

تولید و ارزیابی ویژگی‌های فیلم‌های خوراکی حاصل از ژلاتین استخراج شده از فلس ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در pH های متفاوت

محسن کاظمی^۱، سید مهدی اجاق^{۲*}، بهاره شعبانپور^۳، حجت میرصادقی^۱

۱- دانشجوی دکتری فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- دانشیار گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۳- استاد گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ دریافت: ۹۴/۰۳/۰۷ تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۴/۲۴)

چکیده

در این تحقیق ژلاتین از فلس ماهی کپور معمولی در شرایط مختلف pH استخراج و به منظور تولید فیلم مورد استفاده قرار گرفت. به منظور ارزیابی اثر pH استخراج ژلاتین بر خواص فیلم‌ها، آزمون‌های فیزیکی، مکانیکی، نوری و طیف سنجی مادون قرمز فیلم‌های مربوطه انجام گرفت. بالاترین میزان استحکام کششی در فیلم‌های با pH برابر ۵ مشاهده شد. از نظر کشسانی، بیشترین میزان در pH ۷ مشاهده شد. حلالیت و تورم پذیری فیلم‌های تولیدی در pH ۵ کمترین میزان را نشان دادند که بیانگر مقاومت نسبتاً بهتر آن‌ها به آب در قیاس با سایر فیلم‌ها بود. اما از نظر نفوذپذیری به بخار آب مناسب‌ترین حالت در pH خنثی مشاهده شد. خواص نوری و شفافیت فیلم‌ها به طور کلی شرایط مناسبی داشتند و اختلاف معنی داری با یکدیگر نشان ندادند. نتایج حاصل از طیف سنجی مادون قرمز نیز دال بر این مطلب داشت که محتوای ماریپیج سه گانه بیشتر در فیلم‌های تولیدی در pH اسیدی ملایم (۵) سبب بهبود خواص مکانیکی آنها در مقایسه با سایر فیلم‌ها شده است. به طور کلی می‌توان عنوان کرد که از بین فیلم‌های تولید شده، فیلم‌های حاصل از pH برابر ۵ از نظر خواص مکانیکی و پایداری در برابر آب نسبت به فیلم‌های تهیه شده در سایر pH ها مناسب‌تر بوده و تا حدی با فیلم‌های تولیدی از ژلاتین حاصل از پستانداران قابل مقایسه‌اند.

کلید واژگان: استخراج ژلاتین، فیلم خوراکی، فلس ماهی کپور معمولی، ساختار ماریپیج سه گانه

* مسئول مکاتبات: mahdi_ojagh@yahoo.com

۱- مقدمه

کاربرد اصلی بسته بندی در غذا حفظ کیفیت و ایمنی محصول غذایی بوسیله ممانعت از اثر عوامل و شرایط نامساعد است. در میان مواد اصلی بسته بندی، پلاستیک‌های برپایه نفت از نیمه قرن بیستم به بعد به طور گسترده مورد استفاده قرار گرفته اند که به دلیل عدم تجزیه پذیری سبب مشکلات جدی زیست محیطی شده اند [۱]. در نتیجه در سالهای اخیر تحقیقات بسته بندی بیشتر بر تولید فیلم های خوراکی یا زیست تخریب پذیر از پلیمرهای طبیعی متمرکز بوده است [۲]. بیوپلیمر یا پلیمرهای زیست تخریب پذیر موادی هستند که حداقل یک مرحله از پروسه تخریبشان از طریق متابولسیم طبیعی موجودات زنده صورت می گیرد [۳] و معمولاً از موادی نظیر پلی ساکارید ها و پروتئین ها تولید می شوند. ژلاتین به دلیل فراوانی و تجزیه پذیری برای تولید فیلم های خوراکی مورد توجه است. در سال های اخیر باتوجه به شیوع بیماری های ناشی از مصرف ژلاتین گاوی و همچنین عدم پذیرش ژلاتین خوک نزد گروه های مذهبی، تحقیق روی منابع خام دیگر ژلاتین افزایش یافته است [۴]. فیلم های ژلاتینی که از پوست خوک و گاو تولید شده اند خواص مکانیکی قوی تری نسبت به فیلم های حاصل از ژلاتین پوست ماهی نشان دادند که این با غلظت بالاتر پرولین و هیدروکسی پرولین آن ها مرتبط است [۵]. از طرفی مطالعات انجام شده روی تولید فیلم از ژلاتین ماهی نشان داد که ژلاتین تولیدی از همه ماهیان نیز خواص تشکیل فیلم عالی دارند [۶]. عمل آوری آبزیان معمولاً منجر به تولید مقادیر زیادی ضایعات می شود که می توانند برای تولید ژلاتین استفاده شوند [۷]. پوست و استخوان گونه های زیادی از ماهی ها برای تولید ژلاتین بررسی شده اند. با این حال فلس های ماهیان در این زمینه تاکنون به ندرت مورد استفاده قرار گرفته اند [۸]. فلس ماهی حاوی مقادیر متفاوتی از مواد معدنی مختلف، پروتئین های بافت پیوندی، چربی ها و رنگدانه ها می باشد [۹]. پروتئین های اصلی در فلس ماهی شامل کلاژن نوع ۱^۱، کراتین و میوسین^۲ می باشند [۱۰]. تاکنون استخراج ژلاتین از فلس ماهیانی مثل

