

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Phạm Thị Nhung

**NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO SỢI NANO CHITOSAN MANG HOẠT CHẤT
CAPSAICIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP LỰC ĐIỆN TRƯỜNG**

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Hà Nội - 2025

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Phạm Thị Nhung

Lớp: Hóa hữu cơ, Khóa: 2022B

**NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO SỢI NANO CHITOSAN MANG HOẠT CHẤT
CAPSAICIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP LỰC ĐIỆN TRƯỜNG**

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8440114

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. PGS.TS. Lê Minh Hà

2. TS. Lê Ngọc Hùng

Two handwritten signatures in blue ink are present next to the names of the supervisors. The first signature is for PGS.TS. Lê Minh Hà and the second is for TS. Lê Ngọc Hùng.

Hà Nội - 2025

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đề tài nghiên cứu trong luận văn này là công trình nghiên cứu của tôi dựa trên những tài liệu, số liệu do chính tôi tự tìm hiểu và nghiên cứu. Chính vì vậy, các kết quả nghiên cứu đảm bảo trung thực và khách quan nhất. Đồng thời, kết quả này chưa từng xuất hiện trong bất cứ một nghiên cứu nào. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực nếu sai tôi hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật.

Tác giả luận văn



Phạm Thị Nhung

LỜI CẢM ƠN

Luận văn được hoàn thành tại Viện Hóa học và Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Trong quá trình nghiên cứu, tôi đã nhận được sự giúp đỡ quý báu của các thầy cô, đồng nghiệp, bạn bè và gia đình.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc và kính trọng nhất tới **PGS.TS. Lê Minh Hà** và **TS. Lê Ngọc Hùng** đã giao đề tài, hướng dẫn tận tình, chu đáo, hỗ trợ tạo mọi điều kiện thuận lợi giúp đỡ tôi trong thời gian thực hiện luận văn.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban lãnh đạo Viện Hóa học, Học viện Khoa học và Công nghệ và các cán bộ phòng ban đã tạo mọi điều kiện thuận lợi để tôi hoàn thành các thủ tục trong quá trình thực hiện và bảo vệ luận văn.

Tôi trân trọng cảm ơn các cán bộ, tập thể anh chị em phòng Hợp chất thiên nhiên và bảo vệ môi trường, Viện Hóa học đã nhiệt tình giúp đỡ, hỗ trợ tôi trong quá trình làm thực nghiệm và hoàn thành luận văn.

Cuối cùng, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành và sâu sắc nhất tới gia đình, bạn bè, người thân đã luôn quan tâm, động viên, khích lệ tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Luận văn được hỗ trợ kinh phí từ nhiệm vụ Nghị định thư Việt Nam với Cộng Hòa Séc, mã số NĐT/CZ/23/07.

Tôi trân trọng cảm ơn!

Hà Nội, ngày 29 tháng 11 năm 2025

Tác giả luận văn



Phạm Thị Nhung

MỤC LỤC

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT	V
DANH MỤC CÁC BẢNG	VII
DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ	VIII
DANH MỤC CÁC SƠ ĐỒ	IX
MỞ ĐẦU	X
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU	1
1.1. Tổng quan chung về công nghệ nano trong lĩnh vực y dược	1
1.2. Tổng quan về phương pháp lực điện trường và ứng dụng liên quan	3
1.2.1. Sự phát triển của nghiên cứu sợi nano bằng phương pháp lực điện trường	3
1.2.2. Nguyên lý hoạt động, cấu tạo thiết bị và các thông số vận hành	4
<i>1.2.2.1. Nguyên lý hoạt động và cấu tạo thiết bị</i>	<i>4</i>
<i>1.2.2.2. Thông số vận hành</i>	<i>5</i>
1.2.3. Các ứng dụng liên quan	8
1.3. Tổng quan chung về vật liệu chitosan và ứng dụng nanochitosan trong lĩnh vực y dược	9
1.4. Vật liệu polylactic acid (PLA) và ứng dụng tạo sợi nano	12
1.5. Vật liệu polyethylene glycol (PEG) và ứng dụng tạo sợi nano	14
1.6. Capsaicin và hoạt tính sinh học	16
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	19
2.1. Đối tượng nghiên cứu	19
2.1.1. Vật liệu nghiên cứu	19
2.1.2. Hóa chất và dung môi	19
2.1.3. Thiết bị và dụng cụ	19
2.2. Phương pháp nghiên cứu	20
2.2.1. Phương pháp nghiên cứu chế tạo sợi nano CS/PLA/PEG chứa capsaicin bằng thiết bị quay kéo sợi lực điện trường	20
<i>2.2.1.1. Khảo sát nồng độ capsaicin trong dung dịch CS/PLA/PEG ..</i>	<i>20</i>
<i>2.2.1.2. Khảo sát các thông số kỹ thuật</i>	<i>23</i>
2.2.2. Phương pháp nghiên cứu cấu trúc sợi	25
<i>2.2.2.1. Phương pháp phân tích hình thái học</i>	<i>25</i>
<i>2.2.2.2. Phương pháp phân tích thành phần hóa học</i>	<i>25</i>
<i>2.2.2.3. Phương pháp phân tích cơ học</i>	<i>25</i>

2.2.2.4. Phương pháp khảo sát tính thấm ướt	25
2.2.2.5. Đánh giá khả năng giải phóng hoạt chất	26
2.2.2.6. Đánh giá khả năng kháng khuẩn	27
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	28
3.1. Kết quả chế tạo sợi nano CS/PLA/PEG mang hoạt chất capsaicin bằng công nghệ quay kéo sợi lực điện trường	28
3.1.1. Kết quả khảo sát nồng độ capsaicin trong dung dịch CS/PLA/PEG..	28
3.1.2. Kết quả khảo sát khoảng cách kim phun tới bộ thu	33
3.1.3. Kết quả khảo sát tốc độ bơm	35
3.1.4. Kết quả khảo sát điện áp	37
3.2. Kết quả nghiên cứu cấu trúc sợi nano CS/PLA/PEG mang hoạt chất capsaicin bằng công nghệ quay kéo sợi lực điện trường	41
3.2.1. Kết quả phân tích hình thái học	41
3.2.2. Kết quả phân tích thành phần hóa học	42
3.2.3. Kết quả phân tích cơ học	45
3.2.4. Kết quả khảo sát tính thấm ướt	46
3.2.5. Kết quả đánh giá khả năng giải phóng hoạt chất	47
3.2.6. Kết quả khả năng đánh giá tính kháng khuẩn	48
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	51
DANH MỤC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ	53
DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO	54
PHỤ LỤC	59

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT

Viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
WO	World Intellectual Property Organization (WIPO)	Tổ chức Sở hữu trí tuệ thế giới
EP	European Patent Office (EPO)	Văn phòng Sáng chế châu Âu
FDA	Food and Drug Administration	Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ
VAST	Vietnam Academy of Science and Technology	Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
CS	Chitosan	Chitosan
PVA	Polyvinyl Alcohol	Polyvinyl alcohol (rượu polyvinyl)
PLA	Polylactic Acid	Axit polylactic
PEG	Polyethylene Glycol	Polyethylene glycol
NPs	Nanoparticles	Hạt nano
M. wt.	Molecular Weight	Khối lượng phân tử
E-spun nanofibers	Electrospun nanofibers	Sợi nano điện kéo
PDLLA	Poly(D,L-lactide)	Poly(D,L-lactide)
LbL	Layer-by-Layer	Lớp phủ từng lớp
nChiD	Nanochitosan Dispersion	Hệ phân tán nanochitosan
BC	Bacterial Cellulose	Cellulose vi khuẩn
UV-Vis	Ultraviolet - Visible Spectroscopy	Phổ hấp thụ tử ngoại - khả kiến
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy	Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier
SEM	Scanning Electron Microscopy	Hiển vi điện tử quét
FE-SEM	Field Emission Scanning Electron Microscopy	Hiển vi điện tử quét phát xạ trường
TEM	Transmission Electron Microscopy	Hiển vi điện tử truyền qua
EDX	Energy-Dispersive X-ray	Phổ tán xạ tia X năng lượng

	Spectroscopy	
DSC	Differential Scanning Calorimetry	Nhiệt lượng vi sai quét
SD	Standard Deviation	Độ lệch chuẩn
HAc	Acetic Acid	Axit axetic
TFA	Trifluoroacetic Acid	Axit trifluoroacetic
PBS	Phosphate Buffered Saline	Dung dịch đệm phosphate (pH 7,4)
MIC	Minimum Inhibitory Concentration	Nồng độ ức chế tối thiểu
E. coli	Escherichia coli	Vi khuẩn Escherichia coli
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide	Thuốc thử MTT (đánh giá khả năng sống của tế bào)
TRPV1	Transient Receptor Potential Vanilloid 1	Thụ thể tiềm năng tiếp nhận vanilloid loại 1
DD	Degree of Deacetylation	Độ khử acetyl hóa
w/v	Weight per volume concentration	Nồng độ khối lượng theo thể tích (g/100 mL dung dịch)
w/w	Weight per weight concentration	Nồng độ khối lượng theo khối lượng (g/100 g hỗn hợp)
mL/h	Milliliters per hour	Mililit trên giờ
µg/mL	Micrograms per milliliter	Microgam trên mililit
kV	Kilovolt	Kilôvol (đơn vị điện áp)
cm	Centimeter	Centimet
MPa	Megapascal	Megapascal (đơn vị áp suất/cường độ cơ học)
%	Percent (%)	Phần trăm
°C	Degrees Celsius (°C)	Độ C (nhiệt độ theo thang Celsius)
°	Degree (angle) (°)	Độ (đơn vị đo góc)

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1. Khảo sát nồng độ capsaicin trong dung dịch CS/PLA/PEG (% w/v).....	22
Bảng 2. Kết quả khảo sát chế tạo sợi nano CS/PLA/PEG chứa capsaicin ở nồng độ khác nhau	28
Bảng 3. Kết quả khảo sát khoảng cách kim phun tới bộ thu ở các khoảng cách khác nhau	33
Bảng 4. Kết quả khảo sát tốc độ bơm ở các tốc độ bơm khác nhau	35
Bảng 5. Kết quả khảo sát điện áp ở mức điện áp khác nhau	37
Bảng 6. Kết quả phân tích cơ học sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12	45
Bảng 7. Kết quả đo góc tiếp xúc giữa giọt nước và sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12	46
Bảng 8. Hiệu quả kháng khuẩn của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 so với capsaicin tự do	49

DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ

Hình 1. Ứng dụng của công nghệ nano trong lĩnh vực y dược	1
Hình 2. Minh họa quá trình tạo sợi nano từ dung dịch polymer dưới tác động của điện trường	4
Hình 3. Ứng dụng của Chitosan (CS) trong các lĩnh vực y dược, thực phẩm chức năng, nông nghiệp và công nghệ sinh học	10
Hình 4. Công thức cấu tạo Polylactic acid (PLA)	12
Hình 5. Công thức cấu tạo Polyethylene glycol (PEG)	14
Hình 6. Công thức phân tử của hợp chất Capsaicin	16
Hình 7. Hệ electrospinning Nano NC	20
Hình 8. Máy kiểm tra cơ lý vật liệu Zwick Z2.5	25
Hình 9. Thiết bị đo góc tiếp xúc quang học	26
Hình 10. Ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP8 phóng đại: a) x5000; a') x200	29
Hình 11. Ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP10 phóng đại: b) x5000; b') x200	30
Hình 12. Ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 phóng đại: c) x5000; c') x200	30
Hình 13. Ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP14 phóng đại: d) x5000; d') x200	30
Hình 14. Ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP16 phóng đại: e) x5000; e') x200	31
Hình 15. Ảnh sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 sau khi thực hiện quá trình kéo lực điện trường ở các điều kiện tối ưu	41
Hình 16. Ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 ở độ phóng đại: a) x10.000; b) x5.000; c) x200	42
Hình 17. Biểu đồ phân bố đường kính của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 ...	42
Hình 18. Phổ FT-IR của CS (A), PEG (B), PLA (C), Capsaicin (D) và sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 (E)	43
Hình 19. Độ bền cơ học của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12	45
(ứng suất, MPa – biến dạng, %)	45
Hình 20. Góc tiếp xúc được đo bằng camera kỹ thuật số	47
a) 73,6°; b) 73,8° ;c) 73,8°	47
Hình 21. Sự giải phóng hoạt chất capsaicin trong sợi CS/PLA/PEG/CAP12 theo thời gian	48

DANH MỤC CÁC SƠ ĐỒ

Sơ đồ 1: Sơ đồ khảo sát chế tạo sợi nano CS/PLA/PEG mang hoạt chất capsaicin bằng thiết bị quay kéo sợi lực điện trường	21
Sơ đồ 2: Sơ đồ chế tạo sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 bằng thiết bị quay kéo sợi lực điện trường	39

MỞ ĐẦU

Trong những năm gần đây, công nghệ nano đang ngày càng trở nên phổ biến và được ứng dụng rộng rãi trong đời sống hằng ngày. Các sản phẩm dựa trên công nghệ nano đã xuất hiện trong nhiều lĩnh vực khác nhau như: dệt may, mỹ phẩm, công nghệ thông tin, nông nghiệp và y dược. Ở kích thước nano, vật liệu thể hiện những tính chất vật lý, hóa học và sinh học khác biệt đáng kể so với cùng loại vật liệu ở kích thước lớn hơn. Nhờ những đặc tính độc đáo này mà nhiều nhà nghiên cứu đã tập trung khai thác công nghệ nano nhằm tạo ra các vật liệu có tính năng cải tiến, đặc biệt là nâng cao độ tan trong nước và sinh khả dụng của những hợp chất vốn có tính tan kém. Đây là một hướng nghiên cứu đang nhận được sự quan tâm lớn trong những năm gần đây [1].

Đặc biệt, có nhiều phương pháp đã được phát triển để chế tạo vật liệu nano dạng sợi, trong đó có phương pháp kéo sợi bằng điện trường (electrospinning) được xem là một trong những kỹ thuật đơn giản và hiệu quả nhất. Đây là kỹ thuật chế tạo sợi thường được sử dụng nhất và sợi nano polymer chế tạo bằng phương pháp này có ứng dụng cao trong lĩnh vực dẫn thuốc. Bên cạnh đó, sợi nano polymer chế tạo bằng phương pháp quay kéo lực điện trường có cấu trúc lỗ có thể kiểm soát được và mang các chất lành vết thương nên được ứng dụng mang thuốc nhả chậm. Trong những năm gần đây, việc chế tạo vật liệu nano bằng phương pháp quay kéo lực điện trường đang được quan tâm nghiên cứu, mở ra những hướng ứng dụng mới, đặc biệt là ứng dụng trong lĩnh vực y dược không chỉ trên thế giới mà còn ở Việt Nam. Thông qua phương pháp electrospinning, nhiều loại sợi nano đã được chế tạo từ cả polymer tự nhiên (như zein, collagen, silk, chitosan...) và polymer tổng hợp. Các sợi nano này đã được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau bao gồm y sinh học, tách chiết/phân tách, cảm biến (sensor) và các hệ dẫn truyền thuốc.

Trên thế giới và hiện tại ở Việt Nam, việc nghiên cứu chế tạo sợi nano chitosan mang hoạt chất được liệu bằng kỹ thuật lực điện trường đang được các nhà khoa học quan tâm.

Capsaicin là được chiết xuất từ quả ớt (*Capsicum annuum* L.) có hoạt tính sinh học chính trong ớt chiếm tới 65-70%. Các nghiên cứu trên thế giới

đã chứng minh capsaicin có tác dụng làm giảm đau, khi sử dụng capsaicin ở nồng độ thấp có khả năng giảm viêm, giảm đau do viêm khớp dạng thấp và đau cơ. Ngoài ra, ở nồng độ capsaicin cao đã được chứng minh là điều trị thần kinh, đau sau mổ và đau đầu. Capsaicin còn có tiềm năng kháng khuẩn, kháng nấm tốt. Ngoài tác dụng giảm đau, kháng khuẩn, Capsaicin còn được biết đến bởi khả năng điều trị các bệnh ngoài da khác nhau: da khô, vẩy nến.

Trong lĩnh vực y sinh, sự kết hợp chitosan (CS), polylactic acid (PLA) và polyethylene glycol (PEG) trong chế tạo sợi nano được đánh giá cao nhờ khả năng bổ sung ưu điểm của từng thành phần. Chitosan là polymer tự nhiên có tính phân hủy sinh học, tương thích sinh học, kháng khuẩn và hỗ trợ lành vết thương, song khó điện kéo do độ tan hạn chế và cấu trúc liên kết hydro phức tạp. PLA là polymer nguồn gốc tái tạo, có độ bền cơ học cao và khả năng tạo sợi tốt, giúp khắc phục hạn chế của chitosan. PEG là polymer ưa nước, tương thích sinh học, có vai trò cải thiện độ ổn định, hòa tan và khả năng phân tán, đồng thời tăng cường tương tác giữa CS và PLA. Do đó, sự phối hợp ba polymer CS/PLA/PEG vừa đảm bảo tính chất sinh học cần thiết, vừa nâng cao đặc tính cơ học và dễ dàng tạo sợi, phù hợp cho ứng dụng trong lĩnh vực y sinh [4].

Trên thế giới và trong nước hiện chưa có các nghiên cứu chế tạo sợi nano polymer chitosan mang hoạt chất capsaicin. Do vậy, tôi đã quyết định lựa chọn đề tài nghiên cứu: “Nghiên cứu chế tạo sợi nano chitosan mang hoạt chất capsaicin bằng phương pháp lực điện trường”.

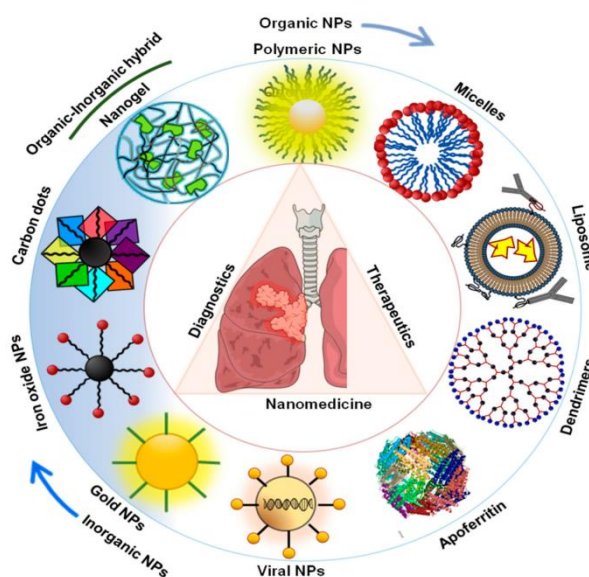
Mục tiêu của luận văn là: Chế tạo sợi nano chứa chitosan và hoạt chất capsaicin bằng phương pháp lực điện trường. Nghiên cứu đặc tính, cấu trúc sợi nano chitosan mang hoạt chất capsaicin.

Các sợi nano polymer chitosan gắn hoạt chất capsaicin có kích cỡ nano mét với các đặc tính giúp cho việc giải phóng hoạt chất từ từ (nhả chậm), làm tăng cường tác dụng, tính sinh khả dụng của hoạt chất và các kết quả đạt được sẽ là định hướng trong nghiên cứu các dạng bào chế tạo các sản phẩm chăm sóc sức khỏe, đặc biệt là định hướng ứng dụng trong miếng dán giảm đau, kem bôi da...hỗ trợ điều trị bệnh đau xương khớp.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. Tổng quan chung về công nghệ nano trong lĩnh vực y dược

Công nghệ nano trong y dược là một lĩnh vực tương đối mới mẻ nhưng phát triển nhanh chóng, kết hợp giữa công nghệ nano với y sinh học và dược học. Ứng dụng của công nghệ này bao gồm: bào chế thuốc ở dạng nano, các tác nhân chẩn đoán hình ảnh sử dụng hạt nano cũng như các hệ thống chẩn đoán trị liệu tích hợp.



Hình 1. Ứng dụng của công nghệ nano trong lĩnh vực y dược

Trên thế giới, các bằng sáng chế liên quan đến nghiên cứu và ứng dụng công nghệ nano trong bào chế dược liệu dùng cho thực phẩm chức năng, tính đến tháng 10/2017, đã có tổng cộng 1.284 đơn sáng chế được công bố. Hai quốc gia có đơn đăng ký sáng chế sớm nhất trong lĩnh vực này là Nam Phi (năm 1974) và Hoa Kỳ (năm 1978). Tính đến thời điểm nói trên, các bằng sáng chế trong lĩnh vực này đã được đăng ký tại 31 quốc gia và 2 tổ chức quốc tế là Tổ chức Sở hữu trí tuệ thế giới (WO) và Văn phòng sáng chế châu Âu (EP). Trong đó, năm quốc gia dẫn đầu về số lượng sáng chế bao gồm: Hoa Kỳ, Hàn Quốc, Nhật Bản, Trung Quốc và Úc. Các quốc gia còn lại có tỷ lệ đơn đăng ký dao động từ 0,46% đến 1,75%. Về nội dung, các sáng chế tập trung vào ba nhóm chính: (1) dược phẩm và chế phẩm hỗ trợ điều trị (chiếm 53%), (2) thực phẩm và đồ uống (chiếm 29%) và (3) mỹ phẩm (chiếm 12%). Trong đó, hướng nghiên cứu liên quan đến dược phẩm và chế phẩm hỗ trợ điều trị chiếm tỷ lệ cao nhất và được quan tâm nhiều nhất tại các quốc gia dẫn

đầu như Mỹ, Hàn Quốc, Nhật Bản, Trung Quốc và Úc, cũng như tại hai tổ chức WO và EP. Điều này cho thấy xu hướng ứng dụng công nghệ nano trong bào chế dược liệu đang được tập trung nghiên cứu mạnh mẽ ở nhóm nước phát triển.

Các kết quả nghiên cứu cho thấy rằng các hệ hạt nano mang lại nhiều lợi ích vượt trội về dược động học so với thuốc truyền thống bởi chúng giúp tăng độ hòa tan, cải thiện sinh khả dụng, nâng cao hiệu quả điều trị, giảm độc tính và tăng khả năng hướng đích mô. Đặc biệt, các dược chất có thể được liên kết với các sợi nano chitosan - vốn là nền polymer sinh học nhằm phân tán hoạt chất và giải phóng dần dần nhờ quá trình khuếch tán hoặc phân hủy của polymer. Chính vì vậy, thuốc có thể được thiết kế hiệu quả hơn, an toàn hơn và tối ưu hơn cho mục tiêu điều trị cụ thể [2].

Tại Việt Nam, ứng dụng của sợi nano polymer đang ngày càng được mở rộng và thu hút sự quan tâm của các nhà nghiên cứu. Trong đó, nhóm nghiên cứu của TS. Nguyễn Thị Thu Thủy thuộc trường Đại học Phenika chế tạo và ứng dụng sợi nano polymer trong các lĩnh vực sau: y sinh, môi trường, năng lượng xúc tác... Năm 2018, tác giả Nguyễn Thị Thu Thủy và Nguyễn Thị Phương Thu tại Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội đã nghiên cứu chế tạo màng sợi nano chitosan/polyvinyl alcohol ứng dụng loại bỏ ion kim loại nặng trong nước. Kết quả màng sợi nano CS/PVA được đánh giá khả năng hấp phụ đối với ion Cu^{2+} và Pb^{2+} trong dung dịch nước và khả năng xử lý loại ion kim loại nặng trong nước thải của quá trình mạ đồng bằng Ni, Cr của công ty Cổ phần Khí cụ điện I [3].

Bên cạnh đó, việc nghiên cứu, chế tạo và ứng dụng vật liệu nanochitosan đã được nhiều nhóm nghiên cứu trong nước triển khai, đặc biệt trong các lĩnh vực dược phẩm và nông nghiệp. Một trong những công trình nghiên cứu tiêu biểu là đề tài: “*Nghiên cứu chế tạo vật liệu chitosan ứng dụng trong dược phẩm và trong nông nghiệp*” do PGS.TS. Đỗ Trường Thiện (Viện Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam) chủ trì. Đề tài này đã xây dựng thành công quy trình chế tạo sản phẩm từ nanochitosan, đồng thời tiến hành thử nghiệm ứng dụng kích thích sinh trưởng trên cây lúa, cho kết quả khả quan trong thực tiễn canh tác.

Gần đây, nhóm nghiên cứu của PGS.TS. Lê Minh Hà (Viện Hóa học – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam) và cộng sự tập trung nghiên cứu và đã phát triển thành công sợi nano polymer được chế tạo bằng phương pháp kéo sợi điện từ hệ CS/PEG/PLA mang hoạt chất tự nhiên ethyl p-methoxycinnamate (EPMC). Hệ vật liệu này cho thấy đặc tính cơ học ưu việt, khả năng giải phóng hoạt chất hiệu quả (~70% sau 24 giờ) cùng với hoạt tính sinh học cao. Đặc biệt, sợi nano thể hiện rõ hiệu quả chống viêm ($IC_{50} = 41,05 \pm 1,75 \mu\text{g/mL}$), kháng khuẩn và được đánh giá là an toàn trên cả mô hình in vitro và in vivo, khẳng định tiềm năng ứng dụng trong y sinh, đặc biệt trong điều trị viêm [4].

1.2. Tổng quan về phương pháp lực điện trường và ứng dụng liên quan

Trong số nhiều phương pháp được sử dụng để chế tạo vật liệu nano hiện nay, kỹ thuật quay lực điện trường (electrospinning) được đánh giá là một trong những phương pháp đơn giản và hiệu quả nhất để tạo ra các sợi có đường kính từ vài chục nanomet đến vài micromet. Với phương pháp này, người ta đã tổng hợp thành công nhiều loại sợi nano từ các polymer tự nhiên như zein, collagen, lụa tơ tằm, chitosan, cũng như từ các polymer tổng hợp. Những sợi nano này đã được ứng dụng rộng rãi trong các lĩnh vực như y sinh, công nghệ phân tách và cảm biến [5-6].

1.2.1. Sự phát triển của nghiên cứu sợi nano bằng phương pháp lực điện trường

Kỹ thuật phun điện (electrospray) đã được đề xuất từ cuối thế kỷ XIX và dần được cải tiến, phát triển thành phương pháp lực điện trường (electrospinning) vào khoảng năm 1900. Vào năm 2006 đến nay giai đoạn này chứng kiến sự bùng nổ các công trình nghiên cứu ứng dụng sợi nano phương pháp lực điện trường trong: cảm biến, kỹ thuật mô, vật liệu chống tác nhân hóa học, màng lọc, giàn giá thể, pin và xúc tác. Ngoài ra, sợi nano còn được ứng dụng nổi bật trong y học như hệ thống phân phối thuốc.

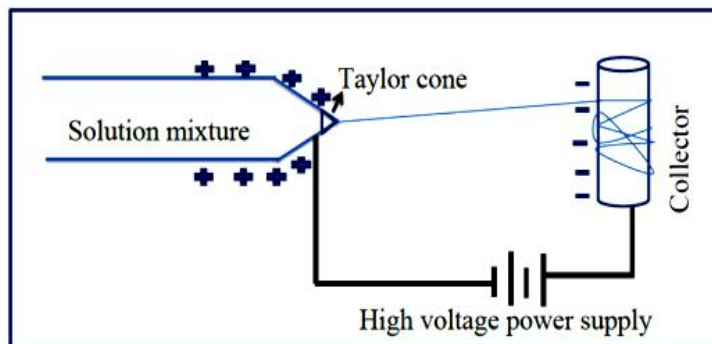
Từ sau năm 2010, phần lớn các công trình nghiên cứu đã tập trung vào ứng dụng thực tiễn của sợi nano thông qua phương pháp lực điện trường trong nhiều lĩnh vực khác nhau. Các nghiên cứu này thường sử dụng polymer chức năng hóa, sợi tích hợp hạt nano hoặc các sợi nano composite có chứa oxit kim loại để nâng cao hiệu quả ứng dụng.

1.2.2. Nguyên lý hoạt động, cấu tạo thiết bị và các thông số vận hành

1.2.2.1. Nguyên lý hoạt động và cấu tạo thiết bị

Cơ chế hình thành sợi trong kỹ thuật phương pháp lực điện trường dựa trên nguyên lý tương tác tĩnh điện giữa các điện tích. Dung dịch polymer được chứa trong xilanh có sẵn lực căng bề mặt. Khi được kết nối với nguồn điện cao áp tại đầu kim tiêm, điện tích được truyền vào dung dịch. Đồng thời, một bộ thu điện tích trái dấu được đặt cách đầu kim một khoảng nhất định (thường khoảng 10 cm) để thu nhận sợi.

Khi điện áp cao được cấp (khoảng từ 10 đến 30 kV), điện trường mạnh sẽ làm dung dịch tại đầu kim vượt qua lực căng bề mặt và hình thành một cấu trúc đặc trưng có dạng hình nón gọi là nón Taylor (Taylor cone). Từ đỉnh của nón này, dòng dung dịch bị kéo giãn và phóng ra tạo thành các sợi siêu mảnh. Mật độ điện tích tại bộ thu càng cao thì quá trình hình thành sợi càng ổn định và hiệu quả hơn. Hình 1 dưới đây minh họa rõ ràng nguyên lý vận hành của hệ thống lực điện trường.



Hình 2. Minh họa quá trình tạo sợi nano từ dung dịch polymer dưới tác động của điện trường

Thiết bị lực điện trường bao gồm ba bộ phận chính: **(1)** nguồn điện cao áp - là thành phần có ảnh hưởng lớn nhất đến quá trình tạo sợi, **(2)** hệ thống bơm dung dịch bao gồm ống tiêm và kim tiêm (trong một số thiết kế không dùng kim, cụm này được gọi chung là spinneret) và **(3)** bộ thu (collector) - nơi tập trung các sợi được hình thành.

Các thông số thiết bị như loại kim, thể tích dung dịch, đường kính kim, hoặc thiết kế xilanh cũng cần được lựa chọn phù hợp tùy theo loại lực điện trường sử dụng. Trong đó, các hệ thống không sử dụng kim (needleless

electrospinning) được đánh giá là phù hợp nhất cho quy mô sản xuất công nghiệp nhờ vào khả năng tạo ra lượng lớn sợi nano trong thời gian ngắn.

Hiện nay, trên thị trường có nhiều loại thiết bị lực điện trường với các cấu hình và nguyên lý hoạt động khác nhau, tuy nhiên sự khác biệt chủ yếu nằm ở thiết kế của phần spinneret và bộ thu. Một số hệ thống sử dụng điện cực làm spinneret, trong khi nhiều thiết kế khác áp dụng cơ chế không sử dụng kim (needleless). Trên thực tế, các thiết bị không kim đang dần chiếm ưu thế nhờ khả năng sản xuất quy mô lớn và hiệu suất cao.

1.2.2.2. Thông số vận hành

Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình kéo sợi từ dung dịch polymer bằng phương pháp lực điện trường bao gồm cả các đặc tính của dung dịch, điều kiện môi trường và cấu hình thiết bị, trong đó thông số dung dịch đóng vai trò then chốt trong việc hình thành và kiểm soát hình thái của sợi nano.

