

Fabrication of chitosan/polyvinyl alcohol nanofibrous membrane incorporated with *Garcinia mangostana* L. peel extract against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* isolated from canine wounds

Xuan N. T. Nguyen*, Hieu M. Bui, Hau T. H. Tran, Trung M. Nguyen, & Yen T. H. Tran

Department of Infectious Diseases and Veterinary Public Health, Faculty of Animal Science and Veterinary Medicine, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: September 15, 2024

Revised: November 21, 2024

Accepted: November 25, 2024

Keywords

Chitosan

Mangosteen peel extract

Polyvinyl alcohol

Pseudomonas aeruginosa

Staphylococcus aureus

***Corresponding author**

Nguyen Ngoc Thanh Xuan

Email:

xuan.nguyennngocthanh@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

The electrospinning method was used to fabricate a nanofibrous membrane from chitosan/polyvinyl alcohol (CS/PVA). Afterward, *Garcinia mangostana* L. peel extract (MG) at a concentration of 150 mg/mL was added to the CS/PVA membrane by using a coating technique to obtain CS/PVA-MG membrane. The diameter of the nanofibers ranged from 200 to 390 nm. The antibacterial activity of the resulting CS/PVA-MG nanofibrous membrane was evaluated using agar diffusion and semi-solid media. The inhibition zone varied from 16.67 to 18.00 mm on *S. aureus* and 11.00 to 12.67 mm against *P. aeruginosa*. In a semi-solid medium, the CS/PVA-MG nanofibrous membrane completely inhibited the growth of both bacterial strains. The results demonstrate the effective inhibition of *S. aureus* and *P. aeruginosa* by CS/PVA nanofibrous membrane incorporated with 150 mg/mL of *Garcinia mangostana* L. peel extract, suggesting their potential application in the treatment of infected wounds on animals.

Cited as: Nguyen, X. N. T., Bui, H. M., Tran, H. T. H., Nguyen, T. M., & Tran, Y. T. H. (2025). Fabrication of chitosan/polyvinyl alcohol nanofibrous membrane incorporated with *Garcinia mangostana* L. peel extract against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* isolated from canine wounds. *The Journal of Agriculture and Development* 24(5), 21-31.

Nghiên cứu chế tạo màng sợi nano từ chitosan/polyvinyl alcohol kết hợp cao chiết vỏ quả măng cụt (*Garcinia mangostana L*) kháng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* và *Pseudomonas aeruginosa* phân lập trên vết thương của chó

Nguyễn Ngọc Thanh Xuân*, Bùi Minh Hiếu, Trần Thị Hải Hậu, Nguyễn Minh Trung & Trần Thị Hải Yến
Bộ Môn Bệnh Truyền Nhiễm và Thú Y Cộng Đồng, Khoa Chăn nuôi - Thú y,
Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 15/09/2024

Ngày chỉnh sửa: 21/11/2024

Ngày chấp nhận: 25/11/2024

Từ khóa

Cao chiết vỏ măng cụt

Chitosan

Polyvinyl alcohol

Pseudomonas aeruginosa

Staphylococcus aureus

*Tác giả liên hệ

Nguyễn Ngọc Thanh Xuân

Email:

xuan.nguyennngocthanh@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Phương pháp kéo sợi điện trường (electrospinning) được dùng để tạo ra màng sợi nano từ chitosan/polyvinyl alcohol (CS/PVA). Sau đó, cao chiết từ vỏ quả măng cụt (MG) được bổ sung lên màng bằng kỹ thuật phủ với nồng độ 150 mg/mL để thu được màng sợi nano kháng khuẩn (CS/PVA-MG). Đường kính các sợi nano sau khi điều chế dao động từ 200 - 390 nm. Tính kháng khuẩn của màng nano CS/PVA-MG được kiểm tra trên môi trường thạch đĩa và môi trường bán lỏng. Vòng kháng khuẩn của màng trên môi trường thạch đĩa dao động trong khoảng từ 16,67 đến 18,00 mm đối với *S. aureus* và 11,00 đến 12,67 mm cho *P. aeruginosa*. Trên môi trường bán lỏng màng nano CS/PVA-MG ức chế hoàn toàn sinh trưởng phát triển của vi khuẩn *S. aureus* và *P. aeruginosa*. Kết quả nghiên cứu cho thấy hiệu quả ức chế vi khuẩn *S. aureus* và *P. aeruginosa* của màng nano chitosan/polyvinyl alcohol được bổ sung 150 mg/mL cao chiết từ vỏ quả măng cụt (CS/PVA-MG), và tiềm năng sử dụng màng CS/PVA-MG trong điều trị vết thương ngoài da có nhiễm trùng trên thú.

1. Đặt Vấn Đề

Nghiên cứu về màng sợi nano từ vật liệu sinh học là một lĩnh vực đang phát triển mạnh mẽ trong khoa học vật liệu và công nghệ nano. Trong đó, phương pháp kéo sợi điện trường (electrospinning) cho phép tạo ra các màng sợi có kích thước nano với diện tích bề mặt lớn có tiềm năng ứng dụng trong nhiều lĩnh vực như môi trường, nông nghiệp, thực phẩm và đặc biệt

là trong y sinh, nhằm giải quyết các vấn đề thực tiễn đang gặp phải như ô nhiễm môi trường, đề kháng kháng sinh, bảo quản thực phẩm hay chăm sóc sức khỏe của con người và động vật, và hướng tới công nghệ xanh. Trong đó chitosan (CS) là một polymer có khả năng tương thích sinh học và phân hủy sinh học, không độc hại, có nguồn gốc từ vỏ các loài giáp xác như tôm, cua,... còn có hoạt tính chống oxy hóa phân hủy sinh học và kháng khuẩn nên được ưu tiên sử

dụng trong lĩnh vực y sinh (Wang & ctv., 2018). Tuy nhiên, vật liệu này cũng có những nhược điểm như độ giòn cao, tính hút ẩm và tính cơ học thấp khó có thể ứng dụng trong tạo màng. Trong khi đó, polyvinyl alcohol (PVA) là vật liệu có tính tương thích sinh học, không gây độc và phù hợp để tạo màng sợi. Ngoài ra, PVA còn được sử dụng như chất kết dính các cấu trúc và vật liệu sinh học (Lou & ctv., 2022). Với những đặc tính như trên, PVA là lựa chọn phù hợp để tạo màng sợi bằng việc kết hợp cùng chitosan như một chất hoạt hóa sinh học.

