

تهیه کیتوسان با درجه استیل زدایی متفاوت و مقایسه روش‌های مختلف شناسایی آن

Preparation of Chitosan with Different Degree of Deacetylation and Comparison of Its Different Characterization Methods

سید مجتبی تقی زاده^{*}، میترا تک روستا، گلناز داوری، مریم یوسفی

تهران، پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، پژوهشکده علوم، گروه سامانه های نوین دارورسانی،

صندوق پستی ۱۴۹۶۵/۱۱۵

دریافت: ۸۳/۲/۲۹، پذیرش: ۸۳/۶/۳

چکیده

از پارامترهای مؤثر در تعیین خواص کیتوسان درجه استیل زدایی این پلیمر است. در این پژوهش، با استفاده از سه پلیمر اولیه کیتوسان با درجه استیل زدایی (DD) تقریباً نزدیک بهم و وزن‌های مولکولی متفاوت، ۷ نوع دیگر از این پلیمر تهیه شد. سپس، در شرایط دمایی ثابت اثر زمان روی واکنش استیل زدایی کیتوسان بررسی شد که نتایج رابطه مستقیم بین زمان انجام واکنش و درجه استیل زدایی پلیمر را نشان می‌دهد. همچنین، اثر DD و وزن مولکولی در میزان بلورینگی پودر کیتوسان بررسی شد. نتایج نشان می‌دهد DD اثر مهمی بر بلورینگی دارد، بطوری که درصد بلورینگی پس از گذر از نقطه ماکسیممی با افزایش DD دوباره کاهش می‌یابد. اندازه‌گیری وزن مولکولی پلیمرهای استیل دار شده و استیل زدایی شده به روش گرانروی سنجی تغییرات زیادی نسبت به پلیمرهای اولیه نشان می‌دهد که این تغییرات مشاهده شده به تغییرات ساختاری کیتوسان در اثر ایجاد پیوند هیدروژنی در محلول اسیدی (حلال گرانروی سنج) و نیز خطای این روش نسبت داده می‌شود. برای تعیین درجه استیل زدایی محصولات، دو روش طیف سنجی زیرقرمز و تیتراژ اسیدی با هیدروژن برمید بکار گرفته شد. نتایج نشان می‌دهد که مقدار DD گزارش شده برای کیتوسان کاملاً به نوع روش تجزیه‌ای بکار گرفته شده بستگی دارد. در تمام نمونه‌ها مقادیر DD محاسبه شده با استفاده از روش تیتراژ کردن با هیدروژن برمید بیشتر از نتایج حاصل از روش طیف سنجی زیرقرمز است. بنابراین، هنگام گزارش مقدار DD کیتوسان، ذکر روش تجزیه‌ای بکار گرفته شده ضروری است.

واژه‌های کلیدی

کیتوسان، درجه استیل زدایی، وزن مولکولی، بلورینگی، گرانروی سنجی

مقدمه

(۱-۴) استامید و ۲-داکسی -D- گلوکو پیرانوز] بعد از سلولوز فراوانترین پلی ساکارید در جهان بوده، از منابع مختلف حیوانی و گیاهی مانند پوست خرچنگ و قارچ‌ها قابل استخراج است. خواص متنوع کیتوسان باعث شده که این ماده

کیتوسان با نام علمی پلی [β-(۱-۴)-۲-آمینو -D- گلوکو پیرانوز] کوپلیمری از [β-(۱-۴)-۲-آمینو -D- گلوکان] و [β-(۱-۴)-۲-استامید و ۲-داکسی -D- گلوکان] است که از فرایند استیل زدایی بازی کیتین بدست می‌آید. کیتین با نام علمی پلی [β-

Key Words

chitosan, degree of deacetylation, molecular weight, crystallinity, viscometry

آزاد آمین در زنجیر پلیمر است، روش های مختلفی در مراجع عنوان شده است. بطور کلی این روش ها را می توان به سه گروه کلی شامل روش مستقیم، روش غیر مستقیم و روش ترکیبی دسته بندی کرد که در هر یک از این سه گروه، فنون مختلفی بکار گرفته می شود. در جدول ۱ طرح کلی از انواع روش های تعیین درجه استیل زدایی ارائه شده است [۳]. برخی از این روش ها بسیار خسته کننده و گرانقیمت اند یا ممکن است موجب تخریب نمونه شوند. از طرفی، مقدار درجه استیل زدایی پلیمر نیز محدودیتی برای انتخاب نوع روش بکار گرفته شده است. بنابراین، انتخاب نوع روش تجزیه بطور مستقیم با عدد ذکر شده به عنوان درجه استیل زدایی کیتوسان رابطه دارد. در این پژوهش، از دو روش متداول طیف سنجی زیرقرمز و تیتراکردن اسیدی با هیدروژن برمید برای تعیین درجه استیل زدایی سه نوع پلیمر اولیه و نیز ۶ نوع پلیمر تهیه شده، استفاده شده است.

