

بهینه‌سازی فرآیند استخراج ژلاتین از غضروف کوسه ماهی چانه سفید

(*Carcharhinus dussumieri*)

اسماعیل عطای صالحی^{1*}، محمود حافظیه²، فاطمه غلامحسینی³

¹ استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قوچان، گروه علوم و صنایع غذایی، قوچان، ایران

² عضو هیات علمی موسسه تحقیقات شیلات ایران، گروه تغذیه و غذای زندگی پروری، تهران، ایران

³ دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، قوچان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۰/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۲۳

چکیده

کوسه ماهی چانه سفید *Carcharhinus dussumieri* از صیدهای غالب در آب‌های جنوب کشور می‌باشد. یکی از دور ریزهای این ماهی به خصوص در بخش فرآوری فیله‌ی آن، غضروف است که با روش‌های شیمیایی قابلیت تبدیل به ژلاتین را دارد. این پژوهش در دو مرحله انجام شد: در مرحله‌ی نخست، اثر سه غلظت سود (0/0، 0/05، 0/1) و سه غلظت اسیداستیک (1، 0/5، 0/1) در دمای 60 درجه و زمان 6 ساعت بر راندمان استخراج ژلاتین حاصله، بررسی شد. در مرحله‌ی دوم، بهترین غلظت اسید و قلیا در شرایط متغیر دمایی (60، 70 و 80 درجه‌ی سانتی‌گراد) و زمان (6 و 12 ساعت) مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج آماری از میانگین داده‌های نرمال که با آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون دانکن تحلیل گردیدند نشان داد که در روش قلیایی، غلظت 0/3 مولار و در روش اسیدی، غلظت 1 مولار بالاترین راندمان را دارند هر چند که از نظر آماری تفاوت معنی داری بین آن‌ها وجود نداشت ($P > 0.05$). در روش اسیدی دمای 80 درجه و زمان 12 ساعت و در روش قلیایی دمای 80 درجه و زمان 6 ساعت و دمای 80 درجه و زمان 12 ساعت بدون وجود اختلاف معنی دار ($P < 0.05$), بالاترین راندمان را نشان دادند. در نهایت، مقایسه‌ی بین بهترین راندمان اسیدی و بهترین راندمان قلیایی نشان داد که تفاوت معنی داری بین آن‌ها وجود ندارد، اما با توجه به راندمان حاصله (34/16٪)، روش قلیایی با غلظت 0/3 مولار سود مصرفی، دمای استخراج 80 درجه‌ی سانتی‌گراد و زمان 12 ساعت به عنوان بهترین روش استخراج ژلاتین از غضروف کوسه ماهی چانه سفید، انتخاب گردید.

واژه‌های کلیدی: ژلاتین، غضروف کوسه ماهی، روش قلیایی، روش اسیدی، راندمان.

* مسؤول مکاتبه: eatayesalehi@yahoo.com

انتقال عامل‌های پاتوژن نظیر پریون‌ها را دارند، وجود دارد (21).

نگرانی‌های اخیر، باعث آغاز تحقیقات زیادی برای پیدا کردن منابع جایگزین ژلاتین به دست آمده از پستانداران شده است. در دهه‌ی گذشته، گرایش زیادی به ژلاتین به دست آمده از ماهی و ماقیان وجود داشته است. پوست و استخوان ماقیان برای تولید ژلاتین به کار می‌روند اما به علت بازده پایین، تولید آن‌ها در مقیاس تجاری محدود شده است. در این خصوص، ژلاتین ماهی، پیشنهاد بهتری برای جایگزینی ژلاتین پستانداران است. اگر چه در حال حاضر تولید ژلاتین ماهی خیلی رایج نیست و فقط حدود ۱٪ تولید سالیانه ژلاتین در جهان را تشکیل می‌دهد (3).

توجه به حجم عظیم صید ماهیانی که مصرف خوراکی ندارند (21 درصد در مقابل 79 درصد قابل ماقول)، و یا ضایعات انواع خوراکی در حین فرآوری که دور ریز محسوب می‌شوند (پوست، استخوان و باله) پژوهش‌هایی در زمینه استخراج این ماده‌ی ارزشمند از ضایعات ماهیان مختلف به ثمر نشسته به طوری که باعث رشد آمار تولید ژلاتین از آبزیان شده است (14).

