INSO
16485
1st. Edition
Aug.2013

جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran
سازمان ملی استاندارد ایران
Iranian National Standardization Organization

استاندارد ملی ایران
۱۶۴۸۵
چاپ اول
مرداد ۱۳۹۲

آلژینات‌های مورد نظر برای کاربرد در محصولات زیست‌پزشکی و محصولات پزشکی حاصل از مهندسی بافت – راهنما

Alginates intended for use in biomedical and tissue-engineered medical products application - Guidance

ICS:11.040.40

به نام خدا

آشنایی با سازمان ملی استاندارد ایران

مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب بند یک مادهٔ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ تنها مرجع رسمی‌کشور است که وظیفه تعیین، تدوین و نشر استانداردهای ملی (رسمی) ایران را به عهده دارد.

نام موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب یکصد و پنجاه و دومین جلسه شورای عالی اداری مورخ ۹۰/۶/۲۹ به سازمان ملی استاندارد ایران تغییر و طی نامه شماره ۲۰۶/۳۵۸۳۸ جهت اجرا ابلاغ شده است.

تدوین استاندارد در حوزه های مختلف در کمیسیون‌های فنی مرکب از کارشناسان مؤسسه* صاحب نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می‌شود وکوششی همگام با مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فناوری و تجاری است که از مشارکت آگاهانه و منصفانهٔ صاحبان حق و نفع، شامل تولیدکنندگان، مصرف‌کنندگان، صادرکنندگان و وارد کنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان‌های دولتی و غیر دولتی حاصل می‌شود .پیش‌نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی نفع و اعضای کمیسیون های فنی مربوط ارسال می‌شود و پس از دریافت نظرها و پیشنهادها در کمیتهٔ ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب به عنوان استاندارد ملی (رسمی) ایران چاپ و منتشر می‌شود.

پیش نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان‌های علاقه‌مند و ذیصلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می‌کنند درکمیتهٔ ملی طرح و بررسی و درصورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می‌شود .بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می‌شود که بر اساس مفاد نوشته شده در استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۵ تدوین و در کمیتهٔ ملی استاندارد مربوط که سازمان استاندارد تشکیل می‌دهد به تصویب رسیده باشد.

سازمان ملی استاندارد ایران از اعضای اصلی سازمان بین المللی استاندارد[1] (ISO) کمیسیون بین المللی الکتروتکنیک[2](IEC) و سازمان بین المللی اندازه شناسی قانونی [3](OIML) است و به عنوان تنها رابط[4] کمیسیون کدکس غذایی[5](CAC) در کشور فعالیت می‌کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی‌های خاص کشور، از آخرین پیشرفت‌های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین‌المللی بهره‌گیری می‌شود.

سازمان ملی استاندارد ایران می‌تواند با رعایت موازین پیش‌بینی شده در قانون، برای حمایت از مصرف‌کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشور و/ یا اقلام وارداتی، با تصویب شورای عالی استاندارد، اجباری نماید. سازمان می‌تواند به منظور حفظ بازارهای بین المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه‌بندی آن را اجباری نماید. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده کنندگان از خدمات سازمان‌ها و مؤسسات فعال در زمینهٔ مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدورگواهی سیستم‌های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست‌محیطی، آزمایشگاه ها و مراکز کالیبراسیون (واسنجی) وسایل سنجش، مؤسسهٔ استاندارد این گونه سازمان‌ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می‌کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامهٔ تأیید صلاحیت به آن ها اعطا و بر عملکرد آن‌ها نظارت می‌کند. ترویج دستگاه بین المللی یکاها، کالیبراسیون (واسنجی) وسایل سنجش، تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی ایران از دیگر وظایف این سازمان است.

1-International organization for Standardization
2-International Electro technical Commission
3-International Organization for Legal Metrology (Organization International de Metrologie Legal)
4-Contact point
5-Codex Alimentarius Commission

کمیسیون فنی تدوین استاندارد

« آلژینات‌های مورد نظر برای کاربرد در محصولات زیست‌پزشکی و محصولات پزشکی حاصل از مهندسی بافت – راهنما »

رئیس:	**سمت و/ یا نمایندگی**
ولی‌پور، جواد (دکترای شیمی تجزیه)	شرکت اندیشه خلاق صنعت شیمی
دبیر:	
حسین‌زاده، ملیحه (دکترای پزشکی)	شرکت اسلوب آفرینان آریا آذربایجان
اعضاء (به ترتیب حروف الفباء):	
اخیاری، شهاب (فوق‌لیسانس شیمی‌فیزیک)	اداره کل استاندارد آذربایجان شرقی
آل‌احمد، ام‌البنین (فوق‌لیسانس شیمی‌تجزیه)	انجمن صنفی مسئولین فنی و کنترل کیفی صنایع غذایی، آرایشی، بهداشتی آذربایجان شرقی
بیات ماکو، روشنک (فوق لیسانس بیوشیمی)	دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز
حیدری، نوید (دانشجوی دکترای پزشکی)	کارشناس
سالک‌زمانی، مریم (فوق‌لیسانس علوم تغذیه)	اداره کل استاندارد آذربایجان شرقی
مبین، هایده (دکترای میکروبیولوژی)	دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز

معینیان، سید شهاب
(فوق‌لیسانس شیمی) پژوهشگاه استاندارد

یحیوی، اتابک شبکه بهداشت و درمان جلفا
(لیسانس علوم تغذیه)

فهرست مندرجات

عنوان	صفحه
آشنایی با سازمان ملی استاندارد ایران	ب
کمیسیون فنی تدوین استاندارد	ج
پیش‌گفتار	ه
مقدمه	و
۱ هدف و دامنه کاربرد	۱
۲ مراجع الزامی	۱
۳ اصطلاحات و تعاریف	۲
۴ روش‌های آزمون فیزیکی و شیمیایی	۴
۵ ملاحظات تولید محصول	۱۱
۶ جنبه‌های ایمنی و سم‌شناسی آلژینات	۱۲
پیوست الف (اطلاعاتی) مبنای کار	۱۴
پیوست ب (اطلاعاتی) زمینه	۱۵

پیش گفتار

استاندارد" آلژینات‌های مورد نظر برای کاربرد در محصولات زیست‌پزشکی و محصولات پزشکی حاصل از مهندسی بافت – راهنما " که پیش‌نویس آن درکمیسیون‌های فنی مربوط توسط شرکت اسلوب آفرینان آریا آذربایجان تهیه و تدوین شده و در سیصد و نودمین اجلاسیه کمیتهٔ ملی استاندارد مهندسی پزشکی مورخ ۹۱/۱۱/۳۰ مورد تصویب قرار گرفته است، اینک به استناد بند یک مادهٔ ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات سازمان ملی استاندارد ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱، به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می‌شود.

برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت‌های ملی و جهانی در زمینهٔ صنایع، علوم و خدمات، استانداردهای ملی ایران در مواقع لزوم تجدید نظر خواهد شد و هر پیشنهادی که برای اصلاح و تکمیل این استانداردها ارائه شود، هنگام تجدید نظر در کمیسیون فنی مربوط مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین، باید همواره از آخرین تجدیدنظر استانداردهای ملی استفاده کرد.

منبع و مأخذی که برای تهیهٔ این استاندارد مورد استفاده قرار گرفته به شرح زیر است:

ASTM F 2064: 2006, Standard guide for characterization and testing of alginates as starting materials intended for use in biomedical and tissue-engineered medical products application

مقدمه

آلژینات‌ها در طیف گسترده‌ای از محصولات از کاربردهای فنی ساده مثل افزاینده‌های گرانروی[1] تا ماتریس‌های[2] پیشرفته زیست‌پزشکیِ فراهم‌آورنده تحویل کنترل‌شده دارو از سلول‌های غیرمتحرک زنده به کار می‌روند. همچون بیشتر هیدروکلوئیدها[3]، کارآمدی[4] آلژینات‌ها مربوط به ترکیب ساختاری و شیمیایی آن‌هاست. هدف این استاندارد، شناسایی پارامترهای کلیدی مرتبط با کارآمدی و توصیف آلژینات‌ها برای توسعه کاربردهای تجاری جدید آلژینات‌ها در صنایع زیست‌پزشکی و داروسازی است.

