

THỬ NGHIỆM

Số 28 Tháng 10/2020

ISSN 2588 - 1469

NGÀY NAY



TẠP CHÍ CỦA HỘI CÁC PHÒNG THỬ NGHIỆM VIỆT NAM

*Web: www.vinalab.org.vn

*Email: tapchi@vinalab.org.vn

TỔNG BIÊN TẬP
PGS. TS Hoàng Minh Lường

PHÓ TỔNG BIÊN TẬP
Nguyễn Hữu Dũng

TRƯỞNG BAN TRỊ SỰ
Nguyễn Thị Mai Hương

TRƯỞNG BAN BIÊN TẬP
Đặng Thị Huệ

HỘI ĐỒNG KHOA HỌC
GS.TS Chu Phạm Ngọc Sơn
GS.TS Nguyễn Công Khẩn
GS.TSKH Phạm Luận
PGS.TS Trần Chương Huyền
PGS.TS Trịnh Văn Quý
TS Tô Kim Anh
TS Vũ Hồng Sơn
KS. Nguyễn Thế Hùng

BAN BIÊN TẬP
PGS.TS Tô Long Thành;
Vũ Hải; Hoàng Nam; Đỗ Quyên

THIẾT KẾ
Bùi Huế

TÒA SOẠN:
Tầng 4, Tòa nhà 130 Nguyễn Đức Cảnh,
Phường Trương Mai, Quận Hoàng Mai,
Tp.Hà Nội
Điện thoại: 0246.683.9670
Fax: 0243.634.3449
Email: thungkiemngaynay@vinalab.org.vn
hoặc ad@vinalab.org.vn
Website: <http://www.vinalab.org.vn>

**LIÊN HỆ QUẢNG CÁO &
ĐẶT MUA ÁN PHẨM**
Hotline: 0979 933 466

Giấy phép xuất bản số 293/GP-BTTTT cấp ngày
23/6/2017 của Cục Báo chí, Bộ TT&TT
Kỳ hạn xuất bản: 1 kỳ/1 tháng.
Số lượng in: 1000 bản/kỳ

NGHIÊN CỨU & TRAO ĐỔI

06

Nghiên cứu thu nhận PEPTIT mạch ngắn
có hoạt tính chống oxy hóa từ phụ nhâm
cá hồi (SALMO SALAR)

12

Xác thực mật ong dựa vào khả năng
kháng khuẩn

19

Nghiên cứu sản xuất sản phẩm bột uống
liền từ dịch trích lá dâu tằm (MORUS
ALBA L.) Việt Nam

27

Thử nghiệm xung sét

35

Phân tích DIOXIN – Cần sự nhạy bén,
quyết liệt và tuân thủ

38

ACID LINOLEIC liên hợp (CLA) trong sữa
bò - Một acid béo có lợi cho sức khỏe

46

Quản lý sự di truyền của chứng loạn
đường xương (CDDY)

51

Thử nghiệm các loại thuốc mới

53

Công nghệ tiên tiến góp phần đẩy nhanh
khám phá và phát triển thuốc PEPTIDE

56

Khả năng di chuyển ion độ phân giải cao
trong nghiên cứu được phẩm và lâm
sàng ngày nay

