

تعیین ترکیبات شیمیایی و بیوشیمیایی پوسته سیست آرتمیا اورمیانا (*Artemia urmiana*) و استخراج کیتین از آن

یوسفعلی اسدپور^(۱)، سیدعباس شجاع‌الساداتی^(۲)، احمد غرقی^(۳)، محمدرضا کلباسی^(۴)،

و علی‌اصغر خسروشاهی^(۵)

asadpo_y@modares.ac.ir

- ۱- اداره کل منابع طبیعی و امور دام جهاد استان آذربایجان غربی، ارومیه صندوق پستی: ۹۶۱-۵۷۱۳۵
- ۲- دانشکده فنی مهندسی دانشگاه تربیت مدرس، تهران صندوق پستی: ۱۱۱-۱۴۱۵۵
- ۳- مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران صندوق پستی: ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵
- ۴- گروه شیلات دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور صندوق پستی: ۳۵۶-۴۶۴۱۴
- ۵- دانشکده صنایع غذایی دانشگاه ارومیه، صندوق پستی: ۱۶۵-۵۷۱۵۹
تاریخ دریافت: آبان ۱۳۸۱ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۸۲

چکیده

پوسته‌های سیست آرتمیای دریاچه ارومیه به منظور استخراج کیتین طی ماههای دی و بهمن ۱۳۸۰ از سواحل رشکان و بزرگراه جمع‌آوری، خالص‌سازی و خشک گردید. در مرحله اول آنالیز ترکیب شیمیایی و بیوشیمیایی پوسته با روش استاندارد (A.O.A.C.-1995)^(۱) تعیین شد. براساس نتایج بدست آمده پوسته‌های سیست آرتمیا اورمیانا دارای ۴/۸±۰/۵ درصد چربی، ۱۰/۵±۱ درصد رطوبت، ۳۲±۲ درصد مواد پروتئینی، ۰/۵±۰/۲ درصد مواد رنگی و ۲۰/۶۵±۱ درصد خاکستر خالص می‌باشد. نوع ترکیب و درصد عناصر معدنی تشکیل دهنده آن با روش XRF^(۲) تعیین گردید. بر این اساس پوسته سیست آرتمیا دارای CaO=۴/۰۵، Fe₂O₃=۱/۶۸، Zn=۰/۰۵، Na₂O=۱/۹۸ و MgO=۱/۱۴، SO₃=۶/۸۲، Cl=۳/۲۳، K₂O=۲/۱۲ می‌باشد. استخراج کیتین از پوسته با انجام تغییراتی در روش‌های مرسوم شیمیایی طی چهار مرحله

کانی زدائی، حذف مواد پروتئینی، لیپیدی و مواد رنگی انجام شد. تخلیص مواد حاصل با محلول کلرید سدیم و اسید استیک بود. براساس نتایج حاصله پوسته سیست آرتیمیا دارای 28 ± 3 درصد کیتین است. شناسایی و تعیین ساختار مولکولی کیتین حاصله با روشهای طیف سنجی مادون قرمز (FTIR) و پراش پرتو ایکس (XRD) و تجزیه عنصری دستگاهی (C.H.N.O- analysis) انجام شد. سپس به منظور مقایسه کیفیت کیتین بدست آمده، طیف‌های حاصله از آن با طیف استاندارد سیگما و طیف دو نوع کیتین وارداتی از کشور ویتنام و چین مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه عنصری نشان داد که کیتین استخراج شده از پوسته سیست آرتیمیا اورمیا دارای $7/6$ درصد نیتروژن، $48/6$ درصد کربن، 7 درصد هیدروژن و $36/8$ درصد اکسیژن است. براساس این نتایج فرمول تجربی هر واحد کیتین حاصله ($C_{7.6} H_{12.8} N_{1.006} O_{5.2}$) تعیین شد.

