Archive of SID

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۰، شماره ۴، زمستان ۸۹، صفحات ۲۴۶ تا ۲۵۱

Original Article

تولید کلاژن نوع اول و به‌کارگیری آن در مصارف پزشکی

محمدکریم رحیمی[۱]، رامین خواجوی[۲]، محمدامین مهدوی هزاوه[۳]، الناز ابراهیمی حور[۴]

[۱] استادیار، گروه میکروب شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران
[۲] استادیار، دکترای شیمی نساجی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، مرکز تحصیلات تکمیلی
[۳] کارشناس ارشد مهندسی شیمی نساجی و علوم الیاف، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب
[۴] دانشجوی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران

چکیده

سابقه و هدف: *کلاژن ماده‌ای پروتئینی است که اهمیت خاصی در صنایع دارویی و پزشکی دارد. هدف از این تحقیق، استفاده بهینه از مواد اولیه سهل الوصول و ارزان یعنی مقادیر فراوان ماهیان غیرماًکول آب‌های جنوب ایران و همچنین ضایعات شیلات برای استخراج کلاژن نوع اول می‌باشد.*

روش بررسی: *در این مطالعه بنیادی، استخراج کلاژن نوع اول به دو روش اسیدی و قلیایی انجام شد. بدین ترتیب که در روش اسیدی پس از استخراج چربی از نمونه‌ها، جهت جداسازی املاح کلسیم، از اسید کلریدریک ۵ درصد استفاده شد و بعد از تنظیم pH، هیدرولیز، فیلتراسیون و تغلیظ کلاژن نوع اول تحت تأثیر حرارت و خلأ انجام گردید و در نهایت ورقه‌های کلاژن آسیاب شد. در روش قلیایی به جای استفاده از اسید، نمونه‌ها با هیدروکسید سدیم ۴ درصد به مدت ۳ هفته در دمای اتاق مجاور گردید.*

یافته‌ها: *میزان کلاژن استحصالی از ضایعات ماهی به روش قلیایی و روش اسیدی تفاوت معنی‌داری نداشت. برای نمونه، میانگین درصد کلاژن استحصالی از پوست کفشک ماهی به روش قلیایی ۲۰/۸۱ درصد، اما در روش اسیدی ۱۹/۷۶ درصد بود. نمونه کلاژن که به روش‌های فوق تهیه گردید، از نظر درصد رطوبت، میزان پروتئین و درصد املاح، کیفیت قابل مقایسه و در برخی از موارد کیفیت بالاتری در مقایسه با نوع خارجی داشت.*

نتیجه‌گیری: *با توجه به اینکه مواد اولیه تهیه کلاژن هیچ هزینه‌ای ندارد، تولید کردن آن در کشور موجب صرفه‌جویی اقتصادی می‌شود، این در حالی است که هم‌اکنون کلاژن از خارج کشور با قیمت‌های گزاف خریداری می‌شود.*

واژگان کلیدی: *پوست و ضایعات ماهی، روش استخراج، کلاژن نوع اول، مصارف پزشکی.*

مقدمه

کلاژن در پزشکی برای تهیه انواع کرم‌ها، گاز و باندهای ویژه پانسمان و ترمیم زخم و در داروسازی برای تهیه کپسول‌های دارویی و قرص‌ها مصرف می شود. کلاژن در صنایع عکاسی نیز نقش مهمی به عهده داشته و امولسیونی از نمک‌های نقره می‌سازد که در مقابل نور بسیار حساس می‌باشد. کلاژن در صنایع دیگر مانند نساجی، تهیه چسب، کبریت سازی، ساخت کاغذ پلی‌کپی و کارتن‌سازی کاربرد فراوان دارد (۱). تا قبل از سال ۱۹۵۰، اکثر مطالعات درباره کلاژن و ژلاتین بر روی چرم بوده و موارد استفاده صنعتی کلاژن و سیستم کلوئیدی آن مورد توجه محققان قرار گرفته است (۲). اطلاعات این محققان اگرچه مربوط به اولین نمونه کلاژن می‌باشد، ولی در تحقیقات مربوط به ژلاتین نیز به کار گرفته می شود. با استفاده از روش‌های قدیمی و یا جدید، کلاژن به ژلاتین تبدیل می‌گردد. موارد کاربرد کلاژن زیاد

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران، گروه میکروب شناسی، دکتر محمدکریم رحیمی (email: mohammadkrahimi@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۲/٤
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۵/۳۱

www.SID.ir

Archive of SID

بوده و با تشخیص واکنش‌های شیمیایی مربوطه، موارد استفاده آن افزایش یافته است (۳،۲).

