تولید ژلاتین خوراکی از ضایعات ماهی

علی آبرومند[۱]

چکیده

ژلاتین ماده پروتئینی است که در صنایع غذایی، دارویی، صنعتی و پزشکی کاربرد فراوانی دارد. در صنایع غذایی از این محصول در تهیه مارمالادها، ژله‌ها، شیرینیجات و بستنی استفاده می‌شود. ژلاتین به آسانی در بدن جذب شده و حتی به هضم سایر مواد غذایی از طریق تشکیل امولسیون کمک می‌نماید. هدف از این تحقیق، استفاده بهینه از مواد اولیه سهل الوصول و ارزان یعنی مقادیر فراوان ضایعات شیلات و بهینه سازی شرایط برای استخراج ژلاتین و در نتیجه کاهش واردات آن به کشور که عمدتاً از پوست خوک و ضایعات دامی تهیه می‌گردد، می‌باشد. این طرح در دو مرحله صورت پذیرفت: در مرحله اول اثر شرایط pH (در دو شرایط قلیایی و اسیدی) و نوع ماده اولیه (سه ماده اولیه : کفشک ماهی، کوسه ماهی و ضایعات فیله) روی برخی از مهم‌ترین خواص کمّی و کیفی ژلاتین (راندمان، درجه خلوص، رنگ و رایحه) مورد بررسی قرار گرفت. در مرحله دوم طرح نیز اثر دما (در سه سطح ۷۰، ۷۵ و ۸۰ درجه سانتی‌گراد و pH (در دو سطح ۶/۵ و ۶) بر روی میزان راندمان ژلاتین ارزیابی گردید. نتایج مرحله اول نشان داد که در صورت استفاده ازشرایط قلیایی و ضایعات فیله، مقدار ژلاتین حاصل حداکثر خواهد بود. با توجه به نتایج مرحله دوم طرح و با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد و pH برابر با ۶/۵، راندمان ژلاتین حاصل حداکثر و با بهترین کیفیت به دست خواهد آمد.

واژه‌های کلیدی: ژلاتین، ضایعات ماهی، روش اسیدی، روش قلیانی

مقدمه

تاریخچه تولید و استفاده از ژلاتین را عصر فراعنه مصر می‌توان هم‌زمان دانست، پیدا شدن تکه‌ای از ژلاتین در مقبره ملکه Ratschesput و کشف لوحه Rekhmara در شهر قدیمی Thebes شاهد بر این است که مصری‌ها از قرن‌ها پیش ژلاتین را می‌شناختند. گرچه ژلاتین از زمان‌های قدیم شناخته شده و به نام چسب استخوان معروف بود، ولی برای اولین بار در سال ۱۶۸۱ پاپین آن را به کمک دیگ معروف خود که پیشتاز اتوکلاوهای امروزی بود، تهیه نمود (نقل از ۲).

در سال ۱۸۱۴ برای اولین بار از اسید جهت نرم کردن استخوان و خارج نمودن مواد معدنی آن استفاده گردید و در سال ۱۸۸۸ اولین تولید صنعتی با این روش به وسیله دانشمندی از اهالی شهر لیون فرانسه به نام Coignet انجام گرفت و از آن زمان تا کنون صنعت تولید ژلاتین روز به روز گسترش یافته است (نقل از ۱).

۱. مربی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین، ملاثانی، اهواز

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1386.11.1.31.8]

تبدیل ماده کلاژن محتوی بافت پیوندی (پوست و استخوان) به یک ماده تشکیل دهنده ژل و محلول که به عنوان ماده غذایی یا چسب مصرف می‌گردد، به ماقبل تاریخ بر می‌گردد. با ابداع دوربین عکاسی استفاده از این ماده جهت تهیه فیلم نیز آغاز گردید. شگفت آور نیست که بسیاری از تحقیقات اخیر روی خصوصیات ژلاتین به وسیله متخصصان صنعت فتوگرافی است (۱).

ژلاتین یکی از پرمصرف‌ترین مواد پروتیئنی کلوئیدی در صنایع غذایی، دارویی، صنعتی، پزشکی و نظامی است که به صورت چهار نوع متفاوت، خوراکی، صنعتی، فتوگرافی و دارویی تولید می‌شود. در صنایع غذایی در تهیه مارمالادها و ژله‌ها و شیرینیجات و بستنی‌ها به کار می‌رود که به آسانی در بدن جذب شده و حتی کمک به هضم سایر مواد غذایی با تشکیل امولسیون با چربی‌ها و پروتئین‌ها می‌نماید.

هم‌چنین ژلاتین به عنوان عامل تصفیه کننده در نوشیدنی‌ها و آبمیوه‌ها و در داروسازی برای تهیه کپسول‌های دارویی و قرص‌ها به کار می‌رود. ژلاتین نقش مهمی در توسعه سریع صنعت سینما و صنایع فتوگرافی ایفا نموده است. این ماده امولسیونی از نمک‌های نقره می‌سازد که در مقابل نور بسیار حساس می‌باشد.

ژلاتین در صنایع دیگر مثل نساجی و تهیه چسب و کبریت سازی و مرکب چاپ و کاغذ پلی کپی و کارتن سازی و نیز در ساخت فیلتر لامپ‌های جیوه‌ای و هم‌چنین به عنوان شفاف کننده اجسام به کار می‌رود (۱ و۲۰). در مبحث تغذیه درمانی از ژلاتین می‌توان در موارد زیر استفاده نمود :

۱- رژیم لاغری: به علت جذب دائمی آب و عدم وجود چربی و کربوهیدرات، تجویز می‌شود (۱و۲).

