

The effect of Chitosan Concentration Change and the Effect of Chitosan Solution pH Change on the Structural Properties of Chitosan Nanoparticles Made by Ionic Gelation Method

Najmesadat Payam*¹, Alireza Razeghizadeh², Vahdat Rafee³

Received: 2018.09.30

Accepted: 2020.01.25

Abstract

In this study, chitosan nanoparticles were prepared by ionic gelation method. Three concentrations of 2 mg/ml, 4 mg/ml and 10 mg/ml were prepared to evaluate the effect of chitosan concentration on the size of chitosan nanoparticles. The results showed that with increasing chitosan concentration, the particle size of the chitosan nanoparticles becomes larger. In the best conditions, particles with average size of 90 nm was obtained. In order to evaluate the effect of chitosan solution pH change on the size of chitosan nanoparticles, the effect of two pHs, 5.0 and 8.4 on all three concentrations of chitosan solution was investigated. The results showed that with increasing chitosan solution pH, the particle size of the chitosan nanoparticles becomes smaller. In the best conditions, in pH equal to 8.4, particles with average size of 90 nm for concentration of 2 mg/ml, average size of 106 nm for concentration of 4 mg/ml, average size of 124 nm for concentration of 10 mg/ml were obtained. In these two examinations, scanning electron microscope images show the chitosan nanoparticle's sticking and sponge. FTIR spectra were recorded for the specimens and the formation of nanoparticles proved to be due to the disappearance of a peak in the spectrum of crossing and the creation of two new peaks in the spectrum due to the ionic crosslinking between phosphoric ions and amine groups ions.

Keywords: *Chitosan, Sodium Tripolyphosphate, Ionic Gelation.*

¹ Msc Student, Faculty of Science, Department of Physics, Payame Noor University, Tehran, Iran. (Corresponding Author). Email: najmesadatpayam@gmail.com

² Assistant Professor. Faculty of Science, Department of Physics, Payame Noor University, Tehran, Iran. Email: alirezarazeghizadeh@yahoo.com.

³ Coach. Faculty of Science, Department of Physics, Payame Noor University, Tehran, Iran. Email: v.rafee@gmail.com

دوفصلنامه علمی فیزیک کاربردی ایران، دانشگاه الزهرا
سال هشتم، پیاپی ۱۵، پاییز و زمستان ۱۳۹۷

اثر تغییر غلظت کیتوزان و اثر تغییر pH محلول کیتوزان در خواص ساختاری نانوذرات کیتوزان ساخته شده به روش ژله‌ای شدن یونی^۱

نجمه سادات پیام^{۲*}، علیرضا رازقی زاده^۳، وحدت رفیعی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۷/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۰۵

چکیده

در این پژوهش نانوذرات کیتوزان به روش ژله‌ای شدن یونی تهیه شدند. به منظور بررسی اثر تغییر غلظت کیتوزان در اندازه نانوذرات کیتوزان، سه غلظت ۲mg/ml و ۴ mg/ml و ۱۰ mg/ml تهیه شد. نتایج نشان داد که هر چه غلظت کیتوزان افزایش پیدا می کند، اندازه نانوذرات کیتوزان نیز افزایش می یابد. در بهترین شرایط ذراتی با میانگین اندازه ۹۰ نانومتر حاصل شد. به منظور بررسی اثر تغییر pH محلول کیتوزان بر اندازه نانوذرات کیتوزان، اثر دو pH، ۵٫۰ و ۸٫۴ بر هر سه غلظت محلول کیتوزان، بررسی شد. نتایج نشان داد که هر چه pH محلول کیتوزان افزایش می یابد، اندازه نانوذرات کیتوزان کاهش می یابد. در بهترین شرایط در pH برابر با ۸٫۴، ذراتی با میانگین اندازه ۹۰ نانومتر برای

¹ DOI: 10.22051/jap.2020.22307.1104

^۲ دانشجوی، گروه فیزیک، دانشگاه پیام نور صندوق پستی ۱۹۳۹۵-۳۶۹۷، تهران، ایران. (نویسنده مسئول)؛

najmesadatpayam@gmail.com

^۳ استادیار، گروه فیزیک، دانشگاه پیام نور صندوق پستی ۱۹۳۹۵-۳۶۹۷، تهران، ایران؛

alirezarazeghizadeh@yahoo.com

^۴ مربی، گروه فیزیک، دانشگاه پیام نور صندوق پستی ۱۹۳۹۵-۳۶۹۷، تهران، ایران؛ rafee@gmail.com

غلظت ۲ mg/ml، اندازه ۱۰۶ نانومتر برای غلظت ۴ mg/ml و اندازه ۱۲۴ نانومتر برای غلظت ۱۰ mg/ml حاصل شد. در دو بررسی فوق، تصاویر میکروسکوپ الکترونی کلوخه‌ای شدن و اسفنجی بودن نانوذرات کیتوزان را نشان دادند. طیف‌های FTIR برای نمونه‌های موردنظر ثبت شد و تشکیل نانوذرات را با ناپدید شدن یک قله در طیف عبوری و به وجود آمدن دو قله جدید به علت برقراری اتصال یونی بین یون‌های فسفریک و گروه‌های آمینی اثبات کرد.

واژگان کلیدی: کیتوزان، سدیم تری‌پلی‌فسفات، روش ژله‌ای شدن یونی.

