



## کیتین و کیتوسان: ساختار، خصوصیات و کاربردها

حجت تویسرکانی<sup>۱\*</sup>، فاطمه صداقت<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

<sup>۲</sup> گروه زیست دریا، دانشکده علوم، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

چکیده	تاریخچه مقاله:
<p>کیتین و کیتوسان به عنوان فراوان‌ترین آمینو پلی‌ساکاریدها در طبیعت، دارای خصوصیتی از جمله سازگاری زیستی بالا، سمیت پایین، زیست تخریب‌پذیری و خواص ضد میکروبی قابل قبول هستند. این خصوصیات منحصر به فرد، موجب شد تا کیتین و کیتوسان توجه زیادی را نه تنها از نظر فراوانی در منابع طبیعی بلکه به دلیل پتانسیل بالا، جهت تهیه مواد کاربردی، به طرف خود معطوف کنند. پیشرفت‌های گسترده‌ای در بهبود خواص آنها به منظور استفاده در مهندسی بافت، ترمیم زخمها و سیستم‌های انتقال و رهایش دارو حاصل شده است. این مقاله تلاش می‌کند که یک چشم‌انداز کلی از خصوصیات و کاربردهای صنعتی و پزشکی این بیوپلیمرها را نشان دهد.</p>	<p>دریافت: ۹۲/۰۷/۰۱</p> <p>اصلاح: ۹۲/۰۹/۰۸</p> <p>پذیرش: ۹۲/۱۰/۲۰</p>
	<p>کلمات کلیدی:</p>
	<p>کیتین</p>
	<p>کیتوسان</p>
	<p>بیومتریال خصوصیات</p>

### مقدمه

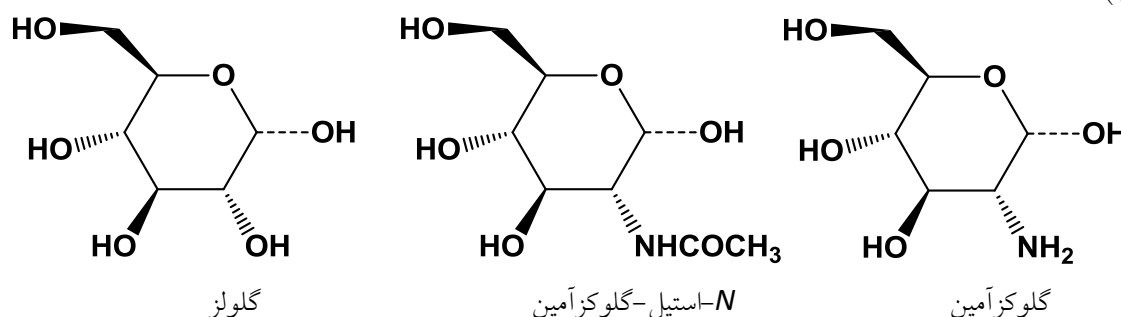
کیتین از فراوان‌ترین بیوپلیمرها بعد از سلولز می‌باشد. کیتین یک پلی‌ساکارید طبیعی است و به طور برجسته در پوسته سخت پوستانی مثل خرچنگ و میگو، کوتیکول حشرات و دیواره سلولی قارچ‌ها یافت می‌شود. تاریخچه کیتین و کیتوسان به قرن ۱۹ برمیگردد برای اولین بار در سال ۱۸۱۱ یک دانشمند فرانسوی به نام براکونوت (Braconnot) کیتین را از قارچ استخراج کرد. سپس روگت (Rouget) در سال ۱۸۵۹ کیتوسان را از فرآیند استیل زدایی بازی کیتین در حضور هیدروکسید پتاسیم به دست آورد و در نهایت در سال ۱۹۵۰ ساختار آن به طور کامل کشف شد (Khor, 2001). کیتین و کیتوسان به عنوان یک آمینو پلی‌ساکارید طبیعی که دارای ساختمان بی نظیر و خصوصیتی چند منظوره هستند به طور وسیعی در پزشکی و صنعت مورد استفاده قرار می‌گیرند. از جمله خصوصیات بارز آنها می‌توان به سازگاری زیستی بالا، زیست تخریب‌پذیری قابل قبول در کنار سمیت پایین، همچنین خواص آنتی‌باکتریال و ضد حساسیت آنها اشاره کرد (Jayakumar *et al.*, 2007; Rinaudo, 2008; Mourya and Inamdar, 2008; Kurita, 2006; Hirano, 1999; Kurita, 1998).

\* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: toiserkani@yahoo.com

## ساختار کیتین و کیتوسان

سلولز و کیتین هر دو پلی ساکاریدهایی هستند که نقش حفاظتی را به ترتیب برای گیاهان و جانوران ایفا میکنند به طوریکه گیاهان سلولز را در دیواره سلولی و حشرات و سخت پوستان کیتین را در پوسته خود تولید میکنند (Muzzarelli, 1986). ساختارهای سلولز و کیتین شباهت بسیار زیادی با یکدیگر دارند در سلولز گروههای هیدروکسی در موقعیت کربن شماره ۲ با گروههای استامید جایگزین شده و در مورد کیتوسان گروههای آمین جایگزین گروههای هیدروکسی در سلولز شده اند.

(شکل ۱)



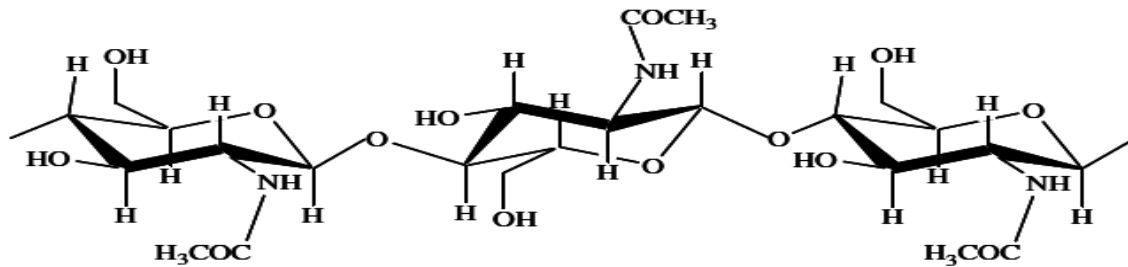
شکل ۱. ساختار گلولز (واحد مونومری از سلولز)، N-استیل-گلوکزآمین (واحد مونومری از کیتین) و گلوکزآمین (واحد مونومری از کیتوسان)

کیتین با فرمول شیمیایی  $(C_8H_{13}O_5N)_n$  و با نام علمی  $\{\beta\text{-}(1 \leftarrow 4)\text{-}2\text{-استامیدو-}2\text{-داکسی-D-گلوکوپیرانوز}\}_n$  و کیتوسان با فرمول شیمیایی  $(C_6H_{11}O_4N)_n$  و با نام علمی  $\{\beta\text{-}(1 \leftarrow 4)\text{-}2\text{-آمینو-}2\text{-داکسی-D-گلوکوپیرانوز}\}_n$  است. شکل ۲ ساختارهای شیمیایی کیتین و کیتوسان را نشان میدهد.