• *Thông số liên quan đến dung dịch kéo sợi*

Vật liệu lựa chọn: Việc lựa chọn polymer thích hợp cho kỹ thuật lực điện trường phụ thuộc vào mục tiêu ứng dụng cuối cùng của sợi nano. Chẳng hạn, các sợi nano dẫn điện có chứa ống nano (nanotube) từ polymer dẫn điện thường được sử dụng trong các thiết bị cảm biến, điện cực và vật liệu có hoạt tính sinh học, nhờ khả năng đáp ứng điện tích bên trong cấu trúc phân tử. Khối lượng phân tử (M. wt.) của polymer là một trong những yếu tố then chốt quyết định đặc tính hình thái của sợi. Nhiều nghiên cứu cho thấy cùng một loại polymer nhưng có khối lượng phân tử khác nhau sẽ cho ra sợi có đường kính khác nhau. Polymer có khối lượng phân tử quá thấp dễ tạo ra sợi bị đứt đoạn, trong khi khối lượng quá cao gây khó khăn trong việc kéo sợi liên tục. Do đó, cần lựa chọn polymer có khối lượng phân tử tối ưu để đảm bảo hình thành sợi đồng đều và liên tục.

Dung môi hòa tan: Trong trường hợp sợi nano composite, dung dịch polymer thường được pha trộn với các tiền chất vô cơ như muối kim loại hoặc hạt nano. Các tiền chất này cần được hòa tan trong dung môi phù hợp để đạt được độ nhớt thích hợp cho quá trình lực điện trường. Khi quá trình kéo sợi diễn ra, dung môi sẽ bay hơi trong quá trình di chuyển từ đầu kim đến bộ thu. Vì vậy, lựa chọn dung môi thích hợp cho từng loại tiền chất là điều kiện tiên quyết để đảm bảo chất lượng sợi.

Các thuộc tính quan trọng của dung dịch ảnh hưởng đến khả năng kéo sợi bao gồm độ nhớt, sức căng bề mặt và độ dẫn điện, với mối liên hệ chặt chẽ giữa ba yếu tố này:

- ✓ **Độ nhớt:** Đây là thông số ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng hình thành sợi. Dung dịch có độ nhớt tối ưu sẽ tạo ra sợi có đường kính trong khoảng micro đến nano. Dung dịch quá loãng sẽ tạo ra sợi có hạt, trong khi dung dịch quá đặc dễ gây tắc kim và kéo sợi không ổn định.
- ✓ **Sức căng bề mặt:** Là lực tác động trên bề mặt chất lỏng theo đơn vị chiều dài. Trong phương pháp lực điện trường, điện áp cần phải đủ cao để thắng được sức căng bề mặt nhằm tạo thành sợi. Các dung môi khác nhau sẽ ảnh hưởng đến sức căng bề mặt khác nhau. Yang và cộng sự đã chứng minh rằng việc giảm sức căng bề mặt (mà không thay đổi nồng độ polymer) giúp cải thiện hình dạng sợi từ dạng có hạt thành sợi mịn.
- ✓ **Độ dẫn điện:** Có vai trò đặc biệt quan trọng trong việc hình thành sợi. Ce Wang và cộng sự chỉ ra rằng các polymer tự nhiên thường có độ dẫn điện cao hơn do đặc tính polyelectrolyte, nhưng đồng thời lại có sức căng bề mặt lớn hơn, gây khó khăn trong quá trình kéo sợi so với polymer tổng hợp. Để cải thiện độ dẫn điện, người ta thường bổ sung muối như NaCl, KCl hoặc KBr vào dung dịch. Việc tăng độ dẫn điện sẽ làm giảm đường kính sợi, giúp tạo ra sợi mảnh hơn và đồng đều hơn.

● **Thông số thiết bị**

Trong kỹ thuật lực điện trường, các thông số liên quan đến thiết bị đóng vai trò then chốt trong việc kiểm soát hình thái, đường kính và hướng sắp xếp của sợi nano. Một số thông số chính bao gồm: tốc độ dòng dung dịch, kích thước và hình dạng kim tiêm, điện áp áp dụng, khoảng cách giữa đầu kim và bộ thu, cũng như cấu hình của bộ thu.

Tốc độ dòng của dung dịch là tốc độ mà dung dịch polymer được đẩy ra khỏi đầu kim dưới tác dụng của áp lực. Tốc độ dòng thấp thường có lợi cho quá trình phân cực của dung dịch polymer, giúp hình thành sợi mịn và liên tục. Ngược lại, khi tốc độ dòng tăng lên, chẳng hạn đạt mức 1 mL/phút, nguy cơ tạo ra sợi có hạt tăng đáng kể do dung dịch không kịp khô hoàn toàn trước khi đến bộ thu.

Đường kính và hình dạng của kim tiêm cũng ảnh hưởng đáng kể đến đặc điểm sợi tạo thành. Việc sử dụng kim có đường kính lớn (gauge nhỏ) thường cho ra sợi có kích thước cỡ micromet. Ngoài ra, hình dạng tiết diện của kim (tròn, elip, v.v.) cũng ảnh hưởng đến hình thái của sợi - chẳng hạn, kim có tiết diện elip có thể tạo ra sợi dẹt hoặc biến dạng không đều.

Điện áp áp dụng trong quá trình kéo sợi có ảnh hưởng nhất định đến đường kính sợi. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng khi điện áp tăng, lực điện tác động lên dung dịch tăng theo, ảnh hưởng đến tốc độ kéo sợi và hình thái sợi. Tuy nhiên, so với các thông số khác, ảnh hưởng của điện áp đến đường kính sợi là tương đối hạn chế trong phạm vi hoạt động tiêu chuẩn.

Khoảng cách giữa đầu kim và bộ thu là thông số có ảnh hưởng đáng kể đến chất lượng sợi. Khoảng cách này cần đủ lớn để dung môi có thời gian bay hơi hoàn toàn trước khi sợi tiếp xúc với bộ thu. Nếu khoảng cách quá ngắn, sợi dễ có hình dạng hạt hoặc không đều; trong khi đó, khoảng cách quá dài có thể gây đứt gãy dòng sợi do sự mất ổn định điện trường. Do đó, cần tối ưu khoảng cách này tùy thuộc vào hệ dung dịch và điều kiện môi trường.

Cấu trúc và loại bộ thu (collector) có vai trò quyết định trong việc định hướng (alignment) và định hình (orientation) của sợi nano. Một số thiết kế phổ biến bao gồm: bộ thu dạng kim, bản phẳng, thanh ngang, trục quay, đĩa quay, hoặc bồn chứa dung dịch. Trong đó, bộ thu dạng đĩa quay (disk collector) thường được sử dụng để thu được sợi có hướng định hình tốt.

• *Thông số môi trường*

Trong kỹ thuật lực điện trường, các yếu tố môi trường như nhiệt độ và độ ẩm có ảnh hưởng đáng kể đến quá trình hình thành cũng như cấu trúc vi mô của sợi nano. Trong đó, nhiệt độ tại vị trí bộ thu (collector) được xem là một yếu tố đặc biệt quan trọng trong việc điều chỉnh tính chất xốp và hình thái bề mặt của sợi.

Ngoài ra, nhiệt độ và độ ẩm là hai thông số môi trường có mối liên hệ chặt chẽ và cùng ảnh hưởng đến quá trình kéo sợi. Nhiệt độ cao thường làm giảm độ ẩm tương đối trong không khí, từ đó tăng tốc độ bay hơi của dung môi, điều này có thể dẫn đến việc hình thành sợi khô nhanh hơn, nhưng cũng có nguy cơ gây ra các hiện tượng như sợi dễ gãy, tạo lỗ xốp không đồng đều hoặc không kiểm soát được hình thái sợi.

Độ ẩm cao trong môi trường lực điện trường có thể dẫn đến sự hình thành các sợi nano có đường kính lớn và bề mặt không đồng đều. Trong nghiên cứu chế tạo sợi polystyrene, nhóm tác giả đã xác định rằng độ ẩm tối ưu để thu được sợi nano có đặc tính xốp đồng đều là dưới 25%. Vượt quá mức này, khả năng kiểm soát hình thái sợi và mức độ xốp sẽ bị giảm.

Do đó, việc duy trì độ ẩm ở mức tối ưu là điều kiện tiên quyết để đảm bảo chất lượng sợi nano, đặc biệt trong trường hợp mong muốn hình thành các màng xốp hoặc cấu trúc có diện tích bề mặt lớn phục vụ cho các ứng dụng trong lĩnh vực lọc, cảm biến và y sinh.

1.2.3. Các ứng dụng liên quan

Các sợi nano được chế tạo bằng kỹ thuật quay điện trường (E-spun nanofibers) sở hữu tỷ lệ diện tích bề mặt trên thể tích rất lớn, đây là một đặc tính ưu việt giúp mở rộng khả năng ứng dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau. [6].

Hiện nay, các ứng dụng nổi bật của công nghệ này bao gồm: lọc không khí và chất lỏng, mặt nạ chăm sóc da, trang phục bảo hộ quân sự, cảm biến nano, ứng dụng liên quan đến năng lượng, vật liệu băng vết thương, hệ thống dẫn truyền thuốc, cố định enzyme và giá thể cho kỹ thuật mô.

Trong số các hướng ứng dụng tiềm năng, hướng ứng dụng dẫn truyền thuốc được đánh giá là một trong những lĩnh vực đầy triển vọng nhất. Những ưu điểm vượt trội như: khả năng mang tải thuốc cao, hiệu suất bao gói hiệu quả, khả năng phân phối đa dạng liệu pháp cùng lúc, quy trình thực hiện đơn giản, và chi phí thấp khiến kỹ thuật electrospinning trở thành một công cụ đầy hứa hẹn trong lĩnh vực y sinh, đặc biệt là trong hóa trị tại chỗ sau phẫu thuật [7].

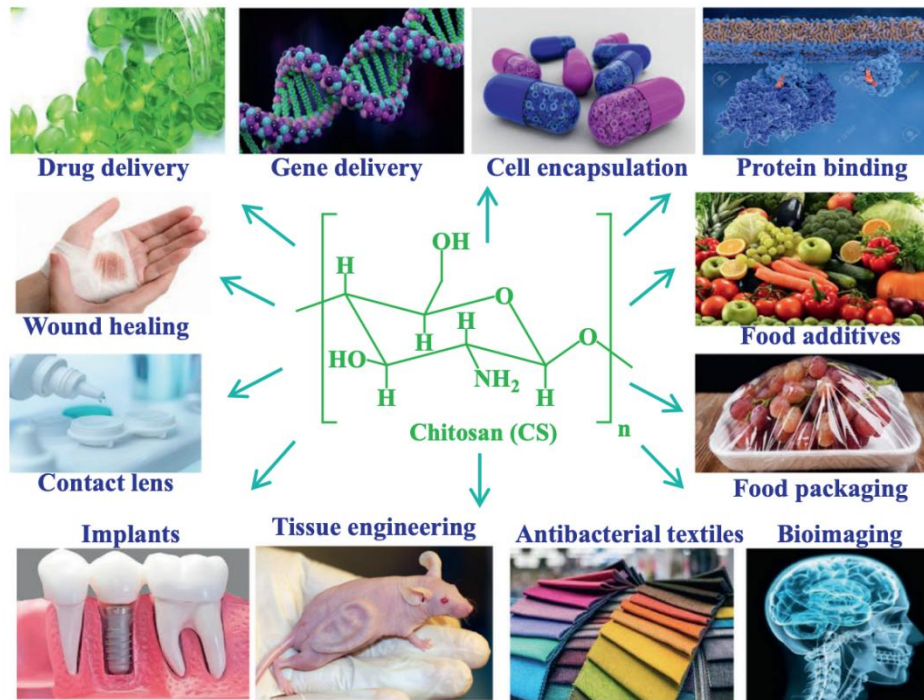
Nhiều nghiên cứu *in vitro* đã được thực hiện nhằm đánh giá khả năng kiểm soát phân bố và giải phóng thuốc từ màng sợi nano. Zong và cộng sự đã tiến hành nghiên cứu trên vật liệu màng sợi nano từ PDLA có tải thuốc kháng sinh Mefoxin, thông qua việc tối ưu các thông số thiết bị như: cường độ điện trường, nồng độ dung dịch polymer, tỷ lệ bổ sung muối và tốc độ cấp liệu. Màng sợi nano sau khi chế tạo được ngâm trong 20 mL dung dịch đệm

để tiến hành khảo sát quá trình giải phóng thuốc. Kết quả cho thấy, toàn bộ lượng thuốc được giải phóng hoàn toàn sau 48 giờ, minh chứng hiệu quả kiểm soát giải phóng của hệ vật liệu.

Trước thực trạng đó, vật liệu sợi nano nổi lên như một giải pháp tiềm năng với vai trò là hệ dẫn truyền thuốc hiệu quả, giúp cải thiện độ ổn định, giảm liều sử dụng và tăng độ tập trung thuốc tại vị trí cần điều trị [6].

1.3. Tổng quan chung về vật liệu chitosan và ứng dụng nanochitosan trong lĩnh vực y dược

Động vật giáp xác và động vật thân mềm là những loại thủy sản được tiêu thụ rộng rãi trên toàn thế giới nhờ hương vị thơm ngon và giá trị dinh dưỡng cao. Tuy nhiên, trong quá trình chế biến, chỉ khoảng 30 - 40% khối lượng sinh học của các loài này được sử dụng làm thực phẩm, trong khi phần còn lại (chiếm khoảng 60 - 70%) bị loại bỏ dưới dạng chất thải hoặc sản phẩm phụ. Các phế phẩm này, tuy không được sử dụng trực tiếp trong thực phẩm, nhưng lại chứa nhiều hợp chất có giá trị, đặc biệt là chitin - một polysaccharide tự nhiên quan trọng. Chitin có thể được chiết xuất từ vỏ của các loài động vật có vỏ thông qua nhiều phương pháp khác nhau như xử lý hóa học, vi sinh vật, enzyme hoặc các quy trình “xanh” thân thiện với môi trường. Tuy nhiên, do đặc tính không tan trong nước và trong hầu hết các dung môi hữu cơ, chitin gặp nhiều hạn chế trong ứng dụng thực tế. Để khắc phục nhược điểm này, chitin thường được khử acetyl hóa để tạo thành chitosan - một dẫn xuất có khả năng hòa tan tốt hơn và sở hữu nhiều tính năng sinh học, từ đó mở rộng khả năng ứng dụng trong các lĩnh vực như y dược, thực phẩm chức năng, nông nghiệp và công nghệ sinh học [8].



Hình 3. Ứng dụng của Chitosan (CS) trong các lĩnh vực y dược, thực phẩm chức năng, nông nghiệp và công nghệ sinh học

Để ứng dụng trong lĩnh vực y tế và thực phẩm, chitosan đã được nghiên cứu rộng rãi về mức độ an toàn và độc tính. Ngay từ năm 1968, K. Arai và cộng sự đã báo cáo rằng chitosan hầu như không độc, với chỉ số LD₅₀ là 16 g/kg thể trọng, không gây độc cấp tính hoặc mãn tính trên động vật và người. Nhiều nghiên cứu sau đó cũng khẳng định các đặc tính ưu việt của chitosan như: tính cơ học tốt, khả năng tạo màng dễ dàng, không độc hại, phân hủy sinh học tự nhiên và khả năng tương thích sinh học cao - không chỉ với cơ thể động vật mà còn với mô thực vật. Những đặc tính này khiến chitosan trở thành một vật liệu sinh học tiềm năng trong các ứng dụng y sinh, đặc biệt trong việc hỗ trợ làm lành vết thương [9,10].

Gần đây, công nghệ nano đã mở ra hướng tiếp cận mới trong việc tối ưu hóa các đặc tính vật liệu. Ở quy mô nano, diện tích bề mặt riêng tăng lên đáng kể, kéo theo sự cải thiện về các tính chất vật lý, hóa học và sinh học của vật liệu. Nguyên lý này cũng được áp dụng để tạo ra nanochitosan - các hạt chitosan ở kích thước nanomet - nhằm nâng cao hiệu quả ứng dụng, đặc biệt trong dẫn truyền thuốc, thực phẩm chức năng và các hệ phân phối hoạt chất sinh học [8].

Vào năm 2019, Ikono Radium và cộng sự đã tiến hành nghiên cứu hoạt

tính kháng khuẩn của nanochitosan đối với màng sinh học của hai loài vi sinh vật phổ biến trong khoang miệng là *Streptococcus mutans* và *Candida albicans*. Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả đã tổng hợp thành công các hạt nanochitosan với kích thước trung bình dao động từ 20 đến 30 nm, đồng thời xây dựng được mô hình màng sinh học đơn loài và màng sinh học phối hợp (*S. mutans* và *C. albicans*) trong điều kiện *in vitro*. Kết quả cho thấy, khi nồng độ nanochitosan tăng, khả năng sống sót của cả hai loài vi sinh vật giảm đáng kể, cho thấy tác dụng ức chế sinh trưởng rõ rệt của vật liệu này. Tuy nhiên, khối lượng màng sinh học sau 3 giờ ủ không có sự thay đổi đáng kể, bất kể là màng sinh học đơn loài hay phối hợp [11].

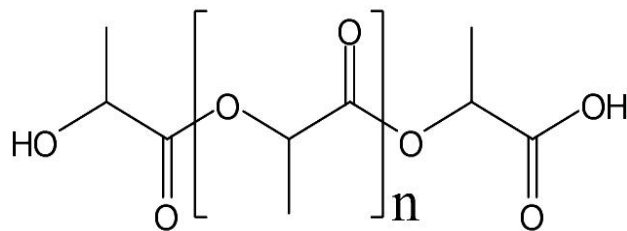
Vào năm 2021, Danica Z. Zmejkoski và cộng sự đã nghiên cứu một hệ vật liệu nano sinh học mới, bao gồm nanochitosan (nChiD) được tạo ra bằng phương pháp chiếu xạ gamma và tích hợp vào khung polymer cellulose vi khuẩn (BC), nhằm phát triển một hệ vật liệu có khả năng quang hoạt, chống oxy hóa và tiềm năng ứng dụng trong điều trị vết thương. Trong nghiên cứu này, các hạt nanochitosan có hình dạng gần giống đĩa, với kích thước trung bình dao động từ 40 đến 60 nm, tùy thuộc vào liều chiếu xạ. Các hệ vật liệu nanocompozit BC-nChiD thu được đều phát huỳnh quang màu xanh lục, độc lập với bước sóng kích thích, cho thấy tính chất quang học ổn định. Kết quả đánh giá độc tính tế bào cho thấy các vật liệu này không gây độc đối với tế bào sống. Đồng thời, hoạt tính chống oxy hóa được ghi nhận ở mức trung bình, thông qua khả năng bắt giữ gốc tự do. Đặc biệt, các mẫu nanocomposite thể hiện hiệu quả ức chế đáng kể sự phát triển của nhiều chủng vi sinh vật thường gặp trong các loại vết thương khó lành. Những kết quả này cho thấy hệ vật liệu BC-nChiD có tiềm năng trở thành một tác nhân sinh học hiệu quả trong hỗ trợ điều trị và tái tạo mô tại vùng vết thương [12].

Năm 2023, Mohamed Saied và cộng sự đã tiến hành nghiên cứu khả năng kháng nấm của vật liệu nanocomposite được tổng hợp từ nanochitosan, nanostarch và hạt nano oxit đồng sinh tổng hợp (myco-synthesized), nhằm ứng dụng trong việc kiểm soát các chủng *Candida* đa kháng thuốc. Trong nghiên cứu này, 24 chủng *Candida* được phân lập từ các mẫu bệnh phẩm lâm sàng. Trong số đó, ba chủng có mức độ kháng cao nhất với các thuốc kháng nấm thông dụng đã được lựa chọn để khảo sát sâu hơn, bao gồm: *Candida*

glabrata MTMA 19, *Candida glabrata* MTMA 21 và *Candida tropicalis* MTMA 24. Các chủng này được xác định chính xác thông qua phương pháp phân tích di truyền. Đặc tính của nanocomposite tổng hợp được đánh giá thông qua một loạt các phương pháp phân tích lý hóa học như phổ hấp thụ tử ngoại khả kiến (UV-Vis), phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR), kính hiển vi điện tử quét (SEM), phổ tán xạ năng lượng tia X (EDX), kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM). Kết quả cho thấy nanocomposite thể hiện hoạt tính kháng nấm mạnh mẽ đối với cả ba chủng *Candida* đã chọn, với đường kính vùng ức chế lần lượt đạt 15,3 mm đối với MTMA 19, 27 mm, đối với MTMA 21 và 28 mm đối với MTMA 24. Quan sát bằng kính hiển vi cho thấy *C. tropicalis* sau khi xử lý bằng nanocomposite có hiện tượng phá hủy cấu trúc thành tế bào, dẫn đến hoại tử và chết tế bào, chứng minh hiệu quả tác động trực tiếp của vật liệu lên cấu trúc tế bào nấm [13].

1.4. Vật liệu polylactic acid (PLA) và ứng dụng tạo sợi nano

Polylactic acid (PLA) là một loại polyester có nguồn gốc từ nguyên liệu tái tạo như củ cải đường, ngô và mía đường. Vật liệu này được biết đến với các đặc tính ưu việt như khả năng phân hủy sinh học, tính tương thích sinh học cao, khả năng hấp thụ sinh học, không gây độc hại đối với cơ thể và khả năng kéo sợi tốt.



Hình 4. Công thức cấu tạo Polylactic acid (PLA)

Nhờ những đặc tính trên, PLA là một loại polymer đã được Cơ quan Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) phê duyệt cho nhiều ứng dụng y sinh, bao gồm chỉ khâu phẫu thuật, vi nang, vi cầu và vật liệu cấy ghép [14].

PLA đã được ứng dụng rộng rãi trong việc chế tạo các sản phẩm như chỉ khâu phẫu thuật, vật liệu cấy ghép và hệ thống dẫn truyền thuốc. Ngoài ra, với khả năng phân hủy sinh học trong môi trường tự nhiên, PLA còn được sử

dụng phổ biến trong ngành bao bì, in 3D, và các sản phẩm dùng một lần, góp phần giảm thiểu tác động tiêu cực đến môi trường [7,14].

Khi phối trộn với chitosan, các tính chất ưu việt của cả hai vật liệu được tận dụng, tạo ra hệ sợi có độ ổn định cao, khả năng kháng khuẩn tốt, và tính tương thích sinh học vượt trội. Các sản phẩm phối trộn PLA/chitosan đã được nghiên cứu ứng dụng trong nhiều lĩnh vực như: giá thể tái tạo mô, màng phân hủy sinh học và sợi nano.

Tuy nhiên, trong quá trình chế tạo sợi nano bằng kỹ thuật quay điện trường, các dung môi được sử dụng để hòa tan hệ polymer này thường mang độc tính cao. Việc sử dụng các dung môi độc hại như vậy đã hạn chế khả năng ứng dụng thực tiễn trong lĩnh vực y sinh học. Do đó, việc tìm kiếm hệ dung môi thân thiện với môi trường, đồng thời duy trì được các tính năng cơ học của PLA và đặc tính sinh học của chitosan là điều cần thiết để phát triển các vật liệu sợi nano phù hợp cho ứng dụng y sinh.

Năm 2014, Andri Hardiansya và cộng sự đã chế tạo thành công sợi nano PLA pha trộn với CS thông qua kỹ thuật quay điện trường. Đặc biệt, một hệ dung môi mới đã được phát triển để chuẩn bị dung dịch kéo sợi PLA pha chitosan, trong đó ethanol được bổ sung nhằm tăng khả năng hòa trộn giữa chitosan trong acid acetic (HAc) và PLA trong chloroform (CHCl_3). Kết quả phân tích ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) cho thấy khi hàm lượng chitosan tăng trong hỗn hợp CS/PLA, đường kính trung bình của sợi giảm xuống đáng kể. Sự có mặt của chitosan trên bề mặt sợi cũng được xác nhận thông qua việc nhuộm màu với thuốc nhuộm Orange 7 và FITC - cả hai đều có khả năng tương tác với nhóm amino ($-\text{NH}_2$) đặc trưng của chitosan trên sợi nanofiber.

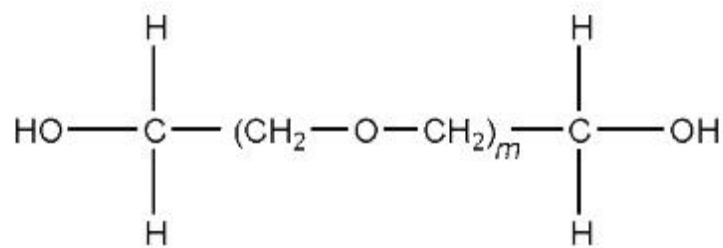
Ngoài ra, sợi CS/PLA còn thể hiện khả năng kháng khuẩn rõ rệt đối với vi khuẩn *Escherichia coli* (E. coli). Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của chitosan trong hệ sợi lai CS/PLA đối với E. coli đạt giá trị 0,015 g/mL. Kết quả từ phép thử độc tính tế bào bằng phương pháp MTT cho thấy vật liệu không gây độc cho dòng tế bào fibroblast chuột L929, cho thấy tính tương thích sinh học tốt.

Từ những kết quả trên, có thể kết luận rằng sợi PLA pha trộn chitosan được chế tạo từ hệ dung môi mới không những có hoạt tính kháng khuẩn mà còn an toàn đối với tế bào động vật có vú. Do đó, vật liệu này hứa hẹn là ứng

cử viên tiềm năng trong các ứng dụng y sinh học như băng vết thương, vật liệu cấy ghép hoặc hệ dẫn truyền thuốc tại chỗ [14].

1.5. Vật liệu polyethylene glycol (PEG) và ứng dụng tạo sợi nano

Polyethylene glycol (PEG) là một polymer tổng hợp được ứng dụng rộng rãi trong lĩnh vực y sinh nhờ vào khả năng hòa tan cao trong môi trường nước, tính tương thích sinh học và khả năng dung nạp tốt. Các loại thuốc có thành phần kết hợp với PEG đã được Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) phê duyệt bởi tính an toàn khi sử dụng trên người. Do đó, PEG đã được ứng dụng rộng rãi trong lĩnh vực y sinh, bao gồm liên hợp sinh học (bioconjugation), dẫn truyền thuốc (drug delivery), cảm biến sinh học (biosensing), hình ảnh y học (imaging) và kỹ thuật mô (tissue engineering).



Hình 5. Công thức cấu tạo Polyethylene glycol (PEG)

Trong các ứng dụng liên hợp sinh học và dẫn truyền thuốc, PEG có thể được gắn trực tiếp với thuốc hoặc liên kết trên bề mặt của các vật liệu nano mang thuốc (một kỹ thuật gọi là *PEGylation*) nhằm tăng cường độ ổn định và độ hòa tan của thuốc trong cơ thể, đồng thời giảm tốc độ đào thải khỏi hệ tuần hoàn, từ đó tối ưu hóa hiệu quả điều trị.

Ngoài việc liên hợp trực tiếp PEG với thuốc, PEG hóa còn được ứng dụng rộng rãi trong lĩnh vực vật liệu nano y sinh. Các hạt nano (NPs) là các vật liệu có dải tính chất lý hóa rộng và kích thước thông thường trong khoảng 1-100 nm, được coi là những ứng viên tiềm năng cho hệ mang thuốc vì chúng có thể được thiết kế để đạt độ ổn định cao, tỷ lệ diện tích bề mặt/thể tích lớn, dễ dàng gắn các tác nhân định hướng và có khả năng mang lượng lớn tác nhân điều trị.

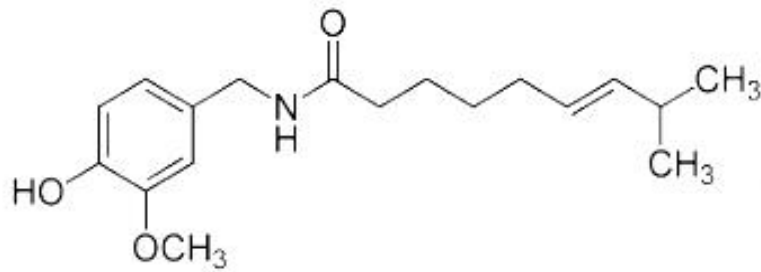
PEG hóa đã được chứng minh là có thể cải thiện độ ổn định trong cơ thể của các hệ mang như micelle, liposome, dendrimer, nanoshell vàng, chấm lượng tử và hạt nano polymer, nhờ đó tăng hiệu quả điều trị. Các hạt nano được biến đổi với PEG trở nên ưa nước và có điện thế zeta gần bằng 0, giúp ngăn chặn hoặc giảm thiểu sự bám dính của các opsonin (protein huyết thanh) - nguyên nhân làm tăng khả năng thực bào. Do đó, các hạt nano PEG hóa có thể tránh được hệ thực bào đơn nhân (mononuclear phagocyte system - MPS).

Chuỗi PEG với mức độ hydrat hóa cao còn có thể làm tăng kích thước thủy động học của các hạt nano, giúp chúng tránh được sự thải trừ qua thận, đồng thời hạn chế tiếp xúc với enzyme phân giải protein và kháng thể. Ngoài ra, các chuỗi PEG linh hoạt và ưa nước còn giúp các hạt nano PEG hóa dễ dàng khuếch tán qua lớp chất nhầy để giải phóng thuốc tại chỗ một cách hiệu quả [15,16].

Sự hiện diện của PEG được cho là giúp cải thiện tính tương thích và khả năng phân tán giữa PLA và CS. Trong một nghiên cứu của Nguyễn Thị Thu Trang và nhóm nghiên cứu vào năm 2016 cho thấy, các hạt nanocomposite xanh trên nền poly(lactic acid), chitosan và polyethylene glycol (PLA/CS/PEG) đã được điều chế thông qua phương pháp pha dung dịch. Hàm lượng PEG được sử dụng từ 2-10% khối lượng so với PLA. Đặc trưng cấu trúc và hình thái của các nanocomposite trước và sau quá trình thủy phân trong dung dịch acid đã được xác định bằng phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR), nhiệt lượng kế quét vi sai (DSC) và kính hiển vi điện tử quét (SEM). Quá trình thủy phân của các nanocomposite PLA/CS/PEG trong dung dịch acid tại các thời điểm khác nhau cũng được khảo sát. Sự dịch chuyển của các nhóm chức C=O, CH₃ trong phổ FTIR của nanocomposite PLA/CS/PEG trước và sau thủy phân được quan sát rõ ràng. Ảnh SEM cho thấy PEG đóng vai trò cải thiện tương tác giữa PLA và CS, từ đó làm hạn chế sự thấm của dung dịch acid vào cấu trúc của nanocomposite khi có mặt PEG. Kết quả thu được sau 28 ngày thử nghiệm trong dung dịch axit cho thấy nanocomposite PLA/CS/PEG8 (chứa 8% khối lượng PEG) có mức độ mất khối lượng thấp nhất cùng với hệ số hồi quy cao nhất ($R^2 = 0,9614$) [17].