۱. مقدمه

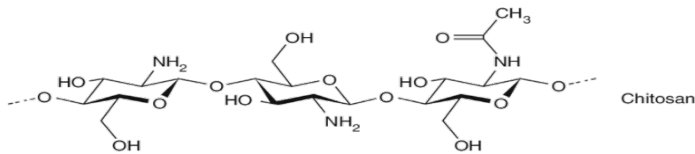
کیتوزان^۵ (CS)، مشتق آستیل‌زدایی‌شده^۶ کیتین^۷ است. کیتین، بعد از سلولز، دومین پلی‌ساکارید فراوان موجود در طبیعت می‌باشد. این پلیمر زیستی توسط تعداد زیادی ارگانسیم زنده، سنتز می‌شود و به وفور در اسکلت خارجی سخت پوستانی چون میگو و خرچنگ و حشراتی به کار رفته که باید اسکلت بیرونی نفوذ ناپذیری بسازند [۱]. همچنین در دیواره سلولی قارچ‌ها و مخمرها نیز یافت می‌شود. کیتوزان یک پلیمر زیستی است که به دلیل دارا بودن ویژگی‌های بیولوژیک نظیر فعالیت ضد میکروبی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، آثار ضد قارچی، غیرسمی بودن، توانایی تشکیل بیوفیلم، بی‌خطر بودن برای سلامتی و قیمت نازل، کاربرد فراوانی در زمینه‌های مختلفی نظیر تصفیه آب، تولید داروهای زیستی، به عنوان یک افزودنی خوراکی و نگهدارنده محصولات غذایی در صنایع غذایی و غیره پیدا کرده است [۲-۴]. بسیاری از مواد مصنوعی که امروزه در صنایع استفاده می‌شود از مواد پتروشیمی تشکیل شده‌اند. این مواد از خود باقیمانده‌هایی سمی مانند فرمالدئید و ترکیبات آلی دار جا می‌گذارند، که برای سلامتی و محیط زیست مضر هستند. از طرف دیگر این مواد از منابع تجدیدنپذیر به دست می‌آیند. محصولات سبز یا سازگار با محیط زیست، محصولاتی هستند که به دلیل اینکه در تولید آن‌ها، استفاده از مواد سمی و شیمیایی به حداقل رسیده، به محیط زیست آسیب نمی‌رسانند و برای انسان کم‌ضرر یا بی‌ضرر هستند. اصطلاح سازگار با طبیعت، در انواع زمینه‌ها مانند ظروف یک‌بار مصرف، چسب سبز، زیست‌داروها و حتی در مورد صنایع و خدمات و انواع دیگری از کالاهای مصرفی نیز به کار می‌رود. باز یافت و استفاده مجدد از مواد پتروشیمی مثل مواد پلاستیکی بسیار آلوده و

⁵ Chitosan

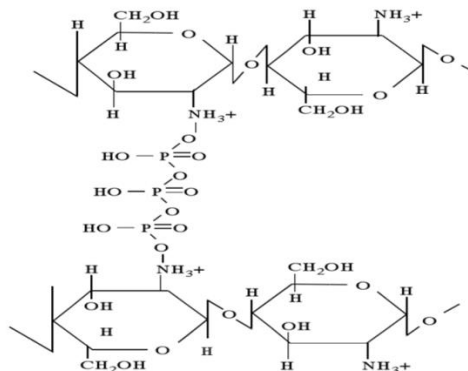
⁶ Deacetylation

⁷ Chitin

سرطان‌زاست. اما بازیافت مواد طبیعی و سازگار با محیط زیست مانند کیتوزان از روش‌های کاملاً طبیعی بوده و برای انسان و طبیعت بی‌ضرر است [۵]. این پلیمر روی زنجیره ملکولی خود علاوه بر گروه‌های هیدروکسیل، گروه‌های آمین دارد، که به علت داشتن همین گروه‌های آمینی می‌تواند در واکنش‌های شیمیایی مختلف شرکت کند [۶، ۷] (شکل ۱). برای تهیه نانوذرات کیتوزان حداقل چهار روش گزارش شده است که عبارت‌اند از: روش کمپلکس پلی‌الکترولیت، روش اتصالات عرضی امولسیون، روش نفوذ حلال امولسیفه، روش ژله‌ای شدن یونی [۸]. روش ژله‌ای شدن یونی به علت ساده بودن، عدم استفاده از حلال آلی و حرارت بالا و استفاده از حلال آب بیشتر از روش‌های دیگر استفاده می‌شود [۹]. این روش بر اساس، فرآیند اتصال عرضی توسط نیروهای جاذبه الکترواستاتیک بین گروه‌های آمینی با بار مثبت کیتوزان و گروه‌های با بار منفی پلی آنیونی نظیر سدیم تری پلی فسفات (STPP) صورت می‌گیرد (شکل ۲). سه پدیده ممکن است در حین تهیه محلول نهایی CS/ STPP مشاهده شود: اگر نانوذرات تشکیل نشوند، هیچ‌گونه تغییری در رنگ محلول مشاهده نمی‌شود یا نیمه شفاف می‌شود. در غلظت‌ها یا شرایط نامناسب دیگر ذرات توده‌ای شده و به صورت رسوب در ظرف ته‌نشین می‌شوند. در حالت آخر اگر شرایط مناسب باشد، نانوذرات با ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مناسب تولید می‌شوند و رنگ محلول شیری رنگ می‌شود [۱۰-۱۳].



شکل ۱ ساختار شیمیایی ملکول کیتوزان [۱۱].



شکل ۲ اتصال عرضی بین یون‌های مثبت آمینی و یون‌های منفی فسفریک [۱۱].

