



## بستر جذب سیال: افقی نوید بخش به منظور بازیابی نانوذرات پروتئینی جهت کاربرد در سامانه‌های انتقال دارو و صنایع غذایی

حسین نصراله‌زاده معصومیان<sup>۱</sup>، محسن جهانشاهی<sup>۲\*</sup> و صاحبعلی منافی<sup>۱</sup>

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شاهرود، گروه فنی و مهندسی، شاهرود، ایران

۲- پژوهشکده فناوری نانو، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل، بابل، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۱/۱۰/۲۵، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۹۱/۱۱/۱۷، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۱/۱۲/۲۸

### چکیده

در سال‌های اخیر، تلاش‌های تحقیقاتی قابل ملاحظه‌ای در زمینه بهبود صنایع دارویی و غذایی با استفاده از نانوذرات پروتئینی به عنوان حامل برای مولکول‌های مختلف، انجام شده است. بستر جذب سیالیک روش توانمند و مناسب جهت خالص‌سازی نانومحصولات زیستی است که طی دو دهه گذشته به طور گسترده‌ای به کار گرفته شده است. در کار حاضر، خصوصیات بسط بستر و رفتار هیدرودینامیکی بستر جذب سیال برای دست یافتن به مطلوب‌ترین شرایط بازیابی نانوذرات آلبومین تخم مرغ بر روی جاذب‌های تبادل آنیونی مورد مطالعه قرار گرفت. اندازه‌گیری توزیع زمان ماند (RTD) یک روش مرسوم جهت ارزیابی خصوصیات هیدرودینامیکی بستر جذب سیال بوده و در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت. با استفاده از اندازه‌گیری RTD، تاثیر میزان بسط بستر، قطر داخلی ستون و ارتفاع اولیه بستر بر روی خصوصیات هیدرودینامیکی بررسی شد. مشاهده شد که ضریب پراکندگی محوری با افزایش میزان بسط بستر، قطر داخلی ستون و ارتفاع اولیه بستر افزایش می‌یابد. علاوه بر این، ظرفیت جذب دینامیکی نانوذرات آلبومین تخم مرغ بر روی جاذب استریم لاین با لیگاند دی اتیلن آمین اتیل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد که ظرفیت جذب دینامیکی با افزایش سرعت جریان کاهش می‌یابد. سپس نانوذرات آلبومین تخم مرغ در ستون بارگذاری شد. بازده بازیابی در شرایط بهینه ۸۰/۷۹٪ بدست آمد، که این درصد بازیابی در کروماتوگرافی تبادل آنیونی بسیار خوب تفسیر و ارزیابی می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** بسترهای جذب سیال، خصوصیات هیدرودینامیکی، ضریب پراکندگی محوری، نانوذرات آلبومین تخم مرغ.

### ۱- مقدمه

کاربردشان در سامانه‌های رهایش هوشمند دارو، لیزر درمانی و شیمی درمانی ترکیبی مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته‌اند [۳]. بسیاری از نانومحصولات زیستی نسل دوم، نانوذراتی هستند که در طبیعت وجود داشته و در سال‌های اخیر تقاضا برای این محصولات افزایش یافته است، از آن جمله می‌توان به پلاسמיד DNA، ذرات ویروس مانند و نانوذرات پروتئینی اشاره

نانوذرات پروتئینی، ذرات کلوئیدی جامدی هستند که دارای اندازه بین ۲۰ تا ۳۰۰ نانومتر می‌باشند و از اواخر دهه ۱۹۷۰ به عنوان حامل‌های دارو مورد توجه قرار گرفته‌اند. این نانوذرات از پلیمرهای طبیعی و مصنوعی ساخته می‌شوند [۱،۲]. امروزه نانوذرات پلیمری به دلیل

\* عهده‌دار مکاتبات: محسن جهانشاهی

نشانی: بابل، خیابان شریعتی، پژوهشکده فناوری نانو، دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل

تلفن: ۰۱۱۱-۳۲۲۰۳۴۲، دورنگار: ۰۱۱۱-۳۲۲۰۳۴۲، پست الکترونیکی: Mjahan@nit.ac.ir

جامد معلق در بستر ثابت وجود دارد [۱۷، ۱۸]. طراحی فرآیندهای جداسازی زیستی ساده و مقرون به صرفه برای خالص سازی این محصولات، قدم نهایی برای کسب موفقیت در تولید محصولات ارزان قیمت زیستی در مقیاس صنعتی است. در این فرآیندها بازیافت نانومحصولات زیستی باید سریع انجام شود تا شکل اولیه و اصلی و همچنین فعالیت مولکول‌های پروتئینی دارای حساسیت بالا، حفظ شود [۴]. بستر جذب سیال روشی توانمند برای جداسازی اولیه و مستقیم پروتئین‌ها از خروجی فرماتورها می‌باشد. مزیت این روش به سایر روش‌های جداسازی این است که مراحل سانتریفیوژ، تغلیظ و جداسازی اولیه پروتئین‌ها در یک مرحله انجام می‌شود. بنابراین تعداد واحدهای عملیاتی، زمان کلی فرآیند و هزینه‌ها کاهش می‌یابد [۲۱-۱۹]. جریان رو به بالا در بسترهای جذب سیال، فضای خالی بین ذرات جاذب در بستر را افزایش می‌دهد و موجب می‌شود ذرات جامد معلق موجود در خوراک به راحتی از میان فضای خالی ذرات جاذب عبور کنند، در نتیجه پروتئین‌های هدف از خوراک اولیه تصفیه نشده جدا می‌گردند و جذب سطح جاذب می‌شوند [۲۲]. یکی از مهم‌ترین روش‌های کروماتوگرافی، کروماتوگرافی تبادل یونی بسترهای سیال است. در سال‌های اخیر کروماتوگرافی تبادل یونی بسترهای سیال به دلیل کاربرد گسترده، ظرفیت بالا، بازده بالا، سادگی و قابلیت کنترل، برای خالص سازی پروتئین‌ها و اغلب مولکول‌های باردار مورد استفاده قرار گرفته است [۲۳]. جداسازی پروتئین‌ها در کروماتوگرافی تبادل یونی بر اساس اثر متقابل الکترواستاتیکی بین مولکول‌های پروتئینی باردار و گروه‌های عاملی با بار مخالف تثبیت شده بر روی سطح جاذب، در محدوده pH مناسب ۵ تا ۹ استوار است [۲۴]. از دیدگاه مهندسی شیمی در یک بستر سیال، بین فاز جامد و فاز سیال اختلاط زیادی وجود دارد. این اختلاط در سیستم‌های سیال گاز-جامد معمولاً عامل مثبتی محسوب می‌شود، زیرا سرعت بالایی از انتقال گرما و دمای یکنواخت در بستر ایجاد می‌کند. اما در بسترهای جذب سیال این میزان اختلاط نامطلوب بوده و به بازده جذب آسیب می‌رساند. در بسترهای ثابت ذرات جاذب ساکن هستند و الگوی جریان تقریباً نزدیک الگوی جریان

