دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست- پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال بیست و یکم، شماره ۴، صفحه ۲۹۶ - ۲۸۷ (مهر و آبان ۱۳۹۷)

Iran South Med J 2018; 21(4): 287-296

سنتز و مشخصه‌سازی نانو پودر حاصل از استخوان ماهی مرکب ببری خلیج‌فارس

راضیه احمدی (MSc)[1*]، شهریار عصفوری (PhD)[1**]، رضا آذین (PhD)[2]

[1] گروه مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی نفت، گاز و پتروشیمی، دانشگاه خلیج‌فارس، بوشهر، ایران
[2] گروه مهندسی نفت، دانشکده مهندسی نفت، گاز و پتروشیمی، دانشگاه خلیج‌فارس، بوشهر، ایران

(دریافت مقاله: ۹۶/۳/۲۵- پذیرش مقاله: ۹۶/۱۲/۲۰)

چکیده

زمینه: استخوان ماهی عمدتاً از کربنات کلسیم و کیتین تشکیل شده است و می‌تواند یک منبع طبیعی بسیار مناسب برای تولید نانوذرات کربنات کلسیم محسوب شود.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق، از دو روش آسیاب گلوله‌ای و انحلال پودر اولیه در حلال آبی حاوی ماده فعال سطحی ستیل‌تری متیل آمونیوم برمید (سی تب) برای تولید نانوذرات پودر استخوان ماهی مرکب ببری خلیج‌فارس استفاده و نتایج دو روش با یکدیگر مقایسه گردید. به منظور مشخصه‌سازی این ذرات از فناوری‌های تفرق دینامیکی نور و میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج آزمایشگاهی نشان داد که ۲ ساعت آسیاب کردن ذرات پودر اولیه می‌تواند منجر به تولید نانوذراتی با اندازه حدود ۴۴ نانومتر شود. ضمن اینکه مشاهده شد افزایش زمان فرایند آسیاب کردن نیز اثر مستقیمی بر کاهش اندازه این نانوذرات دارد. نتایج بدست آمده در روش انحلال ماکروپودر اولیه در حلال آبی حاوی ماده فعال سحطی نشان دهنده نتیجه شگرفی است که بیان از بدست آمدن نانوذراتی با اندازه حدود ۴۰ نانومتر دارد.

نتیجه‌گیری: این قابلیت پودر استخوان ماهی مرکب ببری خلیج‌فارس در تولید نانوذرات زیست سازگار در طی فرایندی ساده با کمترین میزان انرژی و در کوتاه‌ترین زمان می‌تواند معرف پتانسیل بالای این ماده برای تولید نانوذرات در مقیاس صنعتی می‌باشد.

واژگان کلیدی: استخوان ماهی، ماهی مرکب ببری، کربنات کلسیم، نانو ذرات، خلیج‌فارس

** بوشهر، دانشگاه خلیج فارس، دانشکده مهندسی نفت، گاز و پتروشیمی

Email: osfouri@pgu.ac.ir
*** ORICID: 0000-0003-2428-7977**
**** ORICID: 0000-0002-4111-8318**

مقدمه

دریا منبع عظیمی از جانوران دریایی از جمله سرپایان است. سرپایان شامل ماهیان مرکب، صدف‌ها، اختاپوس‌ها و نوتیلوس‌ها هستند که به علت غنی بودن از اسیدهای چرب غیراشباع و مخصوصاً امگا-۳ منبع غذایی بسیار مهمی به شمار می‌آیند (۱). ماهیان مرکب شناسایی‌شده در آب‌های خلیج‌فارس و دریای عمان از خانواده *sepiidae* و مشتمل بر هشت گونه می‌باشند. یکی از گونه‌های این ماهی، ***sepia pharaonis*** است که نام فارسی آن ماهی مرکب ببری است. این‌گونه ماهی، گونه غالب موجود در آب‌های خلیج‌فارس و دریای عمان است و در سرتاسر آب‌های جنوب ایران از سیستان و بلوچستان در شرق تا خوزستان در غرب دیده می‌شود (۲). همانگونه که در شکل (۱) نشان داده شده است اسکلت[1] این ماهی دارای بافت استخوانی سخت با تخلخل بالا و فرم اسفنجی است که مانند یک مخزن شناور صلب در جانوران عمل می‌کند. ساختار اسکلت به صورت ترکیبی از اجزای آلی- غیر آلی است که جزء آلی آن از پروتئین و بتا-کیتین (۱ تا ۲ درصد وزنی) تشکیل شده است (۳). جزء غیر آلی آن نیز متشکل از کربنات کلسیم و فسفات کلسیم است. این اسکلت یک محصول طبیعی و بدون هیچ‌گونه آلودگی و مسمومیت است که می‌تواند به عنوان یک ماده زیست سازگار استفاده شود (۴).