تجربی

مواد

کیتوسان از پوست خرچنگ در سه وزن مولکولی زیاد، متوسط و کم و با درصد DD تقریباً یکسان از شرکت فلوکای سوئیس تهیه شد که مشخصات آنها در جدول ۲ خلاصه شده است. استیک اسید، متانول، سدیم هیدروکسید، اتر، آمونیاک (۲۵ درصد) و هیدروبرمیک اسید از شرکت مرک و سدیم هیدروکسید و متانول صنعتی از شرکت های داخلی تهیه شدند.

دستگاهها

در این پژوهش، برای انجام آزمایش های تشخیص کیفی و همچنین تعیین درجه استیل زدایی نمونه ها از دستگاه طیف سنجی (FTIR) زیرقرمز بروکر مدل FRA ۱۰۶/۵، برای تعیین ساختار بلوری نمونه های

جدول ۲ - مشخصات انواع مختلف پلیمر اولیه.

مشخصه	وزن مولکولی		
	زیاد	متوسط	کم
M_v	۷۸۰۰۰۰	۵۷۰۰۰۰	۳۶۰۰۰۰
پیک شاخص	۲۰/۱۷	۲۰/۱۷	۲۰/۵۳
XRD (۲θ)	۱۰/۴۲	۱۰/۲۴	۱۰/۰۵
DD (روش IR)	۶۷۵	۶۵	۶۵

در صنایع مختلف مانند کشاورزی، تصفیه آب و فاضلاب، غذایی، بهداشتی و آرایشی و داروسازی مورد توجه و استفاده قرار گیرد [۱،۲]. دو مشخصه مهم وزن مولکولی و بویژه درجه استیل زدایی، تعیین کننده تمامی خواص و نوع کاربرد کیتوسان است. کیتوسان مشتقی از کیتین است که مقدار گروه های استیل موجود روی زنجیر پلیمر تفاوت بین این دو پلیمر را مشخص می کند. پلیمری که ۱۰۰ درصد گروه های آمین آن استیل دار شده باشد را کیتین و پلیمر بدون گروه های آمیدی (۱۰۰ درصد گروه آمین) را کیتوسان می نامند. بطور قراردادی وجود ۵۰ درصد گروه آمیدی را به عنوان مرز بین کیتوسان و کیتین در نظر گرفته اند. یعنی پلیمر با درجه استیل زدایی (degree of deacetylation, DD) کمتر از ۵۰ درصد را کیتین و بیش از ۵۰ درصد را کیتوسان می نامند.

در این پژوهش، با استفاده از سه نوع مختلف کیتوسان در سه وزن مولکولی زیاد، متوسط و کم با DD های به ترتیب برابر ۶۷۵، ۶۵ و ۶۵ دو فرایند استیل دار کردن و استیل زدایی روی پلیمر انجام شد که در نتیجه برای هر یک از وزن های مولکولی دو نوع پلیمر دیگر با DD های ۵۵ و ۷۵ درصد تهیه شد. اعداد ذکر شده برای درجه استیل زدایی پلیمرها براساس روش طیف سنجی زیرقرمز است.

برای تعیین درجه استیل زدایی که در حقیقت تعیین مقدار گروه های

جدول ۱ - روشهای مختلف تعیین درجه استیل زدایی کیتوسان.

روش	فنون تجزیه
مستقیم (تعیین گروه N-استیل)	هیدرولیکی دورنگ نمایی دورانی (circular dichroism) طیف سنجی (UV, NMR, IR) کروماتوگرافی ژل تراوایی (GPC)
غیر مستقیم (تعیین گروه آمین)	تیتراکردن با اسید و باز تیتراکردن کلوئیدی تیتراکردن به روش metachromatic اکسایش با پریدات (مرحله ای) تجزیه سالیسیل آلدهید باقیمانده واکنش با ۲،۴-دی نیتروفلوروبنزن جذب سطحی رنگینه جذب سطح پیکریک اسید
بر اساس ترکیب بندی کلی	تجزیه عنصری کروماتوگرافی گازی تفکافت (پیرولیز)

جدول ۴ - مشخصات پلیمرهای تهیه شده با وزن مولکولی متوسط.

