

تقويم بعض الخصائص الفيزيوكيميائية والوظيفية للكايتوسان المحضر بمعاملة قلوية من قشور الروبيان

إيناس مظفر خليل العبادي
قسم علوم الأغذية والتقانات الاحيائية
كلية الزراعة /جامعة بغداد

ضحى داود سلمان
شعبة العلوم الأساسية
كلية الزراعة /جامعة بغداد

المستخلص

درست الخصائص الفيزيوكيميائية التي شملت الرطوبة والرماد والنتروجين ومعامل الانكسار والانحراف النوعي والكثافة واللزوجة والذائبية و الوزن الجزيئي والنسبة المزالة من مجاميع الاستيل والطول الموجي الأمثل فضلا عن الخصائص الوظيفية المتمثلة بقابلية الارتباط بالماء والدهن لنوعين من الكايتوسان رمز لهما A و B ، حضر الأول بمعاملة الكايتين المعزول من قشور الروبيان بمحلول قاعدي بحرارة 100 ° م مدة 4 ساعات والثاني مدة 20 ساعة . بلغت الحصيلا النهائية لنموذجي للكايتوسان A و B 72.8% و 69.8% على التوالي ، على أساس الوزن الجاف للكايتين. بلغ المحتوى الرطوبي للنموذجين A و B 7% و 5.6% والرماد 0.74% و 0.88% على الترتيب. لوحظ وجود علاقة بين الخصائص الفيزيوكيميائية والوظيفية للنوع الواحد من الكايتوسان إذ ارتفعت نسبة النتروجين والذائبية وقابلية ربط الماء والدهن مع زيادة نسبة مجاميع الاستيل المزالة من الكايتوسان قابلها انخفاض في الوزن الجزيئي واللزوجة إذ بلغت نسبة مجاميع الاستيل المزالة للكايتوسان A 81.4% و الكايتوسان B 89.8% وكان محتوى النتروجين للنموذجين A و B 1.92% و 2.93% على الترتيب . وظهر كاييتوسان A لزوجة عالية بلغت 93.7 سنتي بويز فيما أبدى الكايتوسان B لزوجة منخفضة بلغت 61.1 سنتي بويز ، وبلغ الوزن الجزيئي للكايتوسان A و B 1115 كيلودالتون و 720 كيلو دالتون على الترتيب . ظهرت أقصى امتصاصية للكايتوسان A على طول موجي 340 نانومتر فيما اظهر الكايتوسان B أقصى امتصاصية عند طول موجي 310 نانومتر. تميز كاييتوسان B بذائبية عالية في محلول حامض ألكليك 1% بلغت 100% مقارنة بكاييتوسان A 60.87%. اظهر الكايتوسان B قابلية لربط الماء أعلى من كاييتوسان A إذ كانت 788% بينما بلغت للأخير 621.5%. وتباينت قابلية ربط الدهن لنموذجي الكايتوسان A و B باختلاف نوع الدهن المستخدم إذ تراوحت قابلية ربط الدهن لكاييتوسان A بين 426-665% فيما تراوحت قابلية ربط الكايتوسان B بين 400-678% وتميز كاييتوسان B بقابلية عالية لربط الدهن مقارنة بكاييتوسان A فيما عدا زيت الزيتون إذ كان ارتباطه أكثر بكاييتوسان A.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences 40 (4):63-75 (2009)

Salman & Al-aubadi

ASSESSING SOME OF PHYSIOCHEMICAL AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF ALKALI PREPARED CHITOSAN FROM SHRIMPS SHELLS

Dhuha D. Salman
Basic science Dep.
College of Agriculture
Baghdad university

Inas M. Khaleel
Food and Biotechnology Dep.
College of Agriculture
Baghdad university

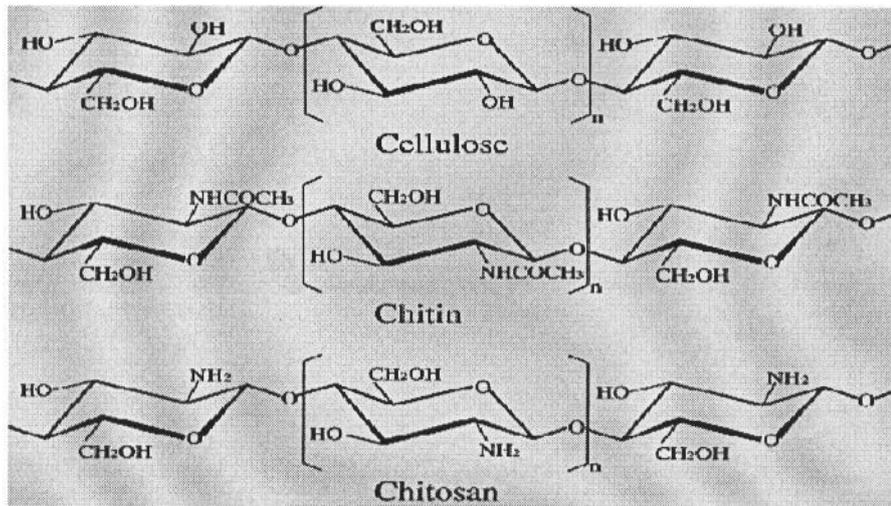
ABSTRACT

The physiochemical characteristics included: Moisture, Ash, Nitrogen, Refractive index, Specific rotation, Density, Viscosity, Solubility, molecular weight, Degree of Deacetylation, Optimum wave length and Functional properties like fat and water binding capacity were studied for two types of chitosan designated as A and B that prepared from shrimp shells. The first product prepared by treatment of chitin with alkaline solution at 100 °C / 4 hour and the second for 20 hour. The yield of chitosan A and B were 72.8 and 69.8% respectively as dry weight of chitin. The moisture content for both types A and B was 7% and 5.6% and 0.74 and 0.88% ash respectively. It was observed that a relationship is existed between physiochemical and functional characteristics for each type of chitosan. The nitrogen content , solubility, water and fat binding capacity increased with higher rate of Deacetylation Offset by a decrease in molecular weight and viscosity. The degree of Deacetylation for chitosan A 81.4% and chitosan B 89.8% the nitrogen content for both types A and B were 1.92 and 2.93% respectively. A highly viscosity showed for chitosan A being 93.7 centipoise compared with low viscosity for chitosan B (61.1 centipoise). The molecular weight for chitosan A and B were 1115kDa and 720kDa respectively. A maximum absorbency was shown for chitosan A was at 340 nm and was at 310 nm for chitosan B. The chitosan B had a higher solubility in 1% acetic acid solution (100%) compared with 60.87% for chitosan A . The chitosan B had a higher capability for water binding being 788% compared with 621.5% for chitosan A . There was a difference in fat binding ability for both types of chitosan with source of oil. The fat binding capacity for chitosan A ranged between 426-665% while 400-678% for chitosan B. The later has a higher ability for fat binding compared with chitosan A except for olive oil.

