

"مقاله پژوهشی"

ارزیابی اثرات ضد میکروبی کیتین و کیتوزان استحصالی از میگوی اروپایی (*Palaemon elegans*) در دریای خزر

شهریار تقی پور کوه‌بانه^{۱*}، سیده پریا توسلی^۲

۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاداسلامی، لاهیجان، ایران

۲- گروه زیست فناوری، دانشکده علوم پایه، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاداسلامی، لاهیجان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۲۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۵/۳۰

چکیده

میگوی اروپایی (*Palaemon elegans*) از سخت پوستان ساکن دریای خزر است. کیتین و شکل دانسته آن (کیتوزان) یک پلیمر طبیعی با خاصیت ضد میکروبی است که به طور طبیعی در اسکلت خارجی سخت پوستانی مانند میگو وجود دارد. از کیتین و کیتوزان به طور گسترده در صنایع داروسازی، آرایشی و بهداشتی، کشاورزی، زیست پزشکی و غذایی استفاده می شود. جهت انجام این مطالعه با نمونه بردار دریج ۹۷۷ قطعه میگوی *P. elegans* با میانگین طول کل $17/06 \pm 34/96$ میلی متر و وزن $1/17 \pm 0/168$ گرم در سواحل استان گیلان صید شدند. میگوها در کیسه های زیپ دار حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل و براساس کلیدشناسایی سخت پوستان شناسایی شدند. پوسته میگو از ضایعات گوشت به صورت دستی جداسازی و سپس پوسته های تمیز شده جهت آبیگری و خشک شدن در محیط با تهویه مناسب قرار داده شدند. پس از خشک کردن، پوسته ها آسیاب و الک شده و حذف ترکیبات معدنی با استفاده از اسید کلریدریک ۲ نرمال، حذف ترکیبات پروتئینی با هیدروکسید سدیم ۵٪، حذف ترکیبات رنگدانه ای با هیپوکلریت سدیم ۳٪ انجام شد و در نهایت با حذف گروه های استیل از روی کیتین به دست آمده کیتوزان حاصل شد. میزان کیتین و کیتوزان به دست آمده از پوسته میگو به ترتیب ۱۷/۴ و ۱۸/۹ درصد محاسبه گردید. خواص ضد میکروبی کیتین و کیتوزان استخراج شده روی ۵ سویه ی باکتریایی به روش انتشار دیسک و براساس دستورالعمل NCCLS مورد بررسی قرار گرفت. در نتایج اختلاف معنی داری در حساسیت باکتری های گرم مثبت با گرم منفی در کیتین و کیتوزان در پوسته میگو وجود داشت ($p < 0/05$). محدوده ی حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) برای کیتین به ترتیب بین ۵۰۰-۱۲۵ و ۱۰۰۰-۲۵۰ میکروگرم برلیتر بود. محدوده ی حداقل غلظت MIC و MBC برای کیتوزان به ترتیب بین ۵۰۰-۲۵۰ و ۱۰۰۰-۵۰۰ میکروگرم برلیتر بود. بیشترین هاله عدم رشد باکتری در کیتین و کیتوزان در *K. Pneumonia* به ترتیب $10/56 \pm 0/08$ و $15/16 \pm 0/24$ میلی متر بود. کیتوزان نسبت کیتین از هاله عدم رشد بیشتری برخوردار بود. نتایج این بررسی نشان داد که کیتین و کیتوزان بدست آمده قابلیت ضد باکتریایی مناسبی داشته و این قابلیت وجود دارد که از خواص ضد میکروبی آن در صنایع غذایی و دارویی استفاده شود.

کلمات کلیدی: کیتین، کیتوزان، ضد میکروبی، *Palaemon elegans*، دریای خزر.

مقدمه

گونه *Palaemon elegans* (Rathke 1837) در سطح وسیعی از نوار ساحلی آب‌های اقیانوسی و دریایی پراکندگی دارد (بریشتن، ۱۳۷۹) و با نام‌های میگوی اروپایی و میگوی استخرهای صخره‌ای و نام انگلیسی rock pool prawn شناخته می‌شود (تقی پور-کوه‌بنه و همکاران، ۱۴۰۰). این گونه بومی دریای مدیترانه بوده و در سواحل و مصب‌های اروپا (1995 Guerao and Ribera,)، دریای شمال، دریای بالتیک، اطلس شمالی، تمام سواحل اروپا از نروژ تا آزوف، مدیترانه، دریای سیاه و جنوب غرب آفریقا به میزان زیادی دیده می‌شود و در سال ۱۹۵۰ به دریای خزر و آرال معرفی شده است (Schulte, 1975). این میگو از گونه‌های مهم اکولوژیکی بوده (Holthuis, 1975) و جمعیت آن در دریای خزر به قدری زیاد شده که در جیره غذایی اغلب ماهی‌ها وارد شده است (بریشتن، ۱۳۷۹).

