KHẢ NĂNG DIỆT KHUẨN CỦA LÒNG TRẮNG TRỨNG GÀ

Huỳnh Thị Bạch Yến
Khoa Khoa học Ứng dụng - Bộ Môn Công Nghệ Sinh Học
Trường Đại học Tôn Đức Thắng TP. HCM

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lysozyme trong lòng trắng trứng chứa 129 amino acid, là một muramidase và hydrolase-N-acetylmuramic. Là enzyme diệt khuẩn phổ biến nhất trong thiên nhiên và là enzyme hiện diện trong hầu hết các dịch tiết của cơ thể, mô người, động vật. Enzyme này cũng có trong thực vật, vi khuẩn và thể thực khuẩn. Lòng trắng trứng gà là nguồn lysozyme rất dễ sử dụng. Lysozyme xúc tác phản ứng thủy phân liên kết (1-4) glycosidic giữa acid N-acetymuraminic và N-acetylglucosamin. VK *Micrococcus luteus* rất nhạy cảm với lysozyme nên được dùng để khảo sát enzyme này. Ngoài ra trong lòng trắng trứng còn có các chất ovotransferrin, ovomucin… có khả năng diệt khuẩn hoặc kiềm khuẩn các vi khuẩn gram (+) và Gram (-) khác (Craig và Reg, 2002).

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Đối tượng khảo sát:

Trứng gà Isa Brown
Số mẫu khảo sát: 215 mẫu trứng trên 2 đàn gà
Thời gian trữ trứng: 2 ngày, 7 ngày và 15 ngày ở nhiệt độ phòng thí nghiệm.

2.2 Nội dung khảo sát

Định hoạt lực diệt khuẩn *Micrococcus luteus* của lysozyme trong lòng trắng trứng (LAM: lysozyme activity on *Micrococcus luteus*)

Thực hiện theo kỹ thuật của Rasmusson 1999 cải tiến.

Nguyên lý: Lysozyme trong trứng có khả năng cắt liên kết β (1-4) glycosidic giữa các đơn vị đường amin hóa trên vách tế bào vi khuẩn (VK), làm vỡ tế bào và diệt khuẩn.

Định khả năng diệt khuẩn *Staphylococcus aureus* (BAS%: bactericide activity on *Staphylococcus aureus*) **và *Escherichia coli*** (BAE% bactericide activity on *Escherichia coli*)

Thực hiện theo kỹ thuật Mirnova và Kouzmina 1996 (dẫn liệu của Lê Khắc Thận, 2000).

Nguyên lý: Đánh giá khả năng diệt khuẩn trong dung dịch đệm khi có thêm hoặc không thêm lòng trắng trứng khảo sát, qua việc đo độ truyền suốt. Ống đối chứng không thêm lòng trắng trứng sẽ có nhiều vi khuẩn mọc, độ truyền suốt sẽ thấp hơn so với ống thí nghiệm có thêm lòng trắng trứng do có diệt khuẩn, hỗn hợp sẽ trong hơn, độ truyền suốt sẽ cao hơn.

2.3 Hóa chất

- Gốc vi khuẩn: *Micrococcus luteus, Staphylococcus aureus và Escherichia coli*
- Huyễn dịch vi khuẩn có khoảng 2.10^9 VK/ml nước muối sinh lý, có độ hấp thu quang học khoảng 80% (pha nồng độ VK theo McFarland, 1964; dẫn liệu của Đỗ Trung Phấn và Vũ Triệu An, 1982).
- Môi trường nuôi cấy vi khuẩn: thạch dinh dưỡng NA (nutrient Agar) vô trùng

- Dung dịch đệm phosphate pH 6,5

2.4 Dụng cụ và vật liệu

- Máy quang phổ
- Máy vortex
- Tủ ấm 37^0C
- Phòng cấy vô trùng

2.5 Phương pháp tiến hành

Ống đối chứng (ĐC): 0,1 ml huyễn dịch VK + 1ml dung dịch đệm
Ống thí nghiệm (TN): 0,1 ml huyễn dịch VK + 1ml lòng trắng trứng
Lắc trộn đều, đem đo độ truyền suốt ở thời điểm S^0
Ống trắng dùng dung dịch đệm. Sau đó, cho tất cả các ống đo vào tủ ấm 37^0C trong 15, 30 và 45 phút rồi đo độ truyền suốt ở mỗi thời điểm là S^1
Công thức tính kết quả hoạt lực diệt khuẩn ký hiệu là:

$$Phần\ trăm\ diệt\ khuẩn = 100 - \frac{S^1 TN - S^o TN}{S^1 ĐC - S^o ĐC} \times 100$$

