بررسی و مقایسه کیفیت ژلاتین اسیدی و قلیایی پوست و باله کپور فیتوفاگ با منابع دیگر

• **هدیه علوی‌طلب**، دانشجوی دکترای مهندسی شیمی- صنایع غذایی، دانشکده فنی و مهندسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران
• **حمید توکلی‌پور**، گروه علوم وصنایع غذایی دانشکده فنی و مهندسی دانشگاه آزاد واحد علوم وتحقیقات تهران
• **احمد غرقی** ، مؤسسه تحقیقات شیلات ایران

تاریخ دریافت: آذر ماه ۱۳۸۳ تاریخ پذیرش: تیر ماه ۱۳۸۴

Email: hedieh_alavi@yahoo.com

چکیده

ژلاتین یکی از پرمصرف‌ترین مواد پروتئینی کلوئیدی در صنایع غذایی، دارویی، پزشکی و نظامی است که هر ساله مقادیر قابل ملاحظه‌ای از آن برای مصارف مختلف وارد کشور می‌گردد . از طرفی نیز مقادیر قابل توجهی از باقیمانده‌های کپور ماهیان پرورشی و به ویژه کپور نقره‌ای یا فیتوفاگ (Fitofague) که بیشترین آنها را تشکیل می‌دهد(۶۰٪-۵۵) تحت عنوان ضایعات هدر می‌رود در صورتی‌که می‌تواند منبع مناسبی برای استخراج ژلاتین باشد .در این بررسی کیفیت ژلاتین استخراج شده به دو روش اسیدی و قلیایی با کیفیت ژلاتین اسیدی و قلیایی حاصل از منابع دیگر مقایسه گردید .لازم به ذکر است که خصوصیات کیفی ژلاتین اسیدی و قلیایی کپور فیتوفاگ و منابع دیگر از نظر رطوبت ، خاکستر ، پروتئین، دما و زمان بستن ، دما و زمان بازشدن ، قدرت ژلی ، ویسکوزیته ، رنگ و pH با یکدیگر مقایسه شده‌اند. نتایج این بررسی نشان داد که ژلاتین قلیایی کپور نقره‌ای در مقایسه با ژلاتین اسیدی آن از کیفیت بهتری برخوردار است . همچنین مقایسه کیفیت ژلاتین فیتوفاگ با ژلاتین حاصل از منابع دیگر نیز نشان داد که کیفیت ژلاتین اسیدی و قلیایی فیتوفاگ در مقایسه با کیفیت ژلاتین اسیدی و قلیایی حاصل از منابعی مانند گاو ، گوساله ، گوسفند ، خوک ، پای مرغ ، پوست کوسه ماهی و غیره در برخی از موارد بهتر است.

کلمات کلیدی : ژلاتین پوست و باله کپور فیتوفاگ ، کیفیت ژلاتین ، ژلاتین اسیدی ، ژلاتین قلیایی

Pajouhesh & Sazandegi No:72 pp: 50-57

Investigation and comparison of quality of Fitofague's skins & fins acidic and alkaline gelatin with another sources

*By: Alavi Talab ,H .,*Student of ph.D chemical Engineering,

Science and research Branch Islamic Azad university, Faculty of Engineering, Iran. Tehran.
Tavakoli Pour ,H .,Islamic Azad University , Dept of Food Science and Research , Faculty of Engineering, Tehran , Iran.

Ghoroghi , A .Iranian Fisheries Company (Shilat)

Gelatin is one of the most consumed colloid protein material in pharmaceutics , medical, food and military industries which considerable amount of it will be imported to the country annually in various forms for different uses . On the other hand , annually the considerable amount of the residues of breed cyprinidae ; Silver carp or Fitofague (55-60%) , which disposed as wastes , although it is useful source for gelatin extraction . In this study quality of extracted gelatin from skins and fins of Fitofague by two methods of acidic and alkaline were investigated and it compared with another sources. In this research quality properties Fitofague's acidic and alkaline gelatin and another sources were compared to form , moisture , ash , protein , setting point and setting time , melting point and melting time , viscosity , bloom strength , colour and pH . Results showed that quality of Fitofague's alkaline gelatin is better than Fitofague's acidic gelatin. Also , comparison of Fitofague's gelatin quality with another sources showed that sometimes quality of Fitofague's gelatin better than quality of another sources of gelatin such as cattle , calf , pig , foot of hen and shark skin.

Key words: Fitofague's skins and fins gelatin , Gelatin quality , Acidic gelatin , Alkaline gelatin

مقدمه

ژلاتین یک ماده پروتئینی کلوئیدی و قدیمی‌ترین ماکرومولکولی است که از هیدرولیز کلاژن موجود در پوست، استخوان و بافت پیوندی حیوانات از جمله دام ، طیور و آبزیان بدست می‌آید . کلاژن بخش اصلی بافت پیوندی است که قسمت اعظم پروتئین‌های پوست، رگ‌ها، بافت‌های پیوندی و پروتئین‌های استخوان و غضروف[1] را تشکیل می‌دهد. این مواد در آب جوش و بخار آب گرم حل شده و تولید ژلاتین می‌نماید(۳).

ژلاتین یکی از پر مصرف ترین مواد پروتئینی کلوئیدی در صنایع غذایی، دارویی، پزشکی و نظامی است که در چهار درجه[2] متفاوت خوراکی، صنعتی، فوتوگرافی و دارویی تولید می شود. در صنایع غذایی در تهیه مارمالادها، ژله‌ها، شیرینی‌جات، بستنی‌ها و غیره به‌کار می رود که به آسانی در بدن جذب شده و به هضم سایر مواد غذایی از طریق تشکیل امولسیون با چربی‌ها و پروتئین‌ها کمک می‌نماید. همچنین ژلاتین به‌عنوان یک عامل شفاف کننده در نوشیدنی‌ها و آب میوه‌جات و نیز در صنایع داروسازی برای تهیه کپسول‌های دارویی و قرص‌ها به کار می رود (۱).

