



مقاله علمی-پژوهشی

مقایسه خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حرارتی ژلاتین استخراج شده از فلس ماهی سفید (*Caspian kutum*) به دو

روش سنتی و فراصوت

محجوبی اصیل مهسا^۱، معتمدزادگان علی^۲، فهیم هدی^۳، فرمانی جمشید^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۲- استاد تمام گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشکده مهندسی کشاورزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.

۳- استاد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۴- استاد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشکده مهندسی کشاورزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	<p>به جهت کاهش ضایعات و افزایش ارزش افزوده فراورده های دریایی، در این مطالعه فلس ماهی سفید به عنوان دور ریز جهت استخراج ژلاتین مورد استفاده قرار گرفت و تاثیر دو روش سنتی و فراصوت بر ویژگی های فیزیکوشیمیایی ژلاتین حاصله مقایسه شد. در این مطالعه ژلاتین از فلس ماهی سفید به دو روش سنتی و فراصوت در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد و طی ۱، ۲ و ۳ ساعت استخراج شدند. نتایج نشان داد که به طور کلی فراصوت سبب افزایش معنی دار بازده استخراج، درصد پروتئین و درصد خاکستر نمونه ها شده است ($P < 0.05$). نتایج آنالیز الکتروفورز و همینطور FTIR تایید کردند که فراصوت توانست ساختار پروتئین های ژلاتین را تحت تاثیر قرار دهد و در این راستا زمان استخراج طولانی تر (۲ و ۳ ساعت) باعث شد که تعداد زنجیره های آلفا در مقایسه با زنجیره های بتا ژلاتین کاهش یابد. طیف FTIR نیز نشان داد تمامی پیک های مربوط به آمیدهای A, B, I, II, III در نتیجه تیمار فراصوت و افزایش زمان واکنش شدت بیشتری یافتند. همچنین نقطه ذوب و قدرت ژل ژلاتین استخراج شده با فراصوت به ترتیب برابر با 26.67°C و 269 g بود به صورت معنی داری پایین تر از ژلاتین استخراج شده به روش سنتی (به ترتیب 27.67°C و 307 g) بود ($P < 0.05$). نتایج حاصل از آنالیز حرارتی ژلاتین ها نشان داد که تمام نمونه ها یک پیک گرماگیر وسیع بین ۳۵ تا ۲۰۰ درجه سانتیگراد مربوط به تبخیر آب و یک پیک گرماده بین ۳۰۰ تا ۴۰۰ درجه سانتیگراد مربوط به تجزیه حرارتی ژلاتین داشتند.</p>
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۵/۲۹	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۷	
کلمات کلیدی:	
استخراج ژلاتین، فراصوت، فلس، قدرت ژل، ماهی سفید	
DOI: 10.22034/FSCT.21.149.99.	
* مسئول مکاتبات:	

۱-مقدمه

روش معمول جهت استخراج ژلاتین از بافت های حیوانی، استخراج با آب داغ (بن ماری) است. این روش کم هزینه بوده ولی جهت دستیابی به بازده استخراج بالا، نیازمند زمان طولانی و دمای نسبتا بالا است. امروزه تکنیک های جدیدی جهت استخراج ژلاتین معرفی شده است که می تواند زمان مورد نیاز جهت استخراج را کاهش و بازده استخراج را افزایش داده و در عین حال کیفیت محصول را حفظ کند [۸]. یکی از این روش های نوین، استخراج به کمک فراصوت است. اساس روش فراصوت، تولید امواج صوتی با فرکانس بالا است که سبب لرزش مکانیکی در ماده شده و حفره های صوتی تولید می کند که به این فرایند کاویتاسیون^۱ می گویند. در ادامه این حفره ها تخریب شده و موج های تنشی قدرتمندی تولید می کنند که می تواند ذرات درشت و حتی دیواره های سلولی را شکسته و در نتیجه به سبب استخراج بهتر ترکیبات درون سلولی از جمله کلاژن و ژلاتین شود [۹]. [۱۰]. به طور کلی استخراج به کمک اولتراسوند را می توان در زمان کوتاه تر و دمای پایین تر انجام داد که می تواند آسیب های ناشی از زمان و دمای بالا در استخراج سنتی را کاهش دهد [۸]. در مقایسه با روش سنتی که صرفا از دما برای استخراج و هیدرولیز کلاژن استفاده می کند، مکانیسم کاویتاسیون در استخراج به کمک فراصوت ممکن است مولکول های کلاژن و به تبع آن ژلاتین استحصال را تحت تاثیر قرار داده و در ساختار آنها تغییر ایجاد کند.

