نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۸، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۱، ص. ۱۵۷-۱۵۰

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 8, No. 2, Summer 2012, p. 150-157

تأثیر شرایط فرآوری بر بازده استخراج و نقطه ذوب ژلاتین پوست کوسه چانه سفید (*Carcharhinus dussumieri*)

مینا اسمعیلی خاریکی[۱]- مسعود رضائی[۲*]- علی معتمدزادگان[۳]

تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۵
تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۲/۲۱

چکیده

به منظور بهینه‌سازی شرایط استخراج ژلاتین از پوست کوسه چانه سفید (*Carcharhinus dussumieri*)، تأثیر غلظت سود (۱ -۰/۰۱ نرمال)، غلظت اسیدکلریدریک (۱ – ۰/۰۱ نرمال) و زمان استخراج (۸- ۳ ساعت)، بر بازده استخراج و نقطه ذوب ژلاتین با استفاده از طرح مرکب مرکزی به روش سطح پاسخ (RSM) مورد بررسی قرار گرفت. براساس مدل‌های رگرسیونی به‌دست آمده، مقادیر پیش‌بینی شده در شرایط بهینه شامل ۲۳/۲۲۲ درصد (بازده استخراج) و°C ۳۲/۲۲۴ (نقطه ذوب) بوده‌اند. شرایط اپتیمم با استفاده از سود ۰/۰۱ نرمال، اسید کلریدریک ۰/۱۳۵ نرمال و مدت زمان استخراج ۳ ساعت به‌دست آمد. نتایج نشان داد که غلظت اسید کلریدریک و غلظت سود به شکل معنی‌داری بر بازده استخراج و نقطه ذوب ژلاتین حاصل، اثر داشت ($p\leq0/05$)، ولی مدت زمان استخراج تأثیر معنی‌داری بر هیچ یک از دو ویژگی مورد بررسی نداشت.

واژه های کلیدی: کوسه چانه سفید، ژلاتین، روش سطح پاسخ، بازده استخراج و نقطه ذوب

مقدمه

ژلاتین یک ترکیب غذایی پروتئینی خالص با وزن مولکولی بالا و خواص عملکردی با ارزش می‌باشد که از دناتوراسیون حرارتی کلاژن، پروتئین عمده بافت پیوندی حیوانات، به‌دست می‌آید (Bailey *et al.*, 1998). ژلاتین یکی از پر مصرف‌ترین مواد پروتئینی کلوئیدی در صنایع‌غذایی، دارویی، صنعتی، پزشکی و نظامی است (Senchiu *et al.*, 2006). استفاده از ژلاتین در صنایع‌غذایی علاوه بر ارزش‌های غذایی به خواص فیزیکی آن نیز مرتبط می‌باشد. ژلاتین را می‌توان از منابع گوناگون کلاژن تولید کرد. استخوان گاو، پوست گاو و پوست خوک منابع اصلی تجاری هستند (Wasswa *et al.*, 2007). گزارشات اخیر نشان می‌دهد که تولید جهانی سالانه ژلاتین حدود ۳۲۶۰۰۰ تن است که ژلاتین به‌دست آمده از پوست خوک با تولید حدود (۴۶ درصد) بیشترین مقدار را داشته و به دنبال آن ژلاتین حاصل از پوست گاو (۲۹/۴ درصد) و استخوان گاو (۲۳/۱ درصد) و سایر منابع (۱/۵ درصد) قرار دارند (Karim *et al.*, 2009).

عوامل متعددی از جمله پدیده جنون‌گاوی و اعتقادات مذهبی در ادیان اسلام و یهود در عدم استفاده از ژلاتین خوک منجر گردیده است تا تحقیقات مختلفی جهت تولید ژلاتین آبزیان به عنوان یک تولید جایگزین صورت گیرد (Karim *et al.*, 2009). کلاژن حیوانات خونگرم و خونسرد از نظر خواص فیزیکی و شیمیایی از جمله حلالیت، پایداری حرارتی و واکنش‌پذیری شیمیایی متفاوت هستند (Yata *et al.*, 2001) به همین دلیل روش استخراج کلاژن و تولید ژلاتین از بافت پیوندی پستانداران تا حدی متفاوت از استخراج و تولید ژلاتین از ضایعات ماهی می‌باشد. این امر زمینه مطالعات متعددی را در بررسی خواص عملکردی و فرآوری ژلاتین ماهی فراهم نموده است. کیفیت ژلاتین برای یک کاربرد خاص بستگی زیادی به خواص رئولوژیکی و فیزیکی شیمیایی آن دارد (Giménez *et al.*, 2005) و نه تنها تحت تأثیر گونه و بافت استخراجی (پوست، استخوان، غضروف) قرار می گیرد، بلکه شدت شرایط استخراج و فرآیندهای پیش تیمار به کار رفته نیز در خواص آن مؤثر است (Rahman *et al.*, 2008) که در آن pH، دما و زمان سه فاکتور مهم در هر دو فرایند می‌باشند (Gómez-Guillén *et al.*, 2001؛ Zhou *et al.*, 2005). یکی از مهمترین خواص فیزیکی ژلاتین که می‌تواند تحت تأثیر شرایط استخراج قرار گیرد، نقطه ذوب می‌باشد. نقطه ذوب