نمود [۴]. نانوذرات پروتئینی ساختار منحصربفرد و خواص فیزیکوشیمیایی ویژه‌ای دارند. این نانوذرات، پلیمرهایی طبیعی، در دسترس، زیست تخریب پذیر، غیرسمی و دارای قابلیت بارگیری بالا هستند [۷-۵]. نانوذرات پروتئینی به دلیل اندازه بسیار کوچک‌شان به راحتی از سیستم مویرگی بدن عبور می‌کنند [۶]، در نتیجه می‌توانند به قسمت‌های مختلف بدن، به ویژه بافت سلول‌های سرطانی نفوذ نمایند [۸]. همچنین به دلیل اندازه کوچک خود، نسبت سطح به حجم بالایی دارند و توسط سیستم دفاعی بدن به عنوان ذره خارجی شناخته نمی‌شوند [۹]، از این رو به عنوان حامل دارو باعث انتقال هدفمند دارو، کم کردن میزان مصرف دارو، کاهش اثرات جانبی دارو، افزایش زمان نگهداری دارو، جلوگیری از تخریب دارو و افزایش اثرات درمانی می‌گردند. به این دلایل استفاده از نانوذرات پلیمری در صنایع زیستی مختلف به ویژه صنایع دارویی و غذایی به شدت مورد توجه قرار گرفته است [۱۳-۱۰]. بنابراین جای تعجب نیست که بازار فروش محصولات مبتنی بر سامانه‌های ره‌ایش دارو در ایالات متحده آمریکا از ۷۵ میلیون دلار در سال ۲۰۰۱ به ۱۲۱ بیلیون دلار در سال ۲۰۱۰ افزایش یافته است [۱۴]. نانوذرات عموماً ساختار زیستی پیچیده‌ای دارند، که متشکل از یک یا چند نوع پروتئین، چربی و اسید نوکلئیک هستند، در نتیجه انتظار می‌رود مشکلات زیادی برای جداسازی و خالص سازی این نانوذرات وجود داشته باشد [۱۵]. از نقطه نظر اقتصادی، تعداد عملیات متوالی لازم برای بدست آوردن خلوص مطلوب از محصول پروتئینی به طور قابل توجهی در هزینه کلی فرآیند پایین دستی مؤثر است. این به علت هزینه اولیه و میزان مواد مصرفی مورد نیاز و همچنین زمان جداگانه مورد نیاز برای هر مرحله است. به علاوه بازده کلی فرآیند خالص سازی با اضافه شدن هر مرحله به علت از دست رفتن مواد و یا کاهش فعالیت محصول زیستی کاهش می‌یابد [۱۶]. استفاده از بستر ثابت بعد از مراحل شفاف سازی، تغلیظ و فیلتراسیون برای خالص سازی محصولات زیستی روش رایج و متداولی است، اما خالص سازی چند مرحله‌ای محصولات زیستی، هزینه و زمان فرآیند را افزایش داده و بازده عملکرد را کاهش می‌دهد و از طرفی احتمال بسته شدن بستر توسط ذرات

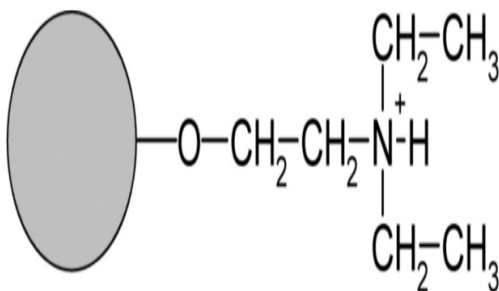
مخصوص از جنس شیشه و سیلیکات با خلل و فرج  $160-100 \mu\text{m}$ ، به عنوان نگهدارنده فاز جامد و پخش کننده فاز سیال استفاده شد. در آزمایش‌ها از سه ستون با قطرهای داخلی ۱، ۱/۳ و ۱/۶ سانتی‌متر برای ارزیابی رفتار هیدرودینامیکی سیستم استفاده شد. تمامی این ستون‌ها مجهز به تنظیم کننده می‌باشند. در طی آزمایش‌ها تنظیم کننده پایین آمده و بر روی سطح جاذب بسط یافته قرار گرفته و از اختلاط مازاد سیال خروجی جلوگیری می‌کند. ستون با مقدار مشخصی از جاذب پر می‌شود. در تمامی آزمایش‌ها از بافری مناسب (بافر Tris-HCl ۱۰ میلی مولار در  $\text{pH}=7/5$ ) برای یکنواخت بودن عمل جذب استفاده گردید.

سیال ورودی بوسیله دستگاه پمپ پرستالتیک (B-VTrat. Acque, Etatron DS-Rome, Italy) به ستون منتقل گردیده است.

سپس غلظت سیال خروجی از ستون توسط دستگاه اسپکتروفتومتری (Jenway 6305 UV/Vis, Germany) در طول موج  $280 \text{ nm}$  خوانده می‌شود.

### ۲-۳- جاذب

در این تحقیق، از جاذب استریم لاین با لیگاند دی اتیلن آمین اتیل استفاده شد. این جاذب یک تبادلگر آنیونی ضعیف می‌باشد و ماده اصلی آن متشکل از ۶ درصد آگارز با اتصالات متقاطع است، که با افزایش ذرات کوارتز بلوری بی اثر به چگالی آن افزوده شده و آن را مناسب برای بسترهای سیال می‌نماید. این جاذب دارای اندازه ذرات ۱۰۰ تا ۳۰۰ نانومتر است که متوسط اندازه ذرات آن ۲۰۰ نانومتر و دانسیته ذرات  $1/2 \text{ g/ml}$  می‌باشد [۲۹]. شکل ۱ ساختار لیگاند متصل به جاذب استریم لاین را نشان می‌دهد [۳۰].



شکل ۱: ساختار لیگاند متصل به جاذب استریم لاین [۳۰].

پیستونی است. در بسترهای جذب سیال عدم حضور جریان پیستونی در فاز مایع، باعث می‌شود که بستر جذب سیال، جذب نامناسبی را در مقایسه با بستر ثابت نشان دهد. بنابراین در بسترهای جذب سیال بسیار مطلوب است که درجه اختلاط حداقل گردد، تا همان خصوصیات جذب مانند بستر ثابت بدست آید [۲۷-۲۵]. در این پژوهش ابتدا، رفتار هیدرودینامیکی ستون بستر جذب سیال جهت دستیابی به بهترین شرایط بازیافت نانوذرات پروتئینی بر روی جاذب استریم لاین با لیگاند دی اتیلن آمین اتیل (Streamline DEAE)، که یک جاذب تبادل آنیونی ضعیف می‌باشد، مورد ارزیابی قرار گرفت. تاثیر عوامل مختلف مانند قطر ستون، ارتفاع اولیه بستر و میزان بسط ذرات جاذب در بستر، بر روی میزان اختلاط در بسترهای جذب سیال بررسی شد.

برای این منظور از خصوصیات بستر و نمودارهای توزیع زمان ماند (Residence Time Distribution: RTD) که به کمک ردیاب استون رسم شده است، استفاده شد. با استفاده از نمودارهای توزیع زمان ماند، عدد بویدنش ( $B_0$ ) و ضریب پراکندگی محوری ( $D_{axl}$ ) تعیین گردید. سپس عملکرد ستون بستر جذب سیال برای جذب نانوذرات آلومین تخم مرغ در شرایط بهینه هیدرودینامیکی بررسی شد.

## ۲- فعالیت‌های تجربی

### ۲-۱- مواد اولیه

جاذب استریم لاین با لیگاند دی اتیلن آمین اتیل (Streamline DEAE) از شرکت علوم زیستی آمرشام خریداری شد. پودر آلومین تخم مرغ (با درصد خلوص بالا) و گلو تار آلدهید ۲۵ درصد وزنی از شرکت سیگما، هیدروکسید سدیم و استون از شرکت مرک آلمان تهیه گردیدند.

