magiran.com



# شناسایی اجزای تشکیل دهندهٔ ژلاتین حاصل از پوست و استخوان کاریچون ماهی (*Saurida tumbil*)

علی طاهری؛ عبدالمحمد عابدیان * و شبنم بهنام

دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، نور صندوق پستی: ٣٥٦-٤٦٤١٤

تاریخ دریافت: اسفند ١٣٨٧ تاریخ پذیرش: آبان ١٣٨٨

## چکیده

در این تحقیق ژلاتین نوع A از پوست و استخوان کاریچون ماهی (*Saurida tumbil*) استخراج شد و خصوصیات شیمیایی و کاربردی آن بررسی گردید. میزان قدرت ژلی برای پوست ١٤±١٥٩/١٤ و برای استخوان ٧/٩±١٣٥ گرم اندازه‌گیری شد که اختلاف معنی‌داری (P<٠/٠٥) با مقدار اندازه‌گیری شده برای ژلاتین خوک داشت (٧/٧ ±٢٢٤/٣). ژلاتین پوست و استخوان ماهی ویسکوزیته بالاتر و دمای تشکیل ژل آن کمتر از ژلاتین خوک بود. محتوای اسید آمینه ژلاتین پوست (٢١/٧١ درصد) بالاتر از ژلاتین استخوان (١٩/٨٣درصد) بود و هر دو این مقادیر کمتر از محتوای اسید آمینه خوک بود (٢٦/٦٦درصد). میزان اسید آمینه α نسبت به β و γ در هر دو نوع ژلاتین استحصالی بالاتر بود و هر دو نوع ژلاتین حاوی قطعات پپتیدی با وزن مولکولی کمتر از α بودند. تفاوتها در خصوصیات کاربردی بین ژلاتین پوست و استخوان کاریچون ماهی و ژلاتین خوک به نظر می رسد به خاطر تفاوت در ترکیب ایمینو اسیدها (پرولین و هیدروکسی پرولین) و پراکنش وزن مولکولی ژلاتین باشد.

**لغات کلیدی:** ژلاتین، کاریچون ماهی، *Saurida tumbil* ، قدرت ژلی، ایمینو اسید، وزن مولکولی

## مقدمه

ژلاتین پلی پپتیدی است که از هیدرولیز کلاژن بدست می‌آید و یکی از پرمصرف‌ترین مواد پروتئینی کلوئیدی در صنایع غذایی، دارویی، پزشکی و نظامی است که در چهار درجه متفاوت یافت می‌شود. این چهار نوع ژلاتین عبارت است از ژلاتین خوراکی که فاقد فلزات سنگین است. ژلاتین صنعتی که براساس خصوصیات فیزیکی و شیمیایی برای منظورهای خاصی کاربرد دارد مثل کپسوله کردن دانه‌های رنگ برای کاغذهای چاپ فاقد کربن، ژلاتین فوتوگرافی که تاثیر خاصی روی هالیدهای نیترات نقره دارد و ثبت تصویر را بهبود می‌بخشد و ژلاتین دارویی (Martine *et al.*, 2000). در صنایع غذایی از ژلاتین در تهیه مارمالادها، ژله‌ها، شیرینی‌جات، بستنی‌ها و غیره استفاده می‌شود که به آسانی در بدن جذب شده و به هضم سایر مواد غذایی از طریق تشکیل امولسیون با چربی‌ها و پروتئین‌ها کمک می‌نماید. همچنین ژلاتین بعنوان یک عامل شفاف کننده در نوشیدنی‌ها و آب میوه‌ها و نیز در صنایع داروسازی برای تهیه کپسولهای دارویی و قرص‌ها بکار می‌رود (Gime´nez *et al.*, 2005). از ژلاتین برای افزایش ویسکوزیته محلولهای آبی و تولید ژلها استفاده می‌شود. همچنین از ژلاتین در صنایع غذایی همراه با



نویسندهٔ مسئول: aabedian@modares.ac.ir

magiran.com



دیگر افزودنی‌های خوراکی برای تشکیل ژل در دسرها، استحکام‌بخش در بستنی‌ها، مواد نیمه جامد و حجیم کننده استفاده می‌شود (Selby, 1951).

ژلاتین را می‌توان از منابع گوناگون کلاژن تولید کرد. استخوان گاو، پوست گاو و خوک منابع اصلی تجارتی هستند. عمده ژلاتین تجاری (۹۵ درصد) از پوست خوک، گاو و ماهیان عمق‌زی آبهای سرد و ۵ درصد باقیمانده از استخوان خوک و گاو منشاء می‌گیرد (Chew *et al.*, 2005).

فرآوری ماهی منجر به تولید مقدار زیادی زایدات می‌گردد. عنوان شده که این زایدات پس از فیله نمودن ماهی ۷۵ درصد حجم صید را تشکیل می‌دهد که ۳۰ درصد این اضافات به شکل پوست و استخوان است (Shahidi, 1994; Go`mez-Guille`n *et al.*, 2002). پوست و استخوان ماهی بدلیل داشتن کلاژن می‌تواند منبعی برای تولید ژلاتین باشد و بدین صورت راه حلی برای مشکل جهانی آلودگی زیست محیطی بدلیل انباشته شدن این اضافات و همچنین تولید محصولی با ارزش افزوده بیشتر باشد. با توجه به بیماری Bovine spongiform encephalopaty در گاو و این حقیقت که استفاده از خوک در کشورهای مسلمان حرام است، در دهۀ اخیر تمایل به استفاده از پوست و استخوان ماهی برای تولید ژلاتین بیشتر شده است.

