آزمایش شماره ۳۴

# سنتز نانوذرات کیتوسان به روش ژل شدن یونی

## ۱- هدف

ساخت نانوذرات کیتوسان به روش ژل شدن یونی و آشنایی با کاربردهای آن

۲-مقدمه

امروزه با توجه به پیشرفت فناوری نانو سهم بسزای آن را در صنایع مختلف نمی‌توان نادیده انگاشت. یکی از پلیمرهای زیست سازگار با قابلیت تجزیه بیولوژیکی و عدم سمی بودن کیتوسان است. کیتین و کیتوسان، به عنوان آمینوپلی ساکاریدهای طبیعی، به دلیل داشتن ساختار بی نظیر خصوصیات چند بعدی و عملکرد بالا توجه زیادی را در صنایع به ویژه در نساجی، پزشکی، مهندسی بافت، ترمیم زخم‌ها و رهایش دارو، پانسمان زخم، غشاهای تصفیه پساب و صنایع آرایشی بهداشتی به خود معطوف کرده‌اند. به علاوه اصلاح شیمیائی این بیو پلیمرها، بهبود حلالیت آن‌ها در محیط‌های آبی یا حلال‌های آبی را در پی داشته است که این امر موجب افزایش فعالیت‌های بیولوژیکی و نیز افزایش کاربرد آن‌ها شده است. چنانچه این ماده وارد فاز نانو شود سطح وسیعی از منسوج را با مقادیر اندکی از این ماده پوشش خواهد داد. نانوکیتوسان به منظور افزایش نسبت مساحت سطحی به حجم و افزایش کاربرد این بیوپلیمر می‌باشد.

## ۳- تئوری آزمایش

کیتین و کیتوسان ( کیتوزان ) به عنوان یک آمینو پلی ساکارید طبیعی که دارای ساختمان بی‌نظیر و خصوصیاتی چند منظوره هستند به طور وسیعی در پزشکی و صنعت مورد استفاده قرار می‌گیرند. از جمله خصوصیات بارز آنها می توان به سازگاری زیستی بالا، زیست تخریب پذیری قابل قبول در کنار سمیت پایین، همچنین خواص آنتی باکتریال و ضدحساسیت آنها اشاره کرد. علاوه بر این موارد، خصوصیات بیولوژیکی چون چسبندگی زیستی، ضد سرطان، ضد میکروب، کاهش دهنده التهاب و درد، آنتی اکسیدان، منعقد کننده خون و کاهش دهنده کلسترول، آنها را از دیگر پلیمرهای زیستی متمایز کرده است.

کیتوسان به دلیل ماهیت پلی کاتیونی، می تواند به عنوان یک عامل لخته کننده عمل کند و همچنین می تواند به عنوان یک عامل کیلیت کننده، یونهای فلزات سنگین را به دام بیندازد. کیتین از منابع مختلفی بدست می‌آید و تاکنون بیش از ۳۰۰ منبع مختلف از انواع بی‌مهرگان دریایی، قارچها، باکتری‌ها، گیاهان، جلبک‌ها، نرمتنان، دیاتومه ها، مخمرها، حشرات و غیره مورد مطالعه تحقیق قرار گرفته است و بیش از ۳۰۰ نوع از مشتقات آن در صنایع مختلف داروسازی، آرایشی، زیست فنآوری، کشاورزی، غذایی، شیمیایی و غیره به کار برده شده است.

کاربردها

نانوکیتوسان به دلیل ویژگی‌های منحصربه‌فردی مانند زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری، خاصیت ضدباکتریایی و توانایی به دام انداختن فلزات سنگین، در صنایع مختلف کاربرد دارد که به صورت خلاصه بررسی می‌شود:

۱. تصفیه فاضلاب و مهندسی آب

لخته‌کنندگی قوی- جذب فلزات سنگین- از بین بردن آلودگی‌های میکروبی

۲. صنایع کاغذسازی و بسته‌بندی

افزایش استحکام و ماندگاری کاغذ - خاصیت ضدمیکروبی

ایجاد فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر: نانوکیتوسان می‌تواند به‌عنوان یک پوشش طبیعی برای بسته‌بندی مواد غذایی حساس مانند گوشت و لبنیات استفاده شود و ماندگاری آن‌ها را افزایش دهد.