AN TOÀN THỰC PHẨM

59

Nhận biết mối nguy sinh học gây ô nhiễm
thực phẩm

61

Đơn giản hóa cách phân tích dầu ô liu

Giá: 48.000VNĐ

XÁC THỰC MẬT ONG DỰA VÀO KHẢ NĂNG KHÁNG KHUẨN

Nguyễn Tường Vân¹, Nguyễn Chí Mai², Trần Mỹ Linh², Lê Quang Trung³

¹Viện Công nghệ Sinh học ²Viện Hóa sinh Biển ³Viện An toàn Thực phẩm

TÓM TẮT

Gần đây, mật ong rừng (MOR) được khai ở vùng núi phía bắc với sản lượng hàng chục tấn/năm với giá chỉ từ 150.000-200.000đ/kg. Màu sắc của MOR tương đối giống với sản phẩm chỉ dẫn địa lý cho mật ong bạc hà Cao nguyên Đá Đồng Văn, tỉnh Hà Giang (MBH) có giá tới 400.000-500.000đ/kg. Nhằm ngăn chặn nguy cơ trộn lẫn MBH với MOR để đưa ra thị trường và thu lợi nhuận cao, người nuôi ong khai thác MBH yêu cầu xác thực MBH bằng phương pháp có chi phí thấp, phù hợp điều kiện các phòng thử nghiệm có qui mô nhỏ ở các tỉnh miền núi và trung du, gần nơi nuôi ong và khai thác mật ong. Trong nghiên cứu này, 03 mẫu MBH khai thác mùa mật 2019, 03 mẫu MOR khai thác năm 2020 và 03 mẫu mật trộn giữa MBH và MOR (1:1) được xác thực dựa vào các chỉ thị liên quan đến khả năng kháng khuẩn *Staphylococcus aureus* của mật ong. Các chỉ thị bao gồm chiều ngang vòng kháng khuẩn (D), các giá trị MIC, MBC và tỷ lệ MBC/MIC lần lượt được xác định bằng các phương pháp: Khuếch tán đĩa thạch, xác định nồng độ ức chế *S. aureus* tối thiểu và nồng độ kháng *S. aureus* tối thiểu. Chiều ngang D của MBH, MIX và MOR ở dải nồng độ 25%, 30% và 50% lần lượt từ 96,78-9,22mm, 3,39-6,60mm và 1,42-4,20mm với khác biệt tin cậy về thống kê ($0,01 < P < 0,05$) là các chỉ thị để xác thực 3 loại mật. Đồng thời, giá trị của MIC và MBC của MBH (3,125%) là chỉ thị để phân biệt với MOR, có giá trị MIC và MBC tới 6,250%. Tương tự, tỷ lệ MBC/MIC=2 của MIX cũng có thể áp dụng là chỉ thị để phân biệt với MBH và MOR, có tỷ lệ MBC/MIC=1.

Từ khóa: Xác thực mật ong, chiều ngang vòng kháng khuẩn, nồng độ ức chế tối thiểu MIC, nồng độ kháng khuẩn tối thiểu MBC, tỷ lệ MBC/MIC.

1. MỞ ĐẦU

Mật ong có vai trò kháng khuẩn và chống ô xy hóa vì chứa các chất thuộc nhóm phenolic axit, flavoloids và 1,2-dicarbonyls (Weigel et al., 2004; Colucci et al., 2016). Các loại mật ong khác nhau có khả năng kháng khuẩn và chống ô xy hóa khác nhau vì thành phần và hàm lượng các chất trong 3 nhóm trên không giống nhau (Mavric et al., 2008; Lê Quang Trung et al., 2018a,b). Trong những năm gần đây, thế giới sản xuất và thương mại khoảng 1,5 triệu tấn mật ong/năm. Do nhu cầu tiêu thụ cao, gian lận thương mại trên thị trường mật ong đang là vấn đề toàn cầu (McDonald et al., 2018). Sự phát triển của kỹ thuật phân tích đã đưa ra một số chỉ thị hóa học đặc hiệu để xác thực nhằm giảm thiểu tình trạng gian lận trên. Trong số đó, hàm lượng một số chất chống oxy hóa được xác định bằng phương pháp LC/MS-MS hoặc các chất kháng khuẩn được định lượng theo phương pháp HPLC đang được các nhà xuất nhập khẩu mật ong lớn như Trung Quốc, Mỹ, EU, New zealands... áp dụng để kiểm soát nguồn gốc mật ong (McDonald et al., 2018; Colucci et al., 2016). Tuy nhiên, các chỉ tiêu và phương pháp trên đòi hỏi thiết bị hiện đại và chi phí hóa chất cao (Lê Quang Trung et al., 2018c). Gần đây, một số phương pháp đơn giản, chi phí thấp hơn như khuếch tán trên đĩa thạch, xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) (minimum inhibitory concentration) và xác định nồng độ kháng khuẩn tối thiểu (MBC, minimum bactericidal concentration) của mật ong với một số loại vi khuẩn như *Staphylococcus aureus*, *Clostridium difficile*... (Hammond và Donkor, 2013; Cooper et al., 1999) đã được áp dụng rộng rãi và hiệu quả để xác thực mật ong, nhất là mật ong đặc sản đặc sản, trên thế giới.