۲- رژیم بدون نمک: با جایگزین شدن ژلاتین به جای ماده پروتیدی در بیمارانی که نباید نمک مصرف کنند، کمک شایانی به بیمار می‌شود. چون اگر نمک از غذای روزانه حذف شود، مواد ازته بیشتری مصرف خواهد شد (۱و۲).

۳- رژیم دوره نقاهت: چون ژلاتین، پروتئین و مواد معدنی نسبتاً زیادی که مورد لزوم بیمار است، دارد (۱و۲).

۴- درمان کم خونی (آنمی): از آنجا که ژلاتین دارای اسید آمینه هیستیدین می‌باشد که به عنوان عامل بازگرداننده هموگلوبین خون (همراه با سایر مواد مانند آهن) عمل می‌کند، در درمان کم خونی می‌تواند مفید واقع گردد (۱و۲).

۵- انعقاد خون: به علت ایجاد لخته مصنوعی و قدرت جذب خون، از خونریزی جلوگیری می‌کند (۱و۲).

۶- به عنوان جانشین سرم خون: با توجه به این که محلول رقیق‌تر از ۸٪ آن دارای خاصیت نگه‌داری آب و جذب تدریجی است، بنابراین به عمل خونسازی کمک می‌نماید (۱و۲).

۷- پوشاندن لایه داخلی معده و روده: در این زمینه همراه با سایر داروها در درمان اولسر معده و روده تجویز می‌گردد (۱و۲).

به هر روی تحقیقات نشان داده‌اند که ژلاتین حاصل از پوست و استخوان ماهی که در آزمایشگاه ساخته شده، قدرت ژله‌ای شدن مانند ژلاتین‌های حاصل از پوست و استخوان پستانداران را ندارد. هر چند کلاژن ماهیان غضروفی، ژلاتین با قدرت ژله‌ای شدن بهتری دارد (۲۰ و ۲۱).

کلاژن در ماهی

کلاژن ماهی به عنوان منبع چسب ماهی ارزش اقتصادی دارد، ولی تولید آن در سطح گسترده‌ای انجام نمی‌گیرد. کلاژن محلول کیسه هوایی ماهی (Ichthyocol) شاید اولین کلاژن محلولی باشد که درجه بالای حلالیت آن مشخص شده است (۲۳)، به عبارت دیگر کلاژن کیسه هوایی سگ ماهی هنوز هم به طور تجارتی برای تصفیه نوشابه‌های الکلی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۶).

ایزینگلاس (Isinglass) ماده ژلاتینی است که در ساخت سریشم به کار می‌رود و از کیسه هوایی ماهیان بزرگ معینی گرفته می‌شود و فرم نسبتاً خالصی از کلاژن است. زمانی فقط ماهی خاویار بلوگا منبع مناسبی برای این عمل مهم به شمار می‌آمد. ولی بعد از ممنوعیت صادرات این ماده از روسیه در

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1386.11.1.31.8]

سال ۱۹۹۹ ماهیان دیگری مورد استفاده قرار گرفتند (۲۸).

کلاژن محلول پوست ماهی روغن نیز به طور وسیعی مطالعه شده است، به طوری که سه زنجیر آلفای آن با هم تفاوت دارند و این غیر عادی است (۲۵). به طور کلی مقدار اسیدهای آمینه کلاژن ماهیان کمتر از کلاژن پستانداران می‌باشد و این خود دلیلی برای درجه حرارت پایین‌تر دناتوره شدن این مواد می‌باشد. کلاژن محلول پوست کوسه ماهی و همین طور کلاژن ماهیان استخوانی درجه حرارت دناتوره شدن پایین دارند، اگر چه از جنبه‌های دیگر مشابه کلاژن مهره‌داران است (۲۴).

شاید جالب‌ترین کلاژن ماهی که تاکنون استخراج شده، الاستوایدین (Elastoidin) باشد که یک پروتئین به دست آمده از باله کوسه ماهی است. این کلاژن به طور غیر عادی حاوی مقدار زیادی تیروزین (۷/۲۵ ٪) است ضمن آن که دارای مقداری سیستئین (۰/۱۸٪) می‌باشد (۱۴ و ۲۷).

تحقیقات چندانی در زمینه روش‌های استخراج و خواص کاربردی ژلاتین حاصل از حیوانات خونسرد مانند ماهی صورت نگرفته است (۷، ۱۳ ، ۱۷ و ۲۳). تبدیل کلاژن غیر محلول به ژلاتین توأم با شکستن اتصالات کئووالانت بین مولکولی و خارج مولکولی بوده و باعث به هم خوردن ساختمان پروتئین شده که بعداً منجر به کلاژن محلول خواهد شد (۲۸).

از آنجا که اتصالات کلاژن پوست در برابر اسید ناپایدار است (۲۰)، بنابراین عمل یک اسید ضعیف برای تأثیر بر روی حلالیت آن کافی بوده (۲۲) و این عمل منجر به تولید ژلاتین نوع A با نقطه ایزوالکتریک تقریبی بین pH =6 و pH= 9 خواهد شد (۲۸). مطالعات زیادی در مورد انواع مختلف کلاژن که با اسید استیک استخراج شده‌اند، انجام گرفته است (۹ ، ۱۸، ۱۹، ۲۰ و۲۲).