ژلاتین یک پلی پپتید با وزن مولکولی بالا است که از رشته‌های پروتئینی کلاژن که جزء اصلی پوست، استخوان و بافت پیوندی حیوانات است، به دست می‌آید. کلاژن از سه زنجیره‌ی پلی پپتیدی در هم پیچ خورده تشکیل شده است که حداقل دو زنجیره‌ی آن در تمام کلاژن‌ها یکسان است. حدود 70٪ مجموع اسیدهای آمینه هر زنجیره را اسیدهای آمینه گلیسین (35٪)، آلانین (12٪)، پرولین و هیدروکسی پرولین (20٪) تشکیل می‌دهد. وجود هیدروکسی پرولین در پروتئین‌ها بسیار نادر است و کلاژن، تنها پروتئین است که حاوی مقدار بیش تری از این آمینو اسید است. طبق تعریف United States Pharmacopeia (USP) در سال 1990 ژلاتین عبارت است از محصول به دست

آمده از هیدرولیز جزئی کلاژن پوست، بافت پیوندی سفید و استخوان‌ها (11). تبدیل کلاژن به ژلاتین محلول با حرارت دادن آن در اسید یا قلیا به دست می‌آید. حلایت حرارتی کلاژن (در حضور اسید یا قلیا) به علت شکسته شدن تعدادی از پیوندهای کووالانسی داخل و بین مولکولی موجود در کلاژن است. به علاوه، بعضی پیوندهای آمیدی در زنجیره‌های اساسی مولکول‌های کلاژن هیدرولیز می‌شوند (6).

۱- مقدمه

ژلاتین یکی از بیوپلیمرهایی است که به طور وسیع در بسیاری از صنایع نظیر صنایع غذایی، داروسازی و عکاسی به خاطر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی بی‌نظیر آن استفاده می‌شود (16). در صنایع غذایی، ژلاتین در شیرینی‌سازی و صنایع لبنی (به منظور ایجاد بافت و پایداری کف)، در نانوایی به عنوان امولسی فایر، ژله‌ای کنندگی و پایداری محصول و فرآورده‌های غذایی گوشته آمده به کار می‌رود (13، 19).

ژلاتین به آسانی در بدن جذب شده و حتی از طریق تشکیل امولسیون با چربی و پروتئین به هضم سایر مواد غذایی کمک می‌کند. همچنین ژلاتین به عنوان عامل تصفیه کننده در نوشیدنی‌ها و آبمیوه‌ها به کار می‌رود. در صنایع دارویی از ژلاتین به طور وسیعی برای ساخت کپسول‌های نرم و سخت استفاده می‌شود. همچنین به دلیل پایین بودن کالری ژلاتین به طور معمول در غذاهای رژیمی پروتئینه توصیه شده است. به علاوه، ژلاتین برای کاهش سطح کربوهیدرات در غذاهای مخصوص بیماران دیابتی هم کاربرد دارد. از طرف دیگر، ژلاتین، نقش مهمی در توسعه‌ی 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 تهیه‌ی چسب و کبریت سازی و مرکب چاپ و کاغذ پلی کپی و کارتون سازی و نیز در ساخت فیلتر لامپ‌های جیوه‌ای و هم چنین به عنوان شفاف کننده‌ی اجسام به کار می‌رود (1).

در سال‌های اخیر، تقاضای مصرف ژلاتین، افزایش یافته است به طوری که تولید سالیانه ژلاتین در جهان در حدود 326000 تن است که 46٪ آن از پوست خوک، 29٪ از پوست گاو، 23٪ از استخوان و ۱۵٪ از منابع دیگر به دست می‌آید (9).

اگرچه ژلاتین کاربردهای زیادی دارداما به دلیل منابع استخراجی آن، بدینی و نگرانی‌های شدیدی در بین مصرف کنندگان وجود دارد. دلیل اصلی این مساله، اعتقادات مذهبی است (در آئین یهودیت و اسلام مصرف محصولات وابسته به خوک منوع است) (5).

به علاوه در بین محققان، نگرانی‌هایی در خصوص این که بافت‌های مشتق شده از حیوانات مثل کلاژن و ژلاتین توانایی

املاح زدایی در اسید کلریدریک 2 مولار و با نسبت (w/v) 1:10 به مدت 1 ساعت با هم زدن مداوم در دمای اتاق قرار گرفت. بعد از این زمان، نمونه، آنقدر با آب مقطر شست و شو داده شد تا pH نمونه خشی و یا حالت اسیدی آن کمتر شود. پس از آن، نمونه برای متورم شدن به مدت 15 دقیقه در محلول 0.2 مولار اسید سیتریک و با نسبت (w/v) 1:10 قرار داده شد که پس از شست و شو pH آن خشی گردید. سپس برای استخراج ژلاتین، نمونه با آب مقطر با نسبت (w/v) 1:2 مخلوط شده و در حمام آب با دمای 60 درجه‌ی سانتی‌گراد و زمان 6 ساعت (دمای زمان کنترل در مرحله‌ی نخست) قرار گرفت. محلول استخراج شده سپس با قیف بوخرن و کاغذ صافی واتمن (4) صاف شده و پس از آن در آون با دمای 60 درجه‌ی سانتی‌گراد خشک گردید. راندمان استخراج ژلاتین براساس درصد وزن ژلاتین خشک شده به وزن مواد خام اولیه بر حسب گرم محاسبه گردید.

