Archive of SID

بهبود خواص ژلاتین پوست کاریچون ماهی (*Saurida tumbil*) با استفاده از سولفات منیزیم، صمغ کتیرا، گلیسرول، ساکاروز و نیترات آمونیوم در pH های مختلف

شبنم بهنام[1]، علی طاهری[2*]، حسن کاکوئی[3]

1- دانش آموخته کارشناسی ارشد شیلات, دانشکده علوم دریایی نور, دانشگاه تربیت مدرس
2- عضو هیئت علمی گروه شیلات, دانشکده علوم دریایی, دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار
3- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی, دانشگاه شهید بهشتی

(تاریخ دریافت: 87/6/24 تاریخ پذیرش:87/9/17)

چکیده

امروزه ژلاتین حاصل از پوست ماهی به عنوان گزینه ای مناسب برای جایگزینی ژلاتین پوست پستانداران مطرح است. اما ژلاتین ماهی دمای تشکیل ژل و ذوب پایینی دارد که کاربرد صنعتی آنرا محدود می سازد. در این تحقیق بهینه سازی برخی از خواص کاربردی ژلاتین پوست کاریچون ماهی (نقطه ذوب, دمای شروع تشکیل ژل و میزان قدرت ژلی) با افزودن سولفات منیزیم 1 /0 و 0/5 مولار, گلیسرول 15%, نیترات آمونیوم 5 %, صمغ کتیرا 0/5% و1/2 % و ساکاروز 5% و محلول ژلاتین بدون افزودنی به عنوان شاهد, در سه pH (4 , 5 و 6 با سه تکرار) مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصله تاثیر انفرادی و متقابل مواد و pH در نقطه ذوب ژلاتین نشان از اختلاف معنی دار ($p<0/05$) در تیمارهای مختلف داشت. این اختلافات در مورد میزان قدرت ژلی نیز دیده شد اما در مورد دمای شروع تشکیل ژل بین غلظت های مختلف کتیرا و ساکاروز و همچنین غلظت های مختلف سولفات منیزیم و نیترات آمونیوم اختلافات معنی دار نبود. تمامی تیمارها اختلاف معنی داری را نسبت به شاهد نشان دادند. در تمامی تیمار ها میزان pH 6 > 5> 4 در متغیر ها تاثیر داشت که به دلیل نزدیکی pH محلول ژلاتین به pH ایزوالکتریک می باشد. بر اساس نتایج، استفاده از گلیسرول, کتیرای 0/5% و ساکاروز بیشترین تاثیر را در بهبود خواص کاربردی ژلاتین پوست کاریچون ماهی داشت و استفاده از کتیرا به دلیل طبیعی بودن و استفاده حداقل توجیه بیشتری داشت. این امر به دلیل ایجاد پیوند های هیدروژنی است و این مواد در مجاورت ژلاتین به گونه ای در آب عمل می کنند که در زمان انحلال مجزای قند یا ژلاتین در آب چنین ساختاری دیده نمی شود و باعث افزایش پایداری ساختار ژلاتین در محیط آبی می شوند. نتایج حاصل از این تحقیق در اداره ثبت اختراع ایران به شماره48947 به عنوان نوآوری به ثبت رسیده است.

کلید واژگان: ژلاتین, بهینه سازی, کاریچون ماهی, کتیرا, قدرت ژلی

1- مقدمه

ژلاتین پلی پپتیدی است که از هیدرولیز گرمایی کلاژن بدست می آید و کاربردهای فراوانی در صنایع غذایی, عکاسی, صنایع نظامی و ... دارد. منابع اصلی تولید ژلاتین، پوست خوک و گاو می باشد. اما به دلیل بیماری قارچی گاوی (BSE) و حرام بودن خوک در کشورهای مسلمان امروزه تحقیق جهت یافتن منبعی جایگزین برای تولید ژلاتین مورد توجه قرار گرفته است. بر اساس مطالعات ژلاتین حاصل از پوست ماهی می تواند گزینه ای مناسب برای جایگزینی پوست پستانداران در تولید ژلاتین باشد. اگر چه امروزه ژلاتین حاصل از بعضی ماهیان به صورت تجاری موجود می باشد اما کاربرد آن به

*مسئول مکاتبات: taherienator@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

خوبی گسترش نیافته است. در سالهای اخیر مطالعات متعددی بر روی ژلاتین حاصل از انواع ماهیان تجاری انجام پذیرفته است [7-1]. مشخص گردیده که خصوصیات رفتاری ژل حاصله بر اساس روند استخراج و محتوای اسیدهای آمینه, از گونه ای به گونه دیگر متفاوت است. عمده ترین تفاوت در ژلاتین پستانداران و ماهی این است که ژلاتین ماهی دمای تشکیل ژل و ذوب ژل پایین اما ویسکوزیته بالایی دارد [8]. یک استفاده صنعتی از این نوع ژلاتین در مواردی است که نیاز به ویسکوزیته بالا بدون نیاز به تشکیل ژل می باشد. اما برای بسیاری کاربردها خصوصیات رئولوژیکی متفاوتی لازم است.

با استفاده از مواد تغییر دهنده خصوصیت ژل می توان خواص ژلی یک نوع ژلاتین را بهبود بخشید. این مواد می توانند پیوند های عرضی در بین زنجیره های پپتیدی ژلاتین را افزایش دهند و باعث استحکام و پایداری ساختمان ژل گردند. از جمله این مواد می توان به برخی نمک ها , گلیسرول, صمغ ها و آنزیم ها اشاره نمود.