### ۲-۲- تجهیزات

در آزمایش‌ها از ستون بستر جذب سیال تحت عنوان NBG، ساخته شده توسط گروه تحقیقاتی نانوبیوتکنولوژی دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل استفاده گردید [۲۸]. در این ستون‌ها برای نخستین بار از صفحه دیسکی متخلخل

که در آن  $d_p$  قطر متوسط ذرات،  $\rho_p$  دانسیته فاز جامد،  $\rho_l$  دانسیته فاز مایع،  $\mu$  ویسکوزیته فاز مایع و  $g$  شتاب جاذبه است. خصوصیات سیالیت ذرات را می‌توان با استفاده از عدد گالیلئو (Ga) بدست آورد [۲].

$$Ga = [\rho_p \cdot g (\rho_p - \rho_l) d_p^3] / \mu^2 \quad (۶)$$

همچنین ضریب بسط بستر به کمک عدد گالیلئو نیز تخمین زده می‌شود [۳۷].

$$[(5.1-n)/(n-2.4)] = 0.16 Ga^{0.67} \quad (۷)$$

#### ۲-۵- تعیین توزیع زمان ماند

اندازه‌گیری توزیع زمان ماند با استفاده از روش نشانه پله‌ای منفی انجام گرفت [۳۸]. بستر توسط بافر Tris-HCl ۱۰ میلی‌مولار در pH برابر با ۷/۵، بسط می‌یابد. هنگامی که ارتفاع پایداری از بستر بدست آمد، تنظیم‌کننده پایین می‌آید و حدود ۱-۰/۵ cm بالاتر از سطح بستر قرار می‌گیرد تا از اختلاط مازاد سیال خروجی جلوگیری کند. پس از آنکه بستر توسط بافر بسط داده شد، ۳۰ دقیقه به بستر اجازه داده می‌شود که در این ارتفاع به حالت پایدار برسد. آنگاه ورودی ستون در یک لحظه به محلول ردیاب (استون ۱٪ حجمی) منتقل می‌شود، تا زمانی که حداکثر جذب استون بدست آید و غلظت استون در خروجی ستون با غلظت ورودی برابر گردد. استون مولکول کوچکی است که به راحتی می‌تواند در تمام خلل و فرج جاذب نفوذ کند [۳۹]. در این لحظه ورودی ستون دوباره به بافر منتقل می‌گردد. از خروجی ستون در فواصل زمانی مشخص نمونه‌گیری شده و غلظت استون در این نمونه‌ها به کمک دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۲۸۰ nm خوانده می‌شود. پس از رسم منحنی غلظت سیال خروجی بر حسب زمان سپری شده، تعداد سینی‌های تئوری (N)، عدد بویدنش ( $B_0$ )، ضریب پراکندگی محوری (Daxl) و ارتفاع معادل با یک سینی (HETP) تعیین می‌گردد. شکل ۲، چگونگی تعیین توزیع زمان ماند را با استفاده از روش ورودی پله‌ای نشان می‌دهد [۳۰].

#### ۲-۴- بسط بستر

میزان بسط بستر به نحوه توزیع مایع، خصوصیات مایع (ویسکوزیته و دانسیته)، ویژگی ذرات و ساختار ستون بستگی دارد. بنابراین خصوصیات بسط بستر در بازه جذب سیال تاثیرگذار است [۳۱]. ارتباط بین سرعت ظاهری (U) و فضای خالی بستر ( $\square$ ) با استفاده از رابطه کلاسیک ریچاردسون-زکی بیان می‌گردد:

$$U = U_t \varepsilon^n \quad (۱)$$

n ضریب ریچاردسون زکی و  $U_t$  سرعت نهایی ذرات است [۳۲]. مقدار فضای خالی بستر را می‌توان از رابطه (۲) بدست آورد:

$$\varepsilon = 1 - (1 - \varepsilon_0)(H_0/H) \quad (۲)$$

که  $H_0$  ارتفاع اولیه بستر و H ارتفاع بستر بسط یافته (EBH) می‌باشد.  $\square_0$  میزان فضای خالی بستر ثابت است، و برابر ۰/۴ فرض می‌گردد [۳۳، ۳۴]. با رسم منحنی  $\log(U)$  بر حسب  $\log(\square)$  می‌توان مقادیر تجربی سرعت نهایی و ضریب ریچاردسون-زکی را از رابطه (۳) بدست آورد:

$$\log(U) = \log(U_t) + n \cdot \log(\varepsilon) \quad (۳)$$

شیب این خط ضریب ریچاردسون-زکی و عرض از مبدا آن مقدار سرعت نهایی را خواهد داد [۳۵]. همچنین ضریب بسط بستر (E) را می‌توان از رابطه زیر محاسبه کرد [۳۶]:

$$E = H/H_0 \quad (۴)$$

برای ذراتی با قطر تقریبی کمتر از  $200 \mu\text{m}$ ، سرعت نهایی ذرات ( $U_t$ ) از معادله استوک قابل محاسبه خواهد بود.

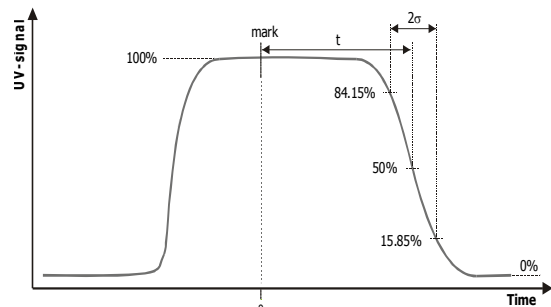
$$U_{t, \text{stokes}} = [(g(\rho_p - \rho_l)d_p^2)] / 18\mu \quad (۵)$$

گزینه مناسبی برای ساخت نانوذرات به شمار می‌رود. آلبومین تخم مرغ یک فسفو گلیکوپروتئین (Phosphoglycoprotein) است که شامل ۳۸۵ اسید آمینه بوده و اغلب در طراحی ماتریس مواد غذایی از آن استفاده می‌شود. همچنین آلبومین تخم مرغ دارای وزن مولکولی ۴۷۰۰۰ دالتون و نقطه ایزوالکتریک ۴/۸ می‌باشد و با توجه به ارزان و در دسترس بودن آن، انتخاب مناسبی برای استفاده در صنایع غذایی در مقایسه به سایر پروتئین‌ها است [۴۰].

ساخت نانوذرات آلبومین تخم مرغ با روش توده‌ای شدن ساده (Simple Coacervation Method) انجام گرفت. مطالعات گروه تحقیقاتی نانوبیوتکنولوژی دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل بر روی پروتئین آلبومین تخم مرغ نشان داد که این روش می‌تواند روش مناسبی برای تهیه نانوذرات آلبومین تخم مرغ باشد [۴۱].

ابتدا پودر آلبومین تخم مرغ را در ۵۰ ml آب مقطر حل کرده و سپس pH محلول روی همزن مغناطیسی با دمای ۳۵ °C و دور همزن ۶۰۰ rpm، با استفاده از محلول هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال به ۷/۵ رسانده می‌شود. در این مرحله استون را به عنوان عامل نامحلول کننده، قطره قطره به محلول حاضر اضافه می‌کنیم تا زمانی که رنگ محلول کدر شود. حال که نانوذرات آلبومین تخم مرغ تشکیل شده‌اند، برای تثبیت نانوذرات بدست آمده، ۳۰۰ میکرولیتر گلو تار آلدهید ۲۵ درصد وزنی به آن اضافه شد. به این محلول اجازه داده می‌شود به مدت ۱۲ ساعت روی همزن مغناطیسی هم بخورد.

سپس محلول نانوذرات آلبومین تخم مرغ به کمک سانتریفیوژ با سرعت ۵۰۰۰ rpm به مدت ۲۰ دقیقه خالص‌سازی می‌شوند. نهایتاً به منظور حذف مواد سمی مانند گلو تار آلدهید و استون، محلول نانوذرات آلبومین تخم مرغ به مدت ۱۲ ساعت دیالیز می‌شوند. علاوه بر این، مورفولوژی نانوذرات ساخته شده توسط میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و تصویر نانوذرات آلبومین تخم مرغ در شکل ۳ آورده شده است. همانطوریکه از شکل ۳ مشاهده می‌شود نانوذرات بدست آمده کروی یا شبه کروی هستند و دارای سطحی متراکم و یکنواخت می‌باشند.



شکل ۲: گزارش سیگنال UV در طول آزمایش برای تعیین تعداد سینی‌های تئوری با استفاده از روش ورودی پله‌ای [۳۰].