۱ و۲- دانشجوی کارشناسی‌ارشد فرآوری محصولات شیلاتی و دانشیار دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email rezai_ma@modares.ac.ir)
۳- استادیار گروه علوم و صنایع‌غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ساری، ایران

برروی خواص رئولوژیکی ژلاتین در دماهای مختلف و نیز استفاده از ژلاتین در فرمولاسیون فرآورده‌هایی که در شرایط دمایی مختلف (دمای یخچال، دمای محیط و..) نگه داشته می‌شوند، مؤثر است. تاکنون مطالعات متعددی در خصوص شرایط مختلف پیش فرآوری و استخراج ژلاتین از استخوان پولاک آلاسکا (Motamedzadegan *et al.*, 2003)، غضروف کوسه (Cho *et al.*, 2004)، پوست پولاک آلاسکا (Zhou *et al.*, 2005)، پوست سالمون آتلانتیک (Arnesen *et al.*, 2007a)، پوست گربه ماهی کانالی (Liu *et al.*, 2007)، پوست قزل آلای رنگین کمان (Shahiri Tabarestani *et al.*, 2010) و پوست کوسه بامبو (Kittiphattanabawon *et al.*, 2010a) صورت پذیرفت.

امروزه کوسه‌ها در کشورهای مختلف به منظور تولید فیله و همچنین فروش باله، صید شده و مورد استفاده قرار می‌گیرند. در ایران نیز صید کوسه و فروش باله و فیله آن در سال‌های اخیر با روند صعودی مواجه بوده است که این فرآوری منجر به تولید باقیمانده‌هایی مانند پوست می‌گردد. پوست کوسه می‌تواند به عنوان منبع خوبی از کلاژن با ویژگی‌های منحصر به فرد باشد (Kittiphattanabawon *et al.*, 2010b) و برای استخراج ژلاتین مورد استفاده قرار گیرد.

کوسه چانه سفید (*Carcharhinus dussumieri*) با نام انگلیسی Whitecheek shark از خانواده Carcharhinidae بوده و در خلیج‌فارس و دریای عمان و همچنین در دریاهای گرمسیری و معتدله دنیا یافت می‌شود. این گونه بخش عمده صید کوسه در منطقه جنوبی کشور را به خود اختصاص می‌دهد. با این وجود تاکنون بررسی به منظور تولید ژلاتین از پوست این گونه کوسه صورت نگرفته است. تحقیق حاضر استخراج ژلاتین از پوست کوسه چانه سفید را مورد بررسی قرار می‌دهد.

مواد و روش‌ها

تهیه پوست کوسه

تعداد ۵۰ عدد کوسه چانه سفید (۱۰۰-۵۰ سانتی‌متر) به صورت منجمد (۲۰°C-) از اداره دامپزشکی بندر کنارک در شهرستان چابهار به شرکت کیان ماهی خزر واقع در شهرستان بابلسر منتقل شده و پوست‌گیری شدند. پس از انتقال نمونه‌های پوست منجمد (۲۰°C-) به آزمایشگاه فرآوری محصولات شیلاتی دانشکده علوم دریایی نور، بقایای گوشت چسبیده به پوست به صورت دستی و توسط اسکالپل و چاقو حذف شده و نمونه‌ها تمیز و با آب سرد شستشو شدند. سپس پوست‌ها قطعه قطعه شده (cm^2 ۳-۲) و تا زمان استفاده در کیسه‌های پلی‌اتیلنی در فریزر ۲۰°C- نگهداری گردیدند.

استخراج ژلاتین

استخراج ژلاتین به روش Shahiri Tabarestani و همکاران (۲۰۱۰) با تغییرات اندک در پارامترهای پیش فرآوری انجام شد. حدود بالا و پایین متغیرهای مستقل (غلظت سود، غلظت اسید و زمان استخراج) با استفاده از انجام آزمایشات اولیه تعیین گردید. برای هر تیمار ۱۰۰ گرم نمونه پوست در نظر گرفته شده و فرآیند پیش تیمار قلیایی جهت حذف پروتئین‌های غیر کلاژنی در پنج نقطه غلظتی (۰/۰۱، ۰/۲۱، ۰/۵۰۵، ۰/۸، ۱ نرمال) به مدت ۱ ساعت دردمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجام گردید و سپس شستشو با آب مقطر سرد تا خنثی‌سازی pH پوست صورت گرفت و این مراحل ۳ بار تکرار شدند. سپس جهت حذف مواد معدنی و املاح از پوست، فرآیند پیش تیمار اسیدی در پنج نقطه از غلظت‌های (۰/۰۱، ۰/۲۱، ۰/۵۰۵، ۰/۸، ۱ نرمال) به مدت ۱ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجام شده و نمونه‌ها تا خنثی‌سازی pH پوست شستشو شدند، که این مراحل نیز با ۳ بار تکرار صورت پذیرفت. پس از شستشوی نهایی، ژلاتین از پوست‌های پیش‌تیمار یافته، در آب‌مقطر به نسبت حجمی ۱:۵ در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد در محدوده زمانی ۸-۳ ساعت (بر اساس RSM[1]، جدول ۱) در حمام آبی (Memmert, WB14, Germany) ، استخراج و سپس با عبور از پارچه تنظیفی فیلترشدند. نمونه محلول ژلاتین پس از انجماد در فریزر ۲۰°C- ، با دستگاه فریزدرایر (Operon, FDU-7012, South Korea) خشک و در ادامه با دستگاه آسیاب پودر شدند. پودر ژلاتین در بسته‌های پلی‌اتیلنی در جای خشک و خنک تا زمان استفاده برای اندازه‌گیری نقطه ذوب نگهداری شد.