الکترولیت ها بر خصوصیات بیوفیزیک یک پروتئین مانند آبگیری, حلالیت, تشکیل ژل, ویسکوزیته و ظرفیت نگه داری آب تاثیر می گذارند و رفتار پروتئین وابسته به قدرت یونی و pH می باشد. pH روی عملکرد الکترولیت تاثیر می گذارد. همچنین ژلاتین در pH ایزوالکتریک خود ژل قویتر و مستحکم تری را ایجاد می کند. تاثیر نمکهای مختلف روی استحکام و نقطه ذوب ژلاتین جانداران خونگرم به خوبی بررسی شده است [9]. علاوه بر الکترولیت ها , غیر الکترولیتها مثل قند و گلیسرول نیز می توانند قدرت ژل ژلاتین را افزایش دهند. در این میان آنزیم ترانسگلوتامیناز نیز توانایی این تغییر را دارد. اما مطالعه تاثیر این مواد بر روی ژلاتین ماهی محدود است و بررسی استفاده از مواد طبیعی مانند صمغ ها در بهبود خواص کاربردی ژلاتین تا کنون بررسی نشده است. صمغ ها کلوئیدهای هیدروفیل یا آبدوستی هستند که در اغلب مواد غذایی و در بسیاری از فرآیندها به دلیل قابلیت آنها در تغلیظ کردن و یا به عنوان ژل به کار می روند. در میان صمغ ها صمغ تراوشی کتیرا نقش مهمی را در مواد غذایی دارا می باشد [10]. کتیرا از جمله مهمترین صمغ ها به شمار می‌آید و دارای کاربردهای دارویی، صنعتی و غذایی فراوانی می‌باشد. گونه‌های مولد کتیرا که همگی به سرده گون متعلق هستند، در کشور ایران به صورت خودرو یافت می‌شوند [11].

اما تولید ژلاتین از ماهیانی توجیه پذیر است که ضایعات قابل توجهی از فرآوری آن ها باقی ماند. کاریچون ماهی از ماهیان تجاری ایران می باشد که در کارخانه های بسته بندی و تولید فیله ماهی به کار می رود. به دلیل وجود ضایعات قابل توجه این گونه ماهی پس از عمل فیله کنی, تولید ژلاتین از پوست این گونه ماهی مورد توجه است. اما همچون ژلاتین های استحصالی دیگر از ماهیان این ژلاتین نیز نسبت به ژلاتین پستانداران از خواص کاربردی ضعیف تری برخوردار است. هدف از این تحقیق بهبود رفتار رئولوژیکی ژلاتین پوست کاریچون ماهی در حضور موادی مانند نمک , گلیسرول, ساکاروز و صمغ کتیرا بود.

2- مواد و روش ها

2- 1- مواد خام

پوست کاریچون ماهی از کارخانه صنایع غذایی مارین در قزوین تهیه و تا زمان مصرف در 20- درجه سانتی گراد نگهداری شد. متوسط طول ماهیان مورد استفاده 40 تا 50 سانتی متر بود.

2- 2- استخراج ژلاتین

جهت استخراج ژلاتین پوست منجمد پس از یک شب یخ زدایی در یخچال 4 درجه سانتی گراد فلس زدایی و با آب جاری شستشو شد. پوست حاصله در محلول سود 0/2% به مدت 40 دقیقه, اسید سولفوریک 0/2% به مدت 40 دقیقه و محلول 1% اسید سیتریک به مدت 40 دقیقه مغروق گشت. بعد از هر بار مغروق سازی پوستها با آب جاری شسته شد تا زمانی که pH به 7 برسد. هر مغروق سازی و شستشو 3 بار تکرار گردید که برای هر کدام مجموعاً 2 ساعت به طول انجامید. نسبت پوست به محلول شستشو 1 (بر اساس وزن تر) به 7 بود. در انتها پوستها با آب مقطر شستشو شد تا مواد باقی مانده برطرف شود. استخراج نهایی توسط هیدرولیز در آب مقطر و دمای کنترل شده بین 40 تا 50 درجه سانتی گراد برای 12 ساعت انجام شد. نسبت پوست به آب مقطر 1 به 3 بود. محلول حاصله در یک خشک کن حرارتی تغلیظ و فریز درای شد [12 و13].

2- 3- تیمارها

برای تهیه تیمارها ابتدا محلول ژلاتین با حل کردن پودر ژلاتین در آب مقطر تهیه و سپس محلول 0/1 و0/5 مولار سولفات منیزیم, 15% گلیسرول, 5% نیترات آمونیوم, 0/5% و1/2 % کتیرا و 5% ساکاروز در سه pH 4, 5 و 6 با سه تکرار آماده شد. محلول ژلاتین بدون افزودن هیچ ماده ای به

www.SID.ir

Archive of SID

عنوان شاهد به کار رفت و آنالیز های بعدی روی این محلول ها انجام شد.

2-4- تعیین دمای شروع تشکیل ژل

دمای شروع تشکیل ژل بدین صورت تعیین شد که محلول 10% ژلاتین در یک لوله آزمایش با دیواره نازک (12 میلی متر × 75 میلی متر) تهیه گردید. جهت تهیه محلول, 10 گرم پودر ژلاتین در 100 میلی لیتر آب مقطر ریخته و پس از هم زدن به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق ثابت نگه داشته شد تا ژلاتین آب جذب کند. محلول سپس به حمام آبی 42 درجه سانتی گراد منتقل گردید و 30 دقیقه آرام به هم زده شد. نمونه مجدد به حمام آبی 40 درجه منتقل گردید و با افزودن آب سرد 2 درجه سانتی گراد به حمام در فواصل 15 ثانیه ای سرد شد. یک دما سنج حساس درون نمونه گذارده و در فواصل 15 ثانیه ای بیرون کشیده شد. دمایی که در آن محلول ژلاتین از نوک دماسنج نمی چکید به عنوان دمای شروع تشکیل ژل ثبت گردید [14].

2- 5- تعیین نقطه ذوب ژلاتین

محلول 6/67 % ژلاتین به شیوه توضیحی برای تعیین دمای شروع تشکیل ژل تهیه و در لوله های آزمایش درب دار (12 میلی متر × 75 میلی متر) ریخته شد؛ به صورتی که لوله تا نزدیک انتها پر گردید و یک فضای اندک در انتهای لوله خالی باقی ماند. درب لوله ها بسته و برای 16 تا 18 ساعت در دمای 7 درجه سانتی گراد نگه داری شد. سپس به یک حمام آبی 10 درجه سانتی گراد منتقل شد و به صورت وارونه قرار گرفت تا محفظه خالی در سمت کف حمام قرار گیرد. حمام با فواصل یک دقیقه ای به میزان 1 درجه در هر دقیقه با اضافه کردن آب 45 درجه سانتی گراد گرم شد. دمایی که در آن ژل ذوب گردیدد به صورتی که حباب هوای کف لوله آزمایش شروع به بالا آمدن کرد به عنوان دمای ذوب ژلاتین ثبت شد [14].

