



DOI: <https://doi.org/10.52714/dthu.14.04S.2025.1568>

ĐÁNH GIÁ IN-VITRO ĐỘ BỀN, ĐỘ BÁM DÍNH VÀ TÍNH TƯƠNG THÍCH SINH HỌC CỦA HỆ VI HẠT FIBROIN CÓ NGUỒN GỐC TỪ TƠ TÀM NAM ĐỊNH

Phạm Duy Toàn^{1*}, Nguyễn Thị Tú Sương¹, Nguyễn Ngọc Yên¹ và Lương Huỳnh Vũ Thanh²

¹*Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam*

²*Trường Bách khoa, Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam*

**Tác giả liên hệ, Email: pdtoan@ctu.edu.vn*

Lịch sử bài báo

Ngày nhận: 01/4/2025; Ngày nhận chỉnh sửa: 24/6/2025; Ngày duyệt đăng: 28/6/2025

Tóm tắt

Hệ vi hạt fibroin đã và đang được nghiên cứu rộng rãi, đặc biệt trong dẫn truyền dược phẩm. Tuy nhiên, một số tính chất quan trọng của hệ như độ bền, độ bám dính và tính tương thích sinh học vẫn chưa được khảo sát. Do đó, nghiên cứu này đánh giá in-vitro các tính chất trên của fibroin và hệ vi hạt fibroin có nguồn gốc từ tơ tằm Nam Định. Hệ vi hạt fibroin được bào chế bằng phương pháp đông ngưng tụ có kích thước khoảng 0,167 μm , hiệu suất tạo hạt đạt $72,83 \pm 2,25\%$. Tính chất đặc trưng và các thành phần liên kết trong fibroin và vi hạt fibroin được thể hiện qua phổ FT-IR với cái mũi của amide I, II, III. Độ kết tinh của fibroin và vi hạt fibroin thể hiện cấu trúc bán tinh thể. Trong môi trường mô phỏng đường tiêu hóa, hệ vi hạt đạt độ bền 99,8%. Cả fibroin và hệ vi hạt fibroin đều không gây kích ứng màng tế bào trong thử nghiệm HET-CAM và có khả năng bám dính mucin cao ($54,48 \pm 0,73\%$). Tóm lại, cả fibroin và hệ vi hạt fibroin đều có độ bền và ổn định cao trong môi trường cơ thể người, có khả năng bám dính tốt và tương thích sinh học cao, rất thích hợp để ứng dụng dẫn truyền dược phẩm đường uống.

Từ khóa: *bám dính, độ bền, fibroin, HET-CAM, hệ vi hạt, tương thích sinh học.*

Trích dẫn: Phạm, D. T., Nguyễn, T. T. S., Nguyễn, N. Y., & Lương, H. V. T. (2025). Đánh giá in-vitro độ bền, độ bám dính và tính tương thích sinh học của hệ vi hạt fibroin có nguồn gốc từ tơ tằm Nam Định. *Tạp chí Khoa học Đại học Đồng Tháp*, 14(04S), 108-120. <https://doi.org/10.52714/dthu.14.04S.2025.1568>

Copyright © 2025 The author(s). This work is licensed under a CC BY-NC 4.0 License.

IN-VITRO EVALUATIONS OF THE STABILITY, MUCOADHESIVENESS, AND BIOLOGICAL COMPATIBILITY OF FIBROIN NANOPARTICLES DERIVED FROM NAM DINH SILK

Pham Duy Toan^{1*}, Nguyen Thi Tu Suong¹, Nguyen Ngoc Yen¹, and Luong Huynh Vu Thanh²

¹*College of Natural Sciences, Can Tho University, Vietnam*

²*College of Engineering, Can Tho University, Vietnam*

**Corresponding author, Email: pdtoan@ctu.edu.vn*

Article history

Received: 01/4/2025; Received in revised form: 24/6/2025; Accepted: 28/6/2025

Abstract

Fibroin nanoparticles have been extensively studied, particularly in drug delivery applications. However, several critical properties of these systems, including stability, mucoadhesiveness, and biocompatibility, have yet to be thoroughly investigated. Hence, this study aimed to in-vitro evaluate these properties of fibroin and fibroin nanoparticles derived from Nam Dinh silk. The fibroin nanoparticles, prepared via co-precipitation, exhibited an average particle size of approximately 0.167 μm , with a particle formation efficiency of $72.83 \pm 2.25\%$. The FT-IR spectroscopy revealed specific signals of fibroin, with distinct peaks corresponding to amide I, II, and III. Both fibroin and fibroin nanoparticles displayed semi-crystalline structures. In simulated gastrointestinal conditions, the nanoparticles exhibited a high stability of 99.8%. Additionally, fibroin and fibroin nanoparticles showed no irritation in the HET-CAM assay and demonstrated strong mucin adhesion ($54.48 \pm 0.73\%$). In conclusion, fibroin and fibroin nanoparticles possess high stability within physiological environments, excellent mucoadhesiveness, and high biocompatibility; thus, making them suitable for oral drug deliveries.

Keywords: *biocompatibility, fibroin, HET-CAM, mucoadhesion, nanoparticles, stability.*

1. Giới thiệu

Y học hiện đại ngày càng phát triển, con người có xu hướng quay về sử dụng các vật liệu có nguồn gốc từ tự nhiên để làm chất mang thuốc. Các vật liệu này đóng vai trò như một “chiếc xe” vận chuyển hoạt chất đến vị trí cần điều trị nhằm làm giảm tác dụng không mong muốn, đồng thời bảo vệ hoạt chất trước các tác động của môi trường bên trong cơ thể người, tăng sinh khả dụng cho hoạt chất. Để thực hiện nhiệm vụ vận chuyển hoạt chất/thuốc bên trong cơ thể, vật liệu phải đảm bảo tính tương thích sinh học, khả năng phân hủy sinh học và không gây độc tế bào (Wenk & cs., 2011). Bên cạnh đó, “phương tiện vận chuyển” này phải có độ bền tương đối ổn định và mức độ bám dính nhất định trong các dịch sinh học, nhằm ứng dụng cho các đường đưa thuốc khác nhau. Hiện nay, các vật liệu dẫn truyền thuốc đã và đang được quan tâm nghiên cứu như hệ nano từ tính (Nguyen & cs., 2022), nano polymer (Pham & cs., 2024), hydrogel (Thao & cs., 2025),... Đa số các vật liệu đã được ứng dụng lâm sàng được tổng hợp từ các nguyên liệu đã được cấp phép sử dụng cho người. Fibroin, một loại protein tơ tằm đã được FDA phê duyệt có thể sử dụng cho người là một vật liệu đầy tiềm năng trong dẫn truyền thuốc (Pham & Tiyaaboonchai, 2020). Fibroin đã được bào chế thành các dạng dẫn truyền như hệ vi hạt, hydrogel, màng film với các chức năng như vận chuyển hoạt chất, khoáng hóa xương, làm lành vết thương (Ki & cs., 2009).