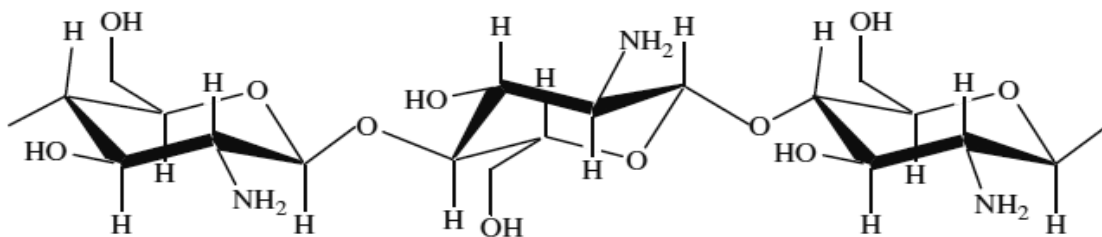
کیتوسان مشتقی از کیتین است. تعداد گروه های استیل موجود روی زنجیر پلیمر، تفاوت بین این دو پلیمر را مشخص می کند (شکل ۲). پلیمری که ۱۰۰ درصد گروههای آمین آن استیل دار شده باشد را کیتین و پلیمری بدون گروه های آمیدی (۱۰۰ درصد گروه آمین) را کیتوسان می نامند. به طور قراردادی وجود ۵۰ درصد گروههای آمیدی به عنوان مرز بین کیتین و کیتوسان در نظر گرفته می شود. یعنی پلیمر با درجه استیل زدایی (degree of deacetylation, DD) کمتر از ۵۰ درصد را کیتین و DD بیش از ۵۰ درصد را کیتوسان می نامند.

کیتین در حالت جامد دارای سه شکل متفاوت است که با آلفا ( $\alpha$ )، بتا ( $\beta$ ) و گاما ( $\gamma$ ) طبقه بندی می شود (Aranaz et al., 2009). درصد فراوانی  $\alpha$ -کیتین در طبیعت از دو حالت  $\beta$ - و  $\gamma$ -کیتین بیشتر است.  $\alpha$ -کیتین در دیواره سلولی قارچها و پوسته سخت پوستانی چون میگو و خرچنگ و  $\beta$ -کیتین از دیاتومه و بازوهای ماهی مرکب استخراج می شوند.  $\gamma$ -کیتین که درصد اندکی در طبیعت وجود دارد به صورت ترکیبی از  $\alpha$ - و  $\beta$ -کیتین شناخته شده است. جهت گیری متفاوت زنجیره های پلیمری باعث بروز چنین اختلافی در کیتینها شده است به طوریکه گروه های استیل با ایجاد پیوند هیدروژنی درون زنجیره ای و برون زنجیره ای بین گروه های استیل کربن شماره ۲ و گروه های هیدروکسی موجود در پلیمر، نقش مهمی در این شکل گیری ایفا می کنند. اگر جهت گیری تمام زنجیره های پلیمری در یک راستا باشند آن را به اصطلاح  $\alpha$ -کیتین می نامند. در این حالت زنجیره ها می توانند علاوه بر پیوندهای هیدروژنی درون زنجیره ای، پیوندهای هیدروژنی برون زنجیره ای نیز داشته باشند و باعث افزایش استحکام ساختار شوند. ولی در مورد  $\beta$ -کیتین جهت گیری زنجیره ها فقط

اجازه تشکیل پیوندهای هیدروژنی درون زنجیره‌ای می‌دهد. در مورد  $\gamma$ -کتین جهت‌گیری زنجیره‌ها به صورت تصادفی است (Khor, 2001; Pillai *et al.*, 2009) (شکل ۳).

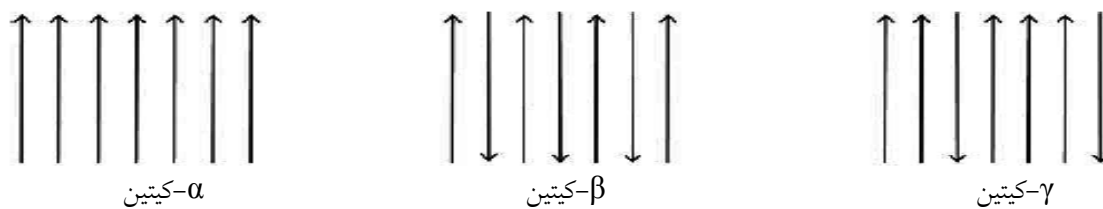


کتین



کتوسان

شکل ۲. ساختار بیوپلیمرهای کتین و کیتوسان



شکل ۳. سه حالت از نحوه جهت‌گیری کتین

### خصوصیات کتین و کیتوسان

بیشتر پلی‌ساکاریدهای موجود در طبیعت از جمله سلولز (cellulose)، دکسترین (dextran)، پکتین (pectin)، آلجینیک اسید (alginate)، آگار (agar)، آگاروز (agarose) و کاراجینان (carrageenan) به صورت خنثی و اسیدی می‌باشند درحالی‌که کتین و کیتوسان به صورت بازی در طبیعت موجود است. وجود همین خصوصیت منحصر به فرد است که آنها را قادر می‌سازد تا به صورت شیمیایی با چربیها، کلسترول، پروتئینها، DNA، RNA و یونهای فلزی پیوند تشکیل دهند. کتین به دلیل خاصیت چربی دوستی بالا در آب و بسیاری از حلالهای آلی نامحلول است و کیتوسان نیز در محلول اسیدهای رقیق در  $\text{PH} < 6$  قابل حل است.

## الف) خصوصیات شیمی و فیزیکی کیتین و کیتوسان

اصلی ترین پارامترهایی که تاثیر مستقیم بر خواص کیتین و کیتوسان دارند عبارتند از وزن مولکولی (molecular weight, Mw)، درجه استیل زدایی (degree of deacetylation, DD) و میزان بلورینگی (crystallinity). اما برای کاربردهای انسانی از جمله صنایع غذایی و پزشکی علاوه بر موارد بالا، درصد خلوص (محتوای خاکستر تولید شده)، میزان رطوبت، محتوای فلزات سنگین و میزان پروتئین آنها نیز تعیین می شود (Li et al., 1992; Baxter et al., 1992; Tharanathan and Kittur, 2003)

در جدول ۱ به طور خلاصه روشهایی برای تعیین خصوصیات کیتین و کیتوسان آورده شده است. باید به این نکته توجه داشت که کاربرد روشهای متفاوت باعث بروز نتایج متفاوتی می شود بنابراین مشخص کردن روش شناسایی از اهمیت زیادی برخوردار است. امروزه در بازار، معمولاً درجه استیل زدایی و وزن مولکولی کیتین و کیتوسان مشخص می شود.