2- 6- تعیین قدرت ژلی

محلول 6/67% ژلاتین برای 16 تا 18 ساعت در دمای 8-7 درجه سانتی گراد در یخچال نگهداری شد و سپس قدرت ژلی آن تعیین گردید. از یک دستگاه آنالیز بافت TA-XT2 (Stable Microsystems, Surrey, UK) با یک لود سل 500 کیلو نیوتونی و نفوذ 0/5 میلی متر بر ثانیه و یک فرورونده استوانه ای سر تخت 1/27 سانتی متری استفاده شد. حداکثر نیرو وقتی که پلانگر 4 میلی متر درون ژلاتین فرو رفت بر حسب g تعیین گردید [13].

2- 7- آنالیز آماری داده ها

جهت آنالیز آماری از نرم افزار SPSS استفاده گردید. بررسی نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنف انجام شد. جهت بررسی داده ها از آنالیز واریانس با رویه GLM و جهت مقایسه میانگین ها به دلیل حضور یک تیمار شاهد از آزمون LSD استفاده شد.

3- نتایج

الف: بررسی تاثیر انفرادی و متقابل مواد و pH در نقطه ذوب ژلاتین پوست کاریچون ماهی

جدول 1 نتایج آنالیز واریانس داده های حاصل از نقطه ذوب ژلاتین با افزودنی های مختلف را نشان می دهد.

جدول 1 آنالیز واریانس براساس نقطه ذوب انواع ترکیبات ژلاتین

	df	Ms	F	sig
مواد	7	39/83	2052/291	0/000
pH	2	4/92	253/74	0/000
مواد × pH	14	0/19	9/83	0/000
خطا	48	0/019		

همانطور که از جدول 1 مشاهده می شود اختلاف بین مواد, pH و تاثیر متقابل مواد و pH معنی دار است.

جدول شماره 2 مقایسه تاثیر مواد مختلف بر روی نقطه ذوب ژلاتین پوست کاریچون ماهی را نشان می دهد. اختلاف موجود بین مواد مختلف در تمامی تیمارها معنی دار ($p< 0/05$) می باشد و فقط استفاده از نیترات آمونیوم نسبت به شاهد اختلاف معنی داری را نشان نمی دهد. بر اساس جدول 2 بالاترین نقطه ذوب به ترتیب با اضافه کردن گلیسرول > ساکاروز> کتیرا 0/5% > کتیرا 1/2 % بدست آمد و کمترین میزان مربوط به شاهد و نیترات آمونیوم بود. سولفات منیزیم نیز در هر دو مقدار افزایش معنی داری را نسبت به شاهد و نیترات آمونیوم نشان داد و در میزان 0/5 مولار نسبت به 0/1 مولار افزایش معنی داری را در میزان نطقه ذوب نشان داد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول 2 مقایسه دوتایی تاثیر مواد مختلف بر روی نقطه ذوب با استفاده از آزمون LSD

مواد	سولفات منیزیم 0/1مولار	سولفات منیزیم 0/5مولار	گلیسرول	ساکاروز	نیترات آمونیوم	کتیرا 0/5%	کتیرا 1/2%	شاهد
سولفات منیزیم 0/1مولار	------	-1/03 *	-3/91 *	-3/35 *	1/36 *	-2/7 *	-2/51 *	1/48 *
سولفات منیزیم 0/5مولار	1/03 *	---------	-2/87 *	-2/32 *	2/39 *	-1/66 *	-1/47 *	2/51 *
گلیسرول	3/91 *	2/87 *	------ ---	0/55 *	5/27 *	1/21 *	1/4 *	5/39 *
ساکاروز	3/35 *	2/32 *	-0/55 *	----- -----	4/71 *	0/65 *	0/84 *	4/83 *
نیترات آمونیوم	-1/36 *	-2/39 *	-5/27 *	-4/71 *	----------	-4/06 *	-3/87 *	0/12
کتیرا 0/5%	2/7 *	1/66 *	-1/21 *	-0/65 *	4/05 *	--------- --	0/19 *	4/18 *
کتیرا 1/2%	2/51 *	1/47 *	-1/4 *	-0/84 *	3/87 *	-0/19 *	------- --	3/99 *
شاهد	-1/48 *	-2/51 *	-5/39 *	-4/83 *	-0/12	-4/18 *	-3/99 *	-------- --

* = معنی داری در سطح 0/05 , Std.E. = 0/07

جدول 4 مقایسه تاثیر pH و مواد بر روی نقطه ذوب ژلاتین پوست کاریچون ماهی

مواد / pH	سولفات منیزیم 0/1مولار	سولفات منیزیم 0/5مولار	گلیسرول	ساکاروز	نیترات آمونیوم	کتیرا 0/5%	کتیرا 1/2%	شاهد	جمع
4	17/42	18/88	21/57	21	16/6	20/6	20/4	/63 16	153/1
5	18/42	19/13	22/67	/83 21	16/87	21	20/9	16/8	/62 157
6	19/02	19/97	22/37	22/1	17/33	/37 21	21/1	17	/26 160
جمع	54/86	57/98	66/61	/93 64	50/8	/97 62	62/4	/43 50	---- -

www.SID.ir

Archive of SID

جدول 3 نشان دهنده تاثیر مقادیر مختلف pH را بر روی نقطه ذوب ژلاتین پوست کاریچون ماهی می باشد. بر اساس جدول تمامی مقادیر اختلاف معنی داری را نشان می دهد ($p<0/05$) و بالاترین نقطه ذوب به ترتیب در pH های 6> 5 > 4 بدست آمد.