Măng cụt (*Garcinia mangostana* L.) là loại trái cây được trồng nhiều ở nước ta và được mọi người ưa chuộng; tuy nhiên, ít ai để ý đến phần vỏ của măng cụt, thứ thường bị bỏ đi sau khi ăn, nhưng thực tế lại chứa rất nhiều giá trị mà ít người biết đến. Trong dân gian đã biết sử dụng vỏ quả sử dụng để điều trị tiêu chảy, chống viêm và làm lành vết thương (Do, 2004). Một số nghiên cứu chứng minh rằng vỏ quả măng cụt có hoạt tính chống oxy hóa, đặc biệt khả năng kháng khuẩn trên các chủng vi khuẩn như *S. aureus* (Park & ctv., 2023), *P. aeruginosa* (Ragasa & ctv., 2010), và đây là hai loài vi khuẩn gây các bệnh phổ biến ở các ca bệnh về da trên chó với tỷ lệ phân lập từ 33,93 đến 56,4% (Dégi & ctv., 2021; Costa & ctv., 2022) Theo nghiên cứu của nhờ các hợp chất có hoạt tính như xanthone (α -mangostin, β -mangostin, γ -mangostin), flavonoid (Do & ctv., 2012; Kluz & ctv., 2023).

Xuất phát từ thực tiễn, đề tài nghiên cứu chế tạo màng sợi nano từ chitosan/polyvinyl alcohol kết hợp cao chiết từ vỏ quả măng cụt (MG) kháng các chủng vi khuẩn *Staphylococcus*

aureus và *Pseudomonas aeruginosa* phân lập trên vết thương của chó đã được thực hiện để đánh giá tiềm năng kháng khuẩn của màng nano sinh học kết hợp với cao chiết, có thể sử dụng hỗ trợ hoặc thay thế kháng sinh trong điều trị vết thương ngoài da.

2. Vật Liệu và Phương Pháp

2.1. Thời gian, địa điểm và vật liệu nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 10/2023 đến tháng 09/2024 tại phòng thực hành Kiểm nghiệm Thú sản và Môi trường Sức khỏe Vật nuôi - Khoa Chăn nuôi Thú y - Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh và Khoa Kỹ thuật Y Sinh, Trường Đại học Quốc Tế, Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh.

Cao chiết vỏ quả măng cụt (MG) được chuẩn bị và kiểm tra hoạt tính kháng khuẩn. MIC (Nồng độ ức chế tối thiểu - Minimal Inhibitory Concentration) và MBC (Nồng độ diệt tối thiểu - Minimal Bactericidal Concentration) trên *S. aureus* lần lượt là 1,25 và 2,5 mg/mL, 50 - 70 và 150 mg/mL trên *P. aeruginosa* xác định trong nghiên cứu trước của chúng tôi.

Các chủng vi khuẩn *S. aureus* và *P. aeruginosa* đã đề kháng kháng sinh (Bảng 1) được phân lập và định danh bằng phương pháp PCR (Martineau & ctv., 1998; Choi & ctv., 2013), ký hiệu lần lượt là S.PL1, S.PL2, S.PL3 cho *S. aureus*; P.PL2, P.PL2, P.PL3 cho *P. aeruginosa*. Ngoài ra, còn có 2 chủng chuẩn bao gồm *S. aureus* ATCC 25923 và *P. aeruginosa* ATCC 27853 do Viện Pasteur TP.HCM cung cấp được sử dụng để kiểm tra hoạt tính kháng khuẩn của màng nano.

Bảng 1. Các chủng *Staphylococcus aureus* và *Pseudomonas aeruginosa* đối số kháng sinh để kháng

Loài	Chủng	Kháng sinh để kháng
<i>S. aureus</i>	S.PL1	PnAmAxNeTeDxOfBt
	S.PL2	PnAmAxSmKnAkTeDxCoBt
	S.PL3	PnAmAxSmKnAkTeDxNrCoBt
	P.PL1	PnAmAxSmNeKnTeDxCoBt
<i>P. aeruginosa</i>	P.PL2	PnAmAxSmNeAkTeDxOfCoBt
	P.PL3	PnAmAxSmNeKnAkTeDxNrCoBt

2.2. Nội dung nghiên cứu

- Tạo màng sợi nano từ chitosan và polyvinyl alcohol kết hợp với cao chiết vỏ quả măng cụt bằng phương pháp kéo sợi điện trường (electrospinning).

