علمی-پژوهشی

تهیه نانوچندسازه کیتوسان- فولیک اسید/ Fe_3O_4 از پوسته میگو و بررسی اثر پادباکتریایی آن بر اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس

ژولیت اردوخانیان[۱،*]، شهلا مظفری[۱]، نرگس عجمی[۲] و شیما نهال[۳]

۱. استادیار شیمی تجزیه، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

۲. دانشیار شیمی فیزیک، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

۳. دانشجوی کارشناسی ارشد شیمی تجزیه، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

دریافت: دی ۹۹ بازنگری: اسفند ۹۹ پذیرش: فروردین ۱۴۰۰

10.30495/JACR.2022.688736 20.1001.1.17359937.1400.15.4.8.9

چکیده

در این پژوهش با تهیه کیتوسان از پوسته میگو که کم هزینه و در دسترس است، نانوچندسازه تخریب‌پذیر و زیست‌سازگار از کیتوسان عامل‌دارشده با فولیک اسید با افزودن نانوذره‌های Fe_3O_4 به‌دست آمد. ابتدا با افزودن فولیک اسید در محیط اسیدی به کیتوسان تهیه‌شده، به کمک دستگاه همزن فراصوت، مشتق کیتوسان- فولیک اسید به‌دست آمد. سپس، با افزودن آن به محلول نانوذره‌های Fe_3O_4 تهیه‌شده از محلول نمک‌های آهن (II) و آهن (III) به روش هم‌رسوبی، نانوچندسازه کیتوسان- فولیک اسید/ Fe_3O_4 تهیه شد که خواص ویژه پادباکتریایی بر برخی ریزاندامگان‌های بیماری‌زا دارد. ویژگی‌های نانوچندسازه تهیه‌شده با روش‌های طیف‌سنجی تبدیل فوریه فروسرخ (FTIR)، میکروسکوپی الکترونی پویشی (SEM) و پراش پرتو ایکس (XRD) بررسی شد. نتیجه‌های آزمایش‌های پادباکتریایی نشان دادند هر دو مشتق تهیه‌شده از کیتوسان در غلظت ۲۰۰ µg/ml می‌توانند از رشد باکتری گرم منفی اشرشیاکلی و گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس جلوگیری کنند.

واژه‌های کلیدی: نانوچندسازه، کیتوسان، فولیک اسید، Fe_3O_4، پوسته میگو، خواص پادباکتریایی

* عهده‌دار مکاتبات: ordoukhanian@pnu.ac.ir

مقدمه

در سال‌های اخیر، تهیه نانوچندسازه‌های بسپاری موجب بهبود ویژگی نانوچندسازه‌ها به‌دلیل ویژگی مکانیکی از نظر ارتجاعی، استحکام و سختی، پایداری، راسانایی الکتریکی و مقاومت در برابر گرما و رطوبت شده‌اند. بسپارهای طبیعی زیست‌سازگار، تخریب‌پذیر و غیرسمی در زمینه پزشکی برای تشخیص و درمان بیماری‌ها، دارورسانی هدفمند و تولید مواد با ویژگی پادباکتریایی، در زمینه‌های متفاوت صنایع مانند بسته‌بندی مواد غذایی و در کشاورزی برای حفاظت گیاهان بسیار موردتوجه قرارگرفته‌اند [۱]. گرایش به استفاده از مواد زیست‌تخریب‌پذیر به‌دست‌آمده از پلی‌ساکاریدها، کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها، گسترش یافته است. نشاسته [۲] پکتین [۳]، کربوکسی‌متیل سلولز [۴] و کیتوسان [۵ و ۶] از مواد بسپاری هستند که با هزینه کم قابل استفاده‌اند. با رشد روزافزون نانوفناوری، استفاده از نانوذره‌ها در تهیه نانوچندسازه‌های بسپاری به دلیل ویژگی‌های بی‌همتای آن‌ها مانند نسبت سطح به حجم زیاد، توانایی جذب سطحی بالا و کاربرد به‌عنوان حامل‌ها رو به افزایش است. استفاده از بسپارها همراه با نانومواد، ابعاد جدیدی را در مهندسی پزشکی در زمینه مهندسی بافت، نانوایمپلنت‌ها و صنایع بسته‌بندی مواد غذایی ایجاد کرده است [۷]. افزودن نانوذره‌های نقره، روی اکسید، تیتانیم اکسید [۴ و ۸] به زیست‌بسپارها موجب تحول بزرگی در تهیه فیلم‌هایی با ویژگی موثر پادباکتریایی و استفاده در صنایع بسته‌بندی شده است. تهیه نانوچندسازه برپایه پروتئین کشک حاوی نانوذره‌های مس اکسید ویژگی آپاداکسیدانی و پادباکتریایی بالایی در برابر ریزاندامگان‌های بیماری‌زا نشان داده است [۹]. نانوذره‌های مغناطیسی آهن اکسید یک عامل پادمیکروبی و غیرسمی است که کاربردهای وسیعی در زیستپزشکی پیدا کرده است [۱۰]، ولی تجمع و کلوخه‌ای‌شدن مانع اثر مطلوب آن می‌شود و نیاز است که از پایدارکننده‌ها و ترکیب‌های ماده سطح‌فعال در روش تهیه شیمیایی استفاده شود [۱۱]. تشکیل نانوچندسازه‌های بسپارهای طبیعی با نانوذره‌های مغناطیسی یک روش مناسب برای جلوگیری از تجمع و کلوخه‌ای‌شدن نانوذره‌ها فراهم می‌کند [۱۲]. پیرسا و همکارانش با افزودن نانوذره‌های مغناطیسی Fe_3O_4 به هیدروژل گلوتن توانسته‌اند آلاینده‌های آلی و معدنی یون‌های فلزهای سنگین را از آب و پساب حذف کنند [۹ ،۱۳و ۱۴]. حذف ریزاندامگان‌ها از فرایندهای زیستی برای بازیابی فراورده‌ها بسیار اهمیت دارد. کیتوسان یک زیست‌بسپار غیرسمی طبیعی است که از استیل‌زدایی کیتین به‌دست می‌آید و به‌دلیل فعالیت پادمیکروبی و پادقارچی موردتوجه زیادی قرارگرفته‌است. فعالیت پادمیکروبی کیتوسان به‌عامل‌های متفاوتی مانند نوع کیتوسان، درجه استیل‌زدایی، وزن مولکولی، pH محیط و دما بستگی دارد [۱۵ و ۱۶].

