استخراج ژلاتین به کمک آبکافت آنزیمی از پوست فیل‌ماهی (*Huso huso*) به روش بهینه یابی سطح پاسخ (RSM)

زهرا اسکندری[۱]، سید علی جعفرپور[*۱]، علی معتمدزادگان[۲]

[*]a.jafarpour@sanru.ac.ir

۱- گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
۲- گروه صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۷

چکیده

ژلاتین ماهی خصوصاً با داشتن خصوصیاتی مانند دمای ذوب پایین‌تر، حل شدن سریع در دهان و عدم ایجاد حالت الاستیکی یکی از مناسب‌ترین جایگزین‌های ژلاتین پستانداران محسوب شده و به‌عنوان غذایی حلال پذیرفته می‌باشد. هدف این مطالعه بررسی تأثیر سه فاکتور دما در سه سطح ۳۰، ۴۰ و ۵۰ درجه سانتی گراد، آنزیم در سه سطح ۰/۰۱٪، ۰/۰۵۵٪ و ۰/۱٪ وزنی-وزنی و pH در سه سطح ۲، ۳ و ۴ بر روی استخراج ژلاتین از پوست فیل‌ماهی بود. در این راستا پارامترهای استحکام ژل در قالب نقطه شکست و عمق نفوذ، بازده ژلاتین و پارامترهای رنگ (*L*a*b*) پودرهای ژلاتین ستخراج‌شده و میزان سفیدی آن اندازه‌گیری شد. بر اساس نتایج بیشترین بازده ژلاتین تولیدی در فرآیند آنزیمی با میزان ۲۱/۶۵٪ مربوط به تیمار با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و نسبت آنزیم ۰/۰۱٪ و pH=۲ بود درحالی‌که این عدد در فرآیند شیمیایی ۱۰٪ به دست آمد. از سوی دیگر، با افزایش pH و درصد آنزیم، استحکام ژل افزایش یافت (p<۰/۰۵). اما دما اثر معنی‌داری بر آن نداشت (p<۰/۰۵). بررسی رنگ ژلاتین نشان داد که میزان روشنایی (*L)، قرمزی (*a) و سفیدی (W) در پودر ژلاتین استخراج‌شده به روش آنزیمی بیشتر از روش شیمیایی بوده (p<۰/۰۵). بیشترین روشنایی در ژلاتینی که با شرایط دمایی ۴۰ درجه سانتی‌گراد، درصد آنزیم ۰/۰۵۵ وزنی-وزنی و pH= ۳ مشاهده شد. بر اساس نتایج بیشترین بازده ژلاتین تولیدشده در فرآیند آنزیمی با میزان ۲۱/۶۵٪ مربوط به تیمار با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و نسبت آنزیم ۰/۰۱٪ و pH=۲ بود درحالی‌که این عدد در فرآیند شیمیایی ۱۰٪ به دست آمد. نتیجه اینکه استفاده از دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و درصد آنزیم ۰/۱ وزنی-وزنی و pH=۴ منجر به استحکام ژل بیشتر ولی استفاده از دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و نسبت آنزیم ۰/۰۱٪ و pH=۲ منجر به تولید ژلاتین با بازده بیشتر می‌شود.

کلمات کلیدی: استحکام ژل،استخراج آنزیمی، بازده، رنگ،ژلاتین،فیل ماهی

[*]**نویسنده مسئول**

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-01]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.4.9.9]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.117817]

مقدمه

ژلاتین یک ترکیب پروتئینی قابل‌حل در آب است که توسط هیدرولیز جزئی از کلاژن بدست می‌آید و پروتئین رشته‌ای اصلی در استخوان‌ها، غضروف و پوست را تشکیل می‌دهد، در واقع منبع، سن حیوان و نوع کلاژن عوامل مؤثر بر خواص ژلاتین می‌باشند (Bailey *et al*., 1998). ژلاتین به‌طور گسترده در بسیاری از زمینه‌های صنعتی قابل استفاده است از جمله غذا، دارو، عکاسی (Rahman *et al*., 2008) و به دلیل خواص بی‌نظیر شیمیایی و فیزیکی کاربرد گسترده‌تری در صنایع غذایی و دارویی دارد (Yang *et al*., 2007). با استفاده از پوشش ژلاتین حاوی اسانس دارچین می‌توان از رشد باکتری‌ها در فیله‌های تازه ماهی جلوگیری نمود و ویژگی‌های حسی آن شامل: بافت، بو، رنگ و پذیرش کلی را نیز تا حدود زیادی حفظ کرد و موجب افزایش دوره نگهداری ماهی در یخچال شد (تقی زاده اندواری و رضایی، ۱۳۹۱). ژلاتین دام به اشکال مختلف و در ابعاد وسیع مصرف جهانی دارد، اما بدبینی و هشدارهای جدی برای مصرف ژلاتین دام وجود دارد (Asher, 1999). این امر اغلب به دلیل عقاید مذهبی در ادیان اسلام و یهود، شیوع بیماری‌های مغزی اسفنجی ژلاتین پستانداران و نیز شیوه های خاص زندگی مانند گیاهخواری است (Karim & Bhat, 2009). ژلاتین ماهی با داشتن خصوصیاتی مانند دمای ذوب پایین‌تر، حل شدن سریع در دهان و عدم ایجاد حالت لاستیکی یکی از مناسب‌ترین جایگزین‌های ژلاتین پستانداران محسوب شده و به عنوان غذایی حلال پذیرفته می‌باشد. از لحاظ تجاری ژلاتین ماهی به دلیل دمای تشکیل ژل و ذوب پایین با ژلاتین پستانداران قابل رقابت نیست. برای برطرف کردن یا کاهش برخی از این مشکلات راهکارهایی مانند استفاده از آنزیم برای استخراج، ارائه شده است که یکی از آنها بهبود استحکام و خصوصیات ژلاتین استخراج شده به روش آنزیمی است (Tong & Ying, 2013). آنزیم پپسین حیوانی که به نام EC ۳،۴،۲۳،۲ نیز شناخته می‌شود، یک پروتئاز اسیدی مهم است که به طور گسترده‌ای در هیدرولیز پروتئین‌ها استفاده می‌شود و جزء پروتئازهای آسپارتیک مهم با بسیاری از ویژگی‌های منحصربفرد در برنامه‌های کاربردی صنعتی و نیز در تحقیقات پزشکی استفاده می‌شود (Zhao *et al*., 2011).