ساردین [۱۱] و تیلاپیا [۱۲] مورد مطالعه قرار گرفته است. ماهی کپور معمولی از جمله ماهیانی است که در ایران به سهولت پرورش میابد و به دلیل فراوانی و قیمت مناسب در طول سال مصرف می شود [۱۳]. در نتیجه عمل آوری و فیله کردن آن مقدار زیادی فلس حاصل می شود که پتانسیل استفاده به عنوان یک منبع مهم تولید ژلاتین به منظور تولید فیلم را دارا است. اگرچه فیلم های پروتئینی خصوصیات سدکنندگی عالی در برابر اکسیژن و بو دارند، اما خواص مکانیکی و ممانعت کنندگی آنها در برابر بخار آب در مقایسه با پلیمرهای سنتزی ضعیف است [۱۴]. بنابراین تحقیقات زیادی جهت بهبود خواص فیلم های پروتئینی انجام شده است [۱۲]. به خوبی روشن است که دافعه الکترواستاتیک بین ملکول های پروتئین، در pH خارج از نقطه ایزوالکتریک ایجاد می شود [۱۴] و تغییرات pH می تواند بعنوان روشی جایگزین برای بهبود قابلیت تشکیل ژل و متعاقباً فیلم در ژلاتین استفاده شود [۱۵]. بعلاوه چندین مطالعه گزارش کردند که خواص فیزیکی فیلم های تولیدی بر پایه پروتئین به میزان زیادی تحت تاثیر pH محلول تشکیل فیلم قرار می گیرد [۱۲]. با این حال اطلاعات کمی مرتبط با اثرات تغییرات pH مورد استفاده در استخراج ژلاتین از فلس ماهی و تاثیر آن بر خواص فیلم تولیدی موجود می باشد. بنابراین در مطالعه حاضر ابتدا ژلاتین از فلس ماهی کپور معمولی در pH های مختلف استخراج شد و در مرحله بعد تاثیر pH فرآیند استخراج بر مشخصات فیلم های تولیدی بوسیله آزمون های مربوطه مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روشها

۲-۱- مواد مصرفی

در این تحقیق از فلس ماهی کپور معمولی تازه، HCl، NaOH و گلیسرول ساخت شرکت Merck، آب اکسیژنه (H₂O₂) ساخت شرکت آرمان سینا و اتانول ساخت شرکت غدیر استفاده گردید.

۲-۲- تهیه فلس ماهی

فلس ها از بازار ماهی فروشان واقع در شهر گرگان هنگام فیله کردن ماهیان تازه تهیه شده و پس از یخ پوشی، طی مدت یک

1. Collagen type 1
2. Mucin

ظروف پلاستیکی لبه دار به ابعاد ۵×۵ سانتی متر ریخته شده و در دمای ۲۵°C و رطوبت نسبی ۵۰٪ به مدت تقریباً ۲۴ ساعت خشک شدند. فیلم‌ها سپس به صورت دستی جدا شده و برای آنالیزهای مربوطه استفاده شدند.

۲-۵- ضخامت فیلم‌ها

سنجش میزان ضخامت نمونه‌ها با استفاده از ریزسنج دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر (Mitutoyo, Japan) انجام گرفت. نه نقطه از هر نمونه برای اندازه‌گیری انتخاب شد. میانگین ضخامت‌های بدست آمده برای تعیین میزان مقاومت کششی و نفوذپذیری به بخار آب استفاده گردید.

۲-۶- تعیین خواص مکانیکی

خواص مکانیکی با استفاده از دستگاه تجزیه و تحلیل بافت (TexVol, Sweden) ارزیابی شد. فیلم‌ها به شکل مستطیل در ابعاد ۱۰×۲/۵۴ سانتی متر بریده و به تعادل رطوبتی رسیدند. فاصله بین دو فک دستگاه ۵۰ میلی‌متر و سرعت حرکت فک‌ها ۵۰ میلی‌متر بر دقیقه انتخاب شد. حداقل سه تکرار برای هر فیلم در نظر گرفته شد. فاکتورهایی شامل مقاومت به کشش (TS^1) و درصد افزایش طول تا نقطه پاره شدن (E^2) طبق استاندارد ASTM D882-02 از روی منحنی‌های نیرو بر حسب تغییر شکل به دست آمدند [۱۶].

۲-۷- تعیین میزان نفوذپذیری فیلم‌ها در برابر

بخار آب (WVP^3)

نفوذپذیری فیلم‌ها بر اساس روش E96 مصوب ASTM اندازه‌گیری شد [۱۷]. فیلم‌ها توسط گریس روی سطح سلول‌های اندازه‌گیری ثابت شده و درون دسیکاتور حاوی سلیکاژل قرار داده شدند. آب در دمای ۲۵°C رطوبت ۱۰۰٪ ایجاد می‌کند. اختلاف رطوبت در دو سمت روکش در دمای ۲۵°C سبب اختلاف فشار بخاری معادل $10^3 \times 2/337$ پاسکال می‌شود. سلول در لحظه صفر و ۸ ساعت پس از شروع آزمایش توزین و میزان تغییرات وزنی آنها محاسبه شد. نفوذپذیری به بخار آب طبق رابطه زیر بدست آمد.

ساعت به آزمایشگاه شیمی گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند. پس از آن کاملاً با آب سرد شسته و در دمای ۲۵°C نگهداری گردیدند.

۲-۳- استخراج ژلاتین از فلس ماهی کپور

معمولی

استخراج ژلاتین از فلس کپور بر اساس روش Weng همکاران (۲۰۱۴) [۱۲] با اندکی اصلاح انجام شد. ابتدا به منظور حذف چربی و پروتئین‌های غیر کلاژن، فلس‌ها در محلولی مرکب از NaOH (۰/۰۵ مولار)، ۲۵٪ الکل و ۱/۵٪ H_2O_2 با نسبت ۴:۱:۱ فلس/محلول (وزنی/حجمی) به مدت یک شب در دمای حدود ۱۰°C قرار داده شدند. سپس فلس‌ها بوسیله شستن با آب مقطر خنثی سازی شدند. زدودن مواد معدنی از فلس‌ها با استفاده از محلول HCl (۰/۰۵ مولار) با نسبت ۵:۱ (وزنی/حجمی) فلس/محلول به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انجام شد، سپس فلس‌ها به منظور خنثی سازی pH با آب مقطر شسته شدند. بعد از انجام پیش تیمار، فلس‌های متورم در pH‌های متفاوت (۳، ۵، ۷ و ۹) که بوسیله HCl و NaOH (انرمال) ایجاد شد خیسانده و به منظور استخراج ژلاتین، در دمای ۸۰°C به مدت ۱ ساعت حرارت داده شدند. بعد از این مرحله، محلولهای مورد نظر به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۰°C در دور ۱۵۰۰۰ (rpm) سانتریفیوژ شدند (Eppendorf 5810R). سوپرناتانت جداسازی و فریز درایر شده و ماده خشک بدست آمده به عنوان پودر ژلاتین در دمای ۱۸°C تا زمان استفاده ذخیره شد.

