

استخراج و شناسایی ساختاری کیتین از فلس ماهی سفید (*Rutilus frisii Kutum*)

کتایون کریم زاده^{۱*} ، عسگر زحمتکش^۲

^۱ گروه بیولوژی دریا ، واحد لاهیجان ، دانشگاه آزاد اسلامی ، لاهیجان، ایران، صندوق پستی ۱۶۱۶

^۲ بخش شیلات، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران. صندوق پستی ۴۱۶۳۵-۳۳۹۴

چکیده

کیتین فراوان ترین پلی ساکارید طبیعی است که میزان تولید سالانه آن تقریباً برابر با سلولز ، برآورد می گردد. این ماده نه تنها به عنوان یک منبع صنعتی بلکه به عنوان یک ماده ی طبیعی با کاربری فراوان در حیطه های مختلف علوم کشاورزی و پزشکی مورد توجه بسیاری قرار گرفته است. در این مطالعه ابتدا کیتین از فلس ماهی سفید استخراج شده و سپس ساختار آن با روشهای شیمیایی از قبیل تجزیه عنصری، پراش اشعه ایکس، میکروسکوپ الکترونی و طیف سنج FT-IR مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین مقادیر عناصر موجود در کیتین مربوط به عناصر کلسیم و منیزیم با مقادیر ۲۷/۱۴ و ۵۰/۴۲ میلی گرم بر کیلوگرم بود و عناصر منگنز و مس کمترین مقادیر را نشان دادند. آنالیز پراش اشعه ایکس، ماهیت بلوری کیتین و طیف سنج FTIR، باندهای مربوط به کشیدگی و ارتعاش پیوندهای O-H، N-H، CO را در ساختار کیتین به خوبی نشان داد. خواص فیزیکی و شیمیایی کیتین استخراج شده نشان می دهد که می توان از آن به صورت تجاری در موارد مختلفی مانند مکمل ها و افزودنی ها غذایی، داروها و همچنین تصفیه آب استفاده نمود.

کلمات کلیدی: کیتین، ماهی سفید ، پراش اشعه ایکس، میکروسکوپ الکترونی پویشی (SEM) ، مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR)

*نویسنده مسئول: karimzadehkathy@yahoo.co.uk

مقدمه

کیتین، دومین پلی ساکارید فراوان در طبیعت پس از سلولز تلقی می گردد که یک پلیمر زیستی با ساختار شیمیایی مشابه با سلولز است و جزء اصلی اسکلت خارجی سخت پوستان و حشرات محسوب می شود (Rinaudo, 2006).

در حال حاضر در پسماندهای حاصل از فرآوری فرآورده های دریایی (پوسته خرچنگ، میگو و کریل و همچنین در فلس ماهی ها) در مقادیر بالایی این پلیمر وجود دارد. حدود ۱۰^{۱۱} تن کیتین سالانه تنها در اکوسیستم آبی تولید می گردد (Kumar et al., 2000; lodhi et al., 2014).

پسماندهای حاصل از تولید و فرآوری سخت پوستان و نیز ماهی ها (پوست، فلس و امعاء واحشاء) که در جهان تولید می گردد، معضلی جدی است که میزان آن در حال گسترش است. این پسماندها به دلیل فساد آسان، می توانند یک خطر زیست محیطی تلقی شوند (Sapkota et al., 2008). کاربرد این پسماند برای فرآورده های تجدیدپذیری چون پلیمرهای زیستی، فرصتی دو منظوره محسوب می گردد. بنابراین پسماندهای سخت پوستان و پوست و فلس ماهی ها به عنوان ماده ی مهمی برای تولید کیتین، تلقی می گردد. از کیتین استخراج شده می توان برای تولید فرآورده های استخراج شده از کیتین مانند کیتوسان، کیتو- الیگوساکاریدها و گلوکوزامین و همچنین برای تولید پلاستیک زیستی استفاده نمود (Mejia-Saules et al., 2006).

بخش اعظم پلی ساکاریدهای طبیعی به عنوان مثال سلولز، پکتین و اسید آلژینیک، دارای طبیعت خنثی یا اسیدی می باشند در حالیکه کیتین و کیتوسان نمونه هایی از پلی ساکاریدهای قلیایی محسوب می گردند. این پلیمر، غیرسمی، بی بو، دارای قابلیت سازگاری زیستی در بافت های جانوران و قابل تجزیه ی زیست توسط آنزیم ها شناخته می شود (Acosta et al., 1993; Kurita et al., 2006).