لغات کلیدی: آرتیمیا اورمیا، *Artemia urmiana*، کیتین، سیست

مقدمه

آرتیمیا اورمیا سخت پوستی از رده آبشش‌پایان و از گونه‌های مهم آرتیمیا‌های شناخته شده دنیا است (Sorgeloos *et al.*, 1997a). زیستگاه اصلی آن دریاچه ارومیه به مساحت 500 ± 500 کیلومتر مربع واقع در موقعیت جغرافیای $45^{\circ} 10'$ طول شرقی و $38^{\circ} 20'$ عرض شمالی ایران است. سیست‌های آرتیمیای دریاچه ارومیه در طول سال طی دو مرحله زندگی این سخت‌پوست به فرم‌های زمستانه تخم‌گذار (Oviparous) و تابستانه تخم‌گذار زنده‌زا (Ovoviviparous) تولید می‌شوند که پس از تفریح آنها، لایه کوریونی سیست‌ها به شکل پوسته جدا شده و به علت سبک شدن، با بادهای غالب منطقه‌ای و امواج دریا به سواحل رانده شده و در سواحل انباشته می‌شوند (Sorgeloos *et al.*, 1997b). پوسته‌های سیست آرتیمیا اورمیا در این مرحله از جنبه‌آبزی‌پروری فاقد اهمیت تغذیه‌ای هستند (اسدپور، ۱۳۷۳). در راستای عمل‌آوری موادی با ارزش افزوده‌ایی فراوان، بالاخص برای استخراج کیتین و مشتقات آن، پوسته‌های سیست آرتیمیای دریاچه مورد آزمایش قرار گرفتند.

کیتین بیوپلیمری از پلی ساکاریدهای ازت‌دار با فرمول شیمیایی $(C_8 H_{13} NO_5)_n$ با نام علمی B-D(1-4)- N - acetyl - glucosamine است که در ساختمان شیمیایی آن بیش از ۵۰۰۰ واحد گلوکز آمین شرکت می‌کنند (Alder, 1997). این بیوپلیمر در صنایع داروسازی، آرایشی، کشاورزی، غذایی، تولیدات گیاهی، پالایش آب، بیوتکنولوژی، پزشکی، کاغذسازی، پالایش فلزات سنگین، تغذیه حیوانات، صنایع شیمی، فیبر و نساجی مصارف فراوانی دارد (Hansen & Illanes, 1994). تا بحال بیش از ۳۰۰

منبع مختلف از انواع بی‌مهرگان و گیاهان دریایی، جلبکها، باکتریها، حشرات، قارچها و مخمرها برای استخراج این ماده مورد بررسی قرار گرفته‌اند (Haard & Simpson, 1994). در حال حاضر پوسته میگو، خرچنگ و کریل (Krill) منابع اصلی و اقتصادی استخراج این ماده است (Shahidi et al., 1999). میزان مصرف سالانه کیتین ۱۵۰۰۰۰ تن برآورده شده است، در حالیکه میزان تولید فعلی آن ۳۰۰۰ تن می‌باشد (Gildberg & Stenberd, 2001). محدودیت منابع قابل دسترس و فصلی بودن صید سخت‌پوستان از علل اصلی در کاهش تولید آن محسوب می‌شوند (Seaborne, 2001). نظر به اهمیت و کاربردهای فراوان این بیوپلیمر طبیعی، دستیابی به منابع جدید و روشهای نوین در عمل‌آوری همیشه مورد تأکید دانشمندان است (Pariser & Lombardi, 1988)، لذا در این تحقیق پوسته‌های سیست آرتیمیا اورمیانا برای اولین بار بعنوان منبع جدید در استخراج کیتین، مورد مطالعه و تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

مواد و روش کار

مقدار ۱۰ کیلوگرم از پوسته‌های سیست آرتیمیای دریاچه ارومیه از ایستگاههای ساحلی رشکان و بزرگراه طی ماههای دی و بهمن ۱۳۸۰ جمع‌آوری، شستشو و خالص سازی شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد در آون خشک و برای تعیین درصد مواد تشکیل دهنده آن مورد تجزیه قرار گرفت. در این آزمایشها تجزیه شیمیایی و بیوشیمیایی با روش‌های استاندارد بین‌المللی (A.O.A.C., 1995) انجام شد (سی‌اس، ۱۹۹۶)، که اندازه‌گیری رطوبت آن به روش تبخیری در آون، مواد چربی به روش سوکسله، مواد پروتئینی با روش کلدال و خاکستر خالص به روش سوزانیدن با کوره الکتریکی ۵۵۰ درجه سانتیگراد مدل Heraeus بود.

