بهینه‌سازی استحصال کیتین و کیتوزان خالص از پوسته کیتینی گونه‌های *Litopenaeus vannamei* و *Portunus pelagicus*

- **سارا هردانی**: گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، خرمشهر
- **بیتا ارچنگی***: گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، خرمشهر
- **حسین ذوالقرنین**: گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، خرمشهر
- **اسحاق زمانی**: گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، خرمشهر

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۶

چکیده

با بهینه‌سازی روش‌های استخراج ترکیبات دریایی، می‌توان درصد بالایی از کیتین و کیتوزان را از پسماند و پوسته‌های گونه‌های ارزشمند دریایی جهت مصارف دارویی و صنعتی استحصال نمود. در این پژوهش از پوسته ضایعات میگوی (*Litopenaeus vannamei*) و خرچنگ (*Portunus pelagicus*) به‌عنوان دور ریز محصولات فرآوری شده، جهت استخراج این دو ترکیب با ارزش استفاده شده است. برای استحصال کیتین از دو روش استفاده شد. در روش اول پروتئین‌زدایی با NaOH ۱۰٪، کانی‌زدایی با HCL ۱۵٪، چربی‌زدایی با NaOH ۱۵٪ و رنگ‌بری با استون انجام گرفت. در روش دوم رنگ‌بری با هیپوکلریت سدیم ۳٪ ، کانی‌زدایی با HCL یک مولار و سپس پروتئین‌زدایی توسط NaOH یک مولار انجام شد. با استیل‌زدایی کیتین حاصله، کیتوزان به‌دست آمد. درصد استحصال کیتین از پوسته میگو و خرچنگ با روش اول به‌ترتیب ۷۵/۳٪ و ۵۸٪ و با روش دوم به‌ترتیب ۳۰/۲۶٪ و ۳۷/۸٪ محاسبه شد. روش اول استخراج کیتین، برای تولید کیتوزان انتخاب شد. درصد کیتین موجود در چنگال و پاهای راه‌روی خرچنگ (۰/۰۷±۵۸٪) و بندهای بدن میگو (۰/۱۲±۸۱٪) بیش‌تر از پوسته بخش کاراپاس بود ($P<0/05$). درصد استحصال کیتوزان از پوسته میگو ۲۹/۳٪ و از پوسته خرچنگ ۳۱/۲٪ بود. درجه داستیلاسیون کیتوزان به‌دست آمده از پوسته‌های کیتینی دوگونه در این تحقیق، ٤٥٪ (پوسته میگو) و ٥٢/٦٣٪ (پوسته خرچنگ) محاسبه شد. استفاده از دور ریزهای میگو و خرچنگ در جهت تولید کیتین و کیتوزان علاوه بر حفظ محیط زیست و حذف پسماند، می‌تواند منجر به تولید محصولات با ارزش اقتصادی شود.

کلمات کلیدی: کیتین، کیتوزان، *Litopenaeus vannamei*، *Portunus pelagicus*، Persian Gulf