ماده کلاژنی بافت پیوندی (پوست، استخوان، تاندون) به ماده محلول تشکیل دهنده ژل، تبدیل شده که به عنوان ماده غذایی یا به عنوان چسب، کاربرد داشته است. تصفیه ژله‌های شفاف با استفاده از سفیده تخم مرغ به عنوان هنر خانم‌های خانه‌دار پذیرفته شده بود تا اینکه تولید صنعتی کلاژن ارائه گردید. کلاژن نقش اصلی را در توسعه شیمی کلوئید بازی می‌کند (۳).

در امریکای شمالی پوست خوک، منبع عمده ماده اولیه برای تولید کلاژن نوع اول می‌باشد. پوست خوک به شکل منجمد در بسته‌های بزرگ به کارخانه‌های تولید کلاژن برده می‌شود. در اروپا نیز مقادیر زیادی پوست خوک برای تولید کلاژن نوع اول بکار می‌رود، زیرا که بازده تولید کلاژن نوع اول از آن بالا بوده و نیاز به مدت زمان کمتری برای آماده کردن مواد اولیه برای استخراج و مشکلات کمتر در ارتباط با فاضلاب کارخانه می‌باشد. هم اکنون ماده اولیه عمده مورد استفاده برای تولید کلاژن‌های صنعتی و خوراکی نوع اول، استخوان و پوست گاو، خوک و ماهی می‌باشد (۴).

مدت‌هاست که مشخص شده چسب حاصل از پوست و استخوان ماهی و حتی کلاژن ماهی که در آزمایشگاه تهیه شده است، قدرت ژله‌ای شدن معادل کلاژن حاصل از پوست و استخوان پستانداران را ندارد (۵). در مقابل، کلاژن ماهی‌های غضروفی، تبدیل به ژلاتین‌هایی می شود که قدرت ژله‌ای شدن بهتری دارند که به وسیله تعیین مقادیراسیدهای آمینه پرولین و هیدروکسی پرولین این گفته اثبات می‌گردد (۶).

کلاژن‌های ماهی به عنوان منبع چسب ماهی ارزش اقتصادی دارند، ولی در مقادیر وسیعی تهیه نگردیده‌اند. کلاژن کیسه هوای ماهی به دلیل درجه بالای حلالیت آن، شاید اولین کلاژن محلولی باشد که کشف شده است. همچنین، کلاژن کیسه هوایی ماهی خاویار هنوز به طور تجارتی در تصفیه نوشابه‌های الکلی به کار می‌رود. کلاژن محلول پوست ماهی به طور وسیعی مطالعه شده است و به طور غیر معمول ۳ زنجیر اصلی آن همگی متفاوت هستند. بطور کلی کلاژن‌های ماهی مقدار اسید آمینه کمتری از کلاژن های پستانداران دارند. کلاژن محلول پوست کوسه‌ماهی و ماهیان غضروفی نیز به دست آمده است که این نوع کلاژن‌ها مشابه با کلاژن مهره‌داران است. شاید جالب‌ترین کلاژن ماهی که اخیراً کشف شده، الاستودین (elastoidin) باشد که پروتئین تهیه شده از باله کوسه ماهی است. این پروتئین وزن مولکولی کمتر از اکثر کلاژن‌های محلول دیگر دارد و هم‌چنین مقدار تیروزین و سیستئین بالایی دارد که غیرعادی می باشد. این دو اسید آمینه در تشکیل اتصال شرکت دارند، ولی این پدیده در کلاژن‌های پستانداران دیده نمی‌شود (۷).

هاف استین سن (Hafsteinsson) و گودمانسون (Gudmunsson) (۱۹۹۷) اثرات روش‌های شیمیایی را بر روی بازده تولید کلاژن نوع اول براساس وزن پوست ماهی فرآیند نشده (خام) مقایسه نمودند. نتایج حاکی از آن بود که روش استخراج به وسیله اسید سیتریک با غلظت ۰/۷ درصد و غلظت‌های کم اسید سولفوریک و هیدروکسید سدیم بالاترین بازده را داشت (۸).

