

DOI: <https://doi.org/10.59294/HIUJS.KHD.2026.006>

KHẢO SÁT CHẤT LƯỢNG VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN NGUỒN NGUYÊN LIỆU KEO ONG (*Tetragonilla collina*)

Võ Thị Bích Ngọc, Nguyễn Ngọc Nam Anh, Nguyễn Thị Thu Hương,
Trần Thị Thu Hằng, Lý Hồng Hương Hạ*
Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Keo Ong không ngòi đốt được ghi nhận chứa nhiều hợp chất sinh học có giá trị, tuy nhiên các nghiên cứu về loài *Tetragonilla collina* vẫn còn hạn chế. **Mục tiêu nghiên cứu:** Khảo sát chất lượng nguồn nguyên liệu và đánh giá hoạt tính kháng khuẩn. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Mẫu *T. collina* được khảo sát theo phương pháp Ciuley cải tiến và sắc ký lớp mỏng. Hàm lượng polyphenol, flavonoid và saponin toàn phần được định lượng bằng phương pháp UV-Vis. Hoạt tính kháng khuẩn được đánh giá trên các chủng *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* và *Bacillus subtilis*. **Kết quả:** Phân tích sơ bộ thành phần hoá học cho thấy sự hiện diện các hợp chất triterpenoid, flavonoid, polyphenol. Định tính bằng sắc ký lớp mỏng phát hiện vết chính ở vùng R_f trung bình trên các cao chiết ethanol 90%, *n*-hexan và ethyl acetate. Hàm lượng polyphenol, flavonoid, saponin toàn phần lần lượt là 121.033 ± 6.452 mg GAE/g cao khô, 12.215 ± 0.402 mg QE/g cao khô và 11.387 ± 0.361 mg OAE/g cao khô. Ở phương pháp xác định MIC, các cao chiết có hoạt tính kháng khuẩn vượt trội với *P. aeruginosa*, yếu hơn trên *E. coli*, *B. subtilis* và không có tác dụng trên chủng *S. aureus*. **Kết luận:** Mẫu Keo Ong *T. collina* là nguồn dược liệu tiềm năng trong việc phát triển các chế phẩm hỗ trợ phòng và điều trị các bệnh liên quan đến nhiễm trùng.

Từ khóa: *Tetragonilla collina*, định lượng polyphenol, flavonoid, saponin toàn phần, kháng khuẩn

INVESTIGATION OF QUALITY PARAMETERS AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF PROPOLIS (*Tetragonilla collina*)

Vo Thi Bich Ngoc, Nguyen Ngoc Nam Anh, Nguyen Thi Thu Huong,
Tran Thi Thu Hang, Ly Hong Huong Ha

ABSTRACT

Background: Stingless bee propolis is known to contain numerous valuable bioactive compounds; however, studies on the species *Tetragonilla collina* remain limited. **Objectives:** This study aimed to evaluate the quality of the raw material and investigate its antibacterial activity. **Materials and methods:** Samples of *T. collina* propolis were examined using the modified Ciuley method and thin-layer chromatography (TLC). The total contents of polyphenols, flavonoids, and saponins were quantified using UV-Vis spectrophotometry. Antibacterial activity was evaluated against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Bacillus subtilis*. **Results:** Preliminary phytochemical screening indicated the presence of triterpenoids, flavonoids, and polyphenols. TLC analysis revealed a major spot at a medium R_f region in the 90% ethanol, *n*-hexan, and ethyl acetate extracts. The total polyphenol, flavonoid, and saponin contents were 121.033 ± 6.452 mg GAE/g dry extract, 12.215 ± 0.402 mg QE/g dry extract, and 11.387 ± 0.361 mg OAE/g dry extract, respectively. In the MIC assay, the extracts exhibited the strongest antibacterial activity against *P. aeruginosa*, weaker activity against *E. coli* and *B. subtilis*, and no activity against *S.*

* Tác giả liên hệ: Lý Hồng Hương Hạ; Email: halhh@hiu.vn
(Ngày nhận bài: 05/3/2026; Ngày nhận bản sửa: 27/3/2026; Ngày duyệt đăng: 30/3/2026)

aureus. Conclusion: Propolis from *T. collina* represents a promising natural source for the development of products supporting the prevention and treatment of infection-related diseases.

Keywords: *Tetragonilla collina*, total polyphenol, flavonoid, saponin, antibacterial activity

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong bối cảnh vi khuẩn kháng kháng sinh ngày càng gia tăng, việc tìm kiếm các nguồn hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học an toàn và hiệu quả đang trở thành xu hướng nghiên cứu được quan tâm rộng rãi. Những năm gần đây, các chế phẩm tự nhiên có nguồn gốc từ côn trùng, đặc biệt là Keo Ong đã thu hút sự quan tâm trong lĩnh vực nghiên cứu khoa học nhờ tiềm năng ứng dụng đa dạng. Các khảo sát ban đầu về thành phần hoá học của loài Keo Ong không ngừng cho thấy đa dạng về các nhóm hợp chất như flavonoid, polyphenol, saponin, acid phenolic và terpenoid [1]. Những nhóm hợp chất này được ghi nhận mang lại các tác dụng dược lý tiềm năng như kháng viêm, chống ung thư, trị đái tháo đường, kháng khuẩn [2]. Sự hiện diện và hàm lượng của các nhóm hợp chất chính trong Keo Ong đóng vai trò quan trọng, quyết định đến hiệu quả sinh học. Tuy nhiên, các yếu tố này có thể bị thay đổi tùy theo loài và điều kiện sinh thái của từng khu vực, từ đó dẫn đến sự khác biệt về hoạt tính sinh học. Vì vậy, việc khảo sát Keo Ong ở từng loài cụ thể là cần thiết nhằm đánh giá chính xác tiềm năng sinh học của nguồn nguyên liệu này.

