

# KHẢO SÁT QUÁ TRÌNH ĐIỀU CHẾ HẠT NANO CHITOSAN-TRIPOLYPHOSPHAT

Dương Thị Ánh Tuyết  
Trường Đại học Thủ Dầu Một

## TÓM TẮT

*Quá trình điều chế hạt nano chitosan (CS)-tripolyphosphat (TPP) đã được khảo sát từ nguyên liệu ban đầu là chitosan có phân tử lượng trung bình cao. Các yếu tố ảnh hưởng đến kích thước hạt như: tỷ lệ CS/TPP và pH đã được khảo sát qua FE-SEM. Độ phân bố kích thước hạt được khảo sát qua phần mềm UTHCSA Image Tool 3.00. Kết quả sẽ góp phần dự đoán cơ chế tạo hạt nano chitosan-tripolyphosphat.*

*Từ khóa: chitosan, nano chitosan-tripolyphosphat, hạt nano*

## 1. GIỚI THIỆU

Ngày nay, trong lĩnh vực y tế và chăm sóc sức khỏe con người, nhiều công nghệ mới đã được sử dụng rộng rãi mà tiêu biểu là ứng dụng của công nghệ nano vào quá trình tổng hợp những chất dẫn thuốc mới.

Nhiều loại peptide và protein được ứng dụng làm thuốc vì khả năng chọn lọc cao và điều trị hiệu quả. Dẫn truyền thành công những thuốc protein này là chủ đề nghiên cứu trong nhiều năm nay của ngành dược.

Chitosan được sử dụng làm nguyên liệu điều chế hạt nano chitosan vì những tính chất ưu việt của nó ở kích thước nano. Chitosan là dạng deacetyl hóa từ chitin, có cấu trúc polysaccharide, được tìm thấy ở loài động vật giáp xác, côn trùng và một vài loại nấm. Với nhiều tính năng như tính tương thích sinh học, phân hủy sinh học, bám dính màng và không độc hại, nó trở thành nguyên liệu cho nhiều ứng dụng dược sinh học. Ngoài ra, chitosan còn có khả năng bám lên bề mặt niêm mạc và xâm nhập vào những tế bào biểu mô. Do đó, hạt

nano chitosan trở thành hệ thống phân phối thuốc có tiềm năng lớn [1].

Với nguồn nguyên liệu chitin phong phú ở Việt Nam, chúng tôi thực hiện nghiên cứu chế tạo vật liệu nano chitosan nhằm tìm ra điều kiện tối ưu để chế tạo hạt nano chitosan-tripolyphosphat. Các kết quả (được đánh giá bằng FE-SEM) góp phần dự đoán cơ chế tạo hạt nano chitosan-tripolyphosphat.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Hóa chất và thiết bị

– Chitosan (DD 75%) của Sigma-Aldrich; Sodium Tripolyphosphate (TPP) ( $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ ), Trung Quốc; NaOH 96%, Trung Quốc;  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , 99,5%, Trung Quốc; nước khử ion, Merck.

– Máy sắc ký thẩm thấu gel GPC AGILENT 1100 Series (Trường Đại học Khoa học Tự nhiên TP.HCM); máy đông cô Telstar Lyoquest, Tây Ban Nha (Công ty dược phẩm Domesco, Đồng Tháp); máy ly tâm Universal 32r Hettich Zentrifugen, Đức

(Trường Đại học Khoa học Tự nhiên TP.HCM); máy lắc Heidolph Promax 1020, Đức (Trường Đại học Khoa học Tự nhiên TP.HCM); máy FE-SEM JSM 7401F, Nhật (Khu công nghệ cao TP.HCM).

## 2.2. Tổng hợp nano chitosan

Dung dịch chitosan nồng độ 0,5% (w/v) được pha trong acid acetic 1% (v/v). Sau khi hòa tan, điều chỉnh pH của dung dịch chitosan bằng dung dịch NaOH 5N. TPP nồng độ 0,25% (w/v) được pha trong nước khử ion. Nhỏ từ từ TPP vào dung dịch chitosan trong điều kiện khuấy từ tốc độ 1.500 vòng/phút ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Dung dịch sau phản ứng được ly tâm với tốc độ 17.000 vòng/phút trong 30 phút thu hạt nano chitosan. Rửa hạt nano, lặp lại nhiều lần với nước khử ion rồi đông khô bằng máy đông cô ở nhiệt độ -80°C, áp suất 0,001m Bar trong 72 giờ. Mẫu được bảo quản ở 5°C trong tủ lạnh. Kích cỡ hạt nano được đánh giá thông qua ảnh FE-SEM.