1.6. Capsaicin và hoạt tính sinh học

Ớt (*Capsicum annuum* L.) là loại quả có vị cay, thuộc họ Cà (Solanaceae). Ớt không những được sử dụng phổ biến trong thực phẩm mà còn đóng vai trò là một loại dược liệu được ứng dụng phổ biến trong các bài thuốc dân gian trong y học cổ truyền. Thành phần hóa học chính tạo nên vị cay đặc trưng của ớt là capsaicin - một hợp chất thuộc nhóm capsaicinoid. Ở các giống ớt có độ cay thấp, tổng hàm lượng capsaicinoid thường chiếm khoảng 0,003 - 0,01% khối lượng khô, trong đó capsaicin chiếm khoảng 69%, tiếp theo là dihydrocapsaicin (22%), nordihydrocapsaicin (7%) và các hợp chất khác như homocapsaicin và homo-dihydrocapsaicin ở mức khoảng 1% [18,19].



Hình 6. Công thức phân tử của hợp chất Capsaicin

Capsaicin (trans-8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide, $C_{18}H_{27}NO_3$) là một hợp chất tinh thể có tính ưa dầu và ít tan trong nước [23]. Capsaicin là hoạt chất chính có mặt nhiều trong quả ớt và hợp chất này cũng đã được ghi nhận là có nhiều hoạt tính sinh học đáng chú ý nhờ vào khả năng giảm đau và chống viêm tiềm năng. Ở nồng độ thấp, capsaicin có khả năng làm giảm triệu chứng đau do viêm khớp và đau cơ. Khi sử dụng ở nồng độ cao hơn, capsaicin còn được ghi nhận trong việc hỗ trợ điều trị đau đầu và đau sau phẫu thuật. Ngoài ra, hợp chất này còn có đặc tính chống oxy hóa, chống khối u, chống loét và giảm đau. Nhờ những đặc tính này, capsaicin đang được quan tâm trong nghiên cứu và ứng dụng tiềm năng cho điều trị các bệnh lý tim mạch, tiêu hóa, ung thư và da liễu.

Một đặc điểm độc đáo của capsaicin so với các chất gây kích ứng tự nhiên khác là nó có khả năng kích thích thần kinh cảm giác trong giai đoạn đầu, sau đó làm giảm hoạt động của chúng dẫn đến trạng thái mất đáp ứng kéo dài. Ngoài ra, capsaicin còn được chứng minh có thể hỗ trợ kiểm soát cân

nặng nhờ vào tác động sinh nhiệt và tăng cường trao đổi chất, do đó có thể ứng dụng trong điều trị béo phì.

- **Chống oxy hóa**

Nhiều cơ chế sinh học đã được đề xuất để giải thích cho các tác dụng điều trị của capsaicin, bao gồm khả năng chống oxy hóa, giảm đau và gây chết tế bào theo chương trình (apoptosis). Một số cơ chế trong số đó liên quan đến hoạt động của thụ thể TRPV1 (Transient Receptor Potential Vanilloid 1) - còn gọi là thụ thể capsaicin, trong khi một số cơ chế khác được cho là hoạt động độc lập với thụ thể này.

Tuy nhiên, ứng dụng lâm sàng của capsaicin hiện còn nhiều hạn chế, trong đó điểm đáng chú ý nhất là thời gian bán hủy ngắn, ảnh hưởng đến hiệu quả và độ ổn định khi sử dụng. Một số nghiên cứu đã chỉ ra tiềm năng điều trị rõ rệt của capsaicin, tuy nhiên cũng có những quan điểm trái chiều đặt ra nghi vấn về tính khả thi trong thực hành lâm sàng [20].

- **Kháng khuẩn**

Một trong những đặc tính nổi bật của capsaicin là khả năng kháng khuẩn. Tùy theo nồng độ sử dụng và chủng vi sinh vật, capsaicin có thể phát huy tác dụng ức chế sinh trưởng (bacteriostatic) hoặc diệt khuẩn (bactericidal) đối với nhiều loại vi khuẩn Gram dương và Gram âm. Ngoài ra, capsaicin còn có thể làm giảm độc lực của vi khuẩn thông qua nhiều cơ chế khác nhau, chẳng hạn như ức chế hình thành màng sinh học hoặc giảm sự tiết độc tố.

Không chỉ có tác dụng với vi khuẩn, capsaicin còn cho thấy hiệu quả kháng nấm, đặc biệt là với các chủng thuộc loài *Candida* - tác nhân gây nhiễm nấm phổ biến - thông qua việc cản trở quá trình hình thành màng sinh học. Một số loại ký sinh trùng như *Toxoplasma gondii* và *Trypanosoma cruzi* cũng được ghi nhận là mẫn cảm với capsaicin. Bên cạnh đó, một số loại virus cũng bị hạn chế khả năng xâm nhập vào tế bào vật chủ dưới tác động của hợp chất này [21].

- **Kháng nấm**

Nghiên cứu đánh giá hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm và kháng ký sinh trùng của capsaicin và dịch chiết từ hạt và vỏ ớt của loài *Capsicum chinense* Jacq.. Kết quả cho thấy các mẫu thử có khả năng ức chế hình thành và loại bỏ màng sinh học, giảm hoạt tính hemolysin của *Candida spp.*, và ức chế sự phát triển nội bào của *Toxoplasma gondii* ở nồng độ không gây độc.

Đặc biệt, capsaicin khi kết hợp với thuốc điều trị toxoplasmosis làm tăng hiệu quả điều trị. Nghiên cứu này cho thấy tiềm năng ứng dụng của capsaicin và chiết xuất từ ớt như các tác nhân sinh học trong y học [22].

Đáng chú ý, tiềm năng ứng dụng capsaicin trong y học tương lai càng được mở rộng khi kết hợp với các công nghệ bào chế và cơ chế dẫn thuốc tiên tiến, giúp cải thiện hiệu quả sinh học và tính ổn định của capsaicin. Hơn nữa, ảnh hưởng của capsaicin lên sự tiết và hoạt động của các peptide sinh học như somatostatin và substance P - những chất có vai trò điều hòa phản ứng viêm và miễn dịch - mở ra những hướng nghiên cứu mới đầy triển vọng trong lĩnh vực điều trị bệnh lý viêm nhiễm và rối loạn miễn dịch [21].

Mặc dù capsaicin là một hợp chất sinh học có hoạt tính cao, nhưng nhược điểm lớn của nó là khả năng hòa tan trong nước kém dẫn đến sinh khả dụng thấp khi sử dụng trực tiếp. Do đó, việc bao vi nang capsaicin vào trong hệ nền polymer là một hướng tiếp cận hiệu quả nhằm cải thiện độ hòa tan, tăng khả năng phân tán, tăng sinh khả dụng cũng như tính ổn định và hấp thu sinh học của hợp chất này. Theo như các tài liệu chúng tôi tra cứu được, hiện chưa có những công bố, nghiên cứu trong nước và quốc tế về việc bao vi capsaicin trong cấu trúc ma trận CS/PLA/PEG bằng phương pháp điện kéo. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm chế tạo sợi nano CS/PLA/PEG có gắn hoạt chất capsaicin và sợi nano tạo ra được nghiên cứu các tính chất đặc trưng bao gồm đặc tính hình thái, hóa học, cơ học, độ thấm ướt và hoạt tính kháng khuẩn.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Vật liệu nghiên cứu

Chitosan (CS, $M_n \sim 100$ kDa; độ khử acetyl đạt 99%) được mua từ hãng Sigma - Aldrich (Mỹ); Polylactic acid (PLA, $M_n = 200$ kDa), polyethylene glycol (PEG, $M_n = 600$ Da), hoạt chất capsaicin (độ tinh khiết $\geq 95\%$) được chiết tách và tinh chế từ quả Ớt (*Capsicum frutescens* L.) do Phòng Hợp chất thiên nhiên và Bảo vệ môi trường - Viện Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST) cung cấp.

Các chủng vi sinh vật bao gồm: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, *Bacillus subtilis subsp. spizizenii* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus subsp. aureus* ATCC 25923, *Aspergillus niger* ATCC 6275, *Fusarium oxysporum* ATCC 7601, *Candida albicans* ATCC 10231 và *Saccharomyces cerevisiae* VTCC-Y-62 do Phòng Sinh học - Viện Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST) cung cấp. Các chủng này được bảo quản trên môi trường thạch dinh dưỡng và lưu trữ ở nhiệt độ 4°C.

2.1.2. Hóa chất và dung môi

Acid acetic ($\geq 99,5\%$) và chloroform ($\geq 99,5\%$) được cung cấp bởi Merck (Đức) do Phòng Hợp chất thiên nhiên và Bảo vệ môi trường - Viện Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST) cung cấp. Tất cả các hóa chất đều được sử dụng trực tiếp và không qua xử lý thêm.

2.1.3. Thiết bị và dụng cụ

- ❖ Hệ thiết bị quay kéo lực điện trường electrospinning Nano NC, hãng sản xuất Korean của Trường Đại học Phenika.
- ❖ Thiết bị hiển vi điện tử quét phát xạ trường FE-SEM, model Hitachi S-4800 của hãng Hitachi tại Phòng thí nghiệm trọng điểm, Viện Khoa học Vật liệu - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST) cung cấp.
- ❖ Thiết bị GX PerkinElmer (Hoa Kỳ) tại Phòng Nghiên cứu và Phát triển

Hóa dược, Trung tâm Nghiên cứu công nghệ cao - Viện Khoa học Vật liệu - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST) cung cấp.

- ❖ Thiết bị kiểm tra cơ lý vật liệu Zwick Z2.5 (Đức) tại Viện Khoa học Vật liệu - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST) cung cấp.
- ❖ Thiết bị đo góc tiếp xúc quang học Dataphysics OCA 50 (Đức) tại Viện Khoa học Vật liệu - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST) cung cấp..
- ❖ Thiết bị phân tích quang phổ tử ngoại - khả kiến Ultraviolet - Visible Spectrophotometry (UV-Vis), model EMC-61PCS-UV Spectrophotometry (Đức) tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST) cung cấp.
- ❖ Thiết bị sấy chân không, xuất xứ Trung Quốc.
- ❖ Dụng cụ liên quan: Cân phân tích 4 số lẻ Pioneer, OHAUS - USA; Máy khuấy từ có gia nhiệt Arec, Velp - Ý, máy khuấy từ RH basic KT/C, IKA - Đức; Kính hiển vi mắt L100A - China; Ống tiêm 3 ml và đầu kim tiêm 26G, Vinahanakook - Việt Nam; Ống nhựa PTFE; Bơm tiêm vi lượng Cole Palmer 74900 - USA; Cốc đong thủy tinh thể tích cỡ 100 ml, 200 ml, 500 ml; Ống đong thủy tinh thể tích 25 ml, 50 ml, 100 ml; Đĩa petri các loại; Pipet 2 ml, 5 ml, 10 ml; Đũa thủy tinh; Phễu; Muỗng lấy hóa chất...

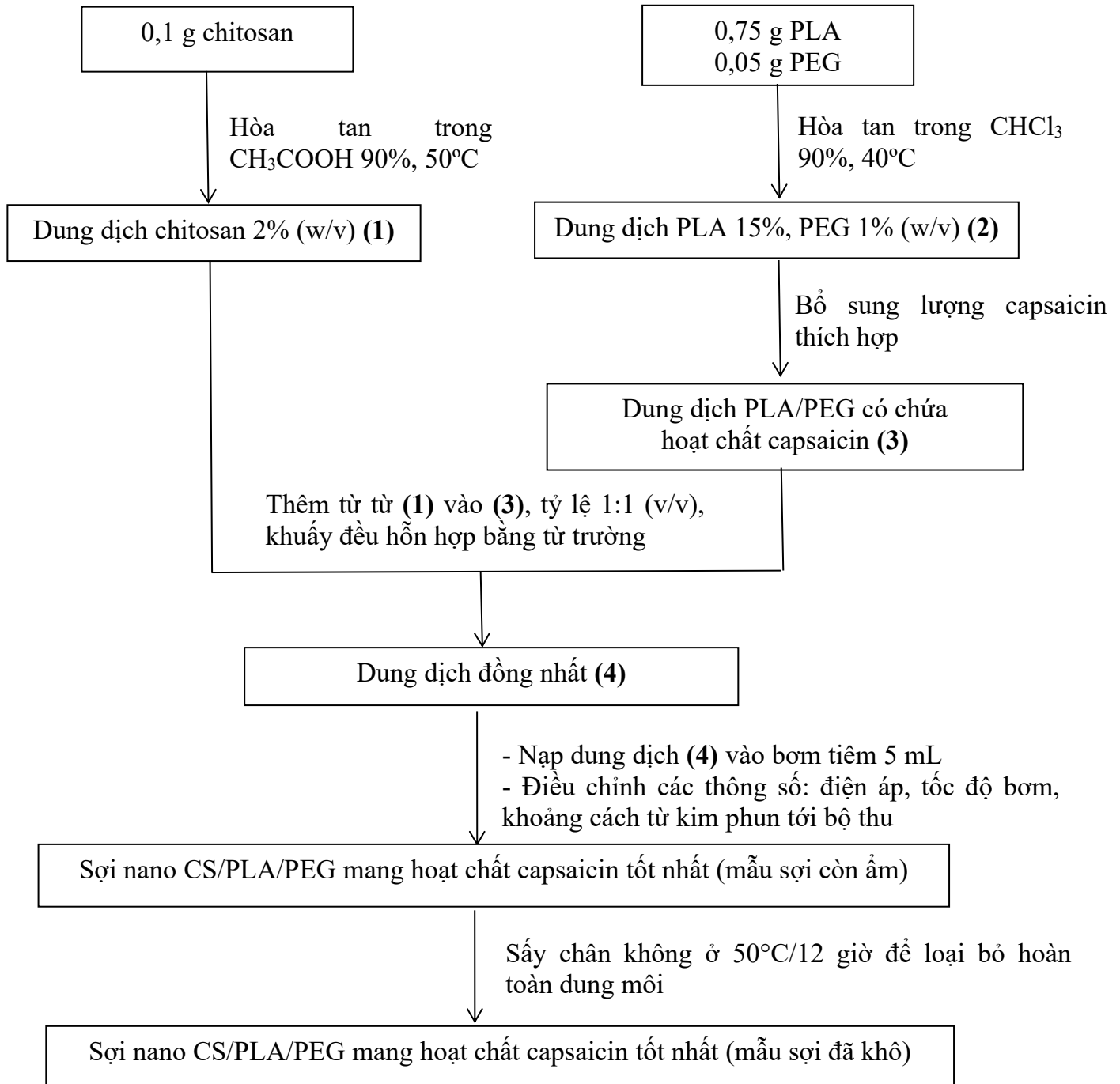
2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu chế tạo sợi nano CS/PLA/PEG chứa capsaicin bằng thiết bị quay kéo sợi lực điện trường



Hình 7. Hệ electrospinning Nano NC

Sơ đồ 1: Sơ đồ khảo sát chế tạo sợi nano CS/PLA/PEG mang hoạt chất capsaicin bằng thiết bị quay kéo sợi lực điện trường



2.2.1.1. Khảo sát nồng độ capsaicin trong dung dịch CS/PLA/PEG

Chuẩn bị dung dịch polymer

Lấy 0,1 g chitosan (CS) hòa tan hoàn toàn trong 5 ml dung dịch acid acetic 90% ở nhiệt độ 50°C, khuấy đều để tạo thành dung dịch CS có nồng độ 2% (w/v) (dung dịch 1). Đồng thời, lấy 0,75 g polylactic acid (PLA) và 0,05 g polyethylene glycol (PEG) hòa tan trong 5 ml dung môi chloroform ở 40°C để thu dung dịch có nồng độ PLA và PEG lần lượt là 15% và 1% (w/v) (dung dịch 2). Sau đó, tiến hành khảo sát nồng độ capsaicin trong dung dịch CS/PLA/PEG bằng cách cân lượng capsaicin tương ứng với 5 thí nghiệm theo bảng 1 bổ sung vào dung dịch 2 để tạo thành dung dịch 3. Dung dịch 1 được thêm từ từ vào dung dịch 3 theo tỷ lệ thể tích 1:1 (v:v), đồng thời khuấy đều bằng từ trường nhằm tạo ra một dung dịch đồng nhất (dung dịch 4)

Bảng 1. Khảo sát nồng độ capsaicin trong dung dịch CS/PLA/PEG (% w/v)

STT	Ký hiệu thí nghiệm	Khối lượng capsaicin (g)	Nồng độ capsaicin trong dung dịch CS/PLA/PEG (% w/v)	Hàm lượng capsaicin trong sợi khô (% w/w)
1	CS/PLA/PEG/CAP8	0,078	0,78	8
2	CS/PLA/PEG/CAP10	0,100	1,00	10
3	CS/PLA/PEG/CAP12	0,123	1,23	12
4	CS/PLA/PEG/CAP14	0,171	1,71	14
5	CS/PLA/PEG/CAP16	0,198	1,98	16

Quá trình kéo sợi điện (Electrospinning)

Dung dịch 4 được nạp vào bơm tiêm 5 ml gắn kim loại dẫn điện nối với nguồn điện cao thế ở mức 20 kV. Tốc độ cấp dung dịch được duy trì ở mức 1 mL/h. Khoảng cách từ đầu kim đến bộ thu (collector) được cố định ở 15 cm. Quá trình được lặp 3 lần cho mỗi thí nghiệm. Sau khi thu được sợi nano CS/PLA/PEG chứa hàm lượng capsaicin lần lượt 8%, 10%, 12%, 14%, 16%,

các mẫu được sấy trong máy sấy chân không ở 50°C trong vòng 12 giờ để loại bỏ hoàn toàn dung môi.

Các sợi nano CS/PLA/PEG thu được chứa hàm lượng capsaicin lần lượt là 8%, 10%, 12%, 14%, 16% được xác định kích thước và đánh giá hình thái sợi thông qua kính hiển vi điện tử quét (SEM). Từ đó, tiến hành đưa ra nồng độ capsaicin tối ưu tốt nhất cho quy trình tạo sợi nano CS/PLA/PEG mang hoạt chất capsaicin và thực hiện các nghiên cứu tiếp theo của đề tài.

2.2.1.2. Khảo sát các thông số kỹ thuật

Chuẩn bị dung dịch polymer

Sau khi xác định được nồng độ capsaicin tối ưu nhất cho quy trình tạo sợi nano CS/PLA/PEG mang hoạt chất capsaicin, dung dịch **4** được chuẩn bị để tiến hành khảo sát các điều kiện thông số bao gồm: khoảng cách từ kim phun đến bộ thu, tốc độ bơm, điện áp có thay đổi nhằm tìm ra phương pháp chế tạo sợi nano CS/PLA/PEG mang hoạt chất capsaicin tối ưu nhất.

a) Khảo sát khoảng cách từ kim phun tới bộ thu

Dung dịch **4** chứa nồng độ capsaicin đạt tối ưu được nạp vào bơm tiêm 5 ml gắn kim loại dẫn điện nối với nguồn điện cao thế ở mức 20 kV. Tốc độ cấp dung dịch được duy trì ở mức 1 mL/h, các thông số là cố định cho mỗi thí nghiệm.

Khảo sát sự thay đổi khoảng cách từ kim phun đến bộ thu lần lượt là 13 cm, 14 cm, 15 cm, 16 cm, 17 cm. Quá trình được lặp 3 lần cho mỗi thí nghiệm. Sau khi thu được sợi nano, các mẫu được sấy trong máy sấy chân không ở 50°C trong vòng 12 giờ để loại bỏ hoàn toàn dung môi.

b) Khảo sát tốc độ bơm

Dung dịch **4** chứa nồng độ capsaicin đạt tối ưu được nạp vào bơm tiêm 5 ml gắn kim loại dẫn điện nối với nguồn điện cao thế ở mức 20 kV. Khoảng cách từ đầu kim đến bộ thu (collector) là 15 cm, các thông số là cố định cho mỗi thí nghiệm.

Khảo sát sự thay đổi tốc độ bơm lần lượt là 0,05 mL/h; 0,1 mL/h; 0,5 mL/h; 1 mL/h; 1,5 mL/h. Quá trình được lặp 3 lần cho mỗi thí nghiệm. Sau khi thu được sợi nano, các mẫu được sấy trong máy sấy chân không ở 50°C trong vòng 12 giờ để loại bỏ hoàn toàn dung môi.

c) *Khảo sát điện áp*

Dung dịch 4 chứa nồng độ capsaicin đạt tối ưu được nạp vào bơm tiêm 5 ml, được bơm với tốc độ bơm ổn định là 1 mL/h . Khoảng cách từ đầu kim đến bộ thu (collector) là 15 cm, các thông số là cố định cho mỗi thí nghiệm.

Khảo sát sự thay đổi điện áp lần lượt là 5 kV, 10 kV, 15 kV, 20 kV, 25 kV. Quá trình được lặp 3 lần cho mỗi thí nghiệm. Sau khi thu được sợi nano, các mẫu được sấy trong máy sấy chân không ở 50°C trong vòng 12 giờ để loại bỏ hoàn toàn dung môi.

Với các điều kiện tối ưu về khoảng cách từ kim phun tới bộ thu, tốc độ bơm và điện áp, ta thu được sợi nano CS/PLA/PEG mang hoạt chất capsaicin tốt nhất. Sợi nano chứa hàm lượng capsaicin tốt nhất được sấy trong máy sấy chân không ở 50°C trong vòng 12 giờ để loại bỏ hoàn toàn dung môi [24].

Quá trình khảo sát các điều kiện chế tạo sợi nano CS/PLA/PEG mang hoạt chất capsaicin bao gồm nồng độ capsaicin trong dung dịch CS/PLA/PEG, điện áp, tốc độ bơm, khoảng cách từ kim phun tới bộ thu và lựa chọn ra điều kiện tối ưu nhất để áp dụng cho quy trình chế tạo sợi nano CS/PLA/PEG chứa hoạt chất capsaicin. Sau đó sợi nano CS/PLA/PEG chứa hoạt chất capsaicin tốt nhất được đem phân tích cấu trúc sợi.

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu cấu trúc sợi

2.2.2.1. Phương pháp phân tích hình thái học

Đặc điểm hình thái của các màng sợi nano được tạo ra từ quá trình kéo sợi điện được quan sát bằng kính hiển vi điện tử quét (FE-SEM, model Hitachi S-4800). Đường kính sợi được xác định thông qua phần mềm xử lý hình ảnh ImageJ. Trung bình đường kính được tính từ khoảng 100 sợi nano khác nhau, được chọn ngẫu nhiên và xử lý số liệu bằng phần mềm MS Excel [24].

2.2.2.2. Phương pháp phân tích thành phần hóa học

Tính chất hóa học của sợi nano được phân tích thông qua phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR) sử dụng thiết bị GX PerkinElmer (Hoa Kỳ) [24].

2.2.2.3. Phương pháp phân tích cơ học

Độ bền kéo của vật liệu được đo bằng máy kiểm tra cơ lý vật liệu Zwick Z2.5 (Đức). Mỗi mẫu được cắt thành dải có kích thước 15 mm chiều rộng và 50 mm chiều dài. Tốc độ thử nghiệm được đặt ở mức 10 mm/phút với chiều dài kẹp là 30 mm. Mỗi phép đo được lặp lại 3 lần. Kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (SD) [25].



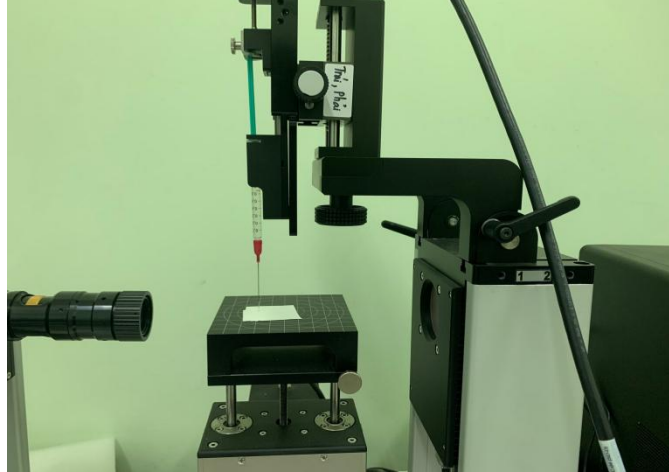
Hình 8. Máy kiểm tra cơ lý vật liệu Zwick Z2.5

2.2.2.4. Phương pháp khảo sát tính thấm ướt

Tính chất thấm ướt của màng sợi nano được đánh giá bằng phương pháp giọt tiếp xúc (sessile drop), sử dụng thiết bị đo góc tiếp xúc quang học.

Thiết bị đo góc tiếp xúc quang học Dataphysics OCA 50 (Đức) được sử dụng để đánh giá khả năng thấm ướt của màng sợi nano. Một giọt nước cất

khử ion có thể tích 5 μL được nhỏ lên bề mặt màng. Góc tiếp xúc được ghi nhận bằng camera kỹ thuật số sau 60 giây kể từ khi giọt nước tiếp xúc với bề mặt vật liệu. Thí nghiệm được lặp lại ba lần và kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (SD) [25].



Hình 9. Thiết bị đo góc tiếp xúc quang học

2.2.2.5. Đánh giá khả năng giải phóng hoạt chất

Sử dụng thiết bị phân tích quang phổ tử ngoại- khả kiến Ultraviolet-Visible Spectrophotometry (UV-Vis) để đánh giá khả năng giải phóng hoạt chất capsaicin trong sợi nano. Lấy 10mg mẫu sợi nano được ngâm trong 100 mL dung dịch đệm phosphate (PBS, pH 7.4), duy trì ở 37°C và khuấy từ liên tục, nhằm mô phỏng điều kiện sinh lý của cơ thể. Tại các mốc thời gian: 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4; 8; 12; 16; 20 và 24 giờ. Mỗi mốc thời gian rút ra 3mL dung dịch và bổ sung ngay 3mL PBS mới vào thí nghiệm, nhằm đảm bảo thể tích hệ không thay đổi trong suốt quá trình thí nghiệm.

Mẫu sau khi thu được ly tâm và lọc để loại bỏ cặn polymer, phần dịch trong được phân tích độ hấp thụ quang tại $\lambda_{\text{max}} = 281 \text{ nm}$.

Đường chuẩn được thiết lập từ các dung dịch capsaicin chuẩn có nồng độ biết trước, đo trong cùng điều kiện thí nghiệm (PBS, pH 7.4, 37°C, khuấy từ).

Tỷ lệ phần trăm capsaicin giải phóng được tính theo công thức (1):

$$\text{Tỷ lệ phần trăm capsaicin giải phóng (\%)} = \frac{M_t}{M_0} \times 100 \quad (1)$$

M_t : lượng capsaicin được giải phóng tại thời điểm t (xác định từ đường chuẩn)

M_0 : tổng lượng capsaicin nạp ban đầu trong sợi nano.

2.2.2.6. Đánh giá khả năng kháng khuẩn

Khả năng kháng khuẩn của các màng sợi nano được xác định bằng phương pháp vi giếng 96 well, dựa trên hướng dẫn của Vlietinck (1999) và McKane (1996) [26, 27]. Các chủng vi sinh vật thử nghiệm bao gồm:

- ❖ Vi khuẩn Gram âm: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145;
- ❖ Vi khuẩn Gram dương: *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC 25923;
- ❖ Nấm sợi: *Aspergillus niger* ATCC 6275, *Fusarium oxysporum* ATCC 7601;
- ❖ Nấm men: *Candida albicans* ATCC 10231, *Saccharomyces cerevisiae* VTCC-Y-62

Các kháng sinh dùng làm đối chứng dương gồm: streptomycin và tetracyclin cho vi khuẩn Gram âm và Gram dương; nystatin cho nấm và nấm men.

Mỗi đĩa vi giếng được ủ trong 24 giờ ở 37°C đối với vi khuẩn và 48 giờ ở 30°C đối với nấm. Mỗi thử nghiệm được lặp lại 3 lần. Nồng độ thấp nhất của màng sợi nano có khả năng ức chế sự phát triển rõ rệt của vi sinh vật (MIC) sau thời gian ủ được ghi nhận và báo cáo.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả chế tạo sợi nano CS/PLA/PEG mang hoạt chất capsaicin bằng công nghệ quay kéo sợi lực điện trường

3.1.1. Kết quả khảo sát nồng độ capsaicin trong dung dịch CS/PLA/PEG

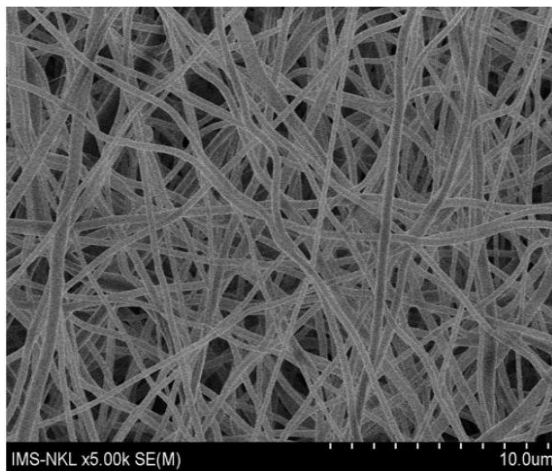
Quá trình quay kéo sợi diễn ra khi nạp dung dịch 4 vào bơm tiêm 5 ml với nguồn điện cao thế 20 kV. Tốc độ bơm dung dịch là 1 mL/h. Khoảng cách từ đầu kim đến bộ thu (collector) được cố định ở 15 cm. Sau khi thu được sợi nano CS/PLA/PEG chứa hàm lượng capsaicin lần lượt 8%, 10%, 12%, 14%, 16%, các mẫu được sấy trong máy sấy chân không ở 50°C trong vòng 12 giờ để loại bỏ hoàn toàn dung môi.

