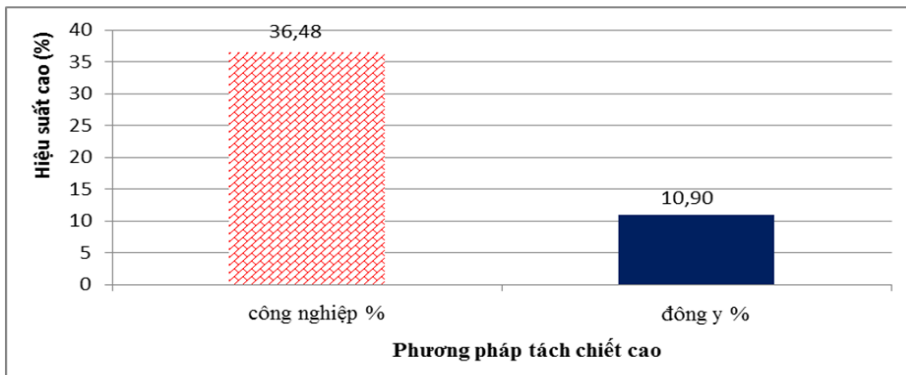
Ghi chú: +++: phản ứng dương tính rất rõ; ++: phản ứng dương tính rõ; +: phản ứng dương tính; -: phản ứng âm tính.

Kết quả định tính cho thấy trong mẫu nguyên liệu có sự hiện diện của các hợp chất sterol, alkaloid, phenol, flavonoid và tanin. Trong đó, cao n-butanol cho hoạt chất phenol (polyphenol), flavonoid và tanin lớn nhất. Do vậy chúng tôi sử dụng cao n-butanol để kiểm tra khả năng kháng khuẩn.

3.3 Định lượng hoạt chất chính polyphenol tổng trong cao chế phẩm công nghiệp và đông y

Hiệu suất cao trung bình của chế phẩm Cỏ sữa lá nhỏ

Hiệu suất cao thu được của phương pháp công nghiệp cao gấp 3,35 lần so với của phương pháp đông y, chứng tỏ phương pháp công nghiệp đóng vai trò quan trọng. Bên cạnh đó, chúng tôi cũng đã định tính các cao chế phẩm. Kết quả chứng minh có hoạt chất chính phenol (polyphenol), flavonoid và tanin.



Hình 1. Biểu đồ hiệu suất cao chiết trung bình của chế phẩm Cỏ sữa lá nhỏ

Định lượng hoạt chất chính polyphenol tổng trong cao chế phẩm công nghiệp và đông y

Xây dựng đường chuẩn polyphenol với chất chuẩn acid gallic trong khoảng nồng độ 0,05–0,3 mg/mL. Kết quả thu được phương trình hồi qui tuyến tính $Y = 10,466 \cdot Cx + 0,0846$ với hệ số tương quan $R = 0,997$. Trên cơ sở đường chuẩn này tính hàm lượng tổng polyphenol trong chế phẩm CSLN. Kết quả được trình bày ở Bảng 4.

Bảng 4. Hàm lượng polyphenol tổng trong cao chế phẩm

Điều chế cao	Chế phẩm công nghiệp	Chế phẩm đông y
Hàm lượng polyphenol tổng (mg acid gallic đương lượng/g mẫu nguyên liệu khô)	2,78	0,92

Polyphenol là một trong những hoạt chất quan trọng và chiếm tỷ lệ lớn trong thực vật nói chung. Hàm lượng polyphenol tổng trong chế phẩm cây Cỏ sữa lá nhỏ quy tương đương theo mg acid gallic trên một gam chất khô của mẫu thử công nghiệp (2,78 mg acid gallic đương lượng) lớn hơn 3,02 lần so với của mẫu thử đông y (0,92 mg acid gallic đương lượng) trên một gam mẫu nguyên liệu khô. Theo Lê Trung Hiếu và Lê Thị Thùy Trang [2], cây CSLN có hàm lượng polyphenol cao hơn nấm Linh chi Hàn Quốc (0,132 mg acid gallic đương lượng), nấm Tràm (0,169 mg acid gallic đương lượng), nhưng thấp hơn lá Mãng cầu xiêm (3,780 mg acid gallic đương lượng).

Như vậy, chế phẩm cây CSLN chiết theo phương pháp công nghiệp chứa nhiều hoạt chất flavonoid, polyphenol và tanin hơn chế phẩm chiết theo phương pháp đông y.

3.4 Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết n-butanol đối với vi khuẩn gây bệnh tiêu chảy trên lợn con [5]

Xác định mật độ vi khuẩn 10^8 tế bào/mL bằng cách đo OD dựa trên máy quang phổ UV-Vis (Hitachi, Nhật) tại phòng thí nghiệm phân tích Viện công nghệ sinh học, Đại Học Huế, sau đó pha loãng 100 lần với nước muối sinh lý để đạt mật độ 10^6 CFU/mL.

Kết quả sàng lọc nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của dịch chiết n-butanol

Qua kết quả thử nghiệm chúng tôi thấy dịch chiết ở nồng độ 10^2 và 10^1 đối với 2 loại vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* spp. đều không có tác dụng kháng khuẩn. Nồng độ 10^3 ppm là nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của 2 loài vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* sp.