Trong số các loài ong không ngừng phân bố tại Đông Nam Á, *T. collina* là loài phổ biến tại Indonesia, Lào, Myanmar và Việt Nam. Mặc dù Keo Ong đã được ghi nhận có giá trị sinh học đáng kể, nhưng các nghiên cứu hiện nay chủ yếu tập trung vào một số loài phổ biến khác, trong khi các công bố khoa học cụ thể về loài *T. collina* vẫn còn hạn chế. Từ những cơ sở trên, nghiên cứu tiến hành “Khảo sát chất lượng và đánh giá hoạt tính kháng khuẩn nguồn nguyên liệu Keo Ong (*Tetragonilla collina*) được thu thập tại Thành phố Hồ Chí Minh” nhằm củng cố tiềm năng sinh học của loài, góp phần làm rõ mối liên hệ giữa thành phần hóa học và hoạt tính kháng khuẩn. Từ đó làm tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo, mở ra hướng khai thác, phát triển các sản phẩm hỗ trợ phòng ngừa vi khuẩn có nguồn gốc tự nhiên, an toàn và hiệu quả.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu Keo Ong được thu tại khu vực Thành phố Hồ Chí Minh. Loài ong không ngừng được xác định là *Tetragonilla collina* bởi GS.TS. Nguyễn Phương Liên và TS. Trần Thị Ngát - Phòng Sinh thái côn trùng - Viện Sinh học.

2.2. Hóa chất - Thuốc thử

Hoá chất: Ethanol, methanol, DMSO, AlCl₃ 5% (Trung Quốc)...

Chất chuẩn: Quercetin ≥ 95%, acid gallic ≥ 95%, acid oleanolic 97.3%.

Môi trường thử nghiệm: Mueller- Hinton Agar [3].

Kháng sinh: Gentamycin (cung cấp từ Phòng Vi sinh Miễn dịch).

Chủng vi khuẩn thử nghiệm: *Staphylococcus aureus* ATCC 29223, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

2.3. Trang thiết bị

Máy quang phổ kế UV-Vis Shimadzu UV-1800 (Nhật Bản); Bể siêu âm Elmasonic S (Đức) công suất 300 W, tần số siêu âm 37 kHz; Bếp cách thủy điều nhiệt Memmert WNB 22 (Đức)...

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Chiết xuất cao toàn phần và các cao phân đoạn

Cao toàn phần: Mẫu Keo Ong được chiết bằng phương pháp chiết có hỗ trợ sóng siêu âm trong dung

môi ethanol 90% với tỷ lệ dược liệu trên dung môi là 2:15 (kl/tt) ở nhiệt độ phòng 3 lần, mỗi lần 20 phút. Sau đó, cô bay hơi dung môi dịch chiết đến khi thu được thể cao đặc (độ ẩm: 2.97%).

Cao phân đoạn: Lắc phân bố lỏng - lỏng cao toàn phần ethanol 90% lần lượt với lượng dung môi *n*-hexan, ethyl acetate thu được các cao tương ứng.

2.4.2. Sơ bộ thành phần hóa học

Chiết xuất dược liệu bằng các dung môi có độ phân cực khác nhau: ether ethylic, ethanol, nước. Tiến hành xác định sự có mặt của các nhóm hợp chất theo phương pháp Ciuley cải tiến thông qua các phản ứng hóa học đặc trưng trong từng dịch chiết [4].

2.4.3. Khảo sát nguồn nguyên liệu bằng sắc ký lớp mỏng

Khảo sát cao chiết toàn phần và các cao chiết phân đoạn của mẫu Keo Ong trên sắc ký lớp mỏng với hệ dung môi thích hợp ở bước sóng 254 nm, 365 nm và thuốc thử VS.

2.4.4. Định lượng polyphenol toàn phần (TPC)

TPC của cao chiết được xác định bằng phương pháp Folin-Ciocalteu với chất đối chiếu là acid gallic [5]. Hòa tan acid gallic trong methanol thu được dãy nồng độ cần thiết. Trộn đều với lượng thích hợp thuốc thử Folin-Ciocalteu và sodium carbonate. Tiến hành đo độ hấp thụ UV-Vis ở bước sóng 760 nm để xây dựng đường chuẩn. Sau khi thiết lập được đường chuẩn, pha loãng cao chiết tương tự và đo độ hấp thụ của dung dịch thử tại bước sóng tương ứng để xác định TPC theo công thức sau:

$$TPC = \frac{C \times k \times V}{1000 \times m}$$

Trong đó:

TPC: Hàm lượng polyphenol toàn phần (mg gallic acid equivalent (GAE)/g cao khô).

C: Nồng độ mẫu thử tính từ đường chuẩn acid gallic ($\mu\text{g/mL}$).

k: Hệ số pha loãng.

m: Khối lượng cao chiết khô (g).

V: Thể tích dịch chiết mẫu thử tiến hành phản ứng định lượng (mL).