S^0_{TN} , $S^0_{ĐC}$ là độ truyền suốt của ống thí nghiệm và ống đối chứng đo ngay khi trộn xong.
S^1_{TN}, $S^1_{ĐC}$ là độ truyền suốt của ống thí nghiệm và ống đối chứng đo sau khi để tủ ấm 15, 30 và 45 phút.
Số liệu xử lý bằng ANOVA 1 yếu tố trên phần mềm Excel và Minitab. Kết quả trình bày dưới dạng X ± SD.

3. KẾT QUẢ THẢO LUẬN

Với 215 mẫu lòng trắng trứng trên 2 đàn gà thuộc giống gà Isa Brown, chúng tôi khảo sát khả năng diệt 3 loại vi khuẩn *Micrococcus luteus, Staphylococcus aureus và Escherichia coli.* Mẫu được phân chia theo đàn, trọng lượng trứng và thời gian trữ trứng. Kết quả được trình bày qua các bảng:

Bảng 1. Số mẫu khảo sát được phân chia theo đàn, trọng lượng trứng và thời gian trữ trứng

	Nhóm	Số mẫu	Tổng cộng
Đàn	1	110	215
	2	105	
Trọng lượng trứng (gam)	I (49,7-58) gam	44	215
	II (58,1 – 64) gam	117	
	III (64,2 – 85,2) gam	54	
Thời gian trữ trứng (ngày)	2	70	215
	7	70	
	15	75	

Kết quả khảo sát trên 215 mẫu lòng trắng trứng gà Isa Brown cho thấy:

Tỷ lệ diệt khuẩn (%) của lysozyme trên *Micrococcus luteus* cao nhất 25,61 ± 8,14, khác biệt có ý nghĩa thống kê (P<0,05) so với khả năng diệt khuẩn *Staphylococcus aureus* 23,81 ± 7,34 và *Escherichia coli* 23,31 ± 6,47. Khả năng diệt khuẩn *Staphylococcus aureus* cao hơn so với *Escherichia coli* nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Điều nay phù hợp với nhận định của Salton và Pavlik, 1960 là vách tế bào VK *Micrococcus luteus* nhạy cảm nhất với lysozyme trong khi *Staphylococci* kém nhạy cảm hơn. Trong các VK gram (-) thì *E. coli* kém nhạy cảm nhất so với *Salmonella* và *Shigella* (Peterson và Hartsell, 1955). Theo Ibrahim và ctv, 1993 hoạt động diệt khuẩn của lysozyme là do ái lực với acid béo chuỗi dài như acid béo palmitic hoặc stearic và các acid béo chuỗi ngắn bảo hòa như caproic, capric hoặc myristic. Theo Liu và ctv, 2000 hoạt động diệt khuẩn của lysozyme trên VK gram (-) bị giảm một ít do thiếu các acid béo này.

Bảng 2. Khả năng diệt khuẩn (%) *Micrococcus luteus* trên 2 đàn

Yếu tố	Nhóm	Số mẫu (n)	X ± SD	P
Đàn	1	110	28,68 ± 9,00	<0,05
	2	105	22,40 ± 5,56	
Thời gian trữ (ngày)	2	70	$30,52^{c}$ ± 8,87	<0,05
	7	70	$26,87^{b}$ ± 7,08	
	15	75	$19,85^{a}$ ± 3,66	
Trọng lượng (gam)	I	44	$24,10^{a}$ ± 6,80	<0,05
	II	117	$24,94^{a}$ ± 7,31	
	III	54	$28,30^{b}$ ± 10,13	
Thời điểm hoạt lực diệt khuẩn cao nhất (phút)	15	86	$24,01^{a}$ ± 6,30	<0,05
	30	61	$23,20^{a}$ ± 7,49	
	45	68	$29,80^{b}$ ± 9,18	
Trung bình		215	25,61 ± 8,14	