۳. صنایع نساجی

ضدباکتری و ضدبو- کاهش حساسیت پوستی- افزایش مقاومت پارچه

۴. صنایع غذایی

افزایش ماندگاری مواد غذایی -جلوگیری از اکسیداسیون- بهبود بافت و کیفیت غذا در کشاورزی - ایجاد فیلم محافظ برای محصولات کشاورزی- افزایش مقاومت گیاهان به بیماری‌ها - بهبود جذب مواد مغذی

۵. پزشکی و بیومدیسین

دارورسانی هوشمند - پانسمان‌های ضدمیکروبی- همودیالیز و تصفیه خون- لنزهای تماسی زیست‌سازگار مهندسی بافت و ارتوپدی

۶. مهندسی پزشکی و داروسازی

رهایش کنترل‌شده داروهای ضدسرطان- واکسن‌های نانویی - ژن‌درمانی

۷. زیست‌تصویربرداری و تشخیص پزشکی

حامل عوامل کنتراست در MRI و CT-Scan نانوکیتوسان می‌تواند در انتقال مواد حاجب به بافت‌های بدن برای تصویربرداری بهتر استفاده شود.

تشخیص زودهنگام بیماری‌ها: نانوکیتوسان قابلیت ترکیب شدن با نانوذرات فلزی مانند طلا و نقره را دارد که در روش‌های تصویربرداری زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

نانوکیتوسان به دلیل ویژگی‌های زیستی و شیمیایی منحصربه‌فرد، کاربرد گسترده‌ای در صنایع مختلف از تصفیه آب و بسته‌بندی مواد غذایی گرفته تا پزشکی و داروسازی دارد. این ماده می‌تواند جایگزین مواد شیمیایی مضر در بسیاری از فرآیندهای صنعتی شود و به دلیل زیست‌سازگاری بالا، آینده روشنی در فناوری‌های نوین دارد.

## روش‌های سنتز نانوذرات کیتوسان

۱. روش ژل شدن یونی
۲. روش مکانوشیمیایی
۳. روش الکتروشیمیایی
۴. روش امولسیون

در این آزمایش برای سنتز نانوذرات کیتوسان روش ژل شدن یونی انتخاب شده که به صورت خلاصه بیان می‌شود.

روش ژل شدن یونی یکی از انواع روش‌های پایین به بالا است که برای تولید نانوذرات کیتوسان با خلوص بالا و یکنواختی مناسب به کار می‌رود. در واقع، ژل شدن یونی فرآیندی است که در آن کیتوسان، (یک پلی‌ساکارید طبیعی، در حضور یک عامل شبکه‌کننده مانند تری‌پلی‌فسفات TPP) به نانوذرات تبدیل می‌شود. این روش به دلیل

شرایط ملایم، زیست‌سازگاری بالا و امکان کنترل اندازه و ویژگی‌های نانوذرات، به‌طور گسترده در حوزه‌های زیست‌پزشکی، دارورسانی و مهندسی بافت مورد استفاده قرار می‌گیرد.

**روش ژل شدن یونی** از ترکیب یک محلول حاوی کیتوسان با یک ماده شبکه‌کننده مانند تری‌پلی‌فسفات (TPP) استفاده می‌کند. پس از تشکیل ژل، تغییر شرایط شیمیایی می‌تواند منجر به تشکیل نانوذرات کیتوسان شود. این روش امکان کنترل اندازه و شکل نانوذرات را فراهم می‌کند. اندازه نانوذرات تولیدشده در این روش معمولاً در محدوده ۲۰ تا ۱۰۰ نانومتر است. این آزمایش را می‌توان به‌صورت سنتز سبز با استفاده از عصاره‌های گیاهی به‌عنوان عامل احیاکننده نیز انجام داد.

## ۳- روش کار آزمایش

### مواد و تجهیزات موردنیاز

- هیتر استیرر
- سانتریفیوژ دور بالا
- بشر
- مگنت
- اسید استیک ۱%
- کیتوسان با وزن مولکولی متوسط
- سدیم تری‌پلی‌فسفات (TPP)

- هیدروکسید سدیم (NaOH) یک مولار
- آب دیونیزه

## روش انجام آزمایش روش انجام آزمایش سنتز نانوذرات کیتوسان به روش ژل شدن یونی

درصد و مولار محلول‌های مورد نیاز در این آزمایش ( محلول اسید استیک۱٪ و محلول ا مولار NaOH ) معمولا در آزمایشگاه وجود دارند، در صورت موجود نبودن، حتما از کارشناس آزمایشگاه بخواهید تا محلول‌ها را تهیه و در اختیارتان قرار دهند.

