مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال سیزدهم، شماره 1، بهار 1397، صفحات 113-105

بررسی ویژگی‌های ژلاتین استخراج شده از زایدات کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) به روش هیدرولیز آنزیمی

آرمین میرزاپور کوهدشت[1]، مرضیه موسوی نسب[2]، محمود امین‌لاری[3]

1- نویسنده مسئول: دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، ایران. پست الکترونیکی: Armin.mirzapour@shirazu.ac.ir

2- استاد گروه علوم و صنایع غذایی و گروه پژوهشی فرآوری آبزیان، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، ایران

3- استاد گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، ایران

تاریخ دریافت: 95/11/12 تاریخ پذیرش: 96/3/14

چکیده

سابقه و هدف: ژلاتین یک پروتئین کلوئیدی پر مصرف با خواص منحصر به فرد است که به شکل گسترده‌ای در صنایع غذایی، داروسازی، پزشکی و عکاسی مورد استفاده قرار می‌گیرد. از طرفی مقادیر قابل توجهی از پس‌ماند ماهی‌ها در کارخانجاتی که از ماهی به‌عنوان ماده اولیه استفاده می‌کنند، به شکل ضایعات بدون مصرف هدر می‌رود. هدف از این پژوهش تولید ژلاتین توسط پروتئاز میکروبی، از فلس و باله ماهی کپور معمولی بود.

مواد و روش‌ها: برای تولید ژلاتین، مقادیر 5، 10، 15، 20 و 25 واحد پروتئاز قلیایی میکروبی به ازای هر گرم پودر فلس و باله افزوده و عملیات آبکافت انجام شد. ژلاتین حاصل در سطح 20 واحد پروتئاز که میزان بهینه برای تولید آن بود، از نظر فیزیکوشیمیایی و ویژگی‌های عملکرد با ژلاتین تجاری گاوی مقایسه شد. همچنین بازده تولید ژلاتین بر اساس وزن مرطوب پودر فلس و باله در غلظت‌های مختلف آنزیم، اندازه‌گیری شد. همچنین در نهایت با استفاده از الکتروفورز نمونه ژلاتین مورد بررسی مولکولی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین خواص امولسیفایری، رطوبت و میزان پروتئین ژلاتین ماهی و ژلاتین تجاری وجود نداشت، اما در مورد میزان خاکستر آنها اختلاف معنی‌دار بود. دمای تشکیل ژل در هر دو ژلاتین تقریباً برابر بود، اما زمان تشکیل و ذوب ژل و دمای ذوب ژل این‌گونه نبود. همچنین میزان بهینه آنزیم مورد استفاده 20 واحد به ازای هر گرم پودر فلس و باله بود. الگوی الکتروفورز نشان داد که باندهای آلفا1، آلفا2 و بتا در ژلاتین حاصل، به ترتیب برابر با 100، 110 و 200 کیلودالتون بود.

نتیجه‌گیری: پس از مقایسه بین دو ژلاتین، می‌توان گفت که می‌توان از زایداتی که مصرف خاصی ندارند، ژلاتینی با منشأ حلال را که برای مسلمانان در سراسر جهان مورد اهمیت است، جایگزین ژلاتین تجاری کرد.

واژگان کلیدی: ژلاتین ماهی، خواص فیزیکوشیمیایی، زایدات ماهی

• مقدمه

در صنایع غذایی ژلاتین، در تهیه ژله‌ها، مارمالادها، پاستیل‌ها، شیرینی‌جات و بستنی‌ها به کار می‌رود. ژلاتین در بدن به آسانی جذب شده و با تشکیل امولسیون با چربی‌ها به هضم سایر مواد غذایی کمک می‌نماید. از آنجا که ژلاتین یک پروتئین می‌باشد و میزان بعضی اسیدهای آمینه ضروری آن مثل لیزین بالاست، بر اساس قوانین اتحادیه اروپا، ژلاتین به عنوان یک ماده غذایی محسوب می‌شود، اما به دلیل فقدان تریپتوفان، یک منبع پروتئینی کامل نیست. ژلاتین با پروتئین شیر سازگار است و یک تثبیت کننده عالی برای محصولات لبنی به حساب می‌آید. ژلاتین به علت جذب دائمی آب و عدم وجود چربی و کربوهیدرات، از نظر کالری نسبتاً ضعیف است و بنابراین در رژیم غذایی نیز تجویز می‌شود. همچنین به علت جایگزین شدن ژلاتین به جای ماده پروتیدی (Protid) در بیمارانی که نباید نمک مصرف کنند، کمک شایانی می‌کند. ژلاتین به دلیل داشتن پروتئین و مواد معدنی در رژیم دوره نقاهت بیماران استفاده می‌شود. آنجا که ژلاتین دارای هیستیدین است و هیستیدین به عنوان عامل بازگرداننده هموگلوبین خون همراه با سایر مواد مانند آهن عمل می‌کند،

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-02]

برای درمان کم خونی (آنمی) مفید می‌باشد. ژلاتین همچنین به علت ایجاد لخته مصنوعی و قدرت جذب خون، از خونریزی جلوگیری می‌کند. علاوه بر کاربردهای غذایی ژلاتین، می‌توان به کاربردهای غیرغذایی آن در ریز کپسول کردن (Microencapsulation) مواد دارویی، ایفای نقش به عنوان یک عامل اتصال دهنده‌ی اجزاء مختلف در تهیه قرص، ساخت چسب‌های پزشکی، ساخت دستکش‌های جراحی و همچنین در صنایعی نظیر صنایع عکاسی و نساجی اشاره کرد (1).