۲-۴- تولید فیلم‌های ژلاتینی

فیلم‌های ژلاتینی بر اساس روش Weng و همکاران (۲۰۱۴) [۱۲] تولید شدند. پودرهای ژلاتین تولید شده در pH‌های مختلف به مدت ۳۰ دقیقه در آب مقطر متورم شده و سپس در دمای ۶۰°C به منظور تولید محلول تشکیل فیلم با غلظت پروتئین ۲ درصد (وزنی/حجمی) حل شدند. گلیسرول با غلظت ۵۰٪ (وزنی-وزنی) پروتئین به عنوان پلاستی‌سایزر به محلول فیلم ساز افزوده شد، سپس محلول‌های فیلم ساز بوسیله دسیکاتور تحت خلا حباب زدایی شده و متعاقباً ۴ گرم از آن‌ها درون

1. Tensile Strength
2. Elongation at break
3. Water vapor permeability

۲-۱۱- سنجش رنگ سطحی، کدورت و میزان

عبور نور از فیلم‌ها

به منظور سنجش میزان رنگ سطحی از دستگاه رنگ سنج (BYK Gardner, USA) استفاده گردید. نمونه‌ها روی کاشی استاندارد سفید رنگ قرار گرفتند و ۳ فاکتور L^* (شفافیت)، a^* (+ قرمز / - سبز) و b^* (+ زرد / - آبی) برای آنها تعیین گردید. همچنین برای محاسبه اختلاف رنگ نمونه‌ها (ΔE)، داده‌های به دست آمده برای سه فاکتور فوق مرتبط با مرجع و نیز سه فاکتور L^* ، a^* و b^* مرتبط با هر نمونه در رابطه زیر قرار داده شد [۲۰].

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2}$$

جهت سنجش میزان عبور نور و کدورت فیلم‌ها، نمونه‌های فیلم (۴ × ۱ سانتی‌متر)، جهت انجام آنالیز درون سلول‌های اسپکتروفتومتری قرار گرفتند. به منظور سنجش میزان عبور نور و کدورت، به ترتیب از طول موج ۸۰۰-۲۰۰ نانومتر و ۶۰۰ نانومتر برای اسکن استفاده گردید. جهت محاسبه میزان کدورت فیلم‌ها از رابطه زیر استفاده شد:

ضخامت فیلم / میزان جذب در طول موج ۶۰۰ نانومتر = کدورت فیلم

۲-۱۲- طیف سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه

(FTIR¹)

طیف سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه در حالت عبور با استفاده از دستگاه FTIR اسپکتروفتومتر (Bruker Equinox 55) در گستره $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ و در تفکیک‌پذیری 4 cm^{-1} تعیین گردید.

۲-۱۳- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری با نرم افزار SPSS انجام گردید که در آن جهت بررسی اختلاف بین داده‌های حاصله از فیلم‌ها، از تجزیه واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) استفاده شد. همچنین جهت تعیین وجود تفاوت معنی دار بین مقادیر میانگین تیمارهای مختلف از آزمون Duncan در سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده شد. تمام آزمایش‌ها با حداقل ۳ تکرار انجام گرفت.

کاهش (W) = نفوذ پذیری به بخار آب (WVP) (10^{-10} g/ms Pa)
 سطح در معرض فیلم (A) / میانگین ضخامت فیلم (X) × وزن
 اختلاف فشار دو سمت فیلم (ΔP) × زمان (t) ×

۲-۸- تعیین میزان جذب آب

نمونه‌ها ابتدا به مدت ۲۴ ساعت درون دسیکاتور حاوی سیلیکاژل قرار گرفتند سپس وزن اولیه آن‌ها مشخص شد. در مرحله بعد فیلم‌ها درون ظروف محتوی آب مقطر در دمای 25°C قرار داده شدند. فیلم‌ها به صورت دوره‌ای و در فواصل زمانی معین (۲ دقیقه) از ظرف خارج و قبل از وزن کردن سطح آن‌ها به آرامی توسط دستمال خشک شده و توزین نمونه‌ها تا رسیدن به وزن ثابت ادامه پیدا کرد. میزان جذب رطوبت از رابطه زیر محاسبه گردید [۱۸].

$100 \times$ [وزن فیلم قبل از غوطه‌وری / (وزن فیلم قبل از غوطه‌وری - وزن فیلم پس از غوطه‌وری)] = جذب رطوبت (%)

۲-۹- تعیین حلالیت فیلم‌ها

ابتدا وزن اولیه نمونه‌ها پس از خشک شدن در دمای 105°C تعیین گردید. سپس نمونه‌ها درون ظروف محتوی آب مقطر غوطه‌ور شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای 25°C به شکل ملایمی تکان داده شدند. سپس فیلم‌ها توسط کاغذهای صافی که از قبل خشک و توزین شده بودند فیلتر شدند و مجدداً در دمای 105°C خشک شدند. حلالیت فیلم‌ها از رابطه زیر محاسبه گردید [۱۹].