Sản phẩm chỉ dẫn địa lý mật ong bạc hà Cao nguyên Đá Đồng Văn (gọi tắt là mật ong bạc hà, MBH) chủ yếu do các giống ong mật *Apis cerana* thu về và chế biến từ mật hoa cây bạc hà (*Elsholtzia spp.*) mọc tự nhiên ở cao nguyên. Vào mùa khai thác, MBH có giá từ 400-500 nghìn đồng/kg, cao nhất ở thị trường nước ta hiện nay, nên dễ xảy ra việc trộn MBH với mật ong có sản lượng cao và giá bán thấp như mật ong rừng (MOR) để tăng lợi nhuận. Gần đây, MOR được ong thu về từ mật hoa và người nuôi ong khai thác vào cuối mùa xuân, đầu mùa hè ở vùng núi phía bắc như Điện Biên, Sơn La với sản lượng hàng chục tấn/năm. MOR có màu sắc tương đối giống với MBH ở một số vùng của Cao nguyên Đá Đồng Văn. Hơn nữa, MOR không có mùi đặc trưng nên không thể phân biệt bằng cảm quan giữa 2 loại mật, đặc biệt là MBH nguyên chất và MBH bị pha trộn với MOR (Hình 1). Theo kết quả công bố gần đây, diện tích vòng kháng vi khuẩn *S. aureus* của MBH cao gấp hàng chục lần của mật ong keo tai tượng khi áp dụng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch (Lê Quang Trung et al., 2018a) cho thấy khả năng kháng khuẩn có thể nghiên cứu, áp dụng như những chỉ thị để phân biệt MBH với MOR được khai thác ở vùng núi phía Bắc trong những năm gần đây.



Hình 1. Màu sắc một số loại mật ong để xác thực. Từ trái sang phải: mật ong rừng (MOR); mật ong trộn (MIX) giữa MBH và MOR (1:1) và Mật ong bạc hà (MBH).

Trong nghiên cứu này, các chỉ tiêu về chiều ngang vòng kháng khuẩn trên đĩa thạch (D), giá trị MIC, MBC và MBC/MIC được xác định và so sánh giữa các nền mẫu MBH, MOR và MIX (MOR trộn lẫn với MBH theo tỷ lệ 1:1) nhằm đưa ra các chỉ thị để phân biệt giữa MBH, MIX và MOR. Kết quả nghiên cứu có thể áp dụng để góp phần kiểm soát chất lượng nhằm giảm thiểu gian lận thương mại đối với sản phẩm chỉ dẫn địa lý mật ong bạc hà Cao nguyên Đá Đồng Văn.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên vật liệu

Mẫu mật ong do khách hàng cung cấp, bao gồm 3 mẫu mật ong bạc hà (MBH) được thu hoạch tháng 12/2019 ở 3 trại ong nuôi của huyện Mèo Vạc, 3 mẫu mật ong rừng (MOR) thu ở Điện Biên, Sơn La từ tháng 5/2020 và 3 mẫu mật trộn giữa MBH và MOR theo tỷ lệ 1:1. Các mẫu mật có chất lượng đồng đều về một số chỉ tiêu như thủy phần (20-21%), hàm lượng đường saccarose (4-4,5%) và hydroxymethylfurfural (HMF: 24-25 mg/kg). Chúng vi khuẩn Gram dương *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923, Mỹ). Các vật liệu và hóa chất để pha môi trường nuôi cấy vi khuẩn, thử hoạt tính kháng khuẩn, xác định MIC và MBC của mật ong được nhập từ Merck Milipore, Sigma (Mỹ).

2.2. Phương pháp

2.2.1. Thử hoạt tính kháng *S. aureus* của mật ong bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch

Môi trường LB và khả năng kháng *S. aureus* của mật ong được tiến hành theo phương pháp của Anthimidou và Mossialos (2013) và Hadacek và Greger (2000). Sau khi được hoạt hóa từ chủng gốc trên môi trường LB đặc, một khuẩn lạc *S. aureus* được cấy chuyển sang 5ml môi trường LB lỏng. Bình nuôi lỏng được đặt trong máy lắc qua đêm với tốc độ 200 vòng/phút ở nhiệt độ 37°C. 200 µl dịch huyền phù vi khuẩn chuyển sang 20 ml dung dịch LB lỏng để nuôi phục hồi trong vòng 3 giờ để đạt OD₆₀₀ khoảng 0,6-0,8. Thêm 100µl dịch khuẩn đã nuôi phục hồi vào 15 ml môi trường LB đặc và đổ vào petri. 50 µl mật ong được pha loãng theo dãy nồng độ 50 - 30 - 25 - 20 - 10% lần lượt đổ vào 5 giếng với đường kính 9mm trên mặt đĩa thạch. dH₂O và kháng sinh gentamicin (0,2 mg/ml) được sử dụng làm đối chứng âm và dương. Các đĩa thạch được ủ ở 37°C qua đêm trong buồng vô khuẩn. Hoạt tính kháng *S. aureus* của mật ong được xác định dựa vào chiều ngang vòng kháng khuẩn, theo công thức: $D = d - 9$. Trong đó: D: Chiều ngang vòng kháng khuẩn (mm); d: Đường kính vòng kháng khuẩn tổng số (mm); 9: Đường kính giếng trên đĩa thạch (mm).

