



الارتقاء بالبحوث العلمية طريقنا لخدمة المجتمع

الخصائص الفيزيوكيميائية والوظيفية للكايتوسان المستخلص من قشور الروبيان

Metapenaeus affinis بمعاملات مختلفة

هند محمد صالح العباسي¹، ايثار زكي ناجي¹، زيد أكرم ثابت²

¹قسم علوم الاغذية، كلية الزراعة، جامعة تكريت، تكريت، العراق

²مركز بحوث التقانات الاحيائية، جامعة النهرين، بغداد، العراق

الملخص

درست الخصائص الفيزيوكيميائية التي شملت الرطوبة والرماد والنتروجين وتقدير درجة ازالة مجاميع الاستيل، اللزوجة، معامل الانكسار، الكثافة، الذائبية، الوزن الجزيئي، فضلاً عن الخصائص المتمثلة بقابلية الارتباط بالماء والدهن لأربعة انواع من الكايتوسان رمز لها CS₁ و CS₂ و CS₃ و CS₄ حضر النوع الاول بمعاملة الكايتين المعزول من قشور (*Metapenaeus affinis*) بمحلول هيدروكسيد الصوديوم بحرارة 100°م مدة 20 ساعة والثاني بحرارة 65°م لنفس المدة، اما النوع الثالث فكانت المعاملة باستخدام المؤصدة بحرارة 121°م مدة 15 دقيقة، واخيراً النوع الرابع الذي استخلص بمعاملة المايكرويف عند 800 واط لمدة 15 دقيقة. بلغت الحصلة النهائية لنماذج الكايتوسان المدروسة CS₁ و CS₂ و CS₃ و CS₄ 13.19 و 14.81 و 15.20 و 11.23 % على التوالي، كما بلغت نسب الرطوبة للنماذج (6.86 و 6.02 و 5.31 و 7) %، في حين بلغت نسب الرماد (0.76 و 0.41 و 0.95 و 0.74) % على التوالي، ولوحظ من النتائج وجود علاقة بين الخصائص الفيزيوكيميائية والوظيفية للنوع الواحد من الكايتوسان إذ ارتفعت نسبة الذوبانية وقابلية ربط الماء والدهن مع زيادة نسبة مجاميع الاستيل المزالة من الكايتوسان قبلها انخفاض في الوزن الجزيئي واللزوجة ونسبة النتروجين إذ بلغت نسبة مجاميع الاستيل المزالة لنماذج الكايتوسان (70.20 و 76.95 و 80.32 و 66.11) % على الترتيب. وكان محتوى النتروجين للعينات (4.30 و 2.84 و 2.16 و 5.23) % على التوالي، وظهر الكايتوسان CS₄ لزوجة عالية بلغت 93.80 سنتي بواز، كما بلغ الوزن الجزيئي لنماذج الكايتوسان CS₁ و CS₂ و CS₃ و CS₄ (1578 و 1346 و 932 و 1652) كيلودالتون وعلى التوالي، أمتاز كاييتوسان المعاملة CS₃ بنوبانية عالية في محلول حامض الخليك 1% بلغت 88.27 % مقارنةً بالنماذج الاخرى التي بلغت (76.45 و 85.16 و 70.52) % على التوالي. كما اظهر الكايتوسان CS₃ قابلية ربط للماء اعلى من بقية النماذج اذ كانت 732% في حين اظهر كاييتوسان CS₄ اقل قابلية ربط بلغت 659 % وتباينت قابلية ربط الدهن لنماذج الكايتوسان CS₁ وباختلاف نوع الدهن المستخدم إذ تراوحت قابلية ربط الدهن لكاييتوسان CS₁ بين (422-465) % فيما تراوحت قابلية ربط الكايتوسان CS₂ بين (484-585) %. اما قابلية الربط لكاييتوسان CS₃ فتراوحت بين (582-637) % في حين تراوحت قابلية الربط لكاييتوسان CS₄ بين (316-420) %.

معلومات البحث

الكلمات المفتاحية: قشور الروبيان، الكايتوسان، طرق كيميائية.

الاسم: هند محمد صالح العباسي

البريد الالكتروني:

salihhind4@gmail.com

رقم الهاتف:

المقدمة

التطبيقات والتي بلغت ما يقارب 200 تطبيق، منها الطبية والصناعات الدوائية كالمراهم الخاصة بالحروق وصناعة الخيوط الجراحية التي

تعد البوليمرات الكايتينية وخاصة الكايتوسان احدى الجزيئات البيولوجية التي ازداد الاهتمام بدراساتها لما لها من أهمية كبيرة في العديد من

إزالة البروتين Deproteinization

تمت معاملة قشور الروبيان بمحلول 1.2 عياري هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) بنسبة 1:10 (وزن: حجم) عند درجة حرارة 70 - 75 °م لمدة 24 ساعة، بعدها رشحت العينة باستخدام قمع بخنر وغسلت عدة مرات باستعمال الماء المقطر بسرعة التفريغ لحين الوصول إلى pH7، ثم جففت العينة في فرن هوائي عند درجة حرارة 60 °م لمدة 24 ساعة.

إزالة المعادن Demineralization

إجريت هذه العملية بمعاملة العينة بمحلول 0.7 عياري حامض الهيدروكلوريك (HCl) عند درجة حرارة الغرفة لمدة 15 دقيقة وبنسبة 1:10 (وزن: حجم)، ثم اجري الغسل الجيد بالماء لإزالة الحامض وكربونات الكالسيوم لحين الوصول إلى pH 7، ثم جففت العينة في فرن هوائي عند درجة حرارة 60 °م لمدة 24 ساعة.

إزالة الصبغات Decoloration

بعد تجفيف العينة تمت ازالة الصبغات بمعاملتها بالاسيتون بنسبة 1:10 (وزن: حجم) ولمدة 10 دقائق، رشحت العينة وجففت لمدة ساعتين ثم قصرت بمحلول 0.32% هايبوكلورات الصوديوم بنسبة 1:5 (وزن: حجم) لمدة 15 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة مع التحريك المستمر، بعدها غسل الناتج الابيض بالماء المقطر وجفف في فرن هوائي عند درجة حرارة 60 °م مدة 24 ساعة.

ثانياً: تحضير الكايتوسان (CS) Chitosan

حضر الكايتوسان CS بأربع طرائق مختلفة وفقاً لما ذكره [6] مع إجراء بعض التحويرات، وذلك بمعاملة الكايتين المحضر مخبرياً في الفقرة السابقة بمحلول قاعدي من هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 50% وبنسبة 1:13 (وزن: حجم) وكالاتي:

1: معاملة قاعدية عند 65 °م لمدة 20 ساعة

جرت المعاملة عند درجة 65 °م لمدة 20 ساعة، ثم رشحت العينة وغسلت بالماء المقطر بسرعة وتحت التفريغ بعد إجراء المعاملة بالقاعدة لحين الوصول إلى pH 7، ثم جففت في فرن حراري هوائي عند درجة حرارة 60 °م لمدة 24 ساعة واعطي الرمز CS₁.

2 : معاملة قاعدية عند 100 °م لمدة 20 ساعة

اجريت المعاملة عند درجة حرارة 100 °م ولمدة 20 ساعة، ثم رشحت العينة وغسلت عدة مرات بماء مقطر لحين الوصول إلى pH 7، بعد ذلك جففت في فرن حراري هوائي عند درجة حرارة 60 °م لمدة 24 ساعة واعطي الرمز CS₂.