۲. مواد و سنتز نمونه‌ها

۲-۱- اطلاعات عمومی مواد و دستگاه‌ها

کیتوزان با وزن ملکولی متوسط (Med) از شرکت سیگما آلدریج خریداری شد. حدود وزن ملکولی آن، ۱۹۰-۳۱۰ kDa در شرکت سیگما آلدریج ثبت شده است. همچنین اسید استیک خالص نیز از این شرکت تهیه شد. سدیم تری پلی فسفات (STPP) از شرکت مرک آلمان خریداری شد. میانگین اندازه نانوذرات کیتوزان، با دستگاه تفرق نور دینامیک (DLS) مدل ZetaSizer Nano 3600 با استفاده از تابش نور مرئی با طول موج ۶۳۳ نانومتر تعیین شد. از دستگاه طیف سنج تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR) برای بررسی گروه‌های عاملی تشکیل شده در فرآیند تولید نانوذرات، استفاده شد. به منظور بررسی سطح نانوذرات و به دست آوردن اطلاعاتی درباره شکل، اندازه و نحوه قرارگیری ذرات در سطح جسم نانوذرات تولید شده در هر نمونه، از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FESEM) استفاده شد.

۲-۲- سنتز نانوذرات کیتوزان

در این پژوهش نانوذرات کیتوزان با استفاده از روش ژله‌ای شدن یونی تهیه شدند. برای انجام کار ابتدا اسید استیک ۱٪ و محلول NaOH، ۱ M تهیه شد. غلظت ۱ mg/mL محلول سدیم تری پلی فسفات نیز تهیه شد و pH آن با اسید استیک ۱٪، روی ۴ تنظیم شد.

بررسی اول: برای بررسی اثر تغییر غلظت کیتوزان بر اندازه نانوذرات کیتوزان، ابتدا محلول کیتوزان با غلظت ۲ mg/mL تهیه شد. برای تهیه این محلول ۰٫۲ g کیتوزان کم کم به ۱۰۰ CC اسید استیک ۱٪ در حین هم زدن اضافه شد. محلول کیتوزان ۲۴ ساعت روی استیرر مغناطیسی با دور ۴۰۰ rpm نگه داشته شد تا کاملاً حل شود. با کاغذ pH، pH محلول را اندازه گیری کردیم که در حدود ۴ بود. محلول کیتوزان یک پلی کاتیون است، در مقادیر پایین pH منبسط می شود و نانوذراتی با اندازه بزرگ تر ایجاد می کند، در حالی که در مقادیر بالاتر pH، کیتوزان جمع می شود و موجب کاهش اندازه نانوذرات می شود [۱۴]. بنابراین pH محلول کیتوزان با NaOH، ۱ M روی ۸٫۴ تنظیم شد. بعد از تهیه هر دو محلول کیتوزان و محلول سدیم تری پلی فسفات، حجمی از محلول STPP به صورت قطره قطره، به محلول کیتوزان با نسبت حجمی (۱ : ۴) (CS: STPP) اضافه شد. محلول نهایی در دمای اتاق به مدت ۴۵ دقیقه روی استیرر مغناطیسی با دور ۴۰۰ rpm هم زده شد. محلول به رنگ شیری، تغییر رنگ داد. چون در هر غلظتی از محلول کیتوزان و محلول سدیم تری پلی فسفات، نانوذرات کیتوزان تولید نمی شود، بنابراین اثر تغییر غلظت کیتوزان بر اندازه

نانوذرات کیتوزان بررسی شد. به این ترتیب غلظت‌های ۴ mg/ml و ۱۰ mg/ml نیز از محلول کیتوزان تهیه شد. برای بررسی دقیق اندازه نانوذرات تهیه شده، از هر سه نمونه با غلظت‌های مختلف محلول کیتوزان (۲ mg/ml، ۴ mg/ml، ۱۰ mg/ml)، سایر متغیرها یکسان در نظر گرفته شد. منبع کیتوزان با وزن ملکولی متوسط، غلظت سدیم تری پلی فسفات ۱ mg/ml، نسبت حجمی محلول کیتوزان به محلول سدیم تری پلی فسفات به ترتیب ۴ به ۱، pH محلول سدیم تری پلی فسفات ۴ و pH محلول کیتوزان برای هر سه غلظت روی ۸٫۴ تنظیم شد.

