مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

تأثیر فاکتورهای غیرزیستی در حذف ترکیبات معدنی به منظور خالص‌سازی پلیمر کیتین از پوسته‌ی خرچنگ شناگر آبی (*Portunus segnis*) خلیج‌فارس

محمد صادق خاکشور، جمیله پازوکی*

گروه زیست‌شناسی و زیست فناوری دریا و آبزیان، دانشکده‌ی علوم زیستی و فناوری، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۵/۰۳/۲۰
اصلاح: ۹۵/۰۶/۰۳
پذیرش: ۹۵/۱۰/۰۹

کلمات کلیدی:
بهینه‌سازی
ترکیبات زیست‌فعال
سخت‌پوستان

چکیده

فاکتورهای مختلفی در حذف ترکیبات معدنی از پوسته‌ی سخت‌پوستان مؤثر می‌باشند. در این مطالعه فاکتورهای مؤثر در حذف ترکیبات معدنی کیتین به‌دست‌آمده از پوسته‌ی خرچنگ *Portunus segnis* مورد بهینه‌سازی قرار گرفت. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که بهترین بازده حذف ترکیبات معدنی با استفاده از اسید کلریدریک به‌دست آمد (۰/۹۴ ± ۹۹/۰۵). برخی از اسیدهای آلی (اسید استیک و اسید لاکتیک و ترکیبی از آن‌ها) قابلیت جانشین شدن اسیدهای غیر آلی در این مرحله را از خود نشان دادند. به‌طورکلی افزایش غلظت اسید (تا ۱۰٪)، نسبت پودر به اسید (تا ۱:۲۰)، دما (تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد) و زمان فرایند (تا ۱ ساعت) با افزایش بازده (افزایش درصد حذف ترکیبات معدنی) ارتباط مستقیم دارند؛ اما از طرف دیگر افزایش این فاکتورها از مقادیر مذکور تنها باعث افزایش هزینه و اثرات منفی روی کیتین می‌شود. استفاده از روش‌هایی مانند ماکروویو و شیکر باعث صرفه‌جویی در زمان در جهت رسیدن به بهترین بازده می‌گردد. کاهش اندازه‌ی ذرات پودر با افزایش بازده حذف ترکیبات معدنی ارتباط مستقیم دارد. بهینه‌سازی روش استخراج مواد می‌تواند باعث بالا بردن سطح کیفیت ترکیبات و ذخیره‌ی انرژی، زمان و سرمایه گردد.

مقدمــه

تولید طبیعی کیتین در کره‌ی زمین سالانه حدود 10^{11} تن می‌باشد و پس از سلولز فراوان‌ترین پلی‌ساکارید در طبیعت است. بخش اعظم کیتین تولید شده در طبیعت در اقیانوس‌ها می‌باشد (10^{8}-10^{6} تن) (Felicity *et al.*, 2007). کیتین پلی-ساکاریدی است که از واحدهای D-glucosamine (DG) و N-acetyl-D-glucosamine (NADG) تشکیل شده است (Thirunavukkarasu, 2005). کیتین و مشتقات آن کاربردهای زیادی در صنایع غذایی (بسته‌بندی‌ها و افزایش ماندگاری مواد غذایی و همچنین مکمل‌های غذایی)، آرایشی (کرم‌ها و تقویت‌کننده‌های پوست)، کشاورزی (به‌عنوان کود زیستی و مکمل‌ها و ترکیبات ضد میکروبی ضروری برای رشد بهتر گیاه) و پزشکی (مانند ارسال داروی مورد نظر به نقطه‌ی هدف در بدن و ترمیم زخم‌ها و آسیب‌های بافتی و پوستی) دارد (Sugumar *et al.*, 2010; Thirunavukkarasu *et al.*, 2001). کاربرد کیتین در زمینه‌های مختلف بستگی به خلوص و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن دارد. در زمینه‌های پزشکی و بیوتکنولوژی از کیتین با درجه خلوص بالاتر استفاده می‌شود (Sugumar *et al.*, 2010). دورریزهای حاصل از فرآوری سخت‌پوستان سالانه ۱/۴۴ تن

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: pazooki2001@yahoo.com

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.8.1.6.8]

وزن خشک تخمین زده شده است که به‌طور میانگین بین ۷۰-۴۰٪ صید اولیه می‌باشد. بخش زیادی از دورریزهای سخت‌پوستان (۳۰-۲۰٪) کیتین گزارش شده است (Alishahi *et al.*, 2011; Thirunavukkarasu, 2005). اسکلت خارجی سخت‌پوستان شبکه‌ای فشرده از فیبرهای کیتین بوده که در ارتباط با پروتئین‌ها، نمک‌های معدنی بخصوص کربنات کلسیم، رنگدانه‌ها، قندها و لیپیدها است (Bolat *et al.*, 2010). بنابراین هدف از خالص‌سازی کیتین حذف این ناخالصی‌ها می‌باشد. مقدار و نسبت این ترکیبات در پوسته‌ی سخت‌پوستان با توجه به گونه، سن، تغذیه و دیگر شرایط فیزیکوشیمیایی محیط متغیر می‌باشد (Erika *et al.*, 2006). بنابراین شرایط ایدئال برای حذف این ناخالصی‌ها و تولید کیتین با خلوص مناسب در بین گونه‌های مختلف با یکدیگر متفاوت است (Ghanem *et al.*, 2003). روش استخراج و سطوح فاکتورهای تأثیرگذار در امر استخراج روی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و در نتیجه روی زمینه‌ی کاربرد کیتین تأثیرگذار است (Alishahi *et al.*, 2011). سه روش آنزیمی، میکروبی و شیمیایی برای استخراج و خالص‌سازی کیتین مورد استفاده قرار می‌گیرد که کیتین به‌دست‌آمده در هر روش دارای ویژگی‌های متفاوتی می‌باشد؛ اما در هر روش استخراج برای تهیه‌ی کیتین با خلوص بالا باید فاکتورهای تأثیرگذار بهینه شوند (Bolat *et al.*, 2010). در روش استخراج شیمیایی حذف ترکیبات معدنی معمولاً با استفاده از اسیدکلریدریک صورت می‌گیرد (Charoenvuttitham *et al.*, 2007)، اما از حلال‌های دیگر نیز جهت حذف ترکیبات معدنی تاکنون استفاده شده است. با این وجود درصد حذف ترکیبات معدنی از پوسته‌ی سخت‌پوستان علاوه بر نوع حلال به فاکتورهای دیگری از جمله غلظت اسید، دما، زمان و نسبت اسید به پودر بستگی دارد (Ghanem *et al.*, 2003). بنابراین هدف از انجام این مطالعه بررسی فاکتورهای مختلف تأثیرگذار در حذف ترکیبات معدنی از پوسته‌ی خرچنگ *P. segnis* و به‌دست آوردن بهترین شرایط برای کسب کیتین با درجه‌ی خلوص بیشتر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها

نمونه‌های خرچنگ شناگر آبی با استفاده از تور ترال کف و به صورت صید ضمنی از آب‌های دور از ساحل بندرعباس (با استفاده از لنج‌های صید میگو و به روش ترال کف) در تابستان سال ۱۳۹۴ صید گردیدند. خرچنگ‌های صید شده در داخل کیسه‌های پلاستیکی و به‌صورت منجمد (قرار دادن داخل یونولیت به همراه یخ و در ادامه انتقال به سردخانه در ساحل) به آزمایشگاه منتقل شدند. اسکلت خارجی خرچنگ‌ها به‌صورت دستی جدا، شستشو و در آون در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. پس از آسیاب نمونه‌ها و عبور دادن از الک ۲۵۰ میکرون نمونه‌ها برای استخراج آماده شدند.