امروزه، یافتن مواد ضد میکروبی از منابع دریایی روی برخی ارگانسیم‌های بیماری‌زا استفاده می‌شود (طاهری و همکاران، ۱۳۹۱؛ راهی و همکاران، ۱۳۹۶). اولین لایه دفاعی سخت پوستان در برابر عوامل عفونی اسکلت خارجی و سخت آن‌ها است که فعالیت ضد-میکروبی آن ناشی از ترکیبات زیست فعالی چون کیتین است (Nan et Sasikala and Chitra, 2009). کیتین پس از سلولز فراوانترین پلیمر زیستی در طبیعت است که از واحدهای N-acetyl-D-glucosamin تشکیل شده است (Deshpande, 1986). کیتوزان مشتقی از کیتین است که به واسطه دانسیته شدن قلیایی کیتین، حاصل می‌شود، نام علمی آن -β دی-۲ آمینو-۲-داکسی-α-گلوکان بوده و

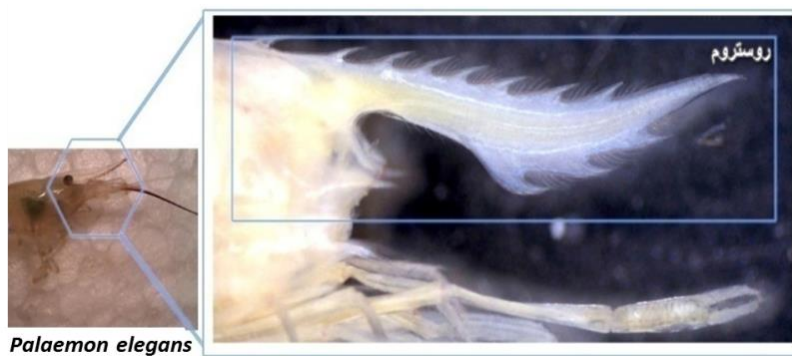
فرمول بسته آن به صورت $C_4H_{11}NO_4$ می‌باشد (Bolat et al., 2010). در حال حاضر، کیتوزان در علوم پزشکی و صنایع غذایی به دلیل خواص ضدباکتریایی (Rabea et al., 2009)، ضدتوموری (Tokoro et al., 1998)، ترکیبات زیست فعال (Chio et al., 2001)، حذف پاراکوات از آب (بنایی و همکاران، ۱۳۹۷) و عملکرد هیپوکلسترومیک مورد توجه است (Sugano et al., 1999). از محلول کیتوزان برای فعالیت‌های ضد باکتریایی و خاصیت شیرین کنندگی آب دریا نیز استفاده می‌شود (Fujimoto et al., 2006).

Fujimoto و همکاران (۲۰۰۶) اثرات ضدباکتریایی محلول کیتوزان را بر باکتری‌های *Escherichia coli*، *Legionella*، *Staphylococcus aureus*، *pneumophila* نشان دادند. Jung و همکاران (۱۹۹۹) با مطالعه اثرات ضدباکتریایی کیتین و کیتوزان بر *Trichophyton*، *Tricholosporem violaceum* و *Candida albicans rubrum* نشان دادند که باعث تخریب دیواره سلولی و قارچی آن‌ها می‌شود. Liu و همکاران (۲۰۰۱) با بررسی خاصیت ضدباکتریایی-کیتوزان بر روی *Escherichia coli* نشان دادند که اثر مهار کنندگی مناسبی برخوردار می‌باشد. طاهری و همکاران (۱۳۹۲) در خصوص اثر ضد میکروبی و ضد قارچی کیتوزان محلول در اسید و آب پوسته میگوی سفید هندی (*F. indicus*) نشان دادند که کیتوزان، بیشترین تاثیر مهار کنندگی رشد را روی *Salmonella serotype* و *Asiatic cholera* کمترین تاثیر را روی *Escherichia coli* داشته است؛ خاکشور و پازوکی (۱۳۹۵) با بررسی و مقایسه خواص میکروبی کیتین و کیتوزان استخراج شده از بخش‌های مختلف اسکلت خارجی خرچنگ شناگر

کیتوزان در پوسته میگوی *P. elegans* با سایر گونه‌های جانوری و جایگزین کتین و کیتوزان استخراج شده از ارگانسیم‌های طبیعی به جای روش‌های شیمیایی می‌تواند مشکلات ناشی از افت کیفیت کیتین و کیتوزان را برطرف نماید.