بهینه‌سازی استخراج و خصوصیات کلاژن تهیه شده از پوست ماهی خاویار چینی (*Acipenser sturio Linnaeus*) به کمک آنزیم توسط (Feng *et al*., 2013)، بررسی شد و به این نتیجه رسیدند که الگوهای ژل الکتروفورز دودسیل سولفات-پلی آکریل آمید (SDS-PAGE) نشان داد که پوست ماهی خاویار حاوی کلاژن نوع I است که از زنجیره α و زنجیره β ساخته شده است. طیف مادون قرمز کلاژن همچنین نشان داد که هیدرولیز پپسین بر ساختار ثانویه کلاژن بویژه ساختار سه‌بعدی، تأثیر نمی‌گذارد.

فیل ماهی جزء ماهیان خاویاری و از خانواده تاس ماهیان و از بزرگترین ماهیان آب شیرین است که در دریای خزر، سیاه و آزوف پراکنش طبیعی دارد. نسل این ماهی نیز همانند بسیاری از گونه های خاویاری به دلایلی چند از جمله صید بی رویه و قاچاق، تخریب مناطق تخمریزی و آلودگی های زیست محیطی بشدت کاهش یافته، با این حال تلاش‌هایی برای حفظ ذخایر آن در تفریحگاه ها در حال انجام است (فلاحتکار و شاهواری، ۲۰۰۹). بنابراین، پرورش ماهیان خاویاری جهت تولید گوشت و خاویار و همچنین به دلیل اهمیت آن در کاهش فشار به ذخایر طبیعی مورد توجه می‌باشد و توسعه یافته است (Pourkazemi, 1997). در این تحقیق از فیل ماهی استفاده شد. هدف از این مطالعه استخراج ژلاتین از پوست فیل ماهی خاویاری به کمک آنزیم پپسین و سپس بررسی اثر آنزیم بر بهبود خواص بافتی ژلاتین و ویژگی‌های عملکردی آن نسبت به ژلاتین استخراج شده به روش شیمیایی می‌باشد.

مواد و روش کار

تهیه پوست و آماده‌سازی نمونه

آماده‌سازی پوست به روش (Feng *et al*., 2013) انجام شد. پوست فیل‌ماهی خاویاری (*Huso huso*) پرورشی با همکاری اداره شیلات استان مازندران از استخر پرورش

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-01]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.4.9.9]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.117817]

ماهیان خاویاری واقع در شهرستان بابلسر بخش بهنمیر روستای میرود در شهریور ماه ۱۳۹۶ تهیه گردید و در یونولیت حاوی یخ به محل آزمایشگاه پایلوت فراوری محصولات شیلاتی دانشگاه منابع طبیعی و علوم کشاورزی ساری انتقال داده شد.

فرآیند پیش‌فرآوری پوست فیل‌ماهی خاویاری

پیش تیمار سازی پوست به روش (Feng *et al*., 2013) با اندکی تغییر در مراحل پیش تیمارسازی انجام گردید. محلول ۳/۵٪ نمک طعام (NaCl) ، جهت حذف پروتئین‌های غیرکلاژنی، و محلول ۰/۵٪ سدیم کربنات (Na_2Co_3)، جهت حذف چربی از پوست استفاده گردید. پیش فرآوری اولیه با محلول ۳/۵٪ سدیم کلرید به نسبت ۱:۱۰ وزنی-حجمی با سرعت ۱۸۰ دور در دقیقه به مدت ۶ ساعت به‌صورت مداوم هم زده شد و هر ۳ ساعت محلول تعویض شد. پس از شست‌وشو پوست‌ها با آب مقطر با نسبت ۱:۱۰ وزنی-حجمی با محلول ۰/۵٪ سدیم کربنات با سرعت ۱۸۰ دور در دقیقه به مدت ۶ ساعت به‌صورت مداوم هم زده شد و هر ۳ ساعت محلول عوض شد. سپس با آب مقطر شسته و فرآیند استخراج انجام شد.

استخراج ژلاتین از پوست: استخراج به روش (Tong & Ying, 2013) با اندکی تغییر در مراحل استخراج انجام شد. ژلاتین از پوست پیش تیمار یافته در آب مقطر به نسبت (۱:۲/۸) وزنی-حجمی در دماهای (۳۰، ۴۰و ۵۰) درجه سانتی‌گراد و درصد آنزیم (۰/۰۱، ۰/۰۵۵ و ۰/۱) وزنی-وزنی و pH (۲، ۳ و ۴) به مدت ۶ ساعت و ۴۵ دقیقه در بن ماری (Fan azma gostar, Iran) انجام شد به‌منظور تنظیم pH مناسب جهت فعالیت آنزیم در طول مدت استخراج هر ۳۰ دقیقه یک‌بار pH توسط pH متر (pH meter, CB 16 NW, U.K) اندازه‌گیری شد و برای رساندن آن به مقدار موردنظر از هیدروکلریک اسید و سدیم هیدروکسید ۱ نرمال استفاده شد. پس از پایان استخراج مخلوط در حمام آب جوش به مدت ۵ دقیقه برای غیرفعال کردن آنزیم‌ها قرار گرفت و در مرحله بعد محلول از پارچه تنظیف عبور یافته و سپس در سانتریفوژ (Santerifuge, Universal Santerifuge, Iran) با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه به منظور خالص‌سازی قرار داده شد و در نهایت به منظور خشک کردن مواد فیلتر شده و دستیابی به پودر خشک، از خشک‌کن انجمادی (Freeze Dryer, operon, FDU-8624, South Korea) استفاده شد. برای این منظور محلول ژلاتین در ظروف یکبار مصرف ریخته شدند، ابتدا در قسمت فریزر یخچال معمولی در دمای ۱۸- قرار گرفتند، بعد از منجمد شدن نمونه‌ها، در داخل اتاقک خشک‌کن انجمادی در دمای ۸۵- درجه سلسیوس قرار داده شدند تا فرآیند خشک شدن تحت خلأ را سپری نمایند. پودرهای تولیدشده در کیسه‌های زیپ‌دار در فریزر در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد تا زمان ارزیابی ویژگی‌های آن نگهداری شدند.

