

ارزیابی کیفیت کیتین و کیتوسان استخراج شده از پوسته سیست آرتمیا اورمیانا و مقایسه آنها با دو نوع دیگر از پوسته میگو و خرچنگ

Quality Evaluation of Chitin and Chitosan Extracted from Cyst Shell of the *Artemia Urmiana* and its Comparison with Other Types from Shrimp and Crab s Shell

یوسف علی اسدیپور^۱، سیدعباس شجاع‌الساداتی*^۲، محمدرضا کلباسی^۱، اصغر خسروشاهی اصل^۳

۱- دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، گروه شیلات،

۲- دانشکده فنی و مهندسی، گروه بیوتکنولوژی - تهران، دانشگاه تربیت مدرس، صندوق پستی ۱۴۱۱۵/۱۴۳

۳- ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده کشاورزی، صندوق پستی ۱۶۵

دریافت: ۸۱/۸/۲۷، پذیرش: ۸۱/۱۱/۱۳

چکیده

در این پژوهش، برای اولین بار کیتین از پوسته سیست آرتمیای دریاچه ارومیه به روش شیمیایی بهینه و با بازدهی 28 ± 3 درصد وزنی استخراج شد. سپس، مقداری از کیتین تولید شده با استیل‌زدایی به کیتوسان با بازدهی 5 ± 5 درصد تبدیل شد. کیتین و کیتوسان استخراج شده با دو نوع مشابه تجاری از کشورهای ویتنام (از پوسته خرچنگ) و چین (از پوسته میگو) که به روشهای رایج شیمیایی تهیه شده بودند، مقایسه گردید. نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که نوع منبع اولیه و روشهای عمل‌آوری بر وزن مولکولی، گرانروی، ساختار بلوری، ساختار شیمیایی (درصد نیتروژن، کربن، هیدروژن و اکسیژن)، درجه استیل‌زدایی و رنگ اثر دارد. آزمایشهای تشخیص کیفی در این پژوهش شامل طیف‌سنجی زیر قرمز، پراش پرتو ایکس، تجزیه عنصری، گرانروی سنجی، تعیین وزن مولکولی و سنجش درجه استیل‌زدایی است.

واژه‌های کلیدی

کیتین، کیتوسان، پوسته سیست آرتمیا اورمیانا، ارزیابی کیفیت، میگو و خرچنگ

مقدمه

از به هم پیوستن بیش از ۵۰۰۰ مونومر گلوکوز آمین بوجود می‌آیند [۱]. تاکنون بیش از ۳۰۰ منبع متفاوت، از جمله گیاهان و بی‌مهرگان دریایی، حشرات، باکتریها، جلبکها، قارچها، خزها، نرم‌تنان و دیاتومه‌ها برای استخراج این مواد مورد مطالعه قرار گرفته‌اند [۲].

کیتین با فرمول شیمیایی $(C_8H_{13}O_5N)_n$ و نام علمی β -۱، ۴-N-استیل-D-گلوکوزآمین و شکل استیل‌زدایی شده آن به نام کیتوسان با فرمول شیمیایی $(C_6H_{11}O_4N)_n$ و نام علمی β -۱، ۴-آمینو-۲-داکسی-D- α -گلوکان، فراوان‌ترین پلی‌ساکاریدهای طبیعی بعد از سلولوزند، که

Key Words

chitin, chitosan, *Artemia urmiana* cyst shell, quality evaluation, shrimp and crab

* مسئول مکاتبات، پیام‌نگار: shoja_sa@modares.ac.ir

ساخت شرکت فیلیس، دستگاه تجزیه عنصری CHNO-Rapid مدل Heraeus و گرانروی سنج Selecta مدل R استفاده شد.