المقدمة

يتشابه الكايتين والكايتوسان في التركيب الكيميائي إذ يتألف الكايتين من ارتباط وحدات متشابهة من N-acetyl-D-glucosamine مع بعضها بأواصر كلايكوسيدية من نوع $\beta(1-4)$ مكونة من سلاسل مستقيمة غير متفرعة تصل وحداتها 2000-3000 وحدة إما الوحدات الفرعية الداخلة في تركيب الكايتوسان فهي $\beta(1-4)$ -2-amino-2-deoxy-D-glucose ويمكن الاختلاف بين الكايتين والكايتوسان في وجود مجموعة أمين في موقع ذرة الكربون رقم 2 للمركب الأخير بدلا من مجموعة N-acetyl في الكايتين فيما يحتوي السليلوز على مجموعة هيدروكسيل في موقع ذرة الكربون الثانية C-2 من السكر المتعدد (21، 19، 13، 34) (شكل 1). الكايتوسان مركب غير سام ذو وزن جزيئي عالي يتراوح بين 100,000-1,200,000 دالتون اعتمادا على طريقة تحضيره. ويمتلك شحنة موجبة في المحاليل الحامضية لاحتوائه على مجموعة أمين حرة توفر له قابلية عالية للارتباط الكيميائي مع الشحنات السالبة في الدهون والزيوت والكولسترول والايونات المعدنية السالبة والبروتينات وغيرها من الجزيئات الكبيرة (18، 24). يمتاز الكايتوسان بذائبيته العالية في محاليل الحوامض العضوية المخففة كحامض ألكيك والفورميك واللاكتيك كما يذوب في حامض الهيدروكلوريك بتركيز 1% إلا أنه غير ذائب في الماء والمحاليل القاعدية ذات الأس الهيدروجيني الأعلى من 6.5 % (35).

يعد الكايتين ثاني أكبر مركب عضوي منتشر في الطبيعة بعد السليلوز (32) وينتشر الكايتين في اللاقاريات البحرية كالفشريات مثل سرطان البحر والروبيان وجراد البحر (الجمبري) فضلاً عن الهيكل الخارجي للحشرات وجران خلايا الفطريات والخمائر وينعدم وجوده في النباتات والحيوانات الراقية (4، 17). يتألف الهيكل الخارجي للفشريات من 20-30% كايتين و30-40% بروتينات و30-50% كربونات الكالسيوم وفوسفات الكالسيوم على أساس الوزن الجاف وتتباين هذه النسب باختلاف نوع الفشريات وفصول السنة (12، 13) إذ تتراوح نسبة الكايتين في أبو جلمبو 1.3-72% اعتمادا على نوعه وفي الروبيان 6-58% وجراد البحر (الجمبري) 60-77% (19). إما الكايتوسان هو معقد كربوهيدراتي يختلف في محتواه من مجاميع الاسيتيل، يحضر من الكايتين إنزيميا أو بمعاملة قاعدية تسبب إزالة مجاميع الاسيتيل جزئيا أو كليا اعتماداً على ظروف المعاملة وتدعى هذه العملية بإزالة مجاميع الاسيتيل Deacetylation وتؤدي هذه المعاملة القاعدية إلى كسر جزء من معقد N-acetyl مع تكوين وحدات D-glucosamine الحاوية على مجاميع الأمين الحرة (6) كما يوجد الكايتوسان طبيعياً في العديد من الفطريات (5).



شكل 1. التركيب الكيميائي للسليلوز والكايتين والكايتوسان

الصوديوم بتركيز 3.5 % لمدة ساعتين بدرجة حرارة 65م° بنسبة (10:1) (و/ح) وبعد غسل القشور بالماء جرت عملية إزالة العناصر المعدنية Demineralization بمحلول حامض الهيدروكلوريك بتركيز 1 عياري لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة الغرفة بنسبة (15:1) (و/ح) وبعد غسل القشور جيدا بالماء تم إزالة الصبغات بمعاملتها بالأسيتون ومن ثم بمحلول هايپوكلورات الصوديوم بتركيز 0.315 % (و/ح) مدة 5 دقائق بدرجة حرارة الغرفة بنسبة (10:1) (و/ح) وأخيرا غسل الناتج الأبيض بالماء المقطر وجفف في فرن كهربائي بدرجة حرارة 60 م° مدة 25 ساعة.

ثانياً: تحضير الكايتوسان

تم تحضير الكايتوسان وفقاً للطريقة التي ذكرها Kamil و آخرون (15) بمعاملة الكايتين المحضر مخبرياً في محلول قاعدي من هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 50% بنسبة (10:1) (و/ح) وجرت المعاملة بحرارة 100 م° مدة 4 ساعات و 20 ساعة . تم غسل القشور بالماء المقطر بسرعة تحت التفريغ بعد إجراء المعاملة بالقاعدة تلاه عملية الغسل بماء ساخن مزال الايونات لحين وصول القشور إلى نقطة التعادل (pH 7) ثم جففت في فرن حراري بدرجة حرارة 60 م° مدة 24 ساعة.

ورمز للكايتوسان المحضر بالمعاملة القاعدية بحرارة 100 م° لمدة 4 ساعات بالكايتوسان A فيما رمز للكايتوسان المحضر بالمعاملة القاعدية بحرارة 100 م° لمدة 20 ساعة بالكايتوسان B.

ثالثاً: تقدير الخصائص الفيزيوكيميائية والوظيفية

تم تقدير الخصائص الفيزيوكيميائية والوظيفية لنموذجي الكايتوسان A و B بثلاث مكررات

1- تقدير الرطوبة : تم تقدير النسبة المئوية للرطوبة وفقاً للطريقة القياسية المذكورة في AOAC (2) وذلك بوزن 1غم من العينة وجرى تجفيفها في فرن حراري بدرجة حرارة 60 م° مدة 24 ساعة.

2- تقدير الرماد : قدرت النسبة المئوية للرماد وفقاً للطريقة القياسية المذكورة في AOAC (2) بحرق 2غم من العينة في فرن الترميد Muffle furnace بدرجة حرارة 600 م° مدة 6 ساعات.

يمتلك الكايتوسان ثلاثة مجاميع وظيفية فعالة وهي مجموعة الأمين ومجموعتي الكاربوكسيل الأولية والثانوية في مواقع ذرات الكربون C-2 و C-3 و C-6 على التوالي.

تضفي هذه المجاميع للكايتوسان فوائد عدة في مختلف المجالات التطبيقية الطبية والصيدلانية وفي تصنيع الأغذية (34) ويمتاز الكايتوسان بخصائص وظيفية متعددة منها تثبيت أنظمة الاستحلاب (23، 36) وربط الصبغات (28) وتكوين الهلامات (37) وتكوين أغلفة صالحة للأكل Edible films (9، 26، 33) وعوامل مخثرة ومجمعة (29) وربط الماء والدهون (10، 11) فضلاً عن فعاليته الحيوية في خفض نسب الكولسترول والدهن (34) وفعاليته المضادة للأكسدة (15) والمضادة للأحياء المجهرية (8) كما يعد دعامة مثالية لتقييد الإنزيمات (14). تبلغ إنتاجية الكايتين في الولايات المتحدة الأمريكية سنوياً بحدود 5000-8000 طن. ويصل إلى 600 طن سنوياً في كوريا كما تنتج اليابان ملايين الكيلوغرامات من الكايتين والكايتوسان (20، 28).

