

Evaluation of Antibacterial Properties of Electrospun Polyurethane-chitosan Nanofiber Media

Majid Habibi Mohraz¹ , Farideh Golbabaie^{2,*} , Il Je Yu³

¹ Assistant Professor, Center of Excellence for Occupational Health Engineering, Occupational Health and Safety Research Center, School of Public Health, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

² Professor, Department of Occupational Health Engineering, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³ Professor, Institute of Nano Products Safety Research, Hoseo University, South Korea

* **Corresponding Author:** Farideh Golbabaie, Department of Occupational Health Engineering, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Email: fgolbabaie@sina.tums.ac.ir

Received: 28/07/2021

Accepted: 25/08/2021

How to Cite this Article:

Habibi Mohraz M, Golbabaie F, Je Yu I. Evaluation of Antibacterial Properties of Electrospun Polyurethane-chitosan Nanofiber Media. *J Occup Hyg Eng.* 2021; 8(3): 67-73. DOI: 10.52547/johe.8.3.67

Abstract

Background and Objective: The accumulation of airborne bioaerosols on filtration media and their gradual proliferation in the presence of appropriate moisture and environmental conditions is one of the major problems against using these media. The use of hybrid media containing antibacterial agents is one of the available solutions to this problem. The present study aimed to fabricate nonwoven nanofiber media with an antibacterial activity using an electrospinning process.

Materials and Methods: Polyurethane-chitosan nanofiber media the weight ratios of 100 to 0, 90 to 10, 80 to 20, and 70 to 30 were fabricated by simultaneous electrospinning process. The evaluation of the antibacterial properties of the media was performed after their preparation by standard methods of disk diffusion (ISO 20645) and colony counting (ISO 20743).

Results: The investigation of antibacterial activity of samples by both methods showed that the media with polyurethane to chitosan weight ratio of 70 to 30 had suitable antibacterial activity. The mean values of bacterial growth inhibition zone and antibacterial activity for polyurethane-chitosan (70/30) media were obtained at 0.26 and 2.225 mm, respectively, indicating the significant antibacterial activity of this media.

Conclusion: The results showed that antibacterial nanofiber media can be created by adding chitosan nanofibers as antimicrobial agents to the polyurethane nanofiber.

Keywords: Antibacterial Activity; Colony Counting Electrospinning; Disk Diffusion; Nanofiber Media

بررسی خصوصیات ضدباکتریایی بسترهای نانوفیبری پلی اورتان-کیتوزان ساخته شده با استفاده از فرایند الکتروریسی

مجید حبیبی محرز^۱، فریده گلبابایی^{۲*}، ایل ج یو^۳

^۱ استادیار، قطب علمی آموزشی بهداشت حرفه‌ای، مرکز تحقیقات بهداشت و ایمنی شغلی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
^۲ استاد، گروه مهندسی بهداشت حرفه‌ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
^۳ استاد، انستیتو تحقیقات ایمنی محصولات نانو، دانشگاه هوستو، کره جنوبی

* نویسنده مسئول: فریده گلبابایی، گروه مهندسی بهداشت حرفه‌ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. ایمیل: fgolbabaei@sina.tums.ac.ir

چکیده

سابقه و هدف: تجمع بیواثرسل‌های موجود در هوا روی بسترهای فیلتراسیونی و رشد و تکثیر تدریجی آن‌ها در حضور رطوبت و شرایط محیطی مناسب یکی از مشکلات مهم در استفاده از این بسترهاست. استفاده از بسترهای هیبریدی حاوی مواد ضدباکتریایی یکی از راه‌حل‌های موجود برای حل این مشکل است. هدف مطالعه حاضر ساخت بسترهای نانوفیبری بی‌بافت دارای خاصیت ضدباکتریایی با استفاده از فرایند الکتروریسی است.

مواد و روش‌ها: بسترهای نانوفیبری پلی اورتان-کیتوزان با نسبت‌های وزنی ۱۰۰ به صفر، ۹۰ به ۱۰، ۸۰ به ۲۰ و ۷۰ به ۳۰ از طریق فرایند الکتروریسی و با استفاده از دستگاه الکتروریسی هم‌زمان تولید شدند. پس از آماده‌سازی بسترها، ارزیابی خصوصیت ضدباکتریایی آن‌ها از طریق روش‌های استاندارد انتشار دیسک (ISO 20645) و شمارش کلنی (ISO 20743) انجام شد.

یافته‌ها: بررسی فعالیت ضدباکتریایی نمونه‌ها نشان داد بستر با نسبت پلی اورتان به کیتوزان ۷۰ به ۳۰ در هر دو روش آزمایش نتایج مطلوبی دارد، به‌طوری‌که در روش انتشار دیسک میانگین ناحیه توقف رشد و عدد فعالیت ضدباکتریایی برای بستر پلی اورتان - کیتوزان با نسبت ۷۰ به ۳۰ به ترتیب ۰/۲۶ و ۲/۲۲۵ میلی‌متر به دست آمد که نشان‌دهنده معنی‌دار بودن فعالیت ضدباکتریایی این بستر بود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد می‌توان با اضافه کردن نانوفیبرهای کیتوزان به‌عنوان مواد دارای خاصیت ضد میکروبی به بسترهای نانوفیبری پلی اورتان، خاصیت ضدباکتریایی در آن‌ها ایجاد کرد.