- Thử hoạt tính kháng khuẩn của màng sợi trên môi trường thạch đĩa và môi trường bán lỏng.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp chế tạo màng sợi nano chitosan (CS)/polyvinyl alcohol (PVA) được bổ sung cao chiết vỏ quả măng cụt (MG)

Tạo màng sợi nano chitosan CS/PVA-MG được tham khảo theo nghiên cứu của Madani & ctv. (2022) và được sửa đổi sao cho phù hợp với điều kiện thí nghiệm. Đầu tiên dung dịch CS (Macklin, Trung Quốc) 1% trong acid acetic 0,5 M (w/v) được chuẩn bị và dung dịch PVA (Xilong, Trung Quốc) 12% trong nước. Trộn và khuấy hỗn hợp dung dịch CS 1% và PVA 12% theo tỷ lệ CS/PVA 1 : 9 để tạo hỗn hợp polymer. Hỗn hợp polymer được nạp vào xi lanh 20 mL gắn với kim phun có đường kính 22 Gauss được vận hành trên máy kéo sợi điện trường (Khoa Kỹ thuật Y Sinh, Trường Đại học Quốc Tế, Đại học Quốc Gia TP. Hồ Chí Minh chế tạo). Các

thông số kéo sợi điện như điện áp 18 kV, tốc độ bơm 0,5 mL/giờ, công suất gia nhiệt 0,38 kW và khoảng cách từ đầu kim phun đến bộ thu 13 cm được thiết lập để thu sợi nano như mong muốn. Thời gian chế tạo sợi từ 6 đến 10 giờ. Sau đó, màng sợi được sấy ở 75°C trong 20 phút. Màng sợi được ổn định bằng hơi glutaraldehyde (GA) 50% trong 24 giờ ở 25°C trong bình kín và cuối cùng được sấy ở 75°C trong 45 phút.

Cao chiết măng cụt được chiết từ phần vỏ ngâm trong dung môi ethanol 95 độ với tỉ lệ 1:10, trong 3 ngày, và sau đó được cô đuổi dung môi để thu cao. Phần cao thu được pha bằng dimethyl sulfoxide (DMSO) 5% để đạt được nồng độ 150 mg/mL được xác định theo nghiên cứu trước của chúng tôi. Sau đó, cao chiết được phủ trên màng sợi nano CS/PVA để có được màng CS/PVA-MG. Thể tích dung dịch cần phủ được xác định thông qua diện tích màng và bề dày lớp phủ. Từ đó, xác định được khối lượng cao chiết cần thiết để phủ lên màng. Màng được sấy khô từ 6 đến 8 giờ ở 60°C sau khi phủ.

Thể tích dung dịch cần phủ: Với diện tích màng 5 x 5 cm và bề dày lớp phủ là 0,1 cm thì thể tích dung dịch cần phủ sẽ là: $V = 5 \times 5 \times 0,1 = 2,5 \text{ cm}^3$ (tương đương là 2,5 mL).

Khối lượng cao chiết cần thiết: Với nồng độ mong muốn là 150 mg/mL và thể tích dung dịch tính được ở trên, khối lượng cao chiết cần thiết: $m = V \times C = 2,5 \times 150 = 375$ mg. Màng CS/PVA-MG sau đó sẽ tiến hành chụp SEM để quan sát khả năng phân bố của MG trên màng CS/PVA tại thực hiện tại Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.3.2. Kiểm tra khả năng kháng khuẩn của màng sợi nano CS/PVA được bổ sung cao chiết vỏ quả măng cụt trên môi trường thạch đĩa

Khả năng kháng khuẩn của màng sợi nano được bổ sung cao chiết vỏ quả măng cụt (CS/PVA-MG) được kiểm tra bằng 02 phương pháp: định tính bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch và định lượng trên môi trường bán lỏng (Razani & ctv., 2024).

Phương pháp kiểm tra định tính được thực hiện trên môi trường thạch đĩa Mueller Hinton (Himedia, Ấn Độ). Sau khi đo $OD_{600} = 0,3$ (mật độ vi khuẩn được xác định bằng phương pháp trang đếm trên môi trường chuyên biệt MSA (Himedia, India) cho *S. aureus* và cetrimide agar (Himedia, India) cho *P. aeruginosa* với kết quả xác định $2,52 \times 10^8$ CFU/mL trên *S. aureus* và $1,18 \times 10^8$ CFU/mL trong trường hợp *P. aeruginosa*), 1 mL dịch khuẩn từ ống $OD_{600} = 0,3$ được pha trong 99 mL nước muối NaCl 0,85% sao cho mật độ vi khuẩn giảm đi 100 lần. Tiếp theo sử dụng tăm bông vô trùng nhúng vào ống dịch khuẩn đã được pha loãng và phết đều dịch khuẩn trên toàn bộ bề mặt đĩa thạch Mueller Hinton. Màng sợi nano CS/PVA-MG vô trùng bằng tia UV được cắt thành dạng đĩa tròn, có đường kính 10 mm và đặt trên môi trường thạch đã phết vi khuẩn. Các đối chứng được chuẩn bị là màng nano CS/PVA không bổ sung cao chiết vỏ quả măng cụt có đường kính 10 mm, 1 giếng có đường kính 6 mm chứa 100 μ L MG ở nồng độ 150 mg/

mL (nồng độ nguyên khi chưa phủ lên màng) và kháng sinh gentamycin 10 μ g/đĩa (Công ty Nam Khoa). Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Sau đó, các đĩa thạch được ủ 37°C trong 24 giờ. Khả năng kháng khuẩn của các mẫu được đánh giá bằng cách đo đường kính vòng vô khuẩn xuất hiện xung quanh vị trí đặt mẫu, đánh giá và phân loại tham khảo theo công bố của Davis & Stout (1971). Các kết quả được biểu thị bằng đường kính trung bình của vòng vô khuẩn tính bằng $mm \pm$ độ lệch chuẩn (SD).