Tuy nhiên, độ bền, độ bám dính và tính tương thích sinh học của fibroin được chiết từ các loại tơ tằm có nguồn gốc khác nhau vẫn chưa được quan tâm nghiên cứu rộng rãi. Các nghiên cứu trên thế giới hiện nay chủ yếu chiết fibroin để ứng dụng vào các chế phẩm cụ thể mà chưa có sự so sánh tính chất giữa nguồn nguyên liệu. Năm 2023, một nghiên cứu đã chỉ ra sự khác nhau của fibroin và hệ vi hạt fibroin được bào chế từ tơ tằm ở Việt Nam và tơ tằm Thái Lan (Nguyen & cs., 2023). Nghiên cứu tập trung vào thành phần acid amin, trọng lượng chuỗi protein, tính chất hóa lý của fibroin và hệ vi hạt fibroin. Việc chỉ ra sự khác biệt về tính chất hóa lý cung cấp các thông tin quan trọng để định hướng ứng dụng cho từng loại fibroin có nguồn gốc khác nhau. Bên cạnh đó, nghiên cứu của Zhou & cs., 2001 về fibroin chiết từ kén tằm *Bombyx mori* có nguồn gốc Trung Quốc đã chỉ ra thành phần acid amin thu được gồm glycine (45,9%), alanine (30,3%), serine (12,1%), tyrosine (5,3%), valine (1,8%) và 4,7% là 15 loại acid amin khác, khác biệt với thành phần trong kén tằm trắng Nam Định được công bố bởi Nguyen & cs., 2023 bao gồm glycine (43%), alanine (30%) và serine (12%) và các acid amin khác. Điều này cho thấy sự khác biệt về thành phần của từng loại kén tằm khác nhau, sự khác biệt này có thể ảnh hưởng đến tính chất của các chế phẩm có nguồn gốc từ fibroin tơ tằm.

Tại Việt Nam, tơ tằm được nuôi trồng ở nhiều địa phương khác nhau tạo sự đa dạng về nguồn gốc tơ. Theo thống kê của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (mard.gov.vn): “Năm 2019, cả nước sản xuất được 11.855 tấn kén tằm, tăng 42,9% so với năm 2018; năm 2020 đạt 14.937 tấn, tăng 25,9% so với năm 2019; năm 2021 đạt 16.444 tấn, tăng 10,08% so với năm 2020; và năm 2022 đạt 16.824 tấn, tăng 2,31% so với năm 2021. Tốc độ tăng trưởng bình quân giai đoạn 2018-2022 là 19,33%.” Với sản lượng và tốc độ tăng trưởng đó, Việt Nam có nguồn nguyên liệu dồi dào, nhưng tơ tằm Việt Nam chủ yếu phục vụ công nghiệp dệt may và xuất khẩu, lượng nhỏ tơ tằm ứng dụng trong chỉ khâu y tế nhưng chưa có số liệu thống kê rõ ràng. Với lợi thế đó, tơ tằm là một nguồn nguyên liệu tiềm năng cho bào chế vật liệu dẫn truyền thuốc.

Tóm lại, đã có những nghiên cứu về tính chất khác biệt của fibroin chiết xuất từ các loại kén tằm khác nhau đã được công bố trước đây, nhưng chưa có một nghiên cứu nào trong nước phân tích độ bền, tính bám dính và tính tương thích sinh học của fibroin và hệ vi hạt fibroin được chiết xuất từ tơ tằm Nam Định. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm bổ sung vào nguồn dữ liệu quốc gia và thế giới về các tính chất quan trọng của fibroin chiết xuất từ tơ tằm Nam Định.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Dụng cụ và hóa chất

Kén tơ tằm thô được thu mua từ huyện Trục Ninh, tỉnh Nam Định, Việt Nam. Các hóa chất khác như sodium carbonate, calcium chloride, calcium nitrate tetrahydrate, nước cất hai lần và ethanol do Công ty Hóa chất Cemaco, Cần Thơ, cung cấp. Mucin được mua từ Sigma-Aldrich, Singapore.

2.2. Chiết fibroin từ kén tơ tằm Nam Định

Fibroin được chiết xuất từ kén tằm Nam Định bằng kỹ thuật khử muối. Cụ thể, quá trình này thực hiện trên 10 g kén tằm, đun nóng ở 80°C trong 1 giờ cùng với 200 mL dung dịch Na_2CO_3 nồng độ 0,5%. Sau quá trình xử lý nhiệt, sợi tơ được làm sạch kỹ bằng nước cất, sau đó sấy khô ở điều kiện nhiệt độ phòng. Tiếp theo, sợi tơ được hòa tan vào một hỗn hợp muối gồm CaCl_2 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, EtOH và nước, tạo thành một dung dịch dạng keo nhớt. Dung dịch keo này tiếp tục trải qua quá trình lọc thẩm tách trong 3 ngày ở nhiệt độ phòng. Cuối cùng, dung dịch được ly tâm nhằm loại cặn, thu lấy phần dịch nổi chứa fibroin tinh khiết.

2.3. Bào chế hệ vi hạt fibroin

Quy trình bào chế hệ vi hạt fibroin từ fibroin Nam Định được thực hiện như sau: Đầu tiên, dung dịch fibroin (đã chuẩn bị ở mục 2.2) được pha loãng tới nồng độ 1% (w/w). Sau đó, 1 mL dung dịch fibroin 1% được cho vào ống ly tâm, tiếp theo, thêm từ từ 5 mL EtOH vào cùng ống ly tâm. Hỗn hợp được lắc đều trong 1 giờ với tốc độ lắc là 150 vòng/phút. Cuối quy trình, hỗn hợp được ly tâm ở tốc độ 6000 vòng/phút trong thời gian 15 phút. Phần thu được ở đáy ống ly tâm chính là hệ vi hạt fibroin. Hệ vi hạt fibroin sau đó được rửa 3 lần bằng nước cất, với phương pháp tái phân bố và ly tâm.

2.4. Đánh giá tính chất hóa lí của hệ vi hạt fibroin

Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR) là kỹ thuật phân tích dựa trên khả năng hấp thụ bức xạ hồng ngoại của mẫu ở những bước sóng khác nhau. Khi bức xạ hồng ngoại tương tác với mẫu, các liên kết hóa học trong phân tử sẽ dao động ở những tần số đặc trưng và hấp thụ năng lượng tương ứng, qua đó cho phép nhận diện cấu trúc và thành phần hóa học của mẫu. Trong nghiên cứu này, mẫu fibroin và hệ vi hạt fibroin được phân tích bằng phương pháp tạo viên nén với chất nền KBr, phổ được ghi nhận trên thiết bị FT-IR JASCO 4600 trong khoảng số sóng từ 400 đến 4000 cm^{-1} .