جدول 3 مقایسه دوتایی تاثیر pH بر روی نقطه ذوب با استفاده از آزمون LSD

pH	4	5	6
4	--------	-0/56*	-0/89*
	--		
5	0/56*	---------	-0/33*
		--	
6	0/89*	0/33*	--------
			--

* = معنی داری در سطح 0/05 , Std.E. = 0/03

جدول 4 مقایسه دوتایی تاثیر مواد افزودنی مختلف و pH های متفاوت را بر روی نقطه ذوب ژلاتین پوست کاریچون ماهی نشان می دهد. آن چنان که از جدول بر می آید گلیسرول در pH 5 بهترین تیمار با بالاترین نقطه ذوب بوده است اما در مجموع روند آزمایش تیمارهای متفاوت pH 6 بهترین تیمار بوده اند. بر اساس این جدول گلیسرول> ساکاروز> کتیرا 0/5 % > کتیرا 1/2% بر روی افزایش نقطه ذوب ژلاتین موثر بوده است.

ب: بررسی تاثیر انفرادی و متقابل مواد و pH در دمای شروع تشکیل ژل ژلاتین پوست کاریچون ماهی

جدول 5 نتایج آنالیز واریانس داده های حاصل از دمای شروع تشکیل ژل با افزودنی های مختلف را نشان می دهد. همانطور که از جدول 5 مشاهده می شود اختلاف بین مواد, pH و تاثیر متقابل مواد و pH معنی دار است.

جدول 5 آنالیز واریانس براساس دمای شروع تشکیل ژل انواع ترکیبات ژلاتین

	df	Ms	F	sig
مواد	7	14/866	965/691	0/000
pH	2	3/398	220/741	0/000
مواد * pH	14	0/41	26/619	0/000
خطا	48	0/015		

جدول شماره 6 مقایسه تاثیر مواد مختلف بر روی دمای شروع تشکیل ژل ژلاتین پوست کاریچون ماهی را نشان می دهد. اختلاف موجود بین مواد مختلف در تمامی تیمارها معنی دار ($p< 0/05$) می باشد و فقط استفاده از نیترات آمونیوم نسبت به سولفات منیزیم 0/1 و 0/5 مولار و ساکاروز نسبت به کتیرا 0/5% و 1/2% اختلاف معنی داری نشان نمی دهد. بر اساس جدول 6 بالاترین دمای تشکیل ژل به ترتیب با اضافه کردن گلیسرول > کتیرا 0/5% و کتیرا 1/2 % > ساکاروز بدست آمد و کمترین میزان مربوط به شاهد و نیترات آمونیوم و سولفات منیزیم بود.

جدول 7 تاثیر مقادیر مختلف pH را بر روی دمای شروع تشکیل ژل ژلاتین پوست کاریچون ماهی نشان می دهد. بر اساس جدول تمامی مقادیر اختلاف معنی داری را نشان می دهد ($p< 0/05$) و بالاترین دمای شروع تشکیل ژل به ترتیب در pH های 6> 5 > 4 بدست آمد.

جدول 7 مقایسه دوتایی تاثیر مواد مختلف بر روی دمای شروع تشکیل ژل بر اساس آزمون LSD

pH	4	5	6
4	--------	-0/52*	-0/73*
	--		
5	0/52*	---------	-0/21*
		--	
6	0/73*	0/21*	--------
			--

* = معنی داری در سطح 0/05 , Std.E. = 0/04

جدول 8 مقایسه دوتایی تاثیر مواد افزودنی مختلف و pH های متفاوت را روی نقطه ذوب ژلاتین پوست کاریچون ماهی نشان می دهد. آن چنان که از جدول بر می آید کتیرای 1/2%

www.SID.ir

Archive of SID

در pH 6 بهترین تیمار با بالاترین نقطه ذوب بوده است اما در مجموع روند تیمارهای متفاوت pH 6 بهترین تیمار بوده است. بر اساس این جدول کتیرا 1/2 % > کتیرا 0/5 % > گلیسرول > ساکاروز بر روی افزایش نقطه شروع تشکیل ژل ژلاتین موثر بوده است.

جدول 6 مقایسه دوتایی تاثیر مواد مختلف بر روی دمای شروع تشکیل ژل بر اساس آزمون LSD

شاهد	کتیرا 1/2%	کتیرا 0/5%	نیترات آمونیوم	ساکاروز	گلیسرول	سولفات منیزیم 0/5مولار	سولفات منیزیم 0/1مولار	مواد
1/09 *	-2 *	-1/94 *	0/93	-1/88 *	-2/13 *	-0/14 *	------	سولفات منیزیم 0/1مولار
0/95 *	-2/13 *	-2/08 *	-0/44	-2/02 *	-2/27 *	-------	-0/14 *	سولفات منیزیم 0/5مولار
3/22 *	0/13 *	0/19 *	2/22 *	0/25 *	-------	2/27 *	2/13 *	گلیسرول
2/97 *	0/11	-/06	1/97 *	-------	-0/25 *	2/02 *	1/88 *	ساکاروز
1 *	-2/09 *	-2/03 *	--------	-1/97 *	-2/22 *	0/44	-0/93	نیترات آمونیوم
3/03 *	-0/05	--------	2/03 *	0/06	-0/19 *	2/08 *	1/94 *	کتیرا 0/5%
3/09 *	-------	0/05	2/09 *	0/11	-0/13 *	2/13 *	2 *	کتیرا 1/2%
-------	-3/09 *	-3/03 *	-1 *	-2/97 *	-3/22 *	-0/95 *	-1/09 *	شاهد

* = معنی داری در سطح 0/05 , Std.E. = 0/06

ج: بررسی تاثیر انفرادی و متقابل مواد و pH در درجه بلوم ژلاتین پوست کاریچون ماهی

جدول 9 نتایج آنالیز واریانس داده های حاصل از دمای شروع تشکیل ژل با افزودنی های مختلف را نشان می دهد. همانطور که از جدول 9 مشاهده می شود اختلاف بین مواد, pH و تاثیر متقابل مواد و pH معنی دار است.