روشها

استخراج کیتین از پوست سیست آرتمیا اورمیاننا

پوسته های سیست آرتمیا اورمیاننا پس از جمع آوری از ایستگاههای ساحلی رشکان و بزرگراه دریاچه ارومیه، طی ماههای دی و بهمن، جمع آوری و جداسازی شده و سپس شستشو و خشک شد. استخراج کیتین از پوسته ها با انجام تغییراتی در روشهای مرسوم شیمیایی [۷] طی مراحل کانی زدایی با کلریدریک اسید ۵N/۵ به مدت ۶ ساعت در دمای ۶۵°C، حذف مواد پروتئینی با محلول سدیم هیدروکسید ۱۰ درصد (وزنی - وزنی) در دمای ۶۵°C به مدت ۱۴ ساعت، حذف مواد لیپیدی با محلول بنزن نفت به مدت ۴ ساعت و حذف مواد رنگی با محلول سدیم هیپوکلریت ۰/۳۵ درصد به مدت نیم ساعت انجام شد. تخلیص کیتین استخراج شده ابتدا با محلول سدیم کلرید ۱۰ درصد (وزنی - وزنی) به مدت یک ساعت در دمای ۶۵°C و سپس با استیک اسید گلاسیال ۱۰ درصد (حجمی - حجمی) به مدت یک ساعت دیگر انجام شد [۸]. تعیین درصد میزان حذف شدن مواد یاد شده با روشهای AOAC ۱۹۹۷ (Association of Official Analytical Chemists) انجام شد.

تبدیل کیتین به کیتوسان

برای استیل زدایی کیتین و تبدیل آن به کیتوسان، مقدار ۱۰ g از پودر کیتین خشک شده، توزین و به یک بالن ۲/۵ لیتری منتقل شد. سپس، روی آن محلول ۵۰ درصد (وزنی - وزنی) سدیم هیدروکسید و اتانول ۹۷ درصد اضافه گردید. مخلوط بدست آمده روی گرمکن برقی به مدت ۴ ساعت جوشانده و سپس خنک شد و پس از چند بار شستشو با آب مقطر، صاف و توزین گردید. پس از پایان یافتن آزمایش مقدار ۵/۶ کیتوسان بدست آمد [۹].

آزمایشهای تشخیص کیفی مقایسه ای

برای ارزیابی و تعیین خواص فیزیکی و شیمیایی سه نوع کیتین و کیتوسان یاد شده، آزمایشهای مقایسه ای زیر انجام گرفت:

- طیف سنجی زیر قرمز: در این روش همه نمونه ها به صورت صفحات شفاف به ضخامت ۰/۲۵ mm مخلوط با پتاسیم برمید آماده سازی و سپس در شرایط یکسان از آنها طیف تهیه شد [۱۱-۱۵].
- پرتونگاری پراش پرتو ایکس: برای مشخص کردن ساختار بلوری، همه نمونه ها تا اندازه ۲۵ میکرومتر آسیاب شد و با پودر بوریک اسید مخلوط با موم C به صورت قرصهای ۴ میلی متری آماده و در شرایط یکسان طیف سنجی گردید [۱۱].

حال حاضر مهمترین منابع اولیه برای استخراج به صرفه اقتصادی آن پوسته سخت پوستان دریایی (میگو، خرچنگ - کریل) است [۳-۱]. بیش از ۳۰۰۰ کاربرد از آنها در صنایع داروسازی، زیست فناوری، کشاورزی، آرایشی، غذایی، تولیدات گیاهی، تصفیه آب، پزشکی، کاغذسازی، پالایش فلزات سنگین، تغذیه حیوانات، شیمی، نساجی و الیاف به ثبت رسیده است [۲،۳]. این دو زیست پلیمر برحسب منابع استخراجی و شرایط عمل آوری، تا حدودی خواص فیزیکی و شیمیایی متفاوتی نشان می دهند [۴-۱۰]. در سال ۱۹۹۹ شرکت سیگما در یک گزارش پژوهشی بیان داشته که کیتین و کیتوسان از نظر ساختار شیمیایی کاملاً یکسان نیستند بلکه با توجه به نوع منبع اولیه و نحوه فرآوری تا حدودی خصوصیات، عملکرد و مشتقات متفاوتی را بوجود می آورند، که در زمینه های مختلف کاربرد آنها در صنایع اثر دارد [۳،۴]. لایه های کوریونی سیست آرتمیای دریاچه ارومیه، پس از پوست اندازی در طول سال به علت سبکی وزن و وزش بادهای غالب منطقه ای به سواحل دریاچه رانده شده و به صورت پوسته های سیست آرتمیا در سواحل انباشته می شوند و استفاده خاصی از آنها به عمل نمی آید [۵،۶].