شکل ۱) نمونه‌ای از استخوان ماهی مرکب ببری

تاکنون از استخوان ماهی مرکب برای اهداف متنوعی استفاده شده است. پومپرادوب (Poompradub) و همکاران پتانسیل استفاده از استخوان ماهی مرکب را در پرکننده‌های لاستیک مورد بررسی قراردادند (۴). نتایج این تحقیق نشان داد که استخوان ماهی حتی با وجود اینکه کمتر تصفیه شده بود، خواص مکانیکی قابل رقابتی نسبت به پرکننده تجاری موجود ایجاد کرده است. تصور شده است که علت آن می‌تواند ارتقای برهم‌کنش ایجاد شده توسط جزء آلی (بتا-کیتین) بین لاستیک طبیعی و جزء غیر آلی آراگونیت باشد. ایلدیریم (Yildirim) و همکاران سازگاری استخوان ماهی مرکب را با بافت استخوان انسان مورد مطالعه قراردادند (۵). آنها دریافتند که اجزای معدنی استخوان ماهی با بافت استخوان انسان سازگارند و پیشنهاد دادند که از استخوان ماهی مرکب به عنوان داربست بافت استخوان استفاده شود. ژانگ (Jang) و همکاران اثر استخوان ماهی مرکب بر جراحت سوختگی حرارتی موش‌ها را مورد بررسی قرار دادند و تأثیر آن را با سولفادیازین نقره که به طور گسترده‌ای در درمان‌های سوختگی مورد استفاده قرار می‌گیرد مقایسه کردند (۶). نتایج تحقیقات نشان داد که استخوان ماهی و سولفادیازین نقره به طور قابل‌ملاحظه‌ای تجدید بافت را در مناطق جراحت سوختگی افزایش و میزان گلبول‌های سفید خون را بعد از ۷ روز درمان کاهش داده است. از کاربردهای دیگر این ماده می‌توان به استفاده مستقیم در ساخت ابررساناها اشاره کرد. کولورول (Culverwell) و همکاران دریافتند میکروساختار تراوا و متخلخل استخوان ماهی مرکب نه تنها در ساخت ابر رسانا کاربرد دارد بلکه چگالی بحرانی جریان را نیز در سرتاسر محلول‌های

[1] cuttlebone

خروجی به اندازهٔ دو مرتبه افزایش می‌دهد (۷). در تلاشی دیگر خدری و همکاران از پودر استخوان ماهی مرکب به منظور حذف کروم (III) از محلول‌های آبی استفاده کردند و حذف ۹۸ درصدی این ماده را گزارش کردند (۸).

تاکنون محققین از نانوذرات زیست سازگار برای مصارف گوناگونی استفاده کرده‌اند (۱۲-۹). با توجه به طبیعت زیست سازگار پودر استخوان ماهی مرکب، سهولت تولید نانوذرات این ماده می‌تواند دامنه کاربرد آن را به نحو چشمگیری گسترش دهد. این نانوذرات به علت دارا بودن خواص زیست سازگاری در زمینه‌های مختلفی مانند توسعه داروهای ضد سرطانی و سامانه‌های دارورسانی (۱۳)، ساخت داربست برای ترمیم استخوان‌ها و مهندسی بافت (۱۴) کاربرد دارد. نانوذرات را می‌توان با دو رویکرد عمده تولید کرد. نخست روش بالا به پایین است که یک ماده بزرگ را با کاهش ابعاد و شکل‌دهی آن، به محصولی با ابعاد نانومتری تبدیل می‌کنند. به عبارت دیگر اندازه یک ماده توده‌ای، به طور متناوب کاهش داده شود تا به یک ماده با ابعاد نانومتری برسد. در رویکرد دوم که موسوم به روش پایین به بالا است اتم‌ها و مولکول‌ها به طور هدفمند در کنار هم قرار داده می‌شوند تا ساختاری مشخص حاصل شود. روش تولید پایین به بالا را فقط می‌توان برای ساخت مواد در مقیاس نانومتری استفاده کرد؛ اما روش‌های تولید بالا به پایین برای تولید نانوذرات و میکروذرات کاربرد دارند (۱۵). برای مشخصه‌سازی نانوذرات می‌توان از فناوری تفرق دینامیکی نور[۲] و میکروسکوپ الکترونی روبشی[۳] استفاده کرد. در روش تفرق دینامیکی نور با استفاده از حرکت تصادفی ذرات درون محلول که بر اثر اعمال نیرو از سوی مولکول‌های حلال ایجاد می‌شود می‌توان بر اساس رابطه استوکس-انیشتین اندازه نانوذرات را محاسبه نمود:

$$D = \frac{kT}{3\pi\eta D_y} \qquad (۱)$$

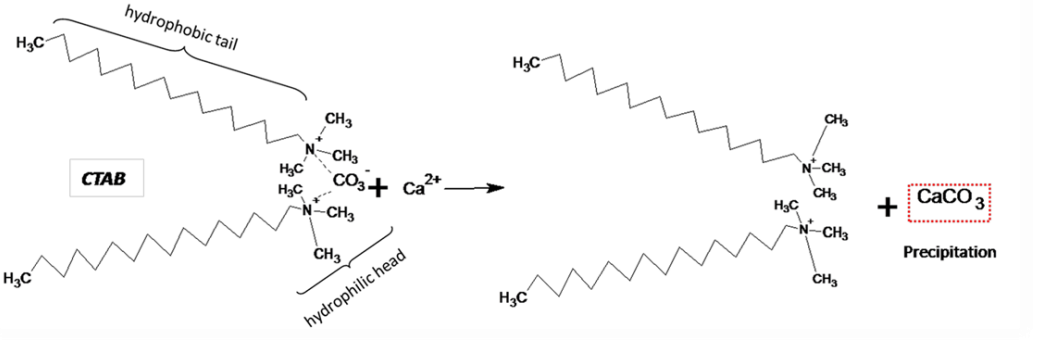
در تساوی (۱)، D قطر ذره، k ثابت بولتزمن، Dy ضریب نفوذ، η ویسکوزیته و T دمای محلول می‌باشد (۱۶). میکروسکوپ الکترونی روبشی نیز با استفاده از یک اشعه متمرکز شده از الکترون‌های پرانرژی برای تولید انواعی از پیک‌هایی که از برهم‌کنش نمونه الکترونی به‌دست می‌آیند، اطلاعاتی در مورد نمونه‌ها شامل ریخت شناسایی خارجی، ترکیب شیمیایی، ساختار کریستال و جهت‌گیری مواد تشکیل‌دهنده نمونه‌ها به‌دست می‌دهد (۱۷). با انجام موفق این آزمایش‌ها می‌توان تصویر کاملی از اندازه و ساختار نانوذات بدست آورد. در این تحقیق با استفاده از رویکرد بالا به پایین، پتانسیل تبدیل استخوان ماهی مرکب ببری خلیج‌فارس برای تبدیل به نانوذرات زیست سازگار ارزیابی و این ذرات با استفاده از فناوری‌های تفرق دینامیکی نور و میکروسکوپ الکترونی روبشی مشخصه‌سازی شدند.

مواد و روش‌ها

استخوان ماهی مرکب (سپیا فارائونیس[۴]) از سواحل خلیج‌فارس در استان بوشهر جمع‌آوری شد. ماده فعال سطحی ستیل‌تری‌متیل‌آمونیوم‌برومید[۵] به منظور پراکنده کردن ذرات پودر استخوان ماهی مرکب در حلال از شرکت مرک خریداری گردید. از آب میلی‌پور فوق

[2] Dynamic Light Scattering (DLS)
[3] Scanning Electron Microscopy (SEM)
[4] *Sepia Pharaonis*
[5] cethyltrimethyl ammonium bromide (CTAB)