2-2-2- استخراج اسیدی

طبق روش Liu et al., (2008 b) با کمی تغییر انجام شد (17). مقدار 100 گرم غضروف پاک شده با نسبت (w/v) 1:8 داخل محلول اسیدی استیک (1, 0/1, 0/5, 1, 0/1 مولار هر کدام با سه تکرار) به مدت 18 ساعت قرار گرفت. پس از آن، نمونه‌ها را از داخل محلول اسیدی خارج و با آب شست و شو داده شد تا حالت اسیدی، خشی یا ضعیف شود و pH نمونه‌ها بین 3/5 تا 4 تنظیم گردید.

سپس برای استخراج ژلاتین، نمونه با آب مقطر با نسبت (w/v) 1:2 مخلوط شد و در حمام آب با دمای 60 درجه‌ی سانتی‌گراد و زمان 6 ساعت (دمای زمان کنترل در مرحله‌ی نخست) قرار گرفت. محلول استخراج شده سپس با قیف بوخرن و کاغذ صافی واتمن (4) صاف و پس از آن در آون با دمای 60 درجه‌ی سانتی‌گراد خشک گردید.

3-2-2- متغیرهای دما و زمان

در مرحله‌ی دوم غلظت‌هایی از اسید و قلیا که بالاترین راندمان را داشتند در شرایط متغیر دمایی (60 و 70 و 80 درجه‌ی سانتی‌گراد) و زمان (6 و 12 ساعت) هر کدام با سه تکرار قرار گرفتند و اثر هر کدام از شرایط جدید بر روی راندمان استخراج تعیین شد.

سه مرحله‌ی اصلی فرآیند تولید ژلاتین عبارت است:

1- پیش تیمار مواد خام

2- استخراج ژلاتین

3- خالص سازی و خشک کردن.

در روش پیش تیمار ژلاتین، دو نوع مختلف از این ماده تولید می‌شود:

1- ژلاتین نوع A: با انجام عملیات اسیدی بر روی کلاژن،

2- ژلاتین نوع B: با انجام عملیات قلیایی بر روی کلاژن.

عملیات اسیدی اغلب برای کلاژن‌های با پیوند کووالانسی کمتر نظر پوست ماهی یا خوک مناسب است در حالی که عملیات قلیایی برای کلاژن‌های پیچیده که در پوست گاو وجود دارد مناسب می‌باشد (20).

2- مواد و روش‌ها

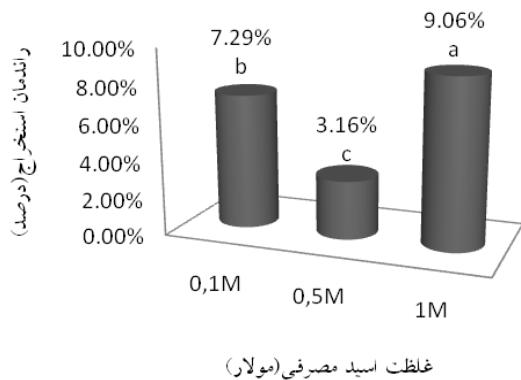
2-1- آماده سازی نمونه

پس از خریداری کوسه ماهی‌های صید شده در آب‌های منطقه‌ی کنار ک استان سیستان و بلوچستان، گوشت و غضروف آن‌ها از هم جدا شده و غضروف‌ها در کیسه‌های پلاستیکی بسته‌بندی و در یخ قرار داده شد و به آزمایشگاه منتقل گردید. در آزمایشگاه با دست پاک و با کمک چاقو با قیماندهی مواد زائد و گوشت‌ها که به غضروف چسبیده بودند خارج شد و با آب سرد با دمای 4 درجه‌ی سانتی‌گراد شست و شو و سپس به قطعات 1-3 سانتی‌متری خرد و در کیسه‌های پلاستیکی بسته‌بندی شد و تا زمان آزمایش در فریزر با برودت 15- درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت.

2-2- استخراج ژلاتین

2-2-1- استخراج قلیایی

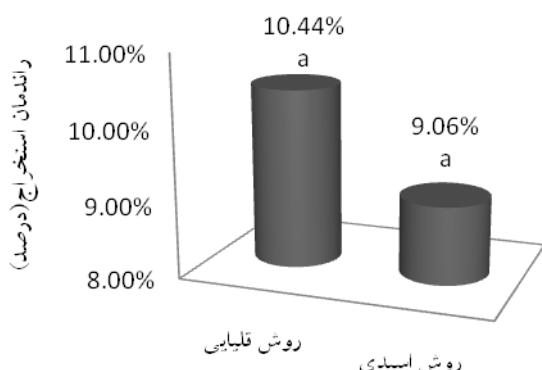
بر مبنای روش Kittiphattanabawon et al., (2010) با کمی تغییر انجام شد (15). مقدار 100 گرم غضروف پاک شده با نسبت (w/v) 1:10 به مدت 2 ساعت در غلظت‌های متفاوت محلول سود (0/1, 0/2, 0/3, 0/01, 0/02, 0/03) مولار هر کدام با سه تکرار (روی همزن مغناطیسی (300 دور در دقیقه) به مدت 2 ساعت قرار داده شد تا پروتئین‌های غیر کلاژنی آن جدا گردند. هر 40 دقیقه، نمونه از محلول خارج و در محلول سود جدید قرار داده شد. سپس با آب مقطر تا pH حدود خشی شست و شو داده شد. pH نمونه‌ها را بین 6/5 تا 7 تنظیم گردید. سپس، نمونه‌ی پروتئین زدایی شده برای