2.4.5. Định lượng flavonoid toàn phần (TFC)

TFC của cao chiết được xác định bằng phương pháp so màu AlCl_3 với chất đối chiếu là quercetin [6]. Hòa tan quercetin trong methanol thu được dãy nồng độ cần thiết. Trộn đều với lượng thích hợp thuốc thử AlCl_3 . Tiến hành đo độ hấp thụ UV-Vis ở bước sóng 430 nm để xây dựng đường chuẩn. Sau khi thiết lập được đường chuẩn, pha loãng cao chiết tương tự và đo độ hấp thụ của dung dịch thử tại bước sóng tương ứng để xác định TFC theo công thức sau:

$$TFC = \frac{C \times k \times V}{1000 \times m}$$

Trong đó:

TFC: Hàm lượng flavonoid toàn phần (mg quercetin equivalent (QE)/g cao khô).

C: Nồng độ mẫu thử tính từ đường chuẩn quercetin ($\mu\text{g/mL}$).

k: Hệ số pha loãng.

m: Khối lượng cao chiết khô (g).

V: Thể tích dịch chiết mẫu thử tiến hành phản ứng định lượng (mL).

2.4.6. Định lượng saponin toàn phần (TSC)

TSC của cao chiết được xác định theo phương pháp của Hadidi và cộng sự (2020) với chất đối chiếu là acid oleanolic [7]. Hòa tan acid oleanolic trong methanol thu được dãy nồng độ cần thiết. Trộn đều với lượng thích hợp thuốc thử vanillin - acid acetic (5%), HClO_4 , ủ ở nhiệt độ 70°C trong 20 phút rồi làm lạnh và bổ sung ethyl acetate. Tiến hành đo độ hấp thụ UV-Vis ở bước sóng 550 nm để xây dựng

đường chuẩn. Sau khi thiết lập được đường chuẩn, pha loãng cao chiết tương tự và đo độ hấp thụ của dung dịch thử tại bước sóng tương ứng để xác định TSC theo công thức sau:

$$TSC = \frac{C \times k \times V}{1000 \times m}$$

Trong đó:

TSC: Hàm lượng saponin toàn phần (mg oleanolic acid equivalent (OAE)/g cao khô).

C: Nồng độ mẫu thử tính từ đường chuẩn acid oleanolic ($\mu\text{g}/\text{mL}$).

k: Hệ số pha loãng.

m: Khối lượng cao chiết khô (g).

V: Thể tích dịch chiết mẫu thử tiến hành phản ứng định lượng (mL).

2.4.7. Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn

Phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch

Hoạt tính kháng khuẩn của các cao chiết được đánh giá bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch đối với các chủng *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* và *Pseudomonas aeruginosa*.

Môi trường thạch được pha chế, tiệt trùng và rót vào đĩa petri vô trùng. Huyền phù vi khuẩn được trải đều trên bề mặt thạch, sau đó đục lỗ và bổ sung mẫu thử gồm cao chiết ethanol 90%, cao chiết *n*-hexan, cao chiết ethyl acetate và cao chiết nước. Các đĩa được ủ ở 37°C trong 18 - 24 giờ.

DMSO 5% được sử dụng làm chứng âm và Gentamycin làm chứng dương. Hoạt tính kháng khuẩn được xác định bằng cách đo và ghi nhận đường kính vòng vô khuẩn trên đĩa thạch, thử nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần [8].

Phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC)

Hòa tan mẫu cao chiết trong dung dịch DMSO 5% và pha loãng trực tiếp vào môi trường thử nghiệm để tạo dãy nồng độ giảm dần, sau đó rót vào đĩa petri vô trùng. Châm 1 μL huyền phù vi khuẩn lên bề mặt thạch chứa mẫu thử và ủ ở 37°C trong 24 giờ. Hoạt tính kháng khuẩn được đánh giá bằng cách quan sát sự phát triển của vi khuẩn bằng mắt thường, thử nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần [9].

3. KẾT QUẢ

3.1. Chiết xuất cao toàn phần và cao phân đoạn

Sau khi tiến hành chiết, thu được khối lượng và độ ẩm của từng cao như Bảng 1.

Bảng 1. Khối lượng và độ ẩm của cao chiết Keo Ong

	Mẫu	Khối lượng (g)	Độ ẩm (%)
Cao toàn phần	Cao chiết ethanol 90%	16.92	2.97
Cao phân đoạn	Cao chiết <i>n</i> -hexan	1.17	3.10
	Cao chiết ethyl acetate	6.61	2.86
	Cao chiết nước	0.12	1.02

3.2. Sơ bộ thành phần hoá thực vật

Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hoá thực vật của Keo Ong thể hiện qua Bảng 2.

Bảng 2. Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hoá thực vật của Keo Ong

Nhóm hợp chất	Thuốc thử/Phản ứng	Kết quả định tính trên các dịch chiết			
		Dịch chiết ether	Dịch chiết còn 90%	Dịch chiết còn 50%	Dịch chiết nước
Chất béo	Mờ giấy lọc	+++			
Carotenoid	Carr-Price	-			
Tinh dầu	Có mùi thơm	-			