جدول 9 آنالیز واریانس براساس درجه بلوم انواع ترکیبات ژلاتین

	df	Ms	F	sig
مواد	7	16919/09	583/988	0/000
pH	2	215/545	7/44	0/002
مواد * PH	14	63/906	2/206	0/022
خطا	48	28/972		

جدول شماره 10 مقایسه تاثیر مواد مختلف بر روی درجه بلوم ژلاتین پوست مارمولک ماهی را نشان می دهد. اختلاف موجود بین مواد مختلف در تمامی تیمارها معنی دار ($p< 0/05$) می باشد و فقط استفاده از نیترات آمونیوم نسبت به شاهد و کتیرا 0/5% نسبت به کتیرا 1/2% اختلاف معنی داری را نشان نمی دهد. بر اساس جدول 10 بالاترین درجه بلوم به ترتیب با اضافه کردن کتیرا 0/5% و کتیرا 1/2 % > گلیسرول > ساکاروز بدست آمد و کمترین میزان مربوط به شاهد و نیترات آمونیوم و سولفات منیزیم بود.

جدول 11 تاثیر مقادیر مختلف pH را بر روی درجه بلوم ژلاتین پوست کاریچون ماهی نشان می دهد. بر اساس جدول تمامی مقادیر اختلاف معنی داری را نشان می دهد ($p<0/05$) ولی بین pH 5 و 6 اختلاف معنی داری مشاهده نشد اما pH 6 بهتر از pH 5 بود. بالاترین دمای شروع تشکیل ژل به ترتیب در pH های 6> 5 > 4 بدست آمد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول 8 مقایسه تاثیر pH و مواد بر روی دمای شروع تشکیل ژل ژلاتین پوست کاریچون ماهی

مواد / pH	سولفات منیزیم 0/1مولار	سولفات منیزیم 0/5مولار	گلیسرول	ساکاروز	نیترات آمونیوم	کتیرا 0/5%	کتیرا 1/2%	شاهد	جمع
4	15/06	14/76	17/13	17/03	14/9	16/16	16/97	13/97	125/98
5	15/4	15/13	17/52	17/52	15/3	17/47	17/07	14/27	129/68
6	15/55	15/7	17/1	17/1	15/53	18/2	17/97	14/5	131/65
جمع	46/01	45/59	51/75	51/65	45/73	51/83	52/01	42/74	-----

جدول 10 مقایسه دوتایی تاثیر مواد مختلف بر روی درجه بلوم ژل بر اساس آزمون LSD

مواد	سولفات منیزیم 0/1مولار	سولفات منیزیم 0/5مولار	گلیسرول	ساکاروز	نیترات آمونیوم	کتیرا 0/5%	کتیرا 1/2%	شاهد
سولفات منیزیم 0/1مولار	------	-17/66 *	-49/36 *	-31/15 *	37/31 *	-69/72 *	-70/62 *	-38/72 *
سولفات منیزیم 0/5مولار	17/66 *	---------	-31/7 *	-13/5 *	54/97 *	-52/07 *	-25/97 *	56/38 *
گلیسرول	49/36 *	31/7 *	---------	18/21 *	86/67 *	-20/36 *	-21/26 *	88/08 *
ساکاروز	31/15 *	13/5 *	-18/21 *	---------	68/46 *	-38/58 *	-39/48 *	69/88 *
نیترات آمونیوم	-37/31 *	-54/97 *	-86/67 *	-68/46 *	----------	-107/03 *	-107/93 *	1/41
کتیرا 0/5%	69/72 *	52/07 *	20/36 *	38/58 *	107/35 *	----------	-0/9	109/35 *
کتیرا 1/2%	70/62 *	52/97 *	21/26 *	39/48 *	107/93 *	0/9	---------	109/34 *
شاهد	-38/72 *	-56/38 *	-88/08 *	-69/87 *	-1/41	-108/45 *	-109/35 *	---------

* = معنی داری در سطح 0/05 , Std.E. = 2/54

جدول 12 مقایسه تاثیر pH و مواد بر روی درجه بلوم ژلاتین پوست کاریچون ماهی

مواد / pH	سولفات منیزیم 0/1مولار	سولفات منیزیم 0/5مولار	گلیسرول	ساکاروز	نیترات آمونیوم	کتیرا 0/5%	کتیرا 1/2%	شاهد	جمع
4	199	216/87	247/13	224/17	164/5	267/4	261/83	158/85	1740/75
5	199/66	219/73	254/84	234/34	163/37	263/67	277/63	160/77	1774/01
6	202/87	217/9	247/63	236/47	161/73	279/64	273/93	165/75	2065/56
جمع	601/53	654/5	749/6	694/98	489/6	810/71	813/39	485/37	-----

www.SID.ir

Archive of SID

جدول11 مقایسه دوتایی تاثیر pH بر روی درجه بلوم ژل بر اساس آزمون LSD

pH	4	5	6
4	----------	-4/28*	-5/77*
5	4/28*	----------	-1/49
6	5/77*	1/49	----------

* = معنی داری در سطح 0/05 , Std.E. = 1/1

جدول 12 مقایسه دوتایی تاثیر مواد افزودنی مختلف و pH های متفاوت را بر روی درجه بلوم ژلاتین پوست کاریچون ماهی نشان می دهد. آن چنان که از جدول بر می آید کتیرای 1/2% در pH 6 بهترین تیمار با بالاترین نقطه ذوب بوده است اما در مجموع روند تیمارهای متفاوت pH 6 بهترین تیمار بوده است. بر اساس این جدول کتیرا 1/2 % > کتیرا 0/5 % > گلیسرول > ساکاروز بر روی افزایش نقطه شروع تشکیل ژل ژلاتین موثر بوده است.