Kích thước trung bình và độ đa phân tán kích thước hạt của hệ vi hạt fibroin được xác định bằng phương pháp tán xạ ánh sáng động (DLS) sử dụng thiết bị MicroTrac S3500. Hệ vi hạt được tái phân tán trong nước khử ion, phép đo được tiến hành ở nhiệt độ 25°C với góc đo cố định là 90°.

2.5. Đánh giá khả năng gây kích ứng bằng phương pháp HET-CAM

Phương pháp HET-CAM (Hen's Egg Test-Chorioallantoic Membrane Assay) được áp dụng nhằm đánh giá khả năng gây kích ứng của fibroin và hệ vi hạt fibroin (Thao & cs., 2025). Màng chorioallantoic của phôi trứng thụ tinh là một mô hoàn chỉnh bao gồm động mạch, mao mạch và tĩnh mạch và về mặt kỹ thuật dễ nghiên cứu (J. Leighton, J. Nassauer, R. Tchao, 1985). Theo phương pháp này, các hóa chất có thể được tiếp xúc trực tiếp với màng chorioallantoic của trứng gà và có phản ứng tương tự với các chất gây kích ứng với phản ứng viêm được tạo ra trên các mạch máu kết mạc. Ba phản ứng có thể được xác định trong thử nghiệm này là xuất huyết, ly giải và đông tụ trên màng chorioallantoic của trứng đã thụ tinh vào khoảng ngày thứ 8, 9 của quá trình phôi (khi mô thần kinh và nhận thức về cơn đau vẫn

chưa phát triển) (Mohamed & Sara, 2017). Các phản ứng này được đánh giá cảm quan và cho điểm theo **Bảng 1**.

Trong nghiên cứu này, trứng vịt đã thụ tinh được lựa chọn và ủ trong điều kiện nhiệt độ 37°C, độ ẩm tương đối 65% trong thời gian 8 ngày. Sau đó, phần vỏ trứng được cắt bỏ cẩn thận, đồng thời loại bỏ lớp màng mỏng bên trong để lộ rõ màng CAM, là lớp màng phôi đang phát triển. Thí nghiệm được tiến hành bằng cách nhỏ 0,2 mL mẫu thử lên bề mặt màng CAM, đảm bảo không làm tổn thương hay rách màng. Quan sát và ghi nhận hình ảnh của màng CAM tại các mốc thời gian: 0 giây, 30 giây, 120 giây và 300 giây để đánh giá phản ứng kích ứng thông qua các dấu hiệu như mạch máu bị giãn, nổi rõ hoặc đỏ lên (xuất huyết, ly giải và đông tụ) và chấm điểm theo Bảng 1. Mức độ kích ứng được đánh giá với các mức (1) không kích ứng (tổng điểm < 1), (2) kích ứng nhẹ (tổng điểm < 5), (3) kích ứng trung bình (tổng điểm < 9) và (4) kích ứng nặng (tổng điểm từ 9 tới 21). Thí nghiệm bao gồm mẫu đối chứng âm (NaCl 0,9%), đối chứng dương (sodium dodecyl sulfate, SDS 1%), dung dịch fibroin nồng độ 1 mg/mL và mẫu vi hạt fibroin phân tán trong dung dịch đối chứng âm.

Bảng 1. Bảng cho điểm đánh giá thử nghiệm HET-CAM

Phản ứng quan sát	Thời gian xuất hiện (giây)	Điểm số
Xuất huyết	0-30	5
Ly giải	30-120	3
Đông tụ	120-300	1
	> 300	0

2.6. Đánh giá độ bền hệ vi hạt fibroin

Hệ vi hạt fibroin được khảo sát độ bền (độ phân hủy) trong môi trường mô phỏng đường tiêu hóa. Đầu tiên, với điều kiện mô phỏng môi trường dạ dày, tiến hành cân 50 mg mẫu hạt, thêm vào 2 mL dung dịch HCl có pH 1,2, sau đó ủ ở nhiệt độ 37°C trong thời gian 2 giờ. Kết thúc giai đoạn này, mẫu được ly tâm lạnh để loại bỏ dung dịch, phần hạt thu được đem sấy ở 60°C đến khi khối lượng không đổi.

Tương tự, với điều kiện mô phỏng đường tiêu hóa từ dạ dày đến ruột non (pH thay đổi từ 1,2 đến 6,8), cân 50 mg mẫu hạt rồi xử lý giống như giai đoạn mô phỏng dạ dày (ủ trong dung dịch pH 1,2 trong 2 giờ ở 37°C). Sau đó, mẫu được ly tâm lạnh, loại bỏ phần dung dịch nổi, bổ sung tiếp 2 mL dung dịch đệm phosphate pH 6,8 và tiếp tục ủ trong 6 giờ tiếp theo. Cuối cùng, mẫu được ly tâm để loại bỏ dịch nổi, hạt được sấy ở 60°C đến khối lượng ổn định. Độ bền của hệ vi hạt fibroin được xác định bằng phần trăm khối lượng hạt còn lại sau khi trải qua quá trình thử nghiệm trong môi trường mô phỏng tiêu hóa.

2.7. Độ kết tinh

Chỉ số kết tinh (Crystallinity Index - CI) thể hiện mức độ kết tinh của fibroin, được xác định thông qua tỷ lệ giữa vùng tín hiệu kết tinh và tổng của tín hiệu kết tinh và vô định hình (Pham & cs., 2018). Trong nghiên cứu này, chỉ số kết tinh của fibroin được tính toán dựa vào phổ FT-IR, cụ thể sử dụng cường độ hấp thụ tại các dải đặc trưng amide I và amide II theo hai công thức (1) và (2):

$$CI_{IRI} = D_{1622}/(D_{1622} + D_{1646}) \quad (1)$$

$$CI_{IRII} = D_{1517} / (D_{1517} + D_{1560}) \quad (2)$$

Trong đó: CI_{IRI} , D_{1622} , D_{1646} lần lượt là giá trị CI, mật độ phản tinh thể và mật độ, phần vô định hình của dải amide I. Tương tự, CI_{IRII} , D_{1517} , D_{1560} là giá trị CI, mật độ phản tinh thể và mật độ phần vô định hình của amide II.