ونظراً لتوافر مصادر الكايتين المتمثلة بالإحياء البحرية كالروبيان في العراق وخصوصاً في محافظة البصرة حيث يستهلك كميات كبيرة إلا أن فضلاته المتبقية المتمثلة بالهيكل الخارجي غالباً ما تهمل في كثير من الأحيان أو تستخدم كعلف للحيوانات، لذا فقد هدفت هذه الدراسة إلى الاستفادة من تلك المخلفات لتحضير الكايتين ودراسة الصفات الفيزيوكيميائية والوظيفية لنوعين من الكايتوسان المحضر من الكايتين بعملية إزالة الأسيتيل بهدف الاستفادة منها في التطبيقات المختلفة.

المواد وطرائق العمل

أولاً: تحضير الكايتين

جمعت قشور الروبيان من سوق السمك في محافظة البصرة ، جففت بتركها معرضة لأشعة الشمس نقلت إلى بغداد وأجريت الدراسة في كلية الزراعة - جامعة بغداد حضر الكايتين منه وفقاً للطريقة التي ذكرها Kim (17) وذلك بغسل مخلفات الروبيان جيداً بماء الحنفية ثم جففت هوائياً وسحقت بطاحونة كهربائية وجرى عملية إزالة البروتينات Deproteinization بمعاملة القشور بمحلول هيدروكسيد

بمدى من الأطوال الموجية تراوح بين 400-700 نانومتر. واستخدم محلول حامض الخليك بتركيز 1% محلولاً كفاً (Blank) لتصفير الجهاز.

8- تقدير اللزوجة: قدرت لزوجة نموذجي الكايتوسان A و B باستخدام جهاز Ostwald viscometer إذ حضرت محاليل الكايتوسان بتركيز 1% في محلول 1% حامض ألكيك وجرى تقدير الزمن اللازم لانتسياب السائل خلال مسافة معينة بدرجة حرارة 25م (1).

9- تقدير الوزن الجزيئي: قدر الوزن الجزيئي لنموذجي الكايتوسان A و B وفقاً لما ذكره No و آخرون (28) اعتماداً على لزوجة النموذجين المقدره في الفقرة السابقة باستخدام المعادلات الآتية:

$$[\eta_{sp}] = (\eta - \eta_s) / \eta_s$$

$$\eta = \eta_{sp}/c$$

$$Mv = [\eta/k]^{1/a}$$

مغلي مدة 10 دقائق وبعد تبريد الأنابيب إلى درجة حرارة 25 مْ نبذت مركزياً بسرعة $10.000 \times g$ مدة 10 دقائق. أزيل الجزء الطافي وغسلت الدقائق غير الذائبة بمقدار 25 مل من الماء المقطر ونبذت مركزياً بالسرعة ذاتها ثم أهمل الجزء الطافي وجففت الدقائق غير الذائبة بدرجة حرارة 60 مْ مدة 24 ساعة وحسبت النسبة المئوية للذائبة من المعادلة الآتية:

3- تقدير النتروجين: تم تقدير كمية النتروجين في 0.2 غم من العينة بطريقة مايكروكلدال القياسية وفقاً للطريقة المذكورة في AOAC (2).

4- تقدير معامل الانكسار: قدر معامل الانكسار لمحلولي الكايتوسان A و B المحضرة بتركيز 1% في محلول 1% حامض ألكيك باستخدام جهاز Abbe refractometer بدرجة حرارة 24م.

5- تقدير استدارة الضوء المستقطب (الانحراف النوعي): تم تقدير درجة استدارة الضوء المستقطب لمحلولي الكايتوسان A و B المحضرة بتركيز 1% في محلول 1% حامض ألكيك باستخدام جهاز Polarimeter بدرجة حرارة 25م.

6- تقدير الكثافة: قيست كثافة نموذجي الكايتوسان A و B المحضرة بتركيز 1% في محلول 1% حامض ألكيك باستخدام قنار الكثافة ذات حجم 50 مل.

7- تحديد الطول الموجي الأمثل للامتصاصية: تم تحديد أقصى طول موجي لامتصاصية محلولي الكايتوسان A و B المحضرة بتركيز 1% في محلول 1% حامض ألكيك باستخدام جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer

تمثل η لزوجة النموذج

η_s لزوجة المذيب

η_{sp} للزوجة النوعية

c تركيز المحلول

k ثابت مقداره 1.81×10^{-5} (سم³ × غم)

a ثابت مقداره 0.93

10- تقدير الذائبية: جرى تقدير الذائبية لنموذجي الكايتوسان وفق الطريقة التي ذكرها (17) Kim بوضع 0.1 غم من النموذج في أنبوبة نبذ مركزي معلومة الوزن، أضيف للنموذج 10 مل من محلول حامض ألكيك بتركيز 1% ووضعت الأنابيب في حاضنة هزازة بسرعة 240 دورة/دقيقة بدرجة حرارة 25 م لمدة 30 دقيقة ثم وضعت في حمام مائي

(وزن الأنبوبة والكايتوسان قبل المعاملة) - (وزن الأنبوبة والكايتوسان بعد المعاملة)

$$\text{الذائبية \%} = \frac{\text{وزن الأنبوبة والكايتوسان قبل المعاملة}}{\text{وزن الأنبوبة والكايتوسان بعد المعاملة}} \times 100$$

(وزن الأنبوبة والكايتوسان قبل المعاملة) - (وزن الأنبوبة)

جيذا بمزج كهربائي vortex مدة دقيقة واحدة لتشتيت النموذج وتركن مدة 30 دقيقة بدرجة حرارة الغرفة مع مراعاة مزج الأنابيب مدة 5 ثواني كل 10 دقائق ثم نبذت الأنابيب بجهاز النبذ المركزي بسرعة $6000 \times g$ مدة 25 دقيقة، أهمل الجزء الطافي ثم وزنت الأنابيب مرة ثانية وحسبت النسبة المئوية لربط الماء من المعادلة الآتية

الماء المرتبط (غم)

$$\text{قابلية ربط الماء \%} = \frac{\text{وزن العينة (غم)}}{100} \times 100$$

وزن العينة (غم)

11- تقدير قابلية ربط الماء والدهن : قيست قابلية ربط الماء (Water binding capacity (WBC) و قابلية ربط الدهن (Fat binding capacity (FBC بالطريقة التي ذكرها No و آخرون (28) وذلك بوزن أنبوب نبذ مركزي حاو على 0.5 غم من النموذج مضاف له 10 مل من الماء أو زيوت نباتية مختلفة شملت زيت الخروع وزيت زهرة الشمس وزيت اللوز الحلو وزيت الذرة وزيت الزيتون . مزجت الأنابيب

فيما حسبت النسبة المئوية لربط الدهن من المعادلة الآتية

الدهن المرتبط (غم)

$$\text{قابلية ربط الدهن \%} = \frac{\text{وزن العينة (غم)}}{100} \times 100$$

وزن العينة (غم)

من الخليط وضغط باستخدام ضاغطة هيدروليكية خاصة بجهاز IR وبضغط 8 بار مدة 60 ثانية وضعت الأقراص المضغوطة في مجفف Desicator داخل فرن بدرجة حرارة 80 م مدة 16 ساعة قبل تحليلها بجهاز Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) بتردد $400 - 4000 \text{ سم}^{-1}$ وحسبت (DD) باستخدام المعادلة

$$DD = 100 - \left[\frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times 100 / 1.33 \right]$$

للكابتين 72.8 % و 69.8% على التوالي. يعزى اختلاف الحصيلا النهائية لنموذجي الكايتوسان إلى تباين الطريقة المتبعة في تحضيرهما .