Các sợi nano CS/PLA/PEG mang hoạt chất capsaicin được xác định kích thước và đánh giá hình thái sợi thông qua kính hiển vi điện tử quét (SEM) trong hình 10 - 14. Kết quả đánh giá được thể hiện ở bảng 2 như sau:

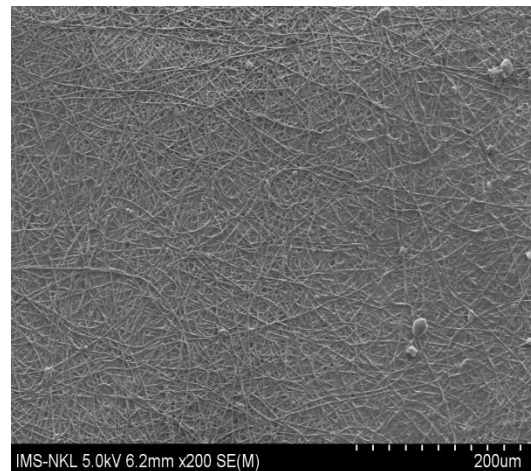
Bảng 2. Kết quả khảo sát chế tạo sợi nano CS/PLA/PEG chứa capsaicin ở nồng độ khác nhau

STT	Ký hiệu thí nghiệm	Nồng độ capsaicin trong dung dịch CS/PLA/PEG (% w/v)	Hàm lượng capsaicin trong sợi khô (% w/w)	Đánh giá quá trình kéo sợi	Hình thái sợi nanochitosan (3 lần lặp)
1	CS/PLA/PEG/CAP8	0,78	8	Tạo sợi dễ dàng và kết thành màng	Sợi màu trắng, kích thước sợi nhỏ
2	CS/PLA/PEG/CAP10	1,00	10	Tạo sợi dễ dàng và kết thành màng	Sợi màu trắng, kích thước sợi nhỏ
3	CS/PLA/PEG/CAP12	1,23	12	Tạo sợi dễ dàng và kết	Sợi màu trắng, kích thước sợi

				thành màng	nhỏ và đồng đều, mịn
4	CS/PLA/PEG/ CAP14	1,71	14	Hình thành sợi, có hiện tượng tắc kim phun và đứt gãy trong quá trình kéo sợi	Sợi màu trắng, kích thước sợi không đồng đều
5	CS/PLA/PEG/ CAP16	1,98	16	Quá trình tạo sợi bị tắc kim phun, hình thành các hạt tụ	Sợi màu trắng, kích thước sợi to và không đồng đều

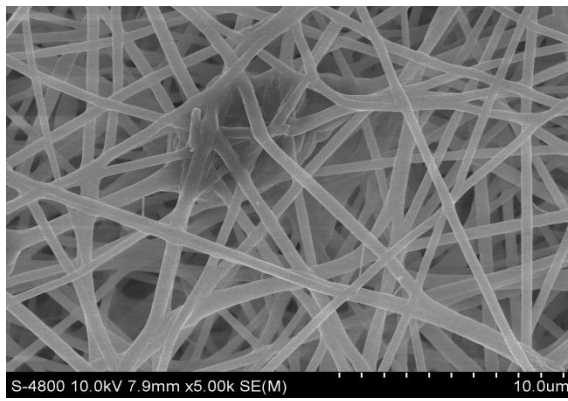


a)

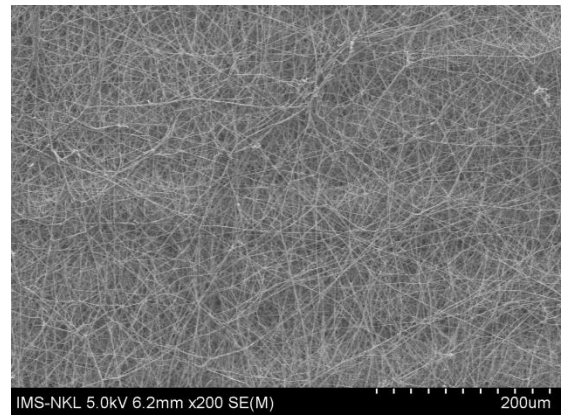


a')

Hình 10. Ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP8 phóng đại: a) x5000; a') x200

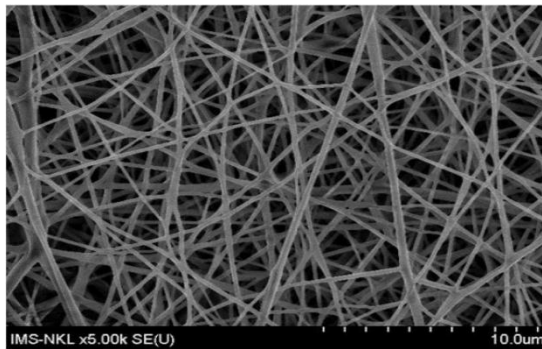


b)

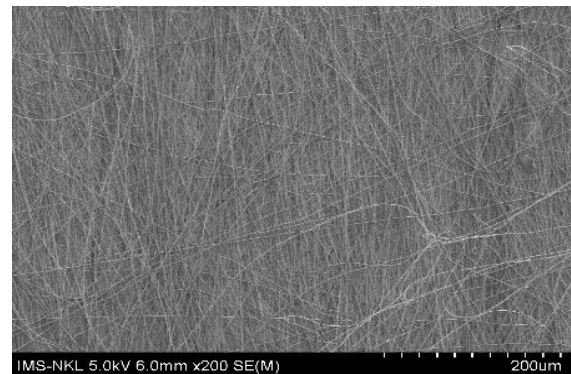


b')

Hình 11. Ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP10
phóng đại: b) x5000; b') x200

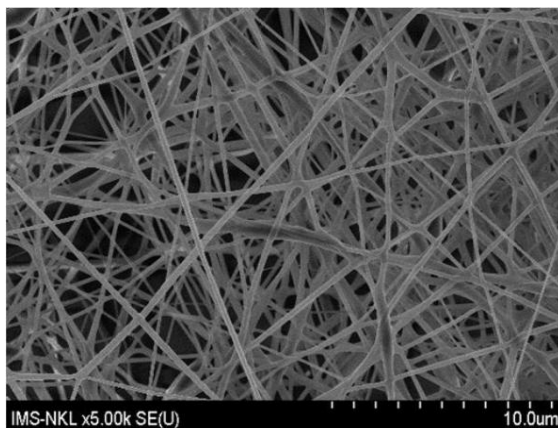


c)

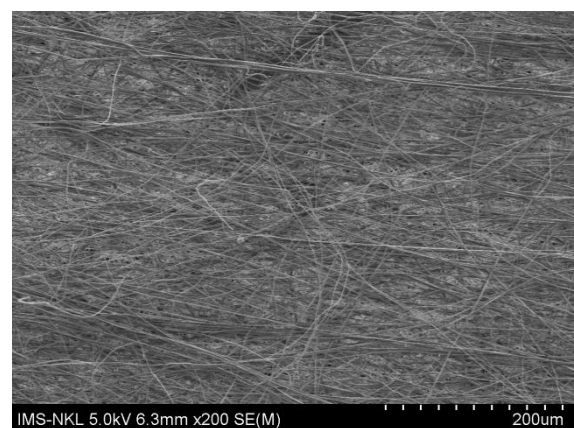


c')

Hình 12. Ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12
phóng đại: c) x5000; c') x200

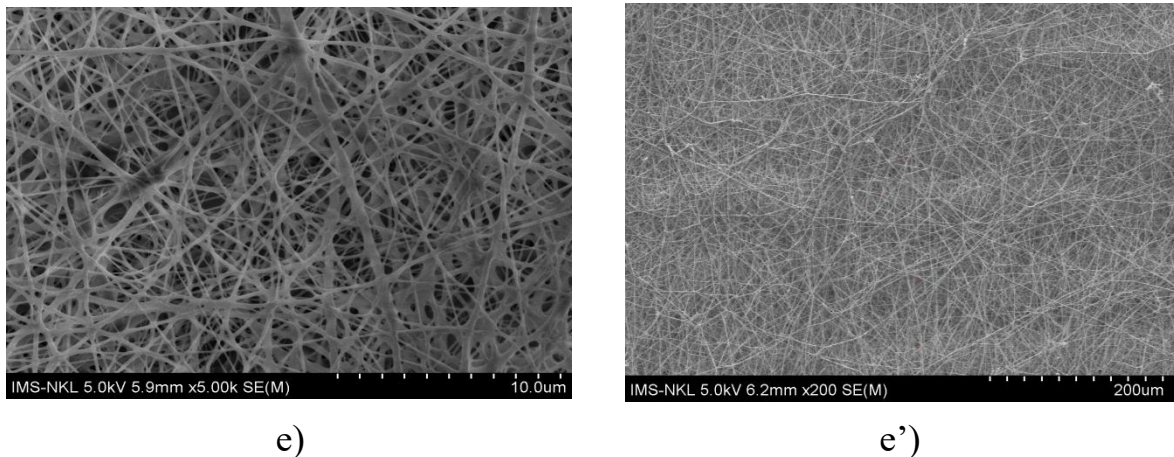


d)



d')

Hình 13. Ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP14
phóng đại: d) x5000; d') x200



Hình 14. Ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP16 phóng đại: e) x5000; e') x200

❖ Lý do lựa chọn polymer

Trong nghiên cứu này, chitosan được sử dụng làm thành phần chính trong hệ sợi nano mang hoạt chất capsaicin. Tuy nhiên, việc hòa tan chitosan để phục vụ quá trình kéo điện trường (electrospinning) gặp nhiều hạn chế do bản chất chitosan là polymer bán kết tinh, khó hòa tan hoàn toàn trong các dung môi thân thiện với cơ thể. Theo các nghiên cứu trước đó, chitosan có thể hòa tan tốt trong trifluoroacetic acid (TFA), cho phép tạo sợi có kích thước khoảng 200 nm [28]. Tuy nhiên, TFA là axit mạnh, có độc tính cao và gây ảnh hưởng tiêu cực đến da, mắt và hệ hô hấp nên không phù hợp với các ứng dụng y sinh như dẫn truyền thuốc hoặc tái tạo mô.

Trong định hướng của đề tài là phát triển vật liệu sinh học an toàn, có thể mang hoạt chất dược liệu vào cơ thể, nên dung môi TFA không được sử dụng để đảm bảo tính an toàn sinh học và khả năng ứng dụng lâm sàng. Thay vào đó, chitosan được hòa tan bằng acid acetic loãng, một lựa chọn ít độc hơn, nhưng lại hạn chế về khả năng tạo sợi khi kéo điện, do không tạo được độ nhớt và dẫn điện phù hợp cho quá trình ổn định dòng điện.

Để khắc phục vấn đề này, nhóm nghiên cứu đã lựa chọn bổ sung các polymer an toàn, không độc hại, có khả năng tạo sợi tốt để phối trộn cùng chitosan, bao gồm 2 polymer PLA và PEG.

Việc bổ sung các polymer này với tỉ lệ thích hợp giúp tăng độ nhớt, cải thiện độ dẫn điện, giảm sức căng bề mặt và đồng thời duy trì tính tương thích sinh học, từ đó hỗ trợ quá trình tạo sợi nano ổn định từ dung dịch không độc hại [29]. Vì vậy, đề tài đã lựa chọn tỷ lệ hòa tan chitosan (CS) bằng dung dịch acid acetic 90% để tạo thành dung dịch CS có nồng độ 2% (w/v). PLA và PEG hòa tan trong dung môi chloroform để thu dung dịch có nồng độ PLA và PEG lần lượt là 15% và 1% (w/v). Sau đó, tạo hỗn hợp polymer theo tỷ lệ thể tích 1:1 (v/v).

❖ Ảnh hưởng của nồng độ capsaicin đến quá trình kéo sợi và hình thái sợi nano

Kết quả thí nghiệm được tổng hợp trong bảng 2 cho thấy ảnh hưởng của nồng độ capsaicin đến quá trình kéo sợi nano CS/PLA/PEG. Dung dịch kéo sợi được pha với nồng độ capsaicin từ 0,78% đến 1,98% (w/v) cho thấy các kết quả thu được như sau:

- Từ nồng độ 0,78 - 1,23% capsaicin, hệ dung dịch có độ nhớt và độ dẫn điện phù hợp, giúp duy trì quá trình kéo sợi ổn định hơn, tạo sợi mịn, đồng đều và không hình thành hạt.
- Tăng nồng độ capsaicin lên 1,71%, hàm lượng capsaicin tăng lên làm giảm độ đồng nhất phân tán, có thể gây tách pha, tăng độ nhớt cục bộ hoặc ảnh hưởng đến tính chất điện, dẫn đến hiện tượng giọt rơi, dòng phun không đều, và không tạo được sợi liên tục.
- Với nồng độ capsaicin 1,98%, capsaicin vượt ngưỡng phân tán trong hệ polymer, dẫn đến gián đoạn kéo sợi, hình thành các hạt tích tụ và không tạo được mạng sợi ổn định.

Từ các quan sát trên, có thể xác định rằng nồng độ capsaicin tối ưu trong dung dịch polymer là 1,23% (w/v) và đạt hàm lượng capsaicin trong sợi khô là 12% (w/w) trong mẫu sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12. Tại đây, dung dịch kéo sợi vừa đảm bảo tính ổn định, vừa cho ra sợi có hình thái tốt nhất, đồng thời duy trì được tính an toàn sinh học.

3.1.2. Kết quả khảo sát khoảng cách kim phun tới bộ thu

Dung dịch (4) CS/PLA/PEG chứa nồng độ capsaicin 1,23% (w/v) được nạp vào bơm tiêm 5 ml gắn kim loại dẫn điện nối với nguồn điện cao thế ở mức 20 kV. Tốc độ cấp dung dịch được duy trì ở mức 1 mL/giờ, các thông số là cố định cho mỗi thí nghiệm.

Khảo sát sự thay đổi khoảng cách từ kim phun đến bộ thu lần lượt là 13 cm, 14 cm, 15 cm, 16 cm, 17 cm. Quá trình được lặp 3 lần cho mỗi thí nghiệm thu được kết quả khảo sát tại bảng 3.

Bảng 3. Kết quả khảo sát khoảng cách kim phun tới bộ thu ở các khoảng cách khác nhau

STT	Khoảng cách từ kim phun đến bộ thu (cm)	Hình thái sợi nanochitosan (3 lần lặp)
1	13	Sợi tạo thành bị kết dính, độ bền kém, màu trắng. Kích thước sợi khoảng 200-380 nm
2	14	Tạo sợi dễ dàng và kết thành màng, màng tạo thành mỏng, độ bền kém, màu trắng. Kích thước sợi khoảng 190 -270 nm
3	15	Tạo sợi dễ dàng, kết thành màng, tách lớp được dễ dàng. Sợi kết thành màng màu trắng, màng sợi dày, độ bền tốt. Kích thước sợi khoảng 200 - 300 nm
4	16	Tạo được sợi, sợi bị đứt mạch. Sợi kết thành màng màu trắng, màng sợi dày, độ bền tốt. Kích thước sợi khoảng 300 - 400 nm
5	17	Không tạo được sợi

Trong quá trình kéo sợi điện trường, khoảng cách giữa kim phun và bề mặt thu đóng vai trò quan trọng trong việc kiểm soát hình thái và chất lượng sợi. Dữ liệu thu được từ khảo sát cho thấy sự thay đổi khoảng cách làm ảnh hưởng đáng kể đến quá trình hình thành và đặc điểm cấu trúc của sợi nano CS/PLA/PEG mang hoạt chất capsaicin, trong khi các điều kiện khác như điện áp (20 kV), tốc độ bơm (1 mL/h) và nồng độ dung dịch được giữ cố định:

- Khi khoảng cách phun là 13 cm, các sợi tạo thành có hiện tượng kết dính và bề mặt sợi không đồng nhất, hiện tượng chảy màng xảy ra và giảm độ bền cơ học. Điều này có thể do hiện tượng dung môi chưa bay hơi hoàn toàn trước khi sợi tiếp xúc với bề mặt thu, dẫn đến kết cấu sợi không hoàn chỉnh và hiện tượng dính tụ.
- Tại khoảng cách 14 cm, hình thái sợi tạo thành tốt hơn. Mạng sợi được hình thành rõ hơn, tuy nhiên vẫn còn tồn tại một số điểm xuất hiện màng mỏng không đồng đều bề mặt, cho thấy quá trình bay hơi vẫn chưa tối ưu hoàn toàn. Kích thước sợi ở mức tương đối đồng đều, nằm trong khoảng 190 - 270 nm.
- Khi khoảng cách được tăng lên 15 cm, các đặc điểm hình thái sợi đạt trạng thái tốt. Sợi phân bố đồng đều, kết mạng tốt, không còn hiện tượng chảy màng hay tụ sợi. Kích thước sợi ổn định ở khoảng 200 - 300 nm, phản ánh tạo sợi tốt nhất trong dải khảo sát điều kiện khoảng cách. Điều này cho thấy khoảng cách 15 cm cho phép dung môi có đủ thời gian bay hơi, đồng thời duy trì cường độ điện trường đủ mạnh để kéo giãn dòng dung dịch thành sợi liên tục.
- Ngược lại, khi tăng khoảng cách thêm 1 cm thành 16 cm, hình thái sợi bắt đầu khó tạo sợi. Các sợi trở nên mảnh và dễ đứt, kèm theo đó là sự xuất hiện của các vùng không liên tục hoặc chảy nhão. Nguyên nhân có thể là do tia sợi bị kéo dài quá mức hoặc điện trường không còn đủ mạnh để duy trì quá trình kéo sợi ổn định, dẫn đến hình thành cấu trúc sợi kém bền.
- Đáng chú ý, tại khoảng cách 17 cm quá trình kéo sợi không diễn ra thành công. Đây có thể xem là giới hạn trên đối với khoảng cách phun trong hệ kéo sợi khảo sát, do lực điện trường giảm đáng kể khiến không hình thành được tia sợi hoặc sợi bị khô sớm và gãy khi còn lơ lửng trong điện trường.

Vì vậy, khoảng cách 15 cm là điều kiện tối ưu để chế tạo sợi nano CS/PLA/PEG mang hoạt chất capsaicin trong hệ kéo sợi điện trường khảo sát. Khoảng cách này cân bằng tốt giữa yêu cầu bay hơi dung môi và duy trì dòng điện ổn định, từ đó đảm bảo chất lượng sợi cả về hình thái lẫn tính chất cơ học.

3.1.3. Kết quả khảo sát tốc độ bơm

Dung dịch (4) CS/PLA/PEG chứa nồng độ capsaicin 1,23% (w/v) được nạp vào bơm tiêm 5 ml gắn kim loại dẫn điện nối với nguồn điện cao thế ở mức 20 kV. Khoảng cách từ đầu kim đến bộ thu (collector) là 15 cm, các thông số là cố định cho mỗi thí nghiệm.

Khảo sát sự thay đổi tốc độ bơm lần lượt là 0,05 mL/h; 0,1 mL/h; 0,5 mL/h; 1 mL/h; 1,5 mL/h. Quá trình được lặp 3 lần cho mỗi thí nghiệm thu được kết quả khảo sát tại bảng 4.

Bảng 4. Kết quả khảo sát tốc độ bơm ở các tốc độ bơm khác nhau

STT	Tốc độ bơm (mL/h)	Hình thái sợi nanochitosan (3 lần lặp)
1	0,05	Sợi tạo thành bị đứt dòng, sợi không đồng nhất, độ bền kém, màu trắng. Kích thước sợi khoảng 200 - 450 nm
2	0,1	Sợi tạo thành bị đứt dòng, sợi không đồng nhất, độ bền kém, màu trắng. Kích thước sợi khoảng 250 - 350 nm
3	0,5	Tạo sợi dễ dàng, kết thành màng. Sợi kết thành màng màu trắng, màng sợi dày, độ bền tốt. Kích thước sợi không đồng đều khoảng 110 - 320 nm
4	1	Tạo sợi dễ dàng. Sợi kết thành màng màu trắng, màng sợi dày, độ bền tốt. Kích thước sợi đồng đều khoảng 200 - 300 nm

5	1,5	Tạo sợi hình thành hạt kết tụ. Sợi kết thành màng màu trắng, màng sợi dày, độ bền tốt. Kích thước sợi lớn khoảng 300 - 600 nm
---	-----	---

Tốc độ bơm dung dịch kéo sợi là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến lượng dung dịch được cấp vào vùng điện trường, từ đó quyết định tính liên tục của tia sợi, khả năng bay hơi của dung môi, cũng như hình thái sợi tạo thành. Trong khảo sát này, tốc độ bơm được thay đổi từ 0,05 đến 1,5 mL/h nhằm đánh giá ảnh hưởng đến hình thái sợi nano CS/PLA/PEG mang hoạt chất capsaicin như sau:

- Tốc độ bơm 0,05 mL/h, dòng dung dịch polymer ra khỏi kim rất chậm, làm tia sợi bị đứt đoạn và phân tán không đều. Mặc dù dung môi có nhiều thời gian để bay hơi, nhưng lượng vật liệu quá ít khiến sợi không hình thành liên tục. Kết quả là thu các sợi mỏng, đứt rời, độ bền kém và không đồng đều về kích thước (dao động từ 200 - 450 nm).
- Tăng tốc độ bơm lên từ 0,1 đến 0,5 mL/h dòng dung dịch polymer được ổn định hơn, nhưng vẫn chưa đủ ổn định để tạo mạng sợi liên tục. Một số chỗ sợi kết dính hoặc chảy màng, cho thấy sự không đồng đều trong quá trình hình thành. Kích thước sợi dao động khá rộng từ 250 - 350 nm.
- Khi tốc độ đạt 1 mL/h, quá trình kéo sợi trở nên ổn định nhất. Dòng dung dịch đủ để duy trì tia sợi liên tục, đồng thời dung môi có thời gian bay hơi hợp lý nhờ sự cân bằng giữa tốc độ cấp dung dịch và điều kiện điện trường. Các sợi thu được có hình thái đồng đều, không bị dính tụ hoặc vón cục. Kích thước sợi nằm trong khoảng hẹp 200 - 300 nm và mạng sợi kết nối tốt, cho thấy đây là tốc độ bơm tối ưu trong điều kiện khảo sát.
- Tuy nhiên, khi tăng lên 1,5 mL/h, tốc độ cấp dung dịch trở nên quá nhanh, dẫn đến hiện tượng dư dung môi và kéo không kịp khô. Điều này gây ra chảy màng, kết tụ và tạo sợi có kích thước lớn không đồng đều (tới khoảng 300 - 600 nm). Mạng sợi trở nên rời rạc, một số chỗ còn hình thành giọt nhỏ hoặc khối không định hình.

Vì vậy, tốc độ bơm 1 mL/h được xác định là tối ưu cho quá trình chế tạo sợi nano CS/PLA/PEG mang hoạt chất capsaicin. Tại tốc độ này, hệ tạo ra sợi

đồng đều, không chảy màng, kích thước hẹp và có mạng liên kết tốt, phù hợp cho các ứng dụng cần vật liệu dạng màng xốp hoặc làm dẫn thuốc.

3.1.4. Kết quả khảo sát điện áp

Dung dịch (4) CS/PLA/PEG chứa nồng độ capsaicin 1,23% (w/v) được nạp vào bơm tiêm 5 ml, được bơm với tốc độ bơm ổn định là 1 mL/h . Khoảng cách từ đầu kim đến bộ thu (collector) là 15 cm, các thông số là cố định cho mỗi thí nghiệm.

Khảo sát sự thay đổi điện áp lần lượt là 5 kV, 10 kV, 15 kV, 20 kV, 25 kV. Quá trình được lặp 3 lần cho mỗi thí nghiệm thu được kết quả khảo sát tại bảng 5.

Bảng 5. Kết quả khảo sát điện áp ở mức điện áp khác nhau

STT	Điện áp (kV)	Hình thái sợi nanochitosan (3 lần lặp)
1	5	Không thu được sợi
2	10	Sợi tạo thành bị đứt dòng, sợi không đồng nhất, độ bền kém, màu trắng. Kích thước sợi khoảng 300 - 450 nm
3	15	Tạo sợi dễ dàng, kết thành màng, sợi đồng nhất, tách lớp được dễ dàng. Sợi kết thành màng màu trắng, màng sợi dày, độ bền tốt. Kích thước sợi khoảng 250 - 470 nm
4	20	Tạo sợi dễ dàng, kết thành màng, sợi đồng nhất, tách lớp được dễ dàng. Sợi kết thành màng màu trắng, màng sợi dày, độ bền tốt. Kích thước sợi khoảng 200 - 350 nm
5	25	Tạo được sợi, sợi bị đứt mạch. Sợi kết thành màng màu trắng, màng sợi dày, độ bền tốt. Kích thước sợi khoảng 190 - 550 nm

Trong nghiên cứu này, điện áp được khảo sát trong khoảng từ 5 - 25 kV nhằm xác định điều kiện tối ưu cho quá trình điện kéo sợi nano CS/PLA/PEG mang hoạt chất capsaicin. Kết quả cho thấy rằng điện áp đóng vai trò quyết định đến hình thái và chất lượng của sợi tạo thành như sau:

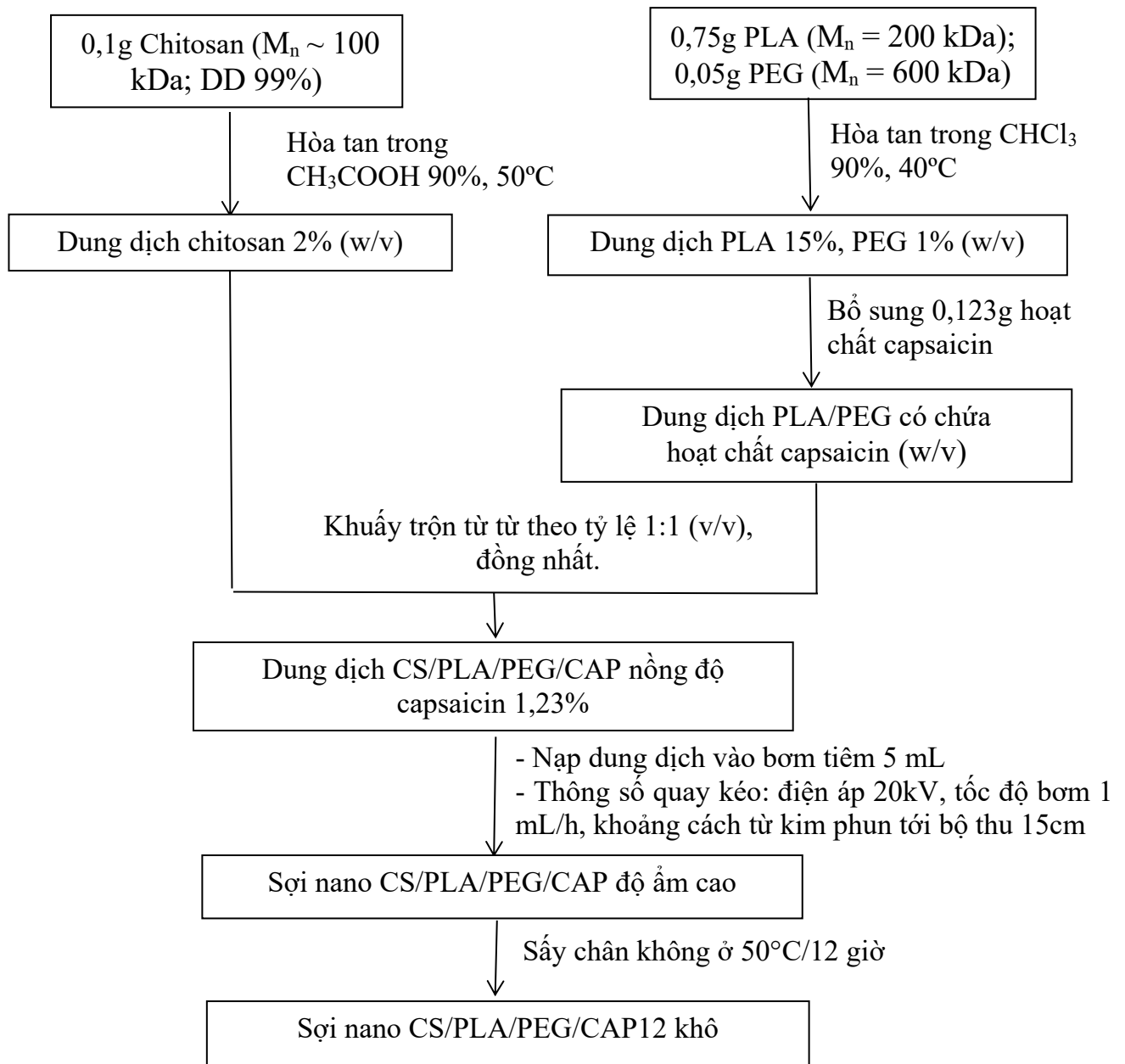
- Mức điện áp thấp từ 5 kV đến 10 kV, không quan sát được sự hình thành sợi mà chỉ xuất hiện các giọt dung dịch, cho thấy lực điện trường chưa đủ để thắng lực căng bề mặt và duy trì dòng phun ổn định.
- Khi tăng điện áp lên 15 kV, sợi bắt đầu xuất hiện nhưng hình thái không đồng nhất, xuất hiện nhiều hạt, đường kính sợi dao động trong khoảng 300 - 450 nm. Điều này cho thấy mặc dù trường điện đã đủ để thực hiện quá trình phun, song cường độ vẫn chưa tối ưu để kéo căng hoàn toàn sợi.
- Ở mức điện áp 20 kV, quá trình điện kéo đạt được sự ổn định rõ rệt. Sợi hình thành có cấu trúc đồng nhất, bề mặt mịn, ít khuyết tật, với đường kính dao động trong khoảng 250 - 470 nm. Cho thấy dòng phun ổn định và quá trình bay hơi dung môi diễn ra phù hợp, đảm bảo sự phân bố đồng đều của capsaicin trong hệ nền polymer.
- Ngược lại, khi điện áp tăng lên 25 kV, mặc dù sợi vẫn được hình thành nhưng xảy ra hiện tượng đứt mạch và kết tụ thành màng. Hình thái quan sát được cho thấy dòng phun không ổn định, dẫn đến sự phân bố kích thước rộng (190 - 550 nm) và giảm tính đồng nhất của mẫu. Ngoài ra, điện áp cao có thể làm gia tăng dao động của dòng điện tích, làm suy giảm tính toàn vẹn của cấu trúc sợi cũng như ảnh hưởng đến sự bền vững của capsaicin.

Dựa trên các kết quả trên cho thấy 20 kV là điều kiện điện áp tối ưu cho quá trình điện kéo sợi nano CS/PLA/PEG mang hoạt chất capsaicin, đảm bảo sự cân bằng giữa hình thái đồng đều, đường kính hẹp và khả năng bảo toàn được chất. Kết quả này tương đồng với báo cáo trên hệ Zein đã thấy 20 kV là mức điện áp tối ưu để tạo sợi mịn và đồng đều, ít khuyết tật [30].

Thông qua quá trình khảo sát và tối ưu hóa các thông số kỹ thuật trong quy trình chế tạo sợi nano CS/PLA/PEG mang hoạt chất capsaicin, nghiên cứu đã xác định được điều kiện tối ưu gồm: nồng độ capsaicin trong dung dịch polymer là 1,23% (w/v), khoảng cách từ kim phun đến bộ thu là 15 cm,

và tốc độ bơm duy trì ở mức 1 mL/h. Dưới những điều kiện này, sợi nano thu được đạt hàm lượng capsaicin bên trong sợi lên đến 12%.

Sơ đồ 2: Sơ đồ chế tạo sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 bằng thiết bị quay kéo sợi lực điện trường



Mô tả các bước thực hiện chế tạo sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 bằng thiết bị quay kéo sợi lực điện trường như sau:

Bước 1: Chuẩn bị dung dịch polymer

Bước 1.1: Chuẩn bị dung dịch chitosan (Dung dịch 1)

Cân 0,1 g chitosan (CS) và hòa tan hoàn toàn trong 5 mL dung dịch acid acetic 90%. Quá trình hòa tan thực hiện ở nhiệt độ 50°C, khuấy đều bằng khuấy từ cho đến khi thu được dung dịch đồng nhất. Nồng độ chitosan thu được là 2% (w/v).

Bước 1.2: Chuẩn bị dung dịch PLA/PEG (Dung dịch 2)

Cân 0,75 g polylactic acid (PLA) và 0,05 g polyethylene glycol (PEG), sau đó hòa tan trong 5 mL dung môi chloroform ở 40°C. Khuấy đều đến khi thu được dung dịch trong suốt. Nồng độ tương ứng của PLA và PEG là 15% và 1% (w/v).