کیتین ماده ای منحصر به فرد برای کاربردهای متنوع است و به دلیل داشتن درصد نیتروژن بالا در مقایسه با سلولز استخلافی مصنوعی از اهمیت تجاری بالایی برخوردار است. کیتین در فرآورده های متنوعی که به بازار عرضه گردیده اند کاربرد یافته است. تولید صنعتی و کاربرد کیتین از دهه ۱۹۷۰ به طور پیوسته رو به افزایش بوده است. به عنوان مثال در ژاپن، تولید کیتوسان از کیتین به طور میانگین از سال ۱۹۷۸ تا ۱۹۸۳ هر ساله ۳۷ درصد افزایش یافته است. در طول این دوره زمانی، کاربردهای عمده ی کیتین تصفیه آب و پساب، فرآوری مواد غذایی و کمپلکس کنندگی یون فلزی متمرکز بوده است (Zang et al., 2000; Liu et al., 2012).

اگر چه روند حاضر در کاربردهای صنعتی به سوی تولید فرآورده های با ارزش تر مانند محصولات آرایشی، حامل های دارویی، مواد افزودنی خوراک، کشاورزی، غشاء های نیمه نفوذپذیر و داروهای گسترش یافته است (Laka and Chernyavskaya, 2006; Yen et al., 2009; Mohanasrinivasan et al., 2014).

کیتین در بسیاری زمینه ها از کاربری بسیار بالاتری در مقایسه با سلولز برخوردار می باشد. کیتین یک پلیمر زیستی است که دارای خواص منحصر به فردی بوده و در نتیجه به عنوان یک ترکیب زیست فعال مهم همواره مورد توجه محققین قرار گرفته است (Takeuchi et al., 2011; Kato et al., 2003). با توجه به تقاضای بالای مصرف ماهی سقید در منطقه شمال کشور و نیز تولید مقادیر زیادی فلس در زمان آماده سازی آن جداسازی و شناسایی کیتین از فلس این ماهی بجهت دستیابی به منبع طبیعی و مطمئن برای تولید کیتین می توند از اهمیت بالایی برخوردار باشد.

مواد و روش ها

فلس های ماهی سفید به عنوان ضایعات حاصل از فلس زنی در زمستان سال ۹۴ از بازار محلی رشت تهیه گردیدند. سپس جهت انجام مراحل بعدی آزمایش

گردیدند که در جدول ۱ نشان داده شده است. درصد خاکستر با استفاده از رابطه ی زیر تعیین گردید:

$$\% \text{ خاکستر} = \frac{100 \times \text{وزن باقیمانده (g)}}{\text{وزن نمونه (g)}}$$

محتوای رطوبت به طریق روش وزن سنجی تعیین گردید. حجم آب از طریق خشک کردن نمونه تا وزن ثابت و وزن کردن نمونه قبل و بعد از خشک کردن، تعیین شد. حجم آب (یا وزن آن) عبارت بود از اختلاف بین وزن نمونه های تر و نمونه های خشک شده در اوون، سپس محتوای رطوبت با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (Huthman et al., 2013)

$$\text{درصد محتوای رطوبت} = \frac{100 \times (g) \text{ وزن خشک} - \text{وزن تر (g)}}{\text{وزن تر (g)}}$$

تجزیه عنصری و تقریبی

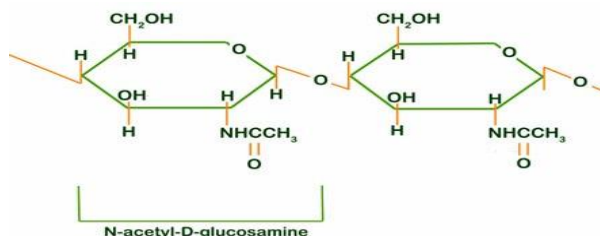
جهت بدست آوردن تجزیه عنصری کیتین ، مقادیر عناصر منیزیم، منگنز، آهن، کروم، کادمیم، روی و مس با استفاده از دستگاه جذب اتمی تعیین گردیدند (Zaku et al., 2011). نمونه کیتین توسط اسید هیدروکلریک و اسید نیتریک (به ترتیب با مقادیر ۳۰ و ۱۰ میلی لیتر به ازای هر گرم نمونه) در یک ظرف در بسته در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد هضم گردیده و سپس مقادیر عناصر مورد نظر از طریق جذب اتمی شعله با حد تشخیص ۰/۰۰۱ ppm تعیین گردیدند.