2.3.3. Kiểm tra khả năng kháng khuẩn của màng sợi nano CS/PVA được bổ sung cao chiết vỏ quả măng cụt trên môi trường bán lỏng

Hoạt tính kháng *S. aureus* và *P. aeruginosa* của màng CS/PVA-MG được định lượng trên môi trường Mueller Hinton bán lỏng (Nguyen & ctv., 2022). Dùng pipette hút 5 mL môi trường MHA bán lỏng (canh MHB được bổ sung 0,8% agar) đã hấp tiệt trùng phân vào mỗi giếng trong khay nuôi cấy tế bào. Dịch khuẩn có $OD_{600} = 0,3$ của *S. aureus* và *P. aeruginosa* (mật độ vi khuẩn tương đương $2,52 \times 10^8$ CFU/mL cho *S. aureus* và $1,18 \times 10^8$ CFU/mL trong trường hợp *P. aeruginosa*) được pha loãng để mật độ vi khuẩn giảm xuống còn $2,17 \times 10^4$ CFU/mL. Hút 50 μ L dịch vi khuẩn đã được pha loãng trải đều trên bề mặt thạch của các giếng sao cho mật độ vi khuẩn là $2,2 \times 10^2$ CFU/g môi trường nuôi cấy. Màng nano được cắt hình vuông cạnh 2,5 cm và đặt lên bề mặt thạch đã phết vi khuẩn. Các nghiệm thức bao gồm màng chitosan, polyvinyl alcohol được bổ sung cao chiết vỏ quả măng cụt (CS/PVA-MG), màng chitosan/polyvinyl alcohol không bổ sung MG 150 mg/mL (CS/PVA) và lô đối chứng chỉ có dịch khuẩn. Đĩa nuôi cấy sẽ được ủ ở điều kiện 37°C trong 18 đến 24 giờ. Sau đó mẫu được lấy khỏi khay nuôi cấy tế bào chuyển sang túi chuyên dụng vô trùng có màng ngăn, thêm 5 mL nước

muối sinh lý 0,85% và dùng máy stomacher nhồi trong 2 phút để nghiền mẫu. Tiếp theo, mẫu được pha loãng liên tiếp trong dung dịch nước muối sinh lý để tiến hành định lượng vi khuẩn trên đĩa thạch Mannitol Salt Agar (MSA, Himedia, Ấn Độ) đối với *S. aureus*, thạch cetrimide (Himedia, Ấn Độ) đối với *P. aeruginosa* bằng phương pháp trang đếm. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Kết quả được biểu thị bằng số lượng khuẩn lạc CFU/g $\pm$ độ lệch chuẩn (trung bình $\pm$ SD).

2.3.4. Xử lý thống kê

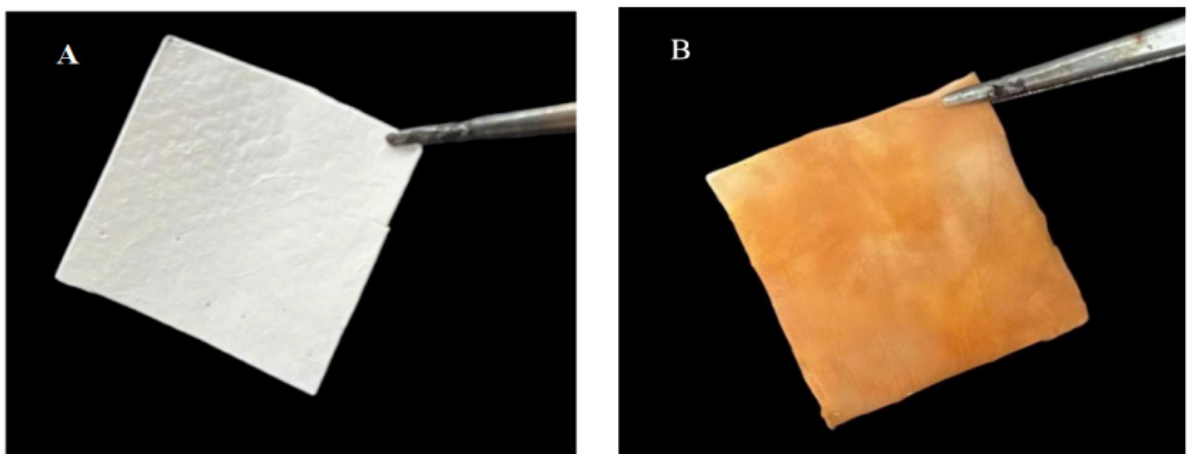
Phần mềm Minitab 17.0 và test Tukey 1 yếu tố được sử dụng để so sánh sự khác biệt về mặt thống kê của các số liệu trong đề tài với độ tin cậy 95% và ý nghĩa ($\alpha = 0,05$).

3. Kết Quả và Thảo Luận

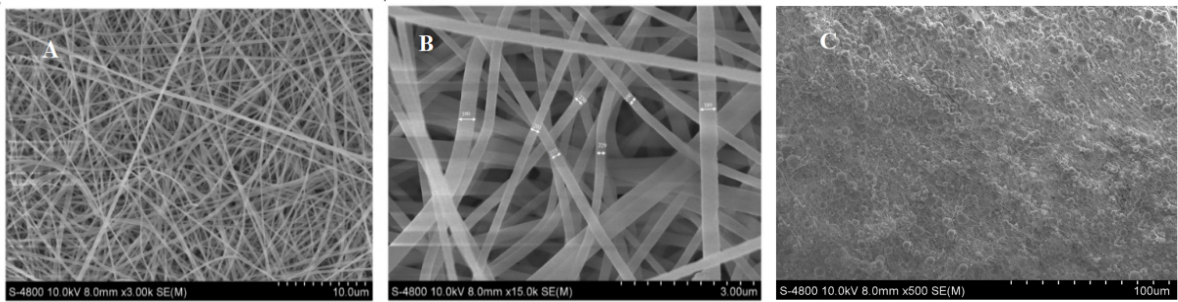
3.1. Hình thái hiển vi màng sợi nano chitosan và polyvinyl alcohol được bổ sung cao chiết vỏ quả măng cụt (CS/PVA-MG)

