

Khảo sát các đặc tính của màng hydrogel poly (vinyl alcohol) glutaric anhydride tải nano bạc

Vũ Quang Hiếu¹, Nguyễn Ngọc Phương Trâm², Nguyễn Ngân Tuấn¹, Ngô Hoàng Long¹

¹Viện Kỹ thuật Công nghệ cao, Đại học Nguyễn Tất Thành

²Khoa Công nghệ Sinh học, Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh

vqhieus@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Hydrogel poly là màng được hình thành dựa trên liên kết giữa các mạch polymer poly (vinyl alcohol). Màng hydrogel có nhiều ứng dụng trong lĩnh vực y sinh học nhất là mảng che phủ vết thương. Để làm được điều này, màng cần có các tính chất như độ bền cao và có khả năng kháng khuẩn nhằm bảo vệ vết thương khỏi tác động vật lý và sinh học. Trong nghiên cứu này, đối tượng được hướng đến là màng hydrogel poly có thành phần nano bạc, ngoài ra, màng poly được tăng cường độ bền thông qua việc tạo liên kết nối mạch giữa mạch poly và chất đóng rắn glutaric anhydride. Kết quả phổ hồng ngoại Fourier chứng minh màng poly có độ bền cao do có các liên kết (–OCO) giữa các mạch polymer poly ở bước sóng 1 700 cm⁻¹. Màng poly-glutaric anhydride có độ phân rã thấp hơn so với màng poly đối chứng (17 % so với 25 %). Trong thử nghiệm sinh học, màng poly-glutaric anhydride tải hạt nano bạc được chứng minh có tính kháng *P. aeruginosa* trong 2 giờ và *S. aureus* trong 4 giờ khi tiếp xúc. Kết quả sơ bộ trong phòng thí nghiệm trên đã chứng minh được độ bền và hoạt tính sinh học của màng hydrogel poly-glutaric anhydride tải hạt nano bạc.

Nhận 22/06/2022
Được duyệt 27/10/2022
Công bố 02/11/2022

Từ khoá

PVA, hydrogel,
nano bạc,
kháng khuẩn,
glutaric anhydride

© 2022 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Giới thiệu

Hydrogel là một mạng lưới các chuỗi polymer ưa nước, có khả năng hấp thụ và tích trữ một lượng nước lớn gấp nhiều lần khối lượng của nó. Tuy một số phân tử polymer bị solvate hóa khi hấp thụ nước, nhưng nhìn chung vẫn giữ được hình dạng và không tan trong nước do phần lớn các polymer có liên kết hóa học và liên kết vật lý với nhau. Những yếu tố ảnh hưởng đến khả năng trương nở của hydrogel bao gồm số phân tử khối và tỉ lệ số hydrolysed polymer [1]. Hydrogel có thể được tạo thành từ nhiều nguyên vật liệu khác nhau từ thiên nhiên như thạch rau câu, mù tôm, ..., đến các vật liệu tổng hợp như polyvinyl alcohol (PVA), ...

Trong đó, PVA là một loại polymer tổng hợp, có nhiều ứng dụng trong các ngành y học, dược phẩm, mỹ phẩm [1]. PVA có khả năng tạo độ nhớt, khả năng kết dính

và hơn nữa có thể sử dụng để tạo thành hydrogel, tính chất của hydrogel được tạo thành sẽ phụ thuộc vào khối lượng phân tử và khả năng thủy phân của polymer được sử dụng [2]. Các chuỗi polymer có khối lượng phân tử càng lớn thì thời gian phân rã càng lâu. Các liên kết trong hydrogel bao gồm các liên kết hydro, liên kết Van der Waals, các tương tác vật lý giữa các chuỗi mạch trong polymer là các tương tác kỵ nước khi tồn tại trong dung dịch [3,4]. Điển hình như tương tác giữa các chuỗi mạch kỵ nước trong copolymer ghép, có cấu trúc một mạch ưa nước và một mạch kỵ nước. Các hydrogel vật lý được tạo thành bởi các liên kết nối mạch (cross-links), không có liên kết cộng hóa trị. Ngoài ra, các chuỗi polymer này có thể được liên kết với nhau bằng các phản ứng hóa học, như tạo liên kết ester hay peptit. Các liên kết vật lý, hóa học này có ảnh hưởng rất lớn

lên tính cơ lí, hình dạng bề mặt, kết cấu của hydrogel từ đó ảnh hưởng đến tốc độ khuếch tán các vật chất bên trong chúng [5,6]. Việc tạo các liên kết hóa trong hydrogel PVA làm tăng cường tính chất bền vững của vật liệu, tăng thời gian phân rã.

Tính bền vững của hydrogel PVA có thể tạo ra bằng nhiều phương pháp vật lí hóa học khác nhau. Ví dụ màng hydrogel được làm từ các phương pháp đổ gel và để khô, phương pháp đông và rã đông, phương pháp sử dụng tia gamma, hoặc sử dụng các loại dung môi khác nhau như DMSO/DMF dùng để tăng độ bền cũng như tính liên kết của các mạch PVA [3]. Đồng thời PVA cũng có thể được phối trộn với các loại polymer khác như chitosan, agarose hay gelatin để tăng mức độ liên kết giữa các mạch polymer với nhau. Các mạch polymer của PVA cũng có thể được liên kết với nhau như việc sử dụng glutaric anhydride có khả năng liên kết hai nhóm hydroxyl của PVA.

