

THỬ NGHIỆM

Số 29 Tháng 1/2021

ISSN 2588 - 1469

NGÀY NAY

*Happy
new
Year*

2021



TẠP CHÍ CỦA HỘI CÁC PHÒNG THỬ NGHIỆM VIỆT NAM

*Web: www.thunghiemngaynay.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 Khanh
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 Quyền

THIẾT KẾ
Bùi Huế

TÒA SOẠN:
Tầng 4, Tòa nhà 130 Nguyễn Đức Cảnh,
Phường Tương 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 SẢN 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

07

Xác định thành phần và hàm lượng LUTEOLIN trong mật ong và phấn hoa cànng của, *BIDENS PILOSA* L.(Asterales: Asteraceae) Ứng dụng chỉ thị ITS và kỹ thuật LC-MS/MS

14

Các thực hành tốt nhất để phân tích giải trình tự toàn bộ gen trên lâm sàng nhằm chẩn đoán bệnh đột biến gen

19

Những thay đổi cần quan tâm trong quá trình thử nghiệm, hiệu chuẩn và kiểm định các loại máy biến dòng và biến áp đo lường

22

Ảnh hưởng của việc thay thế thức ăn hỗn hợp bằng các loại thức ăn xanh đến tăng trưởng của thỏ lai tại nông hộ huyện Tư Nghĩa tỉnh Quảng Ngãi

AN TOÀN THỰC PHẨM

29

Các kỹ thuật gần đây trong phân tích chất dinh dưỡng cho cơ sở dữ liệu thành phần thực phẩm

Giá: 48.000VND

XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN LOÀI VÀ HÀM LƯỢNG LUTEOLIN TRONG MẬT ONG VÀ PHẦN HOA CÀNG CUA, *BIDENS PILOSA* L. (ASTERALES: ASTERACEAE) ỨNG DỤNG CHỈ THỊ ITS VÀ KỸ THUẬT LC-MS/MS

Lê Quang Trung¹, Nguyễn Thị Thanh Huyền², Nguyễn Chí Mai³,
Nguyễn Mỹ Linh³, Nguyễn Tường Vân⁴

¹Viện An toàn Thực phẩm, ²Trung tâm Phát triển công nghệ cao

³Viện Hóa sinh Biển, ⁴Viện Công nghệ Sinh học

TÓM TẮT

Ở nước ta, càng cua (*Bidens pilosa* L. 1753) còn được gọi là đơn buốt, xuyên chi... là cây nguồn mật chính cung cấp mật và phần hoa cho ong. Càng cua có nhiều phân loài và sản phẩm ong khai thác từ hoa của các phân loài càng cua khác nhau có hàm lượng luteolin, chất phòng chống ung thư da, không giống nhau. Trong nghiên cứu này, kết quả phân tích chủng loại và mức tương đồng về trình tự DNA của chỉ thị ITS cho thấy 9 mẫu hoa thuộc họ Asteraceae đang cung cấp mật và phần cho ong được thu thập ở Vân Hồ, Mộc Châu và Yên Châu của tỉnh Sơn La thuộc 3 phân loài càng cua. Trong đó, 7 mẫu thuộc phân loài *Bidens pilosa radiata*, 1 mẫu thuộc *B. p. pilosa* và 1 mẫu thuộc *B. p. minor*. Kết quả phân tích hàm lượng luteolin trong 3 loại sản phẩm thu thập từ một số trại ong ngoại *Apis mellifera* của 3 huyện bằng kỹ thuật LC-MS/MS cho thấy luteolin trong phần hoa càng cua tươi có hàm lượng cao nhất ($42,30\text{mg/kg} \pm 0,48$), tiếp đến phần hoa càng cua tươi đã sấy khô trong mật ong ($34,75\text{ mg/kg} \pm 0,62$) và thấp nhất là trong mật ong càng cua ($26,86\text{mg/kg} \pm 0,39$). Kết quả nghiên cứu là cơ sở khoa học nhằm khuyến cáo người tiêu dùng sử dụng mật ong càng cua, phần hoa càng cua tươi và phần hoa càng cua tươi lên men trong mật ong nhằm bảo vệ da và phòng chống ung thư da.