جدول ۱. خصوصیات شیمی و فیزیکی کیتین و کیتوسان و روشهای شناسایی آنها

روشهای شناسایی	خصوصیت شیمی و فیزیکی
طیف سنجی مادون قرمز (IR) (Kassai, 2008; Brugnerotto et al., 2001b)	درجه استیل زدایی (DD)
طیف سنجی نوری (UV) (Wu and Zivanovic, 2008)	
طیف سنجی روزنانس مغناطیسی ( $^1\text{H NMR}$ ) و ( $^{13}\text{C NMR}$ )	
تیتراسیون رسانایی سنجی (Conductometric titration) (Raymond et al., 1993)	
تیتراسیون پتانسیل سنجی (Potentiometric titration) (Jiang et al., 2003)	
گرماسنجی پویش تفاضلی (Differential scanning calorimetry) (Guinesi and Cavalheiro, 2006)	وزن مولکولی (Mw)
سنجش گرانیروی (Viscosimetry) (Rinaudo et al., 1993)	
کروماتوگرافی ژل تراوایی (Gel Permeation Chromatography) (Brugnerotto et al., 2001a)	
پراکنش اشعه ایکس (X-ray Diffraction) (Yen et al., 2009)	میزان بلورینگی
وزن سنجی (Gravimetric analysis) (ASTM. F2103-01, 2001)	میزان رطوبت
وزن سنجی (Gravimetric analysis) (ASTM. F2103-01, 2001)	محتوای خاکستر تولید شده
روش بردفورد (Bradford method) (Bradford, 1976)	میزان پروتئین

## ب) خصوصیات بیولوژیکی کیتین و کیتوسان

کیتین و کیتوسان توجه زیادی را به خصوص در زمینه صنایع پزشکی و دارویی به خود جلب کرده اند از مهمترین خصوصیات که آنها را مناسب این کاربردها کرده است می توان به سازگاری زیستی بالا، زیست تخریب پذیری و غیرسمی

بودن آنها اشاره کرد. علاوه بر این موارد، خصوصیات بیولوژیکی چون چسبندگی زیستی، ضد سرطان، ضد میکروب، کاهش دهنده التهاب و درد، آنتی‌اکسیدان، منعقد کننده خون و کاهش دهنده کلسترول، آنها را از دیگر پلیمرهای زیستی متمایز کرده است (Koide, 1998; Kumar *et al.*, 2004). بیش از یک دهه است که از آنها به عنوان یک ترکیب بی‌خطر در فرمولاسیون داروها استفاده می‌شود همچنین به دلیل خاصیت چسبندگی که دارد می‌تواند به عنوان ماده موثر در اتصال بافتهای سخت و نرم به هم به کار رود (Felt *et al.*, 1998). فیلمهای تهیه شده از کیتوسان با درجه پایین از استیل زدایی برای بهبود زخم بسیار مناسب هستند. آنها به سطح بافت چسبیده و باعث افزایش کراتینوساید شده و به دنبال آن تولید بافت جلدی می‌کنند (Chatelet *et al.*, 2001). جدول ۲ به طور خلاصه رابطه بین ساختار و خواص کیتین و کیتوسان را نشان می‌دهد. درک صحیح از ساختار کیتین و کیتوسان می‌تواند کمک زیادی در کنترل خواص این گونه از بیوپلیمرها به ما بدهد. به عنوان مثال کنترل سرعت تخریب‌پذیری کیتین و کیتوسان بسته به کاربرد و نوع استفاده آنها از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است. سرعت تخریب پذیری آنها با کاهش درجه استیل زدایی (DD) و کاهش طول زنجیره پلیمر (Mw)، افزایش می‌یابد. برعکس، چسبندگی زیستی بیوپلیمرها با افزایش درجه استیل زدایی (DD) و افزایش طول زنجیره پلیمر (Mw)، زیاد می‌شود که دلیل آن را می‌توان افزایش برهمکنش گروه‌های آمین کیتوسان با سلول دانست.

جدول ۲. رابطه بین ساختار و خصوصیات کیتین و کیتوسان.

خصوصیت	مشخصات ساختاری	مرجع
حلالیت	↑ DD	(Cho <i>et al.</i> , 2000; Zhang and Neau, 2001)
بلورینگی	↓ DD	(Aranaz <i>et al.</i> , 2009)
گرانروی	↑ DD	(Kofuji <i>et al.</i> , 2005)
زیست تخریب پذیری	↓ DD, ↓ Mw	(Kurita <i>et al.</i> , 2000; Huang <i>et al.</i> , 2004)
زیست سازگاری	↑ DD	(Chatelet <i>et al.</i> , 2001; Schipper <i>et al.</i> , 1996)
چسبندگی	↑ DD, ↑ Mw	(He <i>et al.</i> , 1998; Roldo <i>et al.</i> , 2004)
ضد میکروبی	↑ DD, ↑ Mw	(Helander <i>et al.</i> , 2001; Liu <i>et al.</i> , 2001)
ضد درد و التهاب	↑ DD	(Okamoto <i>et al.</i> , 2002)
آنتی‌اکسیدان	↑ DD, ↓ Mw	(Park <i>et al.</i> , 2004a; Xing <i>et al.</i> , 2005)
انعقاد دهنده خون	↑ DD	(Park <i>et al.</i> , 2004b; Yang <i>et al.</i> , 2008)

↑ - به طور مستقیم با خصوصیت رابطه دارد.

↓ - به طور عکس با خصوصیت رابطه دارد.

### کاربردهای کیتین و کیتوسان

حلالیت پایین کیتین، مهمترین عامل محدود کننده مصرف این بیوپلیمر محسوب می‌شود. علیرغم این محدودیت، تا کنون کاربردهای زیادی از کیتین و مشتقاتش گزارش شده است (Rathke and Hodson, 1994). از اینرو کیتوسان به دلیل وجود

گروههای آمین آزاد در طول زنجیره پلیمر و توانایی تشکیل کیلیت و حلالیت خوب در اسیدهای ضعیفی چون اسید استیک، جایگاه مناسبی را در بین پلی ساکاریدها به خود اختصاص داده است. الیاف ساخته شده از کیتین و کیتوسان برای تهیه نخهای بخیه قابل جذب و همچنین تهیه پارچه هایی جهت بهبود زخم بسیار موثر هستند (Hudson and Smith, 1998). ادعا شده است که پارچه های تهیه شده از این الیاف می توانند برای تصفیه فاضلابها از یونهای فلزات سنگین مورد استفاده قرار گیرند (Ravi Kumar *et al.*, 1998). کیتین و کیتوسان به دلیل خواص شیمیایی و فیزیکی بسیار مناسب و همچنین خواص زیستی منحصر به فرد در صنعت و پزشکی جایگاه بسیار خوبی نسبت به دیگر پلی ساکاریدها پیدا کرده اند که در ادامه به بعضی از موارد استفاده آنها اشاره می شود.

### کاربردهای صنعتی

#### تصفیه فاضلاب و مهندسی آب

کیتوسان به دلیل ماهیت پلی کاتیونی، می تواند به عنوان یک عامل لخته کننده عمل کند و همچنین می تواند به عنوان یک عامل کیلیت کننده، یونهای فلزات سنگین را به دام بیندازد. ولتروسکی و همکارانش توانستند با استفاده از مشتقات کیتوسان در یک محیط اسیدی یونهای فلزی را از فاضلاب خارج کنند (Weltroski *et al.*, 1996). همچنین در سال ۲۰۰۸ گزارش کاملی از استفاده از کیتوسان برای حذف رنگ از محلولهای آبی منتشر شده است (Crini and Badot, 2008). کیتوسان می تواند به طور کامل با رزینها ترکیب شده و برای دام انداختن فلزات سنگین از آب، به کار رود. کیتین نیز می تواند برای حذف مواد رادیواکتیو در فاضلابهای حاوی یونهای اورانیوم (Schleuter *et al.*, 2013) و همچنین آبهای دارای استات جیوه مورد استفاده قرار گیرد (Jeon and Holl, 2003). مخلوطی از کیتین و کیتوسان برای جذب آرسنیک از آبهای آشامیدنی به کار رفته است (Elson *et al.*, 1980). حتی نسل جدیدی از غشاهای کیتین و کیتوسان ساخته شده اند که کاربرد زیادی در دستگهای دیالیز، همودیالیز، اسمز، اسمز معکوس دارند و برای خالص کردن آب استفاده می شوند.