a,b,c dùng để biểu thị ý nghĩa thống kê trong cột một yếu tố

Bảng 3. Khả năng diệt khuẩn (%) *Staphylococcus aureus* trên 2 đàn

Yếu tố	Nhóm	Số mẫu (n)	X ± SD	P
Đàn	1	110	25,46 ± 8,65	<0,05
	2	105	22,08 ± 5,15	
Thời gian trữ (ngày)	2	70	$27,29^{b}$ ± 8,18	<0,05
	7	70	$25,04^{b}$ ± 6,95	
	15	75	$19,42^{a}$ ± 3,96	
Trọng lượng (gam)	I	44	$22,22^{a}$ ± 7,21	<0,05
	II	117	$23,25^{a}$ ± 6,48	
	III	54	$26,34^{b}$ ± 8,60	
Thời điểm hoạt lực diệt khuẩn cao nhất (phút)	15	48	23,76 ± 6,25	>0,05
	30	79	22,79 ± 6,01	
	45	88	24,76 ± 8,78	
Trung bình		215	23,81 ± 7,34	

Bảng 4. Khả năng diệt khuẩn (%) *Escherichia coli* trên 2 đàn

Yếu tố	Nhóm	Số mẫu (n)	X ± SD	P
Đàn	1	110	24,34 ± 7,14	<0,05
	2	105	22,23 ± 5,50	
Thời gian trữ (ngày)	2	70	$25,80^{b}$ ± 7,74	<0,05
	7	70	$25,09^{b}$± 5,19	
	15	75	$19,32^{a}$ ± 3,89	
Trọng lượng (gam)	I	44	$21,57^{a}$ ± 5,17	<0,05
	II	117	$22,87^{a}$ ± 6,01	
	III	54	$25,67^{b}$ ± 7,72	
Thời điểm hoạt lực diệt khuẩn cao nhất (phút)	15	85	22,35 ± 5,78	>0,05
	30	73	23,96 ± 6,12	
	45	47	23,90 ± 7,70	
Trung bình		215	23,31 ± 6,47	

Bảng 5. Khả năng diệt khuẩn *Micrococcus luteus* trên đàn gà 1 (%)

Yếu tố	Nhóm	Số mẫu (n)	X ± SD	P
Thời gian trữ (ngày)	2	35	$34,92^{b}$ ± 9,10	<0,05
	7	35	$31,51^{b}$ ± 6,05	
	15	40	$20,75^{a}$ ± 3,99	
Trọng lượng (gam)	I	33	$25,69^{a}$ ± 7,08	<0,05
	II	51	$27,34^{a}$ ± 8,35	
	III	26	$35,12^{b}$ ± 9,55	
Thời điểm hoạt lực diệt khuẩn cao nhất (phút)	15	38	$24,55^{b}$ ± 9,55	<0,05
	30	24	$26,21^{a}$ ± 9,58	
	45	48	$33,19^{b}$ ± 8,32	
Trung bình		110	28,91 ± 9,00	

Bảng 6. Khả năng diệt khuẩn (%) *Staphylococcus aureus* trên đàn gà 1

Yếu tố	Nhóm	Số mẫu (n)	X ± SD	P
Thời gian trữ (ngày)	2	35	$30,02^{b}$ ± 9,43	<0,05
	7	35	$28,10^{b}$ ± 7,68	
	15	40	$19,17^{a}$ ± 3,79	
Trọng lượng (gam)	I	33	$23,44^{a}$ ± 7,49	<0,05
	II	51	$24,44^{a}$ ± 8,49	
	III	26	$30,72^{b}$ ± 8,49	
Thời điểm hoạt lực diệt khuẩn cao nhất (phút)	15	24	25,73 ± 7,08	>0,05
	30	30	22,82 ± 7,65	
	45	56	26,77 ± 9,53	
Trung bình		110	25,46 ± 8,65	