برای کاربردهای غذایی، ویژگی‌های عملکردی ژلاتین و نقاط تشکیل و ذوب ژل آن بسیار مهم می‌باشد. این ویژگی‌ها توسط بسیاری از فاکتورها از جمله میانگین وزن مولکولی و توزیع وزن مولکولی، غلظت محلول ژلاتین، زمان اشباع شدن ژل، دمای اشباعی شدن ژل، pH و مقدار نمک تحت تاثیر قرار می‌گیرد. در کل، کلاژن حاضر در پوست ماهی طیف وسیع‌تری از ترکیب اسیدهای آمینه را در مقایسه با کلاژن پستانداران نشان می‌دهد. هیدروکسی پرولین و پرولین آن‌ها نسبت به کلاژن پستانداران کمتر است و در عوض محتوای سرین و ترئونین بالاتری دارند (2).

در این پژوهش بر آن بوده‌ایم تا با بررسی و استفاده از یک منبع نو برای تولید ژلاتین بخصوص برای کشور ایران و همینطور مسلمانان خارج از کشور که با مشکل حلال نبودن مواد غذایی تولید شده با ژلاتین خوکی مواجه‌اند، گامی در جهت رفع این مشکل برداریم.

• مواد و روش‌ها

مواد: ماهی کپور معمولی از مرکز پخش محصولات دریایی در شیراز تهیه شد. پروتئاز تولید شده از باکتری باسیلوس لیشنی‌فرمیس توسط مؤلفین مقاله حاضر، در گروه پژوهشی فرآوری آبزیان دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه شیراز، مورد استفاده قرار گرفت. مواد شیمیایی از جمله تری کلرو استیک اسید، بافر تریس، سدیم هیدروکسید، نمک خوراکی، اسید هیدروکلریک، کلسیم کلرید، اسید سولفوریک غلیظ، قرص کاتالیزور، سلنیوم، برمیدپتاسیم، استیک اسید، ژلاتین گاوی تجاری، از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

در این پژوهش، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و عملکردی ژلاتین تولید شده به عنوان متغیرهای آزمون در نظر گرفته شده است و با ژلاتین تجاری گاوی موجود در بازار بر اساس میانگین سه تکرار هر آزمون مقایسه شده است. طرح آماری و جداول به‌صورت مقایسه میانگین‌ها می‌باشد. همچنین در مورد تولید آنزیم میزان زمان واکنش و سپس هنگام تولید ژلاتین با استفاده از آنزیم، غلظت آنزیم متغیرهای آزمون بوده‌اند.

آزمایشات مربوط به ژلاتین

اندازه‌گیری رطوبت: روش‌های اندازه‌گیری رطوبت طبق استاندارد ملی ایران (3) انجام گرفت که درصد وزنی آن از معادله 1 به دست آمد:

$$\%\,Moisture = \frac{w1-w2}{w1-w} \times 100 \qquad (1)$$

w_1: وزن ظرف همراه با در و نمونه قبل از خشک کردن به گرم

w_2: وزن ظرف همراه با در و نمونه بعد از خشک کردن به گرم

w: وزن ظرف خالی به گرم

تعیین مقدار خاکستر: هدف از این آزمایش، بررسی املاح معدنی باقیمانده در ژلاتین است. برای این منظور 1 گرم از پودر فلس و باله ماهی، ژلاتین تجاری گاوی و فلس و باله ماهی، جداگانه به بوته چینی منتقل و در کوره ای با دمای 550 درجه سانتی‌گراد به مدت 6 ساعت گرما داده شد. سپس نمونه داخل دسیکاتور دارای مواد جاذب رطوبت قرار گرفت و بعد از سرد شدن وزن نمونه و درصد خاکستر به دست آمد. محاسبه درصد خاکستر بر مبنای تفاوت وزن مواد اولیه (1 گرم) و وزن نمونه بعد از گرما دیدن در کوره انجام گرفت (4).

اندازه‌گیری مقدار پروتئین: درصد پروتئین برای نمونه‌های فلس و باله ماهی، ژلاتین تجاری و ژلاتین فلس و باله تهیه شده به روش آنزیمی، توسط روش کلدال اندازه‌گیری شد، به این صورت که 1 گرم از نمونه همراه با 10 میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ، یک قرص کاتالیزور و کمی سلنیوم و پارافین در بالن کلدال ریخته شد و عملیات هضم تا مشاهده رنگ سبز شفاف ادامه یافت. پس از سرد شدن محتویات بالن، مواد به درون دستگاه کلدال انتقال داده شد و عملیات تقطیر انجام شد و نهایتاً با اسیدکلریدریک 0/12 نرمال تیتر شد. در نهایت درصد پروتئین با معادله 2 به دست آمد (6، 5).

$$\%\,Nitrogen = \frac{V \times N \times 100 \times 14}{1000 \times m} \qquad (2)$$

V: حجم اسید مصرفی

N: نرمالیته اسید کلریدریک (0/12)

M: جرم نمونه بر حسب گرم

فاکتور پروتئینی (5/4) x درصد نیتروژن= درصد پروتئین

اندازه‌گیری pH: روش اندازه‌گیری pH طبق استاندارد ملی ایران انجام گرفت. برای اندازه گیری این فاکتور، از pH متر با الکترود شیشه‌ای استفاده شد (3).