ژلاتین امولسیونی از نمک‌های نقره می سازد که در مقابل نور حساس می باشد و بنابراین نقش مهمی در توسعه سریع صنعت سینما و صنایع فوتوگرافی ایفا کرده است . ژلاتین در صنایع دیگر مانند نساجی، تهیه چسب ، کبریت سازی، مرکب چاپ، کاغذ پلی کپی، کارتن‌سازی و در ساخت فیلتر لامپ‌های جیوه‌ای و هم چنین به‌عنوان شفاف کننده اجسام نیز به‌کار می‌رود. در مورد مصارف پزشکی نیز در انعقاد خون، جانشینی برای سرم خون، پوشاننده لایه داخلی معده و روده و در تهیه محیط کشت باکتری‌ها استفاده می‌شود(۱) .

در ایران در سال‌های ۱۳۶۸ و ۱۳۷۳ تحقیقاتی پیرامون کیفیت ژلاتین اسیدی و قلیایی منابعی مانند دام ، طیور و برخی از گونه‌های ماهی صورت گرفته است که نتایج این پژوهش‌ها در جدول ۱ و ۲ آورده شده است (۳،۱).

در جدول ۳ نیز میانگین برخی ویژگی‌های ژلاتین اسیدی و قلیایی پستانداران مانند گوساله و خوک نشان داده شده است (۱۰).

همچنین در جدول ۴ ترکیب اسیدهای آمینه ژلاتین پوست کپور ماهی و پستانداران را نشان می‌دهد(۱۳،۸،۶).

بخشی از ژلاتین تولید شده در جهان از پوست و استخوان خوک تهیه می‌گردد که مصرف آن از لحاظ شرعی در کشورهای مسلمان اشکال دارد . همچنین بیماری جنون گاوی تاکنون دام‌های زیادی را در اروپا و کشورهای دیگر مبتلا کرده است و خطر انتقال آن به انسان توسط ژلاتین تولیدی از پوست و استخوان این دام‌ها وجود دارد با توجه به اینکه ماهی هیچ‌کدام از معایب فوق را نداشته و باقی مانده‌های آن به‌عنوان ضایعات هدر رفته و مورد بهره برداری قرار نمی‌گیرد و در ضمن با توجه به فراوانی، ارزانی و قابل دسترس بودن این گونه کپور ماهی فیتوفاگ در تمام طول سال، لذا در تحقیق حاضر استخراج ژلاتین از پوست و باله کپورنقره‌ای به دو روش اسیدی و قلیایی، و مقایسه آن با منابع دیگر مورد بحث و بررسی قرار گرفته است .

به ژلاتینی که از روش اسیدی به‌دست می‌آید ژلاتین نوع A و به ژلاتینی که از روش قلیایی به‌دست می‌آید ژلاتین نوع B می‌گویند.

اهداف این تحقیق را می‌توان در موارد زیر حائز اهمیت دانست :

۱ - جلوگیری از هدررفتن باقی مانده‌های کپور ماهیان پرورشی و بالاخص کپور نقره‌ای که بیشترین درصد (۶۰٪-۵۵) از ماهیان پرورشی را به خود اختصاص داده است .

۲ - استفاده از این باقی مانده‌های کم ارزش در جهت تولید ژلاتین که ماده ای است بسیار پر مصرف در صنایع غذایی و دارویی .

۳ - اطمینان از سلامت و کیفیت ژلاتین تولیدی و بالطبع مواد غذایی دیگر که این محصول در فرمولاسیون آنها به کار می‌رود . این کار از شیوع بیماری‌های خطرناک جلوگیری کرده و موجب ارتقای بهداشت و سلامت جامعه می‌شود .

جدول۱: کیفیت ژلاتین اسیدی نمونه ها

کیفیت / ژلاتین اسیدی	درصد خاکستر	درصد ازت کل	درصد پروتئین
پوست مرغ خرد شده	۲۵/۸۸	۱۰/۲۴	۵۵/۹۱
پای مرغ	۸۶	۱۱	۶۰/۰۶
استخوان دنده گاو	۷/۵۸	۱۲/۹۵	۷۰/۷۰
رگ و پی گوشت گاو	۸	۱۰/۴۴۷	۵۷/۰۴
استخوان قلم گوسفند	۱۱/۲۵	۱۲/۳۱	۶۷/۲۱۲
پوست و دم گوسفند	۷۲	۱۵	۸۱/۹
پوست کفشک ماهی	-	۱۴/۵	۷۹/۱۷

(-) : نشانه آن است که خاکستر ماده مورد نظر اندازه‌گیری نشده است .

جدول ۲: کیفیت ژلاتین قلیایی نمونه‌ها

کیفیت / ژلاتین قلیایی	درصد خاکستر	درصد ازت کل	درصد پروتئین
پوست مرغ خردشده	۴۵/۳۵	۳/۱	۱۷/۰۸۱
پای مرغ	۴۵	۵	۲۷/۵۵
استخوان دنده گاو	۲۲/۹۵	۱۱/۹۲	۶۵/۶۷
رگ وپی گوشت گاو	۲۶	۶/۴	۳۵/۲۶
استخوان قلم گوسفند	۳۳/۸	۱۰/۶۴	۵۸/۶۲
پوست و دم گوسفند	۴۹	۵/۹۳	۳۲/۶۷
پوست کفشک ماهی	-	۱۵/۴	۸۴/۸۵

(-) : نشانه آن است که تحقیقی در این مورد انجام نگرفته است .