همه ساله مقادیر قابل توجهی کلاژن به کشور وارد شده و از این طریق ارز زیادی از کشور خارج می‌گردد. به علاوه ایران منابع عظیم دریایی (انواع ماهیان دریای شمال و جنوب) را دارد که می‌توان از ضایعات شیلات به عنوان ماده اولیه برای تولید کلاژن نوع اول استفاده نمود. طبق آمار و ارقام شیلات کشور، هر ساله بیش از ۱۳ درصد کل ماهیان صید شده را ضایعات آنها تشکیل می‌دهد. با توجه به نکات ذکر شده بر آن شدیم که تحقیقی در مورد استحصال کلاژن نوع اول از این ضایعات انجام دهیم.

مواد و روشها

در مطالعه بنیادی حاضر، منابع کلاژنی شامل پوست کفشک ماهی، پوست توأم با گوشت کوسه ماهی، ضایعات کارخانه فیله-زنی (پوست، دم، باله، استخوان و فلس از ماهیان خسون، خارو، گیش ریز و قباد و سرخو) و ضایعات ماهیان مأکول از تاسیسات شیلات بوشهر بود. نمونه‌ها به صورت منجمد به آزمایشگاه انستیتو علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران منتقل و تا شروع آزمایشات به همان حالت نگهداری گردید. مواد شیمیایی مصرفی مورد نیاز شامل اتر، اسید کلریدریک ۵ درصد، هیدروکسید سدیم ۴ درصد، سفیده تخم مرغ، آهک، فسفات کلسیم و وسایل و دستگاههای لازم شامل دستگاه سوکسله، بالون، بشر، همزن مغناطیسی، قیف بوخنر، pH متر دیجیتال، اتو کلاو، بن ماری، سانتریفیوژ، گرمخانه تحت خلأ، میکسر و فیلتر بود.

در روش نمونه برداری (۱۰-۸)، ابتدا پس از اینکه ضایعات ماهی از حالت منجمد خارج شد و همچنین در حالت انجماد، جداگانه به صورت یکنواخت خرد شد، برای انجام آزمایشات، مقادیر مورد نیاز (۵۰ گرم از هر نمونه) برداشته شد. در مرحله اول، پس از خروج نمونه‌ها از حالت انجماد در دمای اتاق، نمونه ها مجدداً توزین گردید و تفاوت وزن آنها با وزن در حالت انجماد، برابر با مقدار آب از دست رفته آنها لحاظ گردید. در مرحله دوم، اندازه گیری چربی نمونه‌ها با روش سوکسله (۱۱) صورت پذیرفت که این روش برای هر نمونه به وسیله ۲۰۰ میلی‌لیتر اتر به مدت ۶-۴

www.SID.ir

Archive of SID

ساعت انجام شد. لازم به ذکر است که این مرحله در هر دو روش اسیدی و قلیائی مشترک است. در مرحله سوم، نمونه‌های بدون چربی و آب بدست آمده از مراحل قبلی، در ۳۰۰-۲۰۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۵ درصد درهم‌زن مغناطیسی و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتیگراد) بطور جداگانه گذاشته شد تا املاح فسفات کلسیم خارج گردد (۱۳،۱۲) و ماده‌ای به نام اسئین (کلاژن متورم) به دست آید. مرحله چهارم، شستشوی اسئین با آب به دفعات مکرر برای حذف اسید و عبور از قیف بوخنر برای خارج نمودن املاح و افزودن چند قطره محلول هیدروکسید سدیم ۴ درصد به منظور افزایش pH نمونه‌ها و سپس تنظیم pH در محدوده ۷-۶ توسط pH متر دیجیتال (۱۴) برای به حداقل رساندن سرعت تجزیه محلول کلاژن و کسب بهترین نتایج بود. مرحله پنجم، هیدرولیز ژلاتین و تبدیل آن به کلاژن توسط حرارت و در مجاورت آب بود. با استفاده از دستگاه اتوکلاو (۱۵،۱۴) نمونه‌ها به مدت یک ساعت و در فشار بخار ۲۰psi و در درجه حرارت ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در اتو کلاو، باندهای هیدروژنی که ساختمان ژلاتین را ثابت نگه می‌دارد می‌شکند و سبب تبدیل ژلاتین به کلاژن می‌گردد. از بن‌ماری هم برای انجام آزمایشات اولیه استفاده گردید. مرحله ششم، تصفیه شیمیایی محلول کلاژن بود که از سفیده تخم مرغ استفاده شد (۱۶). می‌توان از آهک یا فسفات کلسیم نیز برای تصفیه شیمیایی محلول کلاژن استفاده نمود (۱۶).

