

ORIGINAL ARTICLE

The comparatison of physicochemical properties of chitosan in two species, *Penaeus merguensis* and *Sepia pharaonis*

Mousa Keshavarz^{1*} , Jamileh Pazooki²

1. Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

2. Department of Animal Sciences and Marine Biology, Faculty of Biosciences and Technology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

Correspondence

Mousa Keshavarz

Email: M.keshavarz@hormozgan.ac.ir

How to cite

Keshavarz, M., & Pazooki, J. (2025). The comparatison of physicochemical properties of chitosan in two species, *Penaeus merguensis* and *Sepia pharaonis*. *Experimental Animal Biology*, 13(52), 41-54.

ABSTRACT

Chitin is found in the exoskeleton of many invertebrates, the cell wall of most fungi and some algae which is converted into chitosan through some reactions. Chitosan is a combined polymer of glucosamine and N-acetylglucosamine, linked by 1 and 4 glycosidic bonds. In this article, the structural and physicochemical characteristics of chitosan extracted from the shell wastes of of shrimp species *Penaeus merguensis* and squid shells *Sepia pharaonis* have been compared. Samples were collected from the coast of Bandar Abbas and in order to extract chitin and chitosan, their physicochemical characteristics were measured using FTIR, XRD, and SEM methods. The molecular weight of chitosan samples obtained from the shell of Banana prawn and Pharaoh Cuttlefish was calculated as 26,000 and 14,000 kDa, respectively, and the deacetylation percentage of chitosan in *P. merguensis* and *S. pharaonis* was calculated as 66% and 30.5%, respectively. The findings showed that micrographs of the shrimp shell are heterogeneous and non-flat and in the form of broken rod-shaped structures, and the surface morphology of chitosan prepared from Cuttlefish shell showed a smooth surface with few larger and stone-like structures on it. In recent years, the scientific community has increased its attention to chitosan products derived from marine wastes for this biopolymer, and this study indicated that, given the large volume of marine waste produced in Bandar Abbas, and taking into account environmental considerations, efforts were made to extract chitosan derivatives from marine waste.

KEYWORDS

Biopolymer, Chitosan, Degree of deacetylation, FTIR.

نشریه علمی

زیست‌شناسی جانوری تجربی

«مقاله پژوهشی»

مقایسه ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی کیتوزان در دو گونه *Penaeus merguiensis* و *Sepia pharaonis*

موسی کشاورز^{۱*}، جمیله پازوکی^۲

چکیده

کیتین در اسکلت خارجی بسیاری از بی‌مهرگان، دیواره سلولی اکثر قارچ‌ها و برخی از جلبک‌ها یافت می‌شود که بر اثر واکنش‌هایی به کیتوزان تبدیل می‌شود. کیتوزان هم پلیمری ترکیبی گلوکز آمین و N استیل گلوکز آمین است که به وسیله پیوندهای ۱ و ۴ گلیکوزیدی به هم متصلند. در این پژوهش ویژگی‌های ساختاری و فیزیکوشیمیایی کیتوزان استخراجی از ضایعات پوسته میگو گونه *Penaeus merguiensis* و صدف ماهی مرکب *Sepia pharaonis* مقایسه شده است. نمونه‌ها از ساحل بندرعباس جمع‌آوری شد و به منظور استحصال کیتین و کیتوزان، مشخصات فیزیکوشیمیایی با روش‌های FTIR، XRD و SEM مورد سنجش قرار گرفت. وزن مولکولی نمونه‌های کیتوزان به دست آمده از پوسته میگو موزی و صدف ماهی مرکب به ترتیب معادل ۲۶۰۰۰ و ۱۴۰۰۰ کیلوالتون مورد محاسبه قرار گرفت و درصد استیل‌زدایی کیتوزان در گونه *P. merguiensis* و *S. pharaonis* به ترتیب ۶۶ و ۳۰/۵ درصد محاسبه شد. یافته‌ها نشان داد که میکروگراف‌های پوسته میگو ناهمگن و غیرمسطح و به صورت ساختارهای میله‌ای شکل شکسته و مورفولوژی سطح کیتوزان تهیه شده از صدف ماهی مرکب سطحی صاف را با تعداد کمی ساختار بزرگ‌تر و سنگ مانند روی آن مشاهده شد. در طی سال‌های اخیر افزایش توجه مجامع علمی به محصولات کیتوزانی حاصل از ضایعات دریایی برای بیوپلیمر افزایش یافته و این بررسی بیانگر این امر بود که با توجه حجم زیاد میزان ضایعات دریایی تولید شده در بندرعباس و با در نظر گرفتن ملاحظات زیست محیطی نسبت به استخراج مشتقات کیتوزانی از ضایعات دریایی اقدام نمود.

واژه‌های کلیدی

بیوپلیمر، درجه استیل‌زدایی، کیتوزان، FTIR.

۱. گروه زیست دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.
۲. گروه علوم جانوری و زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

نویسنده مسئول:

موسی کشاورز

رایانامه: M.keshavarz@hormozgan.ac.ir

استناد به این مقاله:

کشاورز، موسی و پازوکی، جمیله (۱۴۰۴). مقایسه ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی کیتوزان در دو گونه *Penaeus merguiensis* و *Sepia pharaonis*. فصلنامه زیست‌شناسی جانوری تجربی، ۱۳(۵۲)، ۴۱-۵۴.

مقدمه

محیط زیست دریا از لحاظ تنوع زیستی و گونه‌های جدید میکروارگانیسمی و ماکروارگانیسمی بسیار غنی می‌باشد که می‌تواند به‌عنوان منبعی از انواع تولیدات جدید مورد بهره‌برداری قرار گیرد. پلیمرهای طبیعی جایگزین‌های امیدوارکننده‌ای برای پلیمرهای مصنوعی در ساخت مواد هستند. در نتیجه فناوری بیوپلیمر به پژوهش‌گران این امکان را می‌دهد که ویژگی‌های زیستی، فیزیوشیمیایی، مورفولوژیکی و مکانیکی پایه و کاربردی آن‌ها را بهتر درک کنند.

این مطالعه با هدف بررسی ویژگی‌های ساختاری و فیزیوشیمیایی کیتوزان استخراج‌شده از ضایعات پوسته میگو گونه *Penaeus merguensis* و صدف ماهی مرکب *Sepia pharaonis* و مقایسه آن‌ها صورت پذیرفته است که با توجه به افزایش تقاضای بازارهای جهانی برای غذاهای دریایی می‌توان از هدررفت ضایعات جلوگیری نمود. در این مطالعه بررسی می‌شود که آیا دو نمونه جانوری در شاخه‌های مختلف، با ساختارهای آهکی متفاوت، میزان پارامترهای کیتین و کیتوزان آن‌ها اختلافی دارد یا خیر. زیرا فرم بتاکیتین در صدف ماهی مرکب دارای پیوند هیدروژنی درون صفحه‌ای و ضعیفی است و فرم آلفاکیتین اسکلت خارجی سخت‌پوستان دارای یک ساختار غیرموازی با پیوندهای هیدروژنی قوی درون و بین صفحه‌ای است. از این‌رو، انتظار می‌رود به علت تفاوت ساختار مولکولی، اختلاف قابل مشاهده‌ای داشته باشند.

پیشینه پژوهش

پیشینه نظری

کیتین فراوان‌ترین بیوپلیمرها بعد از سلولز مطرح می‌باشد که یک پلی‌ساکارید طبیعی است که دارای ساختار بسیار متراکم و پیوند هیدروژنی قوی بوده و به‌طور برجسته در اسکلت خارجی سخت‌پوستانی مانند خرچنگ و میگو، کوتیکول حشرات، دیواره سلولی برخی از گروه‌های قارچی مانند Zygomycetes و برخی از جلبک و نامتودها یافت می‌شود (پنیچ، آرگولز-مانل و گویکولی، ۲۰۰۸؛ گورمد و همکاران، ۲۰۱۷). کیتین یک پلیمر طبیعی است که دارای واحد مونومری N-استیل D-گلوکزآمین است که توسط پیوندهای گلیکوزیدی β (۱-۴) به هم متصل شده است. کیتین به‌عنوان یک آمینو پلی‌ساکارید طبیعی به‌دلیل دارا بودن ساختار بی‌نظیر و عملکرد چندمنظوره به‌طور وسیعی در زمینه

صنایع پزشکی و دارویی مورداستفاده قرار می‌گیرد که از جمله خصوصیات بارز آن می‌توان به سازگاری زیستی بالا، زیست‌تخریب‌پذیری و غیرسمی بودن اشاره نمود (سوجانیا و همکاران، ۲۰۱۳). تخمین زده شده که تولید کیتین توسط گونه‌های مختلف میگو در سراسر جهان حدود ۵۱ میلیون تن در سال ۲۰۰۶ رسیده باشد (گارتز و همکاران، ۲۰۱۰). حلالیت پایین کیتین، مهم‌ترین عامل محدودکننده مصرف این بیوپلیمر محسوب می‌شود. با وجود این محدودیت، تاکنون کاربردهای زیادی از کیتین و مشتقات آن گزارش شده است که به‌دلیل وجود گروه‌های آمینی آزاد در طول زنجیره پلیمر و توانایی تشکیل کی‌لیت و حلالیت خوب در اسیدهای ضعیف جایگاه مناسبی را در بین پلی‌ساکاریدها به خود اختصاص داده است (پال و همکاران، ۲۰۱۴).