برای تولید ژلاتین غذایی از ماهی، اسید سیتریک به طور وسیعی استفاده می‌شود، زیرارنگ و بوی نامطلوبی در ژلاتین ایجاد نمی‌شود (۵ و۷). اصولاً نوع اسید مورد استفاده، قدرت یونی و pH اسید، در خصوصیات تورم و حلالیت کلاژن کاملاً مؤثر است. افزایش یون‌های H باعث نزدیکی آب به الیاف کلاژن شده و این آب به وسیله نیروهای الکتروستاتیک بین گروهای قطبی باردار (تورم الکتروستاتیکی) یا به وسیله اتصالات هیدروژنی بین گروه‌های قطبی غیر باردار و اتم‌های منفی، نگه‌داری می‌شود (۵ ، ۸، ۱۰و ۱۲).

مشکل تکنیکی در تولید ژلاتین ماهی برای مصرف خوراکی، حذف بوی نامطلوب ماهی از محصول است، ولی روشی ارائه شده است که با استفاده از آن می‌توان ژلاتین بی بو را تهیه نمود (۳ و ۴). موضوع اصلی این روش، بهینه سازی شرایط تولید ژلاتین از پوست ماهی و به دست آوردن ژلاتین با بالاترین کیفیت از آن است.

قابلیت کشش، قوام و پایداری بسیاری از محصولات غذایی که از ژلاتین به عنوان مادهٔ افزودنی در آنها استفاده می‌شود، ممکن است بهبود یابد. کیفیت ژلاتین شدیداً بستگی به خواص رئولوژیکی آن یعنی خاصیت تغییر شکل آن دارد. فایده پوست ماهی برای تولید ژلاتین نه فقط در بهره برداری از محصولات جانبی صنعت ماهی و در نتیجه کمک به حفظ محیط زیست است، بلکه می‌تواند به عنوان یک منبع پایدار نیز مطرح باشد (۶، ۱۰، ۱۱، ۱۵ و۱۶).

مواد و روش‌ها

فرایند تهیه ژلاتین بر روی نمونه‌های زیر انجام گردید:
پوست کفشک ماهی، پوست توأم با گوشت کوسه ماهی، ضایعات کارخانه فیله زنی (شامل پوست و دم و باله و استخوان و فلس از ماهیان خسون، خارو، گیش ریز و قباد و سرخو) از تأسیسات شیلات بوشهر تهیه گردید.

استخراج ژلاتین از نمونه‌های فوق به دو روش اسیدی و قلیایی صورت پذیرفت و انواع ژلاتین استحصالی به ترتیب B A می‌باشد.

نمونه‌ها به صورت منجمد به آزمایشگاه منتقل شد و تا شروع آزمایش‌ها به همان صورت در یخچال نگه‌داری گردید.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1386.11.1.31.8]

در مرحلـه دوم، مقـادیر متفـاوتی بـین ۵۰-۲۷ گـرم از نمونه‌های خارج شده از حالت انجماد را خرد و توزین نموده و در کاغذ صـافی پیچانـده و پـس از گذاشـتن آنهـا در کـاتوش، جداگانه آنها را در دستگاه سوکسله به منظور جدا سازی چربـی آنها، قرار داده و به وسیله ۲۰۰ سـی سـی پترلیـوم بـه مـدت ۶ ساعت، چربی آنها استخراج گردید.

به دلیل این که فقط کـلاژن موجـود در پوسـت و ضـایعات ماهی است که در اثر هیدرولیز به ژلاتین تبدیل می‌شود، بنابراین باید تمام ترکیبات همراه با کلاژن موجود در ضـایعات مـاهی از جمله چربی و مواد معدنی و پروتئین‌های دیگـر را جـدا نمـود. وجود چربی باعث تشکیل صابون از طریق ترکیب اسید چـرب و قلیای مصرفی در طـول فراینـد تهیـه ژلاتـین خواهـد شـد و بابراین ضروری است که در مرحله اول فرایند، آن را جدا نمـود (۴).

الف) روش اسیدی

مرحله جـدا سـازی چربـی در هـر دو روش اسـیدی و قلیـایی مشترک اسـت. مرحلـه سـوم، حـذف امـلاح توسـط HCL ۵٪ است. نمونه‌های بدون چربی را در ۳۰۰-۲۰۰ میلـی‌لیتـر اسـید کلریدریک ۵٪ به مدت ۲۴ ساعت و در دمای اتـاق بـا هـم زن مغناطیسی مخلوط گردید تا املاح آن جدا و در مرحلـه بعـد بـا شستشوی با آب مقطر خارج گردد. هدف از املاح‌گیری توسـط اسید، عمدتاً گرفتن املاح کلسیم است. فسفات‌های کلسیم به‌نام آپاتیـت ($Ca_5(Po_4)_3(OH)$) در کـلاژن موجـود اسـت. فسفات‌های کلسیم به صورت فسفات‌های اسیدی حـل شـده و خارج گردید. در نهایت کلاژن به صورت متورم (اسـئین) بـاقی می‌ماند که دارای ناخالصی‌های موکو پلی ساکاریدی است. عمل جداسازی املاح باید تحت کنترل باشـد یعنـی عمـل در درجـه حرارت پایین (دمـای اطـاق) انجـام گیـرد و از افـزایش درجـه حرارت پرهیز گردد. غلظت زیاد اسید باعث هیـدرولیز اسـیدی پروتیئن کلاژن می‌شود (۱۷).