پیرسا و همکارانش (۲۰۲۰) با نانوچندسازه‌های طبیعی برپایه کیتوسان، پوست انار و اسانس گیاه بادرنجبویه، فیلمی با کاهش نفوذپذیری بخار آب و ویژگی پادباکتریایی بالا تهیه کردند [۱۷]. دامونت و همکارانش (۲۰۱۸) الیاف کلسیم آلژینات/کیتوسان را تهیه و ویژگی‌های پادمیکروبی آن را برای تهیه پانسمان زخم با ویژگی خونسازی و درمانی آلژینات همراه با ویژگی پادمیکروبی کیتوسان برای مقابله با عفونت‌های بیمارستانی بررسی کردند [۱۸]. ساتیا و همکارانش (۲۰۱۶) نانوچندسازه‌های کیتوسان/ روی اکسید را با روش شیمیایی مرطوب تهیه و مقاومت باکتریایی آن را نسبت به باکتری اشریشیاکلی بررسی کردند [۱۹].

اثرات پادزیستی فولیک اسید [۲۰] و کاربردش در دارورسانی برای درمان بیماری‌های سرطان، موجب توجه به اهمیت افزودن این گروه عاملی به بسپارهای طبیعی به‌ویژه کیتوسان شده است [۲۱ و ۲۲]. نژاد شفیعی و همکارانش (۲۰۱۹) کاربرد زیست‌نانوچندسازه با ساختار نانوذره‌های

مغناطیسی Fe_3O_4 –آمین دار با پوششی از کیتوسان جفت‌شده با فولیک اسید را در دارورسانی هدفمند فلوروراسیل برای درمان سرطان، بدون عوارض جانبی دارو، گزارش کردند [۲۳]. مشتق‌های کیتوسان- فولیک اسید با نانوذره-های ZnS [۲۴] و الیگوساکارید کیتوسان- فولیک اسید با نانولوله‌های هالوسایت مغناطیسی‌شده با نانوذره‌های Fe_3O_4 [۲۵] به‌عنوان بسپارهای زیست‌تخریب‌پذیر و غیرسمی در دارورسانی بسیار موردتوجه قرارگرفته‌اند.