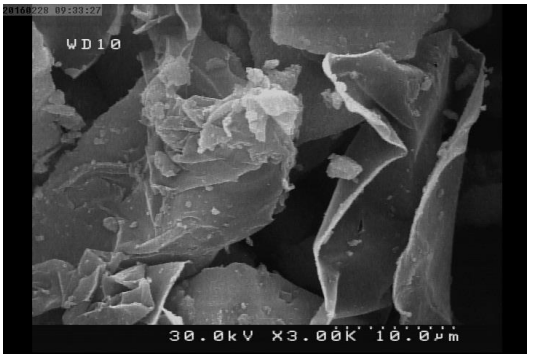
العاده خالص نیز به عنوان حلال آبی استفاده شد. برای تهیه پودر اولیه، استخوان را چندین بار با آب معمولی و سپس به منظور زدودن ناخالصی‌ها با آب مقطر شستشو داده و بعد از آن به مدت یک روز در آون با دمای ۱۰۵ سانتی‌گراد قرار داده می‌شود. سپس استخوان را در هاون خرد نموده و با غربال ۰/۷۱ میلی‌متر الک می‌شود. در این تحقیق برای تولید نانوپودر استخوان ماهی از دو روش آسیابی و مواد فعال سطحی استفاده شد. در روش آسیابی از آسیاب گلوله‌ای (NARYA-MPM-2*250H, Iran) استفاده می‌شود. برای این منظور پودر اولیه با گلوله‌هایی از جنس استیل سخت به قطر ۱۲ میلی‌متر درون فنجان مخصوص دستگاه آسیاب گلوله‌ای و تحت فشار گاز آرگون خالص به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده می‌شود. برای اطمینان از اثر بخشی فرایند آسیاب پودر اولیه، جرم گلوله به پودر به نسبت ۱۰ به ۱ انتخاب و دور آسیاب نیز ۳۵۰ دور در دقیقه تنظیم می‌شود. برای بررسی اثر عامل زمان بر کاهش اندازه ذرات، آسیاب کردن پودر اولیه در دو بازه زمانی ۲ و ۴ ساعت انجام می‌شود. در روش دوم برای انحلال پودر بدست آمده در آب، ۰/۱ گرم از پودر درون بشر ریخته و سپس ۱۰ میلی‌لیتر آب خالص به آن اضافه می‌شود. سپس برای اینکه محلول کلوئیدی همگنی به‌دست آید بشر بر روی همزن مغناطیسی (LMS-1003 ،Korea) به مدت ۳۰ دقیقه و ۸۰ دور در دقیقه قرار داده می‌شود. برای تجزیه بهتر ذرات کربنات کلسیم بهتر است pH محلول در بازه اسیدی و حدود ۶/۵ تنظیم شود (۱۸). این عمل به‌وسیله افزودن اسید نیتریک ۱ نرمال انجام می‌شود. سپس ۰/۱ گرم از ماده فعال سطحی به محلول اضافه کرده و به مدت ۳۰ دقیقه دیگر بر روی همزن مغناطیسی قرار داده می‌شود تا محلول کلوییدی یکنواخت شود. همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده است در این مرحله برای به‌دست آوردن نانوذرات کربنات‌کلسیم تولید شده باید نیروی دافعه بین سر آب دوست متصل به زنجیر آلکیلی موجود در ساختار ماده فعال سطحی و یون کربنات را افزایش داد (۱۹). بر طبق مطالعات انجام شده در pH≥۱۰/۵ این امکان حاصل می‌شود (۲۰). بنابراین در مرحله آخر با افزودن سود به محلول، pH آن به ۱۰/۵ رسانده و به مدت ۳۰ دقیقه بر روی همزن مغناطیسی قرار داده می‌شود. پس از اتمام زمان اختلاط، بشر به مدت ۲۴ ساعت و با دمای ۱۱۰ سانتی‌گراد در آون قرار داده می‌شود. پس از آماده‌سازی نانوذرات، مشخصه سازی آنها با استفاده از دستگاه تفرق دینامیکی نور (Cilas-Nano DS) و میکروسکوپ الکترونی روبشی انجام می‌شود.