2.8. Đánh giá khả năng bám dính

Khả năng bám dính của hệ vi hạt fibroin trong điều kiện mô phỏng đường tiêu hóa được đánh giá bằng cách sử dụng dung dịch mucin có nồng độ 2 mg/mL, pha trong dung dịch HCl pH 1,2 hoặc dung dịch đệm phosphate pH 6,8. Thí nghiệm được thực hiện với các tỉ lệ khối lượng khác nhau giữa mucin và hệ vi hạt fibroin, lần lượt là 1:2, 1:4, 2:1 và 4:1, bằng cách lấy chính xác lượng dung dịch theo yêu cầu, sau đó ủ ở nhiệt độ 37°C trong 1 giờ. Sau khi ủ, các mẫu được ly tâm, phần dung dịch nổi được đo quang phổ UV-vis nhằm xác định nồng độ mucin còn dư trong môi trường thử nghiệm. Phép đo thực hiện ở bước sóng cực đại 258 nm khi dung môi là HCl pH 1,2 (phương trình đường chuẩn $y = 0,0026x + 0,0047$, $R^2 = 0,9990$), và bước sóng cực đại 264 nm khi dung môi là đệm phosphate pH 6,8 (phương trình đường chuẩn $y = 0,0015x - 0,0043$, $R^2 = 0,9982$). Độ bám dính (%) được tính theo công thức sau (3):

Độ bám dính = [(Khối lượng mucin ban đầu – Khối lượng mucin còn lại)/Khối lượng mucin ban đầu] x 100% (3)

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả đánh giá tính chất hóa lí của fibroin và hệ vi hạt fibroin

3.1.1. Hiệu suất chiết fibroin

Đầu tiên, 10 g kén tằm được tiến hành xử lý bằng cách đun nóng trong dung dịch Na_2CO_3 0,5% nhằm loại bỏ sericin, sau đó rửa kỹ bằng nước sạch và sấy khô, thu được 7,40 g tơ sợi. Từ lượng tơ sợi này, lấy đúng 5 g để tiếp tục xử lý bằng hỗn hợp muối, thu được hỗn hợp dạng keo nhớt. Hỗn hợp keo này được tinh sạch bằng cách thẩm phân qua màng cellulose trong vòng 3 ngày nhằm loại bỏ hoàn toàn lượng muối dư, sau đó tiến hành ly tâm để loại bỏ các tạp chất còn lại và thu được dung dịch fibroin tinh khiết. Fibroin chiết xuất thành công từ kén tằm tồn tại dưới dạng dung dịch và có thể bảo quản ổn định ở nhiệt độ 4°C trong vòng 2 tuần (**Hình 1**). Sau khi đông khô dung dịch fibroin, thu được fibroin dạng bột có khối lượng xác định là $1,191 \pm 0,01$ g.



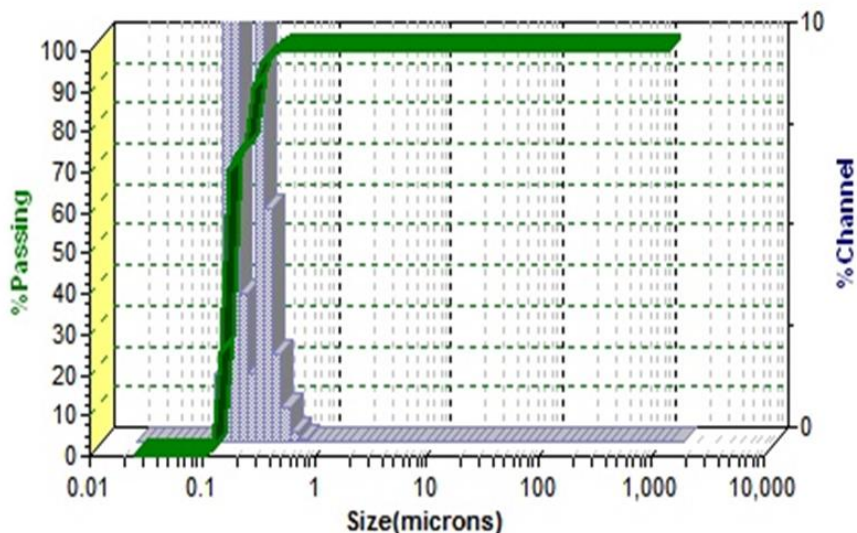
Hình 1. Dung dịch fibroin (trái), bột fibroin đông khô (phải)

3.1.2. Hiệu suất tạo hạt fibroin

Hiệu suất tạo hệ vi hạt fibroin thu được là $72,83 \pm 2,25\%$, được xác định bằng tỉ lệ giữa khối lượng hạt tạo thành so với tổng lượng fibroin ban đầu sử dụng. Kết quả này cao hơn hiệu suất tạo hạt của fibroin có nguồn gốc từ vùng nuôi Đà Lạt ở cùng điều kiện tạo hạt, với hiệu suất đạt 65% (dữ liệu chưa công bố của nhóm tác giả). Fibroin là protein có khả năng tự lắp ráp hình thành hạt thông qua các liên kết hydro, chuyển đổi cấu trúc từ dạng xoắn α sang cấu trúc β gấp nếp đối song song trong quá trình tạo hạt (Pham & cs., 2024). Tuy nhiên, hiệu suất này cũng chỉ ra rằng fibroin chưa chuyển đổi hoàn toàn sang dạng hạt, có thể là do lượng ethanol sử dụng chưa đủ để thúc đẩy hoàn toàn quá trình này. Vì vậy, cần tiến hành thêm các nghiên cứu điều chỉnh tỉ lệ fibroin và ethanol nhằm tăng hiệu suất và giảm độ biến thiên, từ đó tối ưu hóa quy trình, nâng cao hiệu quả của quá trình tạo hệ vi hạt fibroin.

3.1.3. Kích thước hệ vi hạt fibroin

Kích thước trung bình và độ phân tán kích thước của các hạt fibroin được đo bằng kỹ thuật DLS. Kết quả cho thấy kích thước trung bình của hạt fibroin là $0,167 \mu\text{m}$, nằm trong khoảng kích thước phù hợp để ứng dụng hiệu quả trong các hệ dẫn truyền thuốc (Pham & Tiyaaboonchai, 2020). Hạt với kích thước nhỏ sẽ có diện tích bề mặt lớn, qua đó cải thiện khả năng mang và giải phóng thuốc. Ngoài ra, kết quả phân tích cũng thể hiện rằng các hạt fibroin trong cùng một mẫu có kích thước khá đồng nhất (**Hình 2**). Bên cạnh đó, trong điều kiện phân tán trong môi trường nước hệ vi hạt fibroin có thể ổn định trong một tuần mà không bị keo tụ, cho thấy hạt có khả năng phân tán tốt trong các môi trường dẫn truyền.

