



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 (۱۰٪/۰ نرمال)، غلظت اسید کلریدریک (۱۰٪/۰ نرمال) و زمان استخراج (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 مدل های رگرسیونی بدست آمده، مقادیر پیش‌بینی شده در شرایط بهینه شامل ۲۲٪/۲۲٪ درصد (بازده استخراج) و ۲۴٪/۲۴٪ (نقطه ذوب) بوده‌اند. شرایط اپتیمیم با استفاده از سود ۱۰٪/۰ نرمال، اسید کلریدریک ۱۳۵٪/۰ نرمال و مدت زمان استخراج ۳ ساعت بدست آمد. نتایج نشان داد که غلظت سود به شکل معنی‌داری بر بازده استخراج و نقطه ذوب ژلاتین حاصل، اثر داشت ($p \leq 0.05$)، ولی مدت زمان استخراج تأثیر معنی‌داری بر هیچ یک از دو ویژگی مورد بررسی نداشت.

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

مقدمه

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 چایگیری 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 می‌گیرد، بلکه شدت شرایط استخراج و فرآیندهای پیش‌تیمار 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 (Zhou et al.; Gómez-Guillén et al., 2001). یکی از مهمترین خواص فیزیکی ژلاتین که می‌تواند تحت تأثیر شرایط استخراج قرار گیرد، نقطه ذوب می‌باشد. نقطه ذوب

ژلاتین یک ترکیب غذایی پروتئینی خالص با وزن مولکولی بالا و خواص عملکردی با ارزش می‌باشد که از دناتوراسیون حرارتی کلاژن، Bailey et al., 1998 پروتئین عمده بافت پیوندی حیوانات، بدست می‌آید (Senchiu et al., 2006). ژلاتین یکی از پر مصرف‌ترین مواد پروتئینی کلوویدی در صنایع غذایی، دارویی، صنعتی، پزشکی و نظامی است (Wasswa et al., 2007). استفاده از ژلاتین در صنایع غذایی 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 (Gómez-Guillén et al., 2005).

گزارشات اخیر نشان می‌دهد که تولید جهانی سالانه ژلاتین حدود ۳۲۶۰۰۰ تن است که ژلاتین بدست 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

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فرآوری محصولات شیلاتی و دانشیار دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

۲- نویسنده مسئول: (Email rezai_ma@modares.ac.ir)

۳- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، 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 فرآوردهایی که در شرایط دمایی مختلف (دماهای یخچال، دمای محیط و...) نگه داشته می‌شوند، مؤثر است. تاکنون مطالعات متعددی در خصوص شرایط مختلط پیش فرآوری و استخراج ژلاتین از استخوان پولاک آلاسکا (Motamedzadegan et al., 2003)، غضروف کوسه (Cho et al., 2004)، غضروف کوسه (Zhou et al., 2005)، پوست سالمون آتلانتیک پولاک آلاسکا (Liu et al., 2007a)، پوست گربه ماهی کانالی (Arnesen et al., 2007a)، پوست قزل آلای رنگین کمان (Shahiri et al., 2007) و پوست کوسه بامبو (Tabarestani et al., 2010) و پوست کوسه بامبو (Kittiphattanabawon et al., 2010a) صورت پذیرفت.

امروزه کوشاهای 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 باقیماندهایی 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*) (Carcharhinidae) با نام انگلیسی whitecheek shark از خانواده Whitecheek به عنوان منبع خوبی از گرسیز و در خلیج فارس و دریای عمان و همچنین در دریاهای گرسیزی و معتدل 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 وجود 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 (۵۰-۱۰۰ سانتی‌متر) به صورت منجمد (-۲۰°C) از اداره دامپزشکی بندر کنارک در شهرستان چابهار به شرکت کیان ماهی خزر واقع در شهرستان بالسیر منتقل شده و پوست گیری 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 (۲-۳ cm²) و تا زمان استفاده در کیسه‌های پلی‌اتیلنی در فریزر (-۲۰°C) نگهداری گردیدند.

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:

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

$$C = \text{غلظت ژلاتین در محلول (mg/ml)}$$

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.

$$\begin{aligned} V &= \text{حجم محلول حاوی ژلاتین (ml)} \\ M &= \text{وزن نمونه پوست اولیه (mg)} \end{aligned}$$

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 ۱۲–۱۸ ساعت در دمای یخچال (۰°C) قرار داده شدند. سپس ۲ تا ۳ قطره محلول ۵/۰ درصد (V/W) متیل رد-کلروفرم 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 قطره کلروفرم به کف لوله آزمایش سقوط می‌نمود به عنوان نقطه ذوب ژلاتین ثبت گردید.