شکل ۲) مکانیزم تشکیل رسوب کربنات کلسیم

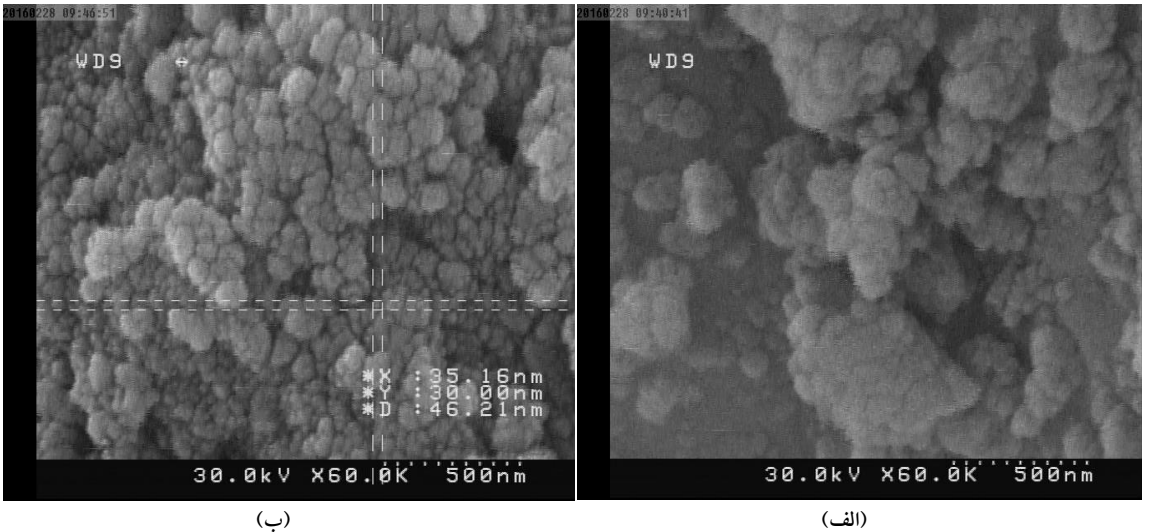
یافته‌ها

شکل ۳ ساختار میکروسکوپی پودر اولیه استخوان ماهی مرکب را نشان می‌دهد. همانگونه که مشاهده می‌شود ساختار این پودر به صورت ورقه‌ای نامنظم و در ابعاد میکرونی است.



شکل ۳) میکروگراف پودر اولیه استخوان ماهی مرکب

شکل ۴ نتایج آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی پودرهای تهیه شده استخوان ماهی مرکب با فرایند آسیاب گلوله‌ای را نشان می‌دهد. در شکل ۴- الف مدت زمان آسیاب ۲ ساعت و در شکل ۴- ب مدت زمان آسیاب ۴ ساعت می‌باشد. همانگونه که مشاهده می‌شود در اثر این فرایند ذراتی به صورت نسبتاً کروی به ترتیب با قطر متوسط حدود ۴۸ و ۹ نانومتر به‌دست آمده است. نکته حائز اهمیتی که در این شکل وجود دارد این است که با افزایش زمان آسیاب کردن، ضمن اینکه قطر متوسط ذرات کاهش پیدا کرده است یکنواختی نانوذرات حاصل نیز بیشتر شده است.

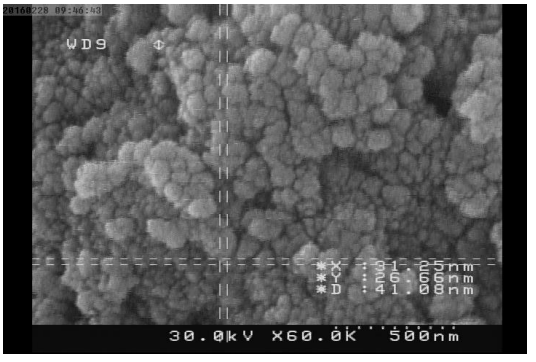


(الف) (ب)

شکل ۴) میکروگراف پودر استخوان ماهی مرکب (الف) بعد از دو ساعت آسیاب (ب) بعد از چهار ساعت آسیاب

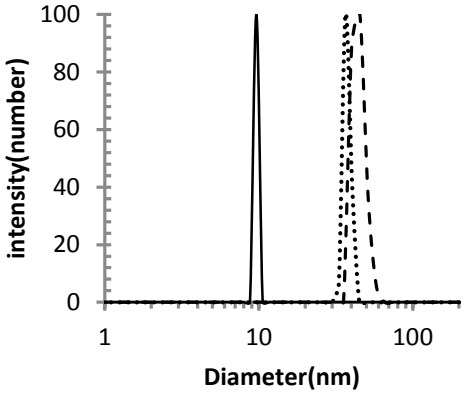
در آزمایشی دیگر به جای آسیاب کردن پودر اولیه استخوان، این پودر که دارای ابعاد میکرونی است را با کمک ماده فعال سطحی ستیل‌تری‌متیل آمونیوم برومید در آب پخش می‌کنیم. شکل ۵ نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی این محلول کلوییدی را نشان می‌دهد. نکته خارق‌العاده‌ای که در این شکل مشاهده می‌شود بدست آوردن نانوذراتی نسبتاً یکنواخت با اندازه متوسط ۴۱ نانومتر بدون خردایش

پودرهای اولیه در آسیاب گلوله‌ای است. به عبارت دیگر ماده فعال سطحی توانسته ذرات بزرگ پودر استخوان ماهی را شکسته و با پراکنده کردن آنها در حلال، به ابعاد نانومتری درآورد.



