



University of Tehran

Optimization of chitosan extracted from spiny rock lobster (*Panulirus homarus*) using response surface method

Anali Riahi¹ | Elahe Tajbakhsh^{2*} | Hadideh Mabudi³ |
Laleh Roomiani⁴ | Hasan Momtaz⁵

1. Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran. Email: anali.riahi@gmail.com
2. Corresponding author, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran. Email: ee_tajbakhsh@yahoo.com
3. Department of Fisheries, Ahv, C., Islamic Azad University, Ahvaz, Iran. Email: mikhak1311@yahoo.com
4. Department of Fisheries, Ahv, C., Islamic Azad University, Ahvaz, Iran. Email: laleh.roomiani@iau.ac.ir
5. Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran. Email: hamomtaz@iaushk.ac.ir

ARTICLE INFO

Article type:
Research Article

Article History:
Received: 18 June 2024
Revised: 13 October 2024
Accepted: 12 January 2025
Published online: 08 July 2025

Keywords:
Chitosan,
Deacetylation degree,
Optimization,
Panulirus homarus.

ABSTRACT

Chitosan, the deacetylation product of chitin, is a natural cationic linear polysaccharide that has been recognized as one of the most promising renewable biopolymers due to its non-toxic, biodegradable, and biocompatible properties. Since chitosan extraction methods are difficult, time-consuming, and sometimes have low yields, it is necessary to optimize and determine the parameters of the extraction process to achieve the best yield. This research used the response surface method (RSM) optimization technique to achieve the highest deacetylation efficiency for extracted chitosan and reduce costs from spiny lobster waste materials. The experimental design was completely randomized in 3 levels (+1, 0, -1) with 5 independent variables as input including: HCl concentration, NaOH concentration, deacetylation time, deacetylation temperature, and demineralization time to determine the best combination of effective variables in chitosan extraction process. The results showed that the highest degree of deacetylation of lobster chitosan happens with 5.13 M HCl concentration, 11.58 h demineralization time, 0.52 NaOH, 2.99 h deacetylation time, and 74.13 °C deacetylation temperature. Comparing the values obtained in this experiments with the values predicted by the software had logical relationships that showing the appropriateness of the used model.

Cite this article: Riahi, A., Tajbakhsh, E., Mabudi, H., Roomiani, L., Momtaz, H. (2025). Optimization of chitosan extracted from spiny rock lobster (*Panulirus homarus*) using response surface method. *Journal of Fisheries*, 78 (2), 123-134. DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2025.378188.1432>



© The Author(s) **Publisher:** University of Tehran Press.
DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2025.378188.1432>



دانشگاه تهران

شیلات، مجله منابع طبیعی ایران

سایت نشریه: <https://jfisheries.ut.ac.ir>

شاپا الکترونیکی: ۷۸۰۹-۲۴۲۳

بهینه‌سازی استخراج کیتوزان از ضایعات لابستر صخره‌ای خاردار (*Panulirus homarus*) با استفاده از روش سطح پاسخ

آنالی ریاحی^۱ | الهه تاجبخش^{۱*} | حدیده معبودی^۲ | لاله رومیانی^۲ | حسن ممتاز^۱

۱. گروه میکروبیولوژی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران. رایانامه: anali.riahi@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، گروه میکروبیولوژی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران. رایانامه: ee_tajbakhsh@yahoo.com

۳. گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران. رایانامه: mikhak1311@yahoo.com

۴. گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران. رایانامه: lahleh.roomiani@iau.ac.ir

۵. گروه میکروبیولوژی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران. رایانامه: hamomtaz@iaushk.ac.ir

اطلاعات مقاله

چکیده

نوع مقاله:

پژوهشی

تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۲۹

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۷/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۲۳

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۴/۱۷

کلیدواژه:

بهینه‌سازی،

درجه استیل‌زدایی،

کیتوزان،

لابستر صخره‌ای خاردار.

کیتوزان، محصول استیل‌زدایی کیتین، یک پلی‌ساکارید خطی کاتیونی است که به دلیل خواص غیرسمی، زیست‌تخریب‌پذیر و زیست‌سازگار به عنوان یکی از امیدوارکننده‌ترین بیوپلیمرهای طبیعی شناخته شده است. از آنجا که روش‌های استخراج کیتوزان دشوار، زمان‌بر و گاهی اوقات بازده پایینی دارند، بهینه‌سازی و تعیین شاخص‌های فرآیند استخراج برای رسیدن به بهترین بازده امری ضروری است. هدف از انجام این تحقیق، استفاده از روش بهینه‌سازی سطح پاسخ برای رسیدن به بیشترین بازده درجه استیل‌زدایی برای کیتوزان استخراج‌شده از ضایعات پوست لابستر صخره‌ای خاردار بود. این طرح به صورت کاملاً تصادفی در ۳ سطح (+۱، ۰، -۱) با ۵ متغیر مستقل به عنوان ورودی شامل: میزان غلظت اسیدکلریدریک (۱/۵، ۴/۵ و ۷/۵ درصد حجم/حجم)، میزان غلظت هیدروکسیدسدیم (۰/۵، ۱/۵ و ۲/۵ مولار)، زمان استیل‌زدایی (۱، ۲، ۳ ساعت)، دمای استیل‌زدایی (۴۰، ۶۰، ۸۰ درجه سانتی‌گراد) و زمان دمنرالیزاسیون (۱، ۱۰/۵ و ۲۰ ساعت) برای تعیین بهترین ترکیب متغیرهای مؤثر در فرآیند استخراج کیتوزان انجام شد. نتایج نشان داد که بیشترین میزان درصد درجه استیل‌زدایی کیتوزان لابستر با غلظت ۴/۸۸ درصد حجم/حجم، ۱۴/۰۹ ساعت زمان دمنرالیزاسیون، غلظت ۱/۴۷ مولار هیدروکسیدسدیم، زمان استیل‌زدایی ۲/۸۵ ساعت و دمای استیل‌زدایی ۷۹/۸۳ درجه سانتی‌گراد حاصل شد. مقادیر به دست آمده با مقادیر پیش‌بینی شده توسط نرم‌افزار دارای روابط منطقی بود و نشان‌دهنده تناسب مدل بکار رفته است.

استناد: ریاحی؛ آنالی، تاجبخش؛ الهه، معبودی؛ حدیده، رومیانی؛ لاله، ممتاز؛ حسن (۱۴۰۴). بهینه‌سازی استخراج کیتوزان از ضایعات لابستر صخره‌ای خاردار (*Panulirus homarus*)

با استفاده از روش سطح پاسخ. نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، ۷۸ (۲)، ۱۳۴-۱۲۳. DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2025.378188.1432>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2025.378188.1432>