3: المعاملة بالمؤصدة Autoclaving

أدخلت عينة الكايتين المعاملة بالقاعدة في المؤصدة لمدة 15 دقيقة، عند 121 °م وضغط 15 باوند/ إنج²، ثم رشحت وغسلت بالماء المقطر عدة مرات لحين الوصول إلى pH 7 ثم جففت في فرن حراري هوائي عند درجة 60 °م لمدة 24 ساعة ورمز للكايتوسان الناتج بالرمز CS₃.

تستخدم في العمليات كونه يتحلل تلقائياً ولا يترك بقايا ضارة بالجسم، وكذلك في مصانع الكيمائيات لمعالجة المياه وايضاً في الزراعة إذ استعمل كطلاء للبذور قبل الزراعة وكسماد للتربة، كما ادخل في صناعة المنتجات الغذائية كمادة رابطة وحافظة [2،1]. عرف الكايتوسان كمضاف غذائي في كوريا واليابان منذ عامي 1983-1995 على التوالي، واثبتت سلامته عن طريق التجارب التغذوية للحيوانات المختبرية، ففي عام 2005 قبل الكايتوسان المستخلص من الروبيان من قبل ادارة الغذاء والدواء الامريكية FDA واعتمد كمادة امنه. يوصف الكايتين والكايتوسان كيميائياً على انها من السكريات المتعددة الحلقية ذات المحتوى النيتروجيني العالي الذي يتراوح بين 2-8% مع احتوائها على نسب متفاوتة من اواصر $\beta(1-4)$ التي تربط وحدات الكلوكوز، فضلاً عن انها مشابهان للسليولوز من حيث العديد من الخصائص الفيزيائية والكيميائية والوظيفية بسبب التشابه في البناء الجزيئي وان الفرق الوحيد الموجود بين السكريات الثلاث هو وجود مجموعة الاستايميد عند الموقع C-2 في الكايتين ومجموعة الامين في الكايتوسان بدلاً من مجموعة الهيدروكسيل الموجودة في السليولوز [3]، وبالمقارنة يمتلك الكايتوسان طبيعة تفاعلية أكثر نسيباً من الكايتين ويمكن تصنيعه بسهولة على شكل مسحوق، معجون، رقائق والياف [4]. لقد وجد ان للكايتوسان اهمية كبيرة على صحة الانسان لكونه بوليمر طبيعي (مشابه للسليولوز) يتكون من وحدات الكلوكوز امين و N-استيل موجب الشحنة وملاتم حياتياً بسبب التفكك داخل الجسم عن طريق اللايسوزايم المحللة له، وله اهمية في تقليل مستوى الكوليسترول في الدم، وانخفاض المؤشر الكلوكوزي، ومكافحة امراض السرطان، واستخدم في مستحضرات التجميل كمرطبات للوجه والجسم، وتعزيز المناعة، وقابلية تسريع امتصاص الكالسيوم والحديد، والتقليل من تركيز الاحماض الدهنية الحرة في الدم مع النشاط المضاد للأكسدة، وعامل علاجي لأمراض التحسس [5]، لذا حاز موضوع الكايتوسان اهتماماً كبيراً في العقدين الماضيين لهذه الاسباب الصحية وتطبيقاته الحياتية الواسعة ونظراً لقلة الدراسات حول انتاج الكايتوسان وتطبيقه في العراق فقد هدفت هذه الدراسة الى:

- 1- استخلاص الكايتوسان من قشور الروبيان التي يتم التخلص منها كمخلفات بعدد من الطرائق الكيميائية.
- 2- دراسة الخصائص الكيميائية والفيزيائية والوظيفية لنماذج الكايتوسان المنتجة.

المواد وطرائق العمل

تحضير الكايتين من قشور الروبيان Preparation of chitin from shrimp shell

تم الحصول على الروبيان (Shrimp) نوع *Metapenaeus affinis* الطازج من سوق الاسماك الموجود في مدينة البصرة / جنوب العراق. ثم حضر الكايتين من قشور الروبيان وفقاً للطريقة المذكورة من قبل [6] مع اجراء بعض التحويرات، باعتماد الخطوات الاتية:

قدرت الذوبانية لنماذج الكايتوسان الاربعة وفق الطريقة التي ذكرها [14].

12: التحليل الاحصائي Statical Analysis

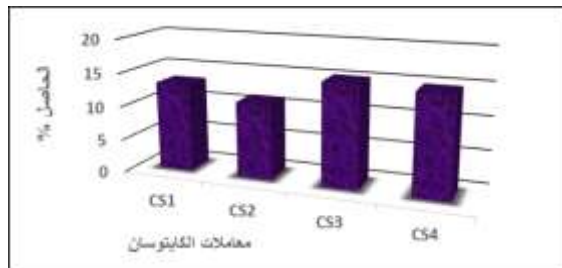
حللت التجارب إحصائياً باستعمال اختبار تحليل التباين (ANOVA) وتم مقارنة المتوسطات الحسابية لتحديد الفروقات بينها بتطبيق اختبار دنكن متعدد الحدود بمستوى معنوية 0.05% .

النتائج والمناقشة

الخصائص الفيزيوكيميائية للكايتوسان

1: النسبة المئوية للحاصل Percentage of yield

يبين الشكل (1) نتائج حاصل الكايتوسان المستخلص للمعاملات الاربعة CS₁ و CS₂ و CS₃ و CS₄ من قشور الروبيان والمعتمدة على طريقة الاستخلاص، وظهرت النتائج فروقاً معنوية بين المعاملات عند مستوى (P≤0.05) إذ بلغت (13.19 و 14.81 و 15.20 و 11.23)% على التوالي وعلى اساس الوزن الجاف للقشور، وقد يعزى سبب الفرق في قيمة الحاصل الى الاختلاف في المعاملة القاعدية التي تعرض لها الكايتين أثناء تحضير الكايتوسان، فضلاً عن درجة الحرارة العالية اثناء الاستخلاص، إذ تؤدي الحرارة العالية والمدة الزمنية للمعاملة عند ازالة مجاميع الاستيل الى تفكك وتحلل السلاسل الجزيئية للبوليمر، وقد بين [15] ان درجة الحرارة ووقت التعرض للحرارة خلال ازالة مجاميع الاستيل لها تأثير كبير على كمية الحاصل، كما اشار الى انخفاض قيمة حاصل الكايتوسان مع زيادة درجة الحرارة. تقاربت النتائج التي تم التوصل اليها مع ما اشار اليه [16] بأن حصيل الكايتوسان من مخلفات الروبيان تراوحت بين (13.12- 17.36)% .



شكل (1) نسبة الحاصل المئوية لمعاملات الكايتوسان المحضر من قشور الروبيان المدروسة

2: النسبة المئوية للرطوبة Percentage of humidity

يوضح الجدول (1) النسبة المئوية للرطوبة لمعاملات الكايتوسان المحضر باستخدام اربع طرائق مختلفة من قشور الروبيان CS₁ و CS₂ و CS₃ و CS₄، إذ بينت النتائج وجود اختلاف معنوي في المحتوى الرطوبي بين المعاملات إذ بلغت الرطوبة لمعاملة CS₄ 7% بينما كانت أدناها لمعاملة CS₃ 5.31%، ويعزى ارتفاع المحتوى الرطوبي لمعاملة CS₄ مقارنة مع المعاملات الاخرى CS₁، CS₂، والبالغة 6.86% و 6.02% على التوالي، الى ان رطوبة الكايتوسان تختلف اعتماداً على طريقة الفصل المستخدمة ودرجة ازالة الاستلة،

4: المعاملة بالميكرويف Microwave

تمت معاملة الكايتين باستعمال المايكرويف ولمدة 15 دقيقة عند 800 واط، ثم رشحت العينة وغسلت بالماء المقطر لحين الوصول إلى 7 pH بعدها جففت في فرن حراري هوائي عند درجة حرارة 60 م° لمدة 24 ساعة ورمز له بالرمز CS₄.