شکل 2- نتایج تیمار اسیدی در غلظت‌های مختلف.

بر اساس نتایج حاصل، غلظت 1 مولار بالاترین راندمان را دارد. اسید با شکستن پیوندهای عرضی و از بین باندهای هیدروژنی کلازن باعث استخراج بیشتر پروتئین‌ها می‌شود. (در غلظت 1 مولار، راندمان: 9/06%). البته قابل ذکر است که در غلظت 0.5 مولار اسید استیک نسبت به 0/1 مولار راندمان کاهش پیدا کرده که این مساله می‌تواند نشان دهنده‌ی این باشد که در این غلظت نقطه ایزواالکتریک کلازن وجود دارد و از آنجا که در نقطه‌ی ایزواالکتریک، هیدرولیز پروتئین‌ها کاهش می‌یابد کلازن کم‌تر هیدرولیز شده و راندمان استخراج نیز در غلظت 0.5 مولار کاهش می‌یابد.

در نهایت، مقایسه‌ی بین بالاترین راندمان اسیدی و بالاترین راندمان قلیایی با استفاده از آزمون *t*، نشان می‌دهد که تفاوت بین آن‌ها معنی دار نیست ($P > 0.05$). لذا مرحله‌ی دوم آزمایش‌ها که بهینه‌سازی دما و زمان می‌باشد هم بر روی بالاترین راندمان اسیدی و هم بر روی بالاترین راندمان قلیایی قابل انجام است.



شکل 3- مقایسه‌ی نتایج بهترین راندمان قلیایی و اسیدی در مرحله‌ی اول.

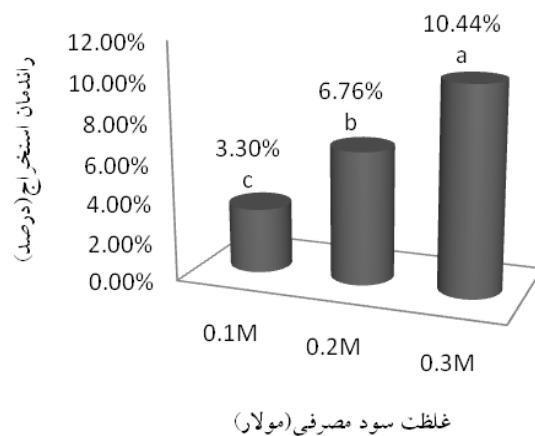
2-3- روش آماری

داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آنالیز ANOVA و تست دانکن و آزمون آماری *t*، تجزیه و تحلیل گردیدند.

3- نتایج و بحث

1- استخراج قلیایی

نتایج حاصل از تأثیر غلظت سود بر راندمان استخراج در شکل 1، نشان داده شده است.



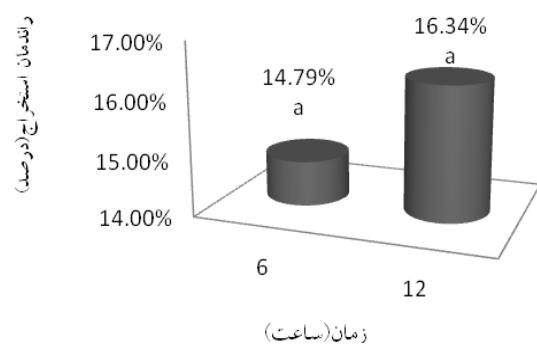
شکل 1- نتایج تیمار قلیایی در غلظت‌های مختلف.

بر اساس نتایج حاصل، غلظت 0/3 مولار بالاترین راندمان را دارد. در واقع، افزایش غلظت هیدروکسید سدیم مصرفی باعث افزایش راندمان تولید محصول گردید. (در غلظت 0/3 مولار، راندمان: 10/44%) که این مساله به هیدرولیز بیشتر مولکول کلازن نسبت داده می‌شود. هیدروکسید سدیم اسید‌آمینه‌های محلول را در خود حل و از این طریق به خالص‌سازی ژلاتین کمک می‌کند.

2- استخراج اسیدی

نتایج حاصل از تأثیر غلظت اسید بر راندمان استخراج در شکل 2، نشان داده شده است.