مقدار نیتروژن نمونه به روش میکرو کجیال تعیین گردید که برطبق روش Pearson (1976) انجام شد. طیف های IR کیتین خام استخراج شده با استفاده از دستگاه طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه FTIR مدل اندازه گیری شد. نمونه ها، با استفاده از نمک KBr به نسبت ۱:۱۰۰ آماده سازی گردیدند (Kumirska et al., 2010).

اندازه گیری های پراش اشعه ایکس (XRD) فلسها و کیتین خام استخراج شده از آن بر روی یک پراش سنج قدرت XPERT-PRO با تابش CuK α انجام

به آزمایشگاه بیوشیمی در دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان منتقل شدند. در زمان آزمایش ابتدا فلسها شسته شدند و به مدت سه روز در آفتاب خشک گردیدند. سپس با یک دستگاه آسیاب به پودر ریزی، تبدیل گردیدند. فلس های آسیاب شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای حدود ۳۰ درجه سانتیگراد در اسید کلریدریک ۱ مولار جهت پاکسازی از بقایای مواد آلی نگهداری شدند. در مرحله بعدی چندین بار با آب دیونیزه شستشو داده شدند و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای حدود ۹۵ درجه سانتیگراد در سود NaOH ۰/۵ درصد (۱:۱ W/v) پروتئین زدایی گردیدند (Sagheer et al., 2009).

پس از پروتئین زدایی، نمونه چندین بار با آب دیونیزه شستشو داده شد و سپس به مدت ۴ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد خشک گردید. سپس توسط آسیاب، پودر گردید. مقدار کیتین بدست آمده در این مرحله از طریق وزن کیتین تولید شده به وزن ماده خشک اولیه محاسبه گردید. شکل ۱ ساختار شیمیایی کیتین را نشان می دهد.



شکل ۱: ساختار شیمیایی کیتین (Sagheer et al., 2009)

محتوای خاکستر کیتین از طریق قرار دادن ۱ گرم کیتین در داخل بوتله ای که از قبل وزن شده بود، تعیین گردید (Mohanasrinivasan et al., 2014). نمونه کیتین در یک کوره در دمای ۶۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲ ساعت حرارت داده شدند. به بوتله ی آزمایش اجازه داده شد در دسیکاتور به مدت ۳۰ دقیقه، خنک شود. بوتله ی آزمایش و خاکستر، وزن

نمونه، دارای ۱/۴۶ درصد خاکستری بود که مقدار نسبتاً بالایی را نشان می دهد. محتوای نیتروژن معادل ۴/۱۰ درصد بدست آمد. مقادیر بدست آمده برای رطوبت، خاکستر و نیتروژن با مقادیر گزارش شده در فلس ماهی کپور (Zaku et al., 2011) و ماهی *Labeo rohita* (Kumari and Kumar, 2014) مطابقت دارد.

جدول ۱: مقادیر رطوبت، خاکستر و نیتروژن در نمونه کیتین استخراج شده از فلس ماهی سفید

پارامتر	مقدار بر حسب درصد
رطوبت	۲/۱۴ ± ۱/۲
خاکستر	۱/۴۶ ± ۰/۲
نیتروژن	۴/۱۰ ± ۰/۰۳

اعداد بر حسب میانگین سه تکرار بیان شده است (انحراف معیار ± میانگین)

مقادیر تجزیه عنصری کیتین بدست آمده در جدول ۲ نشان داده شده است. مقادیر منیزیم و کلسیم به ترتیب بالاترین مقدار ۵۰/۴۲ و ۲۷/۱۴ میلی گرم بر کیلوگرم در بین سایر عناصر نشان دادند. عنصر روی نیز دارای مقدار نسبتاً بالایی بود (۲۱/۰۸ میلی گرم بر کیلوگرم). در حالیکه برای منگنز و مس مقادیر جزئی (بترتیب ۱/۱۲ و ۰/۰۲ میلی گرم بر کیلوگرم) مشاهده گردید. کادمیم و کروم در نمونه مورد مطالعه شناسایی نشدند.