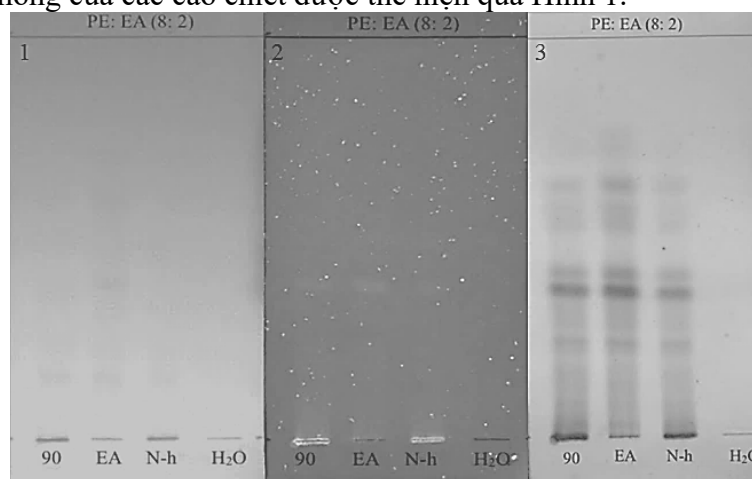
Triterpenoid tự do	Liebermann-Burchard	+++			
Alkaloid	TT. chung Alkaloid		-	-	-
Courmarin	Đóng mở vòng lacton	-	-	-	
Anthraquinon	NaOH 10%	-			
Flavonoid	Mg/HCl _{đđ}	-	+++	+++	-
Glycosid tim	Liebermann-Burchard		+	+	-
Anthocyanosid	HCl/KOH		-	-	-
Proanthocyanin	HCl/t ^o C		+	+	-
Tanin	Dd FeCl ₃		-	-	-
	Dd gelatin muối		-	-	-
Saponin	Lắc mạnh/ nước		-	-	-
Chất khử	TT. Felling		+	+	-
Acid hữu cơ	Na ₂ CO ₃		+	+	-

Ghi chú: (-): Không có (+): Có ít (+++): Có nhiều
 (±): Không rõ (++) : Có (++++): Có rất nhiều

Nhận xét: Phân tích sơ bộ thành phần hoá thực vật Keo Ong bằng phương pháp Ciuley cải tiến cho thấy ở phân đoạn kém phân cực có sự hiện diện của các nhóm chất bao gồm chất béo, triterpenoid tự do, phân đoạn phân cực hơn thì phát hiện được các nhóm hợp chất gồm flavonoid, glycosid tim, proanthocyanin, chất khử, acid hữu cơ.

3.3. Khảo sát nguồn nguyên liệu bằng sắc ký lớp mỏng

Kết quả sắc ký lớp mỏng của các cao chiết được thể hiện qua Hình 1.



Hình 1. Sắc ký đồ của các cao chiết
 1. UV 365 nm; 2. UV 254 nm; 3. Thuốc thử VS

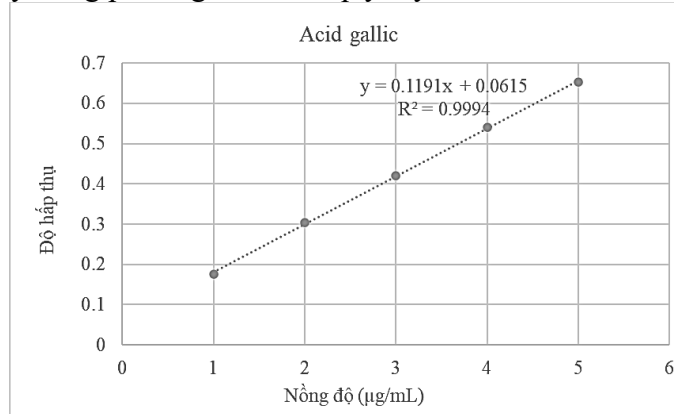
Nhận xét: Cao chiết ethanol 90%, *n*-hexan và ethyl acetate xuất hiện khoảng 3 - 4 vết rõ, trong đó có một vết chính (màu tím đậm) ở vùng R_f trung bình còn cao chiết nước không quan sát thấy vết trong cùng điều kiện khảo sát.

3.4. Định lượng polyphenol toàn phần (TPC)

3.4.1. Xây dựng đường tuyến tính

Sau khi đo ở bước sóng 760 nm, kết quả độ hấp thụ của các dung dịch chuẩn có dãy nồng độ giảm

dần được sử dụng để xây dựng phương trình hồi quy tuyến tính như Hình 2.



Hình 2. Đường chuẩn acid gallic

Nhận xét: Độ hấp thụ và nồng độ chất chuẩn acid gallic có tương quan hồi quy tuyến tính với hệ số tương quan $R^2 = 0.9994$ và phương trình hồi quy tuyến tính là $y = 0.1191x + 0.0615$.

Trong đó x: Nồng độ của dung dịch (µg/mL); y: Độ hấp thụ của dung dịch.

3.4.2. Xác định hàm lượng polyphenol tổng có trong Keo Ong

Dựa trên đường chuẩn đã xây dựng bên trên, kết quả giá trị hấp thụ của các mẫu thử được thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3. Kết quả hàm lượng polyphenol tổng có trong Keo Ong

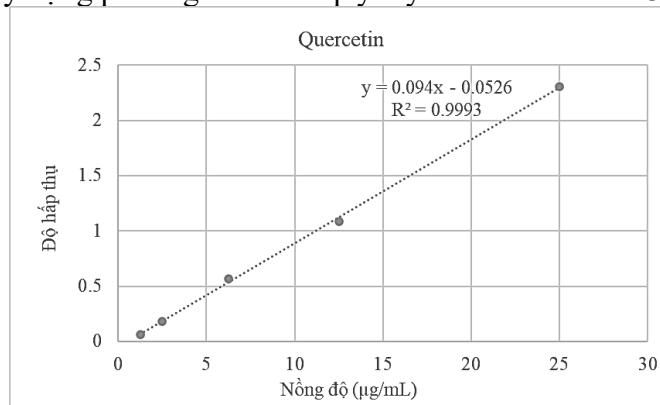
Mẫu thử	Nồng độ (mg/mL)	Độ hấp thụ	TPC (mg GAE/g cao khô)
Cao ethanol 90%	0.04	0.361 ± 0.016	121.033 ± 6.452

Nhận xét: Hàm lượng polyphenol tổng của cao chiết Keo Ong đạt 121.033 ± 6.452 mg GAE/g cao khô cho thấy cao chiết giàu hợp chất phenolic. Mở ra tiềm năng khai thác cao chiết như nguồn giàu hợp chất phenolic tự nhiên.