اندازه‌گیری میزان بازده تولید ژلاتین: میزان بازدهی ژلاتین بر اساس وزن مرطوب فلس و باله مرطوب تازه در غلظت‌های مختلف آنزیم به کار برده شده، اندازه‌گیری شد.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-02]

$$\text{بازدهی \%} = \frac{\text{وزن ژلاتین خشک شده(گرم)}}{\text{وزن فلس و باله خیس تازه (گرم)}} \times 100 \qquad (3)$$

اندازه‌گیری ویژگی‌های امولسیون: شاخص فعالیت امولسیونی EAI (Emulsion Activity Index) و شاخص پایداری امولسیون ESI (Emulsion Stability Index) ژلاتین با استفاده از روش پیرس و کینسلا (1978) با اندکی اصلاحات، اندازه گیری شد. محلول ژلاتین با حل کردن ژلاتین خشک درون آب مقطر با دمای 60 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه تهیه شد. 30 میلی‌لیتر محلول ژلاتین با غلظت‌های مختلف 0/5، 1، 2، 3 و 4 درصد، با 10 میلی‌لیتر روغن سویا به مدت 1 دقیقه در دمای اتاق با استفاده از اولتراتوراکس هموژن شد. مقداری امولسیون (50 میکرولیتر) از ته ظرف در زمان‌های 0 و 10 دقیقه پس از هموژن شدن، برداشته شد و با استفاده از محلول 1 درصد SDS به میزان 100 برابر رقیق شد. سپس مخلوط حاصله به مدت 10 ثانیه با استفاده از همزن ورتکس (Vortex mixer) به خوبی هم زده شد. جذب نمونه‌های رقیق شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر Perkin-Elmer مدل35 UV-VIS-NIR در طول موج 500 نانومتر قرائت شد. جذب زمان صفر (A_0) و جذب زمان 10 دقیقه (A_{10}) برای محاسبه شاخص فعالیت امولسیونی و شاخص پایداری امولسیون طبق معادلات 4 و 5، مورد استفاده قرار گرفت. آزمایشات برای هر غلظت با سه بار تکرار صورت گرفت (7).

$$EAI = \frac{2(T)}{\emptyset C} \qquad (4)$$

$$ESI = \frac{\Delta t}{\Delta T} \qquad (5)$$

T: میزان جذب (کدورت نمونه)

Ø: جزء حجمی فاز پراکنده

C: وزن پروتئین در واحد حجم فاز آبی پیش از تشکیل امولسیون

Δt: تغییر زمان

ΔT: تغییر کدورت نمونه طی زمان Δt

تعیین دما و زمان بسته شدن ژل: طبق روش Muyonga و همکارانش (2004) با کمی اصلاح، برای تعیین دمای بستن ژلاتین، محلول 10 درصد w/v ژلاتین را ساخته و پس از حل کردن در حمام آب گرم حدود 30 میلی‌لیتر از آن به لوله آزمایش و سپس به حمام آب 40 درجه سانتی‌گراد منتقل شد. سپس حمام آب به آرامی با افزودن آب سرد با دمای 2 درجه سانتی‌گراد در فواصل زمانی 15 ثانیه سرد شد. در این حالت دماسنج را در محلول قرار داده و هر 15 ثانیه از آن خارج گردید. درجه حرارتی که دیگر در آن هیچ قطره‌ای از روی دماسنج در هنگام خارج کردن، از آن نچکد به عنوان درجه حرارت بستن ژلاتین ثبت شد. برای تعیین زمان بستن نیز همان محلول 10 درصد (w/v) ژلاتین را پس از حل کردن و ریختن در لوله آزمایش به حمام آب با دمای 10 درجه سانتی-گراد منتقل کرده و یک تکه چوب نسبتاً بلند را داخل محلول فرو برده و به فواصل زمانی 15 ثانیه از آن خارج گردید. زمانی را که دیگرتکه چوب از محلول ژلاتین جدا نشد، به عنوان زمان بستن ژلاتین ثبت گردید (8).

تعیین دما و زمان باز شدن ژل: طبق روش Muyonga و همکارانش (2004) با کمی اصلاح، برای تعیین دما و زمان باز شدن ژلاتین محلول 10 درصد (w/v) ژلاتین را پس از آماده سازی مانند قبل، داخل یخچال در دمای 7 درجه سانتی‌گراد به مدت 16-18 ساعت قرار داده و سپس به حمام آب 10 درجه سانتی‌گراد منتقل شد و به تدریج به آن آب گرم 45 درجه سانتی‌گراد اضافه گردید. بدین وسیله دما و زمان باز شدن ژلاتین ثبت گردید. هرزمانی که چوب شاخص از محلول به راحتی جدا شد، به عنوان زمان باز شدن و دمایی که دماسنج به راحتی جدا شد، به عنوان دمای باز شدن تعیین شد (8).

الکتروفورز: ویژگی‌های ژلاتین وابسته به توزیع وزن مولکولی ترکیبات آن و نسبت زنجیره آلفا1 به آلفا2 است. یکی از تکنیک‌های مفید در مقایسه و تعیین توزیع وزن مولکولی ژلاتین و همچنین آنزیم تولید شده، الکتروفورز با ژل پلی اکریل آمید می‌باشد. SDS-PAGE با توجه به روش لائِملی و همکاران (1970) با شیب غلظت (w/v) 5 تا 20 درصد ژل پلی اکریل آمید ساخته شد. از مارکرهای وزن مولکولی پروتئین برای مقایسه استفاده شد.

آنالیز آماری: در ابتدا جهت بررسی نرمال بودن داده‌ها در هر گروه، از آزمون Shapiro-Wilk استفاده شد. اگر این شاخص بیشتر از 0/05 بود، می‌توان داده‌ها را با اطمینان بالایی نرمال فرض کرد. سپس جهت مقایسه بین ژلاتین تجاری و ژلاتین تولید شده از فلس و باله ماهی کپور معمولی، در مواردی که داده‌ها نرمال بود، از آزمون t-test مستقل و در مواردی که داده‌ها نرمال نبود، از معادل ناپارامتری آزمون t-test، یعنی Mann Whitney استفاده شد. برای مقایسات بیش از دو گروه نیز، در صورتی که داده‌ها نرمال بودند، از Anova یک‌طرفه (آزمون تعقیبی شفه) و در غیر این صورت از آزمون ناپارامتری Wallis استفاده شد. سطح اطمینان در نظر گرفته شده 95 درصد بود. کلیه محاسبات آماری با نرم‌افزار spss نسخه 21 انجام شد.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-02]

• یافته‌ها

میزان رطوبت، خاکستر و پروتئین: درصد ترکیبات تشکیل دهنده فلس و باله کپور، ژلاتین فلس و باله کپور و ژلاتین تجاری حلال گاوی در جدول 1 گزارش شده است. فلس و باله خشک کپور دارای 33/99 درصد پروتئین و 46/16 درصد خاکستر بود. ژلاتین فلس و باله کپور دارای پروتئین بالا (90/27 درصد) و خاکستر کم (2/29 درصد) بود.