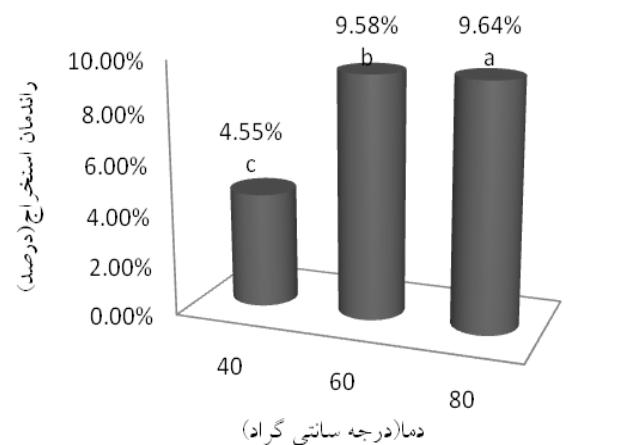
3- اثر متغیرهای دما و زمان بر راندمان استخراج در غلظت بهینه قلیا و اسید



شکل 6- مقایسه‌ی تایای بهترین راندمان قلیایی در زمان‌های 6 و 12 ساعت و دمای 80 درجه

2-3-3- تیمار اسیدی با غلظت بهینه 1 مولار در دماها و زمان‌های مختلف

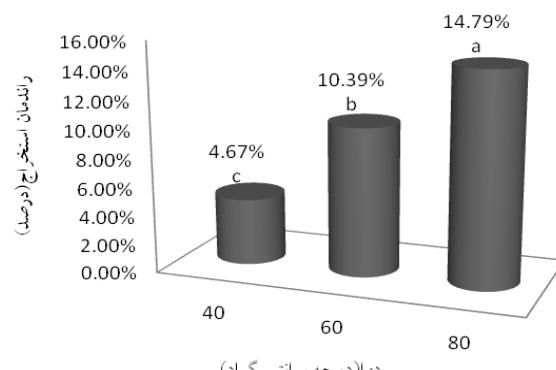
تأثیر دما و زمان بر راندمان استخراج در غلظت بهینه اسید در شکل‌های 8 و 7 نشان داده شده است. همان گونه که نشان داده شده است در دمای 80 درجه‌ی سانتی‌گراد در هر دو زمان 6 و 12 ساعت بالاترین راندمان را دارد.



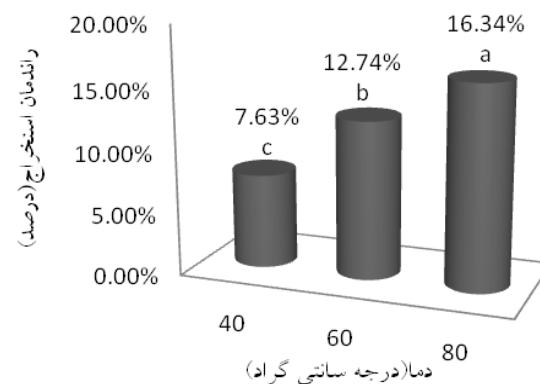
شکل 7- اثر دماهای 40 و 60 و 80 درجه بر راندمان استخراج در غلظت بهینه اسید و زمان 6 ساعت.

3-3-1- تیمار قلیایی با غلظت بهینه 0/3 مولار در دماها و زمان‌های مختلف

تأثیر دما و زمان بر راندمان استخراج در غلظت بهینه سود در شکل‌های 4 و 5، نشان داده شده است. همان گونه که مشاهده می‌شود تیمار در دمای 80 درجه‌ی سانتی‌گراد در زمان‌های 6 و 12 ساعت بالاترین راندمان را دارا هستند.

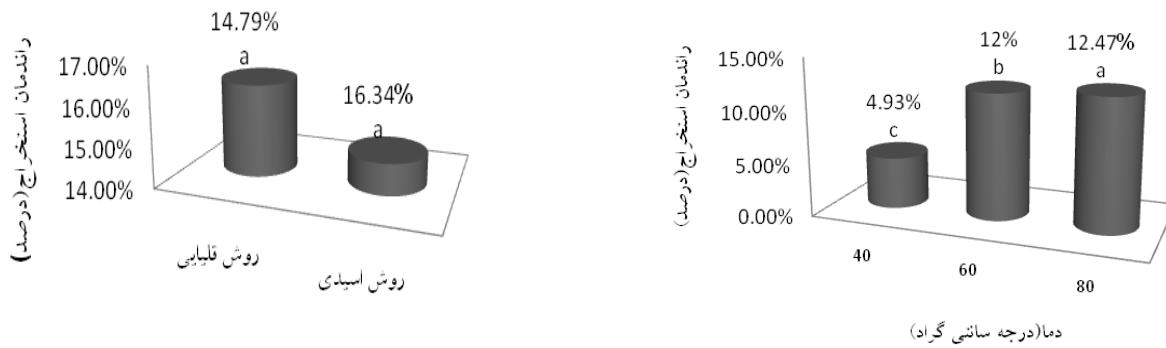


شکل 4- اثر دماهای 40 و 60 و 80 درجه بر راندمان استخراج در غلظت بهینه سود و زمان 6 ساعت.