تعیین استحکام ژل

استحکام ژل به روش (Mohtar *et al*., 2013) با اندکی تغییر با استفاده از دستگاه بافت سنج تعیین شد. برای اندازه‌گیری استحکام ژل ابتدا محلول ژلاتین ۳٪ وزنی-حجمی تهیه شد. سپس نمونه‌های محلول ژلاتین ۳٪ در ظرف‌های پلاستیکی با قطر ۵/۵ و ارتفاع ۳ سانتیمتر ریخته شد نمونه‌ها به منظور طول دوره قوام ژل، به مدت ۱۶-۱۸ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. بلوم نمونه‌های ژل در شرایط دستگاهی، با پیستون استوانه‌ای با قطر ۱/۲۷ سانتی‌متر ، بار سل ۱۰ کیلو نیوتون، سرعت نفوذ ۱ میلی‌متر بر ثانیه و عمق نفوذ ۱۰ میلی‌متر در ژل، اندازه‌گیری و ثبت شد و عدد بلوم از طریق معادله ذیل محاسبه شد.

$$\text{Gel Strength (g)}=\text{Load (g)} \times \text{Distance (mm)}$$

بازده ژلاتین

مقدار بازده ژلاتین استخراج‌شده مطابق روش (Alfaro *et al*., 2009) از طریق معادله ذیل محاسبه گردید:

$$\text{بازده} = \frac{\text{وزن ژلاتین خشک شده}}{\text{وزن پوست اولیه}} \times ۱۰۰$$

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-01]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.4.9.9]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.117817]

تعیین رنگ

اندازه‌گیری رنگ به روش (Chanarat & Benjakul, 2012) با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج مدل (IMG-Pardazesh Cam-Systeme XI) با منبع نوری ۴۵ درجه و ناظر صفر درجه رنگ سنجی شد.

تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش به منظور بهینه‌سازی تیمارهای آزمایشی از طرح آماری روش سطح پاسخ Response surface methodology (RSM) استفاده می‌شود. به منظور بهینه‌سازی فرآیند استخراج آنزیمی ژلاتین از طرح مرکب مرکزی (Central composite rotatable design) استفاده خواهد شد. بهینه‌سازی بر اساس قدرت ژل به عنوان شاخص در نظر گرفته شد. اثر متغیرهای مستقل شامل دما (۳۰، ۴۰و ۵۰) درجه سانتیگراد، درصد آنزیم (۰/۰۱، ۰/۰۵۵ و ۰/۱) وزنی-وزنی و pH (۲، ۳ و ۴) در سه سطح مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۱). آزمون آماری مدل بدست‌آمده برای هر پاسخ بر اساس آزمون آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA صورت گرفت. جهت طراحی آزمایش، آنالیز نتایج، رسم نمودارها و بهینه‌سازی از نرم‌افزار دیزاین اکسپرت (نسخه ۷) (Design Expert 7.00) استفاده شد.

جدول ۱: سطوح متغیرهای آزمایشی جهت استخراج ژلاتین از پوست فیل ماهی

Table 1: Experimental variables levels for gelatin extraction from *Huso huso* skin.

نوع متغیر	نماد	سطوح کدبندی شده		
		+۱	۰	-۱
دما (° c)	A	۵۰	۴۰	۳۰
نسبت آنزیم (w/w)	B	۰/۱	۰/۰۵۵	۰/۰۱
pH	C	۴	۳	۲

نتایج

اندازه گیری استحکام ژل

نتایج اندازه‌گیری استحکام ژل در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس (جدول ۳) پاسخ استحکام ژل ژلاتین استخراج شده نشان دادند. تغییرات pH بیشترین تأثیر را بر میزان استحکام ژل ژلاتین استخراج شده به روش آنزیمی داشته است ($p<۰/۰۱$). نمودار سه بعدی در شکل ۱ اثر نسبت آنزیم و pH را بر میزان استحکام ژل ژلاتین استخراج‌شده نشان می‌دهد.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان بازده

نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان بازدهی پودر ژلاتین استخراج شده در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس (جدول ۳) پاسخ میزان بازده را نشان می‌دهد. نمودار سه‌بعدی سطح پاسخ برای داده‌های حاصل از نتایج آنالیز واریانس بازدهی پودر ژلاتین استخراج‌شده در شکل ۲ به نمایش گذاشته شده است.

اندازه‌گیری رنگ پودر ژلاتین استخراج‌شده

نتایج اندازه‌گیری رنگ پودر ژلاتین استخراج‌شده در جدول ۵ ارائه شده است. نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس (جدول ۳) پاسخ میزان سفیدی پودر ژلاتین استخراج شده را نشان می دهد. نمودار سه‌بعدی در شکل ۳ اثر نسبت آنزیم و pH را بر میزان سفیدی پودر ژلاتین استخراج‌شده نشان داده است.

با توجه به اطلاعات موجود در جدول (۴) مدل های بدست آمده و برازش داده شده در تمامی سطح پاسخ‌های مورد بررسی در آزمایش (متغیرهای وابسته)، صحت مدل از ضریب تبیین (R^2) و ضریب تبیین اصلاح شده بالا برخوردار بود (جدول ۴).

