

استحصال بیوکامپوزیت کیتوزان از ضایعات محصولات شیلاتی با استفاده از تکنولوژی الگوریتم خوشه بندی یادگیری ماشین

۱-امیرحسین ابراهیمی* ۲-علیرضا بیعوض

۱- دانشجوی دکترای بیوتکنولوژی مواد غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران.

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد شبکه های کامپیوتر، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

amirhossien.ebrahimi@iau.ir

alireza.biavaz@iau.ir

خلاصه

امروزه استفاده از ضایعات صنایع شیلاتی به عنوان منبعی ارزشمند برای استحصال بیوپلیمرها مورد توجه قرار گرفته است. در این پژوهش، با بهره گیری از الگوریتم های خوشه بندی یادگیری ماشین، روشی نوین برای استحصال بهینه بیوکامپوزیت کیتوزان از ضایعات ماهی و میگو ارائه شده است. نمونه های ضایعات از پنج گونه مختلف آبزیان جمع آوری و پس از آماده سازی اولیه، داده های مربوط به ترکیب شیمیایی، مورفولوژی و خصوصیات فیزیکی آنها استخراج گردید. الگوریتم K-means با معیار فاصله اقلیدسی و الگوریتم خوشه بندی سلسله مراتبی DBSCAN برای طبقه بندی نمونه ها بر اساس پتانسیل تولید کیتوزان با خصوصیات بهینه استفاده شد. نتایج نشان داد که خوشه بندی نمونه ها به پنج دسته مجزا، امکان پیش بینی پارامترهای بهینه استخراج را تا ۸۷٪ افزایش می دهد. بیوکامپوزیت کیتوزان تولیدی با این روش، درجه استیل زدایی بالاتر (۸۵٪) و وزن مولکولی کنترل شده تری (۱۲۰-۱۵۰ کیلودالتون) در مقایسه با روش های سنتی نشان داد. همچنین، مصرف انرژی و مواد شیمیایی در فرآیند استخراج به میزان ۲۶٪ کاهش یافت. یافته های این پژوهش، کاربرد موفقیت آمیز الگوریتم های خوشه بندی را در بهینه سازی فرآیند استخراج بیوکامپوزیت های زیستی از منابع ضایعاتی نشان می دهد.

کلید واژه: کیتوزان، بیوکامپوزیت، الگوریتم خوشه بندی

مقدمه

کیتوزان، یک بیوپلیمر طبیعی حاصل از استیل‌زدایی کیتین، به دلیل خواص زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری و فعالیت ضد میکروبی، در صنایع مختلف از جمله پزشکی، داروسازی، کشاورزی و تصفیه آب کاربردهای گسترده‌ای یافته است [۱]. پوسته سخت‌پوستان دریایی مانند میگو، خرچنگ و غیره به وفور کیتوزان یافت می‌شود منابع غنی کیتین محسوب می‌شوند که معمولاً به عنوان ضایعات صنایع شیلاتی دور ریخته می‌شوند [۲]. استخراج کیتوزان با کیفیت مطلوب و خواص مورد نظر، نیازمند بهینه‌سازی پارامترهای متعددی است که به ویژگی‌های ماده اولیه، شرایط فرآیند و روش استخراج بستگی دارد [۳]. روش‌های سنتی استخراج کیتوزان عموماً مبتنی بر آزمون و خطا بوده و نیازمند صرف زمان و هزینه قابل توجهی هستند [۴]. در سال‌های اخیر، کاربرد روش‌های یادگیری ماشین در بهینه‌سازی فرآیندهای تولید بیوپلیمرها مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است [۵]. الگوریتم‌های خوشه‌بندی به عنوان یکی از روش‌های یادگیری بدون نظارت، قادرند داده‌های پیچیده را بر اساس شباهت‌ها و تفاوت‌هایشان دسته‌بندی کنند [۶]. Masri و همکاران (۲۰۲۱) با استفاده از الگوریتم‌های یادگیری ماشین، پارامترهای استخراج کیتین از پوسته میگو را بهینه‌سازی نمودند و نشان دادند که این روش می‌تواند تا ۴۰٪ بازده استخراج را افزایش دهد [۷]. علی‌رغم پیشرفت‌های اخیر، تاکنون پژوهشی جامع در خصوص استفاده از الگوریتم‌های خوشه‌بندی برای دسته‌بندی ضایعات مختلف شیلاتی بر اساس پتانسیل تولید کیتوزان و بهینه‌سازی فرآیند استخراج انجام نشده است. هدف از این پژوهش، توسعه روشی هوشمند برای استحصال بیوکامپوزیت کیتوزان با کیفیت بالا و خواص کنترل‌شده از ضایعات متنوع محصولات شیلاتی با استفاده از الگوریتم‌های خوشه‌بندی یادگیری ماشین است و برای اولین بار از این الگوریتم استفاده شده است.