اخیراً مطالعات گوناگونی بر روی ژلاتین پوست و استخوان ماهیان مختلف صورت گرفته است و مطالعات متعددی نیز در بررسی خواص عملکردی و فرآوری ژلاتین ماهی انجام شده و در آن نشان داده شده است که در شرایط مختلف پیش تیمار و استخراج، ژلاتین‌های مختلفی از ماهی با ویژگیهای کیفی متفاوتی ایجاد می‌شود. (Gudmundsson, 2002; Haug *et al.*, 2004; Kolodziejska *et al.*, 2004; Muyonga *et al.*, 2004; Sadowska *et al.*, 2003; Simon *et al.*, 2002; Terao *et al.*, 2003). در ایران نیز مطالعات چندی در زمینه تولید ژلاتین از ماهی صورت گرفته است. علوی طلب و همکاران (۱۳۸۵) بررسی و مقایسه کیفیت ژلاتین اسیدی و قلیایی پوست و باله کپور فیتوفاگ با منابع دیگر را انجام داند و عنوان نمودند که ژلاتین قلیایی کپور نقره‌ای از کیفیت بهتری برخوردار است .همچنین مقایسه کیفیت ژلاتین فیتوفاگ با ژلاتین حاصل از منابع دیگر نیز نشان داد که کیفیت ژلاتین اسیدی و قلیایی فیتوفاگ در مقایسه با کیفیت ژلاتین اسیدی و قلیایی حاصل از منابعی مانند گاو، گوساله، گوسفند، خوک، پای مرغ، پوست کوسه ماهی و غیره در برخی از موارد بهتر است. شکوه صارمی (۱۳۸۵) به منظور بررسی تاثیرات قلیا و اسید با غلظت‌های ۲۰-۰/۰۵ نرمال و دماهای استخراج (۸۵-۴۵ درجه سانتیگراد) بر قدرت ژلاتین، راندمان استخراج، ویسکوزیته و نقطه ذوب ژلاتین پوست ماهی کپور به این نتایج رسید که در غلظت‌های مختلف قلیا تغییرات محسوسی در قدرت ژلاتین مشاهده نشد ولی با افزایش غلظت اسید تا حد مشخص میزان قدرت ژلاتین افزایش یافت. همچنین تاثیرات متقابل غلظت‌های مختلف قلیا و اسید بر راندمان استخراج معنی‌دار بود ولی تاثیرات متقابل غلظت‌های اسید و قلیا و دماهای استخراج نتایج معنی‌داری در مورد نقطه ذوب نشان نداد.

کیفیت ژلاتین وابسته به خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن است که خود تحت تاثیر گونه ماهی و بافت مورد استفاده و همچنین شیوه استخراج قرار دارد (Johnston-Banks, 1990). پارامترهای کیفی ژلاتین شامل قدرت ژل، ویسکوزیته، نقطه انعقاد و ذوب می‌باشند. بسیاری از این خواص فیزیکی و بویژه ویژگی‌های دمایی کلاژن و ژلاتین پوست ماهی انعکاسی از شرایط زیستی و دمای محیط پیرامون ماهی است. خواص عملکردی ژلاتین علاوه بر عوامل محیطی تحت تاثیر ویژگی‌های شیمیایی (توزیع وزن مولکولی و ترکیب آمینو اسیدی) مولکول ژلاتین نیز قرار می‌گیرد (Johnston-Banks, 1990). بنابراین کیفیت ژلاتین برای یک کاربرد خاص بستگی زیادی به خواص بافتی و فیزیکی- شیمیایی آن دارد (Gime´nez *et al.*, 2005). برای بسیاری کاربردها ژلاتین باید دارای خصوصیات روان سیالی خوبی باشد و از آنجا که گونه ماهی در این مهم نقش دارد خصوصیات ژلاتین از هر گونه ماهی باید مورد بررسی قرار گیرد.

از نظر تجاری ژلاتین ماهی بصورت انبوه تولید نمی‌شود و بدلیل خواص بافتی ضعیف و پایداری کم و در نتیجه تاثیر بر کیفیت محصول در مقایسه با ژلاتین پستانداران موارد استفاده محدودی دارد. این محدودیت عمدتاً به تعداد پایین نواحی غنی از پرولین و مقادیر پایین ایمینو اسیدها (هیدروکسی پرولین و پرولین) در مولکول کلاژن و ژلاتین ماهیان سردآبی در مقایسه با حیوانات خونگرم و ماهیان گرمابی مربوط می‌شود (نورلند، ۱۹۹۰) و در نتیجه قدرت ژل، دمای چروکیدگی، دمای دناتوراسیون کلاژن و نقطه ذوب ژلاتین ماهیان سردآبی بطور معنی‌داری کمتر از کلاژن حیوانات خونگرم و ماهیان گرمابی خواهد بود (Go´mez-Guille´n *et al.*, 2002). به نظر

magiran.com



می‌رسد میزان اسیدهای آمینه هیدروفوب و هیدروکسیله و نیز سایر خواص چون توزیع وزن مولکولی و ویسکوزیته ژلاتین برای گونه‌های مختلف اختصاصی است (Go´mez-Guille´n *et al.*, 2002; Gudmundsson, 2002).

کاریچون ماهی (*Saurida tumbil*) یکی از گونه‌هایی است که در کارخانه‌های فرآوری ماهی جهت تهیه فیله از آن استفاده می‌شود. هدف از این تحقیق استخراج ژلاتین از پوست و استخوان کاریچون ماهی و مقایسه آن با ژلاتین تجاری خوک با میزان قدرت ژلی بالا می‌باشد.

## مواد و روش کار

پوست و استخوان کاریچون ماهی از کارخانه صنایع غذایی مارین در قزوین تهیه شد و تا زمان مصرف در ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری گردید. متوسط طول ماهیان مورد استفاده ۴۰ تا ۵۰ سانتیمتر بود. ژلاتین خوک جهت مقایسه با ژلاتین استخراج شده در این تحقیق از شرکت سیگما خریداری شد.

ژلاتین پوست براساس روش یک (Gudmundsson & Hafsteinsson, 1997) و روش دوم (Gime´nez *et al.*, 2005) در دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس استخراج شد. پوست منجمد یک شب در یخچال ۴ درجه سانتیگراد یخزدایی و پس از فلس‌زدایی با آب شسته و آبگیری شد. مواد حاصله در محلول نمک ۰/۸ نرمال در دمای ۴ درجه سانتیگراد تیمار و شستشو شد. مواد حاصله سپس در محلول سود ۰/۲درصد، محلول اسید سولفوریک ۱ درصد و محلول اسید سیتریک ۰/۲ درصد هر کدام به مدت ۴۰ دقیقه غوطه‌ور شد. بعد از هر بار مغروق‌سازی پوستها با آب جاری شسته شد تا زمانی که pH به ۷ برسد. هر مغروق‌سازی و شستشو ۳ بار تکرار شد که برای هر کدام مجموعاً ۲ ساعت بطول انجامید. نسبت پوست به محلول شستشو (براساس وزن تر) ۱ به ۷ بود. در انتها پوستها با آب مقطر شستشو شدند تا مواد باقیمانده برطرف گردد. استخراج نهایی در آب مقطر و دمای کنترل شده بین ۴۰ تا ۵۰ درجه سانتیگراد برای ۱۲ ساعت انجام شد. نسبت وزن پوست به آب مقطر ۱ به ۳ بود.