به بیان بهتر، ملکول کلاژن از سه زنجیره پلی پپتیدی به نام زنجیره های آلفا تشکیل شده است که با یکدیگر مارپیچ سه گانه را تشکیل می دهند. این مارپیچ توسط پیوندهای کووالانسی انتهای زنجیره ها با اتصال عرضی به یکدیگر متصل هستند. در طول روش سنتی و طی دناتوراسین حرارتی، پیوندهای عرضی کووالانسی از بین رفته و این مارپیچ سه گانه باز شده و زنجیره های آلفا آزاد که همان ژلاتین است تولید می شود [۱۱-۱۳]. آمینواسیدهای ذکر شده دارای گروه های عاملی مختلفی هستند که مهمترین آنها گروه های

ژلاتین یک پلیمر زیستی با وزن مولکولی بالا است که از طریق دناتوراسیون حرارتی و در ادامه هیدرولیز جزئی کلاژن موجود در پوست، استخوان و غضروف تولید می شود. این ترکیب کاربرد تجاری بالایی در صنایع مختلف دارد. امروزه با توجه به مصرف تجاری بالای ژلاتین و محدودیت های بهداشتی یا مذهبی موجود در رابطه با مصرف ژلاتین گاو و خوک، محققان به دنبال منابع جدید ژلاتین هستند. یکی از جمله منابع بالقوه این ترکیب ضایعات ماهی شامل پوست، استخوان و فلس است [۱]. گزارش شده است که فرآوری ماهی منجر به تولید مقادیر زیادی ضایعات می شود که بین ۵۰ تا ۷۵ درصد از وزن کل ماهی را تشکیل داده و در این بین فلس ماهی به تنهایی ۳٪ از وزن کل ماهی را به خود اختصاص می دهد [۲-۴]. فلس ماهی تقریبا حاوی ۰.۸ تا ۶٪ کلاژن است با این حال استخراج ژلاتین از این بخش کمتر مورد بررسی قرار گرفته است زیرا این بخش از ضایعات ماهی علاوه بر کلاژن (عمدتا کلاژن نوع I)، حاوی مقادیر متفاوتی از مواد معدنی مختلف خصوصا هیدروکسی آپاتیت است که باعث می شود فلس نتواند به راحتی در برابر تیمار های شیمیایی متورم شده و کلاژن و به تبع آن ژلاتین استخراج گردد [۵، ۶]. ماهی سفید با نام علمی (*Rutilus frisii Kutum*) از خانواده ی کپور ماهیان (*Cyprinidae*) بوده و زیستگاه آن دریای خزر است. ماهی سفید از جمله ماهیانی است که در ایران به سهولت پرورش یافته و به دلیل فراوانی و قیمت مناسب در تمام طول سال مصرف می شود. تقریبا ۴-۶٪ از وزن این ماهی را فلس های آن تشکیل می دهند که پتانسیل بالایی جهت استفاده به عنوان منبع تولید ژلاتین را دارد [۷]. این ماهی در ایران به صورت سنتی مصرف شده و تولید صنعتی ندارد. به همین دلیل، تقریبا قسمت اعظم ضایعات آن شامل فلس است که قبل از مصرف دور ریخته می شود. به همین دلیل، جهت کاهش ضایعات، در این مطالعه از فلس این ماهی جهت تولید ژلاتین استفاده شد.

1 -cavitation

کلاژنی، ۵۰ گرم از فلس های شسته و خشک شده در ۵۰۰ میلی لیتر محلول خنک سدیم هیدروکسید (۴ °C) با غلظت ۱ نرمال به مدت ۲ ساعت خیسانده شده و روی شیکر با دور ۱۰۰ به آرامی هم زده شد (هر ۱ ساعت با محلول تازه تعویض گردید). پس از پایان ۲ ساعت مخلوط فلس/سود کاملاً با آب شسته شده تا pH محلول به حد خنثی برسد. پس از تیمار با سود، فلس های شسته شده در ۵۰۰ میلی لیتر محلول خنک هیدروکلریک اسید (۴ °C) با غلظت ۱ نرمال به مدت ۲ ساعت خیسانده شده و روی شیکر با دور ۱۰۰ به آرامی هم زده شد (هر ۱ ساعت با محلول تازه تعویض گردید). پس از پایان ۲ ساعت مخلوط فلس/اسید کاملاً با آب شسته شده تا pH محلول به حد خنثی برسد [۱۷].

۲-۴- استخراج ژلاتین از فلس ماهی سفید

جهت استخراج ژلاتین از دو روش سنتی و استخراج به کمک فراصوت استفاده شد. [۲۰] در روش اول، ۵۰ گرم از فلس های تیمار شده به ۷۵۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شده و به مدت زمان ۱، ۲، و ۳ ساعت در بن ماری با دمای در ۶۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. در روش استخراج به کمک فراصوت نیز ۵۰ گرم از فلس های تیمار شده به ۷۵۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد، ظروف محتوی آب و فلس در حمام فراصوت (Elmasonic S 30 H-Germany) قرار داده شد (۳۰ هرتز) و دمای آن روی ۶۰ درجه سانتیگراد تنظیم شد. در این روش نیز نمونه ها به مدت ۱، ۲ و ۳ ساعت تحت فراصوت قرار گرفتند (جدول ۱ تیمارهای مختلف ژلاتین را نشان می دهد). پس از طی زمان های تعیین شده، محلول ژلاتینی استخراج شده از صافی عبور داده شد تا بخش غیر ژلاتینی فلس حذف شوند. ژلاتین صاف شده در آون فن دار (Memmert, UF 110, Germany) با دمای ۳۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد تا کاملاً خشک شوند. پس از خشک شدن ژلاتین استحصال با کمک آسیاب پودر شده و در کیسه های پلی اتیلنی تا زمان آزمایش نگهداری شد [۱۵].