شکل 5- اثر دماهای 40 و 60 و 80 درجه بر راندمان استخراج در غلظت بهینه سود و زمان 12 ساعت.

با توجه به شکل 6، انجام آزمون آماری t بین بهترین راندمان در دمای 80 درجه‌ی سانتی‌گراد در زمان 6 ساعت (14/79%) و 12 ساعت (34/16%) نشان می‌دهد که از نظر آماری تفاوت بین آن‌ها معنی دار نیست.



شکل 10- مقایسه‌ی نتایج بهترین راندمان قلیایی و اسیدی در مرحله دوم.

به طور کلی، نتایج نشان می‌دهد که افزایش دما و زمان باعث افزایش راندمان استخراج می‌گردد به طوری که در دمای 80 درجه‌ی سانتی‌گراد و زمان 12 ساعت بالاترین راندمان حاصله به دست می‌آید که این نتیجه با کار Muyonga *et al.*, (2004)، Arnesen&Gildberg, (2007) مطابقت دارد که گزارش کردند افزایش دما و زمان استخراج منجر با افزایش بازده ژلاتین از پوست ماهی‌های سالمون و آتلانتیک و همچنین پوست و استخوان ماهی زرد نیل (Nile perch) می‌شود (4 و 18).

حداکثر راندمان استخراج ژلاتین از غضروف کوسه ماهی چانه سفید 16.34٪ بود که وقتی با ژلاتین پوست سایر گونه‌های ماهی مقایسه می‌شود بازده بالاتری می‌باشد. به عنوان مثال، 5/39-7/81 درصد برای پوست ماهی تیلاپیا (12)، 16-5/12 برای Nile skin 10.1٪، 11.3٪ برای پوست ماهی سالمون، 18٪ برای پوست ماهی کاد (4).

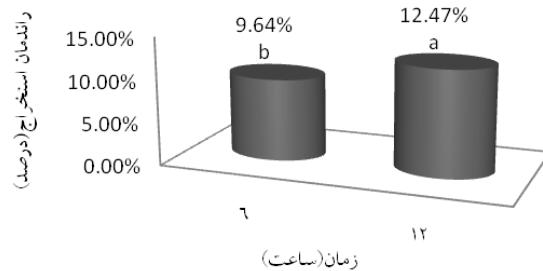
اختلاف در مقادیر وابسته به اختلاف در ترکیب مستقیم پوستها و مقدار اجزای محلول در پوست است که این ویژگی‌ها با گونه و سن ماهی تغییر می‌کنند. به علاوه، تغییر در روش استخراج می‌تواند روی بازده تأثیر بگذارد.

Gudmundson and Hafsteinsson, (1997) استخراج ژلاتین از پوست ماهی کاد، بازده ژلاتین را بین 11٪ و 14٪ وابسته به غلظت هیدروکسید سدیم، اسید سولفوریک و محلول اسید سیتریک استفاده شده در عملیات مقدماتی مواد خام، به دست آوردند (10).

Jamilah&Harvinder, (2002) استخراج ژلاتین ماهی، تقریباً بین 6٪ و 19٪ می‌باشد که پایین تر از ژلاتین پستانداران است و این بازده استخراج پایین به علت از

شکل 8- اثر دمای 40 و 60 و 80 درجه بر راندمان استخراج در غلظت بهینه اسید و زمان 12 ساعت.

در شکل 9، انجام آزمون آماری t بین دمای 80 درجه و زمان 6 ساعت (0.9/64٪) و زمان 12 ساعت (12/47٪) نشان می‌دهد که از لحاظ آماری بین آن‌ها تفاوت معنی دار وجود دارد و راندمان در دمای 80 درجه و زمان 12 ساعت بالاتر است.



شکل 9- مقایسه‌ی نتایج بهترین راندمان اسیدی در زمان‌های 6 و 12 ساعت و دمای 80 درجه‌ی سانتی‌گراد.

در نهایت با توجه به شکل 10، نتایج آماری نشان می‌دهد که بین بهترین حالت قلیایی (راندمان 34/16٪) و بهترین حالت اسیدی (راندمان 47/12٪) تفاوت معنی داری وجود ندارد لذا با توجه به میزان راندمان بالاتر (34/16٪)، روش قلیایی با غلظت 0/3 مولار هیدروکسید مصرفی، دمای استخراج 80 درجه‌ی سانتی‌گراد و زمان 12 ساعت در این پژوهش به عنوان بهترین روش استخراج ژلاتین از غضروف کوسه ماهی چانه سفید، انتخاب گردید.

