

## استخراج کیتوزان از پوسته میگوی *Penaeus vannamei* و بررسی اثرات آن در حفظ کیفیت میوه های انگور و توت فرنگی در مدت نگهداری

آینتا شاهی فر<sup>۱</sup>، زهرا قاسمی<sup>۲\*</sup>، رضا شاهی فر<sup>۲</sup>

۱- گروه فناوری های نوین در مهندسی، دانشکده علوم و فناوری های بین رشته ای، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲- گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

۳- سازمان شیلات ایران، تهران، ایران

### چکیده

کیتین یک پلی ساکارید مهم طبیعی است که در دیواره سلولی برخی موجودات از جمله انواع سخت پوستان یافت می شود. پلیمر کیتوزان که از کیتین بدست می آید نقش بسیار مهمی در تولید طیف وسیعی از مواد مورد استفاده در صنایع غذایی دارد. هدف از انجام مطالعه حاضر، استخراج کیتین از پوسته میگوی پرورشی سفید غربی (*Penaeus vannamei*)، با استفاده از روش شیمیایی و طی مراحل پروتئین زدایی، حذف مواد معدنی، چربی زدایی، استخراج کیتوزان و استفاده از این ماده طبیعی بدون اثرات منفی در محافظت از پوشش خارجی میوه می باشد. جهت اطمینان از استاندارد بودن کیتوزان تولید شده و تعیین کیفیت آن، تکنیک FT-IR انجام شد. سپس میوه های انگور و توت فرنگی توسط کیتوزان با غلظت های صفر (نمونه شاهد) ۰/۲ و ۰/۵ درصد پوشش داده شدند. در طول مدت نگهداری دو ماهه در دمای ۴-۰ درجه سانتیگراد و به منظور بررسی تغییرات میوه ها، در انگور ویژگی های کیفی ظاهری شامل آلودگی های قارچی، قهوه ای شدن ساقه، قهوه ای شدن میوه، میزان ریزش حبه، شکاف خوردن و شکستگی حبه ها و همچنین طعم و عطر میوه تازه و در توت فرنگی، ویژگی های کیفی ظاهری شامل آلودگی های قارچی، قهوه ای شدن برگ، تغییر رنگ میوه، چروکیدگی و لزج شدگی میوه و همچنین طعم و عطر میوه تازه بصورت هفتگی کنترل شد. بر اساس نتایج، بازده تولید کیتین از پوسته به میزان ۵۸٪، بازده تولید کیتوزان از کیتین حدود ۸۴٪ و بازده تولید کیتوزان از پوسته میگو ۴۸٪ بود که بازدهی مناسبی می باشد. نمونه شاهد هر دو میوه در هفته نخست آزمایش، کیفیت ظاهری خود را از دست داده و چروکیده شدند و از هفته سوم به بعد فاسد شدند. در حالی که در حبه های انگور و توت فرنگی پوشش داده شده با محلول کیتوزان با غلظت ۰/۵ درصد، بهترین پوشش ضدباکتریایی برای میوه ها ایجاد شده و کیفیت ظاهری آنها در طول دوره آزمایش به مدت دو ماه حفظ شد. ایجاد پوشش حفاظتی توسط این ماده علاوه بر ممانعت از افت کیفی میوه ها سبب افزایش طول عمر نگهداری آنها در طول دوره انبارداری می شود.

**کلید واژه ها:** استخراج کیتوزان، FT-IR، کیفیت ظاهری میوه، *Penaeus vannamei*

### مقدمه

کیتوزان یک پلیمر ترکیبی است (glucosamine & N-acetyl glucosamine) که از کیتین بدست می آید. کیتوزان به عنوان یک ماده خام، نقش بسیار مهمی در تولید طیف وسیعی از مواد غذایی، پزشکی، دارویی و کشاورزی داشته و در حفاظت محیط زیست نیز کاربرد دارد. این خاصیت بدلیل وجود گروه های آمینو و هیدروکسیل است که خواص عملکردی زیادی از جمله پلی الکترولیت، ضد میکروبی، آنتی اکسیدان، ژل سازی، زیست سازگاری، Metal chelating (واکنش بین یک یون فلزی و یک عامل کمپلکس کننده آلی که منجر به تشکیل یک ساختار حلقه ای شده و یون فلز را حذف می کند) و پردازش پذیری به آن می دهد [۱]. کیتین، ترکیب اصلی کیتوزان و بیوپلیمر موجود در بسیاری از موجودات است که در پوسته بیرونی سخت پوستان از جمله خرچنگ، میگو، کریل، بارناکل، همچنین انواع نرم تنان، جلبک ها، حشرات، دیواره سلولی قارچ ها و جلبک ها یافت می شود [۲]. به طور کلی میزان کیتین استخراجی از ۱۵ تا ۳۰ درصد در پوسته بیرونی خرچنگ، ۲۰ تا ۳۰ درصد پوسته بیرونی سخت پوستان [۳]، ۳۰ تا ۴۰ درصد در اسکلت بیرونی میگو، ۵-۲۵ درصد در کوتیکول حشرات [۴] و ۲۰-۴۴ درصد در دیواره سلولی قارچ [۵] متفاوت است که البته این میزان بر حسب گونه نیز متفاوت خواهد بود. در حال حاضر کیتوزان مورد استفاده برای کاربردهای صنعتی عمدتاً از سخت پوستان، بویژه خرچنگ و میگو به دست می آید. در شرایطی که پوسته بیرونی میگو، به عنوان ضایعات حاصل از کارخانجات فراوری در دسترس

### نوع مقاله

#### مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۱۰

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۲/۱۲/۲۰

\*نویسنده مسئول:

z.ghasemi@hormozgan.ac.ir

می باشد، جمع آوری و ورود آن به چرخه فرآوری و تولید کیتین و کیتوزان می تواند نقش بسیار مهمی در توسعه صنعت فرآوری، ایجاد بهره وری و ارزش افزوده، بهبود اقتصاد و پایداری مشاغل مرتبط داشته باشد.

بر اساس آمارهای رسمی سازمان شیلات ایران، سالانه بیش از پنجاه هزار تن میگو، حاصل از فعالیت کارگاه‌های پرورش میگو و همچنین صید در خلیج فارس و دریای عمان تولید می شود که این میزان همه ساله در حال افزایش نیز می باشد. در صورتی که با برنامه ریزی و اعمال اقدامات مدیریتی، امکان جمع آوری ضایعات حاصل از کارخانجات فرآوری میگوی کشور فراهم گردد، می توان پیش بینی نمود که تولید بیش از پانصد تن کیتوزان بطور سالانه (۱٪ وزن میگوی تولیدی) قابل دسترس باشد. از طرفی با توجه به قیمت‌های مناسب این ماده در بازارهای جهانی که بر حسب کیفیت و مورد مصرف، تا صد برابر قیمت قابلیت افزایش دارد (متغیر بین ۱۰-۱۰۰۰ دلار / کیلوگرم) می توان ارزش افزوده بسیار بالایی را برای ضایعات صنعت فرآوری میگو فراهم و در بازارهای متنوع و مناسب خارجی و داخلی عرضه نمود.

بر اساس برخی برآوردها، هر ساله حدود  $10^{12}$  -  $10^{14}$  تن کیتوزان از سخت پوستان تولید می شود<sup>[۶]</sup> و بازار جهانی کیتین و مشتقات آن در سال ۲۰۱۷ بالغ بر ۲۹۰۰ میلیون دلار آمریکا بوده است که این میزان تجارت با نرخ رشد ۱۴/۸ درصد در حال افزایش است و پیش بینی می شود تا سال ۲۰۲۴ به حدود ۶۳ میلیارد دلار در سال برسد<sup>[۷]</sup>. در این راستا شرکت های زیستی با تولید طیف گسترده ای از محصولات در زمینه پزشکی، دارویی، محصولات مراقبت های بهداشتی، صنعت، ساختمان، تصفیه فاضلاب، نساجی، مواد غذایی و کشاورزی، تقریباً ۸۰ درصد از بازار مصرف کیتوزان حاصل از پوسته میگو را به خود اختصاص داده اند. یکی از کاربردهای اصلی زیست پزشکی کیتوزان، محصولات تجاری حاصل از این ماده جهت استفاده در بهبود زخم ها است که تأییدیه سازمان غذا و داروی آمریکا را نیز گرفته است<sup>[۸]</sup>.