مواد و روش‌ها

۹۷۷ قطعه میگوی *P. elegans* با طول-کل $17/06 \pm 34/96$ میلی‌متر و وزن $1/17 \pm 0/168$ گرم با نمونه‌برداری در یخ (40×150 سانتی‌متر) در سواحل استان گیلان در سال ۱۳۹۸ صید شدند. میگوها پس از صید درون کیسه‌های زیپ‌دار حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل شدند (تقی پورکوه‌بنه و مشفق، ۱۳۹۴). شناسایی گونه از روی تعداد خارهای روستروم انجام شد- (بریشتن، ۱۳۷۹؛ تقی پورکوه‌بنه و مشفق، ۱۳۹۴؛ تقی پورکوه‌بنه و همکاران، ۱۴۰۰) (شکل ۱).



شکل ۱: شناسایی گونه‌ای میگوی *P. elegans* از روی تعداد خارهای روستروم در زیر لوپ

آبی (*Portuns segnis*) بر روی ۱۱ سویه باکتریایی نشان دادند که مقدار کیتین و کیتوزان در پاهای راه روی به طور معنی‌داری بیشتر از دیگر بخش‌های می‌باشد. همچنین کیتوزان نسبت به کیتین خواص ضد میکروبی بیشتری برخوردار است. هردانی و همکاران (۱۳۹۷) با استخراج کیتین و کیتوزان از پوسته کیتینی گونه‌های *Litopenaeus vannamei* و *Portunus pelagicus* نشان دادند که درصد کتین و کیتوزان در بندهای بدن بیشتر از کاراپاس است. امروزه یافتن مواد ضد میکروبی جدید به دلیل ایجاد مقاومت‌های آنتی بیوتیکی در باکتری‌ها، به خصوص باکتری‌های بیماری‌زا بسیار مورد توجه است. به علت طبیعی بودن بیوپلیمرهای کتین و کیتوزان استخراج شده که در بسیاری از ارگانسیم‌های طبیعی یافت می‌شوند؛ استفاده کیتین و کیتوزان استخراج شده از پوسته میگوی *P. elegans* که در دریای خزر وجود دارد می‌تواند منبع مهمی برای تولید کیتین و کیتوزان باشد. مقایسه مشخصات کیتین و

پوسته میگو از ضایعات گوشت و محتوای پروتئینی آن به صورت دستی جداسازی شد، سپس پوسته‌های تمیز شده جهت آگیری و خشک شدن در محیط با تهویه مناسب قرار داده شدند. پس از خشک کردن پوسته‌ها در آون در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد با آسیاب آزمایشگاهی پودر کرده و از الک ۲۵۰ میکرون

پوسته میگو از ضایعات گوشت و محتوای پروتئینی آن به صورت دستی جداسازی شد، سپس پوسته‌های تمیز شده جهت آگیری و خشک شدن در محیط با

هاله‌های عدم رشد اندازه گیری شدند (Chio et al., 2001).

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت باکتری کشی (MBC)

به لوله حاوی کتین و کیتوزان و همچنین لوله کنترل، به مقدار ۵۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی نیم-مک‌فارلند با غلظت نهایی (10^3 cell/ml) $\log \text{ FU/ml}$ ۷، با استفاده از سمپلر اضافه شد و نمونه‌ها در شرایط هوازی در انکوباتور شیکردار با دور rpm ۱۵۰ و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و نتایج بعد از ۲۴ تا ۴۸ ساعت مورد بررسی قرار گرفتند. عدم مشاهده کدورت در کمترین غلظت (بیشترین رقت) نشان دهنده عدم رشد باکتری و آن غلظت به عنوان غلظت MIC در نظر گرفته شد. پس از تعیین MIC، از رقت‌هایی که در آن کدورتی مشاهده نشد، به کمک لوپ استریل بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شدند و پس از قرارگیری پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت، حداقل غلظت از کتین و کیتوزان که توانست ۹۹/۹٪ از باکتری‌های مورد نظر را بکشد به عنوان MBC در نظر گرفته شد (Chellaram et al., 2009).

نتایج به‌دست آمده در گروه‌ها با آزمون میانگین واریانس یکسویه، مقایسه میانگین دو گروه مستقل از آزمون تی (t-test) به کمک نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ در سطح ۰/۰۵ مورد آنالیز قرار گرفتند.