استخوانهای مورد استفاده برای استخراج ژلاتین توسط چاقو تمیز و سپس با غلطاندن در آب ۳۵ درجه سانتیگراد چربی‌زدایی شد. استخوانها در محلول اسید کلریدریک ۳ درصد در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتیگراد قرار گرفت تا مواد معدنی استخوان از آن جدا گردد. این فرآیند با تعویض سه روزه اسید تا زمانی که استخوان نرم و اوزئین بدست آید، ادامه یافت. زمان لازم برای این کار ۱۲ روز بود. اوزئین تا زمانی که pH به بالای ۴ رسید شستشو شد و استخراج در حمام آبی و در ۶۰ درجه سانتیگراد صورت پذیرفت.

محلول شفاف استخراج شده توسط قیف بوخنر و کاغذ صافی MN شماره ۱ فیلترگردید. محلول حاصله در یک خشک‌کن با هوای داغ تغلیظ شد و در نهایت توسط فریز درایر خشک شد. ماده جامد حاصله در یک آسیاب خانگی پودر و در کیسه‌های پلی‌اتیلنی خشک زیپ‌دار نگه‌داری شد.

آنالیز تقریبی مواد خام اولیه و ژلاتین حاصله از آنها براساس روش استاندارد انجام گردید (AOAC, 1995). میزان pH مواد خام براساس استاندارد BSI757 (1975) اندازه‌گیری شد. بر این اساس سوسپانسون ۱ درصد پوست و استخوان ماهی بصورت جداگانه تهیه گردید. برای ژلاتین نیز از محلول یک درصد استفاده شد. pH با pH متر استاندارد کالیبره شده اندازه‌گیری گردید. خصوصیات ویسکوالاستیک با استفاده از ویسکومتر Bohlin CRS-10 اندازه‌گیری شد. سرد و گرم کردن از ۴۰ درجه سانتیگراد تا ۵ درجه سانتیگراد و بازگشت به ۴۰ درجه سانتیگراد با فرکانس ۱ هرتز و استرس ۳ پاسکال انجام شد. ژلاتین خشک به میزان ۶/۶۷ درصد در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد حل شد و زاویه فازی ($\delta$; °) بدست آمد. چندین بار اندازه‌گیری برای هر نمونه انجام شد و خطای آزمایش را به زیر ۶ درصد رساند (Arnesen & Gildberg, 2002).

قدرت ژلی براساس استاندارد BSI757 (1975) برای محلول ۶/۶۷ درصد ژلاتین که با انحلال ژلاتین خشک در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد تهیه شده و برای ۱۶ تا ۱۸ ساعت در دمای ۷ تا ۸ درجه سانتیگراد در یخچال نگهداری شده بود، تعیین گردید. از یک دستگاه آنالیز بافت (TXA) انگلیسی با یک لود سل ۵۰۰ کیلو نیوتونی با میزان نفوذ ۰/۵ میلیمتر بر ثانیه و یک پلانگر استوانه‌ای سر تخت ۱/۲۷ سانتیمتری استفاده گردید. وقتیکه پلانگر ۴ میلیمتر درون ژلاتین فرو رفت، حداکثر نیرو برحسب گرم تعیین شد.

برای بررسی وزن مولکولی، ژلاتین خشک در آب مقطر در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد حل شد و با یک لودینگ بافر حاوی β- مرکاپتواتانول اضافه شد تا غلظت ۲ میلیگرم در میلی‌لیتر مخلوط گردید (Go´mez-Guille´n *et al.*, 2002). نمونه

magiran.com



پروتئین برای ۵ دقیقه در ۹۰ درجه سانتیگراد گرما داده شد و با SDS-PAGE آنالیز شد (Laemmli, 1970). ولتاژ استفاده شده ۲۵ میلی‌آمپر بر ژل و میزان لودینگ در هر چاهک ۱۵ میکرولیتر بود. باندهای پروتئینی با کوماسی برلیانت بلو R250 رنگ‌آمیزی شد. مارکر پروتئینی سیگما بعنوان مارکر زنجیره α و ترکیبات β و δ استفاده شد.

تعیین پروفیل اسید آمینه با استفاده از دستگاه کرماتوگرافی مایع با نفوذ بالا (HPLC) و با استفاده از ستون C18 و میزان حرکت ۰/۵ میلی‌لیتر در دقیقه انجام شد. در این راستا ژلاتین ابتدا با اسید کلریدریک ۶ نرمال برای ۱۶ ساعت در ۱۱۰ درجه سانتیگراد هیدرولیز شد (Pedersen *et al.*, 2003).

از آزمون T مستقل برای آنالیز آماری و آزمون دانکن برای بررسی اختلاف میانگین‌ها در سطح معنی‌داری ۹۵ درصد با نرم‌افزار SPSS استفاده شد. از نرم افزار Excell جهت رسم نمودارها استفاده شد.

## نتایج

نتایج نشان داد که محتوای پروتئین پوست و استخوان ماهی بترتیب ۳/۳±۲۶/۶ گرم در صد گرم و ۲/۱۷±۲۱/۳ گرم در صد گرم بود (جدول ۱). محتوای پروتئینی مواد کلاژنی بیشترین بازده ممکن از استخراج ژلاتین را فراهم نمودند. وزن خشک پوست و استخوان کاریچون ماهی بترتیب ۳۰/۵ گرم در صد گرم و ۵۲/۹ گرم در صد گرم و میزان بازده استخراج ژلاتین برای پوست و استخوان بترتیب ۱۰/۷ گرم در صد گرم و ۵/۱ گرم در صد گرم برحسب نسبت ژلاتین خشک به ماده تر اولیه بود. اما براساس نسبت ژلاتین خشک به ماده خشک اولیه این بازده بترتیب ۳۴/۹ گرم در صد گرم و ۸/۹ گرم در صد گرم محاسبه گردید. براساس نتایج، pH ژلاتین پوست و استخوان کاریچون ماهی بترتیب ۰/۱۲±۳/۶۸ و ۰/۰۷±۴/۱۵ بود. pH برای پوست و استخوان خام بترتیب ۰/۱±۶/۲۸ و ۰/۴۲±۶/۰۵ اندازه‌گیری شد.

pH ژلاتین پوست کاریچون ماهی اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵) با pH ژلاتین خوک (۰/۱۲±۴/۸) داشت. اما pH ژلاتین استخوان فاقد اختلاف معنی‌داری با ژلاتین خوک بود (جدول ۱).

