

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG CỦA QUÁ TRÌNH TỰ LẮP RÁP ĐẾN KÍCH THƯỚC CỦA CHITOSAN VI CẦU

Đến tòa soạn 24/12/2016

Vũ Ngọc Minh, Lê Diên Thanh, Dương Mạnh Hải, Lê Quang Huy, Hoàng Ngũ Phúc
Khoa Công nghệ Hóa học, Trường Đại học Công nghiệp Việt Trì

SUMMARY

STUDY ON INFLUENCE FACTORS OF SELF-ASSEMBLY PROCESS TO THE SIZE OF MICROSPHERE CHITOSAN

In this study, carboxylated chitosan was obtained by selective oxidation in TEMPO-NaClO-NaBr system. The variations of the oxidation were explored. The morphological changes during the self-assembly process were also studied. Optimum conditions, which affected the chitosan self-assembly, were founded.

The oxidation of chitosan could selectively convert C6 hydroxyl groups into C6 carboxyl groups, and increase in the carboxyl content in chitosan. Then amino groups reacted with carboxyl groups under the effect of electrostatic force, and thus self-assembly chitosan sheets were produced.

Keywords: TEMPO, chitosan, oxidation, self-assembly

1. MỞ ĐẦU

Chitosan (CS) có đặc tính không độc, không mùi, tính kiềm, dễ phân hủy và dễ thu hồi, đặc biệt nó thích ứng sinh học tốt với cơ thể con người [1]. Đến nay đã có một số công trình nghiên chế tạo ra CS vi cầu: C. Y. Chuang [6] tạo ra các vi cầu khi đem kết hợp CS với acid acrylic ở 80 °C, trong thời gian 2 giờ. Z. S. Yan [7] đã dùng CS hòa tan vào acid acetic, sau đó cho kết hợp với glutaraldehyde, quá trình được thực hiện ở 50 °C trong 20 phút. Hai tác giả trên đã tạo ra các vi cầu từ CS và một thành phần khác, nhưng chưa nghiên

cứ kỹ về các yếu tố ảnh hưởng tới kích thước của vi cầu. Trong nghiên cứu này sẽ trình bày về quá trình tạo ra vi cầu chỉ từ CS và khảo sát các yếu tố ảnh hưởng tới kích thước của vi cầu, hướng tới ứng dụng làm chất dẫn thuốc.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Nguyên liệu và hóa chất

Nguyên liệu: chitosan bột của Công ty hóa chất quốc gia Trung Quốc.

Hóa chất: NaBr, TEMPO, NaClO, NaOH, C₂H₅OH, CH₃COOH, Na₂S₂O₃.5H₂O của Công ty hóa chất quốc gia Trung Quốc, được sử dụng không qua tinh chế.

2.2. Thiết bị

Nhóm chức CS oxy hóa xác định bằng phổ hồng ngoại (FT-IR: Perkin-Elmer Spectrum 100 FT-IR spectrometer, Mỹ). Để quan sát hình thái của CS vi cầu sử dụng kính hiển vi điện tử quét chụp ảnh SEM (Quanta 200, FEI, Hà Lan). Mẫu phẩm trước khi đi chụp được xử lý trong máy sấy đông khô (Power DryLL 3000, Đan Mạch). Quá trình oxy hóa CS được hỗ trợ trong máy siêu âm (FS-300, Trung Quốc) và khống chế nhiệt độ trong thiết bị điều nhiệt (DLSB-3006, Trung Quốc). Xác định sự phân bố kích thước hạt bằng máy phân tích truyền dẫn ánh sáng (NSKC-1, Trung Quốc).

2.3. Quá trình oxy hóa chitosan

Tiến hành quá trình oxy hóa CS trong hệ TEMPO-NaClO-NaBr [2]. Lấy 1 g CS phân tán vào trong 1 lượng nước cất thích hợp, cho thêm 0,16 g NaBr, 0,016 g TEMPO, sau đó cho chất oxy hóa NaClO vào, sử dụng dung dịch acid HCl 0,5 M điều chỉnh pH về 10, khống chế nhiệt độ trong suốt quá trình phản ứng ở 25 °C [3]. Kết thúc quá trình, đem hỗn hợp đi ly tâm, dùng nước cất rửa nhiều lần hỗn hợp phản ứng, sau đó đem hỗn hợp cho vào tủ lạnh làm đông lại, cuối cùng sấy khô ở -55 °C và áp suất chân không trong 48 giờ. Tiến hành khảo sát ảnh hưởng lượng chất oxy hóa NaClO dùng đến sự chuyển hóa nhóm hydroxyl của C6 thành nhóm cacboxyl của C6.