از بررسی جداول فوق به طور خلاصه نتایج زیر استنتاج می گردد:

تاثیر مواد بر روی نقطه ذوب به شکل زیر بوده است:

گلیسرول> ساکاروز>کتیرا 0/5%> کتیرا 1/2%> سولفات منیزیم 0/5 مولار> سولفات منیزیم 0/1 مولار> نیترات آمونیوم و شاهد

تاثیر pH نیز به ترتیب 6>5>4 بوده است. در بررسی تاثیر متقابل مواد و pH نیز روند فوق تغییری نکرد. در بررسی تاثیر مواد مختلف در دمای شروع تشکیل ژل نتایج به صورت ذیل بود:

گلیسرول> کتیرا 1/2%, کتیرا 0/5% و ساکاروز > سولفات منیزیم 1/ مولار 0 , سولفات منیزیم 0/5 مولار و نیترات آمونیوم > شاهد

در بررسی روند تاثیر pH نیز به ترتیب 6>5>4 بود. اما در بررسی تاثیر متقابل مواد و pH نتایج به صورت زیر تغییر نمود:

کتیرا 1/2%> کتیرا 0/5% > گلیسرول > ساکاروز > سولفات منیزیم 0/1 مولار > نیترات آمونیوم> سولفات منیزیم 5/ مولار 0 > شاهد

در بررسی تاثیر مواد مختلف بر روی درجه بلوم نتایج به صورت زیر بود:

کتیرا 1/2% و کتیرا 0/5% > گلیسرول > ساکاروز > سولفات منیزیم 5/ مولار 0 > سولفات منیزیم 0/1 مولار> نیترات آمونیوم و شاهد

در بررسی روند تاثیر pH نیز به ترتیب 6>5>4 بود. در بررسی تاثیر متقابل مواد و pH نیز روند فوق ثابت بود.

4- بحث

خصوصیات کاربردی ژلاتین بر اساس محتوای آمینو اسیدهای ژلاتین و بالاخص ایمینو اسیدها (اسید های آمینه پرولین و هیدروکسی پرولین), نوع گونه ماهی, شرایط استخراج و نوع استخراج متفاوت است [15 و 16]. مهمترین تفاوت بین ژلاتین پستانداران و ماهی دمای پایین تر ذوب و تشکیل ژل در ژلاتین ماهی است. اما ویسکوزیته ژلاتین ماهی از ژلاتین پستانداران بالاتر است [8]. برای بسیاری از کاربردها ژلاتین با خصوصیات رئولوژیکی خوب مورد نیاز است و ژلاتین ماهی به دلیل داشتن محتوای کمتر ایمینو اسیدها (پرولین و هیدروکسی پرولین) که مسئول تشکیل پیوند های هیدروژنی با مولکول های آب است از خصوصیات رئولوژیکی ضعیف تری برخوردار است. جهت بهبود این امر و افزایش الحاقات هیدروژنی افزایش موادی مانند نمک ها, قند, گلیسرول و آنزیم ترانسگلوتامیناز می تواند موثر باشد [17]. همچنین pH نیز می تواند در این خصوص بر روی عملکرد مواد افزودنی و یا ساختار درونی ژلاتین تاثیر داشته باشد.

اثبات شده است که عوامل غیر الکترولیت مثل قند و گلیسرول قدرت ژلی ژلاتین را افزایش می دهند. مطالعات NMR نشان داده است که پایداری قند ها یک اثر ساختاری است به صورتی که ساکاروز > D- گالاکتوز > D- گلوکوز بر روی ساختار ژلاتین تاثیر دارند. در حالی که فروکتوز پایداری قابل توجهی را ایجاد نمی کند. این پایداری به دلیل پیوند های هیدروژنی است و این مواد در مجاورت ژلاتین به گونه ای در آب عمل می کنند که در زمان انحلال مجزای قند یا ژلاتین در آب چنین ساختاری دیده نمی شود [18]. مشاهده شده که افزایش محتوی ساکاروز در محلول ژلاتینی باعث افزایش در قدرت ژلی می شود که به دلیل پایدار کردن پیوند های هیدروژنی توسط مولکول های ساکاروز می باشد[19]. در

www.SID.ir

Archive of SID

تحقیق حاضر نیز تاثیر گلیسرول و ساکاروز در بالاترین میزان بوده و اختلاف معنی داری در نقطه ذوب و دمای تشکیل ژل و درجه بلوم را نسبت به شاهد دارا بوده است.

اما کتیرا تراوه های صمغی سخت شده بوسیله هواست که به طور طبیعی از شاخه های گیاه *gossypinus fisch* و *Astragalus* و برخی گونه های جنسAstragalus با نام گون از تیره نخود بدست می آید. این صمغ حاوی پلی ساکاریدهای مانیتول، گلوسیتول، گلوکوپیرانوزید گالاکتوپیرانوز و گالاکتیتول می باشد [10]. همانطور که گفته شد قندها در پایداری ساختار سه بعدی و استحکام پیوندهای هیدروژنی تاثیر مثبتی دارند. می توان گفت پلی ساکاریدهای کتیرا در زمان انحلال در جوار ژلاتین به گونه ای قرار می گیرند که مکان یابی برای سایت های پیوند هیدروژنی آسانتر گردد. در نتیجه ژلاتین حاصله دارای پیوندهای مستحکم تر و پایداری بیشتری است که در افزایش دمای ذوب و درجه بلوم تاثیر مستقیم دارد. همانطور که مشاهده شد تاثیر کتیرا به میزان 0/5% بر روی درجه ذوب ژلاتین بیش از کتیرای 1/2 % بوده و در دو متغیر بعدی نیز بین این دو مقدار مصرفی کتیرا اختلاف معنی داری دیده نمی شود. همچنین در بررسی متغیرهای مختلف, کتیرا در کنار گلیسرول و ساکاروز تاثیر بسیار بالایی در بهبود خواص کاربردی ژلاتین داشته است و مهمترین ارجحیت آن استفاده بسیار اندک از این ماده (0/5%) در دستیابی به خواص بهینه شده و طبیعی بودن این ماده است.