Các hydrogel PVA được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực, quan trọng nhất là trong lĩnh vực vật liệu y sinh học phục vụ chăm sóc sức khỏe con người: nhiều nghiên cứu đã kết hợp hydrogel và bạc nitrat ứng dụng làm vật liệu y sinh trong việc chữa trị các vết thương [7] hay kết hợp hydrogel PVA với thuốc kháng viêm dexamethasone trong điều trị nhiễm trùng [8]. Các nghiên cứu trên cho thấy ứng dụng rộng rãi của hydrogel trong nhiều lĩnh vực, đặc biệt trong lĩnh vực vật liệu y sinh có khả năng kháng viêm, kháng khuẩn. Do đó, việc tạo ra các hydrogel PVA mới có khả năng áp và che phủ các vết thương hở, đồng thời giúp diệt các vi khuẩn gây bệnh tránh nhiễm trùng là cần thiết. Như vậy, vật liệu hydrogel được tạo thành cần có một số đặc tính như khả năng thấm hút tốt, thời gian phân hủy lâu, có khả năng giữ thuốc đồng thời hỗ trợ tái tạo vùng mô bị tổn thương [9-12].

Do đó, nghiên cứu được tiến hành nhằm tìm ra phương pháp tạo ra hydrogel PVA có tính bền vững cao nhờ tương tác giữa các polymer PVA và glutaric anhydride. Ngoài ra, trên màng hydrogel PVA được tải thêm với các hạt nano bạc nhằm tăng cường tính kháng khuẩn của màng.

2 Vật liệu và phương pháp thí nghiệm

2.1 Vật liệu

Poly (vinyl alcohol) khối lượng (89-100) kDa, độ thủy phân 90 %, glutaric anhydride 99 % từ hãng Sigma Aldrich (Saint Louis, MO, Mỹ), AgNO₃, glycerol,

poly(acrylamide) từ hãng Xilong, Trung Quốc. Các chủng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* (*S. aureus* ATCC 29213) và *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa* ATCC 52395), một số môi trường nuôi cấy khuẩn bao gồm Trypton Soy broth (TSB), Trypton Soy Agar (TSA), Muller Hinton Broth (MHB), Muller Hinton Agar (MHA) từ HiMedia, Ấn Độ. Ngoài ra còn sử dụng một số loại vật liệu, hóa chất đạt chuẩn ACS.

2.2 Phương pháp chuẩn bị nano bạc

Cân 0,025 g AgNO₃ vào becker chứa 20 g glycerol, và 0,1003 g polyacrymide và khuấy đều ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp sau đó được đun trong microwave trong 5 phút, với mức năng lượng 500 W. Hạt nano bạc sau đó được tinh sạch bằng cách li tâm 13 000 rpm trong 30 phút và được lặp lại 3 lần với nước.

2.3 Phương pháp chuẩn bị màng

PVA được hòa tan trong nước với nồng độ 5 % bằng cách khuấy từ gia nhiệt ở nhiệt độ 70 °C trong 20 phút. Dung dịch PVA 5 % sau khi chuẩn bị được bổ sung thêm glutaric anhydride với tỉ lệ 5 % và dung dịch nano bạc ở các nồng độ khác nhau, khuấy đều. Dung dịch trên được cho vào đĩa petri nhựa và mang sấy khô ở nhiệt độ 60 °C, sau đó nhiệt độ được nâng lên mức 80 °C trong 4 giờ để glutaric anhydride phản ứng với nhóm hydroxyl (-OH) của polymer PVA.

2.3.1 Phương pháp đo độ trương nở của màng

Mẫu được cắt có kích thước (0,5 × 3) cm từ màng ban đầu, và ngâm trong 3 mL nước cất trong 24 giờ. Màng sau đó được thấm khô nước và đo kích thước.

2.3.2 Phương pháp đo độ phân hủy của màng theo thời gian

Các mẫu đo sau khi được chuẩn bị có khối lượng bằng nhau và được ngâm trong 3 mL nước cất, với các khoảng thời gian (1, 3, và 5) ngày. Sau đó, mẫu được sấy khô ở 60 °C trong 2 giờ. Sau khi sấy khô, các mẫu được mang cân và ghi nhận khối lượng. Ba mẫu được chuẩn bị cho một điều kiện đo. Khối lượng phân hủy được tính theo công thức:

$$\text{Net}_{\text{mất đi}} (\%) = \frac{\text{Net}_{\text{ban đầu}} - \text{Net}_{\text{sau ngâm}}}{\text{Net}_{\text{ban đầu}}} \times 100$$

2.3.4 Phương pháp kiểm tra các liên kết có trong màng PVA (FTIR)

Khả năng hình thành liên kết giữa các mạch PVA được xác định bằng phương pháp đo quang phổ hồng ngoại Fourier Transform Infrared (Agilent, 630 Mỹ) ở chế độ ATR.