واژگان کلیدی: الکتروریسی؛ انتشار دیسک؛ بسترهای نانوفیبری؛ شمارش کلنی؛ فعالیت ضدباکتریایی

مقدمه

استفاده از بسترهای نانوفیبری تولیدشده با فرایند الکتروریسی به‌منظور فیلتراسیون و جذب آلاینده‌های ذره‌ای و گازی انجام شده است [۱۱-۷].

یکی از مشکلات استفاده از این بسترهای فیلتراسیونی، تجمع بیواثرسل‌های موجود در هوا در مقادیر زیاد روی این بسترها و رشد و تکثیر تدریجی آن‌ها به‌خصوص در حضور رطوبت و شرایط مساعد است. علاوه‌براین، مواد آلی و غیرآلی ته‌نشین‌شده روی بستر فیلتر پس از فیلتراسیون در رشد میکروبی مشارکت می‌کنند و این موضوع موجب کاهش راندمان فیلتراسیون به دلیل تخریب فیلترها و آزادسازی بیشتر میکروارگانیسم‌ها می‌شود. ترکیبات آلی فرار تولیدشده به‌وسیله میکروارگانیسم‌ها نیز از فیلترهای آلوده متصاعد می‌شوند [۱۲]. برخی از بسترهای فیبری از قبیل نانوفیبرهای

مطالعات انجام‌شده در سال‌های اخیر نشان داده‌اند می‌توان از فرایند الکتروریسی برای ساخت بسترهای فیلتراسیونی نانوفیبری استفاده کرد که ویژگی‌های منحصربه‌فردی دارند [۱]. در فرایند الکتروریسی ترکیبات پلیمری مختلف تحت تأثیر اختلاف پتانسیل الکتریکی زیاد به شکل فیبرهایی با قطر در مقیاس نانو درمی‌آیند و روی یک سیستم جمع‌آوری‌کننده، جمع‌آوری می‌شوند [۲]. بسترهای نانوفیبری بی‌بافت تولیدشده در فرایند الکتروریسی خصوصیات ویژه‌ای همانند سطح و تخلخل زیاد، قطر نانومتری، امکان عامل‌دار کردن و تغییر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی، مقاومت مکانیکی مناسب دارند که این ویژگی‌ها امکان استفاده از آن‌ها را برای ساخت بسترهای فیلتراسیونی با خصوصیات ویژه فراهم ساخته است [۳-۶]. تاکنون مطالعات متعددی در زمینه

فرایند الکتروریسی مطابق نتایج کسب شده در مطالعه قبلی، پلیمر پلی اورتان برای ایجاد غلظت کل ۱۵ درصد وزنی به سیستم حلال متشکل از دی متیل فرمامید و تتراهیدروفوران با نسبت اختلاط ۳ به ۲ اضافه و با استفاده از اختلاط با همزن مغناطیسی صفحه داغ به مدت ۱۲ ساعت محلول یکنواختی از پلی اورتان آماده شد [۱۸]. برای ایجاد محلول پلیمری ۴ درصد وزنی یکنواخت کیتوزان، حلال اسید استیک ۹۰ درصد شرایط بهتری را برای انحلال و الکتروریسی کیتوزان فراهم کرد.

پس از آماده سازی محلول های پلیمری، بسترهای نانوفیبری پلی اورتان-کیتوزان با نسبت های وزنی ۱۰۰ به ۹۰ به ۱۰، ۸۰ به ۲۰ و ۷۰ به ۳۰ از طریق فرایند الکتروریسی و با استفاده از دستگاه الکتروریسی هم زمان تولید شدند. برای این منظور ابتدا محلول های پلیمری به سرنگی با قطر نیدل شماره ۱۸ انتقال داده شدند و سپس پارامترهای الکتروریسی برای پلیمرهای پلی اورتان و کیتوزان بر اساس نتایج به دست آمده از مطالعه پایلوت به ترتیب به این صورت تنظیم شدند: فاصله سر سوزن تا صفحه جمع آوری کننده ۱۰ و ۸ سانتی متر، ولتاژ الکتروریسی ۱۵ و ۲۰ کیلوولت، نرخ تزریق ۰/۳ و ۰/۴ میلی لیتر در ساعت.

ارزیابی خصوصیت ضدباکتریایی بسترها

ارزیابی خصوصیت ضدباکتریایی بسترها از طریق روش های استاندارد انتشار دیسک (ISO 20645) (۱۹) و شمارش کلنی (ISO 20743) (۲۰) انجام شد.