برای مشخص نمودن نوع و ترکیبات عناصر معدنی، مقدار ۳ گرم از پوسته‌های سیست آرتیمیا با دستگاه مخلوط‌کن مدل Retsch تا حدود ۵۰ میکرون آسیاب و با یک گرم ماده Wax-C مخلوط و با دستگاه پرس مدل Herzog، با پودر اسیدبوریک به قرص ۴ میلی‌متری تبدیل شد و بعد از شماره‌گذاری به دستگاه پراش اشعه ایکس (XRF) مدل Philips-Pw منتقل گردید (سیلوراشیتن و ایکسروبوستر، ۱۹۹۷). استخراج کیتین از پوسته با انجام تغییراتی در روش‌های مرسوم شیمیایی (Peberdy, 1999) و

تهامی و تهامی، ۱۳۷۴) طی مراحل مختلفی عمل کانی‌زدائی با اسید کلریدریک ۵٪ نرمال به مدت ۶ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد، حذف مواد پروتئینی با هیدروکسید سدیم ۱۰ درصد (w/w) در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۳ ساعت، حذف مواد لیپیدی با محلول پترولیوم بنزن به مدت ۴ ساعت و حذف مواد رنگی با محلول هیدورژن پراکسید ۳ درصد با غلظت ملایم به مدت نیم ساعت انجام پذیرفت. تخلیص کیتین استخراج شده با محلول کلرید سدیم ۱ درصد (w/w) به مدت ۱ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد و سپس با اسید استیک گلاسیال ۱۰ درصد (V/V) به مدت یک ساعت دیگر انجام شد (Pariser & Lombard, 1988).

حذف مواد لیپیدی با پترولیوم بنزن بعنوان یک روش نوین در فرآیند آورده شده است (سی‌اس، ۱۹۹۶). آزمایشهای درصد میزان حذف‌شدگی مواد مذکور نیز با همان روش (A.O.A.C., 1995) تست شد.

به منظور تعیین دقیق ساختار شیمیایی کیتین بدست آمده تجزیه عنصری با دستگاه ABB-Bomem مدل FTIR و طیف‌سنجی مادون قرمز با دستگاه Heraeus مدل C.H.N.O-analyser MB-100 با نمونه‌سازی به صورت پلیت‌های ۲۵٪ میلی‌متری با برمید پتاسیم، و آنالیز پراش‌های اشعه ایکس با دستگاه XRD مدل X-Ray powder diffraction انجام شد. در روش طیف‌سنجی X-Ray آماده‌سازی نمونه‌ها به صورت قرص‌های ۴ میلی‌متری با Wax-C و اسیدبوریک بود (Brugnerotto *et al.*, 2001).

در نهایت کیفیت کیتین پوسته سیست آرتمیا با دو نوع کیتین مشابه تجاری دیگر از کشورهای چین (از پوسته میگو) و ویتنام (از پوسته خرچنگ) که به روش‌های شیمیایی تهیه شده بودند، مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج

ابتدا پوسته‌های سیست آرتمیای دریاچه ارومیه برای تعیین نوع و درصد ترکیبات شیمیایی و بیوشیمیایی موجود در آن مورد آزمایش و تجزیه قرار گرفت که نتایج حاصله در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: آنالیز تقریبی ترکیب شیمیایی و درصد مواد تشکیل دهنده پوسته‌های سیست آرتمیا اورمیانا

مواد لپیدی	خاکسترخالص	رطوبت	پروتئین	مواد رنگی
(درصد)	(درصد)	(درصد)	(درصد)	(درصد)
۴/۸±۰/۵	۲۰/۶۵±۰/۲	۱۰/۵±۰/۱	۳۲±۰/۲	۰/۵±۰/۲

برای مشخص نمودن نوع و درصد عناصر معدنی موجود در آن، خاکستر پوسته‌های سیست آرتمیا آنالیز شد، که نتایج بدست آمده در جدول ۲ آورده شده است:

جدول ۲: ترکیب شیمیایی تشکیل دهنده خاکستر خالص موجود در پوسته‌های سیست آرتمیا اورمیانا

ترکیب معدنی	Zn	Fe ₂ O ₃	CaO	K ₂ O	Cl	SO ₃	MgO	Na ₂ O
درصد	۰/۰۵	۱/۶۸	۴/۰۵	۲/۱۲	۳/۲۳	۶/۸۲	۱/۱۴	۱/۹۲

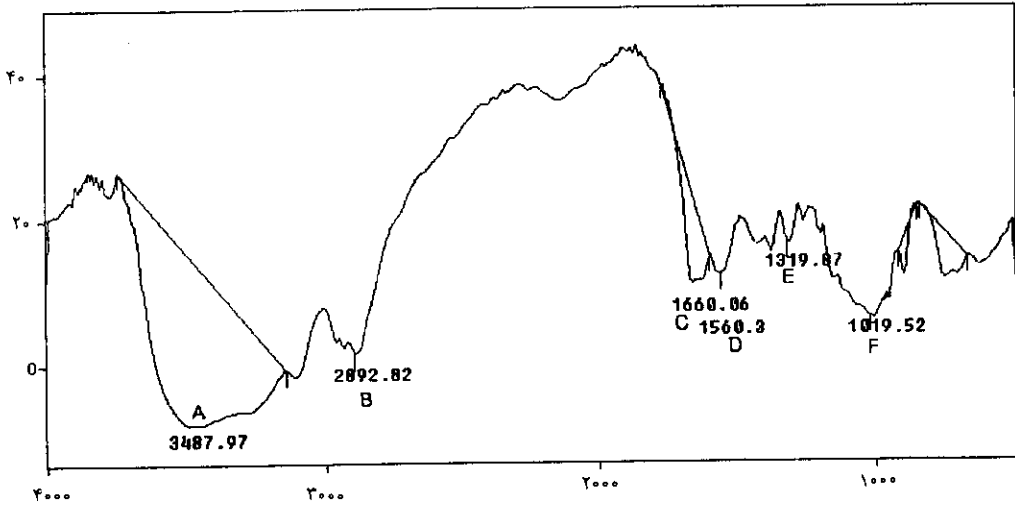
پس از مشخص شدن نوع ترکیبات شیمیایی و بیوشیمیایی پوسته‌های سیست آرتمیا، برای استخراج کیتین آن مواد معدنی، لپیدی، پروتئینی و مواد رنگی آن با روش‌های شیمیایی حذف گردید، باقیمانده محصول با راندمان 28 ± 3 درصد کیتین تلقی شد. برای اثبات آن آنالیزهای تشخیص کیفی انجام گردید. آزمایشهای تجزیه عنصری دستگاهی به منظور دستیابی به تعداد و نوع اتمهای تشکیل دهنده محصول استخراجی بعمل آمد که نتایج بدست آمده در جدول ۳ آورده شده است.

جدول ۳: نتایج تجزیه عنصری کیتین استحصال از پوسته سیست آرتمیا اورمیانا

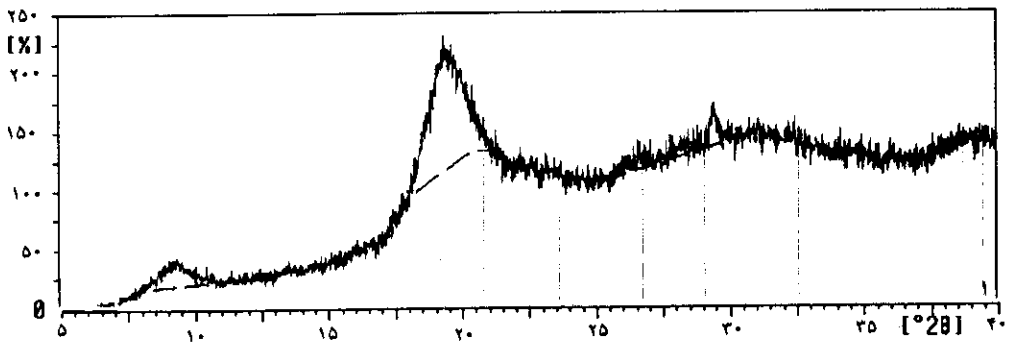
عنصر	کربن	نیتروژن	هیدروژن	اکسیژن
درصد	۴۸/۶	۷/۶	۷	۳۶/۸