بلورینگی (%)	$M_V \times 10^{-5}$	$[\eta]$ (mL/g)	DD%
۲۲	۴/۷	۳/۴۴	۵۴
۴۳	۴/۴	۳/۲۲	۶۵*
۲۸	۵/۷	۴/۱۱	۷۴

* مشخصات مربوط به پلیمر اولیه است.

بررسی اثر زمان واکنش در تغییر DD، به عنوان مدل واکنش فقط برای پلیمر با وزن مولکولی زیاد در زمان‌های ۱۵، ۳۰ و ۶۰ min انجام شد (جدول‌های ۳ تا ۵). پس از انجام واکنش، محصول تا خنثی شدن کامل چند بار با آب مقطر یون زدایی شده شسته و پس از آن برای خشک شدن کامل به مدت ۳ روز در آون 50°C قرار داده شد.

تعیین وزن مولکولی

با استفاده از گرانیوی سنجی، گرانیوی ذاتی پلیمر و براساس رابطه بین ضرایب ثابت مارک - هوینگ (Mark-Houwink)، متوسط حجمی وزن مولکولی مطابق معادله زیر معین شد:

$$[\eta] = K \bar{M}_V^\alpha \quad (1)$$

که در این معادله، $[\eta]$ گرانیوی ذاتی پلیمر، \bar{M}_V متوسط حجمی وزن مولکولی پلیمر و K و α ضرایب ثابتی هستند که در سیستم حلال مورد استفاده $(0.2\text{ M NaCl}$ و $0.1\text{ M CH}_3\text{COOH})$ و در دمای 25°C به ترتیب برابر $10^{-3} \times 7.81$ و 0.93 است [۷].

تعیین درصد بلورینگی

درصد بلورینگی پلیمرها با استفاده از دستگاه پراش پرتو ایکس و به

جدول ۵ - مشخصات پلیمرهای تهیه شده با وزن مولکولی کم.

بلورینگی (%)	$M_V \times 10^{-5}$	$[\eta]$ (mL/g)	DD%
۲۰	۳	۲/۲۶	۵۵
۳۰	۳/۳	۲/۵۶	۶۵*
۳۴	۳/۶	۲/۷۱	۷۲

* مشخصات مربوط به پلیمر اولیه است.

تهیه شده از دستگاه پراش پرتو ایکس (XRD) زیمنس مدل D5000 و برای بررسی وزن مولکولی نمونه‌ها از گرانیوی سنج آبلهود مدل ۲C ساخت فرانسه استفاده شد.

روش‌ها

تهیه کیتوسان با درجه استیل زدایی مختلف

برای تهیه ۷ نوع پلیمر با وزن‌های مولکولی و DDهای مختلف از دو فرایند استیل دار کردن و استیل زدایی استفاده شد [۶-۴]. در مرحله اول برای بررسی امکان انجام واکنش و بهینه سازی شرایط واکنش این ۷ نوع پلیمر در مقیاس آزمایشگاهی (g) و پس از آن در مقیاس g ۴۵ تهیه شدند.

استیل دار کردن کیتوسان

ابتدا ۱۰۰ mL محلول ۱ درصد (وزنی/حجمی) پلیمر در حلال ۱ درصد استیک اسید آبی تهیه شد. پس از حل شدن کامل پلیمر، ۱۲۰ mL متانول سپس ۲/۸ mL محلول ۲ درصد وزنی استیک انیدرید در متانول به محلول پلیمر اضافه شد. واکنش در دمای محیط به مدت ۲ h در راکتور مجهز به همزن انجام شد. محصول بدست آمده با محلول آمونیاک در متانول (نسبت ۷ به ۳) به شکل رسوب کلونیدی از حلال جدا و رسوب حاصل تا خنثی شدن کامل چند بار با آب، متانول و اتر شستشو داده شد. محصول به مدت ۳ روز در آون 50°C قرار داده شد.

استیل زدایی کیتوسان

برای انجام واکنش استیل زدایی کیتوسان، از محلول سدیم هیدروکسید ۵۰ درصد وزنی استفاده شد. واکنش در دمای ثابت 100°C و زمان‌های ۳۰ min برای وزن‌های مولکولی متوسط و کم و ۶۰ min برای وزن مولکولی زیاد در راکتور ۰/۵ لیتری مجهز به همزن انجام شد. برای

جدول ۳ - مشخصات پلیمرهای تهیه شده با وزن مولکولی زیاد.