بررسی دوم: برای بررسی اثر تغییر pH محلول کیتوزان بر اندازه نانوذرات کیتوزان، سه محلول کیتوزان با غلظت‌های ۲ mg/ml و ۴ mg/ml و ۱۰ mg/ml تهیه شد. کیتوزان در اسید استیک ۱٪ حل شد، بنابراین محلول‌های کیتوزان اسیدی و pH اولیه آن‌ها در حدود ۴ بود. برای جمع تر شدن ملکول کیتوزان با هدف تهیه نانوذرات کوچک تر، pH نیمی از حجم هریک از محلول‌ها با استفاده از محلول NaOH، ۱ M روی ۵ تنظیم شد. یعنی pH کمی بالاتر و همچنان محیط اسیدی نگه داشته شد. pH نیمی دیگر از حجم محلول‌ها روی ۸٫۴ تنظیم شد. یعنی مقدار pH به گونه‌ای افزایش یافت که محیط محلول‌ها بازی شود، تا مقایسه‌ای بین این دو نوع pH صورت گیرد. در مجموع ۶ محلول کیتوزان تهیه شد. برای مثال، برای تهیه محلول کیتوزان با غلظت ۴ mg/ml، ۰٫۸ g کیتوزان کم کم به ۲۰۰ CC اسید استیک ۱٪ در حال هم‌زدن اضافه شد. محلول کیتوزان ۲۴ ساعت روی استیرر مغناطیسی با دور ۴۰۰ rpm نگه داشته شد تا کاملاً حل شود. سپس pH، ۱۰۰ CC از محلول کیتوزان روی ۵ و pH، ۱۰۰ CC دیگر روی ۸٫۴ تنظیم شد. بعد از تهیه هر ۶ محلول کیتوزان و محلول سدیم تری پلی فسفات، حجم مورد نظری از محلول STPP به صورت قطره قطره، به هریک از محلول‌های کیتوزان با نسبت حجمی (۴:۱): (CS: STPP) اضافه شد. محلول‌های نهایی در دمای اتاق به مدت ۴۵ دقیقه روی استیرر مغناطیسی با دور ۴۰۰ rpm هم‌زده شدند. محلول‌ها به رنگ شیری، تغییر رنگ دادند. چون به ازای هر مقدار از pH محلول کیتوزان و pH محلول سدیم تری پلی فسفات نانوذرات کیتوزان تولید نمی‌شوند، بنابراین اثر تغییر pH محلول کیتوزان بر اندازه نانوذرات کیتوزان بررسی شد. برای بررسی دقیق اندازه نانوذرات تهیه شده، از هر ۶ نمونه، سایر متغیرها یکسان در نظر گرفته شد. منبع کیتوزان با وزن ملکولی متوسط، غلظت سدیم تری پلی فسفات ۱ mg/ml، نسبت حجمی محلول کیتوزان به محلول سدیم تری پلی - فسفات ۴ به ۱، pH محلول سدیم تری پلی فسفات ۴ و غلظت‌های یکسان ۲ mg/ml، برای نمونه‌های ۱ و ۲ و غلظت‌های یکسان ۴ mg/ml، برای نمونه‌های ۳ و ۴ و غلظت‌های یکسان ۱۰ mg/ml، برای نمونه‌های ۵ و ۶ تنظیم شد. برای جداسازی فاز محلول هر سه نمونه از بررسی اول و برای

جداسازی فاز محلول هر ۶ نمونه از بررسی دوم، از دستگاه اولتراسانتریفیوژ دور بالای مدل X-Vision با سرعت ۲۰۰۰۰ rpm، به مدت ۲۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتیگراد استفاده شد. فاز مایع و ژل محلول از هم جدا شد. مایع رویی آن از لوله‌های آزمایش بیرون ریخته شد. فقط فرم ژل در لایه زیرین یا در ته لوله‌های آزمایش باقی ماند. قسمتی از این ژل‌ها از هر سه نمونه، برای انجام تست DLS به آزمایشگاه و قسمتی دیگر برای انجام تست FESEM و FTIR می‌بایست به روش انجمادی خشک می‌شد. نمونه‌ها حدود ۲۴ ساعت در دستگاه فریزدرای با دمای ۵۵- درجه سانتیگراد ماندند و خشک شدند.

۳. نتایج و بحث

در جدول ۱، نتایج آنالیز DLS هر سه نمونه از بررسی اول، نشان داده شده است. نتایج نشان داد در شرایط یکسان برای سایر متغیرها، با افزایش غلظت کیتوزان در محلول کیتوزان، اندازه نانوذرات کیتوزان بزرگ‌تر می‌شود. بهترین غلظت ۲ mg/ml بود که به تولید نانوذرات کیتوزان به اندازه ۹۰ نانومتر انجامید (شکل ۳). در جدول ۲، نتایج آنالیز DLS هر ۶ نمونه از بررسی دوم، نشان داده شده است. نتایج نشان داد در شرایط یکسان برای سایر متغیرها، با افزایش pH محلول کیتوزان، اندازه نانوذرات کیتوزان کوچک‌تر می‌شود. بهترین pH، ۸٫۴ بود که در غلظت ۲ mg/ml و ۴ mg/ml و ۱۰ mg/ml به ترتیب به تولید نانوذرات کیتوزان به اندازه ۹۰، ۱۰۶ و ۱۲۴ نانومتر انجامید. نتایج DLS برای غلظت ۴ mg/ml با دو pH متفاوت ۵٫۰ و ۸٫۴ به ترتیب در شکل ۴ و ۵ نشان داده شده است. نتایج آنالیز DLS در این پژوهش با نتایج پژوهش نیک‌منش و همکاران [۵] مطابقت دارد. نیک‌منش و همکاران از کیتوزان با وزن ملکولی متوسط با غلظت ۲ mg/ml و نسبت حجمی: ۴۱- (CS:STPP) و pH محلول کیتوزان برابر ۸٫۴، نانوذراتی با اندازه ۸۶ نانومتر تهیه کردند.