در بررسی نتایج حاصل از الکتروفورز مشخص شد که ژلاتین پوست و استخوان وضوح بالایی از حضور زنجیره α از خود نشان دادند اما میزان وضوح در نواحی ترکیبات β و δ کمتر بود. به طوری که کاهش زیادی در میزان ترکیبات β و عدم مشاهده ترکیبات با وزن مولکولی بالا دیده شد. قطعات پپتیدی با وزن مولکولی کمتر از α در هر دو نوع ژلاتین استخراج شده دیده شد که این میزان برای ژلاتین استخوان بیشتر از ژلاتین پوست بود. همچنین در بررسی ژل حاصل از الکتروفورز مشخص شد که رنج گسترده ای از قطعات پپتیدی با وزن های مولکولی متفاوت در استخراج ژلاتین حاصل شده است (شکل ۱).

نمودار ۱ مقدار قدرت ژلی ژلاتین پوست و استخوان کاریچون ماهی را بعد از یک شب ماندگاری در دمای۷ تا ۸ درجه سانتیگراد نشان می‌دهد. ژلاتین پوست میزان قدرت ژلی بیشتری (۱۵۹/۱۴ گرم) نسبت به ژلاتین استخوان (۱۳۵ گرم) از خود نشان داد و هر دو نوع ژلاتین اختلاف معنی‌داری را (P<۰/۰۵)۰ نسبت به قدرت ژلی ژلاتین خوک (۲۲۴/۳ گرم) از خود نشان دادند.

نمودار ۲ انتقال گرمایی با تغییر در زاویه فازی ژلاتین حل شده در طول سرد کردن ( از ۴۰ درجه سانتیگراد به ۵ درجه سانتیگراد) و ذوب مجدد ( از ۵ درجه به ۴۰ درجه سانتیگراد) را نشان می‌دهد. تشکیل ژل در ژلاتین حل شده پوست و استخوان در حدود ۱۴ درجه سانتیگراد اتفاق افتاد (نمودار الف). نمودار ذوب مجدد نشان می‌دهد که ذوب ژل در دمای ۱۷ درجه سانتیگراد اتفاق می‌افتد (نمودار ب). ژلاتین خوک در دمای ۲۶ درجه سانتیگراد شروع به تشکیل ژل و در دمای ۳۳ درجه سانتیگراد شروع به ذوب شدن نمود.

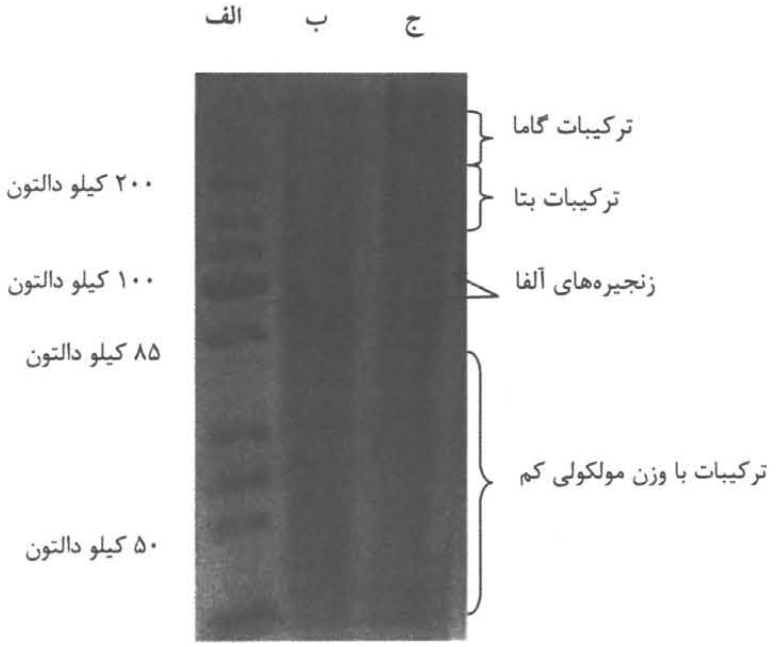
magiran.com



**جدول ١: نتایج آنالیز تقریبی و میزان pH پوست و استخوان کاریچون ماهی و ژلاتین حاصل از آنها**

| نوع ماده / ترکیب (درصد) | ژلاتین استخوان | ژلاتین پوست | استخوان | پوست |
|---|---|---|---|---|
| رطوبت | ٨/٢٧±٠/١$^{a}$ | ١٠/٠٧±٠/٤٢$^{a}$ | ٤٣/٢٣±٤/٨$^{b}$ | ٦٩/٢٣±٢/٩$^{a}$ |
| پروتئین | ٨١/٨٩±١/٠١$^{a}$ | ٨٣/٩٤±٠/١٥$^{a}$ | ٢١/٢٨±٢/١٧$^{a}$ | ٢٦/٦٣±٣/٣$^{a}$ |
| چربی | ٠/٠١±٠/٠٠٥$^{a}$ | ٠/٠٣±٠/٠١$^{a}$ | ٦/٥٧±٠/٩٥$^{b}$ | ٢/٤١±٠/٢١$^{a}$ |
| خاکستر | ١١/١٧±٠/١٩$^{b}$ | ١/٩٨±٠/٢٥$^{a}$ | ٢٥/٠٦±٣/٠٨$^{b}$ | ١/٤٤±٠/٣٧$^{a}$ |
| pH | ٤/١٥±٠/٠٠٦$^{a}$ | ٣/٦٨±٠/١٢$^{a}$ | ٦/٠٥± ٠/٤٢$^{b}$ | ٦/٢٨± ٠/١$^{a}$ |

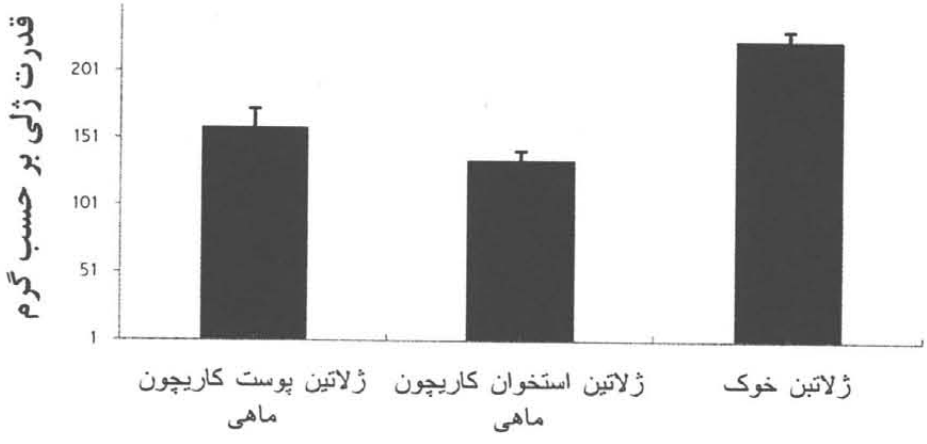
اختلاف در بین ژلاتین و مواد خام جداگانه سنجیده شده است و سطح معنی‌داری اختلافات ٥ درصد می‌باشد.