Màng sợi nano CS/PVA-MG có cấu trúc đồng nhất và xốp, không có sự xuất hiện của bọt khí (Hình 1). Tính xốp của màng rất hữu ích cho

việc trao đổi chất hoặc khả năng thấm hút của màng. Các sợi nano được chụp bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM) cho thấy các sợi nano trong màng CS/PVA-MG có đường kính dao động từ 200 đến 390 nm (Hình 2). Sự phân bố các sợi và cao chiết MG tương đối đồng đều trên bề mặt của màng. Nhìn chung kích thước sợi cho thấy khả năng kiểm soát tốt trong quá trình chế tạo, hình thành một mạng lưới dày đặc, giúp tăng cường tính cơ học và khả năng ứng dụng của màng trong các lĩnh vực như lọc, cảm biến và kỹ thuật y sinh. Theo nghiên cứu của Nguyen & Nguyen (2018) khi quan sát hình thái các sợi CS/PVA ở các tỷ lệ 1/9, 2/8 và 3/7; trong đó, đường kính các sợi ở tỷ lệ 1/9 có kích thước từ 173 đến 190 nm. Sự khác biệt của kích thước sợi so với kết quả trong đề tài này có thể là do cường độ dòng điện khi phun màng hay thiết bị phun. Theo tiêu chuẩn ISO/TR 10993-22:2017 vật liệu nano ứng dụng trong y sinh, bao gồm màng sợi nano có đường kính dao động từ 50 đến 500 nm. Các kích thước sợi nano đảm bảo khả năng bám dính vào mô được ứng dụng nhiều trong y học tái tạo (Teixeira & ctv., 2020).



Hình 1. Màng CS/PVA-MG. Mặt dưới (A) và mặt trên được phủ MG (B). CS: màng sợi nano chitosan; PVA: polyvinyl alcohol; MG: cao chiết vỏ quả măng cụt.



Hình 2. Màng CS/PVA-MG (A, B - mặt trên; C - mặt dưới) dưới kính hiển vi điện tử quét (SEM). CS: màng sợi nano chitosan; PVA: polyvinyl alcohol; MG: cao chiết vỏ quả măng cụt. A - độ phóng đại 3.000 lần, B - độ phóng đại 15.000 lần, C - độ phóng đại 500 lần.

3.2. Khả năng kháng khuẩn của màng sợi nano CS/PVA-MG trên môi trường thạch đĩa

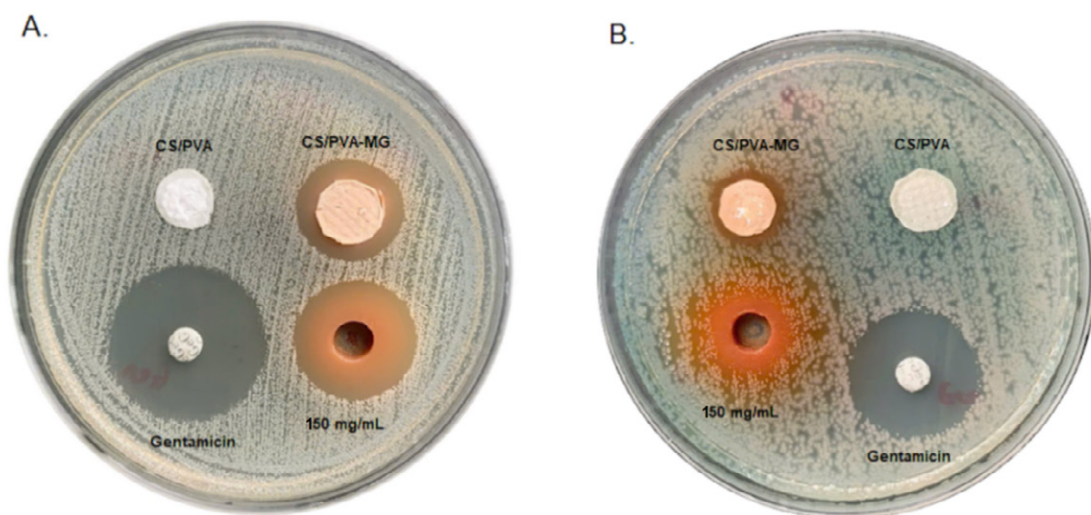
Kết quả hoạt tính kháng khuẩn của màng CS/PVA-MG được trình bày trong Bảng 2 và Hình 3. Màng chitosan và polyvinyl alcohol không bổ sung cao chiết vỏ quả măng cụt không có tính kháng khuẩn (không xuất hiện vòng vô khuẩn xung quanh vị trí đặt màng). Đường kính vòng kháng khuẩn của màng CS/PVA-MG dao động lần lượt trong khoảng từ 16,67 đến 18,00 mm trên *S. aureus* và từ 11,00 đến 12,67 mm trên *P. aeruginosa*. Điều này chứng tỏ hoạt tính kháng khuẩn của màng CS/PVA-MG là do cao chiết vỏ quả măng cụt được bổ sung vào màng và hoạt tính kháng khuẩn mạnh hơn trên vi khuẩn *S. aureus*. Tuy nhiên, kích thước vòng vô khuẩn của màng nhỏ hơn gentamicin ($P < 0,01$). Ở nồng độ MG 50 mg/mL đường kính vòng vô khuẩn dao