بخش تجربی

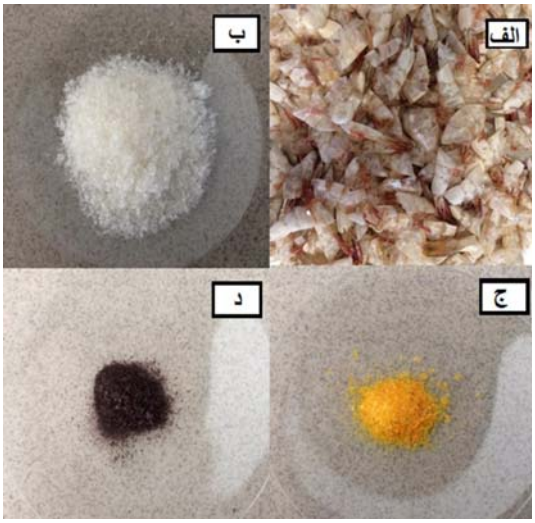
مواد شیمیایی و دستگاه‌ها

مواد شیمیایی مورداستفاده همه با خلوص بالا (بیش از ۹۹ ٪) از شرکت مرک آلمان تهیه شدند. باکتری‌های اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس از انستیتو پاستور تهران و صفحه‌های پادزیست جنتامایسین ۱۰ میکروگرم و صفحه خام از شرکت پادتن طب تهیه شدند. پوسته میگو از فروشگاه‌های پروتئین در سطح شهر تهران خریداری شد. از همزن فراصوت دیجیتال مدل UW 3200 شرکت باندلین (آلمان)، دستگاه گریزانه مدل Sigma 2-15 شرکت سیگما (آلمان)، دستگاه دم‌فشار[1] مدل SX-700E شرکت تامی (ژاپن)، دستگاه گرم‌خانه مدل INB 500 شرکت ممرت (آلمان)، pHمتر مدل 827 شرکت متراهم (سوئیس)، طیف-سنج فروسرخ تبدیل فوریه (FTIR) مدل Vector 22 شرکت بروکر (آلمان)، میکروسکوپ الکترونی پویشی (SEM) مدل DSM-960A شرکت زایس (آلمان)، دستگاه پراش پرتو ایکس (XRD) مدل 6000 شرکت شیمادزو (ژاپن) استفاده شدند.

تهیه نانوچندسازه کیتوسان-فولیک اسید/ Fe_3O_4 از پوسته میگو

ابتدا، کیتوسان طی سه مرحله شامل جداسازی مواد معدنی، جداسازی مواد پروتئینی و استیل‌زدایی ۷۶ ٪ از پوسته میگو تهیه شد. در مرحله دوم، کیتوسان مزدوج با فولیک اسید تهیه شد. برای این‌کار، ۱۰۰ میلی‌گرم کیتوسان تهیه‌شده در ۱۰ میلی‌لیتر محلول استیک اسید ۰/۱ مولار حل و pH آن به ۵ رسانده شد. سپس ۰/۱۳ میلی‌مول فولیک اسید در ۱۰ میلی‌لیتر محلول بافر تریس کلریدریک اسید با pH برابر ۷/۴ حل شد. در ادامه با قراردادن همزن فراصوت در محلول، قطره قطره محلول فولیک اسید به آن افزوده شد. محلول به‌دست آمده به مدت ۳۰ دقیقه هم‌زده شد. رسوب به‌دست‌آمده با دستگاه گریزانه جدا و پس از شستشو با آب یون‌زدوده در دمای محیط قرارداده‌شد تا خشک شود. برای تهیه نانوچندسازه کیتوسان- فولیک اسید/ Fe_3O_4، ۱۰۰ میلی‌گرم از کیتوسان- فولیک اسید در ۵۰ میلی‌لیتر محلول استیک اسید ۰/۱ مولار حل شد. مقدار ۰/۸ میلی‌مول آهن (II) کلرید و ۰/۹۹ میلی‌مول آهن (III) کلرید در ۵۰ میلی-لیتر آب یون‌زدوده حل و به محلول پیشین افزوده شد و ۱۵ دقیقه با همزن فراصوت هم‌زده شد. سپس به محلول به‌دست آمده، قطره قطره محلول آمونیاک ۲۵ ٪ افزوده شد تا رنگ محلول به‌طور کامل سیاه شود و pH آن به حدود ۹ برسد. رسوب به‌دست آمده پس از شستشو با آب یون‌زدوده در دمای محیط قرارداده‌شد تا خشک شود. در شکل ۱ عکس پوسته میگو و فراورده‌های متفاوت تهیه‌شده از آن شامل کیتوسان، کیتوسان- فولیک اسید و نانوچندسازه کیتوسان- فولیک اسید/ Fe_3O_4 نشان‌داده شده است.

1. Autoclave



شکل ۱ عکس پوسته میگو (الف) و فراورده‌های متفاوت تهیه‌شده از آن شامل کیتوسان (ب)، کیتوسان- فولیک اسید (ج) و نانوچندسازه کیتوسان- فولیک اسید/ Fe_3O_4 (د)