ثالثاً: تقدير الخصائص الفيزيوكيميائية والوظيفية للكايتوسان

1: تقدير الرطوبة والرماد والنيتروجين Determination Moisture, Ash and Nitrogen Content

قدرت النسبة المئوية للرطوبة والرماد والنيتروجين وفقاً للطريقة القياسية المذكورة في [7]

2: تقدير الكثافة النسبية Relative Density Determination

قدرت كثافة نماذج الكايتوسان المحضرة وحسب الطريقة المذكورة من قبل [7]

3: تقدير معامل الانكسار

Refractive Index Determination

قدر معامل الانكسار لمحاليل الكايتوسان المدروسة والمحضرة بتركيز 1% في محلول 1% حامض الخليك كما مبين في طريقة [7].

4: الحاصل yield

حسبت النسبة المئوية لحاصل الكايتين على اساس الوزن الجاف من قشور الروبيان [8].

5: تشخيص الكايتوسان باستخدام جهاز FTIR

تم تشخيص الكايتوسان المحضر من قشور الروبيان باستخدام جهاز مطياف الاشعة تحت الحمراء (FTIR) من شركة Shimadzu التابع لمختبرات كلية ابن الهيثم/ جامعة بغداد، وحسب الطريقة المبينة من قبل [9].

6: تقدير درجة ازالة الاستلة Degree of deacetylation

Determination (%DD)

قدرت درجة ازالة مجاميع الاستيل (DD) بالاعتماد على نتائج FTIR، ومن ثم احتساب درجة ازالة مجاميع الاستيل وفق المعادلة التي ذكرها [10] كما يأتي:

$$DD \% = [A_{1655} / A_{3450}] / 1.33 \times 100$$

يشير العامل 1.33 الى قيمة نسبة A₁₆₅₅ / A₃₄₅₀ لعملية الاستلة الكاملة للكايتوسان.

7: تقدير اللزوجة النسبية Viscosity Determination

قدرت اللزوجة النسبية للكايتوسان المنتج باتباع الطريقة المذكورة من قبل [11].

8: تقدير الوزن الجزيئي

Determination of Molecular weight

قدر الوزن الجزيئي لنماذج الكايتوسان بالاعتماد على تقدير اللزوجة وحسب الطريقة المبينة [12].

9: تقدير قابلية ربط الدهون والماء (FBC) Determination

Fat and water Binding Capacity

اجري التقدير وفقاً للطريقة المذكورة من قبل [13].

11: تقدير الذوبانية Solubility Determination

عملية ازالة البروتينات عن طريق كسر ارتباط مجاميع الامين في الكايتين مع مجاميع الكاربوكسيل الموجودة في البروتين، إذ بينت النتائج الحالية حصول عملية ازالة للبروتينات المرتبطة مع الكايتين بشكل كفاء. ان انخفاض نسبة النتروجين في الكايتوسان تعزى الى شدة المعاملة القاعدية التي يتعرض اليها الكايتين خلال عملية ازالة مجاميع الاستيل، وكذلك الى استعمال محلول هيدروكسيد الصوديوم مناسب لأزاله البروتينات، اذ كلما ارتفع تركيز المحلول القلوي وازدادت مدة المعاملة انخفضت النسبة المئوية للنتروجين [25]. مع هذا فان وجود هذه النسب من النتروجين في نماذج الكايتوسان على الرغم من اجراء الازالة للبروتينات في خطوة تحضير الكايتين يعود الى وجود مجاميع الامين الحرة (NH₂) في الكايتوسان إضافة الى بقايا البروتين في النموذج [18]. اتفقت هذه النسب مع ما توصل اليه [26] أذ اشار الى ان نسبة النتروجين تراوحت بين 2.16-7.22% وعزى هذا المدى في القيم الى طريقة التحضير وخصوصاً مدة المعاملة القاعدية.

جدول (1) التركيب الكيميائي لنماذج الكايتوسان CS₁, CS₂, CS₃, CS₄

نماذج الكايتوسان	الرتوبة %	الرماد %	المحتوى النتروجيني %
CS ₁	6.86 a	0.67 b	4.30 b
CS ₂	6.02 b	0.41 c	2.84 c
CS ₃	5.31 c	0.95 a	2.16 d
CS ₄	7.00 a	0.74 b	5.23 a

5: تشخيص الكايتوسان المستخلص بتقنية الأشعة تحت الحمراء Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) تعد تقنية التشخيص باستخدام الأشعة تحت الحمراء FTIR من أكثر التقنيات المهمة والسريعة المستخدمة في التشخيص النوعي للكايتين والكايتوسان بالإضافة الى حساسيتها وعدم حاجة النموذج الى تنقية عالية او اذابته في مذيبات خاصة، لكن من عيوبها هو اختلاف نسبة DD % باختلاف المعادلة المستخدمة في حسابها، لتقنية FTIR اهمية في تحديد المجاميع الفعالة في المركبات العضوية وحساب النفاذية الضوئية اذ يتم احتساب اقصى امتصاصيه ضوئية لتلك المجاميع حسب قانون Lambert-Beer ومن ثم تقدير درجة ازالة مجاميع الاستيل وفق معادلات خاصة [9]، إذ توضح الصور (2،3،4،5) طيف FTIR حزم الأشعة تحت الحمراء لنماذج الكايتوسان المنتجة CS₁ و CS₂ و CS₃ و CS₄ مقارنة بطيف FTIR للكايتين . اظهرت النتائج ان نماذج الكايتوسان قيد الدراسة اعطت شكلاً مختلفاً (Profile) عن شكل الكايتين المنتج منه. تعد المجاميع الامينية Amino groups من اكثر المجاميع الفعالة أهمية التي ظهرت قمة امتصاصها عند تردد 1655 سم⁻¹ من هذا الطيف، إذ ان ظهور هذه المجموعة مؤشراً لوجود الكايتوسان [27] فضلاً عن المجموعة الفعالة التي تمثل حزمة الامتداد لمجموعة الهيدروكسيل (hydroxyl stretching band) والتي ظهرت قيمة امتصاصيتها عند التردد 3450 سم⁻¹، ان هذه المجموعة تظهر في الكايتين

فضلاً عن ذلك فالكايتوسان يعد بطبيعته ذو قابلية عالية لامتصاص الرطوبة Hygroscopic [17]، وعليه فأن اختلاف درجة ازالة مجاميع الاستيل بالطرائق المختلفة تؤثر في خصائصه الفيزيوكيميائية وبالتالي في قابليته على امتصاص الرطوبة. وقد اشار [18] الى ان الانخفاض في درجة ازالة مجاميع الاستيل يجعل المعاملة أكثر امتصاصاً للرطوبة مقارنة مع المعاملات ذات درجة ازالة مجاميع الاستيل العالية، وذكر [19] احتواء الكايتوسان التجاري على نسبة رطوبة اقل من 10%، وكما يتضح ان نسب الرطوبة التي تم التوصل اليها هي اقل من ذلك وتقع ضمن القيم المقبولة، وهذا دلالة على ازالة جيدة لمجاميع الاستيل مع افضلية للمعاملة CS₃. وجاءت النتائج مقارنة مع ما توصل اليه [20] عند دراستهم التركيب الكيميائي للكايتوسان المحضر من مخلفات الروبيان والمعاملة بتركيزات مختلفة من هيدروكسيد الصوديوم تراوحت بين (30-50) %، إذ تراوحت نسبة الرطوبة لمعاملات الكايتوسان بين (2.60-13.12) %.