در این پژوهش، برای اولین بار خواص کیفی کیتین و کیتوسان استخراج شده از پوسته سیست آرتمیای دریاچه ارومیه با دو نوع تجاری مشابه از کشور ویتنام (از پوسته خرچنگ) و کشور چین (از پوسته میگو) که هر دو با روشهای شیمیایی عمل آوری شده اند، مورد مطالعه و ارزیابی مقایسه ای قرار گرفت.

تجربی

مواد

پوسته سیست آرتمیا اورمیاننا از سواحل دریاچه ارومیه به شکل ضایعات جمع آوری شد. کیتین و کیتوسان پوسته خرچنگ از شرکت APT کشور ویتنام و نوع چینی آنها از پوسته میگو از شرکت TNT کشور چین تهیه شد. محلولهای کلریدریک اسید، سدیم هیدروکسید، بنزن نفت، اتانول، سدیم هیپوکلریت، سدیم کلرید و استیک اسید از شرکت مرک تهیه شد. پتاسیم برمید، پودر بوریک اسید، موم C، آب مقطر، حلال دی متیل استامید و لیتیم کلرید از مواد موجود در آزمایشگاهها و تهیه شده از شرکتهای معتبر بود.

دستگاهها

در این پژوهش، برای انجام آزمایشهای تشخیص کیفی مقایسه ای از دستگاههای طیف سنج زیرقرمز ABB-Bomem مدل MB-۱۰۰، دستگاه خردکن Retesh، دستگاه پراش پرتو ایکس مدل X-pert

جدول ۱- نتایج تجزیه عنصری سه نوع کیتین.

نوع کیتین	کربن	نیتروژن	هیدروژن	اکسیژن
پوسته سیست آرتمیا اورمیا	۴۸/۶	۷/۶	۷/۰	۳۶/۸
پوسته خرچنگ	۴۴/۸	۶/۲	۶/۶	۴۲/۴
پوسته میگو	۴۷/۱	۶/۸	۶/۴	۳۹/۴

جدول ۲- نتایج تجزیه عنصری سه نوع کیتوسان.

نوع کیتوسان	کربن	نیتروژن	هیدروژن	اکسیژن
پوسته سیست آرتمیا اورمیا	۴۱/۴	۷/۷	۶/۷	۴۴/۲
پوسته خرچنگ	۴۲	۸	۷	۴۳
پوسته میگو	۴۰/۴	۶/۸	۶/۴	۴۶/۴

نتایج و بحث

با کانی زدایی و حذف مواد پروتئینی، لپیدی و مواد رنگی از پوسته‌های سیست آرتمیا اورمیا و پس از تخلیص آن، میزان 28 ± 3 درصد کیتین تولید شد که برای اثبات و مقایسه آن با محصولات مشابه تجاری تجزیه کیفی و عنصری انجام شد. نتایج این تجزیه در جدول ۱ آورده شده است. سپس، همین آزمایشها برای مقایسه کیتوسان حاصل از آرتمیا با محصولات مشابه وارداتی نیز انجام گردید. نتایج بدست آمده در جدول ۲ ارائه شده است.

سایر نتایج بدست آمده از خصوصیات مقایسه‌ای شامل اوزان مولکولی، گرانروی حاصل در دمای 20°C و سرعت 200 rpm ، درصد ساختار بلورینگی و رنگ کیتینهای مورد مطالعه در جدول ۳ آمده است. در جدول ۴ نتایج مربوط به اوزان مولکولی، درصد بلورینگی، گرانروی، رنگ و درجه استیل زدایی نمونه‌های کیتوسان مورد مطالعه نیز آورده شده است.

از آنجا که روشهای طیف‌سنجی زیر قرمز و پراش پرتو ایکس از پیشرفته‌ترین روشها در تعیین ساختار مولکولی و ساختار بلوری ترکیبات شیمیایی آلی مجهول، بشمار می‌آیند، بنابراین برای اثبات ساختار شیمیایی کیتین و کیتوسان پوسته سیست آرتمیا اورمیا این آزمایشها انجام و با نوع استاندارد و همچنین با دو نوع مشابه تجاری آن مقایسه شد که نتایج حاصل در شکل‌های ۱ تا ۴ آورده شده است.