طیف‌سنجی مادون قرمز و پرتونگاری با اشعه ایکس از پیشرفته‌ترین روشها در تعیین ساختمان مولکولی و ساختار بلوری ترکیبات شیمیایی آلی مجهول بشمار می‌آیند، که این آزمایشها روی ماده استخراجی از پوسته‌های سیست آرتمیا انجام شد.

در طیف‌سنجی FTIR وجود بندهای جذب $3487/9 \text{ cm}^{-1}$ ، $2892/8 \text{ cm}^{-1}$ ، 1650 cm^{-1} ، $1645/6 \text{ cm}^{-1}$ ، 1560 cm^{-1} ، $1319/8 \text{ cm}^{-1}$ و 1019 cm^{-1} نشانه وجود گروه‌های آمینواستیل و گروه -OH و C-H از پلیمر کیتین است که در نمودار ۱ آورده شده است.

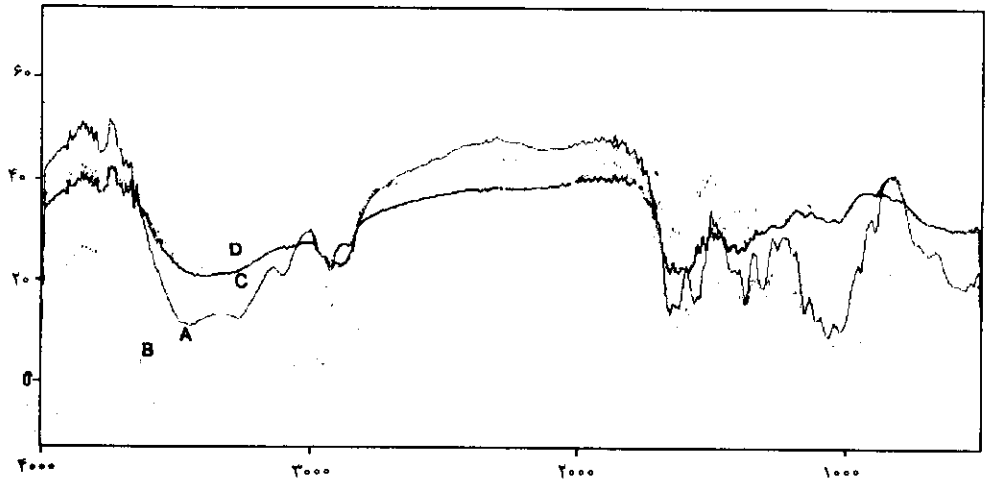


نمودار ۱: طیف FTIR کیتین استخراج شده از پوسته سیست آرتمیا اورمیاننا
 نمونه‌سازی بصورت پلیت‌های شیشه‌ای به ضخامت ۰/۲۵ میلی‌متر با KBr است. پیک‌های A, B, C, D, E, F ایجاد شده مربوط به باندهای جذبی گروه‌های -OH، آمینو استیل و C-H در پلیمر کیتین است
 ساختار بلوری محصول حاصله با پرتونگاری با اشعه ایکس، از تیوب مسی و با زاویه تابش 2θ به مدت ۲ ساعت مشخص گردید که در نمودار شماره ۲ آورده شده است که بیانگر ساختار بلوری کیتین است.