عبور داده‌شدند، تا زمان آزمایش نمونه‌ها در پلاستیک-های زیپ‌دار و دردمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند، پس از انجام ۴ مرحله حذف ترکیبات معدنی با استفاده از اسید کلریدریک ۲ نرمال، حذف ترکیبات-پروتئینی با هیدروکسید سدیم ۵ درصد، حذف ترکیبات رنگدانه‌ای با هیپوکلریت سدیم ۳ درصد و در نهایت حذف گروه‌های استیل از روی کتین به‌دست آمده کیتوزان حاصل شد (Natarajan et al., 2010).

تهیه باکتری

۵ سویه باکتریایی از جمله باکتری‌های *Bacillus coli* (PTCC 1769)، *Klebsiella pneumoniae* (PTCC 1857)، *Bacillus subtilis* (PTCC 1204)، *Entrococcus faecalis* (PTCC 1237) به‌صورت استاندارد از مرکز کلکسیون بانک میکروبی تهیه شدند.

بررسی خواص ضد میکروبی

سوسپانسیون از باکتری‌های استاندارد معادل نیم-مک‌فارلندی با غلظت نهایی (10^3 cell/ml) $\log \text{ FU/ml}$ ۷ از هر سویه به مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد روی محیط کشت مولر هینتون آگار از شرکت مرک کشور آلمان به‌صورت یکنواخت (سفره ای) کشت داده شد. محلول ۱ درصد کتین و کیتوزان در اسیداستیک ۱ درصد جهت افزودن به دیسک تهیه شد. مقادیر مشخصی از کتین و کیتوزان (۵۰۰ میکروگرم بر لیتر) به دیسک‌های بلانک استریل ۶ میلی متری تلقیح شد. از دیسک‌های آغشته به اسید-استیک ۱ درصد به عنوان شاهد منفی استفاده شد. پلیت‌های باکتریایی به مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. این مرحله ۳ بار تکرار شدند این آزمایشات سه بار تکرار شد و میانگین قطر-

نتایج

درصد استخراج کیتین و کیتوزان از پوسته میگوی اروپایی (*P. elegans*) به ترتیب ۱۸/۹ و ۱۷/۴ بود. کیتین و کیتوزان استخراجی به ترتیب پودرهای کرمی و شیری رنگ بودند. درصد محتوای کیتینی برای کیتین و کیتوزان < 90 بود (جدول ۱). آزمون تی (t-test) به

صورت مستقل اختلاف معنی داری بین حساسیت باکتری‌های گرم مثبت با گرم منفی در کیتین و کیتوزان نشان داد ($p < 0.05$). باکتری‌های گرم مثبت از نظر آماری از حساسیت بالاتری برخوردار بودند (جدول ۲).

جدول ۱: مشخصات کیتین و کیتوزان استخراجی از پوسته میگوی اروپایی (*P. elegans*)

درصد استخراجی	خصوصیت ظاهری	درصد محتوا	درصد رطوبت	pH	درصد خاکستر (نسبت به وزن خشک)
کیتین 18.9 ± 1.4	پودر کرمی رنگ	< 90	< 10	$7-7.5$	$1 <$
کیتوزان 17.4 ± 0.9	پودر شیری رنگ	< 90	< 15	$7.2-7.5$	$1 <$

جدول ۲: مقایسه حساسیت باکتری‌های گرم مثبت با گرم منفی در کیتین و کیتوزان استخراجی از پوسته میگوی اروپایی (*P. elegans*)

Std. Error Difference	Mean Difference	Sig. (2-tailed)	T	میانگین	مولفه آماری
۰/۳۹۸۲۷	۰/۹۴۳۳	۰/۰۴۰	۲/۳۶	۱۸/۹ ^a	کیتین
۰/۰۴۳۹۵	۰/۱۵۵۰۰	۰/۰۰۵	۳/۵۲۷	۱۷/۴ ^b	کیتوزان

حروف غیر مشترک نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد ($p < 0.05$).

نتایج جدول ۳ نشان دادند که بیشترین هاله عدم رشد باکتری (میلی متر) در کیتین و کیتوزان در *K. Pneumonia* به ترتیب 10.56 ± 0.08 و 15.16 ± 0.24

بود. کیتوزان نسبت کیتین از هاله عدم رشد بیشتری برخوردار بود.

جدول ۳: هاله عدم رشد باکتری (میلی متر) در کیتین و کیتوزان استخراجی از پوسته میگوی اروپایی (*P. elegans*)

<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>K. Pneumonia</i>
7.04 ± 0.12	13.91 ± 0.17	12.10 ± 0.09	9.84 ± 0.1	15.16 ± 0.24
-	10.14 ± 0.21	7.63 ± 0.35	12.75 ± 0.29	10.56 ± 0.08

(-) نشان دهنده عدم هاله رشد باکتری می باشد.