بهینه‌سازی سطح پاسخ (RSM)

طرح مرکب مرکزی (CCD^۱) به منظور بهینه‌سازی استخراج ژلاتین از پوست کوسه چانه سفید مورد استفاده قرار گرفت. CCD در طرح آزمایشی شامل ۳ نقطه فاکتوریل، شش نقطه محوری (a=1/682) و چهار تکرار در نقطه مرکزی می‌باشد (جدول ۱). غلظت سود (X₁, N) و مدت زمان (X₂) و مدت زمان استخراج (X₃, h) به عنوان متغیرهای مستقل انتخاب شدند. بازده استخراج (Y₁, °C) و نقطه ذوب (Y₂, °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^۲، با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) به منظور برازش معادله چندجمله ای زیر استفاده شد:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} X_i X_j$$

که در آن Y نشان‌دهنده متغیر تابع یا پاسخ (بازده استخراج و نقطه ذوب)، β_0 (عرض از مبدأ) عدد ثابت، β_i ، β_{ii} و β_{ij} ضرایب مدل رگرسیون کلی نیز برای هر دو متغیر وابسته معنی دار 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 ($\alpha=1/682$)

محدوده					متغیرهای مستقل	علامت	
$-\alpha$	-1	0	1	$+\alpha$			
۰/۰۱	۰/۲۱	۰/۵۰۵	۰/۸	۱	X ₁	غلظت سود (نرمالیته)	
۰/۰۱	۰/۲۱	۰/۵۰۵	۰/۸	۱	X ₂	غلظت اسید (نرمالیته)	
۳	۴/۰۱	۵/۵	۶/۹۹	۸	X ₃	زمان استخراج (ساعت)	

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

متغیرهای پاسخ		متغیرهای پاسخ		متغیرهای پاسخ		تیمار
Y ₂	Y ₁			قليا	N	
۲۶	۲۰/۲۷۱		۱	۱	۱	۱
۲۵/۲	۲۰/۴۶۲		-۱	۱	۱	۲
۲۸/۷	۲۱/۲۲۲		۱	-۱	۱	۳
۲۹/۸	۱۷/۵۸۹		-۱	-۱	۱	۴
۲۸/۴	۲۱/۳۳۱		۱	۱	-۱	۵
۲۸/۱	۲۱/۴۹۸		-۱	۱	-۱	۶
۲۸	۲۱/۸۷۳		۱	-۱	-۱	۷
۲۹/۴	۲۲/۶۳۴		-۱	-۱	-۱	۸
۲۷/۴	۲۲/۰۱۱	۱/۶۸۲	.	.	.	۹
۲۸/۳	۲۰/۵۹۷	-۱/۶۸۲	.	.	.	۱۰
۲۷/۲	۲۱/۲۵۵	.	۱/۶۸۲	.	.	۱۱
۳۴/۸	۱۵/۱۰۴	.	-۱/۶۸۲	.	.	۱۲
۲۵/۲	۲۱/۱۰۲	.	.	۱/۶۸۲	.	۱۳
۳۰/۷	۲۵/۶۵۶	.	.	-۱/۶۸۲	.	۱۴
۲۶/۱	۲۰/۷۶۵	۱۵
۲۸	۲۱/۲۷۹	۱۶
۲۷/۹	۲۱/۵۳۶	۱۷
۲۷/۷	۲۲/۱۰۷	۱۸

(غلظت سود، N)، X₂ (غلظت اسید، N)، X₃ (زمان استخراج، h) و Y₁ (بازده استخراج، %)، Y₂ (نقطه ذوب، °C)

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، کفايت 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 ترتیب، غلظت سود و غلظت اسید دو فاکتور مهم تأثیرگذار بر بازده استخراج ژلاتین از پوست کوسه چانه سفید بودند ($p \leq 0.05$). در مقابل متغیر زمان استخراج تأثیر معنی‌داری بر بازده نداشت. کانتور دو بعدی اثرات غلظت قليا و اسید بر بازده استخراج (شکل ۱) نشان می‌دهد که بازده

شرایط پاسخ بهینه

بر اساس مطالعات اولیه سه فاکتور غلظت قليا (X₁), غلظت اسید (X₂) و مدت زمان استخراج (X₃), به عنوان متغیرهای بحرانی که تأثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های متفاوت ژلاتین دارند، انتخاب شدند. شرایط بهینه با استفاده از نرم‌افزار آماری MINITAB (نسله ۱۴) محاسبه شد. مقادیر پیش‌بینی شده در شرایط بهینه شامل ۲۲/۲۲۲ درصد (بازده استخراج) و ۳۲/۲۲۴ °C (نقطه ذوب) بودند. شرایط اپتیمیم با استفاده از سود ۰/۰۱ نرمال، اسید کلریدریک ۰/۱۳۵ نرمال و مدت زمان ۳ ساعت به دست آمد.