Từ khóa: Định loại càng cua, chỉ thị ITS, sản phẩm ong càng cua, luteolin, LC-MS/MS

1. Đặt vấn đề

Cây càng cua có một số tên gọi khác như đơn buốt, đơn kim, quỳ châm, song nha lông, xuyên chi và tên khoa học là *Bidens pilosa* L. (1753). Càng cua thuộc họ hoa Cúc Asteraceae, bộ hoa Cúc Asterales. Là cây hoang dại, càng cua là nguồn mật chính của ong và người nuôi ong có thể khai thác cả mật ong và phần hoa từ cây nguồn mật này. Càng cua là cây ưa sáng, phân bố nhiều ở các vùng nhiệt đới như Tanzania; China; Vietnam (Wang et al., 1997; Wang et al., 2010). Ở nước ta, càng cua mọc ở khắp miền núi, trung du và đồng bằng, nhưng tiết mật và cung cấp phần hoa cho ong chủ yếu ở Vân Hồ, Mộc Châu, Yên Châu (Sơn La) từ tháng 9-11 hằng năm. Vào thời gian này, hàng chục ngàn đàn ong nuôi được đưa lên để tạo chúa, dưỡng đàn, khai thác mật ong và phần hoa càng cua. Mỗi mùa hoa càng cua, người nuôi ong có thể khai thác được 10-15kg mật và 1-2kg phần hoa/đàn ong ngoại *Apis mellifera*. Cây càng cua có chứa một số chất chống ô xy hóa như luteolin, butein, centaureidin... Các chất này có khả năng phòng trị một số bệnh nan y ở người (Beutler et al., 1993; Dima et al., 2003). Theo Seelinger et al. (2008), liều 50-200ppm luteolin [2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-4H-1-benzopyran-4 one] tách chiết từ cây càng cua có thể phòng trị

các bệnh ung thư da ở người. Vì vậy luteolin tách chiết từ cây càng cua đang được dùng phổ biến để sản xuất kem dưỡng da, kem chống nắng (Lee et al., 2006). Mật ong và phần hoa càng cua do ong mật thu về từ hoa càng cua có thể chứa luteolin. Tuy nhiên, đến nay, mới chỉ có một số nghiên cứu về hàm lượng và vai trò chất này trong cây càng cua và chưa có nghiên cứu nào về luteolin trong mật và phần hoa càng cua.

Nhiều công bố trên thế giới cho thấy, loài cây càng cua bao gồm nhiều phân loài như *Bidens pilosa radiata*, *B. p. minor*, *B. p. pilosa*... (Song-Zhi et. 2018, Ya-Lun et al., 2012). Các phân loài càng cua khác nhau có thành phần cũng như hàm lượng các chất thuộc nhóm flavoloids không giống nhau (Yit and Das, 1994; Beutler et al., 2003). Ở nước ta, mới chỉ công bố về loài càng cua *Bidens pilosa* (Khanh et al., 2009) và chưa có nghiên cứu nào về các phân loài của loài cây nguồn mật này. Gần đây, có nhiều phương pháp định loại cây trồng, cây hoang dại như càng cua đến mức phân loài ứng dụng chỉ thị phân tử như *ITS*, *matK*, *rbcL* and *trnH-psbA*... (Tsai et al., 2008; Song-Zhi et al., 2018). Đồng thời, các phương pháp phân tích hiện đại để xác định hàm lượng các chất thuộc nhóm phenolic acids và flavoloids tới phần nghìn (ppm) và phần triệu (ppb) như LC-MS/MS, HPLC-ESI-MS đang được áp dụng phổ biến trong nền mẫu mật ong và phần hoa (Lê Quang Trung et al., 2018; Perveen et al., 2019). Đây là cơ sở thuận tiện để áp dụng nhằm xác định hiệu quả các phân loài càng cua và hàm lượng luteolin trong mật ong và phần hoa của loại cây nguồn mật này ở nước ta.