بررسی ویژگی پادباکتریایی

برای بررسی ویژگی پادباکتریایی و تعیین کمینه غلظت بازدارندگی باکتریایی (MIC[1]) کیتوسان، کیتوسان- فولیک اسید و نانوچندسازه کیتوسان- فولیک اسید/ Fe_3O_4 تهیه‌شده از روش پخش صفحه‌ای[2] استفاده شد. ابتدا ۱۹ گرم از محیط کشت مولر هینتون آگار در ۵۰۰ میلی‌لیتر آب یون‌زدوده حل و بر صفحه داغ گرمادهی شد تا محلول شفاف به‌دست آمد. سپس محلول به مدت ۹۰ دقیقه در دم‌فشار قرارداده‌شد تا سترون شود. در آخر محلول در سینی‌های سترون ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال قرارداده‌شد. در مرحله بعد، از محلول باکتری فعال‌شده با رقت معادل نیم مک فارلند[3] در محلول سرم کاراندام‌شناختی[4] با سواپ سترون به‌طور زیگزاگ در محیط کشت مولر هینتون آگار به‌صورت چمنی کشت داده شد. سپس صفحه‌های خام آغشته به غلظت‌های متفاوت (۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و µg/ml ۴۰۰) از سه فراورده کیتوسان، کیتوسان جفت‌شده با فولیک اسید و نانوچندسازه کیتوسان- فولیک اسید/ Fe_3O_4 تهیه‌شده به همراه صفحه‌های استاندارد پادزیست بر محیط کشت گذاشته شدند و پس از ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۳۷ °C در گرم‌خانه، هاله عدم رشد با خط‌کش اندازه‌گیری شد.

نتیجه‌ها و بحث

برای تایید ساختار شیمیایی کیتوسان تهیه‌شده و تعیین درجه استیل‌زدایی آن، روش FTIR به‌کارگرفته‌شد. در طیف FTIR کیتوسان تهیه‌شده (شکل ۲-الف)، نوارهای مربوط به ارتعاش‌های کششی O-H و H-N در ۳۴۲۰ تا cm^{-1} ۳۴۵۰، ارتعاش‌های کششی C=O و NH_2 در ۱۶۴۰ تا cm^{-1} ۱۶۶۰، ارتعاش کششی نامتقارن C-O اتری در cm^{-1} ۱۱۸۰ و ارتعاش کششی O-C الکلی در cm^{-1} ۱۱۰۰ مشاهده می‌شوند [۲۶].

به کمک شدت نوارهای مشاهده شده در cm^{-1} ۱۶۶۰ و ۳۴۵۰ برای تعیین درجه استیل‌زدایی کیتوسان، معادله ۱ به‌کارگرفته‌شد.

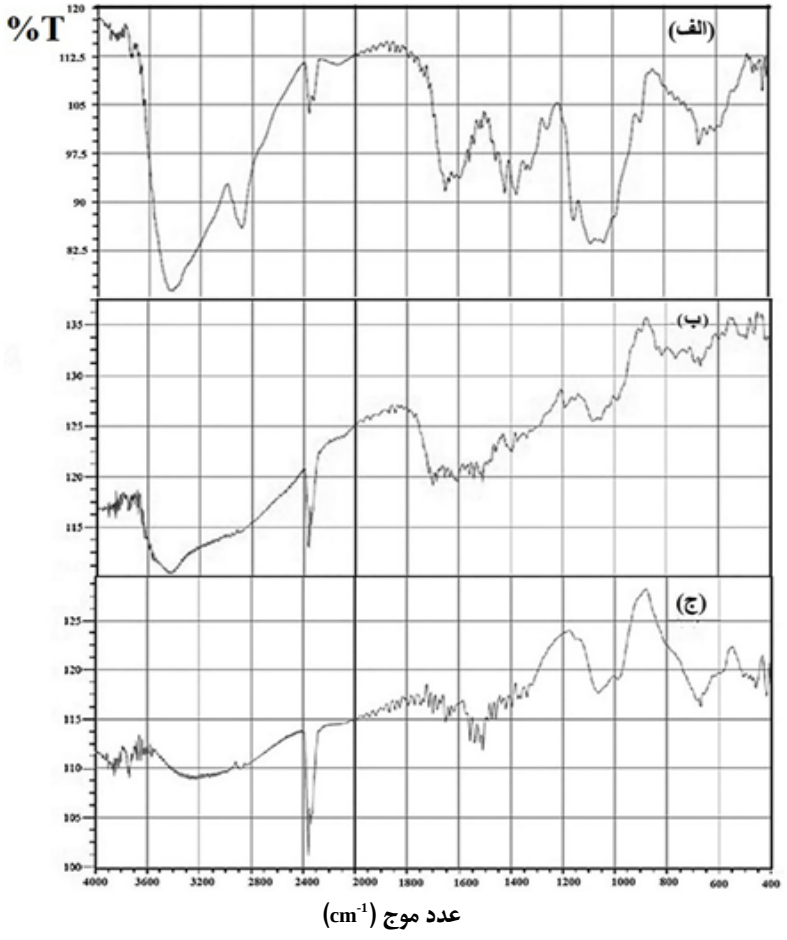
$$DD=100-(A1660/A3450)/1.33 \times 100 \qquad (۱)$$