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-01]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.4.9.9]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.117817]

جدول۲: نتایج اندازه‌گیری میزان استحکام ژل و میزان بازدهی ژلاتین استخراج شده به روش آنزیمی از پوست فیل ماهی در طرح سطح پاسخ بهینه

Table 2: The firmness and yield data related to the extracted gelatin from *Huso huso* skin by enzymatic method in RSM design.

تیمار	دما (°c)	نسبت آنزیم (%)	pH	استحکام ژل (g)	بازده (%)
۱	۴۰	۰/۱	۳	۱۰۷۹/۷	۱۷/۶۵±۱
۲	۳۰	۰/۰۱	۲	۹۴۹/۲	۱۹/۴۲۵±۱
۳	۵۰	۰/۱	۴	۱۳۱۶/۴۸	۱۴/۸±۱
۴	۵۰	۰/۰۵۵	۳	۹۶۳/۲۷	۱۸/۰۲۵±۱
۵	۳۰	۰/۱	۴	۲۴۶۶/۳۶	۷/۴۵±
۶	۴۰	۰/۰۵۵	۳	۵۰۳/۹	۱۸/۱۲±۱
۷	۵۰	۰/۰۱	۴	۱۰۱۱/۹	۱۶/۶۲۵±۱
۸	۳۰	۰/۰۱	۴	۱۰۵۱/۰۵	۱۰/۰۵±۱
۹	۴۰	۰/۰۵۵	۳	۹۹۳/۵۵	۱۸/۰۱۲۵±۱
۱۰	۴۰	۰/۰۵۵	۲	۸۹۹/۶	۱۶/۲۵±۱
۱۱	۳۰	۰/۱	۲	۹۴۱/۴۲	۱۷/۵۵±۱
۱۲	۴۰	۰/۰۵۵	۳	۸۸۹/۳	۱۸/۹±۱
۱۳	۴۰	۰/۰۵۵	۳	۸۲۸/۶	۱۷/۸۷۵±۱
۱۴	۵۰	۰/۱	۲	۷۹۹/۹	۲۰/۴۲۵±۱
۱۵	۴۰	۰/۰۵۵	۳	۹۱۶/۸	۱۶/۵۷۵±۱
۱۶	۳۰	۰/۰۵۵	۳	۹۱۳/۲۵	۱۲/۵۵±۱
۱۷	۴۰	۰/۰۵۵	۳	۹۰۹/۹۲	۱۸/۱۵±۱
۱۸	۴۰	۰/۰۵۵	۴	۲۰۸۷/۷	۱۲/۸±۱
۱۹	۵۰	۰/۰۱	۲	۴۸۳/۰۸	۲۱/۶۵±۱
۲۰	۴۰	۰/۰۱	۳	۶۷۹/۴۵	۱۸/۷۲۵±۱
شیمیایی	۷۵	۰	۰	۱۱۲۴/۷۶	۱۰±۱

جدول ۳: آنالیز واریانس نتایج استحکام ژل، بازده و سفیدی پودر ژلاتین استخراج شده از پوست فیل ماهی به روش آنزیمی

Table 3: The ANOVA results of gelatin gel strength, yield and powder whiteness in respond surface method extracted from Beluga *H. huso* skin by enzymatic method

مدل‌ها	استحکام ژل		بازده		سفیدی	
منبع	مجموع مربعات	سطح احتمال	مجموع مربعات	سطح احتمال	مجموع مربعات	سطح احتمال
مدل	+۰۰۶E۳/۴۳۰	۰/۰۰۸۲	۲۱۴/۵۶	۰/۰۰۰۱	۱۵۶/۵۱	۰/۰۱۶۶
A	+۰۰۵E۳/۰۵۱	۰/۰۶۸۱	۶۰/۰۲	۰/۰۰۰۱	۰/۹۰	۰/۷۱۴۷
B	+۰۰۵E۵/۹۱۵	۰/۰۱۷۳	۷/۴۰	۰/۰۶۰۶	۷۹/۰۷	۰/۰۰۳۹
C	+۰۰۶E۱/۴۹۰	۰/۰۰۱۱	۱۱۲/۷۳	<۰/۰۰۰۱	۱۰/۲۸	۰/۲۲۸۸
AB	۷۷۲۵۰/۰۵	۰/۷۷۳۲	۰/۲۵	۰/۷۰۳۶	۰/۰۷۶	۰/۹۱۵۲
AC	۴۲۲۵۱/۷۹	۰/۴۶۴۲	۹/۷۴	۰/۰۳۵۷	۰/۴۰	۰/۸۰۸۱
BC	+۰۰۵E۲/۴۸۸	۰/۰۹۴۵	۰/۲۲	۰/۷۲۳۴	۶۵/۷۸	۰/۰۰۷۰
A^2	۱۹۶۷۶/۲۷	۰/۶۱۴۸	۴/۲۴	۰/۱۴۰۴	–	–
B^2	۵۷۶۳۷/۲۸	۰/۳۹۴۹	۷/۵۶	۰/۰۵۸۴	–	–
C^2	+۰۰۵E۶/۰۹۶	۰/۰۱۶۱	۱۱/۰۵	۰/۰۲۷۲	–	–
باقیمانده	+۰۰۵E۷/۲۹۵	–	۱۶/۵۵	–	۸۳/۸۲	–
عدم برازش	+۰۰۵E۵/۷۹۶	۰/۰۸۲۰	۱۳/۶۸	۰/۰۵۵۸	۷۳/۰۶	۰/۰۶۴۱
خطای خالص	+۰۰۵E۱/۴۹۹	–	۲/۸۷	–	۱۰/۷۶	–
مجموع مربعات کل	+۰۰۶E۴/۱۵۹	–	۲۳۱/۱۱	–	۲۴۰/۳۳	–

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-01]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.4.9.9]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.117817]

