

So sánh hoạt tính kháng khuẩn của một số loại mật ong Việt Nam

Phạm Như Quỳnh¹, Lưu Hoàng Bách^{2,3}, Vũ Thu Trang¹, Cung Thị Tố Quỳnh^{1,2*}

¹*Viện Công nghệ Sinh học & Công nghệ Thực phẩm,*

Trường Đại học Bách khoa Hà Nội, Việt Nam

²*Viện Nghiên cứu và phát triển ứng dụng các hợp chất thiên nhiên,*

Trường Đại học Bách khoa Hà Nội, Việt Nam

³*Khoa Hóa học và Hóa sinh, Trường Đại học Miami, Oxford, Ohio, Hoa Kỳ*

(Ngày đến tòa soạn: 07/03/2022; Ngày chấp nhận đăng: 29/3/2022.)

Tóm tắt

Mật ong là một sản phẩm của thiên nhiên, được biết đến với nhiều công dụng khác nhau. Hoạt tính kháng khuẩn của mật ong là một trong những yếu tố quan trọng làm nên lợi ích của mật ong. Mục đích của nghiên cứu nhằm đánh giá sơ bộ chất lượng và khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của một số loại mật ong Việt Nam (thông qua xác định đường kính vòng tròn kháng khuẩn, nồng độ ức chế tối thiểu - MIC và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu - MBC với tám chủng vi khuẩn). Kết quả nghiên cứu cho thấy hầu hết các mẫu mật đều đáp ứng các chỉ tiêu hóa lý theo TCVN 12605:2019 với hàm lượng đường khử từ 67 - 72 g/100g; hàm lượng HMF: $18,06 \pm 0,09$ đến $23,80 \pm 0,25$ mg/kg; hoạt lực diataza: $5,58 \pm 0,46$ đến $25,27 \pm 0,05$ Schad. Tất cả các mẫu mật ong đều thể hiện hoạt tính kháng khuẩn đối với tất cả tám chủng vi khuẩn nghiên cứu: đường kính vòng tròn kháng khuẩn của các mẫu mật ong dao động từ $8,50 \pm 0,29$ đến $22,33 \pm 1,53$ (mm), MIC từ $0,15 \pm 0,00$ đến $0,90 \pm 0,14$ (g/ml). Mật ong cao su thể hiện khả năng diệt khuẩn rõ ràng ở nồng độ MBC từ 0,25 g/mL.

Từ khóa: Mật ong Việt Nam, hoạt tính kháng khuẩn, đường kính vòng tròn kháng khuẩn, nồng độ ức chế tối thiểu (MIC), nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC).

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chất ngọt tự nhiên được ong mật thu từ mật hoa, dịch tiết thực vật hoặc dịch tiết của côn trùng sống trên cây được chuyển hóa, loại nước rồi trữ lại trong tổ cho đến khi chín hoàn toàn, không được pha trộn [1]. Mật ong có giá trị dinh dưỡng cao và giàu hoạt tính sinh học. Phần lớn khối lượng mật ong là đường (chiếm khoảng 80 % khối lượng mật ong) và nước (chiếm khoảng 17 % khối lượng mật ong) [2]. Phần nhỏ còn lại là các khoáng chất, vitamin, acid, phenolic...

*Điện thoại: 0903440709

Email: quynh.cungthito@hust.edu.vn

Hoạt tính kháng khuẩn của mật ong là một trong những phát hiện quan trọng về mật ong và lần đầu tiên được công nhận vào năm 1892 bởi nhà khoa học người Hà Lan Van Ketel [3]. Mật ong được sử dụng như một vị thuốc trong y học, chữa một số loại bệnh như: chữa lành vết thương, nhuận tràng, ho, đau họng, khử trùng tại chỗ, ...[2]. Mật ong có khả năng kháng lại một số vi khuẩn (bao gồm cả vi khuẩn Gram âm và vi khuẩn Gram dương) như: *Escherichia coli* (*E. coli*), *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* kháng methicillin (MRSA), *Pseudomonas aeruginosa*,... [4-6]. Cơ chế hoạt tính kháng khuẩn của mật ong tương đối phức tạp và chưa được rõ ràng. Hoạt tính kháng khuẩn của mật ong có thể bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố khác nhau như hàm lượng đường, pH, H_2O_2 ... Hàm lượng đường cao cùng với lượng nước thấp dẫn đến áp suất thẩm thấu trong mật cao, làm tế bào vi khuẩn bị mất nước, không thể sinh trưởng [4]. Bên cạnh đó, pH của mật ong nằm trong khoảng 3,2 đến 4,5, điều này làm mật ong có tính acid, ảnh hưởng đến sự phát triển của vi khuẩn [4-5].