در مطالعه ای که بر روی استخراج کیتین و کیتوسان از فلس ماهی روهو *Labao rohita* انجام شده بود کلسیم و منیزیم بیشترین مقدار را در بین سایر عناصر نشان دادند (Kumari and Kumar, 2014)، که این نتایج برای فلس ماهی کپور نیز گزارش شده است (Zaku et al., 2011).

گرفت. ولتاژ بر روی ۴۰ kV تنظیم گردید و شدت جریان بر روی ۳۰ میلی آمپر با طول موج ۱/۵۴۰۶۰ نانومتر تنظیم گردید. الگوهای پراش XRD، طی ۱۱ دقیقه در دامنه دمایی ۱۰ تا ۶۰ درجه با سرعت اسکن ۰/۰۸۳۵ درجه در ثانیه به دست آمد و اندازه ی گام، ۰/۰۰۲۱ درجه بود (Kumirska et al., 2010). ریخت شناسی کیتین استخراج شده، با استفاده از میکروسکوپی الکترونی پویشی SEM مشاهده گردید. قبل از آزمایش، نمونه ها بر روی پایه های SEM با استفاده از نوار چسب های دو رو نصب گردید و سپس تحت خلاء قرار داده شد (بدون پوشش با پلاتین یا طلا) تا نمونه رسنا گردد. ریز تصاویر الکترون پویشی در بزرگ نمایی های مختلف تهیه گردید تا از دستیابی به تصاویر شفاف اطمینان حاصل گردد.

آنالیز آماری

جهت آنالیز داده ها از برنامه SPSS ویرایش ۱۹ استفاده گردید. در ابتدا نرمال بودن داده ها با آزمون (گلموگروف - اسمیرنوف) تست گردید بدلیل نرمال بودن توزیع داده ها، از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) برای مقایسه میانگین مقادیر تجزیه عنصری استفاده شد. جهت جداسازی گروه های همگن از نرم افزار Excel 2010 برای پردازش داده ها و رسم نمودارها استفاده گردید.

نتایج و بحث

مقدار کیتین بدست آمده از فلس ماهی سفید حدود ۱۰/۲۵ درصد وزن خشک اولیه را تشکیل داد. نتایج مشابهی در استخراج کیتین از فلس سایر ماهیان بدست آمد چنانکه مقادیر کیتین بدست آمده از فلس ماهی کپور حدود ۱۰ تا ۱۲ درصد و فلس ماهی *rohit* (Zaku et al., 2011) ۱۱/۷ درصد وزن خشک گزارش شده است.

میانگین مقدار رطوبت نمونه کیتین برابر با ۲/۱۴ درصد بود که در جدول ۱ نشان داده شده است. این

جدول ۲- تجزیه عنصری نمونه کیتین استخراج شده از فلس ماهی سفید

کلسیم	منیزیم	منگنز	مس	روی	کادمیم	کروم	کلسیم
مقدار (mg/kg)	۲۷/۱۴± ۱/۱۲ ^b	۵۰/۴۲± ۰/۱۱ ^a	۱/۱۲± ۰/۰۱ ^c	۰/۰۲± ۰/۰۱ ^c	۲۱/۰۸± ۰/۰۶ ^b	*	*

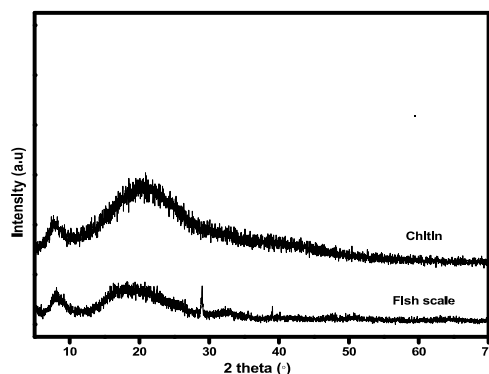
اعداد بر حسب میانگین سه تکرار بیان شده است (انحراف معیار ± میانگین)، حروف ناهمنام نماینده تفاوت میانگین در هر یماهای می باشد.