#### صنایع کاغذ سازی و بسته بندی

زیست تخریب پذیری و سازگاری بالای آن با محیط زیست باعث شده است که از کیتین و کیتوسان در صنایع بسته بندی و همچنین کاغذهای قابل بازیافت استفاده شود. کیتوسان به دلیل شباهت زیاد ساختاری با سلولز می تواند به راحتی در کارخانه های کاغذسازی استفاده شود. کاغذهای تولیدی از کیتوسان دارای سطح صاف و مقاومت بالا در برابر رطوبت هستند که بسیار برای چاپ و نقاشی مناسب می باشند. همچنین به دلیل پیوندهای هیدروژنی بین زنجیرهای پلیمر، کاغذ قابل انعطاف و محکم بوده و در مقابل پارگی مقاومت می کند. علاوه بر این، کیتوسان به دلیل خاصیت ضد میکروبی، در صنایع بسته بندی مواد غذایی استفاده می شود (Khwaldia *et al.*, 2010).

#### صنایع نساجی

الیاف‌های طبیعی چون سلولز و پروتئین، نسبت به الیاف‌های ساخته دست بشر، در برابر باکتری‌ها آسیب پذیرتر هستند. از اینرو استفاده از عوامل ضد باکتری برای جلوگیری یا به تاخیر انداختن رشد باکتری، بسیار ضروری و به عنوان یک اصل استاندارد در تهیه منسوجات، از اهمیت بالایی برخوردار است. با این حال، نگرانی عمومی از ساختار شیمیایی و سمی این عوامل ضد باکتری و تأثیری که بر محیط زیست و موجودات زنده دارند و نیز کارایی و دوام پایین، کاربردشان را محدود کرده است (Ye et al., 2005). در نتیجه کیتوسان به عنوان یک بیوپلیمر طبیعی غیرسمی، زیست تخریب پذیر و سازگار با محیط زیست گزینه مناسبی برای استفاده در صنایع نساجی است و علاوه بر این، خاصیت ضد باکتری این نمونه از الیافها موجب شده که امروزه از آنها در لباسهای ورزشی، البسه خانم‌ها، کودکان و لباسهای ظریف، زیبا، ضد بو و ضدحساسیت استفاده شود (Kenawy et al., 2007).

#### مواد آرایشی و بهداشتی

معمولاً اسیدهای آلی به عنوان یک حلال مناسب در مواد آرایشی و بهداشتی به کار می‌روند. یک پلی آمینوساکارید مثل کیتوسان می‌تواند به راحتی در محیط‌های خنثی و اسیدی به صورت ژل درآید. ولی برخلاف اکثر هیدروژل‌هایی که خاصیت آنیونی دارند؛ کیتوسان خاصیت کاتیونی دارد. همین ویژگی سبب می‌شود که به عنوان یک محافظ پوست و مو به کار رود. کیتوسان با بسیاری از ترکیبات مورد استفاده در مواد آرایشی، سازگار است و بسیاری از اشعه‌های فرا بنفش را جذب و یا اثر آنها را کاهش می‌دهد (Dutta et al., 2004).

کیتوسان و مو از نظر بار الکتریکی مکمل یکدیگر هستند، به طوریکه کیتوسان دارای بار مثبت و مو دارای بار منفی است و یک محلول شفاف کیتوسان به صورت یک پوشش انعطاف‌پذیر روی پوست و مو قرار گرفته و باعث افزایش نرمی و لطافت آن می‌شود. کیتین و کیتوسان هر دو در شامپوها، رنگ موها، امولسیونها، افشانه‌ها و تقویت کننده‌های مو استفاده می‌شوند (Dutta et al., 2004).

دو ویژگی مهم کیتین، کیتوسان و مشتقات آنها باعث شده تا به عنوان یک کاندیدای خوب برای محافظت از پوست به شمار آیند. الف) از نظر بار الکتریکی مثبت هستند ب) وزن مولکولی آنها عموماً بالاست و نمی‌توانند به داخل پوست نفوذ کنند. بنابراین از آنها به عنوان یک مرطوب کننده استفاده می‌شود. آنها همچنین در لاک ناخن، کرم‌ها، سایه چشم و غیره مورد استفاده قرار می‌گیرند (Dutta et al., 2004).

هر دو کیتین و کیتوسان باعث خنکی و طراوت هوای دم شده و از رشد باکتریها و فساد دندانها جلوگیری می‌کنند و همین خاصیت موجب شده است که در خمیر دندانها، دهان شویها و آدامسها به کار روند. کیتوسان به عنوان یک ماده پر کننده دندان به کار می‌رود که می‌تواند قارچهای روی سطح دندان را از بین ببرد (Sapelli et al., 1986).

کیتوسان دارای تمام مشخصاتی است که یک لنز تماسی ایده‌آل باید داشته باشد از قبیل پایداری مکانیکی، شفافیت بالا، نفوذپذیری در مقابل هوا به خصوص اکسیژن، مرطوب بودن، زیست سازگار بودن، ضد میکروب بودن. از اینرو کاربرد وسیعی در چشم پزشکی برای تهیه لنزهای تماسی دارد (Jing et al., 1996).

#### صنایع غذایی

کیتوسان به عنوان یک افزودنی غذایی از سال های ۱۹۹۵ و ۱۹۸۳ به ترتیب در کشورهای مثل کره و ژاپن مصرف می شود (Weiner, 1992). افزایش تقاضای مصرف کنندگان برای غذاهایی با کیفیت بالا و از نظر بیولوژیکی سالم به همراه فراوانی نسبی آن باعث شده است که محققین و مراکز صنعتی زیادی توجه خود را روی این بیوپلیمر متمرکز کنند. کیتوسان بیشتر به عنوان یک افزودنی غذایی و همچنین به عنوان یکی از اجزاء سازنده مواد بسته بندی، نه تنها در جلوگیری از رشد میکروارگانیسمها در غذا بلکه در بهبود کیفیت آن نیز موثر است.

به دلیل ویژگیهایی چون خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی و نیز جلوگیری از تغییر طعم و مزه و افزایش ماندگاری، از کیتوسان به عنوان یک افزودنی در فرآورده های گوشتی و لبنی استفاده می شود. گزارشها نشان داده است که افزودن ۱ درصد کیتوسان به گوشت می تواند تا ۷۰ درصد از اکسیداسیون چربیها را در دمای ۴ درجه سانتیگراد کاهش دهد. همچنین کیتوسان می تواند مانع از یخ زدگی بیش از حد فرآورده های گوشتی شود (Kanatt et al., 2008; Sagoo et al., 2002).

کیتین و کیتوسان می توانند به عنوان افزودنی غذایی جهت بهبود بافت آنها در ماکارونی، نان، و کلوچه ها استفاده شوند. این اثرات به دلیل خواص ضد میکروبی و توانایی آنها در جهت کنترل پس روی (retrogradation) نشاسته می باشد. کریستال های کیتین تاثیر مثبتی بر افزایش حجم قرص نانهای سفید و نانهای غنی از پروتئین دارند (Knorr, 1982). کیتوسان به دلیل بار جزئی مثبت می تواند در جداسازی ذرات کلوئیدی از آب میوه ها جهت شفاف سازی، مورد استفاده قرار گیرد (Chatterjee et al., 2004). همچنین از آن برای کنترل اسیدیت آب میوه ها نیز استفاده می شود (Imeri and Knorr, 1998).