وزن نمونه خشک اولیه / $100 \times$ (وزن فیلم بعد از غوطه‌وری - وزن نمونه خشک اولیه) = حلالیت فیلم (%)

۲-۱۰- تعیین میزان رطوبت

مقدار رطوبت بوسیله خشک کردن تکه‌های کوچکی از فیلم در دمای 105°C درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت تعیین شد. وزن فیلم‌ها قبل و بعد از خشک کردن در آون ثبت شد. مقدار رطوبت به صورت درصد از دست رفتن وزن براساس وزن اولیه محاسبه شد. برای هر نوع فیلم ۳ تکرار انجام شد.

1. Fourier transforms infrared spectroscopy

۳- نتایج و بحث

۳-۱- خواص مکانیکی

نتایج حاصل از آزمون مکانیکی فیلم های تولیدی از ژلاتین استخراجی از فلس ماهی کپور معولی در pH های مختلف در جدول ۱ آورده شده است. استحکام کشش یا مقاومت کششی پارامتری جهت سنجش استحکام فیلم است که به ساختار شیمیایی مولکول ها و یا بهم پیوستگی زنجیره های پلیمر در بستر ورقه ای فیلم ها بستگی دارد. افزایش طول در نقطه شکست نیز معیاری جهت بررسی کشسانی فیلم قبل از پارگی است که هر دو از پارامترهای مهم در ارزیابی مواد بسته بندی محسوب می شوند [۲۱]. طبق جدول بالاترین میزان استحکام کشش مربوط به فیلم ژلاتینی با pH برابر ۵ بود (۳۰/۰۱ Mpa) و با افزایش و کاهش pH این شاخص کاهش معنی داری نشان داد ($p < 0.05$) و به پایین ترین سطح در pH برابر ۹ رسید (۱۴/۷۴ Mpa). همچنین از دید طول در نقطه شکست فیلم ها به بالاترین میزان خود در PH ۵ و ۷ رسید (۱۰۴/۶۸ Mpa) اما با انحراف pH از این حدود مجددا کاهش یافته و به کمترین میزان خود (Mpa)

در pH ۹ رسید. بنابراین میتوان گفت فیلم های ژلاتینی بهترین خواص مکانیکی را در pH ۵ و ضعیفترین را در pH ۹ ارائه دادند. به طور کلی TS و E به منظور نشان دادن چگونگی ارتباط خواص مکانیکی مواد تشکیل دهنده فیلم با ساختار شیمیایی شان مورد استفاده قرار می گیرند. طبق نتایج Weng و همکاران (۲۰۱۴) [۱۲] مشخص شده است که خواص مکانیکی فیلم های حاصل از ژلاتین تولیدی از فلس ماهی تیلایا در pH های مختلف تحت تاثیر میزان محتوای ماریچ سه گانه قرار می گیرد و ارتباط بالایی بین TS و محتوای ماریچ آلفا ژلاتین فلس وجود دارد که بر این اساس می توان استنتاج کرد که ضعف TS در pH ۳ و ۹ ناشی از تخریب قابل توجه ساختار سه گانه در اثر هیدرولیز اسیدی و قلیایی بوده است. این نتایج با یافته های حاصل از تحقیق Weng و همکاران (۲۰۱۴) [۱۲] مطابقت داشت. همچنین در تحقیق Bae و همکاران (۲۰۰۹) [۲۲] نتایج مشابهی مشاهده شد که نشان می دهد pH ۵ مناسب ترین نقطه تشکیل فیلم به منظور دستیابی به خواص مناسب مکانیکی است.

Table 1 Mechanical properties of edible films based on Common carp scale gelatin extracted at different pH

Extraction pH	Tensile strength (MPa)	Elongation at break (%)	Thickness (mm)
3	19.51±0.14 ^c	73.15±4.03 ^c	0.121±0.008 ^b
5	30.01±0.71 ^a	87.58±6.32 ^b	0.122±0.002 ^b
7	26.02±1.68 ^b	104.68±1.74 ^a	0.088±0.003 ^c
9	14.74±0.86 ^d	57.32±1.144 ^d	0.136±0.007 ^a

Means in each column with different superscript letters are significantly different ($p < 0.05$). Data are expressed as mean \pm standard deviation.

داد که با افزایش pH به بالاتر از ۵ این شاخص به طور معنی داری افزایش یافت ($p < 0.05$) و به بالاترین حد خود در pH ۹ (۵۷/۹۵٪) رسید در حالی که کمترین میزان آن در PH ۳ و ۵ مشاهده شد. حلالیت فیلم های تولیدی در pH ۷ نیز افزایش معنی داری ($p < 0.05$) نسبت به pH های پایین تر نشان داد. حلالیت یکی از ویژگی های مهم در فیلم های زیست تخریب پذیر است، زیرا می تواند میزان مقاومت فیلم نسبت به آب، مخصوصا در محیط های حاوی رطوبت مثل مواد گوشتی را تعیین کند [۲۳]. به طور کلی ژلاتین ماهی در مقایسه با ژلاتین پستانداران محتوای ایمینواسید (پروлін و هیدروکسی پروлін)

۳-۲- خواص فیزیکی فیلم های تولیدی

(رطوبت، حلالیت، تورم، نفوذ پذیری به بخار آب)

در جدول ۲ نتایج مربوط به رطوبت، حلالیت، تورم پذیری، نفوذ پذیری در برابر بخار و ضخامت فیلم های ژلاتینی ارائه شده است. در ارتباط با درصد رطوبت همانگونه که مشخص است با افزایش pH درصد رطوبت فیلم ها نیز افزایش یافت ($p < 0.05$) به گونه ای که کمترین درصد رطوبت را pH ۳ و بیشترین درصد را pH ۹ (۱۰/۶۲٪) داشتند. داده های مربوط به حلالیت نیز نشان