بررسی تأثیر نوع اسید روی درصد حذف ترکیبات معدنی (Demineralization (DM) ٪)

حذف ترکیبات معدنی از پودر پوسته خرچنگ (۲۵۰ میکرون) با استفاده از ۳ اسید آلی (اسید استیک، اسید فرمیک و اسید لاکتیک)، ۳ اسید غیر آلی (اسید کلریدریک، اسید نیتریک و اسید سولفوریک) و همچنین ترکیبی از اسیدهای آلی و غیر آلی (در مجموع ۲۴ حلال اسیدی) در ۳ تکرار صورت گرفت. این مطالعه با استفاده از غلظت ۱۰٪ اسیدهای مختلف، در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۲ ساعت، نسبت (w/v) ۱:۱۵ پودر پوسته‌ی خرچنگ به اسید و بدون استفاده از شیکر انجام شد (Charoenvuttitham *et al.*, 2007). در هر تیمار برای تمامی فاکتورها ۱۰ گرم پودر پوسته استفاده گردید.

بررسی تأثیر غلظت اسید روی درصد حذف ترکیبات معدنی (DM٪)

غلظت‌های ۲٪، ۵٪، ۷٪، ۱۰٪، ۱۲٪ و ۱۵٪ اسیدهای آلی و غیر آلی مذکور جهت حذف ترکیبات معدنی از پودر پوسته خرچنگ استفاده شد. این آزمایش در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد)، به مدت ۲ ساعت، نسبت (w/v) ۱:۱۵ پودر پوسته‌ی خرچنگ به اسید و بدون استفاده از شیکر انجام شد (Benhabiles *et al.*, 2012).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.8.1.6.8]

بررسی تأثیر نسبت پودر به اسید روی درصد حذف ترکیبات معدنی (DM٪)

حذف ترکیبات معدنی با استفاده از نسبت‌های ۱:۵، ۱:۱۰، ۱:۱۵، ۱:۲۰، ۱:۲۵، ۱:۳۰ پودر پوسته به اسید برای ۶ اسید مذکور مورد مطالعه قرار گرفت. این آزمایش در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد)، به مدت ۲ ساعت، غلظت ۱۰٪ اسیدهای مذکور و بدون استفاده از شیکر انجام شد (Mahmoud *et al.*, 2007).

بررسی تأثیر دما روی درصد حذف ترکیبات معدنی (DM٪)

دماهای ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد جهت حذف ترکیبات معدنی از پودر پوسته خرچنگ با استفاده از ۶ اسید مختلف در نظر گرفته شد. این آزمایش به مدت ۲ ساعت، غلظت ۱۰٪ اسیدهای مذکور، نسبت (w/v) ۱:۱۵ پودر پوسته‌ی خرچنگ به اسید و بدون استفاده از شیکر انجام شد (Al Sagheer *et al.*, 2009).

بررسی تأثیر زمان روی درصد حذف ترکیبات معدنی (DM٪)

چهار بازه‌ی زمانی ۳۰ دقیقه، ۱ ساعت، ۵ ساعت و ۲۴ ساعت و با استفاده از ۶ اسید آلی و غیر آلی جهت حذف ترکیبات معدنی از پودر پوسته خرچنگ مورد استفاده قرار گرفت. این آزمایش در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد)، با غلظت ۱۰٪ اسیدهای مذکور، نسبت (w/v) ۱:۱۵ پودر پوسته‌ی خرچنگ به اسید و بدون استفاده از شیکر انجام شد (Mahmoud *et al.*, 2007).

بررسی تأثیر به‌کارگیری روش‌های گوناگون روی درصد حذف ترکیبات معدنی (DM ٪)

حذف ترکیبات معدنی از پودر پوسته خرچنگ با استفاده از اسید کلریدریک ۱۰٪، به نسبت (w/v) ۱:۱۵ و با چهار روش ماکروویو (۲، ۵ و ۱۰ دقیقه)، اتوکلاو (۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه)، جوشاندن (۱۰، ۲۰ و ۶۰ دقیقه) در دمای محیط و بدون استفاده از شیکر (۳۰ دقیقه، ۱ ساعت و ۵ ساعت) صورت گرفت (Al Sagheer *et al.*, 2009).

بررسی تأثیر اندازه‌ی ذرات پودر روی درصد حذف ترکیبات معدنی (DM ٪)

حذف ترکیبات معدنی از پودر پوسته‌ی خرچنگ با اندازه‌ی ذرات ۲۵۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۱۰۰۰ و ۵۰۰۰ میکرون در چهار بازه‌ی زمانی ۳۰ دقیقه، ۱ ساعت، ۵ ساعت و ۲۴ ساعت انجام شد. اسید کلریدریک با غلظت ۱۰٪، نسبت (w/v) ۱:۱۵ پودر پوسته‌ی خرچنگ به اسید، در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) و بدون استفاده از شیکر قرار داده شد (Kyung-Taek *et al.*, 2008).

بررسی تأثیر دور شیکر روی درصد حذف ترکیبات معدنی (DM ٪)

حذف ترکیبات معدنی از پودر پوسته‌ی خرچنگ با استفاده از اسید کلریدریک با غلظت ۱۰٪، نسبت (w/v) ۱:۱۵ پودر پوسته‌ی خرچنگ به اسید، در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) و با ۳ روش بدون شیکر، با دور شیکر ۱۶۰ rpm و دور شیکر ۲۴۰ rpm در طی زمان‌های ۳۰ دقیقه، ۱ ساعت و ۵ ساعت صورت گرفت (Kyung-Taek *et al.*, 2008).

در هر آزمایش پس از حذف ترکیبات معدنی ماده‌ی باقی‌مانده را بر روی کاغذ صافی (Whatman No.3) جمع‌آوری و با استفاده از آب مقطر شستشو داده تا به pH خنثی برسد. ماده‌ی صاف شده را در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک نموده و وزن آن جهت مقایسه یادداشت گردید. تمام آزمایش‌ها در ۳ تکرار انجام و نتایج به‌صورت میانگین به همراه انحراف معیار گزارش گردید (Kyung-Taek *et al.*, 2008).