مرحله چهارم، شستشوی اسئین با آب به دفعات مکرر برای حذف اسید با استفاده از قیف بوخنر است. هدف از انجـام ایـن عمل به منظور خارج نمودن املاح می‌باشد.

مرحله پنجم، نمونه‌هارا در pH بین ۶/۵-۶ توسـط pH متـر دیجیتال تنظیم گردید، زیـرا کـه در ایـن محـدوده pH سـرعت تجزیه محلول ژلاتین حاصل در حداقل است و بهترین نتایج بـه دست می‌آید.

مرحله ششم، هیدرولیز کلاژن و تبدیل آن به ژلاتین توسـط حرارت و در مجاورت آب است. استفاده از اتوکلاو سریع‌تـرین روش است. نمونه‌ها را در اتوکلاو و به مـدت یـک سـاعت در فـشار بخـار psi ۲۰ قـرار داده تـا کـلاژن بـه صـورت ژلاتـین هیدرولیز گردد.

از بن ماری و در درجات حرارت ۷۰ تا۸۰ درجه سانتی‌گراد هم استفاده گردیـد، ولـی زمـان طـولانی‌تـری لازم اسـت و ۳۶ ساعت باید حرارت ببیند و قبلاً نیز باید به میزان دو سـوم مـواد کلاژنی آب اضافه گردد.

هدف از اتوکلاو نمودن، شکستن باندهای هیدروژنی اسـت که ساختمان مارپیچی کلاژن را ثابت نگه می‌دارند، به هـر حـال نباید اتصالات پپتیدی از بین برود. اصولا از نکات جالب توجـه تولید پلاتـین آن اسـت کـه علـی‌رغـم همـه فراینـدها، ترتیـب اسیدهای آمینه کـلاژن عینـاً در ژلاتـین تهیـه شـده از آن دیـده می‌شود.

مرحله هفتم، تصفیه شیمیایی محلول ژلاتین : برای این کـار می‌توان از سفیده تخم مرغ یا آهک یا فـسفات کلـسیم اسـتفاده نمود. بلافاصله پس از خروج نمونه‌ها از اتوکلاو، در حالتی کـه محلول در حال جوش است، به ازای هر ۸۰ میلـی‌لیتـر محلـول ژلاتین، یک میلی‌لیتر سفیده تخم مرغ افزوده مـی‌شـود. آلبـومین سفیده در اثر حرارت منعقد و کواگوله می‌شـود و پـس از یـک ساعت می‌تواند املاحی مانند مس و دیگـر ناخالـصی هـا را بـه خود متصل نموده و ته نشین کند که بعداً می‌توان جهت حـذف ناخالصی‌های متصل شده به سفیده کواگوله شده، محلول‌ها را از صافی عبور داد.

مرحله هشتم، سانتریفوژ نمودن: نمونه‌ها را بـا RPM ۲۵۰۰

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1386.11.1.31.8]

و به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۵- درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ نموده و در اثر این عمل، موکوپلی ساکاریدهایی مانند هیالورونیک اسید و کندروایتین سولفات (۱) که دارای وزن مولکولی زیاد هستند، رسوب می‌کنند و جدا می‌گردند.

مرحله نهم، تبخیر نمودن محلول ژلاتین در اتوکلاو تحت خلأ: محلول های رقیق ژلاتین در اتوکلاو تحت خلأ با درجه حرارت ۶۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. مایعات ژلاتینی به فرم ورق‌هایی خشک گردید. به علت حساس بودن ژلاتین مایع نسبت به درجه حرارت بالا، از اتو تحت خلأ و درجه حرارت پایین استفاده گردید.

مرحله دهم، ورقه‌های خشک ژلاتین در آسیاب تبدیل به پودر گردید و سپس توزین شد.

ب) روش قلیایی

۱. جداسازی چربی
۲. استفاده از محلول قلیا (سود ۴٪) و مجاور نمودن آن با منبع ژلاتینی (ضایعات ماهی) به مدت ۳ هفته و در دمای اطاق
۳. حذف قلیا به وسیله آب
۴. خنثی سازی محلول حاصله به وسیله اسید کلریدریک ۵٪
۵. شستشوی مکرر با آب برای حذف اسید و تنظیم PH در حدود ۷-۶
۶. هیدرولیز تحت فشار بخار آب (در اتوکلاو) مانند روش اسیدی
۷. فیلتراسیون برای حذف ناخالصی‌ها (مانند املاح و موکوپلی ساکاریدها)
۸. تغلیظ مایع ژلاتین تحت خلاء
۹. سرد و خشک نمودن ژلاتین
۱۰. خرد و آسیاب نمودن ژلاتین و توزین آنها (۶، ۷، ۸ و۹).
۱۱. ارزیابی صفت کیفی ژلاتین (رنگ) به روش تست پانل (Hedonic scaling) اندازه‌گیری شد و واحد رنگ بر اساس امتیاز دهی حسی بود.

نتایج

در مرحله اول ابتدا نمونه‌های منجمد و خارج شده از حالت انجماد توزین گردید. درصد آب از دست رفته نمونه‌های پوست توأم با گوشت کوسه ماهی و پوست کفشک ماهی و ضایعات کارخانه فیله زنی به ترتیب برابر با ۲۰/۷۹ و ۲۱/۳۷ و ۲۲/۳۹ بود.