۱. مقدمه

براساس آمار فائو در سال ۲۰۲۲، تولید جهانی سخت‌پوستان از ۹/۸ میلیارد تن در سال فراتر رفته است که حدود ۶۹/۸۱ میلیارد دلار ارزش تجاری آن است. در بین سخت‌پوستان، پرورش میگو در رتبه اول و پس از آن لابستر و خرچنگ قرار دارند (Zhang et al., 2023). با توجه به تولید حدود ۶ تا ۸ میلیون تن ضایعات سخت‌پوستان در سراسر جهان، استخراج ترکیبات زیست‌فعال از آنها مورد توجه قرار گرفته است. پوسته سخت‌پوستان حاوی یک جزء معدنی که بیشتر کربنات کلسیم است و یک جزء پروتئینی و کیتین است (Mathew et al., 2020). رشد اجتناب‌ناپذیر جمعیت جهان، همراه با تقاضای فزاینده مصرف‌کنندگان، منجر به افزایش چشمگیر ضایعات جهانی سخت‌پوستان عمدتاً سفالوتوراکس و پوسته در دهه‌های آینده خواهد شد که ۵۰ تا ۷۰ درصد از وزن اولیه را تشکیل می‌دهند. فرآوری لابستر در سطح جهان بیش از ۵۰۰۰۰ تن محصول جانبی تولید می‌کند، که بسته به گونه، منطقه و روش‌های فرآوری متفاوت است که هزینه‌های دفع آن سالانه ۷/۵ میلیون دلار تخمین زده می‌شود (Nguyen et al., 2017). اثرات زیست‌محیطی زباله‌های ناشی از فرآوری سخت‌پوستان در صنایع غذایی و شایلاتی چالشی برای بهره‌برداری و پایداری غذاهای دریایی است. بنابراین، تبدیل مواد زائد به محصولات قابل استفاده در اولویت باید قرار گیرد. از این نظر، استخراج کیتوزان از ضایعات سخت‌پوستان ممکن است راهی کارآمد برای مقابله با مسائل زیست‌محیطی (Kavisri et al., 2023) و به‌دست آوردن یک ماده مفید با کاربردهای متعدد باشد (Moazzeni Jola and Roomiani, 2017).

افزایش استفاده از پلیمرهای مصنوعی در زندگی روزمره منجر به انتشار ناخواسته مواد شیمیایی سمی مختلف در محیط شده است. محققان بر استفاده از رویکردهای سبز شیمی برای طراحی، توسعه، تولید و پیشرفت بیوپلیمرها و بیومواد تأکید کرده‌اند. با مصرف بی‌وقفه و افزایش تقاضا برای تولید بیوپلیمرها، انتظار می‌رود بازار جهانی پلیمرهای زیستی تا سال ۲۰۲۵ به حدود ۵/۱ میلیارد دلار با نرخ رشد سالانه ۱۵/۷۰ درصد برسد (Junceda-Mena et al., 2023). خصوصیات اصلی کیتوزان تجاری، درجه استیل‌زدایی و میانگین جرم مولی آن است که به‌ترتیب از ۷۰ تا ۹۵ درصد و از ۱۰۴ تا ۱۰۶ دالتون متغیر است. میزان گروه‌های N-استیل و گروه‌های آمین موجود در ساختار کیتوزان در خواص آن اهمیت بسیار زیادی دارند. مقادیر مختلف درجه استیل‌زدایی نمونه‌های کیتوزان به‌دست آمده، می‌تواند بر عملکرد کیتوزان و ویژگی‌های عملکردی آن تأثیر بگذارد. بسته به درجه استیل‌زدایی، کیتوزان را می‌توان به‌عنوان کیتوزان با درجه استیل‌زدایی بالا ۹۰-۷۰ یا استیل‌زدایی کم کیتوزان ۷۰-۵۵ درصد طبقه‌بندی کرد (Tsegay et al., 2024). روش سطح پاسخ (RSM)^۱ یکی از طرح‌های بهینه‌سازی است که برای تعیین رابطه بین متغیر پاسخ و متغیرهای مستقل فرآیند استفاده می‌شود، در نتیجه اثرات هم‌افزایی و متضاد متغیرهای مستقل بر پاسخ را آشکار می‌کند. بهینه‌سازی شامل انتخاب بهترین اقدام در شرایط معین و یا بهترین جایگزین در میان جایگزین‌های موجود است (Chang et al., 2024). مطالعات بسیار نادری در مورد استخراج کیتوزان از لابستر وجود دارد و بیشتر تحقیقات موجود بر میگو انجام شده است. از جمله مطالعات در این زمینه می‌توان به بررسی Bello و Olafadehan (۲۰۲۱) اشاره کرد که با استفاده از شبکه عصبی مصنوعی و آنالیز سطح پاسخ، توانستند کیتوزان را از ضایعات حلزون بزرگ (*Archachatina marginata*) استخراج کنند و در مطالعه جدیدتر با استفاده از RSM از لابستر آمریکایی^۲ استخراج شیمیایی کیتین صورت گرفت (Kozma et al., 2024). همچنین در مطالعه‌ای بهینه‌سازی استخراج کیتوزان با اهمیت عامل درجه استیل‌زدایی و وزن مولی آن از ضایعات میگو با استفاده از روش RSM انجام شد (Dinculescu et al., 2024). با توجه به مطالب ارائه شده، هدف از این مطالعه استخراج کیتوزان از ضایعات لابستر صخره‌ای خاردار (*P. homarus*) و بهینه‌سازی متغیرهای فرآیند استخراج با روش سطح پاسخ بود تا به کمک آن بتوان به بهترین بازدهی از نظر درجه استیل‌زدایی کیتوزان دست یافت.

۲. روش‌شناسی پژوهش

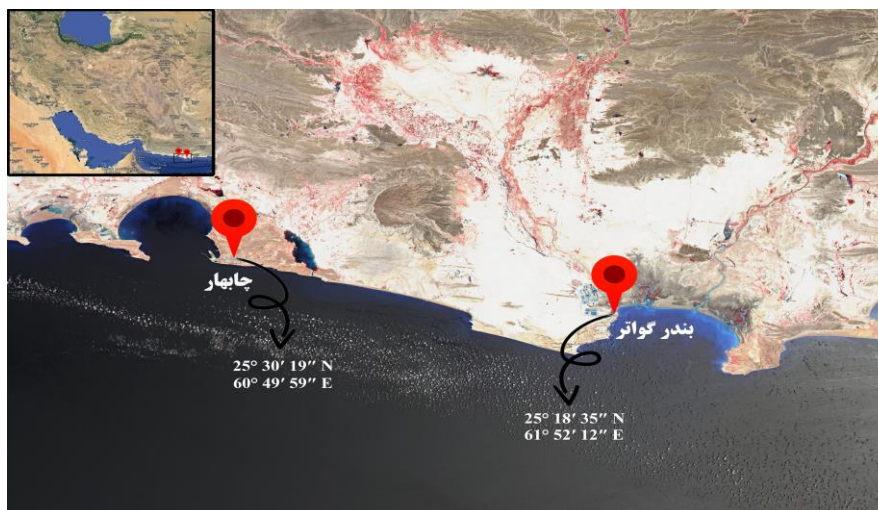
۲-۱. جمع‌آوری نمونه

نمونه‌های لابستر صخره‌ای خاردار (*P. homarus*) از منطقه چابهار با مشخصات جغرافیایی: طول ۶۰°۴۹′۵۹″ و عرض ۲۵°۳۰′۱۹″

^۱ Response Surface Methodology

^۲ *Homarus americanus*

تا بندر گواتر با مشخصات جغرافیایی $۶۱^{\circ}۵۲'۱۲''$ و $۲۵^{\circ}۱۸'۳۵''$ جمع‌آوری شدند. ۸ قطعه لایستر درون یونولیت‌های پر از یخ با نسبت ۱:۴ به آزمایشگاه ارسال شدند. نمونه‌ها چندین بار با آب مقطر شسته و در نهایت خشک شدند. سپس اسکلت بیرونی لایسترها از عضله جدا گردید. نمونه‌های اسکلت خارجی لایستر بدون عضله، درون آون به مدت ۳ ساعت در دمای ۶۰° درجه سانتی‌گراد خشک و سپس پودر شدند.