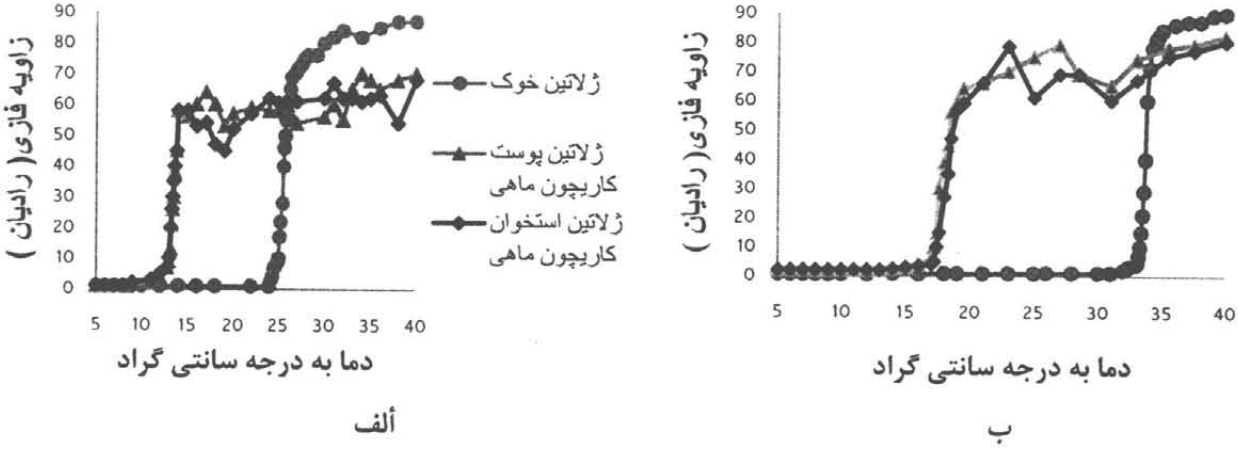

**شکل ١ : آنالیز الکتروفورزی وزن مولکولی ژلاتین به روش SDS-PAGE با ژل ٥ درصد در حضور بتا- مرکاپتواتانول. ترکیبات آلفا، بتا و گاما بعنوان اصلی‌ترین ترکیبات حاصل از دناتوراسیون کلاژن نشان داده شده است. مارکر وزن مولکولی فرمنتاز (الف)، ژلاتین استخوان (ب)، ژلاتین پوست (ج)**

magiran.com






**نمودار۱: قدرت ژلی ژلاتین پوست و استخوان کاریچون ماهی و ژلاتین خوک در ۱۰ درجه سانتیگراد (میانگین انحراف استاندارد)**




**نمودار۲: خصوصیات ویسکوالاستیک ژلاتین حاصل از پوست و استخوان کاریچون ماهی و ژلاتین خوک تغییرات زاویه فازی در طول سرد کردن از ٤٠ تا ٥ درجه سانتیگراد (الف) و گرم کردن مجدد آن (ب) نشان داده شده است.**

جدول ۲ نشاندهنده ترکیب اسید آمینه ژلاتین حاصل از پوست و استخوان کاریچون ماهی و ژلاتین خوک می‌باشد. ژلاتین پوست و استخوان ماهی بترتیب ۴/۹۵ درصد و ۶/۸۳ درصد محتوای مولی اسید آمینه کمتری نسبت به ژلاتین خوک داشتند. بعلاوه ژلاتین کاریچون ماهی دارای محتوی اسید آمینه گلایسین و سرین بیشتری نسبت به خوک بود. ژلاتین پوست و استخوان کاریچون ماهی محتوای ایمینو اسید کمتری ( بترتیب ۲۱/۲۷ درصد و ۱۹/۸۳درصد) نسبت به خوک ( ۲۶/۶۶ درصد) داشت.

magiran.com



جدول۲: پروفیل اسید آمینه ژلاتین پوست و استخوان کاریچون ماهی و ژلاتین خوک

| اسید آمینه | خوک | استخوان | پوست |
|---|---|---|---|
| آسپارژین | ٥/٠٤ | ٥/٣٦ | ٥/٣٦ |
| گلوتامین | ١٠/١٦ | ٧/٢٣ | ٧/٣ |
| سرین | ٢/٩١ | ٣/٤ | ٣/ ٤٦ |
| هیستیدین | ٠/٦٤ | ٠/٩ | ٠/٩ |
| گلایسین | ٢٠/٩٨ | ٣٠/٣٤ | ٣٠/٣٤ |
| ترئونین | ١/٧١ | ١/٥٣ | ١/٥٣ |
| آرژنین | ٧/٢٧ | ٥/٢٩ | ٥/٣٤ |
| آلانین | ١١/١ | ٩/١ | ٩/٥٨ |
| تیروزین | ٠/٥٨ | ٠/٣ | ٠/٣ |
| والین | ٢/٣٥ | ١/٨٤ | ١/٨ |
| متیونین | ٠/٧٧ | ١/٣٥ | ١/٣٥ |
| فنیل آلانین | ٢/١٥ | ١/٤ | ١/٤ |
| ایزولوسین | ١/١٣ | ٠/٨٥ | ٠/٨٥ |
| لوسین | ٢/٦٦ | ١/٩ | ١/٩٢ |
| لیزین | ٣/٣٦ | ٢/١ | ٢/١٣ |
| هیدروکسی پرولین | ١٣/٩٦ | ٨/١٣ | ٩/٩ |
| پرولین | ١٢/٧ | ١١/٧ | ١١/٨١ |
| پرولین+ هیدروکسی پرولین | ٢٦/٦٦ | ١٩/٨٣ | ٢١/٧١ |

اعداد براساس مول در ١٠٠ مول ژلاتین هیدرولیز شده است

## بحث

در این تحقیق به بررسی خصوصیات ژلاتین استخراج شده از پوست و استخوان کاریچون ماهی پرداخته شد. براساس تحقیق Arnesen و Gildberg در سال ٢٠٠٧، گزارش بازده استحصال ژلاتین براساس وزن تر مواد اولیه اگر چه معمول است اما قابل تاکید نیست زیرا محتوای آب مواد اولیه بعلت تیمارهای مختلف اعمال شده بر روی مواد اولیه ممکن است متفاوت باشد. بنابراین بازده ژلاتین باید براساس نسبت میزان ژلاتین خشک استحصالی به وزن ماده خشک اولیه گزارش شود. در نتیجه می‌توان به دیدی بهتر و قابل تاکید در مورد ژلاتین حاصله از مواد کلاژنه ماهیان رسید.