اندازه‌گیری پروتئین به روش بیورت

میزان پروتئین محلول ژلاتین به روش بیورت (Gornall *et al.*, 1949) تعیین شد. میزان جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV/Vis ،4802 Unico) و در طول موج ۵۴۰ nm قرائت شد و آلبومین سرم گاوی (زیست شیمی تهران، ایران) به عنوان پروتئین استاندارد مورد استفاده قرار گرفت.

تعیین بازده استخراج

بازده تولید ژلاتین براساس حجم محلول صاف شده ژلاتین تولیدی و غلظت پروتئین آن و طبق فرمول (Ladislaus *et al.*, 2007) محاسبه شد:

$$\%Yield = [(C \times V)/M] \times 100$$

C= غلظت ژلاتین در محلول (mg/ml)

1 Response Surface Methodology

V= حجم محلول حاوی ژلاتین (ml)

M= وزن نمونه پوست اولیه (mg)

اندازه‌گیری نقطه ذوب

نقطه ذوب ژلاتین با روش BS755 (BSI, 1975) اندازه‌گیری شد. محلول ژلاتین با غلظت ۶/۶۷ درصد (W/V) تهیه شده و در لوله‌های آزمایش ریخته شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۱۸-۱۲ ساعت در دمای یخچال (۴ °C) قرار داده شدند. سپس ۲ تا ۳ قطره محلول ۰/۵ درصد (V/W) متیل رد- کلرفرم به نمونه‌ها اضافه شده و نمونه‌ها در حمام آبی (Memmert, WB14, Germany) گذاشته شدند. با تنظیم دمای اولیه آب به حدود ۴ °C و سپس افزایش تدریجی آن، نقطه‌ای از دما که در آن قطره کلروفرم به کف لوله آزمایش سقوط می‌نمود به عنوان نقطه ذوب ژلاتین ثبت گردید.

بهینه‌سازی سطح پاسخ (RSM)

طرح مرکب مرکزی (CCD[1]) به منظور بهینه‌سازی استخراج ژلاتین از پوست کوسه چانه سفید مورد استفاده قرار گرفت. CCD در طرح آزمایشی شامل 2^3 نقطه فاکتوریل، شش نقطه محوری (α=1/682) و چهار تکرار در نقطه مرکزی می‌باشد (جدول ۱). غلظت سود (X_1، N)، غلظت اسید کلریدریک (X_2، N) و مدت زمان استخراج (X_3، h) به عنوان متغیرهای مستقل انتخاب شدند. بازده استخراج (Y_1، ٪) و نقطه ذوب (Y_2، °C) به عنوان متغیرهای وابسته برای ترکیبی از متغیرهای مستقل انتخاب شدند (جدول ۲).

آنالیز داده‌ها

برای تحلیل داده‌ها و بیان روابط بین متغیرها از تحلیل رگرسیونی استفاده شد. روش رگرسیون سطح پاسخ (RSREG[2])، با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) به منظور برازش معادله چندجمله ای زیر استفاده شد:

$$Y = ß_0 + \sum_{i=1}^{3} ß_i X_i + \sum_{i=1}^{3} ß_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{2} \sum_{j=i+1}^{3} ß_{ij} X_i X_j$$

که در آن Y نشان‌دهنده متغیر تابع یا پاسخ (بازده استخراج و نقطه ذوب)، $ß_0$ (عرض از مبدأ) عدد ثابت، $ß_i$، $ß_{ii}$ و $ß_{ij}$ ضرایب مدل رگرسیون و X_i و X_j، متغیرهای مستقل هستند.

در روش RSREG، پارامترهای یک معادله درجه دوم کامل که تشکیل سطح می‌دهند، بر داده‌ها برازش[3] شده و مقادیر بهینه هریک از پارامترها و سطح حاصل از معادله درجه دوم بر داده‌های برازش داده شده، تعیین می‌شود.