فاصله زمانی بین تغییر دادن ورودی ستون از محلول ردیاب به بافر ( $C/C_0=1$ ) تا زمانی که سیگنال به ۵۰٪ انحراف کامل برسد به عنوان زمان متوسط ماند نامیده می‌شود. فاصله زمانی که  $C/C_0$  در آنها از ۰/۸۴۱۵ به ۰/۱۵۸۵ برسد به عنوان دو برابر واریانس منحنی (۲δ) در نظر گرفته می‌شود. تعداد سینی‌های تئوری و ارتفاع معادل با یک سینی به ترتیب با استفاده از روابط (۸) و (۹) محاسبه می‌شوند [۳۱، ۳۶].

$$N = \frac{t^2}{\delta^2} \quad (۸)$$

$$\text{HETP} = H/N \quad (۹)$$

همچنین عدد بویدنش ( $B_0$ )، ضریب پراکندگی محوری ( $D_{axl}$ ) که بیانگر میزان پراکندگی فاز مایع و رفتار سیالیت هستند از روابط زیر تعیین می‌گردند [۳۷-۳۹].

$$\frac{\delta^2}{t^2} = \frac{2}{B_0} - 2\left(\frac{1}{B_0}\right)^2 \times [1 - \exp(-B_0)] \quad (۱۰)$$

$$B_0 = \frac{U.H}{\varepsilon.D_{axl}} \quad (۱۱)$$

$$D_{axl} = \frac{U.H}{2.\varepsilon.N} \quad (۱۲)$$

## ۲-۶- آماده‌سازی نانوذرات آلبومین تخم مرغ

آلبومینیک ماکرومولکول طبیعی منحصر بفرد است که زیست تخریب پذیر، غیرسمی و در دسترس می‌باشد، که در آب حل شده و به آسانی خالص‌سازی می‌شود. بنابراین

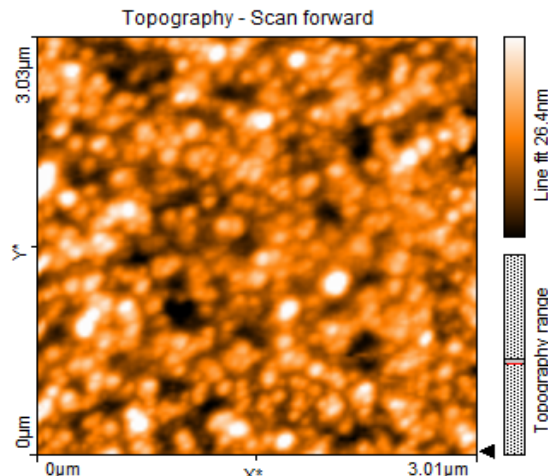
خروجی ستون به حداکثر مقدار خود رسید. سپس غلظت نانوذرات آلبومین تخم مرغ در این نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۲۸۰ nm خوانده شد. ظرفیت جذب دینامیکی نشان دهنده مقدار پروتئین جذب شده در ستون تقسیم بر میزان جاذب به کار رفته است، هنگامی که غلظت در خروجی ستون به کسر خاصی از غلظت خوراک ورودی برسد [۳۹]. ظرفیت جذب دینامیکی هنگامی که غلظت خوراک در خروجی ستون به ۱۰٪ غلظت خوراک ورودی برسد (Q<sub>10%</sub>)، را از رابطه زیر می‌توان محاسبه کرد.

$$Q_{10\%} = \frac{C_0 \times \int_0^{V_{10\%}} (1 - (C/C_0)) dV}{M} \quad (13)$$

که C<sub>0</sub> غلظت اولیه خوراک ورودی و C غلظت خوراک خروجی است. V<sub>10%</sub> حجم خوراک بارگذاری شده در ستون است، هنگامی که غلظت خوراک خروجی به ۱۰٪ غلظت خوراک ورودی برسد. M جرم مقدار جاذب به کار گرفته شده در ستون است [۴۴].

#### ۲-۸- کروماتوگرافی بستری سیال

پس از ارزیابی رفتار هیدرودینامیکی سیستم و بهینه کردن شرایط عملیاتی ستون، رفتار جذبی نانوذرات پروتئینی آلبومین تخم مرغ در شرایط بهینه هیدرودینامیکی مورد مطالعه قرار گرفت. به این منظور، ابتدا ستون با قطر داخلی ۱ cm تا ارتفاع ۶ cm از جاذب استریم لاین با لیگاند دی اتیلن آمین اتیل پر شده است. سپس بستر به کمک شدت جریان حاصل از پمپ پریستالتیک توسط بافر Tris-HCl ۱۰ میلی‌مولار در pH برابر با ۷/۵، به میزان ۱۰۰٪ بسط داده شد. آنگاه به مدت ۳۰ دقیقه به بستر فرصت داده شد تا در ارتفاع ۱۲ cm به حالت پایدار برسد. پس از آنکه بستر پایدار گردید، محلول نانوذرات آلبومین تخم مرغ با غلظت ۱ mg/ml به عنوان خوراک در ستون بارگذاری شد. ستون با ۱ mg/ml به عنوان خوراک در ستون بارگذاری گردید. با گذشت زمان از خروجی ستون نمونه‌گیری شد. این نمونه‌گیری‌ها تا زمانی ادامه یافت که غلظت نانوذرات آلبومین تخم مرغ در



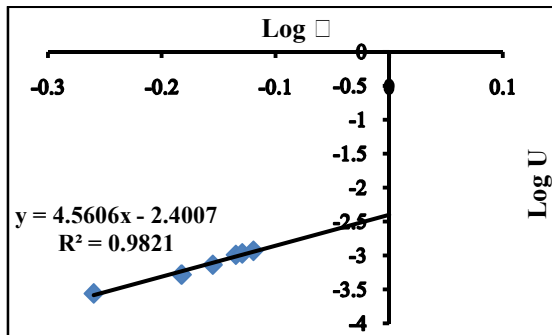
شکل ۳: تصویر نانوذرات آلبومین تخم مرغ با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی.

بنابراین نانوذرات آلبومین تخم مرغ ساخته شده دارای مورفولوژی قابل قبولی هستند و می‌توان از این نانوذرات به عنوان خوراکی مناسب جهت بارگذاری در بستر جذب سیال استفاده نمود.

#### ۲-۷- بررسی ظرفیت جذب بستر برای نانوذرات آلبومین تخم مرغ

با مطالعه دقیق ظرفیت جذب بستر داده‌های ارزشمندی در مورد مکانیسم جذب بدست می‌آید [۴۲]. به منظور توصیف رفتار جذبی نانوذرات آلبومین تخم مرغ بر روی جاذب استریم لاین با لیگاند دی اتیلن آمین اتیل در ستون، آزمایشات ظرفیت جذب بستر (آزمایشات BTCs) مورد مطالعه قرار گرفت [۴۳]. تمامی آزمایشات در دمای محیط (۲۴ °C) و در ستون بستر جذب سیال با قطر داخلی ۱ cm و ارتفاع اولیه جاذب ۶ cm انجام گردید. ابتدا ستون تا ارتفاع ۶ cm از جاذب پر شده و سپس بستر به کمک شدت جریان حاصل از پمپ پریستالتیک در سرعت‌های مختلف بسط داده می‌شود. آنگاه به مدت ۳۰ دقیقه به بستر اجازه داده می‌شود تا در این ارتفاع به حالت پایدار برسد. پس از آنکه بستر پایدار شد، محلول نانوذرات آلبومین تخم مرغ با غلظت ۱ mg/ml به عنوان خوراک در ستون بارگذاری گردید. با گذشت زمان از خروجی ستون نمونه‌گیری شد. این نمونه‌گیری‌ها تا زمانی ادامه یافت که غلظت نانوذرات آلبومین تخم مرغ در

ریچاردسون-زکی ( $n_e$ ) می‌باشد. مقدار تئوری سرعت نهایی ( $U_{II}$ ) از رابطه ۵ و مقدار تئوری ضریب ریچاردسون-زکی ( $n_t$ ) از رابطه ۷ محاسبه می‌گردد.