این استاندارد حاوی فهرستی از آن دسته پارامترهای توصیفی است که به طور مستقیم با کارآمدی آلژینات‌ها ارتباط دارند. این استاندارد می‌تواند به عنوان راهنما در انتخاب و توصیف آلژینات مناسب برای کاربردهای مشخص به کار رود. این استاندارد در پی ارائه راهنمایی برای روش‌ها و انواع آزمون‌های لازم برای توصیف، ارزیابی و تضمین سازگاری در عملکرد آلژینات ویژه است.

آلژینات‌های مورد بحث در این استاندارد، ممکن است برای استفاده در محصولات پزشکی حاصل از مهندسی بافت (TEMPs)[5] یا ابزارهای تحویل دارو[6]، برای کاشت بر مبنای داده‌های آزمون فیزیکی، و زیست‌سازگاری[7] به صورت ژل دربیایند، روزنرانی[8] شوند یا به طرق دیگر در ابزارهای زیست‌پزشکی فرموله شوند. توصیه‌های این راهنما، نبایستی به عنوان تضمینی برای موفقیت بالینی در هر محصول پزشکی حاصل از مهندسی بافت یا کاربردهای تحویل دارو، تلقی شود.

برای حصول اطمینان از این که مواد تامین‌شده، الزامات موجود برای استفاده در TEMPs را تامین می‌کند، چندین حیطه کلی از توصیف‌ها بایستی در نظر گرفته شود. این حیطه‌ها عبارتند از: هویت[9] آلژینات‌ها، توصیف فیزیکی و شیمیایی و آزمون‌ها، نمایه[10] ناخالصی‌ها، و آزمون‌های مرتبط با عملکرد.

1-Viscosifiers
2- Matrices
3- Hydrocolloids
4-Fuctionality
5- Tissue-engineered medical products
6-Drug delivery devices
7-Biocompatibility
8-Extruded
9-Identity
10-Profile

آلژینات‌های مورد نظر برای کاربرد در محصولات زیست‌پزشکی و محصولات پزشکی حاصل از مهندسی بافت – راهنمای استاندارد

۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد، تعیین راهنما برای ارزیابی آلژینات‌های مناسب برای کاربردهای زیست‌پزشکی یا دارویی، یا هر دو می‌باشد. این استاندارد برای محصولات پزشکی حاصل از مهندسی بافت کاربرد دارد.

بعضی از خصوصیات آلژینات‌ها ممکن است بر اثر تکنیک‌های فرآوری (همچون قالب‌ریزی[1]، روزن‌رانی[2]، ماشین‌کاری[3]، هم‌گذاری[4] و سترون‌سازی) که برای تولید بخشی خاص یا وسیله‌ای لازم هستند، تغییر کند. این استاندارد در خصوص موارد فوق‌الذکر کاربرد ندارد.

یادآوری ـ خواص شکل‌های ساخته‌شده[5] از این پلیمر باید با استفاده از روش‌های آزمون مناسب ارزیابی شود.

۲ مراجع الزامی

مدارک الزامی زیر حاوی مقرراتی است که در متن این استاندارد ملی ایران به آن‌ها ارجاع داده شده است. بدین ترتیب آن مقررات جزئی از این استاندارد ملی ایران محسوب می‌شود.

درصورتی که به مدرکی با ذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده باشد، اصلاحیه‌ها و تجدیدنظرهای بعدی آن مورد نظراین استاندارد ملی ایران نیست. در مورد مدارکی که بدون ذکر تاریخ انتشار به آن‌ها ارجاع داده شده است، همواره آخرین تجدید نظر و اصلاحیه‌های بعدی آن‌ها مورد نظر است.

استفاده از مراجع زیر برای کاربرد استاندارد الزامی است:

۲-۱ استاندارد ملی ایران شماره ۴۳۰۰، راهنمای گزینش آزمون جهت ارزیابی بیولوژیک یا زیست‌شناسی وسایل پزشکی

2-2 ISO 10993-3, Part 3: Tests for Genotoxicity, Carcinogenicity and Reproductive Toxicity

2-3 ISO 10993-9, Part 9: Framework for Identification and Quantification of Potential Degradation Products

2-4 ISO 10993-17, Part 17: Methods for Establishment of Allowable Limits for Leachable Substances Using Health-Based Risk Assessment

2-5 ISO 13408-1: 1998, Aseptic Processing of Health Care Products—Part 1: General Requirements.

2-6 ASTM D 2196, Test Methods for Rheological Properties of Non-Newtonian Materials by Rotational (Brookfield type) Viscometer

2-7 ASTM F 619, Practice for Extraction of Medical Plastics F 748 Practice for Selecting Generic Biological Test Methods for Materials and Devices

---

1-Molding
2- Extrusion
3-Machining
4- Assembly
5-Fabricated forms

2-8 ASTM F 749, Practice for Evaluating Material Extracts by Intracutaneous Injection in the Rabbit
2-9 ASTM F 756, Practice for Assessment of Hemolytic Properties of Materials
2-10 ASTM F 763, Practice for Short-Term Screening of Implant Materials
2-11 ASTM F 813, Practice for Direct Contact Cell Culture Evaluation of Materials for Medical Devices
2-12 ASTM F 895, Test Method for Agar Diffusion Cell Culture Screening for Cytotoxicity
2-13 ASTM F 981, Practice for Assessment of Compatibility of Biomaterials for Surgical Implants with Respect to Effect of Materials on Muscle and Bone
2-14 ASTM F 1251, Terminology Relating to Polymeric Biomaterials in Medical and Surgical Devices
2-15 ASTM F 1439, Guide for Performance of Lifetime Bioassay for the Tumorigenic Potential of Implant Materials
2-16 ASTM F 1903, Practice for Testing For Biological Responses to Particles ***in vitro***
2-17 ASTM F 1904, Practice for Testing the Biological Responses to Particles ***in vivo***
2-18 ASTM F 1905, Practice For Selecting Tests for Determining the Propensity of Materials to Cause Immunotoxicity
2-19 ASTM F 1906, Practice for Evaluation of Immune Responses In Biocompatibility Testing Using ELISA Tests, Lymphocyte Proliferation, and Cell Migration

۳ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد، اصطلاحات و تعاریف زیر به کار می‌رود:

۳-۱
آلژینات

ماده پلی‌ساکاریدی حاوی نمک‌های کلسیم، منیزیم، سدیم و پتاسیم به دست آمده از برخی از گونه‌های متداول جلبک‌های دریایی[1] است. آلژینات در جلبک‌های قهوه‌ای یافت می‌شوند و فراوان‌ترین پلی‌ساکاریدی است که در دیواره‌های سلولی و فضاهای بین سلولی خزه دریایی[2] و اشنه دریایی[3] وجود دارد. عملکرد اصلی آن مشارکت در استحکام و انعطاف‌پذیری گیاه خزه دریایی است. آلژینات به عنوان هیدروکلوئید طبقه‌بندی می‌شود. سدیم آلژینات متداول‌ترین آلژینات مورد استفاده است.

۳-۲
تجزیه[4]

منظور از تجزیه، تغییرات ساختاری آلژینات‌ها ناشی از تماس[5] با عوامل زیست‌محیطی، شیمیایی یا دمایی (از (از قبیل دماهای بیشتر از $180^{\circ}C$) است. تجزیه می‌تواند منجر به تغییرات زیان‌باری در آلژینات‌ها شود.