2.4. Xác định hàm lượng C6 cacboxyl trong hỗn hợp CS đã oxy hóa

Sử dụng phương pháp “chuẩn độ dẫn điện” tiến hành xác định hàm lượng cacboxyl của C6 trong CS đã oxy hóa [4]. Cân chính xác 0,1 g (chính xác đến 0,0001 g) bột CS khô đã oxy hóa, phân tán vào 100 ml dung dịch NaCl 0,001 M và bịt kín, dùng máy khuấy từ để khuấy trộn, sau đó dùng dung dịch NaOH 0,05 M để chuẩn độ, dùng máy đo độ dẫn điện để xác định thay đổi độ dẫn điện của dung dịch. Hàm lượng cacboxyl của C6 xác định theo công thức:

$$\text{COOH} = (c.V_1 - c.V_0) / m \times 1000, \text{ mmol/g}$$

c là nồng độ NaOH tiêu chuẩn, mol/l.

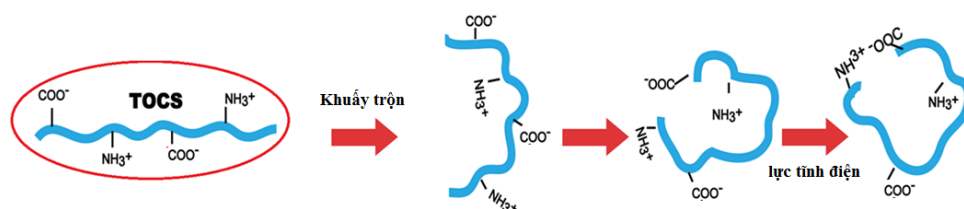
V_0 là thể tích NaOH tiêu tốn khi chuẩn độ đến điểm tương đương thứ hai, lít.

V_1 thể tích NaOH tiêu tốn khi chuẩn độ đến điểm tương đương thứ nhất, lít.

m khối lượng bột CS oxy hóa sử dụng, g.

2.5. Quá trình tự lắp ráp của chitosan oxy hóa trong môi trường axit

Lấy bột CS đã oxy hóa phân tán vào nước, dùng acid acetic điều chỉnh pH, sau đó nâng cao nhiệt độ, đồng thời khuấy trộn, tiến hành phản ứng trong thời gian 4 giờ. Trong môi trường acid nhóm amin mang điện tích dương, nhóm cacboxyl của C6 mang điện tích âm. Khi đó các nhóm này sẽ tương tác tĩnh điện với nhau [1,5,6]. Tiến hành khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố: nồng độ CS đã oxy hóa, tốc độ khuấy trộn, nhiệt độ, hàm lượng cacboxyl của C6, đến kích thước trung bình của CS vi cầu thu được.

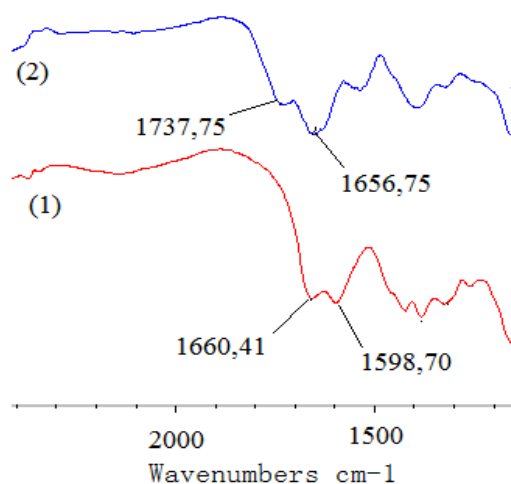


Hình 1. Cơ chế tự lắp ráp của CS oxy hóa TEMPO

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân tích sự thay đổi cấu trúc CS

So sánh phổ hồng ngoại của CS và CS đã oxy hóa. Trên phổ (1) của CS, ở bước sóng $3434,6\text{ cm}^{-1}$ là pic dao động của liên kết O–H, tại bước sóng 2677 cm^{-1} là pic dao động của liên kết C–H, còn tại 2 pic 1660 cm^{-1} , 1598 cm^{-1} là dao động của liên kết N–H (nhóm amin). Trên phổ (2) của CS đã oxy hóa, pic $1737,75\text{ cm}^{-1}$ là dao động của liên kết C=O (COOH), chứng tỏ thông qua quá trình oxy hóa TEMPO, đã có sự chuyển hóa nhóm hydroxyl của C6 thành nhóm cacboxyl của C6.