نشان داد که بیشترین میزان در فیلم‌های حاصل از ژلاتین استخراجی در pH ۵ مشاهده شد ($3/54 \times 10^{-10}$ g/ms Pa) اما در pH‌های بالاتر و پایین‌تر از آن تغییر معنی‌داری نشان داد ($p < 0/05$) و کمترین میزان ($2/53 \times 10^{-10}$ g/ms Pa) در pH ۷ مشاهده شد. نفوذ پذیری به بخار آب یکی از شاخصه‌های مهم پلیمرهای مورد استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی است. به طور کلی فیلم‌های پروتئینی به دلیل داشتن گروه‌های آبدوست نفوذ پذیری بالایی به بخار آب دارند [۲۸]. که این ضعف در فیلم‌های حاصل از ژلاتین استخراجی از فلس ماهی نیز مشاهده شد. در حالت کلی نفوذ پذیری فیلم‌های حاصل از ژلاتین ماهی در مقایسه با فیلم‌های تهیه شده از پروتئین عضله ماهی کمی بالاتر است [۲۹]. در این تحقیق بالاترین میزان نفوذ پذیری در شرایط ملایم اسیدی مشاهده شد که با افزایش pH به سمت خنثی کاهش معنی‌داری نشان داد ($p < 0/05$) اما با افزایش pH به سمت قلیایی مجدداً افزایش یافت. این نتایج به یافته‌های حاصل از تحقیق weng و همکاران (۲۰۱۴) [۱۲] نزدیک بود که اظهار داشته‌اند پایین‌تر بودن نفوذپذیری در فیلم‌های حاصل از ژلاتین استخراجی در pH‌های مختلف مثل ۷ می‌تواند ناشی از محتوای بالاتر آمینواسیدهای هیدروفوبیک در آنها باشد که می‌تواند نقش سدکننده در برابر عبور بخار آب داشته باشند [۳۰].

کمتری دارد که این می‌تواند دلیل حلالیت بیشتر فیلم‌های حاصل از آن‌ها در مقایسه با پستانداران باشد [۲۴]. اما نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که میزان حلالیت در فیلم‌های تولیدی از ژلاتین استخراج شده از فلس ماهی کپور معمولی در pH ۵ نسبت به میزان حلالیت مشاهده شده در تحقیقات مشابه به مراتب کمتر است [۲۴] و با فیلم‌های تولیدی از ژلاتین پستانداران قابل مقایسه است [۲۵].

طبق نتایج مربوط به درصد تورم پذیری (جدول ۲)، بالاترین میزان در pH ۳ و ۷ مشاهده شد اما در فیلم‌های حاصل از ژلاتین استخراجی در pH برابر ۵ به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) کمتر از دو تیمار ذکر شده بود و به پایین‌ترین حد خودش رسید ($207/90$). به طور کلی درصد تورم پذیری فیلم‌های ژلاتینی بالا است و طی مدت زمان کمی به میزان قابل توجهی متورم می‌شوند [۲۶]. به علاوه تورم فیلم اغلب با تضعیف خواص مکانیکی آن همراه است و جلوگیری از تورم برای فیلم‌های مورد استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی امری مفید است [۲۷]. بنابراین و باتوجه به نتایج حاصل از حلالیت می‌توان گفت که فیلم‌های حاصل از ژلاتین استخراجی در pH ۵ بیشترین مقاومت را نسبت به سایر تیمارها در برابر آب دارند.

نتایج حاصل از بررسی نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های تولیدی

Table 2 Physical properties of edible films based on Common carp scale gelatin extracted at different pH

Extraction pH	Moisture (%)	Solubility (%)	Water gain (%)	Thickness (mm)	Water vapor permeability (10^{-10} g/ms Pa)
3	6.59±0.14 ^b	48.21±0.55 ^c	248.92±2.03 ^a	0.086±0.005 ^b	2.85±0.19 ^c
5	8.82±0.14 ^{ab}	48.28±1.10 ^c	207.71±0.90 ^b	0.102±0.004 ^a	3.54±0.08 ^a
7	8.81±0.14 ^{ab}	53.13±1.33 ^b	249.15±2.04 ^a	0.076±0.005 ^c	2.53±0.06 ^d
9	10.62±0.14 ^a	57.95±1.89 ^a	213.89±1.13 ^b	0.095±0.002 ^{ab}	3.20±0.06 ^b

Means in each column with different superscript letters are significantly different ($p < 0.05$). Data are expressed as mean ± standard deviation.

رنگ نزدیک بود، که این مطلب با نتایج حاصل از تحقیق Weng و همکاران (۲۰۱۴) [۱۲] مطابقت داشت. همچنین بررسی شاخص a^* فیلم‌های مختلف، گرایش آنها به سمت مثبت را نشان داد که این امر با نتایج حاصل از تحقیق Weng و همکاران (۲۰۱۴) [۱۲] مغایر بود. بررسی شاخص زردی (b^*) فیلم‌ها نیز نشان داد که با متمایل شدن pH به سمت خنثی و قلیایی این شاخص به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0/05$) که نشان از بیشتر شدن میزان زردی فیلم‌ها توأم با افزایش pH داشت.

۳-۳- رنگ سطحی، کدورت و میزان عبور نور

از فیلم‌ها

رنگ بسته‌بندی عاملی مهم و موثر بر ظاهر محصول و پذیرش مصرف‌کننده است و یکی از عوامل اصلی تعیین کیفیت فیلم‌های خوراکی است. همانگونه که در جدول ۳ مشهود است شاخص L^* و a^* فیلم‌های تولیدی در pH‌های مختلف تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. فیلم‌ها صرف نظر از pH شفافیت مناسبی ارائه دادند و شاخص L^* آنها به کاشی استاندارد سفید

افزایش میابد. به طور کلی می توان عنوان کرد که فیلم های تولیدی در شرایط اسیدی از خواص رنگی بهتری نسبت به pH قلیایی برخوردار بودند.