با توجه به اهمیت صنایع بسته بندی و مواد غذایی، امروزه بسیاری از تحقیقات علمی بر گسترش تولید موادی با ظرفیت ایجاد فیلم و به عنوان ماده ای با خاصیت ضد میکروبی متمرکز شده است که در نهایت موجب افزایش عمر انبارداری ماده غذایی و ایمنی آن می گردد. مواد تولید شده بر پایه کیتین علاوه بر موارد متعدد کاربرد در صنعت، از نظر خواص ضد میکروبی نیز حائز اهمیت هستند. بسته بندی ضد میکروبی یکی از مهمترین انواع سیستم های بسته بندی فعال می باشند که جهت از بین بردن عوامل پاتوژن و جلوگیری از فعالیت میکروارگانیسم های عامل فساد ایجاد شده اند<sup>[۹ و ۱۰]</sup>. بدلیل وجود بار مثبت در کربن شماره ۲ مونومر گلوکز آمین، کیتوزان در pH پایین تر از ۶، حلالیت بهتر و فعالیت ضد میکروبی بالاتری نسبت به کیتین دارد<sup>[۱۱]</sup>. با این حال عوامل مختلفی بر فعالیت ضد میکروبی کیتوزان تاثیر دارند. بطور مثال کیتوزان با وزن ملکولی پایین تر از ۱۰ کیلو دالتون فعالیت ضدباکتریایی بیشتری نسبت به کیتوزان طبیعی دارد. بعلاوه درجه پلیمریزاسیون باید ۷ باشد تا کیتوزان فعال بماند، و در کمتر از این عدد، تقریباً هیچ فعالیت ضد میکروبی وجود نخواهد داشت<sup>[۱۱]</sup>.

## روش کار

### تولید کیتوسان

ابتدا پوسته خارجی (شامل کاراپاس، پوسته قسمت شکمی و قسمت دم) میگوی پرورشی سفید غربی *Penaeus vannamei* که به صورت منجمد به مدت سه ماه نگهداری شده بود، جدا گردید. سپس این قسمتها با آب معمولی به خوبی شستشو داده شده و در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت خشک و پس از آن توسط آسیاب برقی آسیاب و به پودر تقریباً یکدست تبدیل شدند. یکصد گرم از پودر مذکور توزین و برای تولید کیتین و کیتوزان جدا و استخراج کیتین با استفاده از روش شیمیایی (Chemical Extraction) صورت گرفت. به منظور انجام مرحله پروتئین زدائی، پودر مذکور در محلول سدیم هیدراکسید ده درصد (NaOH 10%) به مدت یک ساعت در دمای اتاق ( $25^{\circ}C$ ) هم زده، از کاغذ صافی عبور و با آب کافی شستشو داده شد. برای حذف مواد معدنی، بویژه آهک (Demineralization)، رسوب حاصل به مدت سه ساعت در محلول اسید هیدروکلریک پانزده درصد (HCl 15%) و در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد حرارت داده شد و سپس از کاغذ صافی عبور داده و شستشو شد. برای از بین بردن چربی، ماده حاصل به مدت پنج ساعت در محلول سدیم هیدراکسید پانزده درصد (NaOH 15%) و در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد حرارت داده شد و سپس از کاغذ صافی عبور و با آب کافی شستشو شد. کیتین بدست آمده، خشک شده و در سدیم هیدراکسید ۶۰ درصد (NaOH 60%) به مدت دو ساعت قرار داده شد. محلول حاصل پس از عبور از کاغذ صافی و خنثی شدن تبدیل به کیتوزان شد<sup>[۸]</sup>.

### مشخصه یابی محصولات

پس از استیل زدائی (Deacetylation) و بمنظور حفظ کیفیت کیتوزان تولید شده، نمونه را بطور مداوم با سدیم هیدراکسید ۶۰ درصد شستشو داده و سپس فیلتر و بصورت روباز در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شد<sup>[۱۲]</sup>. جهت تعیین درجه استیل زدائی از تکنیک طیف سنجی تبدیل فوریه (FT-IR) استفاده گردید<sup>[۱۳]</sup>. بررسی درجه استیل زدائی<sup>۲</sup> و میزان تبدیل گروه آمیدی کیتین به گروه آمینی کیتوزان با استفاده از نتایج طیف سنجی انجام شد. میزان شدت پیک در  $1657 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به کربونیل آمید استیل و شدت پیک در  $3468 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به باند گروه هیدروکسیل می باشد که به عنوان طول موجهای استاندارد مد نظر قرار می گیرند<sup>[۱۴]</sup>. میزان استیل زدایی با استفاده از معادله (۱) محاسبه شد.

$$\text{DD} = 100 - \left[ \left( \frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times 100 \right) / 1.3300 \right] \quad \text{معادله (۱):}$$

در این معادله،  ${}^2\text{DD}$  درجه استیل زدایی،  $A_{1655}$  و  $A_{3450}$  به ترتیب میزان جذب در  $1657 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به گروه کربونیل آمیداستیل و  $3468 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به گروه هیدروکسیل به عنوان استاندارد داخلی است. فاکتور  $1/3300$  نسبت  $A_{1655}/A_{3450}$  برای کیتوزان کاملاً استیل شده است. بدین صورت که نسبت مذکور برای کیتوزان کاملاً استیل زدایی شده صفر در نظر گرفته می شود. ناحیه جذب گروه های کربونیل آمیداستیل و گروه های هیدروکسیل با استفاده از معادلات (۲) و (۳) محاسبه شد.

$$\log_{10} \left( \frac{DF}{DE} \right) = A_{1655} \quad \text{کربونیل آمیداستیل} \quad \text{معادله (۲)}$$

$$\log_{10} \left( \frac{AC}{AB} \right) = A_{3450} \quad \text{هیدروکسیل} \quad \text{معادله (۳)}$$

DF و DE باند جذب گروه عاملی در ناحیه  $1655$  و AC و AB باند جذب گروه عاملی در ناحیه  $3450$  را نشان می دهند. میزان رطوبت بر حسب درصد، با توزین پوسته میگو در حالت مرطوب (پس از آبیگری با دستمال جاذب) و مقایسه آن با وزن پس از خشک شدن در مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد صورت گرفت<sup>[۱۲]</sup>. میزان خاکستر کیتین بر حسب درصد (نسبت به وزن مرطوب پودر کیتین)، با قرار دادن مقدار مشخصی از نمونه کیتین در بوته چینی و قرار دادن آن در کوره در دمای ۵۵۰ درجه سانتیگراد به مدت چهار ساعت و سنجش تفاوت وزن نمونه اولیه و ثانویه، تعیین گردید. بازده استحصال کیتین و کیتوزان با استفاده از وزن اولیه پوسته میگو، وزن کیتین و کیتوزان تولید شده، بر حسب درصد تعیین شد.

### پوشش دهی میوه انگور و توت فرنگی با کیتوزان تولید شده

ابتدا میوه ها بررسی و نمونه های سالم بر اساس وضعیت ظاهری، انتخاب و به مدت ۵ ثانیه با آب گرم ۴۸ درجه سانتیگراد تیمار شدند. سپس با استفاده از دستمال جاذب رطوبت و در دمای معمولی اتاق به مدت یک ساعت خشک شدند. برای تهیه غلظت های  $0/2$  و  $0/5$  درصد کیتوزان، مقدار ۲ و ۵ گرم از کیتوزان را در ۹۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل کرده و ۵۰ میلی لیتر اسید استیک غلیظ ۱۰۰% Glacial acetic acid ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) به هر یک از آنها اضافه شد. پس از حل شدن کیتوزان، حجم آن با آب مقطر به یک لیتر رسانده شد. pH محلول های کیتوزان با استفاده از سدیم هیدراکسید  $0/1$  نرمال روی عدد  $5/6$  تنظیم شد<sup>[۱۵]</sup>. سپس میوه های مورد آزمایش به میزان لازم انتخاب و در محلول کیتوزان با غلظت های صفر (به عنوان نمونه شاهد)،  $0/2$  درصد (تیمار ۱) و  $0/5$  درصد (تیمار ۲) به مدت یک دقیقه غوطه ور شده و در حدود ۳۰ دقیقه اجازه داده شد که میوه ها در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد آزمایشگاه خشک شوند. میوه های شاهد و همچنین میوه های پوشش داده شده با غلظت های مشخصی از کیتوزان در داخل ظروف پلاستیکی در بسته قرار داده شده و به داخل یخچال با دمای  $0-4$  درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۹۰ درصد منتقل و به مدت دو ماه در این شرایط نگهداری شدند.