آبرومند(1386) تولید ژلاتین خوراکی از ضایعات ماهی را بررسی کرد و نتایج نشان داد که در صورت استفاده از شرایط قلیایی مقدار ژلاتین حاصل حداکثر خواهد بود و در درمای 70 درجه و pH=6/5 راندمان ژلاتین حاصل حداکثر به دست خواهد آمد که این شرایط با نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر، مطابقت دارد(1).

به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت شرایط مختلف فرآیند(دما، زمان، ...) شرایط پیش فرآیند (نوع اسید و قلیا، غلظت اسید و قلیا، مدت زمان تیمار و...) همه می‌توانند به نوعی بر روی راندمان استخراج ژلاتین حاصله تاثیرگذار باشند.

5- نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده از آزمایش‌ها در روش قلیایی، غلظت 3/0 مولار و در روش اسیدی، غلظت 1 مولار بالاترین راندمان را داشتند. هر چند که از نظر آماری، تفاوت معنی داری بین آن‌ها وجود نداشت($P>0.05$). در روش اسیدی، دمای 80 درجه و زمان 12 ساعت و در روش قلیایی دمای 80 درجه و زمان 6 ساعت و دمای 80 درجه و زمان 12 ساعت بدون وجود اختلاف معنی‌دار ($P>0.05$)، بالاترین راندمان را دارا بودند. درنهایت، مقایسه‌ی بین بهترین راندمان اسیدی و بهترین راندمان قلیایی نشان داد که تفاوت معنی داری بین آن‌ها وجود ندارد اما با توجه به راندمان حاصله(16/34)، روش قلیایی با غلظت 3/0 مولار سود مصرفی، دمای استخراج 80 درجه‌ی سانتی گراد و زمان 12 ساعت به عنوان بهترین روش استخراج ژلاتین از غضروف کوسه ماهی چانه سفید انتخاب گردید.

6- سپاس گزاری

با سپاس فراوان از زحمات کلیه‌ی همکاران مرکز تحقیقات شیلات آب‌های دور چابهار که امکانات و تجهیزات اولیه برای انجام این تحقیق را فراهم نمودند.

7- منابع

1- آبرومند، ع. 1386؛ تولید ژلاتین خوراکی از ضایعات ماهی؛ مجله‌ی علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. سال یازدهم. شماره‌ی اول: صفحات 409-418.

دست رفتن کلائز استخراج شده در طی مراحل خیساندن و شست وشو و یا به علت کامل نشدن هیدرولیز کلائز می‌باشد(12). Zhou and Regenstein, (2004) فرآیند برای ژلاتین پوست ماهی پولک، بازده استخراج را بین ۱۹٪ به دست آوردند که این بازده به دمای پیش تیمار و غلظت اسید وابسته بود. پیش تیمار کردن در دمای اتاق منجر به از دست رفتن مقدار زیاد ژلاتین شد اگرچه توانست به طور اندکی ویسکوزیته را افزایش دهد. آن‌ها پیشنهاد کرdenد که دمای پیش تیمار پایین در طی استخراج ژلاتین پوست پولک به کار رود و این نتیجه ممکن است برای سایر ماهی‌های آب سرد قابل کاربرد باشد .(22)

Cho et al., (2004) در استخراج ژلاتین از غضروف کوسه ماهی (*Isurus oxyrinchus*) شرایط بهینه استخراج را اینگونه به دست آوردند: غلظت هیدروکسید سدیم N 1/6 ، زمان تیمار 3/16 روز، دمای استخراج با آب داغ 65 درجه‌ی سانتی گراد به مدت 3/4 ساعت که تحت این شرایط ماکریم بازده ژلاتین ۷۹/۹٪ (بر اساس محتوای هیدروکسی پرولین) به دست آمد(7). همچنین Cho et al., (2005) برای استخراج ژلاتین از پوست تن باله زرد شرایط بهینه استخراج را به این ترتیب به دست آوردند: غلظت هیدروکسید سدیم 1/89٪ ، زمان تیمار: 2/87 روز، دمای استخراج 58 درجه، زمان استخراج 4/72 ساعت و تحت این شرایط بهینه، محتوای ژلاتین ۸۹/۷٪ (بر اساس محتوای هیدروکسی پرولین) به دست آمد که وقیع نتایج فوق با پژوهش حاضر هاضر مقایسه می‌گردد با هم اختلاف دارند. این اختلاف می‌تواند به دلیل تفاوت شرایط استخراج به کار رفته باشد. مثلاً "زمان تیمار 2 یا 3 روز که در مقایسه با زمان تیمار در پژوهش حاضر 2 ساعت) زمان طولانی‌تری می‌باشد و این موضوع می‌تواند مراحل بعدی کار و به دنبال آن راندمان استخراج را تحت تاثیر قرار دهد. همچنین، مبنای متفاوت محاسبه راندمان استخراج که در کار آن‌ها بر اساس محتوای هیدروکسی پرولین بوده و در پژوهش ما بر اساس وزن ژلاتین خشک شده می‌باشد(8).