جدول ۴: مدل های برازش داده شده برای پارامترهای مورد اندازه گیری پودر ژلاتین استخراج شده

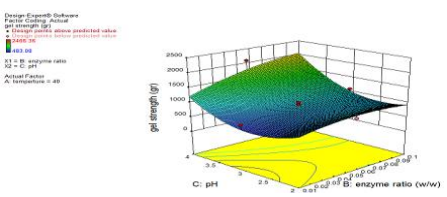
Title 4: Fitted models related to measured parameters of the extracted gelatin powder from *H. huso* skin

ردیف	متغیر اندازه گیری شده	مدل بدست آمده	R^2	-adjR^2
۱	استحکام ژل	$Y=۱۰۲۴۶/۷۱B-۲۳۶۳/۶۴C+۴۷۰/۸C^2$	۰/۸۲۴۶	۰/۶۷۶۶
۲	بازده	$Y=-۳/۲۴۶۱۱+۰/۸۸۶۲۰A+۴/۴۶۱۷۵C+۰/۱۱۰۳۱AC-۲/۰۰۴۸۹C^2$	۰/۹۲۸۴	۰/۸۶۳۹
۳	سفیدی	$Y=-۲۴۴/۹۸۸۸۹B+۶۳/۷۲۲۲۲BC$	۰/۶۵۱۲	۰/۴۹۰۲

جدول۵: نتایج حاصل از اندازه‌گیری رنگ پودر ژلاتین استخراج‌شده به روش آنزیمی از پوست فیل ماهی

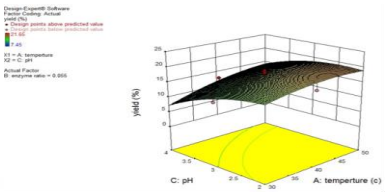
Table 5: The color data of gelatin powder extracted by enzymatic method from *H. huso* skin

تیمار	دما (°c)	نسبت آنزیم (%)	pH	L	a*	b*	W
۱	۴۰	۰/۱	۳	۶۷/۹۷±۳/۳۹	-۰/۱۲±۲/۶۵	۲/۴±۲/۸۹	۶۸/۶۸±۳/۴۳
۲	۳۰	۰/۰۱	۲	۷۷/۲۹±۲/۸۶	-۰/۷۶±۱/۰۶	۱/۸۹±۱/۶۷	۷۷/۱۳±۲/۸۶
۳	۵۰	۰/۱	۴	۷۱/۲۴±۴/۲۷	-۰/۰۹±۲/۰۴	۱/۳۶±۲/۵۹	۷۱/۰۳±۴/۳۵
۴	۵۰	۰/۰۵۵	۳	۷۳/۴۲±۱/۰۸	-۱/۹۸±۱/۱۹	۴/۸۷±۲/۱۶	۷۲/۸۱±۱/۳۶
۵	۳۰	۰/۱	۴	۷۵/۰۵±۲/۳۳	-۲/۵۲±۱/۵۷	۵/۹۷±۲/۲۹	۷۴/۱۳±۲/۷۱
۶	۴۰	۰/۰۵۵	۳	۷۹/۳۹±۱/۰۴	-۰/۶۱±۰/۵۷	۱/۰۳±۱/۰۲	۷۹/۳۶±۱/۰۳
۷	۵۰	۰/۰۱	۴	۷۶/۶۵±۴/۰۹	۰/۴۲±۲/۱۹	۱/۵۳±۱/۵۵	۷۳/۵±۴/۱۴
۸	۳۰	۰/۰۱	۴	۶۹/۱۶±۲/۴	۰	۰	۶۹/۱۶±۲/۴
۹	۴۰	۰/۰۵۵	۳	۷۷/۸۷±۱/۱۳	-۲/۱۲±۱/۵۸	۵/۵۲±۲/۱۴	۷۷/۴۶±۱/۳۲
۱۰	۴۰	۰/۰۵۵	۲	۶۸/۵±۲/۶۴	-۱/۳۸±۱/۳۵	۹/۶۰±۴/۷۷	۶۶/۷۵±۲/۶۹
۱۱	۳۰	۰/۱	۲	۶۴/۸۴±۳/۷	-۱/۸۹±۲/۴۴	۸/۸۳±۱/۷۱	۶۳/۵۸±۳/۳۵
۱۲	۴۰	۰/۰۵۵	۳	۷۷/۴۵±۱/۱۷	-۱/۳۶±۱/۰۷	۳/۲۷±۱/۵۸	۷۷/۰۲±۱/۳۵
۱۳	۴۰	۰/۰۵۵	۳	۷۹/۸۱±۱/۰۱	۰	۰	۷۹/۸۱±۱/۰۱
۱۴	۵۰	۰/۱	۲	۷۱/۷۸±۲/۰۴	-۵/۹۹±۰/۴۴	۱۲/۷۲±۱/۳۹	۶۸/۴۲±۱/۶۵
۱۵	۴۰	۰/۰۵۵	۳	۷۸/۹۸±۱/۰۸	-۰/۶۱±۰/۵۷	۱/۰۳±۱/۰۲	۷۸/۹۲±۱/۰۶
۱۶	۳۰	۰/۰۵۵	۳	۷۴/۲۴±۱	-۱/۰۹±۰/۷۷	۲/۱۴±۱/۷۸	۷۴/۰۷±۱/۱
۱۷	۴۰	۰/۰۵۵	۳	۷۵/۹۳±۱/۲۶	-۲/۱۲±۱/۵۸	۵/۵۲±۲/۱۴	۷۵/۱۲±۱/۶۴
۱۸	۴۰	۰/۰۵۵	۴	۷۳/۷۱±۴/۴۹	-۱/۰۲±۱/۳۹	۱/۹۴±۲/۶۶	۷۳/۵۱±۴/۵۶
۱۹	۵۰	۰/۰۱	۲	۷۵/۸±۱/۲۴	-۱/۲۴±۱/۲۷	۴/۳۵±۱/۷۹	۷۵/۳۱±۱/۳۵
۲۰	۴۰	۰/۰۱	۳	۷۸/۸۶±۱/۲۴	۰	۰	۷۸/۸۶±۱/۲۴
شیمیایی	۷۵	۰	۰	۶۹/۴۷±۴/۴۱	-۵/۴۶±۲/۹۹	۱۴/۸۱±۳/۳۸	۶۵/۳۰±۳/۴۱