کیتوزان پلیمر ترکیبی D-گلوکز آمین که توسط پیوندهای گلیکوزیدی β (۱-۴) به هم متصل شده‌اند که در واقع اختلاف اصلی کیتین و کیتوزان درصد گروه‌های استیلی در ساختار شیمیایی آن‌هاست، به‌طوری‌که اگر درصد استیل گلوکز آمین بیش‌تر از ۵۰ درصد باشد، کیتین و اگر این میزان کم‌تر از نصف باشد، ترکیب حاصله کیتوزان است (نوری و همکاران، ۲۰۱۶). به‌دلیل محتوای گروه آمینه کیتوزان، خواص ساختاری، فیزیوشیمیایی و زیستی کیتوزان متفاوت است (کامیرسکا و همکاران، ۲۰۱۱). کیتوزان به‌عنوان یک بیوپلیمر همه‌کاره، در بسیاری از واکنش‌های شیمیایی به‌راحتی بار یونی مثبت تشکیل داده که توانایی اتصال شیمیایی با ترکیبات دارای بار منفی، چربی‌ها، کلسترولی، یون‌های فلزی، پروتئین و ماکرومولکول‌ها را افزایش می‌دهد (رینادو، ۲۰۰۶). عملکرد کیتوزان و الیگومرهای آن به‌دلیل خواص زیستی مختلف آن مانند آنتی‌اکسیدانی (یونس و رینودو، ۲۰۱۵)، ضدالتهابی (یانگ، ۲۰۱۰)، کاهش کلسترول (چوی و همکاران، ۲۰۱۲)، تقویت‌کننده سیستم ایمنی (جن و همکاران، ۲۰۱۲)، ضدسرطانی (اکسو و همکاران، ۲۰۱۲)، محافظت‌کننده عصبی (پانگستوتی و کیم، ۲۰۱۰)، ضد میکروبی (پارک و همکاران، ۲۰۱۵)، ضدقارچی (حسین و همکاران، ۲۰۱۲)، به‌عنوان داربست در مهندسی بافت و پر نمودن فضای ایمپلنت (آهینگ و وید، ۲۰۱۶)، عامل انعقادی (رینوکا و همکاران، ۲۰۱۹) و محافظت در برابر اشعه ماورای بنفش (وازکوئز و همکاران، ۲۰۲۱) شناخته شده‌اند که از این‌رو کیتوزان و الیگومرهای آن به‌عنوان یک جایگزین برجسته برای مواد پلیمری مصنوعی در بازار تجاری رو به رشد مطرح نموده است.

پیشینه تجربی

با توجه به افزایش تقاضای بازارهای جهانی برای غذاهای دریایی در سال‌های اخیر، میزان استفاده غذایی از این آبزیان مانند انواع گونه‌های مختلف میگو بسیار زیاد شده و سالیانه تقریباً شش تا هشت میلیون تن ضایعات سخت‌پوستان در سراسر جهان تولید می‌شود، به‌طوری‌که حدود ۴۰ درصد وزن میگو در هنگام فرآوری به‌عنوان ضایعات دورریز دارد (گارتتر و همکاران، ۲۰۱۰). استفاده صحیح از ضایعات پوسته میگو برای تبدیل کیتین به کیتوزان منجر به سود اقتصادی برای تولیدکنندگان می‌شود و سوای از آن با رهاسازی ضایعات میگو در محیط باز، آلودگی محیطی ناخواسته را کاهش می‌دهد (رینوکا و همکاران، ۲۰۱۹).

میگوی موزی، *Penaeus merguensis*، از مهم‌ترین گونه‌های میگو در خلیج فارس می‌باشد که حدود ۶۰ درصد از سهم صید میگوی استان هرمزگان را به خود اختصاص می‌دهد و بیش‌ترین تجمع را در غرب منطقه ایندوپاسیفیک دارند. میگوی موزی پس از سپری کردن مراحل لاروی وارد خوریاتی که دارای پوشش درختان حراست، می‌شود که این اکوسیستم‌ها محیط مساعدی از نظر تغذیه و حفاظت برای لاروها فراهم می‌آورند. ماهی مرکب ببری، *Sepia pharaonis*، یکی از ارزشمندترین گونه‌های تجاری کاتل‌فیش در غرب منطقه ایندوپاسیفیک و بومی منطقه خلیج فارس و دریای عمان بوده که بیش‌ترین میزان صید را در بین کاتل‌فیش‌ها به خود اختصاص می‌دهد. ماهی مرکب ببری یک گونه شکارچی فعال ساکن در آب‌های گرم منطقه نریتیک تا عمق ۱۳۰ متری پراکنش داشته و در فصل تخم‌ریزی به طرف ساحل مهاجرت کرده و در آب‌های کم عمق تجمع کرده که معمولاً در بسترهای ماسه‌ای و جلبکی یافت می‌شود (کشاورز، ۱۳۹۹: ۴۸-۴۶).

روش‌شناسی پژوهش

از ضایعات پوسته میگوی *P. merguensis* و صدف ماهی مرکب *Sepia pharaonis* گونه‌های غالب صیدشده در استان هرمزگان به‌عنوان نمونه استفاده شد. ضایعات به‌صورت تازه از بازار ماهی‌فروشان بندرعباس خریداری و همراه با یخ به آزمایشگاه منتقل گردید. سپس نمونه‌ها به‌صورت دستی از گوشت جدا و تا شروع مرحله شست‌وشو در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در مرحله شست‌وشو، پوسته‌ها با آب مقطر کاملاً شست‌وشو داده شد تا ضایعات گوشت و بقایای پروتئینی آن جدا گردد. به‌منظور استخراج شیمیایی کیتین، پس از شست‌وشوی اولیه، پوسته‌ها به‌مدت سه ساعت در آب و دمای ۶۵ درجه

سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس در آن قرار داده تا خشک شوند. پوسته‌ها سپس پودر شده و جهت استخراج کیتین آماده گردید. فرایند پروتئین‌زدایی نمونه‌ها در مقیاس آزمایشگاهی انجام شد که در مجموع ۳۰ گرم نمونه از ضایعات پودر پوسته میگو و صدف ماهی مرکب با ۲ مولار NaOH به نسبت ۱:۱۶ (w/v) اضافه شد و سپس به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند (کوماری و راث، ۲۰۱۴). در ادامه محلول‌های صاف‌شده و با آب مقطر شسته شدند تا pH پودرهای حاصله خنثی شود، پودرهای فیلتر شده و در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در آن خشک شدند و آب نمونه‌ها قبل از انجام فرایند معدنی‌زدایی به روش فیلتراسیون حذف شد (عرفات و همکاران، ۲۰۱۵). در ادامه کار جهت معدنی‌زدایی، با افزودن ۱ مولار HCl به نسبت ۱:۱۶ (w/v) انجام شد و اجازه داده شد به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگه داشته شود (پیوودا و همکاران، ۲۰۱۲) و سپس نمونه‌ها به‌مدت ۶-۸ ساعت در محیط آزاد خشک شدند که نمونه‌های خشک شده به‌عنوان کیتین شناخته می‌شود. به‌منظور رنگ‌زدایی، کیتین حاصله ابتدا با محلول‌های پرمگنات پتاسیم ۱ درصد و سپس اسید اگزالیک ۱ درصد هرکدام به‌مدت یک ساعت واکنش داده شده و سپس مخلوط حاصل فیلتر شده و با آب مقطر تا رسیدن به pH خنثی شست‌وشو داده شد (ین و همکاران، ۲۰۰۹). حذف گروه‌های استیل از کیتین به‌دست‌آمده از نمونه‌های موردبررسی با محلول NaOH ۱۲/۵ مولار (۱:۵ w/v) به‌مدت ۲۰ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد تیمار شد. باقیمانده NaOH با شست‌وشوی مکرر توسط آب حذف شد تا به pH خنثی برسد. کیتوزان به‌دست‌آمده در آن با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد هوای گرم به‌مدت چهار ساعت آبگیری شد (تان، ۲۰۰۹). برای تعیین درصد استیل‌زدایی، یک گرم نمونه کیتوزان تهیه‌شده از صدف ماهی مرکب ببری و پوسته میگو موزی با استفاده از دستگاه طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR) در طول موج ۴۰۰ تا 4000 cm^{-1} محاسبه شد که برای این منظور کیتوزان را به نسبت مشخص با برمید پتاسیم مخلوط و به‌صورت قرص‌هایی به ضخامت ۰/۲۵ میلی‌متر جهت خوانش جذب استفاده شد. جذب طبق رابطه (۱)، در طول موج‌های ۳۴۵۰ و 1655 cm^{-1} که نشان‌دهنده پیک جذبی گروه آمینی به‌عنوان مقدار گروه استیل و پیک جذبی هیدروکسیل می‌باشد (رینوکا و همکاران، ۲۰۱۹). سیگنال‌های طیفی در اسکن‌های ۳۶ تایی در دقت ۴ سانتی‌متر جمع‌آوری شدند و آنالیز داده‌ها به‌کمک برنامه نرم‌افزاری OMNIC 9 صورت گرفت. درصد استیل‌زدایی کیتوزان نیز به‌کمک رابطه (۲)، مورد محاسبه قرار گرفت.