متوسط درصد روغن پوست توأم با گوشت کوسه ماهی و متوسط درصد روغن پوست کفشک ماهی و متوسط درصد روغن ضایعات کارخانه فیله زنی به ترتیب برابر با ۱۴/۰۱۲ و ۴/۲۵ و ۱۹/۱۴ بود.

بحث

تعیین بهترین شرایط PH و نوع ماده اولیه

نتایج آنالیز واریانس داده‌ها در این مرحله از طرح (از طریق طرح فاکتوریل در قالب بلوک‌های کاملاً تصادفی و مقایسه مانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد) نشان داد که بین تیمارهای مختلف از نوع PH (شرایط قلیایی و اسیدی) و مادهٔ اولیه مورد استفاده جهت استخراج ژلاتین با توجه به فاکتورهای کیفی مورد بررسی (میزان راندمان، درصد خلوص و رنگ و ظاهر) اختلافات معنی‌داری به شرح زیر وجود دارد:

الف) راندمان

نتایج حاصل از آنالیز داده ها نشان داد که اگرچه اختلافات معنی‌داری از نظر شرایط pH به کار رفته جهت استخراج ژلاتین برای میزان راندمان وجود ندارد اما نوع ماده اولیه به طور کاملاً معنی‌داری (۹۹٪ > P) بر میزان راندمان ژلاتین تأثیر گذار است. به علاوه همان گونه که از تجزیه داده‌های مذکور می‌توان مشاهده نمود بین آثار متقابل میان دو فاکتور مورد آزمایش اختلاف کاملاً معنی‌داری وجود دارد (جدول ۳).

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1386.11.1.31.8]

ب) درصد خلوص

در اینجا برخلاف راندمان میان فاکتور A (شرایط PH) اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید. اما میان نوع ماده اولیه و آثار متقابل دو فاکتور مورد بررسی هیچ گونه اختلاف معنی‌داری مشخص نگردید.

ج) بو

برخلاف راندمان و درصد خلوص، شرایط استخراج (از نظر PH) و نوع ماده اولیه تأثیر معنی‌داری روی بوی ژلاتین استخراج شده نداشت. لذا، اگرچه اختلافات جزیی میان رایحه یا بوی ژلاتین استخراج شده وجود داشت، اما به دلیل معنی‌دار نبودن نمی‌توان آن را به عنوان یک ملاک ارزیابی مورد توجه قرار داد.

د) رنگ و ظاهر

همانند نتایج به دست آمده در مورد درصد خلوص ژلاتین، در اینجا نیز تنها درمورد فاکتور A اختلافات معنی‌دار مشخص گردید اما میان مسیر فاکتورها این اختلاف چندان معنی‌دار نبود. در هر حال همان طور که از نتایج آنالیز داده‌ها می‌توان مشاهده نمود. از طریق آزمون دانکن در سطح ۵ درصد در مورد اثر متقابل دو فاکتور مورد آزمایش اختلافات معنی‌داری مشخص گردید.

تعیین بهترین PH (اسیدی یا قلیایی) جهت استخراج ژلاتین

همان طور که در بالا عنوان گردید از میان صفات کمّی (راندمان و درصد خلوص) و کیفی (رایحه و رنگ) مورد بررسی به جز صفت رایحه، در سایر موارد اختلاف معنی‌داری میان متغیرهای مورد آزمایش و آثار متقابل آنها مشاهده گردید. لذا با توجه به اهمیتی که هر یک از صفات کمّی و کیفی مورد بحث داشتند، به هر یک از آنها امتیازی به صورت : راندمان ۴۰، درصد خلوص ۴۰، و رنگ ۲۰ امتیاز داده شد و امتیازات میان سطوح مختلف آزمایش براساس وجود اختلاف معنی‌دار تقسیم گردید. برای مثال در صورتی که اختلاف معنی‌دار به صورت A، AB و B برای راندمان مشخص گردیده باشند به نمونه‌هایی که در سطح A قرار گرفتند امتیاز کامل (۴۰ امتیاز)، در سطح AB نیمی از امتیاز (۲۰ امتیاز) داده می‌شد و به نمونه‌هایی که در سطح B قرار می‌گرفتند هیچ امتیازی (صفر امتیاز) تعلق نمی‌گرفت.

همان طور که در جدول ۱ می‌توان مشاهده نمود، پس از امتیاز دهی یا تقسیم امتیازات، استفاده از شرایط استخراج اسیدی به مراتب مناسب‌تر از استخراج ژلاتین با کمک قلیا می‌باشد. لذا در مرحله بعد جهت استخراج ژلاتین از محیط اسیدی استفاده خواهد گردید.

تعیین مناسب‌ترین ماده اولیه جهت استخراج ژلاتین

همانند روش تعیین مناسب‌ترین شرایط PH، در اینجا نیز امتیازات میان تیمارها تقسیم گردید. جدول ۲ نحوهٔ تقسیم امتیازها و بر اساس آن تعیین بهترین ماده اولیه را نشان می‌دهد. با توجه به این نتایج استفاده از مواد اولیه کفشک ماهی و ضایعات فیله جهت استخراج ژلاتین به عنوان مناسب‌ترین مواد اولیه مشخص گردیدند. در اینجا اختلاف معنی‌داری از نظر درجه خلوص و رنگ نیز مشاهده نگردید و تنها بر اساس راندمان ژلاتین تولید شده بهترین ماده اولیه جهت استخراج ژلاتین مشخص گردید. لذا، از آنجایی که میان میزان راندمان حاصله میان دو مادهٔ کفشک ماهی و ضایعات فیله اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، می‌توان هر یک از این مواد را جهت استفاده در مرحلهٔ بعدی طرح انتخاب نموده و از آن استفاده کرد. در هر حال به دلیل بالاتر بودن راندمان در صورت استفاده از مادهٔ ضایعات فیله ماهی در شرایط اسیدی از این ماده جهت استخراج ژلاتین و بررسی شرایط تولید در مرحلهٔ بعد استفاده می‌گردد(جدول ۴).