## 3. KẾT QUẢ VÀ BIỆN LUẬN

### 3.1. Xác định phân tử lượng của CS

Kết quả khảo sát phân tử lượng nguyên liệu chitosan (DD > 75%) được đánh giá bằng phương pháp sắc ký thẩm thấu gel GPC. Phân tử lượng trung bình số:

$\overline{M}_n = 162\text{kDa}$ . Phân tử lượng trung bình khối:  $\overline{M}_w = 497\text{kDa}$ . Phân tử lượng trung bình nhớt:  $\overline{M}_v = 497\text{kDa}$ . Chỉ số đa phân tán:  $DI = \frac{\overline{M}_w}{\overline{M}_n} = 3,07$ ;  $DI > 2$ .

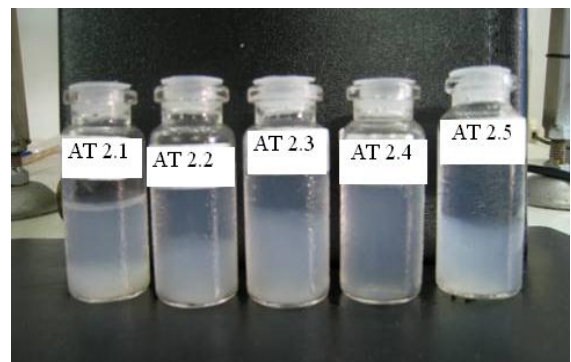
Kết quả nhận được cho thấy mẫu chitosan nguyên liệu có độ đa phân tán cao. Phân tử lượng của chitosan ảnh hưởng rất lớn đến kích thước hạt. Thông thường,

phân tử lượng của chitosan càng lớn thì kích thước hạt nano chitosan tạo thành càng lớn [2], [3], [4].

### 3.2. Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ CS/TPP

Khi nhỏ từ từ TPP vào dung dịch chitosan, chúng tôi nhận thấy những dung dịch này trở nên sệt hơn và màu sắc có sự thay đổi từ trong suốt sang trắng đục. Điều này chứng tỏ đã có phản ứng xảy ra giữa chitosan và tác chất tạo nối.

Trong phần này, ảnh hưởng của tỷ lệ CS/TPP được khảo sát nhằm tìm ra tỷ lệ thích hợp nhất để tạo hạt nano chitosan. Các tỷ lệ CS/TPP được khảo sát lần lượt là 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1.

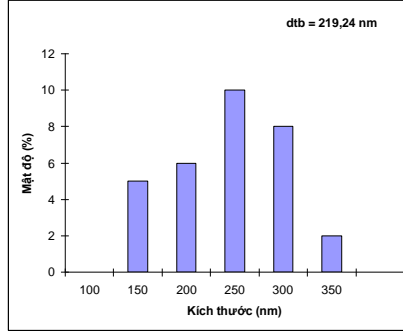
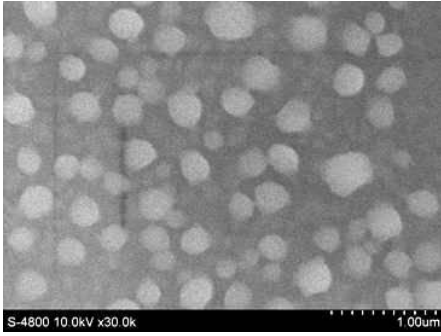


**Hình 1.** Ảnh chụp dung dịch huyền phù nano chitosan điều chế từ các tỷ lệ CS/TPP khác nhau (từ trái qua phải): 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1.