آنالیز آماری

از برنامه‌ی SPSS نسخه‌ی ۱۹ برای آنالیز داده‌ها و برنامه‌ی Excel ۲۰۰۷ برای رسم نمودارها استفاده شد. نتایج تست اسمیرنو-کلوموگروف نشان داد که داده‌ها از توزیع طبیعی برخوردار نیستند، به همین خاطر از لگاریتم داده‌ها برای کارهای آماری استفاده شد.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.8.1.6.8]

نتایـج

در این مطالعه اسیدکلریدریک به‌عنوان شاهد با دیگر اسیدها مورد مقایسه قرار گرفت. بهترین بازده حذف ترکیبات معدنی مربوط به اسیدکلریدریک (۰/۹۴ ±۹۹/۰۵ ٪) بود. بازده مخلوط اسیدنیتریک: اسیدکلریدریک (۲:۱) (۰/۸۹ ±۹۷/۲۱٪) و اسیدنیتریک: اسیدکلریدریک (۱:۱) (۰/۵ ± ۹۵/۷۱٪) نیز به‌طور معنی‌داری بیشتر از دیگر حلال‌ها بود (P<۰/۵). کمترین بازده به‌دست آمده نیز مربوط به اسیدسولفوریک و ترکیب اسیدسولفوریک با اسیدکلریدریک و اسیدنیتریک (۰/۳۱ ± ۱/۷۳ تا ۱/۰۱ ± ۹/۱۴) محاسبه گردید (جدول ۱). نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که بازده برخی از اسیدهای آلی از جمله اسیداستیک و اسیدلاکتیک و ترکیبی از این دو اسید (۰/۲۶ ± ۹۱/۷۷) تفاوت معنی‌داری با اسیدکلریدریک ندارد (۰/۹۴ ± ۹۹/۰۵) و می‌توان این اسیدهای آلی را به‌عنوان جایگزینی برای اسیدهای غیر آلی معرفی نمود (جدول ۱).

جدول ۱. اثر اسیدهای مختلف در حذف ترکیبات معدنی (معدنی زدایی) پوسته‌ی خرچنگ *P. segnis* (Mean±SD)

درصد حذف ترکیبات معدنی	اسیدها و مخلوط اسیدها	تعداد حلال‌های اسیدی
۹۹/۰۵ ± ۰/۹۴	(۱۰٪) اسید کلریدریک	۱
۹۱/۸۰ ± ۰/۶۷	(۱۰٪) اسید نیتریک	۲
۵/۴۴ ± ۰/۵۱	(۱۰٪) اسید سولفوریک	۳
۸۷/۶۶ ± ۰/۵۶	(۱۰٪) اسید استیک	۴
۶۷/۱۴ ± ۰/۷۸	(۱۰٪) اسید فرمیک	۵
۸۱/۵۴ ± ۱/۱۲	(۱۰٪) اسید لاکتیک	۶
۹۵/۷۱ ± ۰/۵	(۱۰٪) (۱:۱) اسید نیتریک: اسید کلریدریک	۷
۸۹/۴۲ ± ۰/۶۸	(۱۰٪) (۱:۲) اسید نیتریک: اسید کلریدریک	۸
۲۱/۹۷ ± ۰/۸۹	(۱۰٪) (۲:۱) اسید نیتریک: اسید کلریدریک	۹
۹/۱۴ ± ۱/۰۱	(۱۰٪) (۱:۱) اسید سولفوریک: اسید هیدروکلریک	۱۰
۲/۶۷ ± ۰/۷۳	(۱۰٪) (۱:۲) اسید سولفوریک: اسید هیدروکلریک	۱۱
۱/۷۳ ± ۰/۳۱	(۱۰٪) (۲:۱) اسید سولفوریک: اسید هیدروکلریک	۱۲
۲۵/۳ ± ۰/۲۶	(۱۰٪) (۱:۱) اسید سولفوریک: اسید نیتریک	۱۳
۴/۶۱ ± ۰/۳۵	(۱۰٪) (۱:۲) اسید سولفوریک: اسید نیتریک	۱۴
۷/۶۰ ± ۰/۴	(۱۰٪) (۲:۱) اسید سولفوریک: اسید نیتریک	۱۵
۸۷/۲۳ ± ۰/۱۵	(۱۰٪) (۱:۱) اسید فرمیک: اسید استیک	۱۶
۸۰/۵۵ ± ۰/۰۶	(۱۰٪) (۱:۲) اسید فرمیک: اسید استیک	۱۷
۸۸/۲۵ ± ۰/۱۷	(۱۰٪) (۲:۱) اسید فرمیک: اسید استیک	۱۸
۸۸/۱۳ ± ۰/۱۳	(۱۰٪) (۱:۱) اسید لاکتیک: اسید استیک	۱۹
۸۸/۸۶ ± ۰/۱	(۱۰٪) (۱:۲) اسید لاکتیک: اسید استیک	۲۰
۸۵/۶۱ ± ۰/۴۲	(۱۰٪) (۲:۱) اسید لاکتیک: اسید استیک	۲۱
۹۱/۷۷ ± ۰/۲۶	(۱۰٪) (۱:۱) اسید لاکتیک: اسید فرمیک	۲۲
۹۰/۷۶ ± ۰/۳۸	(۱۰٪) (۱:۲) اسید لاکتیک: اسید فرمیک	۲۳
۸۹/۹۰ ± ۰/۲	(۱۰٪) (۲:۱) اسید لاکتیک: اسید فرمیک	۲۴

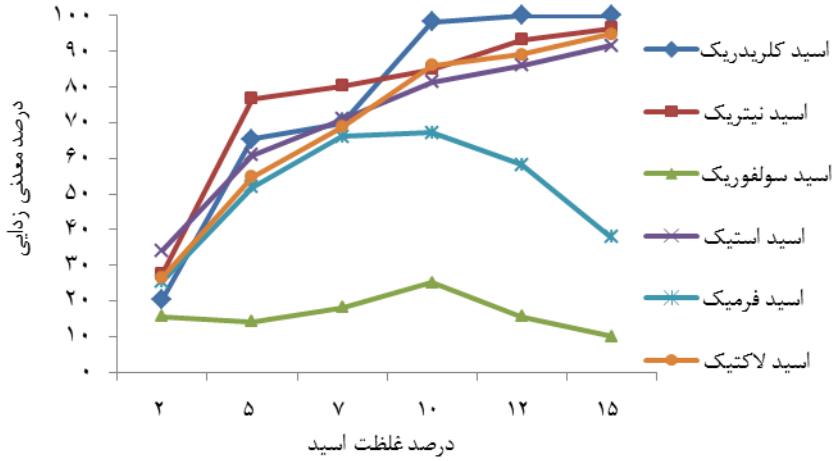
شکل ۱ نشان می‌دهد که افزایش غلظت اسیدفرمیک و اسیدسولفوریک تا ۱۰٪ باعث افزایش حذف ترکیبات معدنی شده و در بیشتر از غلظت ۱۰٪ کاهش بازده مشاهده شد. افزایش غلظت در دیگر اسیدها همراه با افزایش حذف ترکیبات معدنی بوده است. در بین اسیدهای مورد مطالعه غلظت‌های ۱۰٪، ۱۲٪ و ۱۵٪ اسیدکلریدریک بیشترین بازده حذف ترکیبات معدنی را از خود نشان داد. به‌عبارتی دیگر غلظت ۱۰٪ بهترین و مقرون به‌صرفه‌ترین غلظت می‌باشد.