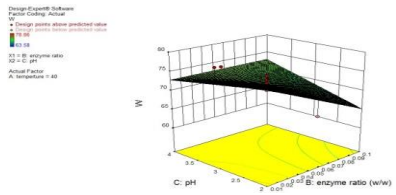
شکل ۱: نمودار سه بعدی اثر نسبت آنزیم و pH بر استحکام ژل ژلاتین استخراج شده از پوست فیلماهی

Figure 1: The 3D diagram of enzyme ratio and pH effects on the gel strength of extracted gelatin from *H. huso*.



شکل۲: نمودار سه بعدی اثر دما و pH بر بازدهی ژلاتین استخراج شده از پوست فیلماهی

Figure 2: The 3D diagram of enzyme ratio and pH effects on the yield of extracted gelatin from *H. huso* skin.



شکل۳: نمودار سه بعدی اثر نسبت آنزیم و pH بر سفیدی رنگ پودر ژلاتین استخراج شده از پوست فیلماهی

Figure 3: The 3D diagram of enzyme ratio and pH effects on the whiteness of extracted gelatin powder from *H. huso* skin.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-01]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.4.9.9]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.117817]

بحث

استحکام ژل

در روش استخراج آنزیمی بالاترین قدرت ژل ژلاتین (۲۴۶۶/۳۶ گرم) مربوط به ژلاتین استخراج‌شده با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و درصد آنزیم ۰/۱ و pH=۴ بوده است. مشاهده شد که هرچقدر pH هیدرولیز افزایش‌یافته، قدرت ژل به دلیل فعالیت پایین آنزیم در این pH و درنتیجه هیدرولیز کمتر زنجیره‌های پلی پپتیدی توسط آنزیم، مناسب‌تر بوده است. این نتیجه با نتایج Damrongsakkul و همکاران (۲۰۰۸) که دریافتند با افزایش pH میزان اثر هیدرولیز آنزیم پاپائین بر روی زنجیره استخراجی کاهش می‌یابد و درنتیجه استحکام ژل بهبود می‌یابد، مطابقت داشت. استحکام این ژل به‌طور قابل‌توجهی از قدرت ژل استخراج‌شده به روش شیمیایی از پوست فیل‌ماهی (g ۱۱۲۴/۷۶) بیشتر بود. کمتر بودن قدرت ژل در روش شیمیایی احتمالاً به خاطر اثر تخریبی مواد شیمیایی بر زنجیره پروتئینی و کوتاه شدن زنجیره آن می‌باشد. این نتیجه با نتایج حاصله Nalinanon و همکاران (۲۰۰۷) که ژلاتین تهیه‌شده از پوست سرخو چشم درشت را با استفاده از آنزیم پپسین بررسی کردند، مطابقت داشت. با مراجعه به داده‌های حاصل از این پژوهش کمترین میزان استحکام ژل در این مطالعه مربوط به تیمار ۱۹ با دمای ۵۰ و نسبت آنزیم ۰/۰۱٪ و pH=۲ می‌باشد. میزان استحکام ژل این تیمار در مقایسه با بهترین تیمار معادل (۰/۰۵٪) کمتر می‌باشد. که علت آن آبکافت و فعالیت زیاد آنزیم در این pH و به دنبال آن کوتاه شدن زنجیره‌های پلی پپتیدی پروتئین و در نتیجه استحکام پایین ژل می‌باشد. از سوی دیگر، با مراجعه به تیمار مرکزی (تیمار ۱۷) مشاهده گردید که استحکام ژل مربوط به این تیمار معادل ۹۰۹/۹۲ گرم می‌باشد که با مقایسه آن با بهترین تیمار و بدترین تیمار بترتیب دارای قدرت ژلی معادل (۰/۰۲۸٪) کمتر و (۰/۰۲٪) بیشتر می‌باشد. رسیدن به استحکام بالا را می‌توان به علت استفاده از آنزیم و عدم تخریب زنجیره‌های آلفا و نقش آنها در جلوگیری از تخریب اضافی پپتیدها دانست (Feng *et al*., 2013).

بازده

بیشترین میزان بازده ژلاتین تولیدی به روش آنزیمی از پوست فیل‌ماهی مربوط به تیمار با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و درصد آنزیم ۰/۰۱ وزنی-وزنی و pH=۲ (۲۱/۶۵٪) بود و میزان آن در روش شیمیایی ۱۰٪ بود. در این مطالعه مشاهده شد که استفاده از کمترین میزان آنزیم (۰/۰۱٪) و بیشترین دما (۵۰ درجه سانتی‌گراد) برای استخراج ژلاتین بازده آن را نسبت به روش شیمیایی بیش از دو برابر افزایش داد. بنابراین به نظر می‌رسد در pH پایین و پایین‌ترین سطح آنزیم و بالاترین سطح دما که بالاترین بازدهی بدست آمده انتظار می‌رود در همین سطح pH با افزایش درصد آنزیم از ۰/۰۱ به ۰/۱ بتوان بازدهی بالاتری را به دست آورد اما در این مطالعه خلاف این امر مشاهده گردید که این بدان معناست که در pH=۲ فعالیت آنزیم بسیار کاهش‌یافته است و عمده‌ترین فعالیت هیدرولیزی منحصراً مربوط به عملکرد خود pH و دما می‌باشد نه آنزیم، زیرا در تیمار ۰/۱٪ آنزیم و pH=۲ میزان بازدهی معادل۱۷/۵۵٪ (تیمار۱۱) که خود مؤید این امر می‌باشد. با مراجعه به داده‌های حاصل از این پژوهش کمترین میزان بازده ژلاتین استخراج‌شده مربوط به تیمار ۵ با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و درصد آنزیم ۰/۱٪ و pH=۴ بوده است که با توجه به داده‌های بدست آمده میزان بازده در این تیمار در مقایسه با تیمار دارای بیشترین میزان بازده (تیمار۱۹) معادل (۰/۰۳٪) کمتر می‌باشد. از سوی دیگر، با مراجعه به تیمار مرکزی (تیمار۱۷) مشاهده شد که بازده ژلاتین استخراج شده مربوط به این تیمار معادل (۱۸/۱۵٪) می‌باشد که با مقایسه آن با تیمار دارای بیشترین میزان بازده (تیمار۱۹) و تیمار دارای کمترین میزان بازده (تیمار ۵) بترتیب دارای بازدهی معادل (۰/۰۱۲٪) کمتر و (۰/۰۲٪) بیشتر می‌باشد. بازده پایین ژلاتین تهیه‌شده به روش شیمیایی ممکن است به علت حلالیت پایین پیوندهای عرضی شکل‌گرفته از طریق واکنش آلدهید با لیزین و هیدروکسی لیزین در قسمت‌های مارپیچی پپتید انتهایی باشد (Knott & Bailley, 1998). در مطالعه Matmaroh و همکاران (۲۰۱۱) که در رابطه با خواص کلاژن محلول