در مقایسه با محلول، فیلم های تولید شده از کیتوسان بی خطرند و به طور وسیعی برای بسته بندی غذاها استفاده می شوند. این بسته بندیها علاوه بر اینکه دارای خاصیت ضد میکروبی هستند از ویژگی مکانیکی خوبی نیز برخوردار می باشند (Moller et al., 2004). همچنین به جای استفاده از مواد نفتی مثل پلی اتیلن و پلی پروپیلن که غیر خوراکی و از طرفی غیر قابل تجزیه زیستی می باشند، کیتوسان می تواند بهترین گزینه در این خصوص باشد.

## کشاورزی

افزایش تقاضای مصرف کنندگان برای استفاده از محصولات تازه و عاری از ترکیبات شیمیایی (محصولات ارگانیک) و همچنین تمایل عمومی برای پیدا کردن یک روش جایگزین و کم هزینه جهت نگهداری محصولات کشاورزی و نیز کاهش عوامل بیماریزا در مدت کاشت و برداشت باعث شده است که از ترکیبات طبیعی ضد میکروبی استفاده شود. از اینرو کیتوسان به دلیل خاصیت ضد میکروبی که در مقابل گستره وسیعی از باکتریها، ویروسها و قارچها دارد؛ قادر است بافت گیاه را در مقابل عوامل بیماریزا محافظت کند (Arriola et al., 2013).

تحقیقی در دانشگاه واشنگتن نشان داده است که کیتوسان به عنوان پوششی برای دانه های گندم، سبب افزایش بازده محصول می شود و البته از نتیجه این تحقیق تا کنون برای دیگر محصولات نیز استفاده شده است (Hadwiger et al., 1984). همچنین می توان از کیتوسان به عنوان یک عامل آزادسازی کنترل شده برای ترکیباتی چون آفت کشها، علف کشها و ترکیبات مغذی برای رشد گیاه مثل مس، آهن، منگنز و غیره استفاده کرد (Struszezyk et al., 1989).



خاصیت ضد میکروبی محلول کیتوسان را می‌توان در جهت ایجاد یک پوشش نازک روی خوراکی‌هایی نظیر میوه و سبزیجات که به صورت یک فیلم محافظ ضدباکتری و ضدقارچ مانع از فساد محصولات کشاورزی می‌شود؛ به کار برد همچنین از آنجایی که کیتوسان خوراکی است می‌تواند جایگزین مناسبی برای پوشش‌های متداول که از منابع نفتی به دست می‌آیند؛ باشد (Rabea et al., 2003).

### کروماتوگرافی (Chromatography)

کیتین و کیتوسان کاربرد وسیعی در جداسازی ترکیبات به روش کروماتوگرافی دارند (Ottøy et al., 1996). وجود گروه‌های آمین آزاد و همچنین گروه‌های هیدروکسی نوع اول و دوم در کیتوسان باعث شده است که به عنوان یک ترکیب مفید برای جداسازی استفاده شود. از کیتوسان در کروماتوگرافی لایه نازک برای جداسازی اسیدهای نوکلئوتیک استفاده شده است (Lepri et al., 1977). همچنین گزارشی از ری و همکارانش نشان می‌دهد که از کیتین و کیتوسان به عنوان یک ماده جاذب در فاز ساکن برای جداسازی فنل‌ها و کلروفنل‌ها در کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) استفاده شده است (Rhee et al., 1998).

### کاربردهای بیوپزشکی

#### مهندسی بافت (Tissue engineering)

مهندسی بافت یک از جذاب‌ترین موضوعات حال حاضر محققین در سراسر دنیا به شمار می‌آید. که شامل توسعه و تغییر در زمینه رشد آزمایشگاهی سلول‌ها، بافتها و اندامها، به منظور جایگزینی، ترمیم و افزایش عملکرد قسمت آسیب دیده بدن است. به طوریکه کاربرد زیادی در ترمیم پوست، تاندون، استخوان، رگهای خونی و غیره دارد. اولین لازمه آن طراحی یک داربست سه بعدی است که سلولها بتوانند برای رشد در داخل آن لانه‌گزینی کنند. داربست باید دارای چند ویژگی مهم باشد که عبارتند از: (۱) باید دارای خلل و فرج فراوان با اندازه‌های مناسب باشد تا سلولها در آن لنگر بیندازند (۲) سطح خارجی وسیعی داشته باشد (۳) سرعت تخریب پذیری داربست باید با سرعت رشد بافت حاصل متناسب باشد (۴) خاصیت مکانیکی مناسبی داشته باشد که در طول زمان رشد بافت، ساختار از هم نپاشد (۵) برای سلول غیرسمی و دارای سازگاری زیستی بالایی با آن باشد.

اخیراً کیتوسان و مشتقات آن به عنوان یک کاندیدای مناسب در تهیه داربست مطرح شده‌اند. زیرا آنها غیرسمی، زیست‌سازگار و زیست تخریب پذیر مناسب و همچنین دارای طبیعت کاتیونی هستند و می‌توانند به عنوان داربستهای موقتی جهت اصلاح و تحریک رشد بافت جدید به کار روند (Martino et al., 2005). کیتوسان به طور وسیعی در مهندسی بافت استخوانی به کار می‌رود (Seol et al., 2004). گزارشی در مورد استفاده از کامپوزیتهای کیتوسان-کلسیم فسفات به منظور استحکام بیشتر داربست منتشر شده است (Lian et al., 2009). همچنین کیتوسان در بهبود و بازسازی غضروف (Yamane et al., 2005)، سلولهای عصبی (Freier et al., 2005) و بافت کبد (Wang et al., 2003) نقش مهمی را ایفا می‌کند.

### بهبود زخم و سوختگی (Burn and wound healing)

یکی از چالش‌های اصلی درمان و بهبود زخم‌ها، مقاومت میکروارگانیسم‌ها در برابر آنتی بیوتیک می باشد که باعث می شود بهبود زخم با تاخیر روبه رو شود. اخیراً تحقیقات زیادی برای گسترش ترکیبات ضد میکروبی در درمان زخم‌ها به منظور کاهش مقاومت ضد باکتری میکروارگانیسم‌ها انجام شده است. کیتین و کیتوسان هر دو یک تاثیر تسریع کننده بر بهبود زخم‌ها دارند (Mori *et al.*, 1997; Wongpanit *et al.*, 2005). اخیراً گزارشی در مورد کامپوزیتی از کیتین و نانوذرات نقره برای ترمیم زخم‌ها منتشر شده است که نشان می دهد این کامپوزیت خاصیت ضدباکتری بالا و همچنین سازگاری زیادی با پوست دارد (Madhumathi *et al.*, 2010).

کیتوسان همچنین به عنوان یک کاندیدای امیدبخش برای درمان سوختگی نیز به شمار می آید. کیتوسان می تواند به صورت پوششی بادوام، جاذب آب و زیست سازگار، مستقیماً برای درمان سوختگی استفاده شود. یکی از مزیت های این نوع پوشش، نفوذپذیری بالای آن نسبت به اکسیژن است که بهبود سوختگی را تسریع می کند. علاوه بر موارد فوق، این گونه از پوششها قادرند آب را جذب کرده و به طور طبیعی در اثر آنزیمهای بدن تجزیه شوند و نیازی به برداشت پوشش، بعد از بهبود سوختگی نیست (Dai *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2012).