جدول ۳: میانگین کیفیت ژلاتین اسیدی و قلیایی پستانداران

ژلاتین / ویژگی‌ها	ژلاتین اسیدی پستانداران	ژلاتین قلیایی پستانداران
قدرت ژلی (گرم)	۳۰۰ – ۷۵	۲۷۵-۷۵
ویسکوزیته cp	۷/۵ – ۲	۷/۵ – ۲
درصد خاکستر	۲ - ۰/۳	۲ - ۰/۰۵
دمای بستن	۲۹ – ۱۵	۲۹ – ۱۵
دمای باز شدن	۳۲ – ۲۷	۳۲ – ۲۷
pH	۶ - ۳/۸	۷/۴-۵

مواد و روش کار

طبق بررسی‌های انجام شده ، روش استاندارد استخراج ژلاتین به دو طریق اسیدی و قلیایی ، قرار دادن نمونه‌ها در حمام آب با درجه حرارت ۵۰ و ۶۰ درجه سانتیگراد است (۹) . این درجه حرارت ، دمای بهینه استخراج می‌باشد زیرا دمای پائین تر از آن باعث می‌شود ژلاتین کمتری استخراج گردد و دمای بالاتر نیز کیفیت ژلاتین تولیدی را کاهش می‌دهد (۹) .

روش استخراج اسیدی (ژلاتین نوع A)

طبق روش Lefebvre(۱۱) برای استخراج ژلاتین به روش اسیدی ، حدود ۱۱۰۰ گرم از پوست و باله کپور فیتوفاگ را دردمای اتاق از حالت انجماد خارج کرده و سپس به قطعات ۳۰-۱۰ سانتیمتر بریده و برای مدت ۲۰ دقیقه درحمام آبی که شامل ۳۸۰۰ میلی‌لیتر آب به همراه ۳/۶ میلی‌لیتر محلول هیپوکلریت سدیم یا پراکسید هیدروژن است قرار می‌دهیم (هیپوکلریت سدیم یا پراکسید هیدروژن برای جلوگیری از فساد میکروبی پوست ماهی به کار می‌رود). سپس با ۳ لیتر آب تمیز به مدت ۱۵ دقیقه شستشو داده و بعد حمام اسیدی را با اضافه کردن ۲/۵ لیتر آب و ۱۲/۶ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال در pH = ۳/۵ آماده کرده و مدت ۵ ساعت در این حمام نگه می‌داریم. در طول این ۵ ساعت ترکیبات نامطلوب از بافت ماهی خارج شده و بافت جهت استخراج بهتر ژلاتین نرم می‌گردد (۱۱). بهتر است از اسیدهای آلی مانند اسید استیک و یا اسید لاکتیک به جای اسید سولفوریک واسید کلریدریک استفاده شود زیرا اسید قوی‌تر باعث دناتوره شدن پروتئین‌های کلاژن شده و درنتیجه ژلاتینی با کیفیت پائین‌تر بدست می‌آید، اگر چه امکان دارد مقدار ژلاتین بیشتری با اسید قوی‌تر حاصل شود. مقداراسید استیک طبق گزارش منابع ، تن پوست ماهی/ لیتر ۲۰-۳ می‌باشد که در این آزمایش به طور متوسط کیلوگرم پوست ماهی/ میلی‌لیتر ۱۱/۵ در نظر گرفته شده است بعد از گذشت ۵ ساعت مخلوط پوست‌ها و باله‌ها را با ۴ لیتر آب تمیز در دو مرحله ۳۰ دقیقه‌ای شستشو می‌دهیم تا pH به حدود۵-۴/۵ برسد (۱۱) . سپس حدود ۳۴۰۰ میلی‌لیتر آب را به دمای ۹۰ درجه سانتیگراد رسانده و نمونه‌ها را داخل آن قرار داده و سپس به مدت ۴ ساعت در حمام آب ۵۰ درجه سانتی‌گراد می‌گذاریم . در تمام این مدت ۴ ساعت باید pH در محدوده ۵ - ۴/۵ و درجه حرارت نیز در ۵۰ درجه سانتیگراد ثابت نگاه داشته شود. سپس جهت تکمیل استخراج عملیات در درجه حرارت ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت دیگر ادامه می‌یابد .

مرحله بعدی فیلتراسیون می‌باشد که بعد از افزودن کربن اکتیو جهت کاهش بو ، رنگ و طعم نامطلوب ماهی و همین طور خاک-دیاتومه[۳] (درهرلیتر۳ گرم) جهت شفافیت رنگ و بخصوص حذف مواد غیر محلول مانند چربی‌ها و مواد کلاژنی هیدرولیز نشده، توسط کاغذ صافی واتمن[۴] شماره ۱ و پمپ خلاء انجام می‌شود.

سپس بهتراست محلول فیلترشده از یک رزین تبادل یونی عبورداده شود تا هم مواد کانی آن جدا شود و هم بوی بد حاصل از آمین و مشتقاتش تا حدودی حذف گردد (۹) . همچنین برای افزایش غلظت (تا ۵٪) و بالابردن سرعت خشک کردن و نیز به منظور کاهش هرچه بیشتر بوی نامطلوب ماهی ، از تبخیرکننده تحت خلاء استفاده می‌گردد (۱۱) . این غلظت را می‌توان با دستگاه رفراکتومتر اندازه گرفت .

در نهایت محلول حاصله را در یک آون[۵] با دمای ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتیگراد قرار داده تا محصول خشک و ورقه‌ای شود.

جدول ۴: مقایسه ترکیب اسیدهای آمینه ژلاتین پوست کپور ماهی و پستانداران به ازای ۱۰۰۰ اسیدآمینه کل

اسید آمینه	ژلاتین پوست کپور	ژلاتین پوست پستانداران
آلانین	۱۲۰	۱۱۴
گلایسین	۳۱۷	۳۱۳
والین	۱۹	۲۲
لوسین	۲۵	۲۵
ایزو لوسین	۱۲	۱۱
پرولین	۱۲۴	۱۳۵
فنیل آلانین	۱۴	۱۳
تیروزین	۳/۲	۳
سرین	۴۳	۳۷
ترئونین	۲۷	۱۸
سیستئین	-	-
متیونین	۱۲	۶
آرژنین	۵۳	۵۱
هیستیدین	۴/۵	۵
لیزین	۲۷	۳۴
اسید آسپارتیک	۴۷	۴۵
اسید گلوتامیک	۷۴	۷۱
هیدروکسی پرولین	۷۳	۸۶
هیدروکسی لیزین	۴/۵	۱۱

(-) : نشانه عدم وجود اسید آمینه مورد نظر است .