3: النسبة المئوية للرماد The percentage of ash

من ناحية النسبة المئوية للرماد فقد اظهرت النتائج الموضحة في الجدول (1) أن كمية الرماد لمعاملات الكايتوسان المحضر CS₁ و CS₂ و CS₃ و CS₄ لم تظهر فروقاً معنوية عند مستوى P ≤ 0.05، إذ بلغت اعلى قيمة للرماد في معاملة CS₃ (0.95%) وادناها لمعاملة CS₂ (0.41%) وبلغت كل من معاملة CS₁ و CS₄ 0.67% و 0.74% على التوالي وقد يعزى هذا الى كفاءة عملية ازالة المعادن من المركب ودورها في خفض كربونات الكالسيوم وفوسفات الصوديوم التي يصل تركيزها في القشور بين 30-50% [21]، فضلاً عن اختلاف المعاملات في مدة تعرضها للحرارة اثناء عملية ازالة مجاميع الاستيل [22]، فقد ذكر [23] ان معظم الاملاح المعدنية ولاسيما كربونات الكالسيوم يمكن إزالتها خلال مرحلة ازالة المعادن باستعمال حامض الهيدروكلوريك HCl حتى الوصول الى نسبة رماد تصل الى 0.4%، كما اوضحوا انه كلما زادت مدة ازالة المعادن انخفضت النسبة المئوية للرماد في الكايتوسان المستخلص، وهو ما أكده الباحثان [24] ايضاً، كما اشارا الى ان محتوى الرماد في الكايتوسان ذي النوعية الجيدة يجب ان لا يزيد عن 1%. جاءت هذه النتائج متوافقة مع ما وجده [20] عند دراسته التركيب الكيميائي للكايتوسان المحضر من قشور الروبيان فقد تراوحت قيم الرماد بين 0.27-0.71%.

4: المحتوى النتروجيني Percentage of Nitrogen

فيما يتعلق بالمحتوى النتروجيني والمبين في الجدول (1) لمعاملات الكايتوسان CS₁ و CS₂ و CS₃ و CS₄ المحضر من قشور الروبيان قيد الدراسة. يلاحظ وجود فروق معنوية عند مستوى (P ≤ 0.05) من خلال ارتفاع المحتوى النتروجيني للكايتوسان لمعاملة CS₄ المحضرة من الكايتين المعامل بالمايكرويف إذ بلغ 5.23%، وانخفض محتوى النتروجين للكايتوسان CS₃ المحضر من الكايتين المعامل بالمؤصدة وبلغ 2.16%، في حين توسط محتوى النتروجين للمعاملتين CS₁ و CS₂ بينهما بنسبة بلغت 4.30% و 2.84% على التوالي. تتم عادة

الاعداد الموجية المحصورة بين 1022-1157 سم⁻¹ لنموذجي الكايتوسان CS₁ وCS₄ والاعداد الموجية بين 1018-1157 سم⁻¹ لنموذج CS₂ وكذلك 1022-1153 سم⁻¹ لنموذج CS₃ حزم الامتصاص الرئيسية والتي تمثل مجاميع الامين الحرة NH₂ على موقع ذرة الكاربون C2 للكلوكوز امين الذي يمثل المجموعة الاساسية في الكايتوسان وتعد من الخواص الثابتة له ودليل على ظهور الاستلة.

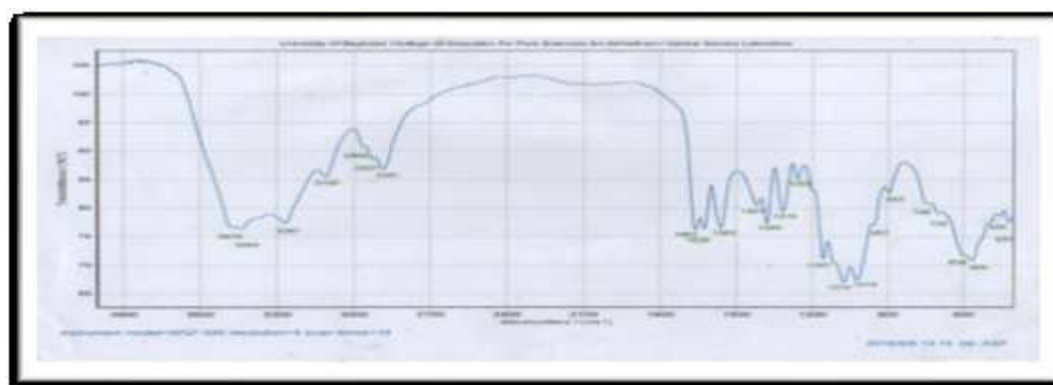
والكايتوسان على حد سواء كونها من المجاميع التي لا تتأثر بعملية ازالة مجاميع الاستيل او عمليات التحلل لذلك فأنها تعتبر كمرجع قياسي داخلي (Internal standard) للدلالة على وجود الكايتين او الكايتوسان [9]، وتبين الصور CS₁ وCS₂ وCS₃ وCS₄ الامتصاصية على الاعداد الموجية المحصورة بين 893-1157 سم⁻¹ حزم تراكيب السكريات المتعددة [28]، كما تمثل الامتصاصية على



الصورة (1) طيف الاشعة تحت الحمراء لنموذج الكايتوسان CS₁

Deacylation واختفاء مجموعة H3C-C=O من الكايتين، وتدل الاعداد الموجية 1421 سم⁻¹ للنماذج CS₁ وCS₂ وCS₃ وCS₄ والعدد الموجي 1417 سم⁻¹ لنموذج CS₃ الى وجود أصرة CH₂، فضلاً عن 1546 سم⁻¹ لنموذج CS₁ و 1560 سم⁻¹ لنموذجي CS₂ وCS₄ و 1556 سم⁻¹ لنموذج CS₃ الى مجموعة N-H في الاصرة الامايدية الثانوية Amide II [30; 31]. اما الاعداد الموجية بين 1626-1666 سم⁻¹ لنماذج الكايتوسان فتعود الى مجموعة C=O في الاصرة الامايدية الاولى Amide I وشدها تعتمد على درجة ازالة مجاميع الاستيل [28; 32].