Theo Nguyễn Văn Thanh và Nguyễn Thanh Hải [5] về dịch chiết từ thân Mò hoa trắng chiết bằng ethanol 70% ở nồng độ 10^5 ppm, khi khảo sát với vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* sp. cho đường kính vòng vô khuẩn lớn lần lượt *E. coli* ($23,00 \pm 1,00$ mm), *Salmonella* sp. ($25,00 \pm 1,00$ mm), so với dịch chiết cây Cỏ sữa lá nhỏ cùng nồng độ thì đường kính vòng vô khuẩn đối với *E. coli* ($24,00 \pm 2,65$ mm) cao hơn so với cây Mò hoa trắng, còn với *Salmonella* sp. ($21,67 \pm 0,58$ mm) thì thấp hơn cây Mò hoa trắng.

Vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy khả năng ức chế mạnh của chế phẩm Cỏ sữa ở nồng độ 10^3 ppm đối với 2 loài vi khuẩn là tại thời điểm một ngày (24 giờ).

Bảng 5. Đường kính vòng vô khuẩn ($\bar{X} \pm SD$) của vi khuẩn khi dùng dịch chiết Cỏ sữa sau một ngày ($D - d$) (mm)

Nồng độ (ppm)		10^5	10^4	10^3	10^2	10^1
<i>E. coli</i>	$n = 3$	$24,00^a \pm 2,65$	$14,67^b \pm 0,58$	$4,00^c \pm 0$	0	0
<i>Salmonella</i> sp.	$n = 3$	$21,67^a \pm 0,58$	$15,00^b \pm 1,00$	$4,33^c \pm 0,58$	0	0

Ghi chú: Các ký tự a, b, c trên cùng một hàng khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Kết quả sàng lọc nồng độ tiêu diệt của dịch chiết n-butanol

Kết quả xác định nồng độ tiêu diệt của chế phẩm lên hai loài vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* sp. với thời gian theo dõi là 10 phút, 30 phút, 1 giờ và 24 giờ được phân lập từ phân lợn con bị tiêu chảy cho thấy khi nồng độ dịch chiết tăng dần thì khả năng tiêu diệt vi khuẩn cũng tăng theo.

Cả 3 nồng độ 10^3 , 10^4 , 10^5 ppm đều có khả năng tiêu diệt vi khuẩn, nhưng ở nồng độ 10^3 thì chúng tôi thấy sau 24 giờ vi khuẩn có thể mọc lại. Do vậy, chúng tôi đã chọn nồng độ 10^4 là nồng độ tiêu diệt vi khuẩn; thời gian tối ưu để tiêu diệt vi khuẩn là 24 giờ.

Khả năng kháng khuẩn của các loại kháng sinh và dịch chiết đối với *E. coli* và *Salmonella* sp.

Dịch chiết Cỏ sữa lá nhỏ có tác dụng ở nồng độ 10^4 ppm kháng khuẩn *E. coli* và *Salmonella* sp. tốt hơn 2 loại kháng sinh. Cụ thể, đối với vi khuẩn *E. coli* dịch chiết Cỏ sữa lá nhỏ kháng khuẩn mạnh hơn Tetracyclin (gấp 2,2 lần) và Enrofloxacin (gấp 2,5 lần) ở nồng độ 10^3 ppm.

Đối với vi khuẩn *E. coli*: Dịch chiết Cỏ sữa lá nhỏ ở nồng độ 10^4 ppm có tác dụng kháng khuẩn (ức chế) dựa vào đường kính vòng kháng khuẩn gấp 2,5 lần so với kháng sinh Tetracyclin và gấp 2,2 lần so với kháng sinh Enrofloxacin.

Đối với vi khuẩn *Salmonella* sp.: Dịch chiết Cỏ sữa lá nhỏ ở nồng độ 10^4 ppm có tác dụng kháng khuẩn (ức chế) gấp 2,0 lần so với Tetracyclin nhưng kém hơn kháng sinh Enrofloxacin 2,3 lần so với dịch chiết.

Bảng 6. Đường kính vòng kháng khuẩn của kháng sinh và dịch chiết Cỏ sữa lá nhỏ ($D - d$)(mm)

Nồng độ (ppm)	<i>n</i>	<i>E. coli</i> ($\bar{X} \pm SD$)	<i>Salmonella</i> spp. ($\bar{X} \pm SD$) TB ±
10^4	3	16,70 ^a ± 0,26	15,97 ^b ± 0,25
10^3	3	5,17 ^d ± 0,21	5,77 ^d ± 0,68
Tetracylin 10^3	3	6,60 ^c ± 0,36	7,93 ^c ± 0,20
Enrofloxacin 10^3	3	7,53 ^b ± 0,40	36,80 ^a ± 0,35

Ghi chú: *n*: số lần lặp lại; các ký tự a, b, c trên cùng một cột khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

4 Kết luận

Cây Cỏ sữa lá nhỏ có tỷ lệ vật chất khô tương đối cao: phần lá chiếm 90,01% vật chất khô và phần thân chiếm 89,57% vật chất khô, độ ẩm trung bình của Cỏ sữa lá nhỏ là 9,99%.