- تجزیه عنصری: برای مشخص کردن درصد عناصر تشکیل دهنده نمونه‌ها، تجزیه عنصری انجام شد [۱۲].

- تعیین درجه استیل زدایی: برای تعیین درجه استیل زدایی و بازدهی محصول کیتوسان حاصل از روش تیتراسیون اسید - باز با کلریدریک اسید 0.1 نرمال و محلول سود 0.1 نرمال و سنجش pH محلول بکار گرفته شد [۱۳-۷].

- تعیین گرانروی سنجی: برای اندازه‌گیری گرانروی نمونه از دستگاه گرانروی سنج چرخشی استفاده شد. حلالهای مورد استفاده برای تعیین گرانروی کیتین محلول دی متیل استامید با 5 درصد لیتیم کلرید و برای کیتوسان استیک اسید 0.1 مولار در دمای 20°C بود [۱۶].
- تعیین وزن مولکولی: وزن مولکولی بر اساس رابطه بین گرانروی ذاتی پلیمر و ضرایب ثابت مارک - هونیک (Mark-Houwink)، از معادله زیر معین شد:

$$[\eta] = KM_w^\alpha \quad (1)$$

که در این معادله، $[\eta]$ گرانروی ذاتی و مقادیر K و α ضرایب ثابتی هستند که به وزن مولکولی بستگی ندارند. حلال مورد استفاده برای کیتین محلول دی متیل استامید با 5 درصد لیتیم کلرید است که در آن $K = 2/4 \text{ cm}^3 \text{g}^{-1}$ و $\alpha = 0.1$ است. برای کیتوسان از محلول استیک اسید 0.1 مولار و در دمای 20°C استفاده شد که مقادیر $K = 3/4 \text{ cm}^3 \text{g}^{-1}$ و $\alpha = 0.1$ است [۱۹-۱۷].

جدول ۳- خواص فیزیکی سه نوع کیتین (گرانروی در دمای 20°C و سرعت 200 rpm اندازه‌گیری شده است).

نوع کیتین	درصد بلورینگی	متوسط وزن مولکولی (دالتون)	گرانروی (cPs)	رنگ
پوسته سیست آرتمیا اورمیا	۲۱/۵۰	$4/1 \times 10^6$	۲۲	خاکستری متمایل به قهوه‌ای
پوسته خرچنگ	۱۹/۳۱	$3/1 \times 10^6$	۲۲	سفید مات
پوسته میگو	۲۶/۵۱	$3/5 \times 10^6$	۲۲	سفید برفی

جدول ۴ - خواص فیزیکی سه نوع کیتوسان (گرانروی در دمای ۲۰°C و با سرعت ۲۰۰ rpm اندازه گیری شده است).

رنگ	درصد استیل زدایی	گرانروی (cPs)	متوسط وزن مولکولی (دالتون)	درصد بلورینگی	نوع کیتوسان
قهوه ای کم رنگ	۵۵	۱۶	$۴/۳ \times ۱۰^۵$	۳۳/۱۳	پوسته سیست آرتمیا اورمیا
سفید مات	۸۳-۸۴	۱۷	$۳/۸ \times ۱۰^۵$	۲۶/۱۵	پوسته خرچنگ
سفید برفی	۸۰	۱۱	$۳/۵ \times ۱۰^۵$	۳۸/۵۱	پوسته میگو

خاص، با صرفه اقتصادی خواهد بود.

استخراج کیتین پوسته های سیست آرتمیا با روش بهینه تغییر یافته نسبت به روشهای رایج شیمیایی انجام شد [۱۷]، مرحله حذف مواد لیپیدی با محلول بنزن نفت به عنوان روشی اصلاحی در فرایند عمل آوری آن مورد استفاده قرار گرفت [۱۹-۱۷].