نیایند. مقدار بازده استخراج در این پژوهش در نقطه بهینه ۲۳/۲۲۲ درصد برآورد شده است که بیشتر از مقادیر ۷/۸۱ - ۵/۳۹ - ۱۶. ۱۲/۵ و ۱۰/۱ و ۱۱/۳ و پوست تیلایپا (Jamilah *et al.*, 2002) پوست سوف نیل (Muyonga *et al.*, 2004) درصد برای Arnesen *et al.*, 2007 درصد به ترتیب برای پوست سالمون و پوست کاد (al., 2007) می‌باشد.

نقطه ذوب

مدل رگرسیون چندگانه برای پیش‌بینی 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.

استخراج با افزایش غلظت اسید کلریدریک از ۰/۰۵٪ تا ۵/۰٪ نرمال، افزایش بازده استخراج پروتئین در غلظت‌های میانی اسید در محدوده نقطه مرکزی (۵/۰٪ نرمال) می‌تواند به دلیل تأثیر متقابل مثبت غلظت قلیاً 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 ۵/۰٪ 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) می‌باشد. این محققین بیان نموده‌اند در صورت پیش‌تیمار پوست ماهی تن زرد باله با غلظت‌های مختلف قلیایی بالاتر از ۲ درصد، میزان بازده استخراج ژلاتین کاهش خواهد یافت. این کاهش می‌تواند احتمالاً به دلیل افزایش اتلاف کلاژن و پیتیدهای کوچک در آب شستشو ناشی از افزایش غلظت اسید و قلیاً باشد. همچنین می‌تواند به دلیل دناتوره شدن اجزاء کلاژنی باشد، به نحوی که در شرایط استخراج به صورت محلول در

جدول ۳- ضرایب معادله چند جمله‌ای برآورد شده برای پاسخ‌ها

Y_2	Y_1	پارامتر
۲۷/۴۸°	۲۱/۴۲°	عرض از مبدأ
-۰/۹۸°	-۱/۱۶°	X_1
-۱/۵۴°	.۰/۸۰ NS	X_2
-۰/۲۱ NS	.۰/۳۸ NS	X_3
-۰/.۰۵ NS	.۰/۶۹ NS	X_{11}
-۰/.۸۰ NS	.۰/۴ NS	X_{21}
.۱/۰۳°	-۱/۱۵°	X_{22}
.۱/۱۰ NS	.۰/۴۹ NS	X_{31}
.۰/۴۵ NS	-۰/۰۳۵ NS	X_{32}
-۰/.۰۸ NS	-۰/۰۴ NS	X_{33}
.۰/۰۳۲۷	.۰/۰۳۶۲	R^2

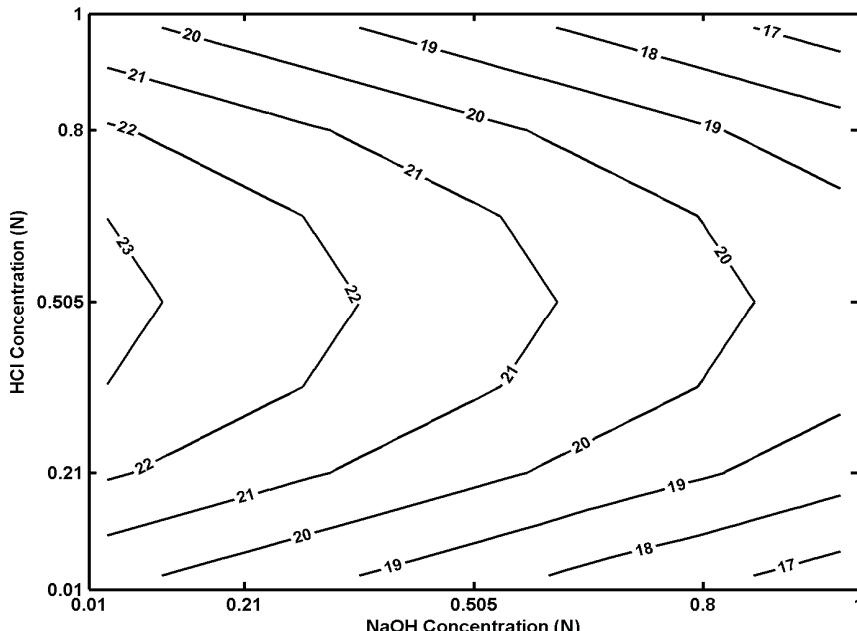
X_1 (غلظت سود، N)، X_2 (زمان استخراج، h) و Y_1 (بازده استخراج، %)، Y_2 (نقطه ذوب، °C)