<sup>1</sup> Fourier Transform Infrared Spectrometer

<sup>2</sup> Deacetylation Degree

به منظور بررسی تغییرات کیفی رخ داده در میوه های انگور در طول مدت نگهداری، ویژگیهای کیفی در فواصل هفتگی بررسی و اندازه گیری شد. آزمایش های کیفی در برگزیده شش شاخص آلودگی قارچی، قهوه ای شدن ساقه، قهوه ای شدن حبه، میزان ریزش حبه، شکاف خوردن و شکستگی حبه ها و طعم و عطر حبه ها بود. برای ارزیابی درصد آلودگی های قارچی، خوشه ها به چهار سطح تقسیم شدند. خوشه های سطح یک شامل خوشه های سالم و بدون آلودگی قارچی، خوشه های سطح دو با سطح آلودگی قارچی تا ۲۵٪، خوشه های سطح سه با آلودگی قارچی ۵۰-۲۵٪ و خوشه ها سطح چهار با آلودگی قارچی بالای ۵۰٪ مد نظر قرار گرفتند. عملاً خوشه های انگور سطح چهار به بعد، به عنوان خوشه های انگور فاسد محسوب و از دور خارج گردیدند. برای ارزیابی میزان قهوه ای شدن ساقه خوشه ها، از روش نمره دهی چهار برای رنگ قهوه ای پر رنگ، سه برای رنگ قهوه ای کم رنگ، دو برای رنگ سبز کم رنگ و یک برای رنگ سبز استفاده شد. ارزیابی تعداد حبه های قهوه ای شده در هر خوشه با شمارش این حبه ها انجام و با روش نمره دهی ۱-۴ برای هر خوشه ثبت گردید. برای تعیین میزان ریزش حبه ها در میوه انگور، نوک خوشه را گرفته و با سه بار تکان دادن آن، حبه های جدا شده را شمارش و تعداد آن برای هر خوشه ثبت گردید. شکاف خوردن و شکستگی حبه ها نیز با شمارش آنها و در چهار سطح تعیین و برای هر تیمار و نمونه شاهد ثبت شد. عطر و طعم حبه ها به روش تست ارگانولپتیک و نظرخواهی از ارزیابان بررسی شد. نمره دهی بر اساس نمره چهار به عنوان عطر و طعم نامناسب، سه برای عطر و طعم متوسط، دو برای نمونه های خوب و یک برای نمونه های تست شده با عطر و طعم عالی صورت گرفت. هر تیمار دارای ۱۰ تکرار و برای هر تکرار یک خوشه انگور در نظر گرفته شد و در نهایت نتایج بررسی ها در مورد هر تیمار و نمونه شاهد، برای هر یک از شش شاخص تعیین شده از عدد ۱ تا ۴ ارزیابی و ثبت شد.

به منظور بررسی تغییرات کیفی ظاهری میوه توت فرنگی، در طول دوره آزمایش ویژگیهای کیفی توت فرنگی در فواصل هفتگی، بررسی و اندازه گیری شد. این بررسی ها شامل پنج شاخص آلودگی های قارچی، قهوه ای شدن برگ، تغییر رنگ میوه، چروکیدگی و لزج شدن میوه و تغییرات در طعم و عطر میوه توت فرنگی بود. برای کمی نمودن ارزیابی کیفی، این شاخص ها در چهار سطح تعریف شدند. برای تعیین درصد آلودگی های قارچی، میوه های توت فرنگی سطح یک شامل میوه های سالم و بدون آلودگی قارچی، میوه های سطح دو با سطح آلودگی قارچی تا ۲۵٪، میوه های سطح سه با آلودگی قارچی ۵۰-۲۵٪ و میوه های سطح چهار با آلودگی قارچی بالای ۵۰٪ مد نظر قرار گرفتند. عملاً میوه های توت فرنگی سطح چهار به بعد، به عنوان میوه های فاسد محسوب گردیدند. برای ارزیابی میزان قهوه ای شدن برگ توت فرنگی از روش نمره دهی یک برای رنگ سبز پر رنگ، دو برای رنگ سبز تیره، سه برای رنگ قهوه ای کم رنگ و چهار برای رنگ قهوه ای تیره استفاده شد. برای بررسی تغییر رنگ و لزج شدگی میوه های توت فرنگی میزان تغییر رنگ و لزج شدگی کم به عنوان سطح یک، میزان متوسط تغییر رنگ و لزج شدگی دو، تغییر رنگ و لزج شدگی زیاد سطح سه و تغییر رنگ و لزج شدگی بسیار زیاد سطح چهار لحاظ شد. عطر و طعم میوه ها به روش تست ارگانولپتیک و نظرخواهی از ارزیابان بررسی شد. نمره دهی بر اساس نمره چهار به عنوان عطر و طعم نامناسب، سه برای عطر و طعم متوسط، دو برای نمونه های خوب و یک برای نمونه های تست شده با عطر و طعم عالی صورت گرفت. هر تیمار دارای ۱۰ تکرار و برای هر تکرار یک عدد میوه توت فرنگی در نظر گرفته شد.

## نتایج

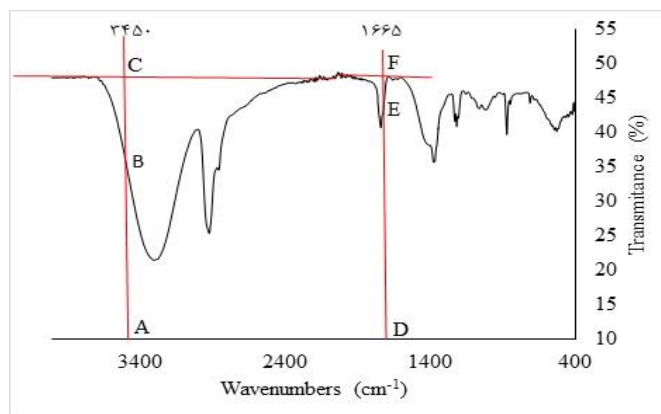
### مشخصات محصولات تولید شده

بر اساس نتایج حاصل از تست FT-IR و طبق معادله ۱، میزان استیل زدائی کیتوزان ۷۶/۴۵٪ محاسبه گردید (شکل ۱). میزان رطوبت پوسته بیرونی میگو که به عنوان ماده اولیه برای استخراج کیتین استفاده شد ۴۷٪ محاسبه شد. بازده تولید کیتین از پوسته ۵۸٪، بازده تولید کیتوزان از کیتین حدود ۸۴٪ و در نتیجه بازده تولید کیتوزان از پوسته میگو ۴۸٪ محاسبه شد. به عبارت دیگر در این تحقیق از صد گرم پوسته بیرونی خشک شده میگوی پرورشی، ۴۸ گرم کیتوزان تولید شد.