Hình 2. Phổ hồng ngoại của chitosan trước, sau oxy hóa TEMPO

3.2. Khảo sát ảnh hưởng của lượng NaClO đến hàm lượng nhóm cacboxyl của C6 tạo thành khi oxy hóa CS

Tiến hành thí nghiệm với các điều kiện như sau: pH = 10, thời gian oxy hóa = 8h, nhiệt độ phản ứng ở 25°C , với hàm lượng chất oxy hóa là 7,5 mmol/g thì nhóm cacboxyl của C6 thu được là 1,005 mmol/g; Khi tăng lượng chất oxy hóa lên thì hàm lượng nhóm cacboxyl của C6 cũng tăng lên tương ứng. Nhưng khi lượng chất oxy hóa tăng lên đến 15 mmol/g thì hàm lượng nhóm cacboxyl của C6 tăng bắt đầu chậm lại. Việc này có thể giải thích như sau: NaClO là tác nhân oxy hóa, ban đầu NaClO sẽ tham gia oxy hóa nhóm hydroxyl của C6 của vùng CS vô định hình, sau khi vùng CS vô định hình phản ứng hết thì NaClO sẽ tham gia phản ứng với vùng CS tinh thể. Do vậy trong một khoảng thời gian đủ dài, thì khi sử dụng lượng chất oxy hóa NaClO càng nhiều thì nhóm cacboxyl của C6 tạo ra càng lớn.

3.3. Ảnh hưởng nồng độ CS oxy hóa đến kích thước đặc trưng của CS vi cầu

Tiến hành khảo sát với các nồng độ CS đã oxy hóa là: 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 2,0 g/100 ml, thu được CS vi cầu có đường kính trung bình lần lượt: 0,68; 1,64; 1,73; 2,93; 6,18 μm . Nhận thấy, nồng độ dung dịch CS đã oxy hóa TEMPO càng cao, đường trung bình càng lớn. Vì trong phạm vi nhất định, hàm lượng các nhóm cacboxyl

của C6 càng lớn, nghĩa là số lượng phân tử CS nhiều, làm tăng khả năng tham gia phản ứng của nhiều phân tử CS với nhau để tạo thành một hình cầu, kết quả làm cho kích thước của hình cầu thu được lớn hơn.

3.4. Ảnh hưởng của tốc độ khuấy trộn đến kích thước đặc trưng của CS vi cầu

Khuấy trộn ở các tốc độ: 500, 700, 900, 1000, 1100 v/ph. Kết quả, đường kính trung bình của CS vi cầu đạt được: 6,7; 6,39; 6,18; 6,1; 5,9 μm . Khi tốc độ khuấy càng cao, đường kính trung bình của hạt càng nhỏ. Vì tốc độ khuấy trộn càng lớn, làm cho sợi CS càng bị uốn cong, dẫn đến là hai nhóm cacboxyl và nhóm amin gần nhau nhất tham gia phản ứng với nhau. Ngoài ra khi tốc độ khuấy nhanh sinh ra lực cắt lớn, làm đứt các phân tử CS mạch

Bảng 1. Ảnh hưởng của hàm lượng cacboxyl của C6 đến kích thước đặc trưng CS vi cầu

Hàm lượng cacboxyl của C6, mmol/g	0,71	0,92	1,13	1,33	1,52	1,61
Đường kính, μm	7,86	7,08	6,84	6,64	6,31	6,18

Hàm lượng cacboxyl của C6 càng cao, đường kính trung bình của CS vi cầu càng nhỏ, nguyên nhân có thể do hàm lượng nhóm cacboxyl của C6 càng cao, sẽ phát sinh càng nhiều điểm liên kết giữa 2 nhóm đó, làm cho CS vi cầu thu được có kết cấu càng chặt. Ngược lại khi hàm lượng nhóm cacboxyl của C6 thấp thì số điểm liên kết ít, kết cấu CS vi cầu lỏng lẻo, làm cho đường kính các hạt vi cầu thu được càng lớn.