شکل ۵) میکروگراف پودر استخوان ماهی مرکب بعد از افزودن ماده فعال سطحی

برای تکمیل مشخصه‌سازی نانوذرات پودر استخوان تولید شده از دریچه دیگری به این ذرات نگاه می‌کنیم. برای این منظور از آزمایش تفرق دینامیکی نور استفاده می‌شود. شکل ۶ نتایج آزمایش تفرق دینامیکی نور برای پودر اولیه پخش شده در آب حاوی ماده فعال سطحی و نانوذرات پودر شده با زاویه ۹۰ درجه بین آشکارساز و لیزر تأبیده شده به نمونه را نشان می‌دهد.



شکل ۶) نتایج آزمایش تفرق دینامیکی نور برای پودر تولید شده: (نقطه چین) استفاده از ماده فعال سطحی، (منحنی ناپیوسته) ۲ ساعت آسیاب، (منحنی پیوسته) ۴ ساعت آسیاب

نتایج نشان داده شده در شکل ۶ بیانگر تولید ذرات نانومتری است. کم عرض‌تر بودن نمودار نانوذرات ۴ ساعت آسیاب شده به نسبت نانوذرات ۲ ساعت آسیاب شده تأیید کننده یکنواخت‌تر بودن نانوذراتی است که با ۴ ساعت آسیاب به‌دست آمده است. این موضوع در تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نیز دیده شد. برای بررسی چگونگی همگن بودن نانوذرات، آزمایش تفرق دینامیکی نور با زوایه ۶۰ درجه نیز تکرار می‌شود. نتایج بدست آمده با نتایج حاصل از آزمایش میکروسکوپ الکترونی روبشی در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱) قطر اندازه‌گیری شده نانوذرات (نانومتر)

زمان آسیاب (ساعت)	آزمایش تفرق دینامیکی نور		آزمایش میکروسکوپ الکترونی روبشی
	۶۰°	۹۰°	
صفر(در محلول آبی حاوی ماده فعال‌سطحی)	۱۴/۹۴	۴۰/۵	۴۱
دو ساعت	۱۳/۸۹	۴۴/۶۴	۴۸/۴۴
چهار ساعت	۸/۴۵	۹/۶۳	۹/۴۲

مقایسه نتایج آزمایش تفرق دینامیکی نور برای هر سه نمونه در دوزاویه ۶۰ و ۹۰ نشان می‌دهد که یکنواختی نانوذرات به‌دست آمده با ۴ ساعت آسیاب به مراتب بیشتر از دو نمونه دیگر است. همچنین نتایج نشان می‌دهد که نتایج آزمایش تفرق دینامیکی نور (زاویه ۹۰ درجه) با نتایج بدست آمده از میکروسکوپ الکترونی روبشی تطابق بسیار خوبی دارند.

بحث

بررسی‌ها نشان داده است که برای تولید نانوذرات کربنات کلسیم با رویکرد از پایین به بالا دو روش اساسی وجود دارد. روش نخست بر اساس انحلال در محیط آبی حاوی کلریدکلسیم و کربنات‌سدیم با نسبت‌های مولی برابر از طریق واکنش تجزیه دوتایی است (۲۱). روش دوم نیز روش کربناسیون است که در آن گاز دی‌اکسیدکربن به صورت حباب به درون محلول آبی حاوی هیدروکسید کلسیم در یک دمای مشخص در حضور بسترهای آلی مانند پلی‌ساکارید تزریق می‌شود (۲۲). علاوه بر شرایط سخت و کنترلی واکنش‌های مورد نظر در این دو روش، در هیچ کدام از این روش‌ها نانوذرات کربنات کلسیم آراگونیت به صورت خالص و با اندازه و شکل مناسب تولید نمی‌شود و همواره حاوی ناخالصی‌هایی است که در اثر انجام واکنش‌های جانبی تولید می‌گردد. در حالی که در روش‌های مورد استفاده در این تحقیق، ذراتی در مقیاس نانو با توزیع اندازه مناسب حاصل شد. همانگونه که در تحقیقات دیگر نشان داده شده است (۱۹ و ۱۴) ماده فعال سطحی ستیل‌تری‌متیل‌آمونیم برومید به خوبی توانسته در محلول آبی کلوخه‌های کربنات‌کلسیم را بدون طی کردن فرایند خردایش که مستلزم صرف انرژی و زمان است به ذراتی در ابعاد نانو تبدیل نماید. مکانیزم فرایند تولید این نانوذرات می‌تواند اثر سر دوگانهٔ آمینی ماده فعال سطحی باشد که توانسته است کنترل دقیقی بر اندازه و مورفولوژی نانو ذرات بدون تغییر در ساختار شیمیایی این مواد ایجاد کند (۱۹ و ۲۰).