### رها سازی دارو (Drug delivery)

کیتین، کیتوسان و مشتقات آنها آینده روشنی به عنوان یک عامل کمکی در انتقال و رها سازی داروها دارند. حلالیت کیتوسان در اسیدهای ضعیف، به دلیل وجود گروه‌های آمین نوع اول، بهترین توجیه برای محبوبیت آن نسبت به کیتین می باشد. علاوه بر این سازگاری زیستی قابل قبول، زیست تخریب پذیری آن به واسطه تعدادی از آنزیمها و تشکیل ژل در PH های پایین، آنرا به یک بیوپلیمر بی نظیر بدل کرده است (Nordtveit *et al.*, 1994). همچنین کیتوسان دارای فعالیت ضد اسیدی است که مانع از کاهش اثر داروها در معده می شود (Miyazaki *et al.*, 1981). سیستم هایی که بر پایه پلیمر کیتوسان بنا شده اند در انتقال و رها سازی پروتئینها/پپتیدها (Grenha *et al.*, 2005)، فاکتورهای رشد (Elcin *et al.*, 1996)، داروهای ضد درد و التهاب (Aggarwal *et al.*, 2001)، داروهای ضدسرطان (Wei *et al.*, 2010)، آنتی بیوتیکها (Kavaz *et al.*, 2010) و همچنین در درمان نارسایهای ژنی (Mansouri *et al.*, 1994) مورد استفاده قرار می گیرند.

### نتیجه گیری

کیتین و کیتوسان، به عنوان آمینو پلی ساکاریدهای طبیعی، به دلیل داشتن ساختار بی نظیر، خصوصیات چند بعدی و عملکرد بالا، توجه زیادی را در صنایع به ویژه در پزشکی و داروسازی به خود معطوف کرده اند. علاوه، اصلاح شیمیایی این پلیمرها، بهبود حلالیت آنها در محیطهای آبی یا حلالهای آلی را در پی داشته که این امر موجب افزایش فعالیتهای بیولوژیکی و نیز افزایش کاربرد آنها در پزشکی شده است. این مقاله تلاش دارد که آگاهی مخاطب را در مورد ساختار، خصوصیات و کاربردهای مختلف کیتین و کیتوسان افزایش دهد.

## منابع

- Aggarwal, A., Kaur, S., Tiwary, A.K., Gupta, S. 2001. Chitosan microspheres prepared by an aqueous process: release of indomethacin. *Journal of Microencapsulation*. 18(6): 819–823.
- Aranaz, I., Mengibar, M., Harris, R., Paños, I., Miralles, B., Acosta, N., Galed, G., Heras, Á. 2009. Functional characterization of chitin and chitosan. *Current Chemical Biology*. 3(2): 203-230.
- Arriola, O.C., Rocha, M.O.C., Hernandez, A.B., Brauer, J.M.E., Jatomea, M.P. 2013. Controlled release matrices and micro/nanoparticles of chitosan with antimicrobial potential: development of new strategies for microbial control in agriculture. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 93(7): 1525–1536.
- ASTM. F2103-01. 2001. Standard guide for characterization and testing of chitosan salts as starting materials intended for use in biomedical and tissue-engineered medical product applications.
- Baxter, A., Dillon, M., Taylor K.D., Roberts, G.A. 1992. Improved method for i.r. determination of the degree of *N*-acetylation of chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*. 14(3):166-169.
- Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of proteindye binding. *Analytical Biochemistry*. 72(1-2): 248-254.
- Brugnerotto, J., Desbrieres, J., Roberts, G., Rinaudo, M. 2001a. Characterization of chitosan by steric exclusion chromatography. *Polymer*. 42(25): 9921-9927.
- Brugnerotto, J., Lizardi, J., Goycoolea, F.M., Arguelles-Monal, W., Desbrieres, J., Rinaudo, M. 2001b. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polymer*. 42(8): 3569-3580.
- Chatelet, C., Damour, O., Domard, A. 2001. Influence of the degree of acetylation on some biological properties of chitosan films. *Biomaterials*. 22(3): 261–268.
- Chatterjee, S., Chatterjee, S., Chatterjee, B.P., Guha, A.K. 2004. Clarification of fruit juice with chitosan. *Process Biochemistry*. 39(12): 2229-2232.
- Cho, Y.W., Jang, J., Park, C.R., Ko, S.W. 2000. Preparation and solubility in acid and water of partially deacetylated chitins. *Biomacromolecules*. 1(2): 609-614.
- Crini, G., Badot, P.M. 2008. Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies: A review of recent literature. *Progress in Polymer Science*. 33(4): 399-447.
- Duarte, M.L., Ferreira, M.C., Marvao, M.R., Rocha, J. 2001. Determination of the degree of acetylation of chitin materials by <sup>13</sup>C CP/MAS NMR spectroscopy. *International Journal of Biological Macromolecules*. 28(5): 359-363.
- Dai, T., Tanaka, M., Huang, Y.Y., Hamblin, M.R. 2011. Chitosan preparations for wounds and burns: antimicrobial and wound-healing effects. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 9(7): 857–879.
- Dutta, P.K., Dutta, J., Tripathi, V.S. 2004. Chitin and chitosan: Chemistry, Properties and applications. *Journal of Scientific & Industrial Research*. 63(1): 20-31.
- Elcin, Y.M., Dixit, V., Gitnick, G. 1996. Controlled release of endothelial cell growth factor from chitosan-albumin microspheres for localized angiogenesis: in vitro and in vivo studies. *Artificial Cells, Blood Substitutes, and Biotechnology*. 24(3): 257-271.
- Elson, C.M., Davies, D.H., Hayes, E.R. 1980. Removal of arsenic from contaminated drinking water by a chitosan/chitin mixture. *Water Research*. 14(9): 1307-1311.
- Felt, O., Buri, P., Gurny, R. 1998. Chitosan: a unique polysaccharide for drug delivery. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 24(11): 979-993.