به ازای هر ۸۰ میلی‌لیتر محلول کلاژن در حال جوش، ۱ میلی‌لیتر سفیده تخم مرغ افزوده شد. آلبومین سفیده در اثر حرارت کواگوله شده، پس از یک ساعت املاح مس و دیگر ناخالصی ها را به خود متصل نموده و پس از عبور محلول‌ها از صافی جدا می‌شود. در مرحله هفتم، عمل سانتریفیوژ (۱۷) صورت پذیرفت. نمونه‌ها با سرعت ۲۵۰۰ rpm (دور در دقیقه) به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۵- درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد که در اثر این عمل، موکوپلی ساکاریدها مانند اسید هیالورونیک (HA) و سولفات کندروایتین با وزن مولکولی بالا، رسوب نموده و جدا می‌شوند. محلول رویی لوله‌ها به بشر منتقل گردید. در مرحله هشتم، محلول کلاژن در گرمخانه تحت خلأ (۱۸) در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ ساعت، خشک گردید. آنگاه ورقه‌های خشک کلاژن نوع اول آسیاب شده و توزین گردید. در روش قلیایی تهیه کلاژن نوع اول، بعد از جداسازی چربی، نمونه‌ها در محلول سود ۴ درصد به مدت ۳ هفته قرار گرفت. پس از حذف قلیا توسط شستشو با آب و اسید کلریدریک ۵ درصد، pH نمونه‌ها در حدود ۷-۶ تنظیم و بقیه مراحل همانند روش اسیدی انجام شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از روش‌های اسیدی و قلیایی بر روی نمونه‌های مختلف ضایعات ماهی و آزمایشات فیزیکی و شیمیایی بر روی کلاژن نوع اول حاصله در جداول ۱، ۲، ۳ و ۴ آمده است. همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود بیشترین میزان آب و چربی مربوط به ضایعات کارخانه فیله زنی بود.

جدول ۱- میانگین درصد چربی و آب استحصالی از نمونه‌های مختلف ضایعات شیلات

نوع نمونه ها	میزان آب (٪)	میزان چربی (٪)
پوست کفشک ماهی	۲۱/۳۷	۴/۲۵
پوست توأم با گوشت کوسه ماهی	۲۰/۹۷	۱۴/۰۱۲
ضایعات کارخانه فیله زنی	۲۲/۳۹	۱۹/۱۴
ضایعات ماهیان مأکول غیر مصرفی	۱۹/۷۰	۹/۶۳
میانگین	۲۱/۱۰	۱۱/۷۶

جدا سازی آب موجود دربافت پیوندی و چربی برای تسهیل شرایط لازم جهت تبدیل ژلاتین به کلاژن نوع اول است. آزمایشات کیفی بر روی نمونه کلاژن نوع اول حاصله از ضایعات ماهی با روش اسیدی توسط مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران انجام گردید که نتایج آن در جدول ۲ آمده است.

جدول ۲- آزمایشات فیزیکی و شیمیایی بر روی نمونه کلاژن نوع اول حاصله با روش اسیدی انجام شده توسط مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران*

نوع آزمایش	کلاژن نوع اول ارسالی	کلاژن نوع اول استاندارد هند
شفافیت	شفاف (زرد رنگ)	شفاف
رطوبت	۹/۱ درصد	حداکثر ۱۵ درصد
پروتئین بر مبنای ازت	۱۴/۵ درصد	حداکثر ۱۵ درصد
pH	۴	—
مس (p.p.m)	۲/۶	حداکثر ۳۰
سرب (p.p.m)	۰/۳	حداکثر ۵
آهن (p.p.m)	۱/۶	—
خاکستر	۰/۱۷۸ درصد	حداکثر ۳ درصد