شاخص اختلاف رنگ فیلم های تولیدی نیز گواه بر این مسئله داشت که با افزایش pH استخراج ژلاتین از فلس ماهی کپور معمولی اختلاف رنگ فیلم ها با کاشی استاندارد سفید رنگ

Table 3 Color of edible films based on Common carp scale gelatin extracted at different pH.

Extraction pH	L*	a*	b*	ΔE
3	90.90±0.65 ^a	2.60±0.04 ^a	2.70±0.34 ^c	5.52±0.34 ^b
5	90.55±0.23 ^a	2.48±0.10 ^a	3.52±0.55 ^b	6.03±0.39 ^{ab}
7	90.01±1.07 ^a	2.50±0.05 ^a	4.09±0.46 ^{ab}	6.72±0.67 ^a
9	90.20±0.20 ^a	2.57±0.00 ^a	4.35±0.11 ^a	6.73±0.06 ^a

Means in each column with different superscript letters are significantly different ($p < 0.05$). Data are expressed as mean \pm standard deviation.

باشند [۳۱]. هرچه فیلم خاصیت سد کنندگی بیشتری در برابر uv داشته باشد مناسب تر است و می تواند سبب جلوگیری از فساد اکسیداسیونی در مواد غذایی بسته بندی شده گردد. در ناحیه نور مرئی نیز فیلم ها گذردهی مناسبی نشان دادند که این مطلب نیز بر اساس نتایج تحقیقات مشابه اثبات شد [۱۲، ۳۱]. کدورت نیز معیاری جهت سنجش شفافیت فیلم های تولیدی است. در واقع هرچه کدورت بالاتر باشد شفافیت کمتر است. مقایسه میزان کدورت فیلم های تولیدی نشان داد که اختلاف معنی داری بین آنها وجود نداشت و رنج پایین کدورت (جدول ۴) نشان از شفافیت مناسب فیلم های تولیدی داشت.

درصد عبور اشعه نور فرابنفش و مرئی و همچنین میزان کدورت فیلم های تولیدی از ژلاتین استخراج شده در pH های مختلف، در طول موجهای انتخابی (۲۰۰nm تا ۸۰۰) در جدول ۴ ارائه شده است. در ناحیه طول موج فرابنفش (۲۸۰-۲۰۰) فیلم ها صرف نظر از pH خاصیت سد کنندگی خوبی در برابر اشعه uv نشان دادند که در مقایسه با نتیجه حاصل از تحقیق Weng و همکاران (۲۰۱۴) [۱۲] میزان عبوردهی کمتری نشان داد که این می تواند ناشی از محتوای بالاتر آمینواسیدهای حلقوی در ژلاتین حاصل از فلس ماهی کپور معمولی در قیاس با ژلاتین حاصل از فلس ماهی تیلاپیا باشد که در واقع قادر به جذب اشعه uv می

Table 4 Light transmission and Opacity of edible films based on Common carp scale gelatin extracted at different pH.

Extraction pH	Wavelength (nm)	Opacity							
		200	280	300	400	500	600	700	800
3	0.50	34.83	76.15	85.15	85.55	86.15	86.35	88.45	1.45±0.82 ^a
5	0.53	34.56	70.6	85.05	87.06	86.26	86.90	86.03	0.93±0.05 ^a
7	0.56	35.66	66.8	82.50	85.25	85.60	87.05	84.90	1.17±0.01 ^a
9	0.55	34.37	74.21	81.05	85.30	87.75	86.35	86.55	0.76±0.21 ^a

Means in each column with different superscript letters are significantly different ($p < 0.05$). Data are expressed as mean \pm standard deviation.

آمید A نشان دهنده C=O (کششی) همراه با پیوند هیدروژنی N-H) کششی/OH) کششی، آمید I نشان دهنده C=O کششی/پیوند هیدروژنی به همراه COO، آمید II ناشی از ارتعاشات خمشی گروه N-H و ارتعاشات کششی گروه های C-N و آمید III به ارتعاشات گروه های C-N و N-H محدوده آمیدی و یا ارتعاشات گروه CH₂ گلايسين وابسته است [۳۳]. باندهای جذبی طیف محدوده آمیدی، در ناحیه ای مشابه به فیلم های تولیدی از ژلاتین حاصل از پوست ماهی مرکب قرار گرفته اند [۳۳]. در تحقیق مشابه ونگ و همکاران (۲۰۱۰) [۱۲]

۳-۴- طیف سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه

(FTIR)

به منظور توضیح واکنش های شکل گرفته در فیلم های خوراکی تولیدی از ژلاتین استخراج شده از فلس ماهی کپور معمولی در pH های مختلف، نتایج حاصل از طیف سنجی مادون قرمز در شکل ۱ ارائه شده است. باندهای واقع در ۳۲۸۷، ۱۶۳۰، ۱۵۳۹ و ۱۲۳۵ بترتیب به آمید A و آب آزاد، آمید I، آمید II و آمید III مربوط است که در فیلم های مختلف باهم شباهت دارند [۳۲].

FTIR نشان داد که pH روش استخراج ژلاتین بر خواص مختلف فیلم‌های تولیدی اثر گذار است، و به طور کلی از بین ۴ تیمار pH (۳، ۵، ۷، ۹) بررسی شده، مناسب‌ترین فیلم در pH ۵ مشاهده شد که از نظر خواص فیزیکی و مکانیکی بر سه تیمار دیگر برتری داشت.