Nghiên cứu này nhằm xác định một số phân loài trong loài càng cua *B. pilosa* đang cung cấp mật và phần hoa cho ong ngoại *A. mellifera* và hàm lượng luteolin trong mật ong và phần hoa càng cua do loài ong này thu về và người nuôi ong đã khai thác. Kết quả nghiên cứu lần đầu tiên được công bố nhằm đánh giá đa dạng cây nguồn mật cũng như bổ sung cơ sở khoa học về vai trò y học của mật ong và phần hoa càng cua ở nước ta.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Vật liệu

Tổng số 9 mẫu hoa càng cua có ong mật đến thu mật và phần hoa, 9 mẫu mật ong, 9 mẫu phần hoa càng cua tươi và 9 mẫu phần hoa càng cua này ngâm trong mật ong càng cua (1:1) được thu thập và chế biến trong mùa mật hoa càng cua tại 3 trại ong ngoại đặt tại huyện Văn Hồ, Mộc Châu, Yên Châu (Sơn La) từ 2018-2020. Mẫu hoa (3 mẫu/huyện, ký hiệu CCSL1-9) được bảo quản ở -20°C trước khi tách DNA tổng số. Mật ong (01 mẫu/trại ong/huyện/năm) trong lọ thủy tinh 500gr bảo quản ở nhiệt độ 20-25°C. Phần hoa tươi (01kg/trại ong/huyện/năm), 50% trọng lượng/mẫu được trộn với 500gr mật ong càng cua để ngâm ngay sau khi gặt phần. Phần hoa tươi bảo quản -20°C và phần hoa sau khi ngâm 100% ở 10°C đến khi phân tích sự có mặt và hàm lượng luteolin. Các hóa chất để phân loại bằng chỉ thị phân tử ITS và thử nghiệm được cung cấp từ hãng Sigma, bao gồm KIT tách DNA tổng số, KIT chạy PCR, chất chuẩn luteolin [2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-4H-1-benzopyran-4 one] và các hóa chất khác dùng cho UPLC-MS/MS.

2.2. Phương pháp

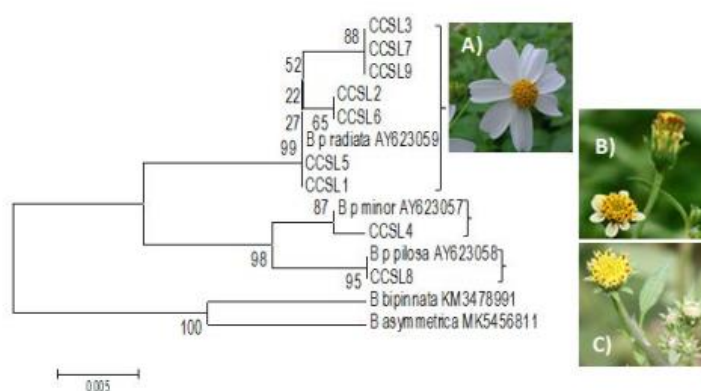
Xác định các phân loài càng cua dựa vào chỉ thị phân tử ITS theo Song-Zhi et al.(2018) và Ya-Lun et al. (2012). Trong đó, DNA tổng số của các mẫu hoa càng cua được tách bằng Qiagen Dneasy plant extraction Kit theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Nhân bản và giải trình tự đoạn ITS sử dụng cặp mồi nhân: BTITSF: 5'-CAGAACGACT CGTGAACATG TAC-3' và BTITSR: 5'-CACTAGTCGT GCGTCACTCA TG-3'. Các phản ứng PCR được chuẩn bị theo PCR Core kit with Taq DNA polymerase (Sigma). Đoạn ITS được nhân bản với 30 chu trình nhiệt, mỗi chu trình gồm: 1 phút ở 92°C, 40 giây ở 53°C và 1 phút ở 72°C. Sản phẩm PCR