2.4 Đánh giá kết quả sinh học của màng PVA-Bạc

2.4.1 Thử nghiệm tính kháng khuẩn của màng, nồng độ ức chế vi khuẩn tối thiểu (MIC)

Hai loại vi khuẩn *S. aureus* (ATCC 29213) gam dương và *P. aeruginosa* (ATCC 52395) gam âm được nuôi cấy trên 5 mL môi trường MHB qua đêm ở điều kiện 37 °C, tốc độ lắc 150 rpm. Dịch nuôi cấy được pha loãng với MHB đến khi OD của vi khuẩn *S. aureus* là 0,06-0,08 và *P. aeruginosa* là 0,04-0,06 tương ứng với 10^8 CFU/mL. Vi khuẩn được chia đều (100 µL) vào các ống eppendorf 0,5 mL. Màng hydrogel AgNP@PVA-GA được cắt thành hình tròn đường kính 0,6 mm, với khối lượng $(38,5 \pm 2)$ mg. Các điều kiện thử nghiệm được phân ra như sau: (1) tube đối chứng âm (thêm H₂O), (2) tube đối chứng dương (thêm 10 ng/mL AgNO₃), (3) các tube còn lại thêm các màng hydrogel AgNP@PVA-GA lần lượt ở các nồng độ khác nhau, (4) các tube chứa hydrogel AgNP@PVA-GA và chất khử K₄[Fe(CN)₆].3H₂O với nồng độ cuối 4 mM. H₂O được thêm vào để thể tích cuối cùng là 200 µL. Các tube được ủ trong điều kiện tĩnh 37 °C trong 18 giờ. Ngày tiếp theo, các tube được bổ sung 5 % dung dịch resazurin red. Phản ứng được ủ trong thời gian 30 phút ở nhiệt độ phòng. Kết quả được đọc dựa trên màu sắc của các tube. Các tube có màu đỏ chứng tỏ có sự tồn tại của vi khuẩn trong tube, ngược lại, khi trong tube có màu xanh thì không có sự hiện diện của vi khuẩn.

2.4.2 Đánh giá khả năng kháng khuẩn của màng hydrogel AgNP@PVA-GA và dịch sau chiết sau khi khử K₄[Fe(CN)₆].3H₂O.

Vi khuẩn được chuẩn bị như mô tả trên. Tuy nhiên, trong thí nghiệm này, màng hydrogel AgNP@PVA-GA được ngâm với dung dịch 4 mM K₄[Fe(CN)₆].3H₂O qua đêm. Sau đó, dịch ngâm và màng được chia làm hai và ủ với các tube vi khuẩn đã được chuẩn bị. Kết quả được đánh giá thông qua tương tác của vi khuẩn với dung dịch resazurin red đã mô tả.

2.4.3 Thử khả năng kháng khuẩn bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch

Các đĩa thạch MHA được chuẩn bị có nồng độ agar 1,6 %. Các giếng được đục lỗ trong có đường kính 10 mm, và

được trải với *S. aureus* và *P. aeruginosa* bằng tăm bông đã hấp khử trùng. Sau đó, cho các hydrogel AgNP@PVA-GA đã ngâm nước vào, ở các điều kiện có và không có sự hiện diện của chất khử 4 mM K₄[Fe(CN)₆].3H₂O. Ở các giếng đối chứng được thêm vào các dung dịch 100 µL có chứa 50 ng AgNO₃ và 100 ng AgNO₃, chất khử 4 mM K₄[Fe(CN)₆].3H₂O, kanamycin 100 µg/mL, streptomycin 100 µg/mL. Các đĩa petri được ủ nhiệt độ 37 °C, trong 18 giờ. Ngày hôm sau, vòng kháng khuẩn của các điều kiện ủ được đo và ghi nhận.

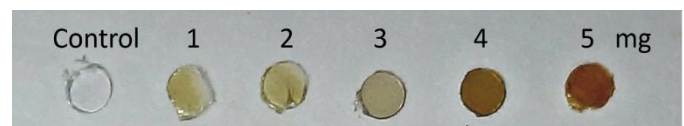
2.4.4 Thử khả năng kháng khuẩn bằng phương pháp áp màng hydrogel

Đĩa thạch MHA được cấy trang với 2 loại vi khuẩn như trên. Các màng hydrogel AgNP@PVA-GA sau khi thấm nước được áp trực tiếp lên mặt thạch với có bổ sung và không bổ sung chất khử 4 mM K₄[Fe(CN)₆].3H₂O. Sau khoảng thời gian (1, 2, 4 và 24) giờ, các màng AgNP@PVA-GA được gấp ra, đĩa thạch được tiếp tục ủ qua ngày. Kết quả ghi nhận sự hiện diện và không hiện của vi khuẩn tại vị trí áp màng hydrogel.

3 Kết quả

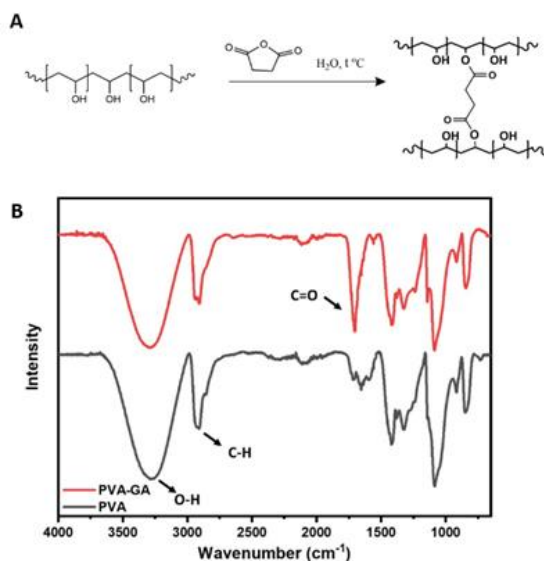
3.1 Kết quả tạo màng

Màng sau khi tạo có màu nâu, độ đậm nhạt của màng là do mật độ hạt nano bạc khác nhau. Màu càng nâu đậm thì mật độ hạt nano Ag có trong màng càng cao. Màng hydrogel AgNP@PVA-GA được tạo ra có mật độ nano bạc trên màng là (1,5; 3; 4,5; 6; và 7,5) µg/cm² tạm gọi lần lượt màng gel 1; 2; 3; 4; và 5.