لوله دوباره وزن شد و درصد ظرفیت باند کردن آب توسط کیتوزان محاسبه شد (نو و همکاران، ۲۰۰۰).

$$\text{رابطه ۶)} \quad 100 \times \frac{\text{ظرفیت باند کردن آب}}{\text{وزن نمونه}} = \text{گرم آب باند شده}$$

برای محاسبه ظرفیت باند کردن چربی توسط کیتوزان، ۱۰ میلی‌لیتر روغن سویا به یک لوله سانتریفیوژ با ۰/۵ گرم کیتوزان آماده‌شده اضافه و کاملاً مخلوط شد و سپس در دمای محیط برای ۳۰ دقیقه نگهداری شد، به‌طوری‌که هر ده دقیقه برای پنج ثانیه تکان داده شد. در ادامه به مدت ۲۵ دقیقه با ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و سپس مایع رویی را دور ریخته و لوله را وزن کرده و براساس رابطه زیر درصد ظرفیت باند کردن چربی توسط کیتوزان محاسبه شد (نو و همکاران، ۲۰۰۰).

$$\text{رابطه ۷)} \quad 100 \times \frac{\text{ظرفیت باند کردن چربی}}{\text{وزن نمونه}} = \text{گرم چربی باند شده}$$

پراش پرتو ایکس^۲ و اسکن میکروسکوپ الکترونی^۳

شناسایی مواد بلوری موجود براساس آزمایش پراش اشعه ایکس با استفاده از دستگاه XRD مدل Inel Equinox 3000 و با تابش $\text{CuK}\alpha$ صورت پذیرفت. شرایط تابش برای زاویه پراش 2θ بین ۱۰ تا ۷۰ درجه و شدت تابشی ۴۰ Kv و ۴۰ mA بود. مورفولوژی سطح و ریزساختار کیتوزان با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد مطالعه قرار گرفت که به‌منظور تحلیل سطحی استفاده شد.

تحلیل آماری

تمامی آزمایش‌ها در سه تکرار انجام و نتایج به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد گزارش شد. به‌منظور تعیین اختلاف معنی‌دار بودن، آنالیز داده‌ها به‌وسیله نرم‌افزار آماری SPSS استفاده از روش‌های آماری ANOVA و T-TEST در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ صورت پذیرفت.

یافته‌های پژوهش

نتایج

نتایج خواص فیزیکوشیمیایی کیتین و کیتوزان استخراج شده از دو منبع مورد بررسی نشان داد که بازده استخراجی کیتین و کیتوزان

$$\text{رابطه ۱)} \quad DA = ((A_{1655} / A_{3450}) * 100) / 1.33$$

$$\text{رابطه ۲)} \quad DDA(\%) = 100 - DA(\%)$$

به‌منظور اندازه‌گیری خاکستر کیتین و کیتوزان، دو گرم از هر ترکیب را درون بوتله‌چینی در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت سه ساعت حرارت داده شد و پس از خارج‌نمودن و خنک‌شدن نمونه‌ها، بوتله‌چینی را وزن کرده و از طریق رابطه (۳)، درصد خاکستر کل آن محاسبه شد (آ او آک، ۲۰۰۷):

$$\text{رابطه ۳)} \quad 100 \times \frac{\text{وزن خاکستر (گرم)}}{\text{وزن نمونه (گرم)}} = \text{درصد خاکستر کل}$$

به‌منظور تعیین محتوای رطوبتی دو گرم از نمونه‌های خشک‌شده در بوتله‌چینی در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت سه ساعت حرارت داده شد پس از خنک‌شدن نمونه‌ها و وزن کردن مجدد با استفاده از رابطه (۴)، محتوای رطوبتی مورد محاسبه قرار گرفت (آ او آک، ۲۰۰۷):

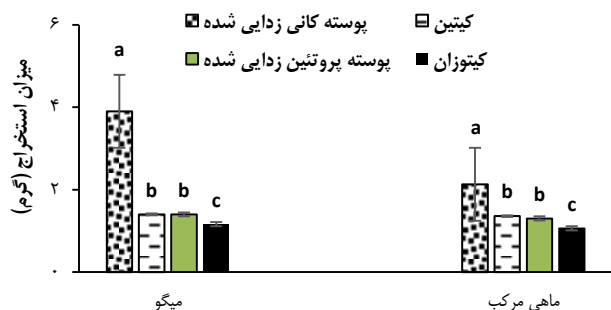
$$\text{رابطه ۴)} \quad \text{درصد رطوبت} = \frac{(W_2 - W_1)}{(W_2 - W_3)} \times 100$$

که در این رابطه، W_1 : وزن اولیه بوتله خالی، W_2 : وزن بوتله + نمونه خشک‌نشده و W_3 : وزن بوتله + نمونه خشک شده است. برای تعیین پارامتر وزن مولکولی کیتوزان به‌دست‌آمده برحسب کیلوالتون از روش اندازه‌گیری گرانیروی ذاتی (I) استفاده شد. در ابتدا نمونه‌های کیتوزان ۱ درصد (w/v) در محلول اسید استیک گلاسیال ۱ درصد حل شده و وزن مولکولی کیتوزان در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با استفاده از معادله مارک-هوونیک^۱ محاسبه شد (رابطه ۵) که در اینجا ضریب‌های K و a ثابت و به‌ترتیب برابر با $1/81 \times 10^{-3} \text{ cm}^3/\text{g}$ و ۰/۹۳ می‌باشند (کاسای، ۲۰۰۷):

$$\text{رابطه ۵)} \quad \eta = K(MW)^a$$

ظرفیت باند کردن آب و چربی توسط کیتوزان

به‌منظور محاسبه ظرفیت باند کردن آب، ۱۰ میلی‌لیتر آب به یک لوله سانتریفیوژ حاوی ۰/۵ گرم کیتوزان آماده‌شده اضافه شد و روی یک مخلوط‌کن برای یک دقیقه مخلوط شده و سپس در دمای محیط برای ۳۰ دقیقه نگهداری شد، به‌طوری‌که هر ده دقیقه برای پنج ثانیه تکان داده شد. آنگاه به مدت ۲۵ دقیقه در ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و مایع فوقانی را دور ریخته و



شکل ۱. مقایسه میانگین ترکیبات استخراجی در گونه‌های موردبررسی

در هر دو نمونه، میزان استخراج پوسته کانی‌زدایی شده دارای بیش‌ترین میانگین استخراجی بوده است (جدول ۲). همچنین جدول (۲)، نشان می‌دهد که میانگین استخراج کیتین و کیتوزان در گونه *P. merguensis* به ترتیب معادل ۱/۴۶ و ۰/۷ گرم و در گونه *Sepia pharaonis* به ترتیب ۱/۳۶ و ۱/۰۶ گرم بوده است و پوسته کانی‌زدایی‌شده در میگوی موزی و صدف ماهی مرکب ببری به ترتیب ۳/۹۳ و ۲/۱۳ گرم می‌باشد.

جدول ۲. مقایسه برخی از کمیت‌های استخراجی برای صدف ماهی مرکب ببری و پوسته میگوی موزی

گونه‌ها	پوسته کانی‌زدایی شده (گرم)	پوسته پروتئین‌زدایی (گرم)	کیتوزان (گرم)	کیتین (گرم)
<i>P. merguensis</i>	۳/۹۳±۰/۱۱	۱/۴۶±۰/۰۵	۰/۷۰±۰/۳۴	۱/۴۶±۰/۰۵
<i>S. pharaonis</i>	۲/۱۳±۰/۱۱	۱/۳۶±۰/۰۵	۱/۰۶±۰/۰۵۸	۱/۳۶±۰/۰۵

در طیف‌سنجی FTIR پهنای باند نمونه‌های *P. merguensis* و *S. pharaonis* به ترتیب ۳۴۵۳ و ۳۴۳۰ سانتی‌متر مشاهده شد که به ارتعاشات کششی O-H نسبت داده می‌شود. در نمونه *P. merguensis* نوار جذب قوی ۳۳۵۰ سانتی‌متر مربوط به ارتعاشات کششی N-H می‌باشد. در طیف مادون قرمز تبدیل فوریه پیک‌های مشخصه کربونیل را در نمونه‌های *P. merguensis* و *S. pharaonis* به ترتیب ۱۶۲۹/۲۵ و ۱۶۱۵ سانتی‌متر بوده و هم‌چنین در نمونه *P. merguensis* گروه آمید را در ۳۴۵۰/۶۵ سانتی‌متر که مربوط به ارتعاشات کششی متقارن است. پیک‌های جذبی ۱۰۴۸ و ۱۱۲۴ سانتی‌متر در نمونه *P. merguensis* (شکل ۲-ب) و پیک‌های جذبی ۱۰۵۰ و ۱۰۱۹ سانتی‌متر در نمونه *S. pharaonis* (شکل ۲-پایین) مربوط به ارتعاش کششی C-O بوده است. در این بررسی درصد استیل‌زدایی کیتوزان در گونه‌های *P. merguensis* و *S. pharaonis* به ترتیب ۶۶ و ۳۰/۵ درصد محاسبه شد.

پوسته میگو و صدف ماهی مرکب دارای روندی مشابه بوده و تفاوت معنی‌داری بین این دو گونه وجود نداشته است ($P > 0.05$). محتوای رطوبتی کیتین و کیتوزان بین پوسته میگو و صدف ماهی مرکب تفاوت معنی‌داری وجود داشته و در نمونه‌های صدف ماهی مرکب دارای بیش‌ترین محتوای رطوبتی بود ($P < 0.05$). با این‌حال، کیتوزان در هر دو منبع دارای محتوای رطوبتی مشابهی بود و اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$). بیش‌ترین تفاوت بین دو گونه در میزان خاکستر کیتین و کیتوزان مشاهده شد و نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین دو گونه می‌باشد ($P < 0.05$). میگوی موزی نسبت صدف ماهی مرکب ببری دارای بیش‌ترین میزان توده خاکستری در فرآورده‌های کیتین و کیتوزان بود. نتایج به‌دست‌آمده از ظرفیت باندکردن آب و چربی در کیتوزان نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری بین هر دو گونه موردبررسی بوده ($P < 0.05$) و کیتوزان استخراج‌شده از میگو موزی ظرفیت باندکردن چربی و آب بیش‌تری را نشان داد (جدول ۱). وزن مولکولی نمونه‌های کیتوزان به‌دست‌آمده از پوسته میگو موزی و صدف ماهی مرکب به ترتیب معادل ۲۶۰۰۰ و ۱۴۰۰۰ کیلودالتون به‌دست آمد.