* کلاژن نوع اول مورد مقایسه، از نوع وارداتی هندوستان است. روش‌های استاندارد در مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی شامل اندازه‌گیری رطوبت با روش دسیکاتور در خلاء و ماده رطوبت‌گیر اسید سولفوریک و آزمایش پروتئین با روش میکروکلدال و تعیین مقدار خاکستر با روش خاکستر کردن مرطوب با استفاده از کوره الکتریکی و اندازه‌گیری pH به وسیله pH متر دیجیتال و اندازه‌گیری مقادیر مس و سرب و آهن بوسیله روش Atomic Absorbtion صورت گرفت. همچنین عمل سانتریفیوژ نمونه‌ها به وسیله دستگاه Centrifugator انجام شد (۲۱-۱۹).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- میزان کلاژن نوع اول استحصالی از نمونه‌های مختلف ضایعات ماهی با روش اسیدی (بر حسب درصد از نمونه اولیه)

تکرار	۱	۲	۳	۴	۵	۶	میانگین
پوست کفشک ماهی	۱۹/۲۶	۱۹/۴۰	۱۹/۱۶	۲۰/۱۲	۲۰/۲۶	۲۰/۳۶	۱۹/۷۶
پوست همراه با گوشت کوسه ماهی	۱۸/۵۲	۱۷/۵۷	۱۸/۹۴	۱۸/۰۴۷	۱۷/۱۴	۱۸/۲۵	۱۸/۰۸
ضایعات کارخانه فیله زنی	۲۲/۴۷	۲۱/۹۷	۲۱/۵۷	۲۱/۱۷	۲۰/۶۷	۲۲/۵	۲۱/۷۲
ضایعات ماهیان مأکول غیرمصرفی	۹/۹۳	۱۰/۲۳	۹/۷۳	۹/۴۳	۸/۵۳	۹/۱۳	۹/۴۹

جدول ۴- میزان کلاژن نوع اول استحصالی از نمونه های مختلف ضایعات ماهی با روش قلیایی (بر حسب درصد نمونه اولیه)

تکرار	۱	۲	۳	۴	۵	۶	میانگین
پوست کفشک ماهی	۲۰/۸۵	۲۰/۱۵	۲۱/۵۵	۱۹/۹۵	۲۱/۷۵	۲۰/۶۵	۲۰/۸۱
پوست همراه با گوشت کوسه ماهی	۱۸/۷۵	۱۸/۶۵	۱۹/۱۵	۱۸/۱۵	۱۹/۵۵	۱۷/۷۵	۱۸/۶۶
ضایعات کارخانه فیله زنی	۱۷/۶۹	۱۷/۵۵	۱۸/۲۹	۱۹/۰۴	۱۸/۸۹	۱۸/۳۵	۱۸/۳۰

بحث

ماگنوس گودمانسون (Magnus Gudmundsson) (۱۹۹۷) حداکثر بازده کلاژن نوع اول بر اساس وزن پوست ماهی Cod را حدود ۱۷ درصد گزارش کرده است (۸) که اگر با متوسط درصد کلاژن نوع اول حاصل از ۴ نوع نمونه ضایعات ماهی با روش اسیدی مقایسه شود معادل آن می باشد (۱۷/۲۶ درصد). گزارش اخیر بر اساس روش استفاده از سیتریک اسید ۰/۷ درصد و غلظت‌های کم سولفوریک اسید و هیدروکسید سدیم بود که بیشترین بازده را داشت.

اوسبورن (Osborne) و همکارانش (۱۹۹۳) بازده تولید کلاژن نوع اول از پوست Lumpfish را ۱۴/۳ درصد گزارش کردند (۱۴)، ولی آنها از روش آزمایش متفاوتی استفاده نمودند که با توجه به نتایج جدول ۲ در مقایسه با مقادیر کلاژن نوع اول به دست آمده از نمونه های پوست کفشک ماهی، پوست توأم با گوشت کوسه ماهی و ضایعات کارخانه فیله زنی، کمتر بوده، ولی در مقایسه با مقدار کلاژن نوع اول به دست آمده از ضایعات ماهیان مأکول غیر مصرفی بیشتر است، البته در مقایسه با میانگین درصد کلاژن نوع اول حاصل از ۴ نوع نمونه ضایعات ماهی با روش اسیدی نیز کمتر است.