دما و زمان بستن ژل ژلاتین: دمای تشکیل ژل ژلاتین فلس و باله ماهی کپور و ژلاتین تجاری گاوی در جدول 2 گزارش شده است. در این پژوهش نیز دمای تشکیل ژل برای ژلاتین فلس و باله کپور 23/34 درجه سانتی‌گراد بود، که با نتایج به دست آمده از پژوهش‌های قبلی، اختلاف کمی داشت. زمان مورد نیاز برای تشکیل ژل ژلاتین فلس و باله ماهی کپور 99/113 ثانیه برآورد شد.

دما و زمان باز شدن ژل ژلاتین: همان طور که در جدول 2 گزارش شده است، نقطه ذوب ژل ژلاتین حاصل از فلس و باله ماهی، نسبت به ژلاتین گاوی تجاری پایین‌تر و دمای تشکیل ژل ذوب آن دو تفاوت معنی‌داری نشان نداد. همچنین زمان تشکیل ژل و زمان ذوب ژل ژلاتین فلس و باله ماهی به ترتیب بیش‌تر و کمتر از ژلاتین تجاری بود.

pH ژلاتین: مقدار pH ژلاتین‌های استخراج شده و pH ژلاتین‌های تجاری حلال گاوی، به ترتیب 6/17 و 5/99 به دست آمد.

ویژگی‌های امولسیون: شاخص فعالیت امولسیون و شاخص پایداری امولسیون مربوط به ژلاتین حاصل از فلس و باله ماهی و ژلاتین تجاری در جدول 3 آمده است. در هر دو ژلاتین میزان شاخص فعالیت امولسیون، با افزایش میزان غلظت محلول ژلاتین، افزایش یافته است. علاوه بر این، در غلظت‌های یکسان، میزان این شاخص برای ژلاتین تجاری اندکی بالاتر از ژلاتین فلس و باله ماهی بود. شاخص پایداری امولسیون حاصل از ژلاتین فلس و باله ماهی در تمام غلظت‌ها بالاتر از ژلاتین تجاری است.

جدول 1. درصد ترکیبات تشکیل دهنده فلس و باله، ژلاتین حاصل از آن و ژلاتین تجاری حلال گاوی

نمونه	% پروتئین	% رطوبت	% خاکستر
فلس و باله کپور معمولی	33/99 ± 0/27 [a]	15/74 ± 0/16 [a]	46/16 ±1/41 [a]
ژلاتین حاصل از فلس و باله کپور معمولی	90/27 ± 1/70 [b]	7/08 ± 0/20 [b]	2/29 ± 0/70 [b]
ژلاتین تجاری حلال گاوی	89/97 ± 2/04 [b]	7/04 ± 0/30 [b]	0/37 ±۰/۱۰ [c]

داده‌ها میانگین مقادیر است ± انحراف معیار ($p<0/05$)

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است.

جدول 2. دما و زمان بستن (تشکیل ژل) و باز شدن ژل ژلاتین

نمونه ژلاتین	دمای تشکیل ژل (درجه سانتی‌گراد)	زمان تشکیل ژل (ثانیه)	دمای ذوب ژل (درجه سانتی‌گراد)	زمان ذوب ژل (ثانیه)
ژلاتین فلس و باله	23/23 ±1/08 [a]	99/11 ±0/46 [a]	24/84 ±0/15 [a]	132/63 ±1/90 [b]
ژلاتین تجاری حلال گاوی	23/34 ±0/59 [a]	91/47 ±1/60 [a]	26/84 ±0/15 [b]	138/81 ±1/02 [a]

داده‌ها میانگین مقادیر است ± انحراف معیار ($p<0/05$)

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است.

جدول3. ویژگی‌های امولسیونی ژلاتین فلس و باله ماهی در مقایسه با ژلاتین تجاری در غلظت‌های مختلف

ژلاتین	غلظت محلول ژلاتین (%)	EAI (مترمربع/گرم)	ESI (دقیقه)
ژلاتین فلس و باله ماهی	0/5	[a]18/00±0/23	[a]68/09±0/15
	1	[b]27/51±0/68	[b]47/01±0/31
	2	[c]31/82±0/47	[c]35/12±0/37
	3	[d]40/33±0/39	[d]29/37±0/23
	4	[e]49/38±0/80	[d]25/52±0/29
ژلاتین تجاری	0/5	[a]19/30±0/21	[e]59/39±0/25
	1	[b]29/01±0/42	[f]33/10±0/12
	2	[c]32/22±0/11	[g]27/84±0/41
	3	[f]46/26±0/73	[h]19/75±0/53
	4	[e]48/08±0/65	[h]18/63±0/22

داده‌ها میانگین مقادیر است ± انحراف معیار ($p<0/05$)

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-02]

بازده بر اساس وزن مرطوب فلس و باله: همان طور که در جدول 4 مشاهده می‌کنید، با افزایش میزان غلظت آنزیم به کار برده شده، میزان بازده ژلاتین تولید شده نیز افزایش یافته است. تا میزان 20 واحد آنزیم به ازای هر گرم سوبسترا، میزان افزایش بازده معنی‌دار است. اما هیچ تفاوت معنی‌داری بین بازده مربوط به افزودن 20 واحد آنزیم و 25 واحد آنزیم وجود ندارد.