افزایش نسبت پودر به اسید در مورد اسیدسولفوریک بی‌تأثیر بوده و در اسیدفرمیک با افزایش نسبت پودر به اسید از ۱:۱۵ باعث کاهش بازده شده است؛ اما دیگر اسیدها با افزایش نسبت پودر به اسید درصد حذف ترکیبات معدنی افزایش یافته است (شکل ۲). بیشترین بازده نیز مربوط به اسیدکلریدریک و کمترین مربوط با اسیدسولفوریک می‌باشد که با آزمایش‌های قبلی

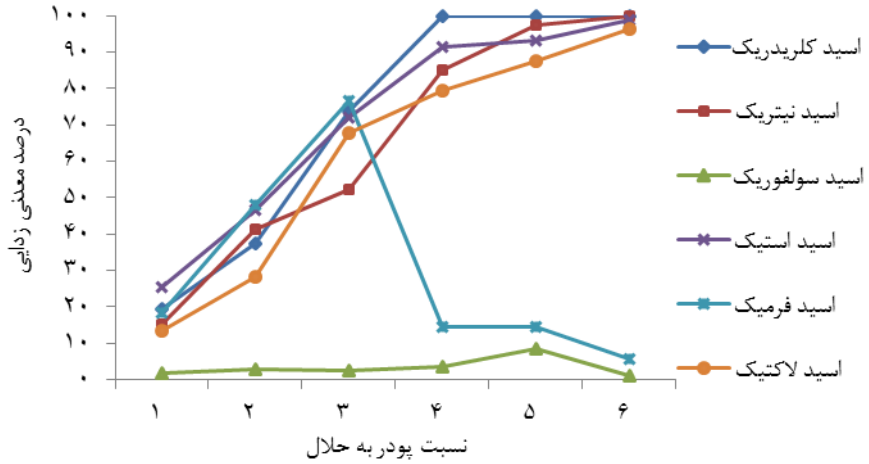
[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.8.1.6.8]

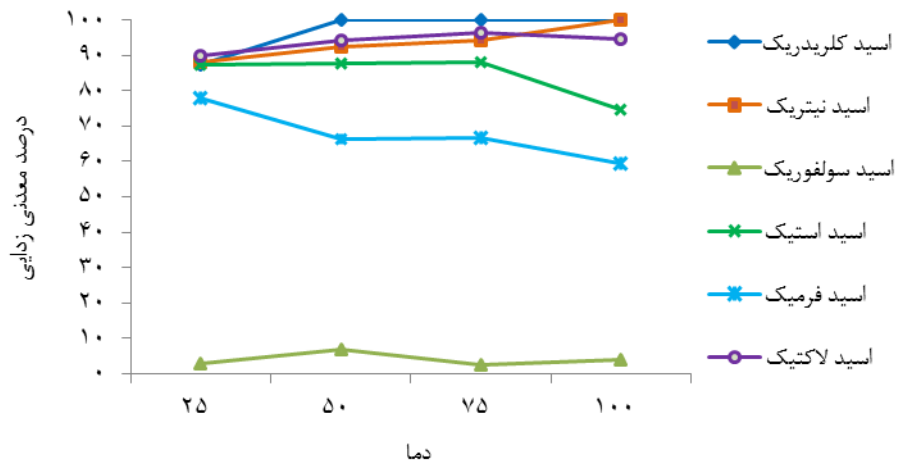
همخوانی دارد. افزایش دما نیز اثری روی بازده اسیدسولفوریک نداشته و کمترین درصد حذف ترکیبات معدنی (کمتر از ۱۰٪) از این اسید به دست آمد. با افزایش دما به بیش از ۷۵ درجه سانتی‌گراد بازده اسیداستیک و اسیدفرمیک نیز کاهش یافت؛ اما دیگر اسیدها با افزایش دما درصد حذف ترکیبات معدنی با شیب خیلی ملایمی افزایش یافت (شکل ۳). بیشترین بازده حذف ترکیبات معدنی در دماهای آزمایش نیز مربوط به اسیدکلریدریک می‌باشد.



شکل ۱. اثر غلظت اسیدهای مختلف روی حذف ترکیبات معدنی پودر پوسته‌ی خارجی خرچنگ *P. segnis*



شکل ۲. اثر نسبت پودر به حلال روی حذف ترکیبات معدنی پودر پوسته‌ی خرچنگ *P. segnis* . ۱: نسبت ۱:۵، ۲: نسبت ۱:۱۰، ۳: نسبت ۱:۱۵، ۴: نسبت ۱:۲۰، ۵: نسبت ۱:۲۵ و ۶: نسبت ۱:۳۰



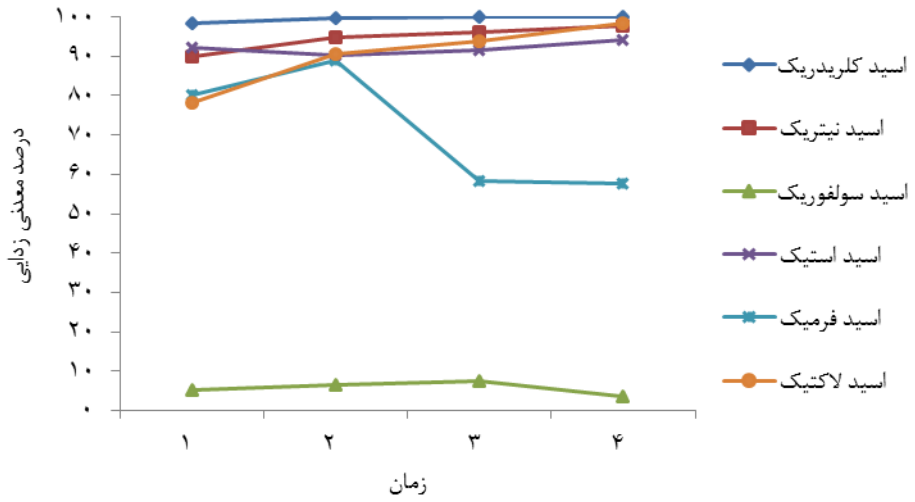
شکل ۳. اثر دما روی حذف ترکیبات معدنی پودر پوسته‌ی خرچنگ *P. segnis*