برای بررسی گروه‌های عاملی تشکیل شده در فرآیند تولید نانوذرات، آنالیز طیف‌سنجی کیتوزان با آنالیز طیف‌سنجی نمونه‌های حاوی نانوذرات کیتوزان مقایسه شد. در آنالیزهای انجام شده، اعداد موج قله‌های اصلی در جدولی کنار طیف موردنظر درج شد. این اعداد موج، روی طیف‌های مورد نظرشان نشان داده شدند. در شکل ۶، آنالیز FTIR ذرات کیتوزان، وجود قله در عدد موج $3435/4 \text{ cm}^{-1}$ در طیف عبوری، نشان‌دهنده وجود گروه‌های عاملی OH - و NH_2 - در ساختار ملکولی کیتوزان و قله در عدد موج $1636/24 \text{ cm}^{-1}$ نتیجه وجود گروه عاملی آمید -CONH- می‌باشد. در شکل ۷، مربوط به بررسی اول، آنالیز FTIR نانوذرات کیتوزان با اندازه ۹۰ nm، به وجود آمدن دو قله جدید در عدد موج 1610 cm^{-1} و 1375 cm^{-1} در طیف عبوری به

دلیل برقراری اتصال یونی بین یون‌های فسفریک و آمینی و وجود قله در عدد موج 1075 cm^{-1} نشان‌دهنده وجود $P=O$ در ساختار ملکولی نانوذرات کیتوزان است. در شکل ۸، مربوط به بررسی دوم، آنالیز FTIR نانوذرات کیتوزان نمونه ۴، قله در عدد موج 3400 cm^{-1} نشان‌دهنده وجود گروه عاملی $-OH$ ، قله در عدد موج $1575/22 \text{ cm}^{-1}$ نشان‌دهنده برقراری اتصال یونی، یون‌های NH_3^+ با O^- از یون‌های فسفریک و قله در عدد موج $1387/5 \text{ cm}^{-1}$ نشان‌دهنده گروه عاملی CH_2OH و قله در عدد موج $1087/5 \text{ cm}^{-1}$ در طیف عبوری، نشان‌دهنده وجود $P=O$ در ساختار ملکولی نانوذرات کیتوزان است. در شکل ۲، این گروه‌های عاملی و اتصالات یونی نشان داده شده‌اند. نتایج آنالیز FTIR نانوذرات کیتوزان در این پژوهش با نتایج آنالیز FTIR نانوذرات کیتوزان در پژوهش خلیلی بروجنی و همکاران [۱۲] و پژوهش اصغری و همکاران [۱۳] مطابقت دارد.

تصاویر FESEM در بررسی اول و دوم، یک ساختار همگن برای نانوذرات کیتوزان را نشان داده و نانوذرات به وضوح، به صورت کلوخه‌ای دیده می‌شوند. چون نانوذرات کیتوزان خاصیت چسبندگی زیادی دارد، فریزدرای نمونه، باعث چسبندگی بیشتر آن‌ها می‌شود. این خاصیت چسبندگی نانوذرات، باعث رغبت ما به تولید چسب نانوذرات کیتوزان شده است. همچنین وجود خلل و فرج در نانوذرات کیتوزان نشان‌دهنده خصوصیت اسفنجی آن‌ها می‌باشد. این ویژگی سبب کاربرد زیاد این ماده در فرآیندهای جذب شده است. مقیاس بالای تصاویر مربوط به نمونه ۱ از بررسی اول و مقیاس بالای تصاویر مربوط به نمونه ۴ از بررسی دوم، تأییدی بر آن است که ابعاد ذرات در حوزه نانو فناوری می‌باشد (شکل ۹ و ۱۰). در این پژوهش، از نمونه ۱، مربوط به بررسی اول، با pH محلول کیتوزان برابر با ۸٫۴، نانوذراتی با اندازه ۹۰ نانومتر به دست آمد و در پژوهش دوستگانی و همکاران [۱۱]، از نمونه موردنظر با pH محلول کیتوزان برابر با ۳، نانوذراتی با اندازه ۱۵۰ نانومتر به دست آمد. مقایسه نتایج این دو پژوهش نشان می‌دهد، هر چه pH محلول کیتوزان کمتر باشد نانوذرات بزرگ‌تری ایجاد و هر چه pH محلول کیتوزان بیشتر باشد نانوذرات کوچک‌تری ایجاد می‌شود. چون ملکول کیتوزان یک پلی‌کاتیون است، در مقادیر پایین pH منبسط می‌شود و نانوذراتی با اندازه بزرگ‌تر ایجاد می‌کند، در حالی که در مقادیر بالاتر pH، کیتوزان جمع می‌شود و موجب کاهش اندازه نانوذرات می‌شود. همچنین در پژوهش نیک‌منش و همکاران [۵]، در شرایط یکسان، نانوذراتی با اندازه ۸۶ نانومتر به دست آمد که با نتایج به دست آمده از این پژوهش مطابقت دارد (جدول ۶).

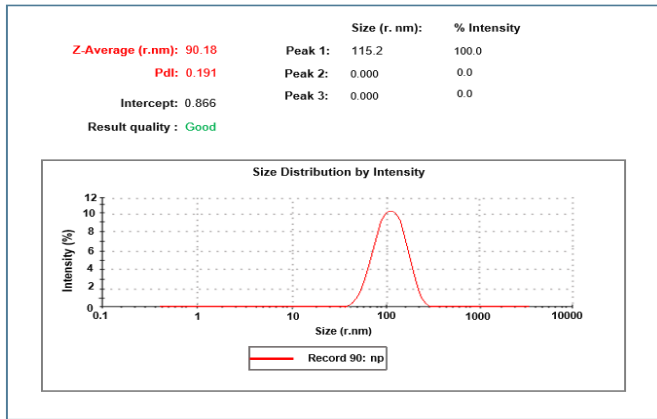
۲۲ / اثر تغییر غلظت کیتوزان و اثر تغییر pH محلول کیتوزان در خواص ساختاری نانوذرات کیتوزان ...

جدول ۱ بررسی اول: نتایج آنالیز DLS اثر تغییر غلظت کیتوزان بر اندازه نانوذرات کیتوزان.