### بررسی مشخصات کیفی میوه انگور و توت فرنگی پوشش داده شده با کیتوزان تولیدی

با توجه به لحاظ نمودن شش شاخص مربوط به تغییرات کیفی و ارزیابی هر شاخص در چهار سطح، ماتریس تغییرات از حداقل ۶ تا حداکثر ۲۴ متغیر خواهد بود. لذا انگورهایی با ماتریس تغییرات بالای ۱۲ که ۵۰٪ کیفیت خود را از دست داده بودند، فاسد محسوب شده و از مراحل ارزیابی خارج شدند. بر اساس نتایج بدست آمده از ارزیابی هفتگی شاخص های کیفی میوه انگور، نمونه های شاهد بدون استفاده از پوشش کیتوزان حداکثر پس از سه هفته غیر قابل مصرف و فاسد شدند. در این میان کیفیت ظاهری نمونه های تیمار شده با کیتوزان ۰/۲ درصد (تیمار ۱) تا پایان ماه

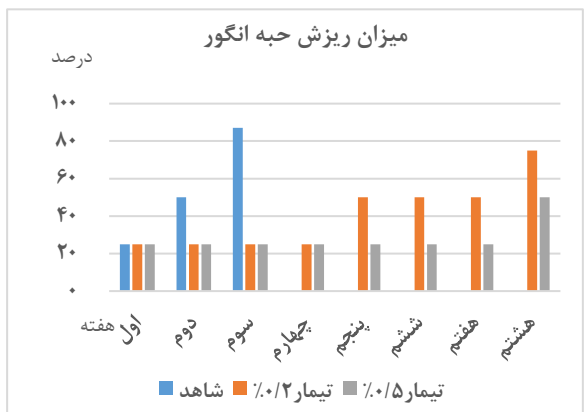
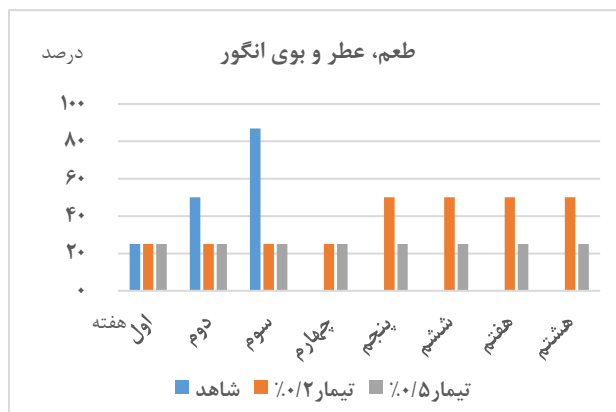
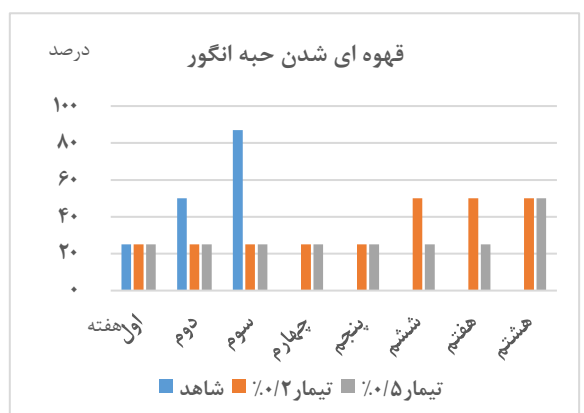
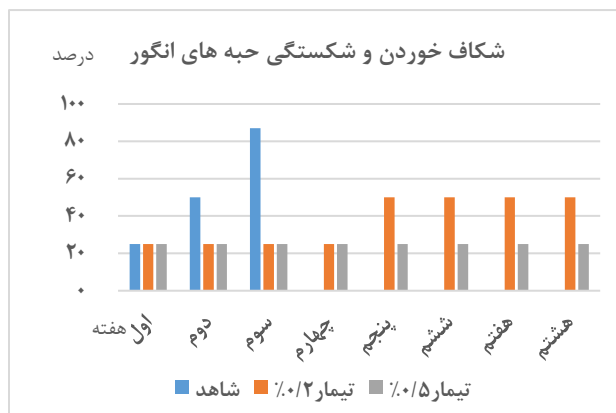
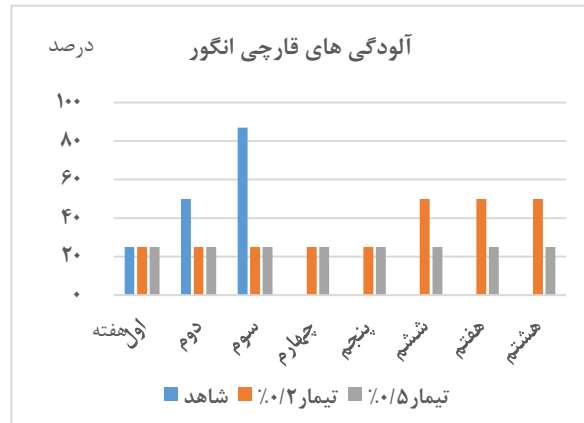
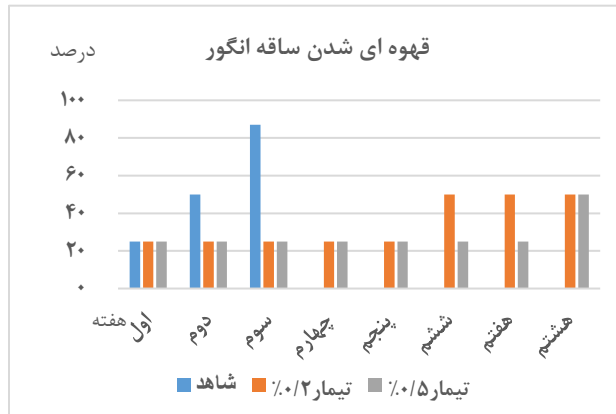
اول تا ۵۰٪ حفظ گردید و تغییرات کیفی نامطلوب ظاهری از پایان هفته پنجم به بعد مشاهده شد. کیفیت نمونه های تیمار شده با کیتوزان ۰/۵ درصد (تیمار ۲) تا پایان دوره آزمایش به مدت دو ماه حفظ و تغییرات کیفی ظاهری قابل توجهی مشاهده نگردید، بطوری که میتوان گفت نزدیک به ۱۰۰٪ کیفیت انگور مورد آزمایش با استفاده از این تیمار در مدت دو ماه حفظ گردید. اطلاعات مربوط به این بررسی ها در جدول ۱ و شکل ۲ آمده است.



شکل ۱. طیف FT-IR کیتوزان تولید شده با پوسته میگوی *P. vannamei*

جدول ۱. ارزیابی ماندگاری انگورهای شاهد و تیمار شده بر اساس شاخص های کیفی تعیین شده

تغییرات کیفی	کنترل هفتگی	پایان هفته اول	پایان هفته دوم	پایان هفته سوم	پایان هفته چهارم	پایان هفته پنجم	پایان هفته ششم	پایان هفته هفتم	پایان هفته هشتم
آلودگی های قارچی	شاهد	۱	۲	۳-۴	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد
	تیمار	۰/۲٪	۱	۱	۱	۱	۲	۲	۲
قهوه ای شدن ساقه	شاهد	۱	۲	۳-۴	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد
	تیمار	۰/۲٪	۱	۱	۱	۱	۲	۲	۲
قهوه ای شدن حبه	شاهد	۱	۲	۳-۴	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد
	تیمار	۰/۲٪	۱	۱	۱	۱	۲	۲	۲
میزان ریزش حبه	شاهد	۱	۲	۳-۴	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد
	تیمار	۰/۲٪	۱	۱	۱	۱	۲	۲	۳
شکستگی حبه ها	شاهد	۱	۲	۳-۴	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد
	تیمار	۰/۲٪	۱	۱	۱	۲	۲	۲	۲
طعم، عطر و بو	شاهد	۱	۲	۳-۴	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد
	تیمار	۰/۲٪	۱	۱	۱	۱	۲	۲	۲
ماتریس تغییرات	شاهد	۶	۱۲	۲۴-۱۸	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد
	تیمار	۰/۲٪	۶	۶	۶	۶	۹	۱۲	۱۴
		۰/۵٪	۶	۶	۶	۶	۶	۶	۹