2.2.2. Xác định MIC và MBC của mật ong

Nồng độ ức chế *S. aureus* tối thiểu (MIC) và nồng độ kháng *S. aureus* tối thiểu (MBC) của mật ong được xác định theo phương pháp của Aamer et al. (2014). Để xác định MIC, mẫu mật ong được pha loãng trong môi trường LB lỏng theo dãy nồng độ giảm $\frac{1}{2}$, bắt đầu từ nồng độ có chiều ngang vòng kháng khuẩn $D=0$, ví dụ: 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,5625%; 0,78125%. Vi khuẩn để tiến hành thí nghiệm MIC được chuẩn bị như với phương pháp khuếch tán đĩa thạch. 5µl dung dịch vi khuẩn được đưa vào từng ống nghiệm có chứa 5ml dung dịch mẫu mật đã pha loãng ở các dãy nồng độ trên. Đối chứng âm là môi trường LB lỏng, đối chứng dương là LB chứa Gentamicin 40 µg/ml. Tất cả các ống thí nghiệm được lắc qua đêm trong 24 giờ ở điều kiện 37°C. Giá trị MIC được xác định là nồng độ thấp nhất của mẫu mật, ở đó không có sự phát triển của vi khuẩn khi so sánh OD với đối chứng âm. Để xác định MBC, các mẫu mật ong được pha loãng theo giải nồng độ giảm $\frac{1}{2}$, bắt đầu từ giá trị MIC cao nhất, ví dụ 6,25%; 3,125%; 1,5625%; 0,78125% trong 20 ml môi trường LB đặc đã làm nguội đến 40°C và cấy trên mặt đĩa thạch sử dụng que cấy vi khuẩn. Đĩa thạch chỉ có LB đặc và bổ sung kháng sinh (Gentamicin 40 µg/ml) được sử dụng làm đối chứng âm và dương. Các đĩa thạch sau khi cấy được giữ 37°C trong 24 giờ. Đĩa có nồng độ mật ong thấp nhất mà *S. aureus* không mọc là giá trị MBC của loại mật đó.

2.2.3. Phân tích số liệu

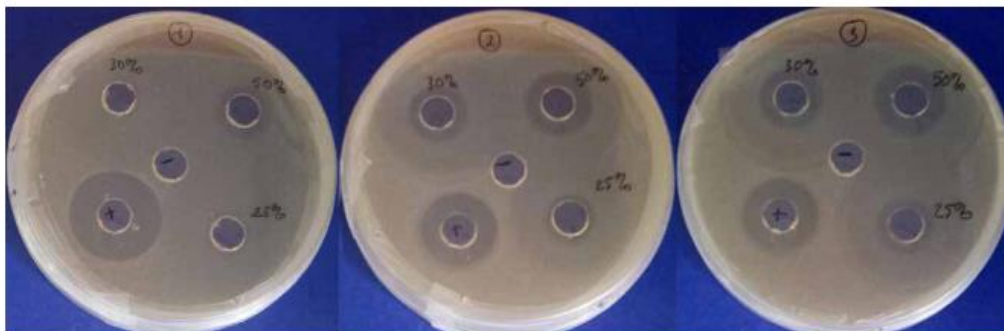
Giá trị của các chỉ tiêu cho từng loại mật được lấy giá trị trung bình sau 3 lần thử nghiệm lặp lại và phân tích thống kê dựa vào Student's t-test (Zainol et al., 2013). Chỉ thị xác thực được xác định dựa vào giá trị đặc thù với sai khác thống kê tin cậy về chiều ngang vòng kháng khuẩn (D, mm), giá trị nồng độ ức chế *S. aureus* tối thiểu (MIC), nồng độ kháng *S. aureus* tối thiểu (MBC) và tỷ lệ MBC/MIC khi so sánh kháng năng kháng *S. aureus* giữa các loại mật ong (O'Neill và Chopra, 2004).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Xác định chiều ngang vòng kháng khuẩn *S. aureus* của mật ong