### ۱. حل کردن کیتوسان در محلول اسید استیک ۱٪

مقدار ۱ گرم پودر کیتوسان را در ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول اسید استیک ۱٪ اضافه کنید.

محلول را روی همزن مغناطیسی با دور ۸۰۰ rpm قرار دهید.

به هم زدن ادامه دهید تا کیتوسان کاملاً حل شده و یک محلول شفاف یا کدر یکنواخت تشکیل شود (ممکن است حل شدن کیتوسان چند ساعت طول بکشد، برای حل شدن سریعتر می توان کمی دما بین ۴۰ تا ۶۰ درجه داد).

### ۲. تنظیم pH محلول کیتوسان

با استفاده از پی‌اچ‌متر (pH متر) مقدار pH محلول کیتوسان را اندازه‌گیری کنید. (در صورت نبود (pH متر) از کاغذ pH نیز می توان استفاده کرد)

محلول ۱ مولار NaOH را قطره‌قطره به محلول کیتوسان اضافه کنید و همزمان هم بزنید.

این کار را تا رسیدن pH به محدوده ۴.۶ تا ۴.۸ ادامه دهید. (نکته: باید دقت کرد تا از مقدار گفته شده بیشتر نشود، چون کیتوسان در pH بیشتر از این مقدار لخته می شود).

### ۳. تهیه محلول تری‌پلی‌فسفات 0.25 (TPP) میلی‌گرم بر میلی‌لیتر

مقدار ۲۵ میلی‌گرم TPP را در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه حل کنید.

محلول را با استفاده از همزن مغناطیسی کاملاً مخلوط کنید تا TPP به‌طور یکنواخت حل شود.

### ۴. تشکیل نانوذرات کیتوسان با روش ژل شدن یونی

محلول TPP را به آرامی و قطره‌قطره با استفاده از یک سمپلر یا بورت، به محلول کیتوسان اضافه کنید.

نسبت حجمی ۱ به ۳ (یعنی یک قسمت TPP به سه قسمت کیتوزان) رعایت شود. به عنوان مثال ۳۰ میلی لیتر از محلول TPP به ۹۰ میلی لیتر محلول کیتوسان اضافه شود.

محلول را روی همزن مغناطیسی با دور ۸۰۰ rpm قرار داده و به مدت ۴۵ دقیقه در دمای اتاق هم بزنید.

طی این فرآیند، نانوذرات کیتوسان به‌تدریج تشکیل شده و محلول کدر می‌شود.

### ۵. شستشو و جداسازی نانوذرات کیتوسان

محلول را در سانتریفیوژ با دور ۱۰,۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه قرار دهید تا نانوذرات ته‌نشین شوند. (نکته: اگر سانتریفیوژ دور بالا در دسترس نبود، با سانتریفیوژ معمولی نیز می توان انجام داد، ولی مقدار نانوذرات ته نشین شده کمتر خواهد بود)

مایع رویی را جدا کرده و رسوب به‌دست‌آمده را با آب دیونیزه چندین مرتبه شستشو دهید تا یون‌های اضافی از بین بروند.

انجام مرحله شش آزمایش به صورت اختیاری بوده و آنالیزهای ذکر شده برای تایید و اندازه نانو ذرات سنتز شده می‌باشد.