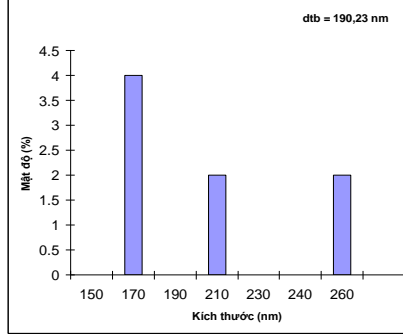
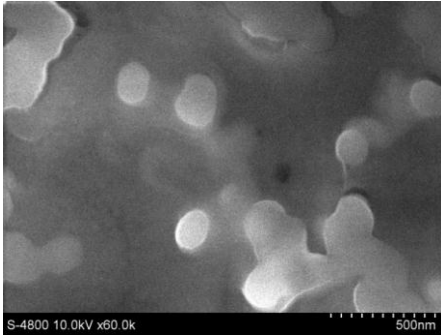
Kết quả cho thấy, khi tăng tỷ lệ CS/TPP từ 3:1 đến 6:1, kích thước hạt giảm dần. Tuy nhiên, khi tỷ lệ CS/TPP tăng từ 6:1 đến 7:1, kích thước hạt tăng nhẹ trở lại. Ở tỷ lệ CS/TPP là 6:1, hạt thu được có dạng hình cầu và kích thước hạt nhỏ nhất.

### 3.3. Khảo sát ảnh hưởng của pH

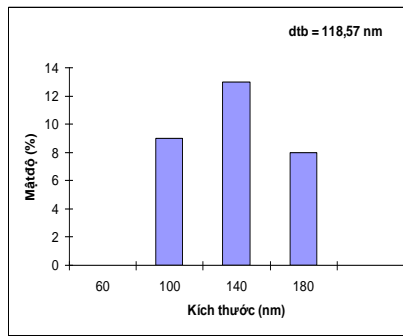
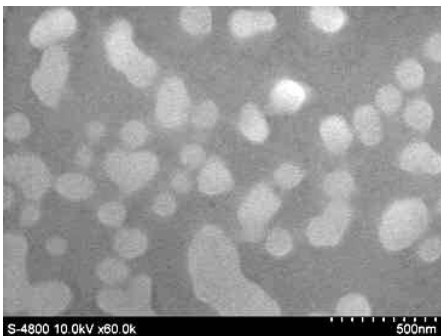
Chọn tỷ lệ CS/TPP là 6:1 để khảo sát pH. Các giá trị pH được khảo sát lần lượt là 4,0; 4,5; 5,0 và 5,5.



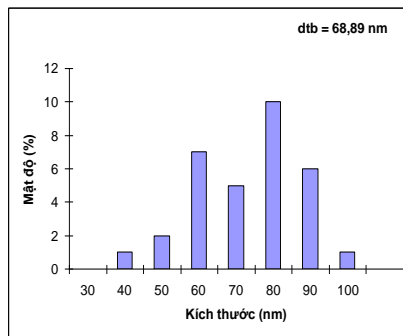
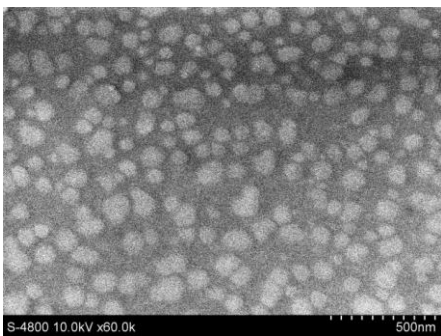
**Hình 2.** Ảnh FE-SEM hạt nano chitosan khi tổng hợp với tỷ lệ CS/TPP là 3:1.



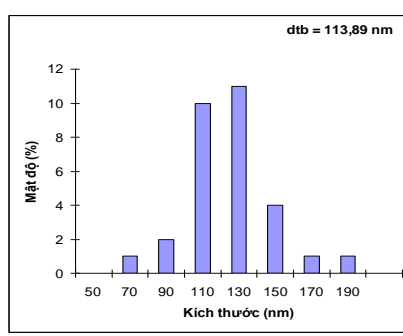
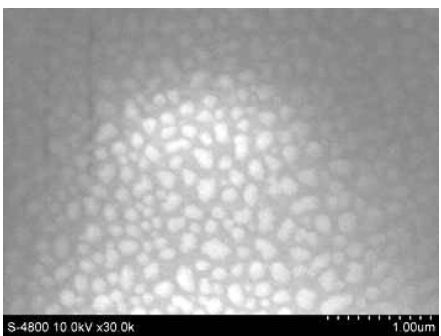
**Hình 3.** Ảnh FE-SEM hạt nano chitosan khi tổng hợp với tỷ lệ CS/TPP là 4:1.