Ở nồng độ mật ong 10% chỉ MBH có chiều ngang vòng kháng khuẩn với $D=1,53\text{mm}$. Trong khi ở 20%, D của MIX và MBH lần lượt tới 2,33 mm và 3,25mm và MOR vẫn không có vòng kháng khuẩn. Từ nồng độ 25-50%, D của MOR chỉ từ 1,42-4,20mm, trong khi của MIX từ 3,39-6,60mm và cao nhất là của MBH

(6,78-9,22mm) (Bảng 1, Hình 2), cho thấy MBH có khả năng kháng khuẩn cao nhất, tiếp đến MIX và thấp nhất là MOR. Khác biệt tin cậy về thống kê ($0,01 < P < 0,05$) của các giá trị D giữa 3 loại mật cho thấy chiều ngang vòng kháng khuẩn (D) có thể sử dụng như các chỉ thị để xác thực MOR, MIX và MBH từ giải nồng độ mật ong từ 20-50%, đặc biệt là ở nồng độ mật ong 50% với vòng kháng khuẩn rộng, rõ nét, dễ nhận biết và dễ xác định (Hình 2).



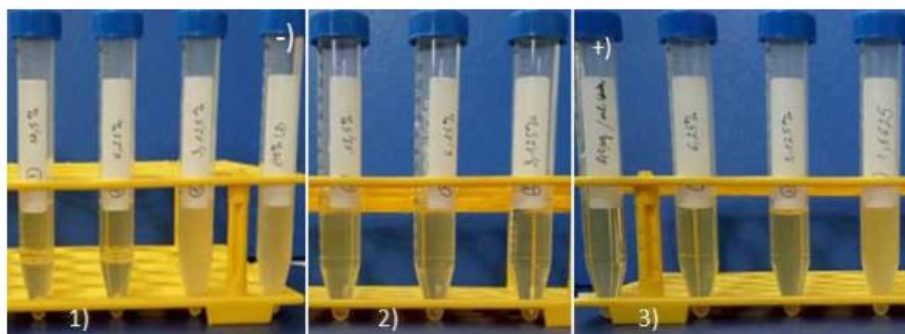
Hình 2. Vòng kháng khuẩn *S. aureus* của 3 loại mật ong ở nồng độ khác nhau. 1) mật ong rừng (MOR); 2) mật ong trộn (MIX) giữa MBH và MOR (1:1); 3) Mật ong bạc hà (MBH); 25-50%: nồng độ mật ong; +: đối chứng dương; -: đối chứng âm

Bảng 1. So sánh chiều ngang vòng kháng khuẩn (mm) của 3 loại mật ong ở nồng độ khác nhau với *S. aureus*.

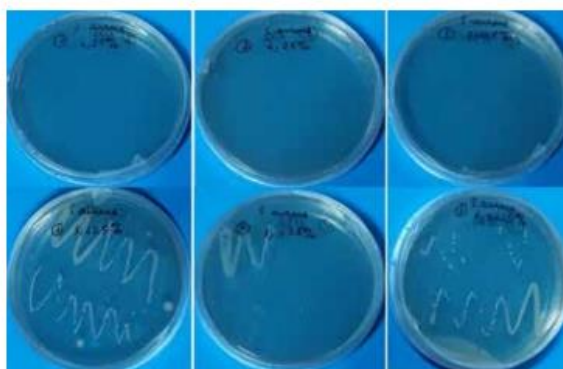
STT	Tỷ lệ mật ong (%)	MOR	MIX	MBH
1	10	0,00	0,00	1,53±0,08
2	20	0,00	2,33±0,08	3,25±0,10
3	25	1,42±0,06	3,39±0,05	6,78±0,10
4	30	2,50±0,05	5,75±0,05	7,53±0,08
5	50	4,20±0,10	6,60±0,05	9,22±0,13
$0,01 < P < 0,05$				