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: bita.archangi@gmail.com

مقدمه

کیتین از منابع با ارزش با منشاء دریایی می‌باشد که امروزه به‌طور گسترده‌ای در صنایع مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. تولید سالانه کیتین در سیستم‌های آبی در حدود ۱۰۸- ۱۰۶ تن تخمین زده شده است(موسوی‌نسب و همکاران، ۱۳۹۳).به‌طورمیانگین سالانه حدود ۷۰-۴۰٪ از سخت‌پوستان دریایی(عمدتاً میگو و خرچنگ) صید شده تبدیل به ضایعات می‌شوند (سالانه حدود ۶۰ هزار تن) که حدود ۳۰-۲۰٪ اسکلت خارجی این سخت‌پوستان را کیتین تشکیل می‌دهد (Alishahi و همکاران، ۲۰۱۱). پسماندهای ارگانیک دریایی از شیلات و آبزی‌پروری منابع عمده این پلیمر هستند. هرچند ضروری است که فرایندهای استخراج و بازیافت این ماده باارزش، بهینه‌سازی شوند. کیتین فراوان‌ترین بیوپلیمر بعد از سلولز است که به‌طور گسترده در بی‌مهرگان دریایی، حشرات، قارچ‌هاومخمر (Mahdy Samarو همکاران، ۲۰۱۳) و به‌مقدار زیادی در پوسته میگو و خرچنگ یافت می‌شود (Wang و Xing، ۲۰۰۷). پوسته سخت‌پوستان از ۳ عنصر اساسی کیتین، مواد معدنی و پروتئین ساخته شده است که در آن کیتین به عنوان یک اسکلت عمل می‌کند، درحالی‌که بخش‌های مواد معدنی که عمدتاً نمک‌های کربنات معدنی هستند، قدرت لازم برای پوسته را فراهم می‌آورند. کیتین پوسته دارای یک ساختار فیبری است که با پروتئین‌هادر مجموعه‌های کیتین-پروتئین مرتبط است (Synowiecki و Al-Khateeb، ۲۰۰۳). پسماند پوسته سخت‌پوستان شامل ۴۰-۳۰٪ پروتئین، ۵۰-۳۰٪ کربنات کلسیم و۳۰-۲۰٪ کیتین است ولی این ترکیبات بسته به نوع گونه و فصل، می‌تواند متفاوت باشد (Cho و همکاران، ۱۹۹۸). کیتین یک پلی‌ساکارید خطی بلند متشکل از واحدهای آمینومونوساکارید (N- استیل گلوکز آمین) است (Kurita، ۲۰۰۶). به‌عبارتی پلی‌ساکاریدی نیتروژن‌دار بوده که دارای ظاهری سفید رنگ مانند خرده کاغذ، سخت، غیرالاستیک و نامحلول در آب، محلول‌های غلیظ و قلیایی است و در اکثر صنایع موارد مصرف دارد (Khor، ۲۰۰۱). کیتوزان مشتقی از کیتین است که به‌واسطه داستیله شدن قلیایی کیتین، حاصل می‌شود. نام علمی آن β- دی (۱←۴) -۲ آمینو-۲-داکسی-α -گلوکان بوده و فرمول بسته آن به‌صورت $C_4H_{11}NO_4$ می‌باشد (Bolat و همکاران، ۲۰۱۰). کیتوزان به‌واسطه حذف گروه استیلی و ایجاد گروه آمینی، خاصیت بازی پیدا کرده و یک پلیمر جداگانه با خواص فیزیکی و شیمیایی متفاوت محسوب می‌شود (Pariser و lombardi، ۱۹۸۸). کیتوزان به سختی در آب قابل انحلال است ولی در اسیدهای آلی مانند اسیدفورمیک و اسیداستیک قابلیت انحلال ضعیفی دارد (Bolat و همکاران، ۲۰۱۰). جداسازی کیتین نیاز به حذف ترکیبات معدنی و پروتئین از مواد خام دارد. با واردکردن کیتین حاصله در محیط قلیایی هیدروکسیدسدیم و پتاسیم غلیظ (۶۰W/V-۳۰٪) در دمای جوش، کیتوزان به‌دست می‌آید. این ماده توسط اسید، ساختاری کریستالی پیدا می‌کند و آن‌را می‌توان از محلول اسیدی توسط محیط قلیایی بازیابی کرد (Synowiecki و Al-Khateeb، ۲۰۰۳). امروزه کیتین و شکل داستیله آن (کیتوزان) جهت استفاده در داروسازی، کشاورزی، تحقیقات زیست‌پزشکی و تهیه و نگه‌داری مواد غذایی به‌طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (Vázquez و همکاران، ۲۰۱۳). از پژوهش‌های انجام شده در کشور بر روی تولید کیتین و کیتوزان از میگو می‌توان به تحقیقات طاهری و همکاران (۱۳۹۲)، غیاث‌الدین و همکاران (۱۳۹۰) و پورمراد و همکاران (۱۳۸۴) و در زمینه تولید کیتین و کیتوزان از بخش‌های مختلف پوسته خرچنگ نیز به مطالعه انجام گرفته توسط خاکشور و پازوکی (۱۳۹۵و ۱۳۹۳) اشاره کرد، ولی در مورد تولید کیتین از بخش‌های مختلف میگو و بر پایه دو روش شیمیایی مقایسه‌ایی مطالعه‌ایی گزارش نگردیده است. در این روش‌ها سرعت و میزان استحصال کیتین، کیفیت کیتین استخراجی، مقرون به‌صرفه و دوست‌دار محیط زیست بودن ملاک برتری است. در ایران با توجه به منابع فراوان میگو و خرچنگ در آب‌های جنوبی کشور، صنعت پرورش میگو و پردازش آن و صنایع غذایی تولیدکننده غذاهای دریایی، انبوهی از ضایعات به‌صورت سر و پوسته تولید می‌شوند. این ضایعات که به‌دلیل مشکلات تکنولوژیکی نظیر عدم انحلال در آب و مقاومت در برابر تجزیه زیستی و همین‌طور فساد سریع، می‌توانند مشکلات فراوان زیست‌محیطی و بهداشتی را برای تولیدکنندگان آن فراهم آورند، می‌توانند منبع مهمی برای تولید کیتین و کیتوزان به‌حساب آیند. هدف این پژوهش استحصال کیتین از بخش‌های مختلف پوسته (با دو روش شیمیایی) میگوی *Litopenaeus vannamei* و خرچنگ *Portunus pelagicus* با اندازه‌گیری پارامترهای موثر در تعیین کیفیت کیتین به‌منظور تولید بهینه و با کیفیت‌تر کیتین از این دو گونه و همین‌طور تولید کیتوزان بوده است.

مواد و روش‌ها

پوسته‌های میگوی گونه *Litopenaeus vannamei* از مراکز فراوری و بسته‌بندی محصولات شیلاتی، بازار ماهی‌فروشان خرمشهر و سایت‌های پرورش میگو در چوئبده آبادان در سال ۱۳۹۳ تهیه شد. نمونه‌های خرچنگ گونه *Portunus pelagicus* از نواحی جزر و مدی سواحل خلیج فارس در خوزستان جمع‌آوری شد. پوسته میگو و خرچنگ از ضایعات گوشت و محتوای پروتئینی آن به‌صورت دستی جداسازی شد. سپس پوسته‌های تمیز شده جهت آبگیری و خشک شدن در

محیط با تهویه مناسب قرار داده شد. نمونه‌ها درون پلاستیک‌های زیپی قرار گرفته و به آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر منتقل شدند.

تعیین محتوای رطوبت پوسته‌های میگو و خرچنگ: محتوای رطوبت تکه‌های توزین شده پوست میگو و خرچنگ پس از آبگیری با دستمال جاذب رطوبت، براساس روش Webster و همکاران (۲۰۱۴)، با فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{درصد محتوای رطوبت} = \frac{\text{وزن تر} - \text{وزن خشک}}{\text{وزن تر}} \times ۱۰۰$$

استخراج شیمیایی کیتین: در این پژوهش دو روش شیمیایی متفاوت برای استخراج کیتین به‌کار برده شد. در روش اول برای پروتئین‌زدایی از محلول NaOH ۱۰٪ به نسبت ۱:۵(۲۵°C)، کانی‌زدایی با محلول HCL ۱۵٪ (۸۰°C)، چربی‌زدایی توسط محلول NaOH ۱۵٪ (۷۰°C) و رنگ‌بری با استون به نسبت ۱:۱۰ صورت گرفت (پورمراد و همکاران، ۱۳۸۴). در روش دوم استخراج کیتین ابتدا رنگ‌بری با هیپوکلریت سدیم ۳ درصد (۱۰۰°C) طی دو مرحله انجام شد. جهت کانی‌زدایی از HCL یک مولار (۷۰°C) و برای پروتئین‌زدایی از NaOH یک مولار (۱۰۰°C) استفاده شد (Kaya و همکاران، ۲۰۱۵). سپس عدم انحلال نمونه‌های کیتین حاصل از هر دو روش در اسیدکلریدریک ۲٪ و حلال آلی (استون و اتانول) مورد بررسی قرار گرفت.