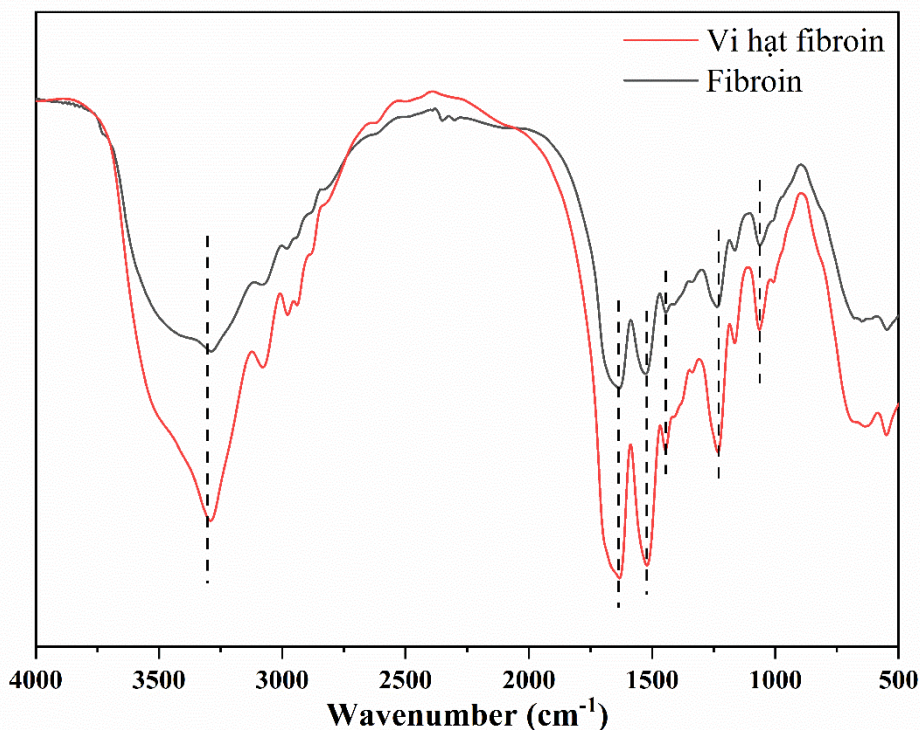


Hình 2. Đồ thị phân bố kích thước hệ vi hạt fibroin

3.1.4. Thành phần nhóm chức của fibroin và hệ vi hạt fibroin

Phổ FT-IR của fibroin cho thấy rõ dao động đặc trưng của nhóm chức -OH tại vị trí số sóng $3288,04 \text{ cm}^{-1}$ (**Hình 3**). Tín hiệu hấp thụ tại $1634,38 \text{ cm}^{-1}$ thể hiện dao động đặc trưng của amide I, trong khi đỉnh phổ tại $1525,42 \text{ cm}^{-1}$ phản ánh sự có mặt của amide II. Ngoài ra, dao động đặc trưng của amide III được quan sát ở vị trí $1236,15 \text{ cm}^{-1}$ (Yang & cs., 2019). Các đỉnh phổ tại $1525,38 \text{ cm}^{-1}$ và $1063,55 \text{ cm}^{-1}$ liên quan trực tiếp đến cấu trúc β -sheet đối song song của fibroin (Pham & cs., 2018). Những tín hiệu này hoàn toàn phù hợp với đặc trưng phổ IR của fibroin đã được nghiên cứu trước đây, chứng tỏ quá trình chiết xuất fibroin từ nguồn kén tơ tằm tại Nam Định đã thành công.

Tương tự, phổ FT-IR của hệ vi hạt fibroin thể hiện các tín hiệu tương tự fibroin nguyên liệu. Cụ thể, nhóm chức -OH có tín hiệu dao động tại $3290,93\text{ cm}^{-1}$, trong khi dao động của nhóm -NH được ghi nhận tại $2976,59\text{ cm}^{-1}$ (Pham, Nguyen, Nguyen & cs., 2023). Dao động amide I và amide II lần lượt xuất hiện tại $1634,38\text{ cm}^{-1}$ và $1526,38\text{ cm}^{-1}$, còn tín hiệu amide III xuất hiện tại $1237,11\text{ cm}^{-1}$. Tuy nhiên, cường độ tín hiệu của hệ vi hạt fibroin có sự khác biệt đáng kể so với fibroin nguyên liệu, có thể là do những biến đổi cấu trúc diễn ra trong quá trình hình thành hạt, dẫn đến khác biệt trong tỷ lệ giữa các phần kết tinh và vô định hình. Sự thay đổi này sẽ được thảo luận kỹ hơn trong nội dung về độ kết tinh của fibroin.