* معنی‌دار ($p \leq 0/05$) و NS فاقد معنی ($p > 0/05$)

جدول ۴- آنالیز واریانس (ANOVA) مدل سطح پاسخ

منابع	رگرسیون	سداده	درجه دوم	متقابل	عدم برآش	خطای خالص	۳	۵	۳	۳	۳	۹	درجه آزادی
													SS
													PV Y_1
													SS
													PV Y_2

(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*)

فاکتور مطلوب در هنگام بهینه‌سازی، در نظر گرفته شده است.

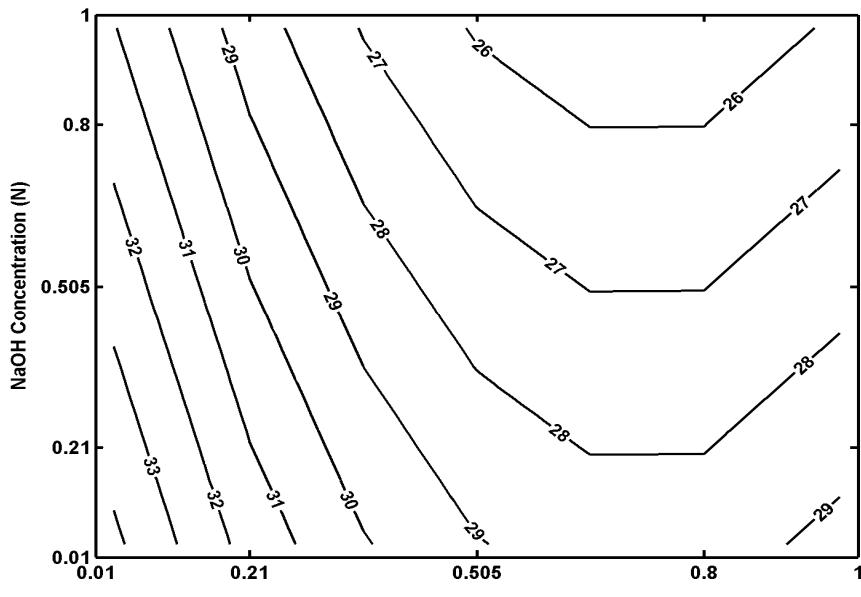
نتیجه‌گیری

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 بالای داشت. با توجه به نتایج بدست آمده در این پژوهش پوست کوسه چانه سفید می‌تواند به طور مطلوبی برای تولید ژلاتین مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

نویسنده‌گان 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 پژوهه تشکر و قدردانی نمایند.

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 چانه سفید یافت. نقطه ذوب ژلاتین پوست کوسه چانه سفید در نقطه بهینه $^{\circ}\text{C}$ ۳۲/۲۲۴ برآورد شده است که بیشتر از مقادیر گزارش شده برای پوست قزل‌آلای رنگین کمان (23°C) (Shahiri Tabarestani et al., 2010) و پوست کاد ($8\text{--}10^{\circ}\text{C}$) (Gudmundsson et al., 1997) هیک (14°C), مگریم ($18/8^{\circ}\text{C}$) (Gómez et al., 1997) و کپور علف‌خوار (Guillén et al., 2002) Ladislaus et al. (2002) می‌باشد. نقطه ذوب ژلاتین استخراج شده از پوست گاو و خوک نیز به ترتیب $23/8$ و $25/6$ می‌باشد (Choi et al., 2007) که پایین تر از نقطه ذوب ژلاتین در این تحقیق می‌باشد. نقطه ذوب بالای ژلاتین در این تحقیق می‌تواند مرتبط با مقدار ایمنی‌سیدهای 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 به ویژه در فرآورده‌های غذایی را افزایش می‌دهد بنابراین در تحقیق حاضر، نقطه ذوب بالا به عنوان



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.
- Ladislau, M. K., Yan, X., Yao, W., Sun, D.H. and Qian, H., 2007, Optimization of gelatine extraction from grass carp (*Ctenopharyngodon 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 punctatus*). *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*). *Bioresource Technology*, 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.