يوضح جدول (1) نتائج تحليل التركيب الكيميائي لنموذجي الكايتوسان A و B إذ بلغ المحتوى الرطوبي للكايتوسان A 7% بينما كان 5.6% للكايتوسان B. إن ارتفاع المحتوى الرطوبي يشير إلى قابلية الكايتوسان العالية لامتصاص الرطوبة خلال فترة الخزن، إذ ذكر Khan و آخرون (16) إن الكايتوسان مادة ماصة للرطوبة Hygroscopic بطبيعته. كما يفسر ارتفاع المحتوى الرطوبي في الكايتوسان نوع A مقارنة بنوع B إلى انخفاض نسبة إزالة مجاميع الاستيل

12- تقدير درجة إزالة مجاميع الاستيل : تم تقدير درجة إزالة Degree of Deacetylation (DD) بتحصير نموذجي الكايتوسان A و B وفقا لما ذكره Khan (16) إذ عملت أقراص من النماذج مع بروميد البوتاسيوم KBr وذلك بوزن 40 ملغم من الكايتوسان مزجت مع 120 ملغم من KBr بواسطة هاون خزفي مدة 10 دقائق ثم اخذ 40 ملغم اجري الفحص في مركز ابن سينا الكائن في كلية علوم -

جامعة بغداد

النتائج والمناقشة

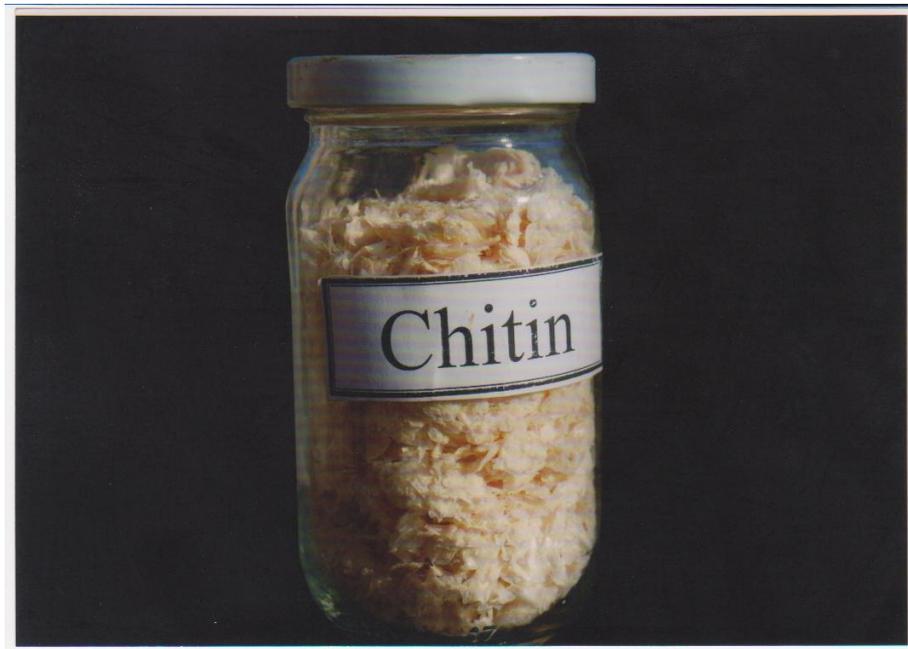
أظهرت النتائج إن حصيلا الكابتين 17.5% على أساس الوزن الجاف من قشور الروبيان .تعد هذه الحصيلا ضمن المدى الذي ذكره Ashford (3) إذ تراوحت حصيلا الكابتين 14 - 27% من قشور الروبيان .يبين شكل (2) قشور الكابتين المحضر مختبرياً. يعزى الاختلاف في الحصيلا النهائية للكابتين إلى الاختلاف في نوع الروبيان أو اختلاف طريقة تحضير الكابتين .كما كانت الحصيلا النهائية لنموذجي الكايتوسان A و B على أساس الوزن الجاف

أكثر امتصاصاً للرطوبة (17). أشار Li (24) إلى إن منتجات الكايتوسان التجاري تحتوي على أقل من 10% رطوبة.

Deacylation في النموذج A إذ بلغت 81.4% مقارنة بنوع B والتي بلغت نسبة الإزالة 89% (جدول 2). إن الانخفاض في درجة إزالة مجاميع الاستيل يجعل النموذج

جدول 1. التركيب الكيميائي لنموذجي الكايتوسان A و B

النماذج	الرطوبة %	الرماد %	النتروجين %
كايتوسان A	7	0.74	1.92
كايتوسان B	5.6	0.88	2.93



شكل (2) قشور الكايتين المحضر مختبرياً

إن محتوى الرماد في الكايتوسان ذي النوعية العالية يجب إن لا تتجاوز 1%، كما إن عدم إجراء خطوة إزالة العناصر المعدنية تؤدي الحصول على الكايتوسان بنسبة رماد تتراوح بين 31-36% (7).

تراوحت نسبة النتروجين لنموذجي الكايتوسان A و B 1.92%، 2.93% على التوالي. تبين هذه النتائج إن إزالة البروتينات المرتبطة مع الكايتين كانت بشكل كفاء خلال عملية إزالة البروتينات Deproteinization وان نسبة

يتضح من الجدول (1) إن النسب المئوية للرماد (قدرت على أساس الوزن الجاف) في نموذجي الكايتوسان A و B قد بلغت 0.74% و 0.88% على التوالي. تشير هذه النتائج إلى كفاءة عملية إزالة العناصر المعدنية Demineralization التي تعد خطوة أساسية في تحضير الكايتين، إذ أدت هذه المعاملة إلى إزالة أكبر قدر ممكن من كربونات الكالسيوم وفوسفات الكالسيوم التي يصل تركيزها في القشور إلى 30-50% (21). ذكره و آخرون (27)

تردد 3450 سم⁻¹ فيمثل مقياس لحزمة الهيدروكسيل والتي تمثل المقياس الداخلي. ويعزى الاختلاف في نسبة D.D للنموذجين إلى اختلاف طريقة تحضير الكايتوسان A و B. إذ إن الاختلاف في ظروف تحضير الكايتوسان كتغير درجة الحرارة أو الوقت الذي يتعرض له الكايتين في الوسط القاعدي NaOH سوف تؤثر على درجة إزالة وتوزيع مجاميع الاستيل في الكايتوسان والتي تؤدي إلى اختلاف الخواص الفيزيوكيميائية للكايتوسان كالزوجة والذائبية والوزن الجزيئي وتسبب بذلك تغير في فعاليته الوظيفية. وأشار Knaul (18) إن الكايتين المزال منه 75% من مجاميع الاستيل يعرف بالكايتوسان، كما تبلغ نسبة مجاميع الاستيل المزالة من الكايتوسان التجاري حوالي 70-90% وبوزن جزيئي 50 - 2000 كيلو دالتون.