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-01]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.4.9.9]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.117817]

استخراج شده به کمک پپسین و اسید از فلس بز ماهی صورت گرفت، به این نتیجه رسیدند که میزان بازده کلاژن استخراج‌شده بر اساس وزن خشک به کمک پپسین (۱/۲٪) و در روش شیمیایی (۰/۴۶٪) یعنی حدود ۲/۶۱ برابر افزایش یافت. تفاوت در میزان بازده ممکن است به دلیل تفاوت در گونه ماهی، شرایط بیولوژیک و روش‌های آماده‌سازی مرتبط باشد (Regenstein & Zhou, 2007) . نتایج نشان داد که پپسین در افزایش بازده ژلاتین استخراج‌شده از پوست فیل‌ماهی خاویاری مؤثر بوده است.

رنگ

رنگ ژلاتین به‌طورکلی وابسته به شرایط استخراج و مواد خام اولیه است. رنگ ژلاتین جزء خواص زیبایی‌شناسی آن است و به کاربرد آن وابسته است. در ضمن، رنگ اثری بر خواص عملکردی ژلاتین ندارد (Ockerman & Hansen, 1988). بیشترین مقدار شاخص L (تیمار ۱۳)،a* (تیمار۷) و b* (تیمار ۱۴) و W (تیمار ۱۳) به ترتیب برای ژلاتین استخراج شده به روش آنزیمی ۷۹/۸۱ ، ۰/۴۲، ۱۲/۷۲و ۷۹/۸۱ و برای ژلاتین استخراج شده به روش شیمیایی ۶۹/۴۷، ۵/۴۶- و ۱۴/۸۲ و ۶۵/۳ بوده است. این نتایج نشان داد که روشنایی (L)، قرمزی (a*) و سفیدی (W) ژلاتین استخراج‌شده به روش آنزیمی نسبت به روش شیمیایی بیشتر بود و میزان زردی (b*) ژلاتین تهیه شده به روش آنزیمی نسبت به شیمیایی کمتر بود و دارای اختلاف معنی‌دار است ($p<0/05$). رنگ ژلاتین استخراج‌شده به روش آنزیمی از پوست سپر ماهی با ژلاتین گاوی استخراج شده به روش شیمیایی توسط Lassoued و همکاران (۲۰۱۴) بررسی گردید و دریافتند که ژلاتین استخراج‌شده به روش آنزیمی دارای میزان روشنایی (L) بیشتری نسبت به ژلاتین تهیه‌شده به روش شیمیایی است.

نتیجه گیری

در روش استخراج آنزیمی بالاترین قدرت ژل ژلاتین مربوط به ژلاتین استخراج‌شده با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و درصد آنزیم ۰/۱ و pH=۴ بوده است. مشاهده شد که هر چه pH هیدرولیز افزایش یابد، قدرت ژل به دلیل فعالیت پایین آنزیم در این pH و در نتیجه هیدرولیز کمتر زنجیره‌های پلی‌پپتیدی توسط آنزیم، مناسب‌تر بوده است. در pH پایین و پایین‌ترین سطح آنزیم و بالاترین سطح دما بالاترین بازدهی بدست آمد. میزان بازده ژلاتین تهیه شده به روش شیمیایی نسبت به روش آنزیمی احتمالاً به علت حلالیت پایین پیوندهای عرضی شکل‌گرفته از طریق واکنش آلدهید با لیزین و هیدروکسی لیزین در قسمت‌های مارپیچی پپتید انتهایی پایین‌تر است و همچنین از نظر رنگ، پودر ژلاتین استخراج شده در روش آنزیمی دارای میزان روشنایی بیشتری است.

منابع

تقی زاده اندواری، ق. و رضایی، م، ۱۳۹۱. اثر پوشش ژلاتین همراه با اسانس دارچین بر دوره ماندگاری فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در دمای یخچال، *مجله علمی شیلات ایران*، ۲۱(۱): ۲۴-۱۳.

Asher, D.M., 1999. The transmissible spongiform encephalopathy agents: concerns and responses of United States regulatory agencies in maintaining the safety of biologics. Developments in biological standardization, 100**:**103-118

Bailey, A.J., Paul, R.G. and Knott, L., 1998. Mechanisms of maturation and ageing of collagen. Mechanisms of ageing and development, 108**:**439-445. DOI:. 10.1016/S0047-6374(98)00119-5.