نتایج نشان دادند که کمترین MIC از کیتین به ترتیب بر روی *E. faecalis* و بیشترین MIC بر *K.*

Pneumonia و *B. subtilis* همچنین کمترین MBC از کیتین *E. faecalis* و بیشترین MBC بر *K.*

Pneumonia می باشد. محدوده کمترین غلظت MIC و
MBC برای کیتین به ترتیب بین ۵۰۰-۱۲۵ و ۱۰۰۰-۲۵۰

جدول ۴: MIC و MBC (μg/ml) از کیتین استخراج شده در پوسته میگوی اروپایی (*P. elegans*)

کیتین		باکتری
MBC	MIC	
-	-	<i>Escherichia coli</i>
۲۵۰	۱۲۵	<i>Entrococcus faecalis</i>
-	۵۰۰	<i>Bacillus subtilis</i>
۵۰۰	۲۵۰	<i>Bacillus cereus</i>
۱۰۰۰	۵۰۰	<i>Klebsiella Pneumonia</i>

بحث

پوسته سخت پوستان از ۳ عنصر اساسی کیتین، مواد معدنی و پروتئین ساخته شده است، که در آن کیتین به عنوان یک اسکلت عمل می کند. درحالیکه بخش های مواد معدنی که عمدتاً نمک های کربنات معدنی هستند، قدرت لازم برای پوسته را فراهم می آورند (Synowiecki and Shahidi, 2003). طبق تحقیقات انجام شده، تفاوت مشاهده شده در درصد کیتین و کیتوزان استخراج شده از پوسته میگو و خرچنگ به نوع گونه و اندازه (Synowiecki and Al-Khateeb, 2003)، زیستگاه و تفاوت های فصلی بستگی دارد (Felicity et al., 2007). خاکشور و پازوکی (۱۳۹۳) میانگین درصد کیتین استحصال از بخش های مختلف خرچنگ دریایی *P. segnis* ۱۶/۳ درصد گزارش دادند، که از میزان به دست آمده از این پژوهش کمتر است. هردانی و همکاران در سال ۱۳۹۷ کیتین و کیتوزان به دست استحصال از بخش های مختلف پوسته میگو *L. vannamei* را به ترتیب ۲۶/۳۰ و ۲۹/۳ درصد، همچنین در پوسته خرچنگ *P. pelagicus* را به ترتیب ۳۷/۸ و ۳۱/۲ درصد گزارش نمودند، که از

نتایج نشان دادند که کمترین MIC از کیتوزان به ترتیب بر روی *B. subtilis* و *K. Pneumonia* و بیشترین MIC بر *E. coli* و *E. faecalis* بود. همچنین کمترین MBC از کیتین *B. subtilis* و *K. Pneumonia* بیشترین MBC بر *E. coli*؛ *B. cereus* می باشد. محدوده کمترین غلظت MIC و MBC برای کیتوزان به ترتیب بین ۵۰۰-۲۵۰ و ۱۰۰۰-۵۰۰ میکروگرم بر لیتر بود (جدول ۵).

جدول ۵: MIC و MBC (μg/ml) از کیتوزان استخراج شده در پوسته میگوی اروپایی (*P. elegans*)

کیتوزان		باکتری
MBC	MIC	
۱۰۰۰	۵۰۰	<i>Escherichia coli</i>
-	۵۰۰	<i>Entrococcus faecalis</i>
۵۰۰	۲۵۰	<i>Bacillus subtilis</i>
۱۰۰۰	۵۰۰	<i>Bacillus cereus</i>
۵۰۰	۲۵۰	<i>Klebsiella Pneumonia</i>

میزان به دست آمده بیشتر است. زمان واکنش نیز اثر مثبتی بر روی درصد کیتین و کیتوزان استحصالی از پوسته دارد (Yen et al., 2009). به طور کلی ویژگی-های فیزیکی و شیمیایی کیتین استحصالی به درجه حرارت های استفاده شده حین استخراج کیتین و مدت زمان آن، غلظت مواد شیمیایی، همچنین، غلظت و اندازه ذرات پوسته خرد شده بستگی دارد (Beaulieu, 2005). موسوی نسب و همکاران (۱۳۹۳) درصد کیتین و کیتوزان به دست آمده از پوسته میگوی *Penaeus semisulcatus* را به ترتیب ۲۸/۳۶ و ۱۹/۴۳ درصد گزارش نمودند. Kamala و همکاران (۲۰۱۳) درصد کیتین و کیتوزان استحصالی از پوسته میگوی *P. stylifera* را به ترتیب ۳۲ و ۵۴/۳۱ گزارش کرده اند.