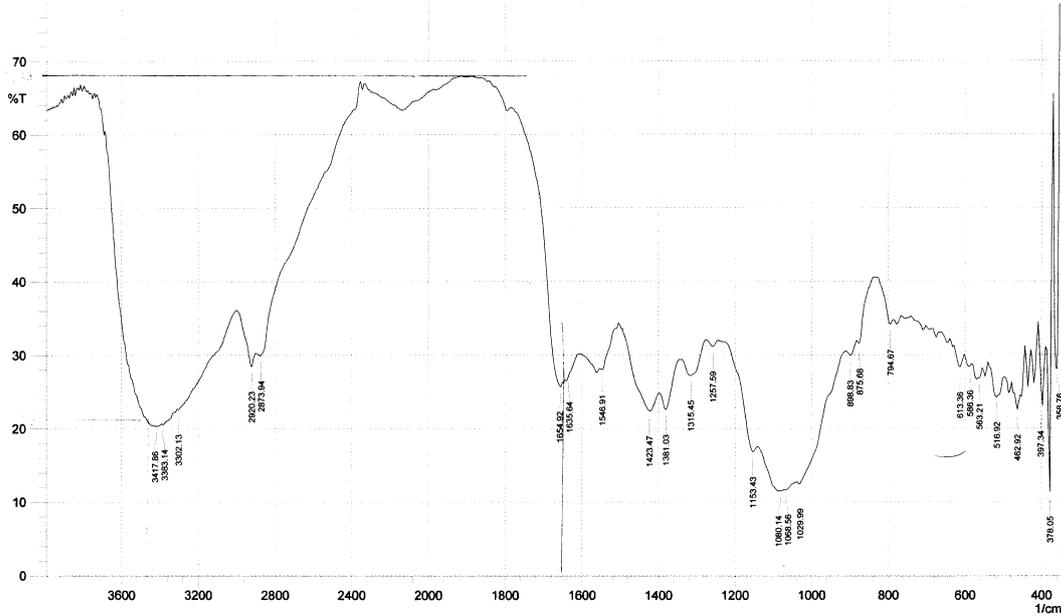
تعد تقنية FTIR-Spectroscopy و Spectroscopy - IR أكثر التقنيات المستخدمة في تقدير D.D لما تمتاز به من سرعة في التحليل وحساسيتها فضلاً عن عدم حاجتها إلى تقنية عالية للنموذج أو إذابته في مذيبات خاصة، إلا إن من عيوبه هو اختلاف نسبة D.D باختلاف المعادلة المستخدمة للحساب (30).

جدول 2. درجة إزالة مجاميع الاستيل (D.D) و الوزن الجزيئي واللزوجة لنموذجي الكايتوسان A و B

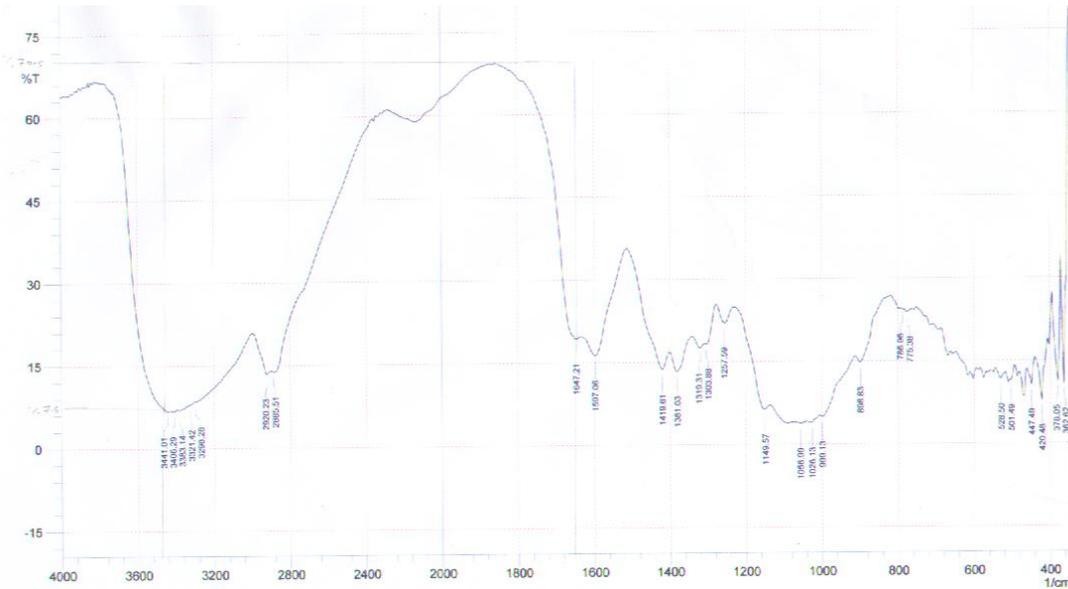
النموذج	% D.D	اللزوجة (Cp)	الوزن الجزيئي (KDa)
كايتوسان A	81.4%	93.70	1155
كايتوسان B	89.8%	64.16	720

النتروجين المحصل عليها قد تعود إلى مجاميع الأمين (NH₂) - الحرة المتوفرة في الكايتوسان فضلاً عن بقايا النتروجين في النموذج. إن محتوى النتروجين في الكايتوسان يعتمد على شدة المعاملة القاعدية التي يتعرض لها الكايتين بعملية إزالة مجاميع الاستيل (D.D). إذ ترتفع نسبة النتروجين مع طول مدة المعاملة إذ يلاحظ من النتائج ارتفاع محتوى النتروجين للكايتوسان نوع B المحضر من الكايتين المعامل قاعدياً بدرجة حرارة 100م° مدة 20 ساعة بينما انخفض للكايتوسان نوع A والتي كانت فيها المعاملة 4 ساعات. توصل Kamil و آخرون (15) إلى ارتفاع محتوى النتروجين مع زيادة مدة المعاملة من 4 ساعات إلى 20 ساعة إذ كانت 7.55 و 7.7 % على التوالي.

أظهرت نتائج تقدير النسبة المزالة من مجاميع الاستيل Deacetylation (D.D) (جدول 2) لنموذجي الكايتوسان A و B والمقدرة بتقنية FTIR-Spectroscopy شكل (3)، (4)، اختلاف نسبة D.D لنوعي الكايتوسان A و B إذ بلغت 81.4% و 89.8% على التوالي إذ تمثل الامتصاصية على تردد 1655 سم⁻¹ حزمة مجموعة الأمايد والتي عدة كمقياس لمحتوى مجاميع N-acetyl أما



شكل 3. تقدير نسبة مجاميع الاستيل المزالة للكايتوسان نوع A بتقنية FTIR-Spectroscopy



شكل 4. تقدير نسبة مجاميع الاستيل المزالة للكايتوسان نوع B بتقنية FTIR-Spectroscopy

على لزوجة الكايتوسان أثناء تحضيره مثل درجة إزالة مجاميع الاستيل ، الوزن الجزيئي ، التركيز ، القوة الأيونية ، الأس الهيدروجيني والحرارة (7، 25). أشار Kim (17) إن هنالك علاقة طردية بين الوزن الجزيئي واللزوجة ، إذ كلما زاد الوزن الجزيئي للكايتوسان زادت لزوجته وتنخفض لزوجته مع انخفاض الوزن الجزيئي.