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

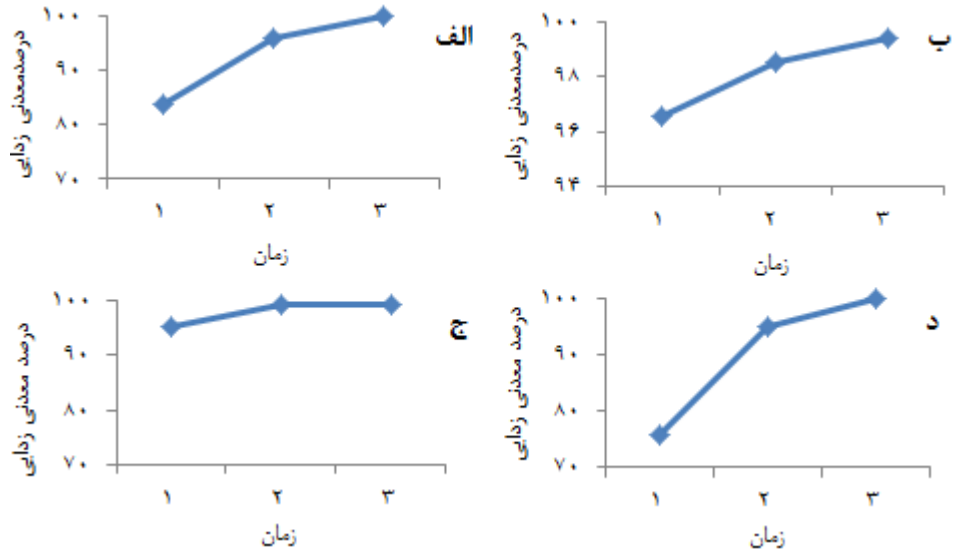
[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.8.1.6.8]

حذف ترکیبات معدنی پودر پوسته‌ی خرچنگ با اسیدهای مختلف در طی زمان نیز نشان داد که بازده اسیدفرمیک پس از گذشت ۱ ساعت کاهش یافته و اسیدسولفوریک نیز بدون تأثیر در طی زمان کمترین بازده را داشت. بازده اسیداستیک، اسیدلاکتیک و اسیدنیتریک نیز با افزایش زمان با شیب ملایم افزایش یافت؛ اما اسیدکلریدریک با توجه به بالاترین بازده، در طی زمان از ۳۰ دقیقه تا ۲۴ ساعت تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۴).

در چهار روش انتخاب شده (دمای محیط، جوشاندن، اتوکلاو و ماکروویو) برای حذف ترکیبات معدنی با افزایش زمان بازده افزایش یافت. با این تفاوت که کوتاه‌ترین زمان در رسیدن به بهترین بازده (۱۰ دقیقه) در روش استفاده از ماکروویو و طولانی‌ترین زمان برای رسیدن به بهترین بازده در روش انجام آزمایش در دمای محیط (۵ ساعت) حاصل شد (شکل ۵).



شکل ۴. اثر زمان روی حذف ترکیبات معدنی پودر پوسته‌ی خرچنگ *P. segnis*. ۱: ۳۰ دقیقه، ۲: ۱ ساعت، ۳: ۵ ساعت و ۴: ۲۴ ساعت.

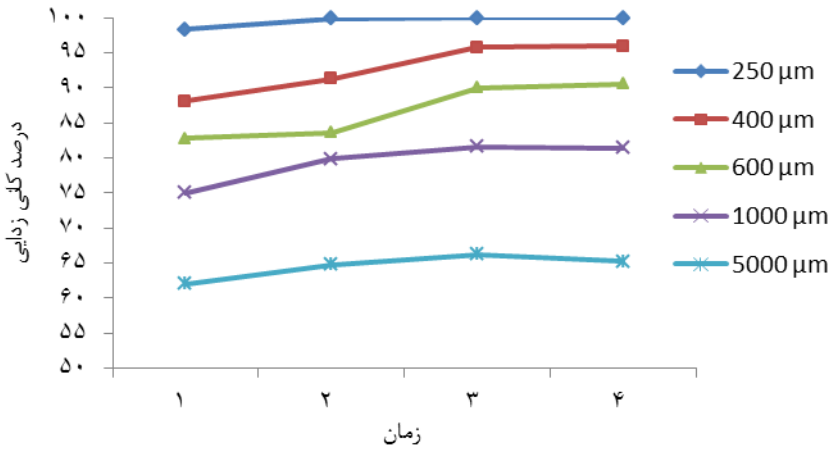


شکل ۵. اثر روش‌های مختلف انجام فرایند روی حذف ترکیبات معدنی پودر اسکلت خرچنگ *P. segnis*، الف: انجام آزمایش در دمای محیط، (۱: ۳۰ دقیقه، ۲: ۱ ساعت و ۳: ۵ ساعت) ب: انجام آزمایش به روش جوشاندن، (۱: ۱۰ دقیقه، ۲: ۲۰ دقیقه و ۳: ۶۰ دقیقه) پ: انجام آزمایش به روش اتوکلاو، (۱: ۱۰ دقیقه، ۲: ۲۰ دقیقه و ۳: ۳۰ دقیقه) ت: انجام آزمایش به روش ماکروویو، (۱: ۲ دقیقه، ۲: ۵ دقیقه و ۳: ۱۰ دقیقه).

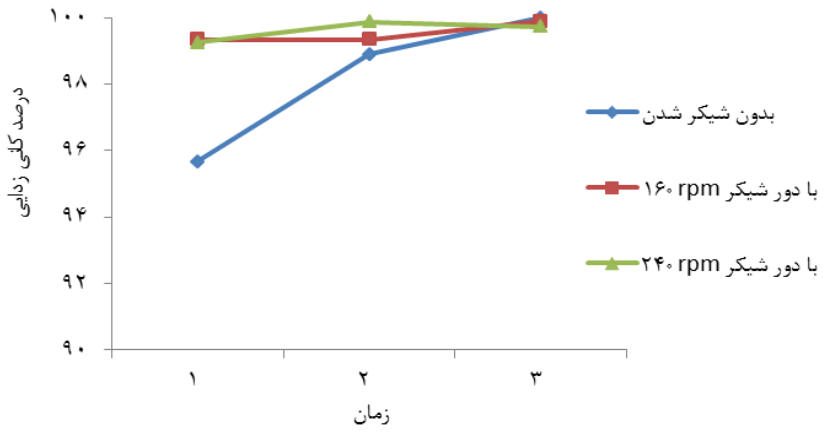
[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.8.1.6.8]

همچنین کاهش اندازه‌ی ذرات پودر پوسته خرچنگ ارتباط مستقیمی با افزایش بازده حذف ترکیبات معدنی دارد (شکل ۶). استفاده از شیکر نیز باعث حذف سریع‌تر ترکیبات معدنی در طی فرایند می‌شود. همان‌طور که در شکل ۷ نشان داده شده است، با انجام آزمایش در دور شیکر ۲۴۰ rpm در بازه‌ی زمانی کوتاه‌تر بهترین بازده حاصل گردیده است.



شکل ۶. اثر اندازه‌ی ذرات پودر اسکلت خرچنگ *P. segnis* روی حذف ترکیبات معدنی با استفاده از اسید کلریدریک. ۱: ۳۰ دقیقه، ۲: ۱ ساعت، ۳: ۵ ساعت و ۴: ۲۴ ساعت.



شکل ۷. اثر دور شیکر روی حذف ترکیبات معدنی اسکلت خرچنگ *P. segnis* با استفاده از اسیدکلریدریک. ۱: ۳۰ دقیقه، ۲: ۱ ساعت، ۳: ۵ ساعت.