سپس نمودارهای سطح پاسخ و کانتور، با استفاده از نرم‌افزار MATLAB، نسخه ۶/۵ رسم شد.

نتایج و بحث

بهینه سازی استخراج ژلاتین

مدل سطح پاسخ

نتایج به‌دست آمده از آزمون‌های کیفی ژلاتین به صورت مقادیر پاسخ در طرح مرکب مرکزی در جدول ۲ نشان داده شده است. دستورالعمل RSREG در نرم‌افزار SAS به منظور برازش معادله چندجمله‌ای درجه دوم برای داده‌های آزمایشی استفاده شد. تمام ضرایب ساده (X_1، X_2، X_3)، درجه دوم (X_{11}، X_{22}، X_{33}) و اثرات متقابل آن‌ها (X_{21}، X_{31}، X_{32}) برای بررسی معنی‌دار بودن با آزمون t محاسبه و ضرایب برآورد شده برای مدل‌های رگرسیونی هر یک از غلظت قلیا، غلظت اسید و زمان استخراج بر ویژگی‌های ژلاتین در جدول ۳ آورده شده است. به منظور تعیین معادلات مدل سطح پاسخ برازش شده، تمام ضرایب فاقد معنی (P>0/05) حذف شدند و ضرایب معنی‌دار مورد استفاده قرار گرفتند. همان‌گونه در جدول ۳ مشاهده می‌شود، اثر ساده غلظت قلیا بر بازده استخراج معنی‌دار بوده است و میزان اثر آن مشابه با اثر درجه دوم غلظت اسید بر این ویژگی می‌باشد. همچنین ضرایب موجود در این جدول نشان می‌دهند که اثر ساده غلظت اسید بر نقطه ذوب ژلاتین تقریبا دو برابر اثر ساده غلظت قلیا بر این ویژگی می باشد. بنابراین غلظت اسید تأثیر بیشتری بر نقطه ذوب ژلاتین داشته است.

آنالیز واریانس

معنی‌دار بودن معادله مدل چند جمله‌ای از نظر آماری با آنالیز واریانس (ANOVA) ارزیابی شد. آنالیز واریانس معادله مدل‌های چند جمله‌ای در جدول ۴ آورده شده است. نتایج نشان می‌دهد که اثرات ساده و درجه دوم متغیر بازده استخراج (Y_1) و اثر ساده متغیر نقطه ذوب (Y_2) معنی‌دار شده است (P≤0/05). همچنین مدل رگرسیون کلی نیز برای هر دو متغیر وابسته معنی‌دار شده است. بر اساس نتایج آزمون عدم برازش (جدول ۴) که نشان‌دهنده تناسب مدل می‌باشد، عدم معنی داری برای هر دو متغیر نشان می‌دهد که می‌توان از مدل‌های رگرسیون مذکور به منظور پیشگویی مقادیر پاسخ در سطوح مختلف استخراج استفاده کرد.

1- Central Composite Design
2- Response Surface Regression
3- Fit

جدول ۱- محدوده و مقادیر آزمایشی متغیرهای مستقل در طرح مرکب مرکزی (α=۱/۶۸۲)

متغیرهای مستقل	علامت	محدوده				
		+α	۱	۰	-۱	-α
غلظت سود (نرمالیته)	X_1	۱	۰/۸	۰/۵۰۵	۰/۲۱	۰/۰۱
غلظت اسید (نرمالیته)	X_2	۱	۰/۸	۰/۵۰۵	۰/۲۱	۰/۰۱
زمان استخراج (ساعت)	X_3	۸	۶/۹۹	۵/۵	۴/۰۱	۳

جدول ۲- طرح مرکب مرکزی و پاسخ متغیرهای وابسته به متغیرهای مستقل برای استخراج ژلاتین از پوست کوسه چانه سفید (*Carcharhinus dussumieri*)

تیمار	غلظت قلیا	غلظت اسید	زمان استخراج	متغیرهای پاسخ	
				Y_1	Y_2
۱	۱	۱	۱	۲۰/۲۷۱	۲۶
۲	۱	۱	-۱	۲۰/۴۶۲	۲۵/۲
۳	۱	-۱	۱	۲۱/۲۲۲	۲۸/۷
۴	۱	-۱	-۱	۱۷/۵۸۹	۲۹/۸
۵	-۱	۱	۱	۲۱/۷۳۱	۲۸/۴
۶	-۱	۱	-۱	۲۱/۴۹۸	۲۸/۱
۷	-۱	-۱	۱	۲۱/۸۷۳	۲۸
۸	-۱	-۱	-۱	۲۲/۶۳۴	۲۹/۴
۹	۰	۰	۱/۶۸۲	۲۲/۰۱۱	۲۷/۴
۱۰	۰	۰	-۱/۶۸۲	۲۰/۵۹۷	۲۸/۳
۱۱	۰	۱/۶۸۲	۰	۲۱/۲۵۵	۲۷/۲
۱۲	۰	-۱/۶۸۲	۰	۱۵/۱۰۴	۳۴/۸
۱۳	۱/۶۸۲	۰	۰	۲۱/۱۰۲	۲۵/۲
۱۴	-۱/۶۸۲	۰	۰	۲۵/۶۵۶	۳۰/۷
۱۵	۰	۰	۰	۲۰/۷۶۵	۲۶/۱
۱۶	۰	۰	۰	۲۱/۲۷۹	۲۸
۱۷	۰	۰	۰	۲۱/۵۳۶	۲۷/۹
۱۸	۰	۰	۰	۲۲/۱۰۷	۲۷/۷