بلغ الوزن الجزيئي للكايتوسان A 1155 كيلودالتون بينما انخفض الوزن الجزيئي للكايتوسان B إذ بلغ 720

بلغت لزوجة الكايتوسان A 93.7 سنتي بوز ، بينما انخفضت لزوجة الكايتوسان B إذ كانت 61.1 سنتي بوز (جدول 2) ، إن انخفاض لزوجة الكايتوسان B مقارنة مع A يعزى إلى شدة المعاملة القاعدية التي تعرض لها والتي وصلت إلى 20 ساعة على درجة حرارة 100م° إذ أدت هذه المعاملة إلى تحطم البوليمر Depolymerization وزيادة درجة D.D وانخفاض الوزن الجزيئي والتي تؤدي إلى زيادة ذاتية النموذج وخفض لزوجته (28). هنالك عدة عوامل تؤثر

المعاملة إلى تكسير المعقد الكربوهيدراتي وبالتالي إلى انخفاض الوزن الجزيئي (30). أشار Li و آخرون (24) إلى إن الوزن الجزيئي للكايتوسان يتراوح بين 100.000 - 1,200,000 دالتون اعتمادا على طريقة تحضيره.

كيلودالتون (جدول 2). يعزى سبب هذا الانخفاض إلى اختلاف طريقة تحضير الكايتوسان وشدة المعاملة القاعدية التي تعرض لها الكايتين أثناء تحضير الكايتوسان B والتي استمرت إلى 20 ساعة على درجة حرارة 100م⁰. تؤدي هذه

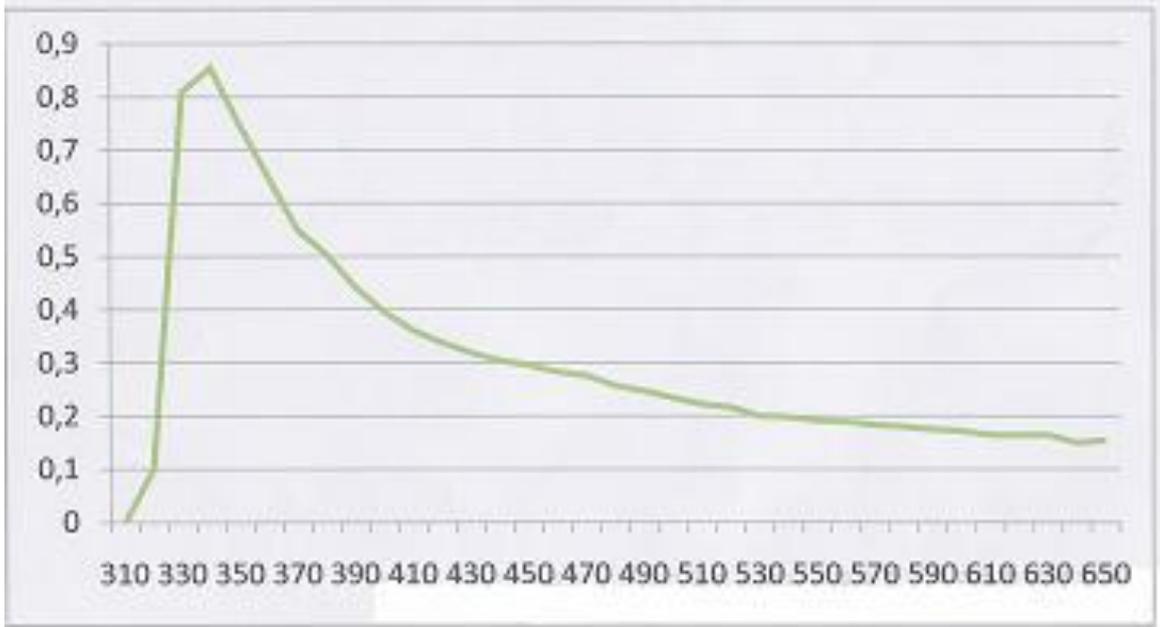
جدول 3 . الذائبية و الطول الموجي الأمثل و الكثافة و الانحراف النوعي ومعامل الانكسار لنموذجي الكايتوسان A و B

النماذج	الذائبية%	الطول الموجي الأمثل (نانومتر)	الكثافة (غم / سم ³)	الانحراف النوعي	معامل الانكسار
كايتوسان A	60.87	340	0.999	11.1 -	1.33
كايتوسان B	100	310	1	1.9 -	1.33

التي تحددها شدة المعاملة القاعدية للكايتين. فقد ذكر No و آخرون (27) للحصول على ذائبيه كاملة للكايتوسان لابد إن تبلغ نسبة مجاميع الاستيل المزالة 85%. كما أشار Kim (17) إلى ارتفاع ذائبية الكايتوسان إلى أكثر من 95% في حامض ألكليك (1%) نتيجة لمعاملة الكايتين بمحلول NaOH بتركيز 45-50% مدة 10-30 دقيقة. إن انخفاض تركيز المحلول القاعدي ووقت وحرارة المعاملة تسبب إزالة غير كاملة لمجاميع الاستيل مما يؤثر على ذائبيته في محلول حامض ألكليك 1%. كما يؤثر الوزن الجزيئي في ذائبية الكايتوسان إذ إن زيادة الوزن الجزيئي للكايتوسان تعطي ذائبية قليلة وبالعكس ، كما إن الكايتين ذو الوزن الجزيئي العالي (أكثر من مليون دالتون) يكون غير ذائب في معظم المذيبات العضوية (17). بينما يذوب الكايتوسان في محاليل الحوامض العضوية ذات الرقم الهيدروجيني الأقل من 6، مثل أحماض ألكليك والفورميك واللاكتيك. ويعد محلول حامض ألكليك 1% ذو الرقم الهيدروجيني 4 الأكثر استخداما والسبب يعزى إلى تحميل الكايتوسان شحنة موجبة لمجاميع الأمين في الوسط أحامضي مما يزيد من تنافر الجزيئات وتشتيتها في الوسط وكلما ارتفع الرقم الهيدروجيني عن 6 قلت ذائبية الكايتوسان إذ يترسب أو يتحول إلى هلام (17، 21، 22).