بررسی اثر متقابل

در اینجا پس از بررسی اثر متقابل میان دو فاکتور مورد آزمایش

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1386.11.1.31.8]

جدول ۱. میانگین درصد چربی و آب استحصالی از نمونه‌های مختلف ضایعات شیلات

مقادیر آب و چربی / نوع نمونه‌ها	درصد آب	درصد چربی
پوست کفشک ماهی	۲۱/۳۷ ± ۰/۰۲	۴/۲۵ ± ۱/۰۱
پوست توأم با گوشت کوسه ماهی	۲۰/۹۷ ± ۰/۰۲	۱۴/۰۲ ± ۰/۰۳
ضایعات کارخانه فیله زنی	۲۲/۳۹ ± ۰/۰۵	۱۹/۱۴ ± ۰/۰۵
میانگین کل ضایعات شیلات	۱۲/۱۰	۱۱/۷۶

جدول ۲. متوسط درصد ژلاتین پودری شکل استحصالی از منابع ژلاتینی با فرایندهای اسیدی و قلیایی

نوع نمونه / نوع فرآیند	پوست کفشک ماهی	پوست همراه با گوشت کوسه ماهی	ضایعات کارخانه فیله زنی
فرآیند اسیدی	۱۹/۷۶ ± ۰/۰۹	۱۸/۰۵ ± ۰/۱۶	۲۱/۵۷ ± ۰/۶۷
فرآیند قلیایی	۲۰/۸۵ ±۱/۷۸	۱۸/۶۵ ± ۰/۹۶	۱۸/۲۹ ± ۱/۷۴

جدول ۳. مقایسه راندمان، درجه خلوص و رنگ ژلاتین در شرایط استخراج اسیدی و قلیایی (A) و امتیاز دهی به آنها (B)

شرایط استخراج	راندمان	درجه خلوص	رنگ
pH اسیدی (A)	۱۹/۷۵ ^{A}	۸۶/۱۶ ^{A}	۱/۹۸ ^{A}
pH قلیایی(A)	۱۹/۲۶ ^{A}	۸۴/۹۱۲ ^{B}	۱/۵۶ ^{B}
pH اسیدی (B)	۴۰امتیاز	۴۰ امتیاز	۲۰ امتیاز
Ph قلیایی (B)	۴۰ امتیاز	۰ امتیاز	۰ امتیاز

حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌ها در هر ستون می‌باشد.

جدول ۴. مقایسه راندمان، درجه خلوص و رنگ ژلاتین بر حسب مواد اولیه مختلف (A) و امتیاز دهی به آنها (B)

ماده اولیه	راندمان	درجه خلوص	رنگ (امتیازحسی)
پوست کفشک ماهی	۲۰/۳۱ ^{A}	۸۵/۶۸ ^{A}	۱/۷۳ ^{B}
پوست کوسه ماهی	۱۸/۴۴ ^{A}	۸۵/۵۸^{A}	۱/۷۷ ^{B}
ضایعات فیله	۱۹/۷۶ ^{B}	۸۵/۳۵^{B}	۱/۸^{B}
پوست کفشک ماهی	۴۰	۴۰	۲۰
پوست کوسه ماهی	۴۰	۴۰	۲۰
ضایعات فیله	۰	۴۰	۲۰

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1386.11.1.31.8]

و با توجه به وجود اختلاف معنی‌دار در این زمینه (در مورد دو فاکتور راندمان و رنگ) مشخص گردید که بهترین راندمان، رنگ ژلاتین در صورت به کارگیری روش استخراج اسیدی و استفاده از مواد اولیهٔ A و C می‌باشد که با نتایج به دست آمده فوق مطابقت دارد.

تعیین شرایط مناسب PH و دمای استخراج ژلاتین

پس از مشخص شدن مناسب‌ترین ماده اولیه و شرایط PH اسیدی جهت استخراج ژلاتین، در این مرحله از طرح دو فاکتور PH و دما به عنوان مهم‌ترین فاکتورهای مؤثر در کمّیت و کیفیت ژلاتین استخراجی مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج آن در زیر آورده شده است.

تعیین مناسب‌ترین PH در شرایط استخراج اسیدی

از آنجا که PH به عنوان فاکتوری مؤثر در کمّیت و کیفیت ژلاتین استخراجی نقش دارد، لذا در این قسمت از طرح این عامل به عنوان یک متغیر آزمایش در نظر گرفته شد که همانند مرحلهٔ اول طرح، در اینجا نیز پس از مشخص نمودن سطوح متغیرها و تعیین وجود اختلاف معنی‌دار بین سطوح، بهترین سطح متغیر مشخص گردید.