3.5. Định lượng flavonoid toàn phần (TFC)

3.5.1. Xây dựng đường chuẩn

Sau khi đo ở bước sóng 430 nm, kết quả độ hấp thụ của các dung dịch chuẩn có dãy nồng độ giảm dần được sử dụng để xây dựng phương trình hồi quy tuyến tính như Hình 3.



Hình 3. Đường chuẩn quercetin

Nhận xét: Độ hấp thụ và nồng độ chất chuẩn quercetin có tương quan hồi quy tuyến tính với hệ số tương quan $R^2 = 0.9993$ và phương trình hồi quy tuyến tính là $y = 0.094x - 0.0526$.

Trong đó x: Nồng độ của dung dịch (µg/mL); y: Độ hấp thụ của dung dịch.

3.5.2. Xác định hàm lượng flavonoid toàn phần có trong Keo Ong

Dựa trên đường chuẩn đã xây dựng bên trên, kết quả giá trị hấp thụ của các mẫu thử được thể hiện ở Bảng 4.

Bảng 4. Kết quả hàm lượng flavonoid tổng có trong Keo Ong

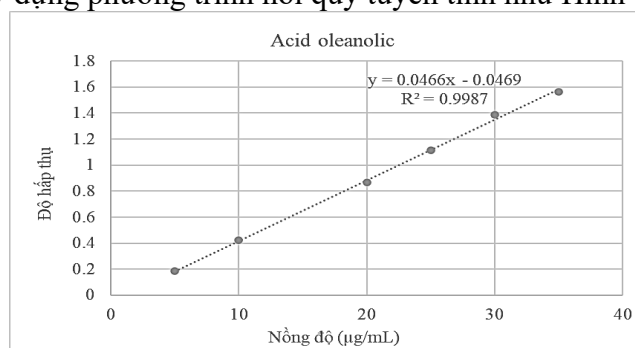
Mẫu thử	Nồng độ (mg/mL)	Độ hấp thụ	TFC (mg QE/g cao khô)
Cao ethanol 90%	0.125	0.097 ± 0.005	12.215 ± 0.0402

Nhận xét: Hàm lượng flavonoid tổng của cao chiết Keo Ong đạt 12.215 ± 0.0402 mg QE/g cao khô cho thấy có chứa flavonoid ở mức trung bình. Phản ánh sự hiện diện đáng kể của nhóm hợp chất này và có thể góp phần vào hoạt tính sinh học của Keo Ong.

3.6. Định lượng saponin toàn phần (TSC)

3.6.1. Xây dựng đường tuyến tính

Sau khi đo ở bước sóng 550 nm, kết quả độ hấp thụ của các dung dịch chuẩn có dãy nồng độ giảm dần được sử dụng để xây dựng phương trình hồi quy tuyến tính như Hình 4.



Hình 4. Đường chuẩn acid oleanolic

Nhận xét: Độ hấp thụ và nồng độ chất chuẩn có tương quan hồi quy tuyến tính với hệ số tương quan $R^2 = 0.9987$ và phương trình hồi quy tuyến tính là $y = 0.0466x - 0.0469$.

Trong đó x: Nồng độ của dung dịch (µg/mL); y: Độ hấp thụ của dung dịch.

3.6.2. Xác định hàm lượng saponin toàn phần có trong Keo Ong

Dựa trên đường chuẩn đã xây dựng bên trên, kết quả giá trị hấp thụ của mẫu thử được thể hiện ở Bảng 5.

Bảng 5. Kết quả hàm lượng saponin toàn phần có trong Keo Ong

Mẫu thử	Nồng độ (mg/mL)	Độ hấp thụ	TSC (mg OAE/g cao khô)
Cao ethanol 90%	0.4	0.390 ± 0.014	11.387 ± 0.361

Nhận xét: Hàm lượng saponin toàn phần của cao chiết Keo Ong đạt 11.387 ± 0.361 mg OAE/g cao khô phản ánh sự hiện diện tương đối của hợp chất này trong mẫu nghiên cứu.

3.7. Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn

3.7.1. Phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch

Hoạt tính kháng khuẩn của các cao chiết Keo Ong được thể hiện qua Bảng 6.

Bảng 6. Kết quả khảo sát hoạt tính kháng khuẩn trên các cao chiết

Vùng ức chế vi khuẩn trung bình (mm)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29223	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633
Cao chiết ethanol 90%	-	-	-	-
Cao chiết n-hexan	-	-	-	-
Cao chiết ethyl acetate	-	-	-	-

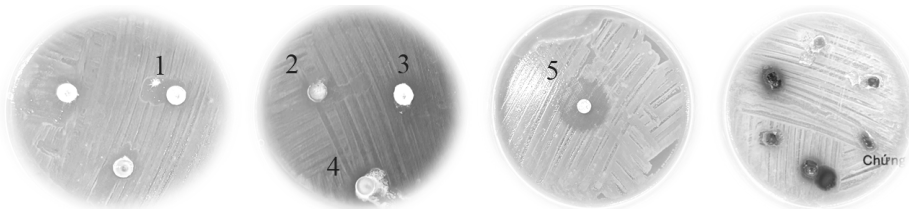
Vùng ức chế vi khuẩn trung bình (mm)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29223	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633
Cao chiết nước	-	-	-	-
Gentamycin	21.00	20.00	18.00	19.00