X_1 (غلظت سود، N)، X_2 (غلظت اسید، N)، X_3 (زمان استخراج، h) و Y_1(بازده استخراج، ٪) ، Y_2 (نقطه ذوب، °C)

شرایط پاسخ بهینه

بر اساس مطالعات اولیه سه فاکتور غلظت قلیا (X_1)، غلظت اسید (X_2) و مدت زمان استخراج (X_3)، به عنوان متغیرهای بحرانی که تأثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های متفاوت ژلاتین دارند، انتخاب شدند. شرایط بهینه با استفاده از نرم‌افزار آماری MINITAB (نسخه ۱۴) محاسبه شد. مقادیر پیش‌بینی شده در شرایط بهینه شامل ۲۳/۲۲۲ درصد (بازده استخراج) و°C ۳۲/۲۲۴ (نقطه ذوب) بودند. شرایط اپتیمم با استفاده از سود ۰/۰۱ نرمال، اسید کلریدریک ۰/۱۳۵ نرمال و مدت زمان ۳ ساعت به‌دست آمد.

تأثیر شرایط استخراج بر ویژگی‌های ژلاتین

بازده استخراج

مدل رگرسیون چندگانه که به منظور پیش‌بینی بازده استخراج ژلاتین از پوست کوسه چانه سفید ایجاد شده است، کفایت مدل منتخب برای شرح تغییرات بازده را نشان می‌دهد (R^2=0/8113). اثر ساده غلظت سود و اثر درجه دوم غلظت اسید، متغیرهای مؤثر بر بازده استخراج ژلاتین بوده است (جدول ۳). مطابق نتایج، غلظت سود و غلظت اسید دو فاکتور مهم تأثیرگذار بر بازده استخراج ژلاتین از پوست کوسه چانه سفید بودند ($p\leq0/05$). در مقابل متغیر زمان استخراج تأثیر معنی‌داری بر بازده نداشت. کانتور دو بعدی اثرات غلظت قلیا و اسید بر بازده استخراج (شکل ۱) نشان می‌دهد که بازده

استخراج با افزایش غلظت اسید کلریدریک از ۰/۰۱ تا ۰/۵۰۵ نرمال، افزایش یافت. افزایش بازده استحصال پروتئین در غلظت‌های میانی اسید در محدوده نقطه مرکزی (۰/۵۰۵ نرمال) می‌تواند به‌دلیل تأثیر متقابل مثبت غلظت قلیا و اسید و رسانیدن pH پوست به حد مناسب برای استخراج و در نتیجه کاهش دفعات شستشوی پوست در مراحل مختلف و کاهش اتلاف کلاژن و افزایش بازده باشد. اما افزایش غلظت سود از ۰/۰۱ تا ۱ نرمال و همچنین استفاده از غلظت‌های بالاتر از ۰/۵۰۵ نرمال اسید تأثیر منفی بر بازده استخراج داشت و موجب کاهش بازده استخراج گردید. این نتیجه در تطابق با نتایج گزارش شده توسط Cho و همکاران (۲۰۰۵) می باشد. این محققین بیان نموده‌اند در صورت پیش‌تیمار پوست ماهی تن زرد باله با غلظت‌های مختلف قلیای بالاتر از ۲ درصد، میزان بازده استخراج ژلاتین کاهش خواهد یافت. این کاهش می‌تواند احتمالاً به‌دلیل افزایش اتلاف کلاژن و پپتیدهای کوچک در آب شستشو ناشی از افزایش غلظت اسید و قلیا باشد. همچنین می‌تواند به دلیل دناتوره شدن اجزاء کلاژنی باشد، به نحوی که در شرایط استخراج به صورت محلول در نیایند. مقدار بازده استخراج در این پژوهش در نقطه بهینه ۲۳/۲۲۲ درصد برآورد شده است که بیشتر از مقادیر ۷/۸۱– ۵/۳۹ درصد برای پوست تیلاپیا (Jamilah *et al.,* 2002)، ۱۶– ۱۲/۵ درصد برای پوست سوف نیل (Muyonga *et al.,* 2004) و ۱۱/۳ و ۱۰/۱ درصد به ترتیب برای پوست سالمون و پوست کاد (Arnesen *et al.,* 2007) می‌باشد.