Bước 1.3: Bổ sung hoạt chất capsaicin (Dung dịch 3)

Cân 0,123 g capsaicin và cho vào dung dịch 2. Khuấy đều để capsaicin phân tán hoàn toàn trong dung dịch, tạo thành dung dịch 3.

Bước 1.4: Chuẩn bị dung dịch CS/PLA/PEG/CAP nồng độ capsaicin 1,23% (Dung dịch 4)

Dung dịch chitosan (dung dịch 1) được thêm từ từ vào dung dịch 3 theo tỷ lệ thể tích 1:1 (v:v). Khuấy đều bằng khuấy từ cho đến khi thu được dung dịch đồng nhất (dung dịch 4), chuẩn bị cho quá trình kéo sợi.

Bước 2: Kéo sợi bằng phương pháp điện trường (Electrospinning)

Bước 2.1: Thiết lập thiết bị kéo sợi

Nạp dung dịch 4 vào bơm tiêm 5 mL có gắn kim loại dẫn điện. Kết nối kim tiêm với nguồn điện cao thế.

Bước 2.2: Thiết lập các điều kiện kéo sợi

Điện áp ở mức là 20 kV. Tốc độ cấp dung dịch là 1 mL/h. Khoảng cách từ đầu kim đến bộ thu (collector) là 15 cm. Tiến hành kéo sợi trong điều kiện phòng thí nghiệm, thu sợi trực tiếp lên bộ thu.

Bước 3: Sấy và thu sản phẩm

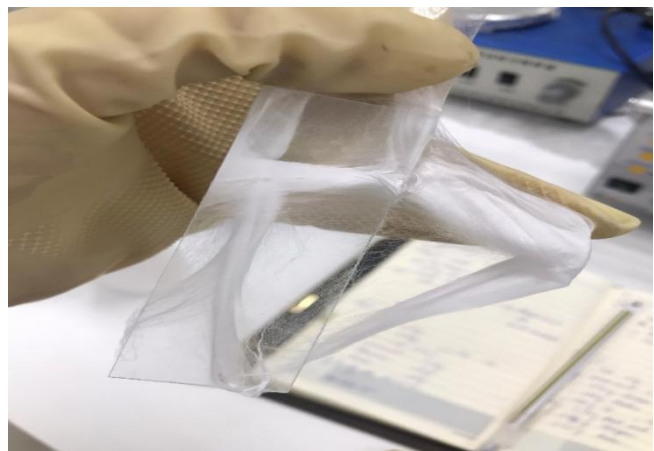
Sau khi thu được sợi nano CS/PLA/PEG chứa capsaicin còn ẩm, tiến hành sấy khô trong máy sấy chân không ở 50°C trong vòng 12 giờ nhằm loại bỏ hoàn toàn dung môi còn sót lại. Sản phẩm cuối cùng là sợi nano khô, có hàm lượng capsaicin đạt khoảng 12% (w/w).

Trong các nghiên cứu tiếp theo, tiếp tục đánh giá các đặc tính cấu trúc của sợi bằng các kỹ thuật phân tích chuyên sâu như: FTIR, SEM, cơ học và tính thấm ướt để hiểu rõ hơn về mức độ kết tinh, cấu trúc vi mô và sự phân bố của capsaicin trong nền polymer. Bên cạnh đó, đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của hệ sợi nano cũng là cần thiết, nhằm xác định tiềm năng ứng dụng sợi trong việc tạo miếng dán giảm đau, kháng khuẩn, kháng viêm.

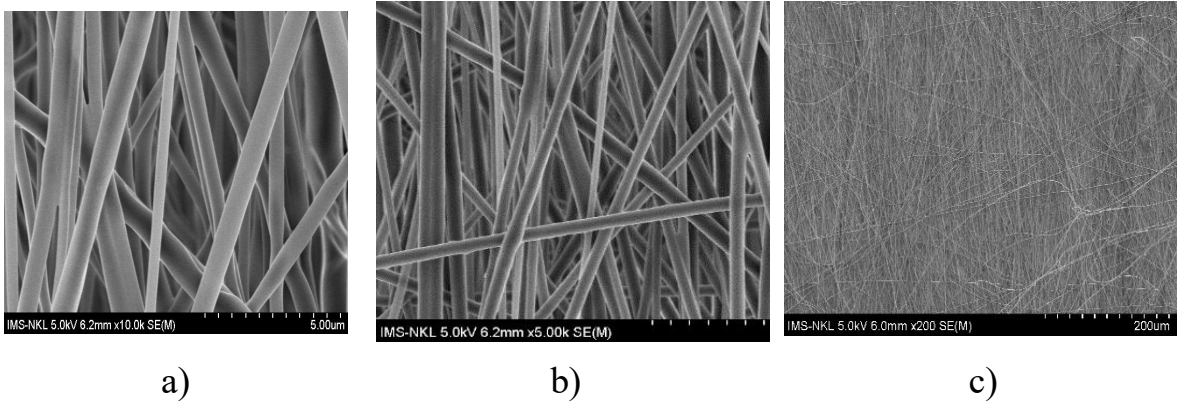
3.2. Kết quả nghiên cứu cấu trúc sợi nano CS/PLA/PEG mang hoạt chất capsaicin bằng công nghệ quay kéo sợi lực điện trường

3.2.1. Kết quả phân tích hình thái học

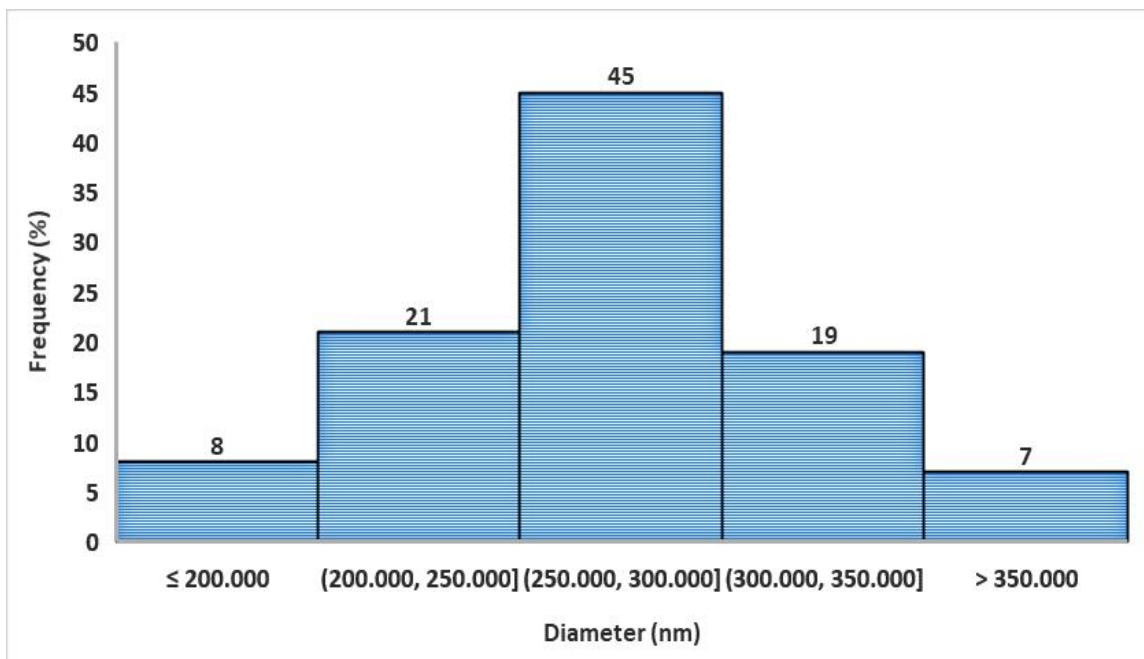
Kết quả phân tích hình thái học (Hình 16) cho thấy bề mặt của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 bề mặt nhẵn, đồng nhất và không có hạt kết tụ. Đường kính trung bình của sợi nano là 269 ± 54 nm. Biểu đồ phân bố đường kính sợi (Hình 17) cho thấy khoảng 85% số lượng sợi có đường kính đồng đều nằm trong khoảng 200 - 350 nm.



Hình 15. Ảnh sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 sau khi thực hiện quá trình kéo lực điện trường ở các điều kiện tối ưu



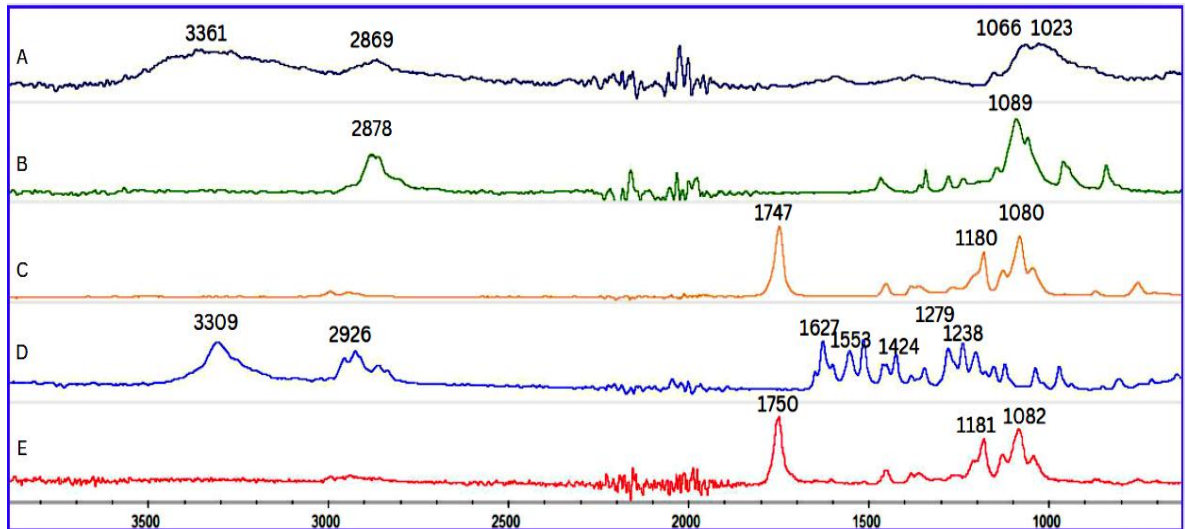
Hình 16. Ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 ở độ phóng đại: a) x10.000; b) x5.000; c) x200



Hình 17. Biểu đồ phân bố đường kính của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12

3.2.2. Kết quả phân tích thành phần hóa học

Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR) của các thành phần riêng lẻ (chitosan, PEG, PLA, capsaicin) và mẫu sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 được trình bày trong hình 18. Kết quả phân tích cho thấy sự hiện diện của các nhóm chức đặc trưng của từng thành phần và cho phép đánh giá tương tác hóa học trong hệ vật liệu tổng hợp.



Hình 18. Phổ FT-IR của CS (A), PEG (B), PLA (C), Capsaicin (D) và sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 (E)

Phổ FT-IR của capsaicin hiển thị các dải hấp thụ đặc trưng bao gồm:

- ❖ 3309 cm^{-1} : dao động giãn N–H (amin)
- ❖ 2926 cm^{-1} : dao động giãn C–H (methylene)
- ❖ 1627 cm^{-1} : dao động giãn C=O (amide)
- ❖ 1424–1553 cm^{-1} : dao động vòng thơm C=C

Những tín hiệu này phù hợp với cấu trúc capsaicin, một phân tử thuộc nhóm alkaloid có chứa cả nhân thơm và chuỗi aliphatic và kết quả đã được công bố trước đó. Cụ thể, El-Kaaby và cộng sự (2016) khi so sánh phổ chuẩn capsaicin với mẫu callus và seedling của *Capsicum annum* đã ghi nhận các dải hấp thụ tại 3315–3354 cm^{-1} đặc trưng cho dao động giãn N–H, vùng 2926–2866 cm^{-1} đặc trưng cho dao động giãn C–H, cùng với các tín hiệu rõ rệt của nhóm carbonyl (C=O) và dao động vòng thơm (C=C) [31]. Các số liệu này hoàn toàn tương thích với phổ thu được trong nghiên cứu chế tạo sợi nano CS/PLA/PEG mang hoạt chất capsaicin.

Đối với polymer PEG, phổ ghi nhận hai đỉnh hấp thụ rõ rệt tại:

- ❖ 1089 cm^{-1} : dao động giãn C–O–C trong mạch chính
- ❖ 2878 cm^{-1} : dao động C–H đặc trưng của nhóm methylene

CS thể hiện một dải rộng ở vùng 3361 cm^{-1} , đặc trưng cho dao động giãn kết hợp N–H và O–H, thường gặp ở polysaccharide có nhóm chức amin và hydroxyl. Bên cạnh đó, các đỉnh tại 2869 cm^{-1} (C–H), 1023 và 1066 cm^{-1} (dao động liên kết C–O trong vòng pyranose) xác nhận đặc điểm cấu trúc polysaccharide. Những phân tích và phân bố đỉnh này phù hợp với các báo cáo trước đây của Islam, Arnold và Padhye (2015), phổ FT-IR của chitosan điều chế thể hiện một dải rộng đặc trưng ở vùng $3290\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$, tương ứng với dao động kéo giãn kết hợp của nhóm –OH và –NH₂. Bên cạnh đó, các tín hiệu rõ nét tại $\sim 2869\text{ cm}^{-1}$ (dao động C–H aliphatic) và trong khoảng $1020\text{--}1080\text{ cm}^{-1}$ (dao động liên kết C–O trong vòng pyranose) đã được ghi nhận [32].

Trong phổ của PLA, các đỉnh hấp thụ mạnh tại:

- ❖ 1747 cm^{-1} : dao động giãn C=O (ester)
- ❖ 1180 và 1080 cm^{-1} : dao động C–O–C (ester) trong mạch chính polyester, là các dấu hiệu rõ ràng cho cấu trúc polyester mạch thẳng

Phổ FT-IR của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 cho thấy các tín hiệu đặc trưng tại:

- ❖ 1750 cm^{-1} (C=O)
- ❖ 1181 và 1082 cm^{-1} (C–O–C)

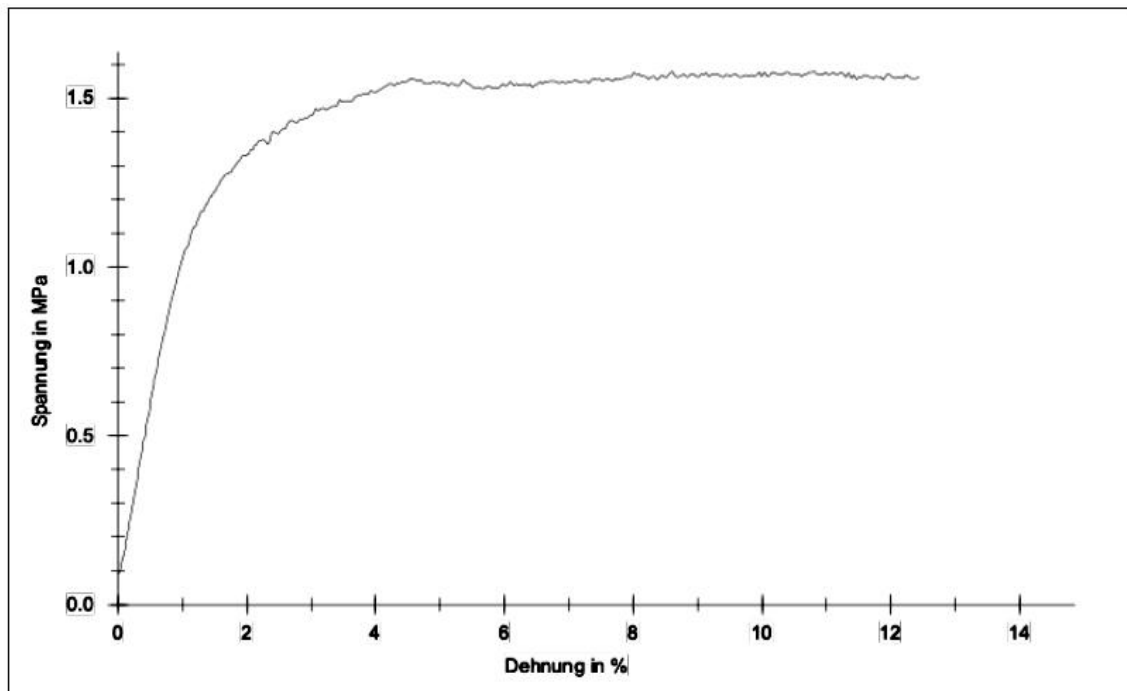
Điều này cho thấy sự hiện diện của liên kết ester từ PLA và PEG trong mạng lưới sợi. Ngoài ra, sự duy trì của các đỉnh này cùng với việc không xuất hiện các đỉnh mới bất thường cho thấy rằng quá trình nạp capsaicin không làm thay đổi đáng kể cấu trúc hóa học chính của hệ vật liệu, đồng thời capsaicin có thể tồn tại ở trạng thái vật lý phân tán trong ma trận polymer, thay vì hình thành liên kết hóa học mới. Điều này tương đồng với kết quả phổ FTIR của mẫu nanofiber từ chitosan kết hợp mật ong nạp capsaicin (HTCs-capsaicin) được báo cáo bởi Al-Musawi et al. (2020) [33].

Kết quả này cho thấy rằng hệ sợi nano CS/PLA/PEG giữ được đặc tính cấu trúc của các polymer nền sau khi phối trộn và nạp capsaicin. Điều này quan trọng trong việc đảm bảo tính ổn định của vật liệu cũng như hiệu quả

giải phóng hoạt chất trong các ứng dụng dẫn thuốc tại chỗ hoặc băng vết thương.

3.2.3. Kết quả phân tích cơ học

Tính chất cơ học của các sợi nano được khảo sát thông qua phân tích đường cong ứng suất (MPa) - biến dạng (%) như trình bày trong hình 19. Các thông số cơ học sau 3 lần đo thu được giá trị trung bình trong bảng 6 sau:



Hình 19. Độ bền cơ học của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12

(ứng suất, MPa – biến dạng, %)

Bảng 6. Kết quả phân tích cơ học sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12

Số lần đo	Độ giãn (%)	Modul đàn hồi (MPa)	Độ bền kéo (MPa)
1	13,22	95,5	2,12
2	13,24	95,49	2,11
3	13,23	95,48	2,11
Trung bình	$13,23 \pm 1,65$	$95,49 \pm 4,94$	$2,11 \pm 0,64$

Ý nghĩa của các thông số cơ học:

Các sợi nano có gắn capsaicin trong nghiên cứu này thể hiện độ bền kéo trung bình $2,11 \pm 0,64$ MPa, độ giãn dài khi đứt $13,23 \pm 1,65\%$ và modul đàn hồi $95,49 \pm 4,94$ MPa. Các giá trị này nằm trong khoảng đã được công bố cho nhiều hệ nanofiber polymer sinh học. Cụ thể, Mosallanezhad et al. (2022) báo cáo độ bền kéo của polycaprolactone/chitosan electrospun nanofibers trong khoảng 1,9–2,9 MPa [34], trong khi Clerici et al. (2024) cũng ghi nhận các đặc tính cơ học tương tự ở những hệ nanofiber sinh học khác [35]. Sự tương đồng này cho thấy kết quả nghiên cứu vật liệu có độ bền phù hợp để ứng dụng trong lĩnh vực y-sinh.

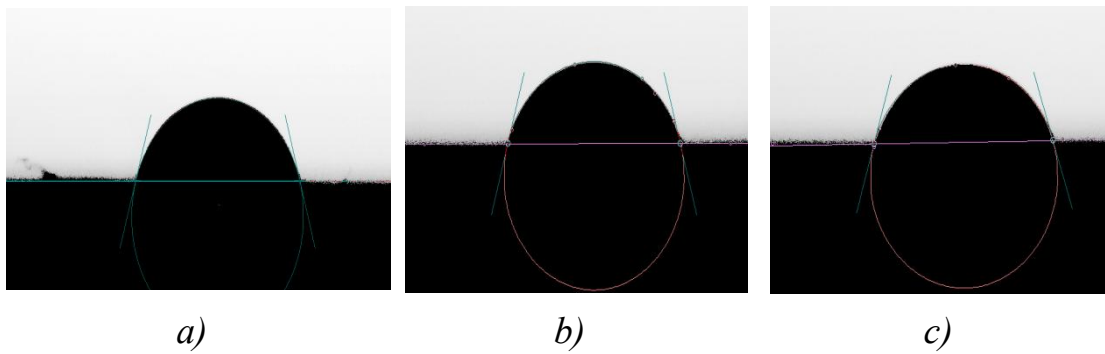
Hơn nữa, phân bố hoạt chất đồng đều trong mạng lưới polymer giúp duy trì hoặc thậm chí cải thiện tính chất cơ học nhờ làm tăng tương tác phân tử giữa hoạt chất và nền polymer [36]. Dữ liệu trong nghiên cứu hiện tại cho thấy capsaicin được phân tán đủ ổn định để không làm giảm đáng kể độ bền kéo hoặc độ đàn hồi của sợi.

3.2.4. Kết quả khảo sát tính thấm ướt

Khả năng thấm ướt bề mặt của các sợi nano CS/PLA/PEG chứa 12% capsaicin được khảo sát thông qua phương pháp đo góc tiếp xúc với nước. Kết quả đo 3 lần lặp lại thể hiện tại bảng 7.

Bảng 7. Kết quả đo góc tiếp xúc giữa giọt nước và sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12

Số lần đo	Góc tiếp xúc giữa giọt nước và sợi nano (°)
1	73,6
2	73,8
3	73,8
Trung bình	$73,7 \pm 1,5$



Hình 20. Góc tiếp xúc được đo bằng camera kỹ thuật số

a) $73,6^\circ$; b) $73,8^\circ$;c) $73,8^\circ$

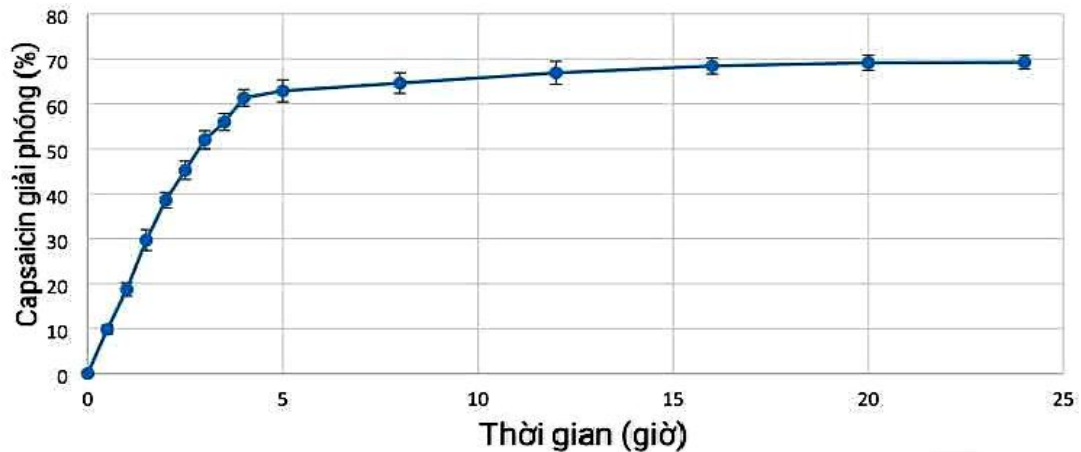
Từ kết quả đo cho thấy sợi nano chứa capsaicin có góc tiếp xúc trung bình đạt $73,7 \pm 1,5^\circ$, cho thấy bề mặt vật liệu có tính ưa nước ở mức vừa phải. Theo tiêu chuẩn chung, các bề mặt có góc tiếp xúc với nước nhỏ hơn 90° được xem là ưa nước (hydrophilic) [37]. Góc tiếp xúc trong khoảng $70 - 75^\circ$ được ghi nhận là phù hợp cho các vật liệu tiếp xúc mô sinh học vì nó tạo điều kiện cho sự hấp phụ protein và tương tác tế bào diễn ra hiệu quả hơn [38].

Tính chất ưa nước này có thể bắt nguồn từ cấu trúc polymer nền và bề mặt sợi. Trong nghiên cứu này, mặc dù capsaicin là một hợp chất có tính kỵ nước (hydrophobic), việc nạp hàm lượng capsaicin 12% không làm mất hoàn toàn đặc tính ưa nước của vật liệu. Nguyên nhân có thể là do capsaicin phân bố bên trong cấu trúc sợi thay vì tập trung trên bề mặt hoặc do tương tác giữa capsaicin với các nhóm ưa nước của polymer nền đã làm giảm tính kỵ nước bề mặt.

Tính ưa nước của sợi nano đóng vai trò thiết yếu trong các ứng dụng y sinh. Nó giúp hỗ trợ trao đổi nước, oxy và chất dinh dưỡng, đồng thời tăng cường sự bám dính và tăng sinh của tế bào, từ đó nâng cao hiệu quả sử dụng trong băng vết thương, vật liệu mang thuốc hoặc giá thể nuôi cấy tế bào [39].

3.2.5. Kết quả đánh giá khả năng giải phóng hoạt chất

Kết quả khảo sát đánh giá khả năng giải phóng hoạt chất capsaicin của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 trong dung dịch đệm phosphate (PBS, pH 7.4) được thể hiện trong hình 21.



Hình 21. Sự giải phóng hoạt chất capsaicin trong sợi CS/PLA/PEG/CAP12 theo thời gian

Giai đoạn đầu (0–4 giờ đầu): tốc độ giải phóng nhanh, với **khoảng 61,3%** capsaicin được giải phóng nhanh chóng. Giai đoạn này chủ yếu do lượng hoạt chất nằm trên bề mặt hoặc gần bề mặt sợi, dễ dàng khuếch tán ra môi trường xung quanh.

Giai đoạn sau (4 giờ tiếp theo): tốc độ giải phóng chậm dần và ổn định, biểu hiện đặc trưng của cơ chế giải phóng kéo dài. Quá trình này được chi phối bởi sự khuếch tán của capsaicin qua ma trận polymer và có thể nhờ sự liên kết hydro giữa capsaicin và các nhóm chức của polymer, làm giảm tốc độ thoát khuếch tán.

Sau 24 giờ, tổng lượng capsaicin được giải phóng đạt **khoảng 70%** hoạt chất, cho thấy sự giải phóng không hoàn toàn, có thể do một phần hoạt chất vẫn giữ lại trong mạng lưới polymer.

3.2.6. Kết quả khả năng đánh giá tính kháng khuẩn

Kết quả khảo sát hoạt tính kháng khuẩn được tổng hợp trong bảng 8 cho thấy sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 có khả năng ức chế chọn lọc một số chủng vi sinh vật. Cụ thể, giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) đối với *Escherichia coli* ATCC 25922 đạt 100 µg/mL, phản ánh hiệu quả kháng khuẩn khá tốt đối với vi khuẩn Gram âm này. Đây là một kết quả đáng chú ý, vì lớp màng ngoài của *E. coli* thường bị tổn thương bởi các hợp chất có tính kỵ nước như capsaicin, do cấu trúc lipopolysaccharide của màng ngoài dễ bị

phá vỡ (ví dụ thấy khi capsaicin làm tăng tính thấm màng ngoài của *Acinetobacter baumannii* kháng colistin) [40].

Đối với hai chủng khác là *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC 25923 (Gram dương) và nấm *Aspergillus niger* ATCC 6275, giá trị MIC là 200 µg/mL, thể hiện mức độ ức chế trung bình. Trong khi đó, *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* ATCC 6633 chỉ bị ức chế ở nồng độ 400 µg/mL, cao hơn đáng kể so với các chủng còn lại, cho thấy hiệu quả kháng khuẩn của capsaicin đối với chủng này là tương đối thấp.

Mặt khác, không ghi nhận hoạt tính kháng khuẩn đáng kể đối với các chủng vi sinh vật còn lại trong dải nồng độ khảo sát, cho thấy phổ tác động kháng khuẩn của sợi nano chứa capsaicin có tính chọn lọc. Điều này phù hợp với các nghiên cứu trước đó, trong đó capsaicin được ghi nhận là có hoạt tính mạnh hơn với một số vi khuẩn Gram âm so với Gram dương hoặc nấm, phụ thuộc vào chủng cụ thể và nồng độ [41].

Tính chọn lọc này có thể là lợi thế trong các ứng dụng y sinh, vì nó cho phép ức chế vi sinh vật gây bệnh mục tiêu mà không ảnh hưởng quá mức đến hệ vi sinh vật có lợi. Đồng thời, việc sử dụng hệ sợi nano CS/PLA/PEG làm nền mang cũng giúp tăng cường khả năng phân tán và giải phóng capsaicin, nhờ cấu trúc polymer bán tinh thể và tương thích sinh học cao [42].

Bảng 8. Hiệu quả kháng khuẩn của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 so với capsaicin tự do

STT	Vi sinh vật	Giá trị MIC của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 (µg/mL)	Giá trị MIC của capsaicin tự do (µg/mL)
1	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	100	200
2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	0	0
3	<i>Bacillus subtilis</i> phân loài	400	200

	<i>spizizenii</i> ATCC 6633		
4	<i>Staphylococcus aureus</i> phân loài <i>aureus</i> ATCC 25923	200	400
5	<i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275	200	200
6	<i>Fusarium oxysporum</i> ATCC 7601	0	0
7	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	0	0
8	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> VTCC–Y–62	0	0

Kết quả thu được cho thấy tiềm năng ứng dụng của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 như một vật liệu kháng khuẩn chọn lọc, đặc biệt phù hợp trong các lĩnh vực yêu cầu kiểm soát vi khuẩn Gram âm và một số loại nấm mốc. Tuy nhiên, cần nghiên cứu sâu hơn để mở rộng phổ tác động cũng như cải thiện hiệu suất của hệ dẫn truyền hoạt chất này.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

Sau một thời gian tìm hiểu và thực hiện luận văn thạc sĩ với đề tài: “Nghiên cứu chế tạo sợi nano chitosan mang hoạt chất capsaicin bằng phương pháp lực điện trường”, tác giả đã hoàn thành được mục tiêu, nhiệm vụ của luận văn đặt ra và thu được một số kết quả, cụ thể như sau:

1. Đã xác định được các điều kiện chế tạo sợi nano polymer CS/PLA/PEG/CAP12 gồm: nồng độ capsaicin tối ưu trong dung dịch polymer là 1,23% (w/v) và hàm lượng capsaicin trong sợi khô là 12% (w/w); khoảng cách từ kim phun tới bộ thu là 15 cm, tốc độ bơm dung dịch kéo sợi là 1 mL/h và điện áp tối ưu cho quá trình điện kéo sợi là 20 kV.