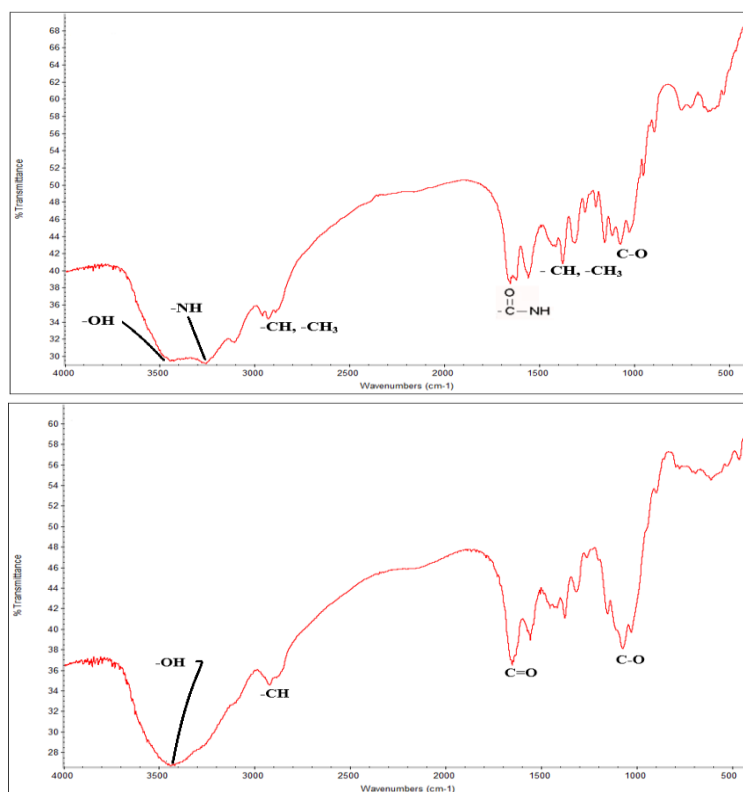
جدول ۱. مقایسه خصوصیات فیزیکوشیمیایی ترکیبات استخراجی از صدف ماهی مرکب ببری و پوسته میگوی موزی

کمیت	نمونه میگوی موزی		نمونه ماهی مرکب
	موزی	ببری	
	<i>P. merguensis</i>	<i>S. pharaonis</i>	
درصد بازده	۱۵	۱۴	کیتین
استخراجی	۱۲	۱۱	کیتوزان
درصد محتوای	۲۵	۴۱/۶۶	کیتین
رطوبتی	۵۰	۵۰	کیتوزان
درصد میزان	۸۹/۷	۱۸/۳	کیتین
خاکستر	۹۶/۵	۱۵/۴	کیتوزان
درصد ظرفیت باندکردن آب	۲۲۰	۲۰۶	
درصد ظرفیت باندکردن چربی	۳۱۰	۲۸۶	

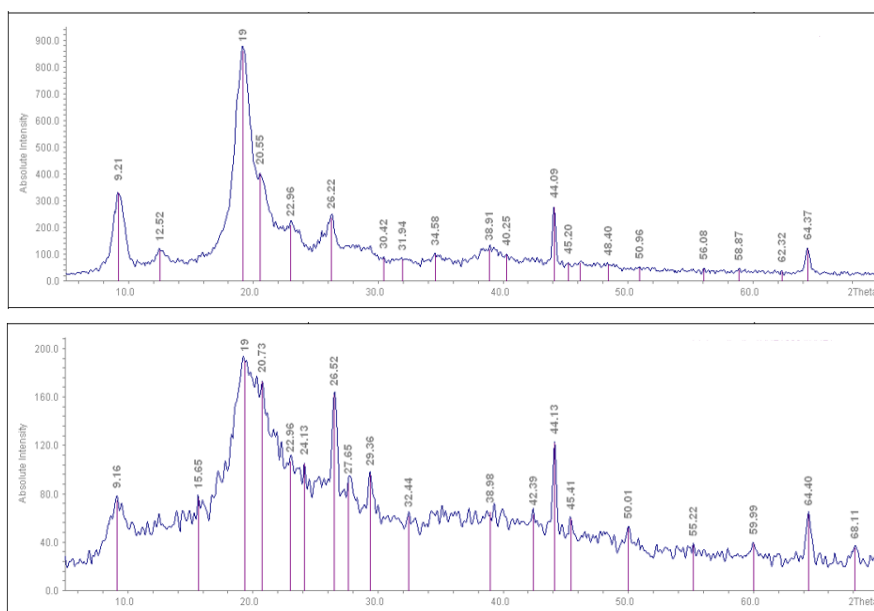
نتایج میزان استخراج برای گروه‌های کیتین، کیتوزان، پوسته کانی‌زدایی‌شده و پوسته پروتئین‌زدایی‌شده از دو منبع زیستی نشان داد که در بین نمونه‌های استفاده‌شده طبق شکل (۱)، هیچ کدامیک از متغیرهای بیان‌شده اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$).

گسترده در 2θ برابر است با ۱۰ و ۲۱ درجه که معمولاً مشخصه اصلی کیتوزان نیمه کریستالی بوده و برای گونه *S. pharaonis* پیک‌هایی در $9/67$ و $21/81$ درجه را نشان داد (شکل ۳).

آنالیز پراش اشعه ایکس XRD برای تأیید ماهیت پودر کیتوزان استخراج‌شده از گونه‌های مورد بررسی در شکل (۳) نشان می‌دهد که الگوی XRD کیتوزان برای گونه *P. merguensis* دارای پیک‌های پراکندگی



شکل ۲. خروجی FTIR برای میگو *P. merguensis* (بالا) و ماهی مرکب *S. pharaonis* (پایین)

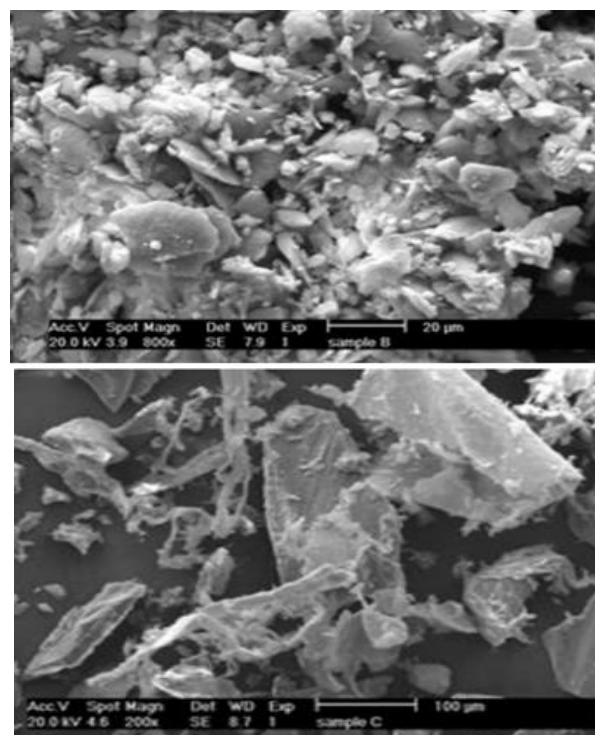


شکل ۳. طیف XRD کیتوزان استخراج‌شده برای میگو *P. merguensis* (بالا) و ماهی مرکب *S. pharaonis* (پایین)

آنتی‌اکسیدانی نیاز به بررسی‌های عمیق‌تری دارد (اکسو و همکاران، ۲۰۱۸). بهره‌گیری از پوسته خارجی غیرقابل مصرف در سخت‌پوستان که طی فرآوری این آبزیان جدا شده و درصد وزنی چشم‌گیری حتی در برخی موارد بیش از ۵۰ درصد را به خود اختصاص می‌دهند و با عنایت به افزایش تولید میگوی پرورشی در سطح کشور که در سال ۱۴۰۲ معادل ۶۱ هزار تن رسید (سایت مانا). در این مطالعه کیتوزان پوسته میگوی موزی و صدف ماهی مرکب ببری با روش شیمیایی استخراج و مقدار کیتین و کیتوزان حاصله نیز محاسبه گردید. میانگین درصد استحصال کیتین و کیتوزان در این مطالعه برای گونه *S. pharaonis* به ترتیب ۱/۳۶ و ۱/۰۶ درصد و در گونه *P. merguensis* به ترتیب ۱/۴۶ و ۰/۷ درصد محاسبه شد که در صورتی که در سایر گونه‌های میگو مانند *Metapenaeus stebbingi* و *Penaeus monodon* (کوکوگولمز و همکاران، ۲۰۱۱؛ هونگپاتاراکرو و رینفان، ۲۰۰۸) به ترتیب ۱۴/۶ و ۱۷ درصد گزارش شده است و هم چنین نتایج این بررسی نشان داد که میزان خاکستر کیتین و کیتوزان در پوسته میگو نسبت به صدف ماهی مرکب، بیش‌ترین مقدار بوده است. عبدالکریم و همکاران (۲۰۱۳) میزان بازده کیتوزان از ضایعات پوسته میگو ۱۵ درصد گزارش کردند و در مطالعه عیسی و همکاران (۲۰۱۲) معادل ۸/۱۵ درصد میزان تولید کیتوزان بیش‌تر بوده که این تفاوت می‌تواند به دلیل اختلاف در سن میگوهای باشد که نمونه‌برداری شده‌اند. میزان رطوبت کیتوزان گونه‌های میگو سفید هندی *Fenneropenaeus indicus*، خرچنگ گلی *Scylla serrata* و *Squilloides leptosquill* به ترتیب ۷/۵۶، ۷/۶۲ و ۷/۶۷ درصد بوده است که تغییر در میزان رطوبت ممکن است به دلیل فصل، اقلیم، شرایط ماده خام و روش نمونه‌برداری باشد (پارتیبیان و همکاران، ۲۰۱۷). در بررسی سرپلکشی، آکس و جوز (۲۰۲۲) درصد رطوبت نمونه‌های کیتوزان ۵/۲ تا ۱۲/۷ درصد بوده که نشان‌دهنده اختلاف متوسط در میزان رطوبت در کیتوزان جمع‌آوری‌شده از هر گونه است.