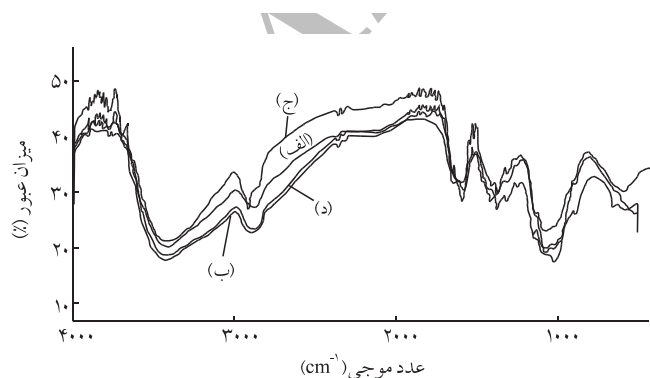
نتایج تجزیه عنصری کیتین پوسته سیست آرتمیا بیانگر ۷/۶ درصد نیتروژن، ۴۸/۶ درصد کربن و ۷ درصد هیدروژن است. درصد نیتروژن و کربن کیتین پوسته سیست آرتمیا در مقایسه با دو نوع استخراج شده از پوسته خرچنگ و پوسته میگو تا حدی بیشتر است، که بکارگیری کیتین پوسته سیست آرتمیا را در زمینه های پزشکی برای هموستاز، فرایندهای دیالیز، سنتز پوست مصنوعی، نخ بخیه جراحی، زیست محیطی، سم زدایی و پرتو زدایی مورد توجه قرار می دهد [۲،۳،۷]. این موضوع نظریه Seaborne در سال ۲۰۰۰ را مبنی بر اینکه کیتینها و مشتقات فراوان آنها، بویژه کیتوسانها، در شرایط یکسان بسته به نوع منابع اولیه استخراجی و روشهای عمل آوری تا حدی دارای خصوصیات مختلف خواهند بود تأیید می کند [۱۰].

تفاوتهای جزئی اوزان مولکولی، یکسان نبودن رنگها، گرانروی و درصد بلورینگی کیتین و کیتوسان استخراج شده از پوسته سیست آرتمیا

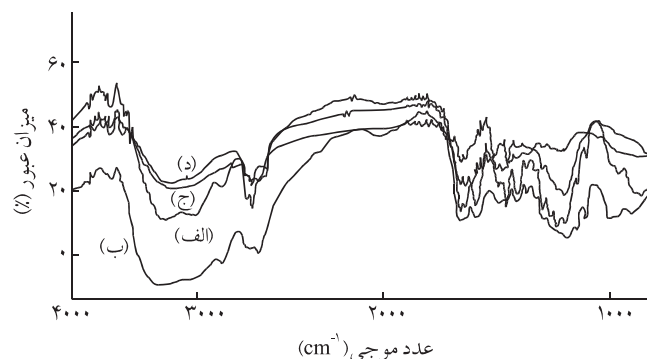
همخوانی طیفهای حاصل بیانگر مشابه بودن و یکسانی ساختار شیمیایی محصولات است (اختلافات جزئی مربوط به نوع منبع اولیه آن و درصد رطوبت است).

در این پژوهش برای اولین بار، پوسته های سیست آرتمیا اورمیا به منظور استخراج مواد با ارزشی چون کیتین و کیتوسان مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت و مشخص شد که این نمونه ها دارای ۲۸ ± ۳ درصد وزنی کیتین قابل استخراج اند. در نتیجه، این پوسته ها به عنوان یک منبع جدید، مناسب و نسبتاً فراوان برای بدست آوردن این زیست پلیمر معرفی می شود.

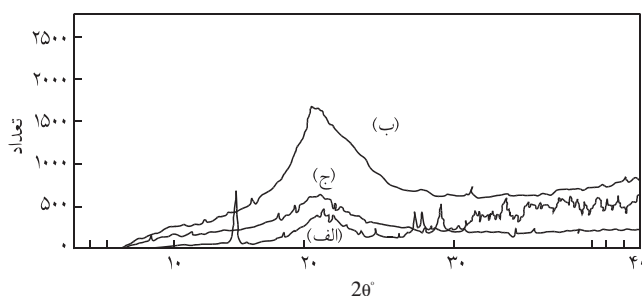
در حال حاضر کیتین در دنیا از پوسته میگو و خرچنگ بدست می آید و درصد این زیست پلیمر در آنها از ۱۴ تا ۲۵ درصد گزارش شده است [۱۸-۲۰]. در کشور ما به دلایل فصلی بودن صید و بهره برداری از این نوع آبزیان دریایی و فسادپذیری سریع آنها به علت پروتئین همراه پوسته و دمای بالای مناطق محل صید و هزینه های زیاد جمع آوری و نگهداری آنها در سردخانه در عمل امکان استخراج به صورت اقتصادی کم است [۲۰]. در نتیجه، به علت زیاد بودن نسبی درصد کیتین موجود در پوسته سیست آرتمیا اورمیا و قابل دسترس و دائمی بودن آن و نداشتن مشکلات یاد شده نسبت به سایر منابع تولید فعلی، استفاده از این منبع