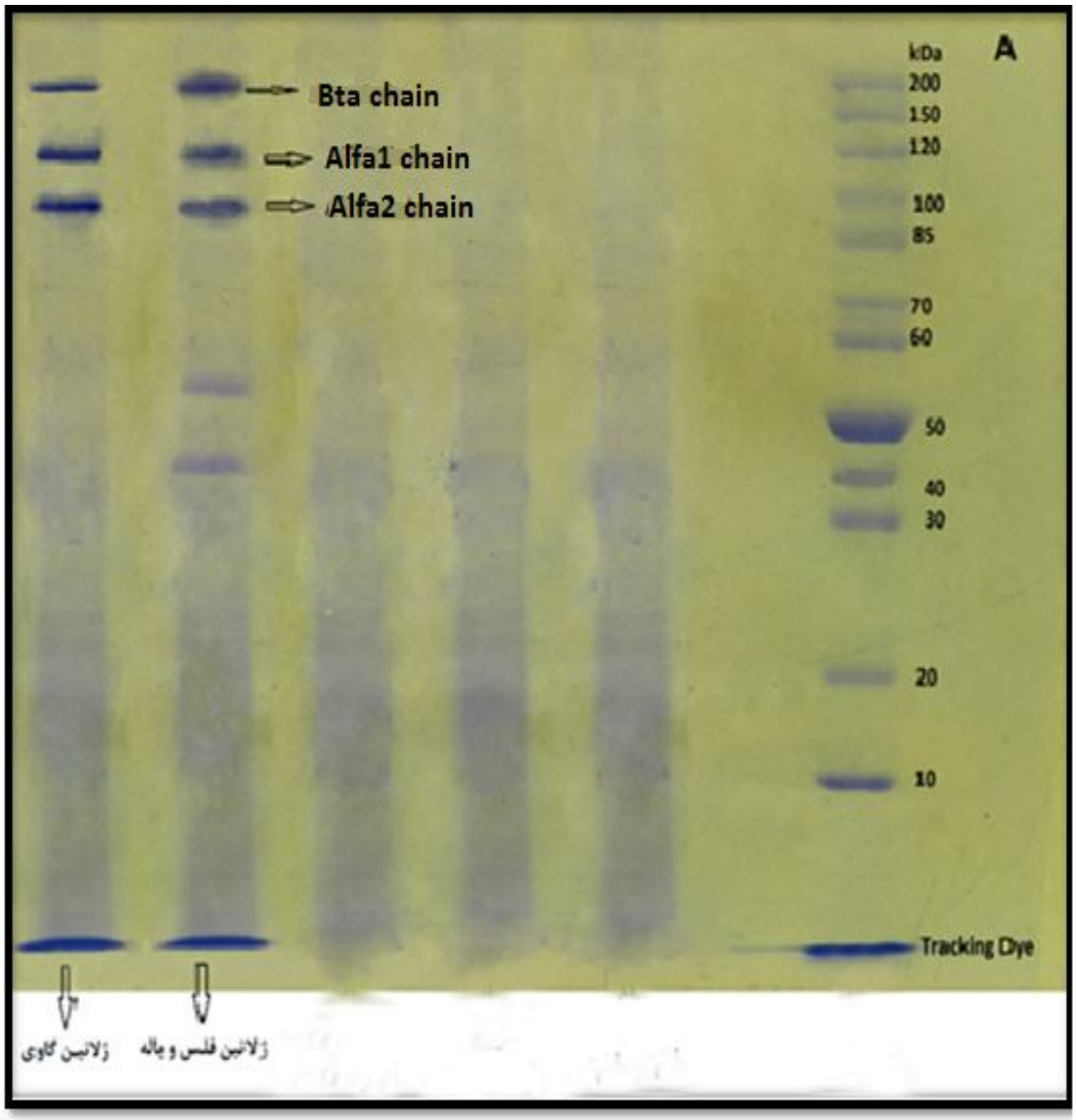
جدول4. میزان بازدهی بر اساس وزن فلس و باله مرطوب تازه

غلظت آنزیم (واحد/گرم فلس و باله)	بازده (%)
5	[a]2/25±0/74
10	[b]4/17±0/29
15	[c]7/20±0/68
20	[d]9/57±0/54
25	[d]10/42±0/17

داده‌ها میانگین مقادیر است ± انحراف معیار ($p<0/05$)

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است.

الکتروفورز: الگوی SDS-PAGE ژلاتین به دست آمده از فلس و باله کپور و ژلاتین تجاری گاوی تولید شده در شکل 1 نشان داده شده است. الگوی SDS-PAGE در این پژوهش نشان داده شد که مجموع وزن مولکولی زنجیره‌های آلفا در مورد ژلاتین فلس و باله کپور نسبت به ژلاتین تجاری گاوی کمتر است. ژلاتین استخراج شده از فلس و باله کپور، وزن مولکولی 120 کیلو دالتون برای آلفا1، 100 کیلو دالتون برای آلفا2 و 200 کیلو دالتون برای بتا نشان داد. در ژلاتین تجاری گاوی 120 کیلودالتون برای آلفا1، 110 کیلودالتون برای آلفا2 و 200 کیلو دالتون برای بتا دیده شد. ژلاتین فلس و باله کپور باندهای ضخیمی را در ارتباط با زنجیره‌های آلفا1 و آلفا2 و اجزاء بتا نشان داد.



شکل 1. الگوی الکتروفورز SDS ژلاتین (ژل جدا کننده 7/5%)

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-02]

• بحث

میزان رطوبت، خاکستر و پروتئین: Muyonga و همکاران (2004) شرح دادند که مقدار بالای پروتئین مواد کلاژنی، نشان دهنده بالاترین بازده ممکن استخراج ژلاتین از آن‌ها می‌باشد (8). ترکیب فلس ماهی قرمز دریای عمیق شامل 56/9 درصد پروتئین و 39/4 درصد خاکستر بر اساس وزن خشک می‌باشد (9). فیبرهای کلاژن و هیدروکسی آپاتیت کلسیم در میکروساختار فلس‌های *سی‌بریم* نشان دهنده این است که فلس‌های این ماهی می‌تواند به عنوان مواد کلاژنی برای استخراج ژلاتین استفاده شود (10).