Hình 1 Màng hydrogel AgNP@PVA-GA sau khi được tạo ra. Lần lượt từ trái sang: control (màng PVA đối chứng không có hạt nano bạc), màng 1; 2; 3; 4 và 5 được tải hạt AgNP với các nồng độ từ tương ứng từ (1-5) mg/đĩa petri

3.2 Các đặc tính của màng hydrogel AgNP@PVA-Ag

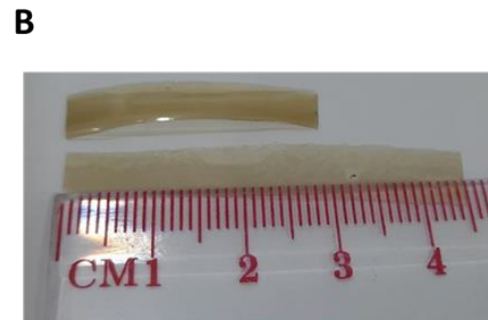
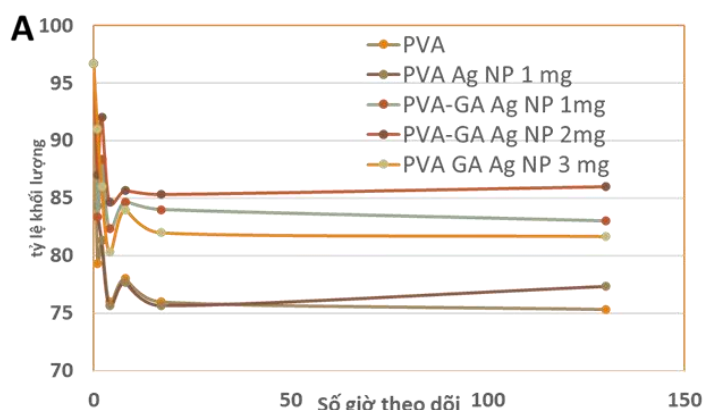


Hình 2 (A) Phản ứng tạo liên kết giữa các mạch polymer PVA và (B) kết quả phân tích quang phổ hồng ngoại Fourier transform (FTIR) của màng hydrogel PVA và PVA-GA.

Các kết quả đo bằng phương pháp quang phổ hồng ngoại cho thấy tại khoảng sóng từ $(3\ 500-3\ 200)\text{ cm}^{-1}$ là dao động kéo giãn của nhóm $-\text{OH}$ có trong polymer PVA. Đối với mẫu PVA, thì đỉnh này lớn hơn mẫu PVA-GA, việc này phù hợp với dự đoán về sự tham gia

của GA trong việc phản ứng liên kết với nhóm $-\text{OH}$ trong mạch polymer. Tại vị trí sóng $2\ 900\text{ cm}^{-1}$, có dao động của liên kết trong nhóm $\text{C}-\text{H}$. Và tại vị trí sóng $1\ 700\text{ cm}^{-1}$, trong mẫu PVA-GA có cường độ đỉnh cao hơn so với mẫu màng PVA, đây là dao động đặc trưng của liên kết $-\text{C}=\text{O}$. Kết quả này đã chứng minh được sự hình thành nối mạch giữa PVA và GA theo (liên kết este $-\text{OCO}-$) (Hình 2A).

Kết quả Hình 3A về theo dõi sự thay đổi khối lượng của màng, thấy rằng, sau 24 giờ ngâm thì tỉ lệ khối lượng mất đi của màng hydrogel PVA là 15 % so với tỉ lệ này ở màng PVA không được phản ứng với GA là 20 %. Sau một thời gian theo dõi bằng phương pháp ngâm, sấy khô và cân khối lượng tịnh có thể thấy màng hydrogel PVA-GA Ag NP có khối lượng không đổi, tuy nhiên khối lượng của màng hydrogel PVA lại tiếp tục giảm ở ngày thứ hai và giữ không đổi vào các ngày tiếp theo (Hình 3A). Màng giãn từ $(0,5 \times 3)\text{ cm}$ dạng khô tới $(0,8 \times 4)\text{ cm}$ dạng ngâm nước (Hình 3B). Không có sự khác biệt giữa màng hydrogel PVA được nối mạch với GA và màng hydrogel PVA. Sau khi ngâm với nước thì màng có khối lượng tăng từ $(10 \pm 0,5)\text{ mg}$ lên $(39,64 \pm 3,5)\text{ mg}$, như vậy khả năng thấm hút nước của màng là khoảng 4 lần.



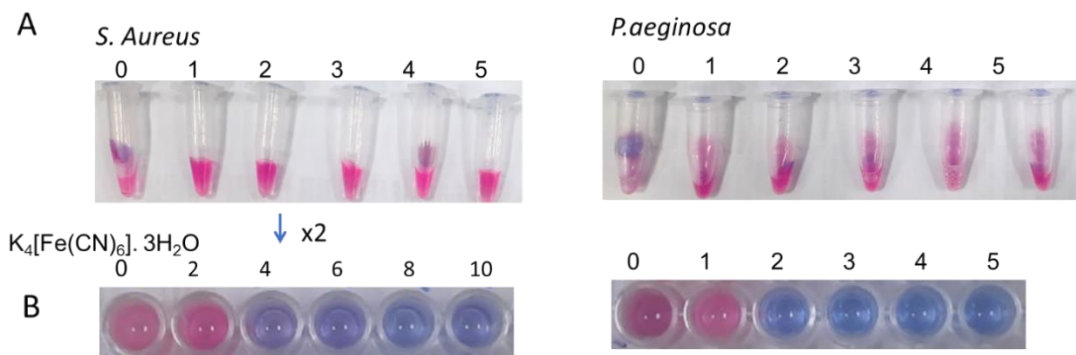
Hình 3 Sự thay đổi khối lượng của màng sau 150 giờ theo dõi (A) và sự thay đổi kích thước của màng khi trương nở (B)