روش انتشار دیسک

ابتدا به منظور آماده سازی محلول های کاربردی از باکتری، تعدادی کلنی از روی پلیت های اولیه به درون لوله فالتون حاوی ۳۰ میلی لیتر محیط کشت مغذی مایع انتقال داده و به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه و سرعت چرخش ۱۰۰ دور در دقیقه در انکوباتور شیکردار انکوبه شد. پس از خارج کردن لوله ها از انکوباتور، کدورت ایجاد شده ناشی از رشد باکتری ها با اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۵ نانومتر اندازه گیری شد و به منظور دستیابی به غلظت حدود $10^8 \times 1/5$ کلنی در میلی لیتر (محلول استاندارد نیم مک فارلند) از طریق رقیق سازی سریالی سوسپانسون غلیظ باکتری رقیق شد تا میزان جذب آن به حدود ۰/۲۸ در طول موج ۴۷۵ نانومتر برسد. سپس این محلول نیز رقیق سازی شد تا غلظت باکتری ها در غلظت حدود $10^5 \times 1/5$ کلنی در میلی لیتر برسد. سپس از این محلول به عنوان محلول کاربردی به منظور آغشته کردن سطح پلیت های آگار آماده سازی شده استفاده شد. سپس نمونه بسترهای نانوفیبری آماده شده که دیسک های گرد به قطر ۸ میلی متر بودند، در فواصل مناسب روی محیط کشت چسبانده شدند و پلیت ها به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه در انکوباتور قرار داده شدند. پس از

بی بافت به دلیل مساحت سطحی مناسب و خاصیت جذب سطحی به منظور پاک سازی هوا از آلاینده های گازی از قبیل ترکیبات آلی فرار نیز مورد استفاده قرار می گیرند و باکتری ها نیز تمایل دارند روی سطوح جامد بنشینند؛ بنابراین، این امکان وجود دارد که باکتری ها روی این بسترها تکثیر شوند و این فیلترها به عنوان منبع تولید بیواثر و سل ها عمل کنند [۱۴، ۱۳]. در ماسک های تنفسی نیز آلودگی بیولوژیکی یکی از دلایل انتقال عفونت و آلودگی کارکنان در محیط هایی نظیر بیمارستان ها و آزمایشگاه ها است [۱۵]. استفاده از بسترهای هیبریدی حاوی مواد ضدباکتریایی یکی از راه حل های موجود برای حل این مشکل است. این بسترها به منظور ساخت پوشش های زخم ضد میکروبی نیز استفاده می شوند [۱۶].

هدف مطالعه حاضر ساخت بسترهای نانوفیبری بی بافت با استفاده از فرایند الکتروریسی و ارزیابی عملکرد ضدباکتریایی این بسترها در برابر باکتری های اشیرشیکالای به عنوان مدلی از باکتری هاست. برای این منظور پایه محلول پلیمری استفاده شده پلی اورتان خواهد بود و از بیوپلیمر کیتوزان نیز برای افزودن خاصیت ضدباکتریایی استفاده خواهد شد. ارزان و در دسترس بودن، سطح متخلخل برای جذب آلاینده های گازی، مقاومت مکانیکی و کشسانی زیاد، دوام و عدم حلالیت در آب و ویژگی هایی است که پلی اورتان را پلیمر مناسبی برای ساخت بسترهای فیلتراسیونی می کند. کیتوزان نیز پلی کاتیون، پلی ساکاریدی غیرسمی و زیست تجزیه پذیر است که از کیتین طبیعی مشتق می شود [۱۷]. این ماده به دلیل خصوصیات بیولوژیکی بی نظیر شامل قابلیت تجزیه پذیری زیستی و غیرسمی بودن به صورت خالص یا مخلوط با سایر پلیمرهای طبیعی (ژلاتین، آلژینات و غیره) کاربردهای بسیار زیادی دارد. فعالیت ضد میکروبی کیتوزان در برابر باکتری ها، قارچ ها و کپک های میله ای نشان داده شده است. کیتوزان طیف فعالیتی وسیع و کشندگی زیادی در برابر باکتری های گرم مثبت و منفی دارد و از طرفی سمیت کمی برای سلول های پستان داران دارد [۱۷]؛ بنابراین، انتظار می رود ترکیب این دو پلیمر در ساخت بسترهای فیلتراسیونی با خصوصیات ضدباکتریایی استفاده شود.

روش کار

پلیمر پلی اورتان ($MW=2 \times 10^5$) از شرکت Lubrizol خریداری شد. حلال های دی متیل فرمامید (DMF)، تتراهیدروفوران (THF) و استیک اسید (AA) از شرکت مرک آلمان و بیوپلیمر Chitosan (85% DDA) از شرکت سیگما آلد ریچ خریداری شد.

ساخت فیلترهای نانوفیبری با استفاده از فرایند الکتروریسی

به منظور آماده سازی محلول های پلیمری استفاده شده در

در این معادله F ، فاکتور رشد باکتری در نمونه کنترل، C_t تعداد باکتری شمارش شده پس از اتمام زمان مواجهه و C_0 تعداد باکتری اولیه موجود در محیط کشت مایع است. همچنین فاکتور رشد باکتری در نمونه‌های اصلی از معادله زیر محاسبه شد:

معادله ۳: فاکتور رشد باکتری در نمونه اصلی
 $G = \lg T_t - \lg T_0$
 در این معادله G فاکتور رشد باکتری در نمونه اصلی، T_t تعداد باکتری شمارش شده پس از اتمام زمان مواجهه و T_0 تعداد باکتری اولیه موجود در محیط کشت مایع است. پس از محاسبه فاکتور رشد باکتری در نمونه کنترل و اصلی، فعالیت ضدباکتریایی هر بستر از رابطه زیر محاسبه شد:

معادله ۴: میزان فعالیت ضدباکتریایی بستر
 $A = (\lg C_t - \lg C_0) - (\lg T_t - \lg T_0) = F - G$
 در این معادله A میزان فعالیت ضدباکتریایی بستر است.