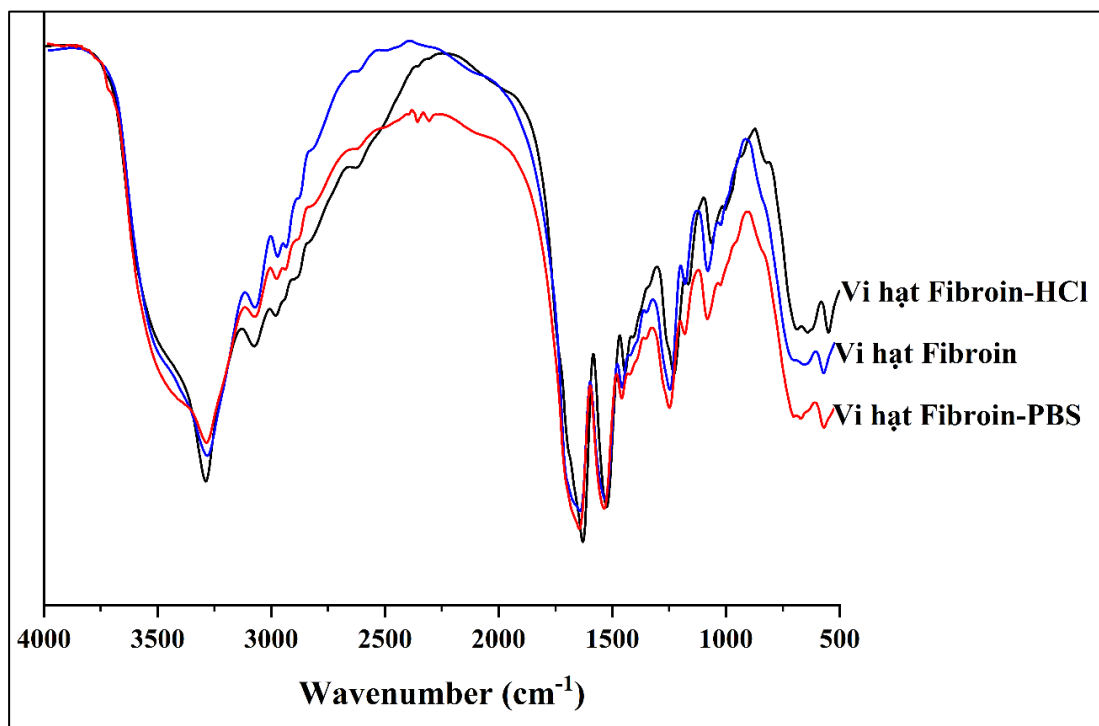


Hình 3. Phổ FT-IR của fibroin và hệ vi hạt fibroin

3.2. Độ bền hệ vi hạt fibroin

Để đánh giá độ bền, hệ vi hạt fibroin được cho vào các môi trường mô phỏng đường tiêu hóa. Sau các khoảng thời gian tương ứng, hệ vi hạt được đo lại khối lượng và phổ FT-IR, nhằm đánh giá sự thay đổi. Phổ FT-IR của hệ vi hạt fibroin-HCl cho thấy các mũi hấp thụ đặc trưng tại vùng số sóng $3074,94\text{--}3288,04\text{ cm}^{-1}$, tương ứng với dao động giãn dài của liên kết N-H thuộc nhóm amide A và amide B trong cấu trúc fibroin. Các đỉnh phổ tại $1629,55\text{ cm}^{-1}$ và $1525,42\text{ cm}^{-1}$ lần lượt biểu hiện dao động của các liên kết C=O và N-H (amide I và amide II), phù hợp với các nghiên cứu trước đây về fibroin (Pham, Nguyen, Lieu & cs., 2023). Tuy nhiên, cường độ của các mũi hấp thụ này có sự thay đổi so với vi hạt fibroin trước khi ngâm trong môi trường acid (**Hình 4**). Sự thay đổi này có thể do vi hạt fibroin với cấu trúc xốp, khi tiếp xúc với môi trường acid, các liên kết hydro xây dựng nên cấu trúc hạt bị phá vỡ một phần, làm ảnh hưởng đến độ kết tinh, dẫn đến sự biến đổi về hình dạng và cường độ tín hiệu phổ FT-IR. Mặc dù cấu trúc bên trong có sự thay đổi nhất định, nhưng độ bền của vi hạt fibroin đạt 99,8%, cho thấy vi hạt hầu như không bị phân hủy trong điều kiện acid mạnh, chứng minh tính ổn định và khả năng tồn tại tốt của vi hạt trong môi trường dịch vị dạ dày.

Đối với vi hạt fibroin-PBS, sau khi trải qua điều kiện mô phỏng dịch vị dạ dày và tiếp tục chuyển sang môi trường mô phỏng dịch ruột (pH 6,8), độ bền vẫn duy trì ở mức 99,8%, cho thấy pH kiềm nhẹ trong dịch ruột không ảnh hưởng đáng kể tới độ bền của vi hạt. Phổ FT-IR của vi hạt fibroin trong môi trường PBS cũng không có sự khác biệt rõ rệt so với vi hạt fibroin ban đầu, khẳng định tính ổn định cấu trúc của vi hạt fibroin trong toàn bộ đường tiêu hóa.



Hình 4. Phổ FT-IR của hệ vi hạt fibroin, hệ vi hạt fibroin trong môi trường acid HCl pH 1,2 (vi hạt fibroin-HCl) và hệ vi hạt fibroin trong môi trường đệm phosphate pH 6,8 (vi hạt fibroin-PBS)

3.3. Độ kết tinh của fibroin và hệ vi hạt fibroin

Kết quả đo độ kết tinh (**Bảng 2**) cho thấy hệ vi hạt fibroin có chỉ số CI tại vùng amide I (CI_{IRI}) là 0,502, khá gần với fibroin ban đầu (0,501). Điều này chứng tỏ quá trình tạo hạt không làm thay đổi đáng kể cấu trúc cơ bản của fibroin. Sự tăng nhẹ của độ kết tinh có thể xuất phát từ việc fibroin hình thành thêm các liên kết hydro giữa các chuỗi xoắn tự do để tạo ra pha tinh thể (β -sheet đối song song) trong quá trình tạo hạt. Tuy nhiên, giá trị CI tại vùng amide II (CI_{IRII}) giảm nhẹ từ 0,490 (fibroin gốc) xuống còn 0,472, cho thấy quá trình kết tinh trong hệ vi hạt chủ yếu liên quan tới liên kết N-H (Pham & cs., 2018).

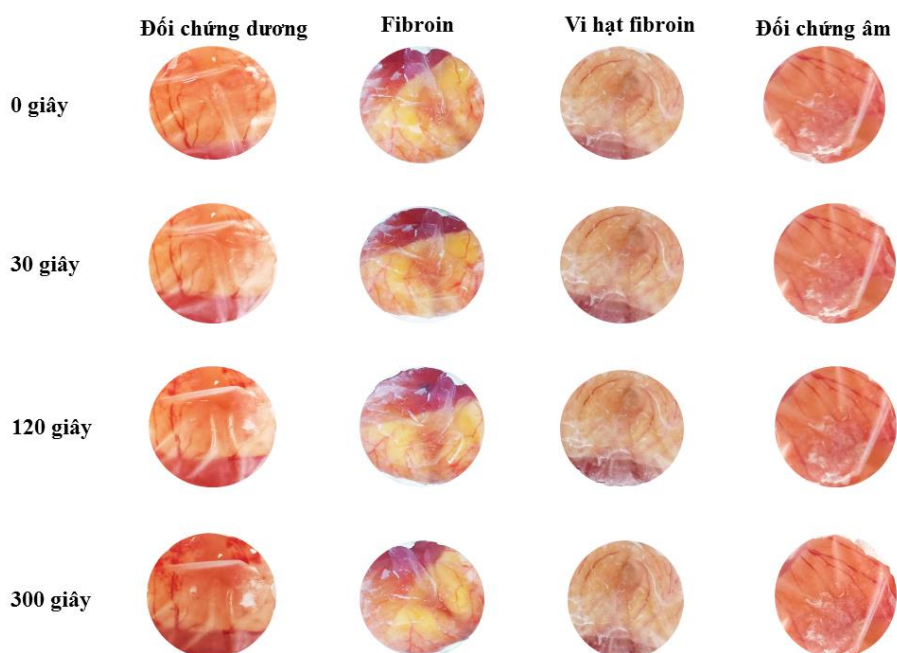
Đối với hệ vi hạt fibroin sau khi ngâm trong môi trường acid (fibroin-HCl, pH 1,2), giá trị CI giảm đáng kể ở cả hai vùng amide I và amide II (CI_{IRI} giảm còn 0,488 và CI_{IRII} còn 0,457). Sự giảm rõ rệt này cho thấy môi trường acid đã ảnh hưởng đến cấu trúc fibroin, khả năng do quá trình proton hóa các nhóm chức amide dẫn đến làm đứt gãy các liên kết hydro nội/liên phân tử, do đó thay đổi mức độ kết tinh của vật liệu. Trong khi đó, hệ vi hạt fibroin được xử lý trong môi trường đệm phosphate (fibroin-PBS, pH 6,8) cho thấy độ kết tinh hầu như không thay đổi so với fibroin ban đầu ($CI_{IRI} = 0,501$ và $CI_{IRII} = 0,484$). Kết quả này cho thấy môi trường phosphate giúp bảo toàn cấu trúc fibroin hiệu quả hơn, duy trì ổn định độ kết tinh của vật liệu trong điều kiện mô phỏng ruột non.

Bảng 2. Độ kết tinh (CI) của fibroin, hệ vi hạt fibroin và hệ vi hạt fibroin trong môi trường acid HCl pH 1,2 và môi trường đệm phosphate pH 6,8, mô phỏng đường tiêu hóa.