فقد أكد [29] ان حزم الامتصاص الرئيسية التي تمثل مجاميع الامين الحرة محصورة بالأعداد الموجية بين 1020-1220 سم⁻¹، كذلك يلاحظ في الصور الاربعة ظهور الحزم للأعداد الموجية (1315، 1319، 1311) سم⁻¹ للنماذج CS₁ وCS₂ وCS₃ وCS₄ على التوالي التي تمثل NH-CO ضمن مجموعة CH₂، في حين ان الاعداد الموجية المحصورة بين 1377-1383 سم⁻¹ للنماذج الاربعة تعود الى الاهتزاز الانحنائي C-H ضمن مجموعة المثل CH₃ وهذه تدل على تكون الكايتوسان بعد ازالة مجموعة الاستيل من الكايتين. إذ تعتمد شدتها على نسبة ازالة مجموعة الاستيل



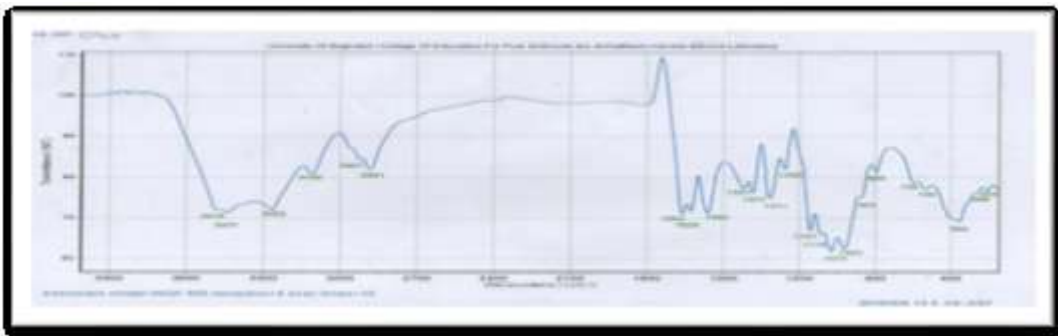
الصورة (2) طيف الاشعة تحت الحمراء لنموذج الكايتوسان CS₂

للماء ومجاميع الهيدروكسيل، فقد أكد [34] ظهور امتطاطية الاصرة العائدة لمجموعة OH على الاعداد الموجية المحصورة بين 3442-3480 سم⁻¹.

تمثل الامتصاصية على الاعداد الموجية 2881-2885 سم⁻¹ للنماذج الاربعة الاهتزاز الامتطاطي CH والتي توافقت مع [33] اللذان وجدوا امتطاطية CH على الاعداد الموجية بين 3440-3383 سم⁻¹ للنماذج الكايتوسان CS₁ وCS₂ وCS₃ وCS₄ فتعود الى مجموعة OH



الصورة (3) طيف الاشعة تحت الحمراء لنموذج الكايتوسان CS₃



الصورة (4) طيف الاشعة تحت الحمراء لنموذج الكايتوسان CS₄

7: الكثافة: يوضح الجدول (2) كثافة معاملات الكايتوسان CS₁ و CS₂ و CS₃ و CS₄ إذ بلغت (0.997 و 0.999 و 1 و 0.996) غم/سم³ على التوالي، كما بينت نتائج التحليل الاحصائي عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى ($P \leq 0.05$) بين انواع الكايتوسان الاربعة. توافقت النتائج مع دراسة [37] إذ وجدا ان الكثافة للكايتوسان تراوحت بين 0.999-1 غم/سم³، في حين اختلفت مع ما ذكره [12] عند دراستهم لستة انواع من الكايتوسان التجاري المستخلص من قشور السرطان البحري والتي تراوحت بين 0.18-0.33 غم/مل، ان هذه الاختلافات قد تعود الى اختلاف المصدر فضلاً عن اختلاف مسامية الجزيئات قبل المعاملة، اذ لاحظ [38] ان الكثافة الظاهرية المنخفضة تشير الى ان الكايتوسان أكثر مسامية وانه عومل بمحلول قلوي قليل التركيز في مرحلة ازالة البروتين (Deproteinization).

8: معامل الانكسار: يبين الجدول (2) معامل الانكسار لمعاملات الكايتوسان CS₁ و CS₂ و CS₃ و CS₄ قيد الدراسة كما يلاحظ انها بلغت (1.334 و 1.337 و 1.338 و 1.332) على التوالي كما لم تظهر فروقاً معنوية بين المعاملات عند مستوى ($P \leq 0.05$) جاءت النتائج متفقة مع ما وجدته [37] عند دراستهما لمعامل الانكسار للكايتوسان المحضر مخبرياً من قشور الروبيان إذ بلغ 1.33، وكذلك مع مما توصل اليه [39] وما وجده [26] بأن معامل الانكسار للكايتوسان تراوح بين 1.331 الى 1.338 للمعاملات المختلفة.

6: الذوبانية: يبين الجدول (2) ذوبانية معاملات الكايتوسان CS₁ و CS₂ و CS₃ و CS₄ المستخلص من قشور الروبيان في محلول حامض الخليك المخفف 1% والتي اظهرت اختلافاً معنوياً فيما بينها عند مستوى ($P \leq 0.05$)، فقد بلغت النسبة المئوية لذوبان انواع الكايتوسان CS₁، CS₂، CS₃، CS₄ قيماً (76.45 و 85.16 و 88.27 و 70.52) % على التوالي. يعزى هذا الاختلاف في الذوبانية الى درجة ازالة مجاميع الاستيل من معاملات الكايتوسان المستخلص والتي تحددها شدة المعاملة القاعدية للكايتين وبالتالي تنعكس على الذوبانية [35]، إذ ان الكميات غير الذاتية من جزيئات الكايتوسان تعود الى عدم كفاية عملية ازالة مجاميع الاستيل ووقت المعاملة الحرارية، ان قابلية الاذابة تعود الى ان ازالة مجاميع الاستيل خلال مرحلة ازالة الاستلة وترك مجاميع الامين والتي تحتوي على الهيدروجين تعمل على جعل الكايتوسان قادراً على التفاعل مع الماء من خلال الارتباط بالهيدروجين، وبسبب وجود مجاميع الكاربوكسيل في حامض الخليك فإن الكايتوسان يكون سهل الذوبان نتيجة تكوين اواصر هيدروجينية متعادلة بين مجاميع الكاربوكسيل للحامض مع مجاميع الامين للكايتوسان نتيجة التفاعل الالكترونيستاتيكي بين الشحنات الموجبة والسالبة لمجاميع الامين والكاربوكسيل [36]. وهذا يدعم النتائج التي تم التوصل اليها اذ اعطت العينة CS₄ اعلى نسبة نترودجين (اقل نسبة ازالة للبروتينات) واقل نسبة ازالة مجاميع الاستيل، وبالتالي اعطت اقل ذوبانية بالمقارنة مع العينات الاخرى من الكايتوسان، مع اعتماد العلاقة نفسها للمعاملات الاخرى.

والقوة الايونية والرقم الهيدروجيني لمحلول المعاملة والحرارة المستخدمة ودرجة ازالة مجاميع الاستيل [35]. جاءت النتائج التي تم التوصل اليها ضمن المدى الذي ذكره [40;41] عند دراستهم للكايتوسان المحضر من قشور الروبيان فقد توصلوا الى لزوجة تراوحت بين 29-91 سنتي بوز. يعود مقدار اللزوجة الى وجود مجاميع الاستيل في الكايتوسان المحضر إذ تعمل الحرارة على ازالة الاستيل ومن ثم تزيد الذوبانية واللزوجة [15]، وهذا يعزز النتائج التي تم التوصل اليها عند تقدير درجة ازالة مجاميع الاستيل للعينات المدروسة. إذ اعطت العينة CS₄ اقل درجة ازالة للاستيل والعلاقة بالنسبة للمعاملات الاخرى.