نوار مشاهده‌شده در cm^{-1} ۱۶۶۰ مربوط به گروه کربونیل (گروه استیل) است که پس از آب‌کافت و حذف گروه استیل (تشکیل کیتوسان) به سمت حذف گروه کربونیل پیش می‌رود [۲۷]. برپایه محاسبه‌ها، درصد استیل‌زدایی کیتین و تشکیل کیتوسان، ۷۶ ٪ به‌دست آمد. در طیف FTIR کیتوسان- فولیک اسید (شکل ۲- ب) همه نوارهای موجود در طیف کیتوسان به جز نوار cm^{-1} ۲۹۰۰ مشاهده شده است. عدم حضور این نوار را می‌توان به پیوند فولیک اسید به کیتوسان نسبت داد. با توجه به ساختار فولیک اسید می‌توان نوارهای ارتعاشی ناشی از وجود پیوندهای موجود در فولیک اسید را مشاهده کرد.

1. Minimum Inhibitory Concentration (MIC)
2. Disk Diffusion
3. McFarland
4. Physiologic

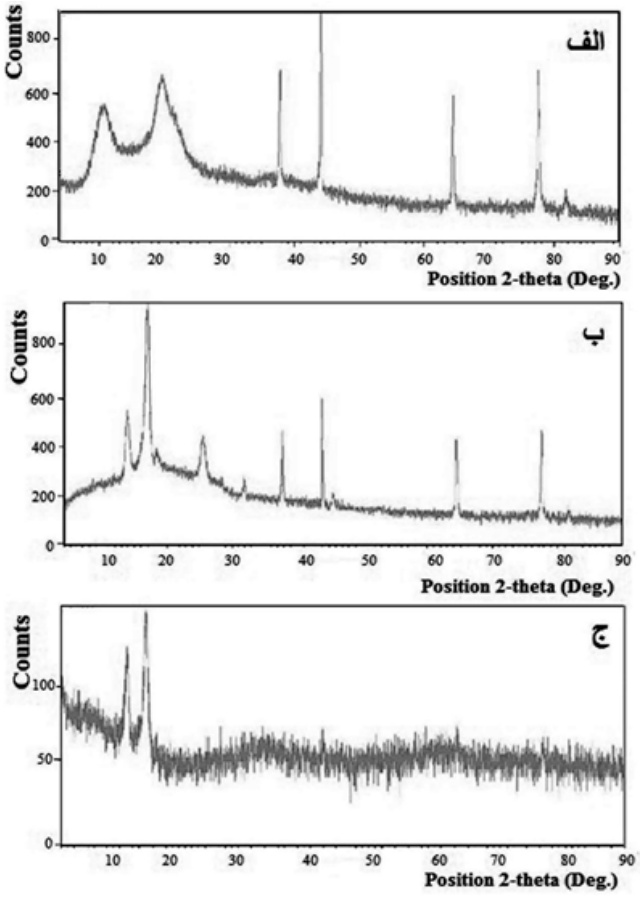
نوار مربوط به حلقه فنیل در $1500\ cm^{-1}$ و نوارهای مربوط به ارتعاش‌های NH و C=C آروماتیک، C=N و C=O آمیدی در حدود $1600-1650\ cm^{-1}$، C=O کربوکسیلیک در $1700\ cm^{-1}$ و OH – کربوکسیلیک و NH حلقه در گستره 3100 تا $3500\ cm^{-1}$ قابل تشخیص هستند [۲۸]. همه نوارهای مشاهده‌شده در طیف FTIR کیتوسان و کیتوسان- فولیک اسید در طیف نانوچندسازه کیتوسان- فولیک اسید/ Fe_3O_4 (شکل ۲-ج) مشاهده شده است. افزون‌برآن، نوار موجود در حدود $500cm^{-1}$ مربوط به پیوند Fe-O تاییدی بر حضور Fe_3O_4 در ساختار نانوچندسازه است.

در الگوی XRD کیتوسان تهیه‌شده (شکل ۳-الف) دو پیک مشخصه کیتوسان در زوایای 2θ، برابر با ۱۰° و ۲۰° دیده می‌شوند. پهن‌بودن آن‌ها دلیل بر تشکیل ذره‌های ریز و آمورف است که به‌دلیل وجود پیوند هیدروژنی بین‌مولکولی است و نشان می‌دهد که کیتین استخراج‌شده به شکل آلفا است [۲۹].