شکل ۵: نمودار ریچاردسون-زکی جهت محاسبه مقادیر تجربی  $n$  و  $U_t$ .

پارامترهای مورد نیاز برای محاسبه مقادیر تئوری سرعت نهایی و ضریب ریچاردسون-زکی در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: مقادیر مورد نیاز برای محاسبه  $n_t$  و  $n_e$ .

۱۱۵۰	$\rho_p$ ( $\text{kg.m}^{-3}$ )
۱۰۰۰	$\rho_l$ ( $\text{kg.m}^{-3}$ )
۲۰۰	$d_p$ ( $\mu\text{m}$ )
۰/۰۰۱	$\mu$ ( $\text{N.s.m}^{-2}$ )
۹/۸۰۶	$g$ ( $\text{m.s}^{-2}$ )

به منظور ارزیابی عملکرد بستر جذب سیال، نتایج تجربی بدست آمده با نتایج تئوری مقایسه شدند. مقایسه نتایج تجربی و تئوری در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲: مقایسه نتایج تجربی و تئوری  $n$  و  $U_t$ .

n	$U_t$ ( $\text{m.s}^{-1}$ )	نتایج
۴/۷۴۵	$۳/۲۵۲۶ \times ۱۰^{-۳}$	مقادیر تئوری
۴/۵۶۰	$۳/۹۷۴۶ \times ۱۰^{-۳}$	مقادیر تجربی

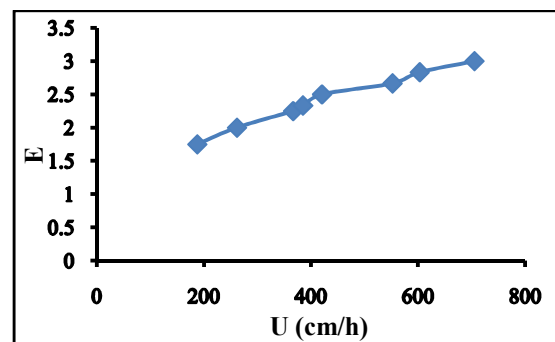
همانطور که از جدول ۲ مشاهده می‌شود نتایج حاصله تطابق خوبی را بین مقادیر تجربی و تئوری ضریب ریچاردسون-زکی و سرعت نهایی نشان می‌دهد. همچنین مقدار تجربی ضریب ریچاردسون-زکی ۴/۵۶ بدست آمد، که این مقدار به عدد ۴/۸ که معمولاً در رژیم جریان آرام

محلول‌های Tris-HCl ۱۰ میلی مولار حاوی هیدروکسید سدیم ۰/۱ مولار و ۱ مولار، در pH برابر با ۷/۵ استفاده شد. در تمامی این مراحل از خروجی ستون نمونه‌گیری صورت گرفت. غلظت نانوذرات پروتئینی در این نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۲۸۰ nm خوانده شد.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- تعیین خصوصیات بسط بستر

همانگونه که اشاره شد خصوصیات بسط بستر توسط رابطه مشهور ریچاردسون-زکی (رابطه ۱) بیان می‌گردد. ابتدا ستون با قطر داخلی ۱ cm، توسط ۶ cm جاذب پر گردید و به کمک شدت جریان حاصل از پمپ پریستالتیک در سرعت‌های مختلف بسط داده شد. سپس در سرعت‌های مختلف میزان فضای خالی بستر از رابطه ۲ محاسبه گردید. بر اساس داده‌های بدست آمده، نمودار میزان بسط بستر (E) در سرعت‌های مختلف و منحنی لگاریتم سرعت ظاهری  $\log(U)$  بر حسب لگاریتم فضای خالی بستر  $\log(\varepsilon)$  رسم گردید (شکل‌های ۴ و ۵).



شکل ۴: نمودار میزان بسط بستر برای جاذب استریم لاین دی اتیلن آمین اتیل در سرعت‌های مختلف.

همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، نسبت میزان بسط بستر با افزایش سرعت به صورت خطی افزایش می‌یابد. همانگونه که در شکل ۵ نشان داده شده است، رابطه ریچاردسون-زکی بیانگر ارتباط بین سرعت سیال و فضای خالی بستر در بسط‌های مختلف می‌باشد. در این نمودار عرض از مبدا خط حاصل مقدار تجربی سرعت نهایی ( $U_{te}$ ) و شیب آن مقدار تجربی ضریب

ستون، زمان لازم برای عملیات جذب افزایش می‌یابد که منجر به کاهش بازده بازیابی نانومحصولات زیستی خواهد شد. بنابراین میزان بسط ۱۰۰٪ به عنوان بسط بهینه انتخاب گردید. همانطور که در جدول ۵ دیده می‌شود افزایش قطر ستون به طرز چشمگیری باعث افزایش ضریب پراکندگی محوری در ستون شده است و کمترین مقدار ضریب پراکندگی محوری در ستون با قطر داخلی ۱ cm مشاهده شد. از این رو ستون با قطر داخلی ۱ cm مناسب‌تر بوده و آزمایش بازیابی نانوذرات پروتئینی در این ستون انجام گردید.

### ۳-۳- آزمایشات BTCs و تعیین ظرفیت جذب دینامیکی بستر

آزمایشات BTCs در سرعت‌های مختلف عملیاتی به منظور بررسی تاثیر سرعت جریان بر فرآیند جذب نانوذرات آلومین تخم مرغ بر روی جاذب استریم لاین با لیگاند دی اتیلن آمین اتیل انجام گرفت. تمامی آزمایشات BTCs در دمای محیط (۲۴ °C) و در ستون با قطر داخلی ۱ cm و ارتفاع اولیه جاذب ۶ cm انجام گرفت. محلول نانوذرات آلومین تخم مرغ با غلظت ۱ mg/ml در سرعت‌های ۱۸۷، ۲۶۲ و ۳۸۵ cm/h در ستون بارگذاری شد. سپس منحنی  $C/C_0$  بر حسب زمان سپری شده (منحنی BTCs)، در هر سرعت رسم گردید. شکل ۶ منحنی‌های BTCs را در سرعت‌های مختلف عملیاتی نشان می‌دهد.

همانطور که از شکل ۶ مشاهده می‌گردد، سرعت جریان تاثیر قابل توجهی بر جذب نانوذرات آلومین تخم مرغ دارد. سپس با استفاده از منحنی‌های BTCs، مقدار  $Q_{10\%}$  از رابطه ۱۴ بدست می‌آید. نتایج در جدول ۶ آورده شده است. با توجه به میزان ظرفیت جذب دینامیکی در  $C/C_0=0/1$ ، در سرعت ۱۸۷ cm/h بیشترین میزان ظرفیت جذب ۸/۴۵ mg/ml بدست آمد. در سرعت ۳۸۵ cm/h شیب منحنی نسبت به سایر سرعت‌ها بیشتر است و کمترین میزان ظرفیت جذب ۸۴/۶ mg/ml بدست آمد. با افزایش سرعت جریان ورودی به ستون، زمان ماند برای نفوذ نانوذرات در جاذب‌ها کاهش می‌یابد. در نتیجه برخی از نانوذرات بدون نفوذ در خلل و فرج جاذب از بستر شسته و خارج شده، بنابراین ظرفیت جذب دینامیکی کاهش

استفاده می‌شود نزدیک است [۴۵]. این بررسی نشان داد که عملکرد بستر جذب سیال قابل قبول می‌باشد.