- Freier, T., Montenegro, R., Koh H.S., Shoichet, M.S. 2005. Chitin-based tubes for tissue engineering in the nervous system. *Biomaterials*. 26(22): 4624-4632.
- Grenha, A., Seijo, B., Remunan-Lopez, C. 2005. Microencapsulated chitosan nanoparticles for lung protein delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 25(4-5): 427-437.
- Guinesi, L., Cavalheiro, E. 2006. The use of DSC curves to determine the acetylation degree of chitin/chitosan samples. *Thermochimica Acta*. 444(2): 128-133.
- Hadwiger, L.A., Fristensky, B., Riggleman, R.C. 1984. Chitin, Chitosan and Related Enzymes. Zikakis JP (Ed.). Academic Press. New York. p. 291.
- He, P., Davis, S.S., Illum, L. 1998. In vitro evaluation of the mucoadhesive properties of chitosan microspheres. *International Journal of Pharmaceutics*. 166(1): 75-88.
- Helander, I.M., Nurmiaho-Lassila, E.L., Ahvenainen, R., Rhoades, J., Roller, S. 2001. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of gram-negative bacteria. *International Journal of Food Microbiology*. 71(2-3): 235-244.
- Hirano, S. 1999. Chitin and chitosan as novel biotechnological materials. *Polymer International*. 48(8): 732-734.
- Huang, M., Khor, E., Lim, L.Y. 2004. Uptake and cytotoxicity of chitosan molecules and nanoparticles: effects of molecular weight and degree of deacetylation. *Pharmaceutical Research*. 21(2): 344-353.
- Hudson, S.M., Smith, C. 1998. Polysaccharide: chitin and chitosan: chemistry and technology of their use as structural materials, *Biopolymers from renewable resources*, edited by Kaplan, D.L., Springer-Verlag, New York pp.96-118.
- Imeri, A.G., Knorr, D. 1988. Effect of chitosan on yield and compositional data of carrot and apple juice. *Journal Food Science*. 53(6): 1707-1709.
- Jayakumar, R., New, N., Tokura, S., Tamura, H. 2007. Sulfated chitin and chitosan as novel biomaterials. *International Journal of Biological Macromolecules*. 40(3): 175-181.
- Jeon, C., Holl, W.H. 2003. Chemical modification of chitosan and equilibrium study for mercury ion removal. *Water Research*. 37(19): 4770-4780.
- Jiang, X., Chen, L., Zhong, W. 2003. A new linear potentiometric titration method for the determination of deacetylation degree of chitosan. *Carbohydrate Polymers*. 54(4): 457-463.
- Jing, H., Su, W., Caracci, S., Bunning, T.G., Cooper, T., Adams, W. 1996. Optical waveguiding and morphology of chitosan thin film. *Journal of Applied Polymer Science*. 61(7): 1163-1171.
- Kanatt, S.R., Chander, R., Sharma, A. 2008. Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat and meat products. *Food Chemistry*. 107(2): 845-852.
- Kassai, M. 2008. A review of several reported procedures to determine the degree of *N*-acetylation for chitin and chitosan using infrared spectroscopy. *Carbohydrate Polymers*. 71(4): 497-508.
- Kavaz, D., Odabas, S., Güven, E., Demirbilek, M., Denkbaz, E. 2010. Bleomycin loaded magnetic chitosan nanoparticles as multifunctional nanocarriers. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*. 25(3): 305-318.
- Kenawy, E.R., Worley, S.D., Broughton, R. 2007. The chemistry and applications of antimicrobial polymers: a state-of-the-art review. *Biomacromolecules*. 8 (7): 1359-1384.
- Khwaldia, K., Arab-Tehrany, E., Desobry, S. 2010. Biopolymer coatings on paper packaging materials, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 9(1): 82-91.
- Khor, E. 2001. Chitin: fulfilling a biomaterials promise. Amsterdam: Elsevier Science. P. 10.
- Knorr, D. 1982. Functional properties of chitin and chitosan. *Journal Food Science*. 47(2): 593-595.
- Kofuji, K., Qian, C.J., Nishimura, M., Sugiyama, I., Murata, Y., Kawashima, S. 2005. Relationship between physicochemical characteristics and functional properties of chitosan. *European Polymer Journal*. 41(11): 2784-2791.

- Koide, S.S. 1998. Chitin-chitosan: Properties, benefits and risks. *Nutrition Research*. 18(6): 1091-1101.
- Kumar, M.N.V.R., Muzarelli, R.A.A., Muzarelli, C., Sashiwa, H., Domb, A.J. 2004. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. *Chemical Reviews*. 104(12): 6017-6084.
- Kurita, K. 2006. Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans. *Marine Biotechnology*. 8(3): 203-26.
- Kurita, K., Kaji, Y., Mori, T., Nishiyama, Y. 2000. Enzymatic degradation of [beta]-chitin: susceptibility and the influence of deacetylation. *Carbohydrate Polymers*. 42(1): 19-21.
- Kurita, K. 1998. Chemistry and application of chitin and chitosan. *Polymer Degradation and Stability*. 59(1-3): 117-120.
- Lepri, L., Desideri, P.G., Muzzarelli, R.A.A. 1977. Chromatographic behaviour of nucleic acid constituents and of phenols on chitosan thin layers. *Journal of Chromatography A*. 139(2): 337-342.
- Li, Q.D., Dunn, E.T., Grandmaison, E.W., Goosen, M.F.A. 1992. Applications and properties of chitosan. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*. 7(4): 370-397.
- Lian, Q., Li, D., Jin, Z., Wang, J., Li, A., Wang, Z., Jin, Z. 2009. Fabrication and in vitro evaluation of calcium phosphate combined with chitosan fibers for scaffold structures. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*. 24(1 Suppl): 113-124.
- Liu, X.F., Guan, Y.L., Yang, D.Z., Li, Z., Yao, K.D. 2001. Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosan. *Journal of Applied Polymer Science*. 79(7): 1324-1335.
- Madhumathi, K., Sudheesh Kumar, P.T., Abilash, S., Sreeja, V., Tamura, H., Manzoor, K., et al. 2010. Development of novel chitin/nanosilver composite scaffolds for wound dressing applications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 21(2): 807-813.
- Mansouri, S., Lavigne, P., Corsi, K., Benderdour, M., Beaumont, E., Fernandes, J.C. 2004. Chitosan-DNA nanoparticles as non-viral vectors in gene therapy: strategies to improve transfection efficacy. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 57(1): 1-8.
- Martino, A.D., Sittinger, M., Risbud, M.V. 2005. Chitosan: A versatile biopolymer for orthopedic tissue-engineering. *Biomaterials*. 26(30): 5983-5990.
- Miyazaki, S., Ishii, K., Nadai, T. 1981. The use of chitin and chitosan as drug carriers. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*. 29(10): 3067-3069.
- Moller, H., Grelier, S., Pardon, P., Coma, V. 2004. Antimicrobial and physicochemical properties of chitosan-HPMC-based films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(21): 6585-6591.
- Mori, T., Okumura, M., Matsuura, M., Ueno, K., Tokura, S., Okumoto, Y., et al. 1997. Effects of chitin and its derivatives on the proliferation and cytokine production of fibroblasts *in vitro*. *Biomaterials*. 18(13): 947-951.
- Mourya, V.K., Inamdar, N.N. 2008. Chitosan-modifications and applications: opportunities galore. *Reactive and Functional Polymers*. 68(6): 1013-1051.
- Muzzarelli, R.A.A., Jeuniaux, C., Gooday, G.W. 1986. Chitin in nature and technology. New York: Plenum, p. 385.
- Nordtveit, R.J., Vårum, K.M., Smidsrød, O. 1994. Degradation of fully water-soluble, partially N-acetylated chitosans with lysozyme. *Carbohydrate Polymers*. 23(4): 253-260.
- Okamoto, Y., Kawakami, K., Miyatake, K., Morimoto, M., Shigemasa, Y., Minami, S. 2002. Analgesic effects of chitin and chitosan. *Carbohydrate Polymers*. 49(3): 249-252.