زیستی کیتین با کیفیتی به دست آمده است. بررسی تفصیلی طیف آشکار می سازد که طیف ها دارای نوارهای مشخصه ای برای کیتین می باشند. همچنین مشاهده گردید که طیف ها دارای نوری واقع در ۳۴۲۶/۶۶ نانومتر بودند که نشان دهنده ی ارتعاش گسترشی O - H آلیفاتیک است که در طیف کیتین مشهودتر است. پیک جذب در ۱۵۸/۵۸ / ۲۹۶۷ نانومتر از طریق ارتعاش C - H مربوط به CH₂ - است. نوار جذب در ۱۶۵۴/۹۸ نانومتر نشان دهنده ی ارتعاش کششی گروه کربونیل C = O از استامید است. سایر جذب های مشخصه ی کیتین در ۱۵۳۵/۳۹ و ۱۴۵۶/۳۰ نانومتر است که به ترتیب نشان دهنده ی ارتعاش خمشی NH - و ارتعاش کششی CN - از گروه استامین است. پیک جذب در ۱۰۴۸/۳۵ ارتعاش کششی برای C - O - C - حلقه ی گلوکز آمین است. در حالیکه پیک در ۸۷۸/۶۰ نانومتر حلقه ای است که در یک نوار مشخصه برای پیوندهای گلیکوزیدی (بتا ۴-۱) گسترش می یابد (Lima et al., 2004; Mahmoud et al., 2007)

طیف FTIR کیتین مشابه با سایر مطالعات پیشین انجام شده مرتبط با استخراج کیتین از فلس ماهی و پوست ماهیان می باشد (Jolanta et al., 2010; Kumari and Kumar , 2014)

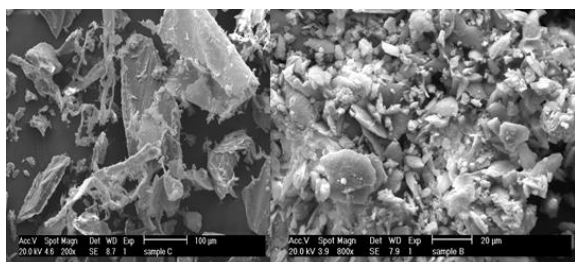
الگوی پراش اشعه ایکس (XRD) فلس و کیتین در شکل ۲ آورده شده است. پنج انعکاس بلورین در دامنه ی ۲^θ (تا) زاویه ۱۰ تا ۶۰ درجه مشاهده گردید.

کیتین استخراجی هم دارای موضع های بلورین و هم بی نظم در ساختار خود بود که الگوی بدست آمده با الگوی پراش اشعه ایکس برای کیتین استاندارد مطابقت دارد (Liu et al., 2012). دو قله قوی در ۹ و ۱۹ درجه، و قله ضعیف در ۱۲، ۲۱، ۲۳، و ۲۶ درجه در طیف مشاهده شد (Yen et al., 2009; Sajomsang and Gonil, 2010; Liu et al., 2012). حضور این پیک ها در سایر مطالعات انجام شده بر روی آلفا کیتین استخراجی از سایر گونه ها صورت گرفته است (Kumari et al., 2014)

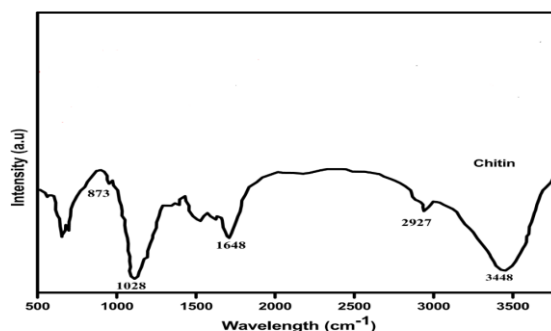


شکل ۲: الگوی پراش اشعه ایکس نمونه فلس ماهی سفید و کیتین (Rutilus frisi kutum) عدم قطعیت اندازه گیری در فاصله اطمینان ۹۵ درصد و k=2 محاسبه شده است

الگوهای جذب طیف، FTIR کیتین استخراجی مشابه با الگوهای جذبی است که برای کیتین استاندارد گزارش شده است (شکل ۳ الف و ب) و نشان می دهد که پلیمرهای