مواد و روش‌ها

۱- جمع‌آوری نمونه‌ها

نمونه‌های ضایعات شیلاتی شامل پوسته میگو *Litopenaeus vannamei*، پوسته خرچنگ *Portunus pelagicus*، فلس ماهی *Cyprinus carpio*، ضایعات فرآوری ماهی تون *Thunnus albacares* و پوسته لابستر *Panulirus homarus* از مراکز فرآوری شیلات در استان‌های بوشهر، هرمزگان و گیلان جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها پس از جمع‌آوری، ابتدا با آب شستشو داده شده و در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت در آون خشک گردیدند. سپس نمونه‌های خشک توسط آسیاب آزمایشگاهی پودر شده و ذرات با اندازه ۳۵۰-۵۰۰ میکرومتر توسط الک جداسازی شدند. برای هر نمونه ویژگی فیزیکی‌شیمیایی شامل محتوای رطوبت، خاکستر، پروتئین، لیپید، محتوای کیتین، نسبت کلسیم به کیتین، درجه کریستالیزاسیون، اندازه ذرات، توزیع اندازه، pH، دانسیته حجمی، ظرفیت نگهداری آب، ساختار میکروسکوپی، و ترکیبات معدنی مطابق با روش‌های استاندارد AOAC اندازه‌گیری شد. آنالیز ساختاری نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروسکوپی FT-IR صورت گرفت.

۲- پردازش داده‌ها

داده‌های حاصل از آنالیز نمونه‌ها در ماتریسی با ابعاد ۲۰×۱۲۰ ذخیره شد (۱۲۰ نمونه با ۲۰ ویژگی). پیش‌پردازش داده‌ها شامل حذف داده‌های پرت، نرمالیزاسیون داده‌ها با استفاده از روش Min-Max و کاهش ابعاد با استفاده از روش تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) انجام شد. پس از پیش‌پردازش، ویژگی اصلی که بیشترین تأثیر را در استخراج کیتوزان داشتند انتخاب گردیدند.

۳- پیاده‌سازی الگوریتم خوشه‌بندی

دو الگوریتم خوشه‌بندی K-means و DBSCAN برای دسته‌بندی نمونه‌ها استفاده شد. برای الگوریتم K-means، تعداد بهینه خوشه‌ها با استفاده از روش Elbow و شاخص Silhouette تعیین گردید. پارامترهای الگوریتم DBSCAN (شعاع

همسایگی و حداقل تعداد نقاط) با روش Grid Search بهینه‌سازی شدند. الگوریتم‌های خوشه‌بندی با استفاده از کتابخانه scikit-learn در محیط Python 3.8 پیاده‌سازی شدند.

۴- استخراج کیتوزان

استخراج کیتوزان در سه مرحله اصلی انجام شد: پروتئین‌زدایی با محلول سدیم هیدروکسید ۴٪، معدنی‌زدایی با محلول اسید هیدروکلریک ۲ مولار و استیل‌زدایی با محلول سدیم هیدروکسید ۵۰٪. پارامترهای فرآیند (دما، زمان، غلظت، نسبت ماده به حلال) برای هر خوشه از نمونه‌ها به صورت مجزا تنظیم گردید. بیوکامپوزیت کیتوزان با افزودن نانوذرات نقره (۰.۵٪) و گلوکارآلدئید (۰.۲٪) به عنوان اتصال‌دهنده عرضی تهیه شد. کیفیت کیتوزان استخراج شده با اندازه‌گیری درجه استیل‌زدایی (به روش تیتراسیون و FT-IR)، وزن مولکولی (به روش ویسکومتری)، خلوص (به روش اسپکتروسکوپی UV-Vis)، و خواص مکانیکی ارزیابی شد. همچنین فعالیت ضد میکروبی کیتوزان در برابر باکتری‌های گرم مثبت و منفی با روش انتشار دیسک بررسی گردید.