کیتوزان تحت تأثیر چند پارامتر، به‌ویژه مقدار رطوبت است. در مطالعه سرپلکشی و همکاران (۲۰۲۲) بر سه گونه میگو شامل سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*)، میگوی موزی (*F. merguensis*) و میگوی ببری (*F. monodon*) برای استخراج کیتوزان استفاده شد. نتایج نشان داد که بازده ضایعات پوسته بین ۴۶ تا ۵۰ درصد و کیتوزان بین ۱۸-۲۰/۲ درصد بوده است و محتوای رطوبت همیشه نقش مهمی در پایداری و ماندگاری کیتوزان ایفا می‌کند.

کیتوزان تهیه‌شده از ضایعات پوسته میگو و صدف ماهی مرکب با میکروسکوپ الکترونی روبشی به‌ترتیب با دامنه بزرگنمایی ۸۰۰ و ۲۰۰ برابر و ولتاژ شتاب‌دهنده ۲۰ کیلوولتی موردبررسی قرار گرفت. شکل میکروگراف SEM مورفولوژی کیتوزان تهیه‌شده از نمونه‌های بررسی‌شده را نشان می‌دهد. میکروگراف‌های پوسته میگو ناهمگن و غیرمسطح و به‌صورت ساختارهای میله‌ای شکل شکسته و کوتاه تشکیل شده را نشان دادند و مورفولوژی سطح کیتوزان تهیه‌شده از صدف ماهی مرکب سطحی صاف را با تعداد کمی ساختار بزرگ‌تر و سنگ مانند روی آن مشاهده شد (شکل ۴).



شکل ۴. میکروسکوپ الکترونی روبشی مربوط به (راست)، پوسته میگو موزی و (چپ) صدف ماهی مرکب ببری

بحث

استفاده از ضایعات حاصل از آبزیان و در کنار آن بهره‌وری از آبزیان کم مصرف یا حتی بدون مصرف در ایران به‌منظور تولید کیتین و کیتوزان و مشتقات آن‌ها به‌منظور استخراج این مواد با ارزش، اخیراً مورد توجه قرار گرفته است. خواص جالب کیتوآلیگوساکاریدهای استخراجی از آبزیان و سایر منابع کیتینی در مورد برخی از خواص زیستی از جمله ویژگی‌های ضدالتهابی، انعقادی خون، کاهندگی فشارخون و سطوح کلسترول در حال انجام بوده و در مورد خواص آنتی‌دیابتی، ضدسرطانی و

در پوسته میگوی *Parapeneopsis styliifera* پیک حدود ۲۸۸۲ سانتی‌متر نشان‌دهنده حضور گلوکز آمین در کیتوزان بوده است و پیک امید I موجود در ۱۶۵۳ سانتی‌متر نشان‌دهنده کشش C=O در کیتوزان بوده و به‌طور عمده به‌دلیل پیوند هیدروژنی است (رینوکا و همکاران، ۲۰۱۹). ضایعات پوسته میگو طیف FTIR به‌دست آمده برای کیتوزان تولید شده، نوارهای جذبی برای گروه آمینو آزاد بین ۱۰۸۶ تا ۱۲۵۴ سانتی‌متر و هم‌چنین باندهایی را نشان داد (آهینگ و وید، ۲۰۱۶) که توسط ژو و همکاران (۲۰۰۸) نیز گزارش شده است که در آن همانند پیک‌های آمینی مشخصه قوی کیتوزان در ۱۶۵۵، ۳۴۲۰ و ۱۳۲۵ سانتی‌متر است.

نسبت بین گلوکز آمین و N-استیل گلوکز آمین را درجه استیل‌زدایی می‌گویند. تبدیل کیتین به کیتوزان با مقدار تشکیل محتوای گلوکز آمین تعیین شد. بنابراین، هرچه محتوای گلوکز آمین بیش‌تر باشد، درجه استیل‌زدایی کیتوزان بیش‌تر می‌شود. گروه‌های استیل می‌باید توسط هیدرولیز پلی‌ساکارید حذف گردند که این فرایند نیازمند به‌کارگیری روش‌های قلیایی جهت استیل‌زدایی می‌باشد. این فرایند شامل حذف گروه‌های استیل از کیتین بوده که در ناحیه پشتی یک گروه آمینی کامل قرار دارد (کوماری و همکاران، ۲۰۱۶). گروه‌های استیلی متصل در کیتین به سختی حذف می‌گردند که نیازمند مقادیر بالای غلظت سدیم/پتاسیم هیدروکسید، دماهای بالا و زمان مناسب می‌باشد. در مطالعه حاضر کیتوزان با درجه استیل‌زدایی کیتوزان در گونه‌های *P. merguiensis* و *S. pharaonis* به‌ترتیب ۶۶ و ۳۰/۵ درصد به‌دست آمد. برخی از مقالات (ریناودو، ۲۰۰۶؛ کوماری و همکاران، ۲۰۱۶) گزارش کردند که استحصال کیتوزان با درجه بیش‌تر استیل‌زدایی به غلظتی در حدود ۶۰ درصد نیاز دارد که داده‌های مطالعه حاضر با نتایج این بررسی‌ها همخوانی دارد.

تسای و چن (۲۰۰۳) پی بردند که تأثیر دما و زمان پردازش بر خصوصیات کیتوزان پلیمری اثر قابل توجهی بر درجه استیلاسیون و وزن مولکولی داشته و خواص فیزیکوشیمیایی کیتین با تاکسونومی و حتی از بخش‌های مختلف بدن مرتبط است. تولید کیتوزان ممکن است با از دست‌دادن جرم یا وزن نمونه با حذف گروه‌های استیل پلیمر در حین استیل‌زدایی یا به‌دلیل پلیمراسیون کیتوزان تأثیر داشته باشد. کیتوزان ماهیتی مرطوب داشته، زیرا گروه‌های شیمیایی در ساختار کیتوزان می‌توانند پیوند هیدروژنی با آب تشکیل دهند (سزیمانسکا و وینیگا، ۲۰۱۵). فرایند معدنی‌زدایی بیش‌ترین اثر را بر

در بررسی میگوی *Penaeus monodon* میزان رطوبت کیتوزان بین ۱/۲۵-۱/۲۸ درصد در نوسان بوده و بررسی نشان می‌دهد که میزان رطوبت کیتوزان باید کم باشد تا از آسیب پلیمر جلوگیری شود (عمر و همکاران، ۲۰۲۲). مهم‌ترین پارامتر فیزیکوشیمیایی، زیستی و مکانیکی مربوط به کیتوزان، درجه استیلاسیون این ماکرومولکول می‌باشد. بنابراین قبل از استفاده از کیتوزان در هر زمینه‌ای، لازم است برخی از شرایط واکنشی به‌منظور دستیابی به بهترین نتایج در نظر گرفته شود.

دستگاه FTIR روشی به‌منظور شناسایی ترکیبات آلی و گروه‌های عاملی آن‌ها مطرح می‌باشد که می‌توان پیوندهای کووالانسی لیگاندهای مختلف را شناسایی کند. در این مطالعه آنالیز FTIR پهنای باند در نمونه‌های *P. merguiensis* و *S. pharaonis* به‌ترتیب ۳۴۵۳ و ۳۴۳۰ سانتی‌متر مشاهده شد که به ارتعاشات کششی O-H نسبت داده می‌شود. در نمونه *P. merguiensis* نوار جذب قوی ۳۳۵۰ سانتی‌متر مربوط به ارتعاشات کششی N-H می‌باشد. در طیف مادون قرمز تبدیل فوریه پیک‌های مشخصه کربونیل را در نمونه‌های *P. merguiensis* و *S. pharaonis* به‌ترتیب ۱۶۲۹/۲۵ و ۱۶۱۵ سانتی‌متر بوده است. پیک‌های جذبی ۱۰۴۸ و ۱۱۲۴ در نمونه *P. merguiensis* و پیک‌های جذبی ۱۰۵۰ و ۱۰۱۹ سانتی‌متر در نمونه *S. pharaonis* مربوط به ارتعاش کششی C-O بوده است. در پوسته میگو *Crangon crangon* آنالیز FTIR نشان داد که دو باند مجزا در نواحی ۱۶۶۲-۱۶۳۰ سانتی‌متر بوده که حضور آلفا کیتین در پوسته میگو را تأیید کرده و پیک مشاهده شده در ۱۵۵۵ سانتی‌متر مربوط به خمش N-H باند امید II مربوط به -CONH- بوده درحالی‌که نوار امید I در ۱۶۵۵ سانتی‌متر تأیید شد (کوماری و همکاران، ۲۰۱۶). در بررسی بودوآیی و همکاران (۲۰۱۹) یک نوار ارتعاشی کششی در کیتوزان‌های استخراجی در ۹۰ درجه سانتی‌گراد در محدود ۳۲۰۰-۳۴۵۰ سانتی‌متر را نشان داد که مربوط به NH و OH است. نوارهای جذب عمده بین ۱۲۰۰ و ۱۰۰۰ سانتی‌متر به‌دلیل وجود آمین آزاد در موقعیت C2 گلوکز آمین موجود در کیتوزان نسبت داده می‌شود.