Bảng 7. Khả năng diệt khuẩn (%) *Escherichia coli* trên đàn gà 1

Yếu tố	Nhóm	Số mẫu (n)	X ± SD	P
Thời gian trữ (ngày)	2	35	$28,00^{b} \pm 8,95$	<0,05
	7	35	$25,56^{b} \pm 4,95$	
	15	35	$20,07^{a} \pm 4,40$	
Trọng lượng (gam)	I	33	$22,65^{a} \pm 5,14$	<0,05
	II	51	$23,56^{a} \pm 7,01$	
	III	26	$28,00^{b} \pm 8,44$	
Thời điểm hoạt lực diệt khuẩn cao nhất (phút)	15	54	23,29 ± 6,02	>0,05
	30	27	24,96 ± 6,78	
	45	29	25,70 ± 9,11	
Trung bình		110	24,34 ± 7,14	

Bảng 8. Khả năng diệt khuẩn (%) *Micrococcus luteus* trên đàn gà 2

Yếu tố	Nhóm	Số mẫu (n)	X ± SD	P
Thời gian trữ (ngày)	2	35	$26,13^{c} \pm 6,10$	<0,05
	7	35	$22,23^{b} \pm 4,57$	
	15	35	$18,83^{a} \pm 2,97$	
Trọng lượng (gam)	I	11	19,32 ± 2,23	>0,05
	II	66	23,97 ± 5,81	
	III	28	21,58 ± 5,53	
Thời điểm hoạt lực diệt khuẩn cao nhất (phút)	15	48	23,58 ± 5,94	>0,05
	30	37	21,25 ± 5,01	
	45	20	21,68 ± 5,27	
Trung bình		105	22,40 ± 5,56	

Trong tất cả các trường hợp khảo sát, khả năng diệt khuẩn trên 3 loại VK cao nhất ở thời điểm trữ trứng 2 ngày và giảm theo thời gian trữ trứng. Như vậy, chất lượng trứng cũng giảm theo thời gian trữ trứng.

Bảng 9. Khả năng diệt khuẩn (%) *Staphylococcus aureus* trên đàn gà 2

Yếu tố	Nhóm	Số mẫu (n)	X ± SD	P
Thời gian trữ (ngày)	2	35	$25,56^{b} \pm 5,60$	<0,05
	7	35	$21,98^{ab} \pm 4,44$	
	15	35	$19,70^{a} \pm 4,22$	
Trọng lượng (gam)	I	11	$18,45^{a} \pm 4,85$	>0,05
	II	66	$22,60^{b} \pm 4,30$	
	III	28	$22,27^{ab} \pm 6,53$	
Thời điểm hoạt lực diệt khuẩn cao nhất (phút)	15	24	21,80 ± 4,66	>0,05
	30	49	22,77 ± 4,82	
	45	32	21,24 ± 5,93	
Trung bình		105	22,08 ± 5,15	

Bảng 10. Khả năng diệt khuẩn (%) *Escherichia coli* trên đàn gà 2

Yếu tố	Nhóm	Số mẫu (n)	X ± SD	P
Thời gian trữ (ngày)	2	35	$23,60^{b} \pm 7,63$	<0,05
	7	35	$24,62^{b} \pm 5,44$	
	15	35	$18,46^{a} \pm 3,03$	
Trọng lượng (gam)	I	11	$18,32^{a} \pm 3,85$	>0,05
	II	66	$22,33^{ab} \pm 5,09$	
	III	28	$23,51^{b} \pm 6,40$	
Thời điểm hoạt lực diệt khuẩn cao nhất (phút)	15	31	20,72 ± 5,03	>0,05
	30	46	23,36 ± 5,69	
	45	28	22,03 ± 5,46	
Trung bình		105	22,22 ± 5,50	

Bảng 11. Khả năng diệt khuẩn (%) đối với 3 loại VK *Micrococcus luteus, Staphylococcus aureus và Escherichia coli* trên 2 đàn

