

Biopolimery w biotechnologii

Studia II stopnia (magisterskie), stacjonarne, Rok I, semestr I

Otrzymanie materiałów polimerowych mających zastosowanie w biotechnologii

Opracowała: dr inż. J. Wolska

Cel ćwiczenia:

Celem ćwiczenia jest otrzymanie dwóch rodzajów materiałów polimerowych. Pierwszym z nich będą mikrocząstki chitozanowe, które mogą mieć potencjalne zastosowanie jako systemy uwalniania leków. Drugim rodzajem struktur polimerowych będą membrany ultrafiltracyjne.

Wstęp:

Chitozan jest otrzymywany w wyniku chemicznej lub enzymatycznej deacetylacji chityny. W czasie tego procesu usuwa się część lub wszystkie grupy acetylowe z acetyloaminowych grup chityny [1]. Chitynę najczęściej pozyskuje się ze skorup różnych skorupiaków (krabów, kryli, krewetek itd.). Właściwości chityny mają wpływ na właściwości otrzymywanego chitozanu. Chityna o stopniu deacetylacji powyżej 50% jest rozpuszczalna w słabych kwasach organicznych i nosi właśnie nazwę chitozanu [1].

Ze względu na swoje właściwości, m.in. biozgodność, biokompatybilność, nietoksyczność, chitozan jest stosowany w wielu dziedzinach nauki czy też gospodarki. Znajduje szerokie zastosowanie w kosmetologii, medycynie, farmakologii [1]. W farmakologii ze względu na wiele zalet (np. zdolność do kontrolowanego uwalniania leków, możliwość wytwarzania cząstek bez udziału agresywnych rozpuszczalników, zdolność do mukoadhezji etc.) stosowany jest jako nośnik różnego rodzaju medykamentów [1]. Nośniki te, mogą występować w różnych postaciach, np. hydrożeli na bazie chitozanu, tabletek chitozanowych, mikrokapsulek, czy mikrokulek chitozanowych, lub też membran chitozanowych [1].

Podczas naszych ćwiczeń będą otrzymywane mikrocząstki chitozanowe metodą emulsyfikacji wraz z sieciowaniem [1,2,3]. W metodzie tej wykorzystuje się grupy funkcyjne chitozanu do reagowania z grupami aldehydowymi środka sieciującego, tworząc w wyniku tego procesu mostki pomiędzy łańcuchami polimerowymi [1]. Podczas metody następuje wytworzenie emulsji typu woda w oleju, poprzez emulgowanie kwasowego wodnego roztworu chitozanu w fazie olejowej. Powstałe krople wodnego roztworu chitozanu stabilizuje się surfaktantem [1].

Membrany polimerowe mogą mieć różną strukturę w zależności od zastosowanego polimeru, z którego jest ona wytwarzana, jak również od samej metody wytwarzania. Otrzymywane podczas ćwiczenia membrany otrzymywane będą z homogenicznych roztworów polisulfony UDEL 1700, metodą inwersji faz, a konkretnie jej tzw. Wariantem mokrym. Polega to na doborze mieszalnych ze sobą rozpuszczalnika i nierozpuszczalnika wybranego polimeru. Z roztworu polimeru (o dużej lepkości) formuje się na płycie szklanej film polimerowy, a następnie płytkę zanurza się do łaźni z nierozpuszczalnikiem. W wyniku wypierania rozpuszczalnika przez nierozpuszczalnik zachodzi wytrącanie polimeru, a miejsca w polimerze wypełnione nierozpuszczalnikiem stanowią pory. Wielkość porów zależy od szybkości wytrącania polimeru (regulacja stężeniem roztworu polimeru, czasem wstępnego

odparowania rozpuszczalnika na powietrzu lub dodatkiem czynników zmieniających szybkość wytrącania).

[1] Maria Mucha, "Chitozan wszechstronny polimer ze źródeł odnawialnych", WNT, Warszawa 2010.

[2] Joanna Wolska, "Chitosan microspheres prepared by membrane emulsification for chromium removal from aqueous solutions", *Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives*, Volume XXI, 2016 pp. 203-216.

[3] Joanna Wolska, "Chitosan and chitosan-polyethylenimine microspheres prepared by membrane emulsification and their application for drug delivery systems", *Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives*, Volume XXII, 2017 pp. 220-235.

Wykonanie ćwiczenia

Grupa zostanie podzielona na podgrupy. W czasie tego ćwiczenia studenci otrzymywać będą jednocześnie te dwa rodzaje materiałów, które będą charakteryzowali podczas ćwiczenia nr 2 (membrany UF) oraz ćwiczenia nr 3 (mikrocząstki chitozanowe).