بحث

حذف ترکیبات معدنی از پوسته‌ی سخت‌پوستان به‌طور معمول با استفاده از اسیدکلریدریک صورت می‌گیرد که همانند دیگر اسیدهای معدنی علاوه بر اثرات منفی زیست‌محیطی، روی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی کیتین و کیتوزان استخراج شده (وزن مولکولی و میزان استیله بودن آن) نیز اثرات منفی می‌گذارد (Percot *et al*., 2003 ; Tayel *et al*., 2010 ; Benhabiles *et al*., 2012 ; Erika *et al*., 2006). استفاده از اسیدنیتریک و اسیدسولفوریک نیز در برخی مطالعات گزارش شده است (Lertsutthiwong *et al*., 2002 ; Charoenvuttitham *et al*., 2007). با توجه به ساختار مولکولی اسیدکلریدریک میزان واکنش آن با پودر پوسته‌ی خرچنگ به نسبت دیگر اسیدهای معدنی بیشتر و باعث حل کردن و حذف بهتر ناخالصی‌ها و بخصوص کربنات کلسیم می‌شود (Percot *et al*., 2003). اکثر محققان بر این باورند که برای رسیدن به کیتین با ویژگی‌های مطلوب بهتر است در این مرحله اسیدهای آلی با بازده مناسب جایگزین اسیدهای غیر آلی شوند تا آسیب به محصول به حداقل رسیده و محصولی با سطح کیفی بالا و ناخالصی پایین حاصل شود. در مطالعه‌ی Charoenvuttitham و همکاران (۲۰۰۷) از اسیدکلریدریک (شاهد)، اسیدسیتریک، اسیداستیک، اسیدفرمیک و ترکیبی از اسیدهای آلی با یکدیگر (در مجموع ۱۳ ترکیب اسیدی با غلظت ۰/۲۵ مولار) برای حذف ترکیبات معدنی پودر اسکلت میگوی *Penaeus monodon* استفاده گردید.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.8.1.6.8]

بهترین بازده حذف ترکیبات معدنی در این مطالعه مربوط به اسید کلریدریک (۲/۳± ۹۳/۸٪) بوده است. ۳ ترکیب اسیدی اسید فرمیک: اسید سیتریک (۲:۱) (۱/۲ ± ۹۲/۵ ٪)، اسید فرمیک: اسید سیتریک (۱:۱) (۸/. ± ۹۰/۶ ٪) و اسید فرمیک: اسید سیتریک (۱:۲) (۷/. ± ۹۰/۳ ٪) پس از اسید کلریدریک بهترین بازده حذف ترکیبات معدنی را از خود نشان دادند و تفاوت معنی‌داری با اسید کلریدریک نداشتند. کمترین بازده در حذف ترکیبات معدنی نیز در این مطالعه مربوط به اسید استیک (۳± ۶۱/۴٪) و ترکیب اسید استیک: اسید فرمیک (۱:۲) (۱/۶ ±۶۷/۸٪) که با نتایج مطالعه‌ی حاضر تا حدودی همخوانی دارد.

همچنین در مطالعه‌ی مشابه دیگری از ۲ اسید آلی (اسیداستیک و اسیدلاکتیک) و اسید غیر آلی (اسیدکلریدریک) ۵٪ برای حذف ترکیبات معدنی پوسته‌ی میگوی *Pandalus borealis* استفاده شده است (Mahmoud *et al.*, 2007). اگرچه در مطالعه Mahmoud و همکاران (۲۰۰۷) نیز به مانند بسیاری از مطالعات قبلی بازده اسیدکلریدریک (۹۶/۷۱٪) در حذف ترکیبات معدنی بیشتر از اسیدلاکتیک (۹۴/۷٪) و اسیداستیک (۸۵/۵۶٪) بوده است، اما تفاوت معنی‌داری بین بازده اسیدکلریدریک و اسیدلاکتیک وجود ندارد. بنابراین می‌توان در این مرحله برخی ترکیبات اسیدهای آلی را جایگزین اسیدهای غیر آلی نمود. حذف ترکیبات معدنی معمولاً با اسیدی با غلظت ۱ تا ۸٪ صورت می‌گیرد (Tayel *et al.*, 2010 ; Benhabiles *et al.*, 2012). در مطالعه‌ی Felicity و همکاران (۲۰۰۷) از اسیدکلریدریک (غلظت ۵٪ و ۱٪) و اسیداستیک (غلظت ۵ و ۱۰٪) برای حذف ترکیبات معدنی اسکلت خرچنگ استفاده شد که بهترین بازده در این مطالعه مربوط به اسیداستیک ۵٪ گزارش شده است. بنابراین با توجه به اینکه در مطالعه‌ی Felicity و همکاران (۲۰۰۷)، اسیداستیک ۱۰٪ نتایج قابل قبولی را نشان نداده و نتایج اسیداستیک ۵٪ با اسیدکلریدریک۱٪ تفاوت معنی‌داری نداشته است، لذا پیشنهاد استفاده از اسیداستیک ۵٪ به‌جای اسیدکلریدریک ۱٪ ارائه شده است. نتایج مطالعه‌ی فوق‌الذکر توسط مطالعه‌ی Benhabiles و همکاران (۲۰۱۲) مورد تأیید قرار می‌گیرد. مطالعه‌ی حاضر نیز نشان داد که می‌توان از اسیداستیک ۱۵-۱۰٪ به‌جای اسیدکلریدریک ۱۲-۱۰٪ استفاده کرد. همچنین با توجه به اینکه بازده اسیداستیک و اسیدلاکتیک ۱۰٪ با غلظت ۱۵٪ آن‌ها تفاوت معنی‌داری ندارد می‌توان از غلظت ۱۰٪ آن‌ها برای حذف ترکیبات معدنی پودر پوسته‌ی خرچنگ استفاده کرد. رابطه‌ی افزایش غلظت اسید و درصد حذف ترکیبات معدنی تا حدی مستقیم و معنی‌دار می‌باشد (غلظت ۱۰٪ در مطالعه‌ی حاضر) و از این غلظت به بالا بیشتر باعث شکستن زنجیره‌ی کیتین و تجزیه‌ی ساختاری پلیمر می‌شود (Tango and Ghaly, 2002).