### ۳-۲- ارزیابی پراکندگی فاز مایع در بستر سیال

به منظور تعیین میزان پراکندگی فاز مایع در بستر جذب سیال، اندازه‌گیری توزیع زمان ماند (RTD) استفاده شد. اندازه‌گیری توزیع زمان ماند به کمک ردیاب استون جهت محاسبه پارامترهای هیدرودینامیکی مانند: تعداد سینی‌های تئوری (N)، عدد بویدنش ( $B_0$ )، ضریب پراکندگی محوری ( $D_{axl}$ ) و ارتفاع معادل با یک سینی (HETP) انجام گرفت و تاثیر سه عامل مهم فیزیکی: ارتفاع اولیه بستر (SBH)، میزان بسط ذرات جاذب در بستر (Expansion Degree) و قطر داخلی ستون (ID) روی پارامترهای هیدرودینامیکی بررسی شد. نتایج در جداول ۳، ۴ و ۵ نشان داده شده است. عدد بویدنش ( $B_0$ ) و ضریب پراکندگی محوری ( $D_{axl}$ )، مهم‌ترین پارامترهایی می‌باشند که به منظور تخمین ویژگی‌های پراکندگی فاز مایع در ستون مورد استفاده قرار می‌گیرند [۴۶]. با افزایش مقدار  $D_{axl}$  به دلیل تشدید پراکندگی، بستر ناپایدارتر می‌شود که منجر به کاهش راندمان بستر و بازده جذب می‌گردد [۴۷]. همانطور که از جدول ۳ مشاهده می‌گردد با افزایش ارتفاع اولیه بستر، ضریب پراکندگی محوری افزایش می‌یابد. در ارتفاع‌های ۴، ۵ و ۶ cm مقدار ضریب پراکندگی محوری در یک محدوده می‌باشد، با افزایش ارتفاع اولیه بستر به ۷ cm مقدار ضریب پراکندگی محوری افزایش چشمگیری می‌یابد. همچنین با توجه به اینکه ارتفاع اولیه ۴ cm، ارتفاع کمی برای بستر است باعث افزایش زمان عملیاتی و در نتیجه کاهش بازده جذب می‌گردد. بنابراین حداقل ارتفاع قابل قبول برای بستر جذب سیال ۶ cm در نظر گرفته شد. همانگونه که از جدول ۴ مشاهده می‌شود، با افزایش میزان بسط بستر، ضریب پراکندگی محوری افزایش می‌یابد. مقدار ضریب پراکندگی محوری با افزایش میزان بسط بستر از ۱۰۰٪ به ۱۳۰٪ افزایش زیادی یافته، تا جایی که این افزایش در میزان بسط ۱۵۰٪ بسیار قابل توجه است. از طرفی باید این نکته را در نظر داشت که اگر میزان بسط بستر از حد معینی کاهش یابد به دلیل کاهش شدت جریان عبوری از



جدول ۳: تاثیر ارتفاع اولیه بستر بر روی پارامترهای هیدرودینامیکی در بستر جذب سیال.

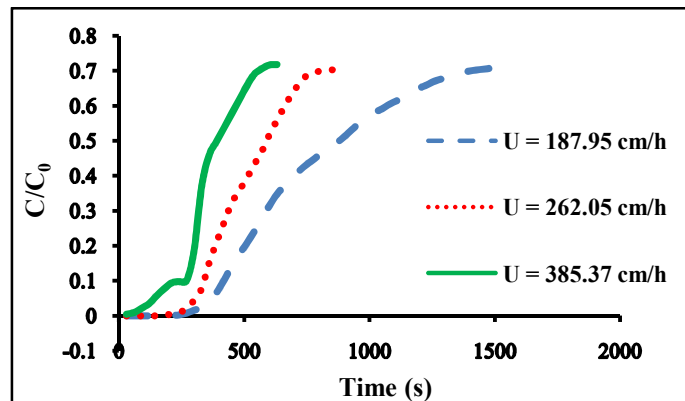
SBH (cm)	EBH (cm)	U (cm/h)	$\bar{t}$	$\delta$	$\epsilon$	N	$B_0$	$D_{axl} \times 10^6$ (m <sup>2</sup> /sec)	HETP
۴	۸	۲۴۰/۱۰۴	۲۹۴/۵۹۵	۷۳/۳۲۳	۰/۷	۱۶/۱۴۲	۳۲/۲۸۴	۲/۳۶	۰/۴۹۵
۵	۱۰	۲۵۴/۷۷۷	۳۱۵/۶۰۵	۸۲/۹۴۶	۰/۷	۱۴/۴۷۱	۲۸/۹۴۲	۳/۴۹۳	۰/۶۹۱
۶	۱۲	۲۶۲/۰۵۶	۲۱۵/۲۳۲	۶۹/۴۷۰	۰/۷	۹/۵۹۸	۱۹/۱۹۷	۶/۵	۱/۲۵
۷	۱۴	۴۳۲/۶۴۰	۱۵۸/۱۶۵	۵۸/۹۷۵	۰/۷	۷/۱۹۲	۱۴/۳۸۵	۱۶/۷۰۸	۱/۹۴۶
۸	۱۶	۴۶۳/۲۳۱	۱۵۰	۵۹/۵۳۶	۰/۷	۶/۳۴۷	۱۲/۶۹۵	۲۳/۱۶۶	۲/۵۲

جدول ۴: تاثیر میزان بسط بستر بر روی پارامترهای هیدرودینامیکی در بستر جذب سیال.

Expansion Degree (%)	SBH (cm)	EBH (cm)	U (cm/h)	$\bar{t}$	$\delta$	$\epsilon$	N	$B_0$	$D_{axl} \times 10^6$ (m <sup>2</sup> /sec)	HETP
۳۳/۳۳	۶	۸	۹۹/۵	۵۶۹/۰۴۹	۱۳۲/۴۱	۰/۵۵	۱۸/۴۶۹	۳۶/۹۳۹	۱/۰۸۸	۰/۴۳۳
۷۵	۶	۱۰/۵	۱۸۷/۹۵۰	۴۴۱/۰۹۷	۱۱۷/۴۳	۰/۶۵۷	۱۴/۱۰۹	۲۸/۲۱۸	۲/۹۵۶	۰/۷۴۴
۱۰۰	۶	۱۲	۲۶۲/۰۵۶	۲۱۵/۲۳۲	۶۹/۴۷	۰/۷	۹/۵۹۸	۱۹/۱۹۷	۶/۵	۱/۲۵
۱۳۳/۳۳	۶	۱۴	۳۸۵/۳۷۷	۲۱۰/۷۴۶	۶۹/۳۱۶	۰/۷۴۲	۹/۲۴۳	۱۸/۴۸۷	۱۰/۹۱۲	۱/۵۱۴
۱۵۰	۶	۱۵	۴۲۰/۷۳۲	۲۱۱/۲۷۸	۷۱/۰۷۷	۰/۷۶	۸/۸۳۵	۱۷/۶۷۱	۱۳/۰۵۲	۱/۶۹۷
۱۶۶/۶۶	۶	۱۶	۵۵۲/۵۲۸	۱۶۲/۸۶	۵۱/۷۳۹	۰/۷۷۵	۹/۹۰۸	۱۹/۸۱۶	۱۵/۹۹	۱/۶۱۴
۱۸۳/۳۳	۶	۱۷	۶۰۳/۴۱۹	۲۵۹/۱۶۹	۸۷/۶۱۹	۰/۷۸۸	۸/۷۴۹	۱۷/۴۹۸	۲۰/۶۵۹	۱/۹۴۳
۲۰۰	۶	۱۸	۷۰۵/۵۳۶	۱۴۴/۳۸۹	۵۵/۴	۰/۸	۶/۷۹۲	۱۳/۵۸۵	۳۲/۴۵۷	۲/۶۴۹

جدول ۵: تاثیر قطر داخلی ستون بروی پارامترهای هیدرودینامیکی در بستر جذب سیال.