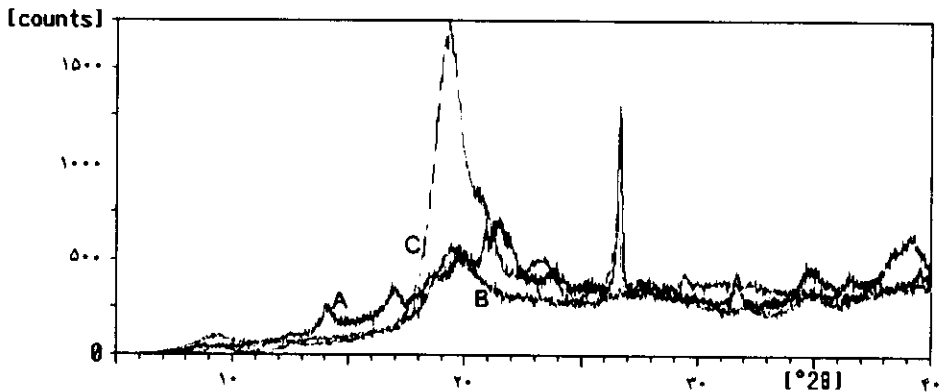


نمودار ۲: طیف کیتین حاصله از دستگاه X-Ray (رنگ قرمز). زاویه تابش 2θ از ۵ الی ۴۰ درجه و زمان تابش ۲ ساعت است.

ارزیابی‌های مقایسه‌ای کیفی کیتین استخراجی از پوسته سیست آرتمیای دریاچه با طیف استاندارد با دو نوع کیتین وارداتی از کشور چین و ویتنام انجام شد که نتایج حاصله در نمودارهای ۳ و ۴ آورده شده است



نمودار ۳: طیف FTIR مقایسه‌ای سه نوع کیتین با طیف نوع استاندارد
 A- طیف کیتین استخراجی از پوسته سیست آرتمیاورمیانا B- طیف کیتین استخراجی از پوسته میگو
 C- طیف کیتین استخراجی از پوسته خرچنگ D- طیف استاندارد کیتین (Sigma, 1999)



نمودار ۴: طیف‌های X-Ray مقایسه‌ای کیتین‌ها انجام شده با دستگاه X-Ray
 A- طیف مربوط به کیتین آرتمیاورمیانا (قرمز رنگ) B- طیف مربوط به کیتین پوسته خرچنگ (آبی رنگ)
 C- طیف مربوط به کیتین پوسته میگو (سبز رنگ) مشابهت ساختارهای بلوری حاصله بیانگر یکسان بودن مواد می‌باشد و اختلافات جزئی مربوط به منبع استخراجی و روش‌های عمل‌آوری و درصد رطوبت است.

بحث

لابه کوریونی سیست‌های آرمیای دریاچه پس از تفریح به صورت پوسته‌های غیر قابل مصرف در سواحل دریاچه انباشته می‌شوند. این پوسته‌ها جهت بازیافت موادی با ارزش افزوده‌ای فراوان مورد تجزیه و مطالعه قرار گرفت. نتایج آنالیز ترکیبات شیمیایی و بیوشیمیایی بدست آمده از پوسته سیست آرمیای دریاچه ارومیه در مقایسه با گزارشهای (Laven *et al.*, 1993) از آنالیز ترکیبات سیست و توده زنده آرمیا کاملاً متفاوت است. نوع و درصد خاکستر و درصد کیتین از آرمیا در منابع مورد تحقیق یافت نشد، بنابراین ترکیب و درصد عناصر معدنی موجود در پوسته سیست آرمیا به عنوان اولین گزارش تحقیقاتی در این زمینه تلقی می‌شود که با نتایج سایر محققین قابل مقایسه خواهد بود. پوسته سیست آرمیا اورمیاننا، با بازدهی 28 ± 3 درصد کیتین بعنوان یکی از منابع مهم برای استحصال این بیوپلیمر برای اولین بار نیز گزارش می‌شود.

کیتین پوسته سیست آرمیا با $7/6$ درصد نیتروژن و $48/6$ درصد کربن در مقایسه با مقادیر بدست آمده از سایر منابع تحقیقاتی قابل مقایسه است (یعقوبی و همکاران، ۱۳۸۱). از طرفی کیتین‌ها به علت نوع منبع اولیه و همچنین روشهای عمل‌آوری تا حدودی نسبت به همدیگر متفاوتند (Rojer & Keller, 1998).