مکانیسم عمل کیتین و کیتوزان به عنوان یک ترکیب ضد میکروبی به خوبی شناخته نشده است. کیتوزان با داشتن طیف گسترده ای از فعالیت های ضد میکروبی، بازده مهاری متفاوتی در برابر باکتری های گرم مثبت و منفی نشان می دهد. فعالیت ضد باکتری، مرحله پیچیده-ای است که بین باکتری های گرم مثبت و گرم منفی، به علت مشخصات سطح سلولی، تفاوت دارد. گزارش شده است که کیتوزان عموماً اثر باکتری کشی قوی تری روی باکتری های گرم مثبت نسبت به گرم منفی دارد (Jeon et al., 2001). با این وجود مکانیسم قابل قبول برای این ویژگی برهم کنش بین بارهای مثبت سطح مولکولی کیتین و کیتوزان با بارهای منفی سطح غشای سلولی پاتوژن ها می باشد (Diaz-Rojas, 2006). بنابراین کیتوزان به دلیل داشتن بارهای مثبت بیشتر نسبت به کیتین در سطح مولکول خود خواص ضد-میکروبی بیشتری دارد. در این پژوهش کیتوزان نسبت به کیتین خواص ضد میکروبی بیشتری را از خود نشان

داد که با نتایج این مطالعه هم خوانی دارد (طاهری و همکاران، ۱۳۹۲؛ خاکشور و پازوکی ۱۳۹۵؛ 1998 Raafat et al., 2008; Chen et al.,). میزان حساسیت باکتری های گرم مثبت و گرم منفی نسبت به کیتین و-کیتوزان در مطالعات مختلف متفاوت می باشد. نتایج این پژوهش خواص ضد میکروبی در بین باکتری های گرم مثبت با گرم منفی از اختلاف معنی داری برخوردار بود. حساسیت کمتر باکتری های گرم منفی را می توان به دلیل حضور یک غشای محافظ در اطراف دیواره سلولی دانست که از دسترسی ترکیبات ضد میکروبی به ترکیبات و بخش های حساس داخلی تا حدودی محافظت می کند (Isamu et al., 2003). Rout (۲۰۰۱)، Masson (۲۰۰۸)، Alishahi (۲۰۱۱) فعالیت بیشتر کیتین و کیتوزان را روی باکتری های گرم مثبت گزارش کردند. یافته های این محققین با یافته های این پژوهش هم خوانی دارد.

باتوجه به پراکندگی میگوی *P. elegans* که در سطح وسیعی از نوار ساحلی آب های اقیانوسی و-دریایی وجود دارد، می تواند منبع مهمی برای تولید کیتین و کیتوزان در کشورهای در دسترس به حساب آید. کیتوزان نسبت به کیتین از خاصیت ضد میکروبی بیشتری برخوردار بود. ارزیابی اثرات ضد میکروبی کیتین و کیتوزان استخراج شده در پوسته میگو *P. elegans* نشان داد که باکتری های گرم مثبت با گرم-منفی از حساسیت متفاوتی نسبت به یکدیگر برخوردارند.

سپاسگزاری

از کمک های دوستان گرامی مرتضی فرشچی و علی خدادوست جهت پیشبرد اهداف علمی این تحقیق تشکرمی نمایم.