Mẫu	CI _{IRI}	CI _{IRII}
Fibroin	0,501	0,490
Vi hạt fibroin	0,502	0,472
Vi hạt fibroin-HCl	0,488	0,457
Vi hạt fibroin-PBS	0,501	0,484

3.4. Kết quả đánh giá mức độ gây kích ứng

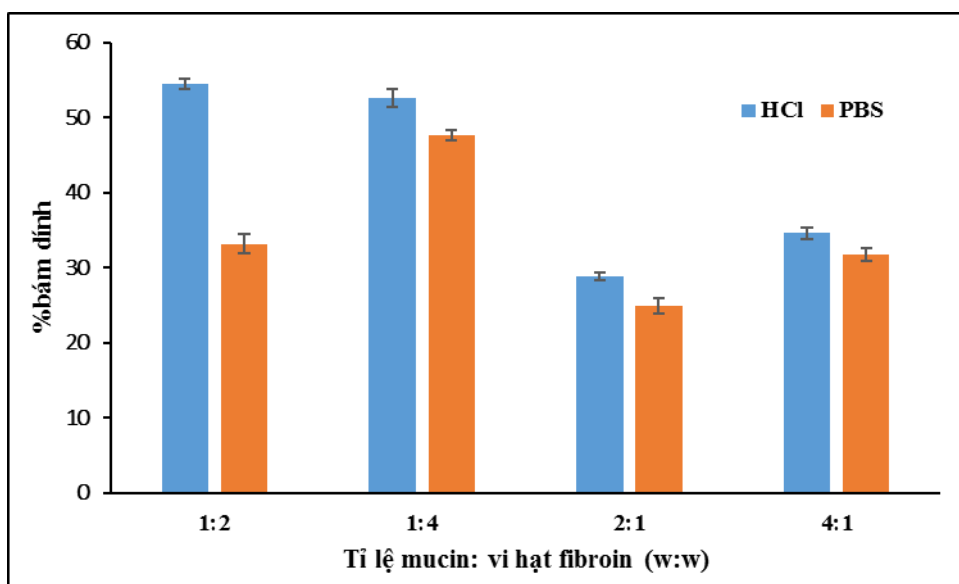
Trong nghiên cứu này, SDS, một chất hoạt động bề mặt mạnh có khả năng phá hủy cấu trúc lipid và protein của màng CAM, được sử dụng làm mẫu đối chứng dương. Khi tiếp xúc với màng CAM, SDS gây tổn thương tế bào nội mô, dẫn đến phù nề, vỡ mạch và xuất huyết, điểm số kích ứng là 13 (**Hình 5**). Ngược lại, dung dịch NaCl 0,9% đóng vai trò đối chứng âm vì đã được chứng minh an toàn hoàn toàn đối với màng tế bào (điểm số kích ứng là 0). Kết quả đánh giá theo phương pháp HET-CAM cho thấy dung dịch fibroin không gây ra bất kỳ phản ứng kích ứng nào; các mạch máu trên màng CAM không có dấu hiệu bị đông, vỡ, hay xuất huyết, cấu trúc màng vẫn giữ nguyên vẹn so với đối chứng âm (điểm số kích ứng là 0). Điều này khẳng định fibroin có độ an toàn cao, phù hợp cho các ứng dụng tiếp xúc trực tiếp với các mô sống. Đối với hệ vi hạt fibroin, kết quả tương tự cũng được ghi nhận: màng CAM vẫn nguyên vẹn trong suốt thời gian thử nghiệm, không có hiện tượng xuất huyết hay tổn thương mạch máu (điểm số kích ứng là 0). Kết quả này cho thấy fibroin và các vi hạt fibroin đều là những vật liệu an toàn, không độc tính, có khả năng tương thích sinh học tốt, do đó tiềm năng sử dụng rộng rãi trong lĩnh vực y sinh và mỹ phẩm.



Hình 5. Kết quả đánh giá kích ứng HET-CAM của fibroin và hệ vi hạt fibroin

3.5. Kết quả đánh giá khả năng bám dính của vi hạt fibroin

Khả năng bám dính của hệ vi hạt với niêm mạc trong của đường tiêu hóa đang thu hút sự quan tâm đáng kể trong lĩnh vực phân phối thuốc tiên tiến. Việc kéo dài thời gian lưu của hệ vi hạt tại môi trường tiêu hóa có thể mang lại nhiều lợi ích, bao gồm tăng cường sinh khả dụng của thuốc, giảm tần suất dùng thuốc và nhằm mục tiêu điều trị hiệu quả hơn cho các bệnh lý. Sự thay đổi tỉ lệ mucin: vi hạt nhằm đánh giá khả năng bám dính của vi hạt tại các vị trí mà khối lượng mucin là khác nhau trong hệ tiêu hóa, đồng thời xác nhận rằng khi khối lượng mucin tăng hoặc giảm thì hiệu quả bám dính của hệ vi hạt bị ảnh hưởng theo xu hướng như thế nào, ngược lại khối lượng hạt thay đổi cho thấy trong cùng một khối lượng mucin thì khả năng bám dính tối đa lượng hạt đạt bao nhiêu. Kết quả đánh giá cho thấy hệ vi hạt fibroin có khả năng bám dính tốt hơn trong điều kiện acid, tương đương với môi trường pH dịch vị dạ dày (**Hình 6**). Tỷ lệ mucin:vi hạt fibroin đạt hiệu suất bám dính cao nhất là 1:2, với giá trị là $54,48 \pm 0,73\%$. Khi giữ nguyên khối lượng mucin và tăng dần lượng vi hạt fibroin, khả năng bám dính không tăng đáng kể, điều này chứng tỏ hiệu quả bám dính của hạt đã đạt trạng thái bão hòa ở tỉ lệ 1:2. Ngược lại, khi tăng khối lượng mucin (tỷ lệ 2:1 và 4:1), phần trăm bám dính lại có xu hướng giảm xuống. Hiện tượng này có thể được giải thích do giới hạn diện tích bề mặt vi hạt, lượng mucin bám trên bề mặt hạt đã đạt cực đại, việc tiếp tục tăng thêm lượng mucin chỉ làm tăng khối lượng ban đầu, dẫn đến hiệu suất bám dính tính theo phần trăm bị giảm. Trong môi trường đệm phosphate (pH 6,8), mucin tồn tại ở trạng thái tích điện âm; do đó, xuất hiện lực đẩy tĩnh điện với các vi hạt fibroin, vốn cũng mang điện tích âm, làm giảm khả năng bám dính của hạt. Hệ vi hạt fibroin bám dính mucin chủ yếu dựa trên sự tương tác của fibroin và mucin. Cụ thể, vi hạt fibroin có thể tương tác với mucin thông qua các liên kết hydro, các nhóm hydroxyl, amine, carboxyl trên hạt có thể tạo liên kết hydro với nhóm hydroxyl và carboxyl của mucin. Tương tác kỵ nước có thể xảy ra vì fibroin có cả đầu ưa nước và kỵ nước. Ngoài ra, lực van der Waals có thể hỗ trợ tương tác của vi hạt fibroin và mucin (Muhammad & Joshua, 2022). Tóm lại, với khả năng bám dính ở cả hai môi trường dạ dày và ruột non tương đối cao, hệ vi hạt fibroin rất thích hợp được ứng dụng để vận chuyển hoạt chất qua đường tiêu hóa, giúp tăng thời gian lưu giữ hoạt chất và tăng khả năng hấp thu thuốc, góp phần làm tăng sinh khả dụng được chất.