در ضایعات پوسته میگوی عراقی جذب گروه امید تقریباً در ۱۶۵۵ سانتی‌متر بوده و به‌عنوان گروه N-استیل نشان می‌دهد، درحالی‌که نوار ۳۴۵۰ سانتی‌متر نشان‌دهنده گروه هیدروکسیل است (سالمن و همکاران، ۲۰۱۸) و وزن مولکولی کیتوزان ۱۰۲/۵ کیلوالتون بود.

گروه‌های استامیدی دارد، به‌طوری‌که طی این فرایند با افزایش درجه استیل‌زدایی، گروه‌های آمینی افزایش یافته و در نهایت منجر به افزایش خاصیت پلی‌کاتیونی بیوپلیمری کیتوزان شده و در نهایت ماهیت لخته‌کنندگی و کلاته کردن کیتوزان حاصل افزایش می‌یابد. درصد استیل‌زدایی کیتوزان در گونه‌های *Penaeus monodon* به‌ترتیب ۶۸/۳۸، ۹۵/۲ و ۸۸/۶-۸۶/۲ درصد مورد محاسبه قرار گرفت (موسوی‌نسب و همکاران، ۱۳۹۳؛ آلترازی و مری، ۲۰۲۲؛ تان، ۲۰۰۹).

درجه استیل‌زدایی کیتوزان یکی از مهم‌ترین پارامترهاست، زیرا از آن می‌توان برای تعیین کیفیت کیتوزان تولیدشده در جایی که بر خواص شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیکی کیتوزان مانند جذب، پیوند کووالانسی و کپسولاسیون تأثیر می‌گذارد، استفاده کرد (پووادا و همکاران، ۲۰۱۲). نسا و همکاران (۲۰۱۰) گزارش داد که مقدار درجه استیل‌زدایی به‌دست‌آمده از ۴۵ تا ۷۳ درصد متغیر بود، اگرچه زمان طولانی‌تری برای فرایند استیل‌زدایی یک بار انجام شد. مطالعه دیگری توسط عبدو و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کرد که مقدار درجه استیل‌زدایی کیتوزان با انجام دی‌استیل‌اسیون تا ۹۰ درصد بود، درحالی‌که الصغیر و همکاران (۲۰۰۹) گزارش دادند که کیتوزان درجه استیل‌زدایی به‌دست‌آمده از ضایعات پوسته میگو در خلیج فارس با استفاده از روش سنتی بین ۹۴-۸۸ درصد متغیر است.

ماهیت فرایند انحلال کیتوزان در اسید رقیق به این دلیل است که گروه عاملی آمین موجود در زنجیره مولکولی آن با پروتون‌های هیدروژن موجود در محلول آبی ترکیب می‌شود و آن را به یک پلی‌الکترولیت با بار مثبت تبدیل می‌کند. از این رو، وجود کاتیون‌ها، پیوندهای هیدروژنی اصلی بین مولکول‌های کیتوزان را از بین می‌برد و موجب حل شدن آن‌ها در آب می‌شود. افزون بر آن، حلالیت کیتوزان تحت تأثیر وزن مولکولی و درجه استیل‌زدایی آن است. به‌طور کلی، هرچه درجه استیل‌زدایی کیتوزان بالاتر باشد، درجه پروتون‌دار شدن گروه‌های عاملی آمین در زنجیره مولکولی بالاتر است و راحت‌تر حل می‌شود. هرچه وزن مولکولی کیتوزان بزرگ‌تر باشد، تعداد زیادی پیوند هیدروژنی درون و بین مولکولی در زنجیره بسپاری آن تشکیل می‌شود و زنجیره‌های مولکولی آن با یکدیگر درهم‌پیچیده می‌شوند و حل شدن آن‌ها دشوار است (زرگر و همکاران، ۲۰۱۵).

ظرفیت باندشدن آب و چربی یک ویژگی فیزیکی است که بر ویژگی‌های عملکردی کیتوزان تأثیر می‌گذارد. جذب چربی بیش‌تر یک پدیده فیزیکی است، به‌طوری‌که ترکیبات و

بیوپلیمرهای موجود در نمونه باعث محبوس‌شدن و به دام افتادن قطرات چربی در داخل خود می‌شوند. طی پژوهشی که نو و همکاران (۲۰۰۰) انجام دادند محدوده ظرفیت باندشدن آب و چربی را به‌ترتیب ۳۵۵-۶۱۱ و ۲۱۷-۴۷۷ درصد گزارش نمودند و طبق این پژوهش ظرفیت اتصال چربی با پژوهش حاضر همخوانی دارد. در مطالعه موسوی‌نسب و همکاران (۱۳۹۳) بر روی ارزیابی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی کیتوزان استخراجی از پوسته میگو با کیتوزان تجاری از پوسته خرچنگ انجام شد ظرفیت جذب آب و چربی به‌ترتیب برای کیتوزان تولیدی ۷۰۲/۵ و ۵۴۶/۵۷ درصد بود. ظرفیت باندشدن آب در کیتوزان نیز ممکن است تحت تأثیر تفاوت‌های کریستالینیتی، دسترس‌بودن گروه‌های تشکیل‌دهنده نمک، پروتئین باقی‌مانده موجود در کیتوزان و ویسکوزیته باشد، به‌طوری‌که کاهش ویسکوزیته کیتوزان ممکن است عامل ظرفیت پیوند چربی کم‌تر باشد (روت، ۲۰۰۰).

در بررسی کوماری، راث و کومار (۲۰۱۶) کیتوزان توسط فرایند N-استیل‌اسیون قلیایی کیتین میگو (*Crangon crangon*) و کیتین ماهی (*Labeo rohita*) تهیه شد و خواص فیزیکی و شیمیایی مانند درجه استیل‌زدایی، حلالیت، ظرفیت اتصال به آب، ظرفیت اتصال چربی و عملکرد کیتوزان نشان داده است که ضایعات پوسته میگو و فلس ماهی منابع خوبی برای کیتوزان هستند. مقدار درجه استیل‌زدایی کیتوزان پوسته میگو و فلس ماهی به‌ترتیب ۸۰ و ۸۴ درصد و شاخص کریستالی پوست ماهی و میگو به‌ترتیب ۸۴ و ۸۲ درصد به دست آمد. ظرفیت پیوند چربی کیتوزان ماهی و کیتوزان میگو به‌ترتیب ۲۲۶ و ۲۴۶ درصد بوده و مشخص شد که ویژگی‌های کیتوزان استخراج شده به منبع و درجه استیل‌زدایی بستگی دارد. در بررسی سلمان، یولایی و کایس (۲۰۱۸) ظرفیت باندشدن کیتوزان به آب ۱۹۷/۴ درصد بوده و در بررسی رینوکا و همکاران (۲۰۱۹) بر ضایعات پوسته میگو *Parapeneopsis stylifera* ظرفیت باندشدن کیتوزان به آب و چربی به‌ترتیب ۶۳۷/۳۳ و ۳۳۱/۲۸ درصد بود. نتایج بررسی آهینگ و وید (۲۰۱۶) نشان داد که با دو بار تکرار استیل‌زدایی می‌توان کیتوزان با حلالیت بهتری تولید شود. نو و همکاران (۲۰۰۰) گزارش دادند که خصوصیات فیزیکی‌شیمیایی کیتین و کیتوزان بر خواص عملکردی آن‌ها اثر دارد و براساس گونه‌ها و شرایط تولیدی متفاوت می‌باشد. افزایش در ظرفیت باند کردن آب در کیتوزان زمانی دیده می‌شود که کانی‌زدایی قبل از پروتئین‌زدایی و پس از استیل‌زدایی انجام گرفته باشد. اما اگر پروتئین‌زدایی قبل از کانی‌زدایی انجام گیرد، افزایش در ظرفیت

۲۰/۷۲ درجه مطابقت خوبی با الگوهای XRD کیتوزان جدا شده از سایر موجودات مانند خرچنگ و حشرات که گزارش شده، دارد (ین و همکاران، ۲۰۰۹).

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

جمع‌بندی و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد بازده استخراجی کیتین و کیتوزان میگو و ماهی مرکب نتایج مشابه دارد و تفاوت معنی‌داری ندارد. درصد رطوبت و خاکستر کیتین و کیتوزان استخراج شده با سایر مطالعات تطابق دارد. کیتوزان به دست آمده دارای درجه استیل‌زدایی مطابق با پژوهش‌هاست. همچنین، درصد استخراج، درصد رطوبت و خاکستر کیتوزان استخراجی از پوسته میگو نیز با سایر مطالعات مطابقت دارد. نتایج آزمون FTIR روی کیتین و کیتوزان استخراج شده از پوسته میگو نشان داد که حذف مواد پروتئینی، معدنی و چربی‌ها با به‌کارگیری کلریدریک‌اسید، کلیسم هیدروکسید و اتانول مناسب است.

از دیگر یافته‌های این پژوهش آن است که وزن مولکولی کیتوزان در گونه میگوی *P. merguensis* و ماهی مرکب *S. pharaonis* به‌ترتیب ۲۶۰۰۰ و ۱۴۰۰۰ کیلودالتون و درجه استیل‌زدایی به‌ترتیب ۶۶ و ۳۰/۵ درصد بوده است که بیانگر آن است که کیتوزان استخراجی از پوسته میگو موزی نسبت به صدف ماهی مرکب دارای خلوص و کیفیت بهتری است. زیرا این دو پارامتر، پارامترهای مهمی در تعیین کیفیت نمونه کیتوزان است.