Chanarat, S. and Benjakul, S., 2012. Comparative study on protein cross-linking and gel enhancing effect of microbial transglutaminase on surimi from different fish. Journal of the Science of Food and

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-01]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.4.9.9]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.117817]

Lassoued, I., Jridi, M., Nasri, R., Dammak, A., Hajji, M., Nasri, M. and Barkia, A., 2014. Characteristics and functional properties of gelatin from thornback ray skin obtained by pepsin-aided process in comparison with commercial halal bovine gelatin. Food Hydrocolloids, 41:309-318. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2014.04.029

Matmaroh, K., Benjakul, S., Prodpran, T., Encarnacion, A.B. and Kishimura, H., 2011. Characteristics of acid soluble collagen and pepsin soluble collagen from scale of spotted golden goatfish (Parupeneus heptacanthus). Food chemistry, 129:1179-1186. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.05.099

Mohtar, N.F., Perera, C.O., Quek, S.Y. and Hemar, Y., 2013. Optimization of gelatine gel preparation from New Zealand hoki (*Macruronus novaezelandiae*) skins and the effect of transglutaminase enzyme on the gel properties. Food hydrocolloids, 31**:**204-209. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2012.10.011

Nalinanon, S., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Kishimura, H., 2007. Use of pepsin for collagen extraction from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). Food Chemistry, 104**:**593-601. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.12.035

Ockerman, H.W. and Hansen, C.L., 1988. Glue and gelatin animal by-product processing, New York, Ellis Horwood. pp133-157.

Pourkazemi M., 1997. The survey status of sturgeon fishes and their conservation in the Agriculture, 92**:**844-852. DOI: 10.1002/jsfa.4656

Da Trindade Alfaro, A., Simoes Dacosta, C., Graciano Fonseca, G. and Prentice, C., 2009. Effect of Extraction Parameters on the Properties of Gelatin from King Weakfish (Macrodon ancylodon) Bones. Journal of Food Science and Technology International, 15:553-562. DOI: 10.1177/1082013209352921

Damrongsakkul, S., Ratanathammapan, K., Komolpis, K., Tanthapanichakoon, W., 2008. Enzymatic hydrolysis of rawhide using papain and neutrase. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 14:202-206. DOI: 10.1016/j.jiec.2007.09.010

Feng, W., Zhao, T., Zhou, Y., Li, F., Zou, Y., Bai, S. and Wu, X., 2013. Optimization of enzyme-assisted extraction and characterization of collagen from Chinese sturgeon (*Acipenser sturio Linnaeus*) skin. Pharmacognosy magazine, 9**:**S32-S37. DOI: 10.4103/0973-1296.117859

Karim, A.A. and Bhat, R., 2009. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. Food hydrocolloids, 23**:**563-576. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2008.07.002

Knott, L. and Bailley, A.J., 1998. Collagen cross-links in mineralizing tissues: A review of their chemistry, function, and clinical relevance. Review Article, 22:181-187. DOI: 10.1016/S8756-3282(97)00279-2

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-01]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.4.9.9]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.117817]

Caspian Sea. Iranian Journal of Fisheries Science, 3:13-22.

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. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.10.079

Regenstein, J.M. and Zhou, P., 2007. Collagen and gelatin from marine by-product, Maximising the value of marine by-products, Elsevier, pp279-303.

Tong, Y. and Ying, T., 2013. Gelling strength improvement and characterization of a gelatin from scales of bighead carp (*Aristichthys nobilis*). Journal of Food, Agriculture and Environment, 11**:**146-150.

Yang, H., Wang, Y., Jiang, M., Oh, J.H., Herring, J. and Zhou, P., 2007. 2-Step Optimization of the extraction and subsequent physical properties of channel catfish (*ictalurus punctatus*) skin gelatin. Food Science, pp72. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2007.00319.x

Zhao, L., Budge, S.M., Ghaly, A.E., Brooks, M.S. and Dave, D., 2011. Extraction, purification and characterization of fish pepsin: a critical review. Food Process Technol, 2**:**6-2. DOI: 10.4172/2157-7110. 1000126

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-01]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.4.9.9]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.117817]

Enzymatic assisted extraction of gelatin from Beloga (*Huso huso)* fish skin in response surface method (RSM)

Eskandari Z. [1], Jafarpour S.A.[1*], Motamedzadegan A.[2]

[*]a.jafarpour@sanru.ac.ir

1. Department of Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.
2. Department of Food Science and technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-01]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.4.9.9]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2018.117817]

Abstract

Fish gelatin, by benefiting the lower melting point, quicker mouth melting and presenting elastic characteristics is considered as the most proper substitute for mammalians gelatin and as a Halal food item. The aim of this study was to evaluate the effects of temperature at three levels of 30, 40 and 50 ºC, enzyme at 0.055%, 0.01% and 0.1% (w/w) levels and pH at 2, 3 and 4 levels on the quality of extracted gelatin from *Huso huso* fish skin. Accordingly, the gel strength in form of breaking force and distance, yield and color (*L*a*b**) and whiteness of resultant gelatin were determined. According to the results, the highest gelatin yields as 21.65% was related to the enzymatic assisted method at 50 ºC, 0.01% enzyme at pH=2, whereas it was obtained as 10% at the chemical extraction method. Based on the results, despite from temperature, by increasing of pH and enzyme percentage, the firmness of gelatin was increased ($p<0.05$). The highest firmness was recorded at 30 ºC, 0.1% enzyme at pH=4. The color data revealed that lightness (*L**), redness (*a**) and whiteness of enzymatic extracted gelatin powder was higher that the chemical extracted one ($p<0.05$). The highest lightness was observed at 40 ºC, 0.055% enzyme at pH=3. In conclusion, by application of 30 ºC and 0.1% enzyme at pH=4 the highest gelatin with the highest firmness is achievable, while using 50 ºC and 0.01% enzyme at pH=2 could results the gelatin yield.

Keywords: Firmness, Enzymatic Extraction, Yield, Color, Gelatin, *Huso huso*

[*]Corresponding author