منابع

۱. بریشتین، آ.، ۱۳۷۹. اطلس بی مهرگان خزر، ترجمه لودملیلا، موسسه تحقیقات شیلات ایران. صفحات ۴۳۷-۷۳۴.
۲. بنایی، م.، شریفی نسب، ز.، محسنی، م.، نوری، ا.، ۱۳۹۷. تاثیر حفاظتی ویتامین C و کیتوزان بر پارامترهای بیوشیمیایی سلول های آبششی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در معرض پاراکوات. توسعه آبرزی پروری، ۱۲(۱)، ۲۳-۳۴.
۳. تقی پور کوه بنه، ش.، مشفق، ا.، ۱۳۹۴. مقایسه خصوصیات مرفومتریک و تولیدمثلی دو گونه میگو *Palaemon elegans* و *Palaemon adspersus* در سواحل حوضه جنوبی دریای خزر. محیط زیست جانوری، ۷(۴)، ۱۲۳-۱۲۸.
۴. تقی پور کوه بنه، ش.، رحیمی بشر، م.، ترابی جفرودی، ح.، فرشچی، م.، ۱۴۰۰. رابطه طولی-وزنی و الگوی رشد میگوی اروپایی (*Palaemon elegans*) در سواحل استان گیلان. محیط زیست جانوری، ۱۳(۲)، ۳۴۷-۳۵۶.
۵. خاکشور، م.ص.، پازوکی، ج.، ۱۳۹۳. استخراج ترکیبات کیتین کیتوزان موجود در اسکلت خارجی خرچنگ شناگر آبی (*Portunus segnis*) منطقه بندرعباس -خلیج فارس. محیط زیست جانوری، ۶(۱)، ۱۱-۱۸.
۶. خاکشور، م.ص.، پازوکی، ج.، ۱۳۹۵. بررسی و مقایسه خواص میکروبی کیتین و کیتوزان استخراج شده از بخش های مختلف اسکلت خارجی خرچنگ شناگر آبی (*Portunus segnis*) از منطقه بندرعباس. زیست شناسی دریا، ۸(۲۹)، ۱۹-۹.
۷. راهی، س.، و حیدری، ب.، و رسا، م.، ۱۳۹۶. اثرات ضد باکتریایی بخش های مختلف توتیای دریایی خلیج فارس. توسعه آبرزی پروری، ۱۱(۳)، ۲۹-۴۰.
۸. طاهری، ع.، سیفان، ا.، جلالینژاد، س.، ۱۳۹۲. اثر ضد میکروبی و ضد قارچی کیتوزان محلول در اسید و آب پوسته میگوی فید هندی (*Fenneropenaeus indicus*). مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا، ۳(۱)، ۴۹-۵۵.
۹. موسوی نسب، م.، موسوی نسب، س.س.، مصباحی، غ.، جمالیان، ج.، ۱۳۹۳. ارزیابی خصوصیات کیفی کیتوزان تولیدی از پوسته میگو و کیتوزان تجاری از خرچنگ. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۱۱(۴۵)، ۱۶۳-۱۷۴.
۱۰. هردانی، س.، ارچنگی، ب.، ذوالقرنین، ح.، زمانی، ا.، ۱۳۹۷. بهینه سازی استحصال کیتین و کیتوزان خالص از پوسته کیتینی گونه های *Litopenaeus* و *Portunus pelagicus* *vannamei*. محیط زیست جانوری، ۱۰(۲)، ۲۳۱-۲۳۸.
11. Alishahi, A., Mirvaghefi, A., Tehrani, M. R., Farahmand, H., Shojaosadati, S. A., Dorkoosh, F. A., Elsabee, M. Z., 2011. Enhancement and characterization of chitosan extraction from the wastes of shrimp packaging plants. Journal of