3.3 Kết quả tính kháng khuẩn của màng

Nồng độ tiêu diệt vi khuẩn của màng hydrogel

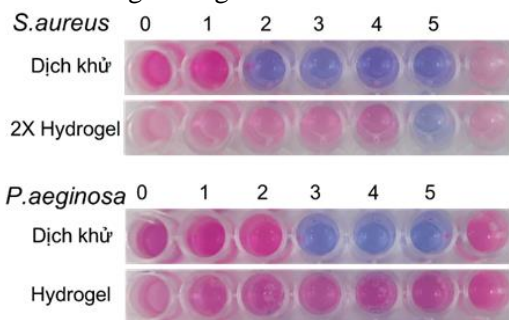
Ở thí nghiệm này, màng AgNP@PVA-GA được ngâm trực tiếp với vi khuẩn với sự có và không có mặt của chất khử $4\text{ mM K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. Hình 4A cho thấy, khi không có chất khử, màng AgNP@PVA-GA không có khả năng diệt khuẩn. Tuy nhiên, khi thêm 4 mM chất khử $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ vào, chất khử đã hỗ trợ giúp thể hiện khả năng diệt khuẩn của màng, do chất khử phản

ứng với nano bạc để tạo ra phức bạc (bạc chelate) có khả năng diệt khuẩn. Tùy theo mật độ hạt nano có trong hydrogel PVA mà màng có khả năng diệt khuẩn khác nhau, khi mật độ bạc càng nhiều thì khả năng kháng khuẩn của màng càng cao. Ở điều kiện từ 2 đến 5, màng có khả năng ức chế vi khuẩn *P. Aeruginosa*. Tuy nhiên, để ức chế vi khuẩn *S. aureus* cần phải tăng gấp đôi số lượng màng cần sử dụng, như vậy là phù hợp với kết quả đạt được.



Hình 4 Kết quả về khả năng ức chế vi khuẩn *S. aureus* và *P. aeruginosa* của màng hydrogel AgNP@PVA-GA. A: kết quả về khả năng diệt khuẩn của màng hydrogel PVA nano bạc khi không có sự hiện diện của chất khử. B: kết quả về khả năng tiêu diệt vi khuẩn của màng hydrogel AgNP@PVA-GA khi có chất khử 4 nM $K_4[Fe(CN)_6].3H_2O$. Riêng đối với vi khuẩn *S. aureus* thì cần sử dụng 2 màng gel cho tất cả điều kiện để chứng minh khả năng diệt khuẩn.

Để chứng minh khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn của các hạt nano bạc có trên màng hay các chelate bạc tan trong dung dịch (Hình 5), màng sau khi được khử với 4 mM $K_4[Fe(CN)_6].3H_2O$, màng sau ngâm và dịch ngâm màng được chia ra thành 2 thử nghiệm. Kết quả Hình 5 cho thấy, chỉ có dịch ngâm màng sau khi khử mới có khả năng ức chế vi khuẩn, có kết quả tương đương với thí nghiệm thực hiện ở phần trên. Ngược lại, màng sau khi khử với 4 mM $K_4[Fe(CN)_6].3H_2O$ không có khả năng ức chế khuẩn nguyên nhân là do bạc có trong màng đã khuếch tán hết ra môi trường bên ngoài.



Hình 5 Kết quả ức chế *S. aureus* và *P. aeruginosa* từ dịch ngâm màng và màng sau khi ngâm.

Thử nghiệm khả năng khuếch tán kháng khuẩn cùng màng hydrogel PVA.

Màng tạo ra không có khả năng kháng khuẩn khi thực hiện thí nghiệm này (Bảng 1) kể cả khi sử dụng chất khử $K_4[Fe(CN)_6].3H_2O$. Tuy nhiên, nếu so sánh với các đối chứng khác như thuốc kháng sinh streptomycin,

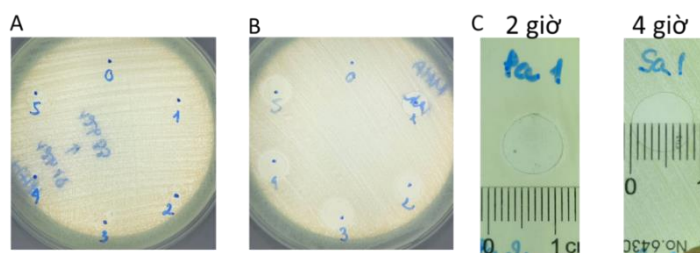
kanamycin và $AgNO_3$ (50 và 100) ng thì khả năng tạo vòng khuếch tán của màng hydrogel AgNP@PVA-GA là không có.