động từ 20,67 đến 22,33 mm trên *S. aureus* và từ 10,00 đến 15,33 mm đối trên *P. aeruginosa*. Kích thước vòng vô khuẩn của màng CS/PVA-MG nhỏ hơn cao chiết MG 150 mg/mL với sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,01$). Nguyên nhân có thể do khả năng thấm hút của màng CS/PVA đã làm cho một phần cao bị giữ lại trong hệ thống sợi nano hoặc khả năng giải phóng các hợp chất kháng khuẩn trong cao chậm hơn, dẫn đến kích thước vòng kháng khuẩn bị ảnh hưởng. Theo Escobar & Perea (2017) sự hấp phụ các chất của hệ thống màng có thể do các nhóm hydroxyl của PVA và các nhóm amin của CS tương tác với các phân tử nước thông qua liên kết hydro tạo thành một mạng lưới xoắn. Với khả năng giải phóng chậm các chất chứa trong màng CS/PVA-MG có thể giảm thiểu sự dao động trong nồng độ thuốc, giúp tăng cường hiệu quả điều trị và giảm thiểu tác dụng phụ.

Bảng 2. Đường kính vòng kháng khuẩn (mm) của màng CS/PVA-MG, CS/PVA, nồng độ MG (150 mg/mL) và gentamicin trên *Staphylococcus aureus* và *Pseudomonas aeruginosa*

	Màng CS/PVA-MG	Màng CS/PVA	150 mg/mL	Gentamycin
S.ATCC 25923	16,67 ^c ± 1,16	0,00 ^d ± 0	21,33 ^b ± 1,16	29,33 ^a ± 1,16
S.PL1	18,67 ^c ± 1,16	0,00 ^d ± 0	22,33 ^b ± 0,58	29,33 ^a ± 0,58
S.PL2	17,33 ^c ± 1,16	0,00 ^d ± 0	20,67 ^b ± 0,58	29,33 ^a ± 0,58
S.PL3	18,00 ^c ± 1,00	0,00 ^d ± 0	21,33 ^b ± 1,16	28,33 ^a ± 0,58
P.ATCC 27853	11,00 ^c ± 1,00	0,00 ^d ± 0	13,67 ^b ± 0,58	26,00 ^a ± 0,00
P.PL1	11,67 ^c ± 0,58	0,00 ^d ± 0	10,00 ^b ± 0,00	20,00 ^a ± 0,00
P.PL2	12,67 ^c ± 1,16	0,00 ^d ± 0	15,33 ^b ± 1,16	18,67 ^a ± 1,16
P.PL3	11,67 ^c ± 1,16	0,00 ^d ± 0	14,67 ^b ± 1,16	19,67 ^a ± 0,58

Chú thích: Các chữ cái (a, b, c, d) khác nhau trong cùng một hàng biểu thị sự khác nhau rất có ý nghĩa thống kê với ($P < 0,01$). CS: màng sợi nano chitosan; PVA: polyvinyl alcohol; MG: cao chiết vỏ quả măng cụt.



Hình 3. Vòng vô khuẩn của CS/PVA, CS/PVA-MG, gentamicin và MG 150 mg/mL trên môi trường thạch đĩa MHA. A: Vi khuẩn *S. aureus*, B: Vi khuẩn *P. aeruginosa*. CS: màng sợi nano chitosan; PVA: polyvinyl alcohol; MG: cao chiết vỏ quả măng cụt.

Tính kháng khuẩn của màng CS/PVA khi kết hợp với các hoạt chất kháng khuẩn được sử dụng trong đề tài này có sự tương đồng với các nghiên cứu khác. Trong nghiên cứu của Koseoglu & ctv. (2022) đã cho thấy màng CS/PVA khi được bổ sung AgNO_3 có khả năng kháng khuẩn và hoạt tính kháng khuẩn của màng tăng dần theo nồng

độ của AgNO_3 . Nghiên cứu này cũng cho thấy màng CS/PVA/ AgNO_3 có thể kháng lại 12 loài vi khuẩn trong đó có *S. aureus* ATCC 25923 và *P. aeruginosa* ATCC 35032. Đối với *S. aureus* đường kính vòng vô khuẩn nằm trong khoảng 9 - 12 mm và *P. aeruginosa* trong khoảng 11 - 18 mm tương ứng với nồng độ thấp nhất là 0,5%

AgNO₃ và cao nhất là 5% AgNO₃. Một nghiên cứu khác của Abdelghany & ctv. (2019) cũng cho thấy màng CS/PVA khi được bổ sung chiết xuất từ cây *Hibiscus sabdariffa* L. có khả năng kháng lại *S. aureus* và *P. aeruginosa* với kết quả lần lượt là 15 và 14 mm tương ứng với 6 mL/g chiết xuất của *Hibiscus sabdariffa* L. được bổ sung vào hỗn hợp gồm CS và PVA.

3.3. Kiểm tra hoạt tính kháng khuẩn của màng sợi nano chitosan và polyvinyl alcohol được bổ sung cao chiết vỏ quả măng cụt (CS/PVA-MG) trên môi trường MHA bán lỏng