ID (cm)	SBH (cm)	EBH (cm)	U (cm/h)	$\bar{t}$	$\delta$	$\epsilon$	N	$B_0$	$D_{axl} \times 10^6$ (m <sup>2</sup> /sec)	HETP
۱	۶	۱۲	۲۶۲/۰۵۶	۲۱۵/۲۳۲	۶۹/۴۷	۰/۷	۹/۵۹۸	۱۹/۱۹۷	۶/۵	۰/۶۲۵
۱/۳	۶	۱۲	۳۶۶/۷۰۲	۱۵۰	۵۶/۷۹۳	۰/۷	۶/۹۷۵	۱۳/۹۵۱	۱۲/۵۱۶	۰/۸۶
۱/۶	۶	۱۲	۶۹۵/۶۸۹	۱۱۶/۱۲	۵۱/۲۰۹	۰/۷	۵/۱۴۱	۱۰/۲۸۳	۳۲/۲۱۴	۱/۱۶۶

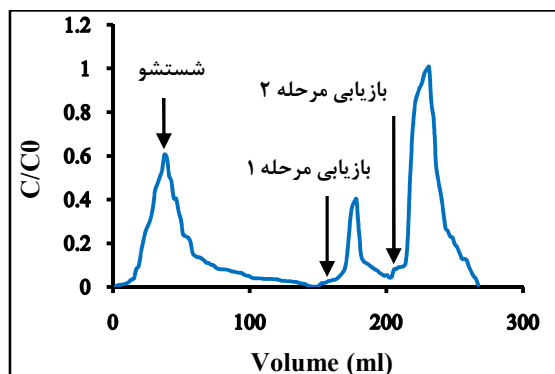


شکل ۶: منحنی‌های BTCs جهت جذب نانوذرآل آلومین تخم مرغ در سرعت‌های مختلف جریان.

جدول ۶: پارامترهای منحنی BTC جهت محاسبه Q10% در بستر جذب سیال.

Expansion Degree (%)	SBH (cm)	EBH (cm)	U (cm/h)	$\epsilon$	Q <sub>10%</sub> (mg/ml)
۷۵	۶	۱۰/۵	۱۸۷/۹۵۰	۰/۶۵۷	۸/۴۵
۱۰۰	۶	۱۲	۲۶۲/۰۵۶	۰/۷	۷/۳۷۲
۱۳۳/۳۳	۶	۱۴	۳۸۵/۳۷۷	۰/۷۴۲	۶/۸۴۸

گرفت و درصد بازیابی نانوذرات تعیین شد. نتایج در جدول ۷ آورده شده است.



شکل ۷: منحنی کامل بازیابی نانوذرات آلبومین تخم مرغ در شرایط بهینه هیدرودینامیکی.

همانطور که مشاهده می‌شود، جداسازی نانوذرات آلبومین تخم مرغ با بازده ۸۰/۷۹۵٪ در شرایط بهینه هیدرودینامیکی صورت گرفت. بر اساس نتایج حاصله عملکرد ستون در بازیابی نانوذرات آلبومین تخم مرغ، بسیار خوب ارزیابی می‌گردد.

جدول ۷: نتایج حاصل از بازیابی نانوذرات آلبومین تخم مرغ در شرایط بهینه هیدرودینامیکی.

بازده بازیابی (درصد)	نانوذرات بازیابی شده (mg)	
۱۹/۱۳۹	۵/۷۴۱	بازیابی اول
۸۰/۷۹۵	۲۴/۲۳۸	بازیابی دوم

#### ۴- نتیجه‌گیری

پیش‌بینی درست و درک صحیح از شرایط هیدرودینامیکی بسترهای جذب سیال جهت افزایش بازده جداسازی و خالص‌سازی نانومحصولات زیستی، قبل از بارگذاری خوراک واقعی در ستون، امری حیاتی است. بنابراین ابتدا قبل از بارگذاری نانوذرات آلبومین تخم مرغ در ستون، شرایط هیدرودینامیکی ستون بررسی شده است تا بهترین شرایط عملیاتی برای بازیافت نانوذرات آلبومین تخم مرغ در بستر جذب سیال حاصل گردد. به منظور ارزیابی شرایط هیدرودینامیکی ستون، از اندازه‌گیری توزیع زمان ماند استفاده شد و اثر سه عامل فیزیکی ارتفاع اولیه بستر

می‌یابد. همچنین ممکن است کاهش میزان ظرفیت جذب دینامیکی در سرعت‌های پایین‌تر به علت مقاومت بالا در فیلم انتقال جرمی بین نانوذرات و گروه‌های عاملی جاذب‌ها باشد.

#### ۳-۴- بازیابی نانوذرات آلبومین تخم مرغ در شرایط بهینه هیدرودینامیکی

بسترهای جذب سیالیک روش نوید بخش و کاربردی برای خالص‌سازی یکپارچه مولکول‌های زیستی است [۴۸]. در گام اول خصوصیات هیدرودینامیکی بسترهای جذب سیال مورد ارزیابی قرار گرفت و بهترین شرایط هیدرودینامیکی برای دستیابی به بالاترین درصد جداسازی و خالص‌سازی نانومحصولات زیستی تعیین گردید. سپس نانوذرات آلبومین تخم مرغ در شرایط بهینه هیدرودینامیکی، در ستون بارگذاری شد. ستون با قطر داخلی ۱ cm، تا ارتفاع ۶ cm از جاذب پر شد. ابتدا جاذب‌ها توسط بافر به میزان ۱۰۰٪ بسط یافتند و به تعادل رسیدند. سپس محلول نانوذرات آلبومین تخم مرغ با غلظت ۱ mg/ml در ستون بارگذاری شد. پس از مرحله بارگذاری، جهت حذف نانوذراتی که جذب جاذب نشده‌اند ستون با بافر ۱۰ Tris-HCl میلی‌مولار در pH برابر با ۷/۵، شستشو داده شد. در نهایت مرحله بازیافت نانوذرات جذب شده آغاز گردید. این مرحله شامل دو قسمت می‌باشد. در قسمت اول توسط محلول ۱۰ Tris-HCl میلی‌مولار حاوی هیدروکسید سدیم ۰/۱ مولار در pH برابر با ۷/۵، نانوذراتی که پیوند ضعیف با ذرات جاذب دارند، از سطح جاذب جدا می‌شوند. در قسمت دوم توسط محلول ۱۰ Tris-HCl میلی‌مولار حاوی هیدروکسید سدیم ۱ مولار در pH برابر با ۷/۵، نانوذراتی که دارای پیوندهای قوی با ذرات جاذب هستند جدا می‌شوند. در تمامی این مراحل از خروجی ستون نمونه‌گیری صورت گرفت و غلظت نانوذرات پروتئینی در این نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. سپس منحنی غلظت نانوذرات پروتئینی بر حسب حجم جریان ورودی به ستون رسم گردید. در شکل ۷ منحنی کامل بازیابی نانوذرات آلبومین تخم مرغ در بستر جذب سیال نشان داده شده است. با استفاده از این منحنی، عملکرد ستون در بازیابی نانوذرات آلبومین تخم مرغ مورد ارزیابی قرار