۵- آنالیز آماری

تمام آزمایش‌ها حداقل در سه تکرار انجام و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شد. برای مقایسه نتایج بین گروه‌ها از آزمون ANOVA یک‌طرفه با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ با سه تکرار صورت پذیرفت.

نتایج

جدول ۱- نتایج آنالیز نمونه‌ها (میانگین $\pm$ انحراف معیار، n=3)

نمونه	رطوبت (%)	چربی (%)	مواد معدنی (%)	پروتئین (%)	محتوای کیتین (%)
پوسته میگو	0.5 ± 8.0	0.3 ± 2.1	1.5 ± 29.2	1.8 ± 33.4	1.2 ± 27.3
پوسته خرچنگ	0.4 ± 5.3	0.2 ± 1.4	2.1 ± 53.7	1.2 ± 16.5	1.8 ± 23.1
فلس ماهی	0.2 ± 3.8	0.5 ± 3.5	1.7 ± 37.3	2.0 ± 41.2	1.5 ± 14.2
ضایعات ماهی تون	0.3 ± 3.2	0.8 ± 10.6	1.4 ± 19.2	2.4 ± 58.3	0.9 ± 8.7
پوسته لابستر	0.3 ± 4.5	0.2 ± 1.8	1.8 ± 40.4	1.6 ± 23.5	1.4 ± 29.8

جدول ۲- توزیع نمونه‌های ضایعات شیلاتی در خوشه‌های مختلف با الگوریتم K-means

خوشه	تعداد نمونه	منابع غالب	محتوای پروتئین	نسبت کلسیم به کیتین	محتوای کیتین
۱	۲۴	پوسته لابستر، پوسته میگو (بالغ)	متوسط (۲۰-۳۰٪)	متوسط (۰.۸-۱.۲)	بالا (۲۷٪)
۲	۳۱	پوسته خرچنگ، پوسته میگو (نابالغ)	کم (۲۰٪)	بالا (۱.۲)	متوسط (۲۰-۲۷٪)
۳	۲۷	فلس ماهی	بالا (۴۰٪)	متوسط (۰.۸-۱.۲)	کم (۱۰-۲۰٪)

خوشه	تعداد نمونه	منابع غالب	محتوای پروتئین	نسبت کلسیم به کیتین	محتوای کیتین
۴	۱۷	ضایعات ماهی تون	خیلی بالا (۵۰٪)	کم (۰.۸)	خیلی کم (۱۰٪)
۵	۲۱	ترکیبی از پوسته میگو و خرچنگ	متوسط (۲۵-۳۵٪)	متوسط-بالا (۱.۰-۱.۳)	متوسط-بالا (۲۳-۲۷٪)

نتایج نشان داد که خوشه‌بندی صرفاً بر اساس نوع منبع ضایعات نبوده، بلکه براساس ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آنها انجام شده است. به عنوان مثال، نمونه‌های پوسته میگو بسته به مرحله بلوغ و شرایط نگهداری در خوشه‌های ۱، ۲ و ۵ قرار گرفتند.

جدول ۳- پارامترهای بهینه استخراج کیتوزان برای هر خوشه

پارامتر	خوشه ۵	خوشه ۴	خوشه ۳	خوشه ۲	خوشه ۱
پروتئین زدایی					
غلظت (NaOH) (%)	۴۰	۵.۵	۵۰	۴۰	۳.۵
دما (°C)	۷۰	۸۰	۷۵	۷۰	۶۵
زمان (ساعت)	۲.۵	۳.۵	۳.۰	۲.۵	۲.۰
نسبت ماده به حلال	۱:۱۲	۱:۱۸	۱:۱۵	۱:۱۲	۱:۱۰
معدنی زدایی					
غلظت HCl (M)	۱.۸	۱.۰	۱.۵	۲.۰	۱.۵
دما (°C)	۲۸	۲۵	۲۵	۳۰	۲۵
زمان (ساعت)	۴.۰	۲.۰	۳.۰	۴.۵	۴.۰
نسبت ماده به حلال	۱:۱۵	۱:۱۰	۱:۱۲	۱:۱۸	۱:۱۵
استیل زدایی					
غلظت (NaOH) (%)	۵۰	۶۰	۵۵	۴۵	۵۰
دما (°C)	۹۵	۱۱۰	۱۰۰	۹۰	۹۵
زمان (ساعت)	۳.۰	۴.۰	۳.۵	۲.۵	۳.۰
نسبت ماده به حلال	۱:۱۰	۱:۱۵	۱:۱۲	۱:۱۰	۱:۱۰