- Ottøy, M.H., Vårum, K.M., Christensen, B.E., Anthonsen, M.V., Smidsrød, O. 1996. Preparative and analytical size-exclusion chromatography of chitosans. *Carbohydrate Polymers*. 31(4): 253-261.
- Park, P.J., Je, J.Y., Kim, S.K. 2004a. Free radical scavenging activities of differently deacetylated chitosans using an ESR spectrometer. *Carbohydrate Polymers*. 55(1): 17-22.
- Park, P.J., Je, J.Y., Jung, W.K., Ahn, C.B., Kim, S.K. 2004b. Anticoagulant activity of heterochitosans and their oligosaccharide sulfates. *European Food Research and Technology*. 219(5): 529-533.
- Pillai, C.K.S., Paul, W., Sharma, C.P. 2009. Chitin and chitosan polymers: chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in Polymer Science*. 34(7): 641-678.
- Rabea, E.I., Badawy, M.E., Stevens, C.V., Smagghe, G., Steurbaut, W. 2003. Chitosan as antimicrobial agent: Applications and mode of action. *Biomacromolecules*. 4(5): 1457-1465.
- Rathke, T.D., Hodson, S.M. 1994. Review of chitin and chitosan as fibre and film formers, *J.M.S.-Rev. Macromolecular Chemistry and Physics*. C-34: 375.
- Raymond, L., Morin, F.G., Marchessault, R.H. 1993. Degree of deacetylation of chitosan using conductometric titration and solid-state NMR. *Carbohydrate Research*. 246(1): 331-336.
- Ravi Kumar, M.N.V., Dutta, P.K., Nakamura, S. 1998. Methods of metal capture from wastewater. in: Trivedy, R.K. (Ed.). *Advances in Wastewater Treatment Technologies*. Global Science. India. p.22.
- Rhee, J.S., Jung, M.W., Paeng, K.J. 1998. Evaluation of chitin and chitosan as a sorbent for the preconcentration of phenol and chlorophenols in water. *Analytical Sciences*. 14: 1089-1092.
- Rinaudo, M. 2008. Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. *Polymer International*. 57(3):397-430.
- Rinaudo, M., Milas, M., Le, Dung, P. 1993. Characterization of chitosan. Influence of ionic strength and degree of acetylation on chain expansion. *International Journal of Biological Macromolecules*. 15(5): 281-285.
- Roldo, M., Hornof, M., Caliceti, P., Bernkop-Schnurch, A. 2004. Mucoadhesive thiolated chitosans as platforms for oral controlled drug delivery: synthesis and in vitro evaluation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 57(1): 115-121.
- Sapelli, P.L., Baldassarre, V., Muzzarelli, R.A.A., Emanuelli, M. 1986. "Chitosan in Dentistry" in "Chitin in Nature and Technology" Muzzarelli, R., Jeuniaux, G., Gooday, G.W. (Eds.). Springer (US). pp. 507-512.
- Sagoo, S., Board, R., Roller, S. 2002. Chitosan inhibits growth of spoilage microorganisms in chilled pork products. *Food Microbiology*. 19(2-3): 175-182.
- Schipper, N.G., Varum, K.M., Artursson, P. 1996. Chitosans as absorption enhancers for poorly absorbable drugs. 1: Influence of molecular weight and degree of acetylation on drug transport across human intestinal epithelial (Caco-2) cells. *Pharmaceutical Research*. 13(11): 1686-1692.
- Schleuter, D., Günther, A., Paasch, S., Ehrlich, H., Kljajić, Z., Hanke, T., Bernhard, G., Brunner, E. 2013. Chitin-based renewable materials from marine sponges for uranium adsorption. *Carbohydrate Polymers*. 92(1): 712-718.
- Seol, Y.J., Lee, J.Y., Park, Y.J., Lee, Y.M., Young, K., Rhyu, I.C., Lee, S.J., Han, S.B., Chung, C.P. 2004. Chitosan sponges as tissue engineering scaffolds for bone formation. *Biotechnology Letters*. 26(13): 1037-1041.
- Struszezyk, H., Pospieszmy, H., Kotlinski, S. 1989. Some new applications of chitosan in agriculture, in *Chitin and Chitosan*. Braek, G.S., Anthonsen, T., Sandford, P. (Eds.), Elsevier Applied Science. New York. pp. 733-742.
- Terbojevich, M., Cosani, A. 1997. Molecular weight determination of Chitin and Chitosan. In: Muzzarelli, R.A.A., Peter, M.G. (Eds.) *Chitin handbook*. Grotammare: European Chitin Society. pp. 87-101

- Tharanathan, R.N., Kittur, F.S. 2003. Chitin: the undisputed biomolecule of great potential. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 43(1): 61-87.
- Varum, K.M., Antohonsen, M.W., Grasdalen, H., Smidsrod, O. 1991. Determination of the degree of N-acetylation and the distribution of N-acetyl groups in partially N-deacetylated chitins (chitosans) by high-field n.m.r. spectroscopy. *Carbohydrate Research*. 211(1): 17-23.
- Wang, T., Zhu, X.K., Xue, X.T., Wu, D.Y. 2012. Hydrogel sheets of chitosan, honey and gelatin as burn wound dressings. *Carbohydrate Polymers*. 88(1): 75-83.
- Wang, X.H., Li, D.P., Wang, W.J., Feng, Q.L., Cui, F.Z., Xu, Y.X., Song, X.H., van der Werf, M. 2003. Crosslinked collagen/chitosan matrix for artificial livers. *Biomaterials*. 24(19): 3213-3220.
- Wei, X.H., Niu, Y.P., Xu, Y.Y., Du, Y.Z., Hu, F.Q., Yuan, H. 2010. Salicylic acid-grafted chitosan oligosaccharide nanoparticle for paclitaxel delivery. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*. 25(3): 319-335.
- Weiner, M.L. 1992. In: Brine, C.J., Sandford, P.A., Zikakis, J.P. (Eds.), *Advances in chitin and chitosan*. Elsevier. London. p. 663.
- Weltrowski, M., Martel, B., Morcellent, M. 1996. Chitosan N-benzyl sulfonate derivatives as sorbents for removal of metal ions in an acidic medium. *Journal of Applied Polymer Science*. 59(4): 647-654.
- Wongpanit, P., Sanchavanakit, N., Pavasant, P., Supaphol, P., Tokura, S., Rujiravanit, R. 2005. Preparation and characterization of microwave-treated carboxymethyl chitin and carboxymethyl chitosan films for potential use in wound care application. *Macromolecular Bioscience*. 5(10): 1001-1012.
- Wu, T., Zivanovic, S. 2008. Determination of the degree of acetylation (DA) of chitin and chitosan by an improved first derivative UV method. *Carbohydrate Polymers*. 73(2): 248-253.
- Xing, R., Liu, S., Guo, Z., Yu, H., Wang, P., Li, C., Li, Z., Li, P. 2005. Relevance of molecular weight of chitosan and its derivatives and their antioxidant activities in vitro. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 13(5): 1573-1577.
- Yamane, S., Iwasaki, N., Majima, T., Funakoshi, T., Masuko, T., Harada, K., Minami, A., Monde, K., Nishimura, S. 2005. Feasibility of chitosan-based hyaluronic acid hybrid biomaterial for a novel scaffold in cartilage tissue engineering. *Biomaterials*. 26(6): 611-619.
- Yang, J., Tian, F., Wang, Z., Wang, Q., Zeng, Y.J., Chen, S.Q. 2008. Effect of chitosan molecular weight and deacetylation degree on hemostasis. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 84B(1): 131-137.
- Ye, W.J., Leung, M.F., Xin, J., Kwong, T.L., Lee, D.K.L., Li, P. 2005. Novel core-shell particles with poly(n-butyl acrylate) cores and chitosan shells as an antibacterial coating for textiles. *Polymer*. 46(23): 10538-10543.
- Yen, M., Yang, J., Mau, J. 2009. Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells. *Carbohydrate Polymers*. 75(1): 15-21.
- Zhang, H., Neau, S.H. 2001. In vitro degradation of chitosan by a commercial enzyme preparation: effect of molecular weight and degree of deacetylation. *Biomaterials*. 22(12):1653-1658.