- [8] P. Liang, D. Zhao, C.Q. Wang, J.Y. Zong, R.X. Zhuo, S.X. Cheng, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **102**, 2012, 783.
- [9] T. Doane, C. Burda, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2012, doi: 10.1016/j.addr.2012.05.012.
- [10] M. Kumar, *J. Pharm. Pharmaceut. Science*, **3**, 2000, 234.
- [11] J. Kreuter, *Journal of Drug Targeting*, **3**, 1995, 171.
- [12] R. Gref, Y. Minamitake, M.T. Peracchia, V. Trubetskoy, V. Torchilin, R. Langer, *Science*, **263**, 1994, 1600.
- [13] R. Mehravar, M. Jahanshahi, N. Saghatoleslami, *African Journal of Biotechnology*, **8**, 2009, 6822.
- [14] Y. Zhang, H.F. Chan, K.W. Leong, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2012, doi: 10.1016/j.addr.2012.10.003.
- [15] M. Jahanshahi, S. Williams, A. Lyddiatt, S.A. Shojaosadati, *J. IEE Nanobiotechnology*, **151**, 2004, 176.
- [16] H.A. Chase, *Journal of Chromatography A*, **297**, 1984, 179.
- [17] F. Fenneteau, H. Aomari, P. Chahal, R. Legros, *Biotechnology and Bioengineering*, **81**, 2003, 790.
- [18] M. Jahanshahi, A.W. Patek, A.W. Nienow, A. Lyddiatt, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **78**, 2003, 1111.
- [19] A. Ramos, F.G. Acien, J.M. Fernandez-Sevilla, C.V. Gonzalez, R. Bermejo, *Journal of Chromatography B*, **879**, 2011, 511.
- [20] X.D. Tong, Y. Sun, *Journal of Chromatography A*, **977**, 2002, 173.
- [21] M. Zhang, H. Yang, X. Chen, Y. Zhou, H. Zhang, Y. Wang, P. Hu, *Separation and Purification Technology*, **80**, 2011, 677.
- [22] V. Boeris, I. Balce, R.R. Vennapusa, M.A. Rodriguez .G. Pico, M.F. Lahore, *Journal of Chromatography B*, **900**, 2012, 32.
- [23] Y.K. Chang, J.T. Horng, R.Z. Huang, S.Y. Lin, *Biochemical Engineering Journal*, **30**, 2006, 138.
- [24] M. Jahanshahi, T. Ling, A. Ghoreyshi, M. Khavarpour, *Iranian Journal of Chemical Engineering*, **3**, 2006, 92.
- [25] M. Jahanshahi, Y. Sun, E. Santos, A. Patek, T. Teixeira Franco, A. Nienow, A. Lyddiatt, *Biotechnology and Bioengineering*, **80**, 2002, 201.
- [26] B. Balasundaram, S. Harrison, *Journal of Biotechnology*, **133**, 2008, 360.
- [27] N. Draeger, H. Chase, *Bioseparation*, **2**, 1991, 67.
- [28] M. Shahavi, G. Najafpour, M. Jahanshahi, *African Journal of Biotechnology*, **7**, 2008, 4336.
- [29] M.Y. Ng, W.S. Tan, N. Abdullah, T.C. Ling, B.T. Tey, *Journal of Chromatography A*, **1172**, 2007, 47.
- [30] A.P. Biotech, "Expanded Bed Adsorption: Principles and Methods", Amersham Pharmacia Biotech, 1996.
- [31] M. Jahanshahi, L. Partida-Martinez, S. Hajizadeh, *Journal of Chromatography A*, **1203**, 2008, 13.
- [32] F. Asghari, M. Jahanshahi, A. Ghoreyshi, *Journal of Chromatography A*, **1242**, 2012, 35.
- [33] J. Li, H.A. Chase, *Journal of Chromatography A*, **1216**, 2009, 8730.
- [34] H.F. Xia, D.Q. Lin, S.J. Yao, *Journal of Chromatography A*, **1145**, 2007, 58.
- [35] J.P. Biazus, J. Severo, J. Santana, R. Souza, E. Tambourgi, *Process Biochemistry*, **41**, 2006, 1786.
- [36] F. Asghari, M. Jahanshahi, *Journal of Chromatography A*, **1257**, 2012, 89.
- [37] D.Q. Lin, Z.J. Miao, S.J. Yao, *Journal of Chromatography A*, **1107**, 2006, 265.
- [38] O. Levenspiel, "Chemical Reaction Engineering", John Wiley and Sons, 1999.
- [39] L. Bruce, H. Chase, *Chemical engineering science*, **56**, 2001, 3149.

میزان بسط ذرات جاذب در بستر و قطر داخلی ستون بر روی رفتار هیدرودینامیکی مورد مطالعه قرار گرفت. ضریب پراکندگی محوری مهم‌ترین پارامتر هیدرودینامیکی در ارزیابی عملکرد بستر جذب سیال می‌باشد. مشاهده گردید، ضریب پراکندگی محوری با افزایش ارتفاع اولیه بستر، میزان بسط ذرات جاذب در بستر و قطر داخلی ستون افزایش می‌یابد. همچنین بر اساس نتایج حاصله، بهترین شرایط هیدرودینامیکی ستون به قرار زیر گزارش می‌گردد:

ارتفاع اولیه بستر برابر ۶ cm، میزان بسط بستر برابر ۱۰۰٪ و قطر داخلی ستون برابر ۱ cm.

در نهایت نانوذرات آلبومین تخم مرغ در شرایط بهینه هیدرودینامیکی در ستون بارگذاری شد و بازده بازیابی نانوذرات ۸۰/۷۹۵٪ بدست آمد. با توجه به نتیجه حاصل شده، عملکرد بستر جذب سیال در بازیابی نانوذرات آلبومین تخم مرغ بسیار خوب گزارش می‌شود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت بسترهای جذب سیال روشی توانمند جهت جداسازی اولیه و مستقیم نانوذرات پروتئینی می‌باشد.

## سپاسگزاری

نویسندگان مقاله مراتب تشکر خود را از پژوهشکده فناوری نانو دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل به منظور فراهم آوردن تسهیلات لازم برای انجام این تحقیق ابراز می‌دارند.

## مراجع

- [1] J.M. Irache, L. Bergougnoux, I. Ezpeleta, J. Gueguen, A.M. Orecchioni, *International Journal of Pharmaceutics*, **126**, 1995, 103.
- [2] M. Jahanshahi, G. Najafpour, M. Ebrahimpour, S. Hajizadeh, M.H. Shahavi, *Physica Status Solidi (c)*, **6**, 2009, 2199.
- [3] D. Qu, H. Lin, N. Zhang, J. Xue, C. Zhang, *Carbohydrate Polymers*, **92**, 2012, 545.
- [4] M. Jahanshahi, *Iranian Journal of Biotechnology*, **2**, 2004, 1.
- [5] M. Jahanshahi, M. Sanati, S. Hajizadeh, Z. Babaei, *physica status Solidi (a)*, **205**, 2008, 2898.
- [6] M. Jahanshahi, H. Aghajani, T.C. Ling, *International Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, **1**, 2005, 9.
- [7] R. Mehravar, M. Jahanshahi, N. Saghatoleslam, *Dynamic Biochemistry Process biotechnology and Molecular Biology*, **3**, 2009, 51.

- A, **1195**, 2008, 60.
- [45] X.D. Tong, Y. Sun, *Journal of Chromatography A*, **943**, 2002, 63.
- [46] H.B. Song, Z.F. Xiao, Q.P. Yuan, *Journal of Chromatography A*, **1216**, 2009, 5001.
- [47] J. Zhao, D.Q. Lin, S.J. Yao, *Journal of Chromatography A*, **1216**, 2009, 7840.
- [48] J. Zhao, D.Q. Lin, Y.C. Wang, S.J. Yao, *Carbohydrate Polymers*, **80**, 2010, 1085.
- [40] A.O. Elzoghby, W.M. Samy, N.A. Elgindy, *Journal of Controlled Release*, **157**, 2011, 168.
- [41] E.S. Taheri, M. Jahanshahi, M.T. Mosavian, *Particle & Particle Systems Characterization*, **29**, 2012, 2011.
- [42] M.Y. Ng, W.S. Tan, B.T. Tey, *Journal of Chromatography B*, **903**, 2012, 60.
- [43] M. Jahanshahi, M. Ebrahimpour, *Chromatographia*, **70**, 2009, 1553.
- [44] H.F. Xia, D.Q. Lin, S.J. Yao, *Journal of Chromatography*