نقطه ذوب

مدل رگرسیون چندگانه برای پیش بینی مقادیر نقطه ذوب توانست ۸۱/۶۸ درصد اختلاف در این ویژگی کارکردی را شرح دهد (جدول ۳). با توجه به جدول ۳ متغیر زمان استخراج تأثیر معنی‌داری بر نقطه ذوب ژلاتین پوست کوسه نداشت ($p>0/05$) ولی دو متغیر غلظت اسید و غلظت سود واجد تأثیر معنی‌دار بودند. تأثیر غلظت اسید کلریدریک و غلظت سود بر نقطه ذوب ژلاتین پوست کوسه چانه سفید در شکل ۲ نشان داده شده است.

جدول ۳- ضرایب معادله چند جمله‌ای برازش شده برای پاسخ‌ها

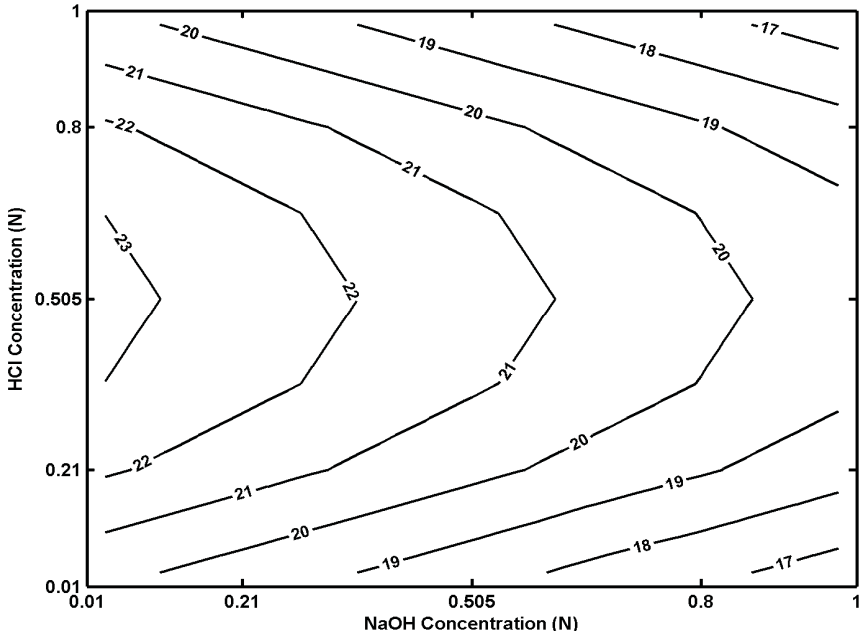
پارامتر	Y_1	Y_2
عرض از مبدأ	۲۱/۴۲*	۲۷/۴۸*
X_1	−۱/۱۶*	−۰/۹۸*
X_2	۰/۸۰NS	−۱/۵۴*
X_3	۰/۳۸NS	−۰/۲۱NS
X_{11}	۰/۶۹NS	−۰/۰۵NS
X_{21}	۰/۴NS	−۰/۸۰NS
X_{22}	−۱/۱۵*	۱/۰۳*
X_{31}	۰/۴۹NS	۰/۱۰NS
X_{32}	−۰/۳۵NS	۰/۴۵NS
X_{33}	−۰/۰۴NS	−۰/۰۸NS
R^2	۰/۰۳۶۲	۰/۰۳۲۷

X_1 (غلظت سود، N)، X_2 (غلظت اسید، N)، X_3 (زمان استخراج، h) و Y_1(بازده استخراج، ٪) ، Y_2 (نقطه ذوب، °C)
* معنی‌دار($p\leq0/05$) و NS فاقد معنی($p>0/05$)

جدول ٤ - آنالیز واریانس (ANOVA) مدل سطح پاسخ

منابع		رگرسیون	ساده	درجه دوم	متقابل	عدم برازش	خطای خالص
درجه آزادی		۹	۳	۳	۳	۵	۳
Y_1	SS	۶۱/۶۹	۲۹/۲۷	۲۸/۱۶	۴/۲۵	۱۳/۴۱	۰/۹۳
	PV	۰/۰۳۶۲	۰/۰۲۴۷	۰/۰۲۷۳	۰/۵۳۲۶	۰/۰۵۳۲	–
Y_2	SS	۶۸/۱۳	۴۶/۰۸	۱۵/۲۲	۶/۸۲	۱۲/۸۹	۲/۳۸
	PV	۰/۰۳۳	۰/۰۰۸	۰/۱۱۹	۰/۳۷۳	۰/۱۸۱	–

Y_1 (بازده استخراج، ٪) ، Y_2 (نقطه ذوب، °C)



شکل ۱- کانتور دو بعدی اثرات غلظت قلیا و اسید بر بازده استخراج ژلاتین پوست کوسه چانه سفید (*Carcharhinus dussumieri*)

این کانتور دو بعدی نشان می‌دهد که ارتباط منفی بین افزایش غلظت اسید و قلیا با نقطه ذوب ژلاتین وجود داشت که با افزایش غلظت قلیا و اسید نقطه ذوب ژلاتین پوست کوسه کاهش یافت.