được gửi cho Công ty Macrogen Inc. (Korea) để giải trình tự DNA. Khoảng cách di truyền tin cậy giữa các loài/phân loài trong chi cang của được đánh giá dựa vào giá trị bootstrap (%) trên cây phát sinh chủng loại xây dựng theo phương pháp Neighbor Joining trong phần mềm Mega 3.1 (Kumar et al., 2004). Sai khác di truyền (0,000-1,000) giữa các mẫu trong loài và giữa các loài được xác định trên phần mềm DNAMAN4.15 (Lynnon BioSoft). Mức tương đồng (%) về trình tự DNA trên đoạn ITS của các mẫu so sánh với cùng đoạn của cây cang của đã công bố trên Ngân hàng Gen trên phần mềm DNAMAN4.15 (Lynnon BioSoft). Xác định và phân tích hàm lượng luteolin bằng phương pháp UPLC-MS/MS trong sản phẩm ong cang của, bao gồm mật, phần hoa tươi và phần hoa cang của này mẫu theo Lê Quang Trung et al. (2018) và Perveen et al. (2019). Sai khác tin cậy thống kê về hàm lượng luteolin trong 3 loại nền mẫu được xác định sử dụng T_{test} .

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Xác định các phân loài cang của dựa vào đa hình trình tự DNA đoạn ITS rDNA

Sản phẩm PCR giữa DNA tổng số của 9 mẫu hoa cang của (CCSL1-9) với cặp mồi BTITSF-R sau khi giải trình tự DNA có chiều dài khoảng 526bp. Đa hình trình tự DNA của đoạn gen đích này đã nhóm các mẫu cang của, mẫu tham chiếu và nhóm ngoại thành 4 nhánh trên cây phát sinh chủng loại với khoảng cách di truyền tin cậy, giá trị bootstrap từ 87-100% (Hình 1). Trong 4 nhánh cây, 7 mẫu cang của (CCSL1-3, 5-7 và 9) cùng nhánh với phân loài cang của *Bidens pilosa radiata*, trong khi mẫu CCSL4 cùng nhánh với phân loài *B. p. minor* và CCSL8 cùng nhánh với *B. p. pilosa* trên cây chủng loại, cho thấy các mẫu CCSL1-3, 5-7 và 9 thuộc phân loài *B. p. radiata*, CCSL4 thuộc *B. p. minor* và CCSL8 thuộc *B. p. pilosa*. Kết quả phân tích chủng loại phù hợp với kết quả điều tra thu mẫu trong nghiên cứu này và một số công bố liên quan trên thế giới về đặc điểm hình thái điển hình của 3 phân loài cang của, cang của *B. p. radiata* có cánh hoa màu trắng với kích thước lớn nhất (Hình 1A), tiếp đến mẫu *B. p. minor* (Hình 1B) và nhỏ nhất là *B. p. pilosa* (Hình 1C) (Yit and Das, 1994; Beutler et al., 2003).



Hình 1. Cây phát sinh chủng loại theo phương pháp Neighbor Joining của 9 mẫu cây cang của dựa vào đa hình trình tự đoạn ITS khi so sánh với cùng đoạn của 3 phân loài cang của *Bidens pilosa radiata* (A), *B. p. minor* (B), *B. p. pilosa* (C). CCSL1-9: 9 mẫu hoa cang của ở Sơn Ia. Các số 27-100 ở đầu các nhánh cây: giá trị bootstrap (%). AY623057-MK5456811: mã truy cập trình tự DNA các đoạn ITS trên ngân hàng gen. *B. bipinnata* và *B. asymmetrica* nhóm ngoại.