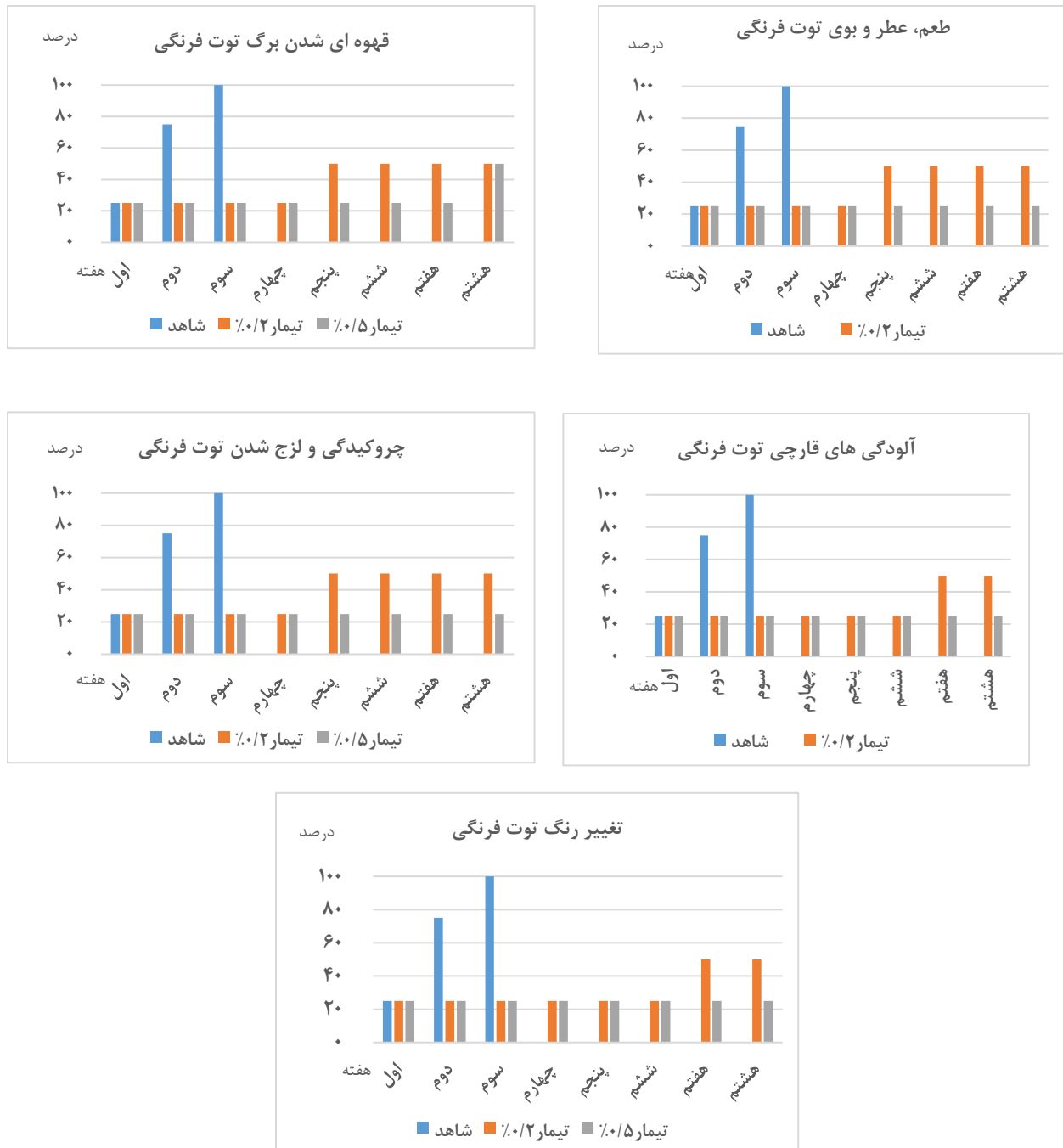
شکل ۲. نمودارهای ارزیابی ماندگاری انگورهای شاهد و تیمار شده بر اساس شاخص های کیفی تعیین شده

همچنین بر اساس نتایج بدست آمده از ارزیابی هفتگی شاخص های کیفی نمونه های شاهد، تیمار ۱ (کیتوزان ۰/۲ درصد) و تیمار ۲ (کیتوزان ۰/۵ درصد) مربوط به میوه توت فرنگی، نمونه های شاهد بدون استفاده از پوشش کیتوزان پس از سه هفته غیر قابل مصرف و فاسد شدند. با توجه به لحاظ نمودن پنج شاخص مربوط به تغییرات کیفی و ارزیابی هر شاخص در چهار سطح، ماتریس تغییرات از حداقل ۵ تا حداکثر ۲۰ متغیر بود. لذا میوه های توت فرنگی با ماتریس تغییرات بالای ۱۰ که ۵۰٪ کیفیت خود را از دست داده بودند، فاسد محسوب شده و از مراحل ارزیابی خارج شدند. در این میان کیفیت ظاهری نمونه های تیمار شده با کیتوزان ۰/۲ درصد تا پایان ماه اول حفظ گردید اما تغییرات کیفی ظاهری از پایان

هفته پنجم به بعد مشاهده شد، بطوریکه ۵۰٪ کیفیت ظاهری تا این زمان حفظ گردید. کیفیت نمونه های تیمار شده با کیتوزان ۰/۵ درصد تا پایان دوره آزمایش به مدت دو ماه حفظ و تغییرات کیفی ظاهری قابل توجهی مشاهده نگردید. بطوریکه می توان گفت نزدیک به ۱۰۰٪ کیفیت توت فرنگی مورد آزمایش با استفاده از این تیمار حفظ گردید. بر اساس ارزیابی بعمل آمده توسط افراد تست کننده، مهمترین تغییرات شامل مشاهده شامل طعم، عطر و بو، میزان آلودگیهای قارچی، چروکیدگی و لزج شدن میوه، قهوه ای شدن حبه ها و قهوه ای شدن ساقه بود. اطلاعات مربوط به این بررسی ها در جدول شماره ۲ و شکل ۳ نشان داده شده است.

جدول ۲. ارزیابی ماندگاری توت فرنگی شاهد و تیمار شده بر اساس شاخص های کیفی تعیین شده

کنترل هفتگی	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم	تغییرات کیفی
شاهد	۱	۳	۴	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد	آلودگیهای قارچی
تیمار	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۲	۲	
شاهد	۱	۳	۴	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد	قهوه ای شدن برگ
تیمار	۱	۱	۱	۱	۲	۲	۲	۲	
شاهد	۱	۳	۴	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد	تغییر رنگ میوه
تیمار	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۲	۲	
شاهد	۱	۳	۴	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد	چروکیدگی و لزج شدن میوه
تیمار	۱	۱	۱	۱	۲	۲	۲	۲	
شاهد	۱	۳	۴	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد	طعم، عطر و بو
تیمار	۱	۱	۱	۱	۱	۲	۲	۲	
شاهد	۵	۱۵	۲۰	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد	فاسد	ماتریس تغییرات
تیمار	۵	۵	۵	۵	۸	۸	۱۰	۱۰	
	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۶	



شکل ۳. نمودارهای ارزیابی ماندگاری توت فرنگی شاهد و تیمار شده بر اساس شاخص های کیفی تعیین شده

## بحث

### مشخصات محصولات تولید شده

با توجه به فیزیولوژی انواع گونه های میگو و تاثیر تغییرات فصلی، بویژه زمان صید گونه های دریایی، خصوصیات کمی و کیفی کیتین موجود در سخت پوستان، می تواند متفاوت باشد [۱۱]. به عبارت دیگر، کیفیت میگوهای اولیه که پوسته بیرونی آنها جهت تهیه و استخراج کیتین مورد استفاده قرار می گیرد بر حسب شرایط زندگی بویژه نوع تغذیه و همچنین کیفیت نگهداری و حمل و نقل میگوی صید شده، می تواند دارای میزان



بازدهی و استخراج کیتین متفاوتی باشد. علاوه بر این، روش‌ها و مراحل بکار گرفته شده در استخراج کیتین و تولید کیتوزان، می‌تواند در بازدهی، میزان خلوص و نهایتاً کیفیت آن تأثیر گذار باشد. در این میان استفاده از روش شیمیایی استخراج کیتین یکی از روشهای متداول با بازدهی مناسب برای استخراج کیتین در سطوح تجاری شناخته می‌شود.