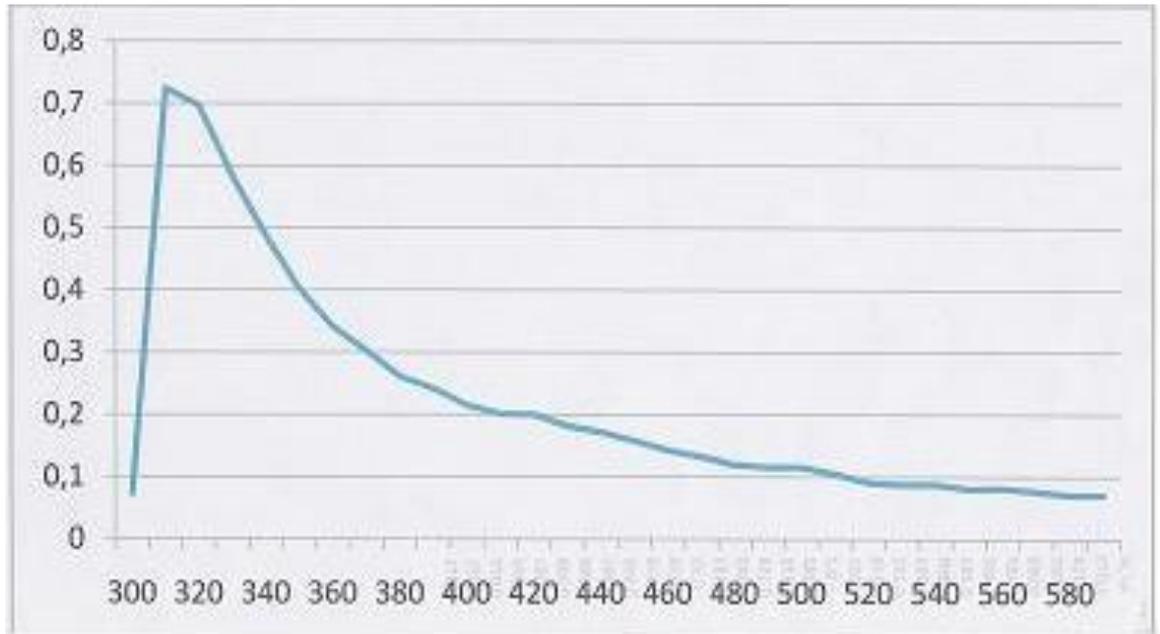
يوضح الشكلين (5 و 6) الطول الموجي الأمثل للكايتوسان A و B الذي يعطي أعلى امتصاصية للنموذجين، إذ لوحظ ظهور قمة واحدة عند الطول الموجي 340 نانومتر للكايتوسان نوع A و 310 نانومتر للكايتوسان B (جدول 3). تعد هذه الطريقة من الطرائق المستخدمة في تحديد نقاوة المحاليل أحادية المذاب وتشخيص المذاب من خلال تثبيت الطول الموجي الأمثل لامتناصه . بلغت كثافة النموذجين A و B 0.999 و 1 غم / سم³ على التوالي. تشابة النموذجين بمعامل الانكسار إذ بلغت قيمتها 1.33 ، كما تشابهها في اتجاه انحراف الضوء المستقطب والتي كانت الى جهة اليسار الا انهما اختلفا في زاوية الانحراف النوعي إذ كانت -1، 11 للكايتوسان A و - 1,9 للكايتوسان B. يعزى هذا التباين الى اختلاف التركيب الكيميائي لنموذجي الكايتوسان من ناحية نسبة مجاميع الاستيل المزالة وتوزيع مجاميع الاستيل المتبقية في المعقد الكربوهيدراتي فضلا عن اختلاف الوزن الجزيئي . يظهر جدول (3) ذائبية كل من نموذجي الكايتوسان A و B ، إذ تميز كاييتوسان نوع B بذائبيته العالية في محلول حامض ألكليك (1%) إذ بلغت 100% مقارنة بالكايتوسان نوع A والذي بلغت ذائبيته 60.87% . يعزى الاختلاف في الذائبية إلى عدة عوامل منها نسبة مجاميع الاستيل المزالة للنموذجين

الامتصاصية



الطول الموجي (نانومتر)

شكل 5. الطول الموجي الامتصاصي للكايتوسان A



الطول الموجي (نانومتر)

شكل 6. الطول الموجي الامتصاصي للكايتوسان B

جدول 4 . قابلية ربط الماء والدهن لنموذجي الكايتوسان

قابلية ربط الماء (%)	قابلية ربط الدهن (%)					النماذج
	زيت الزيتون	زيت الخروع	زيت اللوز الحلو	زيت الذرة	زيت زهرة الشمس	
621.5	550.5	665	498	426	462	كايتوسان A
788	400	678	541	432	491	كايتوسان B

يكون عاملاً مستحلباً مناسباً Emulsifying agent في تطبيقات غذائية متنوعة.

المصادر :

1. حسن، عبد علي مهدي. 1987. الكيمياء الفيزيائية لمنتجات الأغذية . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . جامعة بغداد . مديرية دار الكتب للطباعة والنشر.
2. AOAC. 1990. Official Methods of analysis, 15th ed., Association of official analytical chemists: Washington, DC.
3. Ashford, N. A., D. Hattis and A. E. Murray. 1977. Industrial properties for chitin and protein from shellfish waste , NIT Sea Grant report MISG 77-3: MIT: Cambridge, MA.
4. Austin, P. R., C. J. Brine J. E. Castle and J. P. Zikakis. 1981. Chitin : new fact of research. Science. 212:749.
5. Bouch, W. A. 1975. Reduction of suspended solids in vegetable canning waste effluents by coagulation with chitosan. J. Food Sci. 40: 297-301.
6. Bough, W. A., W. L. Salter A. C. M. Wu and B. E. Perkins. 1978. Influence of manufacturing variables on the characteristics and effectiveness of chitosan products. 1. Chemical composition , viscosity and molecular weight distribution of chitosan products. Biotech. Bioeng. 20:1931.
7. Chen, C., W. Liau and G. Tsai. 1998. Antibacterial effect of N-sulfonated and N-sulfo benzoyl chitosan and application to oyster preservation . J. Food Protection. 61: 1124-1128.
8. Chung, Y. C., H. L. Wang Y. M. Chen and S. L. Li. 2003. Effect of a biotic factors on the antibacterial activity of chitosan against water borne pathogens. Bioresource Techno. 197-184.
9. Coma, V., A. Deschamps, A. Martial-Fros. 2003. Bioactive packaging material from edible chitosan polymer-antimicrobial activity assessment on dairy -related contaminants . J. Food Sci. 68(9): 2788-2792.

أظهرت نتائج ربط الماء للكايتوسان A و B المبينة في الجدول (4) قابلية عالية للكايتوسان B لربط الماء إذ بلغت 788% مقارنة بالكايتوسان A والتي كانت 621.5%. وقد أشار Rout (31) إلى إن قابلية ربط الماء للكايتوسان تتراوح بين 581-1150 % بمعدل 702% بينما ذكر Kim (17) إلى إن مدى قابلية ربط الماء للكايتوسان تتراوح بين 660.6 - 745.4 % يعزى هذا التباين في قابلية ربط الماء إلى اختلاف الطبيعة الكيميائية للكايتوسان A و B بسبب اختلاف طريقة تحضيره إذ تزداد مجاميع الأمين الحرة للكايتوسان B والتي تكون أواصر هيدروجينية مع الماء فتكون أكثر ارتباطاً بالماء من كايوتوسان A.