Phân tích mức tương đồng và khoảng cách di truyền dựa vào đa hình trình tự DNA đoạn ITS của 9 mẫu hoa càng cua (CCSL1-9) khi so sánh với các đoạn ITS tham chiếu của 3 phân loài thuộc loài *B. pilosa* trên ngân hàng (Bảng 1) phù hợp với kết quả phân tích trên cây chủng loại (Hình 1). Mức tương đồng trung bình về trình tự DNA của các mẫu trong 3 phân loài là 98,97%. Trong đó, 7 mẫu CCSL1-3, CCSL5-7 và CCSL9 thuộc phân loài *Bidens pilosa radiata* vì đoạn ITS của chúng có mức tương đồng cao và khoảng cách di truyền thấp khi so sánh với cùng đoạn (AY623059) của phân loài này (99,8-100,0% và 0,000-0,002). Tương tự, mẫu CCSL4 và CCSL8 thuộc phân loài *B. p. minor* và *B. p. pilosa* với mức tương đồng và khoảng cách di truyền khi so sánh với các đoạn tham chiếu liên quan AY623058 và AY623057 của hai phân loài này lần lượt là 99,6%; 0,004 và 100%, 0,000. Đa hình trình tự DNA đoạn ITS giữa các đại diện của 3 phân loài giao động từ 97,3-99,2% và khoảng cách di truyền giữa chúng từ 0,008-0,027. Khi so sánh các cặp/nhóm phân loài như *P. b. minor*-*B. p. pilosa* và *B. p. radiata* - *B. p. minor* - *B. p. pilosa* mức tương đồng về trình tự DNA của đoạn ITS lần lượt là 99,2-100,0% và 97,3-98,1% và khoảng cách di truyền giữa chúng giao động từ 0,000-0,008 và 0,019-0,027, cho thấy các đại diện của *P. b. minor* và *B. p. pilosa* có quan hệ di truyền gần nhau hơn so với phân loài *B. p. radiata*. Kết quả này phù hợp với quan hệ chủng loại của 3 phân loài, các đại diện của *P. b. minor* và *B. p. pilosa* chỉ có giá trị bootstrap từ 87-95% và khác biệt di truyền với các đại diện thuộc phân loài *B. p. radiata* trên cây chủng loại tới 98-99% (Hình 1).

Bảng 1. Mức tương đồng về trình tự DNA trên đoạn ITS và sai khác di truyền giữa các mẫu nghiên cứu với cùng đoạn của của các phân loài càng cua tham chiếu trên ngân hàng gen.

#	Tên mẫu	Khoảng cách di truyền (0,000-1,000)											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	B. p.minor AY623057		0,000	0,008	0,004	0,019	0,019	0,019	0,021	0,021	0,021	0,023	0,023
2	CCSL8	100,0		0,008	0,004	0,019	0,019	0,019	0,021	0,021	0,021	0,023	0,023
3	B. p.pilosa AY623058	99,2	99,2		0,004	0,023	0,023	0,023	0,025	0,025	0,025	0,027	0,027
4	CCSL4	99,6	99,6	99,6		0,019	0,019	0,019	0,021	0,021	0,021	0,023	0,023
5	B. p.radiata AY623059	98,1	98,1	97,7	98,1		0,000	0,000	0,002	0,002	0,002	0,004	0,004
6	CCSL1	98,1	98,1	97,7	98,1	100,0		0,000	0,002	0,002	0,002	0,004	0,004
7	CCSL5	98,1	98,1	97,7	98,1	100,0	100,0		0,002	0,002	0,002	0,004	0,004
8	CCSL2	97,9	97,9	97,5	97,9	99,8	99,8	99,8		0,000	0,000	0,006	0,006
9	CCSL7	97,9	97,9	97,5	97,9	99,8	99,8	99,8	100,0		0,000	0,006	0,006
10	CCSL9	97,9	97,9	97,5	97,9	99,8	99,8	99,8	100,0	100,0		0,006	0,006
11	CCSL3	97,7	97,7	97,3	97,7	99,6	99,6	99,6	99,4	99,4	99,4		0,000
12	CCSL6	97,7	97,7	97,3	97,7	99,6	99,6	99,6	99,4	99,4	99,4	100	
		Mức tương đồng về trình tự DNA (%)											