روش استخراج قلیایی (ژلاتین نوع B)

طبق روش Holzer (۹) برای استخراج ژلاتین به روش قلیایی ، حدود ۱۱۰۰ گرم نمونه را در دمای اتاق از حالت انجماد خارج کرده و به قطعات ۳۰-۱۰ سانتی‌متر بریده و سپس این مواد را در محلول هیدروکسید کلسیم $Ca(OH)_2$ در درجه حرارت اتاق ۲۰-۱۵ درجه سانتیگراد قرار می‌دهیم . برای پیش‌فرآیند ماهیانی مانند کپور که نسبت به بقیه ماهیان دارای چربی بیشتری هستند حداقل هیدروکسید کلسیم مورد نیاز ، لیتر/گرم ۵۰ به ازای هر کیلوگرم پوست و باله ماهی می‌باشد تا بتواند از فساد و گندیدگی در طول مدت آزمایش جلوگیری کند (۹). باتوجه به مقالات موجود در زمینه استخراج ژلاتین ماهی به روش قلیایی، مقدار بهینه هیدروکسید کلسیم لیتر/گرم ۷۵ به ازای هر کیلوگرم پوست و باله ومدت زمان بهینه پیش فرآیند ۴ -۲ هفته انتخاب گردید (۹).

مقدار ۸۲/۵ گرم هیدروکسید کلسیم را در ۱۱۰۰ میلی‌لیتر آب حل کرده و ۱۱۰۰ گرم نمونه را در مدت حدود ۴ هفته در آن قرار می‌دهیم که در این حالت pH نمونه به ۱۲ یا بالاتر می‌رسد . طولانی شدن زمان پیش فرآیند و یا مقدار زیاد هیدروکسید کلسیم می‌تواند به‌طور قابل ملاحظه‌ای کیفیت ژلاتین را کاهش دهد. بعد از گذشت ۴ هفته ، مواد را شستشو داده تا pH به ۱۰ برسد و در طول مدت استخراج نیز ثابت نگه داشته می‌شود چون این pH ، بهینه استخراج ژلاتین در روش قلیایی می‌باشد (۹).

برای کاهش pH قلیایی و مناسب شدن ژلاتین برای مصارف خوراکی لازم است بعد از انجام فیلتراسیون محلول ژلاتین با اسید کلریدریک ۵ ٪ با pH = ۵ مخلوط شود تا pH به حد نرمال خود برسد . البته می‌توان برای این منظور از یک رزین تبادل یونی کاتیونی (اسید قوی) هم استفاده کرد. بقیه مراحل دقیقاً مانند روش اسیدی انجام می‌شود .

پس از استحصال ژلاتین اسیدی و قلیایی آزمایشات رطوبت ، خاکستر، پروتئین ، تعیین دما و زمان بستن و تعیین دما وزمان بازشدن را با توجه به دستورالعمل ویژگی‌های ژلاتین طبق استاندارد ملی ایران و همچنین با توجه به استانداردهای BSI/۷۵۷[۶] و AOAC[۷] انجام داده و با حد استاندارد ژلاتین مقایسه نمودیم (۵،۴،۲) . آزمایشات مربوط به تعیین ویسکوزیته را توسط دستگاه ویسکومتر چرخان HAaKE VT-۰۲ بر حسب سانتی پوآز[۸] و نیز تعیین قدرت ژلی را توسط دستگاه بلوم ژلومتر STVENS-LFRA[۹] بر حسب گرم طبق استاندارد انجام داده و نتایج را با استانداردهای GMIA[۱۰] مقایسه کردیم (۷). روش‌های کار به همراه رابطه مربوطه در ادامه ارائه شده است .

اندازه‌گیری رطوبت

روش اندازه‌گیری رطوبت طبق استاندارد ملی ایران می‌باشد که درصد وزنی آن از رابطه زیر بدست می‌آید(۲) :

درصد وزنی رطوبت = (W۱-W۲) /(W۱-W)

که در آن :

W۱ = وزن ظرف همراه با در و نمونه قبل از خشک کردن به گرم

W۲ = وزن ظرف همراه با در و نمونه بعد از خشک کردن به گرم

W = وزن ظرف خالی به گرم

اندازه‌گیری خاکستر کل

آزمایش اندازه‌گیری خاکستر بر اساس استاندارد ملی ایران انجام گرفته است که درصد وزنی آن از رابطه زیر بدست می‌آید (۲):

درصد وزنی خاکستر = (W۱*-W۲*) /W* × ۱۰۰

W۱* = وزن بوته و خاکستر نمونه به گرم

W۲*= وزن بوته خالی به گرم

W* = وزن نمونه مورد آزمایش به گرم

اندازه‌گیری مقدار پروتئین

از آنجائی‌که ژلاتین ازت غیر پروتئین ندارد ، غلظت آن را دقیقاً می‌توان با تعیین مقدار ازت کل ، اندازه‌گیری نمود . مقدار ازت کل را می‌توان به روش AOAC به آسانی تعیین کرد (۴).

همچنین برای اندازه‌گیری مقدار پروتئین می‌توان از روش‌های جذب اشعه اولترا ویوله ، روش لووری (بر اساس واکنش اولیه پروتئین هیدرولیز نشده با معرف قلیایی مس درحضور معرف فنل) نیز استفاده کرد (۱) .

فاکتورهای تبدیل ازت کل به پروتئین در روش قلیایی و اسیدی طبق استاندارد AOAC به ترتیب برابر با ۵/۵۱ و ۵/۴۶ می‌باشد(۴).

روش اندازه‌گیری مقدار پروتئین هم بر اساس استاندارد ملی ایران و هم بر اساس روش AOAC انجام گرفته است که رابطه‌های آنها در ادامه نشان داده شده است(۴،۲).