M. I. Zainol và cộng sự [7] đã nghiên cứu về hoạt tính kháng khuẩn của 5 mẫu mật ong (mật ong keo, mật ong gelam, mật ong kelulut, mật ong dừa và mật ong manuka) tại Malaysia và so sánh dựa trên ba chỉ tiêu chính: đường kính của vòng tròn kháng khuẩn, nồng độ kháng khuẩn tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC). Kết quả thu được cho thấy, tất cả các mẫu mật đều cho thấy khả năng kháng khuẩn đối với bốn chủng vi khuẩn: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) và *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Escherichia coli* (ATCC 25922) và *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). Mật ong gelam có hoạt tính kháng khuẩn mạnh nhất, và *S. aureus* nhạy cảm nhất với mật ong kelulut, *E. coli* lại bị ảnh hưởng nhiều nhất bởi mật ong gelam, *P. aeruginosa* cũng nhạy cảm với mật ong tualang và manuka và *B. cereus* rất dễ bị ảnh hưởng bởi mật ong tualang.

Tại Việt Nam, Tác giả Lê Quang Trung [8] đã nghiên cứu về hoạt tính kháng khuẩn của mật ong Bạc Hà của Hà Giang thông qua việc xác định diện tích vòng tròn kháng khuẩn, hàm lượng glyoxal (GO) và methylglyoxal (MGO). Khả năng kháng khuẩn của mật ong bạc hà và hai loại mật ong rừng được thực hiện đối với vi khuẩn *S. aureus*. Kết quả cho thấy, cả hai loại mật ong rừng đều không xác định được vòng tròn kháng khuẩn tại nồng độ từ 20 - 80 %. Trong khi, mật ong bạc hà cho thấy khả năng kháng khuẩn tại nồng độ 20 %. Khi so sánh ba loại mật ong với nhau, mật ong bạc hà cho khả năng kháng khuẩn cao nhất. Bên cạnh đó, hàm lượng GO và MGO đo được của mật ong bạc hà cao hơn so với một số mẫu mật ong khác trong nghiên cứu.

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá sơ bộ một số chỉ tiêu hóa lý của các sản phẩm mật ong chính thu nhận tại Việt Nam, đồng thời đánh giá và so sánh hoạt tính kháng khuẩn của 10 mẫu mật ong tự nhiên ở nước ta và 03 mẫu mật ong đã sơ chế, thông qua việc xác định đường kính của vòng tròn kháng khuẩn, nồng độ kháng khuẩn tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC). Kết quả nghiên cứu giúp đóng góp vào bộ cơ sở dữ liệu về các mẫu mật ong chính của Việt Nam, là cơ sở để phân loại và ứng dụng mật ong dùng trong bảo quản thực phẩm.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1.1. Đối tượng nghiên cứu

1.1.1. Mẫu mật ong

Các mẫu mật ong tự nhiên được người nuôi ong cung cấp từ nhiều địa bàn và nguồn hoa khác nhau ở Việt Nam (Bảng 1). Mẫu được thu thập theo TCVN 5261:1990 [9] và được chuyển về Phòng thí nghiệm của Viện Nghiên cứu và phát triển ứng dụng các hợp chất thiên nhiên (Trường Đại học Bách khoa Hà Nội) và được bảo quản ở nhiệt độ phòng đến khi phân tích.

Ba mẫu mật ong “sơ chế” thu được bằng cách hạ thủy phần nhằm giảm hàm lượng nước có trong mẫu mật từ mẫu mật ong nguyên liệu là mật hoa rừng, bao gồm mẫu mật ong hoa rừng 36, mật ong hoa rừng 42, mật ong hoa rừng 52 bằng công nghệ JEVA [10], sử dụng không khí khô ở nhiệt độ 36°C, 42°C, 52°C và áp suất môi trường.

Bảng 1. Các mẫu mật ong được sử dụng trong nghiên cứu

<i>Stt</i>	<i>Nguồn gốc thực vật</i>	<i>Tình trạng</i>	<i>Nguồn gốc địa lý</i>	<i>Thời gian lấy mẫu</i>
1	Điều	Tự nhiên	Bình Phước	09/2019
2	Cà phê 1	Tự nhiên	Đắc Nông, Tây Nguyên	09/2019
3	Cao su 1	Tự nhiên	Bình Phước	09/2019
4	Bạc hà	Tự nhiên	Hà Giang	09/2019
5	Nhãn	Tự nhiên	Bắc Giang	04/2020
6	Cúc quỳ	Tự nhiên	Mộc Châu, Sơn La	04/2020
7	Xuyến chi	Tự nhiên	Sơn La	04/2020
8	Cà phê 2	Tự nhiên	Cầu Đất, Lâm Đồng	03/2020
9	Cao su 2	Tự nhiên	Dầu Tiếng, Bình Dương	03/2020
10	Hoa rừng	Tự nhiên	Cao Phong, Hòa Bình	03/2020
11	Hoa rừng 36	Sơ chế	Cao Phong, Hòa Bình	04/2020
12	Hoa rừng 42	Sơ chế	Cao Phong, Hòa Bình	04/2020
13	Hoa rừng 52	Sơ chế	Cao Phong, Hòa Bình	04/2020

1.1.2. Các chủng vi khuẩn

Các chủng vi khuẩn được sử dụng trong nghiên cứu được cung cấp từ Hệ thống chủng chuẩn của Mỹ (ATCC), gồm:

- Vi khuẩn Gram âm: Salmonella Typhimurium ATTC 14028, Proteus vulgaris ATCC 49132, Enterobacter aerogenes ATCC 13048, Escherichia coli ATCC 25922, Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027.