3.2 Xác định MBC và MIC của mật ong kháng với vi khuẩn *S. aureus*

Kết quả xác định giá trị MIC và MBC của 3 loại mật ong cho thấy MBH có khả năng kháng khuẩn cao nhất với giá trị MIC và MBC thấp nhất (3,125%), tiếp đến mật MIX (3,125-6,250%) và MOR có khả năng kháng khuẩn thấp nhất với giá trị MIC và MBC tới 6,250% (Bảng 2, Hình 3 và 4). Kết quả này phù hợp với kết quả xác định chiều ngang vòng kháng khuẩn *S. aureus* của mật ong, ở đó chiều ngang vòng kháng khuẩn (D) của MBH, mật MIX và MOR lần lượt giảm dần từ 6,78-9,22mm, 3,39-6,60mm và 1,42-4,20mm (Bảng 1, Hình 2). Như vậy, các giá trị MIC 3,125% và MBC 6,250% có thể là các chỉ thị để phân biệt MBH với MOR, và tỷ lệ khác biệt của MBC/MIC của 3 loại mật ong kháng với *S. aureus* cũng là chỉ thị để phân biệt MBH với MIX. Trong đó, giá trị này của mật MIX là 2 và của MBH là 1 (Bảng 2).



Hình 3. Kết quả xác định MIC của 3 loại mật ong. 1) mật ong rừng (MOR); 2) mật ong trộn giữa MBH và MOR (MIX); 3) Mật ong bạc hà (MBH); 1,5625-12,50%: nồng độ mật ong. -) Đối chứng âm (LB lỏng); +) đối chứng dương (LB chứa Gentamicin 40 µg/ml).



Hình 4. Kết quả xác định MBC của 3 loại mật ong. 1) mật ong rừng (MOR); 2) mật ong trộn giữa MBH và MOR (MIX); 3) Mật ong bạc hà (MBH); 1,5625-6,25%: nồng độ mật ong.

Bảng 2. Kết quả xác định MIC và MBC của 3 loại mật ong kháng với vi khuẩn *S. aureus*

STT	LOẠI MẬT ONG	MIC (%)	MBC (%)	Tỷ lệ MBC/MIC
1	MOR	6,250	6,250	1
2	MIX	3,125	6,250	2
3	MBH	3,125	3,125	1

3.3. Khả năng kháng khuẩn của mật ong là chỉ thị để xác thực

Các loại mật ong khác nhau có khả năng kháng khuẩn không giống nhau, tùy thuộc vào hàm lượng các chất thuộc nhóm 1,2-dicarbonyls chứa trong chúng (Weigel et al., 2004; Mavric et al., 2008). Các loại mật ong có hàm lượng các chất kháng khuẩn càng cao thì khả năng kháng khuẩn càng cao (Mavric et al., 2008; Miguel et al., 2017). Khả năng kháng khuẩn của mật ong tỷ lệ thuận với chiều ngang vòng kháng khuẩn (D)

và tỷ lệ nghịch với nồng độ ức chế vi khuẩn tối thiểu (MIC) và nồng độ kháng khuẩn tối thiểu (MBC) của mật ong (Hammond và Donkor, 2013; Cooper et al., 1999). Theo O'Neill và Chopra, 2004, các chất được xác định là có khả năng kháng khuẩn khi tỷ lệ MBC/MIC của chúng ≤ 4 . Trong nghiên cứu này, tỷ lệ MBC/MIC của 3 loại mật ong chỉ có giá trị từ 1-2 (Bảng 2) cho thấy cả 3 loại mật ong đều có khả năng kháng khuẩn. Về mức kháng khuẩn của từng loại mật ong, MBH có khả năng kháng khuẩn cao nhất vì giá trị D cao nhất và MIC, MBC thấp nhất. Trái lại, khả năng này của MOR thấp nhất vì D thấp nhất và MIC, MBC cao nhất (Bảng 1 và 2). MIX có khả năng kháng khuẩn trung bình với giá trị D trong khoảng của MBH và MOR vì được trộn giữa hai loại mật này theo tỷ lệ 1:1. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với công bố gần đây (Lê Quang Trung et al., 2018a) về khả năng kháng khuẩn cao của MBH và một lần nữa khẳng định vai trò y học liên quan đến khả năng kháng khuẩn cao của sản phẩm chỉ dẫn địa lý cho mật ong bạc hà Cao nguyên Đá Đồng Văn ở nước ta.