2. Đã xác định được đặc tính cấu trúc của sợi nano polymer CS/PLA/PEG/CAP12 gồm:

- Kết quả phân tích hình thái học cho thấy bề mặt của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 nhẵn, đồng nhất và không có hạt kết tụ, đường kính trung bình của sợi nano là 269 ± 54 nm, khoảng 85% số lượng sợi có đường kính đồng đều nằm trong khoảng 200 - 350 nm.
- Kết quả phân tích thành phần hóa học phổ IR cho thấy hệ sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 giữ được đặc tính cấu trúc của các polymer nền sau khi phối trộn và nạp capsaicin.
- Kết quả phân tích cơ học cho thấy, các sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 thể hiện độ bền kéo trung bình $2,11 \pm 0,64$ MPa, độ giãn dài khi đứt $13,23 \pm 1,65\%$ và modul đàn hồi $95,49 \pm 4,94$ MPa
- Kết quả khảo sát tính thấm ướt cho thấy sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 có góc tiếp xúc trung bình đạt $73,7 \pm 1,5^\circ$, cho thấy bề mặt vật liệu có tính ưa nước ở mức vừa phải. Đây là giá trị phù hợp cho các vật liệu có tiếp xúc mô sinh học vì nó tạo điều kiện cho sự hấp phụ protein và tương tác tế bào diễn ra hiệu quả hơn.

3. Kết quả đánh giá hoạt tính kháng khuẩn cho thấy Sợi nano polymer CS/PLA/PEG/CAP12 có tính kháng khuẩn chọn lọc, giá trị MIC đối với *Escherichia coli* ATCC 25922 đạt 100 µg/mL. Đối với *Staphylococcus*

aureus subsp. *aureus* ATCC 25923 (Gram dương) và nấm *Aspergillus niger* ATCC 6275 đạt là 200 µg/mL. Đối với *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* ATCC 6633 đạt 400 µg/mL.

KIẾN NGHỊ

Do thời gian nghiên cứu còn hạn chế và phạm vi nghiên cứu chủ yếu tập trung vào việc chế tạo sợi nano CS/PLA/PEG có chứa một hoạt chất là capsaicin và nghiên cứu một số đặc tính cấu trúc sợi đặc trưng, do đó, tác giả có đề xuất một số hướng nghiên cứu tiếp theo như sau:

- ❖ Tiếp tục nghiên cứu sâu một số đặc tính khác như: hoạt tính chống viêm, hoạt tính gây độc tế bào ung thư, khả năng chống oxy hóa,...
- ❖ Nghiên cứu độc tính và tác dụng kháng viêm, giảm đau trên động vật thực nghiệm.
- ❖ Kết hợp các kỹ thuật phân tích chuyên sâu hơn như: phân tích cơ chế giải phóng hoạt chất bằng mô hình động học; phân tích phổ FT-IR, phổ XPS, phổ DSC-TGA để làm rõ tương tác hóa lý giữa polymer và hoạt chất.

Những hướng nghiên cứu này không chỉ giúp làm sáng tỏ cơ chế hoạt động của hệ sợi nano mang hoạt chất mà còn tạo tiền đề cho việc phát triển các vật liệu dẫn thuốc ứng dụng trong điều trị bệnh lý cụ thể, đặc biệt trong các lĩnh vực như: da liễu, ung thư học, y học tái tạo,...

DANH MỤC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ

Pham Thi Nhung, Ngo Thi Phuong, Tran Hoai Khang, Luu Van Chinh, Le Ngoc Hung, Do Thi Thanh Huyen, Le Minh Ha, 2024, Fabrication, characterization, and antibacterial effect of electrospun nanofibers CS/PLA/PEG loaded with the natural compound capsaicin, *Proceedings of International Scientific Conference on Applied Biotechnology*, Youth Publising House, pp. 171-188, ISBN: 978-604-41-5641-5 (in English).

DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Hữu Tuyền, Nguyễn Kim Thanh Kiều, Võ Nhị Kiều, Ngô Hồng Loan, Lâm Hoàng Anh Thư, Phạm Tiến Dũng, Hoàng Thùy Dương, Phan Thị Kim Ngân, Nguyễn Đông Thức, Mai Ngọc Tuấn Anh, 2023, Chế tạo vật liệu nano Berberin và đánh giá khả năng ức chế vi khuẩn gây sâu răng, *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 59(5A).
2. Venugopal J., Ramakrishna S., 2005, Applications of polymer nanofibers in biomedicine and biotechnology, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 125(3), pp. 147-158.
3. Nguyễn Thị Thu Thủy, Nguyễn Thị Phương Thu, 2018, Nghiên cứu chế tạo màng sợi nano chitosan/polyvinyl alcohol ứng dụng loại bỏ ion kim loại nặng trong nước, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 49.
4. Dinh, D.T., Phuong, N.T., Thu Thuy, N.T., Nhung, P.T., Hung, L.N., Huyen, D.T.T., An, N.T., Židek, J. & Ha, L.M., 2025. Electrospun Ethyl-p-Methoxycinnamate Loaded CS/PEG/PLA Nanofibers. *AATCC Journal of Research*, pp.1-11.
5. Xue J., Wu T., Dai Y., Xia Y., 2019, Electrospinning and Electrospun Nanofibers: Methods, Materials, and Applications, *Journal of the American Chemical Society*, 119(8), pp. 5298-5415.
6. Thenmozhi S., Dharmaraj N., Kadirvelu K., Kim H.Y., 2017, Electrospun nanofibers: New generation materials for advanced applications, *Materials science & engineering B*, 217, pp. 36-48.
7. Hu X., Liu S., Zhou G., Huang Y., Xie Z., Jing X., 2014, Electrospinning of polymeric nanofibers for drug delivery applications, *Journal of Controlled Release*, 185, pp. 12-21.
8. Koirala P., Bhandari Y., Khadka A., Kumar S.R., Nirmal N.P., 2024, Nanochitosan from crustacean and mollusk byproduct: Extraction, characterization, and applications in the food industry, *International Journal of Biological Macromolecules*, 262.
9. Ivan F., 2001, *CRC Handbook of Dietary Fiber in Human Nutrition*, CRC Press, pp. 45-47.
10. Kean T.J., Thanou M., 2012, *Chitosan-Based Systems for Biopharmaceuticals*. 2012, John Wiley & Sons, England, pp. 451-461.

11. Ikono R., Vibriani A., Wibowo I., Saputro K.E., Muliawan W., Bachtiar B.M., Mardiyati E., Bachtiar E.W., Rochman N.T., Kagami H., Xianqi L., Nagamura-Inoue T., Tojo A, 2019, Nanochitosan antimicrobial activity against *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* dual-species biofilms, *BMC Research Notes*, 12(1), p. 383.
12. Zmejkoski D.Z., Marković Z.M., Budimir M.D., Zdravković N.M., Trišić D.D., Bugárová N., Danko M., Kozyrovska N.O., Špitalský Z., Kleinová A., Kuzman S.B., Pavlović V.B., Todorović Marković B.M., 2021, Photoactive and antioxidant nanochitosan dots/biocellulose hydrogels for wound healing treatment, *Materials Science and Engineering: C*, 122, pp. 111925-111935.
13. Saied M., Hasanin M., Abdelghany T.M., Amin B.H., Hashem A.H., 2023, Anticandidal activity of nanocomposite based on nanochitosan, nanostarch and mycosynthesized copper oxide nanoparticles against multidrug-resistant *Candida*, *International Journal of Biological Macromolecules*, 242.
14. Hardiansyah A., Tanadi H., Yang M.-C., Liu T.-Y., 2015, Electrospinning and antibacterial activity of chitosan-blended poly(lactic acid) nanofibers, *Journal of Polymer Research* , 22(4), pp. 1-10.
15. Xu X., Zhou G., Li X., Zhuang X., Wang W., Cai Z., Li M., Li H., 2016, Solution blowing of Chitosan/PLA/PEG hydrogel nanofibers for wound dressing, *Fibers and Polymers*, 17(2), pp. 205-211.
16. Hoang Thi T.T., Pilkington E.H., Nguyen D.H., Lee J.S., Park K.D., Truong N.P., 2020, The importance of Poly(ethylene glycol) alternatives for overcoming PEG immunogenicity in drug delivery and bioconjugation, *Polymers*, 12(2), pp. 298-318.
17. Trang N.T.T., Chinh N.T., Giang N.V., Thanh D.T.M., Lam T.D., Thu L.V., Quang N.D., Hoang T., 2016, Hydrolysis of green nanocomposites of poly(lactic acid) (PLA), chitosan (CS) and polyethylene glycol (PEG) in acid solution, *Green Processing and Synthesis*, 5(5), pp. 443-449.
18. Barbero G.F., Palma M., Barroso C.G, 2006, Pressurized liquid extraction of capsaicinoids from peppers, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(9), pp. 3231-3236.

19. Bennett D.J., Kirby G.W, 1968, Constitution and biosynthesis of capsaicin, *Journal of the Chemical Society C*, pp. 442-446.
20. Zhang W., Zhang Y., Fan J., Feng Z., Song X., 2024, Pharmacological activity of capsaicin: Mechanisms and controversies (Review), *Molecular Medicine Reports*, 29(3), pp. 38-45.
21. Periferakis A.T., Periferakis A., Periferakis K., Caruntu A., Badarau I.A., Savulescu-Fiedler I., Scheau C., Caruntu C., 2023, Antimicrobial Properties of Capsaicin: Available Data and Future Research Perspectives, *Nutrients*, 15(19), pp. 4097- 4123.
22. Menezes R.P., Bessa M.A.S., Siqueira C.P., Teixeira S.C., Ferro E.A.V., Martins M.M., Cunha L.C.S., Martins C.H.G., 2022, Antimicrobial, Antivirulence, and Antiparasitic Potential of *Capsicum chinense* Jacq. Extracts and Their Isolated Compound Capsaicin, *The Journal of Antibiotics*, 11(9), pp. 1154-1175.
23. Hernández-Téllez C.N., Luque-Alcaraz A.G., Núñez-Mexía S.A., Cortez-Rocha M.O., Lizardi-Mendoza J., Rosas-Burgos E.C., Rosas-Durazo A.J., Parra-Vergara N.V., Plascencia-Jatomea M., 2022, Relationship between the Antifungal Activity of Chitosan-Capsaicin Nanoparticles and the Oxidative Stress Response on *Aspergillus parasiticus*, *Polymers*, 14(14).
24. Barnthip N., Teeka J., Kantha P., Teepoo S., Damjuti W., 2022, Fabrication and characterization of polycaprolactone/cellulose acetate blended nanofiber mats containing sericin and fibroin for biomedical application, *Scientific Reports*, 12(1).
25. Langwald S.V., Ehrmann A., Sabantina L., 2023, Measuring physical properties of electrospun nanofiber mats for different biomedical applications, *Membranes*, 13(5).
26. Vlietinck A.J., 1999, *Screening methods for detection and evaluation of biological activities of plant preparations*, In: *Bioassay methods in natural product research and drug development*, Springer, Netherlands, pp. 37-52.
27. McKane L., Kandel J., 1996, *Bacterial Growth and Laboratory Cultivation*, In: *Microbiology Essentials and Applications*, New York: McGraw-Hill, pp. 97-125.

28. Thien D.V.H., Hsiao S.W., Ho M.H., Li C.H., Shih J.L., 2013, Electrospun chitosan/hydroxyapatite nanofibers for bone tissue engineering, *Journal of Materials Science*, 48(4), pp. 1640-1645.
29. Samokhin Y., Varava Y., Diedkova K., Yanko I., Husak Y., Pragłowska J.R., Pogorielova O., Janus L., Pogorielov M., Kornienko V., 2023, Fabrication and Characterization of Electrospun Chitosan/Poly(lactic Acid) (Ch/PLA) Nanofiber Scaffolds for Biomedical Application, *Journal of Functional Biomaterials*, 14(8).
30. Kubheka N.S.M., Moloto M.J., Mkhumbeni N., 2022, Optimization of concentration and applied voltage of electrospun zein nanofibers, *International Journal of Electrospun Nanofibers and Applications*, 8(1-2), pp. 1-9.
31. El-Kaaby, E. A., Al-Hattab, Z. N., & Al-Anny, A. A. (2016). FT-IR Identification of Capsaicin from callus and seedling of chilli pepper plants (*Capsicum annum* L.) in vitro. *International Journal of Multidisciplinary and Current Research*, 4(Nov/Dec), 1144-1146.
32. Islam, S., Arnold, L., & Padhye, R. (2015). Comparison and characterisation of regenerated chitosan-FT-IR and other analyses. *International Scholarly Research Notices*, 2015, Article ID 874316, pp.1-8.
33. Al-Musawi, S., Albukhaty, S., Al-Karagoly, H., Sulaiman, G. M., Alwahibi, M. S., Dewir, Y. H., ... Rizwana, H. (2020). Antibacterial activity of honey/chitosan nanofibers loaded with capsaicin and gold nanoparticles for wound dressing. *Molecules*, 25(20), 4770.
34. Mosallanezhad, P., Nazockdast, H., Ahmadi, M. & Rostami, S., 2022. Fabrication and characterization of polycaprolactone/chitosan electrospun nanofibers embedded with curcumin and zinc oxide nanoparticles for wound dressing. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, Article 1027351.
35. Clerici, N.J., Vencato, A.A., Helm Júnior, R., Daroit, D.J. & Brandelli, A., 2024. Electrospun Poly-ε-Caprolactone Nanofibers Incorporating Keratin Hydrolysates as Innovative Antioxidant Scaffolds. *Pharmaceuticals*, 17(8), Article 1016.

36. Chou, S-F. & Woodrow, A., 2017. Relationships between mechanical properties and drug release from electrospun fibers of PCL and PLGA blends. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 65, pp.724–733.
37. Ma, X., Liu, Q., Ye, C., Grottkau, B., Guo, B., & Song, Y. F. (2017). Preparation of P3HB4HB/(Gelatin + PVA) composite scaffolds by coaxial electrospinning and its biocompatibility evaluation. *BioMed Research International*, 2017, Article ID 9251806, pp. 1–12.
38. Głąb, M., Drabczyk, A., Kudłacik-Kramarczyk, S., Kędzierska, M., Tomala, A., Sobczak-Kupiec, A., Mierzwiński, D. & Tylińczak, B., 2021. Investigations on the influence of collagen type on physicochemical properties of PVP/PVA composites enriched with hydroxyapatite developed for biomedical applications. *Materials*, 15(1), p.37.
39. Canatar, İ., Zenger, O., Özdaş, S. and Baydemir Peşint, G., 2023. Pterostilbene loaded poly(vinyl alcohol)-gelatin cryogels as potential bioactive wound dressing material. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 111(6), pp.1259–1270.
40. Ouédraogo, M., Ouédraogo, O.T. and Bauer, U., 2021. Synergistic activity of capsaicin and colistin against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*: In vitro/in vivo efficacy and mode of action. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 65(11), e00781-21.
41. Marini, E., Magi, G., Mingoia, M., Pugnali, A. and Facinelli, B., 2015. Antimicrobial and anti-virulence activity of capsaicin against erythromycin-resistant, cell-invasive group A Streptococci. *Frontiers in Microbiology*, 6, p.1281.
42. Goci, E., Haloci, E., Di Stefano, A., Chiavaroli, A., Angelini, P., Miha, A., Cacciatore, I. and Marinelli, L., 2021. Evaluation of in vitro capsaicin release and antimicrobial properties of topical pharmaceutical formulation. *Biomolecules*, 11(3), p.432.

PHỤ LỤC

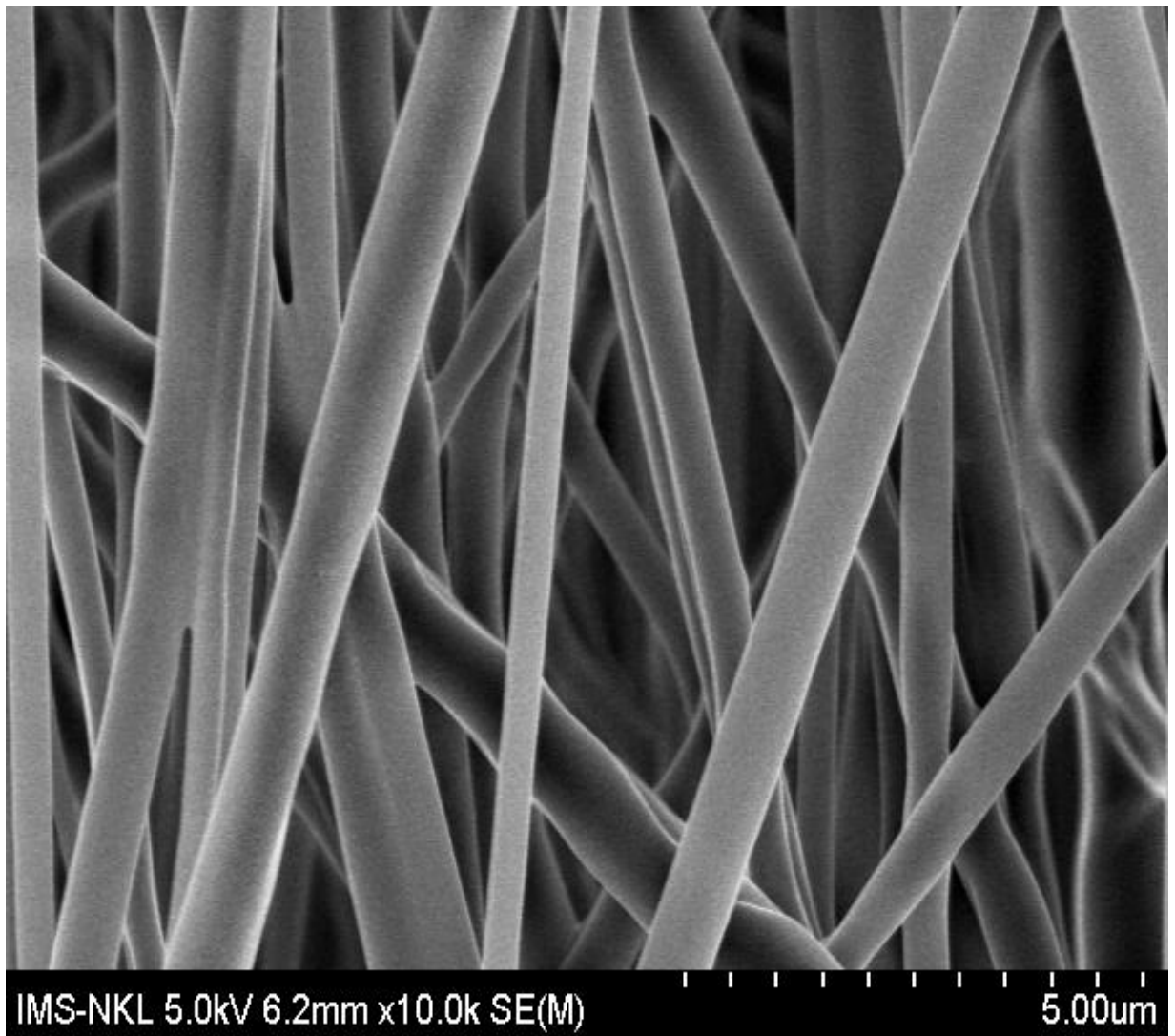
PL 1. Ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 chế độ SE 5kV, tại các độ phóng đại khác nhau: x10.000, x5.000 và x200

PL 2. Phổ FT-IR của CS, PEG, PLA, Capsaicin và sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12

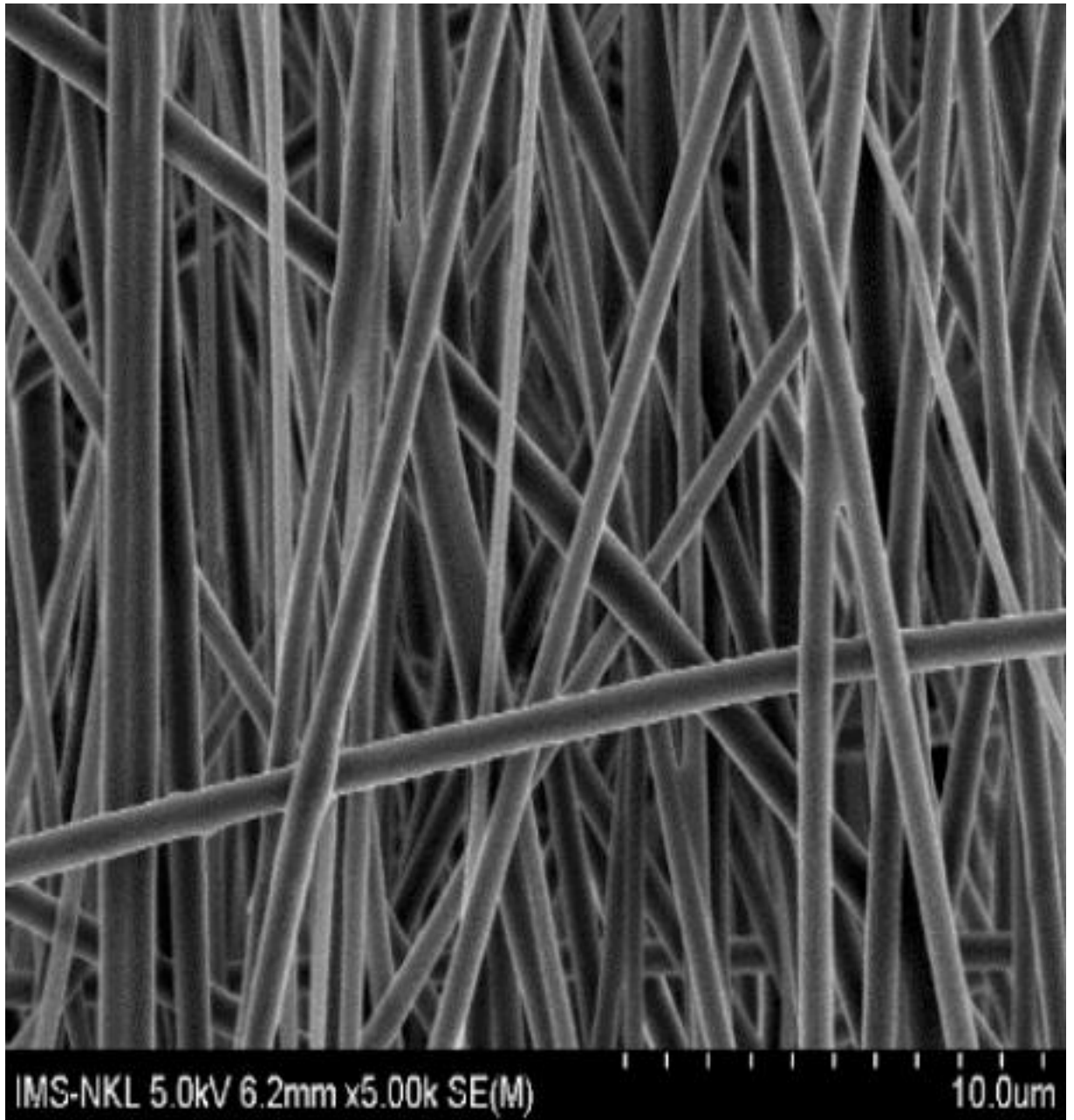
PL 3. Phổ FT-IR tổng hợp của CS, PEG, PLA, Capsaicin và sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12

PL 1

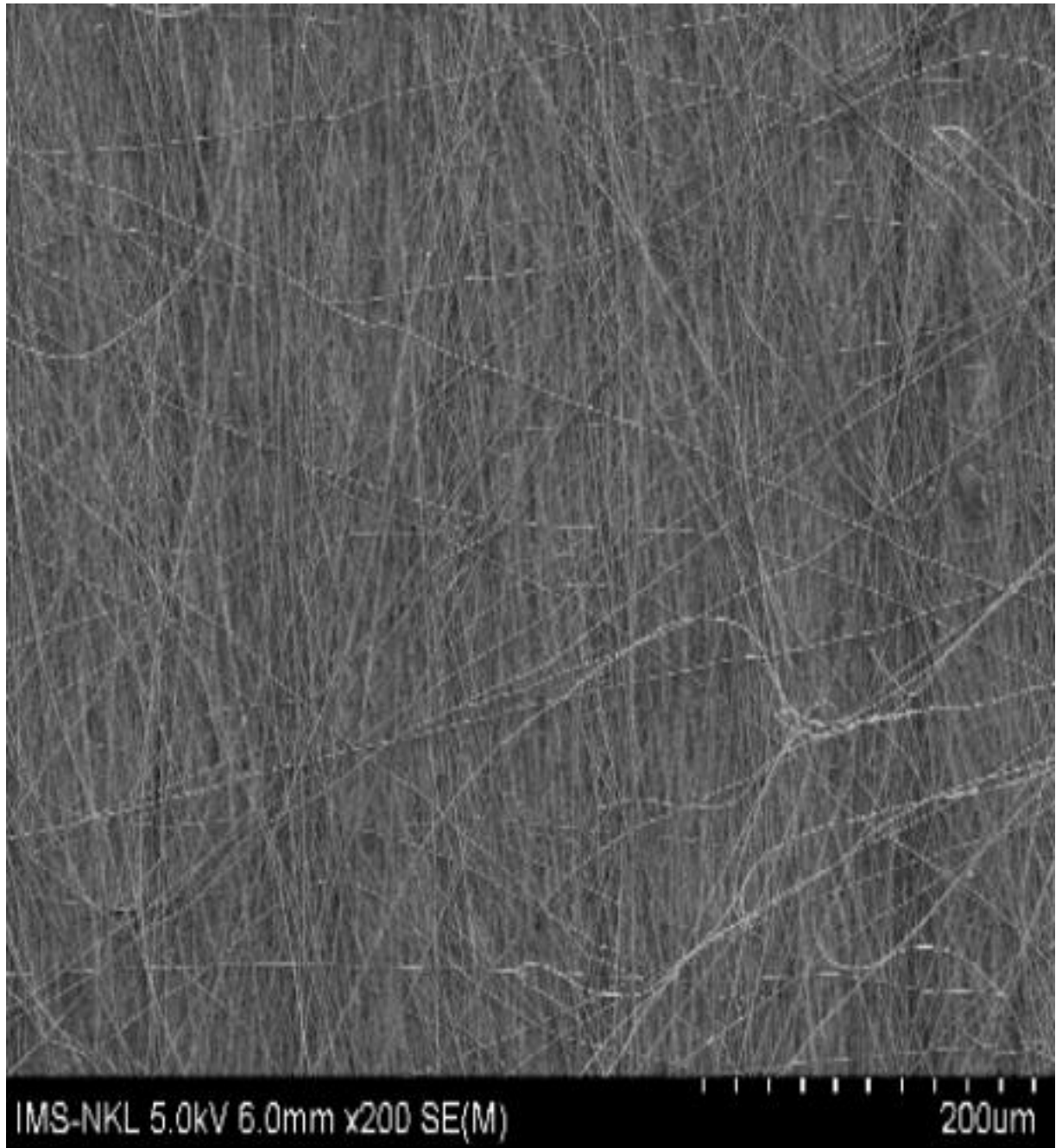
Ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 chế độ
SE 5kV, độ phóng đại 10.000



Ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12
chế độ SE 5kV, độ phóng đại 5.000

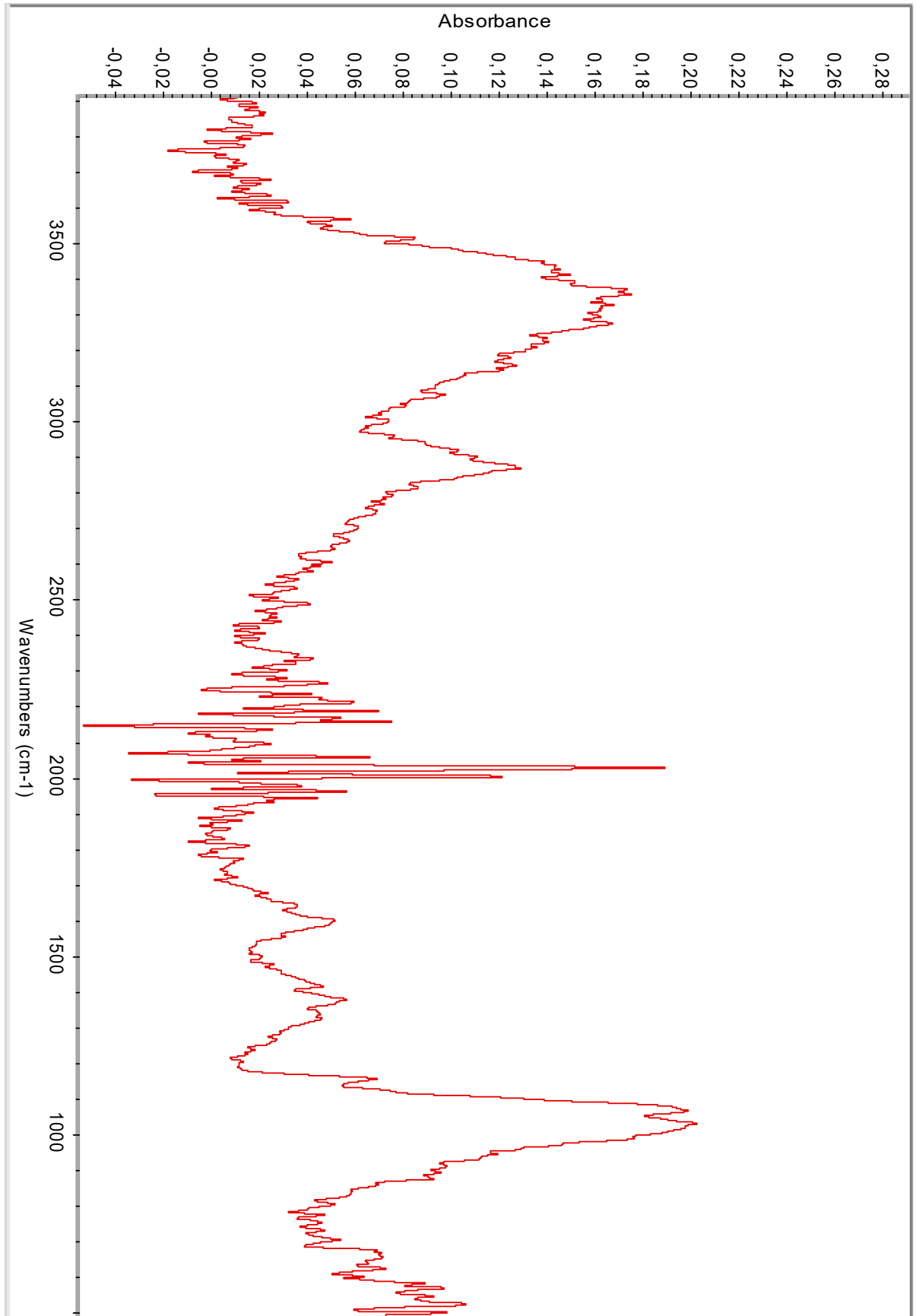


Ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12 chế độ
SE 5kV, độ phóng đại 200