Yếu tố	Nhóm	Số mẫu (n)	X ± SD	P
Đàn	1	330	26,16 ± 8,48	<0,05
	2	315	22,23 ± 5,39	
Thời gian trữ (ngày)	2	210	$27,87^{c} \pm 8,47$	<0,05
	7	210	$25,67^{b} \pm 6,49$	
	15	225	$19,53^{a} \pm 6,49$	
Trọng lượng (gam)	I	132	$22,62^{a} \pm 6,49$	<0,05
	II	351	$23,69^{a} \pm 6,66$	
	III	162	$26,77^{b} \pm 8,89$	
Thời điểm hoạt lực diệt khuẩn cao nhất (phút)	15	219	$23,31^{a} \pm 6,11$	>0,05
	30	213	$23,31^{a} \pm 6,49$	
	45	213	$26,14^{b} \pm 8,97$	
Trung bình		645	22,24 ± 7,40	

Bảng 12. Khả năng diệt khuẩn (%) đối với 3 loại VK *Micrococcus luteus, Staphylococcus aureus và Escherichia coli* trên đàn 1

Yếu tố	Nhóm	Số mẫu (n)	X ± SD	P
Thời gian trữ (ngày)	2	105	$30,98^{b} \pm 9,53$	<0,05
	7	105	$28,39^{b} \pm 6,73$	
	15	120	$20,00^{a} \pm 4,09$	
Trọng lượng (gam)	I	99	$23,93^{a} \pm 6,71$	<0,05
	II	153	$25,00^{ab} \pm 8,10$	
	III	78	$31,28^{b} \pm 9,21$	
Thời điểm hoạt lực diệt khuẩn cao nhất (phút)	15	116	$24,20^{a} \pm 6,51$	<0,05
	30	81	$24,54^{a} \pm 8,03$	
	45	133	$28,85^{b} \pm 9,54$	
Trung bình		330	26,16 ± 8,48	

Bảng 13. Khả năng diệt khuẩn (%) đối với 3 loại VK *Micrococcus luteus, Staphylococcus aureus và Escherichia coli* trên đàn 2

Yếu tố	Nhóm	Số mẫu (n)	X ± SD	P
Thời gian trữ (ngày)	2	105	$24,76^{c} \pm 5,81$	<0,05
	7	105	$22,94^{b} \pm 4,94$	
	15	105	$19,00^{a} \pm 3,46$	
Trọng lượng (gam)	I	33	$18,70^{a} \pm 3,71$	<0,05
	II	198	$22,67^{b} \pm 5,09$	
	III	84	$22,58^{b} \pm 6,13$	
Thời điểm hoạt lực diệt khuẩn cao nhất (phút)	15	103	22,30 ± 5,49	>0,05
	30	132	22,55 ± 5,22	
	45	80	21,63 ± 5,55	
Trung bình		315	22,23 ± 5,39	

Bảng 14. So sánh khả năng diệt khuẩn (%) của lòng trắng trứng giữa 3 loại VK *Micrococcus luteus, Staphylococcus aureus và Escherichia coli* trên 2đàn

Vi khuẩn	Số mẫu	X ± SD	P
Micrococcus luteus	215	$25,61^{b} \pm 8,14$	<0,05
Staphylococcus aureus	215	$23,81^{a} \pm 7,34$	
Escherichia coli	215	$23,31^{a} \pm 6,47$	

Bảng 15. So sánh khả năng diệt khuẩn (%) của lòng trắng trứng giữa 3 loại VK *Micrococcus luteus, Staphylococcus aureus và Escherichia coli* trên đàn 1

Vi khuẩn	Số mẫu	X ± SD	P
Micrococcus luteus	110	$28,91^{b} \pm 9,00$	<0,05
Staphylococcus aureus	110	$25,46^{a} \pm 8,65$	
Escherichia coli	110	$24,34^{a} \pm 7,14$	

Bảng 16. So sánh khả năng diệt khuẩn (%) của lòng trắng trứng giữa 3 loại VK *Micrococcus luteus, Staphylococcus aureus và Escherichia coli* trên đàn 2

Vi khuẩn	Số mẫu	X ± SD	P
Micrococcus luteus	105	22,40 ± 5,56	>0,05
Staphylococcus aureus	105	22,08 ± 5,15	
Escherichia coli	105	22,22 ± 5,50	