در سال 2012 میلادی Haddar و همکاران، برای پوست ماهی تن 40/43 درصد پروتئین و 52/08 درصد رطوبت و برای ژلاتین حاصل از آن 97/31 درصد پروتئین و 5/98 درصد رطوبت و 0/82 درصد خاکستر را گزارش کردند (11). ژلاتین عمدتاً شامل پروتئین و رطوبت است. حضور خاکستر، لیپید و دیگر ناخالصی‌ها در مقدار بسیار کم نیز، برای کیفیت ژلاتین حاصله بسیار مهم در نظر گرفته می‌شود (12). محتوای خاکستر ژلاتین فلس و باله کپور (2/29 درصد)، کمتر از حد ماکزیمم توصیه شده (2/6 درصد) بود.

دما و زمان بستن ژل ژلاتین: دمای تشکیل ژل ژلاتین ماهی نسبت به ژلاتین پستانداران در کل پایین‌تر است. این تفاوت در ارتباط با ترکیب ایمینواسیدها (هیدروکسی پرولین و پرولین) در ماهی می‌باشد. ژلاتین قابلیت فراوانی برای تشکیل باندهای هیدروژنی با مولکول‌های آب برای تشکیل یک ژل سه بعدی پایدار دارد. هیدروکسی پرولین و پرولین مسئول پایداری ساختار مارپیچ سه گانه از طریق پیوند هیدروژنی بین مولکول آب آزاد و گروه هیدروکسیل هیدروکسی پرولین در ژلاتین می‌باشند (15-13). در طی فرآیند تشکیل ژل، وقتی ژلاتین شبکه ژلی تشکیل می‌دهد، ایمینواسیدها مسئول پایداری این شبکه می‌باشند (8). دمای تشکیل ژل ژلاتین پوست روهو (*Rohu*) و کپور معمولی به ترتیب 18/52 و 17/96 درجه سانتی‌گراد گزارش شده است (17، 16). زمان مورد نیاز برای تشکیل ژل ژلاتین که توسط Ninan و Abubacker و همکاران (2011) و نینان و جوز و همکاران (2011) گزارش شده است برای ژلاتین پوست روهو، 106 ثانیه و پوست کپور معمولی، 103 ثانیه بود. هر چه میزان پپتیدهای کوچک‌تر از اندازه زنجیره آلفا بیشتر باشد زمان تشکیل ژل افزایش می‌یابد که مطابق با الگوی الکتروفورز ژلاتین فلس و باله ماهی با میزان کم پپتیدهای کوچکتر از اندازه زنجیره آلفا، زمان تشکیل ژل کمتری نسبت به تحقیقات پیشین نیاز داشت (1).

دما و زمان باز شدن ژل ژلاتین: ژلاتین به عنوان یک ژل برگشت‌پذیر با حرارت، وقتی دما به بالای یک نقطه ویژه (نقطه ذوب ژل) می‌رسد، شروع به ذوب شدن می‌کند (18). نقاط ذوب معمولاً برای ژلاتین ماهی در محدوده 11 تا 28 درجه سانتی‌گراد می‌باشد (19).

بطور کلی دمای ذوب ژلاتین حاصله از پوست حیوانات خونگرم و ماهیان آب گرم نسبت به ژلاتین ماهیان آب سرد، بالاتر می‌باشد (20). حضور مقدار بالای زنجیره‌های آلفا، می‌تواند افزایش نقطه ذوب را در این نمونه‌ها تشریح کند. هر چه زنجیره‌های آلفا1 و آلفا2 بیشتر باشد، نقطه ذوب نیز افزایش می‌یابد. بالا بودن نقطه ذوب در ژلاتین با وزن مولکولی زنجیره‌های مولکولی آن در ارتباط است (21). در بررسی نقطه ذوب ژل باید به ترکیب ایمینواسیدی ژلاتین هم توجه داشت. حضور این دو اسید آمینه باعث افزایش نقطه ذوب ژل می‌شود (22).

ژل‌های حاصل از ژلاتین تولید شده از کلاژن ماهی ضعیف‌تر بوده و نسبت به ژلاتین حاصل از کلاژن پستانداران دارای نقطه ذوب پایین‌تری می‌باشند (کلاژن پستانداران دارای میزان پرولین و هیدروکسی پرولین بالاتری می‌باشد) (1).

pH ژلاتین: طی یکسری تحقیقات، چئو و همکاران (2007) مقدار pH را برای ژلاتین پوست *Sin croaker* و *Shortfin scad* به ترتیب 6/6 و 6/59 گزارش کردند (23). و این نشان می‌دهد که ژلاتین حاصل از ماهی دارای pH بیشتری نسبت به ژلاتین گاوی است که احتمالاً به دلیل تفاوت در pH مواد اولیه آنها است.

ویژگی‌های امولسیون: ژلاتین به عنوان یک عامل تشکیل امولسیون در مواد غذایی، دارویی و پزشکی است که کاربردهای عملی در این زمینه‌ها بیشتر بخاطر ویژگی فعالیت سطحی آن است. در هر دو ژلاتین، میزان شاخص فعالیت امولسیون، با افزایش میزان غلظت محلول ژلاتین، افزایش یافته است. که دلیل آن افزایش میزان جذب پروتئین به فضای بین‌لایه‌ای (Interface) بر اثر افزایش غلظت پروتئین است (24). علاوه بر این، در غلظت‌های یکسان، میزان این شاخص برای ژلاتین تجاری اندکی بالاتر از ژلاتین فلس و باله ماهی بود. احتمالاً این امر به دلیل تفاوت در ویژگی‌های ذاتی، تفاوت در ترکیب اسیدهای آمینه و تفاوت در حالت کنفورماسیونی دو ژلاتین حاصل از دو منبع مختلف باشد (25). حلالیت بالای پروتئین در فاز پراکنده موجب افزایش میزان عملکرد

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-02]

امولسیون می‌گردد، زیرا مولکول‌های پروتئین بایستی بتوانند به سرعت خود را به سطح قطرات روغن برسانند (26). شاخص پایداری امولسیون حاصل از ژلاتین فلس و باله ماهی در تمام غلظت‌ها، بالاتر از ژلاتین تجاری است. زیرا احتمالاً این پروتئین توانایی بالاتری در تولید فیلم قوی و یکپارچه در اطراف قطرات روغن داشته است (27).