Bảng 1 Thử nghiệm khuếch tán đĩa thạch

Các thử nghiệm	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
	Kích thước vòng	
0 (đối chứng âm)	0	0
1 mg Ag /mL	0	0
2 mg Ag /mL	0	0
3 mg Ag /mL	0	0
4 mg Ag /mL	0	0
5 mg Ag /mL	0	0
Streptomycin 100 µg	24	26
Kanamycin 100 µg	19	31
$AgNO_3$ 50 µg	15	16
$AgNO_3$ 100 µg	15	16
$K_4[Fe(CN)_6]. 3H_2O$, 4mM	0	0

Thử nghiệm khả năng kháng khuẩn của màng khi sử dụng phương pháp áp màng hydrogel AgNP@PVA-GA trực tiếp lên đĩa thạch cấy vi khuẩn

Màng hydrogel AgNP@PVA-GA được áp trực tiếp lên đĩa thạch vi khuẩn. Tại thời điểm 2 giờ và 4 giờ trở về sau, thì có thể thấy được vi khuẩn *P. aeruginosa* và *S. aureus* lần lượt không có khả năng phát triển lại, sau khi màng được lấy ra. Ngược lại, ở các thời điểm trước đó, vi khuẩn có tiếp tục phát triển khi được ủ tiếp (Hình 6).



Hình 6 Kết quả áp màng hydrogel AgNP@PVA-GA lên đĩa thạch. A: đĩa đối chứng. B: đĩa kết quả khi áp màng 2 giờ cho *P. aeruginosa* và 4 giờ cho *S. aureus*, C: hình cận cảnh sau áp màng 2 giờ cho *P. aeruginosa* và hơn 4 giờ cho *S. aureus*.

4 Thảo luận

Việc ngăn ngừa nhiễm trùng rất quan trọng trong điều trị vết thương hở, giúp vết thương mau lành, ngăn ngừa áp-xe, ổ mủ và xa hơn là ngăn ngừa nhiễm trùng máu. Các vết thương có thể được che phủ bởi những tấm băng gạc để phòng trừ nhiễm khuẩn. Tuy nhiên, sử dụng các màng hydrogel ngâm nước có những ưu điểm như làm dịu vết thương, hay có thể tải thuốc lên gel phục vụ mục đích chữa trị. Vì lí do đó, tiến hành tổng hợp màng hydrogel AgNP@PVA-GA nhằm kết hợp các đặc tính đặc biệt của hydrogel bao gồm khả năng thấm hút và giữ nước cao, chậm phân rã với nano bạc có đặc tính kháng khuẩn, trong đó, đặc tính bền, lâu phân rã của màng tùy thuộc vào một số yếu tố nhất định bao gồm phương pháp đổ màng, làm khô màng, khối lượng phân tử polymer, phản ứng liên kết mạch giữa các polymer. Nghiên cứu sử dụng polymer PVA có khối lượng (90-100) kDa, với tỉ lệ thủy phân các mạch polymer là 90 %. Với các chỉ số này, màng hydrogel PVA được hình thành có độ bền, và tính chất tương đối tốt. Tuy nhiên, sử dụng phương pháp tạo hydrogel ở nhiệt độ 60 °C được cho là không tốt so với sử dụng phương pháp đông, rã đông [13]. Ở phương pháp đông và rã đông, tỉ lệ liên kết giữa các nhóm hydroxyl được tăng cao do quá trình đông và rã đông, từ đó làm tăng độ bền của màng hydrogel. Ngược lại, khi sử dụng phương pháp sấy khô ở nhiệt độ 60 °C, các liên kết giữa các gốc hydroxyl của các mạch PVA ít hơn, từ đó làm màng hydrogel tạo thành kém bền hơn. Tuy nhiên sử dụng phương pháp sấy khô có những ưu điểm nhất định. Một là tạo môi trường khô lâu dài nên điều kiện tạp nhiễm vi sinh được hạn chế. Hai là, phương pháp tạo hydrogel đơn giản và có thể được áp dụng sản xuất ở quy mô công nghiệp. Để tăng cường độ bền của hydrogel PVA, GA được bổ sung vào dung dịch tạo hydrogel, sau khi gel được sấy khô ở nhiệt độ 60 °C, màng gel tiếp tục được sấy ở 80 °C trong 4 giờ. Khi đó,

các phân tử GA được kích hoạt và tạo liên kết với các nhóm hydroxyl của polymer PVA. Kết quả trên hình FTIR đã chứng minh có sự xuất hiện của nhóm chức (–OCO) ở hydrogel PVA được thêm GA vào ở vị trí bước sóng 1 700 cm^{-1} . Việc đó chứng minh màng hydrogel PVA mới tạo thành hứa hẹn thời gian phân hủy lâu hơn do các mạch polymer của PVA liên kết với nhau tạo thành mạng lưới chặt chẽ thông qua phân tử trung gian GA. Độ hấp thu nước của màng PVA có hàm lượng tương đương với màng hydrogel PVA không có GA. Kiểm tra độ trương nở, thì sau khi ngâm nước, màng gel biến đổi chiều dài từ (0,5 × 3) cm lên (0,8 × 4,5) cm, có tỉ lệ nở rộng là 2,4 lần. Theo dõi thời gian phân rã của các màng hydrogel PVA bằng cách cân khối lượng tịnh qua một số mốc thời gian nhất định. Qua kết quả theo dõi sự thay đổi khối lượng của màng gel có thể đưa ra mô hình giải thích sau: ở ngày đầu tiên sau khi được ngâm nước, màng hydrogel hút nước và trương nở, đồng thời các mạch PVA không liên kết với mạng lưới màng gel sẽ thất thoát ra bên ngoài, tỉ lệ thất thoát này gần bằng không cho màng hydrogel AgNP@PVA-GA ở những lần ngâm tiếp theo. Như vậy, các liên kết giữa các gốc hydroxyl trên mạch polymer PVA và GA đã góp phần tạo tính ổn định cho màng. Ngược lại, khi không có GA trong màng hydrogel PVA, màng trở nên kém bền hơn, do đó làm thất thoát khối lượng màng gel lớn hơn so với sự xuất hiện của GA trong màng hydrogel. Giả thuyết này phù hợp với các nghiên cứu trước đó về các phương pháp được thực hiện để tạo sự ổn định cho màng gel [5]. Hydrogel PVA từ lâu đã được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực trong đó có y sinh học, mỹ phẩm và môi trường [1,5,12,14,15]. Trong y sinh học, hydrogel có thể được sử dụng làm màng che phủ các vết thương bao gồm các vết thương hở và các vết bỏng [14]. Nhiều nghiên cứu đã kết hợp nhiều tác nhân khác nhau vào màng hydrogel PVA không những tăng cường khả năng phục hồi của da, mà còn có tác dụng kháng khuẩn, chống lại