نتایج

جدول ۱ نتایج ارزیابی خصوصیات ضدباکتریایی بسترها با استفاده از روش انتشار دیسک را نشان می‌دهد. شکل ۱ نواحی توقف رشد باکتری اشیرشیاکلای در اطراف دیسک‌های بسترهای نانوفیبری بررسی شده را نمایش می‌دهد. نتایج به‌دست‌آمده حاکی از عدم ایجاد ناحیه توقف رشد باکتری قابل ملاحظه در اطراف دیسک‌های مربوط به بسترهای پلی اورتان خالص و پلی اورتان-کیتوزان با نسبت وزنی ۹۰ به ۱۰ بود. البته در زیر و اطراف دیسک بستر پلی اورتان-کیتوزان با نسبت وزنی ۹۰ به ۱۰ برخلاف دیسک پلی اورتان خالص توقف رشد باکتری هر چند بسیار جزئی مشاهده شد. درحالی‌که برای بسترهای نانوفیبری پلی اورتان-کیتوزان با نسبت وزنی ۸۰ به ۲۰ و ۷۰ به ۳۰ ناحیه توقف رشدی به طول ۰/۱۴ و ۰/۲۶ میلی‌متر مشاهده شد. ایجاد ناحیه توقف رشد در زیر دیسک بدون ایجاد ناحیه توقف رشد در اطراف دیسک نیز طبق معیارهای استاندارد ISO 20465 نشان‌دهنده خاصیت ضدباکتریایی مناسب نمونه است (۱۹). نتایج به‌دست‌آمده در جدول ۲ حاکی از این بود که طول ناحیه توقف رشد باکتری ایجادشده توسط نمونه با نسبت

خارج کردن پلیت‌ها از انکوباتور با استفاده از میکرومتر دیجیتالی پهنای ناحیه توقف رشد باکتری برای هر قطعه از دیسک‌ها اندازه‌گیری و با استفاده از معادله ۱، پهنای ناحیه توقف رشد محاسبه شد:

$$H = \frac{D - d}{2}$$

معادله ۱:

در این معادله:

H : پهنای ناحیه توقف رشد

D : قطر کلی نمونه و ناحیه توقف رشد (میلی‌متر)

d : قطر نمونه (میلی‌متر)

پس از اندازه‌گیری ناحیه توقف رشد، اثر ضدباکتریایی بسترها بر اساس معیارهای روش استاندارد ISO 20645 ارزیابی شد [۱۹].

روش شمارش کلنی

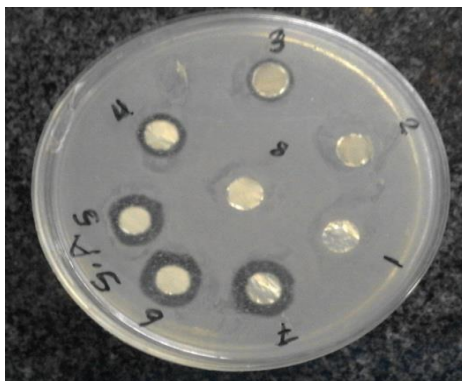
برای انجام این روش ۱۰ میلی‌لیتر از محلول کاربردی آماده‌شده در بخش قبلی (حاوی $10^5 \times 1/5$ کلنی در میلی‌لیتر) در لوله فالکون استریل ۱۵ میلی‌لیتری ریخته و به مدت یک دقیقه در انکوباتور شیکردار با حداکثر چرخش قرار داده شد. سپس ۰/۰۲ گرم از نمونه بسترهای نانوفیبری آماده‌سازی‌شده پس از توزین به محلول کاربردی موجود در لوله فالکون اضافه شد و به مدت ۱۸ ساعت نمونه‌ها در مواجهه با باکتری‌های موجود در محلول کاربردی قرار گرفتند. پس از پایان زمان تماس یک میلی‌لیتر از محلول موجود در هر لوله فالکون برداشته و به‌صورت سریالی تا رقت از پیش تعیین‌شده رقیق‌سازی و برای شمارش کلنی‌ها روی محیط کشت جامد کشت شد. پلیت‌های حاوی محیط کشت جامد به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه قرار گرفتند. برای هر نمونه دو بار این کار تکرار شد. سپس کلنی‌های موجود در هر پلیت شمارش شد و پس از میانگین‌گیری از مقادیر شمارش‌شده، تعداد کلنی‌ها بر حسب تعداد کلنی در هر میلی‌لیتر محلول بیان شد. در انتها فاکتور رشد باکتری در نمونه‌های کنترل بر اساس معیارهای استاندارد ISO 20743 از معادلات زیر محاسبه شد [۲۰]:

معادله ۲: فاکتور رشد باکتری در نمونه کنترل

$$F = \lg C_t - \lg C_0$$

جدول ۱: نتایج ارزیابی خصوصیات ضدباکتریایی بسترها با استفاده از روش انتشار دیسک و شمارش کلنی