سنجش درصد خاکستر (موادمعدنی) کیتین‌های استخراجی: با قرار دادن مقدار مشخصی از نمونه‌های کیتینی در بوته چینی، در کوره (۵۵۰°C) به‌مدت چهار ساعت و سنجش تفاوت وزن نمونه اولیه و نمونه ثانویه، براساس روش تغییر یافته (۱۹۹۰) ۹۹۱/۰۱ A.O.A.C درصد خاکستر محاسبه شد:

$$\text{درصد خاکستر} = \frac{\text{وزن باقی‌مانده (گرم)}}{\text{وزن نمونه (گرم)}} \times ۱۰۰$$

تعیین درصد استحصال کیتین: به‌منظور تعیین درصد استحصال کیتین از فرمول زیر استفاده شد (Lertsutthiwong و همکاران، ۲۰۰۲):

$$\text{درصد کیتین تولیدی} = \frac{\text{وزن کیتین تولیدی}}{\text{وزن اولیه پوسته میگو}} \times ۱۰۰$$

فرایند تهیه کیتوزان از کیتین‌های استحصالی پوسته میگو و خرچنگ: با افزودن ۱۰۰ میلی‌لیتر NaOH ۵۰٪ به هر یک از نمونه‌های کیتین و سپس جوشاندن آن‌ها به‌مدت دو ساعت انجام پذیرفت. نمونه‌ها تا سرد شدن در دمای اتاق به‌مدت ۳۰ دقیقه در زیر هود قرار داده شدند. سپس برای حفظ ماده جامد (کیتوزان)، نمونه‌ها به‌طور مدام با NaOH ۵۰٪ شست و شو و فیلتر شدند. کیتوزان به رنگ سفید-کرمی به‌دست آمد. نمونه کیتوزان به‌صورت پوشیده نشده در آون ۱۲۰°C به‌مدت ۲۴ ساعت خشک گردید (Burrows و همکاران، ۲۰۰۷).

تعیین درصد استحصال کیتوزان: به‌منظور تعیین این خصوصیت از فرمول زیر استفاده شد (Lertsutthiwong و همکاران، ۲۰۰۲):

$$\text{درصد کیتوزان تولیدی} = \frac{\text{وزن کیتوزان تولیدی}}{\text{وزن اولیه کیتین}} \times ۱۰۰$$

محاسبه درجه داستیلاسیون (DD: Degree of Deacetylation): ۰/۱گرم کیتوزان با محلول HCL ۰/۱ مولار در دمای اتاق به‌خوبی حل گردید و به آن ۵ الی ۶ قطره متیل اورنژ اضافه شد. محلول کیتوزان صورتی- قرمز رنگ با NaOH ۰/۱ مولار تیتراسیون شد تا زمانی‌که رنگ محلول به نارنجی-زرد تغییر کند (Jiang، ۲۰۰۱). درجه داستیلاسیون براساس فرمول زیر محاسبه گردید:

$$DD\ (\%) = \frac{C_1V_1 - C_2V_2}{M \times ۰.۰۹۹۴} \times ۰,۰۱۶$$

سنجش ظرفیت پیوند به آب کیتوزان (WBC: Water Binding Capacity): در ابتدا میکروتیوب توزین شده و به ۰/۰۵ گرم کیتوزان، یک میلی‌لیتر آب افزوده شد. به‌مدت یک دقیقه با ورتکس مکانیکی به‌خوبی مخلوط شد و محتویات به‌مدت ۳۰ دقیقه، در هر ۱۰ دقیقه به‌مدت ۵ ثانیه به‌طور متناوب تکان داده شده و پس از سانتریفیوژ (۳۰۰۰rpm) به‌مدت ۲۵ دقیقه، مایع رویی با دقت جدا شد و لوله مجددا توزین گردید (Hossain و Iqbal، ۲۰۱۴). میزان ظرفیت اتصال به آب کیتوزان از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$WBC(\%) = \frac{\text{پیوند به آب (گرم)}}{\text{وزن اولیه نمونه (گرم)}} \times ۱۰۰$$

سنجش ظرفیت پیوند به چربی کیتوزان (FBC: Fat Binding Capacity): در ابتدا میکروتیوب توزین شده و به ۰/۰۵ گرم کیتوزان، یک میلی‌لیتر روغن سویا افزوده شد. به‌مدت یک دقیقه با ورتکس به‌خوبی مخلوط شد و محتویات به‌مدت ۳۰ دقیقه، در هر ۱۰ دقیقه به‌مدت ۵ ثانیه به‌طور متناوب تکان داده شده و پس از سانتریفیوژ (۳۰۰۰rpm) به‌مدت ۲۵ دقیقه، مایع رویی با دقت جدا شد و لوله مجددا توزین گردید (Hossain و Iqbal، ۲۰۱۴). میزان ظرفیت پیوند به چربی کیتوزان از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$FBC(\%) = \frac{\text{پیوند به چربی (گرم)}}{\text{وزن اولیه نمونه (گرم)}} \times ۱۰۰$$

نتایج

درصد رطوبت پوسته میگو و خرچنگ: درصد رطوبت پوسته‌ها براساس اختلاف میانگین وزن خیس و خشک پوسته بخش‌های مختلف اسکلت خارجی میگو و خرچنگ در جدول ۱ آورده شده است. نتایج بررسی‌های انجام شده بر پایه آنالیزهای آماری نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین درصد رطوبت پوسته کاراپاس میگو با پوسته بندهای میگو و همین‌طور بین پوسته چنگال و پاهای راه‌روی خرچنگ با پوسته کاراپاس آن وجود دارد ($P<۰/۰۵$).

جدول۱ : نتایج اندازه‌گیری درصد رطوبت پوسته‌های میگو وخرچنگ (Mean±SD)

پوسته کاراپاس میگو	پوسته بندهای میگو	پوسته کاراپاس خرچنگ	پوسته چنگال و پاهای راه‌روی خرچنگ
٪۵۰±۰/۱۷	٪۴۸/۴۴ ±۰/۳۵	٪۳۸/۴± ۰/۲۸	٪۴۸/۵۳± ۰/۳۹

مشخصات کیتین استخراجی با روش اول و دوم: مقایسه درصد محتوای کیتین استحصالی (بعد از انجام مراحل پروتئین‌زدایی و کانی‌زدایی) از روش اول و دوم، با توجه به جداول ۲ و ۳ نشان داد که این محتوا تا حدودی برابر است ولی این درصد در بخش‌های مختلف پوسته میگو و خرچنگ تفاوت معنی‌داری دارد.