نتیجه‌گیری

در این تحقیق نشان داده شد که آسیاب پودر استخوان ماهی مرکب می‌تواند منجر به تولید نانوذرات این ماده شود و ذرات میکرونی اولیه را به ذرات ۴۵ نانومتری تبدیل کند. همچنین نشان داده شد که تداوم آسیاب این ذرات می‌تواند اثر مستقیمی بر کاهش اندازه این مواد داشته باشد و آنها را تبدیل به نانوذراتی با ابعاد ۹ نانومتر کند. همبستگی بین نتایج آزمایش میکروسکوپ الکترونی روبشی با نتایج آزمایش تفرق دینامیکی نور در کلیه حالات گواهی بر تولید نانوذرات با ابعاد نشان داده شده می‌باشد. همچنین آزمایش‌ها نشان داد که پودر اولیه استخوان ماهی مرکب بدون نیاز به فرایند آسیاب نیز می‌تواند در حضور ماده فعال سطحی تولید نانوذراتی با ابعاد حدوداً ۴۰ نانومتر نماید. نکته شگفت انگیز این فرایند در مقایسه با فرایند آسیاب ذرات عبارت است از سهولت تولید، مصرف انرژی کمتر و کاهش چشمگیر زمان تولید محصول. بنابراین می‌توان امیدوار بود که با شناخت بیشتر کاربردهای محصول تولید شده و با توجه به زیست سازگار بودن آن این محصول سریعتر وارد چرخه صنعتی شود.

سپاس و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب سپاس و قدردانی خود را از دانشکده علوم پایه (بخش فیزیک) و مهندسی نفت، گاز و پتروشیمی دانشگاه خلیج فارس بوشهر و مرکز تحقیقات زیست فناوری خلیج‌فارس به جهت حمایت و همکاری‌های لازم در انجام این طرح اعلام می‌دارند.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1.Samiee K, Darvish M, Rustaiyan A, et al. Composition of fatty acids and lipid content of liver and muscle tissues of Sepia pharaonis in the Persian Gulf. Nature Sci 2013; 11(2): 78–81.

2.Food, Organization A. Cephalopods of the World: An Annotated and Illustrated Catalogue of Cephalopod Species Known to Date: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2017; 106-8.

3.Shushizadeh MR, Pour EM, Zare A, Lashkari Z. Persian gulf β-chitin extraction from sepia pharaonis sp. cuttlebone and preparation of its derivatives. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre 2015; 6(2): 133-42.

4.Poompradub S, Ikeda Y, Kokubo Y, et al. Cuttlebone as reinforcing filler for natural rubber. European Polymer J 2008; 44(12): 4157–64.

5.Yildirim OS, Okumus Z, Kizilkaya M, et al. Comparative quantative analysis of sodium, magnesium, potassium and calcium in healthy cuttlefish backbone and non-pathological human elbow bone. Can. J. Anal. Sci Spectros 2007; 52: 270–275.

6.Jang JK, Lee OS, Kang TJ, et al. Wound healing effect of cuttlebone extract in burn injury of rat. Food Sci. Biotechnol 2013; 22: 99–105.

7.Culverwell E, Wimbush SC, Hall SR. Biotemplated synthesis of an ordered macroporous superconductor with high critical current density using a cuttlebone template. Chemical communications 2008; (9): 1055-7.

8.Khedri N, Ramezani Z, Rahbar N. Fast, green and effective chromium bio-speciation using Sepia pharaonis endoskeleton nano-powder. Inter J Enviro Sci Technol 2016; 13(10): 2475–84.

9.Amin RM, Elfeky SA, Verwanger T, et al. A new biocompatible nanocomposite as a promising constituent of sunscreens. Mater Sci Eng: C 2016; 63: 46–51.

10.Naahidi Sh, Jafari M, Edalat F, et al. Biocompatibility of engineered nanoparticles for drug delivery. J. Controlled Release 2013; 166(2): 182–194.

11.Yahyaei H, Mohseni M, Ghanbari H, et al. Synthesis and characterization of polyhedral oligomeric titanized silsesquioxane: A new biocompatible cage like molecule for biomedical application. Mater Sci Eng: C 2016; 61: 293–300.

12.Siafaka PI, Mone M, Koliakou IG, et al. Synthesis and physicochemical properties of a new biocompatible chitosan grafted with 5-hydroxymethylfurfural. J Mol Liq 2016; 222: 268–71.