Trên chủng *Staphylococcus aureus*



Hình 5. Vòng kháng khuẩn từ cao chiết trên các chủng vi khuẩn
1. Cao chiết ethanol 90%; 2. Cao chiết n-hexan; 3. Cao chiết ethyl acetate;
4. Cao chiết nước; 5. Gentamycin

Trên chủng *Escherichia coli*



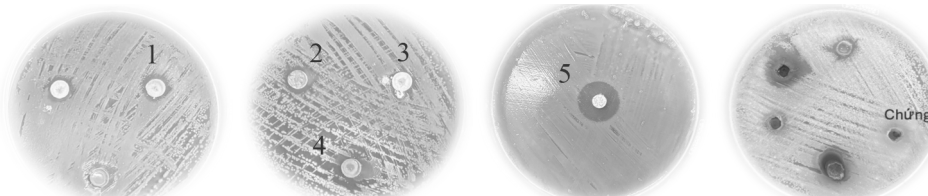
Hình 6. Vòng kháng khuẩn từ cao chiết trên các chủng vi khuẩn
1. Cao chiết ethanol 90%; 2. Cao chiết n-hexan; 3. Cao chiết ethyl acetate;
4. Cao chiết nước; 5. Gentamycin

Trên chủng *Pseudomonas aeruginosa*



Hình 7. Vòng kháng khuẩn từ cao chiết trên các chủng vi khuẩn
1. Cao chiết ethanol 90%; 2. Cao chiết n-hexan; 3. Cao chiết ethyl acetate;
4. Cao chiết nước; 5. Gentamycin

Trên chủng *Bacillus subtilis*



Hình 8. Vòng kháng khuẩn từ cao chiết trên các chủng vi khuẩn
1. Cao chiết ethanol 90%; 2. Cao chiết n-hexan; 3. Cao chiết ethyl acetate;
4. Cao chiết nước; 5. Gentamycin

Nhận xét: Đối với phương pháp này, các cao chiết không cho thấy được hiệu quả kháng khuẩn trên cả 4 chủng vi khuẩn trong khi chúng dương Gentamycin cho vòng ức chế rõ rệt. Do đó, phương pháp xác định MIC được

thực hiện tiếp theo nhằm đánh giá chính xác hơn tiềm năng kháng khuẩn của các mẫu nghiên cứu.

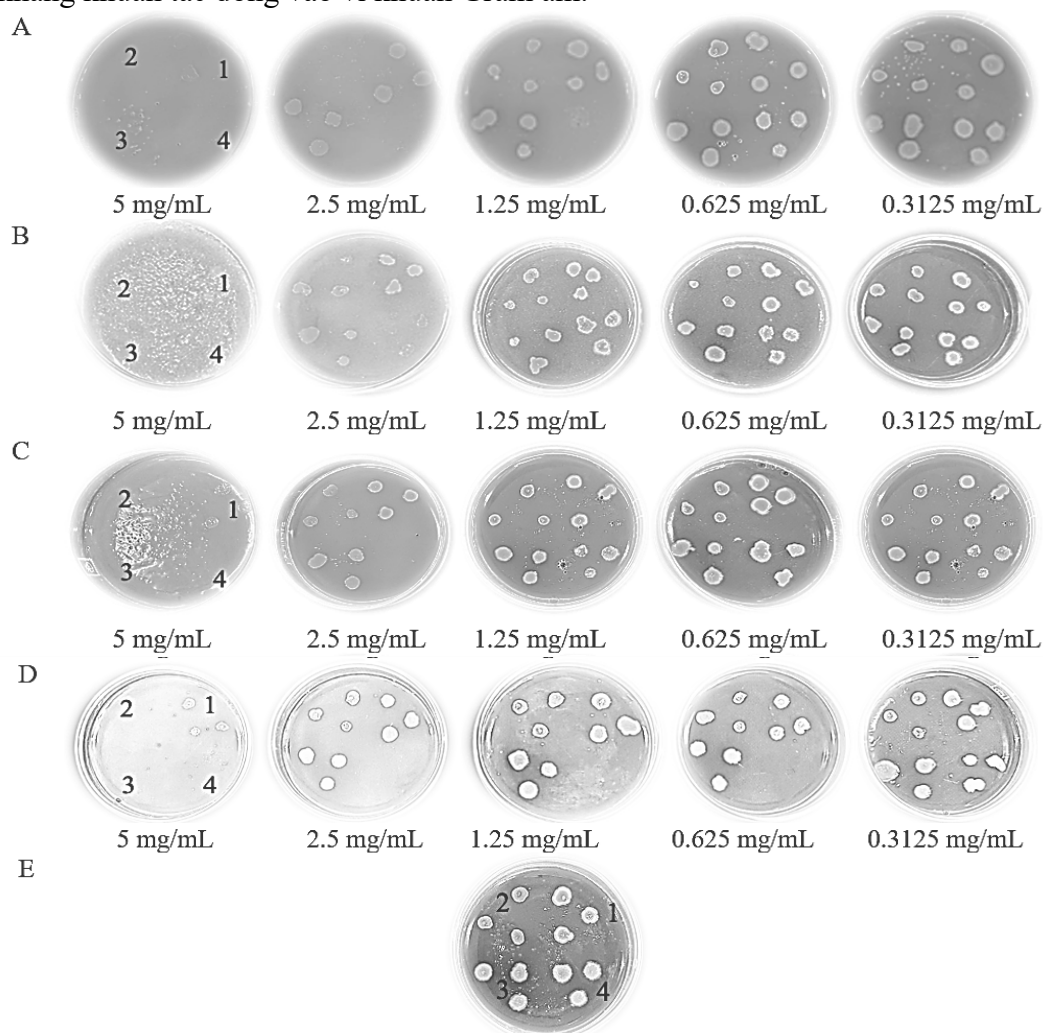
3.5.2. Xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC)

Xác định MIC của cao chiết Keo Ong trên các chủng vi khuẩn bằng phương pháp pha loãng trong thạch.