بلورینگی (%)	$M_V \times 10^{-5}$	$[\eta]$ (mL/g)	DD%
۲۳	۶/۸	۴/۸۵	۵۵
۴۰	۷/۸	۵/۵۰	۶۱*
۲۹	۹/۲	۶/۳۷	۶۵
۲۴	۹/۳	۶/۴۳	۷۱
۲۵	۹/۳۷	۶/۴۸	۷۵

* مشخصات مربوط به پلیمر اولیه است.

فاکتور ۱/۳۳ به نسبت A_{1655}/A_{345} برای کیتوسان کاملاً N- استیل دار شده اشاره می کند. مقدار این نسبت برای کیتوسان کاملاً استیل زدایی شده صفر است.

$$\text{Log}_{10} (DF/DE) = A_{1655} \quad \text{آمید}$$

$$\text{Log}_{10} (AC/AB) = A_{345} \quad \text{هیدروکسیل}$$

روش تیتراژ اسیدی با هیدروژن برمید

محاسبه میزان استیل زدایی به کمک روش تیتراژ اسیدی با هیدروژن برمید، مطابق روش پیشنهادی Sabnis and Block و Rogovina انجام شده است [۹، ۱۰]. بر اساس این روش ۰/۵ g کیتوسان در ۱۰۰ mL محلول هیدروبرمیک اسید (۰/۲ M) تازه تهیه شده حل شد. پس از انحلال کامل پلیمر، ۵۰ mL هیدروبرمیک اسید (۹ M) همراه با همزدن شدید به محلول پلیمری اضافه شد. پس از ۱۰ min محلول دوغابی بدست آمده به مدت ۵ min در دمای ۲۵°C در سانتریفیوژ با سرعت ۴۵۰۰ rpm قرار داده شد. سپس، نمک هیدروبرمید کیتوسان بدست آمده صاف و چند بار با مخلوط متانول و اتر (۱ : ۱) (حجمی/حجمی) شسته شد تا کاملاً خنثی شود. برای خشک کردن باقیمانده رطوبت درون هیدروبرمید کیتوسان، نمک حاصل به مدت ۶ h در دی اتیل اتر بدون آب همزده شد. سپس، محصول صاف شده و رسوب بدست آمده به مدت ۲۴ h در ۵۰°C قرار گرفت تا کاملاً خشک شده و نمک سفید رنگ هیدروژن برمید کیتوسان بدست آید. برای تیتراژ کردن نمک هیدروبرمید کیتوسان، حدود ۰/۵ g از نمک را در ۲۵۰ mL آب مقطر حل و محلول بدست آمده در مجاورت فنول فتالین به عنوان شناساگر، با حجم مشخصی از سدیم هیدروکسید ۰/۱ N استاندارد شده تیتراژ شد. مقدار مول سدیم هیدروکسید خنثی شده با مقدار مول هیدروبرمیک اسید موجود در محلول متناسب است. از طرفی، مقدار مول هیدروبرمیک اسید نیز با مقدار مول واحدهای گلوکوز آمین کیتوسانی که در ابتدا در محلول وجود داشت، متناسب است، به این ترتیب می توان درجه استیل زدایی کیتوسان را محاسبه کرد.

نتایج و بحث

تهیه انواع مختلفی از کیتوسان

نتایج بدست آمده برای انواع مختلف کیتوسان که از واکنش استیل زدایی یا استیل دار کردن پلیمرهای اولیه تهیه شده اند، در جدولهای ۳ تا ۵ نشان داده شده است. برای بررسی های ساختاری و نیز تعیین درجه استیل زدایی کیتوسان، طیف FTIR پلیمرهای تهیه شده بررسی شد. در

کمک معادله زیر محاسبه شد:

$$X_c = [F_c / (F_c + F_a)] \times 100 \quad (2)$$

که در این معادله X_c درصد بلورینگی، F_c و F_a به ترتیب مساحت نواحی بلوری و غیر بلوری پلیمر هستند که به وسیله دستگاه محاسبه و گزارش می شود.