1-Marine algae
2-Seaweed
3- Kelp
4-Decomposition
5-Expoure

۳-۳

تخریب[۱]

منظور از تخریب، تغییرات در ساختار شیمیایی، خواص فیزیکی یا ظاهر مواد می‌باشد. تخریب پلی‌ساکاریدها در اثر شکافتن[۲] پیوندهای گلیکوزیدی و معمولا در اثر آب‌کافت[۳] کاتالیزشده با اسید رخ می‌دهد. تخریب پلی‌ساکاریدها می‌تواند به طور گرمایی نیز اتفاق بیفتد.

یادآوری ـ تخریب مترادف تجزیه نیست. تجزیه در مباحث مربوط به پلیمرها، مترادف وابسپارش (دپلیمریزاسیون)[۴] است.

۴-۳

دپلیمریزاسیون

منظور از دپلیمریزاسیون، کاهش طول زنجیره پلیمری برای تشکیل واحدهای پلیمری کوتاه‌تر است. دپلیمریزاسیون ممکن است موجب کوتاه شدن زنجیره پلیمری به شکل واحدهای الیگومری[۵] یا مونومری[۶]، یا هر دو شود. در آلژینات‌ها، آب‌کافت پیوندهای گلیکوزیدی مکانیسم اصلی است.

۵-۳

اندوتوکسین[۷]

اندوتوکسین، کمپلکس[۸] لیپوپلی ساکاریدی[۹] (LPS) با وزن مولکولی بالاست که با دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی که برای انسان تب‌زا هستند، همراه است. اندوتوکسین‌ها تب‌زا هستند، ولی همه مواد تب‌زا، اندوتوکسین نیستند.

۶-۳

هیدروکلوئید

منظور از هیدروکلوئید، پلیمر محلول در آب با طبیعت کلوئیدی در صورت آبدار شدن[۱۰] است.

۷-۳

میانگین جرم مولکولی (میانگین وزن مولکولی)

وزن مولکولی[۱۱] (Mw) یک آلژینات همواره معرف میانگین همه مولکول‌ها در مجموعه[۱۲] است. متداول‌ترین روش‌ها برای بیان Mw، میانگین عددی[۱۳] ($\overline{M_n}$) و میانگین وزنی[۱۴] ($\overline{M_w}$) است. دو میانگین با استفاده از معادله‌های (۱) و (۲) تعیین می‌شوند:

1-Degradation
2-Cleavage
3-Hydrolysis
4-Depolymerization
5-Oligomeric
6-Monomeric
7-Endotoxin
8-Complex
9-Lipopolysaccharide
10-Hydated
11-Molecular weight
12-Population
13- Number average
14-Weight average

$$\overline{M_n} = \frac{\sum iNiMi}{\sum iNi}$$ معادله (۱)

$$\overline{M_w} = \frac{\sum iwiMi}{\sum iwi} = \frac{\sum iNiM_i^2}{\sum iNiMi}$$ معادله (۲)

که در آن‌ها:

N_i تعداد مولکول‌های دارای وزن مولکول خاص M_i، و

W_i وزن مولکول‌های دارای وزن مولکولی خاص M_iاست.

در یک مجموعه مولکولی بس‌پراکنده[1] ، رابطه $\overline{M_w} > \overline{M_n}$همواره معتبر است. ضریب $\overline{M_w} / \overline{M_n}$به عنوان شاخص بس‌پراکندگی[2] قلمداد می‌شود و برای آلژینات‌های تجاری معمولا در گستره ۱٫۵ تا ۳٫۰ قرار دارد.

۸-۳

تب‌زا

هر ماده‌ای که در صورت تجویز وریدی، موجب تب شود.

۴ روش‌های آزمون فیزیکی و شیمیایی

۴-۱ هویت آلژینات

شناسایی آلژینات‌ها می‌تواند به وسیله چندین روش تعیین شود. در زیر به چند روش اشاره می‌شود:

۴-۱-۱ تک‌نگار (مونوگراف)[3] سدیم آلژینات USP 24/NF19.

۴-۱-۲ طیف‌بینی تبدیل فوریه مادون قرمز [4] (FT-IR)

تقریبا همه ترکیبات شیمیایی آلی، امواج مادون قرمز را در فرکانس‌هایی که مختص گروه‌های عاملی[5] در آن آن ترکیب است، جذب می‌کنند. یک طیف FT-IR باندهای جذبی مرتبط با کشش و خمش پیوند[6] نشان می‌دهد و به همین دلیل می‌تواند همانند یک اثر انگشت منحصر به فرد از یک ترکیب ویژه عمل کند.

یک فیلم آلژینات را با محلول ٪ ۰٫۲۵ (وزنی - حجمی) سدیم آلژینات و به وسیله خشک کردن تقریبا µl ۵۰۰ از نمونه روی کارت IR یک‌بار مصرف[7] به مدت h ۳ الی h ۴ در دمای°C ۶۰ قالب‌گیری[8] کنید.

طیف زمینه را بین cm^{-1} ۴۰۰۰ و cm^{-1}۴۰۰ با استفاده از اسکن‌های ۱۲۸ [9] با تفکیک[10] cm^{-1} ۴ ثبت کنید. طیف IR یک کارت IR شاهد خشک و سپس طیف IR یک نمونه را با استفاده از ۱۲۸ اسکن با تفکیک

1-Polydisperse
2-Polydispersity index
3-Monograph
4- Fourier Transform Infrared Spectroscopy
5-Functional groups
6-Bond stretching and bending
7-Disposable IR
8-Cast
9- 128 Scans
10- Resolution

cm^{-1} ۴ و با مد انتقال درصد [۱] ثبت کنید. پیک‌ها را برچسب‌گذاری کنید. فرکانس‌های معمول (cm^{-1}) برای سدیم آلژینات عبارتند از:

الف ـ ۳۳۹۰-۳۳۷۵ (ع)،

ب ـ ۱۶۱۳ (ق)،

پ ـ ۱۴۱۶ (ق)،

ت ـ ۱۳۲۰ (ض)،

ث ـ ۱۱۲۵، ۱۰۸۹، ۱۰۳۱ (ق)،

ج ـ ۹۴۸ (م)،

چ ـ ۹۰۳ (م)،

ح ـ ۸۱۱ (م).

شناسه‌های پیک عبارتند از: **ت**: تیز[۲]، **ق**: قوی[۳]، **م**: متوسط[۴]، **ض**: ضعیف[۵]، **ع**: عریض[۶].

۴-۲ توصیف شیمیایی و فیزیکی آلژینات

۴-۲-۱ ترکیب و ساختار ترتیبی[۷]

ترکیب و ساختار ترتیبی آلژینات می‌تواند یک خاصیت عملکردی کلیدی برای هر نوع آلژینات باشد. تغییرات در ترکیب یا ساختار ترتیبی، یا هر دو، گاهی و نه الزاما می‌تواند موجب اختلاف‌هایی در عملکرد یک آلژینات در کاربری نهایی ویژه شود. این اطلاعات ممکن است با روش طیف‌بینی رزونانس مغناطیسی هسته‌ای [۸] (NMR) با تفکیک بالای ^{1}H و ^{13}C، تعیین شود.

سدیم آلژینات باید در D_2O حل شود، و پیش از ثبت طیف NMR پروتون یا کربن به طور نسبی با استفاده از آبکافت اسیدی ملایم به درجه‌ای از دپلیمریزاسیون ۲۰ تا ۳۰ تایی تجزیه شود. روش‌هایی برای تعیین فرکانس‌های مشروح زیر ایجاد شده است:

الف ـ یک‌تایی[۹] F_G (کسر[۱۰] مانده‌های گلورونات[۱۱]) و F_M(کسر مانده‌های مانورونات[۱۲])،

ب ـ چهار فرکانس نزدیک (دوتایی[۱۳]) ($F_{GG}, F_{GM}, F_{MG}, F_{MM}$) و

پ ـ هشت فرکانس نزدیک (سه‌تایی) ($F_{GGG}, F_{GGM}, F_{GMM}, F_{GMG}, F_{MGM}, F_{MGG}, F_{MMG}, F_{MMM}$).