در بسیاری از مطالعات نسبت‌های مختلفی از پودر پوسته‌ی خرچنگ و حجم اسید از (w/v) ۱:۲ تا بیش از ۱:۴۰ برای حذف ترکیبات معدنی مورد استفاده قرار گرفته است (Mahmoud *et al.*, 2007). در مطالعه‌ی Synowiecki و Al Khateeb (۲۰۰۳) عنوان گردید که حذف کامل ترکیبات معدنی زمانی اتفاق می‌افتد که حجم اسید مورد استفاده از نظر وزن مولکولی عناصر بیشتر از محتوی ترکیبات معدنی باشد. Percot و همکاران (۲۰۰۳) با بررسی نسبت پودر به اسید در حذف ترکیبات معدنی از پوسته‌ی چند گونه‌ی میگو نسبت ۱:۴۰ (اسیدکلریدریک ۲۵/. مولار) پیشنهاد داده است. در مطالعه‌ی Mahmoud و همکاران (۲۰۰۷) نسبت‌های ۱:۱۰، ۱:۲۰ و ۱:۳۰ اسیدلاکتیک و اسیداستیک برای حذف ترکیبات معدنی پوسته‌ی میگوی *P. borealis* استفاده شد. نتایج مطالعه‌ی Mahmoud و همکاران (۲۰۰۷) برای اسیدلاکتیک نشان داد که از نسبت ۱:۱۰ (۹۰/۲۹٪) به ۱:۲۰ (۹۹/۱۱٪) بازده به‌طور معنی‌داری افزایش یافت درحالی‌که از نسبت ۱:۲۰ به ۱:۳۰ (۹۹/۶۳٪) افزایش معنی‌داری مشاهده نشد که با نتایج مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی دارد. اما با افزایش نسبت اسیداستیک از ۱:۱۰ (۷۹/۵۶٪) به ۱:۲۰ (۸۶/۳۶٪) و ۱:۳۰ (۹۴/۸۳٪) بازده حذف ترکیبات معدنی افزایش یافته است. در مطالعه‌ی مشابه دیگری نسبت‌های ۱:۱۲ تا ۱:۴۰ اسیدکلریدریک (۲۵/. مولار) و ترکیب اسیدسیتریک:اسیدفرمیک (۱:۲) (۲۵/. مولار) برای حذف ترکیبات معدنی پوسته‌ی میگوی *P. monodon* مورد بررسی قرار گرفت (Charoenvuttitham *et al.*, 2007). بازده اسید آلی تا کمتر از نسبت ۱:۳۰ بیشتر از اسیدکلریدریک بود ولی بالاتر از این نسبت اسیدکلریدریک بازده بیشتری از خود نشان داد. بازده بیشتر اسید آلی در نسبت‌های پایین به واکنش اسیدها و کربنات کلسیم مربوط می‌باشد. این واکنش به‌وسیله‌ی یون H^+ صورت می‌پذیرد و یک مولکول اسیدسیتریک ۳ عدد H^+ و اسیدکلریدریک، اسید فرمیک و اسیداستیک یک یون H^+ دارد (Synowiecki and Al khateeb, 2003).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.8.1.6.8]

افزایش بیش از حد دمای فرایند حذف ترکیبات معدنی علاوه بر اینکه باعث افزایش معنی‌دار بازده نمی‌شود بلکه ممکن است اثرات منفی روی ساختار کیتین داشته باشد که نتایج مطالعه‌ی حاضر را تأیید می‌کند (Tango and Ghaly, 2002). در مطالعه‌ی Al Sagheer و همکاران (۲۰۰۹) فرایند حذف ترکیبات معدنی از پوسته‌ی سخت‌پوستان در سه دمای ۲۵، ۶۰ و ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد که بهترین محصول در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به دست آمد. این نتایج با مطالعه‌ی Mahmoud و همکاران (۲۰۰۷) و مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی دارد. حذف ترکیبات معدنی معمولاً در طی زمان ۱ تا ۳ ساعت انجام می‌پذیرد (Tayel *et al*., 2010 ; Benhabiles *et al*., 2012). اگرچه افزایش زمان باعث کاهش محتوی ترکیبات معدنی می‌شود اما می‌تواند باعث دگرگونی ساختار کیتین نیز بشود (Tango and Ghaly, 2002). مطالعه‌ی Synowiecki و Al Khateeb (۲۰۰۳) گزارش شد که افزایش زمان بیش از ۲۴ ساعت باعث اندکی کاهش در میزان ترکیبات معدنی نسبت به زمان کمتر از ۲۴ ساعت شده، اما در عوض باعث تجزیه‌ی ساختار کیتین می‌شود. همچنین افزایش بیش از حد زمان باعث کاهش وزن مولکولی و درنتیجه کاهش ویسکوزیته‌ی کیتین می‌شود (Tango and Ghaly, 2002). مطالعه‌ی Percot و همکاران (۲۰۰۳) زمان‌های مورد استفاده در مطالعات مختلف جهت حذف ترکیبات معدنی را طولانی دانسته و زمانی حدود ۱۵ دقیقه را پیشنهاد می‌کند. بازده حذف ترکیبات معدنی به‌وسیله‌ی اسیداستیک در دو بازه‌ی زمانی ۲ ساعت (۷۹/۵۶٪) و ۶ ساعت (۸۲/۵۵٪) و اسیدلاکتیک در دو بازه‌ی زمانی ۲ ساعت (۹۰/۲۹٪) و ۶ ساعت (۹۲/۱۲٪) نیز با نتایج مطالعه‌ی حاضر هم خوانی دارد، همچنین حذف ترکیبات معدنی از پوسته‌ی میگوی *P. monodon* در طی ۱۲ ساعت به‌طور معنی‌داری بیشتر از ۲ ساعت بود ولی افزایش زمان از ۱۲ به ۲۴ ساعت نتیجه‌ی معنی‌دار نداشت (Aye and Stevens, 2004).

در روش‌های سنتی (انجام آزمایش در دمای محیط و یا جوشاندن) و روش اتوکلاو و ماکروویو ترکیبات معدنی در مراحل اولیه‌ی به مقدار قابل‌توجهی حذف می‌شوند. اما با این تفاوت که بیشترین بازدهی انجام آزمایش در دمای محیط (۱۰۰٪) پس از ۵ ساعت، در روش جوشاندن (۹۹/۴۳٪) پس از ۶۰ دقیقه، در روش اتوکلاو (۹۹/۳۷٪) پس از ۳۰ دقیقه و در روش ماکروویو (۹۹/۷۳٪) پس از ۱۰ دقیقه به دست آمد. بنابراین با استفاده از روش ماکروویو می‌توان بیشترین بازده را در کمترین زمان به دست آورد. در مطالعه‌ی Al Sagheer و همکاران (۲۰۰۹) نیز با انجام این فرایند با دو روش جوشاندن و ماکروویو نتایج مشابه با مطالعه‌ی حاضر گزارش شده است. در مطالعه‌ی Al Sagheer و همکاران (۲۰۰۹)، بیشترین بازده روش جوشاندن برای گونه‌های مختلف ۹۴/۴-۸۸٪ و پس از ۱۰ ساعت و بیشترین بازده روش ماکروویو برای گونه‌های مختلف سخت‌پوست ۹۳-۸۷/۵٪ و پس از ۱۵ دقیقه به‌دست آمد که با نتایج مطالعه‌ی Tipparat و Riyaphan (۲۰۰۸) نیز تأیید می‌شود. کاهش اندازه‌ی ذرات پودر و همچنین استفاده از شیکر علاوه بر افزایش سرعت واکنش باعث صرفه‌جویی در زمان و هزینه می‌شود. در مطالعه‌ی Kyung Taek و همکاران (۲۰۰۸) همکاران بهترین بازده از کوچک‌ترین سایز ذرات پودر به‌دست آمد که نتایج مطالعه‌ی حاضر را تأیید می‌کند. در این مطالعه بهترین بازده کوچک‌ترین اندازه‌ی پودر (۸۴/ میلی‌متر) ۳ ساعت زودتر از بزرگ‌ترین اندازه‌ی پودر (۳۵-۲۰ میلی‌متر) به‌دست آمد. در مطالعه‌ی Jung و همکاران (۲۰۰۶) نیز بیشترین بازده‌ی حذف ترکیبات معدنی (۹۷٪) از کوچک‌ترین اندازه‌ی پودر به‌دست گزارش شده است.