11: الوزن الجزيئي Molecular Weight

يشخص الكايتوسان بشكل رئيسي بواسطة متغيرين الاول درجة ازالة مجاميع الاستيل والثاني الوزن الجزيئي والذي عن طريقه يقدّر مدى نقاوة ولزوجة محاليله، فالجدول (3) يبين وجود فروقات معنوية بين معاملات الكايتوسان CS₁ و CS₂ و CS₃ و CS₄ فقد بلغ الوزن الجزيئي للمعاملات (1578 و 1346 و 932 و 1652) كيلودالتون على التوالي، ويعود هذا الاختلاف في الاوزان الجزيئية للمعاملات الى طريقة تحضير الكايتوسان التي تضمنت شدة المعاملة القاعدية التي تعرض لها الكايتين خلال مراحل الاستخلاص، إذ تؤثر هذه المعاملات على المعقد الكاربوهيدراتي وتسبب في تكسيره وبالتالي انخفاض وزنه الجزيئي [15؛ 42] فهناك العديد من العوامل تؤثر في الوزن الجزيئي للبوليمرات كدرجات الحرارة العالية وتركيز القاعدة ووقت التفاعل والمعاملات المسبقة على الكايتين، ولهذا فقد اشارت الدراسات الى ان الوزن الجزيئي للكايتوسان يمكن ان يتراوح ما بين 100.000-200.000 كيلو دالتون وحسب مصدره وطريقة تحضيره [43].

جدول (3) درجة ازالة مجاميع الاستيل والوزن الجزيئي واللزوجة لنماذج الكايتوسان

نماذج الكايتوسان	مجاميع الاستيل (DD%)	اللزوجة (Cp)	الوزن الجزيئي (KDA)
CS ₁	70.24 c	84.32 b	1578 b
CS ₂	76.95 b	71.15 c	1346 c
CS ₃	80.32 a	62.44 d	932 d
CS ₄	66.11 d	93.80 a	1652 a

• الفحوصات الوظيفية للكايتوسان

1: قابلية ربط الماء (Water Binding Capacity (WBC)

أظهرت النتائج المبينة في الجدول (4) ان لمعاملات الكايتوسان CS₁ و CS₂ و CS₃ و CS₄ قابلية عالية لربط الماء مع وجود فروقات معنوية بينها عند مستوى (P< 0.05)، إذ كانت قابلية العينة CS₃ لربط الماء الاعلى وبواقع 732% وادناها في معاملة CS₄ والبالغة 659% أما معاملة CS₁ و CS₂ فقد توسطت القيم بقابلية لربط الماء بلغت 687% و 713% على التوالي. يعزى سبب هذا التباين في قابلية ربط الماء الى اختلاف الطبيعة الكيميائية للكايتوسان بسبب اختلاف طريقة تحضيره من المصادر المختلفة إذ تزداد مجاميع الامين الحرة

جدول (2) الذوبانية والكثافة ومعامل الانكسار لنماذج الكايتوسان

نماذج الكايتوسان	الذوبانية %	الكثافة غم/سم ³	معامل الانكسار
CS ₁	76.45 c	0.997 a	1.334 a
CS ₂	85.16 b	0.999 a	1.337 a
CS ₃	88.27 a	1.00 a	1.338 a
CS ₄	70.52 d	0.996 a	1.332 a

9: درجة ازالة مجاميع الاستيل

Degree of Deacetylation (DD%)

يبين الجدول (3) نتائج تقدير درجة ازالة مجاميع الاستيل لمعاملات الكايتوسان CS₁ و CS₂ و CS₃ و CS₄ والمقدرة بتقنية FTIR بالاعتماد على الامتصاصية وعند التردد 1655سم⁻¹ الذي يمثل حمزة مجموعة الأمايد والتي عدت كمقياس لمحتوى مجاميع N-acetyl، أما تردد 3450سم⁻¹ فيمثل مقياس لحمزة الهيدروكسيل والتي تمثل المقياس الداخلي [17]، وقد بينت النتائج وجود اختلاف في نسبة DD % لمعاملات الكايتوسان، إذ بلغت قيمة ازالة مجاميع الاستيل (70.24 و 76.95 و 80.32 و 66.11)% للمعاملات CS₁ و CS₂ و CS₃ و CS₄ على التوالي. كما يلاحظ ان معاملة CS₄ كانت منخفضة من حيث ازالة مجاميع الاستيل مقارنة مع المعاملات الأخرى بصورة عامة ويعزى الاختلاف في درجة ازالة مجاميع الاستيل لمعاملات الكايتوسان الى اختلاف طريقة تحضير الكايتوسان، كتغير الوقت او درجة الحرارة التي يتعرض لها الكايتين في الوسط القاعدي (NaOH) والتي تؤثر على درجة ازالة وتوزيع مجاميع الاستيل في الكايتوسان ومن ثم اختلاف الخصائص الفيزيوكيميائية للكايتوسان المحضر كاللزوجة والذوبانية والوزن الجزيئي وهذا يعزز ما تم التوصل اليه من اختلاف في نسبة الرطوبة للكايتوسان المحضر بطرائق مختلفة اذا ارتفعت نسبة الرطوبة في المعاملة CS₄ مع انخفاض درجة ازالة مجاميع الاستيل لذات المعاملة والتأثير نفسه لبقية المعاملات، ان هذه النتائج تقع ضمن المدى الذي ذكره [40] وتقاربت النتائج مع [20] عند دراسته خصائص الكايتوسان إذ تراوحت نسبة ازالة مجاميع الاستيل المحضر من قشور الروبيان المعامل بمحلول هيدروكسيد الصوديوم باستخدام المايكرويف بين 67.58-95.19%.

10: اللزوجة Viscosity

يلاحظ من النتائج المبينة في الجدول (3) وجود فروقات معنوية بين معاملات الكايتوسان CS₁ و CS₂ و CS₃ و CS₄ قيد الدراسة من حيث اللزوجة إذ كانت اعلاها لزوجة كاييتوسان CS₄ وبلغت 93.80 سنتي بوز، ثم CS₁ بلزوجة بلغت 84.32 سنتي بوز، تلاها CS₂ 71.15 سنتي بوز بينما كان كاييتوسان CS₃ بأدنى لزوجة والبالغة 62.44 سنتي بوز، وقد يعود السبب في انخفاض لزوجة CS₃ الى شدة المعاملة القاعدية ودرجة الحرارة العالية التي تعرضت لها والتي وصلت الى 121م°، ومن ثم زيادة درجة ازالة مجاميع الاستيل وبالتالي انخفاض اللزوجة وتحطيم البوليمر، إذ تؤثر العديد من العوامل في لزوجة الكايتوسان اثناء تحضيره مثل الوزن الجزيئي، والتركيز

قابلية الربط بين 582-611% حسب نوع الدهن إذ كانت لقابلية لربط زيت الذرة عالية مقارنةً مع زيت زهرة الشمس. أما معاملة CS₄ لربط الدهن بين 316-400%، وظهرت أعلى ارتباط مع زيت زهرة الشمس 420%. وقد تبين من خلال النتائج ان قابلية ربط الدهن للكايتوسان CS₃ هي الاعلى وكانت لزيت الذرة، بينما اقل قابلية لربط الدهن في معاملة CS₄ وكانت لزيت الذرة ايضاً، وقد يعزى ذلك الى الاختلاف في طريقة التحضير بين المعاملات [13] والتي تؤثر في خصائص الكايتوسان الفيزيوكيميائية وبالتالي خصائصه الوظيفية. جاءت النتائج التي تم الحصول عليها مقارنة لما وجده [12] عند دراستهم للكايتوسان التجاري المحضر من السرطان البحري اذ كانت قابلية الكايتوسان لربط الدهن تتراوح بين 217-403%، وكذلك مقارنة لما ذكره [44] والتي تتراوح بين 314-535% وبينوا ان قابلية ربط الدهن تعد من الخصائص الوظيفية للكايتوسان والتي تتأثر بدرجة كبيرة بطريقة التحضير.