عوامل لیوتروفیک نیز ممکن است ساختار آبی اطراف مولکول های کلاژن/ ژلاتین را تغییر دهند و پیوند های هیدروژنی داخل مولکولی را گسسته کنند یا با پیوند های آبگریز داخل مولکولی توسط الحاق مستقیم با سایت های مشابه در زنجیره پروتئین وارد واکنش شوند[20]. مشخص شده است که با افزودن سولفات سدیم و فسفات سدیم افزایش قابل توجهی در دمای ذوب ژلاتین ایجاد می شود و پیشنهاد شده است که این نمک ها با آب اطراف مولکول های ژلاتین واکنش می دهند و غربال الکترواستاتیک بزرگتری را ایجاد می کنند[16]. می توان گفت نمک ها زنجیره پروتئینی را بیشتر باز می کنند و در نتیجه یک شکل مناسبتر برای ایجاد پیوندهای قویتر ایجاد می کنند [21]. البته مشاهده شده است که کلرید سدیم قدرت ژلی چندین نوع ژلاتین تجاری را کاهش می دهد و عنوان شده که کلرید سدیم توانایی شکستن پیوندهای آبگریز و هیدروژنی را داراست که از پایداری نواحی پیوندی در ژل با ممانعت مستقیم از شکل گیری پیوند هیدروژنی و یا با تغییر ساختار محیط آبی در مجاورت این نواحی جلوگیری می کند [19]. مطالعات بر روی ژلاتین پستانداران نشان می دهد که نمک احتمالاً به دلیل رقابت مستقیم برای آبگیری, ساختار ژلاتین را ناپایدار می کند[22]. مشاهده شده است که ژلاتین ماهی مخلوط با سولفات منیزیم با قدرت یونی کمتر (0/1 مولار در مقابل 0/5 مولار) به نظر می رسد برای ایجاد پیوندهای قویتر بدون از بین بردن شکل طبیعی مولکول ژلاتین بهتر باشند [16]. استفاده از سولفات منیزیم در این تحقیق نیز این مساله را تایید می کند.

اما در مورد استفاده از نیترات آمونیوم هر چند کاهشی نسبت به شاهد مشاهده نشد ولی به طور کلی تفاوت معنی داری را نسبت به شاهد نداشته است و می توان گفت نمک نیترات آمونیوم در پایداری ساختار سه بعدی ژلاتین تاثیر معنی داری نداشته و نسبت به مواد دیگر از کمترین اهمیت برخوردار است.

تاثیر متقابل مواد و pH در مورد نقطه ذوب و بلوم با تاثیر انفرادی مواد مشابه بود ولی در مورد نقطه شروع تشکیل ژل اختلافات در تاثیر انفرادی مواد نسبت به دو متغیر دیگر ناواضحتر بود و با روند تاثیر متقابل مواد و pH اختلاف داشت. کاهش کمتر تفاوت ها و پراکندگی تاثیر انفرادی و متقابل مواد و pH در سرد کردن محلول ژلاتین و بررسی دمای شروع تشکیل ژل شاید به این دلیل است که بازسازی مجدد ساختار سه بعدی ژلاتین نیاز به زمان دارد تا این احیای مجدد در خصوصیات ژل موثر باشد [17]. اثبات شده است که هر چه زمان لازم جهت بازسازی ساختار مارپیچ سه بعدی ژلاتین طولانی تر باشد بررسی زمان تشکیل ژل با دقت بیشتری انجام شده است.

در مورد تاثیر pH نیز باید گفت هر چه pH محلول ژلاتینی به pH ایزوالکتریک نزدیک تر شده است تاثیر نیروی رانشی بارهای مشابه درون مولکولی بین مولکول های ژلاتین کاهش یافته و زنجیره های ژلاتینی بیشتر به هم نزدیک شده و پیوند های هیدروژنی مستحکم تری ایجاد شده است. همچنین در مورد الکترولیت ها اثبات شده است که pH بر روی عملکرد الکترولیت ها در الحاق با مولکول های ژلاتین و جهت گیری آنها در شبکه سه بعدی آب تاثیر گذاراست.

www.SID.ir

Archive of SID

لازم به توضیح است که اضافه نمودن پودر کتیرا به محلـول ژلاتین کاریچون ماهی برای اولین بار در دنیـا صـورت گرفتـه است و نتایج حاصل از این تحقیق در اداره ثبت اختراع ایـران به شماره48947 به عنوان یک نوآوری و اختراع به ثبت رسیده است [23].

در جمع بندی نهایی باید گفت خصوصیات کاربردی ژلاتین ماهی با افزدن موادی مانند گلیسرول (15%), سـاکاروز (5%) و کتیرا (0/5%) بدون تاثیر منفی در کیفیـت ژلاتـین قابـل بهبـود است. در این میان استفاده از صمغ کتیرا به دلیل طبیعی بودن و نیاز به حداقل استفاده می تواند به عنوان یک عامـل در تولیـد صنعتی ژلاتین ماهی با توجیه اقتصادی جهت مصارف کاربردی گوناگون مورد توجه قرار گیرد.

5- تقدیر و تشکر

از جناب آقای مهندس حامد یوسف زاده که در انجام آنـالیز های آماری ما را یاری نمودند و جناب آقای مهندس احمـدی مدیر فنی کارخانه مارین که در تهیـه مـواد اولیـه مـا را یـاری رساندند تشکر می نماییم.

6- منابع

[1] Gudmundsson, M. (2002).Rheological properties of fish gelatines. *Journal of Food Science*, 67, 2172-2176

[2] Simon, A., Vandanjon, L., Levesque, G., & Bourseau, P. (2002). Concentration and desalination of fish gelatine by ultrafiltration and continuous diafiltration processes. *Desalination*, 144, 313-318.

[3] Sadowska, M., Kolodziejska, I., & Niecikowska, C. (2003). Isolation of collagen from the skins of Baltic cod (*Gadus morhua*). *Food Chemistry*, 81, 257-262.

