

# Phát triển công thức và đánh giá miếng dán vết chữa keo ong điều chế bằng phương pháp Electrospinning

Nguyễn Ngọc Sao Mai<sup>\*</sup>, Đỗ Kim Tráng, Phan Thúy Thanh và Vũ Nguyệt Ánh  
Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

## TÓM TẮT

**Đặt vấn đề:** Keo ong là hỗn hợp của nhựa cây và các chất tiết từ tuyến nước bọt của loài ong, được sử dụng để hàn kín tổ giúp bảo vệ tổ ong khỏi các tác nhân gây bệnh, giàu polyphenol và flavonoid. Keo ong có tính kháng khuẩn, kháng viêm và chống oxy hóa giúp thúc đẩy quá trình lành vết thương. Vi sợi textile chứa keo ong được điều chế bằng phương pháp electrospinning giúp thúc đẩy khả năng làm lành vết thương trên da. **Phương pháp:** Keo ong được đánh giá khả năng chống oxy hóa, kháng viêm in vitro, lượng phenolic và flavonoid. Miếng vi sợi chứa keo ong sau khi tạo thành bằng phương pháp electrospinning, được đánh giá hình thái và kích thước sợi, hàm lượng polyphenol tổng và flavonoid, và khả năng giải phóng các chất qua màng bán thấm. **Kết quả:** Keo ong chứa hàm lượng phenolic tổng 63.80 mg/g và flavonoid 36.54 mg/g, hoạt tính chống oxy hóa  $IC_{50}$  0.1829 mg/mL và tính kháng viêm  $IC_{50}$  ở nồng độ 203.31  $\mu$ g/mL. Các miếng textile được tạo từ PVA/CS theo tỷ lệ 70/30, chứa 5% keo ong, chứa hàm lượng phenolic tổng và flavonoid lần lượt là 0.9233 mgGAE/g và 0.5254 mgQE/g. Sau 24 giờ, 37.76% phenolic tổng và 89.48% flavonoid được giải phóng qua màng bán thấm.

**Từ khóa:** keo ong, PVA/Chitosan, electrospinning, textile

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Keo ong là một vật liệu tự nhiên từ nhựa và chất nhầy được thu thập từ các bộ phận khác nhau của cây chẳng hạn như lá, nụ hoa và vỏ cây, sau đó trộn chúng bằng sáp ong và một số enzym của ong [1]. Keo ong có thể đẩy nhanh quá trình lành vết thương trên da bằng cách tăng cường kích hoạt và tăng sinh tế bào da, giảm viêm và loại bỏ các gốc tự do tại vị trí vết thương [2].

Việc chữa lành vết thương là phản ứng tự nhiên của cơ thể nhằm khôi phục cấu trúc và chức năng của da sau khi bị tổn thương. Quá trình này gồm các bước phức tạp như cầm máu, kháng viêm và tái tạo mô. Thời gian lành vết thương phụ thuộc vào nhiều yếu tố như vị trí, kích thước vết thương, tốc độ tái tạo của các tế bào bị tổn thương và tình trạng sức khỏe của bệnh nhân [3]. Mặc dù cơ thể có một hệ thống tự lành tự nhiên không cần can thiệp y tế nhưng đối các vết thương lớn hoặc có nguy cơ nhiễm trùng cao cần sự can thiệp bên ngoài để thúc đẩy quá trình hồi phục nhanh chóng và đảm bảo tính thẩm mỹ [4].

Polyvinyl alcohol (PVA) là một polymer polycationic với mật độ điện tích dương cao, nó có thể bám vào cả mô cứng và mô mềm, chẳng hạn như mô niêm mạc và biểu mô, thông qua sự hydrat hóa, liên kết hydro và tương tác ion [5]. Chitosan là polymer

polysaccharid có tính tương thích sinh học, tính thấm oxy, tính cầm máu và kháng khuẩn, có lợi cho việc điều trị vết thương [6]. Dạng vải dệt (textile) điều chế bằng phương pháp electrospinning từ hỗn hợp PVA và Chitosan được nghiên cứu nhằm làm miếng dán giúp vết thương mau lành hoặc làm chất mang giúp vận chuyển thuốc qua da [7].

Các nghiên cứu gần đây phát triển dạng miếng dán (dressing) với sợi nano được tải keo ong điều chế bằng phương pháp electrospinning nhằm thúc đẩy quá trình hàn gắn các vết thương hở [8]. Dạng vải dệt có thành phần keo ong hứa hẹn là một giải pháp với về ứng dụng vật liệu tự nhiên tạo thành miếng dán giúp phục hồi và định hình vết thương một cách đơn giản không cần can thiệp khâu chỉ. Cho đến nay do chưa tìm thấy tài liệu trong nước về đề tài này nên chúng tôi thấy cần tiến hành “Phát triển công thức và đánh giá miếng dán vết chữa keo ong điều chế bằng phương pháp electrospinning” với các mục tiêu tạo miếng dán sợi nano có chứa keo ong và đánh giá các đặc tính của miếng dán dệt này.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Bột keo ong 3336 do Công ty TracyBee cung cấp,

Tác giả liên hệ: Nguyễn Ngọc Sao Mai

Email: [nnsmai@ntt.edu.vn](mailto:nnsmai@ntt.edu.vn)

thuốc thử Folin-Ciocalteu (Merck), natri cacbonate (Trung Quốc), ethanol (Trung Quốc), aluminium chloride (Trung Quốc), DPPH (Trung Quốc), PVA ( $M_w = 86,000$ , Fisher Scientific, Mỹ), chitosan (Trung Quốc), màng bán thấm (MWCO 14,000 Da, Biosharp, Trung Quốc).