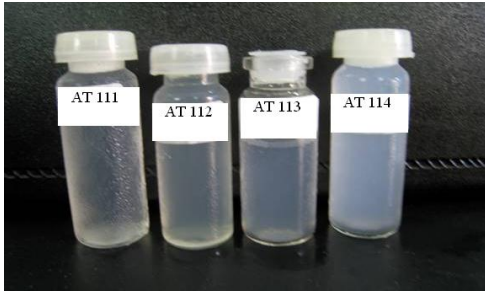
**Hình 4.** Ảnh FE-SEM hạt nano chitosan khi tổng hợp với tỷ lệ CS/TPP là 5:1.



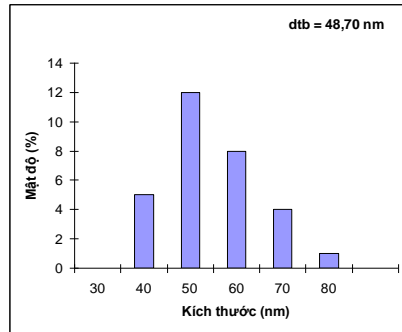
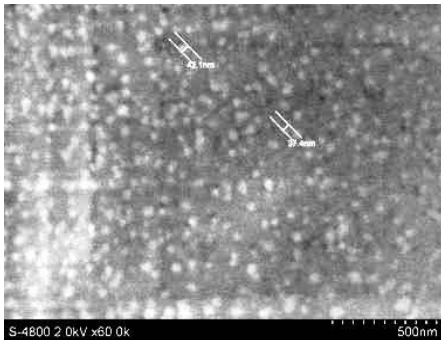
**Hình 5.** Ảnh FE-SEM hạt nano chitosan khi tổng hợp với tỷ lệ CS/TPP là 6:1.



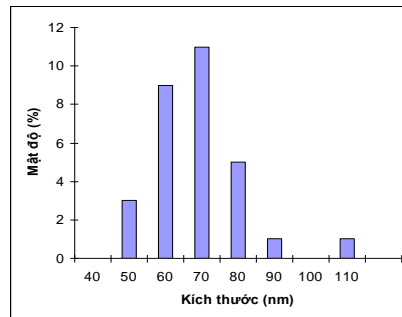
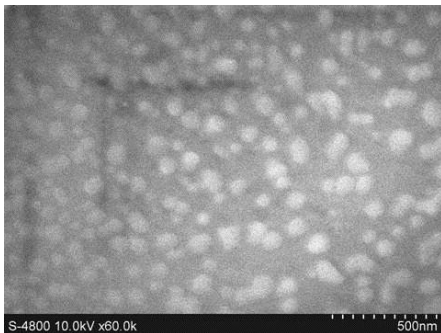
**Hình 6.** Ảnh FE-SEM hạt nano chitosan khi tổng hợp với tỷ lệ CS/TPP là 7:1.



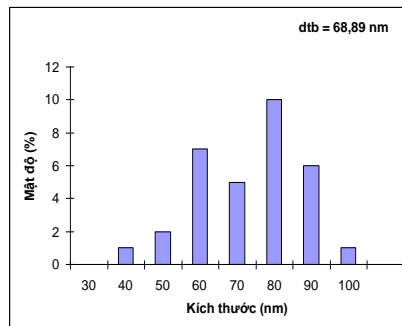
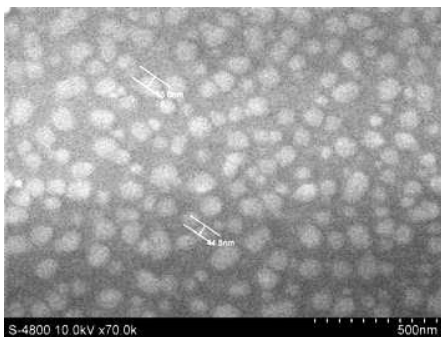
**Hình 7.** Ảnh chụp dung dịch huyền phù nano chitosan điều chế ở những điều kiện pH khác nhau (từ trái qua phải): 4,0; 4,5; 5,0; 5,5.