شکل ۲ طیف‌های FTIR کیتوسان (الف)، ب- کیتوسان- فولیک اسید (ب) و نانوچندسازه کیتوسان- فولیک اسید/ Fe_3O_4 (ج)

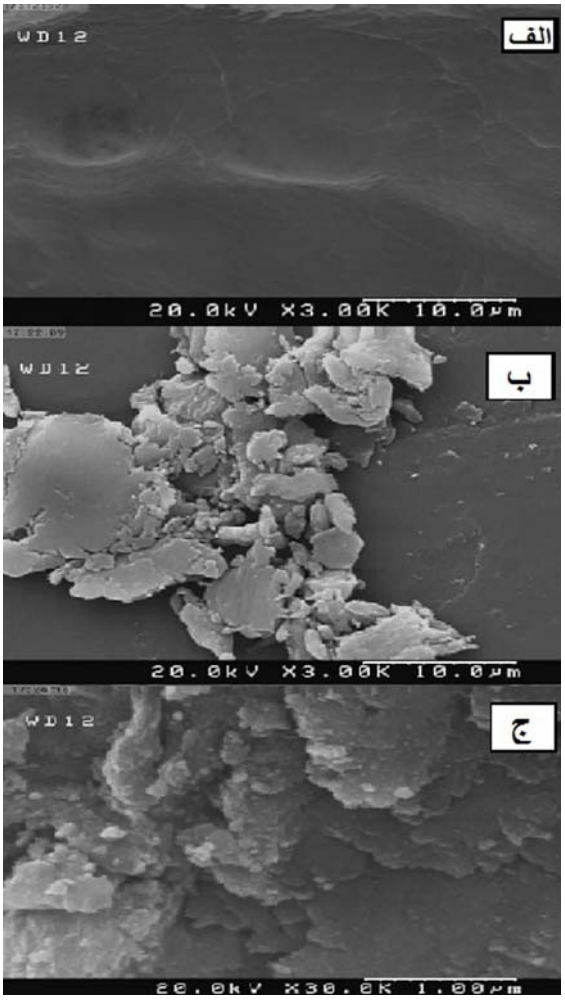
در شکل ۳–الف، پیک‌های تیز همراه دو پیک اصلی کیتوسان مربوط به باقی‌مانده سدیم هیدروکسید در کیتوسان است که در مرحله تولید به غلظت زیاد (۵۰ ٪) استفاده شده است. با وجود شستشوی فراورده، آثارش در کیتوسان باقی مانده است.در شکل ۳–ب، الگوی XRD کیتوسان– فولیک اسید نشان داده شده است. هر دو پیک مشخصه کیتوسان به دلیل ایجاد پیوند با فولیک اسید به‌تقریب حذف شده‌اند. در شکل ۳–ج، الگوی XRD نانوچندسازه کیتوسان– فولیک اسید/ Fe_3O_4 نشان داده شده است. وجود پیک‌های یکسان با کیتوسان– فولیک اسید به صورت تضعیف شده، بیانگر پیوند آن به سطح Fe_3O_4 است. به‌علاوه پیک‌های با شدت بالاتر در زوایای 2θ برابر با °۳۵٫۵ مربوط به پراش صفحه (۳۱۱) و °۶۳ به صفحه (۴۴۰) Fe_3O_4 با کارت استاندارد-JCPDS: 19 (0629 همخوانی کامل دارد.



شکل ۳ الگوهای XRD کیتوسان (الف)، کیتوسان– فولیک اسید (ب) و نانوچندسازه کیتوسان– فولیک اسید/ Fe_3O_4 (ج)

در تصاویر SEM، کیتوسان تهیه‌شده به صورت صفحه‌های لایه‌ای است (شکل ۴–الف) و در تصویر کیتوسان– فولیک اسید (شکل ۴–ب)، فولیک اسید بر صفحه‌های لایه‌ای کیتوسان دیده می‌شود. در شکل ۴–ج تصویر SEM

نانوچندسازه کیتوسان- فولیک اسید/ مگنتیت نشان داده شده است که نانوذره‌های کروی Fe_3O_4 بر صفحه‌های لایه‌ای کیتوسان- فولیک اسید قابل مشاهده هستند.



شکل ۴ تصویرهای SEM کیتوسان (الف)، کیتوسان- فولیک اسید (ب) و نانوچندسازه کیتوسان- فولیک اسید/ Fe_3O_4 (ج)

نتیجه‌های بررسی ویژگی پادباکتریایی سه نمونه کیتوسان، کیتوسان- فولیک اسید و نانوچندسازه کیتوسان- فولیک اسید/ Fe_3O_4 تهیه‌شده نسبت به باکتری اشریشیاکلی (گرم منفی) و استافیلوکوکوس اورئوس (گرم مثبت) در جدول ۱ آورده شده‌اند. در غلظت µg/ml ۲۰۰ ویژگی پادباکتریایی نانوچندسازه کیتوسان- فولیک اسید/ Fe_3O_4 بر هر دو باکتری قوی‌تر از کیتوسان- فولیک اسید بود. درحالی‌که اثر آن بر استافیلوکوکوس اورئوس قوی‌تر از اشرشیاکلی بود، ولی در مورد کیتوسان در این غلظت اثر پادباکتریایی مشاهده نشد. در نتیجه حضور دو جز فولیک اسید و مگتیت در ساختار

نانوچندسازه موجب هم افزایی و تشدید ویژگی پادباکتریایی شده است.