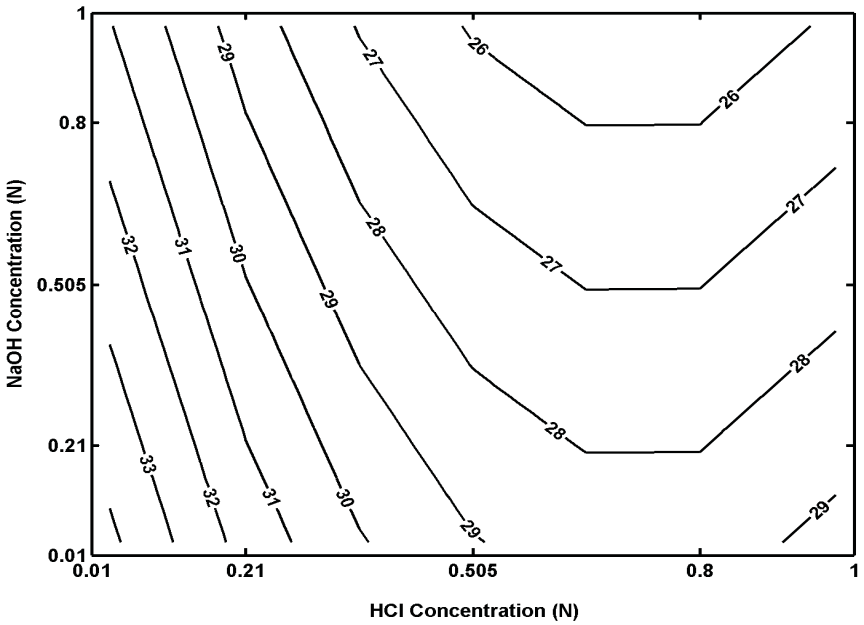
نقطه ذوب ژلاتین پوست کوسه چانه سفید در نقطه بهینه °C ۳۲/۲۲۴ برآورد شده است که بیشتر از مقادیر گزارش شده برای پوست قزل‌آلای رنگین کمان (°C ۲۳) (Shahiri Tabarestani *et al.,* 2010)، پوست کاد (°C ۸-۱۰) (Gudmundsson *et al.,* 1997)، هیبک (°C ۱۴)، مگریم (°C ۱۸/۸) (Gómez-Guillén *et al* 2002) و کپور علف‌خوار (°C ۱۹/۵) (Ladislaus *et al.,* 2007) می‌باشد. نقطه ذوب ژلاتین استخراج شده از پوست گاو و خوک نیز به ترتیب ۲۳/۸ و ۲۵/۶ می‌باشد (Choi *et al.,* 2000) که پایین تر از نقطه ذوب ژلاتین در این تحقیق می‌باشد. نقطه ذوب بالای ژلاتین در این تحقیق می تواند مرتبط با مقدار بالای ایمینواسیدهای آن باشد (Choi *et al.,* 2000). با توجه به این که نقطه ذوب یکی از ویژگی‌های مهم ژلاتین می‌باشد و بالا بودن نقطه ذوب محدوده کاربرد ژلاتین به‌ویژه در فرآورده‌های غذایی را افزایش می‌دهد بنابراین در تحقیق حاضر، نقطه ذوب بالا به عنوان فاکتور مطلوب در هنگام بهینه‌سازی، درنظر گرفته شده است.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاضر، شرایط بهینه استخراج ژلاتین از پوست کوسه چانه سفید شامل ۰/۰۱ نرمال غلظت سود، ۰/۱۳۵ نرمال غلظت اسید و ۳ ساعت زمان استخراج بود و نمونه ژلاتین تولید شده در این شرایط، مقدار مطلوبی از بازده استخراج و همچنین نقطه ذوب بالایی داشت. با توجه به نتایج به‌دست آمده در این پژوهش پوست کوسه چانه سفید می‌تواند به‌طور مطلوبی برای تولید ژلاتین مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از جناب آقای دکتر میرلاشاری و جناب آقای مهندس گشتاسب به‌دلیل همکاری برای تأمین پوست کوسه و همچنین از سرکار خانم هدی شهیری طبرستانی به‌دلیل همکاری در اجرای پروژه تشکر و قدردانی نمایند.



شکل ۲- کانتور دو بعدی اثرات غلظت قلیا و اسید بر نقطه ذوب ژلاتین پوست کوسه چانه سفید (*Carcharhinus dussumieri*)

منابع

Arnesen, J.A. and Gildberg, A., 2007a, Extraction and characterisation of gelatine from Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin. Bioresource Technology, 98, 53-57.

Arnesen, J.A. and Gildberg, A., 2007b, Extraction of muscle proteins and gelatine from cod head. Process Biochemistry, 41, 697-700.

Bailey, A.J., Paul, R.G. and Knott, L., 1998, Mechanisms of maturation and ageing of collagen. Mechanisms of Ageing and Development, 106, 1-56.