ردیف	نوع بستر	روش تولید	ترکیب پلیمری (درصد وزنی)	میانگین طول ناحیه توقف رشد (میلی‌متر)	میانگین مقدار فعالیت ضدباکتریایی
۱	پلی اورتان	الکتروریسی	۱۰۰	صفر	صفر
۲		الکتروریسی هم‌زمان	۹۰-۱۰	0.05 ± 0.03	1.37 ± 0.34
۳	پلی اورتان-کیتوزان	الکتروریسی هم‌زمان	۸۰-۲۰	0.14 ± 0.075	1.94 ± 0.18
۴		الکتروریسی هم‌زمان	۷۰-۳۰	0.26 ± 0.094	2.25 ± 0.12



شکل ۱: ناحیه توقف رشد باکتری اشیرشیاکلای در اطراف دیسک‌های بسترهای نانوفیبری با ترکیبات پلیمری مختلف

جدول ۲: مقایسه میانگین طول ناحیه توقف رشد باکتری برای بسترهای نانوفیبری مختلف

مقدار فعالیت ضدباکتریایی		طول ناحیه توقف رشد باکتری (میلی‌متر)		نوع بستر (j)	نوع بستر (i)
سطح معنی‌داری*	اختلاف میانگین	سطح معنی‌داری	اختلاف میانگین (i-j)		
≤ 0.001	-۱/۳۷	۰/۷۸۱	-۰/۰۵۳	پلی اورتان-کیتوزان (۹۰ به ۱۰)	پلی اورتان خالص
≤ 0.001	-۱/۹۵	۰/۱۲۲	-۰/۱۴	پلی اورتان-کیتوزان (۸۰ به ۲۰)	
≤ 0.001	-۲/۲۵	۰/۰۰۶	-۰/۲۶	پلی اورتان-کیتوزان (۷۰ به ۳۰)	
۰/۰۵۲	-۰/۵۷	۰/۴۲۶	-۰/۰۹	پلی اورتان-کیتوزان (۸۰ به ۲۰)	پلی اورتان-کیتوزان (۹۰ به ۱۰)
۰/۰۰۵	-۰/۸۸	۰/۰۲۲	-۰/۲۱	پلی اورتان-کیتوزان (۷۰ به ۳۰)	
۰/۳۸۸	-۰/۳۰	۰/۲۱۷	-۰/۱۲	پلی اورتان-کیتوزان (۷۰ به ۳۰)	پلی اورتان-کیتوزان (۸۰ به ۲۰)

*آزمون تحلیل واریانس

از 1.5×10^8 کلنی در میلی‌لیتر به 7.2×10^{13} کلنی در میلی‌لیتر افزایش یافته است که بیشترین میزان رشد باکتری در میان بسترهای بررسی شده بوده است. کمترین میزان رشد باکتری یا بیشترین میزان فعالیت ضدباکتریایی (فعالیت ضدباکتریایی هر بستر عبارت است از: فاکتور رشد نمونه کنترل (پلی اورتان) منهای فاکتور رشد بستر مدنظر) مربوط به بستر پلی اورتان و کیتوزان با نسبت ۷۰ به ۳۰ بود.

نتایج به‌دست‌آمده از جدول ۲ نشان می‌دهد تفاوت معنی‌داری بین میانگین مقدار فعالیت ضدباکتریایی تمامی نمونه‌ها با پلی اورتان خالص و همچنین با یکدیگر وجود دارد که نشان‌دهنده تأثیر اضافه کردن کیتوزان در میزان فعالیت ضدباکتریایی بسترهای ساخته‌شده است. البته بر اساس معیار استاندارد ISO 20743 بسترهایی که میزان عدد فعالیت ضدباکتریایی آن‌ها بین ۲ تا ۳ باشد، به‌عنوان مواد دارای خاصیت ضدباکتریایی معنی‌دار و بسترهایی که مقدار فعالیت ضدباکتریایی آن‌ها بیشتر از ۳ باشد، به‌عنوان مواد دارای فعالیت ضدباکتریایی قوی محسوب می‌شوند [۲۰]. بر اساس نتایج کسب‌شده بسترهای پلی اورتان-کیتوزان با نسبت وزنی ۷۰ به ۳۰ خاصیت ضدباکتریایی معنی‌دار دارد. در بقیه بسترها نیز میزان فعالیت

پلی اورتان-کیتوزان (۷۰ به ۳۰) به‌طور معنی‌داری بیشتر از نمونه‌های پلی اورتان خالص و پلی اورتان-کیتوزان (۹۰ به ۱۰) است. اگرچه میانگین طول ناحیه توقف رشد در اطراف دیسک‌های پلی اورتان-کیتوزان (۹۰ به ۱۰)، پلی اورتان-کیتوزان (۸۰ به ۲۰) تفاوت معنی‌داری با میانگین طول ناحیه توقف رشد در اطراف دیسک پلی اورتان خالص نداشت، بر اساس معیارهای استاندارد ISO 20465 خاصیت ضدباکتریایی آن‌ها مناسب ارزیابی می‌شود.