شکل ۲ - مقایسه طیفهای FTIR نمونه های کیتوسان: (الف) استاندارد آلد ریچ، (ب) پوسته خرچنگ، (ج) پوسته سیست آرتمیا اورمیا و (د) پوسته میگو.



شکل ۱ - مقایسه طیفهای FTIR نمونه های کیتین: (الف) استاندارد آلد ریچ، (ب) پوسته خرچنگ، (ج) پوسته سیست آرتمیا اورمیا و (د) پوسته میگو.



شکل ۴ - طیف مقایسه‌ای پرتو ایکس نمونه‌های کیتوسان: (الف) پوسته سیست آرتمیا اورمیاننا، (ب) پوسته خرچنگ و (ج) پوسته میگو.

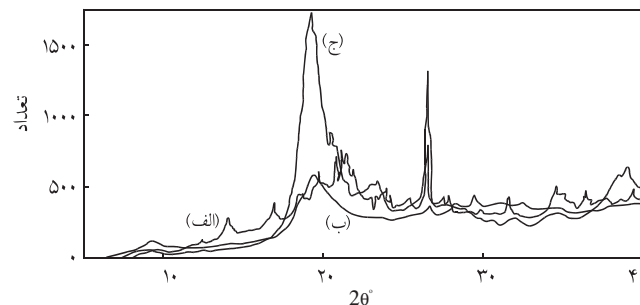
در ادامه انجام این پژوهش و ارزیابی‌های زیست محیطی در بهره‌برداری انبوه از این ترکیبات، بررسی امکان بازیافت سایر فرآورده‌های جنبی از پوسته سیست آرتمیای دریاچه ارومیه و مطالعه سایر خواص کیفی آنها نظیر پلیمر شدن، تفکافت (پیرولیز) و نقش عوامل طبیعی و آلودگی‌های احتمالی نیز پیشنهاد می‌شود. همچنین، جایگزینی روشهای زیست فناوری به جای روشهای رایج شیمیایی در ادامه این طرح بررسی خواهد شد.

قدردانی

بدین وسیله از کلیه مسئولان و دست‌اندرکاران محترم دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی نور، مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، گروه بیوتکنولوژی فنی و مهندسی دانشگاه تربیت مدرس، آزمایشگاههای شیمی پلیمر دانشگاه صنعتی شریف و آنالیز مواد غذایی دانشگاه ارومیه تشکر و قدردانی می‌شود.

مراجع

1. Alder E., Chitin Natural Macromolecules, *J. Chem. Macromol.*, Internet Pdf, 10 pages, 1997.
2. Hansen M.E. and Illanes A., Applications of Crustacean Wastes in Biotechnology, *Fisheries Processing Biotechnology Applications*, Marin M. A. (Ed.), Chapman and Hall, London, UK, 17-20, 1994.
3. Pariser E.R. and Lombardi D., *A Guide to the Research Literature Chitin*, Source Book, Plenum, New York, USA, 1988.
4. Unep, Convention on Biological Diversity, Conference Nairobi, Internet Pdf, <http://www.ocean.udel.edu/Seagrant/Research/>



شکل ۳ - مقایسه طیفهای پرتو ایکس نمونه‌های کیتین: (الف) پوسته سیست آرتمیا اورمیاننا، (ب) پوسته خرچنگ و (ج) پوسته میگو.

اورمیاننا، در مقایسه با دو نوع مشابه آن تأیید نظریه یاد شده است [۱۰].