شکل ۱- نقشه منطقه مورد مطالعه و جمع‌آوری لایستر صخره‌ای خاردار

۲-۲. استخراج کیتوزان

استخراج کیتوزان شامل ۴ مرحله اصلی است. پس از انجام ۳ مرحله اول شامل خارج شدن موادمعدنی^۱، پروتئین‌زدایی^۲ و رنگ‌زدایی^۳، کیتین به دست می‌آید. مرحله چهارم شامل فرآیند استیل‌زدایی^۴ است که منجر به تولید کیتوزان می‌شود. خارج کردن مواد معدنی پودر ضایعات لایستر با استفاده از محلول ۱/۵، ۴/۵ و ۷/۵ درصد (حجمی) اسیدکلریدریک (جدول ۱) به نسبت ۱:۱۳ جامد:حلال در دمای اتاق انجام شد. مخلوط به مدت ۱، ۱۰/۵ و ۲۰ دقیقه (جدول ۱) به طور مداوم هم‌زده شد. سپس پودر به دست آمده با شستشوی متوالی با آب مقطر تا رسیدن pH به ۶/۵ آماده گردید. نمونه‌های مرطوب در کوره با دمای ۱۰۳° درجه سانتی‌گراد خشک و وزن شدند (Boudouaia et al., 2019).

میزان درصد درجه استیل‌زدایی کیتوزان استخراج شده از ضایعات پوست لایستر به عنوان پاسخ در نرم‌افزار طراحی آزمایش وارد و پس از بررسی معنی‌دار بودن داده‌ها، چگونگی تغییر ۵ شاخص غلظت اسیدکلریدریک در سطوح ۱/۵، ۴/۵ و ۷/۵ درصد، زمان دیمینرالیزاسیون ۱، ۱۰/۵ و ۲۰ ساعت، غلظت هیدروکسید سدیم ۰/۵، ۱/۵ و ۲/۵، دمای استیل‌زدایی ۴۰، ۶۰ و ۸۰° درجه سانتی‌گراد و زمان استیل‌زدایی ۱، ۲ و ۳ ساعت بررسی شد (جدول ۲).

جدول ۱- متغیرهای مستقل و سطح هر کدام در طراحی RSM

فاکتور	سطح	
۱	۰	-۱
۷/۵	۴/۵	۱/۵
۲۰	۱۰/۵	۱
۲/۵	۱/۵	۰/۵
۸۰	۶۰	۴۰
۳	۲	۱

^۱demineralization

^۲deproteinization

^۳discoloration

^۴deacetylation

جدول ۲- ماتریس داده‌های سطح و پاسخ‌های به‌دست آمده در طراحی RSM بر میزان درصد درجه استیل‌زدایی (DD)

Run	غلظت اسید کلریدریک (A) (درصد حجمی) X_1	زمان دمینرالیزاسیون (B) (ساعت) X_2	غلظت هیدروکسید سدیم (C) (مول) X_3	دمای استیل‌زدایی (درجه سانتی‌گراد) X_4	زمان استیل‌زدایی (E) X_5 (ساعت)	درجه استیل‌زدایی (درصد)
۱	۱/۵	۱	۲/۵	۴۰	۱	۷۸/۲۳
۲	۷/۵	۱	۰/۵	۸۰	۳	۸۸/۴۵
۳	۴/۵	۱۰/۵	۰/۵	۶۰	۲	۷۲/۰۳
۴	۴/۵	۱۰/۵	۱/۵	۸۰	۲	۳۴/۸۸
۵	۴/۵	۱۰/۵	۱/۵	۶۰	۱	۷۷/۴۷
۶	۴/۵	۱۰/۵	۱/۵	۶۰	۲	۷۵/۸۴
۷	۱/۵	۲۰	۰/۵	۴۰	۱	۷۵/۱۰
۸	۴/۵	۱۰/۵	۱/۵	۶۰	۳	۸۲/۸۹
۹	۴/۵	۱	۱/۵	۶۰	۲	۷۱/۲۳
۱۰	۴/۵	۱۰/۵	۱/۵	۶۰	۲	۷۵/۰۴
۱۱	۴/۵	۱۰/۵	۱/۵	۶۰	۲	۷۵/۰۴
۱۲	۱/۵	۱	۰/۵	۴۰	۳	۷۵/۸۵
۱۳	۴/۵	۱۰/۵	۱/۵	۴۰	۲	۸۱/۴۵
۱۴	۷/۵	۱۰/۵	۱/۵	۶۰	۲	۶۶/۲۸
۱۵	۱/۵	۲۰	۲/۵	۸۰	۱	۷۹/۵۴
۱۶	۷/۵	۱	۰/۵	۴۰	۱	۶۴/۲۳
۱۷	۱/۵	۲۰	۰/۵	۸۰	۳	۸۳/۴۵
۱۸	۱/۵	۱	۰/۵	۸۰	۱	۶۲/۴۵
۱۹	۴/۵	۱۰/۵	۲/۵	۶۰	۲	۷۵/۷۳
۲۰	۴/۵	۱۰/۵	۱/۵	۶۰	۲	۷۵/۹۴
۲۱	۷/۵	۱	۲/۵	۸۰	۱	۸۲/۶۹
۲۲	۱/۵	۲۰	۲/۵	۴۰	۳	۷۵/۳۲
۲۳	۷/۵	۲۰	۰/۵	۴۰	۳	۶۶/۶۱
۲۴	۷/۵	۲۰	۰/۵	۸۰	۱	۷۱/۲۰
۲۵	۷/۵	۲۰	۲/۵	۸۰	۳	۸۹/۸۰
۲۶	۴/۵	۱۰/۵	۱/۵	۶۰	۲	۷۴/۹۴
۲۷	۱/۵	۱	۲/۵	۸۰	۳	۶۹/۴۳
۲۸	۷/۵	۲۰	۲/۵	۴۰	۱	۶۶/۵۱
۲۹	۷/۵	۱	۲/۵	۴۰	۳	۷۴/۴۳
۳۰	۱/۵	۱۰/۵	۱/۵	۶۰	۲	۶۵/۵۹
۳۱	۴/۵	۱۰/۵	۱/۵	۶۰	۲	۷۴/۹۴
۳۲	۴/۵	۲۰	۱/۵	۶۰	۲	۷۲/۷۶

پودر خشک‌شده لایستر، به مدت ۲ ساعت در معرض محلول ۵ درصد هیدروکسید سدیم قرار گرفت و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد با نسبت جامد به حلال ۱:۱۶ نگهداری شد. مرحله پروتئین‌زدایی با هم‌زدن در دمای ۶۶ درجه سانتی‌گراد و زمان ۱۲۰ دقیقه انجام و سپس پودر لایستر تا رسیدن به pH خنثی با آب مقطر شستشو شد. در نهایت پودر کیتین صورتی تا سفیدرنگ مرطوبی حاصل شد که مجدداً در آن خشک گردید. مرحله رنگ‌زدایی پودر کیتین خشک با مخلوطی از اتانول و استون (حجم/حجم) که با نسبت ۱:۱ جامد به حلال (w/v) به پودر کیتین اضافه شد. با شستشوی پی‌درپی توسط آب مقطر، به مدت ۱۰ دقیقه، با حذف مواد رویی الکلی و خشک کردن نمونه در آن، در نهایت رنگ زرد مایل به روشن به‌دست آمد (Olafadehan et al., 2020). در مرحله بعد، کیتین به‌دست‌آمده برای جهت استحصال کیتوزان، استیل‌زدایی شد. در مرحله استیل‌زدایی، کیتین با استفاده از سود غلیظ به‌میزان ۰/۵، ۱/۵ و ۲/۵ مولار به مدت ۱، ۲ و ۳ ساعت در دمای ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت (جدول ۱). سپس محلول حاصل صاف و برای رسیدن به pH خنثی چندین بار با آب مقطر شستشو داده شد. در نهایت ماده به‌دست آمده در آن در

دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ساعت خشک گردید. درجه استیل‌زدایی^۱ (DD) کیتوزان با استفاده از رابطه زیر به دست آمد (Elsoud et al., 2023):

$$\%DD = \left(\frac{n_1 + n_2}{n_1} \right) \times 100$$

$$\%DD = \left[\frac{c_{1v1} - c_{2v2}}{M(100 - W)} \times 0.0016 \right] \times \frac{100}{9.94}$$

$$\%DD = 100 \left(1 - \frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times \frac{1}{1.33} \right)$$

n_1 و n_2 بیانگر میانگین تعداد واحدهای D-گلوکوزامین و N-استیل گلوکزامین، c_1 و c_2 نشان‌دهنده غلظت اسیدکلریدریک و هیدروکسیدپتاسیم و V_1 و V_2 نشان‌دهنده حجم اضافه شده آنها است. M: جرم نمونه و W: میزان رطوبت است. ۰/۰۰۱۶ مقدار گروه آمینه مربوط به محلول آبی یک مولار اسیدکلریدریک و ۹/۹۴ درصد NH_2 در کیتوزان است. A_{3450} و A_{1655} مقادیر جذب در طول موج‌های 1655 cm^{-1} و 3450 cm^{-1} هستند که با استفاده از رابطه مقابل محاسبه می‌شوند:

$$A = 2 - \log (\%T)$$

که در آن A و T جذب و انتقال هستند (Ben Seghir and Benhamza, 2017).

۲-۳. طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه کیتوزان

طیف ATR-FTIR^۲ کیتوزان به دست آمده از ضایعات لابستر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج مدل IFS-48 ساخت کشور آلمان، (کمپانی سازنده Bruker) برای نشان دادن گروه‌های عاملی به دست آمد. به همین جهت ۱/۵ میلی گرم پودر استخراج شده به همراه پودر برمید پتاسیم به نسبت ۱:۱۰۰ مخلوط و به شکل قرص ۱ میلی‌متری درآمد. سپس در دستگاه طیف‌سنج قرار گرفت. درصد نور عبور داده شده در محدوده فرکانس 4000 cm^{-1} تا 400 cm^{-1} محاسبه و سپس نمودار حاصل از آن رسم گردید. وضوح دستگاه 0.9 cm^{-1} بود.

۲-۴. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این مطالعه، شاخص‌های غلظت اسیدکلریدریک (HCl)، زمان حذف موادمعدنی یا دیمیرالیزاسیون، غلظت هیدروکسیدسدیم (NaOH)، دمای استیل‌زدایی و زمان استیل‌زدایی به روش سطح پاسخ و با استفاده از طرح مرکب مرکزی به منظور دست‌یابی به بیشترین درجه استیل‌زدایی کیتوزان با استفاده از نرم‌افزار دیزاین اکسپرت بهینه شدند. در طرح مرکب مرکزی، متغیرهای مستقل در ۳ سطح +۱، ۰، -۱ قرار داشتند. سطوح گوناگون عوامل مختلف در طراحی آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است. پاسخ‌های به دست آمده براساس داده‌های سطح برای درجه استیل‌زدایی کیتوزان در جدول ۲ ارائه شده است. نتیجه‌ای که به دست می‌آید چندجمله‌ای درجه دوم است:

$$Y = a + \sum_{i=A}^F a_i x_i + \sum_{i=A, j=A \neq i}^F a_{ij} x_i x_j + e$$

a: ضریب ثابت، a_i : ضریب تاثیر هر فاکتور، a_{ij} : تعامل ضرایب با هم، Y: پاسخ مورد نظر، x_i : مقدار هر فاکتور است.

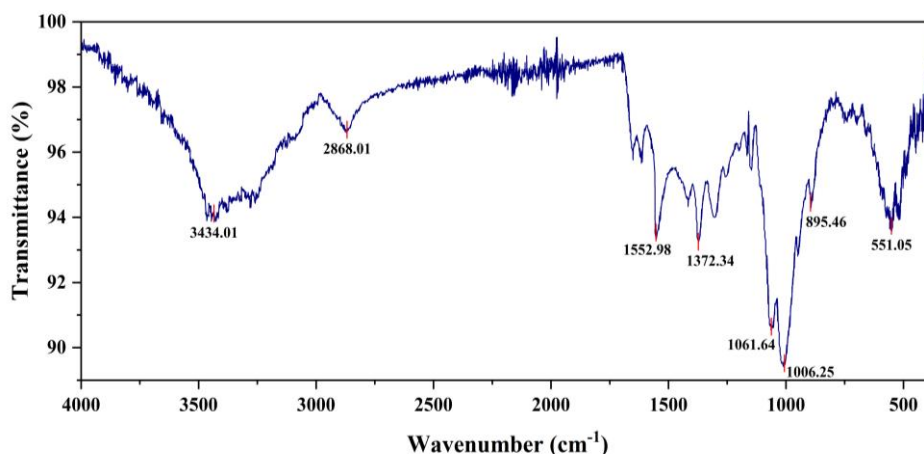
۳. یافته‌های پژوهشی

نتایج طیف ATR-FTIR کیتوزان در شکل ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که شکل نشان می‌دهد، یک پیک بزرگ و پهن در محدوده $1006/25 \text{ cm}^{-1}$ وجود دارد. پیک‌های کوچک‌تر در محدوده 1061 ، 1552 ، 1372 ، 895 و 551 cm^{-1} مشاهده می‌شوند.

¹degree of deacetylation

²Attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy

پیک‌های بین 3500 تا 3000 cm^{-1} مربوط به پیوند هیدروژنی OH- و ارتعاشات کششی NH است. پیک پهن 1006 cm^{-1} و پیک تیز 895 cm^{-1} به‌طور کامل توسط قله کربنات کلسیم گرفته شد. این پیک و پیک نزدیک به 1600 cm^{-1} به ارتعاشات خمشی NH نسبت داده شد. از آنجا که کیتین به‌طور طبیعی در حالت کاملاً استیله وجود ندارد، دو پیک برای آمین اولیه (استیل‌زدایی) و آمین ثانویه (استیلاسیون) مشاهده شد. پیک نزدیک به 1000 cm^{-1} مجموعه‌ای از پیک‌های مختلف و به ارتعاشات کششی مختلف C-O مربوط به پیوندهای گلیکوزیدی بین مونومرها است. پیک 1372 cm^{-1} و نزدیک به آن مربوط به ارتعاشات C-H در گروه عاملی CH_2 هستند.