محتوای ژلاتین استخوان کاریچون ماهی کمتر از پوست بود. این تفاوت ممکن است به دو دلیل باشد. میزان زیاد گوشت چسبیده به استخوان در مقایسه با پوست یا میزان بیشتر از دست رفتن مواد کلاژنه بدلیل روند طولانی تیمار در محلول اسیدی. گوشت معمولاً حاوی مواد غیر کلاژنه است و در طول روند تیمار اسید محلول می‌شود. اثبات شده است که دو نوع بافت متفاوت در نوع و میزان پیوندهای عرضی در بین زنجیره‌های پروتئینی متفاوتند (Sims *et al.*, 2000). در ماهیان نیز مانند پستانداران محتوای پیوندهای کلاژنی و نوع آنها براساس سن جاندار افزایش می‌یابد (Sims & Bailey, 1992). کلاژن حاصل از جانداران نابالغ حاوی پیوندهای درونی دهیدروکسی لیزینو نورلوسین است (deHLNL). در حالیکه کلاژن حاصل از استخوان جانداران نابالغ حاوی هیدروکسی لیزینو کتونورلوسین است (HLKNL). این پیوندهای عرضی در طول بلوغ بترتیب به هیستیدینوهیدروکسی لیزینونورلوسین (HHL) و پیرولیدین (PYR) که مستحکم‌تر و پایدارترند تبدیل می‌شوند (Sims *et al.*, 2000). پیرولیدین

magiran.com



نسبت به هیستیدینوهیدروکسی لیزینونورلوسین در مقابل گرما پایدارتر است (Bailey *et al.*, 1998). در نتیجه انتظار می‌رود در روند استخراج به شیوه هیدرولیز گرمایی محلول شدن مواد کلاژنه با پیوندهای عرضی کمتر و ضعیفتر، بیشتر صورت پذیرد و میزان بازده استخراج ژلاتین افزایش یابد. ماهیان مورد استفاده در این آزمایش بالغ بودند و نتایج پیشنهاد می‌کند که کلاژن پوست کاریچون ماهی مقدار کمتری پیوندهای عرضی پایدار نسبت به کلاژن استخوان دارد. این مساله می‌تواند دلیل استخراج میزان بیشتر ژلاتین پوست نسبت به استخوان باشد.

اختلاف در pH ژلاتین‌ها ممکن است بدلیل نوع و قدرت اسید بکار رفته در طول روند استخراج باشد. با بررسی میزان خاکستر نیز مشخص می‌شود که استخوان بدلیل داشتن مواد معدنی بسیار بیشتر از پوست نیاز به تیمار اسیدی بیشتری دارد تا این ترکیبات معدنی را از بافت استخوان خارج نماید. میزان خاکستر باقیمانده در ژلاتین حاصل از استخوان نشان می‌دهد که اگر چه روند تیمار اسیدی در کاهش مواد معدنی استخوان و تولید اوزئین موثر بوده اما میزان خاکستر باقیمانده همچنان زیاد است و شاید برای استخراج ژلاتین از استخوان کاریچون ماهی نیاز به استفاده از روند طولانی‌تر تیمار اسیدی یا استفاده از اسید قوی‌تر باشد.

به منظور بررسی تفاوت در وزن مولکولی قطعات پپتیدی ژلاتین ایجاد شده در روند استخراج، ژلاتین تهیه شده از پوست و استخوان کاریچون ماهی بوسیله روش الکتروفورز پلی‌آکریل آمید در حضور ماده سدیم دودسیل سولفات مورد آنالیز قرار گرفت. براساس یافته‌های Tavernier در سال ۱۹۸۹، پراکنش گسترده قطعات پپتیدی با وزن مولکولی کم در ارتباط با ویسکوزیته پایین، نقطه ذوب و دمای پایین تشکیل ژل، زمان طولانی تشکیل ژل است. ویسکوزیته کمتر و دمای پایین‌تر آغاز تشکیل ژل در پوست و استخوان کاریچون ماهی نسبت به ژلاتین خوک شاید بدلیل همین مسئله باشد. در این تحقیق پوست و استخوان کاریچون ماهی قبل از مصرف به صورت یخ زده نگه‌داری شد. براساس یافته‌های Fernández-Díaz و همکاران در سال ۲۰۰۳، کریستال‌های یخ می‌توانند باعث آسیب دیدن بافت گردند. بنابراین مولکولهای کلاژن با پیوندهای عرضی بیشتر بوجود می‌آید که استخراج و حلالیت دیمر و تریمرهای زنجیره α را سخت‌تر می‌کند و در مقابل مولکولهای کلاژن با الحاقات کمتر و کوچکتر می‌توانند راحت‌تر استخراج شوند. این مسئله بسیار مهم است زیرا براساس مطالعات Johnston-Banks در سال ۱۹۹۰ متوسط وزن مولکولی یک ژلاتین عامل اصلی رفتار تشکیل ژل آن می‌باشد. همچنین همانطور که از نتایج بر می‌آید، وزن مولکولی ژلاتین پوست و استخوان کاریچون ماهی از پراکنش گسترده‌ای برخوردارست؛ براساس یافته‌های Yau و همکاران در ۱۹۷۹ پراکنش گسترده وزن مولکولی تاثیر منفی بر برخی خصوصیات کاربردی ماکرومولکولها دارد. اختلاف بین خصوصیات ژلاتین پوست و استخوان با ژلاتین خوک ممکن است تا حدی مربوط به پراکنش وزن مولکولی باشد.

اما قدرت ژلی مهمترین خصوصیت ژلاتین است و کیفیت ژل تولیدی را نشان می‌دهد. در این تحقیق میزان قدرت ژلی ژلاتین پوست بیش از استخوان بود و هر دو اختلاف معنی‌داری با قدرت تشکیل ژل ژلاتین خوک نشان دادند. این ممکن است بدلیل محتوای بیشتر هیدروکسی پرولین در ژلاتین خوک باشد (جدول ۲). براساس یافته‌های Arnesen و Gildberg در سال ۲۰۰۲، محتوای کم هیدروکسی پرولین در ژلاتین ماهی دلیل اصلی برای قدرت ژلی کم آن می‌باشد. قدرت ژلی کمتر در این مطالعه می‌تواند براساس یافته‌های Gómez-Guillén و همکاران در سال ۲۰۰۲ توضیح داده شود که درصد کمتر قطعات پپتیدی β و δ در مقایسه با زنجیرهٔ مفرد α در ژلاتین کاریچون ماهی ممکن است به زمان طولانی‌تری نیاز داشته باشد تا اجازه دهد هسته‌های مرکزی تشکیل ژل رشد نماید و ژل بطور کامل تشکیل شود. همچنین حضور قطعات مختلف پپتیدی در این مطالعه براساس یافته‌های Ledward در سال ۱۹۸۶ و Normand و همکاران در سال ۲۰۰۰ ممکن است قدرت زنجیره‌های α را در جهت‌گیری مناسب برای تشکیل ژل در طول ماندگاری شبانه با دخالت در رشد مراکز هسته‌ای موجود کاهش دهند و به این دلیل ژلی با قدرت ژلی کمتر تشکیل شود.