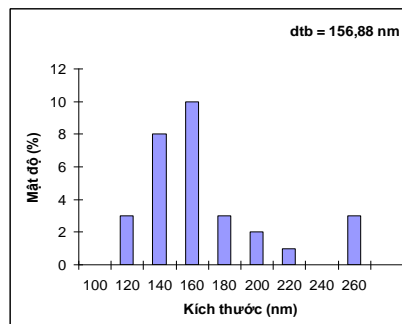
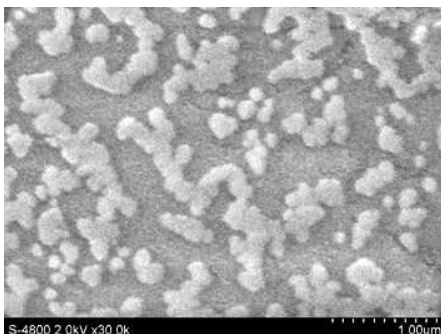
**Hình 8.** Ảnh FE-SEM hạt nano chitosan khi tổng hợp ở pH 4,0.



**Hình 9.** Ảnh FE-SEM hạt nano chitosan khi tổng hợp ở pH 4,5.



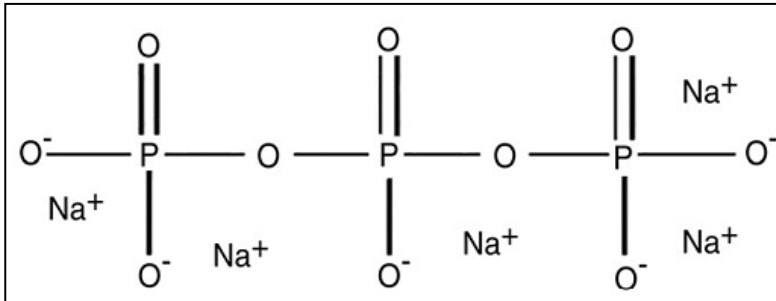
**Hình 10.** Ảnh FE-SEM hạt nano chitosan khi tổng hợp ở pH 5,0.



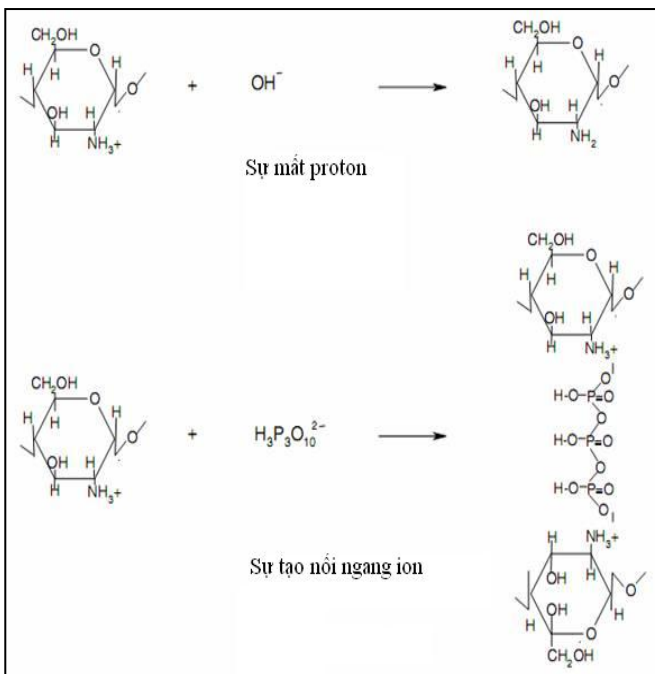
**Hình 11.** Ảnh FE-SEM hạt nano chitosan khi tổng hợp ở pH 5,5.

Kết quả cho thấy, khi tăng pH từ 4,0 đến 5,5, kích thước hạt tăng dần. Kích thước hạt nhỏ nhất (48,70nm) thu được ở điều kiện pH là 4,0, tỷ lệ CS/TPP là 6:1.