جدول۲: مشخصات کیتین استخراجی از بخش‌های مختلف پوسته میگو و خرچنگ با روش اول

کیتین استخراجی	خصوصیت ظاهری	درصد محتوای کیتینی	pH	درصد رطوبت	درصد خاکستر (درصد نسبت به وزن خشک)
کیتین کاراپاس میگو	پودر کرمی رنگ	>۹۰	۷-۷/۵	<۱۵	<۱
کیتین پوسته بندهای بدن میگو	پودر شیری رنگ	>۹۸	۷/۲-۸	<۱۰	<۱
کیتین کاراپاس خرچنگ	پودر کرمی متمایل به سفید	>۹۰	۷/۵-۸	<۲۰	<۱
کیتین پوسته چنگال و پاهای راه‌روی خرچنگ	پودر سفید متمایل به زرد روشن	>۹۵	۷-۷/۵	<۱۵	<۱

جدول۳: مشخصات کیتین استخراجی از بخش‌های مختلف پوسته میگو و خرچنگ با روش دوم

کیتین استخراجی	خصوصیت ظاهری	درصد محتوای کیتینی	pH	درصد رطوبت	درصد خاکستر (درصد نسبت به وزن خشک)
کیتین کاراپاس میگو	پودر کرمی رنگ	>۹۰	۷/۵-۸	<۱۵	<۱
کیتین پوسته بندهای بدن میگو	پودر شیری رنگ	>۹۵	۷-۸	<۱۰	<۱
کیتین کاراپاس خرچنگ	پودر کرمی متمایل به سفید	>۹۳	۷-۸	<۱۵	<۱
کیتین پوسته چنگال و پاهای راه‌روی خرچنگ	پودر سفید متمایل به زرد روشن	>۹۷	۷-۸	<۱۰	<۱

سنجش درصد خاکستر (موادمعدنی) کیتین‌های استخراجی: نتایج سنجش خاکستر کیتین‌های استخراجی با روش‌های اول و دوم در جدول ۴ نشان داده‌شده است. درصدخاکستر درروش دوم کم‌تر از روش اول استخراج کیتین دیده شد. نتایج آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) بین درصد خاکستر کیتین استحصالی با روش اول و دوم از پوسته میگو و خرچنگ وجود دارد.

جدول ۴: نتایج اندازه‌گیری میزان خاکستر کیتین‌های استحصالی (درصد نسبت به وزن مرطوب) (Mean±SD)

خاکستر کیتین میگو (روش اول)	خاکستر کیتین خرچنگ (روش اول)	خاکستر کیتین میگو (روش دوم)	خاکستر کیتین خرچنگ (روش دوم)
٪۸۲±۰/۰۱	٪۸۷±۰/۰۳	٪۳۹ ±۰/۰۶	٪۳۸±۰/۰۳

درصداستحصال کیتین‌ازبخش‌های‌مختلف‌اسکلت‌خارجی میگو و خرچنگ: نتایج نشان داد که درصد استحصال کیتین از پوسته میگو و خرچنگ با روش اول (به‌ترتیب ۷۵/۳٪ برای میگو و ۵۸٪ برای خرچنگ) بیش‌تر از روش دوم (به‌ترتیب ۳۰/۲۶٪ برای پوسته میگو و ۳۷/۸٪ برای پوسته خرچنگ) است. لذا برای بررسی میزان استحصال کیتین از بخش‌های مختلف میگو و خرچنگ از روش اول استفاده شد. آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) بین درصد کیتین استخراج شده از پوسته چنگال و پاهای راه‌روی خرچنگ و بندهای بدن میگو با درصد کیتین استحصالی از کاراپاس آن‌ها وجود دارد.

نتایج حاصل از استحصال کیتوزان

درصد استحصال کیتوزان: در این پژوهش، درصد استحصال کیتوزان از پوسته میگو ۲۹/۳٪ و از پوسته خرچنگ ۳۱/۲٪ بود.

درجه‌داستیلاسیون (DD): در تحقیق حاضر، درجه‌داستیلاسیون کیتوزان تولیدی خرچنگ ۵۲/۶۳٪ و میگو ۴۵٪ و کیتوزان تجاری

تهیه شده از پوسته خرچنگ از شرکت سیگما- آلدریچ (هند) ۷۲٪ محاسبه شد.

ظرفیت پیوند با آب (WBC) و چربی کیتوزان (FBC): جدول ۵ خصوصیات عملکردی پنج نمونه کیتوزان در ظرفیت پیوند با آب و چربی را نشان می‌دهد. ظرفیت پیوند با آب در برخی کیتوزان‌های استحصالی و ظرفیت پیوند با چربی تقریباً در تمامی کیتوزان‌های استحصالی نسبت به نمونه تجاری بیش‌تر مشاهده شد.

جدول ۵ : خصوصیات عملکردی کیتوزان

نمونه	WBC (%)	FBC (%)
کیتوزان میگو (Cht_m)*	۵۶۸	۴۶۵
کیتوزان کاراپاس میگو (Cht_{cs})	۶۹۰	۶۶۴
کیتوزان پوسته میگو (Cht_{ss})	۳۵۰	۴۴۲
کیتوزان خرچنگ	۵۷۱	۶۰۹
کیتوزان تجاری سیگما	۵۶۴	۴۵۰

*کیتوزان شامل مخلوطی از پوسته‌های بند پشتی و کاراپاس میگو

بحث

در تحقیق حاضر، بررسی درصدرطوبت پوسته‌بخش‌های مختلف میگو و خرچنگ نشان داد که پوسته کاراپاس میگو نسبت به پوسته بندهای میگو رطوبت بیش‌تری دارد و این مورد برای پوسته خرچنگ بالعکس است. آن‌چه از نتایج تحقیق حاضر استنباط شد بیانگر این است که میزان محتوای کیتین استحصالی از کاراپاس میگو و خرچنگ نسبت به کیتین استحصالی از پوسته بخش‌های دیگر بدن، کم‌تر است. علت آن‌را می‌توان به‌وجود میزان بیش‌تری چربی در پوسته کاراپاس نسبت به پوسته‌های بند پشتی نسبت داد (Limpanavech و همکاران، ۲۰۰۸). این حجم از چربی در جریان مراحل استحصال کیتین حذف شده و مقدار کیتین استحصالی را به‌طور چشمگیری کاهش می‌دهد. با توجه به نتایج به‌دست آمده از درصد استحصال کیتین از بخش‌های مختلف میگو و خرچنگ، میزان رطوبت و چربی این بخش‌ها و نتایج حاصل از بررسی ظرفیت پیوند به آب و چربی کیتوزان استحصالی، هرچند میزان کیتین استخراجی از کاراپاس میگو و خرچنگ اندک بوده ولی پیشنهاد می‌شود که در تهیه کیتوزان از ترکیب هر دو بخش کاراپاس و پوسته بندها استفاده گردد زیرا در بسیاری از موارد به ترکیبی برای جذب بهتر و بالاتر آب و چربی نیاز است که این مورد در کیتوزان استحصالی کاراپاس میگو دیده شد.