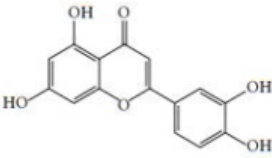
ITS (internal transcribed spacer) là một trong những barcodes được sử dụng phổ biến và hiệu quả để phân loại thực vật vì có mức đa hình trình tự DNA trên 90% (Kress et al., 2005; Kang et al., 2018). Vì vậy

ITS có thể áp dụng để phân biệt các loài cũng như các phân loài và các dạng sinh thái trong mỗi loài càng cua (Song-Zhi et al. 2018, Ya-Lun et al., 2012). Đoạn ITS trong nghiên cứu này có chiều dài khoảng 526bp, bao gồm ITS1+5,8S+ITS2, trong rDNA (ribosomal DNA) là chỉ thị đặc hiệu để phân biệt 9 mẫu hoa càng cua (CCSL1-9) ở Sơn La thành 3 phân loài. Trong đó, mẫu CCSL4 thuộc phân loài *Bidens pillosa minor*, CCSL8 thuộc *B. p. pillosa* và 7 mẫu còn lại thuộc phân loài *B. p. radiata*. Kết quả này phù hợp với thành phần loài được điều tra trong năm 2020 về nguồn hoa thuộc họ Cúc Asteraceae cung cấp mật và phấn hoa cho ong (thông tin cá nhân): số cây của phân loài *Bidens pillosa minor* (có cánh hoa trắng với kích thước trung bình, Hình 1B), *B. p. pillosa* (cánh hoa trắng ngắn nhất) và *B. p. radiata* (cánh hoa màu trắng có kích thước dài nhất) lần lượt chiếm khoảng 8%, 10% và 82%. Như vậy, vào mùa hoa càng cua ở Vân Hồ, Mộc Châu và Yên Châu của Sơn La, tỷ lệ càng cua cung cấp mật, phấn cho ong chủ yếu thuộc phân loài *B. p. radiata*, cho thấy lượng mật ong cũng như phấn hoa người nuôi ong khai thác được từ đàn ong ngoại *A. mellifera* chủ yếu từ hoa của phân loài *B. p. radiata* ở Sơn La.

3.2. Xác định hàm lượng luteolin trong sản phẩm ong từ hoa càng cua

Luteolin [2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-4H-1-benzopyran-4 one] là chất chống ô xy hóa thuộc nhóm flavonoids trong sản phẩm ong càng cua được xác định bằng phương pháp LC-MS/MS (Lê Quang Trung et al. 2018; Perveen et al., 2019). Kết quả phân tích ở Bảng 2 cho thấy, trong 3 loại nền mẫu, luteolin trong phấn hoa càng cua tươi có hàm lượng cao nhất ($42,30\text{mg/kg} \pm 0,48$), tiếp đến phấn hoa đã nảy mầm trong mật ong càng cua với tỷ lệ 1:1 ($34,75\text{mg/kg} \pm 0,62$) và thấp nhất là trong mật ong càng cua ($26,86\text{mg/kg} \pm 0,39$). Hàm lượng luteolin giữa 3 loại nền mẫu có sai khác tin cậy về thống kê ($0,001 \leq P \leq 0,02$).

Bảng 2. Hàm lượng luteolin trong mật ong, phấn hoa càng cua tươi và phấn hoa càng cua tươi đã nảy mầm trong mật ong theo tỷ lệ 1:1

STT	Nền mẫu	Luteolin trong 3 loại nền mẫu	Hàm lượng luteolin (mg/kg)
1	Mật ong		$26,86 \pm 0,39$
2	Phấn hoa tươi		$42,30 \pm 0,48$
3	Phấn hoa đã nảy mầm		$34,75 \pm 0,62$