Kết quả tính kháng khuẩn của màng CS/PVA-MG trên môi trường bán lỏng được trình bày trong Bảng 3. Số lượng vi khuẩn ban đầu ở tất cả các lô thí nghiệm khá tương đồng (khoảng 10² CFU/g môi trường nuôi cấy). Sau 24 giờ ủ ở 37°C số lượng vi khuẩn ở lô đối chứng (không chứa màng) và lô có màng CS/PVA tăng rất nhanh đạt khoảng 10⁸ CFU/g. Khi xử lý thống kê thì lô

màng CS/PVA sẽ được chọn để làm đối chứng so sánh với lô màng CS/PVA-MG. Lô đối chứng (DC), chỉ có vi khuẩn và môi trường nuôi cấy vẫn được thực hiện và định lượng song song để đánh giá khả năng sinh trưởng phát triển của vi khuẩn thí nghiệm. Màng CS/PVA-MG tiêu diệt hoàn toàn sự phát triển của vi khuẩn *S. aureus* và *P. aeruginosa*. Thật vậy, khi tiến hành định lượng thì không phát hiện khuẩn lạc vi khuẩn trong môi trường bán lỏng MH mặc dù ban đầu lượng vi khuẩn cho lên là 10² CFU/g môi trường. Ở lô có màng CS/PVA vi khuẩn vẫn phát triển bình thường, tăng từ 10² đến khoảng 10⁸ CFU/g sau 24 giờ nuôi cấy. Ở thí nghiệm trên môi trường thạch đĩa màng CS/PVA không xuất hiện vòng kháng khuẩn. Khi định lượng trên môi trường bán lỏng màng CS/PVA không làm ảnh hưởng tới sự phát triển của vi khuẩn thử nghiệm. Điều này chứng tỏ màng sợi nano tạo độ thoáng khí tốt, đây cũng là một trong các tiêu chí để đánh giá chất lượng của màng.

Bảng 3. Khảo sát tính kháng khuẩn của màng CS/PVA-MG trên môi trường bán lỏng đối với *S. aureus* và *P. aeruginosa* (CFU/g)

Nghiệm thức	CS/PVA-MG	CS/PVA	Đối chứng
S.ATCC 25923	ND	1,32 x 10 ⁸	1,93 x 10 ⁸
S.PL1	ND	1,19 x 10 ⁸	1,64 x 10 ⁸
S.PL2	ND	1,13 x 10 ⁸	1,55 x 10 ⁸
S.PL3	ND	1,29 x 10 ⁸	1,58 x 10 ⁸
P.ATCC 27853	ND	1,99 x 10 ⁸	2,12 x 10 ⁸
P.PL1	ND	2,00 x 10 ⁸	2,10 x 10 ⁸
P.PL2	ND	2,09 x 10 ⁸	2,35 x 10 ⁸
P.PL3	ND	1,09 x 10 ⁸	2,21 x 10 ⁸

ND: Không phát hiện. CS: màng sợi nano chitosan; PVA: polyvinyl alcohol; MG: cao chiết vỏ quả măng cụt.

Kết quả thử nghiệm kháng khuẩn trên môi trường bán lỏng cho thấy màng CS/PVA-MG có hiệu quả ức chế các chủng vi khuẩn *S. aureus* và *P. aeruginosa*. Trong khi đó, màng CS/PVA không thể hiện khả năng ức chế sự sinh trưởng

của các chủng vi khuẩn này. Điều này cho thấy, hoạt chất trong cao chiết măng cụt (MG) đã đóng vai trò quan trọng trong việc tăng cường khả năng kháng khuẩn của màng. Nghiên cứu của Olewnik-Kruszkowska & ctv. (2019) cho

thấy khả năng kháng *S. aureus* và *E. coli* của màng được tạo bởi chitosan (CS) và PVA khi kết hợp cùng Poly(Hexamethylene Guanidine) (PHMG). Sau 24 giờ nuôi cấy thì nồng độ vi khuẩn giảm từ $3,7 \times 10^5$ còn $2,9 \times 10^3$ ở vi khuẩn thử nghiệm. Điều đó đã chứng minh khả năng kháng khuẩn của màng khi kết hợp với các hợp chất thiên nhiên.

4. Kết Luận và Đề Nghị

Trong đề tài, màng sợi nano chitosan/polyvinyl alcohol (CS/PVA) bổ sung cao chiết vỏ quả măng cụt (MG) được tổng hợp thành công bằng phương pháp kéo sợi điện trường kết hợp kỹ thuật phủ. Khả năng kháng khuẩn của màng CS/PVA-MG khi thực hiện trên các chủng vi khuẩn đa đề kháng dao động từ trong khoảng từ 16,67 đến 18,00 mm đối với *S. aureus* và 11,00 đến 12,67 mm cho *P. aeruginosa*. Định lượng khả năng kháng khuẩn của màng CS/PVA-MG trên môi trường bán lỏng không phát hiện sự phát triển của các chủng vi khuẩn so với đối chứng (CS/PVA) sau 24 giờ nuôi cấy. Từ những kết quả thu được, mặc dù màng CS/PVA có một số đặc tính sinh học, nhưng hiệu quả kháng khuẩn chủ yếu phụ thuộc vào MG. Nó đóng vai trò quan trọng trong việc tăng cường khả năng kháng khuẩn nhờ vào các hoạt chất có trong cao chiết. Màng CS/PVA không chỉ là nền tảng mang hoạt chất kháng khuẩn MG, mà còn có khả năng kiểm soát giải phóng MG. Sự kết hợp này có tiềm năng ứng dụng trong y tế và các sản phẩm kháng khuẩn. Tuy nhiên, để đưa sản phẩm vào ứng dụng thực tế, cần tiến hành thêm các nghiên cứu sâu hơn nhằm tối ưu hóa tỷ lệ phối hợp giữa CS, PVA và MG, đánh giá tác động của các yếu tố môi trường lên hiệu quả kháng khuẩn, đồng thời đảm bảo tính an toàn sinh học và tính tương thích sinh học của vật liệu.

Lời Cam Đoan

Nhóm nghiên cứu thực hiện đề tài không có xung đột về lợi ích.