نتایج سنجش درصد خاکستر (نسبت به وزن خشک) نشان داد که میزان مواد معدنی کمی (۱٪>) در کیتین استحصالی با هر دو روش وجود دارد درحالی‌که درصدخاکستر محاسبه‌شده نسبت به وزن مرطوب در هر دو روش شیمیایی استحصال کیتین بیانگر این است که در کیتین تولیدی با روش دوم، جداسازی ناخالصی‌های معدنی نسبت به روش اول، بهتر انجام شده است و بنابراین خلوص بالاتری دارد درحالی‌که روش اول، منجر به تولید بیش‌ترین مقدار کیتین شده است. کاربرد مناسب نسبت پوسته به اسید، هم‌زدن کافی ضمن تماس پوسته‌ها با اسید و هم‌چنین شستشوی مناسب مواد باقی‌مانده بر روی کاغذ صافی پس از صاف کردن، ازجمله نکات موثر بر محتوای خاکستر و از بین بردن کربنات‌ها و فسفات‌ها در نمونه کیتین است (کرباسی و همکاران، ۱۳۸۴). لذا در تحقیق حاضر، این نتیجه‌گیری به‌دست آمد که بهتر است ضمن استفاده از روش اول (به‌دلیل درصد بالاتر کیتین استحصالی)، بهینه‌سازی شرایط برای دستیابی به کیتین با خلوص‌بیش‌تر صورت گیرد. به‌طورکلی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی کیتین استحصالی به درجه حرارت‌های استفاده شده حین استخراج کیتین و مدت زمان آن، غلظت مواد شیمیایی، هم‌چنین، غلظت و اندازه ذرات پوسته خرد شده بستگی دارد (Beaulieu، ۲۰۰۵).

خاکشور و پازوکی (۱۳۹۳) میانگین درصد کیتین استحصالی از پوسته‌بخش‌های‌مختلف خرچنگ‌دریایی (*P. segnis*) را ۱۶/۳٪ گزارش دادند که از میزان به‌دست آمده در این تحقیق با هر دو روش کم‌تر است. موسوی‌نسب و همکاران (۱۳۹۳) درصد کیتین و کیتوزان به‌دست آمده از پوسته میگوی *Penaeus semisulcatus* را به‌ترتیب ۲۸/۳۶٪ و ۱۹/۴۳٪ گزارش نمودند. Kamala و همکاران (۲۰۱۳) درصد کیتین و کیتوزان استحصالی از پوسته میگوی *P. stylifera* را به‌ترتیب ۳۲٪ و ۵۴/۳۱٪ گزارش کرده بودند.

درصد استحصال کیتوزان از پوسته خرچنگ شناگر آبی در این پژوهش، ۳۱/۲٪ محاسبه شد که با نتایج تحقیقات Divya و همکاران (۲۰۱۴) که درصد کیتوزان استحصالی از خرچنگ را بین ۳۶/۷-۳۰٪ عنوان کرده بودند، مطابقت دارد (Divya و همکاران، ۲۰۱۴). آن‌ها هم‌چنین درصد کیتوزان استحصالی از ضایعات پوسته میگو را ۴۶٪ گزارش دادند که از مقدار اندازه‌گیری شده در این پژوهش بیش‌تر است. خاکشور و پازوکی (۱۳۹۳) میانگین درصد کیتوزان استحصالی پوسته خرچنگ دریایی را ۱۲/۸۶٪ عنوان کردند که از مقدار محاسبه شده در این پژوهش کم‌تر است. براساس تحقیقات انجام شده توسط Abdou و همکاران (۲۰۰۸) درصد استحصال کیتوزان از ضایعات میگو، ۲۳-۲۱٪ گزارش شده بود که از درصد کیتوزان استحصالی از میگو در این پژوهش کم‌تر است.

طبق تحقیقات انجام شده، تفاوت مشاهده شده در درصد کیتین و کیتوزان استخراج شده از پوسته میگو و خرچنگ به نوع گونه (Shahidi و Synowiecki، ۱۹۹۱)، جنس (خاکشوروهمکاران، ۱۳۹۱)،

اندازه، زیستگاه و تفاوت‌های فصلی (Felicity و همکاران، ۲۰۰۷) بستگی دارد. زمان واکنش نیز اثر مثبتی بر روی درصد کیتین و کیتوزان استحصالی از پوسته دارد (Yenو همکاران، ۲۰۰۹).

در این پژوهش، درجه داستیلاسیون کیتوزان تولیدی خرچنگ ۵۲/۶۳٪ و میگو ۴۵٪ و کیتوزان تجاری سیگما ۷۲٪ محاسبه شد. درجه داستیلاسیون کیتوزان به جهت نشان دادن بارکاتیونی مولکول بعد از انحلال در اسیدضعیف، بسیارمهم‌می‌باشد(Beaulieu، ۲۰۰۵). Muslim و همکاران (۲۰۱۳) درجه داستیلاسیون کیتوزان تجاری معمولی را بین ۹۵-۶۶٪ گزارش دادند (Muslim و همکاران، ۲۰۱۳). Revathi و همکاران (۲۰۱۲) درجه داستیلاسیون کیتوزان استخراج شده از میگوی *Metapenaeus dobsoni* را ۵۵/۹۵٪ گزارش دادند که ازدرجه داستیلاسیون میگوی پژوهش حاضر، بیش‌تر است. Mirzadeh و همکاران (۲۰۰۲) روشی ساده را برای استخراج کیتین و کیتوزان از میگوی خلیج فارس عنوان کردند که درجه داستیلاسیون کیتوزان تولیدی در آن، ۴۳٪ گزارش شده است. Atanada و Sumaila (۲۰۱۶) میزان درجه داستیلاسیون کیتوزان از میگوی *Penaeus notialis* را بیش‌تر از ۵۰٪ گزارش دادند. لازم به‌ذکر است که استفاده از روش‌هایی نظیر NMR میزان درجه داستیلاسیون را به‌طور دقیق‌تری نشان می‌دهند ولی با توجه به هزینه‌های بالای آن بسیاری از تولیدکننده‌ها از روش تیتراسیون اسید- باز یا رنگ‌سنجی به‌عنوان سریع‌ترین و آسان‌ترین روش استفاده می‌کنند. درجه داستیلاسیون با توجه به مدت زمان و دمای واکنش ، غلظت هیدروکسیدسدیم استفاده شده و نوع منبع پوسته کیتینی می‌تواند متفاوت باشد (Beaulieu، ۲۰۰۵).