درصد وزنی ازت از رابطه زیر حاصل می‌شود(۲) :

درصد وزنی ازت = ۱۴۰ × (B–A) ×N /[W × (۱۰۰- m)]

درصد وزنی ازت × فاکتورتبدیل = درصد پروتئین

که در آن :

B = حجم محلول هیدروکسید سدیم استاندارد بکار رفته برای خنثی کردن اسید در آزمون شاهد به میلی‌لیتر

A = حجم محلول هیدروکسید سدیم استاندارد بکار رفته برای خنثی کردن زیادی اسید در آزمایش نمونه به میلی‌لیتر

N = نرمالیته محلول هیدروکسید سدیم استاندارد

W = وزن نمونه برداشته شده برای آزمایش به گرم

m = درصد وزنی رطوبت نمونه

رابطه زیر نیز برای تعیین درصد ازت ارائه شده است(۴).

$$N = \{[(\text{ml std acid} \times \text{normality acid}) - (\text{ml std NaOH} \times \text{normality NaOH})] \times 1/4007 / \text{g sample}\}$$

اندازه‌گیری pH

روش اندازه‌گیری pH بر اساس استاندارد ملی ایران می‌باشد . برای اندازه‌گیری از pH متر با الکترودهای شیشه‌ای استفاده می‌نماییم . برای استاندارد کردن از محلول‌های بافر pH=۴ و pH=۷ استفاده می‌کنیم(۲).

تعیین دما وزمان بستن[11]

طبق روش Muyonga برای تعیین دمای بستن ژلاتین محلول ۱۰٪ w/v آن را ساخته و پس از حل کردن در حمام آب گرم حدود ۳۰ میلی‌لیتر از آن را در لوله آزمایش (۱۲ mm × ۷۵ mm) ریخته و به حمام آب ۴۰ درجه سانتیگراد منتقل می‌کنیم. سپس حمام آب را به آرامی با اضافه کردن آب سرد با دمای ۲ درجه سانتیگراد در فواصل زمانی ۱۵ ثانیه سرد می‌کنیم ، دراین حالت ترمومتر را درمحلول قرارداده و هر ۱۵ ثانیه از آن خارج می‌کنیم. درجه حرارتی که دیگر در آن هیچ قطره‌ای از روی ترمومتر درهنگام خارج کردن نچکد به عنوان درجه حرارت بستن ژلاتین ثبت می‌شود.

برای تعیین زمان بستن نیز همان محلول ۱۰٪ w/v ژلاتین را پس از حل کردن و ریختن در لوله آزمایش به حمام آب با دمای ۱۰ درجه سانتیگراد منتقل کرده و یک تکه چوب نسبتاً بلندی را داخل محلول فروبرده و به فواصل زمانی۱۵ ثانیه خارج می‌کنیم . زمانی را که دیگر تکه چوب از محلول ژلاتین جدا نشود به عنوان زمان بستن ژلاتین ثبت می‌شود(۱۲).

تعیین دما و زمان بازشدن[12]

طبق استاندارد ژاپن[13]JSA، برای تعیین دما و زمان بازشدن ژلاتین محلول ۱۰٪ w/v آن را پس از آماده سازی مانند قبل ، داخل یخچال در دمای ۷ درجه سانتیگراد به مدت ۱۸- ۱۶ ساعت گذاشته و سپس به حمام آب ۱۰ درجه سانتیگراد منتقل می‌کنیم و به تدریج به آن آب گرم ۴۵ درجه سانتیگراد اضافه می‌کنیم و بدین وسیله درجه حرارت و زمان بازشدن ژلاتین را ثبت می‌کنیم (۱۲) .

تعیین قدرت ژلی[14]

خصوصیت مهمی که ارزش ژلاتین تجارتی را تعیین می‌کند سختی ژل است که این سختی با قدرت ژلی مشخص می‌گردد.

طبق استاندارد انگلیسBSI/۷۵۷ روش تعیین مقدار بلوم یک نمونه ژلاتین به این صورت است که ۷/۵ گرم نمونه با ۱۰۵ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شده و در یک بطری قرار داده می‌شود . این مخلوط دردرجه حرارت اتاق به مدت ۳۰ دقیقه به حال خود گذاشته می‌شود تا ژلاتین به طور کامل متورم گردد . سپس در حمام آب ۴۲ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه حرات داده می‌شود تا ژلاتین حل گردد . سپس بطری درحمام آب سرد ۱۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت قرار داده می‌شود. و در نهایت با دستگاه بلوم ژلومتر قدرت ژلی آن بر حسب درجه بلوم اندازه‌گیری می‌شود(۵).

مقدار بلوم ژلاتین‌های تجارتی معمولاً ۵۰ تا ۳۰۰ گرم می‌باشد(۵). اگر ژلاتین قدرت ژلی شدن خوبی داشته باشد ، ژلاتین با بلوم قوی (Frot bloom) و اگر قدرت ژلی شدن خوبی نداشته باشد ، ژلاتین با بلوم ضعیف(Faible bloom) نامیده می‌شود .

تعیین ویسکوزیته

طبق استاندارد BSI/۷۵۷ همانند آزمایش بلوم نمونه‌ها را آماده کرده و درحمام آب ۴۵ درجه سانتیگراد قرار داده تا کاملاً حل گردد سپس آن را به داخل ظرف مخصوص ویسکومتر که قبلاً در حمام آب ۶۰ درجه سانتیگراد قرار گرفته بود می‌ریزیم و پس از روان شدن ژل در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد ویسکوزیته توسط دستگاه (Haake VT-۰۲) برحسب سانتی پوآز(Cp) یا میلی پاسکال ثانیه خوانده می‌شود (۵).

رنگ

رنگ نمونه‌های ژلاتین را با قراردادن آنها روی یک زمینه سفید رنگ با یکدیگر مقایسه می‌کنیم . طبق روش(۱۹۷۸) Othmer رنگ نمونه‌های ژلاتین باید زرد کمرنگ تا مایل به کهربائی باشد(۱۰) .

نتایج

همانطور که در جدول ۵ ملاحظه می‌شود ، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و رئولوژیکی ژلاتین قلیایی کپور ماهی فیتوفاگ با ژلاتین اسیدی آن مقایسه شده است.