بر این اساس، استفاده از PH ۶/۵ در مقایسه با PH ۶ به عنوان pH مناسب‌تر انتخاب گردید. در این زمینه میان دو PH به کار رفته اختلاف کاملاً معنی‌داری مشخص گردید. (۱٪ >P)

تعیین بهترین دمای استخراج

با توجه به نتایج آنالیز واریانس داده‌ها و مقایسهٔ میانگین‌ها، در اینجا نیز بر اساس وجود اختلاف معنی‌دار بین سطوح مختلف این متغیر، بهترین سطح یا دمای استخراج مشخص گردید. در اینجا میان سطوح این متغیر اختلاف کاملاً معنی‌داری مشخص گردید و با توجه به نتایج حاصل بهترین راندمان در صورت به کارگیری دمای استخراج ۷۰ °C به دست می‌آید. در هر سال میان دو سطح دیگر (۷۵ °C و ۸۰ °C) از این نظر هیچ گونه اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید.

بررسی اثر متقابل

در اینجا نیز با احتمال بیش از ۹۹ درصد اثر متقابل میان دو فاکتور میزان PH و دمای استخراج مشاهده گردید. در هر حال، پس از بررسی اثر متقابل مذکور مشخص گردید که بهترین راندمان در صورت استفاده از PH = ۶/۵ و دمای ۷۰ °C به دست می‌آید که با نتایج قبلی مطابقت کامل دارد.

بنابراین در یک نتیجه‌گیری کلی از این قسمت از طرح استفاده از PH = ۶/۵ و دمای استخراج ۷۰ °C به عنوان مناسب‌ترین شرایط استخراج ژلاتین تعیین گردید.

گادماتسون آثار عملیات شیمیایی بر روی رادمان تولید ژلاتین بر اساس وزن پوست ماهی خام را گزارش دادند. در این گزارش استفاده از غلظت ۰/۷٪ اسید سیتریک و ۰/۱۵٪ اسید سولفوریک و غلظت ۰/۲ ٪ هیدروکسید سدیم، راندمان ۱۴٪ در پی داشت که با نتایج تحقیق حاظر مطابقت ندارد(۸) و دلیل آن بستگی به نوع ماهیان مورد استفاده دارد که در این بررسی از ماهیان آب‌های گرم خلیج فارس استفاده شده است در صورتی که نوع ماهی کاد (Cod fish) که این محققان به کار بردند از نوع ماهیان آب‌های سرد می‌باشد. دلیل دیگر این عدم مطابقت این است که در این تحقیق از غلظت‌های بالاتر اسیدها و قلیاها استفاده شده است.

اسبورن و همکاران(۲۳) نیز راندمان ۱۴/۳٪ تولید ژلاتین را از پوست ماهی لومب (Lump fish) در روشی گزارش نمودند.

Hafsteinsson *et al.* حداکثر راندمان احتمالی تولید ژلاتین از پوست ماهی کاد حدود ۱۷٪ بر اساس وزن پوست ماهی گزارش نمودند. اگر غلظت اسید سولفوریک و هیدروکسید سدیم بیش از ۰/۲ ٪ بر حسب وزنی حجمی و غلظت اسید سیتریک مساوی یا کمتر از ۱/۲٪ وزنی – حجمی استفاده شود، عطر و بوی ژلاتین به سختی قابل تشخیص است ولی وقتی غلظت اسید سیتریک و هیدروکسید سدیم در محدوده ۰/۲٪ تا ۰/۳٪ و اسید سیتریک در محدوده ۱ تا ۱/۲٪ باشد. به هر حال

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1386.11.1.31.8]

ژلاتینی که از غلظت ۰/۷٪ اسید سیتریک حاصل می‌شود تقریباً شفاف‌تر از موقعی است که که غلظت آن در محدوده ۱ تا ۱/۲٪ باشد. تنها ژلاتینی که در رنگ و شفافیت غیر قابل قبول است وقتی به دست می‌آید که غلظت اسید سولفوریک و هیدروکسید سدیم کمتر از ۲٪ باشد(۸).

تمیزی و شفافیت در رنگ ژلاتین حاصله در این بررسی در حد مطلوب بوده و مقایسه آن با نتایج محققان دیگر نشان می‌دهد که هر چه غلظت اسید سولفوریک و هیدروکسید سدیم و اسید سیتریک بیشتر باشد شفافیت و عطر و طعم ژلاتین حاصله مطلوب‌تر است که این با ژلاتین حاصله مطابقت دارد.

گراسمن و همکاران گزارش دادند که نقطه ذوب ژلاتین ماهی تیلاپیا (Tilapia) که از نوع ماهی آب گرم بوده نسبت به ژلاتین ماهی کاد (ماهی آب سرد) تفاوت دارد یعنی قدرت ژله‌ای آنها و حتی راندمان تولید ژلاتین از پوست این گونه ماهیان نسبت به یکدیگر تفاوت دارند(۷).

جانسون گزارش داد که ژلاتینی که فرآیند تولید آن در pH حدود خنثی تنظیم شده است، قدرت بلوم ژله‌ای آن بالاتر از ژله‌هایی است که pH آن ۲/۵ تا ۳ تنظیم گردیده است ($p<۰/۰۱$)(۱۲).

در تحقیق حاضر که پس از هر مرحله فرایند با اسید یا سود، به وسیله شستشو با آب pH در حدود خنثی تنظیم شده است، ژلاتین قدرت ژله‌ای بالایی دارد.