به‌طورکلی، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که کیتوزان تجاری سیگما، WBC (۵۶۴٪) کم‌تری نسبت به کیتوزان تولیدی از میگو (۵۶۸٪) و خرچنگ (۵۷۱٪)دارد. مقایسه FBC کیتوزان تجاری سیگما و کیتوزان‌های تولیدی در این پژوهش نیز نشان می‌دهد که کیتوزان تجاری سیگما، FBC (۴۵۰٪) کم‌تری نسبت به کیتوزان تولیدی از میگو(۴۶۵٪) و خرچنگ (۴۵۰٪) دارد. وزن مولکولی (MW) کیتوزان یکی از ویژگی‌های مهم است که تا حد زیادی بر خواص شیمیایی و فیزیولوژیکی آن تاثیر می‌گذارد. وزن مولکولی کیتوزان متناسب با ویسکوزیته آن است. امروزه، مطالعاتی وجود دارد که اثبات می‌کند پلی‌ساکاریدهای چسبنده می‌توانند به‌خوبی با چربی و کلسترول پیوند دهند(Kanauchi و همکاران، ۱۹۹۵). وزن مولکولی کیتین بومی بیش از یک کیلو دالتون گزارش شده است با این‌حال واکنش‌های شیمیایی سخت، منجربه پایین‌آوردن وزن مولکولی کیتوزان می‌شوند. به‌عبارتی وزن مولکولی کم می‌تواند با روش‌هایی نظیر واکنش‌های آنزیمی یا شیمیایی حاصل گردد. زمانی‌که زنجیره مولکولی کوتاه می‌شود، تمایل پیوند کیتوزان به پیوند با آب و انحلال با آن افزایش می‌یابد (Roberts، ۱۹۹۲).به‌طورکلی،وزن‌مولکولی کیتوزان باژل تراوا(Gel permeation)، اندازه‌گیری کروماتوگرافی، پراکندگی‌نور و ویسکوزیتی‌سنجیده‌می‌شود (Beaulieu، ۲۰۰۵).بنابراین پیشنهادمی‌گردد تحقیقات تکمیلی جهت بررسی وزن مولکولی و درجه خلوص کیتوزان‌های مورد آزمایش انجام شوند.

Kumariو همکاران(۲۰۱۶)میزان WBC کیتوزان میگوی *Caragon caragon* را ۳۵۸٪ و کیتوزان تجاری‌را ۵۲۰٪ گزارش‌دادندکه‌از WBC کیتوزان‌های مورد بررسی در این پژوهش، کم‌تر است. Cho و همکاران (۱۹۹۸)و Noو همکاران(۲۰۰۰) ظرفیت پیوندآب به کیتوزان را حدود ۶۱۱-۳۵۵٪ گزارش دادند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. Noو همکاران(۲۰۰۳)علت کاهش WBC راخصوصیات‌فیزیکوشیمیایی خاص کیتین و کیتوزان دانستند که خواص عملکردی آن‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد و این در بین گونه‌ها و روش‌های مختلف استخراج کیتین و کیتوزان، متفاوت است (No و همکاران، ۲۰۰۳). در حقیقت زمانی WBC افزایش پیدا می‌کند که مرحله حذف مواد معدنی قبل از مرحله حذف مواد پروتئینی در جریان تولید کیتین و بعد از آن داستیلاسیون‌باشد(Tajikو همکاران، ۲۰۰۸)، ازطرفی‌فرایندرنگ‌زدایی بر روی کاهش WBC تاثیرگذار است (Rout و همکاران، ۲۰۰۱).

Cho و همکاران (۱۹۹۸) ظرفیت پیوند با چربی کیتوزان را ۵۳۵-۳۱۴٪ گزارش دادند که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. Rout (۲۰۰۱) میانگین FBC کیتوزان تجاری را ۵۸۷٪ گزارش داد که با توجه به نتایج این پژوهش، از FBC خرچنگ مورد نظر (۶۰۹٪) کم‌تر ولی از FBC کیتوزان میگوی مورد پژوهش (۴۶۵٪)، بیش‌تر است. وی هم‌چنین FBC کیتوزان خرچنگ آب شیرین را (۷۰۶٪) گزارش داد که از FBC کیتوزان‌های تولیدی بیش‌تر است. FBC و WBC به منبعی‌که از آن کیتوزان گرفته‌شده،بستگی‌دارند(Kumari و همکاران، ۲۰۱۶).

سالانه حجم وسیعی از دور ریزهای حاوی مواد کیتینی میگو و خرچنگ تولید می‌شود که کشورها را در جهت بهره‌برداری از این منابع برای تولید کیتین و کیتوزان سوق می‌دهد. امروزه روش‌های شیمیایی متعددی در مقیاس صنعتی برای تولید کیتین و کیتوزان استفاده می‌شود که در این روش‌ها، افزایش سرعت تولید، افزایش خلوص و حداکثر بازده تولید حائز اهمیت است. در مطالعه حاضر دو روش مختلف با تولید حداکثری کیتین و دیگری با درصد خلوص بیش‌تر، از بخش‌های مختلف اسکلت خارجی میگو و خرچنگ مورد بررسی قرار گرفت. استفاده از پوسته بندهای میگو و پاهای راه‌روی خرچنگ با روش اول، جهت تولید حداکثر کیتین پیشنهاد می‌شود اما برای کاربردهای انسانی ازجمله پزشکی و صنایع غذایی با توجه به این‌که درصدخلوص (محتوای خاکستر تولید شده)، محتوای

فلزات سنگین و میزان رطوبت از اهمیت ویژه‌ای برخورد است، روش دوم پیشنهاد می‌گردد. تحقیق حاضر و انجام موارد مشابه حوزه فناوری زیستی دریا می‌توانند در جهت پیشبرد اهداف اقتصاد مبتنی بر دانش، در کشور راهگشا بوده و علاوه بر حذف معضلات زیست‌محیطی به تولید با ارزش محصولات دریایی نیز منجر شوند.