- Vi khuẩn Gram dương: Bacillus cereus ATTC 13061, MRSA ATCC 33591 (Methicillin-resistant Staphylococcus aureus), MRSE ATCC 35984 (Methicillin-Resistant Staphylococcus Epidermidis).

1.2. Phương pháp nghiên cứu

1.2.1. Xác định các chỉ tiêu hóa lý

Hàm lượng nước và hàm lượng đường khử tự do được xác định theo TCVN 5263:1990 [11] và TCVN 5266:1990 [12]. Hàm lượng acid tổng và hoạt lực diastase của mật ong được xác định theo TCVN 5271:2008 và TCVN 5268:1990 [13-14]. Hàm lượng 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) được xác định theo TCVN 5270:2008 [15]. Mỗi thí nghiệm được thực hiện 03 lần, số liệu thu được trong các thí nghiệm được biểu diễn bằng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (Standard Deviation - SD).

1.2.2. Xác định đường kính vòng tròn kháng khuẩn

Đường kính vòng tròn kháng khuẩn được xác định bằng phương pháp khuếch tán đĩa Kirby-Bauer có chỉnh sửa [16]. 100 μ L dịch vi khuẩn (10^6 CFU/mL) được cấy đều trên đĩa thạch Nutrient Broth (NB). Các giếng với đường kính 8 mm được đục lỗ trên đĩa thạch. Nhỏ 100 μ L dịch mật ong vào các giếng đã tạo trên, nuôi cấy ở 37°C trong 24 h. Đường kính của vùng ức chế được đo bằng mm. Mỗi thí nghiệm được thực hiện 3 lần, số liệu thu được trong các thí nghiệm được biểu diễn bằng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (SD).

1.2.3. Xác định nồng độ kháng khuẩn tối thiểu MIC

Các MIC (Nồng độ ức chế tối thiểu) của mật ong được xác định bằng phương pháp pha loãng trên đĩa 96 giếng. Một dãy nồng độ mật ong đã được chuẩn bị trong môi trường Mueller Hinton Broth (MHB). Mỗi giếng chứa 180 μ L mật ong và môi trường MHB, 20 μ L dịch vi khuẩn ở nồng độ 10^6 CFU/mL. Thể tích cuối cùng trong mỗi giếng là 200 μ L. Mẫu kiểm chứng dương chứa vi khuẩn và môi trường MHB; Mẫu kiểm chứng âm chứa môi trường MHB và mật ong được thực hiện trong điều kiện tương tự. Sau khi ủ 24 h tại 37°C và đĩa 96 giếng đã được quan sát bằng cách kiểm tra trực quan về sự hiện diện và không có sự tăng trưởng (độ đục). MIC là nồng độ mật ong thấp nhất ức chế sự phát triển của vi khuẩn (không có sự tăng trưởng hoặc độ đục có thể nhìn thấy). Mỗi thí nghiệm được thực hiện 03 lần.

1.2.4. Xác định nồng độ diệt khuẩn tối thiểu MBC

Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) được đánh giá khả năng sống sót các chủng vi sinh vật sau khi nuôi cấy trong môi trường có chứa mật ong ở nồng độ là bội số lần của nồng độ ức chế tối thiểu. 10 μ L dung dịch được lấy từ các giếng trong đĩa 96 giếng có nồng độ mật ong lớn hơn nồng độ MIC, được nuôi trên các đĩa thạch môi trường Mueller Hilton Agar. Các đĩa được ủ ở 37°C trong 24 h. MBC là nồng độ mật ong tối thiểu không còn thấy sự sống sót của vi sinh vật kiểm định. Mỗi thí nghiệm được thực hiện 03 lần.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Các chỉ tiêu hóa lý của các mẫu mật ong

Kết quả xác định các chỉ tiêu hóa lý được trình bày trong Bảng 2.