درصد نیتروژن و کربن کیتین پوسته سیست آرمیا در مقایسه با دو نوع دیگر استخراج شده از پوسته خرچنگ و پوسته میگو تا حدی بیشتر است. این شاخص بر اساس گزارش (Jagar & Zinski, 1998) که بالا بودن درصد این عناصر را از مشخصات مهم و مرتبط آن در برخی کاربردها و ایجاد مشتقات خاصی می‌دانند نیز مورد تأیید قرار می‌گیرد. این موضوع اهمیت آن را در کاربردهای اختصاصی کیتین پوسته سیست آرمیا در زمینه‌های پزشکی درخصوص هموستاز، پروسه‌های دیالیز، سنتز پوست مصنوعی، نخ بخیه جراحی، فناوری زیست محیطی، سم‌زدایی و پرتوزدایی افزایش می‌دهد.

کیتین پوسته سیست آرمیا دارای وزن مولکولی و درصد عناصر متفاوتی در مقایسه با سایر منابع است. مؤسسه تحقیقاتی Seaborne در سال ۲۰۰۱ تولید مشتقات کاربردی متفاوت در شرایط یکسان از

کیتین را مطرح می‌نماید، که در خصوص کیتین استحصالی از پوسته سیست آرتمیا اورمیانا نیز می‌تواند مطرح باشد.

طیف‌های مادون قرمز و پرتونگارها با اشعه ایکس و باندهای جذبی ایجاد شده در آنها و ساختارهای بلوری بدست آمده از کیتین‌ها در حالت مقایسه‌ای بیانگر یکسان بودن پلیمرها می‌باشد و اختلافات جزئی مربوط به منبع استخراجی، روش‌های عمل‌آوری و درصد رطوبت است.

بالا بودن درصد کیتین موجود در پوسته سیست آرتمیا در مقایسه با سایر منابع استخراج فعلی آن در دنیا (Shahidi *et al.*, 1999)، فرآیندی پر سود خواهد بود. تبدیل پوسته‌های سیست آرتمیا اورمیانا به کیتین، موجب تولید موادی با ارزش افزوده‌ای بالا از پوسته‌های غیرقابل مصرف در دریاچه خواهد شد. سالیانه می‌توان چندین تن کیتین و مشتقات آنرا از پوسته‌های سیست آرتمیای دریاچه استخراج نمود. انجام مطالعات گسترده روی نوع آلفا، بتا و گاما بودن کیتین پوسته سیست آرتمیا، بکارگیری روش‌های بهینه‌سازی در عمل‌آوری آن و بررسی امکان سنتز مشتقات جدید، کاربردهای نوینی را به دنبال خواهد داشت. وجود لایه کوریونی (پوسته) در سیست‌های داخل کیسه‌های تخمدانی توده زنده آرتمیا آن را در زمینه‌های آبی‌پروری غیرقابل مصرف می‌نماید، از طرف دیگر ارزیابی ذخایر توده زنده آرتمیا بر اساس گزارش (Sorgeloos *et al.*, 1997b) بسیار بالا است، لذا بررسی امکان استخراج آن از توده زنده آرتمیای دریاچه بعنوان یکی دیگر از منابع نوین در تولید این محصول و مشتقات آن پیشنهاد می‌گردد.

مطالعه روی خواص فیزیکی و شیمیایی کیتین حاصله از پوسته‌های سیست آرتمیا، بعلت داشتن اختلافاتی جزئی با سایر کیتین‌های استخراج شده از پوسته خرچنگ و میگو، ممکن است منتج به یافته‌های جدید در تولید فرآورده‌های نوین با کاربردهای خاص از آن شود.

تشکر و قدردانی

از کلیه مسئولین و دست‌اندرکاران محترم دانشکده منابع طبیعی و علوم دریائی نور و گروه

بیوتکنولوژی دانشکده فنی و مهندسی دانشگاه تربیت مدرس و موسسه تحقیقات شیلات ایران، کمال تشکر و امتنان را داریم.