در سخت پوستان بویژه صدف‌ها، کیتین به صورت یک شبکه پیچیده و حاوی پروتئین‌هایی است که کربنات کلسیم روی آن رسوب کرده و پوسته سختی را شکل می‌دهد. همچنین رابطه بین کیتین و پروتئین بسیار قوی است [۱۶]. بنابراین، جداسازی کیتین از پوسته سخت پوستان و صدف نیازمند حذف دو جزء اصلی پوسته، یعنی پروتئین‌ها و کربنات کلسیم معدنی همراه با اندک مقادیر رنگدانه و لیپید است که در برخی موارد یک مرحله اضافی رنگ زدایی اعمال می‌شود. در طول سالها تحقیق روش‌های مختلفی برای تهیه کیتین خالص ارائه شده است. با این حال، هیچ روش استانداردی که مورد استفاده همه قرار گیرد وجود ندارد و بدین لحاظ ممکن است که ترتیب انجام مراحل کار جابجا گردد. صرف نظر از روش انتخابی، استخراج کیتین با جداسازی پوسته‌ها آغاز می‌شود که در میگو، این پوسته نازک تر است و بنابراین جداسازی کیتین از آن، آسان تر از جداسازی کیتین از پوست سایر موجودات است. از طرفی با توجه به دسترسی نسبتاً آسان به میگوی پرورشی، پوسته حاصل از این آبزی منبع مناسب و تا حدی در دسترس (در سواحل خلیج فارس و دریای عمان) برای استخراج کیتین می‌باشد که در حال حاضر تنها از آن جهت تولید پودر ماهی استفاده می‌شود.

مرحله پروتئین زدایی و ایجاد گسست در پیوندهای شیمیایی بین کیتین و پروتئین‌ها تا حدی مشکل است. از طرفی این عمل با استفاده از مواد شیمیایی که پلیمر زیستی را نیز از بین می‌برد، بصورتی غیر یکنواخت و ناهمگن صورت می‌گیرد. بعلاوه حذف کامل پروتئین بویژه برای کاربردهای زیست پزشکی اهمیت زیادی دارد. در این راستا استفاده از روش‌های شیمیایی به عنوان اولین رویکرد در پروتئین زدایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. بدین منظور طیف وسیعی از مواد شیمیایی وجود دارند که به عنوان عوامل پروتئین زدائی شناخته شده و بکارگیری می‌شوند. اگرچه شرایط واکنش به طور قابل توجهی در هر مطالعه متفاوت است، اما سدیم هیدراکسید یکی از مواد شیمیایی است که ترجیحاً برای انجام پروتئین زدائی مورد استفاده قرار می‌گیرد که علاوه بر خارج ساختن پروتئین منجر به استیل زدائی جزئی کیتین و هیدرولیز بیوپلیمر تولیدی شده و وزن مولکولی آن را نیز کاهش می‌دهد. لذا در این آزمایش نیز جهت پروتئین زدائی از ماده شیمیایی سدیم هیدراکسید ده درصد به مدت یک ساعت در دمای معمولی اتاق استفاده شد.

حذف مواد معدنی، در درجه اول با هدف حذف کربنات کلسیم و معمولاً با استفاده از مواد شیمیایی اسیدی مختلفی انجام می‌شود. در این میان اسید هیدروکلریدریک HCl، اسید ترجیحی مورد استفاده برای انجام مرحله معدنی زدائی می‌باشد. این عمل به آسانی صورت می‌گیرد زیرا ترکیبات کربنات کلسیم موجود به نمک‌های کلسیم محلول در آب تجزیه می‌شوند که همراه با آزاد شدن دی‌اکسید کربن همانند معادله زیر می‌باشد.



بدین ترتیب نمک‌های محلول در آب، حاصل از مواد معدنی موجود در پوسته میگو را به راحتی می‌توان با عمل فیلتر کردن و شستشو با آب یونیزه شده حذف نمود. تیمارهای مربوط به حذف مواد معدنی اغلب تجربی هستند و درجه کانی‌زایی در هر تیمار متفاوت می‌باشد که به عواملی از قبیل کیفیت پوسته اولیه انتخاب شده به عنوان ماده اولیه، زمان اختصاص داده شده به دوره کانی زدائی، دمای محیط، اندازه ذرات، غلظت اسید و نسبت املاح به حلال بستگی دارد. در این میان غلظت اسید بکار رفته مهم می‌باشد، زیرا برای تبدیل یک ملکول از کلسیم کربنات به کلسیم کلراید نیاز به دو ملکول اسید هیدروکلریدریک وجود دارد. برای داشتن یک واکنش مناسب، مصرف اسید باید متناسب با مقدار کانی‌های موجود در پوسته و یا حتی بیشتر از آن باشد. به عبارتی بدلیل دشواری حذف مواد معدنی ناشی از ناهمگونی و غیر یکنواخت بودن ماده مورد استفاده برای استخراج کیتین، لازم است از حجم بیشتر یا اسید غلیظ تری برای انجام مناسب این مرحله استفاده نمود. کیفیت حذف مواد معدنی را می‌توان با تیتراسیون اسیدیمتری پایش کرد. بطوریکه حرکت pH به سمت حالت خنثی نشان از مصرف اسید است اما وجود حالت اسیدی و تداوم آن نشانگر پایان واکنش و کانی زدائی است. لذا در این مطالعه مرحله کانی زدائی با استفاده از محلول اسید هیدروکلریدریک پانزده درصد، در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد و به مدت ۳ ساعت انجام شد.

از نقطه نظر شیمیایی استیل زدائی کیتین را می‌توان با استفاده از اسیدها و مواد قلیایی انجام داد. با این حال بدلیل حساسیت پیوندهای گلیکوزیدی به اسیدها، معمولاً استیل زدائی با استفاده از مواد قلیایی صورت می‌گیرد. معمولاً استیل زدائی با استفاده از محلول غلیظ و داغ سدیم هیدراکسید

در طی چند ساعت انجام می‌شود که در این روش کیتوزان بدست آمده بدون استیل بالای ۸۰ درصد خلوص دارد. انجام موفقیت آمیز این مرحله به عوامل مختلفی از جمله دما، تکرار مرحله قلیایی و زمان آن، غلظت سدیم هیدراکسید مصرفی، اندازه ذرات، نسبت کیتین و حلال و منبع ماده خام اولیه به هنگام انجام استیل زدائی بستگی دارد. همچنین تجربیات قبلی نشان داده است که برای انجام این مرحله استفاده از سدیم هیدروکسید بسیار موثرتر از پتاسیم هیدروکسید KOH است. کیتوزان بدست آمده در محیط اسیدی آبی و در زمانی که میانگین درجه استیلاسیون کمتر از ۵/۰ است، قابل حل خواهد بود. در واقع این محدودیت بستگی به توزیع گروههای استیل در طول زنجیره ها دارد. لذا با توجه به تجربیات گذشته، استیل زدائی کتین بدست آمده در سدیم هیدراکسید ۶۰ درصد به مدت دو ساعت و در دمای اتاق تیمار شد. محلول حاصل پس از عبور از کاغذ صافی و خنثی شدن تبدیل به کیتوزان گردید. پس از استیل زدائی و بمنظور حفظ کیتوزان تولید شده، نمونه بطور مداوم با سدیم هیدراکسید ۶۰ درصد شستشو و فیلتر شد.

در مجموع با توجه به فراوانی پوسته میگوی سفید غربی در کشور به عنوان میگوی پرورشی مورد استفاده در مزارع پرورش، این ماده به عنوان منبع اولیه، جهت انجام پروژه انتخاب شد. به منظور حفظ کیفیت، میگوها بصورت منجمد حمل و به هنگام جداسازی پوسته، یخ زدائی شدند. با توجه به متداول بودن و امکان استفاده آسان تر از روش شیمیایی در استخراج کیتین و کیتوزان در ابعاد تجاری و صنعتی، این روش جهت انجام کار انتخاب شد. با استناد به نتایج مطالعات گذشته و با توجه به اینکه استاندارد خاصی جهت انجام مراحل مختلف تولید کیتین وجود ندارد، در این مطالعه به ترتیب مراحل پروتئین زدائی، حذف مواد معدنی، چربی زدائی و سپس استیل زدائی انجام شد. نتایج نشان داد که بازده تولید کیتین از پوسته به میزان ۵۸٪، بازده تولید کیتوزان از کیتین حدود ۸۴٪ و بازده تولید کیتوزان از پوسته میگو ۴۸٪ می باشد که مقادیر مطلوبی می باشند. به عبارت دیگر در این تحقیق از صد گرم پوسته بیرونی خشک شده میگوی پرورشی ۴۸ گرم کیتوزان تولید شد که نسبت مناسبی محسوب می‌گردد.