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Xác định tính chất lý hóa của bột keo ong 3336

#### 2.2.1.1. Định lượng polyphenol [9]

**Mẫu chuẩn:** Pha dung dịch acid gallic chuẩn gốc với ethanol 70% có nồng độ 100  $\mu\text{g/mL}$ ; pha các dung dịch chuẩn acid gallic có nồng độ 1 - 35  $\mu\text{g/mL}$ . **Mẫu thử:** Bột keo ong được pha trong ethanol 70% ở nồng độ 1 mg/mL. Hút 1 mL dung dịch chuẩn acid gallic thêm 1 mL dung dịch Folin-Ciocalteu 10% và 1 mL dung dịch natri cacbonat 5%, lắc đều. Ủ trong tối 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Lọc qua màng lọc 0.45  $\mu\text{m}$ . Xác định độ hấp thụ bằng máy quang phổ UV (Shimadzu 1900i, Nhật Bản) ở bước sóng 760 nm. Mẫu trắng được tiến hành tương tự với 1 mL ethanol 70%.

Lượng phenolic tổng được tính theo công thức:

$$\text{TPC} = \frac{C \cdot K \cdot V}{m}$$

Trong đó:

TPC: lượng polyphenol (mg GAE/g keo ong)

C: Giá trị x từ đường chuẩn với acid gallic (mg/mL)

V: Thể tích dung dịch pha loãng (mL)

K: Hệ số pha loãng

m: Khối lượng keo ong có trong thể tích V (mg)

#### 2.2.1.2. Định lượng flavonoid [10]

**Mẫu chuẩn:** Pha dung dịch quercetin chuẩn gốc có nồng độ 100  $\mu\text{g/mL}$  với 70% ethanol; pha dung dịch chuẩn quercetin có nồng độ 1-35  $\mu\text{g/mL}$ . **Mẫu thử:** Bột keo ong được pha trong ethanol 70% ở nồng độ 1 mg/mL. Hút 1 mL dung dịch, thêm 1 mL dung dịch  $\text{AlCl}_3$  2%, lắc đều và để yên 1 giờ. Lọc qua màng lọc 0.45  $\mu\text{m}$ . Xác định độ hấp thụ bằng máy quang phổ UV (Shimadzu 1900i, Nhật Bản) ở bước sóng 420 nm. Mẫu trắng được tiến hành tương tự với 1 mL ethanol 70%.

Lượng flavonoid được tính theo công thức:

$$\text{TFC} = \frac{C \cdot K \cdot V}{m}$$

Trong đó:

TFC: lượng flavonoid (mgQE/g keo ong)

C: Giá trị x từ đường chuẩn với quercetin (mg/mL)

V: Thể tích dung dịch được pha loãng (mL)

K: Hệ số pha loãng

m: Khối lượng keo ong có trong thể tích V (mg)

#### 2.2.1.3. Khảo sát chống oxy hóa [11]

Các mẫu pha loãng được trộn với thuốc thử DPPH, ủ ở nhiệt độ phòng trong tối 30 phút. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 517 nm bằng máy quang phổ UV (Shimadzu 1900i, Nhật Bản). Nồng độ chiết xuất được vẽ biểu đồ chống lại sự ức chế giảm DPPH tương ứng và  $\text{IC}_{50}$  được ước tính bằng phương pháp hồi quy phi tuyến tính sử dụng dữ liệu từ ba thí nghiệm độc lập. Hoạt tính chống oxy hóa của mẫu thử được đánh giá thông qua khả năng khử gốc tự do DPPH theo công thức:

$$\% \text{RSA} = \frac{\text{Abs chứng} - \text{Abs mẫu}}{\text{Abs chứng}} \times 100$$

Trong đó:

%RSA: Hoạt động dẹp gốc tự do

Abs chứng: Mật độ quang của mẫu chứng âm (DPPH + MeOH)

Abs mẫu: Mật độ quang của mẫu thử (dung dịch mẫu DPPH<sup>+</sup> ở các nồng độ)

#### 2.2.1.4. Khảo sát hoạt tính kháng viêm [12]

Trong điều kiện tương tự tại ổ viêm trong cơ thể người (37°C, pH 5.5) các hợp chất có trong mẫu thử sẽ gắn kết với BSA để bảo vệ chúng trước tác nhân biến tính. Khi gia tăng nhiệt độ đến 67°C, các protein bị biến tính làm đục dung dịch thử nghiệm. Sau khi được làm lạnh, tiến hành đo độ đục của hỗn hợp thử nghiệm ở bước sóng 660 nm. Sử dụng diclofenac natri làm mẫu chứng dương và tiến hành như mẫu thử. Thử nghiệm được tiến hành 3 lần. Khả năng ức chế biến tính BSA được đánh giá bằng công thức sau:

$$\% \text{RSA} = \frac{\text{OD chứng} - \text{OD thử}}{\text{OD chứng}} \times 100$$

Trong đó:

OD chứng: Mật độ quang của mẫu chứng âm (dung dịch đệm + BSA)

OD thử: Mật độ quang của mẫu thử (BSA + dung dịch mẫu thử ở các nồng độ)

### 2.2.2. Phương pháp chế tạo textile bằng phương pháp Electrospinning

Dung dịch PVA (1 g trong 11.5 mL nước Milli-Q, khuấy ở 80°C) và dung dịch chitosan (1 g trong 30.8 mL axit axetic 1%, khuấy 2 giờ) được phối trộn các dung dịch theo các tỷ lệ thể tích PVA/Chitosan: 90/10, 70/30, 50/50, 30/70 và 10/90. Các hỗn hợp được khuấy trong 2 giờ trước khi kéo sợi điện.