1-Transmission mode
2-Sharp
3-Strong
4-Medium
5-Weak
6-Broad
7-Sequential structure
8-Nuclear magnetic resonance spectroscopy
9-Monad
10-Fraction
11-Guluronate residues
12-Mannuronate residues
13-Diad

یک طیف H-NMR معمول آلژینات در زیر نشان داده شده است. آلژینات به وسیله پارامترهای محاسباتی همچون نسبت M/G، محتوای G، تعداد مونومرهای پی‌درپی G (که G از یک بزرگ‌تر است) و متوسط طول بلوک‌های پی‌درپی منومرهای G توصیف می‌شود.

۴-۲-۲ جرم مولکولی (وزن مولکولی)

جرم مولکولی (وزن مولکولی) یک آلژینات، ویژگی‌های عملکردی خاصی از قبیل گرانروی یا قدرت ژل و یا هر دو را تعیین خواهد کرد. بنابراین و بسته به حساسیت کاربری نهایی به این تغییرات، تعیین مستقیم یا غیرمستقیم جرم مولکولی ممکن است لازم باشد. آلژینات‌های تجاری با توجه به وزن مولکولی (M_w)، بس‌پراکنش هستند. وزن مولکولی ممکن است به صورت میانگین عددی (M_N) یا میانگین وزنی (M_W) توصیف شود. وزن‌های مولکولی ممکن است از طریق روش‌هایی چون موارد زیر تعیین شود (ولی به آن‌ها محدود نمی‌شود).

۴-۲-۲-۱ تعیین وزن مولکولی بر اساس گرانروی ذاتی[1]

گرانروی ذاتی، توانایی پلیمر را برای تشکیل محلول‌های چسبناک[2] در آب توصیف می‌کند و به طور مستقیم مستقیم با میانگین وزن مولکولی پلیمر متناسب است. گرانروی ذاتی، ویژگی پلیمر تحت شرایط خاص حلال و دمایی است. این مساله از غلظت ماده مستقل است. گرانروی ذاتی (η) به طور مستقیم با وزن مولکولی پلیمر ـ از طریق معادله (۳)، معادله موسوم به مارک ـ هاونیک ـ ساکوردا [3](MHS) مرتبط است:

معادله (۳) $$\eta = KM^a$$

که در آن:

K ضریب ثابت،

M گرانروی ناشی از میانگین وزن مولکولی، و

a ثابت تجربی[4] است که صورت‌بندی (کنفورماسیون[5]) پلیمر را توصیف می‌کند.

در مورد آلژینات، نمای[6] a، به یک در قدرت یونی ۰/۱ (برای مثال 0.1 M NaCl) نزدیک است. در صورتی که K و a به خوبی برای نمونه مشخص شده باشند، می‌توان با اندازه‌گیری گرانروی ذاتی، متوسط وزن مولکولی گرانروی[7] را از طریق معادله (۴) تعیین کرد:

معادله (۴) $$\log p[\eta] = \log K + a(\log M)$$

که در آن:

M وزن مولکولی است.

1-Intrinsic
2-Viscose
3- Mark-Houwnik-Sakurada
4-Empirical constant
5-Conformation
6-Exponent
7-Viscosity average molecular weight

گرانروی ذاتی از طریق اندازه‌گیری گرانروی نسبی در یک ویسکومتر مویینه‌ای یوبلوهد[1] تعیین می‌شود. اندازه‌گیری‌ها باید در یک حلال حاوی NaCl M ۰/۱ (یک نمک غیر ژلی تک ظرفیتی) در دمای ثابت°C ۲۰ و در غلظت‌های پایین آلژینات انجام شوند. عملیات و کسب داده‌ها به صورت خودکار، ارجحیت دارد.

۴-۲-۲-۲ تعیین وزن مولکولی و بس‌پراکنش از طریق کروماتوگرافی بر اساس اندازه (SEC)[2] به وسیله آشکارسازی پراکندگی نور چند زاویه‌ای لیزر (MALLS)[3]

از آن جایی که در حال حاضر هیچ استانداردی برای آلژینات وجود ندارد، نمی‌توان آشکارسازهای شاخص انکساری[4] را به خوبی کالیبره کرد. استفاده از استانداردهای پولولان[5] به تنهایی به عنوان ماده کالیبراسیون کفایت نمی‌کند. از این رو، روش انتخابی، استفاده از شاخص انکساری جفت شده با MALLS است.

برای جداسازی آلژینات به اجزای با وزن مولکولی متفاوت، یک ستون آبدوست با اندازه منافذ مناسب لازم است. چنین ستون‌هایی شامل موارد مذکور در تکنیک‌های زیر هستند ولی صرفا به این‌ها محدود نمی‌شوند: دقت این تکنیک‌ها باید تعیین شود چون نتایج می‌تواند در بازه ٪ ۱۰ تا ٪۲۰ نوسان داشته باشد. روش‌های معمول که از این تکنیک‌ها استفاده می‌کنند، شامل موارد زیر هستند، ولی به آن‌ها محدود نمی‌شوند:

الف- استفاده از سدیم EDTA (M ۰/۰۱) / سدیم سولفات (M ۰/۰۵) و pH برابر ۶/۰ به عنوان فاز متحرک با جداسازی به وسیله ستون‌های TSK 3000, TSK 4000, TSK 5000.

ب- استفاده از $NaNO_3$ M ۰/۱ (سدیم نیترات) به عنوان شویشگر[6] در ترکیب با ستون اولتراهیدروژل واترز2000[7] در سری‌هایی با یک ستون خطی اولتراهیدروژل.

۴-۲-۲-۳ بس‌پراکنش

بسته به کاربری نهایی و حساسیت کاربرد جرم مولکولی، حضور طیف وسیعی از اجزای آلژینات ممکن است مساله‌ساز باشد. در چنین مواردی، محاسبه بس‌پراکنش حائز اهمیت است. این عدد برای آلژینات‌های تجاری بین ۱/۵ تا ۳ است.

۴-۲-۲-۴ بسته به کاربری نهایی و کنترل عملکردی مورد نیاز، سایر روش‌های توصیف ممکن است شامل موارد زیر باشد ولی صرفا به این‌ها محدود نمی‌شود.

۴-۲-۲-۵ گرانروی در محلول آبی

گرانروی به صورت مقاومت مایع در برابر جاری شدن تعریف می‌شود. جرم مولکولی یک آلژینات میزان غلیظ شدن محلول آبی توسط آن را تعیین می‌کند. بنابراین، یک آزمون گرانروی ساده ممکن است اطلاعاتی را درباره اختلاف‌های نسبی در جرم مولکولی میان نمونه‌های آلژینات را فراهم کند. برای ایجاد امکان مقایسه بین آزمایشگاه‌ها، ویسکومتر به کار رفته باید با استانداردهای قابل ردیابی کالیبره شوند (به استاندارد ASTM D2196 مراجعه کنید). گرانروی اندازه‌گیری‌شده به پارامترهای متعددی در ارتباط با نحوه انجام

1- Ubbelohde
2- Size Exclusion Chromatography
3- Multiple Angle Laser Light Scattering Detection
4-Refractive index detectors
5- Pullulan
6-Eluant
7-Waters Ultrahydrogel 2000

شدن آزمون وابسته است. پارامترهای مهم برای کنترل موارد زیر را دربرمی‌گیرند، ولی به این‌ها محدود نمی‌شوند:

الف- دما

دمایی که اندازه‌گیری در آن انجام می‌شود، بسیار حیاتی است. افزایش دما تقریبا در همه موارد منجر به کاهش در گرانروی می‌شود. دمای ثابت و کنترل‌شده (برای مثال حمام با دمای استاندارد) برای رسیدن به نتایج تجدیدپذیر حیاتی است. دمای به کار رفته برای اندازه‌گیری گرانروی به طور معمول می‌تواند $20^{\circ}C$، $25^{\circ}C$ یا $37^{\circ}C$ باشد.