نتایج ارزیابی خصوصیات ضدباکتریایی بسترها با استفاده

از روش شمارش کلنی

جدول ۱ و ۲ به ترتیب نتایج ارزیابی خصوصیات ضدباکتریایی بسترها با استفاده از روش شمارش کلنی و مقایسه آماری آن‌ها را با استفاده از آزمون تحلیل واریانس نشان می‌دهد. فاکتور رشد، لگاریتم تعداد باکتری در محیط کشت حاوی 0.2 گرم از نمونه بستر نانوفیبری پس از ۱۸ ساعت مواجهه منهای لگاریتم تعداد باکتری اولیه است که این مقدار برای بستر پلی اورتان خالص بالاترین مقدار یعنی 5.681 به دست آمد. به عبارت دیگر، تعداد باکتری در نمونه حاوی بستر پلی اورتان در ۱۸ ساعت

ضدباکتریایی در مقایسه با نمونه کنترل (پلی اورتان) بیشتر بود.

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد بسترهای نانوفیبری پلی اورتان خالص خصوصیات ضدباکتریایی ندارند. همچنین مشاهده شد که با اضافه کردن لایه‌های نانوفیبرهای کیتوزان به بستر پلی اورتان به تدریج در اطراف دیسک‌های بررسی شده ناحیه توقف رشد باکتری ایجاد می‌شود که نشان‌دهنده خصوصیات ضدباکتریایی این بسترهاست. همچنین نتایج روش شمارش کلنی در جدول ۱ نشان داد اگرچه عدد فعالیت ضدباکتریایی بسترهای پلی اورتان-کیتوزان با نسبت ۹۰ به ۱۰ و ۸۰ به ۲۰ بیشتر از پلی اورتان خالص بود، بر اساس معیارهای استاندارد ISO 20743 (بر اساس معیارهای این استاندارد در شرایطی یک بستر دارای فعالیت ضدباکتریایی معنی دار است که عدد فعالیت ضدباکتریایی آن بیشتر از ۲ باشد) معنی دار نیست. از طرفی دیگر، برای بستر با نسبت پلی اورتان به کیتوزان ۷۰ به ۳۰ در هر دو روش تست نتایج مطلوبی به دست آمد، به‌طوری‌که در روش انتشار دیسک میانگین ناحیه توقف رشد ۰/۲۶ میلی‌متر اندازه‌گیری شد و در روش شمارش کلنی نیز عدد فعالیت ضدباکتریایی ۲/۲۲۵ به دست آمد که نشان‌دهنده معنی دار بودن فعالیت ضدباکتریایی این بستر بود؛ بنابراین، نسبت ۷۰ به ۳۰ پلی اورتان به کیتوزان به‌عنوان بستر منتخب از نظر خصوصیات ضدباکتریایی انتخاب می‌شود. این یافته‌ها در انطباق با نتایج مطالعات دیگر نیز بود، به‌طوری‌که Zeng و همکاران در مطالعه‌ای به‌منظور ساخت پوشش‌های زخم دارای خاصیت ضدباکتریایی از ترکیب نانوفیبرهای ابریشم با کیتوزان استفاده کردند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد با افزایش نسبت کیتوزان به ابریشم خصوصیات ضدباکتریایی بسترها در برابر باکتری‌های گرم منفی اشیرشیاکلای ساخته‌شده افزایش می‌یابد [۲۱].

ابراهیم و همکاران نیز در مطالعه خود روی خصوصیات ضدباکتریایی نانوفیبرهای ترکیبی پلی وینیل الکل و کیتوزان به این نتیجه رسیدند که با افزایش نسبت کیتوزان به پلی وینیل الکل طول ناحیه توقف رشد باکتری‌های اشیرشیاکلای، استافیلوکوک و باسیلوس سوبتیلیس افزایش می‌یابد [۲۲]. در برخی مطالعات دیگر نیز مقاومت باکتریایی در برابر بسترهای نانوفیبری حاوی کیتوزان گزارش شده؛ برای مثال، در مطالعه فریدی و همکاران روی بسترهای نانوفیبری کیتوزان/پلی اتیلن اکساید ناحیه توقف رشد باکتری در اطراف دیسک‌های نانوفیبرهای کیتوزان مشاهده نشد، درحالی‌که نتایج به‌دست‌آمده در مطالعه آن‌ها نشان داد با اضافه کردن نیترا ت نقره در حضور عصاره گیاه اکالیپتوس به‌عنوان عامل احیاکننده نانوذرات نقره، ناحیه توقف رشد قابل توجهی در برابر باکتری‌های اشیرشیاکلای و استافیلوکوک اورئوس به وجود می‌آید [۲۳].

اگرچه فعالیت ضد میکروبی کیتوزان در برابر باکتری‌ها، قارچ‌ها و کپک‌های میله‌ای اثبات شده است [۲۴، ۲۵]، تفاوت‌هایی در خصوص میزان خاصیت ضدباکتریایی بسترهای حاوی کیتوزان وجود دارد. تغییرات در خصوصیت ضدباکتریایی کیتوزان ممکن است ناشی از چندین عامل مختلف باشد؛ از جمله: (۱) عوامل میکروبی که به گونه‌های میکروارگانیسم استفاده‌شده و سن سلول بستگی دارند، (۲) خصوصیات ذاتی کیتوزان شامل چگالی سطحی بار مثبت، وزن مولکولی کیتوزان، غلظت کیتوزان، خصوصیات آبدوستی و آب‌گریزی و ظرفیت کیلیت‌کنندگی آن، (۳) میزان حلالیت فیزیکی کیتوزان استفاده‌شده، (۴) عوامل محیطی شامل قدرت یونی بستر، pH، درجه حرارت و زمان واکنش‌پذیری که ممکن است بسته به شرایط مطالعات با یکدیگر متفاوت باشد و مقایسه نتایج مطالعات مختلف را دشوار کند [۲۶].