برای بررسی ویسکوزیته، ژلاتین خشک در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد در آب مقطر حل شد و خصوصیات ویسکوالاستیک آن با تشکیل ژل و ذوب مجدد آن بررسی شد. زاویه فازی (δ) شاخصی است که رفتار ژلی ژلاتین را توضیح می‌دهد و براساس آن می‌توان به نقطه ذوب و دمای تشکیل ژل پی‌برد. حضور مقدار کمتر دیمر و تریمرهای زنجیره α در ژلاتین پوست و استخوان، چنانچه در قسمت الکتروفورز توضیح داده شد، پیشنهاد می‌کند که تشکیل مجدد ساختار سه بعدی بیشتر در اثر جهت‌یابی اتفاقی زنجیره‌های α می‌باشد تا خصوصیات ذاتی کلاژن مورد

magiran.com



استفاده (Ledward, 1986). این یافته‌ها اهمیت زمان را برای تحریک پیوندهای عرضی زنجیره‌های کلاژن برای تشکیل یک شبکه ژلی تاکید می‌کند. مقاوت گرمایی یک ژل ژلاتینی رابطه مستقیم با تعداد و پایداری نواحی غنی از ایمینو اسید هیدروکسی پرولین در مولکولهای کلاژن و ژلاتین دارد (Ledward, 1986). پایداری ساختار مارپیچی در ساختمان ژل ژلاتین وابسته به محتوای کل ایمینو اسیدهای پیرولیدین است که در واقع نواحی غنی از پیرولین و هیدروکسی پیرولین است که هسته‌های اولیه تشکیل ژل هستند (Ledward, 1986). عقیده بر این است که هیدروکسی پرولین بدلیل توانایی تشکیل پیوند هیدروژنی از طریق گروههای هیدروکسیل نقش اساسی را در پایداری مارپیچ سه گانه کلاژن ایفا می‌کند (Ledward, ;Burjandze, 1979 1986). در سال ۱۹۹۰، Johnston-Banks گزارش نمودند که ایمینو اسیدها عامل اصلی سفتی کلاژن است و محدودیت محتوی ایمینو اسیدها از قدرت و پایداری ساختار مارپیچ سه تایی کم می‌کند و ممکن است بر خصوصیات کاربردی ژلاتین تاثیر داشته باشد.

محتوای ایمینو اسیدهای پرولین و هیدروکسی پرولین در ژلاتین پوست و استخوان مارمولک ماهی نسبت به ژلاتین خوک که خصوصیات ویسکوالاستیک بهتری را از خود نشان می‌دهد کمتر است. بنابراین نسبت به ژلاتین خوک خصوصیات ویسکوالاستیک ضعیف‌تری از خود نشان می‌دهند. علاوه بر این ژلاتین پوست و استخوان ماهی محتوای کمتری از آلانین را به نمایش گذارد. این اسید آمینه معمولاً در نواحی غنی از پرولین و هیدروکسی پرولین دیده می‌شود. محتوای بیشتر این اسیدهای آمینه در ژلاتین خوک یکی از دلایل اصلی برای ویسکوزیته بالاتر است. اگر چه Gudmunsson و Hafsteinsson در سال ۱۹۹۷ گزارش کردند که ویسکوزیته ژل ممکن است اساساً مربوط به پراکنش وزن مولکولی باشد تا محتوای اسیدهای آمینه. بعبارت دیگر روند استخراج باید مورد توجه قرار گیرد. در این مطالعه آنالیز الکتروفورزی ژلاتین استخراج شده تفاوت در پراکنش وزن مولکولی را نشان داد که میزان زنجیره α بیش از ترکیبات β و δ بود.

در مقایسه ژلاتین پوست و استخوان کاریچون ماهی با جدول استاندارد GMIA برای ژلاتین‌های خوراکی قلیایی جهت استفاده در صنایع دارویی و تولید کپسولهای ژلاتین قلیایی مشاهده گردید که ژلاتین پوست کاریچون ماهی دارای خصوصیات منطبق بر استاندارد چنین کپسولهایی است اما ژلاتین استخوان کاریچون ماهی بدلیل دارا بودن محتوای خاکستر بالا و میزان پروتئین کمتر از ۸۴ درصد از این قابلیت برخوردار نیست. همچنین از این ژلاتین می‌توان در تولید فرآورده‌های غذایی که باید در یخچال نگهداری شود استفاده نمود چرا که در دمای یخچال حالت منجمد دارد. هر چند اطلاعات مستدلی در مورد میزان دقیق تولید فیله کاریچون ماهی در کشور وجود دارد اما براساس میزان فیله موجود در بازار می‌توان گفت که حجم بالایی از ضایعات این گونه ماهی در کشور تولید می‌شود که قابلیت تولید ژلاتین از آنها وجود دارد و از نظر اقتصادی قابل توجیه است. هر چند نویسندگان این مقاله انجام تحقیقی بر روی بهینه‌سازی شرایط تولید ژلاتین کاریچون ماهی با استفاده از روش پاسخ سطحی را ضروری می‌دانند.

اما در جمع‌بندی می‌توان گفت تفاوتهای مختلفی بین ژلاتین پوست و استخوان کاریچون ماهی دیده شد که بر خصوصیات کاربردی آنها تاثیر داشت. براساس نتایج بدست آمده ژلاتین استخوان کاریچون ماهی از قطعات مولکولی با وزن مولکولی پایین بیشتری تشکیل شده بود که باعث خصوصیات ژلی ضعیف‌تر نسبت به ژلاتین پوست شده بود. براساس این تحقیق زایدات کاریچون ماهی توانایی استفاده بعنوان منبعی برای تولید ژلاتین را دارد که این پتانسیل برای پوست به مراتب بیشتر از استخوان است.

## تشکر و قدردانی

از جناب آقای مهندس احمدی مدیر فنی کارخانه فرآوری محصولات غذایی مارین که ما را در تهیه مواد اولیه یاری رسان بودند و جناب آقای مهندس کمالی و مهندس بور کارشناسان آزمایشگاه دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس قدردانی می‌نماییم.