các vi khuẩn gây hại ở vết thương, phòng ngừa lở loét và nhiễm trùng [6,16]. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng có thể kết hợp dịch chiết lá trầu không và hydrogel PVA có tác dụng kháng khuẩn và thúc đẩy tái tạo da. Hay nghiên cứu kết hợp chiết xuất curcumin vào màng PVA cũng có tác dụng hỗ trợ tương tự [16]. Nghiên cứu đã kết hợp hạt nano bạc vào màng hydrogel PVA với mục đích tạo ra màng vật liệu kết hợp mới có tính kháng khuẩn. Kết quả thử nghiệm *in vitro* cho thấy, màng hydrogel AgNP@PVA-GA không có khả năng kháng khuẩn trực tiếp. Tuy nhiên khi có tác động của chất khử thì khả năng này mới được phát huy. Có thể lúc tổng hợp nano bạc, nano bạc đã được oxi hóa hoàn toàn, nên không có khả năng diệt khuẩn. Nhưng khi tiếp xúc với chất khử, hạt nano bạc có công thức hóa học là Ag_2O_3 được khử thành phức bạc, chính phức này có tác dụng bám vào màng vi khuẩn từ đó ngăn chặn quá trình sống và phát triển của chúng. Sau khi được khử, hầu hết các phức bạc thoát ra ngoài hydrogel PVA và ức chế sự phát triển của vi khuẩn. Rất ít phức bạc được lưu lại bên trong màng PVA, và lượng này rất ít để có thể diệt khuẩn. So với đối chứng Ag^+ từ dung dịch $AgNO_3$, phức bạc từ màng hydrogel PVA có kết quả tương tự. Nồng độ ion bạc sử dụng để kháng vi khuẩn *S. aureus* là cao gấp đôi so với *P. aeruginosa* việc này có liên quan đến đặc trưng của thành vi khuẩn gram dương và gram âm. Trong thí nghiệm khuếch tán đĩa thạch, có thể thấy rằng phức bạc không có khả năng khuếch tán tạo vòng như kháng sinh, việc này có thể giải thích rằng nồng độ Ag không đủ cao để khuếch tán hoặc phức này bị mắc kẹt trong mạng lưới hydrogel của thạch nuôi

cấy. Tuy nhiên, đối với thí nghiệm sử dụng việc áp dụng màng gel trực tiếp lên mặt thạch đã được cấy vi khuẩn trước đó. Có thể thấy được sau một khoảng thời gian từ (2-4) giờ, cả hai loại vi khuẩn đại diện cho gram âm và gram dương là *P. aeruginosa* và *S. aureus* đều không thể tiếp tục phát triển trên đĩa thạch. Từ mô hình ức chế vi khuẩn bằng tiếp xúc trực tiếp hydrogel AgNP@PVA-GA đã mở ra việc ứng dụng màng hydrogel này trong-ngăn ngừa nhiễm trùng do phỏng, hay vết thương hở.

5 Kết luận

Nghiên cứu đã chế tạo thành công màng hydrogel AgNP@PVA-GA. Màng được tạo ra có các mạch polymer liên kết với nhau thông qua tương tác tạo liên kết với GA, từ đó tăng độ bền của màng, và các tính chất vật lý khác. Về mặt tương tác sinh học, màng hydrogel AgNP@PVA-GA có khả năng diệt khuẩn thông qua tiếp xúc trực tiếp giữa nơi có vi khuẩn và chelate bạc được tạo ra trong quá trình khử. Tuy nhiên chỉ dừng ở mức độ khảo sát các đặc tính của màng *in vitro* nhưng kết quả thu được hứa hẹn nhiều khả năng ứng dụng màng trong điều trị vết thương nhất là các vết thương hở.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ phát triển Khoa học và Công nghệ – Đại học Nguyễn Tất Thành, mã đề tài 2021.01164/HĐ-KHCN.

Tài liệu tham khảo

- Jiang, Liu, and Feng. (2011), "PVA hydrogel properties for biomedical application," *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, Vol. 4, no. 7, pp. 1228-1233, DOI: 10.1016/j.jmbbm.2011.04.005.
- Cadena-Nogales, Oña, Barreto, Dunia, Méndez, and Viteri. (2019), "Poly(vinyl alcohol) (PVA) in hydrogels, a molecular perspective," in *2019 IEEE Fourth Ecuador Technical Chapters Meeting (ETCM)*, 2019, pp. 1-6. DOI: 10.1109/ETCM48019.2019.9014900.
- Wang et al. (2021), "Poly(vinyl alcohol) Hydrogels: The Old and New Functional Materials," *Int. J. Polym. Sci.*, Vol. 2021, DOI: 10.1155/2021/2225426.
- Phan and Nguyen. (2020), "Investigating Effect of Synthesis Conditions on the Formation of PVA Hydrogel," *Tạp chí Khoa học Điện tử và Công nghệ*, Vol. 18, no. 4.1, pp. 14-18.
- Liu, Vrana, Cahill, and McGuinness. (2009), "Physically crosslinked composite hydrogels of PVA with natural macromolecules: Structure, mechanical properties, and endothelial cell compatibility," *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.*, Vol. 90 B, no. 2, pp. 492-502, DOI: 10.1002/jbm.b.31310.
- Li et al. (2018), "A Hydrogel Crosslinked with Dynamic Covalent Bonding and Micellization for Promoting Burn Wound Healing School of Materials Science and Engineering , C", DOI: 10.1021/acsami.8b08165.