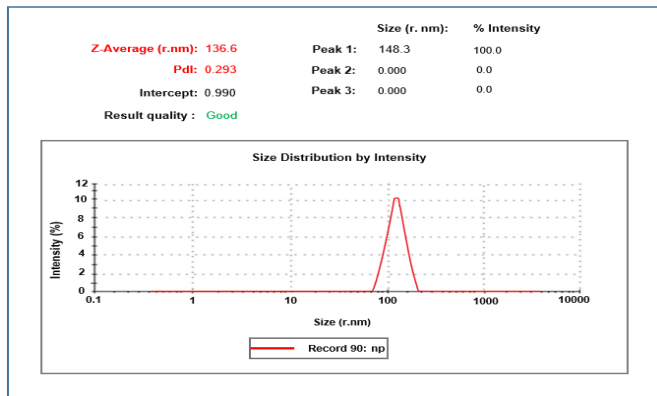
اندازه (nm)	pH (STPP)	pH (CS)	نسبت حجمی [CS: STPP]	غلظت محلول B (STPP) mg/ml	غلظت محلول A (CS) (mg/ml)	منبع	نمونه	تفاوت در غلظت (CS)
۹۰/۱۸	۴	۸,۴	۴:۱	۱ mg/ml	۲mg/ml	کیتوزان Med	۱	
۱۰۶/۰	۴	۸,۴	۴:۱	۱ mg/ml	۴mg/ml	کیتوزان Med	۲	
۱۲۴/۰	۴	۸,۴	۴:۱	۱ mg/ml	۱۰mg/ml	کیتوزان Med	۳	

جدول ۲ بررسی دوم: نتایج آنالیز DLS اثر تغییر pH محلول کیتوزان بر اندازه نانوذرات کیتوزان.

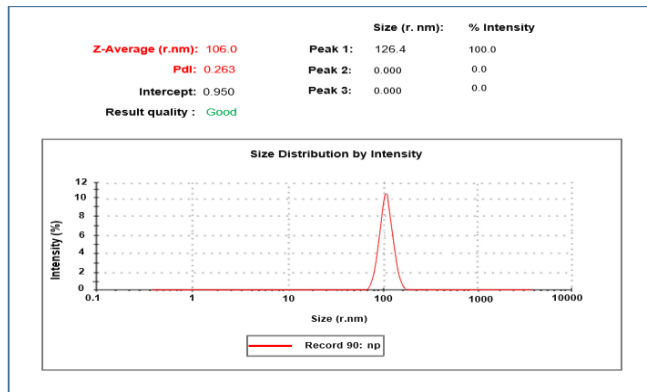
اندازه (nm)	pH (STPP)	pH (CS)	نسبت حجمی [CS: STPP]	غلظت محلول B (STPP) mg/ml	غلظت محلول A (CS) mg/ml	منبع	نمونه	تفاوت در pH محلول (CS)
۱۳۱/۵۰	۴	۵/۰	۴:۱	۱ mg/ml	۲mg/ml	کیتوزان Med	۱	
۹۰/۱۸	۴	۸,۴	۴:۱	۱ mg/ml	۲mg/ml	کیتوزان Med	۲	
۱۳۶/۶۰	۴	۵/۰	۴:۱	۱ mg/ml	۴mg/ml	کیتوزان Med	۳	
۱۰۶/۰	۴	۸,۴	۴:۱	۱ mg/ml	۴ mg/ml	کیتوزان Med	۴	
۱۵۱/۸۰	۴	۵/۰	۴:۱	۱ mg/ml	۱۰ mg/ml	کیتوزان Med	۵	
۱۲۴/۰	۴	۸,۴	۴:۱	۱ mg/ml	۱۰ mg/ml	کیتوزان Med	۶	



شکل ۳ بررسی اول: نتایج آنالیز DLS نانوذرات کیتوزان Med نمونه ۱ با نسبت حجمی ۴:۱ (CS: STPP) که pH محلول CS و STPP به ترتیب ۸٫۴ و ۴ بود.

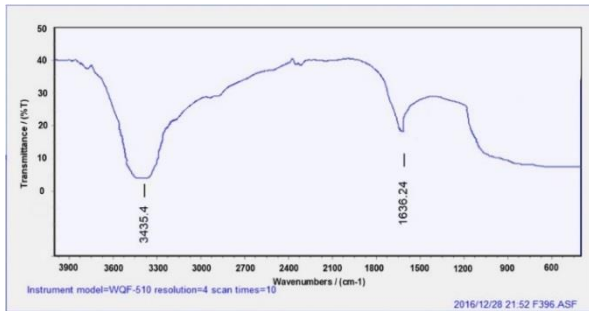


شکل ۴ بررسی دوم: نتایج DLS نانوذرات کیتوزان حاصل از نمونه ۳، که pH محلول CS، ۵ بود.

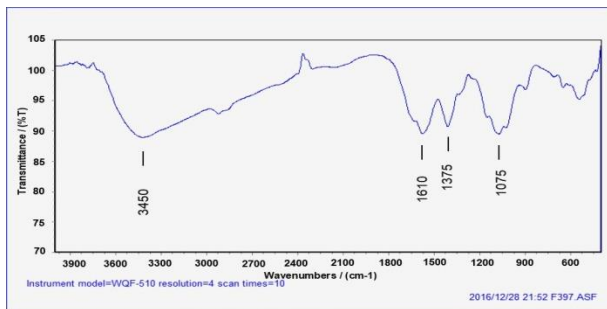


شکل ۵ بررسی دوم: نتایج DLS نمونه ۴، که pH محلول CS، ۸٫۴ بود.