علوی طلب و همکاران(1385) در بررسی و مقایسه‌ی کیفیت ژلاتین اسیدی و قلیایی پوست و باله کپور فیتوفاگ مشخص کردنند که ژلاتین قلیایی کپور نقره‌ای در مقایسه با ژلاتین اسیدی آن از کیفیت بهتری برخوردار است(2).

- 16- Liu, H., Li, D., & Guo, S., 2008 a. Extraction and properties of gelatin from channel catfish (*Ictalurus punctatus*) skin. *LWT - Food Science and Technology*, 41, 414-419.
- 17- Liu, H., Li, D., & Guo, S., 2008b. Rheological properties of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) gelatine from fish skins preserved by different methods. *LWT - Food Science and Technology*, 41, 1425-1430.
- 18-Muyonga,j. H., Cole, C G. B., & Duodu, K. G., 2004. Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. *Food Hydrocolloids*, 18, 581-592.
- 19-Schrieber, R., & Gareis, H., 2007. *Gelatine handbook*. Weinheim: Wiley-VCH GmbH & Co.
- 20 -Stainsby, G., 1987. Gelatin gels. In A. M. Pearson, T. R. Dutson, & A. j. Bailey (Eds.), Collagen as food. *Advances in meat research*, vol. 4 (pp. 209-222). New York: Van Nostrand Reinhold Company, Inc.
- 21-Wilesmith, j. w., Ryan, j. B. M., & Atkinson, M. j., 1991. Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies on the origin. *Veterinary Record*, 128, 199-203.
- 22-Zhou, P., & Regenstein, j. M., 2004. Optimization of extraction conditions for pollock skin gelatin. *Journal of Food Science*, 69, C393-098.
- 2-علوی طلب، ه.ح. توکلی پور؛ ا.غرقی، 1385؛ بررسی مقایسه‌ی کیفیت ژلاتین اسیدی و قلیایی پوست و باله کپور فیتوفاگ با منابع دیگر. مجله‌ی پژوهش و سازندگی در امور دام و آبریان، شماره‌ی 72، صفحات 57-50.
- 3-Arnesen, J. A., & Gildberg, A., 2006. Extraction of muscle proteins and gelatin from cod head. *Process Biochemistry*, 41, 697-700.
- 4-Arnesen, J. A., & Gildberg, A., 2007. Extraction and characterisation of gelatine from Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin. *Bioresource Technology*, 98, 53-57.
- 5-Asher, D. M., 1999. The transmissible spongiform encephalopathy agents: concerns and responses of the United States regulatory agencies in maintaining the safety of biologics. *Developments in Biological Standardization*, 100, 103-118.
- 6-Bailey, A. J., & Light, N. D., 1989. Connective tissue in meat and meat products. London & New York: Elsevier Applied Science. pp. 238-242.
- 7-Cho,S.M., Kawak,k.S., Park,D.C., GU, Y.S., JI,C.I., Jang,D.H., Lee,Y.B., Kim,S.B., 2004. Processing optimization and functional properties of gelatin from shark cartilage. *Food Hydrocolloids*, 18,573-579.
- 8-Cho, S. M., Gu, Y. S. & Kim, S. B., 2005. Extraction optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatine compared to mammalian gelatin.*Food Hydrocolloids*, 19, 221-229.
- 9-GME., 2008. Gelatin Manufacturers of Europe. <http://www.gelatine.org/en/gelatine/overview/l27.htm>. Accessed 15.03.08.
- 10-Gudmundsson, M., & Hafsteinsson, H., 1997. Gelatin from cod skins as affected by chemical treatments. *Journal of Food Science*, 62, 37-47.
- 11- Hu, R., 1999. *Food Product Design*, Technomic Publishing Company Inc., USA.
- 12-jamilah, B., & Harvinder, K. G., 2002. Properties of gelatins from skins offish-black tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and red tilapia (*Oreochromis nilotica*). *Food Chemistry*, 77, 81-84.
- 13-johnston-Banks, F. A., ,1990,. Gelatin. In P. Harris (Ed.), *Food gels* (pp. 233-289). New York: Elsevier Applied Sciences.
- 14-karim,A.A,Rajev bhat., 2009.fish gelatin properties,challenges and prospects as an alternative to mammalian gelatin. *Food Hydrocolloid*, 13,563-576
- 15- Kittipattanabawon,ph., Benjakul,s., Visessanguan,w., shahidi,F., 2010. Comparative study on characteristics of gelatin from the skin of brown banded bamboo shark and blacktip shark as affected by extaction conditions.*Food Hydrocolloids*, 24,164-171.