در جدول ۶ ویژگی‌های کیفی ژلاتین اسیدی و قلیایی فیتوفاگ با استانداردهای ملی ایران مقایسه شده است (۲).

همچنین در جدول ۷ ویژگی‌های کیفی ژلاتین اسیدی و قلیایی کپور ماهی فیتوفاگ با استاندارد GMIA برای ژلاتین‌های خوراکی و دارویی مقایسه شده است(۷).

اکنون درجدول۸ و ۹ کیفیت ژلاتین اسیدی و قلیایی دام ، طیور و برخی از گونه‌های دیگر ماهی که در مقدمه به آن اشاره شده بود با کیفیت ژلاتین اسیدی و قلیایی فیتوفاگ مقایسه می‌شود .

اکنون در جدول ۱۰ میانگین ویژگی‌های ژلاتین اسیدی و قلیایی پستانداران که در مقدمه به آن اشاره شد با ژلاتین اسیدی و قلیایی فیتوفاگ مقایسه می شود .

بحث

با مقایسه نتایج جدول ۵ می‌توان دریافت که ژلاتین قلیایی فیتوفاگ خصوصیات فیزیکوشیمیایی و رئولوژیکی بهتری در مقایسه با ژلاتین اسیدی

جدول ۵: مقایسه ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ورئولوژیکی ژلاتین اسیدی وقلیایی فیتوفاگ

ویژگی‌های کیفی	ژلاتین اسیدیفی توفاگ	ژلاتین قلیایی فیتوفاگ
درصد رطوبت	۱۰/۱۰	۹/۵۰
درصد خاکستر	۲/۲	۲/۰۷
درصد ازت	۱۵/۷۶	۱۶/۰۰
درصد پروتئین	۸۶/۰۳(با فاکتور تبدیل ۵/۴۶)	۸۸/۱۶۸(با فاکتور تبدیل ۵/۵۱)
pH	۵/۲	۷/۱
دمای بستن (درجه سانتیگراد)	۷	۱۰
زمان بستن (ثانیه)	۱۸۰	۱۳۵
دمای باز شدن(درجه سانتیگراد)	۲۰	۲۶
زمان باز شدن(ثانیه)	۶۰	۱۵۰
ویسکوزیته (cp)	۴	۶
قدرت ژلی بر حسب درجه بلوم (g)	۸۴	۱۷۶
رنگ	کمی شفاف	شفاف

جدول ۶: مقایسه ویژگی‌های کیفی ژلاتین حاصل ازکپورماهی فیتوفاگ به دوروش اسیدی و قلیایی با استانداردملی ایران

کیفیت / ژلاتین	درصد وزنی رطوبت	درصد وزنی خاکستر	درصد وزنی ازت بدون قید فاکتور تبدیل	رنگ
ژلاتین اسیدی فیتوفاگ	۱۰/۱۰	۲/۲	۱۵/۷۶	کمی شفاف
ژلاتین قلیایی فیتوفاگ	۹/۵	۲/۷۰	۱۶/۰۰	شفاف
ژلاتین خوراکی استاندارد ملی ایران	حداکثر ۱۵	حداکثر۳	حداقل ۱۵	زرد کمرنگ تا کهربائی

جدول ۷: مقایسه ویژگی‌های کیفی ژلاتین حاصل ازکپورماهی فیتوفاگ به دو روش اسیدی و قلیایی با استاندارد GMIA

کیفیت / ژلاتین	درصد وزنی رطوبت	درصد وزنی خاکستر	درصد پروتئین	ویسکوزیته (cp)	قدرت ژلی بر حسب درجه بلوم (g)	pH
ژلاتین اسیدی فیتوفاگ	۱۰/۱۰	۲/۲	۸۶/۰۳	۴	۸۴	۵/۲
ژلاتین قلیایی فیتوفاگ	۹/۵	۲/۰۷	۸۸/۱۶۸	۶	۱۷۶	۷/۱
استاندارد ژلاتین اسیدی خوراکی	۸-۱۵	۱-۲/۵	۸۴-۹۰	۱/۵-۷/۵	۵۰-۳۰۰	۳/۸-۵/۵
استاندارد ژلاتین اسیدی کپسول‌های سخت	۸-۱۵	۱-۲/۵	۸۴-۹۰	۴/۴-۵/۵	۲۴۰-۳۰۰	۴/۵-۵/۵
استاندارد ژلاتین اسیدی کپسول‌های نرم	۸-۱۵	۱-۲/۵	۸۴-۹۰	۲/۵-۳/۵	۱۵۰-۲۰۰	۴/۵-۵/۵
استاندارد ژلاتین اسیدی قرص‌ها	۸-۱۵	۱-۲/۵	۸۴-۹۰	۱/۷-۳/۵	۷۵-۱۵۰	۴/۵-۵/۵
استاندارد ژلاتین قلیایی خوراکی	۸-۱۵	۱-۲/۵	۸۴-۹۰	۲-۷/۵	۵۰-۳۰۰	۵-۷/۵
استاندارد ژلاتین قلیایی کپسول‌های سخت	۸-۱۵	۱-۲/۵	۸۴-۹۰	۴/۵-۶	۲۰۰-۲۵۰	۵/۳-۶/۵
استاندارد ژلاتین قلیایی کپسول‌های نرم	۸-۱۵	۱-۲/۵	۸۴-۹۰	۳-۴/۵	۱۲۵-۱۷۵	۵/۳-۶/۵
استاندارد ژلاتین قلیایی قرص‌ها	۸-۱۵	۱-۲/۵	۸۴-۹۰	۲-۳/۵	۷۵-۱۵۰	۵/۳-۶/۵

فیتوفـاگ دارد . همچنیـن با مقایسـه کیفیت دو نوع ژلاتین، می‌توان نتیجه گرفـت که روش قلیایی استخراج ژلاتین نسبت به روش اسیدی از نظر کیفی، برای نمونه‌های پوسـت و باله کپور فیتوفاگ مناسب تر است .