شکل ۲- طیف ART-FTIR کیتوزان استخراج شده از ضایعات لابستر

براساس نتایج جدول ۳، تعامل بین تمام متغیرها در پاسخ درصد درجه استیل‌زدایی از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$). به‌منظور بهینه‌سازی و اعتبارسنجی مدل ریاضی پیش‌بینی‌شده، برنامه‌های Expert Design با استفاده از همان شرایط تجربی انجام شد. تجزیه و تحلیل واریانس (جدول ۳) استخراج کیتوزان از لابستر نشان داد که این مدل معنی‌دار است، زیرا مقدار $F = 1528/29$ بود. اصطلاحات مدل A, B, C, D, E, AB, AC, AD, AE, BC, BD, BE, CD, CE و D^2 و B^2 معنی‌دار بودند، زیرا مقادیر "Prob" $F > 0.05$ بود. مقدار F یا "عدم تناسب" مدل 0.18 نشان می‌دهد که عدم برازش معنی‌دار نیست و نتایج با داده‌های مدل مطابقت دارد. R^2 پیش‌بینی‌شده 0.989 و R^2 واقعی 0.997 بود. معادله درجه دوم به‌دست آمده به شرح زیر بود:

$$Y = +164.8367 + 4.5665A + 0.6617B + 9.0031C - 3.3034D - 20.3647E - 0.0945AB + 0.3597AC + 0.0729AD + 0.5402AE + 0.0066BC + 0.0099BD + 0.0149BE + 0.0100CD - 2.4606CE + 0.0847DE - 1.0523A^2 - 0.0377B^2 - 1.5258C^2 + 0.0237D^2 + 4.7741E^2$$

شکل ۳ نشان‌دهنده اثر برآورد هر شاخص و تعامل هر عامل با پاسخ و سپس نمودارهای سطح پاسخ سه‌بعدی به‌عنوان تابع هر دو متغیر را به تصویر کشیده است. متغیر دیگر در نقطه مرکزی ثابت در نظر گرفته شد. نمودارهای ارائه‌شده یک نمایش بصری از مدل‌های رگرسیون با استفاده از تحلیل گرافیکی ارائه می‌دهند. شکل ۳ تأثیر غلظت اسیدکلریدریک، غلظت هیدروکسیدسدیم، زمان دیمینرالیزاسیون، دما و زمان استیل‌زدایی بر میزان درصد درجه استیل‌زدایی را نشان داده است. براساس نتایج جدول ۳، بیشترین عوامل تأثیرگذار بر درصد درجه استیلاسیون کیتوزان استخراج شده، به‌ترتیب غلظت اسیدکلریدریک، غلظت هیدروکسیدسدیم و دمای استیل‌زدایی بود ($P < 0.001$). شکل ۳a اثر همزمان غلظت اسیدکلریدریک و زمان دیمینرالیزاسیون را نشان می‌دهد که با افزایش غلظت اسیدکلریدریک و زمان دیمینرالیزاسیون میزان پاسخ افزایش یافت. شکل ۳b نشان می‌دهد، با افزایش هر دو عامل

¹ Predicted

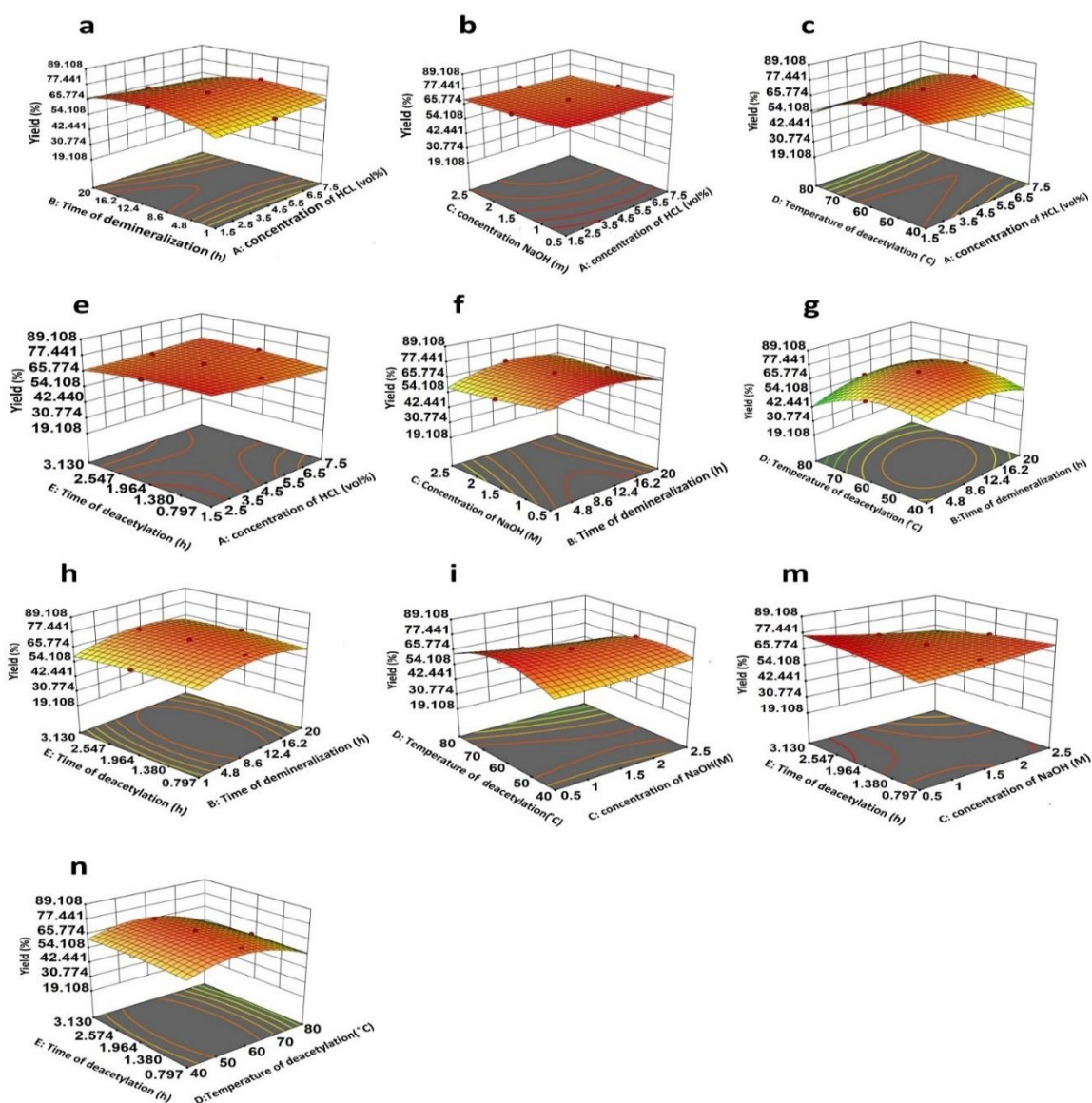
² Adjusted

غلظت هیدروکسیدسدیم و اسیدکلریدریک میزان پاسخ افزایش خواهد یافت، ولی در شکل ۳c با افزایش غلظت اسیدکلریدریک و دمای استیل زدایی میزان پاسخ افزایش و سپس کاهش می‌یابد. در شکل ۳e نشان داده شده است که با افزایش غلظت اسیدکلریدریک و زمان استیل زدایی سطح پاسخ افزایش خواهد یافت و بین غلظت اسیدکلریدریک و هیدروکسیدسدیم با زمان استیل زدایی و دمینرالیزاسیون ارتباط معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.0001$) (شکل ۳e, f). تصویر ۳g ارتباط بین دمای استیل زدایی با زمان دمینرالیزاسیون را نشان می‌دهد که در ابتدا با افزایش دما و زمان سطح پاسخ‌ها افزایش پیدا می‌کند، ولی بعد کاهش می‌یابد. با افزایش زمان استیل زدایی و زمان دمینرالیزاسیون سطح پاسخ‌ها افزایش پیدا خواهد کرد (۳h). با افزایش غلظت هیدروکسیدسدیم و دمای استیل زدایی ابتدا سطح پاسخ‌ها افزایش و سپس کاهش نشان داد (۳i).