تعیین درجه استیل زدایی

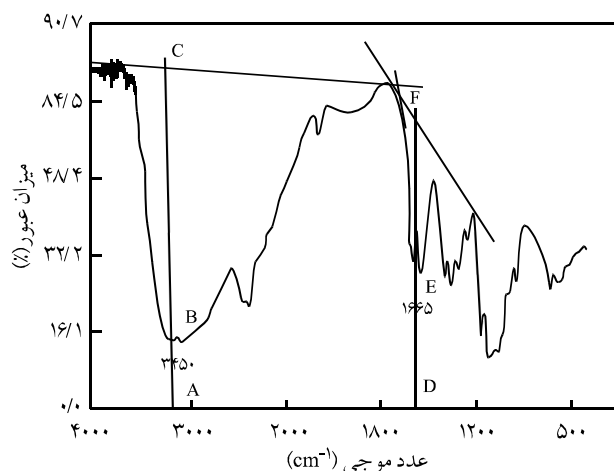
درجه استیل زدایی پلیمر با دو روش طیف سنجی زیرقرمز و تیتراژ اسیدی با هیدروژن برمید معین شد.

روش طیف سنجی زیرقرمز

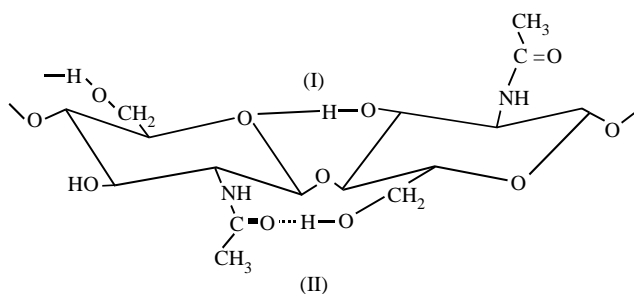
طیف زیرقرمز تمامی نمونه ها از روش تهیه قرص KBr با نسبت پلیمر به KBr برابر ۱ به ۱۰۰ بدست آمد [۸]. قبل از مخلوط کردن KBr و پلیمر هر دو جزء به مدت ۲۴ h در ۸۰°C قرار داده شدند. طیف IR نمونه ها در محدوده فرکانسی $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ برداشت شد. درجه استیل زدایی نمونه ها با کمک معادله زیر محاسبه شد [۴]:

$$DD = 100 - \left[\left(\frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times 100 \right) / 1 / 33 \right] \quad (3)$$

همانطور که در شکل ۱ مشاهده می شود، A_{1655} پیک جذبی آمید نوع اول در 1655 cm^{-1} به عنوان مقدار گروه های N- استیل و A_{3450} پیک جذبی گروه هیدروکسیل در 3450 cm^{-1} به عنوان استاندارد داخلی برای تصحیح اختلاف در غلظت پودر کیتوسان در نمونه های مختلف است.



شکل ۱- تعیین درصد استیل زدایی با روش طیف سنجی IR.

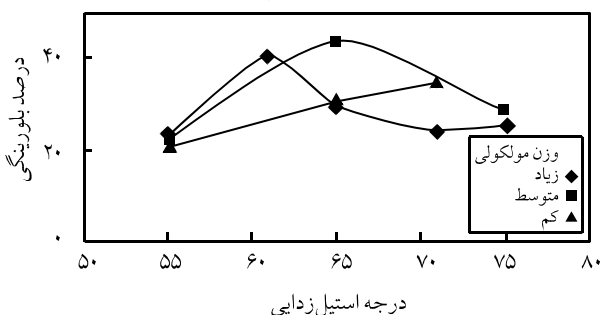


شکل ۳- تشکیل پیوندهای هیدروژنی درون مولکولی کیتوسان.

یک طرف با کاهش تعداد گروه‌های حجیم از ممانعت فضایی برای نزدیک شدن مولکول‌ها کم شده و در نتیجه احتمال درگیری بین زنجیرها افزایش می‌یابد، از طرف دیگر کم شدن تعداد گروه‌های استامید باعث کم شدن پیوندهای هیدروژنی درون مولکولی و به جای آن افزایش پیوندهای هیدروژنی بین مولکولی می‌شود. با وجود آمدن پیوندهای هیدروژنی بین مولکولی، وزن مولکولی و در نتیجه گرانیوی نیز افزایش می‌یابد.