[4] Terao, K., Nagasawa, N., Nishida, H., Furusawa, K., Mori, Y., Yoshii, F., & Dobashi, T. (2003). Reagent-free crosslinking of aqueous gelatine: manufacture and characteristics of gelatine irradiated with gamma- ray and electron beam.*Journal of Biomaterials Science*, Polymer Edn. 14, 1197-1208.

[5] Haug, I. J., Draget, K. I., & Smidsrød, O. (2004). Physical and rheological properties of fish gelatine compared to mammalian gelatine. *Food hydrocolloids*, 18, 203-213.

[6] Kolodziejska, I., Kaczorowski, K., Piotrowska, B., & Sadowska, M. (2004). Modification of the properties of gelatine from skins of Baltic cod (*Gadus morhua*) with transglutaminase. *Food Chemistry*, 86, 203-209.

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

[8] Leuenberger, B.H. (1991). Invwstigation of viscosity and gelation properties of different mammalian and fish gelatins.*Food Hydrocolloids*, 5(4), 353-361

[9] Harrington, W.F., & Von Hippel, P.H. (1961). The structure of collagen and gelatine.*Advances in protein Chemistry*, 16,1-138

[10] Shokri Boosgin, Z., Kadivar, M., Keramat, J. (1383).Effect of structure and rheorogical properties of katira's resin and comparison to the Arabic resin and use in the cake.Thesis in Ms.C degree. Isfehan Idusterial University.Faculty of Agriculture.106 P.

[11] Meighani, F., Ebrahimzadeh, H. (1374). Plant and tissue culture Katira's polysaccarid Quantitative and qualitative study in 2 genuse of camel's thorn. Thesis in Ms.C degree. Tehran University. Faculty of Science. 235 P.

[12] Gudmundsson, M., & Hafsteinsson, H. (1997). Gelatine from cod skins as affected by chemical treatments. *Journal of Food Science*, 52, 37-39.

[13] Giménez, B., Goméz-Guillén, M. C., & Montero, P. (2005). Storage of dried fish skins on quality characteristics of extracted gelatine. *Food hydrocolloids*, 19, 958-963.

[14] JSA (Japanese Standard Association). (1996).Japanese industrial standard animal glues and gelatins.JIS K 6503,Japan.

[15] Montero, P., & Goméz-Guillén, M. C. (2000). Extraction condition for Megrim (*Lepidorhombus boscii*) skin collagen affect functional properties of the resulting collagen.Journal of Food Science,65(2), 1-5

[16] Sarabia, A. I., Gómez-Guillén,M.C. and Montero,P.(2000).The effect of added salts on the viscoelastic properties of fish skin gelatin.*Food chemistry*,70,71-76

[17] Fernández-Díaz,M.D., Montero,P., & Gómez-Guillén,M.C.(2001).Gel properties of collagens from skins of cod (*Gadus morhua*)

www.SID.ir

Archive of SID

systems.*Advances in food Research*,28, 232-372. London: Academic press.

[21] Ledward, D. A. (1986).Gelation of gelatine. In J. R. Mitchell, & D A. Ledward (Eds.), Functional properties of food macromolecules. Elsevier Applied Science, London, pp: 171-201.

[22] Slade, L., & Levine, H.(1987).Polymer-chemical properties of gelatine in foods. In A. M. Pearson, T. R.Dutson, & A. J Bailey,(Eds), *Advances in meat research.Collagen as a food.*4,251-266.New York:Van Nostrand Reinhold Company

[23] Taheri, A ,.Behnam, Sh. (1387). Lizard fish skin gelatine with optimized functional properties. Invention Certificate (No.48947). Iranian invention office.

and hake (*Merluccius merluccius*) and their modification by the coenhancers magnesium sulphate, glycerol and transglutaminase.*Food chem*.74,161-167

[18] Naftalian, R. J., and Symons, M. C. R.1974.The mechanism of sugar-dependent stabilization of gelatin gels.*Biochimica Biophysica Acta*, 352, 173-176

[19] Finch,A.,Gardener,P.J.,Ledward,D.A.,& Menashi,S. (1974).The thermal denaturation of collagen fibers swollen in aqueous solution of urea, hexamethylenetetramine, P-benzoquinone and tetra-alkylammonium salts.*Biochimica Biophysica Acta*, 365, 400-407

[20]Asghar, A., & Henrickson, R.L. (1982). Chemical,biochemical,functional,and nutritional characteristics of collagen in food

www.SID.ir

Archive of SID

Improvement of lizard fish (*Saurida tumbil*) skin gelatin properties by the coenhancers magnesium sulphate, glycerol, Katira, sucrose and ammonium nitrate

Behnam, Sh.[1], Taheri, A. [2*], Kakoei , H. [3]

1- Graduated of Fisheries. Faculty of Marine Science.Tarbiat Modares University. Noor
2- Asis. Prof. Faculty of Marine Science. Chabahar Maritime University. Chabahar
3- Graduated of Industrial Food Sciences. Shahid Beheshti University. Tehran
(Receved:87/6/24 Accept: 87/9/17)

Fish skin gelatin could be substitutes for mammalian gelatins. But fish gelatins have low gelling and melting temperatures. In this research improvement of functional properties of lizard fish skin gelatin (melting point, gelling point and bloom) evaluated by $mgso_4$ (0/1 and 0/5 M), glycerol (15%), NH_4NO_3 (5%), Katira (0/5 and 1/2%) and sucrose in three pH (4, 5, 6). All materials have significant different ($p<0/05$) to the control. Based on results glycerol, katira (0/5%) and sucrose have maximum effect on improvement of functional properties and pH 6 > 5 > 4 had enhancer effects on the variables .This improvement of gel properties is due to the fact that this materials stabilizes hydrogen bonding and in higher pH the gelatin pH is closer to the Isoelecteric point of the protein. Katira is a natural material and due to minimum usage, has the best effect. Results of this research registerd in the Iran Invention Office (number 48947).

Key Words: Gelatin, Lizard fish, Isoelectric point, Functional properties, Katira, glycerol

* Corresponding Author E-mail address: taherienator@gmail.com

www.SID.ir