منابع

۱. **پورمراد، ف.؛ ابراهیمی، پ.؛ ابراهیم‌زاده، م.ع.؛ هنری، س. و اورنگیان، م.، ۱۳۸۴.** تعیین درجه داستیلاسیون کیتوسان تهیه شده از پوست میگو. مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندان. دوره ۱۵، شماره ۵۰، صفحات ۲۷ تا ۳۴.

۲. **خاکشور، م.ص. و پازوکی، ج.، ۱۳۹۵.** بررسی و مقایسه خواص میکروبی کیتین و کیتوزان استخراج شده از بخش‌های مختلف اسکلت خارجی خرچنگ شناگر آبی (*Portunus segnis*) از منطقه بندرعباس. مجله زیست‌شناسی دریا. دوره ۸، شماره ۱، صفحات ۹ تا ۲۰.

۳. **خاکشور، م. ص. و پازوکی، ج.، ۱۳۹۳.** استخراج ترکیبات کیتین کیتوزان موجود در اسکلت خارجی خرچنگ شناگر آبی (*Portunus segnis* Forskal, 1775) منطقه بندرعباس-خلیج فارس. محیط زیست جانوری. دوره ۶، شماره ۱، صفحات ۱۱ تا ۱۸.

۴. **خاکشور، م.ص.؛ پازوکی، ج.؛ طادی، ف. و طاهری، س.، ۱۳۹۱.** مقایسه میزان کیتین و کیتوزان استخراج شده در بین جنس‌های نر و ماده، اندام‌های مختلف و فصول متفاوت صید خرچنگ *Portunus Segnis*، خلیج فارس. همایش ملی فرآورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی. مقالات دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی.

۵. **طاهری، ع.؛ سیفان، ا. و جلالی‌نژاد، س.، ۱۳۹۲.** اثر ضدمیکروبی و ضدقارچی کیتوزان محلول در اسیدوآب پوسته میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*). مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا. سال ۳، شماره ۱، صفحات ۴۹ تا ۵۵.

۶. **غیاث‌الدین، ع.؛ شجاع‌الساداتی، س.ع. و واشقانی‌فراهانی، ا.، ۱۳۹۰.** اصلاح و بهینه‌سازی فرایند استخراج کیتین از پوسته میگو. نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران. دوره ۳۰، شماره ۱، صفحات ۱ تا ۹.

۷. **کرباسی، ا.؛ برزگر. ح. و مصباحی، غ.، ۱۳۸۴.** مقایسه کیتوزان تولیدی از پوسته میگو به‌عنوان قوام دهنده درسس مایونز با کیتوزان تجاری و CMC. فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران. دوره ۲، شماره ۳، صفحات ۶۷ تا ۷۹.

۸. **موسوی‌نسب، م.؛ موسوی‌نسب، س.س.؛ مصباحی، غ. و جمالیان، ج.، ۱۳۹۳.** ارزیابی خصوصیات کیفی کیتوزان تولیدی از پوسته میگو و کیتوزان تجاری از خرچنگ. فصلنامه علوم و صنایع غذایی. شماره ۴۵، دوره ۱۱، صفحات ۱۶۳ تا ۱۷۴.

۹. **Abdou, E.S.; Nagy, K.S.A. and Elsabee, M.Z., 2008.** Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. Bioresource. Technolog. Vol. 99, No. 5, pp: 1359-1367.

۱۰. **Alishahi, A.; Mirvaghefi, A.; Tehrani, M.R.; Farahmand, H.; Shojaosadati, S.A.; Dorkoosh, F.A. and Elsabee, Z., 2001**. Enhancement and characterization of chitosan Extraction from the wastes of shrimp packaging plants. Journal of Polymers and the Environment. Vol. 19, pp: 776-783.

۱۱. **A.O.A.C. 1990.** Official methods of Association of official Analytical Chemist Washington, D.C.

۱۲. **Atanda, S.A. and Sumaila, P.P.M., 2016.** Development and Characterization of Chitosan from Shrimp Exoskeleton. Academica Editores: Acta Velit. Vol. 2, No. 3, pp: 2-12.

۱۳. **Beaulieu, C., 2005.** Chitin and Chitosan. Marinard Biotech. pp: 1-7.

۱۴. **Bolat, Y.; Bilgin, S.; Günlü, A.; Izci, L.; Koca, S.B.; Çetinkaya, S. and Koca, H.U., 2010.** Chitin-Chitosan Yield of Freshwater Crab (*Potamon potamios*, Olivier 1804) Shell. Pakistan Veterinary Journal. Vol. 30, pp: 227-231.

۱۵. **Burrows, F.; Louime, C.M. and Onokpise, O., 2007.** Extraction and Evaluation Abasing of chitosan from Crab Exoskeleton as a Seed Fungicide and Plant Growth Enhancer. American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences. Vol. 2, pp: 103-111.

۱۶. **Cho, H.R.; Chang, D.S.; Lee, W. D.; Jeong, E.T. and Lee, E.W., 1998.** Utilization of chitosan hydrolysate as a natural food preservative for fish meat paste products. Korean Journal of Food Science and Technology. Vol. 30, pp: 817-822.

۱۷. **Cho, Y.I.; No, H.K. and Meyers, S.P., 1998.** Physicochemical characteristics and Functional properties of various commercial chitin and chitosan products. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 46, pp: 3839-3843.

۱۸. **Divya, K.; Rebello, S. and Jisha, M.S., 2014.** A Simple and Effective Method for Extraction of High Purity Chitosan from Shrimp Shell Waste. Institute of Research Engineers and Doctors. Proc. Of the Intl. Conf. On Advances in Applied Science and Environmental Engineering- ASEE.

۱۹. **Felicity, B.; Clifford, L.; Michael, A. and Oghenekome, O., 2007.** Extraction and evaluation of chitosan from exoskeleton as a seed fungicide and plant growth enhancer American-Eurasian. American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences. Vol. 2, pp: 103-111.