نتیجه‌گیری

بررسی خصوصیات ضدباکتریایی بسترهای نانوفیبری ساخته‌شده نشان داد می‌توان با اضافه کردن نانوفیبرهای کیتوزان به‌عنوان مواد دارای خاصیت ضد میکروبی به بسترهای نانوفیبری پلی اورتان خاصیت ضدباکتریایی در آن‌ها ایجاد کرد تا با استفاده از این بسترهای هیبریدی علاوه بر بهره‌گیری از خصوصیات ویژه بسترهای پلی اورتان بتوان از آن‌ها برای مقابله با میکروارگانیسم‌ها و باکتری‌های موجود در جریان هوا استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به کد ۹۴-۰۱-۲۷-۲۸۵۵۳ است که با حمایت این دانشگاه اجرا شده است. همچنین نویسندگان از مساعدت مالی و همکاری انستیتو ایمنی محصولات نانو کشور کره جنوبی در اجرای این پروژه کمال تشکر و قدردانی را دارند.

تضاد منافع

نویسندگان اظهار می‌نمایند که در پژوهش حاضر هیچ تضاد منافی بین نویسندگان و سایر سازمان‌ها وجود ندارد.

ملاحظات اخلاقی

در پژوهش حاضر، کلیه ملاحظات اخلاقی مورد تایید دانشگاه علوم پزشکی تهران رعایت شده است.

سهم نویسندگان

فریده گل بابایی: طراحی مطالعه، نگارش پروپوزال طرح، IL
Je Yu: روش شناسی طرح، مجید حبیبی: محرز: طراحی مطالعه، انجام آزمایشات، نگارش مقاله، تجزیه و تحلیل داده‌ها

پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به کد ۹۴-۰۱-۲۷-۲۸۵۵۳ است که با حمایت این دانشگاه اجرا شده است.