بلورینگی

نتایج حاصل از طیف XRD پلیمرهای تهیه شده در جدول‌های ۳ تا ۵ ارائه شده است. نتایج بخوبی نشان دهنده اثر وزن مولکولی و DD روی ساختار بلوری پودر پلیمر تهیه شده است. دو پیک تفرقی شاخص برای ساختار بلوری کیتوسان (۲۰ و ۱۰-۲۰) در تمام نمونه‌ها مشاهده می‌شود. همانطور که در جدول‌های ۳ تا ۵ و شکل ۴ مشاهده می‌شود درصد بلورینگی در پلیمرهای اولیه نسبت به پلیمرهای تهیه شده بیشتر است. این اثر را می‌توان به نوع فرایند بکار گرفته شده برای تهیه نسبت داد. همانطور که Kurita [۳] به آن اشاره کرده است، نوع فرایند تهیه پلیمر یعنی همگن یا ناهمگن بودن فرایند، اثر مستقیمی روی بلورینگی محصول دارد. همانطور که مشاهده می‌شود در DD برابر ۵۵ درصد و در هر سه وزن مولکولی درصد بلورینگی نسبت به پلیمر اولیه کاهش یافته است. این اثر را می‌توان به افزایش تعداد گروه‌های جانبی



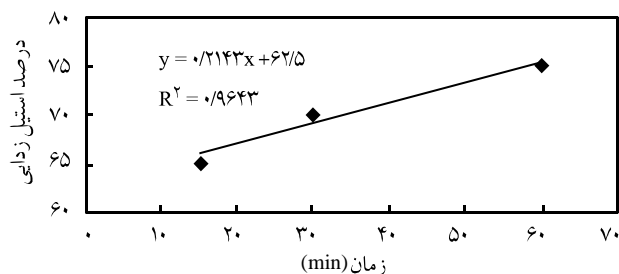
شکل ۴- مقایسه اثر DD و وزن مولکولی کیتوسان بر درصد بلورینگی.

تمامی این طیف‌ها پیک جذبی گروه‌های آمیدی در ناحیه 1655 cm^{-1} و گروه‌های هیدروکسی در ناحیه 3450 cm^{-1} مشاهده شد.

اثر زمان بر واکنش استیل زدایی پلیمر با وزن مولکولی زیاد به عنوان مدل بررسی شد. همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، در دما و شرایط ثابت واکنش، با افزایش زمان به دلیل اینکه مدت زمان بیشتری برای واکنش آبکافت گروه‌های آمیدی با محلول سدیم هیدروکسید داغ وجود دارد، درصد استیل زدایی کیتوسان تقریباً به شکل منظم افزایش می‌یابد (شکل ۲). از آنجا که پیوندهای گلیکوزیدی در زنجیر کیتوسان پیوندهای نسبتاً محکمی هستند و با توجه به نتایج گرانیوی سنجی، کاهش در وزن مولکولی پلیمر مشاهده نشده است، از طرفی، بسیاری از خواص کیتوسان به شدت با درصد استیل زدایی و وزن مولکولی آن ارتباط دارد، بنابراین برای نتیجه گیری کلی به بررسی‌های بیشتری نیاز است. البته نتایج ارائه شده در این مقاله تنها به محدوده زمانی و نیز درصد استیل زدایی پلیمرهای مصرفی این پژوهش محدود می‌شود.

گرانیوی سنجی

با در نظر گرفتن میزان درجه استیل زدایی و وزن مولکولی محصولات، نتایج حاصل از آزمون گرانیوی سنجی پلیمر و تغییرات مشاهده شده در این نتایج توجیه می‌شود. همانطور که در جدول‌های ۳ تا ۵ مشاهده می‌شود با افزایش DD، گرانیوی و در نتیجه وزن مولکولی محاسبه شده پلیمرها افزایش می‌یابد. علت این امر را می‌توان به خاصیت پلی الکترولیتی کیتوسان در محلول رقیق اسیدی (حلال گرانیوی سنج) نسبت داد [۷]. در درجه‌های DD کم به دلیل وجود پیوند هیدروژنی درون مولکولی بین گروه‌های استامید (-NHCOCH_3) و هیدروکسی متیل (-HOCH_2) و نیز α ، β -۴ گلوکوزید حلقه‌های گلوکوپیرانوز، نرمی زنجیر کاهش یافته، بنابراین زنجیر به شکل صلب در می‌آید (شکل ۳). برعکس با افزایش درجه استیل زدایی پلیمر از تعداد گروه‌های حجیم استامید موجود روی زنجیر کاسته و بر تعداد گروه‌های آمین افزوده می‌شود. این اثر احتمالاً از دوره سبب افزایش گرانیوی ذاتی می‌گردد، از



شکل ۲- اثر زمان بر تغییر درجه استیل زدایی کیتوسان (وزن مولکولی زیاد).