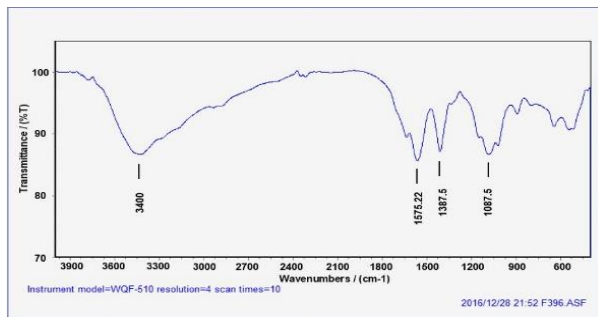
۲۴ / اثر تغییر غلظت کیتوزان و اثر تغییر pH محلول کیتوزان در خواص ساختاری نانوذرات کیتوزان ...



شکل ۶ آنالیز طیف سنجی FTIR کیتوزان.



شکل ۷ بررسی اول: آنالیز طیف سنجی FTIR نانوذرات کیتوزان نمونه ۱ با اندازه ۹۰ نانومتر.



شکل ۸ بررسی دوم: آنالیز طیف سنجی FTIR نانوذرات کیتوزان نمونه ۴ با اندازه ۱۰۶ نانومتر.

جدول ۳ اعداد موج قله‌های طیف عبوری کیتوزان.

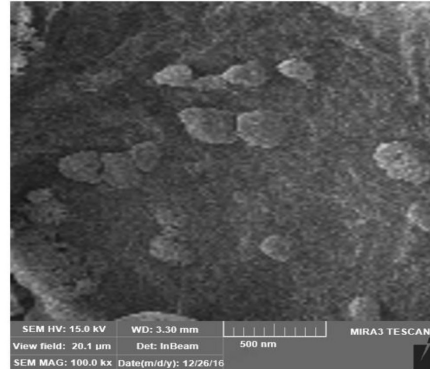
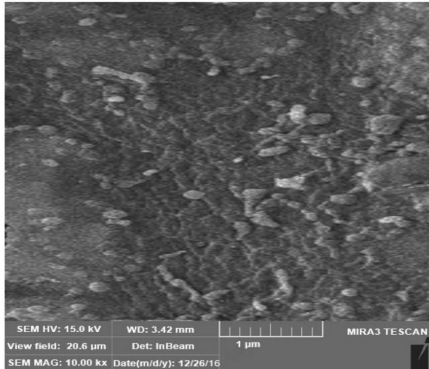
Wave numbers/ (cm ⁻¹)	Peak numbers
3435.40	1
1636.24	2

جدول ۴ بررسی اول: اعداد موج قله‌های طیف عبوری نانوذرات کیتوزان نمونه ۱.

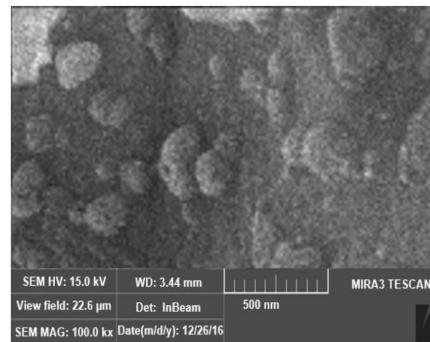
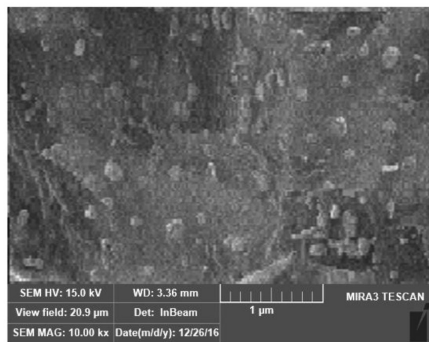
Wave numbers/ (cm ⁻¹)	Peak numbers
3450.00	1
1610.00	2
1375.00	3
1075.00	4

جدول ۵ بررسی دوم: اعداد موج قله‌های طیف عبوری نانوذرات کیتوزان نمونه ۴.

Wave numbers/ (cm ⁻¹)	Peak numbers
3400.00	1
1575.22	2
1387.50	3
1087.50	4



شکل ۹ بررسی اول: تصاویر FESEM نانوذرات کیتوزان حاصل از نمونه ۱.



شکل ۱۰ بررسی دوم: تصاویر FESEM نانوذرات کیتوزان حاصل از نمونه ۴.

جدول ۶ مقایسه نتایج این پژوهش با نتایج پژوهش دیگران.

اندازه نانوذرات (nm)	pH (CS)	نسبت حجمی (CS: STPP)	غلظت CS mg/ml	منبع کیتوزان	نانوذرات CS
۱۵۰	۳/۰	۳:۱	۱	کیتوزان Med	دوستگانی و همکاران (۱۳۸۶) [۱۱]
۸۶	۸,۴	۴:۱	۲	کیتوزان Med	نیک منش و همکاران (۱۳۹۴) [۵]
۹۰	۸,۴	۴:۱	۲	کیتوزان Med	این پژوهش (۱۳۹۷)

۴. نتیجه گیری

در بررسی اول با افزایش غلظت کیتوزان به سدیم تری پلی فسفات گر انرژی محلول افزایش پیدا می کند، در نتیجه مقاومت فاز مایع در برابر پراکنده شدن افزایش پیدا کرده و اندازه نانوذرات تولیدی افزایش می یابد. به عبارت دیگر، چگالی ماده ایجاد کننده پیوندهای عرضی یعنی سدیم تری پلی فسفات در محلول کمتر شده و چگالی ملکول های کیتوزان با بار مثبت در محلول افزایش یافته و به دلیل پیوندهای درون زنجیره ای هیدرژونی قوی که بین ملکول های کیتوزان وجود دارد تمایل کمتری به برقراری پیوندهای عرضی با STPP نشان می دهند. از این رو با کاهش پیوندهای عرضی، اندازه نانوذرات افزایش می یابد.