با توجه به بررسی فاکتورهای تأثیرگذار در حذف ترکیبات معدنی از پودر پوسته‌ی خرچنگ در مطالعه‌ی حاضر، می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری کرد که فاکتورهای غلظت و نوع اسید، نسبت پودر به اسید و اندازه‌ی ذرات پودر از دیگر فاکتورها مهم‌تر بوده و با دست‌کاری در هریک از این فاکتورها خلوص محصول نهایی به‌طور معنی‌داری تغییر می‌کند. اما غلظت بیشتر از ۱۲٪ اسید و نسبت پودر به اسید بیشتر از ۱:۲۰ بیشتر باعث افزایش هزینه و از دست دادن زمان می‌شود. همچنین می‌توان برخی از اسیدهای آلی مانند اسیدلاکتیک، اسیداستیک، اسیدفرمیک و یا ترکیبی از این اسیدها را جایگزین اسیدهای غیر آلی برای حذف ترکیبات معدنی نمود. فاکتورهای دما و زمان آزمایش به مانند فاکتورهای فوق‌الذکر درنتیجه‌ی آزمایش تأثیرگذار نیستند و افزایش دما (۵۰ درجه سانتی‌گراد) و زمان (۱ ساعت) درنتیجه تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرده و بیشتر باعث تأثیرات منفی روی ساختار کیتین می‌شود. استفاده از شیکر و یا انجام آزمایش با استفاده از اتوکلاو و ماکروویو نیز باعث کوتاه شدن زمان آزمایش می‌شود، اما تأثیر انجام آزمایش در این شرایط روی کیفیت کیتین نیاز به مطالعات بیشتر دارد.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.8.1.6.8]

منابـع

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.

Alishahi, A., Mirvaghefi, A., Tehrani, M.R., Farahmand, H., Shojaosadati, S.A., Dorkoosh, F.A., Elsabee, Z. 2011. Enhancement and characterization of chitosan Extraction from the wastes of shrimp packaging plants. Journal of Polymers and the Environment. 19(3): 776-783.

Aye, K.N. Stevens, W. 2004. Improved chitin production by pretreatment of shrimp shells. Journal of Chemical Technology and Biotechnology. 79(4): 421-425.

Bolat, Y., Sengul, B., Ali, G., Levent, L., Seval, B.K., Soner, C., Habil Ugur, K. 2010. Chitin-chitosan yield of freshwater crab (*Potamon Potamios*, Oliver 1804) shell. Pakistan Veterinary Journal. 30(4): 227-231.

Charoenvuttitham, P., John, S., Mittal, S. 2007. Chitin extraction from Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*) waste using organic acids. Separation Science and Technology. 41(6): 1135- 1153.

Erika, I., Diaz, R., Waldo, M., Arguelles, M., Inocencio, H.C., Javier, H., Jaime, L.M., Francisco, M.G. 2006. Determination of chitin and protein contents during the isolation of chitin from shrimp waste. Macromolecule Bioscience. 6(5): 340-347.

Felicity, B., Clifford, L., Michael, A., Oghenekome, O. 2007. Extraction and evaluation of chitosan from exoskeleton as a seed fungicide and plant growth enhancer. American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science. 2(2): 103-111.

Ghanem, A., Ghaly, A.E., Chaulk, M. 2003. Effect of shrimp processing procedures on the quality and quantity of extracted chitin from the shells of northern shrimp *Pandalus borealis*. Journal of Aquatic Food Product Technology. 12(4): 63-79.

Jung, W.J., Jo, G.H., Kok, J.H., Kim, K.Y., Park, R.D. 2006. Extraction of chitin from red crab shell waste by cofermentation with *Lactobacillus paracasei* subsp. Tolerance KCTC 3074 and *Serratia marcescens* FS-3. Applied of Microbiology and Biotechnology. 71(2): 234-237.

Kyung-Taek, O., Young-Ju, K., Van, N.N., Woo-Jin, I., Ro-Dong, P. 2008. Effect of carb shell size on biodemineralization with lactic acid producing bacterium *Lactobacillus paracasei* subsp. tolerance KCTC- 3074. Biotechnology and Bioprocess Enginering. 13(5): 566-570.

Mahmoud, N.S., Ghaly, A.E. Arab, F. 2007. Unconventional approach for demineralization of deproteinized crustacean shells for chitin production. American Journal of Biochemistry and Biotechnology. 3(1): 1-9.

Percot, A., Viton, C., Domard, A. 2003. Optimization of chitin extraction from shrimp shells. Biomacromolecules. 4(1): 12-18.

Sugumar, G., Ramesh, U., Selvan, A. 2010. Susceptibility of crab chitosan against *Staphylococcus aureus*. Bioreseach Bulletin. 1: 21-24.

Synowiecki, J., Al-khateeb, N.A. 2003. Production, properties and some new applications of chitin and derivatives. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 43: 145-171.

Tango, S.A. Ghaly, A.E. 2002. A continuous lactic acid production system using an immobilized packed bed of *Lactobacillus helveticus*. Applied Microbiology and Biotechnology. 58(6): 712-720.

Thirunavukkarasu, N. 2005. Nutritional evaluational and utilization of mud crab *Scylla tranquebarica* (Fabricius, 1798). Ph.D. Thesis, Annamalai University, India. 127 p.

Thirunavukkarasu, N., Dhinamala, K., Moses, I.R. 2001. Production of chitin from two marine stomatopods Oratosquilla spp. (Crustacea). Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 3(1): 353-359.

Tipparat, H., Riyaphan, O. 2008. Effect of deacetylation conditions on antimicrobial activity of chitosans prepared from carapace of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). Songklanakarin Journal Science Technology. 30(1): 1-9.

Tayel, A.A., Moussa, S., Opwis, K., Knittel, D., Schollmeyer, E., Nickisch-Hartfiel, A. 2010. Inhibition of microbial pathogens by fungal chitosan. International Journal of Biological Macromolecules. 47(1): a10-14.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.8.1.6.8]

Benhabiles, M.S., Salah, R., Lounici, H., Drouiche, N., Goosen, M.F., Mameri, N. 2012. Antibacterial activity of chitin, chitosan and its oligomers prepared from shrimp shell waste. Food Hydrocolloids. 29(1): 48-56.

Lertsutthiwong, P., How, N.C., Chandrkrachang, S., Stevens, W.F. 2002. Effect of chemical treatment on the characteristics of shrimp chitosan. Journal of Metals, Materials and Minerals.12(1): 11-18.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.8.1.6.8]