Bảng 7. Kết quả xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) các cao chiết Keo Ong (đơn vị: mg/mL)

Chủng vi khuẩn	Cao chiết ethanol 90%	Cao chiết n-hexan	Cao chiết ethyl acetate	Cao chiết nước
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29223	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	2.50	5.00	5.00	5.00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	1.25	5.00	1.25	0.625
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	5.00	5.00	5.00	5.00

Nhận xét: Nhìn chung, các cao chiết thể hiện hoạt tính kháng khuẩn trên vi khuẩn Gram âm, đặc biệt với *P. aeruginosa* MIC đạt 0.625 mg/mL (cao chiết nước). Bên cạnh đó, các cao chiết cũng cho thấy hoạt tính khá yếu trên *E. coli* (2.50 - 5.00 mg/mL) và *B.subtilis* (5.00 mg/mL) trong khi không ghi nhận tác dụng đối với *S.aureus*. Dữ liệu cho thấy tiềm năng định hướng khai thác cao chiết như nguồn tác nhân kháng khuẩn tác động vào vi khuẩn Gram âm.



Hình 9. Kết quả MIC của các cao chiết Keo Ong trên các chủng vi khuẩn thử nghiệm
 A. Cao chiết ethanol 90%; B. Cao chiết n-hexan; C. Cao chiết ethyl acetate; D. Cao chiết nước;
 E. Gentamycin
 1. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; 2. *Escherichia coli* ATCC 25922;
 3. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; 4. *Bacillus subtilis* ATCC 6633

4. BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu này, nhóm nghiên cứu lựa chọn chiết cao toàn phần với ethanol 90% và cao phân đoạn với các dung môi có độ phân cực tăng dần. Việc sử dụng cao toàn phần nhằm đánh giá thành phần và hoạt tính sinh học tổng thể của Keo Ong, trong khi cao phân đoạn giúp làm rõ sự phân bố các nhóm hợp chất và định hướng được nhóm hoạt chất chính quyết định hoạt tính sinh học. Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hóa học theo phương pháp Ciuley cải tiến cho thấy mẫu Keo Ong thay đổi theo độ phân cực của dung môi chiết. Phân đoạn kém phân cực chứa chất béo và triterpenoid, trong khi các phân đoạn phân cực giàu flavonoid, proanthocyanin và các hợp chất phenolic, nhìn chung có sự tương đồng với nghiên cứu của Sforcin và cộng sự (2019) [10]. Tiến hành khảo sát nguồn nguyên liệu bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng cho thấy các cao chiết ethanol 90%, *n*-hexan và ethyl acetate đều xuất hiện 3 - 4 vết phân tách rõ rệt, trong đó nổi bật là một vết chính (màu tím đậm) tại vùng R_f trung bình. Trong khi đó, cao chiết nước không quan sát được vết nào dưới cùng điều kiện thí nghiệm. Điều này góp phần làm rõ cơ sở khoa học cho sự khác biệt về hoạt tính sinh học giữa các phân đoạn.

Về kết quả định lượng, nghiên cứu ghi nhận sự khác biệt giữa 3 nhóm hợp chất. Hàm lượng polyphenol tổng đạt 121.033 ± 6.452 mg GAE/g cao khô, cao hơn đáng kể so với hàm lượng flavonoid (12.215 ± 0.0402 mg QE/g cao khô) và saponin (11.387 ± 0.361 mg OAE/g cao khô). Vì flavonoid là một phân nhóm của polyphenol, sự chênh lệch này cho thấy phần lớn polyphenol trong mẫu có thể đến từ các hợp chất phenolic không thuộc nhóm flavonoid như các acid phenolic (acid caffeic, acid *p*-coumaric, acid ferulic...) và các dẫn xuất ester của chúng [11]. Từ đó, tạo nên điểm khác biệt giữa Keo Ong tại Thành phố Hồ Chí Minh và Keo Ong tại Ba Lan có hàm lượng polyphenol khoảng 197.14 mg GA/g và flavonoid khoảng 62.04 mg QEA/g [12].

Bên cạnh đó, phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch không ghi nhận vòng vô khuẩn, trong khi phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) lại cho thấy tác dụng ức chế trên vi khuẩn Gram âm. Điều này liên quan đến việc mẫu Keo Ong có sự hiện diện của triterpenoid - nhóm hợp chất có khả năng khuếch tán trong môi trường thạch hạn chế. Đồng thời, các cao chiết Keo Ong cũng kém tan trong dung môi phân cực dẫn đến không hình thành vòng vô khuẩn.