3.7. Phân tích ảnh SEM CS vi cầu

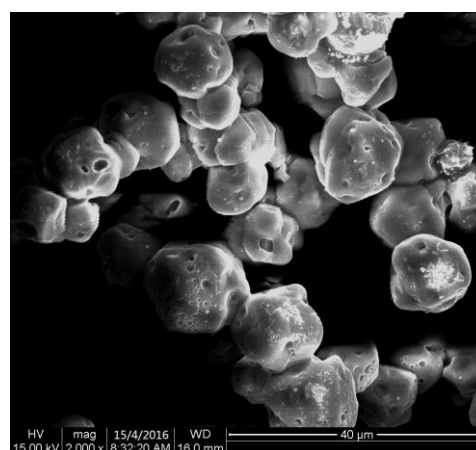
dài. Kết quả là kích thước đặc trưng của CS vi cầu thu được là càng nhỏ.

3.5. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến kích thước đặc trưng của CS vi cầu

Khảo sát ở các nhiệt độ: 50, 60, 70, 80, 90 $^{\circ}\text{C}$, các CS vi cầu nhận được có đường kính trung bình lần lượt: 5,46; 5,71; 5,98; 6,18; 6,24 μm . Nhiệt độ phản ứng càng cao, đường kính trung bình của CS vi cầu càng lớn. Vì nhiệt độ càng cao sẽ thúc đẩy cho tốc độ phản ứng càng nhanh, làm cho kết cấu của hình cầu lỏng lẻo, kết quả kích thước CS vi cầu lớn hơn.

3.6. Ảnh hưởng hàm lượng nhóm cacboxyl của C6 đến kích thước của CS vi cầu

Tiến hành khảo sát các mẫu CS đã oxy hóa có hàm lượng nhóm cacboxyl của C6 khác nhau, kết quả thu được theo bảng 1:



Hình 3. Ảnh SEM của CS vi cầu

CS đã oxy hóa có hàm lượng nhóm cacboxyl của C6 là 0,92 mmol/g tiến hành quá trình tự lắp ráp ở nhiệt độ 90 $^{\circ}\text{C}$

trong 4 giờ, khuấy với tốc độ 700 v/ph. Mẫu được đem đi ly tâm rồi sấy khô, rồi đem chụp ảnh SEM. Thông qua ảnh SEM của CS oxy hóa đã lắp ráp, có thể nhận thấy: mẫu sau quá trình tự lắp ráp có hình dạng là các hình cầu, bề mặt sần sùi, có các lỗ nhỏ, kích thước tương đối đều nhau, đường kính trung bình của các vi cầu khoảng 7 μm .

4. KẾT LUẬN

Dùng TEMPO làm chất xúc tác trong hệ TEMPO-NaClO-NaBr có thể tiến hành oxy hóa lựa chọn nhóm hydroxyl của C6 thành nhóm cacboxyl của C6. Lượng chất oxy hóa NaClO sử dụng càng nhiều, thời gian phản ứng oxy hóa kéo dài thì hàm lượng C6 cacboxyl thu được càng cao. Trong môi trường axit, CS đã oxy hóa có thể tiến hành phản ứng tự lắp ráp tạo thành các vi cầu. Nồng độ CS đã oxy hóa, tốc độ khuấy trộn, nhiệt độ, hàm lượng nhóm C6 cacboxyl của CS có ảnh hưởng đến kích thước trung bình của CS vi cầu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Y. Hu, Y. Ding, D. Ding, M. J. Sun, "Hollow Chitosan/Poly (acrylic acid) Nanospheres as Drug Carriers", *Biomacromolecules*, 8, 1069-1076 (2007).
2. Y. M. Fan, T. Saito, A. Isogai, "Chitin Nanocrystals Prepared by TEMPO-Mediated Oxidation of α -Chitosan", *Biomacromolecules*, 9, 192-198 (2008).
3. S. Ifuku, M. Nogi, K. Abe, "Preparation of Chitin Nanofibers with a Uniform Width asr-Chitin from Crab Shells", *Biomacromolecules*, 10, 1584-1588 (2009).
4. Q. Z. Yan, "Preparation of ultrasonic-assisted high carboxylate content cellulose nanocrystals by TEMPO oxidation", *BioResources*, 6, 1136 -1146 (2011).
5. R. A. Haycock, A. J. Guerin, "The thermodynamics of self-assembly", *Chemisrty Community*, 56, 2563-2565 (1995).
6. C. Y. Chuang, D. Ding, Z. Q. Mao, Y. F. He, "Synthesis of Hydroxypropylcellulose-poly (acrylic acid) Particles with Semi-Interpenetrating Polymer Network Structure", *Biomacromolecules*, 9, 2609-2614 (2008).
7. Z. S. Yan, Z. H. Ran, Z. Rui, "The Preparation and Characterization of Chitosan Sustained Release Microspheres", *Chemistry and adhesion*, 33, 35-38 (2011).