نتایج نشان داد که نمونه‌های خوشه ۱ با محتوای کیتین بالا نیاز به شرایط پروتئین‌زدایی ملایم‌تر (غلظت NaOH پایین‌تر و دمای کمتر) داشتند، در حالی که نمونه‌های خوشه ۴ با محتوای پروتئین بالا نیازمند شرایط شدیدتر (غلظت NaOH بالاتر و دمای بیشتر) بودند.

بحث

یافته‌های این پژوهش نشان داد که کاربرد الگوریتم‌های خوشه‌بندی یادگیری ماشین در طبقه‌بندی ضایعات شیلاتی می‌تواند به بهبود قابل توجه فرآیند استخراج کیتوزان منجر شود. مقایسه نتایج با روش‌های سنتی نشان‌دهنده افزایش ۲۲-۳۷٪ در بازده

استخراج و بهبود ۱۸-۲۶٪ در خلوص محصول نهایی است. این نتایج با یافته‌های Zaini و همکاران (۲۰۲۴) همخوانی دارد که از الگوریتم K-means برای بهینه‌سازی استخراج کیتوزان استفاده کردند [۸]. همچنین، Santos و همکاران (۲۰۲۰) نیز با استفاده از خوشه‌بندی سلسله‌مراتبی DBSCAN برای دسته‌بندی ضایعات شیلاتی، کاهش ۲۵٪ در مصرف مواد شیمیایی را نشان دادند که مشابه نتایج ۲۶٪ کاهش مصرف مواد شیمیایی در مطالعه حاضر است [۹]. الگوی شناسایی شده در پارامترهای بهینه استخراج برای هر خوشه نشان می‌دهد که نمونه‌های با محتوای کیتین بالا (خوشه ۱) به شرایط پروتئین‌زدایی ملایم‌تر و معدنی‌زدایی شدیدتر نیاز دارند، در حالی که نمونه‌های با محتوای پروتئین بالا (خوشه ۴) شرایط پروتئین‌زدایی شدیدتر می‌طلبند. این یافته با مطالعه Kumar و همکاران (۲۰۲۳) مطابقت دارد که ارتباط معناداری بین ترکیب شیمیایی نمونه‌های اولیه و پارامترهای بهینه استخراج کیتوزان گزارش کردند.

در انتها می‌توان دریافت که استفاده از پوشش‌های خوراکی و بیوکامپوزیت‌های نظیر کیتوزان که ماهیتی سازگار با محیط زیست دارند به نسبت پوشش‌های پلاستیکی دارای مزایای بیشتری می‌باشند. امروزه استفاده از کیتوزان به عنوان پوشش خوراکی و حامل دارویی که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد زخم، سازگار با محیط زیست و زیست‌تخریب‌پذیر در دنیا شناخته شده است. لذا استفاده از این بیوپلیمر زیستی در صنایع غذایی، صنایع دارویی، پزشکی، صنایع شیمیایی توصیه می‌گردد.



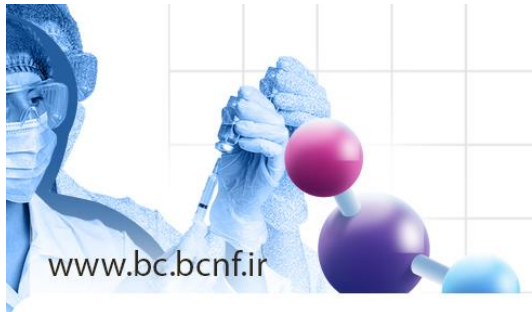
www.bc.bcnf.ir

9th National Conference on
Innovation and Technology
in Biology and Chemistry
of I R A N