در بررسی میانگین درصد کلاژن نوع اول حاصل از نمونه‌های متفاوت پوست کفشک ماهی، پوست همراه با گوشت کوسه ماهی و ضایعات کارخانه فیله‌زنی با روش اسیدی، درمقایسه با میانگین درصد کلاژن نوع اول حاصل از ضایعات ماهی‌های غضروفی در آمریکا (۲۳،۲۲)، اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. در صورتی که میانگین درصد کلاژن نوع اول حاصل از ضایعات ماهیان مأکول غیر مصرفی با فرآیند اسیدی، در مقایسه با میانگین درصد کلاژن نوع اول حاصل از ضایعات ماهیان غضروفی در آمریکا (۲۵،۲۴)، اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد. انحراف معیار داده‌ها در جدول ۲ برای پوست کفشک ماهی، پوست همراه با گوشت کوسه ماهی، ضایعات کارخانه فیله‌زنی و ضایعات ماهیان مأکول غیر مصرفی به ترتیب برابر ۰/۰۸۴ و ۰/۱۶ و ۰/۶۷ و ۰/۴۱ و انحراف معیار داده‌ها در جدول ۳ برای پوست کفشک ماهی، پوست همراه با گوشت کوسه ماهی و ضایعات کارخانه فیله زنی به ترتیب برابر با ۱/۷۸۸ و ۰/۹۶ و ۱/۷۳۹ می‌باشد.

در بررسی میانگین درصد کلاژن نوع اول حاصل از نمونه‌های متفاوت پوست کفشک ماهی، پوست توأم با گوشت کوسه ماهی و ضایعات کارخانه فیله‌زنی در مقایسه با میانگین درصد کلاژن نوع اول حاصل از ضایعات ماهیان غضروفی آلمان (۲۷،۲۶)، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، ولی متوسط درصد کلاژن نوع اول حاصل از ۳ نمونه ضایعات ماهی به روش قلیایی نسبت به بازده گزارش شده توسط گودمانسون و همکارانش بیشتر بود. علت تفاوت بازده تولید کلاژن نوع اول از نمونه های ضایعات ماهی در این تحقیق در مقایسه با نتایج محققین (۲۹،۲۸)، در ارتباط با نوع روش آزمایش، درجه حرارت، pH، غلظت اسید کلریدریک و هیدروکسید سدیم مصرف شده، مدت زمان انجام مراحل مختلف فرایند و نوع ماده اولیه منبع کلاژنی می‌باشد.

علاوه بر این، تنظیم درجه حرارت در سطوح پایین‌تر و تنظیم pH در محدوده ۷-۶ و مدت زمان حرارت دادن نمونه‌ها و همچنین غلظت مواد شیمیائی مصرف شده در نتایج فرآیند و تولید کلاژن نوع اول بسیار تأثیرگذار است که در این تحقیق از درجه حرارت مطلوب ۷۰-۶۰ درجهد سانتی‌گراد استفاده شد. در صورت افزایش درجه حرارت به بالاتر از آن، امکان تجزیه کلاژن وجود داشته و بازده کاهش می‌یابد (۳۲-۳۱).

www.SID.ir

Archive of SID

همچنین در این تحقیق از غلظت بیشتری از هیدروکسید سدیم و اسید کلریدریک نسبت به روش‌های سایر محققان استفاده شد که در افزایش بازده مؤثر بود. زیرا با افزایش غلظت هیدروکسید سدیم و اسید کلریدریک، اتصالات موجود در ژلاتین برای تبدیل به کلاژن نوع اول سریع‌تر شکسته می‌شوند (۳۴،۳۳). بالا بودن بازده تولید کلاژن نوع اول از ضایعات شیلات به روش قلیایی در این تحقیق مطابق با نتایج تحقیق Gomez Guillen و همکارانش است. براساس نتایج این محققان، بهترین نتایج و حداکثر خواص ژله‌ای کنندگی و ویسکوزیته کلاژن نوع اول زمانی حاصل می‌گردد که پوست ماهی در مجاورت هیدروکسید سدیم رقیق باشد (۱۱). اندازه‌گیری bloom strength که مهم‌ترین خاصیت و grade کلاژن را نشان می دهد، به دلیل عدم وجود وسیله اندازه‌گیری در ایران و نیز با توجه به این که کلاژن تاکنون یک فرآورده وارداتی بوده است، مقدور نبود. علت بازده بالاتر تولید کلاژن نوع اول از دو نمونه اول با روش اسیدی، تبدیل سریع‌تر و کامل‌تر پوست ماهی به کلاژن است، ولی در نمونه ضایعات کارخانه فیله‌زنی علاوه بر پوست، ضایعات دیگر مانند سر، دم، باله، فلس و استخوان نیز وجود دارد.