ب- غلظت آلژینات

محتوای رطوبت آلژینات باید برای آماده کردن غلظت‌های صحیح از آلژینات، معلوم باشد.

پ- قدرت یونی

گرانروی محلول آلژینات به محیط یونی که اندازه‌گیری در آن انجام می‌شود، بسیار حساس است. با این که هر یونی می‌تواند اثرگذار باشد، ولی بیشترین اثر مربوط به یون‌های چندظرفیتی به جز منیزیم است. مهم‌ترین جنبه، حفظ ثبات محتوای یونی است. اندازه‌گیری‌های گرانروی نوعا در آب یون‌زدایی‌شده یا محیط یونی استانداردشده مثل سالین ایزوتونی[1] انجام می‌شود.

ت- جرم مولکولی

اندازه‌گیری‌های گرانروی به جرم مولکولی آلژینات حساس هستند.

مورد زیر به عنوان پیشنهاد درباره اندازه‌گیری گرانروی آلژینات مطرح است، ولی از هر روش مناسب دیگر هم می‌توان استفاده کرد.

برای اندازه‌گیری گرانروی ظاهری سدیم آلژینات، محلولی را در آب یون‌زدایی‌شده با غلظت مناسب (w/w اصلاح شده برای محتوای مواد خشک) برای کاربری نهایی آماده کنید.

برای مثال، اگر نمونه وزن مولکولی مشکوکی در حدود بالاتر از g/mol ۵۰۰۰۰ دارد، محلول ٪ ۱ (w/w) آماده کنید.

اگر وزن مولکولی مشکوک کمتر ازg/mol ۵۰۰۰۰ است، آن گاه محلول ٪ ۱۰ (w/w) را آماده کنید. گرانروی از طریق یک ویسکومتر چرخشی (برای مثال نوع بروکفیلد[2]) در دمای$^{\circ}C$ (۰٫۲ ± ۲۰) (یا دمای کنترل شده دیگری) با استفاده از محورک[3]، سرعت چرخش محورک و حمام آب با دمای کنترل‌شده، اندازه‌گیری می‌شود.

۶-۲-۲-۴ محتوای ماده خشک

آلژینات‌های متعددی با محتوای رطوبت مختلفی تهیه شده‌اند. تعیین مقدار ماده خشک مبنی بر حذف آب از نمونه است. معمولا در مورد آلژینات، از تکنیک‌های وزن‌سنجی[4] استفاده می‌شود.

1-Isotonic
2- Brookfield
3-Spindle
4-Gravimetric

۴-۲-۲-۷ مقدار خاکستر

مقدار خاکستر نمونه، مقدار کلی مواد غیرآلی موجود را توصیف می‌کند. پس از احتراق، نمونه حاوی مخلوطی از نمک‌هاست. ترکیب خاکستر به دمای استفاده شده حین سوزاندن مواد آلی بستگی دارد. در مورد محتوای سدیم آلژینات خاکستر، توصیه می‌شود سوزاندن در دمای $^{\circ}C$ ۸۰۰ و به مدت h ۶ انجام شود.

۴-۳ نمایه ناخالصی‌ها

ناخالصی با حضور مواد خارجی در پودر آلژینات مربوط است. ناخالصی‌ها می‌توانند ناشی از حضور سایر نمک‌های آلژینات (برای مثال کلسیم آلژینات) یا آلژینیک اسید در ماده سدیم آلژینات باشند. علاوه بر این، بسته به کاربری نهایی، یک آلژینات با وزن مولکولی بالا موجود در یک نمونه با وزن مولکولی پایین می‌تواند موجب ناخالصی شود. کمک فرایندهای[1] متعددی از قبیل عوامل صاف‌کننده و شفاف‌کننده ممکن است در تهیه آلژینات‌ها به کار روند و موجب ایجاد ناخالصی شوند. در صورتی که در حضور مواد کمک فرایند یا سایر آلاینده‌های مرتبط با آلژینات، نگرانی وجود داشته باشد، باید با تامین‌کنندگان در میان گذاشته شود. ناخالصی‌های بزرگ شامل موارد زیر هستند، ولی صرفا به این‌ها محدود نمی‌شوند:

۴-۳-۱ مقدار اندوتوکسین

پیشگیری از آلودگی با اندوتوکسین مشکل است، زیرا ذاتا در همه جا وجود دارد، پایدار است و آنقدر کوچک است که از فیلترهای سترون‌کننده عبور می‌کند.

آزمون‌های متعددی برای تعیین حضور اندوتوکسین در پودر آلژینات وجود دارد. از جمله این موارد می‌توان از لخته ژل[2]، سنجش نقطه نهایی[3] و سنجش کینتیک[4] نام برد. آزمون لخته ژل، ساده‌ترین و آسان‌ترین روش از روش‌های آزمون LAL[5] است، هرچند نسبت به سنجش کینتیک حساسیت بسیار پایین‌تری دارد. یک ژل محکم[6] که انسجام[7] خود را با وجود معکوس شدن لوله حفظ کرده است، به عنوان یک آزمون مثبت در نظر گرفته می‌شوند. هرچیزی به جز یک ژل محکم به عنوان یک آزمون منفی محسوب می‌شوند. سنجش نقطه نهایی بر اساس رابطه خطی بین غلظت اندوتوکسین و تشکیل رنگ[8] (سنجش رنگی) روی گستره نسبتا کوتاه کوتاه رقت‌های استاندارد، بنا شده است. منحنی استاندارد با ترسیم چگالی‌های نوری از سری‌های استانداردهای اندوتوکسین به عنوان تابعی از غلظت اندوتوکسین، ایجاد می‌شود.

۴-۳-۱-۱ منحنی استاندارد با استفاده از آنالیز رگرسیون خطی، گستره اندوتوکسین را در لگاریتم ۱ (معمولا ۰٫۱ EU/mL تا ۱٫۰ EU/mL) پوشش می‌دهد. حساس‌ترین وسیله برای تعیین مقدار اندوتوکسین که به صورت کمّی می‌باشد، سنجش کینتیک است. این آزمون از یک LAL و یک ماده مصنوعی تولیدکننده سوبسترا برای آشکارشدن رنگی اندوتوکسین (مثل روش‌شناسی Bio Whittakers Kinetik-QCL یا

1-Processing aids
2-Gel clot
3-Endpoint assay
4-Kinetic assay
5-Limulus amebocyte lysate
6-Firm
7-Integrity
8-Chromogenic

سنجش‌های مشابه دیگر) استفاده می‌کند. سنجش کینتیک مقدار زمان لازم برای حصول چگالی نوری از پیش‌تعیین‌شده (کدورت‌سنجی کینتیک) یا شدت رنگ (رنگ‌زایی کینتیک) که گاهی به آن چگالی نوری شروع[1] یا چگالی نوری واکنش گفته می‌شود، را اندازه‌گیری می‌کند. خطی بودن، به صورت ضریب همبستگی ۰٫۹۸۰ ≤ تعریف می‌شود. داشتن شایستگی لازم برای آزمایشگران روش LAL و این که هر بهر[2] جدید از واکنشگرها صحه‌گذاری، شوند اهمیت فراوانی دارد. کنترل‌های مثبت محصول (PPC)[3] باید به بازداری آزمون در نمونه افزوده شود. بازیابی مقدار اضافه‌شده معلوم استاندارد اندوتوکسین باید برای انجام سنجش معتبر به دست آید. توصیه می‌شود که اندازه‌گیری‌های اندوتوکسین با استفاده از غلظت اولیه آلژینات سدیم ٪ ۰٫۱ و ۳ بازه رقت (برای مثال ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ برابر) انجام شود. اتصال کلسیم با آلژینات، ممکن است موجب تداخل در سنجش شود. برای معکوس کردن این بازداری، می‌توان منیزیم اضافه کرد. سطح اندوتوکسین در آلژینات در نهایت برای استفاده آن در کاربردهای زیستی پزشکی به عنوان محدودیت‌های مقرراتی برای مقدار اندوتوکسین قابل کاربرد در مورد انسان‌ها، حیاتی است.