Khả năng diệt khuẩn của đàn gà 1 cao hơn ở đàn gà 2, có lẻ do chế độ ăn uống, chăm sóc đã ảnh hưởng đến quá trình tạo các protein enzyme diệt khuẩn. Ngoài ra, đàn gà 1 có thời gian cho trứng là 8 tháng trong khi đàn gà 2 thời gian cho trứng là 10 tháng. Trong máu gà đẻ hàm lượng lysozyme cao hơn 10 lần so với máu loài hữu nhũ, để có thể vận chuyển lysozyme vào trong lòng trắng trứng. Lysozyme chiếm khoảng 3,5% protein của lòng trắng trứng (Osuga và Feeney, 1977).

Khả năng diệt khuẩn tỷ lệ thuận với trọng lượng trứng.

Hoạt lực diệt khuẩn *Micrococcus luteus* thay đổi theo thời gian ủ 37^0C và cao nhất ở thời điểm 45 phút 29,80 ± 9,18 khác biệt có ý nghĩa thống kê so với khả năng diệt khuẩn ở thời điểm 15 và 30 phút (P<0,05) (bảng 2). Nhưng đối với VK *Staphylococcus aureus* và *Escherichia coli* thời gian ủ không ảnh hưởng đến khả năng diệt khuẩn (P>0,05) (bảng 3 và 4).

4. KẾT LUẬN

1. Thời gian trữ trứng ảnh hưởng đến khả năng diệt khuẩn của lòng trắng trứng gà
2. Trọng lượng trứng có khả năng diệt khuẩn của lòng trắng trứng
3. Thời gian ủ 37^0C ảnh hưởng lên khả năng diệt khuẩn *Micrococcus luteus*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Trung Phấn và Vũ Triệu An, 1982. *Những kỹ thuật cơ bản dùng trong miễn dịch học*, tập II. Nhà xuất bản Y học Hà Nội, Tr. 165-182.
2. Lê Khắc Thận, 2000. Xác định một số chỉ tiêu sinh học phản ánh sức đề kháng tự nhiên của trâu Việt Nam. *Tạp chí Khoa Học Kỹ Thuật Thú Y. Hội Thú Y Việt Nam*. Tập 3. Tr. 46-57.
3. Craig D. & Reg R., 2002. High value opportunities from the chicken egg. *Rural industries research & Development Corporation.* RIRDC Publication No 02/094:1-38.
4. Ibrahim H.R., Kobayashi K. & Kato A., 1993. Length of hydrocarbon chain and antimicrobial action to Gram-negative bacteria of fatty acylated lysozyme. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41: 1164-1168.
5. Liu S.T., Sugimono T. & Kato A., 2000. Lipophilization of lysozyme by short and middle chain fatty acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 265-269.
6. Osuga D.T & Feeney R.E., 1977. Egg protein. In: *Food protein*. Whitaker JR and Tannenbaunm SR (Eds) AVI. Publishing Co., Westport, Connecticut, p 209-248.
7. Peterson R.G. & Hartsell B., 1955. The lysozyme spectrum of the Gram-negative bacteria. *Journal of Infectious Diseases* 96:75.
8. Rasmusson E., 1999. Isolation and analysis of lysozyme from egg whites. *Chemistry research*. Heidelberg Home.
9. Salton M.R.J. & Pavlik J.C., 1960. Studies of the bacterial cell wall VI. Wall composition and sensitivity to lysozyme. *Biochimica et Biophysica* Acta 39: 398.

BACTERICIDE POTENCY OF HEN EGG WHITES

SUMMARY

With 215 hen egg whites in two flocks of hen, we studied the lysozyme activity on Micrococcus luteus (%) (LAM) and the bactericide activity (%) on Staphylococcus aureus (BAS) and Escherichia coli (BAE). The results are: The LAM (25,61 ± 8,14) is higher than BAS (23,81 ± 7,34) and BAE (23,31 ± 6,47). The bactericide activities are reduced in the preservative time of eggs. The BAS and BAE do not change with the time incubating in 37^0C but LAM changes. The bactericide activity are increased with weight of eggs.

Key words: *bactericide, lysozyme, hen egg white.*