### مشخصات کیفی میوه انگور و توت فرنگی پوشش داده شده با کیتوزان تولید شده

همان گونه که در نتایج عنوان شد کیتوزان تولیدی جهت پوشش دو میوه انگور و توت فرنگی مورد استفاده قرار گرفت. میوه ها حاوی مقادیر قابل توجهی از ترکیبات مفید مانند ویتامین ها، مواد معدنی، فیبرها، اسیدهای آلی، قندها و ترکیبات آنتی اکسیدانی می باشند. در این میان حفظ کیفیت این منابع ارزشمند در طی فرایند مزرعه تا مصرف بویژه در طول دوره نگهداری حائز اهمیت فراوانی است، بطوریکه علیرغم صرف منابع مالی، نیروی انسانی و منابع آب و خاک فراوان مقدار بالایی از این محصولات از گردونه مصرف خارج می‌شوند. طبق آخرین اطلاعات منتشره توسط سازمان جهانی غذا و کشاورزی (FAO) متأسفانه میزان ضایعات کشاورزی در ایران ۲۵ برابر کشورهای پیشرفته دنیا بوده و در بخش ضایعات میوه ایران رتبه اول در دنیا را دارد. بر این اساس آمارها و برآوردهای داخلی نیز نشان از میزان ۲۵ تا ۳۰ درصدی ضایعات محصولات کشاورزی از مرحله کشت در مزرعه تا مصرف خانوارها دارد. در این میان عوامل متعددی در بروز این مشکل نقش دارند که عدم نگهداری و انبارداری و حمل و نقل مناسب، یکی از عوامل اصلی تولید این ضایعات بویژه در میوه جات می باشد. یکی از روشهای جلوگیری از بروز این قبیل مشکلات استفاده از پوشش‌های خوراکی به عنوان لایه ای نازک جهت مانع از تبادل رطوبت و اکسیژن بین میوه و محیط اطراف می باشد. به عبارتی با کاهش تبادل رطوبت از خشک شدن و پلاسیده شدن میوه جلوگیری بعمل آمده و با کاهش تبادل اکسیژن تنفس میوه ها کاهش می یابد. از طرفی میزان تعریق میوه ها کاهش یافته و کیفیت آنها در طول دوره ماندگاری حفظ و افزایش دوره انبارمانی را سبب می‌گردد. بدین منظور یکی از مهمترین پوشش‌هایی که در دوره پس از برداشت به کار می رود، استفاده از کیتوزان است. کیتوزان یک پوشش خوراکی، ترکیبی طبیعی، زیست تخریب پذیر و زیست سازگار می باشد که به عنوان یک پوشش نیمه نفوذناپذیر با ایجاد تغییر در شرایط درونی میوه از جمله میزان آب، اکسیژن، دی اکسید کربن و نیز کاهش سرعت تنفس و کنترل حرکت رطوبت بین میوه و فضای اطراف آن، باعث کاهش میزان سوخت و ساز، تنفس و نفوذپذیری موادی مانند چربی، روغن، حرارت شده و مانعی در برابر رشد میکروارگانیسمها بویژه قارچها را فراهم آورده و با ایجاد تاخیر در پیری و فساد میوه، کیفیت آن را حفظ می‌کند. همچنین بررسی‌ها نشان می‌دهند که استفاده از پوشش خوراکی کیتوزان مانع از کاهش مقدار کل مواد جامد محلول، اسیدیته قابل تیتراسیون و افزایش عمر قفسه ای می‌شود که مانعی برای افت کمی و کاهش وزن میوه محسوب می‌گردد. در اغلب مطالعات پس از پوشش میوه ها با غلظت های مختلف، میزان رشد میکروارگانیسمها بر روی تیمارهای مختلف با انجام آنالیزهای آزمایشگاهی بررسی می‌گردد، اما با توجه به اهمیت ظاهری میوه، طعم و بوی میوه ها و همچنین اهمیت این عوامل به عنوان روشی ساده در تعیین کیفیت میوه ها در طول مدت نگهداری، در این مطالعه بررسی کیفیت ظاهری میوه ها مد نظر قرار گرفت. نتایج حاصل از این تحقیق نشان

داد که استفاده از فیلم کیتوزان با غلظت های متفاوت نتایج مختلفی را از نظر زمان ماندگاری میوه ها از خود نشان می دهند. بر اساس نتایج بدست آمده از ارزیابی هفتگی شاخص های کیفی مربوط به میوه انگور، نمونه های شاهد بدون استفاده از پوشش کیتوزان پس از سه هفته غیر قابل مصرف و فاسد شدند. با توجه به لحاظ نمودن شش شاخص مربوط به تغییرات کیفی و ارزیابی هر شاخص در چهار سطح، ماتریس تغییرات از حداقل ۶ تا حداکثر ۲۴ متغیر خواهد بود. لذا انگورهایی با ماتریس تغییرات بالای ۱۲ که ۵۰٪ کیفیت خود را از دست داده بودند، فاسد محسوب شده و از مراحل ارزیابی خارج شدند. در این میان کیفیت ظاهری نمونه های تیمار شده با کیتوزان ۰/۲ درصد (تیمار ۱) تا پایان ماه اول تا ۵۰٪ حفظ گردید و تغییرات کیفی ظاهری از پایان هفته پنجم به بعد مشاهده شد. کیفیت نمونه های تیمار شده با کیتوزان ۰/۵ درصد (تیمار ۲) تا پایان دوره آزمایش به مدت دو ماه حفظ و تغییرات کیفی ظاهری قابل توجهی مشاهده نگردید. بطوریکه میتوان گفت نزدیک به ۱۰۰٪ خوشه های انگور پوشش داده شده با کیتوزان ۰/۵ سالم و بدون تغییرات کیفی ظاهری بودند. همچنین نتایج مشابهی در استفاده از کیتوزان تولید شده جهت پوشش میوه توت فرنگی مشاهده گردید. بطوریکه کیفیت نمونه های تیمار شده با کیتوزان ۰/۵ درصد، تا پایان دوره آزمایش به مدت دو ماه حفظ و تغییرات کیفی ظاهری قابل توجهی مشاهده نگردید. مطابق نتایج بدست آمده میتوان گفت که نزدیک به ۱۰۰٪ کیفیت توت فرنگی مورد آزمایش با استفاده از این تیمار حفظ گردید.

بر اساس نتایج بدست آمده میتوان گفت که استفاده از پوشش کیتوزان با غلظت ۰/۵ می تواند دوره نگهداری و ماندگاری میوه های انگور و توت فرنگی را بالا برده و قابلیت عرضه آن را در بازار مصرف در طول دوره بیشتری فراهم سازد که با توجه به هزینه نه چندان بالای کیتوزان مصرفی و افزایش قیمت عرضه میوه انگور در ماههای خارج از دوره تولید و همچنین ایجاد فرصت لازم برای طی مراحل صادرات این محصول به خارج از کشور، موجبات ایجاد ارزش افزوده مناسبی را فراهم آورده و سودآوری بیشتری را در فرایند تولید، توزیع و تجارت این میوه های بازارپسند به همراه خواهد داشت.