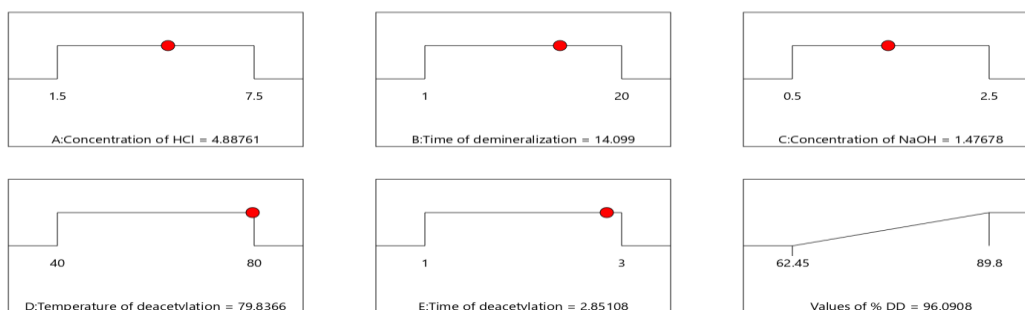
جدول ۳- تجزیه و تحلیل واریانس پاسخ‌های اصلی بهینه‌سازی درصد درجه دی‌استیل‌اسیون لایستر صخره‌ای خاردار

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	۱۵۰۳/۰۸	۲۰	۷۵/۱۵	۶۳۸/۲۳	< ۰/۰۰۰۱	significant
A-Concentration of HCl	۱/۵۳	۱	۱/۵۳	۱۲/۹۵	۰/۰۰۴۲	
B-Time of demineralization	۹/۸۳	۱	۹/۸۳	۸۳/۴۶	< ۰/۰۰۰۱	
C-Concentration of NaOH	۵۸/۰۰	۱	۵۸/۰۰	۴۹۲/۵۲	< ۰/۰۰۰۱	
D-Temperature of deacetylation	۱۸۴/۴۵	۱	۱۸۴/۴۵	۱۵۶۶/۳۸	< ۰/۰۰۰۱	
E-Time of deacetylation	۱۳۲/۳۶	۱	۱۳۲/۳۶	۱۱۲۴/۰۰	< ۰/۰۰۰۱	
AB	۱۱۶/۲۶	۱	۱۱۶/۲۶	۹۸۷/۳۳	< ۰/۰۰۰۱	
AC	۱۸/۶۴	۱	۱۸/۶۴	۱۵۸/۳۰	< ۰/۰۰۰۱	
AD	۳۰۶/۱۶	۱	۳۰۶/۱۶	۲۶۰۰/۰۱	< ۰/۰۰۰۱	
AE	۴۲/۰۲	۱	۴۲/۰۲	۸۷/۳۵۶	< ۰/۰۰۰۱	
BC	۰/۰۶۳۸	۱	۰/۰۶۳۸	۰/۵۴۱۴	۰/۴۷۷۲	
BD	۵۶/۸۹	۱	۵۶/۸۹	۴۸۳/۱۲	< ۰/۰۰۰۱	
BE	۰/۳۲۲۱	۱	۰/۳۲۲۱	۲/۷۳	۰/۱۲۶۴	
CD	۰/۶۴۴۰	۱	۰/۶۴۴۰	۵/۴۷	۰/۰۳۹۳	
CE	۹۶/۸۷	۱	۹۶/۸۷	۸۲۲/۶۸	< ۰/۰۰۰۱	
DE	۴۵/۹۳	۱	۴۵/۹۳	۳۹۰/۰۹	< ۰/۰۰۰۱	
A ²	۲۲۰/۷۳	۱	۲۲۰/۷۳	۱۸۷۴/۴۶	< ۰/۰۰۰۱	
B ²	۲۸/۶۳	۱	۲۸/۶۳	۲۴۳/۱۲	< ۰/۰۰۰۱	
C ²	۵/۷۳	۱	۵/۷۳	۴۸/۶۶	< ۰/۰۰۰۱	
D ²	۲۲۱/۵۸	۱	۲۲۱/۵۸	۱۸۸۱/۶۹	< ۰/۰۰۰۱	
E ²	۵۶/۰۹	۱	۵۶/۰۹	۴۷۶/۳۰	< ۰/۰۰۰۱	
Residual	۱/۳۰	۱۱	۰/۱۱۷۸			
Lack of Fit	۰/۲۰۰۳	۶	۰/۰۳۳۴	۰/۱۵۲۴	۰/۹۷۹۸	not significant
Pure Error	۱/۰۹	۵	۰/۲۱۹۰			
Cor Total	۱۵۰۴/۳۸	۳۱				

شکل ۴ نشان می‌دهد که دقت مدل با افزایش تابع مطلوبیت به‌طور قابل توجهی افزایش پیدا خواهد کرد. شاخص‌های بهینه، مربوط به مقدار مطلوبیت DD برابر با ۹۶/۰۹، منجر به ۸۹/۸ درصد درجه استیل زدایی شد. در شرایط مشخص شده، بالاترین درصد درجه استیل زدایی با استفاده از شاخص‌های غلظت HCl ۴/۸۸ مولار، زمان دمینرالیزاسیون ۱۴/۰۹ ساعت، غلظت NaOH ۱/۴۷ درصد حجم/حجم، زمان استیل زدایی ۲/۸۵ ساعت و دمای استیل زدایی ۷۹/۸۳ درجه سانتی‌گراد حاصل شد.



شکل ۳- تصاویر سه‌بعدی برهم‌کنش عوامل مؤثر بر درجه استیلاسیون کیتوزان استخراج شده از لابستر



Desirability = 1.000
Solution 57 out of 100

شکل ۴- تصاویر محدوده مطلوبیت برای بهینه‌سازی درصد درجه استیلاسیون کیتوزان از لابستر