13.Xu ZP, Zeng QH., Lu G Q, et al. Inorganic nanoparticles as carriers for efficient cellular delivery. Chem Eng Sci 2006; 3(61), 1027–40.

14.Islam KN, Zuki ABZ, Noordin MM, et al. Characterization of calcium carbonate and its polymorphs from cockle shells (*Anadaragranosa*), Powder Technol 2011; 213(1-3): 188–91

15.Guo F, Li Y, Xu H, et al. Size-controllable synthesis of calcium carbonate nanoparticles using aqueous foam films as templates. Mater Lett. 2007; 61(27): 4937–9.

16.Aragon SR, Pecora R. Theory of dynamic light scattering from polydisperse systems. *J. Chem Phys* 1976; 64: 2395-2404.

17. Zhou W, Wang ZL. Scanning Microscopy for Nanotechnology: Techniques and Applications: Springer New York; 2007; 1-37.

18.Han SJ, Yoo M, Kim DW, et al. Carbon dioxide capture using calcium hydroxide aqueous solution as the absorbent. Energy Fuels 2011; 25(8), 3825–34.

19.Islam A, Teo SH, Rahman MA,et al. Seeded Growth Route to Noble Calcium Carbonate Nanocrystal. PLoS One 2015; 10(12): 1-13.

20.Atchudan R, Na HB, Cheong IW, Joo J, Facile Synthesis of Monodispersed Cubic and Spherical Calcite Nanoparticles in the Presence

of Cetyltrimethylammonium Bromide. J Nanosci Nanotechnol 2015; 15(4) 2702-2714.

21.Chen J, Xiang L. Controllable synthesis of calcium carbonate polymorphs at different temperatures. Powder Technology 2009; 189(1): 64–69.

22.Wang C, Zhao J, Zhao X, et al. Synthesis of nanosized calcium carbonate (aragonite) via a polyacrylamide inducing process. Powder Technology 2006; 163(3):134–138.

Original Article

Synthesis and Characterization of Nanoparticles from Cuttlebone (*sepia pharaonis*) of Persian Gulf

***R. Ahmadi** (MSc)[1*], **S. Osfouri** (PhD)[1**], **R. Azin** (PhD)[2]*

[1] Department of Chemical Enginreering, School of Petroleum, Gas, and Petrochemical Engineering, Persian Gulf University, Bushehr, Iran

[2] Department of Petroleum Enginreering, School of Petroleum, Gas, and Petrochemical Engineering, Persian Gulf University, Bushehr, Iran

(Received 15 Jun, 2017 Accepted 11 Mar, 2018)

Abstract

Background: Cuttlebone is composed mostly of $CaCO_3$ and chitin, and can be used as a natural source of $CaCO_3$ nanoparticle production.

Materials and Methods: In this study, ball milling and dispersion of initial powder in a surfactant, cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB) aqueous solution were used to produce $CaCO_3$ nanoparticles from cuttlebone (*Sepia pharaonis*) of the Persian Gulf. Then, the results of the two methods were compared. Field Emission Scanning Electron Microscopy (FESEM) and Dynamic Light Scattering (DLS) were used to characterize particles.

Results: The results showed that two hours grinding of the initial powder produced nanoparticles of 44 nm diameter. Moreover, increasing the grinding time had a direct effect on reducing the size of the nanoparticles. The obtained results from dispersion of initial powder in surfactant aqueous solution indicated the great result of nanoparticles of 40 nm diameter.

Conclusion: The capability of cuttlebone powder (*Sepia pharaonis*) of the Persian Gulf to produce nanoparticles in a process characterized with low energy consumption and low processing time suggests that it may be used at industrial scale for the synthesis of biocompatible nanoparticles.

Key words: Cuttlebone, Sepia pharaonis, $CaCO_3$, Nanoparticles, Persian Gulf.

©Iran South Med J.All right sreserved

Cite this article as: Ahmadi R, Osfouri S, Azin R. Synthesis and Characterization of Nanoparticles from Cuttlebone (sepia pharaonis) of Persian Gulf. Iran. Iran South Med J 2018; 21(4):287-296

Copyright © 2018 Ahmadi, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

[**]*Address for correspondence:* Department of Chemical Engineering, School of Petroleum, Gas, and Petrochemical Engineering, Persian Gulf University, Bushehr, Iran. Email: osfouri@pgu.ac.ir

* ORICID: 0000-0003-2428-7977

** ORICID: 0000-0002-4111-8318