۴-۳-۲ محتوای پروتئینی

مقدار پروتئین در سدیم آلژینات بهتر است با استفاده از روش مناسب با حساسیت کافی برای آشکارشدن سطوح پایین آلودگی، سنجش شود. یک روش برای این منظور، روش تعیین مقدار پروتیئن نانواورانژ[4] بر پایه پایه فلورسانس است. این روش قابلیت تعیین مقدار پروتئین تا حد پایین ng/ml ۱۰ را دارد. مقدار پروتئین باید با استفاده از محلول آلژینات٪ ۱ (w/w) اصلاح شده برای رطوبت، سنجش شود. تایید غیرحساس بودن روش انتخاب‌شده نسبت به مواد موجود در نمونه و صحه‌گذاری آن با استفاده از روش مرجع بر اساس یک بار انجام شدن آن، امری مهم است. ارزیابی محصول آلژینات از نظر حضور پروتئین‌های اختصاصی که ممکن است موجب بروز واکنش‌های ایمنولوژیکی یا بافتی نامطلوب شود، بر عهده کاربر نهایی است.

۴-۳-۳ محتوای فلزات سنگین با استفاده از روش USP

این آزمون برای اثبات موضوع بیشتر نبودن مقدار ناخالصی‌های فلزات سنگین از حد تعیین شده در ویژگی یک محصول برحسب قسمت در میلیون سرب در موارد آزمون فراهم شده است. تحت شرایط ویژه آزمون، این حد به وسیله مقایسه تصویری همزمان فلزات که با یون سولفید با کنترل آماده شده از یک محلول استاندارد سرب رنگ گرفته‌اند، تعیین می‌شود. موادی که معمولا به این آزمون جواب می‌دهند عبارتند از: سرب، جیوه، بیسموت، آرسنیک، آنتیموان، قلع، کادمیوم، نقره، مس و مولیبدن.

۴-۳-۴ ایمنی میکروب‌شناسی

حضور باکتری‌ها، مخمر و قارچ نیز ناخالصی‌هایی هستند که ممکن است در یک نمونه آلژینات وجود داشته باشد. حضور باکتری‌ها همچنین ممکن است در وجود اندوتوکسین‌ها نیز نقش داشته باشد. از آزمون‌های میکروبی زیر قابل استفاده هستند:

الف ـ آزمون‌های محدودیت میکروبی،

1-Onset
2-Lot
3-Positive product controls
4- NanoOrange protein quantification

ب ـ آزمون‌های سترون بودن،

پ ـ آزمون‌ها و ارزیابی‌های زیستی: آزمون‌های اندوتوکسین‌های باکتریایی.

کاربر همچنین بهتر است سایر استانداردها را در نظر داشته باشد، (برای مثال استاندارد ملی ایران شماره ۴۳۰۰ و سایر استانداردهای مندرج در بند مراجع الزامی).

از فیلتراسیون غشایی می‌توان برای تعیین باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌ها در نمونه‌های آلژینات استفاده کرد. نمک آلژینات ابتدا در آبِ یون‌زدایی‌شده و سترون حل و سپس با استفاده از روش‌های سترون از یک غشای $0{,}45\ \mu m$ فیلتر می‌شود. فیلترها متعاقبا روی تریپتیک سویا آگار[1] برای تعیین حضور باکتری‌ها و روی سابورو دکستروز آگار [2] برای تعیین حضور مخمر و قارچ گرمخانه‌گذاری می‌شود. اگر محصولات آلژینات قرار است به عنوان یک سد در برابر میکروارگانیسم‌ها به کار رود، این عملکرد باید با آزمون‌های خاصی صحه‌گذاری شود.

۵ ملاحظات تولید[3] محصول

۵-۱ نوع حلال (برای مثال محیط کشت یا آب)

صورت‌بندی مولکول آلژینات با تغییرات در قدرت یونی مواد حل‌شونده[4] تغییر خواهد کرد. از این رو، گرانروی ظاهری یک محلول آلژینات، ممکن است بسته به این که آلژینات در آب یا محیط کشت حاوی نمک حل شده باشد، تغییر کند.

۵-۲ پایداری آلژینات

برای آلژینات، مرتبط‌ترین پارامترهای نشانگر پایداری، آن‌هایی هستند که با کارآمدی پلیمر ارتباط دارند. بسته به عملکرد آلژینات در فرمولاسیون نهایی، پارامترهایی از قبیل گرانروی (ظاهری و ذاتی)، و وزن مولکولی بایستی در طول مطالعه پایداری، ارزیابی شوند. شرایط ذخیره‌سازی خصوصا در مورد محلول‌های آلژینات اهمیت زیادی دارند.

۵-۳ روش‌های سترون کردن

سترون کردن برای فرمولاسیون یا کاربری نهایی لازم است. اگر سترون کردن آلژینات لازم باشد، روش‌های جایگزین متعددی در دسترس است. پودر آلژینات را می‌توان با پرتوافکنی گاما[5] (با تخریب بعدی زنجیره آلژینات منجر به کاهش در وزن مولکولی می‌شود) یا اتیلن اکسید، سترون کرد. محلول‌های آلژینات را می‌توان به شرح زیر سترون کرد:

الف - با استفاده از فیلتر در صورتی که گرانروی محلول آلژینات اجازه دهد؛

ب- با استفاده از پرتوافکنی گاما منجر به کاهش گرانروی (وزن مولکولی)؛ و

پ- اتوکلاو (که آن نیز منجر به کاهش در گرانروی محلول می‌شود).

1-Tryptic Soya Agar
2-Sabouraud dextrose agar
3-Development
4-Solute
5-Gamma irradiation

انتخاب نوع روش سترون‌سازی به گرانروی یا وزن مولکولی مورد نیاز برای کاربرد نهایی بستگی دارد. در صورت استفاده از اتیلن اکسید لازم است آزمون در مورد مواد باقی‌مانده انجام شود.

۶ جنبه‌های ایمنی و سم‌شناسی آلژینات

۶-۱ سدیم آلژینات در فهرست موادی قرار دارند که به طور کلی ایمن شناخته می‌شوند. به این دلیل سدیم آلژینات (ولی نه سایر نمک‌ها مثلا منیزیم) می‌تواند در غذاها به عنوان غلیظ‌کننده[1] یا عامل ژل‌زایی استفاده شود، ولی به معنی استفاده از آلژینات برای کاربردهای دارویی یا زیستی پزشکی یا هر دوی این‌ها نیست.

۶-۲ ایمنی آلژینات در کاربردهای دارویی یا زیست‌پزشکی و محصولات پزشکی حاصل از مهندسی بافتی باید مطابق با راهنماهای موجود چون ISO 10993 و استاندارد ASTM F748تایید شود.

یادآوری ـ مطالعات ایمنی پیش‌بالینی ویژه کاربردهای بالینی مورد نظر باید طبق استاندارد 21 CFR 312 انجام گردد.