۴. بحث و نتیجه‌گیری نهایی

درجه استیل‌زدایی یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های شیمیایی و عوامل مؤثر بر حلالیت، واکنش شیمیایی و زیست‌تخریب‌پذیری است که بر عملکرد کیتوزان در بسیاری از کاربردهای آن تأثیر می‌گذارد (Abdel-Salam, 2013). در این مطالعه میزان درصد DD بین ۶۲/۴۵ تا ۹۸/۸۰ درصد به‌دست آمد. تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها (جدول ۳) اثر متقابل معنی‌دار بین عوامل مختلف را نشان داد. در مطالعه Nouri و همکاران (۲۰۱۶) که با استفاده از RSM استخراج کیتوزان از ضایعات میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) را بررسی کردند، میزان DD را بین ۷۱/۰۲ تا ۸۲/۲۰ درصد گزارش کردند. نتایج آنها نشان داد که درجه استیل‌زدایی کیتوزان استخراج‌شده، با افزایش دما و زمان مکانیسم افزایش می‌یابد، اما در دمای بالاتر از ۹۰ درجه سانتی‌گراد و مدت زمان بیش از ۱۹۵ دقیقه، کاهش پیدا کرد. نتایج این مطالعه نشان داد که درجه استیل‌زدایی کیتوزان در زمان و دمای پایین، کم بود، زیرا گروه‌های استیل را نمی‌توان در شرایط محیطی جدا کرد، چون واکنش به دما و زمان بالا نیاز دارد تا به استیل‌زدایی مناسب برسد (William and Wid, 2019). مطالعه دیگر نشان داد که روش سطح پاسخ برای بهینه‌سازی درجه استیل‌زدایی کیتوزان استخراج‌شده با استفاده از روش شیمیایی مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان دادند که میزان استیل‌زدایی کیتوزان ابتدا در شرایط ۲-۳۴ ساعت، غلظت قلیا ۳۲-۵۸ درصد و دمای ۴۰-۱۲۰ درجه سانتی‌گراد، افزایش یافت و سپس کاهش پیدا کرد (Hwang et al., 2002). Weska و همکاران (۲۰۰۷) از دمای ۱۳۰-۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و زمان واکنش ۹۰-۱۵۰ دقیقه استفاده کردند. آنها به این نتیجه رسیدند که بهینه استیل‌زدایی در دمای ۱۳۰ درجه سانتی‌گراد و زمان ۹۰ دقیقه با ۹۰ درصد درجه استیل‌زدایی به‌دست آمد. Mahdy و Samar و همکاران (۲۰۱۳) با استفاده از اندازه‌های مختلف کیتین (۲۰ mesh، ۴۰ و ۶۰)، محلول NaOH (۳۰، ۴۰ و ۵۰ درصد) و تابش مایکروویو (۱۰ دقیقه با توان ۱۴۰۰ وات) برای استخراج کیتوزان استفاده کردند. نتایج نشان داد که درجه استیل‌زدایی (۹۵-۶۷ درصد) ابتدا افزایش و سپس کاهش پیدا کرد. اما با افزایش دانه ذرات کیتین و افزایش غلظت هیدروکسیدسدیم، ابتدا کاهش و سپس افزایش یافت. کیتوزان تجاری معمولاً دارای درجه استیل‌زدایی ۷۰ تا ۹۵ درصد است که بسته به منبع و روش استخراج متغیر است (Jiang et al., 2014). دامنه درجه استیل‌زدایی مطالعه حاضر در این محدوده قرار داشت. در مطالعه Kerbach و همکاران (۲۰۲۴) بهینه‌سازی استیل‌زدایی و دپروتئینه‌شدن ضایعات میگو برای تولید کیتوزان با استفاده از روش طرح عاملی کسری (FFD)^۱ اجرا شد. فاکتورهای پاسخ دما، زمان، اندازه ذرات کیتین و نسبت جامد به حلال در نظر گرفته شدند. نتایج آنها نشان داد که افزایش درجه استیل‌زدایی با افزایش زمان و کاهش سایر فاکتورها به‌دست آمد. بیشترین درجه استیل‌زدایی ۸۳/۰۹ درصد به‌دست آمد. تابع مطلوبیت، دقت مدل و شاخص‌های بهینه با مقدار مطلوبیت نشان داده شده‌اند (شکل ۴).

Amoo و همکاران (۲۰۱۹) استیل‌زدایی کیتین به‌دست‌آمده از ضایعات پوسته میگو *Penaeus notialis* را با در نظر گرفتن تأثیر دما، غلظت محلول NaOH و مدت زمان مطالعه کردند. براساس طراحی تجربی و مدل‌سازی آماری، شرایط بهینه برای حداکثر DD، ۸۹/۷ درصد شناسایی شد که عبارت بودند از ۵۰ درصد غلظت NaOH، دما ۹۷ درجه سانتی‌گراد و زمان ۹۰ دقیقه. اما در مقایسه با مطالعه Paduretu و همکاران (۲۰۱۹) حداکثر DD ۸۲/۵ درصد برای استخراج کیتوزان از ضایعات خرچنگ به‌دست آمد. DD ۹۰ درصد در مطالعه Weska و همکاران (۲۰۰۷) با شرایط بهینه دما ۱۳۰ درجه سانتی‌گراد، زمان ۹۰ دقیقه و حداقل مقدار ۲MM کیتین حاصل شد.

از پوسته *Perna viridis* برای به‌دست آوردن کیتوزان با عملکرد خوب، درجه استیلاسیون بالا و جرم مولی کم استفاده شد. برای یافتن بهترین شرایط، چندین طرح تجربی از جمله دو شرایط مختلف استیل‌زدایی ارائه شد: (۱) محلول ۵۰ درصد هیدروکسیدسدیم، دماهای بالا ۹۰-۱۰۰ درجه سانتی‌گراد، مدت زمان فرآیند ۲ ساعت و (۲) محلول ۱۵ درصد هیدروکسیدسدیم، دمای اتاق و مدت زمان ۲۴ ساعت. نتیجه‌گیری این بود که غلظت‌های بالاتر هیدروکسیدسدیم با افزایش DD همراه بود، در حالی که غلظت‌های پایین‌تر و زمان بیشتر فرآیند منجر به مقادیر کوچک جرم‌مولی، اما DD کمتر شد (Danarto and Distantina, 2016). در مطالعه Vazquez-Aldana و همکاران (۲۰۲۵) نشان داده شد برای استخراج کیتوزان، ترکیب استیل‌زدایی آنزیمی با

^۱ Fractional Factorial Design

^۲ Molar mass

تیمارهای شیمیایی، یکپارچگی ساختاری را حفظ کرده و امکان تولید الیگومرهای کیتوزان با وزن مولکولی بالا را فراهم می‌کند. در حالی که استیل‌زدایی آنزیمی به تنهایی یکپارچگی پلیمر را حفظ می‌کند، برای دستیابی به درجات بالاتر استیل‌زدایی، تیمار شیمیایی اضافی مورد نیاز است.

نتیجه‌گیری نهایی

در این مطالعه با استفاده از طراحی آزمایش، مدل‌سازی آماری و تکنیک‌های بهینه‌سازی چندهدفه، به شناسایی شرایط عملیاتی بهینه در فرآیند استیل‌زدایی کیتوزان به‌دست‌آمده از ضایعات لابستر پرداخته شد. برای رسیدن به بیشترین درصد DD (۸۹/۸ درصد)، میزان عوامل شامل: غلظت HCl ۴/۸۸ مولار، زمان دیمینالیزاسیون ۱۴/۰۹ ساعت، غلظت NaOH ۱/۴۷ درصد حجم/حجم، زمان استیل‌زدایی ۲/۸۸ ساعت و دمای استیل‌زدایی ۷۹/۸۳ درجه سانتی‌گراد بود. نتایج این مطالعه نشان داد که RSM یک تکنیک آماری سودمند برای بررسی اثر عوامل مستقل اصلی شامل میزان اسیدکلریدریک، غلظت NaOH، دما و زمان واکنش بر عملکرد درصد DD کیتوزان برای انتخاب بهترین تیمار با درجه استیل‌زدایی بالا است.