Thông qua quá trình tham khảo các tài liệu nghiên cứu và khảo sát tỷ lệ của PVA/Chitosan, độ nhớt của dung dịch ảnh hưởng đến đường kính sợi và

cấu trúc hình thái [18]. Do hỗn hợp dịch có độ nhớt cao, quá trình electrospinning sử dụng kim phun 0.35 mm nhằm tránh hiện tượng tắc kim. Tốc độ bơm 0.5 mL/giờ, tấm thu di chuyển 0.1 m/phút trên quãng đường 0.2 m/chu kỳ giúp cho lượng dịch phun đều trên bề mặt tấm thu mà không bị dính thành mảng lớn. Tiến hành khảo sát điện áp từ 15 - 40 kV và khoảng cách từ đầu kim đến tấm thu 10, 15 và 20 cm.

Cho 5% keo ong (kl/tt) vào hỗn hợp dung dịch PVA/Chitosan, khuấy cho đến khi hỗn hợp đồng nhất. Thực hiện quá trình electrospinning theo điều kiện đã khảo sát để thu được textile keo ong. Mẫu trắng làm tương tự nhưng không có keo ong.

**2.2.3. Đặc tính của textile keo ong**

**2.2.3.1. FTIR (Quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier)**

Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR) được thu thập bằng phương pháp phản xạ toàn phần suy giảm (ATR) trên thiết bị Shimadzu IRAffinity-1 (Nhật Bản). Mẫu màng được đặt trực tiếp lên tinh thể ATR để đo phổ trong khoảng số sóng 4000 - 400 cm<sup>-1</sup>, với 60 lần quét và độ phân giải 4 cm<sup>-1</sup>.

**2.2.3.2. Kính hiển vi điện tử quét (SEM) [13]**

Phân bố đường kính, đường kính trung bình và độ xốp bề mặt của các tấm nanofiber điện xung được xác định bằng cách phân tích hình ảnh vi mô tạo ra bằng SEM. Hình thái và độ đồng đều của ma trận điện xung được khảo sát với các phiếu kính gắn vào bề mặt bộ thu. Các phim được sản xuất và khảo sát trên kính hiển vi điện tử quét Tescan Vega3 (SEM). Để làm cho các mẫu có tính dẫn điện, chúng được bọc bằng băng carbon hai mặt và phủ vàng với độ dày 30.0 nm. Hình ảnh được thu nhận bằng cách sử dụng điện áp gia tốc electron trong khoảng từ 12.0 đến 20.0 kV. Đường kính trung bình của 100 phép đo được tính toán bằng chương trình ImageJ.

**2.2.3.3. Xác định hàm lượng phenolic tổng và flavonoid trong textile keo ong**

Miếng vải dệt PVA/chitosan chứa keo ong (10 x 10 cm) được cho vào ethanol 70%, khuấy 24 giờ. Lượng phenolic tổng và flavonoid có trong miếng textile keo ong được xác định lần lượt theo mục 2.2.1.1. và 2.2.1.2.

**2.2.3.4. Nghiên cứu phóng thích thuốc in vitro [14]**

Màng bán thấm được sử dụng như một mô hình A mô phỏng màng sinh học trong nghiên cứu độ thấm qua da, nhằm đánh giá khả năng thẩm thấu của vật liệu. Màng có khả năng cho phép các phân tử có khối lượng phân tử nhỏ hơn 14,000 Da khuếch tán qua, trong khi ngăn cản các phân tử lớn hơn, tương tự như đặc tính chọn lọc của lớp biểu bì da. Trong thử nghiệm độ thấm, màng được lắp đặt vào thiết bị chuyên dụng để tạo ra hai pha: Pha nhận và pha cho. Việc sử dụng màng thấm tách giúp mô phỏng quá trình hấp thu qua da trong điều kiện in vitro, từ đó đánh giá tốc độ và mức độ giải phóng hoạt chất của vật liệu thử nghiệm.

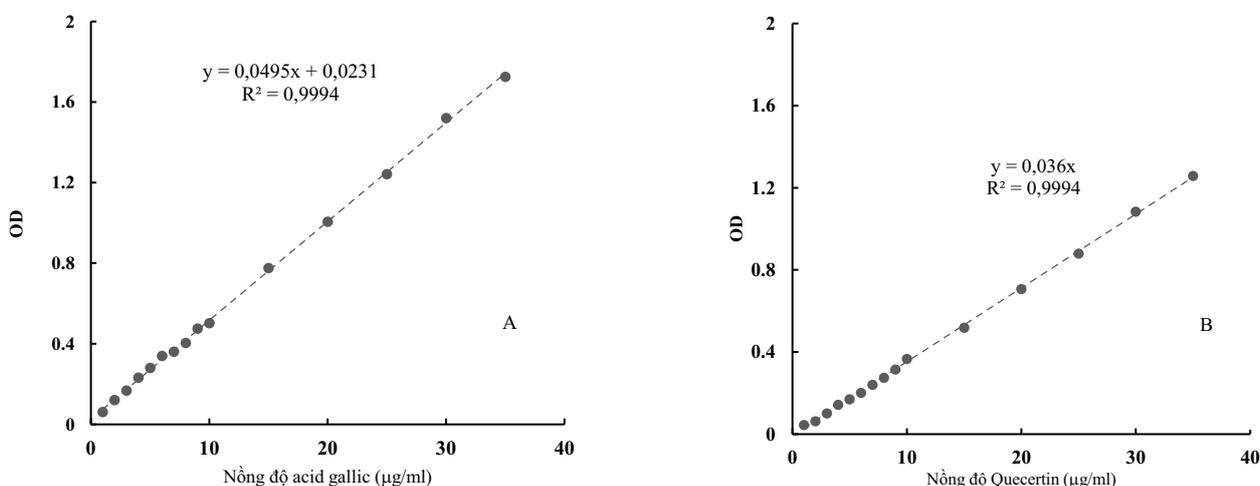
Lượng phenolic tổng và flavonoid phóng thích từ miếng textile keo ong qua màng bán thấm được khảo sát. Môi trường thử nghiệm 500 mL dung dịch đệm phosphate pH 7.4 ở nhiệt độ 32 ± 0.5°C, tốc độ khuấy 50 vòng/phút. 2 mL dịch được hút ở 15 phút, 30 phút, 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 6 giờ, 12 giờ và 24 giờ. 2 mL dịch trắng được bổ sung ngay sau khi hút. Lượng phenolic tổng và flavonoid phóng thích lần lượt được xác định theo mục 2.2.1.1. và 2.2.1.2.