جدول ۶ - نتایج حاصل از مقایسه دو روش طیف سنجی و تیتراکردن اسیدی برای تعیین درجه استیل زدایی کیتوسان.

وزن مولکولی کم			وزن مولکولی متوسط			وزن مولکولی زیاد			DD	روش
۷۵	۶۵	۵۵	۷۵	۶۵	۵۵	۷۵	۶۵	۶۱		
۷۲/۵	۶۵/۱	۵۵/۱	۷۴/۳	۶۵/۱	۵۴/۴	۷۵/۴	۶۵/۳	۶۱/۶	۵۵/۹	طیف سنجی IR
۹۱/۸	۷۸	۷۶/۵	۹۴/۹	۸۰	۷۴/۹	۹۵/۴	۸۴	۷۶	۷۶/۶	تیتراکردن با HBr
۱۹/۳	۱۲/۹	۲۰/۷	۲۰/۶	۱۴/۲	۲۰/۵	۲۰	۱۸/۷	۱۴/۴	۲۰/۷	مقدار اختلاف دو روش

معایی نیز دارد. بطور مثال به دلیل اینکه اساس این روش بر پایه واکنش با گروه‌های آمین است، هنگامی که داخل پلیمر حتی مقادیر اندکی از باقیمانده‌های پروتئین ناشی از مراحل استخراج و خالص سازی از منبع اولیه موجود باشد، سبب ایجاد خطا در تعیین مقدار گروه‌های آمینی کیتوسان می‌شود، همچنین ممکن است، حتی پس از چند بار شستشو با متانول و اثر هنوز مقادیر اندکی HBr در نمک برمید کیتوسان وجود داشته باشد که سبب خطا در محاسبه مقدار سدیم هیدروکسید مصرفی برای تیتراکردن محلول نمک پلیمر می‌شود، در نتیجه مقدار DD بیشتر از مقدار واقعی آن می‌شود. همچنین، در این روش برای تعیین نقطه پایانی از شناساگر (در اینجا فنول فتالین) استفاده می‌شود که دارای خطای شخصی بسیار بالایی است، زیرا تعیین نقطه پایانی با شناساگر در افراد مختلف بسیار متفاوت است و در نتیجه میزان DD گزارش شده ممکن است کمتر یا بیشتر از مقدار واقعی آن باشد.

روش طیف سنجی IR که اولین بار توسط Robert ارائه شد [۳۸] نیز مانند روش تیتراکردن دارای مزایا و معایب مختلفی است. از جمله معایب آن می‌توان به جاذب رطوبت بودن کیتوسان اشاره کرد. همانطور که قبلاً نیز ذکر شد، در روش طیف سنجی IR از پیک جذبی OH (3450 cm^{-1}) و آمید (1655 cm^{-1}) برای محاسبه DD استفاده می‌شود که خاصیت جذب بالای رطوبت در کیتوسان سبب خطای بزرگی در تعیین شدت جذب پیک OH می‌شود، بنابراین نمونه‌هایی که طیف IR آنها برداشت می‌شود، باید کاملاً خشک باشند. اما، از مزایای متعدد این روش می‌توان به بسیار سریع و نیز ارزان بودن، همچنین حالت جامد داشتن آن اشاره کرد. در ضمن، برای تعیین DD می‌توان از خط مبنای متفاوتی استفاده کرد.

نتیجه گیری

در محدوده دمایی و زمانی که این پژوهش برای واکنش استیل زدایی کیتوسان بررسی شد، نتایج نشان می‌دهد میزان استیل زدایی پلیمر با

حجم روی زنجیر پلیمر نسبت داد. با کاهش DD، تعداد گروه‌های جانبی روی زنجیر افزایش یافته، بنابراین احتمال کنار هم قرار گرفتن زنجیرها و در نتیجه درصد بلورینگی کاهش می‌یابد. با افزایش درصد DD دو پدیده که اثر متناقض روی بلورینگی دارند، اتفاق می‌افتد. از یک طرف افزایش DD موجب کاهش تعداد گروه‌های جانبی حجم روی زنجیر شده که در نتیجه بلورینگی افزایش می‌یابد. اما، از طرف دیگر همانطور که در مبحث گرانروی سنجی نیز اشاره شد، افزایش DD سبب افزایش پیوندهای هیدروژنی بین مولکولی و شبکه‌ای شدن زنجیرها شده و در نتیجه بلورینگی کاهش می‌یابد. با توجه به نتایج بدست آمده در کیتوسان با وزن مولکولی کم، پدیده اول غالب است. اما، در پلیمر با وزن‌های مولکولی متوسط و زیاد پس از گذر از نقطه ماکسیمم، پدیده دوم غالب است. یعنی مشاهده می‌شود که در وزن مولکولی زیاد بعد از DD حدود ۶۰ درصد و در وزن مولکولی متوسط پس از ۶۵ درصد با افزایش درصد استیل زدایی، تعداد پیوندهای هیدروژنی بین مولکولی و شبکه‌ای شدن پلیمر افزایش یافته و در نتیجه بلورینگی کاهش می‌یابد. این اثر در کیتوسان با وزن مولکولی بالا به دلیل افزایش طول زنجیر تشدید می‌شود.