References

- Abdel-Salam, H.A., 2013. Evaluation of nutritional quality of commercially cultured Indian white shrimp *Penaeus indicus*. *International Journal of Nutrition and Food Sciences* 2(4), 160-166. DOI: 10.11648/j.ijnfs.20130204.11
- Amoo, K., Olafadehan, O., Ajayi, T., 2019. Optimization studies of chitin and chitosan production from *Penaeus notialis* shell waste. *African Journal of Biotechnology* 18(27), 670-688. DOI: 10.5897/AJB2019.16861
- Bello, V., Olafadehan, O., 2021. Comparative investigation of RSM and ANN for multi-response modeling and optimization studies of derived chitosan from *Archachatina marginata* shell. *Alexandria Engineering Journal* 60(4), 3869-3899. DOI: 10.1016/j.aej.2021.02.047
- Ben Seghir, B., Benhamza, M., 2017. Preparation, optimization and characterization of chitosan polymer from shrimp shells. *Journal of Food Measurement and Characterization* 11, 1137-1147. DOI: 10.1007/s11694-017-9490-9
- Boudouaia, N., Bengharez, Z., Jellali, S., 2019. Preparation and characterization of chitosan extracted from shrimp shells waste and chitosan film: application for Eriochrome black T removal from aqueous solutions. *Applied Water Science* 9, 1-12. DOI: 10.1007/s13201-019-0967-z
- Chang, G., Liu, Y., Luo, Z., Ni, K., Zhang, P., Zhou, T., Bai, L., Zhang, C., Wang, X., 2024. Response surface methodology to optimize the sterilization process of slightly acidic electrolyzed water for Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*) and to investigate its effect on shrimp quality. *Food Chemistry X*, 101180. DOI: 10.1016/j.fochx.2024.101180
- Danarto, Y., Distantina, S., 2016. Optimizing deacetylation process for chitosan production from green mussel (*Perna viridis*) shell. *AIP conference proceedings* 1710(1), 030028. DOI: 10.1063/1.4941494
- Dinculescu, D.D., Apetroaei, M. R., Gîjiu, C. L., Anton, M., Enache, L., Schröder, V., Isopescu, R., Rău, I., 2024. Simultaneous optimization of deacetylation degree and molar mass of chitosan from shrimp waste. *Polymers* 16(2), 170. DOI: 10.3390/polym16020170
- Elsoud, M.M.A., Mohamed, S.S., Selim, M.S., Sidkey, N.M., 2023. Characterization and optimization of chitosan production by *Aspergillus terreus*. *Arabian Journal for Science and Engineering* 48, 93-106. DOI: 10.1007/s13369-022-07163-z
- Hwang, K.T., Jung, S.T., Lee, G.D., Chinnan, M.S., Park, Y. S., Park, H.J., 2002. Controlling molecular weight and degree of deacetylation of chitosan by response surface methodology. *Journal of agricultural and food chemistry* 50(7), 1876-1882. DOI: 10.1021/jf011167u
- Jiang, T., James, R., Sangamesh, G., Kumbar, C., Laurencin, C.T., S. Kumbar, C., Laurencin, M., Deng (Eds.), 2014. *Natural and synthetic biomedical polymers*. Elsevier publication. ISBN: 978-0-12-396983-5

- Junceda-Mena, I., García-Junceda, E., Revuelta, J., 2023. From the problem to the solution: Chitosan valorization cycle. *Carbohydrate Polymers* 309, 120674. DOI: 10.1016/j.carbpol.2023.120674
- Kavisri, M., Abraham, M., Namasivayam, S.K.R., Aravindkumar, J., Balaji, D., Sathishkumar, R., Sigamani, S., Srinivasan, R., Moovendhan, M., 2023. Adsorption isotherm, kinetics and response surface methodology optimization of cadmium (Cd) removal from aqueous solution by chitosan biopolymers from cephalopod waste. *Journal of Environmental Management* 335, 117484. DOI: 10.1016/j.jenvman.2023.117484
- Kozma, M., Acharya, B., Bissessur, R., 2024. Chemical extraction of chitin from American lobster (*Homarus americanus*) shells optimized through response surface methodology. *International Journal of Biological Macromolecules* 256, 128462. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.128462
- Mathew, G.M., Mathew, D.C., Sukumaran, R.K., Sindhu, R., Huang, C.C., Binod, P., Sirohi, R., Kim, S.H., Pandey, A., 2020. Sustainable and eco-friendly strategies for shrimp shell valorization. *Environmental Pollution* 267, 115656. DOI: 10.1016/j.envpol.2020.115656
- Moazzeni Jola, B., Roomiani, L., 2017. Effect of chitosan from shrimp (*Metapenaeus affinis*) on the shelf life of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fillet in vacuum packaging. *Fisheries* 70, 295-308. DOI: 10.22059/jfisheries.2018.247778.1007
- Nguyen, T.T., Barber, A.R., Corbin, K., Zhang, W., 2017. Lobster processing by-products as valuable bioresource of marine functional ingredients, nutraceuticals, and pharmaceuticals. *Bioresources and Bioprocessing* 4, 1-19. DOI: org/https://doi.org/10.1186/s40643-017-0157-5
- Nouri, M., Khodaiyan, F., Razavi, S.H., and Mousavi, M., 2016. Improvement of chitosan production from Persian Gulf shrimp waste by response surface methodology. *Food Hydrocolloids* 59, 50-58. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2015.08.027
- Olafadehan, O., Ajayi, T., Amoo, K., 2020. Optimum conditions for extraction of chitin and chitosan from *Callinectes amnicola* shell waste. *Theoretical Foundations of Chemical Engineering* 54, 1173-1194. DOI: 10.1134/S0040579520060081
- Pădurețu, C.C., Isopescu, R., Rău, I., Apetroaei, M.R., Schröder, V., 2019. Influence of the parameters of chitin deacetylation process on the chitosan obtained from crab shell waste. *Korean Journal of Chemical Engineering* 36, 1890-1899. DOI: 10.1007/s11814-019-0379-7
- Samar, M.M., El-Kalyoubi, M., Khalaf, M., Abd El-Razik, M., 2013. Physicochemical, functional, antioxidant and antibacterial properties of chitosan extracted from shrimp wastes by microwave technique. *Annals of Agricultural Sciences* 58(1), 33-41. DOI: 10.1016/j.aogas.2013.01.006
- Tsegay, Z.T., Agriopoulou, S., Chaari, M., Smaoui, S., Varzakas, T., 2024. Statistical tools to optimize the recovery of bioactive compounds from marine byproducts. *Marine Drugs* 22(4), 182. DOI: 10.3390/md22040182
- Vázquez-Aldana, M., Sixto-Berrocal, A.M., Arcos-Casarrubias, J.A., Martínez-Trujillo, M.A., Cruz-Díaz, M.R., 2025. Biological and chemical synergy in chitin and chitosan production: The role of process sequencing in shrimp shell waste treatment. *International Journal of Biological Macromolecules* 306, 141247. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2025.141247
- Weska, R., Moura, J.d., Batista, L.d. M., Rizzi, J., Pinto, L.d. A., 2007. Optimization of deacetylation in the production of chitosan from shrimp wastes: Use of response surface methodology. *Journal of Food Engineering* 80(3), 749-753. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2006.02.006
- William, W., Wid, N., 2019. Comparison of extraction sequence on yield and physico-chemical characteristic of chitosan from shrimp shell waste. *Journal of Physics: Conference Series* 1358, 012002. DOI: 10.1088/1742-6596/1358/1/012002
- Zhang, Z., Ma, Z., Song, L., Farag, M.A., 2023. Maximizing crustaceans (shrimp, crab, and lobster) by-products value for optimum valorization practices: A comparative review of their active ingredients, extraction, bioprocesses and applications. *Journal of Advanced Research* 57, 59-76. DOI: 10.1016/j.jare.2023.11.002