**3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN**

**3.1. Xác định tính chất lý hóa của bột keo ong 3336**

**3.1.1. Định lượng polyphenol và flavonoid của keo ong**

Phương trình tuyến tính và kết quả phân tích ANOVA của độ hấp thụ acid gallic và quercetin theo nồng độ tương ứng được thể hiện trong Hình 1 và Bảng 1.



**Hình 1.** Phương trình tuyến tính của (A) acid gallic, (B) quercetin

**Bảng 1.** Phương trình tuyến tính của acid gallic và quercetin

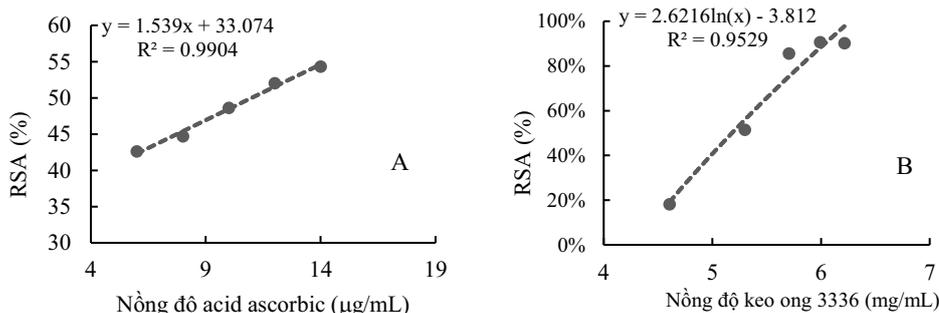
a	Acid gallic (GAE)	Quercetin (QE)
Đường chuẩn $y = ax + b$	$y = 0.0495x + 0.0231$	$y = 0.03595x - 0.00689$
Hệ số tương quan $R^2$	0.9994	0.9994
Khoảng nồng độ ( $\mu\text{g/mL}$ )	1-35	1-35
Phân tích ANOVA		
F	15279,11	21316.99
Significance F	5.27122E-20	1.612E-22
p-value của b	0.0010 < 0.05: Hệ số b có ý nghĩa thống kê	0.08688 > 0.05: Hệ số b không có ý nghĩa thống kê
<b>Kết luận</b>	<b><math>y = 0.0495x + 0.0231</math></b>	<b><math>y = 0.03595x</math></b>

Mẫu keo ong 3336 có hàm lượng polyphenol và flavonoid ổn định, với lượng polyphenol  $63.80 \pm 1.30$  mgGAE/g và lượng flavonoid  $36.54 \pm 0.34$  mgQE/g. Mặc dù không có hàm lượng cao nhất so với các mẫu khác, mẫu 3336 vẫn đảm bảo cung cấp một lượng đáng kể hai hợp chất quan trọng này, giúp duy trì các đặc tính sinh học của keo ong. So với các mẫu khác như G12.EE và G15.EE, có hàm

lượng polyphenol và flavonoid vượt trội, mẫu 3336 vẫn thể hiện tỷ lệ cân bằng giữa hai hợp chất và tiềm năng ứng dụng ổn định trong các nghiên cứu và sản phẩm liên quan [15].

### 3.1.2. Khảo sát chống oxy hóa của keo ong

Kết quả khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của acid ascorbic và keo ong 3336 được trình bày trong Hình 2.



**Hình 2.** Khả năng chống oxy hóa của (A) acid ascorbic và (B) keo ong 3336

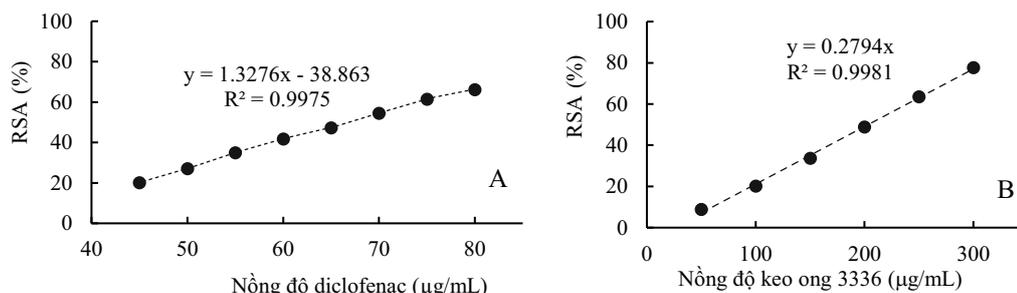
Khả năng chống oxy hóa của acid ascorbic tương quan tuyến tính với nồng độ từ 6 - 14 g/mL, với phương trình hồi quy  $y = 1.539x + 33.074$ . Kết quả phân tích ANOVA cho thấy  $p < 0.05$ , giá trị 33.074 trong phương trình có ý nghĩa thống kê. Mặt khác, khả năng chống oxy hóa của keo ong 3336 tương quan với nồng độ từ 0.1 - 0.5 mg/mL, với phương trình hồi quy  $y = 2.6216\ln(x) - 3.812$ . Kết quả phân tích ANOVA cho thấy, giá trị  $p > 0.05$ , giá trị 3.812 trong phương trình không có ý nghĩa thống kê nên được loại. Phương trình biểu diễn sự thay đổi khả năng chống oxy hóa của acid ascorbic theo nồng độ trở thành  $y = 2.6226\ln(x)$ .