Các giá trị D, MIC, MBC và tỷ lệ MBC/MIC của mật ong đã và đang được áp dụng như những chỉ thị để xác thực một số loại mật ong (Zainol et al., 2013; Cooper et al., 1999), đặc biệt là mật ong đặc sản như Manuka ở New Zealand (Hammond và Donkor, 2013). Trong nghiên cứu này, chiều ngang vòng kháng khuẩn (D) ở nồng độ mật ong từ 22-50% có khác biệt tin cậy về thống kê ($0,01 < P < 0,05$) nên có thể sử dụng như các chỉ thị kháng khuẩn để xác thực MBH, MIX và MOR, đặc biệt ở nồng độ mật ong 50% khi D của MBH, MIX và MOR có sự khác biệt lớn nhất, lần lượt từ 9,22mm, 6,60mm và 4,20mm (Bảng 1) và vòng kháng khuẩn rõ nét nhất (Hình 2). Đồng thời, các giá trị MIC, MBC của MBH (3,125%) cũng là chỉ thị để phân biệt với MOR do hai giá trị của loại mật ong này tới 6,250%; tương tự, tỷ lệ MBC/MIC=2 của MIX cũng có thể sử dụng như chỉ thị để phân biệt với MBH và MOR khi tỷ lệ MBC/MIC của chúng là 1 (Bảng 2).

Phương pháp xác định các chỉ thị xác thực mật ong dựa vào khả năng kháng khuẩn, bao gồm chiều ngang vòng kháng khuẩn, MIC, MBC và tỷ lệ MBC/MIC vừa đơn giản lại không yêu cầu thiết bị hóa chất đắt tiền như với các phương pháp xác định các chỉ thị hóa học liên quan như hàm lượng một số chất thuộc nhóm kháng khuẩn 1,2-dicarbonyls hoặc một số chất thuộc nhóm chống oxy hóa phenolic acids, flavonoids trong mật ong. Các chỉ thị hóa học thường được xác định dựa vào kỹ thuật HPLC hoặc LC-MS/MS (Mavric et al., 2008; Adam, et al., 2009) trên các thiết bị trị giá hàng tỷ đồng, chưa kể đến hóa chất đắt tiền. Trong khi, để xác thực mật ong dựa vào các chỉ thị về khả năng kháng khuẩn, chỉ cần xác định và so sánh chiều dài vòng kháng khuẩn D hoặc bổ sung xác định thêm các giá trị MIC, MBC theo các phương pháp trong nghiên cứu này. Các chỉ tiêu này có thể thực hiện ở các phòng thử nghiệm qui mô nhỏ, máy móc thiết bị đơn giản ở các tỉnh miền núi và trung du. Tuy nhiên, xác thực mật ong dựa vào các chỉ thị kháng khuẩn lại tốn thời gian, không xác định chính xác giá trị MIC và MBC của từng loại mật. Trong nghiên cứu này, sẽ tốn nhiều thời gian thí nghiệm để xác định chính xác giá trị MIC và MBC của MBH từ giá trị $< 3,125\%$ hoặc của MOR với MIC và MBC từ giá trị $< 6,250\%$ (Bảng 2), từ đó mới có thể xác định được chỉ thị cho MIX trộn giữa MBH và MOR ở tỷ lệ khác nhau. Vì vậy, tùy mục đích xác thực và yêu cầu của khách hàng, người nuôi ong sau khi xác thực nhanh bằng chỉ thị về khả năng kháng khuẩn, có thể yêu cầu xác thực mật ong bằng các chỉ thị hóa học là các chất chống oxy hóa trong mật ong (Lê Quang Trung et al., 2018c).

3. KẾT LUẬN

Chỉ thị dựa vào khả năng kháng khuẩn có thể áp dụng để xác thực mật bạc hà (MBH), mật ong rừng (MOR) và mật trộn (MIX) giữa MBH và MOR theo tỷ lệ 1:1. Chiều dài vòng kháng *S. aureus* (D) từ 6,78-9,22mm, 3,39-6,60mm và 1,42-4,20mm của mật ong có nồng độ 25-50% là các chỉ thị để xác thực MBH, MIX và MOR. Đồng thời, giá trị MIC và MBC = 3,125% và 6,250% có thể áp dụng như những chỉ thị để phân biệt MBH với MOR và tỷ lệ MBC/MIC = 1 và 2 lần lượt là những chỉ thị để xác thực MBH và MIX. Các chỉ