۵- منابع

- [1] Rhim, J. W., Park, H. M., and Ha, C. S. 2013. Bio-nanocomposites for food packaging applications. *Progress in Polymer Science*, 38(10), 1629-1652.
- [2] Pires, C., Ramos, C., Teixeira, G., Batista, I., Mendes, R., Nunes, L., and Marques, A. 2011. Characterization of biodegradable films prepared with hake proteins and thyme oil. *Journal of Food Engineering*, 105(3), 422-428.
- [3] Sorrentino, A., Gorrasi, G., and Vittoria, V. 2007. Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. *Trends in Food Science and Technology*, 18(2), 84-95.
- [4] Pranoto, Y., Lee, C. M., and Park, H. J. 2007. Characterizations of fish gelatin films added with gellan and κ -carrageenan. *LWT-Food Science and Technology*, 40(5), 766-774.
- [5] Yi, J. B., Kim, Y. T., Bae, H. J., Whiteside, W. S., and Park, H. J. 2006. Influence of transglutaminase induced cross linking on properties of fish gelatin films. *Journal of food science*, 71(9), E376-E383.
- [6] Ninan, G., Joseph, J., and Abubacker, Z. 2010. Physical, mechanical, and barrier properties of carp and mammalian skin gelatin films. *Journal of food science*, 75(9), E620-E626.
- [7] Kelleher, K. 2005. Discards in the world's marine fisheries: an update (No. 470). Food and Agriculture Org.
- [8] Wangtueai, S., and Noomhorm, A. 2009. Processing optimization and characterization of gelatin from lizardfish (*Saurida* spp) scales. *LWT-Food Science and Technology*, 42(4), 825-834.
- [9] Sankar, S., Sekar, S., Mohan, R., Rani, S., Sundaraseelan, J., and Sastry, T. P. 2008. Preparation and partial characterization of

گزارش کردند که pH روش استخراج ژلاتین تأثیری بر فرکانس امید A و امید I نداشت. همچنین گزارش شده است که جذب در ناحیه امید I (۱۷۰۰-۱۶۰۰) به ساختار ثانویه پروتئین آب پنیر مورد استفاده جهت تشکیل فیلم‌های خوراکی حساس بوده است [۳۴]. براساس مشاهدات ونگ و همکاران (۲۰۱۴) [۱۲]، آنالیز پیک در گستره ۱۶۹۰-۱۶۰۶ بدین ترتیب است که: باند در گستره ۱۶۰۶ و ۱۶۲۶ مختص گروه‌های آمیدی است که در ساختار صفحات بتا دخالت دارند، باندهای قوی در ناحیه ۱۶۴۲ و ۱۶۵۸ برترتیب مختص به ساختارهای نامنظم و همچنین ساختار ماریچ آلفا می‌باشد، بعلاوه باندهای موجود در ناحیه ۱۶۷۴ و ۱۶۹۰ با چرخش مرتبط هستند. به طور کلی ژلاتین بوسیله دناتوره شدن ماریچ سه گانه کلاژن حاصل می‌شود و همچنین مشخص شده است که خواص مکانیکی ژل حاصل از ژلاتین تحت تأثیر میزان محتوای ماریچ سه گانه قرار می‌گیرد [۳۵]. بنابراین می‌توان گفت که فیلم تولیدی در شرایط اسیدی ملایم (pH ۵) نسبت به pH های بالاتر و پایین تر از آن بدلیل فرآیندهای تخریبی کمتر محتوای ماریچ سه گانه (ساختار ثانویه پروتئین) بیشتری داشته و بنابراین باند جذبی قوی تری در ناحیه امید I دارد، پس در نتیجه از خواص مکانیکی بهتری برخوردار است.

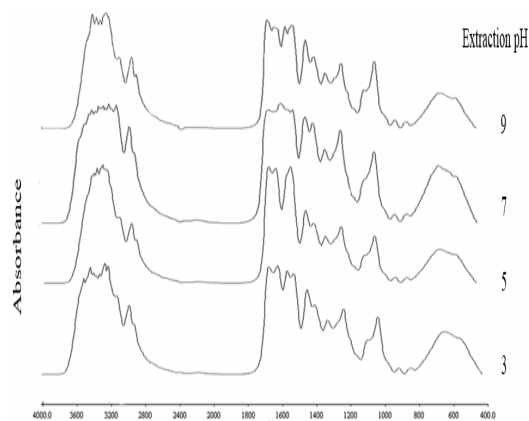


Fig 1 FTIR spectra of edible films based on Common carp scale gelatin extracted at different pH

۴- نتیجه گیری کلی

ارزیابی اثر تغییر pH استخراج ژلاتین بر خواص فیلم‌های تولیدی از آن بوسیله آزمون‌های فیزیکی، مکانیکی، نوری و