شکل ۴: تصویر میکروسکوپ الکترونی رویشی (SEM) ساختار کیتین استخراجی

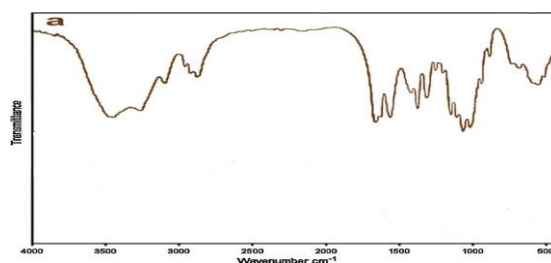


شکل ۳: الف) طیف FTIR کیتین استخراجی از فلس ماهی سفید در محدوده ۴۰۰-۴۰۰۰ نانومتر

توصیه ترویجی

با توجه به نتایج FTIR و پراش اشعه ایکس کیتین بدست آمده دارای ساختار α -کیتین می باشد. ساختار متخلخل آن از اندازه ای حدود ۱۵۰ نانومتر برخوردار است.

لذا مطالعات ساختاری کیتین استخراجی از فلس ماهی سفید نشان داد که این ماده میتواند در مواد تشکیل دهنده پانسمان زخم، نانو کامپوزیت ها، انتقال دارو و سایر کاربردها پس از کارآزمایی بالینی، جایگزین مناسبی برای کیتین استاندارد باشد



شکل ۳: ب) طیف FTIR کیتین استاندارد (سیگما) محدوده ۴۰۰-۴۰۰۰ نانومتر

منابع:

- Abdou, E.S., Nagy, K.S.A. and Elsabee, M.Z., 2008. Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. *Bioresource Technology*, 99:1359-67.
- Acosta, N., Jiménez, C., Borau, V. and Heras, A., 1993. Extraction and characterization of chitin from crustaceans. *Biomass Bioenergy*, 5: 145-53.
- Huthman, A.S., Buhari, F., Olagunju, J., Odawn, A. and Huthman, O.I., 2013. Chemical analysis and characterization of shrimp chitosan in shrimp shell waste from lagos lagoon, Nizeria. *International Journal of Chemical Pharmacology Research*, 2:377-85.
- Jolanta, K., Małgorzata, C., Zbigniew, K., Anna, B., Krzysztof, B., Jorg, T. and Piotr, S., 2010. Application of spectroscopic

تجزیه و تحلیل میکروسکوپ الکترونی پوشی

ریخت شناسی نمونه های کیتین با استفاده از یک میکروسکوپ الکترونی پوشی مطالعه گردید. تصاویر SEM با بزرگ نمایی های مختلف و مساحت های مختلف نمونه کیتین در شکل ۴ ارائه شده است. مشاهده گردید که پلیمر زیستی دارای ساختارهای متخلخل و رشته ای است. با توجه به ساختار میکروسکوپ الکترونی رویشی ساختار کیتین استخراج شده از فلس ماهی سفید در زوم های پایین، به صورت صاف و در زوم های بالا (با بزرگ نمایی بیشتر) فیبری شکل می باشد. اندازه منافذ کیتین استخراجی ۱۵۰ نانومتر و عرض فیبریلها در محدوده ۱۵ تا ۵۵ نانومتر مشاهده شد.

چنین ساختاری در کیتین استخراج شده از سایر سخت پوستان نیز مشاهده شده است (Abdou et al., 2010).