Từ các phương trình trên, kết quả  $IC_{50}$  của mẫu keo ong 3336 đạt 0.1829 mg/mL thấp hơn acid ascorbic 0.01 mg/mL.  $IC_{50}$  của keo ong 3336 cao hơn các loại keo ong khác như keo ong Haryana ( $IC_{50} = 0.339$  mg/mL), keo ong Himachal ( $IC_{50} = 0.478$  mg/mL), keo ong Uttaranchal ( $IC_{50} = 0.371$  mg/mL), keo ong Delhi ( $IC_{50} = 0.516$  mg/mL) và keo ong Kerala ( $IC_{50} = 0.350$  mg/mL)[15].

### 3.1.3. Khảo sát hoạt tính kháng viêm của keo ong

Kết quả khảo sát hoạt tính kháng viêm của diclofenac và keo ong 3336 được trình bày trong hình 3. Khả năng kháng viêm tương quan tuyến tính với nồng độ diclofenac từ 45 - 80 g/mL, với phương trình hồi quy  $y = 1.3276x - 38.863$ . Kết quả phân tích ANOVA cho thấy  $p < 0.05$ , giá trị 38.863 trong phương trình có ý nghĩa thống kê. Mặt khác, khả năng kháng viêm tương quan với nồng độ keo ong 3336 ở nồng độ từ 50 - 300 mg/mL, với phương trình hồi quy  $y = 0.2794x - 6.8038$ . Kết quả phân tích ANOVA cho thấy, giá trị  $p > 0.05$ , giá trị 6.8038 trong phương trình không có ý nghĩa thống kê nên được loại. Phương trình biểu diễn sự thay đổi khả năng chống oxy hóa của acid ascorbic theo nồng độ trở thành  $y = 0.2794x$ .

Mẫu keo ong 3336 đạt hoạt tính kháng viêm ở nồng độ  $IC_{50} = 203.31$   $\mu\text{g/mL}$ , thấp hơn 3 lần so với diclofenac ( $IC_{50} = 66.94$   $\mu\text{g/mL}$ ).



**Hình 3.** Khả năng kháng viêm của (A) diclofenac và (B) keo ong 3336 3336

**3.2. Điều kiện tạo textile keo ong theo phương pháp electrospinning**

Hỗn hợp dung dịch PVA/Chitosan được chọn theo tỷ lệ 70/30 là tốt nhất cho quá trình electrospinning. Khoảng cách từ đầu vòi phun đến tấm thu ảnh hưởng đến thời gian bay của tia và cường độ dòng điện. Điện áp cao cung cấp sự phân bố điện tích cần thiết trên dung dịch để bắt đầu quá trình kéo sợi điện bằng cách điều chỉnh lực tĩnh điện trên sức căng bề mặt của dung dịch, nhưng sử dụng dòng điện quá cao có thể gây ra lực đẩy giữa các nhóm ion của xương sống polymer, có thể làm nhiễu loạn quá trình hình thành các sợi liên tục [16]. Kết quả cho thấy tỷ lệ 70/30 cho khả năng kéo sợi tối ưu, với điều kiện tốt nhất là 35 kV và 15 cm.

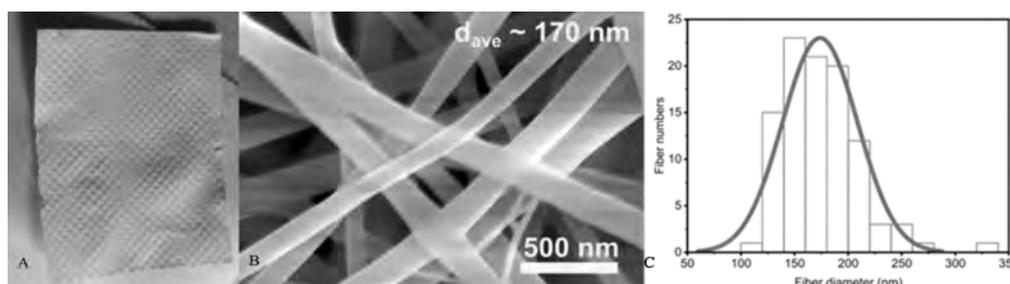
Cho 5% keo ong (tt/tt) vào hỗn hợp dung dịch PVA/Chitosan (70/30, tt/tt) được phun qua kim có đường kính 0.35 mm, tốc độ tiêm 0.5 mL/h, tốc độ di chuyển của bảng thu 0.1 m/phút, tổng chiều dài di chuyển của bảng thu 0.2 m/vòng, điện áp 35 kV.

Khoảng cách từ đầu kim phun đến bảng thu mẫu là 15 cm. Mẫu trắng làm tương tự nhưng không có keo ong.

**3.3. Đặc tính của textile keo ong**

**3.3.1. Hình ảnh phân tích SEM và FTIR**

Hình ảnh của miếng vải dệt PVA/chitosan chứa keo ong điều chế theo phương pháp electrospinning và hình ảnh phân tích SEM của miếng vải dệt này được thể hiện trong Hình 4. Hình 4B cho thấy các sợi tạo thành mạng lưới dày đặc, đồng đều về đường kính và bề mặt mịn, có tích hợp thành công keo ong vào hệ thống polymer. Đường kính trung bình của sợi khoảng 170 nm, với bề mặt tương đối đều, chứng tỏ hiệu quả của quá trình điện ly trong việc tạo ra sợi có kích thước nano ổn định. Biểu đồ phân bố đường kính sợi ở Hình 4C cho thấy sợi chủ yếu có đường kính từ 100 nm đến 250 nm, và phân bố đồng đều, chứng tỏ keo ong không ảnh hưởng lớn đến sự hình thành và đồng nhất của sợi.