Hình 6. Kết quả đánh giá khả năng bám dính của hệ vi hạt fibroin

4. Kết luận

Nghiên cứu đã thành công trong việc chiết xuất fibroin từ nguồn kén tằm tại Nam Định, đồng thời bào chế được hệ vi hạt fibroin với hiệu suất đạt $72,83 \pm 2,25\%$. Các vi hạt fibroin thu được có kích thước trung bình là $0,167 \mu\text{m}$, phù hợp cho các ứng dụng dẫn truyền thuốc. Kết quả phân tích tính chất hóa lý cho thấy fibroin và vi hạt fibroin có cấu trúc tương đồng và hệ vi hạt fibroin thể hiện độ bền vững cao hơn. Đánh giá tính an toàn bằng phương pháp HET-CAM đã chứng minh rằng cả fibroin và hệ vi hạt fibroin đều không gây ra kích ứng, đảm bảo khả năng tương thích sinh học cao. Hệ vi hạt fibroin với tính tương thích sinh học và khả năng bám dính rất thích hợp được ứng dụng trong các dạng bào chế được phẩm đường uống, để vận chuyển hoạt chất qua đường tiêu hóa, giúp tăng thời gian lưu giữ hoạt chất và tăng khả năng hấp thu thuốc, góp phần làm tăng sinh khả dụng được chất. Tuy nhiên, nghiên cứu chưa chỉ ra sự khác biệt về khả năng tải/giải phóng hoạt chất của hệ vi hạt fibroin có nguồn gốc Nam Định so với các loại vi hạt fibroin khác. Chính vì thế, các nghiên cứu tiếp nối có thể ứng dụng hệ vi hạt fibroin nhằm bào chế thành các dược phẩm/thực phẩm chức năng sử dụng qua đường uống bằng cách tải hoạt chất vào hệ vi hạt fibroin.

Tài liệu tham khảo

- Ki, C. S., Park, Y. H., & Jin, H. J. (2009). Silk protein as a fascinating biomedical polymer: Structural fundamentals and applications. *Macromolecular Research*, 17(12), 935–942. <https://doi.org/10.1007/BF03218639>.
- Leighton J., Nassauer J., & Tchao, R. (1985) The chick embryo in toxicology: an alternative to the rabbit eye. *Food and Chemical Toxicology*, 23(2), 293–298. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(85\)90031-6](https://doi.org/10.1016/0278-6915(85)90031-6).
- Muhammad, K. A., & Joshua, S. B. (2022) Enhancing stability and mucoadhesive properties of chitosan nanoparticles by surface modification with sodium alginate and polyethylene glycol for potential oral mucosa vaccine delivery. *Marine drugs*, 20(3), 156. <https://doi.org/10.3390/md20030156>.
- Mohamed, T.T. D., & Sara, A. (2017) HET-CAM test. Application to shampoos in developing countries. *Toxicology in Vitro*, 45(3), 393–396. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2017.05.024>.
- Nguyen, N. Y., Luong, H. V. T., Pham, D. T., Tran T. B. Q., & Dang, H. G. (2022). Chitosan-functionalized $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ nanoparticles as a potential drug delivery system. *Chemical Papers*, 76(7), 4561–4570.
- Nguyen, N. Y., Nguyen, T. N. P., Huyen, N. N., Tran, V. D., Quyen, T. T. B., Luong, H. V. T., & Pham, D. T. (2023). Onto the differences in formulating micro-/nanoparticulate drug delivery system from Thai silk and Vietnamese silk: A critical comparison. *Heliyon*, 9(6), e16966. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16966>.
- Pham, D. T., Nguyen, D. X. T., Lieu, R., Huynh, Q. C., Nguyen, N. Y., Quyen, T. T. B., & Tran, V. D. (2023). Silk nanoparticles for the protection and delivery of guava leaf (*Psidium guajava* L.) extract for cosmetic industry, a new approach for an old herb. *Drug Delivery*, 30(1). <https://doi.org/10.1080/10717544.2023.2168793>.
- Pham, D. T., Nguyen, D. X. T., Nguyen, N. Y., Nguyen, T. T. L., Nguyen, T. Q. C., Tu, A. V. T., Nguyen, N. H., & Thuy, B. T. P. (2024). Development of pH-responsive Eudragit S100-functionalized silk fibroin nanoparticles as a prospective drug delivery system. *PLoS ONE*, 19, 1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0303177>.
- Pham, D. T., Nguyen, T. L., Nguyen, T. T. L., Nguyen, T. T. P., Ho, T. K., & Nguyen, N. Y.

- (2023). Polyethylenimine-functionalized fibroin nanoparticles as a potential oral delivery system for BCS class-IV drugs, a case study of furosemide. *Journal of Materials Science*, 58, 9660–9674. <https://doi.org/10.1007/s10853-023-08640-y>.
- Pham, D. T., Saelim, N., & Tiyafoonchai, W. (2018). Crosslinked fibroin nanoparticles using EDC or PEI for drug delivery: physicochemical properties, crystallinity and structure. *Journal of Materials Science*, 53, 14087–14103.
- Pham, D. T., & Tiyafoonchai, W. (2020). Fibroin nanoparticles: a promising drug delivery system. *Drug Delivery*, 27(1), 431–448. <https://doi.org/10.1080/10717544.2020.1736208>.
- Thao, N. T. P., Ha, P. T. M., Ngo, H. K., Nguyen, N. Y., Luong, H. V. T., Quyen, T. T. B., Tuan, N. T., Nguyen, N. H., & Pham, D. T. (2025). Co-delivery of hydroxyapatite nanoparticles and methylprednisolone using sodium alginate/silk fibroin hydrogel for simultaneous bone mineralization and anti-inflammation actions. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 106, 106699. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2025.106699>.
- Wenk, E., Merkle, H. P., & Meinel, L. (2011). Silk fibroin as a vehicle for drug delivery applications. *Journal of Controlled Release*, 150(2), 128–141. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.11.007>.
- Yang, P., Dong, Y., Huang, D., Zhu, C., Liu, H., Pan, X., & Wu, C. (2019). Silk fibroin nanoparticles for enhanced bio-macromolecule delivery to the retina. In *Pharmaceutical Development and Technology*, 24(5), 575–583. <https://doi.org/10.1080/10837450.2018.1545236>.
- Zhou, C-Z., Confalonieri, F., Jacquet, M., Perasso, R., Li, Z-G., & Janin, J. (2001) Silk fibroin: Structural implications of a remarkable amino acid sequence. *PROTEINS: Structure, Function, and Bioinformatics*, 44(2), 119–122. <https://doi.org/10.1002/prot.1078>.