- BioMedecine Research International, 2014:13-18.
- Mahmoud, N.S., Ghaly, A.E. and Arab, F., 2007. Unconventional approach for demineralization of deproteinized crustacean shells for chitin production. American Journal of Biochemistry and Biotechnology, 3(1): 1-8.
- Mejia-Saules, J.M., Waliszewski, K.N., Garcia, M.A and Cruz-Camarillo, R., 2006. The use of crude shrimp shell powder for chitinase production by *Serratia marcescens*. Food Technology Biotechnology, 44(7): 646-651.
- Mohanasrinivasan, V., Mishra, M., Paliwal, J., Singh, S., Selvarajan, E. and Suganthi, V., 2014. Studies on heavy metal removal efficiency and antibacterial activity of chitosan prepared from shrimp shell waste. Biotechnology, 4: 167-75.
- Pearson, D., 1976. Chemical Analysis of Foods. 7th Ed. Livingstone, London: Churchill, pp. 7-12.
- Rinaudo, M., 2006. Chitin and chitosan: properties and applications. Progressive in Polymer Sciences, 31:603-32.
- Sagheer, F.A.A., Al-Sughayer, M.A., Muslim, S. and Elsabee, M.Z., 2009. Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf. Carbohydrate Polymer, 77:410-9.
- Sapkota, A., Sapkota, A.R., Kucharski, M., Burke, J., McKenzie, S. and Walker, P., 2008. Aquaculture practices and potential human health risks: current knowledge and future priorities. Environment International, 34: 1215-26.
- Takeuchi, H., Yamamoto, H. and Kawashima, Y., 2001. Mucoadhesive nanoparticulate systems for peptide drug delivery. Advances in Drug Delivery Review, 47(1): 39-54.
- methods for structural analysis of chitin and chitosan. Marine Drugs, 8:1567-636.
- Kato, Y., Onishi, H. and Machida, Y., 2003. Application of chitin and chitosan derivatives in the pharmaceutical field. Current Pharma Biotechnology, 4(5): 302-400.
- Kumar, M.N.V.R., 2000. A review of chitin and chitosan applications", Reactive Funct. Polymers. 46: 1-28.
- Kumari, S. and Kumar, P. 2014. Extraction and Characterization of Chitin and Chitosan from (*Labeo rohita*) Fish Scales. Procedia Materials Science 6 : 482 – 489.
- Kumirska, J., Czerwicka, M., Kaczyński, Z., Bychowska, A., Brzozowski, K., Thöming, J. and Stepnowski, P., 2010. Application of Spectroscopic Methods for Structural Analysis of Chitin and Chitosan. Marine Drugs, 8: 1567-1636.
- Kurita, K., 2006. Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans. Marine Biotechnology, 8:203-26.
- Laka, M. and Chernyavskaya, S., 2006. Preparation of chitosan powder and investigation of its properties. Proceeding of East Academic Science Chemistry, 55:78-84.
- Lima, I.S. and Airoldi, C. A., 2004. Thermodynamic investigation on chitosan-divalent cation interactions. Thermochimica Acta, 421:133-9.
- Liu, S., Sun, J., Yu, L., Zhang, C., Bi, J. and Zhu, F., 2012. Extraction and characterization of chitin from the beetle *holotrichia parallela motschulsky*. Molecules, 17: 4604-11.
- Lodhi, G., Kim, Y.S., Hwang, J.W., Kim, S.K., Jeon, Y.J. and Je, J. Y., 2014. Chitoooligosaccharide and its derivatives: preparation and biological applications.

- common carp fish (*Cyprinus carpio*): a lesser known source. African Journal of Food Science, 5: 478–83.
- Zhang, Y., Xue, C., Xue, Y., Gao, R. and Zhang X., 2005. Determination of the degree of deacetylation of chitin and chitosan by X-ray powder diffraction, Carbohydrate Research, 340: 1914-1917.
- Yen, M.T., Yang, J.H. and Mau, J.L., 2009. Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells. Carbohydrate Polymer, 75: 15–21.
- Zaku, S.G., Emmanuel, S.A., Aguzue, O.C. and Thomas S.A., 2011. Extraction and characterization of chitin; a functional biopolymer obtained from scales of

Extraction and structural characteristics of Chitin from fish (*Rutilus frisii Kutum*) scales

katayoon karimzadeh ^{1*}; asgar zahmatkesh ²

¹Department of Marine Biology, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran

² Aquaculture Department, Gilan Agricultural and Natural Resources Research Center, AREEO, Rasht, Iran.

Abstract

Chitin is the most abundant natural polysaccharide, with an annual production of approximately equal to cellulose. This polymer is not only regarded as an industrial but as a natural compound with many application in various fields of agricultural and medical sciences. In this study, chitin was first extracted from fish (*Rutilus frisii Kutum*) scales and then its structure was characterised by chemical methods such as elemental decomposition, X-ray diffraction, scanning electron microscope, and FT-IR analysis. The highest amounts of the elements contained in chitin were related to calcium and magnesium with values of 27.14 and 50.42 mg / kg respectively., and the lowest amounts were recorded in Manganese and Copper. The X-ray diffraction, revealed the crystalline nature of chitin and the FTIR spectra showed the elongation and vibration bands of the O-H, N-H, CO-bonds in the chitin structure. The physical and chemical properties of the extracted chitin show that it can be used commercially in various ways such as dietary supplements, additives, drugs, and water purification.

Keywords: Chitin *Rutilus frisii kutum*, X-ray diffraction, Scanning electron microscopy (SEM), FTIR

* Corresponding author: karimzadehkathy@yahoo.co.uk