با توجه به آنالیز فیزیکی و شیمیایی کلاژن نوع اول حاصله با روش اسیدی و از نمونه‌های مختلف در مقایسه با کلاژن نوع اول استاندارد هندوستان در آزمایشگاه، واضح است که از لحاظ درصد پروتئین و در نتیجه قدرت مطلوب تشکیل ژله در نمونه مورد آزمایش و همچنین درصد ناچیز املاح و خاکستر آن و نظر به اینکه بازده تولید کلاژن نوع اول از ضایعات شیلات، یعنی نمونه‌های آزمایش شده، در حد قابل توجهی می‌باشد و در بیشتر موارد اختلاف معنی‌داری با مقادیر مشابه خارجی ندارند و با توجه به اینکه میزان ضایعات شیلات بوشهر در سال در حدود ۱۳۲۹۲ تن ضایعات ماهیان مأکول و ۱۲۰۰ تن ماهیان غیر مأکول و ۲۰۰ تن ضایعات کارخانه فیله‌زنی است، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که امکان تولید کلاژن نوع اول از ضایعات ماهیان مأکول در شیلات بوشهر برابر با ۱۲۵۳/۴۳ تن و از ضایعات کارخانه فیله زنی برابر با ۴۳/۱۴ تن و از ماهیان غیر مأکول (عمدتاً کوسه ماهی) حدود۲۱۶/۵ تن می‌باشد و به طور کلی در سال امکان تولید کلاژن نوع اول از ضایعات شیلات بوشهر در حدود مقدار ۱۵۱۳/۱ تن است. از این گذشته در فرایند تولید کلاژن نوع اول از ضایعات شیلات، مقدار قابل توجهی روغن ماهی حاصل می‌شود که ارزش بالایی دارد. همچنین فسفات دی‌کلسیم زیادی نیز به دست می‌آید که در خوراک حیوانی و کودها کاربرد دارد.

بنابراین می توان چنین استنباط نمود که طرح صنعتی تولید کلاژن نوع اول در کشور از ضایعات شیلات از لحاظ اقتصادی مهم بوده و قابل بررسی به نظر می‌رسد.

REFERENCES

1. Reppond KD, Wasson DH. Properties of gels produced from blends of arrow tooth flounder and Alaska pollock surimi. J Aqua Food Prod Technol 1993; 2: 83-98.
2. Babbitt JK, Repond K. Factors affecting the gel properties of surimi. J Food Sci 1998; 53: 965-66.
3. Montero P, Alvarez C. Characterization of hake (merluccius l.) and trout (salmo irideus gibb.) collagen. J Agric Food chem. 1990; 38: 604-609.
4. Park JW. Surimi gel colors as affected by moisture content and physical conditions. J Food Sci 1995; 60: 15-18.
5. Mizuno H, Saito T. Physical properties of kamaboko made from nama– surimi and otoshimi. Bulletin Japan Society Sciences Fish 1995; 51: 1495-99.
6. Stainsby G. Gelatin gels. In: Stainsby G, editor. Advances in meat research. Collagen as a food. New York: Van Nostrand Reinhold Co. Inc; 1997. p.209-22.
7. Grossman S, Bergman M. Process for the production of collagen type I from fish skins. U.S. Patent. 5, 093, 1992, 474.
8. Gudmundsson M, Hafsteinsson H. Collagen from cod skins as affected by chemical treatments. J Food Sci 1997; 62: 37-47.
9. Kim JS, Cho SY. Screening for raw material of modified collagen type I in marine animal skins caught in coastal offshore water in Korea. Agric Chem Biotechnol 1996; 39: 134-39.
10. Montero P, Borderias J. Plaice skin collagen type I extraction and functional properties. J Food Sci 1995; 60: 1-3.
11. Gomez Guillen MG, Montero P. Extraction of collagen type I from megrim (lepidorhombus boscii) skins with several organic acids. J Food Sci 2001; 66: 213-16.
12. Herrmann P, Creamp AG. Production of collagen type I from cattle bones. J Food Engin Int 1989; 4: 41-49.