جدول ۶ نیز نشان می دهد که نتایج حاصل از این پژوهش یعنی ویژگیهای کیفی ژلاتین اسیدی و قلیایی فیتوفاگ با مقادیر استانداردهای ملی ایران به طور دقیق مطابقت داشـته و از این نظر کاربرد ژلاتین فیتوفاگ در مصارف خوراکی و به خصوص در صنایع غذایی پیشنهاد می‌گردد .

با مقایسـه نتایج حاصـل از ژلاتین اسـیدی فیتوفـاگ بـا مقادیر اسـتاندارد ژلاتین اسـیدی خوراکی و دارویی GMIA در جدول ۷ در می‌یابیم که ژلاتین اسـیدی فیتوفاگ در مصارف خوراکی و در تهیه قرص قابل استفاده است ولی به دلیل پایین بودن قدرت ژلی این ژلاتین نسـبت به قدرت ژلی ژلاتین مورد استفاده در کپسول‌های سخت و نرم ، کاربرد آن در این مورد پیشنهاد نمی‌گردد .

همچنین با مقایسـه نتایـج حاصل از ژلاتین قلیایی فیتوفاگ با مقادیر استاندارد ژلاتین قلیایی خوراکـی و دارویـی GMIA نیـز در جدول ۷ در می‌یابیـم که ژلاتین قلیایـی فیتوفاگ در مصارف خوراکی قابل اسـتفاده است ولی به دلیل بالابودن قدرت ژلی این ژلاتین نسبت به قدرت ژلی ژلاتین کپسـول‌های نرم و قرص‌ها و همچنیـن به دلیل پایین بودن قدرت ژلی این ژلاتین نسبت به قدرت ژلی ژلاتین کپسـول‌های سـخت کاربـرد آن در مصارف دارویی مناسب نمی‌باشد .

همانطور که در جدول ۸ مشاهده می‌شود با توجه به درصد خاکستر کمتر و درصد پروتئین بیشتر ژلاتین اسـیدی فیتوفاگ درمقایسـه با خاکستر و پروتئین ژلاتین اسیدی منابع دیگر می‌توان نتیجه گرفت که ژلاتین اسـیدی فیتوفاگ نسبت به ژلاتین حاصل از منابع دیگر از کیفیت بالاتری برخوردار است و کاربرد آن در صنایع غذایی پیشنهاد می‌شود .

همچنین جدول ۹ نشـان می‌دهد که درصد خاکسـتر ژلاتین قلیایی فیتوفاگ نسبت به درصد خاکسـتر ژلاتین قلیایی منابع دیگر کمتر و درصد پروتئین آن نسـبت به منابع دیگر بیشـتر است ، بنابراین می‌توان نتیجـه گرفت که ژلاتین قلیایی فیتوفاگ نسـبت به ژلاتین قلیایـی منابع دیگر از کیفیـت بالاتری برخوردار اسـت و کاربرد آن در صنایع غذایی پیشنهاد می‌شود .

در مجمـوع می‌تـوان نتیجه‌گیـری کرد که کیفیت ژلاتین اسیدی و قلیایی فیتوفاگ نسبت بـه کیفیت ژلاتین اسـیدی و قلیایی منابع دیگر بالاتر اسـت . لذا کاربرد ژلاتین اسیدی و قلیایی در مصـارف خوراکی به خصـوص صنایع غذایی مناسب بوده و پیشنهاد می‌گردد .

جـدول ۱۰ نشـان می‌دهد کـه خصوصیات کیفی ژلاتین اسـیدی فیتوفـاگ تقریباً نزدیک به خصوصیات کیفی ژلاتین اسیدی پستانداران مانند گوسـاله و خوک می‌باشـد و تنها اختلاف این دو ژلاتین ، در دمای بستن و باز شدن آنها می‌باشد .

همچنیـن کیفیت ژلاتین اسـیدی و قلیایی فیتوفاگ به جز دمای بستن و دمای بازشدن آن، به کیفیت ژلاتین اسیدی و قلیایی پستانداران از جمله گوساله و خوک نزدیک است.

علت اصلـی تفـاوت در ویژگی‌هـای کیفی ژلاتین پستانداران با ژلاتین ماهی کپور فیتوفاگ را می‌تـوان در کمبود اسـیدهای آمینه پرولین و هیدروکسی پرولین ژلاتین ماهی نسبت به ژلاتین پستانداران جستجو و مشاهده کرد که این اختلاف در جدول ۴ در مقدمه آورده شده است .

همانطور که اشاره شد ، کیفیت ژلاتین حاصل از استخراج قلیایی پوست و باله کپور فیتوفاگ نسبت به استخراج اسیدی آن بالاتر است ولی کیفیت هر دو آنها در مقایسه با کیفیت ژلاتین تولیدی از منابع دیگر مشابه و یا بالاتر می‌باشد .

بـه طور کلی می‌توان نتیجـه گرفت که نوع ماده اولیه (پوست ، استخوان ، غضروف و غیره)، بافـت ماده اولیـه ، ترکیب ماده اولیـه ، (مقدار

جدول۸: مقایسه کیفیت ژلاتین اسیدی کپور فیتوفاگ با منابع دیگر

کیفیت / ژلاتین اسیدی	درصد خاکستر	درصد ازت کل	درصد پروتئین
پوست و باله فیتوفاگ	۲/۲	۱۵/۷۶	۸۶/۰۳
پوست مرغ خرد شده	۲۵/۸۸	۱۰/۲۴	۵۵/۹۱
پای مرغ	۸۶	۱۱	۶۰/۰۶
استخوان دنده گاو	۷/۵۸	۱۲/۹۵	۷۰/۷۰
رگ و پی گوشت گاو	۸	۱۰/۴۴۷	۵۷/۰۴
استخوان قلم گوسفند	۱۱/۲۵	۱۲/۳۱	۶۷/۲۱۲
پوست و دم گوسفند	۷۲	۱۵	۸۱/۹
پوست کفشک ماهی	-	۱۴/۵	۷۹/۱۷

(-) : نشانه آن است که خاکستر ماده مورد نظر اندازه‌گیری نشده است .