Bảng 2. Các chỉ tiêu hóa lý của các mẫu mật ong

<i>Mẫu</i>	<i>Hàm lượng nước (%)</i>	<i>Hàm lượng đường khử tự do (g/100g)</i>	<i>Độ acid (meq/1000 g)</i>	<i>Hoạt lực diatase (đơn vị Schade)</i>	<i>Hàm lượng HMF (mg/kg)</i>
<i>Điều</i>	22,77 ± 0,06	71,05 ± 0,30	41,47 ± 0,50	25,27 ± 0,05	18,06 ± 0,09
<i>Cà phê 1</i>	22,93 ± 0,12	69,81 ± 0,32	43,53 ± 0,50	17,28 ± 0,05	18,41 ± 0,15
<i>Cao su 1</i>	22,90 ± 0,10	70,01 ± 0,31	34,83 ± 0,29	20,97 ± 0,08	18,31 ± 0,09
<i>Bạc Hà</i>	22,73 ± 0,06	67,81 ± 0,33	29,83 ± 0,29	22,76 ± 0,07	18,61 ± 0,09
<i>Nhãn</i>	20,57 ± 0,12	72,62 ± 0,39	49,83 ± 0,29	13,95 ± 0,10	21,01 ± 0,09
<i>Cúc quỳ</i>	19,77 ± 0,06	70,78 ± 0,27	49,40 ± 0,53	11,63 ± 0,09	20,86 ± 0,09
<i>Xuyến chi</i>	20,23 ± 0,06	70,23 ± 0,34	39,07 ± 0,31	10,42 ± 0,07	21,26 ± 0,15
<i>Cà phê 2</i>	23,07 ± 0,06	70,97 ± 0,32	52,17 ± 0,29	8,29 ± 0,11	18,16 ± 0,09
<i>Cao su 2</i>	20,77 ± 0,25	72,61 ± 0,39	47,60 ± 0,17	9,07 ± 0,04	18,41 ± 0,15
<i>Hoa rừng</i>	25,07 ± 0,12	70,14 ± 0,10	52,20 ± 0,30	9,71 ± 0,26	18,77 ± 0,18
<i>Hoa rừng 36</i>	16,77 ± 0,15	71,34 ± 0,13	57,90 ± 0,50	8,97 ± 0,41	20,21 ± 0,15
<i>Hoa rừng 42</i>	16,67 ± 0,15	71,38 ± 0,14	57,80 ± 0,30	8,15 ± 0,23	21,51 ± 0,18
<i>Hoa rừng 52</i>	16,63 ± 0,12	71,10 ± 0,07	57,70 ± 0,30	5,58 ± 0,46	23,80 ± 0,25
TCVN 12605:2019	≤ 23	≥ 45	≤ 50	≥ 8	≤ 40

Ghi chú: Kết quả được thể hiện theo giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 03 lần

Đa phần các mẫu mật ong đều có hàm lượng nước phù hợp với TCVN 12605:2019, trừ mật ong hoa rừng (25,07 ± 0,12 %). Hàm lượng nước dao động từ 16,63 ± 0,12 đến 25,07 ± 0,12 %. Các mẫu mật ong chế biến có hàm lượng nước giảm đáng kể so với mẫu mật ong nguyên liệu (Mật ong hoa rừng), giảm từ 8,30 - 8,44 %..

Hàm lượng đường khử tự do của mười ba mẫu mật ong đều đạt theo TCVN. Mật ong nhãn có hàm lượng đường khử tự do lớn nhất (72,62 ± 0,39 g/100g). Hàm lượng đường khử tự do của ba mẫu mật ong hạ thủy phần lớn hơn so với mẫu nguyên liệu (Mật ong hoa rừng); có thể do hàm lượng nước giảm, hàm lượng đường trong các mẫu mật ong hạ thủy phần có xu hướng tăng. Bên cạnh đó, độ acid của các mẫu mật ong nằm trong khoảng từ 29,83 ± 0,29 đến 57,90 ± 0,50 meq/1000 g. Mật ong cà phê 2, mật ong hoa rừng, mật ong hoa rừng 36, mật ong hoa rừng 42, mật ong hoa rừng 52 là những mẫu mật ong không đạt theo quy định của TCVN 12605:2019. Các mẫu mật ong hạ thủy phần có độ acid cao hơn mẫu mật ong nguyên liệu (từ 5,5 - 5,7 meq/1000g).

Tất cả các mẫu mật ong tươi đều có hàm lượng HMF và hoạt lực diatasa đạt TCVN 12605:2019. Mật ong điều là mật ong có chỉ số của hai chỉ tiêu này tốt nhất (Hàm lượng

HMF: $18,06 \pm 0,09$ mg/kg; hoạt lực diataza: $25,27 \pm 0,05$ Schade). Với các mẫu hạ thủy phần, trừ mật ong hoa rừng 52 có hoạt lực diataza ($5,58 \pm 0,46$ Schade) không đạt tiêu chuẩn, tất cả đều phù hợp với TCVN. Trong điều kiện nghiên cứu, hoạt lực diataza có xu hướng giảm theo theo nhiệt độ tách nước (tương ứng các mẫu tách nước tại 36°C , 42°C và 52°C) và hàm lượng HMF thì ngược lại. Hai chỉ tiêu này cần được nghiên cứu sâu hơn nữa để có thể sử dụng làm tiêu chí đánh giá chất lượng của các mẫu mật ong có chế biến nhiệt. Các kết quả nghiên cứu trên đây đã bước đầu góp phần đưa ra được các chỉ tiêu chất lượng của các mẫu mật ong thu nhận từ các vùng nguyên liệu khác nhau tại Việt Nam.