جدول ۱ قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری شده

نمونه	قطر هاله عدم رشد* (mm)	
	استافیلوکوکوس اورئوس	اشرشیاکلی
نانوچندسازه کیتوسان-فولیک اسید/Fe_3O_4	۱۲ ±۰/۶	۱۰ ±۰/۶
کیتوسان مزدوج با فولیک اسید	۹ ±۰/۶	۷ ±۰/۴
کیتوسان	۰	۰
جنتامایسین	۱۴ ±۰/۶	۱۷ ±۰/۵

* میانگین سه بار تکرار

سازوکار ویژگی پادباکتریایی نمونه‌ها را به واکنش یونی بین گروه‌های کاتیونی (پروتئین‌دهندگی گروه‌های آمینو) و گروه‌های آنیونی غشاء سلولی باکتری نسبت می‌دهند که این واکنش با تخریب دیواره سلولی و تخریب DNA و پروتئین موجب مرگ سلول می‌شود [۳۰ تا ۳۲]. پیوند فولیک اسید به کیتوسان از راه گروه کربوکسیلیک اسید در فولیک اسید با گروه آمینی در کیتوسان صورت می‌گیرد، ولی وجود گروه‌های آمینی در ساختار فولیک اسید، این کاهش را جبران کرده و موجب تشدید ویژگی پادباکتریایی کیتوسان- فولیک اسید نسبت به کیتوسان می‌شود.

مراجع

[4] Pirsa, S.; Farshchi, E.; Roufegarinejad, L.; J. Polym. Environ. 28, 3154-3163, 2020.

[5] Giannakas, A.; Pissanou, M.; S.F.J. Nanochem. Nanotechnol. 1, 1-17, 2018.

[6] Mohammadi, B.; Pirsa, S.; Alizadeh. M.; Polym. Polym. Compos. 27, 507-517, 2019.

ویژگی پادباکتریایی کیتوسان به روش MIC در غلظت ۱۲۰۰ µg/ml گزارش شده است [۱۶]. نانوذره‌های مغناطیسی Fe_3O_4 هم عملکرد مشابهی دارند، ولی افزون بر غلظت، اندازه بسیار ریز نانوذره‌ها، نوع و ماهیت عوامل پوشاننده در فعالیت پادمیکروبی موثر هستند. ویژگی پادباکتریایی نانوذره‌های Fe_3O_4 زیست‌تهیه‌شده با جلبک‌های سبز با اندازه ذره‌های ۹/۹ نانومتر در غلظت ۱۰ mg/ml گزارش شده است [۱۱].

نتیجه‌گیری

نتیجه‌های این پژوهش نشان دادند، تهیه کیتوسان از پوسته میگو به کمک روشی کم‌هزینه از واکنش شیمیایی پوسته میگو امکان‌پذیر است و کیتوسان با استیل‌زدایی ۷۶ ٪ به‌دست آمد. کیتوسان تهیه شده در دستگاه فراصوت با فولیک اسید واکنش داد و کیتوسان- فولیک اسید به‌دست آمد. طی واکنش هم‌رسوبی شیمیایی از نمک‌های آهن (II) و آهن (III) با محلول آمونیاک در حضور کیتوسان- فولیک اسید، نانوچندسازه کیتوسان- فولیک اسید/ Fe_3O_4 به‌طور موفقیت آمیز تهیه شد. آزمون پادباکتریایی نشان داد هر دو ترکیب تهیه شده از کیتوسان می‌توانند از رشد باکتری گرم منفی اشرشیاکلی و گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس در غلظت ۲۰۰ µg/ml جلوگیری کنند.

[1] Divya, K.; Jisha, M.S.; Environ, Chem. Lett. 16, 101-112, 2018.

[2] Pirsa, S.; Mohtarami, F.; Kalantari, S.; Chem. Rev. Lett. 3, 98-106, 2020.

[3] Pirsa, S.; Int. J. Biol. Macromol. 163, 666-675, 2020.