بازده بر اساس وزن مرطوب فلس و باله: به میزان 20 واحد آنزیم به ازای هر گرم سوبسترا، میزان افزایش بازده معنی‌دار است. اما هیچ تفاوت معنی‌داری بین بازده مربوط به افزودن 20 واحد آنزیم و 25 واحد آنزیم وجود ندارد و این نشان می‌دهد که میزان بهینه برای استفاده از آنزیم برای هیدرولیز، 20 واحد به ازای هر گرم فلس و باله می‌باشد. Balti و همکاران در سال 2011، در تحقیقاتی که بر روی پوست *cuttlefish* انجام دادند، بیشترین میزان بازده را در 15 واحد به دست آوردند که برابر با 0/19±7/84 بود و این میزان اختلاف معنی‌داری با میزان به دست آمده نمونه‌ی ما به ازای 15 واحد آنزیم (0/68±7/20) نداشت، اما در 20 واحد آنزیم در پژوهش حاضر میزان بازده به طرز معنی‌داری بیش از نتیجه‌ای بود که Balti و همکارانش برای 15 واحد به دست آوردند.

الکتروفورز: خواص عملکردی ژلاتین تحت تأثیر توزیع وزن مولکولی، ساختار و ترکیب زیر واحدهای آن قرار می‌گیرد (28). ژلاتین فلس و باله کپور باندهای ضخیمی را در ارتباط با زنجیره‌های آلفا1 و آلفا2 و اجزاء بتا نشان داد. Jongjareonark و همکاران (2006) نشان دادند که وزن اجزاء با وزن مولکولی کمتر نسبت به زنجیره‌های آلفا در ژلاتین پوست بیگ‌آی *اسنپر* در مقایسه با ژلاتین پوست *Red snapper* به واسطه حضور پروتئیناز است که ممکن است باعث تجزیهٔ پروتئین در طی استخراج شده باشد (29). مطابق با نتایج گومز-گویلن و همکاران (2002) آسیب یا صدمات جزئی زنجیره‌های آلفا می‌تواند به واسطهٔ حرارت در طی استخراج و یا آماده‌سازی ژل به وجود آید (30). تجزیه‌ی ژلاتین به اجزاء با وزن مولکولی کم باعث ویسکوزیتهٔ کمتر، نقطهٔ ذوب کمتر، دمای تشکیل ژل کمتر و زمان تشکیل ژل بیشتر و نیز کاهش قدرت ژلی ژلاتین می‌گردد (22، 8).

نتیجه‌گیری

استخراج ژلاتین از فلس و باله ماهی کپور معمولی به وسیله‌ی پروتئاز میکروبی انجام شد. خواص عملکردی شامل دما و زمان مناسب تشکیل ژل ژلاتین، دما و زمان مناسب ذوب ژل ژلاتین و ویژگی‌های امولسیونی مناسب در این ژلاتین مشاهده شد. زیرا قدرت امولسیون کنندگی مناسبی برای تهیه‌ی امولسیون‌های مورد استفاده در صنایع غذایی و نیز دارویی جهت پوشش‌دهی مواد دارویی داشت و همچنین امولسیون حاصل از آن، پایداری بالایی از خود نشان داد. همچنین ژلاتین به دست آمده دارای میزان پروتئین، رطوبت و خاکستر در حد مناسب بود. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد، ژلاتین فلس و باله‌ی کپور می‌تواند کاربرد فراوانی به عنوان ژلاتین مورد نیاز در صنعت غذا داشته باشد.

سپاسگزاری

از سرکار خانم توانا مسئول آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه شیراز به دلیل همکاری‌های بی‌دریغشان کمال تشکر و قدردانی را داریم.

References

1. Farahnaky A, Majzoobi M, Mesbahi Gh. Characteristics and applications of hydrocolloids in foods and pharmaceuticals. Iranian J Agriculture Science Publication 2009; 21-28[in Persian].
2. Balian G, Bowes JH. The structure and properties of collagen. The Science and Technology of Gelatin. 1977;1-27.
3. National Iranian Standard. Methods for quality control of gelatin 1994; (3474): 1-8[in Persian].
4. Yaghoobi N, Mirzadeh H, H F. Optimization of chitin extraction and chitosan production from shrimp skin: investigation of affecting factors on deacylation of chitin and biocompatibility evaluation. Iranian J Polymer science and technology 2002; (15)1:55-63[in Persian].
5. Allahdad Z. Effect of cross linking of dextran sulphate to lysozyme by millard reaction on its functional properties [dissertation]. Shiraz: Shiraz University, M.C. Faculty of Agriculture 2007 [in Persian].
6. Hosseini Z. Common methods in food analysis.. 1st ed. Shiraz: Shiraz University. Press 2005; 76-79 [in Persian].
7. Pearce KN, Kinsella JE. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. J Agric Food Chem 1978; 26(3):716-23.
8. Muyonga JH, Cole CG, Duodu KG. Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (Lates niloticus) skin and bone gelatin. Food Hydrocoll 2004; 18(4):581-92.
9. Wang L, An X, Yang F, Xin Z, Zhao L, Hu Q. Isolation and characterisation of collagens from the skin, scale and bone of deep-sea redfish (Sebastes mentella). Food Chem 2008; 108(2):616-23.
10. Ikoma T, Kobayashi H, Tanaka J, Walsh D, Mann S. Microstructure, mechanical, and biomimetic properties of fish scales from Pagrus major. J Struct Biol 2003; 142(3):327-33.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-02]

11. Haddar A, Sellimi S, Ghannouchi R, Alvarez OM, Nasri M, Bougatef A. Functional, antioxidant and film-forming properties of tuna-skin gelatin with a brown algae extract. Int J Biol Macromol 2012;51(4):477-83.