7. Oliveira et al. (2014), “Mechanical properties and in vitro characterization of polyvinyl alcohol nano-silver hydrogel wound dressings,” *Interface Focus*, Vol. 4, no. 1, DOI: 10.1098/rsfs.2013.0049.
8. Long, Nand, Bunt, and Seyfoddin. (2019), “Controlled release of dexamethasone from poly(vinyl alcohol) hydrogel,” *Pharm. Dev. Technol.*, Vol. 24, no. 7, pp. 839-848, DOI: 10.1080/10837450.2019.1602632.
9. Nguyen et al. (2019), “In vivo study of the antibacterial chitosan/polyvinyl alcohol loaded with silver nanoparticle hydrogel for wound healing applications,” *Int. J. Polym. Sci.*, Vol. 2019, DOI: 10.1155/2019/7382717.
10. Hiep et al. (2016), “Microwave-assisted synthesis of chitosan/polyvinyl alcohol silver nanoparticles gel for wound dressing applications,” *Int. J. Polym. Sci.*, Vol. 2016, DOI: 10.1155/2016/1584046.
11. Shefa, Sultana, Park, Lee, Gwon, and Lee. (2020), “Curcumin cellulose nanofiber-polyvinyl alcohol hydrogel system promotes wound healing,” *Mater. Des.*, Vol. 186, p. 108313, DOI: 10.1016/j.matdes.2019.108313.
12. Rezvan, Pircheraghi, and Bagheri. (2018), “Curcumin incorporated PVA-borax dual delivery hydrogels as potential wound dressing materials-Correlation between viscoelastic properties and curcumin release rate,” *J. Appl. Polym. Sci.*, Vol. 135, no. 45, pp. 1-11, DOI: 10.1002/app.46734.
13. Stauffer and Peppast. (1992), “Poly(vinyl alcohol) hydrogels prepared by freezing-thawing cyclic processing,” *Polymer (Guildf.)*, Vol. 33, no. 18, pp. 3932-3936, DOI: 10.1016/0032-3861(92)90385-A.
14. Stoica, Chircov, and Grumezescu. (2020), “Hydrogel dressings for the treatment of burn wounds: An up-to-date overview,” *Materials (Basel)*, Vol. 13, no. 12, pp. 1-24, DOI: 10.3390/ma13122853.
15. Kobayashi and Hyu. (2010), “Development and evaluation of polyvinyl alcohol-hydrogels as an artificial articular cartilage for orthopedic implants,” *Materials (Basel)*, Vol. 3, no. 4, pp. 2753-2771, DOI: 10.3390/ma3042753.
16. Hoàng Ngọc Bích, Nguyễn Thị Thương. “Nghiên cứu tổng hợp màng kháng khuẩn dựa trên nền polyvinyl alcohol/Agar kết hợp với dịch chiết lá Trầu không ứng dụng trong bảo quản thực phẩm,” *Tạp chí Khoa học và Công nghệ – Đại học Nguyễn Tất Thành*, Vol. 2, no. 5, <https://doi.org/10.55401/jst.v2i1.147>.

Characterising the Properties of Nano Silver Loaded Poly (Vinyl Alcohol) on Glutaric Anhydride

Vu Quang Hieu¹, Nguyen Ngoc Phuong Tram², Nguyen Ngan Tuan¹, Ngo Hoang Long¹

¹NTT Hitect Institute, Nguyen Tat Thanh University

²Department of Biotechnology, Nong Lam University, Ho Chi Minh City

vqhieu@ntt.edu.vn

Abstract Hydrogel poly (vinyl alcohol) is a network of Polyvinyl alcohol (PVA) polymers which has various application in biomedicine, especially in wound healing. In wound treatment, the hydrogel should have strong stability as well as anti-bacteria effect in order to protect the opened wound from physical and biological interaction. For these purposes, the study on the characterization of silver nanoparticle loaded hydrogel Poly (vinyl alcohol) Glutaric anhydride has been done. The polymer also had its stability reinforced through the cross-linking between the poly (vinyl alcohol) and the solidifier glutaric anhydride structures. The results on Fourier transformed infrared spectrum have shown the bonding between PVA polymer via (–OCO) at the wave length 1,700 cm⁻¹. The PVA-GA hydrogel has lower degradation rate than the control (17 % vs 25 %). In biological test, the PVA –GA Ag nanoparticles have proved the ability to eradicate the *P. aeruginosa* after 2 hours and *S. aureus* after 4 hours after directed contact. These results in vitro have proved the stability and antibacterial effect of PVA-GA- Nano Ag. Even though more tests should be performed, the hydrogel has showed great potential in wound healing.

Keywords PVA, hydrogel, Ag nanoparticles, antibiotic, glutaric anhydride