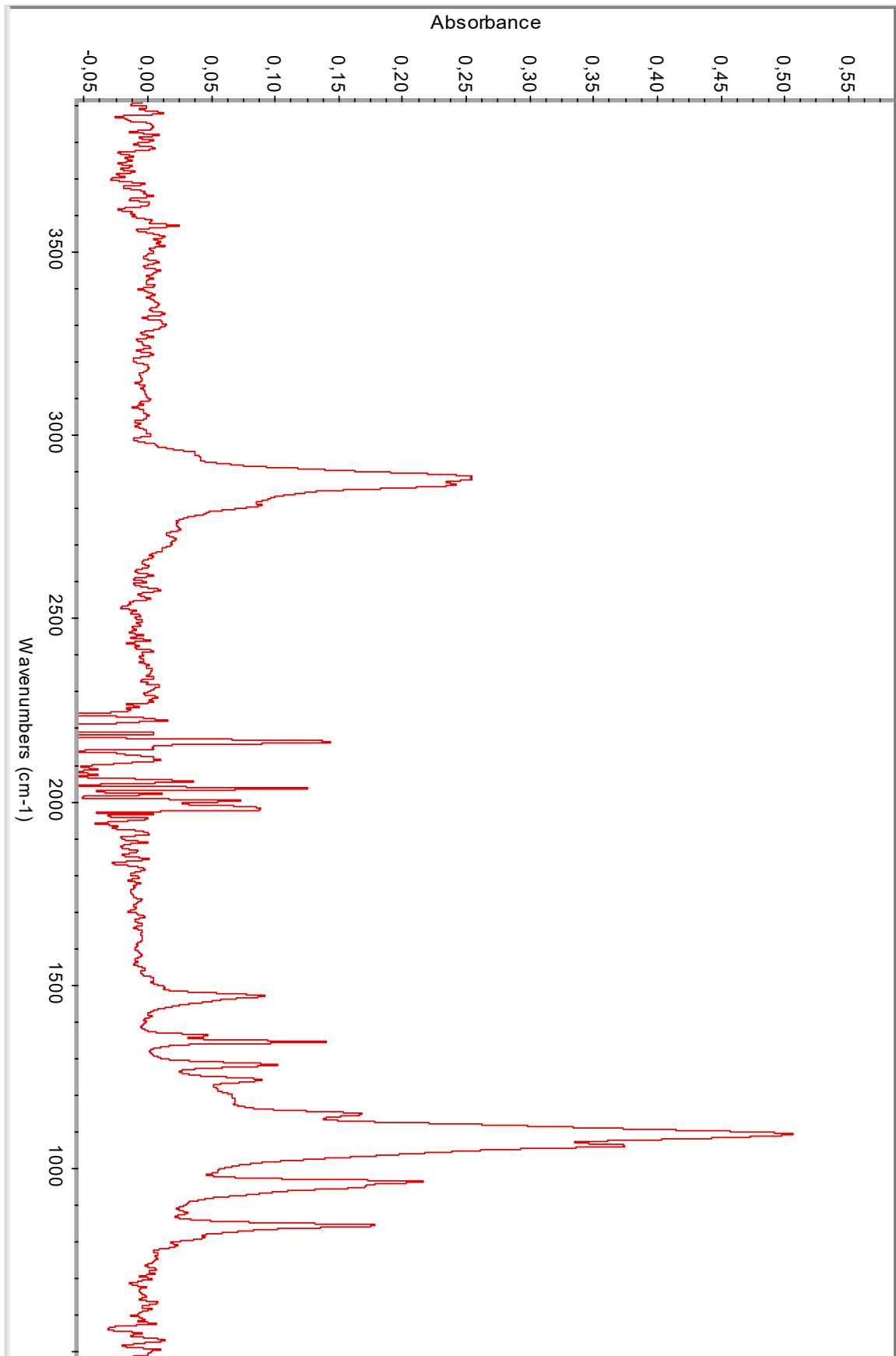


PL 2

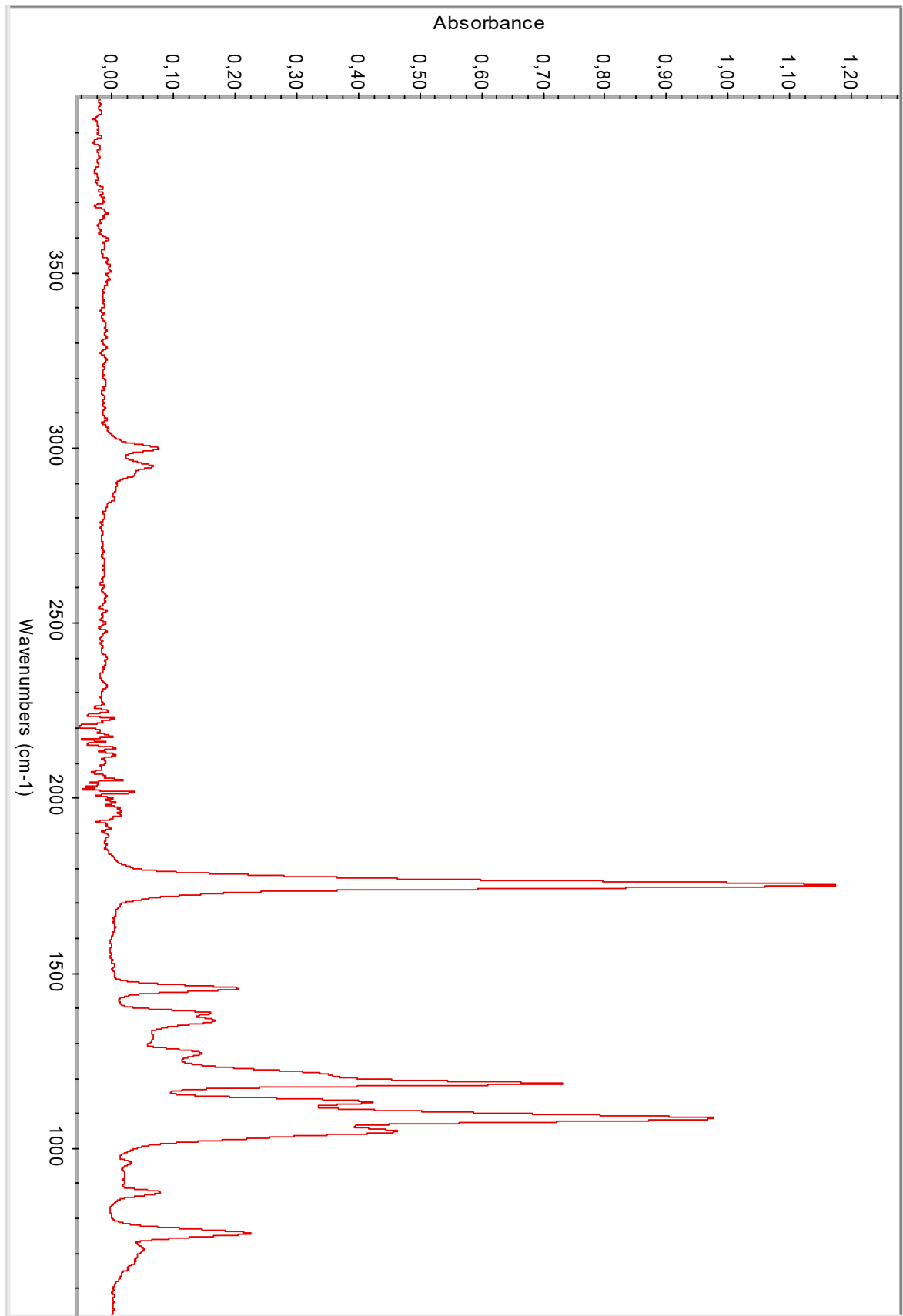
Phổ FT-IR của CS



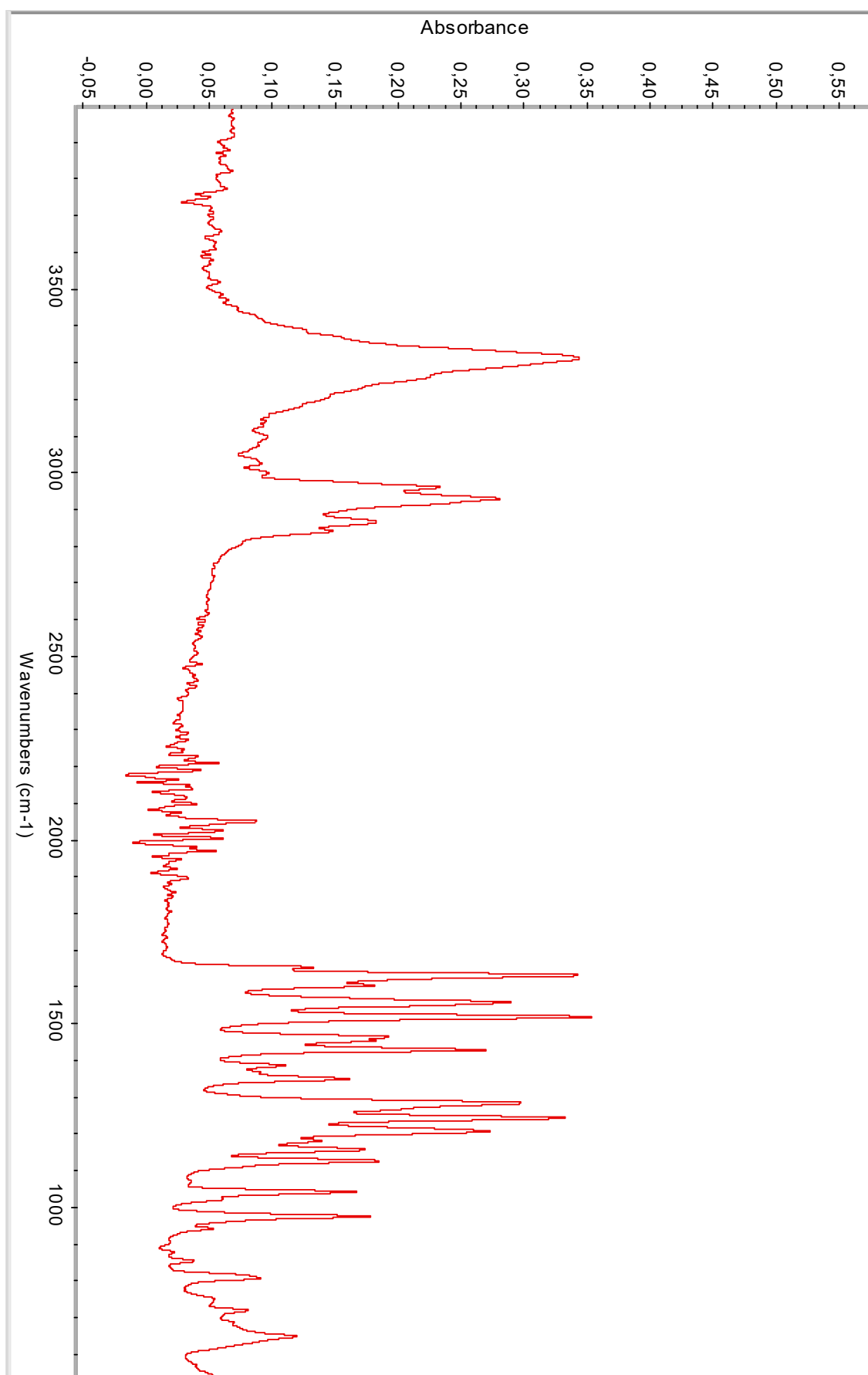
Phổ FT-IR của PEG



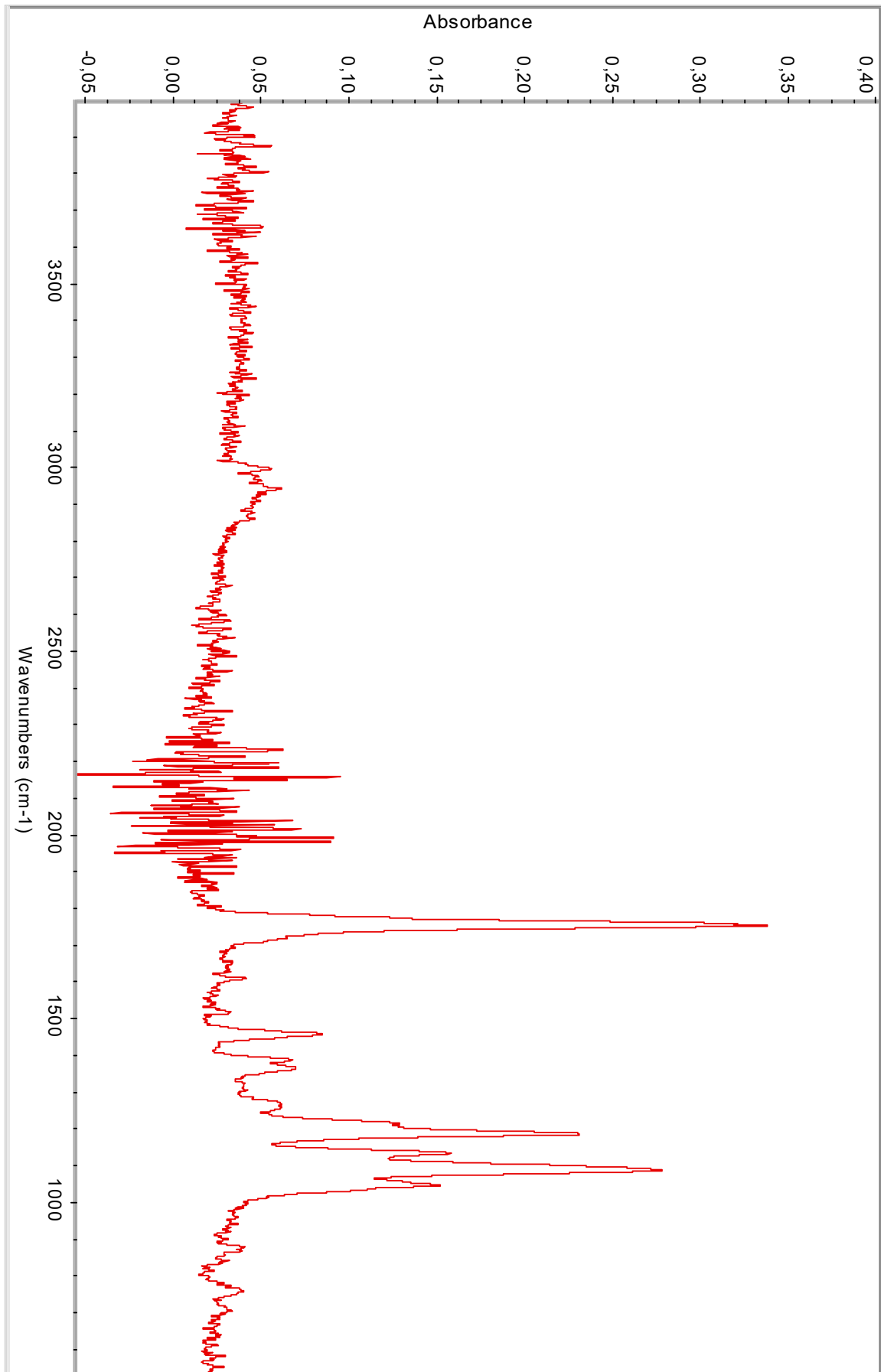
Phổ FT-IR của PLA



Phổ FT-IR của Capsaicin

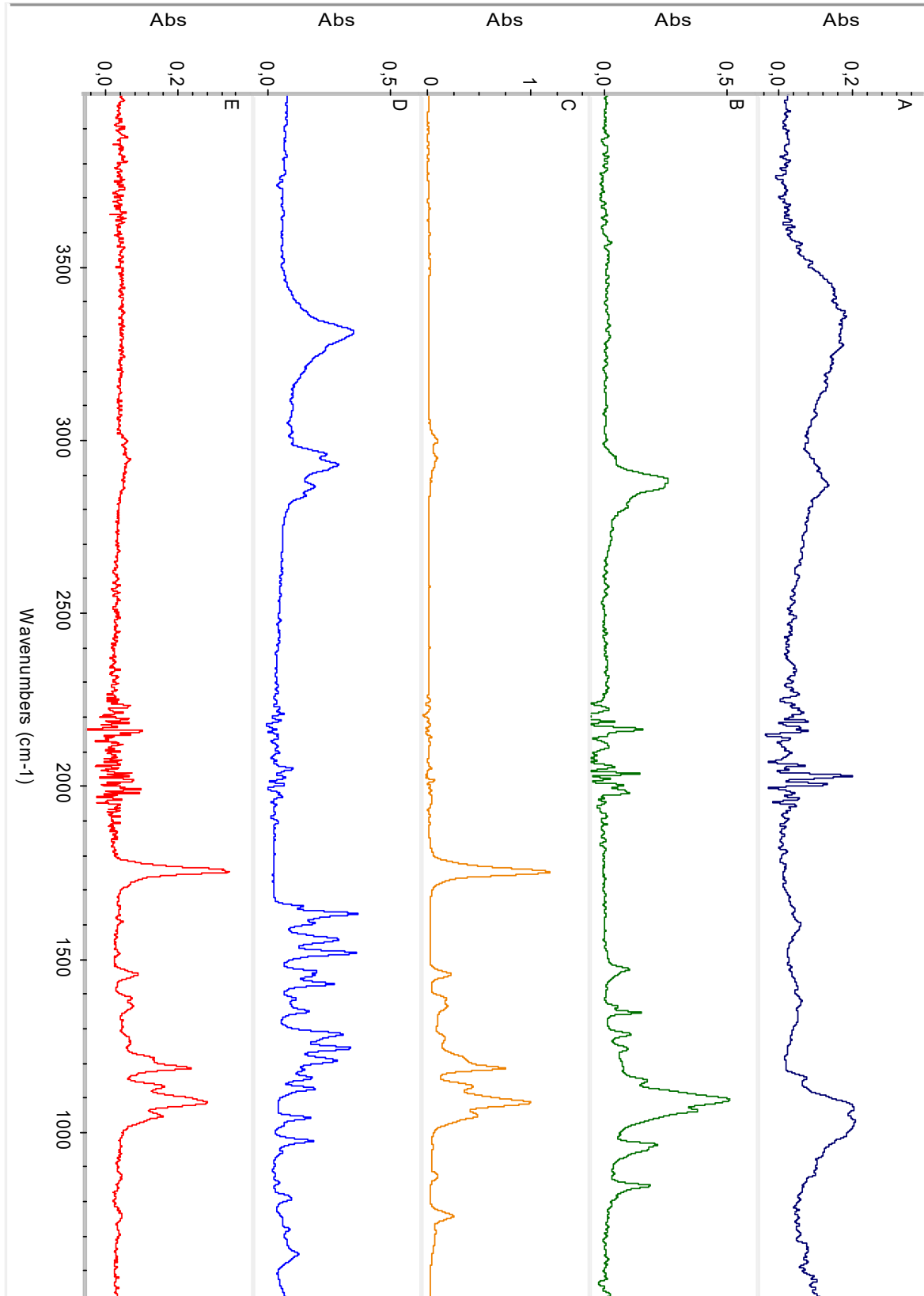


Phổ FT-IR của sợi nano CS/PLA/PEG/CAP12



PL 3

Phổ FT-IR tổng hợp của CS, PEG, PLA, Capsaicin và sợi nano
CS/PLA/PEG/CAP12



**PROCEEDINGS
OF INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE
ON APPLIED BIOTECHNOLOGY**

HANOI OPEN UNIVERSITY

**PROCEEDINGS
OF INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE
ON APPLIED BIOTECHNOLOGY**

**YOUTH PUBLISHING HOUSE
HANOI - 2024**

EDITORIAL BOARD

Assoc. Prof. Dr.	Ta Thi Thu Thuy
Dr.	Nguyen Thanh Chung
Dr.	Dao Thi Hong Van
Dr.	Bui Thi Hai Hoa
Dr.	Do Phuong Khanh
Dr.	Dang Bao Son
Dr.	Nguyen Thi Huong

CONFERENCE ORGANIZING COMMITTEE

Dr.	Nguyen Minh Phuong
Assoc. Prof. Dr.	Pham Thi Tam
Assoc. Prof. Dr.	Ta Thi Thu Thuy
MSc.	Do Thi Thanh Hai
MSc.	Le Quoc Thang
MSc.	Tran Tien Dung
MSc.	Nguyen Viet Hung
MSc.	Tran Tien Dung
Dr.	Nguyen Thanh Chung
BA.	Mac Van Hai

REVIEWER COMMITTEE

Prof. Dr.	Nguyen Huy Hoang	Vietnam Academy of Science and Technology
Assoc. Prof. Dr.	Phi Quyet Tien	Vietnam Academy of Science and Technology
Assoc. Prof. Dr.	Ta Thi Thu Thuy	Hanoi Open University
Assoc. Prof. Dr.	Pham Thi Tam	Hanoi Open University
Dr.	Nguyen Thanh Chung	Hanoi Open University
Dr.	Nguyen Thi Huong	Hanoi Open University
Dr.	Dang Bao Son	Hanoi Open University
Dr.	Le Thi Tuoi	Hanoi National University of Education
Dr.	Tae-Su Kim	Honam National Institute of Biological Resources, South Korea
Dr.	Pia Werlinger	Korea University Hospital, South Korea
Dr.	Yi Liu	Hengyang Normal University, China

INDEX

FOREWORD	13
SECTION I: MOLECULAR GENETIC ENGINEERING AND BIOCHEMICAL TECHNOLOGY	17
1. MINING NOVEL ANTI-TUBERCULOSIS COMPOUNDS FROM ACTINOMYCETES LIBRARY Joo-Won Suh	19
2. ENGINEERING OF REDUCING DOMAINS OF HERBOXIDIENE PKS FOR GENERATING NOVEL ANALOG Hue Thi Nguyen, Anaya Raj Pokhrel, Chung Thanh Nguyen, Tuoi Thi Le, Jay Kyung Sohng	39
3. α -GLUCOSIDASE INHIBITORY ACTIVITY OF EXTRACTS AND COMPOUNDS FROM <i>ZINGIBER ZERUMBET</i> LINN RHIZOMES Truong Nhan Ngu, Phu Khanh Nguyen, Thi Huong Dang, Thi Kim An Nguyen	60
4. SANTIN AND SAKURANETIN FROM GREEN PROPOLIS OF <i>MIMOSA TENUIFLORA</i> (WILLD.) POIR.: PHYTOCHEMICAL STUDY, ANTIOXIDATIVE, ANTIMICROBIAL, AND MOSQUITO LARVICIDAL ACTIVITIES Vu Thi Thuong, Jairo Kenupp Bastos, Nguyen Huy Hung, Nguyen Thi Mai Huong, Nguyen Ngoc Linh, Vu Quoc Manh, Nguyen Thi Ngoc Tuyen, Trinh Thi Thu Hang, Dang Bao Son, Ninh The Son	75
5. THE LEAF ESSENTIAL OIL OF <i>SILIQUAMOMUM OREODOXA</i> N.S. LÝ & ŠKORNIČK: CHEMICAL COMPOSITIONS, ANTIMICROBIAL ACTIVITY, MOLECULAR DOCKING, AND ADMET PROFILING Le Thi Huong, Ly Ngoc Sam, Do Ngoc Dai, Nguyen Xuan Ha, Phi Thi Tuyet Nhung, Pham Thị Bích Dao, Dao Thi Hong Van, Trinh Thi Thu Hang, Do Phuong Khanh, Nguyen Thi Huong, Ninh The Son	89

6. PHYTOCHEMICAL COMPOSITION, ANTIOXIDANT, AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITIES OF LIGHT AND HEAVY ESSENTIAL OIL FRACTIONS FROM *CINNAMOMUM CAMPHORA*
Son Dang Bao, Anh Luu Ngoc Dam, Anh Tu Hoang, Han Thai Gia, Ha Nguyen Minh, Anh Ho Ngoc 108
7. STUDY ON EXTRACTION AND COMPOSITION ANALYSIS OF ESSENTIAL OIL FROM BLACK PEPPER (*PIPER NIGRUM* L.) GROWN IN DAK LAK PROVINCE OF VIETNAM
Thi Cam Van Do, Quang Tung Nguyen, Dinh Giap Vu, Thi Thanh Yen Pham, Thi Huong Dang 127
8. CLONING AND EXPRESSION OF DGDP- 4,6-HEXOSE DEHYDRATASE/4-EPIMARASE GENE (NCSS) FROM NEOCARZINOSTAIN BIOSYNTHESIS GENE CLUSTER FROM *STREPTOMYCES CARZINOSTATIN*
Ta Thi Thu Thuy, Le Thanh Hai Ha, Do Phuong Khanh, Nguyen Thi Huong, Nguyen Thanh Chung 150
9. IN VIVO ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF ELECTROSPUN NANOFIBERS LOADED WITH ETHYL-P-METHOXYCINNAMATE
Do Thi Dinh, Ngo Thi Phuong, Do Thi Thao, Nguyen Thai An, Do Thi Thanh Huyen, Le Minh Ha 159
10. FABRICATION, CHARACTERIZATION, AND ANTIBACTERIAL EFFECT OF ELECTROSPUN NANOFIBERS CS/PLA/PEG LOADED WITH THE NATURAL COMPOUND CAPSAICIN
Pham Thi Nhung, Ngo Thi Phuong, Tran Hoai Khang, Luu Van Chinh, Le Ngoc Hung, Do Thi Thanh Huyen, Le Minh Ha 171
11. SCREENING OF ANTIBACTERIAL, ANTIFUNGAL AND CANCER CELL CYTOTOXICITY ACTIVITY OF BACTERIA ISOLATED FROM NAI LAGOON, NINH THUAN PROVINCE
Tran Thi Hong, Nguyễn Quốc Việt, Cao Thi Hue, Nguyen Thi Ngoc Anh, Ta Thi Thu Thuy, Nguyen Thi Phuong Thao, Le Thanh Hai Ha 189
12. BIOCHEMICAL COMPONENTS AND BIOACTIVITIES OF FERMENTED MYRTLE FRUIT (*RHODOMYRTUS TOMENTOSA*) USING *LACTOBACILLUS*
Huy-Cong Ha, Nguyen Thi Bao Ngoc, Tran Thi Phuong Thuy, Nguyen My Duyen, Vuong Dinh Phuc, Tuoi Thi Le 212

13. THE INITIAL STUDY ON CHEMICAL COMPOSITION OF VIETNAMESE AVOCADO LEAVES (*PERSEA AMERICANA* MILL.) HARVESTED IN DAK NONG PROVINCE, VIETNAM
Nguyen Duc Thang, Ngo Thi Phuong, Pham Thi Nhung, Nguyen Tuan Anh, Do Thi Thanh Huyen, Ha Thi Thanh Huong, Le Minh Ha 228
14. THE POTENTIAL APPLICATIONS OF PROBIOTIC *BACILLUS* FOR DEPRESSION
Thi Tuyet Nhung Nguyen, Hoa Mai Sam, Thanh Binh Nguyen 244
15. RESEARCH PROGRESS OF UMAMI PEPTIDE
Weifeng Sun, Yi Liu 261
- SECTION II: APPLIED BIOTECHNOLOGY IN THE PHARMACEUTICAL INDUSTRY, MEDICINE, FOOD TECHNOLOGY, AGRICULTURE, AND ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY** 275
16. EFFECTS OF MEDIUM COMPONENTS ON THE PRODUCTION OF VITAMIN K2 BY *BACILLUS SUBTILIS* BST2
Son Huy Dinh, Huong Thu Dang, Anh Tu Loc, Anh La Nguyen 277
17. OPTIMIZATION OF SOLID-STATE FERMENTATION CONDITIONS FOR PIGMENT PRODUCTION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *MONASCUS PURPUREUS* HG12 ISOLATED IN VIETNAM
Bach Thi Mai Hoa, Pham Thanh Huyen, Nguyen Phuong Nhue 291
18. PRODUCTION OF THE FLAVONOID CONTENT BY BASIDIOMYCETE AND ASCOMYCETE FUNGI ON FOOD WASTE (POMEGRANATE PEEL) USING SOLID-STATE FERMENTATION
Vu Dinh Giap, Vu Thi Cuong, Nguyen Duc Hai, Dang Thi Huong 305
19. ENHANCING PRODUCTION OF PRADIMICIN A BY RIBOSOME ENGINEERING
Chung Thanh Nguyen, Huong Thi Nguyen, Thao Thi Phuong Nguyen, Anh Thi Ngoc Nguyen, Khanh Phuong Do, Thoa Kim Vu 327
20. INCREASE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF RICE BRAN BY LACTIC ACID BACTERIA FERMENTATION
Huong Thi Nguyen, Chung Thanh Nguyen, Thuy Thi Thu Ta, Thoa Kim Vu, Khanh Phuong Do, Thao Thi Phuong Nguyen 340

21. EVALUATION OF THE IMPACT OF CERTAIN CONDITIONS DURING THE FERMENTATION PROCESS ON THE QUALITY OF CASCARA TEA MADE FROM ARABICA COFFEE PULPS FROM SON LA, VIETNAM
Manh Duc Vu, Sam Nguyen, Quyen Hoang Tran, Huong Thu Dang, Huyen Ngoc Thi Dieu 354
22. APPLICATION OF ENZYME TECHNIQUE FOR ANALYZING RESISTANT STARCH CONTENT IN PURPLE YAM (*DIOSCOREA ALATA*)
Hao Le Thi Hong, Tuyet Nguyen Anh, Son Tran Cao, Anh Nguyen Thi Kieu, Khanh Cao Cong 376
23. ASSESSMENT OF THE SOIL IMPROVEMENT ABILITY OF MULTIFUNCTIONAL BIOLOGICAL PRODUCTS ON POOR SOIL USED FOR PEANUTS (*ARACHIS HYPOGAEA L.*) IN QUANG TRI PROVINCE
Pham Thi Thuy Hoai, Nguyen Thi Thu Thuy, Tran Thi Hong, Nguyen Thi Ngoc Anh 394
24. RESEARCH ON THE APPLICATION OF ORGANIC MICROBIAL FERTILIZERS FOR SOME VEGETABLE CROPS GROWN ON THE SANDY SOIL OF THE TRUONG SA ARCHIPELAGO
Xuyen Duong, Thanh Luong, Nga Vu, Anh Dam, Quynh Nguyen, Minh Nguyen, Van Dao, Tam Nguyen 413
25. RESEARCH ON THE EFFECT OF SURFACTANTS ON THE HYDROLYSIS OF LIGNOCELLULOSE IN SUGARCANE BAGASSE
Mai Nguyen Thi Phuong, Nam Nguyen Van, Minh Doan Tuan 432
26. EVALUATION OF INITIAL RESULTS OF HOLSTEIN FRIESIAN CATTLE BREED FIRST RAISED AT A HIGH-TECH DAIRY FARM IN PHU YEN, VIETNAM
Anh Tran Thi, Quang Nguyen Hung 456
27. IMMOBILIZATION OF ACTIVATED SLUDGE BY A BIOMATERIAL BASED ON PVA/SA/ GRAPHENE OXIDE FOR APPLICATION IN THE TREATMENT OF AMMONIUM-RICH AGRICULTURAL WASTEWATER
Nguyen Van Tuyen, Hoang Van Tuan, Doan Van Huong, Nguyen Tien Dat, Bui Thi Thuy Ngan, Nguyen Thi Mai Linh, Chu Xuan Quang 470

28. ANTIBACTERIAL, ANTIOXIDANT ACTIVITY, AND SHELF-LIFE EXTENSION
OF STRAWBERRY OF EXOPOLYSACCHARIDE PRODUCED BY *LACTIPLANTIBACILLUS*
PLANTARUM MT12

Ngoc Tung Quach, Thi Hong Van Dao, Quyet Tien Phi

486

FABRICATION, CHARACTERIZATION, AND ANTIBACTERIAL EFFECT OF ELECTROSPUN NANOFIBERS CS/PLA/PEG LOADED WITH THE NATURAL COMPOUND CAPSAICIN

Pham Thi Nhung^{1,2}, Ngo Thi Phuong¹,
Tran Hoai Khang³, Luu Van Chinh¹, Le Ngoc Hung^{2,4},
Do Thi Thanh Huyen¹, Le Minh Ha^{1,2*}

Abstract: In this paper, electrospun nanofibers composed of polymers including chitosan (CS), polyethylene glycol (PEG), polylactic acid (PLA) loaded with 12% capsaicin were prepared using electrospinning method. The morphological and chemical characteristics of the nanofibers were analyzed using a scanning electron microscope (SEM) and the Fourier transform infrared (FTIR) spectra, respectively. The obtained nanofibers were uniform, smooth with an average diameter of 269 ± 54 nm. The

¹ Institute of Natural Products Chemistry, Vietnam Academy of Science and Technology (VAST), 18-Hoang Quoc Viet, Nghia Do, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

² Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology (VAST), 18-Hoang Quoc Viet, Nghia Do, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

³ Faculty of Applied Sciences, Ton Duc Thang University, No 19 Nguyen Huu Tho Str, Tan Phong ward, District 7, Ho Chi Minh City, Vietnam

⁴ Center for High Technology Research and Development, Vietnam Academy of Science and Technology (VAST), 18-Hoang Quoc Viet, Nghia Do, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

*Correspondence:halm2vn@gmail.com; leminhha.inpc@gmail.com

mechanical properties and hydrophilicity of the nanofibers were also investigated. The results exhibited a tensile strength of 2.11 ± 0.64 MPa, an elongation at break of $13.22 \pm 1.65\%$, and a Young's modulus of 95.49 ± 4.94 MPa. The nanofibers were found to be hydrophilic with the contact angle of $73.7 \pm 1.5^\circ$. Capsaicin-loaded nanofibers exhibited significant antibacterial activity against four bacterial strains including *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* subsp. *Aureus*, *Bacillus subtilis* subsp. *Spizizenii*, and *Aspergillus niger*. However, the nanofibers did not exhibit antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*, *Fusarium oxysporum*, *Candida albicans*, and *Saccharomyces cerevisiae*. This is the first time that electrospun CS/PLA/PEG loaded with 12% capsaicin nanofibers have been prepared and their characteristic and antibacterial property were reported.