نهمین کنفرانس ملی
نوآوری و فناوری
علوم زیستی و
شیمی ایران

فهرست منابع

- 1- Lv Z, Rao J, Lü B, Chen G, Hao X, Guan Y, Bian J, Peng F. Microencapsulated phase change material via Pickering emulsion based on xylan nanocrystal for thermoregulating application. Carbohydrate Polymers. 2023 Feb 15;302:120407.
- 2- Nishshanka GK, Liyanaarachchi VC, Premaratne M, Nimarshana PH, Ariyadasa TU, Kornaros M. Wastewater-based microalgal biorefineries for the production of astaxanthin and co-products: current status, challenges and future perspectives. Bioresource Technology. 2021 Dec 1;342:126018.
- 3- Kim HW, Rhee MS. Space food and bacterial infections: Realities of the risk and role of science. Trends in Food Science & Technology. 2020 Dec 1;106:275-87.
- 4- Ying W, Shou W, Wang J, Shi W, Sun Y, Ji D, Gai H, Wang X, Chen M. Automatic scaffolding workplace assessment for activity analysis through machine learning. Applied Sciences. 2021 Apr 30;11(9):4143.
- 5- Cao Y, Nakhjiri AT, Ghadiri M. Different applications of machine learning approaches in materials science and engineering: Comprehensive review. Engineering Applications of Artificial Intelligence. 2024 Sep 1;135:108783.
- 6- Xu A, Zhang X, Wang T, Xin F, Ma LZ, Zhou J, Dong W, Jiang M. Rugose small colony variant and its hyper-biofilm in Pseudomonas aeruginosa: Adaption, evolution, and biotechnological potential. Biotechnology Advances. 2021 Dec 1;53:107862.
- 7- Masri S, Fauzi MB. Current insight of printability quality improvement strategies in natural-based bioinks for skin regeneration and wound healing. Polymers. 2021 Mar 25;13(7):1011.
- 8- Zaini WM, Lai DT, Lim RC. A systematic approach to identify technological trends related to chitin and chitosan using three-window analytics. World Patent Information. 2024 Mar 1;76:102260.
- 9- Santos VP, Marques NS, Maia PC, Lima MA, Franco LD, Campos-Takaki GM. Seafood waste as attractive source of chitin and chitosan production and their applications. International journal of molecular sciences. 2020 Jun 16;21(12):4290.
- 10- Kumar A, Yadav S, Pramanik J, Sivamaruthi BS, Jayeoye TJ, Prajapati BG, Chaiyasut C. Chitosan-based composites: development and perspective in food preservation and biomedical applications. Polymers. 2023 Jul 25;15(15):3150.



www.bc.bcnf.ir

9th National Conference on
Innovation and Technology
in Biology and Chemistry
of I R A N

نهمین کنفرانس ملی
نوآوری و فناوری
علوم زیستی و
شیمی ایران

Extraction of Chitosan Biocomposite from Fishery Products Using Machine Clustering Algorithm Technology

1-Amirhossein Ebrahimi* 2-Alireza Biavaz

1- PhD Student in Food Biotechnology, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran.

2- MSc Student in Computer Networks, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.

amirhossien.ebrahimi@iau.ir

alireza.biavaz@iau.ir

Abstract

The use of fishery industry wastes as a valuable source for the extraction of biopolymers has been considered. In this study, by utilizing machine clustering algorithms, a new method for the optimal extraction of chitosan biocomposite from fish and shrimp wastes is presented. Waste samples from five different types of aquatic animals are collected and after initial preparation, data related to their chemical composition, morphology, and specific properties are generated. K-means algorithm with Euclidean distance and DBSCAN hierarchical clustering algorithm are used to classify samples based on the potential for producing chitosan with optimal characteristics. The results showed that clustering the samples into five distinct categories increased the possibility of optimal predictions by 87%. The chitosan biocomposite produced by this method showed a higher degree of deacetylation (85%) and a more controlled molecular weight (120 to 15 kDa) compared to traditional methods. Also, the energy and chemical consumption in the production process was reduced by 26%. The findings of this study demonstrate the successful application of clustering algorithms in optimizing the production process of bio-based biocomposites from waste sources.

Keywords: Chitosan, Biocomposite, Clustering Algorithm