### 3.4. Dự đoán cơ chế

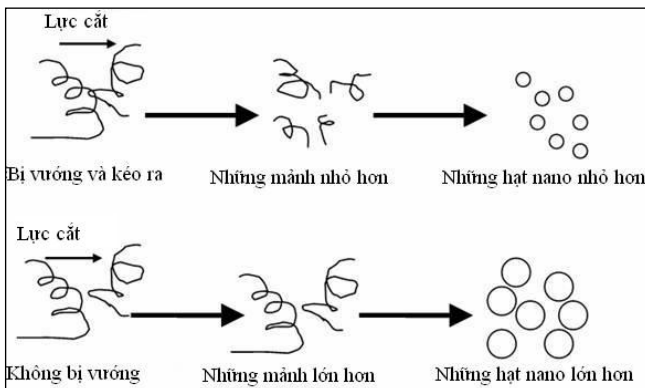


**Hình 13.** Cấu trúc hóa học của sodium TPP.



**Hình 14.** Cơ chế tương tác giữa CS và TPP [5].

Kết quả khảo sát gây ra sự bất ngờ bởi vì khi sử dụng nguyên liệu chitosan có phân tử lượng lớn (479kDa), chúng tôi dự tính hạt tạo ra sẽ có kích thước lớn. Thế nhưng, trong suốt quá trình khảo sát, kích thước hạt chỉ dao động trong khoảng 48,70-219,24nm. Hiện tượng này có thể liên quan đến hiện tượng cắt mạch CS trong suốt quá trình khuấy từ hỗn hợp CS và TPP đã được M. L. Tsai đề cập đến [6]. Theo đó, lực cắt mạnh (ở đây chúng tôi sử dụng tốc độ khuấy mạnh 1500 vòng/phút) có thể cung cấp đủ năng lượng để bẻ gãy phân tử CS. Các phân tử CS có mạch càng dài sẽ càng dễ bị vướng mắc vào nhau và chịu ảnh hưởng của lực cắt này mạnh hơn, hình thành hạt nhỏ hơn.



**Hình 15.** Ảnh hưởng của lực cắt đến sự hình thành hạt nano.

#### 4. KẾT LUẬN

Chúng tôi đã nghiên cứu thành công ảnh hưởng của các yếu tố đến kích thước và sự phân bố hạt nano chitosan từ nguyên liệu chitosan có phân tử lượng trung bình lớn trong điều kiện ở Việt Nam. Các yếu tố ảnh hưởng như: tỷ lệ CS/TPP, pH đã được khảo sát lần đầu tiên qua ảnh FE-SEM. Với

tỷ lệ CS/TPP là 6:1; pH là 4,0, hạt nano chitosan có dạng hình cầu, đồng đều, kích thước trung bình là 48,70nm qua ảnh FE-SEM. Kết quả này cho phép dự đoán kích thước hạt nano có thể phụ thuộc vào điều kiện khuấy trộn dẫn đến hiện tượng cắt mạch phân tử chitosan.

### INVESTIGATING THE PROCESS IN FABRICATING CHITOSAN-TRIPOLYPHOSPHAT NANOPARTICLES

Duong Thi Anh Tuyet

Thu Dau Mot University

#### ABSTRACT

*The preparation of chitosan- tripolyphosphate nanoparticles was investigated using high molecular weigh chitosan. Variations in CS/ TPP weight ratio and pH were investigated via FE-SEM. Size distribution of these nanoparticles was investigated via UTHCSA Image Tool 3.00 soft. The result will be used to predict the mechanism of nanoparticle formation.*

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] [1] H. Zhang, S. Wu, Y. Tao, L. Zang, Z. Su, *Preparation and characterization of water-soluble chitosan nanoparticles as protein delivery system*, Journal of Nanomaterials, 2010,1 (2010)
- [2] [2] Q. Gan, T. Wang, C. Cochrane, P. McCarron, “*Modulation of surface charge, particle size and morphological properties of chitosan-TPP nanoparticles intended for gene delivery*”, Colloid and Surfaces B: Biointerfaces, 44, pp. 65-73 (2005).
- [3] [3] B. Hu, C. Pan, Y. Sun, Z. Hou, H. Ye, B. Hu, X. Zeng, “*Optimization of Fabrication Parameters To Produce Chitosan-Tripolyphosphate Nanoparticles for Delivery of Tea Catechins*”, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56, pp. 7451-7458 (2008).
- [4] [4] Nguyễn Anh Dũng, *Nghiên cứu chế tạo vật liệu nano chitosan làm tá chất miễn dịch cho vaccine cúm A H5N1 và xây dựng mô hình thử nghiệm trên động vật*, Trường Đại học Tây Nguyên (2010)
- [5] [5] S.T. Lee, F.L. Mi, Y.J. Shen, S.S. Shyu, “*Equilibrium and kinetic studies of copper(II) ion uptake by chitosan-tripolyphosphate chelating resin*”, Polymer, 42, pp. 1879-1892 (2001).
- [6] [6] M.L. Tsai, S.W. Bai, R.H. Chen, “*Cavitation effects versus stretch effects resulted in different size and polydispersity of ionotropic gelation chitosan-sodium tripolyphosphate nanoparticle*”, Carbohydrate Polymers, 71, pp. 448-457 (2008).