الجدول (4) قابلية ربط الدهن والماء لنماذج الكايتوسان المستخلص

نماذج الكايتوسان	قابلية ربط الدهن %			قابلية ربط الماء %
	زيت الزيتون	زيت زهرة الشمس	زيت الذرة	
CS ₁	451 c	422 c	465 c	687 b
CS ₂	585 b	484 b	517 b	713 c
CS ₃	637 a	582 a	661 a	732 d
CS ₄	400 d	420 c	316 d	659 a

- [1] El-Ghaouth, S.; H. A. Francisco; G. B. Antonio André; F. R. Adley and C. Edvani (2007). M., Superabsorbent hydrogel composite made of cellulose nanofibrils and chitosan-graft-poly(acrylic acid) J. Control Release. **94** (1):200-220.
- [2] Grem, I. C.; B. N. Lima; W. F. Carneiro; Y. G. Queirós and C. R. Mansur (2014). Chitosan Microspheres Applied for Removal of Oil from Produced Water in the Oil Industry. Polímeros. **23** (6): 705-711.
- [3] Abdel-Rahman, R.M. et al. (2015). Chitin and chitosan from Brazilian Atlantic Coast: Isolation ,characterization and antibacterial activity. International Journal of Biological Macromolecules. **80**: 107-120.
- [4] Killay, A.; Taslim, N. A.; As'ad, S. and Mahendratta, M. (2015). Chitosan as antimicrobial agent and fatty acid absorber in smoked skipjack tuna processed using coconut shell. American J. of Life Sciences. **3** (2): 93-99.
- [5] Benjakul, O.; Bernkop - Schnürch, A.; Guggi, D. and Pinter, Y. (2014). Thiolated chitosans: development and in vitro evaluation of a mucoadhesive, permeation enhancing oral drug delivery system. J. Control Release. **94** (1):177-86.
- [6] Toan, N. V.; Ng, C.; Aye, K. N.; Trang , T. S. and Stevens, W. F. (2006). Production of high-quality chitin and chitosan from preconditioned

للكايتوسان للمعاملة CS₃ (نتيجة لارتفاع نسبة ازالة مجاميع الاستيل) التي تكون اواصر هيدروجينية مع الماء فتكون أكثر ارتباطاً بالماء [21] مع اعتماد بقية المعاملات على الاساس نفسه في ذلك، وهذا ما يدعم النتائج التي تم التوصل اليها في هذه الدراسة .جاءت النتائج متوافقة مع ما اشار اليه [26] إذ وجد ان نسبة ارتباط الماء مع الاربعة معاملات من الكايتوسان بلغت 700% لأحدى المعاملات وبلغت ادناها 581% للمعاملة الثانية، في حين بلغت للمعاملتين الأخرتين 673% و 632% على التوالي، كما توافقت النتيجة مع ما توصل اليه [40] عند دراستهم للكايتوسان المحضر من قشور الروبيان إذ تراوحت قابلية ربط الماء بين 654-721%، ومقاربة لما وجده [16] والذين توصلا الى تحضير كايتوسان بقابلية ربط ماء وصلت الى 537.29%.

2: قابلية ربط الدهن (FBC Fat Binding Capacity)

يوضح الجدول (4) قابلية ربط الدهن لمعاملات الكايتوسان CS₁ و CS₂ و CS₃ و CS₄ إذ اظهرت النتائج فروقاً معنوية بين معاملات الكايتوسان، فقد لوحظ اختلاف في قابلية ربط الدهن للمعاملة الواحدة باختلاف نوع الدهن المستعمل في التجربة إذ كانت قابلية ربط الدهن للكايتوسان CS₁ بين 451-465% وقد اظهر أعلى ارتباط له مع زيت الذرة 465%، في حين تراوحت قابلية ربط الدهن للكايتوسان CS₂ بين 484-511% وأظهر اعلى ارتباط مع زيت الزيتون 585% وادناها مع زيت زهرة الشمس، اما معاملة الكايتوسان CS₃ فقد تراوحت

المصادر

- shrimp shells. J. Chem. Technol. Biotechnology. **81**: 1113-1118.
- [7] A. O. A. C. (2004). Association of Official Analytical Chemists, 12th ed., Washington , D. C.
- [8] ظاهر، محارب عبد الحميد (1999). علم اللحوم. مطبعة دار الحكمة. جامعة البصرة، 519 صفحة .
- [9] أحمد، آية أحمد عبد اللطيف (2017). تحضير الكايتوسان من الكايتين المنتج من عزلة محلية من Aspergillus oryzae واستعماله كمضاد لبعض الاحياء المجهرية. رسالة ماجستير ، كلية الزراعة ،جامعة بغداد.
- [10] Yeul, V and Rayalu, S. (2013). Unprecedented Chitin and Chitosan: A Chemical Overview. J. Polym. Environ. **21** (2):606-614.
- [11] Merlina, D. and salvacion p. (2009). cresidio Investigation of chitosan from squid pen as Scar Remover. World applied sciences journal 5 (special issue for environment). 98-103.
- [12] No, H. K.; Cho, Y. I.; Kim, H. R. and Meyers, S. P. (2000). Effective deacetylation of chitin under conditions of 15 psi/121°C. Journal of Agricultural and Food Chemistry. **48** (6):2625-2627.
- [13] Islam, M.; Masum, S. M.; Rahman, M. M.; Molla, M. A.; Shaikh, A. A. and Roy, S. K. (2011). Preparation of Chitosan from Shrimp Shell and Investigation of Its Properties. International

Journal of Basic & Applied Sciences IJBAS-IJENS.11 (01): 77-80.

[14] Gokilavani, S; Vijayabharathi, V. and Parthasarathy, R. (2014). Physico-Chemical Characteristics and Antibacterial Activity of Chitosan Extracted from Shell of Crab *Paratelphusa hydrodromous*. Asian J. Res. Pharm. Sci. 4 (3):125-128.

[15] Patria, A. (2013). Production and characterization of chitosan from shrimp shells waste. Aquaculture, aquarium, conservation and legislation. International Journal of the Bioflux Society. 6 (4): 339 – 344.

[16] Hossain, M. and Iqbal, A. (2014). Preparation and characterization of chitosan from shrimp waste. Journal of the Bangladesh Agricultural University. 12 (1):153-160.

[17] Khan, T.; Peh, K. and Chng, H. S. (2002). Reporting degree of deacetylation values of chitosan : The influence of analytical methods. J. Pharm. Sci. 3 (3) :205 – 212

[18] Kim, S. F. (2004). Physicochemical and functional properties of crawfish chitosan as affected by different procession protocols. M.Sc. thesis, Louisiana State University.

[19] Alishani, A. et al. (2011). Enhancement and characterization of chitosan extraction from the wastes of shrimp packaging plants. J. Polym. Environ. 19 : 776 –783.

[20] Samar, M. M.; El-Kalyoubi, M. H.; Khalaf, M. M. and Abd El-Razik, M. M. (2013). Physicochemical, functional, antioxidant and antibacterial properties of chitosan extracted from shrimp wastes by microwave technique. Annals of Agricultural Science . 58 (1): 33–41.

[21] Knorr, D. (1984). Use of chitosanous polymers in food- a challenge for food research and development. International Journal of Food Science and Technology. 38 : 85 – 97.

[22] Yuan, Y.; Chesnutt, B. M.; Haggard, W. O. and Bumgardenr, J. D. (2011). Deacetylation of chitosan: material characterization and in vitro evaluation via albumin adsorption and pre-osteoblastic cell cultures. Materials. 4: 1399-1416.