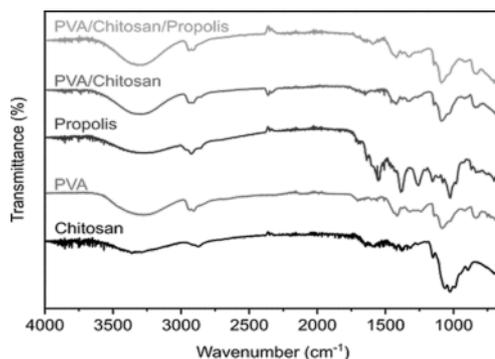


**Hình 4.** (A) Miếng vải dệt PVA/chitosan chứa keo ong điều chế theo phương pháp electrospinning (B) và (C) Hình ảnh SEM và phân bố đường kính của vải dệt PVA/chitosan chứa keo ong

**3.3.2. Phân tích quang phổ FTIR**

Quang phổ FTIR của chitosan, PVA, keo ong, PVA/chitosan và PVA/chitosan/keo ong được trình bày trong Hình 5. Quang phổ của chitosan thể hiện một số đỉnh ở 1650 và 1580 cm<sup>-1</sup> liên quan đến sự dao động kéo dài C-O và uốn cong N-H, tương ứng. Một đỉnh rộng và mạnh mẽ trong khoảng từ 3300 đến 3500 cm<sup>-1</sup> cho thấy sự dao động kéo dài N-H và O-H, trong khi đỉnh hấp thụ của chitosan ở 1050 cm<sup>-1</sup> liên quan đến sự dao động kéo dài C-O [16]. Quang phổ của PVA thể hiện

một đỉnh rộng, trong khoảng từ 3000 đến 3700 cm<sup>-1</sup>, tương ứng với các nhóm O-H, cùng với các đỉnh đặc trưng rõ rệt ở 2900 cm<sup>-1</sup> (kéo dài C-H), 1416 cm<sup>-1</sup> (cắt CH<sub>2</sub>) và 1100 cm<sup>-1</sup> (kéo dài C-O). Quang phổ của keo ong cho thấy các đỉnh rộng trong khoảng từ 3000 đến 3500 cm<sup>-1</sup> do sự kéo dài liên kết hydro O-H của các hợp chất phenol, các đỉnh ở 1630 và 1544 cm<sup>-1</sup> tương ứng với dao động kéo dài C=O của flavonoid và lipid có trong keo ong, các đỉnh ở 1380 và 1260 cm<sup>-1</sup> do dao động kéo dài C-O-H, đỉnh ở 1160 cm<sup>-1</sup> tương ứng.



Hình 5. FTIR của chitosan, PVA, keo ong (propolis), vải dệt PVA/Chitosan và vải dệt PVA/Chitosan/keo ong

**3.3.3. Xác định hàm lượng tổng phenolic và flavonoid trong textile**

Hàm lượng phenolic tổng và flavonoid miếng dán textile thông qua OD lần lượt là 0.9233 mg/g và 0.5254 mg/g.

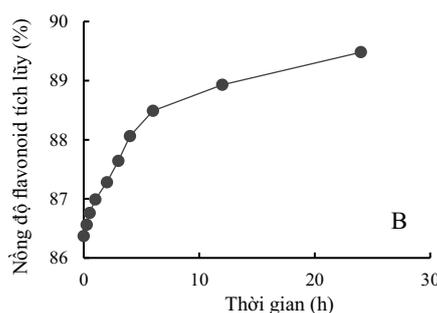
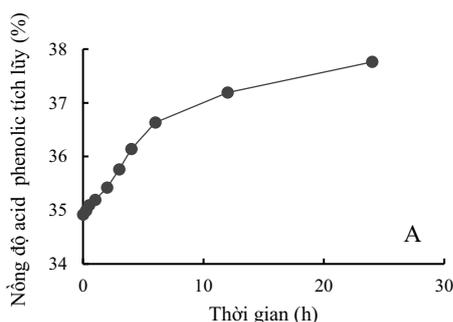
**3.3.4. Nghiên cứu phóng thích thuốc in vitro**

Kết quả phóng thích acid phenolic tổng và flavonoid của textile keo ong được trình bày trong Hình 6.

Sau 24 giờ, 37.76% acid phenolic được phóng thích sau 24 giờ, với 34.92% phóng thích nhanh chóng lúc 0 giờ và sự phóng thích đạt độ ổn định từ 4 giờ. 89.48% flavonoid đã được phóng thích, với 86% phóng thích nhanh chóng ở 0 giờ và đạt độ phóng thích ổn định từ 4 giờ.

Việc flavonoid được phóng thích cao gấp hơn hai lần so với phenolic trong 24 giờ có thể giải thích bởi các tính chất hóa học và độ hòa tan khác nhau của hai hợp chất này. Flavonoid có cấu trúc phân tử

nhỏ và tính phân cực cao, dễ hòa tan trong môi trường nước, đặc biệt là ở pH 7.4, giúp chúng dễ dàng khuếch tán và phóng thích nhanh hơn từ miếng dán keo ong. Ngược lại, polyphenol có cấu trúc phức tạp hơn, ít hòa tan và gắn chặt với các thành phần trong miếng dán, khiến chúng phóng thích chậm hơn dưới cùng điều kiện pH. Thêm vào đó, ở pH 7.4, một số nhóm chức năng của polyphenol có thể không được ion hóa hoàn toàn, làm giảm khả năng tương tác với nước và dẫn đến tốc độ phóng thích thấp hơn. Ngược lại, polyphenol cũng có cấu trúc phức tạp hơn, thường bao gồm nhiều vòng benzene và nhóm hydroxyl, khiến chúng ít hòa tan và có xu hướng gắn chặt hơn với các thành phần trong miếng dán. Điều này làm cho polyphenol phóng thích chậm hơn dưới cùng điều kiện pH. Thêm vào đó, ở pH 7.4, một số nhóm chức năng của polyphenol có thể không được ion hóa hoàn toàn, làm giảm khả năng tương tác với nước và dẫn đến tốc độ phóng thích thấp hơn.