از آن جایی که محصولات کیتوزانی استخراج‌شده طبیعی با ماندگاری طولانی بسیار پایدار است، لذا استفاده از این پلیمرهای زیستی در کاربردهای امیدوارکننده‌ای مانند ترمیم زخم، مواد نگهدارنده مواد غذایی، تصفیه فاضلاب، سیستم‌های تحویل دارویی پروتئینی مفید است. بنابراین، ضایعات کیتینی منبع مهمی برای تهیه این پلیمرهای زیستی است، از این‌رو برای کاربردهای زیست‌پزشکی، صنایع غذایی و صنایع توصیه می‌شود. همچنین استفاده از ضایعات پوسته میگو برای تولید کیتین و کیتوزان ارزش اقتصادی و بیولوژیکی بیش‌تری دارد که باعث کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی خواهد شد.

پیشنهادها

ضایعات میگو با توجه به کاربردهای متنوع و خواص بی خطر کیتوزان می‌تواند ارتباط علم و صنعت را در این زمینه فراهم کند

باندکردن آب ایجاد نمی‌شود و در مطالعات آن‌ها ظرفیت باندکردن چربی کیتوزان ۴۰۳-۲۱۷ درصد بوده است. چو، نو و میرز (۱۹۹۸) دریافتند که ظرفیت باندکردن آب و چربی رابطه مستقیمی با میزان خاکستر و رابطه معکوس با دانسیته حجمی دارد و وجود آب جذب‌شده تأثیر قابل‌توجهی بر خواص جریان و تراکم‌پذیری فرمولاسیون‌های جامد مبتنی بر کیتوزان دارد (نو و پریناویواتکول، ۲۰۰۹). هنگامی که میزان رطوبت مواد در طول ذخیره‌سازی تغییر می‌کند، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و مکانیکی سیستم‌های مبتنی بر کیتوزان ممکن است متفاوت باشد. برای بررسی ساختار آلفا کیتین، تحلیل پراش اشعه ایکس مورد استفاده قرار می‌گیرد. همان‌طور که مشخص گردیده است هر دو نمونه پیک‌های شاخص کیتوزان را به‌خوبی نشان می‌دهند. الگوهای پراش اشعه ایکس کیتوزان نیز در ۲θ پیک‌هایی در ۹/۶۷ و ۲۱/۸۱ درجه که مطابقت بسیار خوبی را در هر روش جهت تأیید استحصال کیتوزان نشان می‌دهد. طبق بررسی‌ها دو پیک مشخصه و اصلی کیتوزان در ۲θ حدود ۱۰ و ۲۰ درجه به‌ترتیب مربوط به گروه آمین I ($-N-CO-CH_3$) و گروه آمین II (NH_2) در پراش همه نمونه‌ها وجود دارد. هرچه تعداد پیک‌های سریع در الگوی XRD بیش‌تر شود نشانه تغییر آرایش مولکولی در کیتوزان می‌باشد (خوئونیسا و همکاران، ۲۰۲۱).

کیتوزان آماده‌شده در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد دو پیک اصلی در ۲θ در حدود ۳۰ و ۴۰ درجه و دو پیک کوچک در حدود ۹-۱۰ درجه و ۲۱-۲۰ درجه نشان داد که حضور ساختارهای کیتین مختلف منعکس کرده در حالی کیتوزان آماده‌شده در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد دو پیک اصلی در ۱۰ و ۲۰ درجه نشان داد که میزان بلورینگی با استیل‌زدایی افزایش می‌یابد. الگوی XRD کیتوزان پیک‌های پراش گسترده در ۲θ برابر ۱۰ و ۲۰ درجه در این بررسی مشاهده شد (بودایی و همکاران، ۲۰۱۹).

در مطالعه گارتر، پلاز و لویز (۲۰۱۰) در ضایعات پوسته میگو *Penaeus vannamei* دارای چهار بازتاب کریستالی اصلی در ۲θ بین ۵ تا ۵۰ درجه مشاهده شد و شدت بازتاب در ۲θ برابر ۱۱۰ درجه برای کیتین استخراج شد. در مطالعه کوماری و همکاران (۲۰۱۶) الگوهای XRD نمونه‌های کیتوزان استخراج‌شده از دو منبع پوسته میگو *Crangon crangon* و فلس‌های ماهی *Labeo rohita* در مقادیر ۲θ به‌ترتیب در حدود ۱۹-۲۵ و ۳۲-۲۹ درجه نشان دادند. تجزیه XRD کیتوزان پوسته میگو پیک‌های مشخصه متفاوتی را در مقادیر ۲θ نشان دادند که شامل ۱۹/۵، ۲۹/۵۲ و ۳۲/۲۱ درجه بوده است. دو پیک کیتوزان استخراج شده از پوسته میگو در ۱۰/۵۷ و

۲- به جای دفع، کارخانه فرآوری میگو می‌تواند با معرفی خط فرایند ساده برای محصولات، سود قابل توجهی کسب کند؛

۳- بازیافت مؤثر زباله می‌تواند به توسعه یک سیستم مدیریت زباله سازگار با محیط زیست برای بهبود بهداشت گیاهان و به حداقل رساندن آلودگی محیط زیست کمک کند.

به‌علاوه پیشنهاد می‌شود با فراهم‌نمودن زمینه همکاری بین رشته‌ای به‌ویژه رشته‌های پزشکی خلأ موجود استفاده از این موجودات در پزشکی پر کرده و در زمینه مهندسی بافت از این پتانسیل دریایی موجود در کشور استفاده نمود. همچنین پیشنهاد می‌شود که گونه‌های بیش‌تری با تفکیک انواع گونه‌ای در بازه‌های زمانی طولانی‌تری موردبررسی قرار گیرد تا اثرات اقلیمی بر روی فعالیت کیتین و کیتوزان مشخص گردد و زمان استخراج فرآورده به دقت جهت بیش‌ترین سودآوری مشخص شود.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

تا از این نعمت خدادادی به نحو احسن استفاده نمود. از آنجایی که ضایعات میگو در مقایسه با ماهی مرکب مقدار بسیار زیادی پروتئین دارند، دامنه استفاده از آن‌ها قابلیت گسترش دارد به‌طوری‌که می‌توان در غذای دام یا انسان استفاده کرد. با توجه به وجود کارخانه‌های بسته‌بندی و عمل‌آوری میگو در استان‌های ساحلی، می‌توان به‌منظور استفاده از ضایعات پوسته میگو در مجاورت این صنایع، تولید و بهره‌برداری صنعتی کیتوزان را به‌عنوان یک محصول جانبی مطرح نموده تا پتانسیل بالقوه‌ای جهت جذب سرمایه در این زمینه شناخته شود.

این مطالعه به‌خوبی ثابت می‌کند که می‌توان کیتین و کیتوزان را در کارخانه‌های فرآوری میگوی موجود در کشور با نوسازی ساده تولید کرد. از این رو به دلایل زیر می‌تواند برای کشور منفعت و داشته باشد:

۱- کشور می‌تواند با صادرات کیتین و کیتوزان، مقدار قابل‌توجهی ارز خارجی کسب کند یا با کاهش واردات آن‌ها، در هزینه‌های ارزی صرفه‌جویی کند؛

منابع

- کشاورز، موسی (۱۳۹۹). *گونه‌های سپیاهای اقیانوسی*. انتشارات دانشگاه هرمزگان، ۱۱۷ صفحه.
- موسوی‌نسب، مرضیه؛ موسوی‌نسب، سحرالسادات؛ مصباحی، غلامرضا و جمالیان، جلال (۱۳۹۳). ارزیابی خصوصیات کیفی کیتوزان تولیدی از پوسته میگو و کیتوزان تجاری پوسته خرچنگ. *فصلنامه علوم و صنایع غذایی*. ۴۵ (۱۱)، ۱۷۴-۱۶۳.
- Abdou, E. S., Nagy, K. S., & Elsabee, M. Z. (2008). Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. *Bioresource technology*, 99(5), 1359-1367.
- Abdulkarim, A., Isa, M. T., Abdulsalam, S., Muhammad, A. J., & Ameh, A. O. (2013). Extraction and characterisation of chitin and chitosan from mussel shell. *Civil and Environmental Research*, 3(2), 108-114.
- Ahing, F. A., & Wid, N. (2016). Optimization of shrimp shell waste deacetylation for chitosan production. *International Journal of advanced and applied sciences*, 3(10), 31-36.
- Al Sagheer, F. A., Al-Sughayer, M. A., Muslim, S., & Elsabee, M. Z. (2009). Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf. *Carbohydrate polymers*, 77(2), 410-419.
- Alterary, S. S., & Marei, N. H. (2022). New isolated shrimp (*Litopenaeus setiferus*) chitosan-based films loaded with fly ash for antibacterial evaluation. *Polymers*, 14(10), 2099.
- AOAC, (2007). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry (A.O.A.C.) International*, 18th Ed., Gaithersburg, Maryland, USA
- Arafat, A., Samad, S. A., Masum, S. M., & Moniruzzaman, M. (2015). Preparation and characterization of chitosan from shrimp shell waste. *International journal of scientific & engineering research*, 6(5), 538-541.
- Boudouaia, N., Bengharez, Z., & Jellali, S. (2019). Preparation and characterization of chitosan extracted from shrimp shells waste and chitosan film: application for Eriochrome black T removal from aqueous solutions. *Applied Water Science*, 9(4), 91.
- Cho, Y.I., No, H. K., & Meyers, S. P. (1998). Physicochemical characteristics and functional properties of various commercial chitin and chitosan products. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 46:3839-3843.
- Choi, C. R., Kim, E. K., Kim, Y. S., Je, J. Y., An, S. H., Lee, J. D., & Park, P. J. (2012). Chit oligosaccharides decreases plasma lipid levels in