[7] George, A.; Shah, P.A.; Shrivastav, P.S.; Int. J. Pharm. 561, 244-264, 2019.
[8] Rezaei, M.; Pirsa. S.; Chavoshizadeh. S.; J . Int. Organomet. Polym. Mater. 30, 2654-2665, (2020).
[9] Asdagh. A.; Karimi Sani. I.; Pirsa. S.; Amiri. S.; Shariatifar. N.; Eghbaljoo. H.; Shabahang. Z.; Taniyan. A.; J. Polym. Environ. 29, 335-349, 2021.
[10] Xu, C.; Akakuru, O.U.; Zheng, J.; Wu, A.; Front. Bioeng. Biotechnol. 7, 141, 2019.
[11] Mashjoor, S.; Yousefzadi, M.; Iran. J. Med. Microbiol. 12, 208-217, 2018.
[12] Allafchian. A.; Hosseini, S.S.; IET Nanobiotechnol. 13, 786-789, 2019.
[13] Jahanbakh. A.; Pirsa, S.; Bahram. M.; Main Group Chem. 16, 85-94, 2017.
[14] Pirsa. S. Asadzadeh. F.; Karimi Sani. I.; J. Inorg. Organomet. Polym. Mater. 30, 3188-3198, 2020.
[15] Chen, S.; Wu, G.; Zeng, H.; Carbohydr. Polym. 60, 33-38, 2005.
[16] Wardani. G.; Mahmiah. M.; Sudjarwo, S.A.; Pharmacogn. J. 10, 162-166, 2017.
[17] Pirsa, S.; Karimi Sani, I.; Pirouzifard, M.K.; Erfani. A.; Food Addit. Contam. A, 37, 634-648, 2020.
[18] Dumont, M.; Villet, R.; Guirand, M.; Montembault, A.; Delair, T.; Lack, S.; Barikosky, M.; Crepet, A.; Alcouffe, P.; Laurent, F.; David. L.; J. Carbohydr. Polym. 190, 31-42, 2018.
[19] Sathiya, S.M.; Okram, G.S.; Maria Dhivya, S., Manivannan, G.; Jothi Rajan, M.A.M.; Mater. Today-Proc. 3, 3855-3860, 2016.
[20] Zander, J.; Besier, S.; Ackermann. H.; Wichelhaus, T.A.; Antimic. Agents Chemother. 54, 1226-1231, 2010.
[21] Chinnaiyan, S.K.; Ramar, T.; Soloman, A.M.; Perumal, R.K.; Gopinath, A.; Balaraman, M.; Carbohyd. Polym. 231, 115682, 2020.
[22].Chanphai, P.; Konka,V.; Tajmir-Riahi, H.A.; J. Mol. Liq. 238, 155-159, 2017.
[23] Nejadshafiee, V.; Naeimi, H.; Goliaei, B.; Bigdeli, B.; Sadighi, A.; Dehghani, S.; Lotfabadi, A.; Hossein, M.; Nezamtaheri, M.S.; Amanlou, M.; Sharifzadeh, M.; Khoobi, M.; Mater. Sci. Eng. C. 99, 805-835, 2020.
[24] Bandara, S.; Carnegie, C.; Johnson. C.; Akindoju, F.; Williams, E.; Swaby, J.M.; Oki, A.; Carson, L.E.; Heliyon 4(8), PMC6113674, 2018.
[25] Dramou, P.; Fizir, M.; Taleb, A.; Itatahine, A.; Dahiru, N.S.; Ait Mehdi, Y.; Wei, L.; Zhang, J.; He, H.; Carbohydr. Polym. 197, 117-127, 2018.
[26] Jiang, M.; Wang, K.; Kennedy, J.F.; Nie, J.; Yu, J.; Ma, G.; Int. J. Biol. Macromol. 47, 696-699, 2010.
[27] Pourmorad, F.; Ebrahimzadeh, M.; Honary, S.; Ebrahimee, P.; Orangian, M.; J. Mazandaran Univ. Med. Sci. 50, 27-34, 2006.
[28] He, Y.; Wang, X.; Jin, P.; Zhao, B.; Fan, X.; Spectrochim. Acta. A-M. 72, 876-879, 2009.
[29] Cruz, R.S.; Fook, B.R.; Lima, V.A.; Rached, R.I.; Lima, E.P.; Lima, R.J.; Covas, C.A.; Fook, M.V.; Mar. Drugs 15, 141, 2017.
[30] Arbab Soleimani, N.; Kasra Kermanshahi, R.; Yakhchali, B.; Iran J. Med. Microbiol. (IJMM) 10, 34-43, 2017.
[31] Taheri, A.; Seyfan, A.; Jalalinezhad, S.; J. Fasa Univ. Med. Sci. 3, 49-55, 2013.
[32] Tang, H.; Zhang, P.; Kieft, T.L.; Ryan, S.J.; Baker, S.M.; Wiesmann, W.P.; Rogelj, S.; Acta. Biomater. 6, 2562-2571, 2010.