Đã tách chiết các hoạt chất bằng các dung môi có độ phân cực tăng dần: n-hexan, chloroform, ethyl acetat và n-butanol và phân tích định tính các nhóm chất hữu cơ thiên nhiên bằng các phản ứng đặc trưng. Kết quả chọn được n-butanol cho cao bột tinh khiết có hiệu suất cao nhất (lá: 5,03%; thân: 1,40%). Cao có hoạt tính kháng khuẩn *E. coli* và *Salmonella* sp. tốt hơn kháng sinh Tetracyclin và Enrofloxacin ở nồng độ 10^3 ppm.

Chế phẩm cây Cỏ sữa lá nhỏ chiết theo phương pháp công nghiệp chứa hoạt chất polyphenol (2,78 mg acid gallic đương lượng) lớn hơn 3,02 lần so với mẫu thử chiết theo phương pháp đông y (0,92 mg acid gallic đương lượng) trên một gam mẫu nguyên liệu khô.

Tài liệu tham khảo

1. Nguyễn Văn Đàn và Nguyễn Việt Tụ (1985), *Phương pháp nghiên cứu hóa học cây thuốc*, Nxb. Y học, TP. Hồ Chí Minh.
2. Lê Trung Hiếu và Lê Thị Thùy Trang (2014), Bước đầu nghiên cứu đánh giá khả năng kháng oxy hóa của một số đối tượng làm nguồn dược liệu, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế*, 1, 1.
3. Nguyễn Thị Hoàng Lan, Bùi Quang Thuật, Lê Danh Tuyên, Nguyễn Thị Ngọc Duyên (2015), Khả năng kháng khuẩn của tinh dầu lá tía tô, *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 13(2), 245–250.
4. Đỗ Tất Lợi (2014), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nxb. Hà Nội.
5. Nguyễn Văn Thanh và Nguyễn Thanh Hải (2014), Nghiên cứu tác dụng diệt khuẩn in vitro của dịch chiết cây Mò hoa trắng (*Clerodendron fragrans* Vent.) trên vi khuẩn *E. coli*, *Salmonella* spp. phân lập từ phân lợn con theo mẹ mắc bệnh viêm ruột tiêu chảy và thử nghiệm điều trị, *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 12(5), 683–689.
6. Ren- You Gan, Xiang- Rong- Xu, Feng- Lin Song, Lei kuang, Hoa- Bin Li (2010), *Antioxydant activity and total phenol content of medicinal plants associated with prevention and treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(22), 2438–2444.
7. Vadakkemuriyil Divya Nair, Rajaran Panneerselvan, Ragupathi (2012), Studies on methanolic extract of *Rauvolfia* species from Southern Western Ghats of India – in vitro antioxidant properties characterisation of nutrients and phytochemicals, *Industrial Crops and Products*, 39, 17–25.

EXTRACTION OF ACTIVE INGREDIENTS FROM *EUPHORBIA THYMIFOLIA* BURM. (L.) AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY ON *E. COLI* AND *SALMONELLA* SP. CAUSING DIARRHEA IN PIGLETS IN THUA THIEN HUE PROVINCE

Phan Van Cự^{1*}, Nguyen Quang Linh^{1,2}, Huynh Thi Ngoc Nu³,
Huynh Thi Thanh Hoa³

¹ Center for Scientific and Technology Incubation and Transfers, Institute of Biotechnology,
Hue University, Road 10, Phu Vang, Thua Thien Hue, Vietnam

² Hue University, 3 Le Loi St., Hue, Viet Nam

³ University of Agriculture and Forestry, Hue University, 102 Phung Hung St., Hue, Vietnam

Abstract: *Thymifoliar euphorbia* known as *Euphorbia thymifolia* Burm. (L.), belonging to family Euphorbiaceae, is capable of producing antibiotics for the treatment of intestinal and skin diseases. From the qualitative data analysis, the main active ingredients, namely flavonoids, polyphenols, and tannins were detected in the n-hexane, chloroform, ethyl acetate, n-butanol extracts. The results showed that the butanol extract gives the highest active ingredient (leaves: 5.03%, stems: 1.4%). This extract was used to investigate the antibacterial activity. It was found that MIC for both *E. coli* and *Salmonella* sp. is 10^3 ppm and MBC is 10^4 ppm from the butanol extract *in vitro*. The preparation at 10^4 ppm has a better antibacterial activity on *E. coli* and *Salmonella* sp. than Tetracycline and Enrofloxacin at 10^3 ppm. To prepare a larger amount of extract, the industrial and traditional medicine methods were used providing yields of 36.48% and 10.9%, respectively. The industrial extract gave a higher amount of polyphenol (2.78 mg gallic acid equivalent/g of dry sample) compared with the traditional medicine extract (0.92 mg gallic acid equivalent/g of dry sample).

Keywords: *Euphorbia thymifolia*, polyphenol, extraction