Bảng 3. Đường kính vòng tròn kháng khuẩn của các mẫu mật ong (mm)

Mẫu mật ong	Chủng vi khuẩn							
	<i>Bacillus cereus</i>	MRSE	MRSA	<i>Salmonella Typhimurium</i>	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Escherichia coli</i>
Điều	18,67 $\pm 0,58$	17,67 $\pm 0,58$	21,50 $\pm$ 0,58	18,67 $\pm 0,58$	20,67 $\pm 0,58$	13,50 $\pm 2,08$	19,67 $\pm 0,58$	22,33 $\pm 1,53$
Cà phê 1	18,33 $\pm 0,58$	17,33 $\pm 0,58$	17,50 $\pm$ 0,58	18,50 $\pm 0,50$	21,67 $\pm 0,58$	14,50 $\pm 0,58$	18,33 $\pm 0,58$	19,67 $\pm 1,53$
Cao su 1	16,67 $\pm 0,58$	14,67 $\pm 0,58$	19,50 $\pm$ 0,58	17,00 $\pm 1,00$	19,33 $\pm 0,58$	14,50 $\pm 1,00$	18,33 $\pm 0,58$	17,00 $\pm 1,00$
Bạc Hà	11,00 $\pm 1,00$	11,67 $\pm 0,58$	13,00 $\pm$ 0,58	14,17 $\pm 0,29$	16,33 $\pm 0,58$	12,50 $\pm 0,58$	15,33 $\pm 0,58$	10,00 $\pm 1,00$
Nhãn	14,00 $\pm 1,00$	12,67 $\pm 0,58$	17,50 $\pm$ 0,58	14,67 $\pm 0,58$	17,33 $\pm 0,58$	8,50 $\pm 1,00$	15,67 $\pm 0,58$	14,33 $\pm 1,15$
Cúc quỳ	14,67 $\pm 0,58$	14,67 $\pm 0,58$	19,50 $\pm$ 0,58	17,67 $\pm 0,58$	20,33 $\pm 0,58$	11,50 $\pm 1,00$	16,33 $\pm 0,58$	20,00 $\pm 2,00$
Xuyến chi	12,33 $\pm 0,58$	12,33 $\pm 0,58$	15,50 $\pm$ 0,58	13,83 $\pm 0,29$	15,33 $\pm 0,58$	10,50 $\pm 0,58$	15,33 $\pm 0,58$	12,33 $\pm 0,58$
Cà phê 2	17,67 $\pm 1,53$	13,67 $\pm 0,58$	17,50 $\pm$ 0,58	17,83 $\pm 0,29$	20,67 $\pm 0,58$	14,00 $\pm 1,15$	18,33 $\pm 0,58$	15,67 $\pm 1,53$
Cao su 2	16,67 $\pm 1,53$	14,50 $\pm 0,50$	15,50 $\pm$ 0,58	16,67 $\pm 0,58$	21,67 $\pm 0,58$	13,50 $\pm 0,58$	17,67 $\pm 0,58$	16,67 $\pm 0,58$
Hoa rừng	17,00 $\pm 1,00$	13,00 $\pm 0,58$	14,50 $\pm$ 0,58	16,80 $\pm 0,76$	16,50 $\pm 1,00$	11,50 $\pm 0,58$	16,30 $\pm 0,58$	13,50 $\pm 0,76$
Hoa rừng 36	14,67 $\pm 0,58$	14,17 $\pm 0,76$	11,50 $\pm$ 0,58	16,80 $\pm 0,58$	14,50 $\pm 0,76$	9,50 $\pm 0,58$	17,50 $\pm 1,53$	10,50 $\pm 0,58$
Hoa rừng 42	15,33 $\pm 0,58$	13,83 $\pm 0,58$	13,00 $\pm$ 0,58	17,33 $\pm 0,76$	15,50 $\pm 0,76$	10,00 $\pm 0,58$	17,50 $\pm 0,76$	9,50 $\pm 0,56$
Hoa rừng 52	14,67 $\pm 1,53$	11,83 $\pm 0,30$	12,50 $\pm$ 0,58	14,21 $\pm 0,56$	10,50 $\pm 0,58$	10,50 $\pm 0,58$	14,50 $\pm 0,58$	8,50 $\pm 0,29$

Ghi chú: Kết quả được thể hiện theo giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 03 lần

3.2. Kết quả hoạt tính kháng khuẩn của các mẫu mật ong

3.2.1. Đường kính vòng tròn kháng khuẩn

Đường kính vòng tròn kháng khuẩn của mười ba mẫu mật ong đã được xác định trên tám chủng vi khuẩn kiểm định bao gồm ba chủng vi khuẩn Gram dương và năm chủng vi khuẩn Gram âm. Kết quả được hiển thị trong Bảng 3.