مقاله حاضر بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم

REFERENCES

1. Yoon K, Hsiao BS, Chu B. Functional nanofibers for environmental applications. *J Mater Chem*. 2008; **18**(44):5326-34. DOI: [10.1039/B804128H](https://doi.org/10.1039/B804128H)
2. Bhardwaj N, Kundu SC. Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnol Adv*. 2010; **28**(3):325-47. PMID: [20100560](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20100560/) DOI: [10.1016/j.biotechadv.2010.01.004](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.01.004)
3. Chen L. Next generation of electrospun textiles for chemical and biological protection and air filtration. Massachusetts Inst of Tech Cambridge. 2009.
4. Desai K, Kit K, Li J, Davidson PM, Zivanovic S, Meyer H, et al. Nanofibrous chitosan non-wovens for filtration applications. *Polymer*. 2009; **50**(15):3661-9. DOI: [10.1016/j.polymer.2009.05.058](https://doi.org/10.1016/j.polymer.2009.05.058)
5. Ramaseshan R, Sundararajan S, Liu Y, Barhate R, Lala NL, Ramakrishna S, et al. Functionalized polymer nanofibre membranes for protection from chemical warfare stimulants. *Nanotechnology*. 2006; **17**(12):2947-2953. DOI: [10.1088/0957-4484/17/12/021](https://doi.org/10.1088/0957-4484/17/12/021)
6. Hong KH, Sun G. Antimicrobial and chemical detoxifying functions of cotton fabrics containing different benzophenone derivatives. *Carbohydr Polym*. 2008; **71**(4):598-605. DOI: [10.1016/j.carbpol.2007.07.004](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.07.004)
7. Zhang R, Liu C, Hsu P-C, Zhang C, Liu N, Zhang J, et al. Nanofiber air filters with high-temperature stability for efficient PM2.5 removal from the pollution sources. *Nano Lett*. 2016; **16**(6):3642-9. PMID: [27167892](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27167892/) DOI: [10.1021/acs.nanolett.6b00771](https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.6b00771)
8. Matulevicius J, Kliucininkas L, Prasauskas T, Buivydiene D, Martuzevicius D. The comparative study of aerosol filtration by electrospun polyamide, polyvinyl acetate, polyacrylonitrile and cellulose acetate nanofiber media. *J Aerosol Sci*. 2016; **92**:27-37. DOI: [10.1016/j.jaerosci.2015.10.006](https://doi.org/10.1016/j.jaerosci.2015.10.006)
9. Gu GQ, Han CB, Lu CX, He C, Jiang T, Gao ZL, et al. Triboelectric nanogenerator enhanced nanofiber air filters for efficient particulate matter removal. *ACS nano*. 2017; **11**(6):6211-7. PMID: [28489941](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28489941/) DOI: [10.1021/acsnano.7b02321](https://doi.org/10.1021/acsnano.7b02321)
10. Zhu M, Han J, Wang F, Shao W, Xiong R, Zhang Q, et al. Electrospun nanofibers membranes for effective air filtration. *Macromol Mater Eng*. 2017; **302**(1):1600353. DOI: [10.1002/mame.201600353](https://doi.org/10.1002/mame.201600353)
11. Habibi Mohraz M, Golbabaee F, Je Yu I, Sedigh Zadeh A, Mansournia MA, Farhang Dehghan S, et al. Investigating effective parameters on the nanoparticles air filtration using Polyurethane nanofiber mats. *Saf Health Work*. 2018; **8**(1):29-42.
12. Yoon KY, Byeon JH, Park CW, Hwang J. Antimicrobial effect of silver particles on bacterial contamination of activated carbon fibers. *Environ Sci Technol*. 2008; **42**(4):1251-5. PMID: [18351101](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18351101/) DOI: [10.1021/es0720199](https://doi.org/10.1021/es0720199)
13. Verdenelli M, Cecchini C, Orpianesi C, Dadea G, Cresci A. Efficacy of antimicrobial filter treatments on microbial colonization of air panel filters. *J Appl Microbiol*. 2003; **94**(1):9-15. PMID: [12492918](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12492918/) DOI: [10.1046/j.1365-2672.2003.01820.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01820.x)
14. Byeon JH, Yoon KY, Park JH, Hwang J. Characteristics of electroless copper-deposited activated carbon fibers for antibacterial action and adsorption-desorption of volatile organic compounds. *Carbon*. 2007; **45**(11):2313-6. DOI: [10.1016/j.carbon.2007.06.026](https://doi.org/10.1016/j.carbon.2007.06.026)
15. Luksamijarulkul P, Aiempradit N, Vatanasomboon P. Microbial contamination on used surgical masks among hospital personnel and microbial air quality in their working wards: A hospital in Bangkok. *Oman Med J*. 2014; **29**(5):346. DOI: [10.5001/omj.2014.92](https://doi.org/10.5001/omj.2014.92)
16. Eby DM, Luckarift HR, Johnson GR. Hybrid antimicrobial enzyme and silver nanoparticle coatings for medical instruments. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2009; **1**(7):1553-60. PMID: [20355960](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20355960/) DOI: [10.1021/am9002155](https://doi.org/10.1021/am9002155)
17. Spasova M, Manolova N, Paneva D, Rashkov I. Preparation of chitosan-containing nanofibres by electrospinning of chitosan/poly (ethylene oxide) blend solutions. *e-Polymers*. 2004; **4**(1):624-35. DOI: [10.1515/epoly.2004.4.1.624](https://doi.org/10.1515/epoly.2004.4.1.624)
18. Habibi Mohraz M, Golbabaee F, Je Yu I, Ghahri A. Optimization of the electrospinning process of polyurethane nanofibers and their filtration performance for use in respiratory protection mask filters. *Mil Med*. 2019; **21**(2):195-204.
19. ISO 20645. Determination of Antibacterial Activity: Agar Diffusion Plate Test. ISO. 2004.
20. ISO 20743: Textiles Determination of antibacterial activity of textile products. ISO. 2013.
21. Cai Z-x, Mo X-m, Zhang K-h, Fan L-p, Yin A-l, He C-l, et al. Fabrication of chitosan/silk fibroin composite nanofibers for wound-dressing applications. *Int J Mol Sci*. 2010; **11**(9):3529-39. DOI: [10.3390/ijms11093529](https://doi.org/10.3390/ijms11093529)
22. Ibrahim HM, El-Zairy EM. Carboxymethylchitosan nanofibers containing silver nanoparticles: Preparation, Characterization and Antibacterial activity. *J App Pharm Sci*. 2016; **6**(07):043-8. DOI: [10.7324/JAPS.2016.60706](https://doi.org/10.7324/JAPS.2016.60706)
23. Arvand M, Mirzaei E, Derakhshan MA, Kharrazi S, Sadroddiny E, Babapour M, et al. Fabrication of antibacterial silver nanoparticle-modified chitosan fibers using Eucalyptus extract as a reducing agent. *J Appl Polym Sci*. 2015; **132**(25). DOI: [10.1002/app.42133](https://doi.org/10.1002/app.42133)
24. No HK, Park NY, Lee SH, Meyers SP. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *Int J Food Microbiol*. 2002; **74**(1-2):65-72. PMID: [11929171](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11929171/) DOI: [10.1016/S0168-1605\(01\)00717-6](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00717-6)
25. Dai T, Tanaka M, Huang Y-Y, Hamblin MR. Chitosan preparations for wounds and burns: antimicrobial and wound-healing effects. *Expert Rev Anti*. 2011; **9**(7):857-79. PMID: [21810057](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21810057/) DOI: [10.1586/eri.11.59](https://doi.org/10.1586/eri.11.59)
26. Kong M, Chen XG, Xing K, Park HJ. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. *Int J Food Microbiol*. 2010; **144**(1):51-63. PMID: [20951455](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20951455/) DOI: [10.1016/j.ijfoodmicro.2010.09.012](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.09.012)