- aureus. International journal of food microbiology, 112(2), 96-101.
21. Guerao, G., Ribera, C., 1995. Growth and reproductive ecology of *Palaemon adspersus* (Decapoda, Palaemonidae) in the western Mediterranean. *Ophelia*, 43(3), 205-213.
 22. Holthuis, L. B., 1950. Subfamily Palaemoninae. The Palaemonidae collected by the Siboga and Snellius expeditions with remarks on other species. I. The Decapoda of the Siboga Expedition Part X. *Siboga Expeditie*, a, 39, 1-268.
 23. Isamu, Y., Socichiro, I., Masumi, S., Masataka, S., Akiyoshi, O. Junzo, T., 2003. The Chitosan prepared from crab tendon: the characterization and the mechanical properties. *Biomaterials*, 24(12), 2031-2036.
 24. Jeon YJ, Park PJ, Kim SK., 2001. Antimicrobial effect of chito oligosaccharides produced by bioreactor. *Carbohydr Polym*. 44: 71-76.
 25. Jung, B., Kim, C., Chio, K., Lee, Y. M. Kim, J., 1999. Preparation of amphibilic chitosan and their antimicrobial activities. *Journal of applied polymer science*, 72(13), 1713-1719.
 26. Kamala, K., Sivaperumal, P. Rajaram, R., 2013. Extraction and Characterization of Water-Soluble Chitosan from *Parapeneopsis stylifera* Shrimp Shell Waste and Its Antibacterial Activity. *International Journal of Scientific and Research Publications*. 3(4), 1-8.
 27. Liu, X. F., Guan, Y. L., Yang, D. Z. Yao, K. D., 2001. Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosan. *Journal of Applied Polymer Science*, 79(7), 1324-1335.
 28. Masson, M., Holappa, J., Hjalmarsson, M., Rúnarsson, Ö. V., Nevalainen, T. Järvinen, T. C., 2008. Antimicrobial activity of *Piperazine derivatives* of chitosan. *Carbohydrate polymers*, 74(3), 566-571.
 29. Nan, L., Xi, G. C., Hyun, J. P., Chen, G. L., Cheng, S. L., Xiang, H. M. Le, J. Y., 2006. Effect of MW and concentration of chitosan on antibacterial activity of *Polymers and the Environment*, 19(3), 776-783.
 12. Beaulieu, C., 2005. Chitin and Chitosan. *Marinard Biotech*, 1-7.
 13. Bolat, Y., Bilgin, Ş., Günlü, A., Izci, L., Koca, S. B., Çetinkaya, S., Koca, H. U., 2010. Chitin-chitosan yield of freshwater crab (*Potamon potamios*, Olivier 1804) shell. *Pakistan Veterinary Journal*, 30(4), 227-31.
 14. Chellaram, C., 2009. Bioactive Potential of Coral Associated Gastropod, *Trochus tentorium* of Gulf of Mannar, Southeastern India. *Journal of Medical Sciences*, 9(5), 240-244.
 15. Chen, C. S., Liau, W. Y., & Tsai, G. J. 1998. Antibacterial effects of N-sulfonated and N-sulfobenzoyl chitosan and application to oyster preservation. *Journal of Food Protection*, 61(9), 1124-1128.
 16. Choi, B. K., Kim, K. Y., Yoo, Y. J., Oh, S. J., Choi, J. H., Kim, C. Y., 2001. In vitro antimicrobial activity of a chito oligosaccharide mixture against *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Streptococcus mutans*. *International journal of antimicrobial agents*, 18(6), 553-557.
 17. Deshpande, M. V., 1986. Enzymatic degradation of Chitin and its biological applications. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 45(6), 273-281.
 18. Díaz-Rojas, E. I., Argüelles-Monal, W. M., Higuera-Ciapara, I., Hernández, J., Lizardi-Mendoza, J. Goycoolea, F. M., 2006. Determination of chitin and protein contents during the isolation of chitin from shrimp waste. *Macromolecular bioscience*, 6(5), 340-347.
 19. Felicity, B., Clifford, L., Michael, A. Oghenekome, O., 2007. Extraction and evaluation of chitosan from exoskeleton as a seed fungicide and plant growth enhancer American-Eurasian. *American-Eurasian. Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 2, 103-111.
 20. Fujimoto, T., Tsuchiya, Y., Terao, M., Nakamura, K., Yamamoto, M., 2006. Antibacterial effects of Chitosan solution® against *Legionella pneumophila*, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus*

and chitosan from crab shells. Carbohydrate Polymers. 36,15-21.

- Escherichia coli. Carbohydrate Polymer, 64(1), 60-65.
30. Natarajan, K., Sathish, R., Regupathi, T. Riyaz, A., 2010. Antibacterial activity of crude extracts of marine invertebrate Polyclinum madrasensis Sebastian. Indian Journal of Science and Technology, 3(3), 303-304.
31. Rabea, E. I., Badawy, M. E. T., Stevens, C. V., Smagghe, G., Steurbaut, W., 2003. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. Biomacromolecules, 4(6), 1457-1465.
32. Raafat, D., Von Bargen, K., Haas, A., & Sahl, H. G. 2008. Insights into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound. Applied and environmental microbiology, 74(12), 3764-3773.
33. Rout, S. K., 2003. Physicochemical, functional, and spectroscopic analysis of crawfish chitin and chitosan as affected by process modification (Doctoral dissertation, Dissertation).
34. Sasikala, S. L. Chitra, S., 2009. Antibacterial activity of prawn exoskeleton extract against marine and estuarine pathogenic bacteria. Journal of Cell and Tissue Research, 9(3), 1975-1979.
35. Schulte, E., 1975. The laboratory culture of the palaemonid prawn Leander squilla. Paper presented at the 10th European Symposium on Marine Biology.
36. Sugano, M., Yoshida, K., Hashimoto, M., Enomoto, K., Hirano, S., 1992. Hypocholesterolemic activity of partially hydrolyzed chitosans in rats. Advances in chitin and chitosan, 11(2), 472-8.
37. Synowiecki, J. Al-Khateeb, N.A., 2003. Production, properties, and some new applications of chitin and its derivatives. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 43, 145-171.
38. Tokoro, A., Takewaki, N., Suzuki, K. O., Mikami, T., Suzuki, S., Suzuki, M., 1988. Growth-inhibitory effect of hexa-N-acetylchitohexanase and chitohexanase against Meth-A solid tumor. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 36(2): 784-790.
39. Yen, M.T., Yang, T.J. Mau, J.L., 2009. Physicochemical characterization of chitin