## ۶. بررسی و تأیید اندازه نانوذرات (مرحله اختیاری)

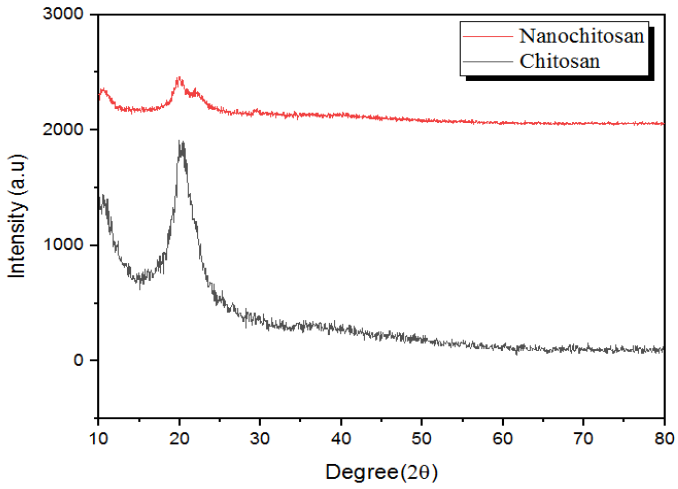
برای تعیین اندازه و مورفولوژی نانوذرات، می‌توان از طیف‌سنجی پراش اشعه ایکس (XRD) یا میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) استفاده کرد.

### نکات ایمنی و توصیه‌ها:

هنگام کار با اسید استیک و NaOH از دستکش و عینک ایمنی استفاده کنید. و حتما آزمایش را با کمک مربی یا کارشناس انجام دهید. هنگام هم زدن محلول‌ها، از سرعت بیش‌ازحد زیاد استفاده نکنید تا از ایجاد حباب و مشکلات احتمالی جلوگیری شود. تمامی آزمایش‌ها را در محیط دارای تهویه مناسب انجام دهید.

آنالیز XRD مربوط به نانوذرات کیتوسان

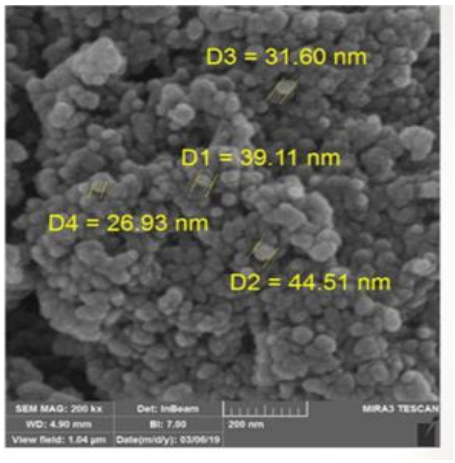
الگوی پراش کیتوسان و نانوکیتوسان استخراجی حاصل از آنالیز XRD در زوایای ۱۰ و ۲۰ = 2Θ درجه نشان دهنده ساختار کیتوسان است که با کارهای دیگران مطابقت دارد، همچنین برای نانوکیتوسان مشاهده می‌شود که پیک‌ها پهن‌تر شده و شدت آنها کمتر شده است و در واقع پهن شدن پیک به‌دلیل سایز ریزتر نانوکیتوسان ایجاد می‌شود (شکل شماره ۱).




شکل (۱): آنالیز XRD کیتوسان و نانوکیتوسان

## آنالیز FESEM مربوط به نانوذرات کیتوسان

مورفولوژی نانو کیتوسان با کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FESEM) مورد مطالعه قرار گرفت. شکل (۱) نتایج حاصل از (FESEM) تصویر میکروسکوپی نانونانوکیتوسان را به نمایش می‌گذارد. همانطور که مشاهده می شود ذرات دارای شکل کروی و در ابعاد چند ده نانومتری هستند.




شکل (۲) تصویر میکروسکوپی الکترونی روبشی نانوذرات نانوکیتوسان

## ۵- پرسش

نقش pH در تشکیل نانوذرات کیتوسان به روش ژل شدن یونی چیست؟

چگونه تغییر pH بر اندازه و پایداری نانوذرات تأثیر می‌گذارد؟

اگر نسبت حجمی تغییر کند، آیا اندازه و توزیع نانوذرات تغییر خواهد کرد؟

آیا می‌توان به‌جای TPP از عامل‌های شبکه‌کننده دیگری برای سنتز نانوذرات کیتوسان استفاده کرد؟

آیا نانوذرات کیتوسان دارای خاصیت ضدمیکروبی هستند؟ چگونه این خاصیت قابل ارزیابی و بهینه‌سازی است؟

روش‌های مناسب برای تأیید و آنالیز نانوذرات کیتوسان چیست؟ چه تکنیک‌هایی مانندXRD ، SEM و DLS برای بررسی ساختار و اندازه نانوذرات مناسب‌اند؟

طراح: مرضیه آزاد فلاح