در بررسی دوم با اضافه کردن NaOH، ۱M، بیشتری به محلول کیتوزان، pH افزایش یافته و تعداد یون های OH⁻ در محلول افزایش می یابد. یون های OH⁻ با یون های P₃O₁₀⁵⁻ سدیم تری پلی فسفات برای اتصال به گروه های NH₃⁺ کیتوزان در رقابت هستند و به علت کوچک تر بودن به راحتی به درون کیتوزان نفوذ کرده و با یون های NH₃⁺ واکنش می دهند. با کاهش چگالی یون های NH₃⁺، چگالی یون های منفی P₃O₁₀⁵⁻ که در محلول وجود دارند، بالا می رود. بنابراین یون های فسفریک می توانند به راحتی با یون های آمینی باقیمانده کیتوزان پیوند عرضی برقرار کرده و باعث پراکنده شدن بیشتر ذرات شده و نانوذرات کوچک تری تولید کنند. در این پژوهش، در بهترین شرایط در pH برابر با ۸,۴ محلول کیتوزان و غلظت کیتوزان برابر با ۲ mg/ml، ذراتی با میانگین اندازه ۹۰ نانومتر حاصل شد. این نتایج به دست آمده، با نتایج پژوهش نیک منش و همکاران [۵]، که در شرایط یکسان، نانوذراتی با اندازه ۸۶ نانومتر به دست آوردند، مطابقت دارد.

منابع

- [1] Ali, A., & Ahmed, S. A review on chitosan and its nanocomposites in drug delivery. *International journal of biological macromolecules*. (2018) 109, 273-286.
- [2] Sobhani, Z., Mohammadi Samani, S., Montaseri, H., Khezri, E. Nanoparticles of Chitosan Loaded Ciprofloxacin: Fabrication and Antimicrobial Activity. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. (2017) 7(3): 427-432.
- [3] Kong, M., Chen, X. G., Xing, K., & Park, H. J. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. *International journal of food microbiology*. (2010) 144(1), 51-63.
- [4] Zargar, V., Asghari, M., & Dashti, A. A review on chitin and chitosan polymers: structure, chemistry, solubility, derivatives, and applications. *ChemBioEng Reviews*. (2015) 2(3), 204-226.

- [5] Kouchak, M., Nikmanesh, M., Sadeghi Nejad, B. Preparation and evaluation of composite coat containing chitosan nanoparticles on cheese to improve the stability of product. General PhD Thesis in Pharmacy, School of Pharmacy, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran. (2015).
- [6] Bulmera, C., Margaritisa, A., Xenocostasb, A. Production and characterization of novel chitosan nanoparticles for controlled release of rHu-Erythropoietin. *Biochemical Engineering Journal*. (2012) pp. 61-69.
- [7] Elgadir, M. A., Uddin, M. S., Ferdosh, S., Adam, A., Chowdhury, A. J. K., & Sarker, M. Z. I. Impact of chitosan composites and chitosan nanoparticle composites on various drug delivery systems: A review. *Journal of food and drug analysis*. (2015) 23(4), 619-629.
- [8] Park, JH., Saravanakumar, G., Kim, K., Kwon, IC. "Targeted delivery of low molecular drugs using chitosan and its derivatives". *Advanced Drug Delivery Reviews*. (2010) Vol, 62, pp. 28-41.
- [9] Patel, J.K., Jivani, N.P. Chitosan based nanoparticles in Drug Delivery. *International journal of pharmaceutical sciences and Nanotechnology*. (2009) pp. 517-522.
- [10] Kamat, V., Bodas, D., Paknikar, K. Chitosan nanoparticles synthesis caught in action using microdroplet reactions. (2016). *Scientific reports/ 6: 22260/ DOI: 10.1038/srep22260*.
- [11] Doustgani, A., Vashghani Farahani, E., Imani, M. Preparation of chitosan nanoparticles and optimization of its effective variables. Second Student Conference on Nanotechnology, Kashan University, Institute of Nanoscience and Nanotechnology. (2008). https://www.civilica.com/Paper-NANOSC02-NANOSC02_041.html (in Persian).
- [12] Khalili Burojeni, M., Anvaripour, B., Motavasel. M., Jadidi, N. Production of chitosan nanoparticles and study of factors affecting the size of nanoparticles. First national conference on nanotechnology, Islamic Azad University of Ahvaz. (2012). https://www.civilica.com/Paper-AHVAZNANO01-AHVAZNANO01_058.html (in Persian).
- [13] *Modares Journal of Biotechnology*. Optimization of chitosan nanoparticles synthesis. *JMBS*. (2013); 4 (2): 65-73.
- [14] Kouchak, M., Azarpanah, A. Preparation and inVitro Evaluation of Chitosan Nanoparticles Containing Diclofenac Using the Ion-Gelation Method. *Jundishapur J Nat Pharm Prod*. (2015) May; 10(2): e23082.