يوضح جدول (4) قابلية ربط الدهن لنموذجي الكايتوسان A و B، إذ لوحظ اختلاف قابلية ربط الدهن للنموذج الواحد باختلاف نوع الدهن المستخدم في التجربة إذ تراوحت قابلية ربط الدهن للكايتوسان A بين 426 - 665 % حسب نوع الدهن ، إذ ظهر أعلى ارتباط له مع زيت الخروع 665% وأعطى مع كل من زيت اللوز الحلو وزهرة الشمس والذرة قابلية ربط متقاربة وهي 498% و 462% و 426% على الترتيب وأعطى قابلية ربط متوسطة مع زيت الزيتون 550.5%. تراوحت قابلية ربط الدهن للكايتوسان B بين 400 - 678% باختلاف نوع الدهن المستخدم إذ كانت قابلية ربطه لزيت الخروع عالية أيضاً بلغت 678% وأعطى زيت الزيتون اقل قابلية ربط بلغت 400%. نجد من خلال هذه النتائج إن قابلية ربط الدهن للكايتوسان B هي أعلى من قابلية ربط الدهن للكايتوسان A ماعدا قابلية ربطه لزيت الزيتون . توصل Kim (17) إلى إن قابلية ربط دهن مختلفة لأنواع مختلفة من الكايتوسان تراوحت بين 459.1 - 574.9% مع زيت الزيتون 370.2 - 638.2 % مع زيت زهرة الشمس و 413.4 - 634.8 % مع زيت الذرة. إن امتلاك الكايتوسان A و B لصفتي ربط الماء والدهن في نفس الوقت تؤهله لان

21. Knorr, D. 1984. Use of chitinous polymers in food-A challenge for food research and development. 1984. Food Technol.. 38(1):85-97.
22. Kurite, K. 1998. Chemistry and application of chitin and chitosan. Polymer degradation and stability. 59:117-120.
23. Laplante, S., S. L. Torgen and P. Paquin. 2005. Emulsion stabilizing properties of various chitosans in the presence of whey protein isolate. Carbohydrate Polymers. 59:425-434.
24. Li, Q., E. T. Dunn, E. W. Grandmason and M. F. A. Goosen. 1992. Application and properties of chitosan .J. Bioactive and Compatible. Polym. 7:370-397.
25. Moorjani, M. N., V. Achutha and D. I. Khasim. 1975. Parameters affecting the viscosity of chitosan from prawn waste. J. Food Sci. Technol. 12:187-189.
26. Nadarajah, K., W. Prinyawiwatkul, H. K. No and S. X. N. Z. Sathivel. 2006. Sorption behavior of crawfish films as affected by chitosan extraction processes and solvent type. J. Food Sci. 71(2): E33-9.
27. No, H. K. and M.Y. Lee. 1995. Isolation of chitin from crab shell waste. J. Korean Soc. Food Nutrition. 24(1):105-113.
28. No, H. K., K. S. Lee and S. P. Meyers. 2000. Correlation between physicochemical characteristics and binding capacities of chitosan products. J. Food Sci. Vol.65, No. 7.
29. No, H. K. Meyers, S. P. 2004. Preparation of tofu using chitosan as a coagulant for improved shelf-life. Int. J. Food Sci. Technol. 39:133-41.
30. Peniston, Q. P. and E. L. Johnson. 1980. Process for the manufacture of chitosan. U.S. Patent 4,195:175.
31. Rout, S. K. 2001. Physicochemical , functional and Spectroscopic analysis of crawfish chitin and chitosan as affected by process modification . Dissertation.
32. Ruiz- Herrera, J. 1978. The distribution and quantitative importance of chitin in fungi. In proceeding of the first international conference on chitin / chitosan, Muzzarelli, R. A. A. and Pariser, E. R. (Eds.), MIT Sea Grant Program, Cambridge, MA.p11.
10. Fukada, Y., K. Kimura and Y. Ayaki. 1991. Effects of chitosan feeding on intestinal bile acid metabolism in rats. Lipids. 26(5):395-399
11. Gallaher, C. M., J. Munion, R. J. R. Hesslink, J. Wise and D. D. Gallaher. 2000. Cholesterol reduction by glucomannan and chitosan is mediated by change in cholesterol absorption and bile acid and fat excretion in rats. J. Nutrition 130:2753-2759.
12. Green, J. H. and A. Kramer. 1984. Food processing waste management . p 214. AVI Publishing CO., Westport, CT.
13. Johnson, E. L. and Q. P. Peniston. 1982. Utilization of shell fish waste for chitin and chitosan production. In chemistry and biochemistry of marine food products; Martin, R. E., Flick, G. J., Hebrd, C. E. Ward, P. R. eds; AVI .Publishing Westport, CT.; Chapter 19.
14. Juang, R. S., F. C. Wu and R. L. Tseng. 2001. Solutes adsorption and enzyme immobilization of chitosan beads prepared from shrimp shell wastes Bioresource Technology .80:187-193.
15. Kamil, J. Y. V. A., Y. Jeon and F. Shahidi. 2002. Antioxidant activity of chitosans of different viscosity in cooked comminuted flesh of herring (*Clupea herengus*). Food Chem. 79:69-77.
16. Khan, T., K. Peh and H. S. Chng. 2002. Reporting degree of deacetylation values of chitosan : The influence of analytical methods. J. Pharm . Pharmaceut. Sci. 3(3):205-212.
17. Kim, S. F. 2004. Physicochemical and functional properties of crawfish chitosan as affected by different processing protocols. Thesis. Master of science. Agriculture and Mechanical college. Louisiana State University.
18. Knaul, J. Z., S. M. Hudson and K. A. M. Creber. 1999. Crosslinking of chitosan fibers with dialdehydes: proposal of a new reaction mechanism. Journal of Polymer Science .Part B: Polymer Physics., 37:1079-1094.
19. Knorr, D. 1982. Functional properties of chitin and chitosan .J. Food Sci. 47:593-595.
20. Knorr, D. 1983. Dye binding properties of chitin and chitosan. J. Food Sci. 84:36-41.

35. Sigma-Aldrich.1999. Search Results for: 9021-76-4. {<https://www.sigma-aldrich.com>}.

36. Speiciene, V., F. U. Guilmineau, and D. KulazikLeskauskaite. 2007. The effect of chitosan on the properties of emulsions stabilized by whey proteins. Food Chemistry 102:1048-1054.

37. Vorlop, K. D. and J. Klein. 1981. Formation of spherical chitosan biocatalysts by ionotropic gelation. Biotechnol. Lett. 3(2):9-14.

33. Sebti, I., A. Martial-Cros, A. Garnet-Ponties, S. Grelier and V. Coma. 2005. Chitosan polymer as bioactive coating and film against *Aspergillus niger*. J. Food Sci.70 (2): M100-M104.

34. Shahidi, F., J. K. V. Arachchi and Y. Jeon. 1999. Food application of chitin and chitosans. Trends in Food Science and Technology.10:37-51.