Hình 6. Nồng độ tích lũy (%) của (A) acid phenolic và (B) flavonoid

**3.3.5. Hạn chế tiềm năng của miếng dán textile**

Khi phát triển miếng dán textile chứa keo ong và các polymer sinh học như Chitosan, PVA, cần đặc biệt lưu ý đến các hạn chế tiềm ẩn sau: Độc tính tiềm năng (Toxicity): Các thành phần tự nhiên như keo ong có thể chứa các hợp chất hoạt tính sinh học gây độc nếu không được tinh chế kỹ lưỡng hoặc chuẩn hóa về thành phần. Ngoài ra, các phụ gia hoặc chất xử lý trong quá trình chế tạo miếng dán cũng có thể

gây ảnh hưởng đến tế bào da nếu tích tụ lâu dài[17]. Tương hợp sinh học (Biocompatibility): Chitosan và keo ong nhìn chung có tính tương hợp sinh học cao, nhưng vẫn có khả năng gây phản ứng dị ứng ở một số người, đặc biệt là những người nhạy cảm với hải sản (nguồn gốc chitosan) hoặc các hợp chất phenolic trong keo ong. Sự không tương thích có thể dẫn đến viêm hoặc phản ứng miễn dịch tại chỗ [18]. Tính kích ứng da (Skin Irritation): Keo ong đã

được ghi nhận là có thể gây viêm da tiếp xúc dị ứng ở một tỷ lệ người dùng nhất định. Bên cạnh đó, PVA có thể làm thay đổi độ ẩm và khí hậu vi mô trên bề mặt da, dẫn đến kích ứng nếu sử dụng lâu dài hoặc trong môi trường không thông thoáng [19]. Độ ổn định vật liệu (Material Stability): PVA có xu hướng tinh thể hóa và giảm độ bền trong môi trường ẩm, trong khi chitosan dễ bị phân hủy sinh học. Cả hai yếu tố này có thể ảnh hưởng đến thời gian sử dụng và hiệu quả bảo vệ vết thương [20].

## 4. KẾT LUẬN

### 4.1. Kết luận

Như vậy, mẫu keo ong 3336 có tổng hàm lượng acid phenolic  $63.80 \pm 1.30$  mgGAE/g và lượng flavonoid  $36.54 \pm 0.34$  mgQE/g, khả năng chống oxy hóa  $IC_{50}$  ở mức 0.1829 mg/mL và tính chất chống biến tính protein đạt 50% ở nồng độ 203.31  $\mu$ g/mL. Keo ong có thể ứng dụng kháng khuẩn và chống viêm trong chữa lành vết thương. Miếng vải dệt PVA/chitosan chứa keo ong đã được điều chế thành công bằng phương pháp electrospinning. Miếng vải dệt chứa keo ong được phân tích hình ảnh sợi polymer bằng SEM. Phân tích phổ FTIR chỉ ra sự hiện diện của keo ong trong cấu trúc của sợi và các sợi nhánh tạo ra một cấu trúc rỗng cao, có thể sử dụng trong các ứng dụng chữa lành vết thương. Lượng chất được giải phóng qua màng bán thấm sau 24 giờ, với acid phenolic và flavonoid lần lượt là 37.76% và 89.48%.

Vải dệt PVA/chitosan chứa keo ong được định hướng cho việc kích thích sự hàn gắn vết thương và rút ngắn thời gian lành thương nhờ vào cấu trúc và khả năng kháng khuẩn - kháng viêm của nó.

### 4.2. Đề xuất

Cần nghiên cứu thêm để tăng nồng độ keo lên mức cao nhất có thể, cũng như tốc độ và số lượng vòi phun, để tạo ra một lớp vải dày hơn nhằm thể hiện các hoạt tính mạnh hơn. Đồng thời, tiến hành nghiên cứu *in vivo* nhằm đánh giá tốc độ làm lành vết thương trên chuột nhờ vào việc sử dụng miếng dán vải dệt có chứa keo ong.

### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam, chúng tôi xin chân thành cảm ơn Ban Giám hiệu Trường Đại học Nguyễn Tất Thành và toàn thể các thầy cô giáo đã tạo điều kiện thuận lợi để chúng tôi hoàn thành đề tài nghiên cứu này. Chúng tôi xin cảm ơn ThS. Lê Đăng Mạnh cùng Khu công nghệ cao Nguyễn Tất Thành, PGS.TS. Nguyễn Thị Hiệp, TS. Đoàn Ngọc Hoan, ThS. Lâm Thông cùng Trường Đại học Quốc tế đã hỗ trợ, hướng dẫn và giúp đỡ chúng tôi trong việc áp dụng phương pháp Electrospinning vào nghiên cứu. Một lời cảm ơn chân thành cũng xin được gửi đến Công ty TracyBee đã cung cấp mẫu keo ong phục vụ cho công trình nghiên cứu của chúng tôi. Xin trân trọng cảm ơn!

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] I. Przybyłek and T.M. Karpiński, "Antibacterial Properties of Propolis". *Molecules* 24, 2047, 2019. DOI: 10.3390/molecules24112047
- [2] B. Vassya, "Recent trends and important developments in propolis research", *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Vol. 2, Issue 1, pp.30-32, 2005. DOI: 10.1093/ecam/neh059.
- [3] S.S. Gregory, A.C. Gloria, M. Lyle, and F.D. Robert. "Principles of Wound Healing". In: *Mechanisms of Vascular Disease: A Reference Book for Vascular Specialists* [Internet], Fitridge R, Thompson M, editors. Adelaide (AU): University of Adelaide Press; 2011.
- [4] J. McSwan, J. Gudin. X.J. Song, ..., and G. Pickering. "A Concept for Musculoskeletal Body Pain Management - Scientific Evidence and Mode of Action", *Journal of Pain Research*, Vol. 14. pp.2943-2958, 2011. DOI: 10.2147/JPR.S321037
- [5] A. Gulbake, and S.K. Jain, "Chitosan: A Potential Polymer for Colon-Specific Drug Delivery System",

*Expert Opinion Drug Delivery*, Vol. 9, p.713-729, 2012. DOI: 10.1517/17425247.2012.682148

[6] X. Zhang, Y. Liang, S. Huang, and B. Guo, "Chitosan-based self-healing hydrogel dressing for wound healing". *Adv Colloid Interface Sci*, Oct:332:103267, 2024. DOI: 10.1016/j.cis.2024.103267.