Część A

Otrzymywanie mikrocząstek chitozanowych Odczynniki i surowce

Odczynnik/surowiec	Ilość
2 wag.% roztwór chitozanu (Low molecular weight, Sigma Aldrich) rozpuszczony w roztworze wodnym zawierającym 5 wag. % kwasu octowego i 0,4 wag.% NaCl	60 cm ³
Izooktan	90 cm ³
Span 20	2 g
Span 80	2 g
50% wodny roztwór aldehydu glutarowego	3,8 cm ³
Metanol techniczny	-

Aparatura i szkło

- Reaktor szklany o pojemności 250 cm³ zaopatrzony w mieszadło szklane
- Mieszadło mechaniczne
- Łapy, mufy
- Lejek sitowy Buchnera
- Kolba ssawkowa
- Szalka Petriego

Przebieg syntezy

Do reaktora o pojemności 250 cm³ wprowadza się 90cm³ izooktanu, do którego dodaje się 2 g Span20 i 2 g Span 80. Reaktor, po zamknięciu pokrywą z mieszadłem, zamyka się korkami, a zawartość miesza do uzyskania jednorodnej mieszaniny wszystkich substancji. Następnie wprowadza się do mieszaniny, nie zatrzymując mieszania, 60 cm³ roztworu chitozanu i dokładnie miesza, w celu uzyskania emulsji typu woda w oleju. Po dokładnym zdyspergowaniu chitozanu w fazie olejowej wprowadza się (przy ciągłym mieszaniu) 3,8 cm³ 50 wag.% roztworu aldehydu glutarowego, jako środka sieciującego dla chitozanu. Proces prowadzi się od momentu dodania aldehydu jeszcze ok. 2,5 do 3 h. Po skończonej reakcji otrzymaną zawiesinę filtruje się pod zmniejszonym ciśnieniem i przemywa metanolem w celu usunięcia izooktanu z powierzchni mikrosfer chitozanu. Po czym przenosi się na szalkę i pozostawia do wyschnięcia do kolejnych zajęć. Na kolejnych zajęciach otrzymany polimer waży się i określa wydajność procesu, względem wydajności teoretycznie obliczonej.

Sprawozdanie z tej części ćwiczenia Studenci będą wykonywać łącznie ze sprawozdaniem z ćwiczenia nr 3. Sprawozdanie z tej części powinno zawierać wydajność procesu otrzymywania nośników chitozanowych.

Zalecana literatura do części A

Maria Mucha, "Chitozan wszechstronny polimer ze źródeł odnawialnych", WNT, Warszawa 2010.

Joanna Wolska, "Chitosan microspheres prepared by membrane emulsification for chromium removal from aqueous solutions", *Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives*, Volume XXI, 2016 pp. 203-216.

Joanna Wolska, "Chitosan and chitosan-polyethylenimine microspheres prepared by membrane emulsification and their application for drug delivery systems", *Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives*, Volume XXII, 2017 pp. 220-235.

Inne artykuły i monografie dotyczące chitozanu, jego zastosowań oraz systemów dostarczania leków.

Część B

Otrzymywanie ultrafiltracyjnych membran z polisulfony UDEL 1700

Odczynniki i surowce

Przygotowany wcześniej roztwór Polisulfonu UDEL 1700 o znanym stężeniu wagowym w N,N-dimetyloformamidzie

Woda destylowana

Metanol techn. do oczyszczania powierzchni szyb

Aparatura i szkło

Nóż do formowania membran

Kuwety plastikowe

Szyba szklana

Zlewki szklane

Gąbka

Ściereczki bezpyłowe

Przebieg otrzymywania membran

Szybę, na której będą formowane poszczególne arkusze membran, należy dokładnie umyć wodą, a następnie odtłuścić metanolem po czym wytrzeć ją do sucha ściereczką bezpyłową. Szybę umieszcza się na specjalnym podkładzie z gąbki. Nóż do formowania membran stawia się na brzegu szyby. W otwór noża wylewa się roztwór polisulfonu i następnie rozprowadza się równomiernie po szybie szklanej z użyciem tego noża. Następnie wylany film wraz z szyba przenosi się do kuwety plastikowej wypełnionej wodną, w celu wytracenia się filmu polimeru, który po oderwaniu się od szyby przenosi do świeżej porcji wody. Tak otrzymane membrany pozostawia się w wodzie do następnego ćwiczenia (ćwiczenie 2), podczas którego będą określone ich właściwości fizykochemiczne oraz filtracyjne.

Sprawozdanie z tej części ćwiczenia Studenci będą wykonywać łącznie ze sprawozdaniem z ćwiczenia nr 2.

Zalecana literatura

Praca zbiorowa pod red. Z. Florjańczyk, S. Penczek, Chemia polimerów T. I, OWPW, Warszawa, 1998

J. Pielichowski, A. Puszyński, Chemia polimerów, Wydawnictwa AGH, Kraków, 1998 i nowsze wydania,

J. Pielichowski, A. Puszyński, Technologia tworzyw sztucznych, WNT, Warszawa, 1994

Inne artykuły oraz monografie dotyczące Chemii i fizykochemii polimerów

Zagadnienia do części A i B

- **Definicja polimeru, podział polimerów,**
- **Polimeryzacja podstawowe informacje o procesie polimeryzacji,**
- **Chitozan podstawowe informacje o tym polimerze (np. do jakiej grupy polimerów należy, wzór ogólny, zastosowanie chitozanu),**
- **Metody otrzymywania sferycznych materiałów polimerowych,**
- **Definicja membrany, podział membran ze względu na różne czynniki,**
- **Metody otrzymywania membran polimerowych,**