- Gartner, C., Peláez, C. A., & López, B. L. (2010). Characterization of chitin and chitosan extracted from shrimp shells by two methods. *e-Polymers*, 10(1), 069.
- Ghormade, V., Pathan, E.K., & Deshpande, M.V. (2017). Can fungi compete with marine sources for chitosan production?, *International Journal of Biological Macromolecules*, 104, 1415-1421.
- Hongpattarakere, T., & Riyaphan, O. (2008). Effect of deacetylation conditions on antimicrobial activity of chitosans prepared from carapace of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Songklanakarin Journal of Science & Technology*, 30(Suppl. 1), 1-9.
- Hussain, I., Singh, T., & Chittenden, C. (2012). Preparation of chitosan oligomers and characterization: Their antifungal activities and decay resistance. *NZ Forest Research Institute*, 66: 119-125.
- Isa, M.T., Ameh, A. J., Gabreil, J. O., & Adama, K. K. (2012). Extraction and characterization of chitin from Nigeria sources. *Leonardo Electronic Journal of Practices and Technologies*, 21, 73-81.
- Jan, S. S., Liu, D. C., Dong, X. Y., Hu, Y. M., & Chen, J. D. (2012). Effects of chitosan and its derivative added to water on immunological enhancement and disease control. *Immunotherapy*, 4(7), 697-701.
- Kasaai, M. R. (2007). Calculation of Mark-Houwink-Sakurada (MHS) equation viscometric constants for chitosan in any solvent-temperature system using experimental reported viscometric constants data. *Carbohydrate Polymers*, 68(3), 477-488.
- Keshavarz, M. (2020). *Species of oceanic sepien*. 1st Ed., University of Hormozgan. Bandar Abbas. 117 pp. (In Persian)
- Khoerunnisa, F., Yolanda, Y. D., Nurhayati, M., Zahra, F., Nasir, M., Opaprakasit, P., Choo, M. Y., & Ng, E. P. (2021). Ultrasonic Synthesis of Nanochitosan and Its Size Effects on Turbidity Removal and Dealkalization in Wastewater Treatment. *Inventions*, 6(4), 98.
- Kucukgulmez, A., Celik, M., Yanar, Y., Sen, D., Polat, H., & Kadak, A.E. (2011). Physicochemical characterization of chitosan extracted from *Metapenaeus stebbingi* shells. *Food Chemistry*, 126(3), 1144-1148.
- Kumari, S., & Rath, P. K. (2014). Extraction and characterization of chitin and chitosan from (*Labeo rohita*) fish scales. *Procedia Materials Science*, 6, 482-489.
- healthy men. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(1), 103-106.
- Kumirska, J., Weinhold, M. X., Thöming, J., & Stepnowski, P. (2011). Biomedical activity of chitin/chitosan based materials-Influence of physicochemical properties apart from molecular weight and degree of N-acetylation. *Polymers*. 3, 1875-1901.
- Mousevi nasab, M., Mousevi nasab, S. S., Mesbahi, G. H., & Jamalian, J. (2014). Evaluation of the quality characteristics of chitosan produced from shrimp shell and commercial chitosan from crab shell. *Journal of Food Science and Technology*, 45(11), 163-174. (In Persian)
- Nessa, F., Masum, S. M., Asaduzzaman, M., Roy, S. K., Hossain, M. M., & Jahan, M. S. (2010). A process for the preparation of chitin and chitosan from prawn shell waste. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*, 45(4), 323-330.
- No, H. K., & Prinyawiwatkul, W. (2009). Stability of chitosan powder during long-term storage at room temperature. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(18), 8434-8438.
- No, H. K., Cho, Y. I., Kim, H. R., & Meyers, S. P. (2000). Effective deacetylation of chitin under conditions of 15 psi/121°C. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48(6), 2625-2627.
- Nouri, M., Khodaiyan, F., Razavi, H. S., & Mousavi, M. (2016). Improvement of chitosan production from Persian Gulf shrimp waste by response surface methodology. *Food Hydrocolloids*, 59, 50-58.
- Omar, B. A., Elmasry, R., Eita, A., Soliman, M. M., El-Tahan, A.M., & Sitohy, M. (2022). Upgrading the preparation of high-quality chitosan from *Procambarus clarkii* wastes over the traditional isolation of shrimp chitosan. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(2), 911-919.
- Pal, J., Verma, H. O., Munka, V. K., Maurya, S. K., Roy, D., & Kumar, J. (2014). Biological method of chitin extraction from shrimp waste an eco-friendly low cost technology and its advanced application. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 1(6), 104-107.
- Pangestuti, R., & Kim, S.K. (2010). Neuroprotective properties of chitosan and its derivatives. *Marine Drugs*, 8(7), 2117-212.
- Park, S. C., Nam, J. P., Kim, J. H., Kim, Y. M., Nah, J. W., & Jang, M. K. (2015). Antimicrobial action of water-soluble β -chitosan against clinical multi-drug resistant bacteria. *International journal of molecular sciences*. 16(4), 7995-8007.

- Parthiban, F., Balasundari, S., Gopalakannan, A., Rathnakumar, K., & Felix, S. (2017). Comparison of the quality of chitin and chitosan from shrimp, crab and squilla waste. *Current World Environment*, 12(3), 672-679.
- Peniche, C., Argüelles-Monal, W., & Goycoolea, F. M. (2008). Chitin and Chitosan: Major Sources, Properties and Applications. In: *Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources*, Elsevier, 517-542.
- Puvvada, Y. S., Vankayalapati, S., & Sukhavasi, S. (2012). Extraction of chitin from chitosan from exoskeleton of shrimp for application in the pharmaceutical industry. *International Current Pharmaceutical Journal*, 1(9), 258-263.
- Renuka, V., Ravishankar, C. N. R., Elavarasan, K., Zynudheen, A. A., & Joseph, T. C. (2019). Production and characterization of chitosan from shrimp shell waste of *Parapeneopsis styliifera*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(11), 2076-2083.
- Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Properties and applications*, 31(7), 603-632.
- Salman, D. D., Ulaiwi, W. S., & Qais, A. (2018). Preparation of chitosan from Iraqi shrimp shell by autoclave, studying some physiochemical properties and antioxidant activity. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(12), 3120-3123.
- Sowjanya, N. T., Dhivya, R., Meenakshi, K., & Vedhanayakisri, K. A. (2013). Potential applications of chitosan nanoparticles as novel support in enzyme immobilization. *Research Journal of Engineering and Technology*, 4(4), 14.
- Sreelekshmi, RS., Alex, L., & Jose, J. J. (2022). Shelf-Life Specific Moisture Variation in Chitosan of Genus *Fenneropenaeus* Distributed Along Arabian Sea, India. *International Journal of Innovative Research in Technology*, 9(2), 247-253.
- Szymańska, E., & Winnicka, K. (2015). Stability of chitosan-a challenge for pharmaceutical and biomedical applications. *Marine drugs*, 13(4), 1819-1846.
- Toan, N. V. (2009). Production of chitin and chitosan from partially autolyzed shrimp shell materials. *The open biomaterials journal*, 1(1), 21-24.
- Tsaih, M. L., & Chen, R. H. (2003). The effect of reaction time and temperature during heterogenous alkali deacetylation on degree of deacetylation and molecular weight of resulting chitosan. *Journal of applied polymer science*, 88(13), 2917-2923.
- Vázquez, R., Caro-León, F. J., Nakal, A., Ruiz, S., Doñoro, C., García-Fernández, L., Vázquez-Lasa, B., San Román, J., Sanz, J., García, P., & Aguilar, M. R. (2021). DEAE-chitosan nanoparticles as a pneumococcus-biomimetic material for the development of antipneumococcal therapeutics. *Carbohydrate Polymers*, 273, 118605.
- www.mana.ir
- Xu, W., Jiang, C., Kong, X., Liang, Y., Rong, M., & Liu, W. (2012). Chitooligosaccharides and N-acetyl-D-glucosamine stimulate peripheral blood mononuclear cell-mediated antitumor immune responses. *Molecular Medicine Reports*, 6(2), 385-390.
- Xu, Y., Liang, K., Ullah, W., Ji, Y., & Ma, J. (2018). Chitin nanocrystal enhanced wet adhesion performance of mussel-inspired citrate-based soft-tissue adhesive. *Carbohydrate polymers*, 190, 324-330.
- Yang, E. J., Kim, J. G., Kim, J. Y., Kim, S. C., Lee, N. H., & Hyun, C. G. (2010). Anti-inflammatory effect of chitosan oligosaccharides in RAW 264.7 cells. *Central European Journal of Biology*, 5, 95-102.
- Yen, M. T., Yang, J. H., & Mau, J. L. (2009). Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells. *Carbohydrate polymers*, 75(1), 15-21.
- Younes, I., & Rinaudo, M. (2015). Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine drugs*, 13(3), 1133-1174.
- Zargar, V., Asghari, M., & Dashti, A. (2015). A review on chitin and chitosan polymers: structure, chemistry, solubility, derivatives, and applications. *ChemBioEng reviews*, 2(3), 204-226.
- Zhou, H. Y., Chen, X. G., Kong, M., Liu, C. S., Cha, D. S., & Kennedy, J. F. (2008). Effect of molecular weight and degree of chitosan deacetylation on the preparation and characteristics of chitosan thermosensitive hydrogel as a delivery system. *Carbohydrate polymers*, 73(2), 265-273.