Tất cả các mẫu mật ong đều có đường kính vòng tròn kháng khuẩn lớn hơn 8mm (đường kính giếng). Mật ong đều có đường kính vòng tròn kháng khuẩn lớn nhất đối với hầu hết các chủng vi khuẩn. Các mẫu mật ong hạ thủy phần cũng cho thấy độ nhạy đối với các chủng vi khuẩn. Tuy nhiên, đa phần đều kém hơn so với mẫu mật nguyên liệu trong phạm vi nghiên cứu này. Như vậy, tất cả các mẫu mật ong cho thấy hoạt tính kháng khuẩn đối với tám chủng vi khuẩn bao gồm: chủng vi khuẩn trong thực phẩm (*Salmonella* Typhimurium, *Bacillus cereus*,...), các chủng gây bệnh đường tiêu hóa (*Proteus*, *Enterobacter aerogenes*,...), chủng kháng kháng sinh (MRSA, MRSE),... Tuy nhiên, có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến đường kính vòng tròn kháng khuẩn như: độ nhớt (mật ong có độ nhớt càng cao thì càng khó khuếch tán ra môi trường), sự phân bố các thành phần hoạt tính kháng khuẩn (như defensin-1, glucose oxidase đặc trưng với trọng lượng phân tử cao) qua môi trường thạch [6-7],... Trong một nghiên cứu của A. Meshref Esmail và cộng sự [17], tiến hành khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của mật ong hành và mật ong lấy mật từ họ cam quýt tại Ai Cập, thì đường kính của vòng tròn kháng khuẩn đối với vi khuẩn *Bacillus cereus* là 27 – 35 mm, vi khuẩn MRSA từ 24 – 32 mm, với đường kính giếng là 10 mm. Từ đó có thể thấy, đường kính vòng tròn kháng khuẩn trong nghiên cứu này có xu hướng nhỏ hơn trong nghiên cứu của A. Meshref Esmail và cộng sự. Tuy nhiên, tất cả mật ong đều cho thấy sự nhạy cảm với các loại vi khuẩn nghiên cứu. Chính vì vậy, đường kính vòng tròn kháng khuẩn chỉ là bước sơ bộ để thấy khả năng kháng khuẩn của các mẫu mật ong với các chủng vi khuẩn.

3.2.2. Nồng độ kháng khuẩn tối thiểu (MIC) của các mẫu mật ong

Dựa trên độ đục của giếng (với mẫu kiểm chứng dương và kiểm chứng âm), MIC là nồng độ mật ong thấp nhất mà ức chế sự phát triển của vi sinh vật (Bảng 4).

Kết quả nghiên cứu cho thấy, tất cả các loại mật ong đều thể hiện khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn gây bệnh với nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) dao động trong khoảng từ 0,15 - 0,9 g/mL. Các mẫu mật ong cà phê 1 và mật ong cà phê 2 thể hiện hoạt tính kháng khuẩn cao nhất trên tất cả các chủng vi khuẩn thử nghiệm với nồng độ MIC thấp nhất. Mẫu mật ong hoa rừng 52 có giá trị MIC cao nhất trong ba mẫu mật ong hạ thủy phần. Nhiệt độ tách nước cao có thể là nguyên nhân làm ảnh hưởng đến khả năng kháng khuẩn của mật ong. Một số nghiên cứu tương tự với mẫu mật ong tại Malaysia của M. I. Zainol và các cộng sự cũng chứng minh hoạt tính kháng khuẩn của mật ong với nồng độ ức chế tối thiểu giao động từ 10 - 25 % w/v đối với chủng *Pseudomonas aeruginosa*; 12,5-

25 % w/v với chủng *Escherichia coli*, và 15 - 20 % w/v với chủng *Bacillus cereus* [7]. Kết quả nghiên cứu cho thấy, mật ong tại Việt Nam thể hiện hoạt tính kháng khuẩn đa dạng với cả vi khuẩn Gram âm, gram dương và cả vi khuẩn kháng kháng sinh.

Bảng 4. Nồng độ kháng khuẩn tối thiểu (MIC) của các mẫu mật ong

Mẫu	Chủng vi khuẩn							
	<i>Bacillus cereus</i>	MRSE	MRSA	<i>Salmonella Typhimurium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Escherichia coli</i>
Điều	0,22 ± 0,06	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,22 ± 0,06	0,22 ± 0,06	0,50 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,22 ± 0,14
Cà phê 1	0,22 ± 0,06	0,22 ± 0,06	0,25 ± 0,00	0,22 ± 0,06	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,14
Cao su 1	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,33 ± 0,14	0,22 ± 0,06	0,25 ± 0,00	0,33 ± 0,14	0,18 ± 0,06	0,25 ± 0,06
Bạc Hà	0,50 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,25 ± 0,29
Nhãn	0,50 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,33 ± 0,14	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,50 ± 0,14
Cúc quỳ	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,14
Xuyến chi	0,50 ± 0,00	0,42 ± 0,14	0,50 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,42 ± 0,14	0,50 ± 0,00
Cà phê 2	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,15 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,22 ± 0,14
Cao su 2	0,22 ± 0,06	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,22 ± 0,06	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,18 ± 0,14
Hoa rừng	0,42 ± 0,14	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00
Hoa rừng 36	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,25 ± 0,06	0,25 ± 0,06	0,50 ± 0,00	0,25 ± 0,56	0,50 ± 0,00
Hoa rừng 42	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,25 ± 0,56	0,25 ± 0,06	0,50 ± 0,00	0,25 ± 0,56	0,50 ± 0,06
Hoa rừng 52	0,25 ± 0,00	0,75 ± 0,06	0,50 ± 0,00	0,50 ± 0,06	0,75 ± 0,06	0,50 ± 0,00	0,50 ± 0,56	0,90 ± 0,14

Ghi chú: Kết quả được thể hiện theo giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Mỗi thí nghiệm lặp lại 03 lần

3.2.3. Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của các mẫu mật ong

Kết quả nghiên cứu nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của các mẫu mật ong được thể hiện trong Bảng 5.