Lời Cảm Ơn

Nghiên cứu thực hiện từ nguồn kinh phí của Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh, có mã số CS-SV23-CNTY-12. Nhóm tác giả chân thành cảm ơn sự hỗ trợ từ Khoa Kỹ thuật Y sinh, Trường Đại học Quốc Tế, Đại học Quốc Gia TP. Hồ Chí Minh đã tạo điều kiện thực hiện đề tài này.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Abdelghany, A. M., Menazea, A. A., & Ismail, A. M. (2019). Synthesis, characterization and antimicrobial activity of Chitosan/Polyvinyl Alcohol blend doped with *Hibiscus sabdariffa* L. extract. *Journal of Molecular Structure* 1197, 603-609. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.07.089>.
- Choi, H. J., Kim, M. H., Cho, M. S., Kim, B. K., Kim, J. Y., Kim, C., & Park, D. S. (2013). Improved PCR for identification of *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 97(8), 3643-3651. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-4709-0>.
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay: I. Factors influencing variability and error. *Applied Microbiology* 22 (3), 659-665. DOI: 10.1128/am.22.4.659-665.1971.
- Do, T. L. (2004). *Medicinal plants and remedies in Vietnam*. Ho Chi Minh City, Vietnam: Medical Publishing House.
- Do, T. T., Mai, T. H., Phi, T. M., Nguyen, T. N. D., & Quyen, D. T. (2012). Investigation on antibacterial activity of alpha-mangostin from the fruit hulls of *Garcinia mangostana* L. *Vietnam Journal of Science and Technology* 50(1), 21-28.

- Escobar, D., & Perea, P. (2017). Manufacturing and evaluation of Chitosan, PVA and Aloe Vera hydrogels for skin applications. *DYNA* 84, 134-142. <https://doi.org/10.15446/dyna.v84n203.62742>.
- ISO (International Organization for Standardization). (2017). *ISO/TR 10993-22:2017: Biological evaluation of medical devices - Part 22: Guidance on nanomaterials* (1st ed.). Vernier, Swiss: ISO.
- Kluz, M., Pietrzyk, K., & Puchalski, C. (2023). Antioxidant and antimicrobial properties of *Garcinia mangostana*. *Acta Horticulturae et Regiotecturae* 26(1), 43-47. <https://doi.org/10.2478/ahr-2023-0007>.
- Koseoglu, T. S., Coban, E. P., Kır, E., Sahin, S., Biyik, H. H., & Ozmen, I. (2022). Preparation and antimicrobial activity of CS/PVA membranes containing silver nitrate. *Indian Journal of Chemical Technology (IJCT)* 29(1), 32-39. <https://doi.org/10.56042/ijct.v29i1.27982>.
- Lou, C. W., Lin, M. C., Huang, C. H., Lai, M. F., Shiu, B. C., & Lin, J. H. (2022). Preparation of needleless electrospinning Polyvinyl alcohol/water-soluble Chitosan nanofibrous membranes: Antibacterial property and filter efficiency. *Polymers* 14(5), 1054. <https://doi.org/10.3390/polym14051054>.
- Madani, F., Mujokoro, B., Mohammadi, S., Khosravani, M., & Adabi, M. (2022). Chitosan/PVA nanofibers for implantable drug delivery systems. *Nanomedicine Research Journal* 7(2), 150-155. <https://doi.org/10.22034/nmrj.2022.02.004>.
- Martineau, F., Picard, F. J., Roy, P. H., Ouellette, M., & Bergeron, M. G. (1998). Species-Specific and Ubiquitous-DNA-Based Assays for Rapid Identification of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology* 36(3), 618-623. <https://doi.org/10.1128/JCM.36.3.618-623.1998>.
- Nguyen, T. T. T., & Nguyen T. T. P. (2018). Research on manufacturing chitosan/poly vinyl alcohol nanofiber membrane for removing heavy metal ions in water. *Journal of Science and Technology* 49, 115-119.
- Nguyen, X. N. T., Daniel, P., Pilard, J.-F., Cariou, R., Gigout, F., & Leroi, F. (2022). Antibacterial activity of plasma-treated polypropylene membrane functionalized with living *Carnobacterium divergens* in cold-smoked salmon. *Food Control* 137, 108903. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108903>.
- Olewnik-Kruszkowska, E., Gierszewska, M., Jakubowska, E., Tarach, I., Sedlarik, V., & Pummerova, M. (2019). Antibacterial Films Based on PVA and PVA-Chitosan Modified with Poly (Hexamethylene Guanidine). *Polymers* 11(12), 2093. <https://doi.org/10.3390/polym11122093>.
- Park, S. Y., Lee, J. H., Ko, S. Y., Kim, N., Kim, S. Y., & Lee, J. C. (2023). Antimicrobial activity of α -mangostin against *Staphylococcus* species from companion animals *in vitro* and therapeutic potential of α -mangostin in skin diseases caused by *S. pseudintermedius*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 13, 1203663. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1203663>.
- Ragasa, C., Crisostomo, C., Garcia, K., & Shen, C. C. (2010). Antimicrobial xanthenes from *Garcinia mangostana* L. *The Philippine Scientist* 47, 53-75.
- Razani, S., Farhadpour, M., Avatefi, H. M., Alamdaran, F. S., Fakhr, T. M., Khonakdar, H. A., & Mahmoudifard, M. (2024). Bioassay-guided fractionation of *Verbascum thapsus* extract and its combination with polyvinyl alcohol in the form electrospun nanofibrous membrane for efficient wound dressing application. *Heliyon* 10(12), e32717. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e32717>.
- Teixeira, M. A., Paiva, M. C., Amorim, M. T. P., & Felgueiras, A. H. P. (2020). Electrospun nanocomposites containing cellulose and its derivatives modified with specialized biomolecules for an enhanced wound healing. *Nanomaterials* 10(3), 557.
- Wang, P. H., Huang, B. S., Horng, H. C., Yeh, C. C., & Chen, Y. J. (2018). Wound healing. *Journal of The Chinese Medical Association* 81(2), 94-101. <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.11.002>.