ایمز راندمان تولید ژلاتین از استخوان خشک شده گاو حداکثر ۱۸٪ و از پوست خوک منجمد را حداکثر ۲۲٪ گزارش نمود و در صورتی که استخوان به اندازه ۱۸ میلی‌لیتر خرد شده باشد، راندمان تولید ژلاتین به ۶۰٪ هم می رسد که اگر با نتایج این تحقیق مقایسه شود ملاحظه خواهیم نمود که از ضایعات کارخانه فیله که درصد استخوان آن بیشتر است با روش اسیدی حداکثر راندمان ۲۱/۵۷٪ به دست می‌آید ولی امکان استحصال سهل الوصل ضایعات ماهی فراوان از آب‌های جنوب کشور، قابل مقایسه با مقادیر استخوان دام نمی‌باشد(۳).

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از همکاری آزمایشگاه گروه صنایع غذایی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین به‌ویژه جناب آقای دکتر حسین جوینده عضو محترم هیئت علمی گروه صنایع غذایی، کمال تشکر و قدردانی می‌نمایم.

منابع مورد استفاده

۱. ایزدی شیرازی، ه. ۱۳۵۹. کاربرد ژلاتین در داروسازی. پایان‌نامه دانشکده داروسازی، دانشگاه تهران.

۲. منتظر، ع.، ۱۳۶۵. ژلاتین وروش تولید آن. پایان‌نامه دانشکده داروسازی، دانشگاه تهران.

3. Ames, W.M.1993. Manufacture of glue and gelatin. J. Food Sci and Agric. 36(3): 454-458.
4. Asghar, A. 1982. Chemical Biochemical Functional and Nutritional Characteristics of Collagen in Food Systems. Advances in Food Researches Academic Press., London.
5. Babbitt, J.K. and K. Reppond. 1998. Factors affecting the gel properties of surimi. J. Food Sci. 53: 965-966.
6. Gomes-Guillen, M. G. and P. Montero. 2001. Extraction of gelatin from Megrim (*Lepidorhombus boscii*) skins with several organic acids. J. Food Sci. 66. (2): 213-216.
7. Grossman, S. and M. Berman. 1992. Process for the production of gelatin from fish skins. U. S. Patent. 5,093, 474.
8. Gudmundsson, M. and H. Hafsteinsson. 1997. Gelatin from cod skins as affected by chemical treatments. J. Food Sci. 62(1): 37-39.
9. Gustavson, K. 1986. The Chemistry and Reactivity of Collagen. Academic Press., New York.
10. Herrmann, P. and A. G. Creamp. 1989. Production of gelatin from cattle bones. J. Food Eng. Int. 4(9): 41-49.
11. Janus J. T. and R. Darlow. 1989. The setting of gelatin sols. Kolloid J. 205:134.
12. Johnston, B. 1990. Gelatin. PP. 133-289. *In:* B. Harris (Ed.), Food Gel. Elsevier Appl. Sci., London.
13. Kin.C. 1996. Screening for raw material of modified Gelatin in Marine animal Skins caught in coastal offshore water in Korea. Agric. Chem. and Biotechnol. 39(2): 134-139.
14. Kimura, S. 1998. Fish skins type 1 collagen. Biochem. Physiol. 88: 27-34.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1386.11.1.31.8]

15. Ledward, D. 1986. Gelation of Gelatin. Elsevier Appl. Sci. Pub., London.
16. Lee Hg, L. 1990. Transglutaminase activity in Alaska pollack muscle and Surimi and it.s reaction with myosin. B. Nippon Suisan Gakkaishi. 56, pp.125-132.
17. Leuenberger, B. 1991. Investigation of viscosity and gelation properties of different mammalians and fish gelatins.Food hydrocolloids. 5: 333-361.
18. Montero, P. and C. Alvarez. 1990. Characterization of hake(Merluccius) and trout(*Salmo irideus* Gibb.) collagen. J. Agric. Food Chem. 38(3): 604-609.
19. Montero, P. and M. Gomez. 1990. Thermal aggregation of sardin muscle proteins during processing, J. Agric. food Chem. 44: 3625-3630.
20. Montero, P. and J. Borderias.1995. Plaice skin collagen extraction and functional properties. J. Food Sci. 60(1): 1-3.
21. Mizuno, H.and T.Saito. 1995. physical properties of Kamaboka made from nama- Surima and otoshimi. Bull. Japan Soc. Fish 51: 1495-1499.
22. Norland, R. E. 1990. Fish gelatin. PP. 323-325. *In:* Advances in fishery technology and Biotechnology for increased profitability, Voight MN and Botta JK Technomic Pub., London.
23. Osborne, R.1990. Utilization of lumpfish (*Cyclopterus lumpus*) Carcasses for the production of Gelatin. Technomic Pub. Company, London.
24. Park, J.W.1995. Surimi gel colors as affected by moisture content and physical conditions. J. Food Sci. 60: 15-18.
25. Piez, K. 1997. Characterization of a collagen from codfish skin. Biotechnol. 4: 1590-2596.
26. Reppond, K.D.and D.H.Wasson.1993.Properties of Gels produced from blends of arrowtooth flounder and Alaska Pollock Surimi. J. Aquatic Food Prod. and Technol. 2(1): 83-98.
27. Sato,K. and R.Yoshinako. 1995. Isolation of native acid soluble from fish muscle, Nippom Suisan Gakkaishi. 53(8): 1431-1436.
28. Stainby, G.1997. Gelatin Gels. PP. 209-222. *In*: Advances in Meat Research.Vol. 4. Collagen as a Food. Van Nostrand Reinhold company, New York.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1386.11.1.31.8]