Bảng 5. Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của các mẫu mật ong

Mẫu	Chủng vi khuẩn							
	<i>Bacillus cereus</i>	MRSE	MRSA	<i>Salmonella Typhimurium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Escherichia coli</i>
Điều	> 0,90 ± 0,00	0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	0,90 ± 0,00	0,90 ± 0,00	0,50 ± 0,00
Cà phê 1	0,75 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	0,90 ± 0,00	0,90 ± 0,00	0,25 ± 0,00
Cao su 1	0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	0,50 ± 0,00
Bạc Hà	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	0,50 ± 0,00
Nhãn	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	0,50 ± 0,00
Cúc quỳ	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	0,25 ± 0,00
Xuyến chi	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	0,50 ± 0,00
Cà phê 2	0,90 ± 0,00	0,90 ± 0,00	0,90 ± 0,00	0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	0,90 ± 0,00	0,90 ± 0,00	0,25 ± 0,00
Cao su 2	0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	0,50 ± 0,00
Hoa rừng	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	0,50 ± 0,00
Hoa rừng 36	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	0,50 ± 0,00
Hoa rừng 42	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	0,50 ± 0,00
Hoa rừng 52	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00	> 0,90 ± 0,00

Ghi chú: Kết quả được thể hiện theo giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 03 lần

Mật ong thể hiện khả năng diệt khuẩn tốt với chủng *E. coli* với nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) dao động trong khoảng 0,25 - 0,5 g/mL. Trong đó, mật ong cà phê 1, mật ong cúc quỳ, mật ong cà phê 2 có nồng độ diệt khuẩn tối thiểu tốt nhất với chủng *E. coli*. Tuy nhiên, khả năng diệt khuẩn không thể hiện rõ ràng với nồng độ mật ong khảo sát. Với các mẫu mật ong hạ thủy phần, đa phần đều không cho hiệu quả diệt khuẩn và không có sự khác biệt so với mẫu mật ong nguyên liệu (mật ong hoa rừng). Trong một nghiên cứu khác của Sushil Anand và cộng sự tiến hành trên một số loại mật ong Manuca của Úc, kết quả MIC của các mẫu mật ong này trong khoảng từ 6,25 - 25 % w/v, MBC của các mẫu đều là 25 % w/v đối với chủng *Pseudomonas aeruginosa*. Cũng trong nghiên cứu này, đối với

chủng *Escherichia coli*, MIC của các mẫu mật ong dao động trong khoảng 6,25 – 25 % w/v, MBC của các mẫu là từ 12,5 - 25 %w/v [18], ... Từ đó cho thấy, hiệu quả diệt khuẩn của các mẫu mật ong trong phạm vi nghiên cứu này không tốt bằng các mẫu mật Manuca trong bài nghiên cứu của Sushil Anand và cộng sự đối với hai chủng vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*. Tuy nhiên, đây cũng chỉ là những kết quả khảo sát ban đầu, cần nghiên cứu mở rộng sâu hơn để khẳng định các kết quả. Các kết quả nghiên cứu trên đây giúp đóng góp vào bộ cơ sở dữ liệu về các mẫu mật ong chính của Việt Nam và hướng ứng dụng mật ong dùng trong bảo quản thực phẩm.

4. KẾT LUẬN

Các loại mật ong tự nhiên thu nhận tại Việt Nam có các chỉ tiêu hóa lý đáp ứng theo TCVN 12605:2019 với thủy phần $16,63 \pm 0,12$ đến $25,07 \pm 0,12$ %, hàm lượng đường khử từ 67 - 72 g/100 g; hàm lượng HMF: $18,06 \pm 0,09$ đến $23,80 \pm 0,25$ mg/kg; hoạt lực diataza: $5,58 \pm 0,46$ đến $25,27 \pm 0,05$ Schad. Các mẫu mật ong hạ thủy phần đều làm giảm đáng kể hoạt lực diataza và hàm lượng HMF.