[23] Lertsutthiwong, P.; How, N.; Chandkrachang, S. and Sterens, W.F.(2002). Effect of chemical treatment on the characteristics of shrimp chitosan, Journal of Metals, Materials and Minerals. 12 (1): 11 – 18.

[24] No, H. K. and Meyers, S. P. (1995). Preparation and characterization of chitin and chitosan –a review. Journal of Aquatic Food Product Technology. 4 (2) : 27– 52.

[25] Pajak, A. W. and Bykowski, P. J. (1998). Production of chitosan with specified physicochemical properties by means of controlling the time and temperature of the reaction of deacetylation. Bulletin of the Sea Fisheries Institute. 1 (143) : 75 – 81.

[26] الكنانى، حسن كاظم علي (2015). تحضير أغشية قابلة للأكل من قشور الروبيان وتوصيفها واستعمالها في إطالة حفظ الجبن الأبيض الطري العراقي. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة البصرة.

[27] Kumirska, J. et al. (2010). Application of spectroscopic methods for structural analysis of chitin and chitosan. 8 (5): 1567-1636.

[28] Arantes, M. K.; Kugelmeier, V.; Cardozo-Filho, L.; Monteiro, M. R.; Oliveira, C. R. and Alves, H. J. (2014). Influence of the Drying Route on the Depolymerization and Properties of Chitosan. Polymer engineering and science. 55 (9): 1969-1976.

[29] Puvvada, Y. S.; Vanikayalapati, S. and 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.

[30] Andrade, S., M.; R. L. Ladshumananan; B.G. Darocha; D.D. Belarmino and A. O. Galvao (2012). The use of exoskeletons of shrimp (*Litopenaeus Vanammei*) and production of nanomembrane. Materials sciences and applications. 3 :495-508.

[31] Basosidik. S., P. Pankeawb, E. Hoonnivathanac, P. Limsuwana, K. Naemchantharaa (2013). Preparation and structure of chitosan from waste sources. Proceeding - Science and Engineering : 530–535.

[32] Zvezdova, D. and Uzov, C. (2012). Determination of the degree of deacetylation of chitin and chitosan by X-Ray powder diffraction. Management and education. 4 (4).

[33] Baskar, D. and Sampath, K. (2009). Effect of deacetylation time on the preparation, properties and swelling behaviour of chitosan films. Carbohydr. Polym. 78:772–767.

[34] Divya, K.; Rebello, S. and Jisha, M. S. (2014). A Simple and Effective Method for Extraction of High Purity Chitosan from Shrimp Shell Waste. Proc. of the Intl. Conf. on Advances in Applied Science and Environmental Engineering. Kerala, India. Mahathma Gandhi University.

[35] Chen, C. S.; Liau, W. Y. and Tsai, G. J. (1998). Antibacterial effects of N-sulfonated chitosan and N-sulfobenzoyl chitosan and applications to oyster preservation. Journal of Food Protection. 61: 1124 – 1128.

[36] Zahiruddin, W.; Ariesta, A. and Salmalah, E. (2008). Karakterisasi Mutu dan kelarutan kitosan dari Ampas Silase Kepala Udang Windu (*Panaeus monodon*). Buletin Teknologi Hasil Pertanian. 11 (2) : 140 – 151.

[37] سلمان، ضحى داود والعبادي، أيمناس مظفر (2009). تقويم

بعض الخصائص الفيزيوكيميائية والوظيفية الكيتوسان المحضر بمعاملة قلوية من قشور الروبيان. مجلة العلوم الزراعية، 40(4):

75-63

- [38] Cho, Y. I. and No, H. K. (1999). Effective deproteinization under autoclaving conditions for preparation of chitin. Journal of Korean Society for Chitin and Chitosan. 4 (3): 152- 155.
- [39] النور، جلال محمد عيسى (2014). إستخلاص الجيلاتين والكيوتوسان من مخلفات الأسماك والقشريات ودراسة خواصها وتطبيقاتها. أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة البصرة.
- [40] Tajik, H.; Moradi, M.; Rohani, S. M. R.; Erfani, A. M. and Jalali, F. S. S. (2008). Preparation of chitosan from brine shrimp (*Artemia urmiana*) cyst shells and effects of different chemical processing sequences on the physicochemical and functional properties of the product. Molecules . 13: 1263-1274.
- [41] Tungtong, S.; Okonogi, S.; Chowwanapoonpohn, S.; Phutdhawong W. and Yotsawimonwat, S. (2012). Solubility, viscosity and rheological properties of water-soluble chitosan derivatives. Journal of Science and Technology. 6 (02) : 315 – 322.
- [42] No, H.K. and Meyers, S.P. (2004). Preparation of tofu using chitosan as a coagulant for improved shelf life. Institute Journal of Food Science Technology. 39 : 133 – 141.
- [43] Li, Q.; Dunn, E. T.; Grandmaison, E. W. and Goosen, M. F. A. (1992). Application and properties of chitosan. J. Bioact. Compat Polym. 7 : 370 – 397.
- [44] Cho, Y. I.; No, H. K. and Meyers, S. P. (1998). Physicochemical characteristics and functional properties of various commercial chitin and chitosan products. J. Agric Food Chem. 46: 38 – 39.

Physicochemical and functional characteristics of chitosan extracted methods from shrimp shells (*Metapenaeus affinis*) by different treatments

Hind Mohammed Al-Abbasy¹, Ethar Zeki Nagi¹, Zaid Akram Thabet²

¹ Department Food Science , College of Agriculture , Tikrit University, Tikrit , Iraq

² Biological technique , Al-Nahrain University , Baghdad , Iraq

Abstract

The physicochemical characteristics included: moisture, ash, nitrogen, degree of deacetylation, viscosity, refractive index, density, solubility, molecular weight and functional properties like fat and water binding capacity were detected for four types of chitosan designated as CS₁, CS₂, CS₃, CS₄ That prepared from shrimp shells. The first product was prepared by treatment of chitin with sodium hydroxide solution at 100°C for 20 hour, second at 65°C for 20 hour, Third treatment used autoclave at 121°C for 15 minute and the fourth treatment used microwave at 800 wat for 15 minute. The yield of chitosan types CS₁, CS₂, CS₃ and CS₄ were (13.19, 14.81, 15.20, 11.23) % respectively as dry weight of shells. The moisture content for chitosan types were (6.86, 6.02, 5.31 and 7.00) % respectively, and the ash percentage was (0.76, 0.41, 0.95, 0.74)% respectively. It was discerned that a relationship is existed between physiochemical and functional characteristics, for all types of chitosan. The solubility, water and fat binding capacity increased with higher rate of deacetylation offset by a decrease in molecular weight, viscosity and nitrogen. The degree of deacetylation for chitosan CS₁ 70.24 %, chitosan CS₂ 76.95%, 80.32 % for chitosan CS₃ and chitosan CS₄ 66.11 %. Nitrogen content was 4.30%, 2.84 %, 2.16% and 5.23% respectively. A higher viscosity showed for chitosan CS₄ being 93.80% centipoise, while chitosan CS₃ had a higher solubility in 1% acetic acid solution it was 88.27 % compared with other types CS₁, CS₂, CS₄ were (76.45, 85.16, 70.52) % respectively. The chitosan CS₃ had a higher capability for water binding was 732 %, while chitosan CS₄ showed a lower capability for water binding being 659%. There was a difference in fat binding ability for all types of chitosan with source of oil. The fat binding capacity for chitosan CS₁ ranged between (422-465) % while (484-585) % for chitosan CS₂, as for fat binding capacity for chitosan CS₃ ranged between (582-637) % and (316-420) % for chitosan CS₄.