منابع

- اسدیور، ی.ع.، ۱۳۷۳. دستورالعمل‌های استحصال و عمل‌آوری آرتمییا اورمیانا و بکارگیری آن در آبی پروری. مرکز تحقیقات امور دام و منابع طبیعی آذربایجان غربی. ۶۰ صفحه.
- پاویا لمیمن، کرینز، ۱۹۹۶. نگرشی بر طیف سنجی. ترجمه: ب. موثق، ۱۳۷۵. انتشارات علمی و فنی. ۶۸۵ صفحه.
- تهامی، م و تهامی، م، ۱۳۷۴. استخراج کیتین از پوسته خرچنگ، میگو، لابستر. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات شیلات بندر عباس. ۸۹ صفحه.
- سیلورا شتین، ر. م و ایکسروستر، ف. ۱۹۹۷. شناسایی ترکیبات آلی به روش طیف‌سنجی. ترجمه، س. صادقی. انتشارات علمی و فنی. صفحات ۲۵ تا ۸۰.
- سی.اس.ج.، ۱۹۹۶. شیمی تجزیه مواد غذایی. ترجمه: الف. خسرو شاهی اصل. انتشارات دانشگاه ارومیه. ۲۲۰ صفحه.
- یعقوبی، ن.، میرزاده، ح. و هرمزی، ف.، ۱۳۸۱، بهینه‌سازی استخراج کیتین و تهیه کیتوزان از پوست میگو. علوم و تکنولوژی پلیمر، صفحات ۵۵ تا ۶۵.
- Adler, E., 1997. Chitin natural macromolecules. Chem. Of Macromolecules. Internet. Pdf<[http://www. Seaborne. com/ Chitinguide. htm](http://www.Seaborne.com/Chitinguide.htm)> 10 P.
- Brugnerotto, J. ; Lizardi, F.M. and Rinaudo, M. , 2001. An infrared investigation in relation with Chitin and Chitosan characterization. J. Polymer, 42, Elsevier, pp.231-242.
- Gildberg, A. and Stenberd. E. , 2001. A new process for advanced utilisation of

- shrimp waste. J. process Biochemistry, 36. Elsevier, pp.809-812.
- Haard, N.F. and Simpson, B.K. , 1994.** Proteases from aquatic organisms and their uses in the seafood industry. Fisheries Processing: Biotechnological Applications. (Ed. A.M. Martin). Chapman and Hall, London, UK. pp.132-153.
- Hansen, M.E. and Illanes, A. , 1994.** Applications of crustacean wastes in biotechnology. Fisheries Processing Biotechnology Applications, (Ed. M.A. Martin), Chapman and Hall, London, UK. pp.174-201.
- Jagar, J. and Zinski, G. , 1998.** Biomedical application of functional polymers. *In:* Reactive and functional polymers. Elsevier. No. 39, pp.99-138.
- Laven, P. ; Sorgeloos, P. and Leger, P. . 1993.** Manual for the culture and use of brine shrimp *Artemia* in aquaculture. Uni. Of Gent press. Belgium. 320 P.
- Pariser, E.R. and Lombardi, D.P. , 1988.** A guide to the research literature chitin." Source book. Plenum press, New York, USA. 560 P.
- Peberdy, J.F. , 1999.** Biotechnological approaches to the total utilisation of crustacean shellfish and shellfish waste. Euro. Commission. Supported. STD, Internet, pdf< <http://user.Chollian.net/~Chitin/>>. 5 P.
- Roger, J. and Keller, J. , 1998.** The Sigma Library of FTIR spectra, Vol. 2, 1347 P.
- Seaborne, S. , 2001.** A natural product for the 21th century. Guide to Chitin, Internet Pdf<URL: <http://www.Seaborn.Com/Chitinguide.htm>>. 5 P.
- Shahidi, F. ; Arachi, J.K and Jeon, Y. , 1999.** Food applications of Chitin and Chitosan. J. Food Science and Tech, 10, Elsevier, pp.37-51.
- Sorgeloos, P. ; Laven, P. and Leger, P. , 1997_a.** Determination and identification of

biological characteristics of *Artemia urmiana* for application in aquaculture. Univ. of Gent Belgium, Item A 110 P.

Sorgeloos, P. ; Laven, P. and Leger, P. , 1997^b. A resource assessment of Urmiah Lake Artemia cysts and biomass. Uni of Gent, Belgium-Item B, 110 P.