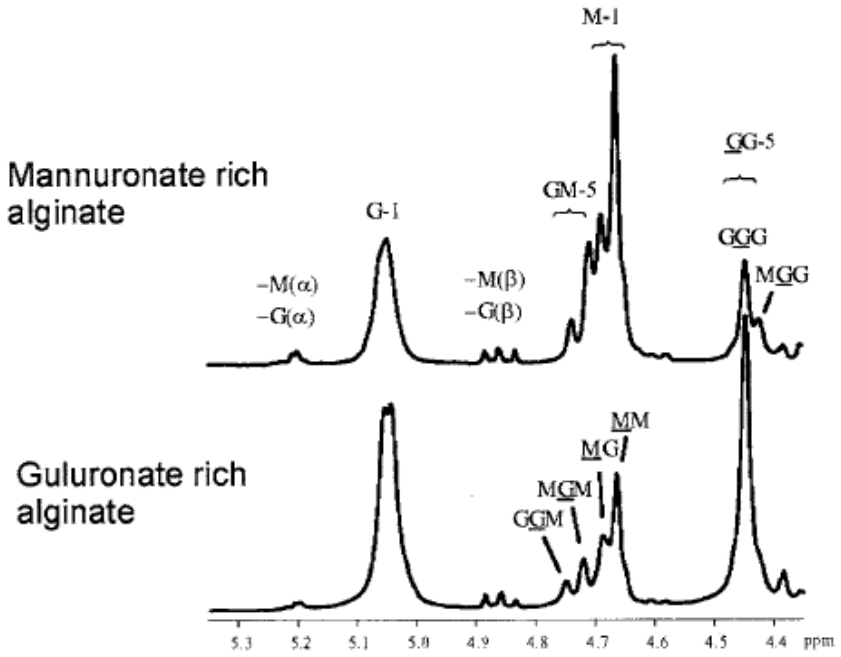
۶-۳ سازگاری زیستی[2]

۶-۳-۱ مواد زیستی، موادی با منشا طبیعی یا مصنوعی هستند که به صورت مکمل و یا برای جایگزینی عملکردهای بافت‌های زنده به کار می‌روند. این مواد در صورتی که با یک پاسخ مناسب میزبان در یک کاربرد ویژه عمل کنند، زیست‌سازگار محسوب می‌شوند.

۶-۳-۲ مواد بسیاری برای ایجاد سطح مناسبی از پاسخ بیولوژیکی پس از استفاده بالینی طولانی مدت بر روی حیوانات آزمایشگاهی، معرفی شده‌اند. زمانی که کاربردهای جدید از ماده یا تغییرات ماده یا شکل‌های فیزیکی ماده مد نظر است، باید توصیه‌ها و روش‌های آزمون استانداردهای مندرج در بند مراجع الزامی در نظر گرفته شوند.

۶-۴ آلژینات برای استفاده درکاربردهای دارویی یا زیستی پزشکی و محصولات پزشکی حاصل از مهندسی بافت باید مستندسازی شود.

1-Thickener
2-Biocompatibility



شکل ۱ ـ زنجیره آلژینات

پیوست الف
(اطلاعاتی)
مبنای کار

استفاده از پلیمرهای زیستی[1] طبیعی برای کاربردهای دارویی یا زیستی پزشکی و در TEMPS در حال افزایش است. این استاندارد برای راهنمایی در توصیف و پارامترهای آزمون سدیم آلژینات به کار رفته در چنین کاربردهایی، طراحی شده است. دانش مربوط به ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آلژینات، همچون نسبت گلورونات به مانورونات، اندازه بلوک G^2، وزن مولکولی (یا گرانروی) ، به کاربران نهایی در انتخاب آلژینات مناسب برای کاربردهای اختصاصی آن‌ها کمک خواهد کرد. دانش مربوط به این پارامترها همچنین موجب حصول اطمینان از این امر می‌شود که کاربران می‌توانند مواد مشابه را از تامین‌کنندگان بخواهند. توصیف مولکولی آلژینات همچنین به کاربران نهایی در مستندسازی ابزارها و یا فرمولاسیون‌هایشان کمک خواهد کرد.

آزمون‌های مطرح شده در این استاندارد جهت ترخیص[3] آلژینات برای کاربر نهایی کافی است. سایر آزمون‌های صحه‌گذاری‌شده که هدف مورد نظر در این استاندارد را تامین می‌کنند، می‌توانند به عنوان جایگزین به کار روند. آزمون‌ها ممکن است برای توصیف و عملکرد محصول نهایی مناسب نباشند.

1-Biopolymer
2-G-block size
3-Release

پیوست ب
(اطلاعاتی)
زمینه

ب ـ۱ "آلژینات" به مانده گروهی از کوپلیمرهای دوتایی بدون شاخه از گلوکوزید پیوندی ۱-۴ D-ß مانورونیک اسید (M) و L-α گلورونیک اسید (G) اطلاق می‌شود. مقدار نسبی از دو مونومر اورونیک اسید و ترتیب متوالی آن‌ها در طول زنجیره پلیمر بسته به منشا آلژینات، تنوع گسترده‌ای دارند. مانده‌های یورونیک اسید در طول زنجیره پلیمری با الگوی بلوکی که در آن بلوک‌های هوموپلی‌مری باقی‌مانده‌های G (بلوک‌های G)، بلوک‌های هوموپلیمری باقی‌مانده M (بلوک‌های M) و بلوک‌های با توالی متغیر واحدهای M و G (بلوک‌های MG) به طور همزمان قرار دارند، توزیع شده‌اند. از همین رو، مولکول آلژینات تنها با استفاده از ترکیب منومری قابل توصیف نیست. توصیف NMR توالی مانده‌های M و G در زنجیره آلژینات برای محاسبه طول متوسط بلوک لازم است. همچنین طیف‌بینی NMR نشان می‌دهد که آلژینات هیچ واحد تکرارشونده‌ای منظمی ندارد. طول زنجیره پلیمر به صورت ذاتی و طبیعی بلند است، ولی در طول فرایند ساخت کاهش می‌یابد. دپلیمریزاسیون یک فرایند طبیعی برای آلژینات است. وزن مولکولی آلژینات‌های تجاری معمولا بیشتر از 5×10^5 g/mol، مشابه درجه پلیمریزاسیون (DP)[1] تقریبا ۲۵۰۰ است.

ب ـ۲ مواد خام برای تولید آلژینات

ب ـ۲ـ۱ ساخت صنعتی آلژینات در حال حاضر بر پایه استخراج پلیمر از جلبک قهوه‌ای است. آلژینات ممکن است به صورت ماده‌ای خارج‌سلولی توسط برخی باکتری‌ها نیز تولید شود. تولید بعضی از آلژینات‌ها از طریق تخمیر نیز عملی است.

ب ـ۲ـ۲ خزه دریایی به صورت طبیعی عمدتا در مناطق گرمسیر رشد می‌کنند ولی مقادیر زیادی نیز در خاور دور، علی‌الخصوص در سواحل چین و نزدیکی ژاپن کشت شده‌اند.

ب ـ۲ـ۳ سختی گیاه نشان‌دهنده محتوای گلورونیک اسید و به ویژه محتوای بلوک‌های G است. افزایش طول بلوکG منجر به افزایش قدرت ژل ناشی از افزایش اتصالات عرضی[2] مولکول‌های آلژینات به وسیله کلسیم می‌شود.

ب ـ۳ تغییرات در ترکیب شیمیایی و ساختار متوالی آلژینات

تغییرات در ترکیب شیمیایی و ساختار متوالی آلژینات با گونه‌های خزه و اشنه دریایی که آلژینات از آن استخراج شده است، مرتبط است. جدول ب ۱ چند اختلاف در ترکیب آلژینات‌های به دست آمده از منابع مختلف خزه دریایی را نشان می‌دهد. جدول مزبور نشان می‌دهد که گستره‌ی از ترکیب‌ها وجود دارد که باید هنگام استفاده از آلژینات‌ها در کاربردهای زیست‌پزشکی و دارویی تعریف و توصیف شود. گستره ترکیب شیمیایی و ساختار متوالی می‌تواند بسته به کاربرد نهایی عریض و یا باریک باشد.