۲۰. **Hossain, M.S. and Iqbal, A., 2014.** Preparation and characterization of chitosan from shrimp waste. Journal of Bangladesh Agricultural research. Vol. 12, pp: 153-160.

۲۱. **Jiang, T.D., 2001.** Chitosan; Chemical industry press: Beijing, China. Vol. 91, pp: 100-108.

۲۲. **Kanauchi, O.; Deuchi, K.; Imasato, Y.; Shizukuishi, M. and Kobayashi, E., 1995.** Mechanism for the inhibition of fat digestion by chitosan and for the synergistic effect of ascorbate. Biosci Biotechnol Biochem. Vol. 59, No. 5, pp: 786-790.

۲۳. **Kamala, K.; Sivaperumal, P. and Rajaram, R., 2013.** Extraction and Characterization of Water Soluble Chitosan from Parapeneopsis Stylifera Shrimp Shell Waste and Its Antibacterial Activity. International Journal of Scientific and Research Publications. Vol. 3, No. 4, pp: 1-8.

۲۴. **Kaya, M.; Baran, T. and Karaarslan., 2015.** A new method for fast chitin extraction from shells of crab, crayfish and

۲۵. **Khor, E., 2001.** Chitin: fulfilling a biomaterials promise. Amsterdam: Elsevier Science. 10.

۲۶. **Kumari, S.; Rath, P. and Kumar, A.S.H., 2016.** Chitosan from shrimp shell (*Crangon crangon*) and fish scales (Labeorohita): Extraction and characterization. African. Journal of Biotechnology. Vol. 15, pp: 1258-1268.

۲۷. **Kurita, K., 2006.** Chitin and chitosan: Functional biopolymers from marine crustaceans. Marine Biotechnology. Vol. 8, pp: 203-226.

۲۸. **Lertsutthiwong, P.; How, N.C.; Chandrkrachang, S.F. and Stevens, W., 2002.** Effect of Chemical Treatment on the Characteristics of Shrimp Chitosan. Journal of Metals, Materials and Minerals. Vol. 12, No. 1, pp: 11-18.

۲۹. **Limpanavech, P.; Chaiyasuta, S.; Vongpromek, R.; Pichyangkura, R.; Khunwasi, Ch.; Chadchawan, S.; Lotrakul, P.; Bunjongrat, R.; Chaidee, A. and Bangyeekhun, T., 2008.** Chitosan effects on floral production, gene expression and anatomical changes in the Dendrobium orchid. Scientia Horticulturae. Vol. 116, pp: 65-72.

۳۰. **Mahdy Samar, M.; El-Kalyoubi, M.H.; Khalaf, M.M. and Abd El-Razik, M.M., 2013.** Physicochemical, functional, antioxidant and antibacterial properties of chitosan extracted from shrimp wastes by microwave technique. Annals of Agricultural and Science. Vol. 58, pp: 33-41.

۳۱. **Mirzadeh, H.; Yaghoubi, N.; Amanpour, S.; Ahmadi, H.; Mohagheghi, M.A. and Hormozi, F., 2002.** Preparation of chitosan derrived from shrimp's shell Persian Gulf as Blood Hemostasis Agent. Iranian Polymer Journal. Vol. 11, pp: 63-68.

۳۲. **Muslim, T.; Rahman, M.H.; Begum, H.A. and Rahman, M.A., 2013.** Chitosan and carboxymethyl chitosan from fish scales of *Labeo rohita*. Dhaka University Journal and Science. Vol. 61, pp: 145-148.

۳۳. **No, H.K.; Cho, Y.I.; Kim, H.R. and Meyers, S.P., 2000.** Effective deacetylation of chitin under conditions of 15 psi/121oC. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 48, pp: 2625-2627.

۳۴. **No, H.K.; Lee, S.H.; Park, N.Y. and Meyers, S.P., 2003.** Comparison of physichemical, binding, and antibacterial properties of chitosans prepared without and with deproteinization process. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 51, pp: 7659-7663.

۳۵. **Pariser, E.R. and Lombordi, D.P., 1988.** A guide to the research literature chitin, Source book. Plenum Press. New York, U.S.A. 560 p.

۳۶. **Revathi, M.; Saravanan, R. and Shanmugam, A., 2012.** Production and characterization of chitinase from Vibrio species, a head waste of shrimp *Metapenaeus dobsonii* (Miers, 1878) and chitin of Sepiella inermisOrbign, 1848. Advances in Bioscience and Biotechnology. Vol. 3, pp: 392-397.

۳۷. **Roberts, G.A.F., 1992.** Chitin Chemistry .Macmillan . London.

۳۸. **Rout, S.K., 2001.** Physicochemical, functional, and spectroscopic analysis of crawfish chitin and chitosan as affected by process modification. Louisiana State University: Baton Rouge, LA, USA.

۳۹. **Shahidi, F. and Synowiecki, J., 1991.** Isolation and characterization of nutrient and value-added products from snow crab) (*Chionoecetes opilio*) and shrimp (*Pandalus borealis*) processing discards. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 39, pp: 1527-1532.

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

۴۱. **Tajik, H.; Moradi, M.; Razavi Rohani, S.M.; Erfani, A.M. and Shokouhi Sabet Jalali, F., 2008.** Preparation of chitosan from brine shrimp (*Artemia uremiana*) cyst shells and effects of different chemical processing sequences on the physicochemical and functional properties of the product. Molecules. Vol. 10, pp: 1263-1274.

۴۲. **Wang, X. and Xing, B., 2007.** Importance of structural makeup of biopolymers for organic contaminant sorption. Environmental Science and Technology. Vol. 41, pp: 3559-3565.

۴۳. **Webster, C.; Onokpise, O.; Abazinge, M.; Muchovej, J.; Johnson, E. and Louime, C., 2014.** Turning waste in to usable products: A case study of extracting chitosan from blue crab. American Journal of Environmental Science. Vol. 10, pp: 357-362.

۴۴. **Yen, M.T.; Yang, T.J. and Mau, J.L., 2009.** Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells. Carbohydrate Polymers. Vol. 75, pp: 15-21.

shrimp. Natural Product Research: Formerly Nat. Prod. Lett. pp: 1-4.