جدول ۹: مقایسه کیفیت ژلاتین قلیایی کپور فیتوفاگ با منابع دیگر

کیفیت / ژلاتین قلیایی	درصد خاکستر	درصد ازت کل	درصد پروتئین
پوست و باله فیتوفاگ	۲/۰۷	۱۶/۰۰	۸۸/۱۶۸
پوست مرغ خردشده	۴۵/۳۵	۳/۱	۱۷/۰۸۱
پای مرغ	۴۵	۵	۲۷/۵۵
استخوان دنده گاو	۲۲/۹۵	۱۱/۹۲	۶۵/۶۷
رگ وپی گوشت گاو	۲۶	۶/۴	۳۵/۲۶
استخوان قلم گوسفند	۳۳/۸	۱۰/۶۴	۵۸/۶۲
پوست و دم گوسفند	۴۹	۵/۹۳	۳۲/۶۷
پوست کفشک ماهی	-	۱۵/۴	۸۴/۸۵

(-) : نشانه آن است که تحقیقی در این مورد انجام نگرفته است .

جدول ۱۰: مقایسه میانگین کیفیت ژلاتین اسیدی و قلیایی پستانداران با ژلاتین اسیدی و قلیایی فیتوفاگ

ویژگی‌ها / ژلاتین	ژلاتین اسیدی پستانداران	ژلاتین اسیدی فیتوفاگ	ژلاتین قلیایی پستانداران	ژلاتین قلیایی فیتوفاگ
قدرت ژلی (گرم)	۷۵ – ۳۰۰	۸۴	۷۵-۲۷۵	۱۷۶
ویسکوزیته cp	۲ – ۷/۵	۴	۲ – ۷/۵	۶
درصد خاکستر	۰/۳ - ۲	۲/۲	۰/۰۵ - ۲	۲/۰۷
دمای بستن	۱۵ – ۲۹	۷	۱۵ – ۲۹	۱۰
دمای باز شدن	۲۷ – ۳۲	۲۰	۲۷ – ۳۲	۲۶
pH	۳/۸ - ۶	۵/۲	۵-۷/۴	۷/۱

اسیدهای آمینه موجود در کلاژن آن بخصوص پرولین و هیدروکسی پرولین) ، شرایط مختلف فرآیند (دما ، زمان ، pH و غیره) ، شرایط پیش فرآیند (نوع اسید و قلیا ، غلظت اسید و قلیا ، مدت زمان به کار برده شده و ...)، عملیات فیلتراسیون ، خشک کردن و غیره ، همه می‌توانند به نوعی در کیفیت ژلاتین حاصل تأثیر مطلوب یا نامطلوب بگذارند.

در پایان بررسی فرآیند تولید ژلاتین از کپور ماهیان پرورشی با استفاده از نتایج آزمایشگاهی به دست آمده از این پژوهش درمقیاس پایلوت و صنعتی پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

از همکاری‌های مؤسسه تحقیقات شیلات تهران و بندرانزلی، کارشناسان مجتمع آزمایشگاهی واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی و کلیه عزیزانی که با همکاری‌های صمیمانه خود امکان انجام این پژوهش را فراهم نمودند تشکر و قدردانی می‌نماییم .

پاورقی‌ها

1- Cartilage
2- Grade
3- Diatomaceous earth
4- Whatman
5- Oven
6- British Standard Institute
7- Association of Official Analytical Chemists
8- Centi Poise
9- Bloom gelometer
10- Gelatin Manufacturers Institute of America
11- Setting point & Setting time
12- Melting point & Melting time
13- Japanese Standard Association
14- Bloom

منابع مورد استفاده

۱ - آبرومند ، ع . ۱۳۶۸؛ تهیه ژلاتین از ضایعات شیلات . پایان نامه کارشناسی ارشد رشته علوم و صنایع غذایی ، دانشگاه تربیت مدرس ، ۲۵۰ صفحه .

۲ - استاندارد ملی ایران ، شهریور ۱۳۷۳؛ شماره ۳۴۷۴ ، روشهای آزمون کیفی ژلاتین . صفحات ۱ تا ۸ .

۳ - کاظمی دلیری ، ا . ۱۳۷۳؛ تهیه ژلاتین از ضایعات حیوانی . مجموعه مقالات پژوهشی شریف . مرکز بیوشیمی ، انتشارات دانشگاه صنعتی شریف . صفحات ۶۰ تا ۶۸ .

4-Association of official analytical chemists (A.O.A.C) . , 1955 ; Washangton , pp .17- 18 .

5- British standard institute ., 1975 ; Methods for sampling and testing gelatin (physical & chemical methods).Gr 8 . London , UK . BSI / 757 .

6- Eastoe, J.E and Leach,A. , 1958; A survey of recent work on amino acid composition of vertebrate collagen and gelatin . J. Biochem . Vol .61. No.5, pp .589 .

7- Gelatin Manufacturers Institute Of America ,Inc. Standard Methods for Sampling and Testinfg of Gelatin . , 2003; GMIA. 271 madison , suite 908 . New York .

8- Haug , J . , 2003; Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin . J . Food Hydrocolloids . Article in press .

9- Holzer , D . , 1996; Gelatin production . U.S.patent . No. 5484888.

10- Kirck and Othmer . , 1978; Encyclopedia of chemical technology . second edition , volume 10 . Food Additive to Heterocyclic Compounds . pp . 499-508 . Mc Grow Hill , New York

11- Lefebvre and Biarrotte . , 2002; Process for the preparation of fish gelatin . U.S.patent . No. 6368656.

12- Muyonga, J.H . , 2003 ; Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skins and bone gelatin . J . Food Hydrocolloids . Article in press .

13- Piez , K.A. and Gross , J.G . , 1960; The amino acid composition of some fish collagen : The relation between composition and structure . J . Biological Chemistry . Vol .235 . No. 4 , pp .995-998 .