### نتیجه گیری

با توجه به فراوانی پوسته میگوی سفید غربی در کشور به عنوان میگوی پرورشی مورد استفاده در مزارع پرورش، این ماده اولیه می تواند به عنوان منبع مناسبی جهت استخراج کیتین و کیتوزان مورد بهره برداری قرار گیرد. با توجه به روشهای متداول استخراج کیتین و کیتوزان، بویژه در ابعاد تجاری و صنعتی، استفاده از روش شیمیایی، روشی مناسب می باشد. با استفاده از مراحل پروتئین زدائی، حذف مواد معدنی، چربی زدائی و سپس استیل زدائی و دوز های به کار گرفته شده، بازده تولید کیتین از پوسته به میزان ۵۸٪، بازده تولید کیتوزان از کیتین حدود ۸۴٪ و بازده تولید کیتوزان از پوسته میگو ۴۸٪ بود که بازدهی مناسبی می باشد. در واقع از صد گرم پوسته بیرونی خشک شده میگوی پرورشی، ۴۸ گرم کیتوزان تولید شد. استفاده از پوشش کیتوزان با غلظت های ۰/۲ و ۰/۵ و کنترل خواص کیفی ظاهری نشان داد که با استفاده از پوشش کیتوزان با غلظت ۰/۵ می توان دوره نگهداری و ماندگاری میوه های انگور و توت فرنگی را بالا برده و قابلیت عرضه آن را در بازار مصرف در طول دوره بیشتری فراهم ساخت. ایجاد پوشش حفاظتی توسط این ماده علاوه بر ممانعت از افت کیفی انواع میوه ها سبب افزایش طول عمر نگهداری آنها در طول دوره انبارداری می شود.

### سپاسگزاری

از همه اساتید، همکاران و کارشناسان محترم که در انجام این پروژه همکاری مستمر و صمیمانه داشته اند، بویژه جناب آقای دکتر حامد باقری استادیار دانشکده علوم و فناوری بین رشته ای دانشگاه تربیت مدرس به دلیل فراهم نمودن امکان استفاده از آزمایشگاه پلیمر دانشکده مذکور، کمال تقدیر و سپاسگزاری به عمل می آید.

### فهرست منابع

- [1] Kaya M, Lelešius E, Nagrockait R, Sargin I, Arslan G, Mol A, Baran T, Can E, Bitim B, Differentiations of Chitin Content and Surface Morphologies of Chitins Extracted from Male and Female Grasshopper Species. PLoS ONE. (2015) 10: e0115531.
- [2] Crognale S, Russo C, Petruccioli M, D'Annibale A, Chitosan Production by Fungi: Current State of Knowledge, Future Opportunities and Constraints. Fermentation. (2022) 8: 76.

- [3] Yeul V.S, Rayalu S.S, Unprecedented Chitin and Chitosan: A Chemical Overview. J. Polym. Environ. (2012) 21: 606-614.
- [4] Abidin N.Z, Kormin F, Abidin N.Z, Anuar N.M, Abu Bakar M, The Potential of Insects as Alternative Sources of Chitin: An Overview on the Chemical Method of Extraction from Various Sources. Int. J. Mol. Sci. (2020) 21: 4978.
- [5] Ahmad S.I, Ahmad R, Khan M.S, Kant R, Shahid S, Gautam L, Hasan G.M, Chitin and its derivatives: Structural properties and biomedical applications. Int. J. Biol. Macromol. (2020) 164: 526-539.
- [6] Dhillon G.S, Kaur S, Brar S.K, Verma M, Green synthesis approach: Extraction of chitosan from fungus mycelia. Crit. Rev. Biotechnol. (2012) 33: 379-403.
- [7] Elsoud M.M.A, El Kady E.M, Current trends in fungal biosynthesis of chitin and chitosan. Bull. Natl. Res. Cent. (2019) 43: 59.
- [8] Pellis A, Guebitz G.M, Nyanhongo G.S, Chitosan: Sources, Processing and Modification Techniques. Gels. (2022) 8(7): 393.
- [9] Fallah Delavar M, Sedaghat N, A review on functional and antimicrobial properties of chitosan in food preservation. Packaging Science and Technology. 11(41): 16-25 (In Persian).
- [10] Salleh E, Muhamad I, Khairuddin N, Preparation characterization and antimicrobial analysis of antimicrobial starch-based film incorporated with chitosan and lauric acid, Asian Chitin J., (2007) 3: 55-68.
- [11] Benhabiles M.S, Salah R, Lounici H, Drouiche N, Goosen M.F.A, Nameri N, Antibacterial activity of chitin, chitosan and its Oligomers Prepared from shrimp shell waste. Food Hydrocolloids. (2012) 29: 48- 56.
- [12] Hardani S, Archangi B, Zolgharnein H, Zamani I, Optimizing the Extraction of Pure chitin and chitosan from chitinous shells of *Litopenaeus vannamei* and *Portunus pelagicus* Species. Animal Environment Journal. (2017) 10(2): 231-238.
- [13] Teimouri H, Rezaei M, Tabarsa M, Comparison Biological Properties of Chitosan, Extracted from Whiteleg Shrimp (*Litopenaeus vannamei*), Indian Squid (*Uroteuthis duvaucelii*) And Blue crab (*Portunus pelagicus*). Animal Environment Journal. (2020) 12(2): 329-338.
- [14] Wan Y, Creber K.A.M, Peppley B, Bui V.T, Ionic conductivity of chitosan membranes. Polymer. (2003) 44(4): 1057-1065.
- [15] Calvo P, Remu C, Lopez N, Vila-Jato J.L, Alonso M.J, Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. Journal of Applied Polymer Science. (1997) 63(1): 125-132.
- [16] Horst M.N, Walker A.N, Klar E, The pathway of crustacean chitin synthesis. In The Crustacean Integument: Morphology and Biochemistry; Horst, M.N., Freeman, J.A., Eds.; CRC: Boca Raton, FL, USA, (1993). 113-149.

## Extraction of chitosan from the *Penaeus vannamei* shrimp shell and investigation of its effects on quality preservation of the grape and strawberry fruits during storage

Anita Shahifar<sup>1\*</sup>, Zahra Ghasemi<sup>2</sup>, Reza Shahifar<sup>3</sup>

1- Department of Modern Technologies in Engineering, Faculty of Interdisciplinary Science and Technology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2-Department of Fisheries, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

3- Iran Fisheries Organization, Tehran, Iran

### ABSTRACT

Chitin is an important natural polysaccharide that is found in the cell wall of some organisms including crustaceans. The chitosan polymer, which is extracted from chitin, plays a very important role in the production of a wide range of materials used in food products. The present study aimed to extract chitin from the shell of the farmed shrimp *Penaeus vannamei* using the chemical method, through the steps of deproteinization, demineralization and deacetylation and using it as a natural coating with no negative effects, for protecting the covering of the fruits. To ensure the standard and determine the quality of the chitosan synthesized, FT-IR test was performed. Then, grape and strawberry fruits were covered by chitosan concentrations of zero (control sample), 0.2 and 0.5% as different treatments. During the two-month storage period at 0-4 degrees Celsius, and to control of the changes in the fruits, the appearance quality factors in grapes including fungal contamination, browning of the stem, browning of the fruit, the rate of grape berries drop, splitting and the breakage of berries, as well as the taste and aroma of the fruit, and in strawberry, the appearance quality factors including fungal contamination, leaf browning, fruit color change, fruit wrinkling and sliminess, as well as the taste and aroma of fruit, were controlled weekly. Based on the results, the efficiency of chitin production from the shell was 58%, chitosan production from chitin was 84% and therefore, the efficiency of chitosan production from the shell was 48%, which is a suitable rate. The control samples of both fruits lost their appearance and shriveled in the first week of the test, and spoiled after three weeks. However, in both grapes and strawberries coated with dissolved chitosan with a concentration of 0.5%, the best antibacterial coating was created for the fruits and their appearance quality was maintained during the storage period of two months. The protective covering by this coating inhibits the loss of fruit quality as well as increases the storage period.

**KEYWORDS:** Chitosan extraction, FT-IR, Fruit appearance quality, *Penaeus vannamei*

### ARTICLE TYPE

Original Research

### ARTICLE HISTORY

Received: 30 Jan 2024

Accepted: 29 Feb 2024

ePublished: 10 Mar 2024

\* Corresponding Author:

Email address: z.ghasemi@hormozgan.ac.ir

Tel: 0098 7633711035

© Published by Tarbiat Modares University

ISSN: 2322-5513