BSI 755, 1975, British Standards Institution Specification for Gelatin. Bentonville Rd, London, UK.

Cho, S.M., Gu, Y.S., and Kim, S.B., 2005, Extracting optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin compared to mammalian gelatins. Food Hydrocolloids, 19, 221–229.

Cho, S.M., Kwak, K.S., Park, D.C., Gu, Y.S., Ji, C.I., Jang, D.H., Lee, Y.B. and Kim, S.B., 2004, Processing optimization and functional properties of gelatin from shark (*Isurus oxyrinchus*) cartilage. Food Hydrocolloids, 18, 573-579.

Choi, S.S. and Regenstein, J.M., 2000, Physicochemical and sensory characteristics of fish gelatin. Journal of Food science, 65(2), 194-199.

Giménez, B.,Gómez-Guillén, M.C. and Montero, P., 2005, The role of salt washing of fish skins in chemical and rheological properties of gelatin extracted. Food Hydrocolloids, 19, 951-975.

Gómez-Guillén, M.C. and Montero, P., 2001, Extraction of gelatin from megrim (*Lepidorhombus boscii*) skins with several organic acids. Journal of Food science, 66, 213-216.

Gómez-Guillén, M.C., Turnay, J., Fernández-Díaz, M.D., Ulmo, N., Lizarbe, M. and Montero, P., 2002, Structural and Physical Properties of Gelatin Extracted from Different Marine Species, A Comparative Study. Food Hydrocolloids, 16, 25-34.

Gornall, A.G., Bardawill, C.J. and David, M.M., 1949, Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. Biological Chemistry, 177, 751-766.

Gudmundsson, M. and Hafsteinsson, H., 1997, Gelatin from cod skins as affected by chemical treatment. Journal of Food science, 62, 37-39.

Jamilah, B. and Harvinder, K.G., 2002, Properties of gelatins from skins of fish-black tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and red tilapia (*Oreochromis nilotica*). Food Chemistry, 77, 81-84.

Karim A.A. and Bhat R., 2009, Fish gelatin: properties, challenges and prospects as an alternative to mammalian gelatins. Food Hydrocolloids, 23, 563-576.

Kittiphattanabawon, P., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Shahidi, F., 2010a, Comparative study on characteristics of gelatin from the skins of brownbanded bamboo shark and blacktip shark as affected by extraction conditions. Food Hydrocolloids, 24, 164-171.

Kittiphattanabawon, P., Benjakul, S., Visessanguan, W., Kishimura, H. and Shahidi, F., 2010b, Isolation and Characterisation of collagen from the skin of brownbanded Bamboo shark (*Chiloscyllium punctatum*). Food Chemistry, 119, 1519-1526.

Ladislaus, M. K., Yan, X., Yao, W., Sun, D.H. and Qian, H., 2007, Optimization of gelatine extraction from grass carp (*Catenopharyngodon idella*) fish skin by response surface methodology, Bioresource Technology. 98, 3338-3343.

Liu, H.Y., Li, D. and Guo, S., 2007, Studies on collagen from the skin of channel catfish (*Ictalurus punctaus*). Food Chemistry, 101, 621-625.

Motamedzadegan, A. and Regenstein, J.M., 2003, Extraction and characterization of gelatin from Alaska Pollock bone. 12th IUFoST conference, 18-20 Juli. IL, Chicago, USA.

Muyonga, J.H., Cole, C.G.B. and Duodu, K.G., 2004, Extraction and physico-chemical characterization of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin, Food Hydrocolloids, 18, 581-592.

Rahman, M.S., Al-Saidi, G.S. and Guizani, N., 2008, Thermal characterisation of gelatin extracted from yellowfin tuna skin and commercial mammalian gelatin. Food Chemistry, 108: 472-481.

Senchiu, B., Avena-Bustillos, R.J., Shey, J., Yee, E., Bechtel, P., Imam, S.H., Glenn, G.M. and Orts, W.J., 2006, Rheological and mechanical properties of cross-linked fish gelatins. Polymer, 47, 6379-6386.

Shahiri Tabarestani, H., Maghsoudlou, Y., Motamedzadegan, A. and Sadeghi Mahoonak, A.R., 2010, Optimization of physico-chemical properties of gelatin extracted from fish skin of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). BioresourceTechnology, 101, 6207- 6214.

Wasswa, J., Tang, J. and Gu, X., 2007, Utilization of Fish Processing By-Products in the Gelatin Industry. Food Reviews International, 23, 156-174.

Yata, M., Yoshida, C., Fujisawa, S., Mizuta, S. and Yoshinaka, R., 2001, Identification and characterization of molecular species of collagen in fish skin. Journal of Food science, 6, 247-251.

Zhou, P. and Regenstein, M., 2005, Effects of Alkaline and Acid Pretreatments on Alaska Pollock Skin Gelatin Extraction. Food Chemistry and Toxicology, 70, 392-396.