مقایسه روش‌های تعیین DD

در جدول ۶ مقادیر DD نمونه‌های کیتوسان تهیه شده که از دو روش طیف سنجی IR و تیتراکردن با هیدروژن برمید محاسبه شده‌اند، آمده است. نتایج نشان می‌دهد که مقادیر DD محاسبه شده از روش طیف سنجی IR پودر پلیمر با استفاده از قرص KBr بسیار کمتر از مقادیر محاسبه شده از روش تیتراکردن با HBr است. میزان اختلاف DD بدست آمده با این دو روش برای تمامی وزن‌های مولکولی و تمامی درجه‌های استیل زدایی پلیمر تقریباً یکسان است. دو روش طیف سنجی IR و تیتراکردن اسیدی دارای مزایا و معایبی اند که در ادامه به این موارد اشاره می‌شود.

از مزایای روش تیتراکردن با HBr آن است که در این روش گروه‌های آمین پروتون دار شده زنجیر مستقیماً قابل اندازه گیری اند، اما این روش

جرم مولکولی کیتوسان نیست. بررسی های انجام شده نشان می دهد وزن مولکولی، DD و همچنین روش تهیه کیتوسان اثر مهمی در خواص بلوری آن دارد. مقادیر گزارش شده برای DD کاملاً به نوع روش تجزیه ای بکار گرفته شده وابسته است. بنابراین، هنگام گزارش کردن این مقادیر، ذکر نوع روش تعیین DD نیز ضروری است.

زمان رابطه خطی دارد.

میزان گروه های جانبی روی زنجیر کیتوسان (درجه استیل زدایی) اثر قابل ملاحظه ای در انعطاف پذیری زنجیر و نیز وزن مولکولی آن دارد، نتایج حاصل از روش گرانشی سنجی به عنوان معیاری از وزن مولکولی پلیمر استفاده می شود، اما به دلایلی که ذکر شد، روش دقیقی برای تعیین

مراجع

1. Sinha V.R. and Kumaria R., Polysaccharides in Colon-specific Drug Delivery, *Int. J. Pharmace.*, **224**, 19-38, 2001.
2. Paul W. and Sharma C.P., Chitosan, a Drug Carrier for the 21 Century, *S.T. P. Pharma. Sci.*, **10**, 5-22, 2000.
3. Robert A.F.G., Chitin Chemistry, Macmillan, British, 85-102, 1992.
4. Wan Y., Ionic Conductivity of Chitosan Membranes, *Polymer*, **44**, 1057-1065, 2003.
5. Lee K.Y., Blood Compatibility and Biodegradability of Partially N-acylated Chitosan Derivatives, *Biomaterials*, **16**, 1211-1216, 1995.
6. Mirzadeh H., Yaghoobi N., Amanpour S., Ahmadi H., Mohagheghi M.A. and Hormozi F., Preparation of Chitosan Derived from Shrimps Shell of Persian Gulf as a Blood Hemostasis Agent, *Iran. Polym. J.*, **11**, 63-68, 2002.
7. Wang W., Determination of the Mark-Houwink Equation for Chitosans with Different Degrees of Deacetylation, *Int. J. Biol. Macromol.*, **13**, 281-285, 1991.
8. Domszy J.G. and Robert A.F.G., Evaluation of Infrared Spectroscopic Techniques for Analyzing Chitosan, *Macromol. Chem.*, **186**, 1671-1677, 1985.
9. Sabnis S. and Block H., Improved Infrared Spectroscopic Method for the Analysis of Degree of N-deacetylation of Chitosan, *Polym. Bull.*, **39**, 67-71, 1997.
10. Rogovina S.Z., Investigation of Properties of Chitosan Obtained by Solid-Phase and Suspension Methods, *J. Appl. Polym. Sci.*, **70**, 927-933, 1998.