12. Jones NR. Uses of gelatin in edible products. The science and technology of gelatin 1977; 366-92.

13. Burjanadze TV. Hydroxyproline content and location in relation to collagen thermal stability. Biopolymers 1979; 18(4):931-8.

14. Tolstoguzov VB, Mitchell JR, Ledward DA. Functional properties of food macromolecules. Elsevier Applied Science Publishers, London 1986; 385-415.

15. Fernández-Dı́ MD, Montero P, Gómez-Guillén MC. Effect of freezing fish skins on molecular and rheological properties of extracted gelatin. Food Hydrocoll 2003; 17(3):281-6.

16. Ninan G, Zynudheen AA, Joseph J. Physico-chemical and textural properties of gelatins and water gel desserts prepared from the skin of freshwater carps. Fishery Technology 2011; 48(1):67-74

17. Ninan G, Jose J, Abubacker Z. Preparation and characterization of gelatin extracted from the skins of rohu (Labeo rohita) and common carp (Cyprinus carpio). J Food Process Preserv 2011; 35(2):143-62.

18. Arnesen JA, Gildberg A. Extraction of muscle proteins and gelatine from cod head. Process Biochemistry 2006; 41(3):697-700.

19. Karim AA, Bhat R. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. Food hydrocoll 2009; 23(3):563-76.

20. Gilsenan PM, Ross-Murphy SB. Rheological characterisation of gelatins from mammalian and marine sources. Food Hydrocoll 2000; 14(3):191-5.

21. Ward AG, Courts A. Science and technology of gelatin. Academic Press 1977.

22. Norland RE. Fish gelatin. Advances in fisheries technology and biotechnology for increased profitability 1990; 325-33.

23. Cheow CS, Norizah MS, Kyaw ZY, Howell NK. Preparation and characterisation of gelatins from the skins of sin croaker (Johnius dussumieri) and shortfin scad (Decapterus macrosoma). Food chemistry 2007; 101(1):386-91.

24. Yamuchi K, Shimizu M, Kamiya T. Emulsifying properties of whey protein. J Food Sci 1980; 45(5):1237-42.

25. Damodaran SR. Protein-stabilized foams and emulsions. Crit Rev Food Sci Nutr. 1981;15(2):155-203.

26. Sikorski ZE. Functional properties of proteins in food systems. Chemical and functional properties of food proteins 2001; 113-36.

27. Hall GM. Methods of testing protein functionality. Springer Science & Business Media 1996; Jun 30.

28. Balti R, Jridi M, Sila A, Souissi N, Nedjar-Arroume N, Guillochon D, Nasri M. Extraction and functional properties of gelatin from the skin of cuttlefish (Sepia officinalis) using smooth hound crude acid protease-aided process. Food Hydrocolloids 2011; 25(5):943-50.

29. Jongjareonark A, Benjakul S, Visessanguan, W, Prodpran T, Tanka M. Characterization of edible films from skin gelatin of brownstripe, red snapper and bigeye snapper. Food Hydrocoll 2006; 20: 492–501.

30. Gomez-Guillen MC, Turnay J, Fernandez-Diaz MD, Ulmo N, Lizarbe MA, Montero P. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. Food Hydrocoll 2002; 16:25–34.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-02]

Investigation of Characteristics of Gelatin Produced From Common Carp (Cyprinus Carpio) Wastes by Enzymatic Hydrolysis

Mirzapour Kouhdasht A[1], Moosavi-Nasab M[2], Aminlari M[3]*

1- **Corresponding author: PhD Student, Dept. of Food Science and Technology, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran. Email: armin.mirzapour@shirazu.ac.ir*

2- *Professor, Dept. of Food Science and Technology and Seafood Processing Research Group, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran*

3- *Professor, Dept. of Basic Sciences, School of Veterinary, Shiraz University, Shiraz, Iran*

Received 31 Jan, 2017 **Accepted 4 Jun, 2017**

Background and Objectives: Gelatin is one of the most widely used colloidal proteins, which has unique characteristics and numerous applications, including the food industry, pharmaceutical, medical, and photography. On the other hand, significant amounts of fish-based factories that use fish as a raw material waste large amounts of residue materials. The aim of this study was to produce gelatin by microbial alkaline protease, from common scallops and fins of common carp wastes.

Materials & Methods: Different amounts of enzyme (5, 10, 15, 20, and 25 Unite/g fins and scales) were used to carry out the hydrolysis and extract gelatin. The physicochemical and functional properties of produced gelatin by the 20 unit enzyme, which was the most efficient level of enzyme, were compared with commercial gelatin. The yield of gelatin production was determined based on the wet weight of scales and fins, for each concentration of enzyme. Also SDS-PAGE was done to determine molecular weight of gelatin subunits.

Results: The results showed that there is no significant difference between the protein and moisture content of both gelatins, but ash content was significantly different. Gelling temperature was equal approximately in both gelatins, but gelling time and melting temperature of gelatins were implicated different results. The results also showed that 20 unit enzyme per gram scale and fin powder was the optimum concentration. The SDS-PAGE pattern showed three bonds with 200, 120, and 100 kilo Dalton for beta, alpha 1, and alpha 2 chain respectively.

Conclusion: All of investigations indicated that this way has the potential to replace the commercial gelatin, especially for Muslims in all of the world, who have concern about their products with the Halal gelatin from safe resources.

Keywords: Fish gelatin, Physicochemical characteristics, Fish wastes

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-02]