## منابع

**شکوه صارمی، ا. ؛ مرتضوی، ع. ؛ اسماعیل‌زاده کناری، ر. و معتمدزادگان، ع. ، ۱۳۸۵.** بررسی راندمان استخراج و قدرت ژل ژلاتین پوست ماهی فیتوفاگ. سومین سمینار امنیت غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سوادکوه..

**علوی طلب، ه. ؛ توکلی‌پور، ح. و غرقی، ا. ، ۱۳۸۵.** بررسی و مقایسه کیفیت ژلاتین اسیدی و قلیایی پوست و باله کپور

magiran.com



فیتوفاگ با منابع دیگر. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۷۲، صفحات ۵۰ تا ۵۷.

**AOAC, 1995.** Official methods of analysis (16th ed.). Association of Official Analytical Chemists, Inc. Washington, D.C., USA.

**Arnesen J.A. and Gildberg A., 2002.** Preparation and characterisation of gelatine from the skin of harp seal (*Phoca groendlandica*). Bioresource Technology, 82:191-194.

**Arnesen J.A. and Gildberg A., 2007.** Extraction and characterisation of gelatine from Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin. Bioresource Technology, 98:53-57.

**Bailey A.J., Paul R.G. and Knott L., 1998.** Mechanisms of maturation and aging of collagen. Mechanism of Aging and Development, 106:1-56.

**BSI 757 (British Standard Institution), 1975.** Methods for sampling and testing gelatine (physical and chemical methods). London, UK.

**Burjandze T.V., 1979.** Hydroxy-proline content and location in relation to collagen thermal stability. Biopolymers, 18:931-936.

**Fernández-Díaz M.D., Montero P. and Gómez-Guillén M.C., 2003.** Effect of freezing fish skins on molecular and rheological properties of extracted gelatine. Food Hydrocolloids, 17:281-286.

**Gelatin Manufacturers Institute Of America Inc.,** Standard methods for sampling and testing of Gelatine, 2003; GMIA. 271 Madison, Suite 908. New York, USA.

**Giménez B., Goméz-Guillén M.C. and Montero P., 2005.** Storage of dried fish skins on quality characteristics of extracted gelatine. Food Hydrocolloids, 19:958-963.

**Goméz-Guillén M.C., Turnay T.F., Fernandez-Diaz M.D., Ulmo N., Lizarbe M.A. and Montero P., 2002.** Structural and physical properties of gelatine extracted from different marine species: A comparative study. Food hydrocolloids, 16:25-34.

**Gudmundsson M., 2002.** Rheological properties of fish gelatines. Journal of Food Science, 67:2172-2176.

**Gudmundsson M. and Hafsteinsson H., 1997.** Gelatine from cod skins as affected by chemical treatments. Journal of Food Science. 52:37-39.

**Haug, I.J. ; Draget, K.I. and Smidsrød O., 2004.** Physical and rheological properties of fish gelatine compared to mammalian gelatine. Food hydrocolloids, 18:203-213.

**Johnston-Banks F.A., 1990.** Gelatine. *In*: Harris, P. (ed.), Food Gels. Elsevier Applied Science, London, UK. pp.233-289.

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

**Laemmli U.K., 1970.** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 227:680-685.

**Ledward D.A., 1986.** Gelation of gelatine. *In*: J.R. Mitchell and D.A. Ledward (eds.). Functional properties of food macromolecules. Elsevier Applied Science, London, UK. pp.171-201.

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

magiran.com



**Normand V., Muller S., Ravey J.C. and Parker A., 2000.** Gelation kinetics of gelatine: A master curve and network modelling. Macromolecules, 33:1063-1071.

**Pedersen G.M., Gildberg A., Steiro K. and Olsen R.O., 2003.** Histone-like proteins from Atlantic cod milt: Stimulatory effect on Atlantic salmon leucocytes in vivo and in vitro. Comparative Biochemistry and Physiology, 134B:407-416.

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

**Shahidi F., 1994.** Seafood processing by-products. *In*: F. Shahidi and J.R. Botta (eds.). Sea foods chemistry processing technology and quality. Blackie, Glasgow, pp.320-334.

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

**Sims J.T. and Bailey A.J., 1992.** Quantitative analysis of collagen and elastin crosslinks using a single-column system. Journal of Chromatography, 582:49-55.

**Sims J.T., Avery N.C. and Bailey A.J., 2000.** Quantitative determination of collagen crosslinks. *In*: C. Streuli, and M. Grant (eds.). Methods in molecular biology. Extracellular matrix protocols, Totowa: Humana Press. 139: 11-26.

**Tavernier B.H., 1989.** Molecular mass distribution of gelatine and physical properties. Photographic Gelatine Proceedings, 1:217-228.

**Terao K., Nagasawa N., Nishida H., Furusawa K., Mori Y., Yoshii F. and Dobashi T., 2003.** Reagent-free cross linking of aqueous gelatine: manufacture and characteristics of gelatine irradiated with gamma- ray and electron beam. Journal of Biomaterials Science, Polymer Edn.Vol. 14, PP.1197-1208.

**Yau W.W., Kirkland J.J. and Bly D.D., 1979.** Modern size-exclusion liquid chromatography practice of gel permeation and gel filtration chromatography. Wiley, New York, USA. 479P.

magiran.com

Iranian Scientific Fisheries Journal Vol. 18, No. 4, Winter 2010

# Gelatine properties made from skin and bone of Lizard fish (*Saurida tumbil*)

**Taheri A.; Abedian A.M.* and Behnam Sh.**

Faculty of Marine Science and Natural Resources, Tarbiat Modares University,
P.O.Box: 46414-356 Noor, Iran

Received: March 2009 Accepted: December 2009

**Keywords:** Gelatine, Lizard fish, Amino acids

## Abstract

Type-A gelatine was extracted from skins and bones of lizard fish and analysed for functional and chemical properties. Bloom gel strength was 159.14±14 and 135±7.9g, respectively, for skin and bone gelatines compared to 224.3±7.7 for porcine gelatine ($P<0.05$). Gelatine from skin and bone exhibited higher viscosity and lower setting temperature than porcine gelatine. Skin gelatine had higher amino acid composition than bone gelatine, with a total amino acid content of about 21.71% and 19.83% for skin and bone respectively. Alpha chains were higher than β and δ components in skin and bone gelatine. Both bone and skin gelatines contained peptides with low molecular weight (<α). The differences in functional properties between the skin and bone gelatines appeared to be related to differences in amino acid composition and molecular weight distribution of the gelatines.

* Corresponding author: aabedian@modares.ac.ir