3.3. Khai thác, bảo quản và sử dụng sản phẩm ong từ hoa càng cua

Để duy trì hàm lượng và hoạt tính sinh học của luteolin trong sản phẩm ong càng cua, kỹ thuật khai thác, bảo quản và sử dụng đóng vai trò quan trọng. Với mật ong nói chung, để có được chất lượng mật ong và hàm lượng tối đa các chất chống ô xy hóa như luteolin, người nuôi ong phải áp dụng kỹ thuật khai thác mật ong trên tầng kế và khai thác mật ong ở các cầu bánh tổ đã có mật ong vít nắp (Hình 2). Với kỹ thuật này mật ong khai thác thường có hàm lượng nước <20% nên hầu như không bị lên men. Nếu mật ong khai thác có thủy phần >20%, người nuôi ong thường phải áp dụng công nghệ hạ thủy phần trong mật ong bằng nhiệt

(40–42°C). Công nghệ này không chỉ làm giảm hàm lượng các chất chống ô xy hóa trong mật ong như letiolin mà có thể hình thành chất gây ung thư HMF. Bên cạnh đó, để bảo quản mật ong đúng kỹ thuật, người nuôi ong và người tiêu dùng phải giữ mật ong trong điều kiện tránh ánh sáng mặt trời với nhiệt độ 20–25°C và phải sử dụng mật ong trong vòng 12 tháng từ khi khai thác để mật ong không bị chuyển màu và tăng HMF (Moniruzzaman et al., 2013). Cũng như các loại mật ong khác, để sử dụng mật ong càng của hiệu quả, người nuôi ong có thể dùng trực tiếp với liều lượng 3 lần/ngày, 10gam (1 thìa canh)/lần; trước bữa ăn 30 phút và trước khi đi ngủ hoặc ngâm với trái cây như chanh đào, táo mèo với tỷ lệ 1:1 hoặc 1,3 kg mật ong cho 1 kg chanh đào (Karell, 1996). Theo Seelinger et al. (2008) và kết quả trong nghiên cứu này, với liều 50 đến 200 ppm Luteolin [2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-4H-1-benzopyran-4 one] từ sản phẩm ong càng của, tương đương với khoảng 2–8 kg mật, 1,2–4 kg phần hoa tươi hoặc 1,5–6 kg phần hoa càng của này mầm có thể giúp người tiêu dùng phòng trị một số bệnh ung thư, trong đó có ung thư da. Tuy nhiên, với phần hoa tươi, con người chỉ hấp thụ được khoảng 5% giá trị các chất dinh dưỡng bám bên ngoài hạt phần hoa. Vì vậy, để sử dụng được sản phẩm này, người tiêu dùng nên dùng phần hoa tươi đã nảy mầm trong mật ong (1:1) như đã được phân tích trong nghiên cứu này.



Hình 2. Cầu mật ong càng của vít nắp trên thùng kế lưng của đàn ong ngoại *Apis mellifera* ở Vân Hồ, Sơn La mùa mật 2020 (Nguồn: Lê Quang Trung, 2020)

4. Kết luận

Kết quả phân tích đa hình trình tự DNA của đoạn ITS trong hệ gen của càng của *Bidens pilosa* cho thấy cây nguồn mật càng của ở Vân Hồ, Mộc Châu và Yên Châu (Sơn la) thuộc 3 phân loài. Trong 9 mẫu hoa thuộc họ cúc Asteraceae đang cung cấp mật và phần hoa cho ong ngoại *Apis mellifera* được thu thập ở Sơn La, 7 mẫu thuộc phân loài *Bidens pilosa radiate*, 1 mẫu thuộc *B. p. minor* và 1 mẫu thuộc phân loài *B. p. pilosa*. Hàm lượng luteolin trong phần hoa càng của tươi, phần hoa càng của đã nảy mầm trong mật ong càng của (1:1) và trong mật ong càng của lần lượt là 42,30mg/kg $\pm$ 0,48, 34,75 mg/kg $\pm$ 0,62 và 26,86mg/kg $\pm$ 0,39. Kết quả nghiên cứu là bằng chứng khoa học về khả năng phòng chống ung thư của mật ong và phần hoa càng của.