1-Degree of polymerization
2-Cross-linking

ب ـ۴ ویژگی‌های عملکردی و کاربردهای آلژینات

ب ـ۴ـ۱ خواص ویسکوالاستیک[1] آلژینات اهمیت ویژه‌ای در بیشتر کاربردهای زیست‌پزشکی دارد. قابلیت حل شدن، متورم‌شوندگی و خواص تشکیل‌دهنده فیلم از جمه خواص دیگر مطرح در کاربردهای زیست‌پزشکی و دارویی آلژینات‌ها هستند.

ب ـ۴ـ۲ خواص ژلی، تابعی از ترکیب M/G و ساختار متوالی M و G در طول زنجیره آلژینات هستند. مونومرهای متوالی گلورونیک یک بلوک G را تشکیل می‌دهند که نواحی‌ای را درون مولکول آلژینات نشان می‌دهد که قابلیت اتصال عرضی با کاتیون‌های چندظرفیتی را دارند. در عمل، اغلب کلسیم به عنوان کاتیون برای اتصال عرضی استفاده می‌شود.

ب ـ۴ـ۳ خواص غلیظ شدن (گرانروی) آلژینات، تابعی از وزن مولکولی و صورت‌بندی مولکول آلژینات در محلول است. برهم‌کنش با سایر مولکول‌ها در محلول و نیز رقابت برای آب در غلظت‌های بالای آلژینات، ویژگی‌های جریان یافتن[2] محلول آلژینات را تحت تاثیر قرار می‌دهد. کلسیم یا سایر مواد اتصال عرضی که در مقادیر اندک یافت می‌شوند، موجب افزایش گرانروی اندازه‌گیری‌شده به طور تصنعی (در اثر تشکیل توده) می‌شوند و در نتیجه محلول‌هایی با ویژگی‌های جریان تیکسوتروپیک[3] حاصل می‌شود. می‌توان با افزودن یک سکوسترانت[4] که به عامل اتصال عرضی می‌پیوندد، از اثر یادشده جلوگیری نمود (اندازه‌گیری گرانروی بالای تصنعی).

ب ـ۴ـ۴ خواص ژل‌دهندگی و غلیظ‌کنندگی آلژینات به ترتیب افزوده شدن مواد مختلف بستگی دارد.

ب ـ۴ـ۵ قابلیت حل شدن آلژینات با میزان تفکیک[5] مولکول آلژینات است. در pH کمتر از ۳، هر دو ساختار M و G به عنوان آلژینیک اسید رسوب می‌کند، در حالی که ساختارهای جایگزین همچنان در محلول باقی می‌مانند، حتی در صورتی که به طور کامل پروتونه[6] شده باشند.

ب ـ۴ـ۶ جذابیت فروش آلژینات به سرعت هیدراسیون بستگی دارد و این موضوع خود قویا به حالتی که آلژینات در آن با حلال (آب) برهم‌کنش دارد، بستگی دارد. آلژینات‌ها دارای اتصالات عرضی آهسته‌تر از سدیم آلژینات خالص متورم می‌شود.

ب ـ۴ـ۷ فیلم‌ها می‌توانند به طور ساده از محلول‌های آلژینات و از طریق تبخیر حلال ایجاد شوند. وزن مولکولی آلژینات باید بالاتر از حد پایین‌تر خاص باشد تا فیلم تشکیل و از بروز شکنندگی[7] آن جلوگیری شود. فیلم‌ها می‌توانند به صورت درجا[8] از طریق پاشش[9] محلول آلژینات روی سطح پیوندی[10] ایجاد شوند.

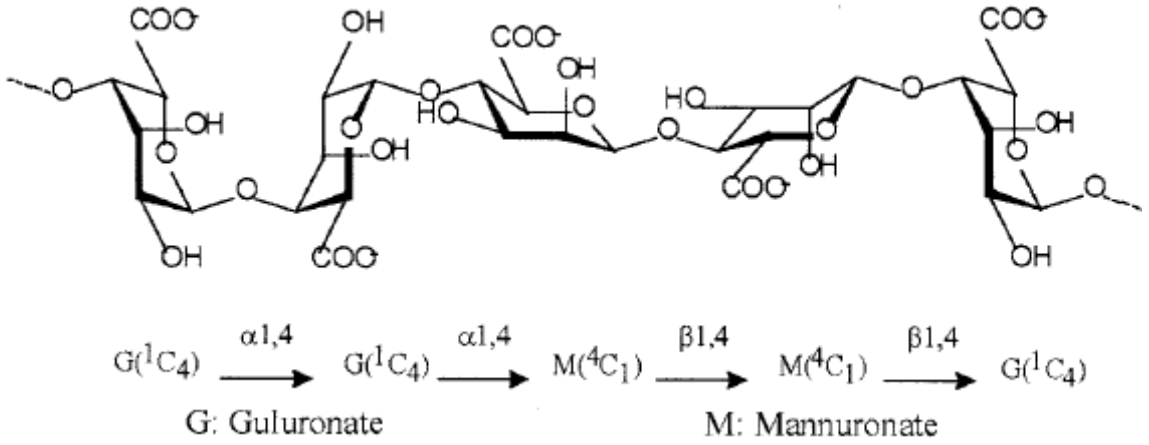
1-Viscoelastic
2-Flow properties
3- Thixotropic
4- Sequestrant
5-Dissociation
6- Protonate
7-Brittleness
8- in situ
9-Spraying
10-Binding surface

ب ـ۴ـ۸ تخریب

تخریب آلژینات به وسیله شکافتن پیوند گلیکوزیدی انجام می‌شود. در مقایسه با سایر قندها، پیوندهای گلیکوزیدی حاوی یورونیک اسیدهایی از قبیل M و G در اسیدهای بسیار قوی نسبتا به آبکافت مقاوم هستند (یعنی شرایطی که معمولا برای تبدیل پلی‌ساکاریدها به منوساکاریدها به کار می‌رود). میزان تخریب به طور مستقیم متناسب با غلظت پروتون‌ها در pH کمتر از ۱ است. با این حال، در pHمقادیر نزدیک به pK آلژینات‌ها (یعنی ۱تا۴)، میزان تخریب ارتباط کمتری با pH دارد. در این گستره، شکل پروتون‌دار M و G (–COOH) در هیدرولیز ناشی از کاتالیست‌های داخل مولکولی در کنار هیدرولیز ناشی از یون‌های H آزاد، شرکت می‌کند. به همین دلیل، آلژینات از برخی پلیمرهای دیگر (مثل متیل سلولز) در pH ۱ تا ۵ پایدارتر است. پایداری بهینه معمولا در pH ۷ تا ۸ به دست می‌آید. در مورد pHهای بالاتر، سایر فرایندهای تخریب نقش دارند. در بیشتر موارد نتایج تخریب منجر به کاهش در گرانروی محلول می‌شود. غلظت پلیمر و قدرت گرانروی مولکول‌های درگیر، گرانروی را تعیین می‌کند.

جدول ب ۱ـ تفاوت‌ها در ترکیب آلژینات از منابع مختلف خزه دریایی

GG %	MM %	G %	M %	M/G	خزه دریایی
۵۸	۱۸	۷۰	۳۰	۰٫۴۵	*Laminaria hyperborea* (stem)
۲۶	۳۶	۴۵	۵۵	۱٫۲۲	*Laminaria hyperborea* (leaf)
۲۹	۳۹	۴۵	۵۵	۱٫۲۲	*Laminaria digitata*
۲۰	۴۰	۴۰	۶۰	۱٫۵۰	*Macrocystis pyrifera*
۲۳	۴۳	۴۰	۶۰	۱٫۵۰	*Lessonia nigrescens*
۲۶	۵۶	۳۵	۶۵	۱٫۸۶	*Ascophyllum nodosum*
۱۸	۴۸	۳۵	۶۵	۱٫۸۶	*Laminaria japonica*
۱۶	۵۸	۲۹	۷۱	۲٫۴۵	*Durvillea antarcitica*
۱۳	۶۹	۲۳	۷۷	۳٫۳۳	*Durvillea potarum*



شکل ب ۱ـ زنجیره آلژینات