www.SID.ir

Archive of SID

13. Ames WM. Manufacture of glue and gelatin. J Sci Food Agric 1993; 36: 454-58.

14. Osborne R, Voigt MN, Hall DE. Utilization of lumpfish (*Cyclopterus lumpus*) carcasses for the production of collagen type I, In: Osborne R, Voigt MN, Hall DE, Editors. Advances in fisheries technology and biotechnology for increased profitability. Lancaster, PA: Technomic Publishing Co.; 1993. p.143-50.

15. Leuenberger BH. Investigation of viscosity and collagen type I properties of different mammalian and fish collagens. J Food Hydrocoll 1991; 5: 333-61.

16. Norland RE. Fish collagen. In: Voight MN, Botta JK, Editors. Advances in fishery technology and biotechnology for increased profitability. Lancaster, PA: Technomic Publishing Co.; 1990. p.325-33.

17. Jeffreys RA, Tabor BE. Hardening of collagen with oxystarch. US patent, 1992, 3057723.

18. Lee HG, Lanier TC. Transglutaminase activity in Alaska pollack muscle and surimi and its reaction with myosin B. Nippon Suisan Gakkaishi 1990; 56: 125-32.

19. Johnston Banks FA. Collagen in food gels. Harris P, Editor. Collagen in food gels. London: Elsevier Applied Science; 1990. p.133-289.

20. Janus JW, Tabor BE, Darlow RLR. The setting of collagen sols. Kolloid 1989; 205: 134.

21. Piez KA. Characterization of a collagen from codfish skin. Biochemistry 1997; 4: 2590- 96.

22. Kimura S, Ohno Y. Fish skins type 1 collagen. Comp Biochemistr Physiol 1998; 88: 27-34.

23. Asghar A, Henrichson RL, Editors. Chemical biochemical, functional and nutritional characteristics of collagen in food systems. Advances in food researches. London: Academic Press; 1982. p.232-72.

24. Gustavson K, Editor. The chemistry and reactivity of collagen. New York: Academic Press; 1986. p.102-202.

25. Ledward DA, Editor. Gelation of collagen. London: Elsevier Applied Science; 1986. p.233-89.

26. Leuenberger BGH. Investigation of viscosity and gelation properties of different mammalian and fish collagen. Food hydrocoll 1991; 5: 353-61.

27. Montero P, Borderial J. Characterization of hake and trout. J Agric Food Chemistr 1990; 38: 604-609.

28. Dab H, Hachani R, Hodroj W, Sakly M, Bricca G, Kacem K. Differential control of collagen synthesis by the sympathetic and renin–angiotensin systems in the rat left ventricle. Autonom Neurosci Basic Clin 2009; 151: 106–10.

29. Young NJ, Becker DL, Fleck RA, Goodship AE, Patterson-Kane JC. Maturational alterations in gap junction expression and associated collagen synthesis in response to tendon function. Matrix Biol 2009; 28: 311–23.

30. Lin YK, Kuan CY. Development of 4-hydroxyproline analysis kit and its application to collagen quantification. Food Chemistr 2010; 119: 1271–77.

31. Hrckova G, Velebny S, Solar P. Dynamics of hepatic stellate cells, collagen types I and III synthesis and gene expression of selected cytokines during hepatic fibrogenesis following *Mesocestoides vogae* (cestoda) infection in mice. Int J Parasitol 2008; 121: 181–92.

32. Dimopoulos GJ, Langner RO. Inhibition of phosphodiesterase has an additive effect on estrogen's ability to inhibit collagen synthesis in vascular smooth muscle cells. Vasc Pharmacol 2009; 50: 78–82.

33. Freise C, Erben U, Muche M, Farndale R, Zeitz M, Somasundaram R,et al. The alpha 2 chain of collagen type VI sequesters latent proforms of matrix-metalloproteinases and modulates their activation and activity. Matrix Biol 2009; 987: 152–61.

34. Baaijens F, Bouten C, Driessen N. Modeling collagen remodeling. J Biomech 2006: 584: 512-21.

www.SID.ir