Các mẫu mật ong bao gồm mật ong tự nhiên và mật ong sơ chế (hạ thủy phần) đều thể hiện khả năng kháng khuẩn với cả tám chủng vi khuẩn nghiên cứu bao gồm 05 vi khuẩn Gram âm, 03 vi khuẩn Gram dương. Tác dụng kháng khuẩn của mật ong của các chủng vi khuẩn Gram âm cao hơn so với các chủng vi khuẩn Gram dương. Mật ong cà phê 1 và cà phê 2 cho hiệu quả kháng khuẩn tốt nhất trong các mẫu mật ong đối với hầu hết các chủng vi khuẩn. Tuy nhiên, tất cả các mẫu mật ong đều thể hiện khả năng ức chế sự phát triển của vi sinh vật nhưng chỉ thể hiện hiệu quả diệt khuẩn với chủng *E. coli*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Nationaal Standard TCVN 12605:2019 on Honey, 2019.
- [2]. T. Eteraf-Oskouei and M. Najafi, "Traditional and Modern Uses of Natural Honey in Human Diseases: A Review," *Iran Journal Basic Medicine Science*, vol. 16, no. 6, pp. 731-742, 2013.
- [3]. J. H. Dustmann, "Antibacterial effect of honey," *Apiacta*, vol. 14, no. 1, pp. 7-11, 1979.
- [4]. N. A. Albaridi, "Antibacterial Potency of Honey," *International Journal of Microbiology*, 2019.
- [5]. A. Boussaid, M. Chouaibi, L. Rezig, R. Hellal, F. Donsi, G. Ferrari, and S. Hamdi, "Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia," *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 11, no. 2, pp. 265-274, 2008.
- [6]. M. D. Mandal and S. Mandal, "Honey: its medicinal property and antibacterial

- activity,” *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, vol 1, no. 2; pp. 154-160, 2011.
- [7]. M. I. Zainol, K. M. Yusoff, and M. Y. M. Yusof, “Antibacterial activity of selected Malaysian honey,” *BMC Complementary Medicine and Therapie*, vol. 129, 2013.
- [8]. L. Q. Trung, N. D. Tu, N. T. Khiem, V. T. Lien, L. T. N. Thuy, K. B. Nguyet, C. T. Hang, N. T. T. Hoa, and P. M. Giang, “Research on antioxidant capacity of GI products mint honey Dong Van stone plateau, Ha Giang province,” *Journal of Agriculture and Rural Development*, no. 13, pp. 47-53, 2018.
- [9]. National Standard TCVN 5261:1990. Honey products - Sampling method.
- [10]. D. T. T. Ngan, P. D. Chinh, P. N. Quynh, V. N. Ha, C. T. T. Quynh, and N. M. Tan, “Evaluation of the Novel Dehydration Concept for Wild Multi Floral Honey in Vietnam,” *Chemical Engineering Transactions*, vol. 87, pp. 325-330, 2021.
- [11]. National Standard TCVN 5263:1990. Honey products - Determination method of water content, 2008.
- [12]. National Standard TCVN 5266:1990. Bee products - Determination of reducing sugar content, 2008.
- [13]. National Standard TCVN 5271:2008. Honey - Determination of acidity by titrimetric method, 2008.
- [14]. National Standard TCVN 52638:1990. Natural Honey – Determination of Diataza index
- [15]. National Standard TCVN 5270:2008 về Mật ong – Xác định hàm lượng hydroxymetylfurfural bằng phương pháp quang phổ, 2008.
- [16]. J. Hudzicki, “Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol,” *American society for microbiology*, 2009.
- [17]. Abdelaliem, A. Meshref E. and Y. Fathy, "Antibacterial activity of different types of honey produced by many methods", *The 44th Conference of Apimondia International Apicultural*, Daejeon, Korea, Sep. 2015.
- [18] A. Sushil, D. Margaret, L. George, D. M. Paul, C. K. Edwin Pang and, M. Nitin, "Antimicrobial Activity of Agastache Honey and Characterization of Its Bioactive Compounds in Comparison With Important Commercial Honeys," *Frontiers in Microbiology*, 10: 263, 2019.

Comparison of antibacterial activities of some kinds of honey in Vietnam

Pham Nhu Quynh¹, Luu Hoang Bach^{2,3}, Vu Thu Trang¹, Cung Thi To Quynh^{1,2*}

¹*School of Biotechnology and Food Technology,*

Hanoi University of Science and Technology, Hanoi, Vietnam

²*Institute for R&D of Natural Products, Hanoi University of Science and Technology*

³*Department of chemistry and biochemistry, Miami University,*

Oxford, OH 45056, United State

Abstract

Honey is a natural product with a variety of uses. The antibacterial activity of honey is one of the key factors that make honey beneficial. The study aims to compare some quality index and antibacterial capacity of some main kinds of honey in Vietnam (determined by the diameters of the inhibition zones, the minimum inhibitory concentration - MIC, and the bactericidal concentrations - MBC). The results showed that the honey samples met the quality requirements of TCVN 12605:2019 for honey, including free reducing sugar content (ranging 67 - 72 g/100 g), diastase activity (ranging from 5.58 ± 0.46 to 25.27 ± 0.05 Schad), HMF (5-Hydroxymethylfurfural) content (ranging from 18.06 ± 0.09 to 23.80 ± 0.25 mg/kg). All honey samples exhibited antibacterial activity against all eight strains of bacteria studied as follows: the diameters of the inhibition zones ranged from 8.50 ± 0.29 to 22.33 ± 1.53 (mm), MIC ranged from 0.15 ± 0.00 to 0.90 ± 0.14 (g/mL). Honey from coffee and rubber flowers showed strong bactericidal ability at MBC concentration from 0.25 g/mL.

Keywords: Vietnamese honey, the diameters of the inhibition zones, MIC, MBC.