- [19] Tunc, S., Angellier, H., Cahyana, Y., Chalier, P., Gontard, N., and Gastaldi, E. 2007. Functional properties of wheat gluten/montmorillonite nanocomposite films processed by casting. *Journal of Membrane Science*, 289(1), 159-168.
- [20] Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., and Hosseini, S. M. H. 2010. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry*, 122(1), 161-166.
- [21] Krochta, J. M. and De Mulder-Johnston, C. 1997. Edible and biodegradable polymer films. *Food Technol*, 51, 61-74.
- [22] Bae, H. J., Park, H. J., Hong, S. I., Byun, Y. J., Darby, D. O., Kimmel, R. M., and Whiteside, W. S. 2009. Effect of clay content, homogenization RPM, pH, and ultrasonication on mechanical and barrier properties of fish gelatin/montmorillonite nanocomposite films. *LWT-Food Science and Technology*, 42(6), 1179-1186.
- [23] Siripatrawan, U., and Harte, B. R. 2010. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids*, 24(8), 770-775.
- [24] Weng, W., and Zheng, H. 2015. Effect of transglutaminase on properties of tilapia scale gelatin films incorporated with soy protein isolate. *Food chemistry*, 169, 255-260.
- [25] Andreuccetti, C., Carvalho, R. A., and Grosso, C. R. 2010. Gelatin-based films containing hydrophobic plasticizers and saponin from *Yucca schidigera* as the surfactant. *Food research international*, 43(6), 1710-1718.
- [26] Bigi, A., Cojazzi, G., Panzavolta, S., Roveri, N., and Rubini, K. 2002. Stabilization of gelatin films by crosslinking with genipin. *Biomaterials*, 23(24), 4827-4832.
- [27] Mu, C., Guo, J., Li, X., Lin, W., and Li, D. 2012. Preparation and properties of dialdehyde carboxymethyl cellulose crosslinked gelatin edible films. *Food Hydrocolloids*, 27(1), 22-29.
- [28] Pires, C., Ramos, C., Teixeira, B., Batista, I., Nunes, M. L., and Marques, A. 2013. Hake proteins edible films incorporated with collagen sheet from fish (*Lates calcarifer*) scales. *International journal of biological macromolecules*, 42(1), 6-9.
- [10] Zhong, Z. H., Li, C. M., Gu, H. F., and Dou, H. L. 2007. Extraction and Basic Properties of Pepsin-soluble Collagen from Grass Carp (*Ctenopharyngodon idellus*) Scales [J]. *Fisheries Science*, 2, 007.
- [11] Harada, O., Kuwata, M., and Yamamoto, T. 2007. Extraction of gelatin from sardine scales by pressurized hot water. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology (Japan)*.
- [12] Weng, W., Zheng, H., and Su, W. 2014. Characterization of edible films based on tilapia (*Tilapia zillii*) scale gelatin with different extraction pH. *Food Hydrocolloids*, 41, 19-26.
- [13] Yeganeh, S., Shabanpour, B., Hosseini, H., Imanpour, M.R., and Shabani, A. 2010. An investigation of spawning effect on lipid quality changes of cultured Common carp (*Cyprinus carpio*) fillet during frozen storage. *Journal of Fisheries (Iranian Journal of Natural Resources)*, Vol. 63, No. 1, 20. pp. 57-69
- [14] Wihodo, M., and Moraru, C. I. 2013. Physical and chemical methods used to enhance the structure and mechanical properties of protein films: A review. *Journal of Food Engineering*, 114(3), 292-302.
- [15] Hao, S., Li, L., Yang, X., Cen, J., Shi, H., Bo, Q., and He, J. 2009. The characteristics of gelatin extracted from sturgeon (*Acipenser baeri*) skin using various pretreatments. *Food Chemistry*, 115(1), 124-128.
- [16] ASTM. 2002. Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. Annual book of ASTM. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Material, D 882-02.
- [17] ASTM. 2010. Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials. Annual book of ASTM. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Material, Designation: E96/E96M-10.
- [18] Lavorgna, M., Piscitelli, F., Mangiacapra, P., and Buonocore, G. G. 2010. Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films. *Carbohydrate Polymers*, 82(2), 291-298.

- [32] Aewsiri, T., Benjakul, S., and Visessanguan, W. 2009. Functional properties of gelatin from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin as affected by bleaching using hydrogen peroxide. *Food Chemistry*, 115(1), 243-249.
- [33] Hoque, M. S., Benjakul, S., and Prodpran, T. 2010. Effect of heat treatment of film-forming solution on the properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin. *Journal of Food Engineering*, 96(1), 66-73.
- [34] Gilbert, V., Rouabhia, M., Wang, H., Arnould, A. L., Remondetto, G., and Subirade, M. 2005. Characterization and evaluation of whey protein-based biofilms as substrates for in vitro cell cultures. *Biomaterials*, 26(35), 7471-7480.
- [35] Prystupa, D. A., and Donald, A. M. 1996. Infrared study of gelatin conformations in the gel and sol states. *Polymer Gels and Networks*, 4(2), 87-110.
- essential oils: Physical, mechanical, antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocolloids*, 30(1), 224-231.
- [29] Gómez-Estaca, J., Bravo, L., Gómez-Guillén, M. C., Alemán, A., and Montero, P. 2009. Antioxidant properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films induced by the addition of oregano and rosemary extracts. *Food Chemistry*, 112(1), 18-25.
- [30] Gómez-Guillén, M. C., Pérez-Mateos, M., Gómez-Estaca, J., López-Caballero, E., Giménez, B., and Montero, P. 2009. Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films. *Trends in Food Science and Technology*, 20(1), 3-16.
- [31] Hosseini, S. F., Rezaei, M., Zandi, M., and Ghavi, F. F. 2013. Preparation and functional properties of fish gelatin-chitosan blend edible films. *Food chemistry*, 136(3), 1490-1495.

Production and evaluation edible films production of gelatin extracted from common carp (*Cipprinus carpio*) scales in different pH conditions

Kazemi, M.¹, Ojagh, S. M.^{2*}, Shabanpour, B.³, Mirsadeghi, S. H.¹

1. Ph. D. Student, Department of Seafood Processing, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan
2. Associared Professor., Department of Seafood Processing, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan
3. Professor., Department of Seafood Processing, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan

(Received: 2015/05/28 Accepted: 2015/07/15)

In this study, gelatin extracted in different conditions of pH of common carp scales and were used to produce the film. To evaluate the effect of pH extracted gelatin on the properties of films produced, properties of mechanical, optical and FTIR film production were investigated. The highest tensile strength was seen in the film with pH 5. The highest elasticity was seen at pH 7. Solubility and swelling of films produced at pH 5 had the lowest rates which suggesting it was better resistance to water compared with other films. But the most appropriate film in terms of water vapor permeability was observed at neutral pH. Optical properties and transparency films generally were favorable conditions, and did not show statistically difference. The results of infrared spectroscopy confirm that the more content the triple helix in film production at acidic pH mildly (5) improve its mechanical properties compared to other films. In general it can be said that among of all the films, film production from pH 5, in terms of mechanical properties and resistance to water were better than the films in other pH, and somewhat are comparable with the films production of gelatin derived from mammals.

Keywords: Gelatin extraction, Edible film, Common carp scales, Triple helix structure

* Corresponding Author E-Mail Address: mahdi_ojagh@yahoo.com