Keywords: *Electrospun nanofibers, capsaicin, chitosan, polyethylene glycol, polylactic acid, antibacterial effect*

1. INTRODUCTION

In recent years, nanotechnology has become increasingly popular with a variety of applications across different fields, such as textiles, cosmetics, software technology, agriculture and medicine. Among these, nanotechnology in medicine or nanomedicine, is a relatively new and rapidly developing field that combines nanotechnology with biomedical and pharmaceutical sciences, including nanopharmaceuticals, nano-imaging agents and therapeutic diagnostics. At the nanoscale, the physical, chemical and biological properties of materials differ from those of materials at larger sizes. There have been many studies applying nanotechnology to create materials with new properties [1].

Currently, there are many methods for fabricating nanomaterials, among which the electrospinning technique is one of the simplest methods for producing fibers with diameters ranging from tens of nanometers to several micrometers. Using this method, numerous nanofibers have been created from natural polymers (such as zein, collagen, silk, chitosan) or synthetic polymers, and they have found applications in various fields such as biomedical, separation, and sensor technologies [2- 3].

Chitosan (CS) is a derivative obtained from chitin and is a natural polymer with the second-largest abundance after cellulose. Chitosan is found in the shells of crustaceans, insects, and the cell walls of certain fungi. It is formed through the deacetylation of chitin by chemical or biological methods, and the resulting chitosan often has a nanofiber structure [4]. In the fields of medicine and pharmaceuticals, chitosan has been recognized as a biomaterial with many potential applications in drug delivery, transdermal absorption, mucosal absorption, and in grafting techniques [5-6]. Additionally, chitosan possesses several valuable biological activities, such as antioxidant properties, cholesterol-lowering effects [7] and antimicrobial activity [8]. Chitosan is also used as a material capable of carrying bioactive compounds, whether they are water-soluble or poorly soluble, such as capsaicin.

Polylactic acid (PLA) is a biodegradable, biocompatible, bio-absorbable, and non-toxic polyester derived from renewable resources, including beet, corn, and sugar. PLA is widely used in the biomedical field for products such as surgical sutures, implants, and drug delivery systems. It is also used in packaging, 3D printing, and disposable items due to its biodegradable nature [9-10].

Polyethylene glycol (PEG) is a versatile, biocompatible, hydrophilic polymer that is widely used in various applications,

including pharmaceuticals, cosmetics, and industrial processes. PEG is highly soluble in water, which has been widely utilized in drug delivery to enhance the stability and solubility of drugs in vivo [11-12]. The presence of PEG was considered to help improve compatibility and dispersibility between PLA and CS [13].

Pepper (*Capsicum annuum* L.) is a fruit that has a spicy flavor and grows from a plant belonging to the Solanaceae family. Capsaicin is the main chemical component found in peppers. The less spicy varieties of peppers have capsaicinoid concentrations that range from 0.003 to 0.01% in dry weight of the pepper [14]. Among them, capsaicin accounts for approximately 69%, dihydrocapsaicin for about 22%, nordihydrocapsaicin for around 7%, homocapsaicin for about 1%, and homo-dihydrocapsaicin for approximately 1% [15]. Some previous studies showed that capsaicin has anti-inflammatory properties and can reduce pain associated with rheumatoid arthritis and muscle pain at low concentrations. At higher concentrations, it can help alleviate headaches and postoperative pain, along with other valuable biological activities such as antioxidant [16], antibacterial [17] and antifungal properties [18].

Although capsaicin is a highly bioactive compound, it is poorly soluble in water. The encapsulation of capsaicin in polymer matrix is one of the methods to improve its solubility and bioavailability. To the best of our knowledge, there are no reports on encapsulation of capsaicin into CS/PLA/PEG polymer matrix structures using electrospinning. Therefore, this study aimed to prepare electrospun CS/PLA/PEG nanofibers loaded with capsaicin and study their characteristic properties including morphological, chemical, mechanical, wettability, antibacterial activities.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Materials

Chitosan (CS, $M_w \sim 100$ kD; degree of deacetylation = 99 %) was purchased from Sigma-Aldrich (USA). Polylactic acid (PLA, M_w 200 kD), Polyethylene glycol (PEG, M_w = 600 Da), acetic acid ($\geq 99.5\%$), chloroform ($\geq 99.5\%$) were purchased from Merck (Germany). Capsaicin ($\geq 95\%$) (obtained from chili peppers) was supplied by Department of Pharmaceutical Chemistry and Organic Synthesis, Institute of Natural Products Chemistry, VAST, Vietnam. All the chemicals were used without further treatment.

Bacterial strains including *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC 25923, *Aspergillus niger* ATCC 6275, *Fusarium oxysporum* ATCC 7601, *Candida albicans* ATCC 10231, *Saccharomyces cerevisiae* VTCC–Y–62 were obtained from Experimental Biology Department, Institute of Natural Products Chemistry, VAST, Vietnam. These strains were maintained on nutrient agar and stored at 4°C.

2.2. Fabrication of electrospun nanofibers CS/PLA/PEG loaded capsaicin

Preparation of polymer solutions

0.1 g of CS was completely dissolved in 90% acetic acid solution at 50°C to give CS solution at the concentration of 2% (w/v) (solution 1). PLA (0.75 g) and PEG (0.05 g) was dissolved in chloroform at 40°C to obtain the solution with the concentration of PLA and PEG of 15% and 1% (w/v), respectively (solution 2). An appropriate amount of capsaicin (0.123 g) was then added to solution 2 to achieve solution 3. Solution 1 was added slowly into solution 3 at the ratio of 1:1 (v:v) with magnetic stirring to obtain a homogeneous solution for electrospinning (solution 4).

Electrospinning process

The solution 4 was put into a 5 ml syringe attached to a metal needle that connected to a high voltage of 20 kV. The feeding rate of solution was 1 mL/h. The distance from the needle to the collector was set at 15 cm. Produced nanofibers containing 12% of capsaicin were dried by a vacuum drying machine at 50°C for 12 hours to completely remove the solvents [19].

2.3. Characterization of the nanofibers

Morphological analysis

The morphological characteristics of the electrospun nanofibers were observed using a scanning electron microscope (Hitachi, S-4800). The diameter of nanofibers was determined using an image processing software (ImageJ). The average diameter was then calculated randomly from about 100 different nanofibers using MS excel software [19].

Chemical analysis

Chemical characterization of the nanofibers was observed using Fourier transform infrared (FT-IR) spectrometer (GXPerkinElmer- USA) [19].

Mechanical analysis

The tensile strength of the nanofibers was measured using a material testing machine Zwick Z2.5 (Germany). Each sample was cut to dimensions 15 mm in width and 50 mm in length. The test speed was 10 mm/min and the gauge length was 30 mm. Measurements were repeated 3 times. The result was presented as mean $\pm$ SD (standard deviation) [20].

Wetting study

Wetting property of the nanofibers was conducted by sessile drop method using an optical contact angle equipment

Dataphysics OCA 50 (Germany). A small droplet (5 μL) of deionized water was placed on the surface of nanofibers. The contact angle was measured using a digital camera at 60 seconds after the droplet touched the nanofiber surface. This measurement was repeatedly performed three times. The result was presented as mean $\pm$ SD [20].

2.4. Antibacterial assay

The antibacterial activity of the nanofibers was conducted on 96-well microplates according to the methods of Vlietinck (1999) and Mckane (1996) [21,22]. Test bacterial strains included *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145 (gram negative), *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC 25923 (gram positive), *Aspergillus niger* ATCC 6275, *Fusarium oxysporum* ATCC 7601 (filamentous fungi), *Candida albicans* ATCC 10231, *Saccharomyces cerevisiae* VTCC-Y-62 (yeast). Streptomycin, tetracyclin, and nystatin were used as positive control for gram positive, gram negative, yeast and fungi, respectively. The microplates were incubated for 24 h at 37°C for bacteria and 48 h at 30°C for fungi. The lowest concentration of the fibers that inhibited the visible growth of a microorganism (MIC) after incubation was observed and recorded.

3. RESULTS

3.1. Characterization of electrospun nanofibers CS/PLA/PEG loaded capsaicin

Figure 1 showed that the surface of the nanofibers CS/PLA/PEG loaded with 12% capsaicin was smooth, uniform, without any beads. The average diameter of the nanofibers was 269 ± 54 nm. The histogram of diameter distribution of the nanofibers (Figure 2) indicated about 85% of fibers population had a diameter between 200 - 350 nm.

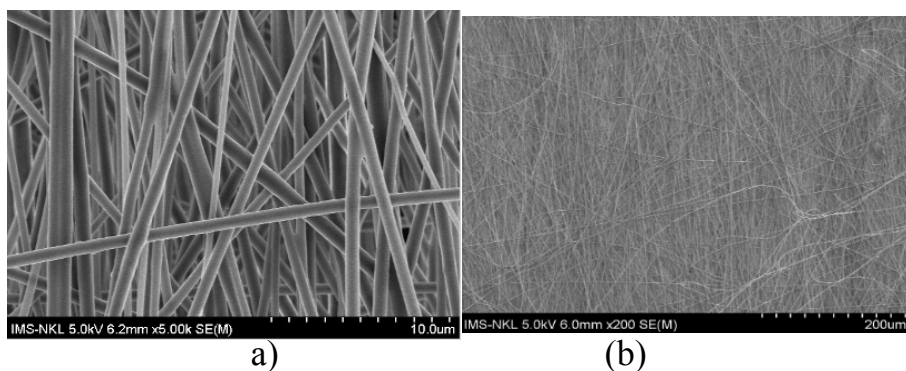


Figure 1. SEM micrographs of the nanofibers CS/PLA/PEG loaded with 12% capsaicin at different magnifications a) x5.000, b) x 200

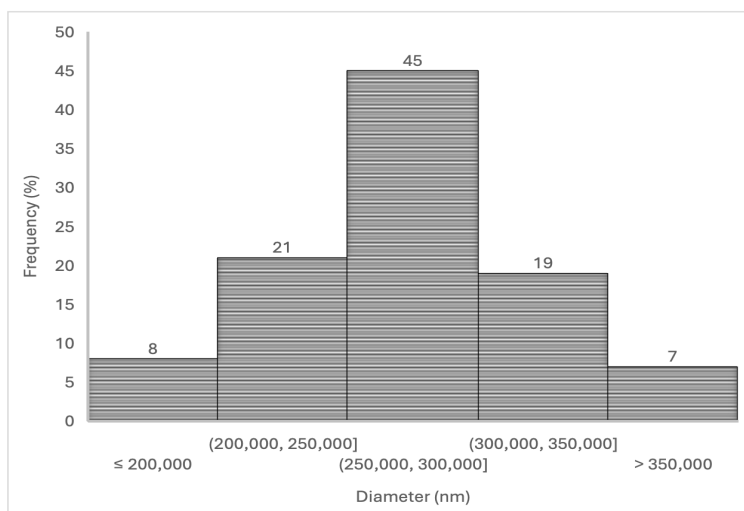


Figure 2. Histogram of diameter distribution of the nanofibers CS/PLA/PEG loaded with 12% capsaicin

Figure 3 presented the FT-IR spectra of the CS, PEG, PLA, capsaicin, and the nanofibers loaded capsaicin. The FT-IR spectrum of capsaicin showed some typical absorption peaks at 3309 cm^{-1} (N-H), 1627 cm^{-1} (C=O), 2926 cm^{-1} (C-H), $1424\text{--}1553\text{ cm}^{-1}$ (aromatic C=C). The FT-IR spectrum of PEG exhibited two sharps peaks at 1089 cm^{-1} (C-O) and 2878 cm^{-1} (C-H). The FT-IR spectrum of CS revealed the strong broad absorption band

around 3361 cm^{-1} corresponding to N-H and O-H stretching vibrations, the peak at 2869 cm^{-1} assigned to C-H stretching vibrations, the strong doublet absorption peak at 1023 and 1066 cm^{-1} attributed to pyranose structure. The FT-IR spectrum of PLA displayed characteristic stretching frequencies for C=O and C-O at 1747 and $1180, 1080\text{ cm}^{-1}$, respectively. The FT-IR spectrum of the nanofibers revealed three major peaks at 1750 (C=O) and $1181, 1082\text{ cm}^{-1}$ (C-O).

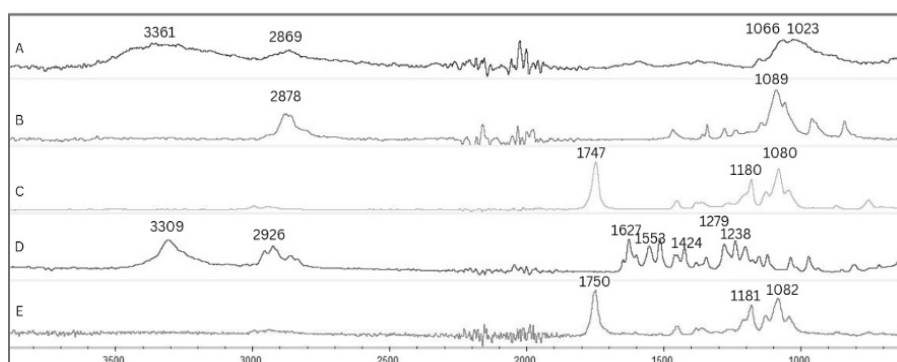


Figure 3. FTIR spectra of CS (A) PEG (B) PLA (C), capsaicin (D), the nanofibers CS/PLA/PEG loaded with 12% capsaicin (E)

The stress-strain curve of the electrospun nanofibers loaded with capsaicin was shown in Figure 4. Mechanical analysis of the nanofibers exhibited a tensile strength of $2.11 \pm 0.64\text{ MPa}$, an elongation at break of $13.22 \pm 1.65\%$, and a Young's modulus of $95.49 \pm 4.94\text{ MPa}$.

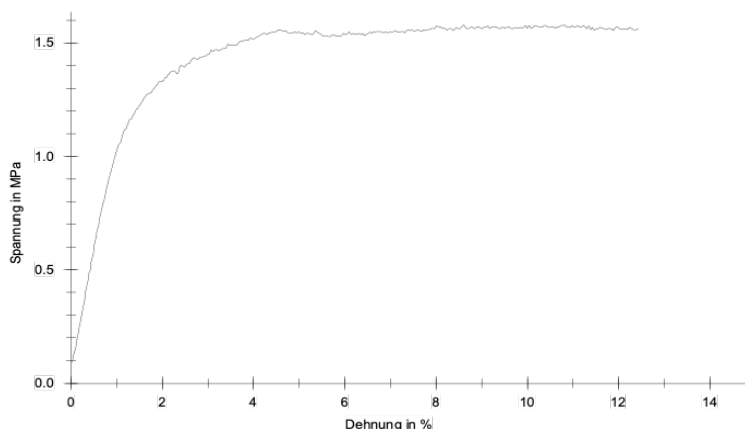


Figure 4. Mechanical strength of the nanofibers CS/PLA/PEG loaded with 12% capsaicin (stress, MPa – strain, %)

Wettability of the nanofibers loaded with capsaicin was investigated by the contact angle method. The nanofibers were found to be hydrophilic with the contact angle of $73.7 \pm 1.5^\circ$ (Figure 5).

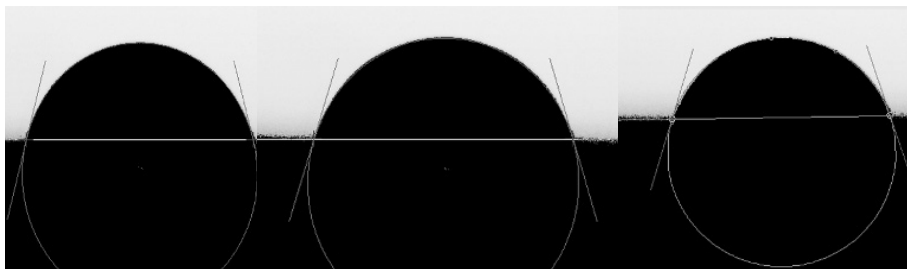


Figure 5. The measured contact angle images of the nanofibers CS/PLA/PEG loaded with 12% capsaicin

3.2. Antibacterial effect

The results of evaluating the antibacterial activity of the nanofibers loaded with 12% capsaicin were shown in Table 1. The nanofibers exhibited antibacterial effect against three strains *Escherichia coli* ATCC 25922 (MIC value of $100 \mu\text{g/mL}$),

Staphylococcus aureus subsp. *aureus* ATCC 25923 and *Aspergillus niger* ATCC 6275 (MIC value of 200 µg/mL), *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* ATCC 6633 (MIC value of 400 µg/mL). However, the nanofibers did not show antibacterial activity against the other strains at test concentrations.

Table 1. Antimicrobial effects of the nanofibers CS/PLA/PEG loaded with 12% capsaicin compared to free capsaicin

No.	Microorganism	MIC value of the nanofibers loaded with 12% capsaicin (µg/mL)	MIC value of Capsaicin (µg/mL)
1	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	100	200
2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	-	-
3	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i> ATCC 6633	400	200
4	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> ATCC 25923	200	400
5	<i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275	200	200
6	<i>Fusarium oxysporum</i> ATCC 7601	-	-
7	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	-	-
8	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> VTCC-Y-62	-	-

4. DISCUSSION

Capsaicin is a valuable compound extracted from chili peppers with important pharmacological application in controlling pain and inflammation. Capsaicin was also reported for its antioxidant, anti-obesity, anti-cancer and antibacterial effects. However, due to its taste, odor and pungency, poor

solubility in water, sensitivity to light, temperature, capsaicin's application has some limitations [23]. The encapsulation of capsaicin has attracted more attention from many researchers. Several nanoscale systems carrying capsaicin have been reported such as Capsaicin-incorporated zein electrospun nanofibers [23], honey/Chitosan Nanofibers Loaded with Capsaicin [24], capsaicin-loaded chitosan nanocapsules [25], etc. In our current study, for the first time, a polymer matrix system CS, PLA, PEG carrying capsaicin was fabricated. The CS component has anti-inflammatory, antibacterial activity, and is a polymer commonly used as a drug carrier [26]. PLA is a biodegradable and biocompatible polymer with high mechanical strength, making it easy to fabricate nanofibers by electrospinning method [8]. PEG is a hydrophilic polymer and the presence of PEG may help to enhance drug release *in vivo* [12].

The nanofibers made of polymers CS, PLA, and PEG loaded with 12% of capsaicin (w/w) were produce by electrospinning method. The selected content of capsaicin in the nanofibers was the highest content at which the electrospun nanofibers formation process went smoothly. At the content of capsaicin more than 12%, the produced nanofibers had beads and the fiber formation process was interrupted because the injector of electrospinning machine was clogged.

The nanofibers have been evaluated for properties including morphological, chemical, mechanical, wettability and antibacterial properties. The surface of the nanofibers CS/PLA/PEG loaded with 12% capsaicin was smooth, uniform, without any beads with the average fiber diameter of 269 ± 54 nm, and about 85% of fibers population had a diameter between 200 – 350 nm. The FT-IR spectrum of the nanofibers revealed three major peaks at 1750 (C=O) and 1181, 1082 cm^{-1} (C-O). This suggested the interaction between the components capsaicin,

CS, PEG, and PLA in the nanofibers, which caused certain shifts in the absorption peaks of the functional groups. Mechanical analysis of the nanofibers exhibited a tensile strength of 2.11 ± 0.64 MPa, an elongation at break of $13.22 \pm 1.65\%$, and a Young's modulus of 95.49 ± 4.94 MPa. The low tensile strength of the fiber membrane may explain the reason chitosan is a polymer with low mechanical strength. Wettability is a fundamental property that significantly impacts drug release mechanisms, influencing dissolution rates, release kinetics, formulation design, and overall therapeutic efficacy. Understanding and controlling wettability is essential for the development of effective pharmaceutical products [27]. The nanofibers were found to be hydrophilic with the contact angle of $73.7 \pm 1.5^\circ$. The presence of PEG in the nanofibers is considered to be responsible for the hydrophilicity of nanofibers CS/PLA/PEG loaded capsaicin. The nanofibers exhibited antibacterial activity against four types of micro-organisms: *Escherichia coli* ATCC 25922 (MIC value of $100 \mu\text{g/mL}$), *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC 25923 and *Aspergillus niger* ATCC 6275 (MIC value of $200 \mu\text{g/mL}$), *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* ATCC 6633 (MIC value of $400 \mu\text{g/mL}$). The results obtained in Table 1 show that nanofibers exhibited better antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* than free capsaicin. Perhaps CS, an antibacterial polymer also contributed to the antibacterial effect of the nanofibers CS/PLA/PEG loaded capsaicin. The antibacterial effect of the nanofibers and free capsaicin against strain *Aspergillus niger* was similar. However, the nanofibers revealed weaker activity against strain *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* than free capsaicin, probably due to the low capsaicin content in the nanofibers leading to a decrease in this activity. Neither the nanofibers nor capsaicin exhibited antibacterial activity against the remaining strains at the test concentrations.

These are the initial research results for the nanofibers CS/PLA/PEG loaded with 12% capsaicin. Further in-depth studies on other activities *in vitro* and *in vivo* need to be continued to provide scientific data for the application of the nanofibers CS/PLA/PEG loaded capsaicin in biomedical field in the future.

5. CONCLUSIONS

In the current paper, we fabricated the nanofibers loaded with 12% of capsaicin (w/w) from biodegradable, biocompatible, non-toxic, and environmentally friendly polymers including CS, PEG, PLA, and a natural bioactive compound capsaicin by electrospinning method. The nanofibers were investigated for their morphological characteristics, chemical, mechanical, wettability and antibacterial properties. The produced nanofibers were uniform, smoothly with the average fiber diameter of about 269 ± 54 nm. The nanofibers CS/PLA/PEG loaded with 12% capsaicin revealed antibacterial property against four strains *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* subsp. *Aureus*, *Aspergillus niger*, and *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* with MIC value from 100 – 400 $\mu\text{g/mL}$. However, the nanofibers did not show antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*, *Fusarium oxysporum*, *Candida albicans*, and *Saccharomyces cerevisiae*.

Funding: This work was performed under the financial support of Vietnam-Czech Republic joint research project (Grant No. NĐT/CZ/23/07).

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Sahibzada, M.U.K.; Sadiq, A.; Faidah, H.S.; et al. Berberine nanoparticles with enhanced *in vitro* bioavailability: characterization and antimicrobial activity. *Drug Des Devel Ther* 2018, 303-312.

2. Xue, J.; Wu, T.; Dai, Y.; et al. Electrospinning and Electrospun Nanofibers: Methods, Materials, and Applications. *J Am Chem Soc* 2019, 119(8), 5298-5415.
3. Thenmozhi, S.; Dharmaraj, N.; Kadirvelu, K.; et al. Electrospun nanofibers: New generation materials for advanced applications. *Mater Sci Eng B* 2017, 217, 36-48.
4. Koirala, P.; Bhandari, Y.; Khadka, A.; et al. Nanochitosan from crustacean and mollusk byproduct: Extraction, characterization, and applications in the food industry. *Int J Biol Macromol* 2024, 1, 262.
5. Ivan, F. Chitin and Chitosan - Special Class of Dietary Fiber. In *CRC Handbook of Dietary Fiber in Human Nutrition*, 3rd ed.; Spiller, G.A. CRC Press: Boca Raton, USA, 2001; Volume 2, pp. 45-47.
6. Kean, T.J.; Thanou, M. Toxicological Properties of Chitosan and Derivatives for Biopharmaceutical Applications. In *Chitosan-Based Systems for Biopharmaceuticals: Delivery, Targeting and Polymer Therapeutics*, 1st ed.; Sarmento, B., Neves, J.-d.; John Wiley and sons: Chichester, England, 2012; Volume 23, pp. 451-461.
7. Zmejkoski, D.Z.; Marković, Z.M.; Budimir, M.D.; et al. Photoactive and antioxidant nanochitosan dots/biocellulose hydrogels for wound healing treatment. *Mater Sci Eng C* 2021, 122, 111925-111935.
8. Ikono, R.; Vibriani, A.; Wibowo, I.; et al. Nanochitosan antimicrobial activity against *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* dual-species biofilms. *BMC Res Notes* 2019, 12(1), 383-389.
9. Hu, X.; Liu, S.; Zhou, G.; et al. Electrospinning of polymeric nanofibers for drug delivery applications. *J Control Release* 2014, 185, 12-21.

10. Hardiansyah, A.; Tanadi, H.; Yang, M.-C.; et al. Electrospinning and antibacterial activity of chitosan-blended poly(lactic acid) nanofibers. *J Polym Res* 2015, 22(4), 1-10.
11. Xu, X.; Zhou, G.; Li, X.; et al. Solution blowing of chitosan/PLA/PEG hydrogel nanofibers for wound dressing. *Fibers Polym* 2016, 17(2), 205–211.
12. Hoang Thi, T.T.; Pilkington, E.H.; Nguyen, D.H.; et al. The Importance of Poly(ethylene glycol) Alternatives for Overcoming PEG Immunogenicity in Drug Delivery and Bioconjugation. *J Polym* 2020, 12(2), 298-318.
13. Trang, N.T.T.; Chinh, N.T.; Giang, N.V.; et al. Hydrolysis of green nanocomposites of poly(lactic acid) (PLA), chitosan (CS) and polyethylene glycol (PEG) in acid solution. *Green Process Synth* 2016, 5(5), 443-449.
14. Barbero, G.F.; Palma, M.; Barroso, C.G. Pressurized Liquid Extraction of Capsaicinoids from Peppers. *J Agric Food Chem* 2006, 54(9), 3231–3236.
15. Bennett, D.J.; Kirby, G.W. Constitution and biosynthesis of capsaicin. *J Chem Soc C* 1968, 442-446.
16. Zhang, W.; Zhang, Y.; Fan, J.; et al. Pharmacological activity of capsaicin: Mechanisms and controversies (Review). *Mol Med Rep* 2024, 29(3), 38-45.
17. Periferakis, A.T.; Periferakis, A.; Periferakis, K.; et al. Antimicrobial Properties of Capsaicin: Available Data and Future Research Perspectives. *Nutrients* 2023, 15(19), 4097-4123.
18. Menezes, R.P.; Bessa, M.A.S.; Siqueira, C.P.; et al. Antimicrobial, Antivirulence, and Antiparasitic Potential of Capsicum chinense Jacq. Extracts and Their Isolated Compound Capsaicin. *J Antibiot* 2022, 11(9), 1154-1175.

19. Barnthip, N.; Teeka, J.; Kantha, P.; et al. Fabrication and characterization of polycaprolactone/cellulose acetate blended nanofiber mats containing sericin and fibroin for biomedical application. *Sci Rep* 2022, 12(1), 22370.
20. Langwald, S.V.; Ehrmann, A.; Sabantina, L. Measuring physical properties of electrospun nanofiber mats for different biomedical applications. *Membranes* 2023, 13(5), 488.
21. Vlietinck, A.J. Screening methods for detection and evaluation of biological activities of plant preparations. In *Bioassay methods in natural product research and drug development*. Dordrecht: Springer, Netherlands, 1999, pp. 37-52.
22. McKane, L.; Kandel, J. Bacterial Growth and Laboratory Cultivation. In: *Microbiology Essentials and Applications*. New York: McGraw-Hill, 1996, pp. 97-125.
23. Rezazadeh, A.; Kia, E.M.; Hamishehkar, H.; Jahani, B.K.G.; Ghasempour, Z. Capsaicin-incorporated zein electrospun nanofibers: Characterization and release behavior. *Food Biosci* 2022, 49, 101843.
24. Al-Musawi, S.; Albukhaty, S.; Al-Karagoly, H.; et al. Antibacterial activity of honey/chitosan nanofibers loaded with capsaicin and gold nanoparticles for wound dressing. *Molecules* 2020, 25(20), 4770.
25. Kolonko, A.K.; Efig, J.; González-Espinosa, Y.; et al. Capsaicin-loaded chitosan nanocapsules for wtCFTR-mRNA delivery to a cystic fibrosis cell line. *Biomedicines* 2020, 8(9), 364.
26. Kim, S. Competitive biological activities of chitosan and its derivatives: Antimicrobial, antioxidant, anticancer, and anti-inflammatory activities. *Int J Polym Sci* 2018, 2018(1), 1708172.

27. Singh, D.; Dilip Saoji, S. The Role of Surface Energy and Wettability in Polymer-Based Drug Delivery Systems: Enhancing Bioadhesion and Drug Release Efficiency. *J Macromol Sci , Part B* 2024, 1-8.