5. Tài liệu tham khảo

- Beutler JA, Cardellina JH, Lin CM, Hamel E, Cragg GM, Boyd MR 2003. Centaureidin, a cytotoxic flavone from *Polymnia fruticosa*, inhibits tubulin polymerization. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 3 (4,): 581–584
- Dimo T, Nguelefack TB, Tan PV 2003. Possible mechanisms of action of the neutral extract from *Bidens pilosa* L. leaves on the cardiovascular system of anaesthetized rats. *Phytotherapy Research*. 17 (10): 1135–1139.
- Kang Y, Deng Z, Zang R, Long W 2018. DNA barcoding analysis and phylogenetic relationships of tree species in tropical cloud forests. *Science reports* (7): 12564 | DOI:10.1038/s41598-017-13057-0
- Krell R 1996. Value-added products from beekeeping (Chapter 2: Honey). *FAO Agricultural services Bulletin*. 124 (<http://www.fao.org/docrep/w0076e/w0076e14.htm>).
- Kress WJ, Wurdack KJ, Zimmer EA, Weigt LA, Janzen DH 2005. Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *PNAS*. 102 (23): 8369–8374
- Kumar S., Tamura K. and Nei M 2004. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Brief. Bioinform.*, 5: 150–163
- Khanh TD, Cong LC, Xuan TD, Uezato Y, Deba F, Toyama T, Tawata S 2009. Allelopathic plant: Hairy beggarticks (*Bidens pilosa*). *Allelopathy J*. 24:243–254
- Lee WJ, Wu LF, Chen WK, Wang CJ, Tseng TH 2006. Inhibitory effect of luteolin on hepatocyte growth factor/scatter factor-induced HepG2 cell invasion involving both MAPK/ERKs and PI3K-Akt pathways. *Chemico-Biological Interactions*. 160 (2): 123–133.
- 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 2018. Nghiên cứu khả năng chống oxi 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.
- Moniruzzaman M, Sulaiman SA, Azlan SAM, Gan SH 2013. Two-Year Variations of Phenolics, Flavonoids and Antioxidant Contents in Acacia Honey. *Molecules*. 18: 694–710
- Perveen S, Orfali R, Al-Taweel AM, Khan A, Alghanem B, Shaibah H 2019. Simultaneous identification of phenolic and flavonoid contents in bee pollen by HPLC-ESI-MS data. *Biomedical Research*. 30 (5): 770–774
- Seelinger G, Merfort I, Wolffe U, Schempp CM 2008. Anticarcinogenic effects of the flavonoid luteolin. *Molecules*. 13 (10): 2628–2651
- Song-Zhi X., Zhen-Yu L., Xiao-Hua J., Xiao-Hua J. 2018. DNA barcoding of invasive plants in China: A resource for identifying invasive plants. *Mol. Eco. Res.* DOI: 10.1111/1755-0998.12715
- Tsai L.C, Wang JC, Hsieh HM, Liu KL, Linacre AMT, Lee JCI 2008. *Bidens* identification using the noncoding regions of chloroplast genome and nuclear ribosomal DNA. *Forensic Science International Genetics*. 2 (1): 35–40.
- Wang J, Yang H, Lin ZW, Sun HD. Flavonoids from *Bidens pilosa* var. *radiata*. *Phytochemistry*. 46 (7):1 275–1278
- Wang R, Wu QX, and Shi YP 2010. Polyacetylenes and flavonoids from the aerial parts of *Bidens pilosa*. *Planta Medica*. 76 (9): 893–896
- Ya-Lun H, Shiang-Jiun C., Wen-Yuan K. 2012. Floral biology of *Bidens pilosa* var. *radiata*, an invasive plant in Taiwan. *Botanical Studies*. 53: 501–507.
- Yit CC and Das NP 1994. Cytotoxic effect of butein on human colon adenocarcinoma cell proliferation. *Cancer Letters*. 82 (1): 65–72.