[7] N. Charernsriwilaiwat, T. Rojanarata, T. Ngawhirunpat, and P. Opanasopit, "Electrospun chitosan/polyvinyl alcohol nanofibre mats for wound healing". *International Wound Journal*, 11: 215-222, 2014. DOI: 10.1111/j.1742-481X.2012.01077.x

[8] M. Elisa, "Electrospinning of honey and propolis for wound care", *Biotechnology and Bioengineering*, Vol.12, Issue 5, p.1229-1240, 2023. DOI: 10.1002/bit.28341

[9] V.L. Singleton, R. Orthofer, R.M. Lamuela-Raventós, "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent". *Methods Enzymol*, 229, p.152-178, 1999. DOI: 10.1016/S0076-6879(99)99017-1.

- [10] R. Woisky, and A. Salatino, "Analysis of propolis: Some parameters and procedures for chemical quality control". *Journal of Apicultural Research*, 37, p.99-105, 1998. DOI: 10.1080/00218839.1998.11100961.
- [11] M.S. Blois, "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical". *Nature*. 1958.
- [12] E. Matuszewska, A. Klupczynska, K. Maciołek, Z.J. Kokot, and J. Matysiak, "Multielemental analysis of bee pollen, propolis, and royal jelly collected in West-Central Poland", *Molecules*, 26(9), 2415, 2021. DOI: 10.3390/molecules26092415
- [13] M.S. Morais, D.P.F. Bonfim, M.L. Aguiar, and P.O. Wanderlay. "Electrospun Poly (Vinyl Alcohol) Nanofibrous Mat Loaded with Green Propolis Extract. Chitosan and Nystatin as an Innovative Wound Dressing Material". *Journal of Pharmaceutical Innovation*, 18, p.704-718 (2023). DOI: 10.1007/s12247-022-09681-7
- [14] H.S. Kapare, P.S. Giram, S.S. Raut, H.K. Gaikwad, and A.C. Paiva-Santos, "Formulation Development and Evaluation of Indian Propolis Hydrogel for Wound Healing". *Gels*, 1, 9, 5, 375, 2023. DOI: 10.3390/gels9050375
- [15] C. Araújo, R.D. Oliveira, F. Pinto-Ribeiro, and C. Almeida-Aguiar, "An Insight on the Biomedical Potential of Portuguese Propolis from Gerês". *Foods*, 29, 11, 21, 3431, 2022. DOI: 10.3390/foods11213431
- [16] K. Kalantari, E. Mostafavi, B. Saleh, P. Soltantabar, and T. J. Webster, "Chitosan/PVA hydrogels incorporated with green synthesized cerium oxide nanoparticles for wound healing applications", *European Polymer Journal*. vol.134. p.109853, 2020. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2020.109853
- [17] A. Kujumgiev, I. Tsvetkova, Y. Serkedjieva, V. Bankova, R. Christov, and S. Popov, "Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin". *Journal of Ethnopharmacology*, 64, 3, p.235-240, 1999. DOI: 10.1016/s0378-8741(98)00131-7
- [18] M. Dash, F. Chiellini, R.M. Ottenbrite, and E. Chiellini, "Chitosan-A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications". *Progress in Polymer Science*, 36,8, p.981-1014, 2011. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2011.02.001
- [19] I. Castangia, et al. "Potential of chitosan-based nanomedicines for skin application: current research and future perspectives". *International Journal of Nanomedicine*, 12, 6537-6552, 2017.
- [20] N.A. Peppas, P. Bures, W. Leobandung, and H. Ichikawa, "Hydrogels in pharmaceutical formulations". *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50, 1, p.27-46, 2000. DOI: 10.1016/s0939-6411(00)00090-4

## Formulation development and evaluation of electrospun propolis textile patch

Nguyen Ngoc Sao Mai, Do Kim Trang, Phan Thuy Thanh and Vu Nguyet Anh

### ABSTRACT

*Background: Propolis is a mixture of tree resin and secretions from the salivary glands of bees, used to seal the hive to protect it from pathogens, rich in phenolic acids and flavonoids. Propolis has antibacterial, anti-inflammatory and antioxidant properties that promote wound healing. Propolis-containing textile microfibers prepared by electrospinning method promote wound healing on the skin. Methods: Propolis was evaluated for its in vitro antioxidant and anti-inflammatory properties, total phenolics and flavonoid contents. Propolis-containing microfibers were prepared by electrospinning and evaluated for their fiber morphology and size, total phenolics and flavonoid contents, and their ability to release substances through a semipermeable membrane. Results: Propolis contained 63.80 mg/g total phenolics and 36.54 mg/g flavonoids, with an antioxidant activity  $IC_{50}$  of 0.1829 mg/mL and an anti-inflammatory activity  $IC_{50}$  at a concentration of 203.31  $\mu$ g/mL. Textiles made from PVA/CS in a 70/30 ratio, contained 0.9233 mgGAE/g total phenolics and 0.5254 mgQE/gflavonoids, released 37.76% of total phenolics and 89.48% of flavonoid through the semipermeable membrane after 24 hours.*

**Keywords:** propolis, PVA/Chitosan, electrospinning, textile

Received: 21/3/2025

Revised: 24/4/2025

Accepted for publication: 26/4/2025