نتیجه‌گیری

استخراج کیتین از پوسته سیست آرتمیا اورمیاننا و تبدیل آن به کیتوسان و سایر مشتقات فراوان آن، موجب تولید موادی با ارزش افزوده زیاد از سیست‌های رانده شده به سواحل دریاچه ارومیه خواهد شد که استفاده خاصی از آنها بعمل نمی‌آید [۵،۶]. براساس ارزیابی‌های انجام شده از ذخایر، سالیانه می‌توان مقادیر قابل توجهی کیتین، کیتوسان و مشتقات آنها را از پوسته‌های سیست آرتمیای دریاچه ارومیه استخراج و تولید کرد [۵،۶]. مقایسه طیفهای زیر قرمز و پراش پرتو ایکس و ساختار بلوری بدست آمده از نمونه‌های کیتین و کیتوسان بیانگر تولید محصولات مشابه با طیف استاندارد این زیست پلیمرهاست، اختلافات جزئی ناشی از نوع منابع اولیه و روشهای عمل‌آوری است [۱۲،۱۳].

marinebiotech.html, 15 pages, 2000.

5. Sorgeloos P., *Determination and Identification of Biological Characteristics of Artemia Urmiana for Application in Aquaculture*, University of Gent Belgium, Item A, 110, 1997.
6. اسدپور یوسف علی، دستورالعملهای استحصال و عمل‌آوری آرتمیا اورمیاننا و بکارگیری آن در آبرزی پروری، مرکز تحقیقات امور دام و منابع طبیعی، آذربایجان غربی، ۱۳۷۳.
7. Pagel d., *Chitin Production from Lobster and Crab*, Natl Academy, Island, 61-68, 1999.

8. Peberdy J.F., Biotechnological Approaches to the Total Utilisation of Crustacean Shellfish and Shellfish Waste, Eur. Commission, Supported, STD, Internet Pdf, <http://userchollian.net/chitin>, 5 pages, 1999.
9. Walker J., Chitosan, TSCAA, Interagency Testing Committee, USA, Internet Pdf, <http://www.chitosan.net>, 15 pages, 2000.
10. Seaborne S., A Natural Product for the 21st Century, Guid to Chitin, Internet Pdf, <http://www.Seaborn.com/chitinguide.htm>, 5 pages, 2001.
11. Brugnerotto J., Lizardi F.M. and Rinaudo M., An Infrared Investigation in Relation with Chitin and Chitosan Characterization, *J. Polym.*, **42**, 231-242, 2001.
12. Charles J., *The Aldrich Library of Infrared Spectra*, 3rd ed., Aldrich Chemical, Milwaukee, 1998.
13. Roger J., *The Sigma Library, FTIR Spectra*, **2**, 134, 1998.
14. Gorge A. and Roberts F., *Chitin Chemistry*, Senior Lecture in Dyeing Nottingham Polytechnic, 349, 1992.
۱۵. سیلوراشتن ر.م، ایکسروبیستر ف، شناسایی ترکیبات آلی به روش طیف سنجی، ترجمه صادقی مجید و سعیدی محمدرضا، انتشارات علمی - فنی، صفحات ۲۵ تا ۸۰.
۱۶. پاویالمیمن ک، نگرشی بر طیف سنجی، ترجمه موثق، برهمن، انتشارات علمی و فنی، ۱۳۷۵.
۱۷. یعقوبی نکیسا، میرزاده حمید، هرمزی فرزین، بهینه سازی استخراج کیتین و تهیه کیتوسان از پوست میگو، مجله علوم و تکنولوژی پلیمر، سال پانزدهم، صفحه ۵۵ تا ۶۵، ۱۳۸۱.
18. Hein S., Chuen N., Chandkrachang S. and Stevens F., A Systematic Approach to Quality Assessment System of Chitosan, Asian Institute of Technology, Internet Pdf, <http://www.Southernblue.com/chitosan>, Bangkok, 2001.
۱۹. مهدوی نیا غلامرضا، استخراج کیتین از پوست میگو، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه صنعتی شریف، ۱۳۸۰.
۲۰. تهامی مهریه، تهامی مهدیه، استخراج کیتین از پوسته خرچنگ، میگو و لابستر، پایان نامه کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات شیلات، بندرعباس، ۱۳۷۴.

Archive 01