Một báo cáo trước đây chỉ ra Keo Ong thường có hoạt tính trên vi khuẩn Gram dương mạnh hơn Gram âm [13]. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này ghi nhận hoạt tính chủ yếu trên vi khuẩn Gram âm, đặc biệt là *P. aeruginosa* (MIC 0.625 mg/mL), trong khi không có tác dụng trên *S. aureus*. Sự khác biệt này có thể liên quan đến thành phần hóa học của Keo Ong giữa từng loài khác nhau, đồng thời phụ thuộc vào vị trí địa lý hay điều kiện thu thập [14, 15]. Các kết quả nghiên cứu của đề tài góp phần làm rõ mối liên hệ giữa thành phần hóa học và hoạt tính kháng khuẩn của Keo Ong, đồng thời cung cấp cơ sở khoa học cho các nghiên cứu chuyên sâu để ứng dụng trong việc tạo ra các sản phẩm có nguồn gốc tự nhiên.

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu cho thấy thành phần hóa học của mẫu Keo Ong *T. collina* có sự hiện diện của nhiều nhóm hợp chất có hoạt tính sinh học. Trong đó, kết quả định tính bằng sắc ký lớp mỏng xác nhận sự hiện diện các hợp chất đặc trưng trong các cao chiết hữu cơ, trong khi không ghi nhận ở cao chiết nước. Hàm lượng các nhóm hợp chất polyphenol, flavonoid và saponin được xác định ở mức đáng kể, cho thấy Keo Ong là nguồn hợp chất tự nhiên giàu tiềm năng, triển vọng cho các nghiên cứu chuyên sâu tiếp theo. Ngoài ra, mẫu Keo Ong cũng thể hiện hoạt tính kháng khuẩn ở chủng vi khuẩn Gram âm, vượt trội trên *P. aeruginosa*. Những kết quả thu được cung cấp cơ sở khoa học ban đầu cho việc khai thác, phát triển các sản phẩm hỗ trợ phòng ngừa nhiễm trùng có nguồn gốc tự nhiên, an toàn và hiệu quả.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] F. Zulhendri *et al.*, "Propolis of stingless bees for the development of novel functional food and nutraceutical ingredients: A systematic scoping review of the experimental evidence," *Journal of Functional Foods*, vol. 88, p. 104902, 2022/01/01/ 2022, DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104902>.

- [2] Sandeep and S. Ghosh, "Chapter 12 - Triterpenoids: Structural diversity, biosynthetic pathway, and bioactivity," in *Studies in Natural Products Chemistry*, vol. 67, R. Atta ur Ed.: Elsevier, pp. 411-461, 2020.
- [3] L. K. Smith *et al.*, " β 2-microglobulin is a systemic pro-aging factor that impairs cognitive function and neurogenesis," (in eng), *Nat Med*, vol. 21, no. 8, pp. 932-7, Aug 2015, DOI: 10.1038/nm.3898.
- [4] T. Hùng, *Phương pháp nghiên cứu dược liệu*. Bộ môn Dược liệu - Khoa Dược - Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh, 2016.
- [5] K. Slinkard and V. L. Singleton, "Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods," *American Journal of Enology and Viticulture*, vol. 28, no. 1, pp. 49-55, 1977, DOI: 10.5344/ajev.1977.28.1.49.
- [6] L. N. K. Thuỳ và T. N. T. Ngọc, "Xây dựng phương pháp định lượng flavonoid toàn phần trong dịch chiết lá Vối (*Cleistocalyx operculatus*) bằng quang phổ Uv-vis," *VietNam Military Medical Unisversity*, 2022.
- [7] M. Hadidi, A. Ibarz, and J. Pagán, "Optimisation and kinetic study of the ultrasonic-assisted extraction of total saponins from alfalfa (*Medicago sativa*) and its bioaccessibility using the response surface methodology," *Food Chemistry*, vol. 309, p. 125786, 03/01 2020, DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125786.
- [8] C. a. L. S. Institute, *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard - Ninth Edition (M07-A9)*, Ninth ed. PA: Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, p. 12, 2012.
- [9] C. a. L. S. Institute, *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard - Ninth Edition (M07-A9)*, Ninth ed. PA: Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, p. 19, 2012.
- [10] S. Huang, C. P. Zhang, K. Wang, G. Q. Li, and F. L. Hu, "Recent advances in the chemical composition of propolis," (in eng), *Molecules*, vol. 19, no. 12, pp. 19610-32, Nov 26 2014, DOI: 10.3390/molecules191219610.
- [11] P. Walker and E. Crane, "Constituents of propolis," *Apidologie*, vol. 18, no. 4, pp. 327-334, 1987.
- [12] R. Socha, D. Gałkowska, M. Bugaj, and L. Juszczak, "Phenolic composition and antioxidant activity of propolis from various regions of Poland," (in eng), *Nat Prod Res*, vol. 29, no. 5, pp. 416-22, 2015, DOI: 10.1080/14786419.2014.949705.
- [13] I. Przybyłek and T. M. Karpiński, "Antibacterial Properties of Propolis," *Molecules*, vol. 24, no. 11, p. 2047, 2019. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/11/2047>.
- [14] V. S. Bankova, S. L. d. Castro, and M. C. Marcucci, "Propolis: recent advances in chemistry and plant origin," *Apidologie*, vol. 31, no. 1, pp. 3-15, 2000. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1051/apido:2000102>.
- [15] T. G. do Nascimento *et al.*, "Comprehensive multivariate correlations between climatic effect, metabolite-profile, antioxidant capacity and antibacterial activity of Brazilian red propolis metabolites during seasonal study," (in eng), *Sci Rep*, vol. 9, no. 1, p. 18293, Dec 4 2019, DOI: 10.1038/s41598-019-54591-3.