thị và phương pháp của nghiên cứu này có thể áp dụng để xác thực mật ong ở các phòng thử nghiệm có qui mô nhỏ ở các tỉnh miền núi và trung du, nơi trực tiếp nuôi ong và khai thác mật ong.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Amer AA, Abdul-Hafeez MM, Sayed SM 2014. Minimum Inhibitory and Bactericidal Concentrations (MIC and MBC) of Honey and Bee Propolis against Multi-Drug Resistant (MDR) *Staphylococcus sp.* Isolated from Bovine Clinical Mastitis. *Altern Integ Med* 3: 171. doi:10.4172/2327-5162.1000171.
2. Adams CJ, Manley-Harris M, Molan PC 2009. The origin of methylglyoxal in New Zealand Muka (*Leptospermum scoparium*) honey. *Carbohydrate research* 344(8):1050-1053.
3. Anthimidou E and Mossialos D: Antibacterial activity of Greek and Cypriot honeys against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* in comparison to manuka honey. *J Med Food*. 16:42–47. 2013.
4. Colucci G, De Vito V, Varricchio E, De Cunzio F, Coccia E, Paolucci M, Di Stasio M, Boscaino F, Viola C and Volpe MG 2016. Identification of Traceability Markers in Italian Unifloral Honeys of different Botanical Origin. *J Nutr Food Sci*. 6 (1). DOI: 10.4172/2155-9600.1000462.
5. Cooper RA, Molan PC, Harding KG 1999. Antibacterial activity of honey against strains of *Staphylococcus aureus* from infected wounds. *JRSM* 92:283–285.
6. Hadacek F, Greger H 2000. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. *Phytochem Anal.*, 11: 137-147.
7. Hammond EN, Donkor ES 2013. Antibacterial effect of Manuka honey on *Clostridium difficile*. *BMC Research Notes* 6:188.
8. Lê Quang Trung, Nguyễn Đức Tú, Nguyễn Thọ Khiêm, Vũ Thị Liên, Lê Thị Như Thủy, Nguyễn Đình Ánh, Kim Bích Nguyệt, Phạm Minh Giang 2018a. Nghiên cứu khả năng kháng khuẩn của mật bạc hà Cao nguyên Đá Đồng Văn, tỉnh Hà Giang. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT* 11 (338): 78-84.
9. Lê Quang Trung, Nguyễn Đức Tú, Nguyễn Thọ Khiêm, Vũ Thị Liên, Lê Thị Như Thủy, Kim Bích Nguyệt, Cam Thị Hằng, Nguyễn Thị Thúy Hòa, Phạm Minh Giang 2018b. Nghiên cứu khả năng chống oxy hóa của sản phẩm chỉ dẫn địa lý mật ong bạc hà Cao nguyên Đá Đồng Văn, tỉnh Hà Giang. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*. 13 (340): 47-53.
10. Lê Quang Trung, Kim Bích Nguyệt, Cam Thị Hằng, Nguyễn Đình Ánh, Lâm Thu Hằng, Vũ Thúy Nga, Nguyễn Thị Thúy Hòa, Phạm Minh Giang 2018c. Xác định chỉ thị chống ô xy hóa của mật ong để truy xuất sản phẩm CDDL mật ong bạc hà Cao nguyên Đá Đồng Văn, Hà Giang. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT* 22 (349): trang 69-76.
11. Mavric EE, Wittmann S, Barth G, Henle T 2008. Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituent of Manuka (*Leptospermum scoparium*) honeys from New Zealand. *Mol. Nutr. Food Res*. 52: 483 – 489.
12. McDonald CM, Keeling SE, Brewer MF, Hathaway SC 2018. Using chemical and DNA marker analysis to authenticate a high-value food, manuka honey. *NPJ Science of Food* (9). DOI: 10.1038/s41538-018-0016-6.
13. Miguel MG, Antunes MD, Faleiro ML 2017. Honey as a Complementary Medicine. *Integrative Medicine Insights* 12: 1–15.
14. O'Neill A, Chopra I 2004. Preclinical evaluation of novel antibacterial agents by microbiological and molecular techniques. *Expert Opin Investig Drugs*. 13:1045–1063.
15. Weigel KU, Opitz T, Henle T 2004. Studies on the occurrence and formation of 1,2-dicarbonyls in honey. *Eur Food Res Technol* 218:147–151
16. Zainol MI, Yusoff KM, Yusof MYM 2013. Antibacterial activity of selected Malaysian honey. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 13:129. doi: 10.1186/1472-6882-13-129.