۲-۵- آنالیز تقریبی

عاملی آمیدی است. آمیدها ترکیبات نیتروژن داری هستند که به یک گروه کربونیل متصل می باشند [۱۴]. از جمله مهمترین گروه های آمیدی موجود در ژلاتین می توان به آمید I، آمید II، آمید III، آمید A و آمید B اشاره کرد [۱۵]. این آمیدها نقش تاثیر گذاری بر خصوصیات فیزیکی ژلاتین از جمله نقطه ذوب و قدرت ژل دارند. لذا انتظار می رود نوع استخراج مورد استفاده در این مطالعه روی میزان این آمیدها و در نتیجه خواص نهایی ژلاتین تاثیر گذار باشد. به همین دلیل، هدف اصلی این مطالعه، بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و ساختار ژلاتین استخراج شده به دو روش سنتی و استخراج به کمک فراصوت در طول زمان های ۱، ۲ و ۳ ساعت بود. تیمارهای ژلاتین حاصله با یکدیگر مقایسه شدند تا میزان تاثیر این روش نوین در مقایسه با همتای سنتی آن بر ساختار ژلاتین مشخص گردد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

فلس ماهی سفید که تقریباً تنها ضایعات قبل از مصرف آن است از بازارهای محلی گیلان تهیه شد. ماهی های مورد استفاده جهت فلس گیری وزن متوسط ۸۵۰ گرم تا ۱ کیلوگرم داشتند. فلس های جدا شده از ماهی به منظور جلوگیری از فساد توسط مخزن های نگهداری یخ در دمای ۱۸- درجه سانتیگراد به آزمایشگاه انتقال یافت. سدیم هیدروکسید و هیدروکلریک اسید مورد استفاده جهت پیش تیمار ژلاتین نیز از شرکت دکتر مجللی (ایران) تهیه گردید.

۲-۲- آماده سازی فلس ماهی سفید

در ابتدا فلس ها به مدت یک شب در یخچال انجمادزدایی شده و سپس با آب نمک ۰.۵٪ به نسبت ۱:۵ و به مدت ۲۴ ساعت در دمای یخچال خیسانده شدند تا پروتئین های مزاحم حذف شوند. پس از طی این زمان فلس ها کاملاً آب آبکشی شده و در آون با دمای ۳۰ درجه خشک شدند [۱۶].

۲-۳- پیش تیمار شیمیایی فلس

پیش تیمار فلس ها براساس روش فهیم و همکاران (۲۰۱۷) با اندکی تغییر انجام شد. به منظور حذف پروتئین های غیر

در محدوده طول موج ۶۰۰ تا ۴۰۰۰ cm^{-1} و رزولوشن ۴ cm^{-1} انجام گرفت.

۲-۸- قدرت ژل

محلول ژلاتین با غلظت ۶/۶۷ (وزنی/حجمی) تهیه شد و در ظروف استوانه ای با حجم ۲۵ میلی لیتر ریخته شد. محلول سپس در دمای ۱۰ درجه سانتیگراد در یخچال به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت رسانیده شده و قدرت آن با استفاده از دستگاه بافت سنج (Koop, TA, Iran) و پروب استوانه ای با قطر ۱۲/۷ میلی متر با انتهای صاف، با لود سل ۱۰۰ نیوتن، سرعت هد ۱ میلی متر بر ثانیه اندازه گیری شد. برای پروبی با این قطر، نمونه های ژلاتین در ظرف باید حداقل قطری برابر با ۳۳ میلی متر و عمق ۲۲ میلی متر داشته باشند. قدرت ژل بر حسب بلوم به عنوان نیروی مورد نیاز برای فرورفتن پروب تا عمق ۴ میلی متری ژل (بر حسب گرم) تعریف شد [۱۵].

۲-۹- الگوی الکتروفورز (SDS-PAGE)

نمونه های ژلاتین با غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر در آب مقطر با دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه حل شده و بافر حاوی ۲۰٪ بتا مرکاپتو اتانول به آن اضافه شد. پس از دناتوره شدن در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه، نمونه های ژلاتین (۲۰ میکروگرم) و مارکر (۳۰ میکرولیتر) توسط سرنگ میکرو به چاهک تزریق و توسط SDS-PAGE با استفاده از ۱۰٪ ژل حل شده و ۵٪ ژل انباشته شده مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. الکتروفورز در ولتاژ ۵۰ و ۷۰ میلی ولت انجام شد و زمانی که رنگ به انتهای شیشه رسید جریان برق قطع شد. پس از جداسازی ژل رویی از زیرین به مدت ۳۰ دقیقه ژل زیرین در مقداری از محلول مورد رنگ آمیزی بریلینت بلو گرفت که در این مرحله باندهای پروتئینی به وضوح دیده شد [۱۹].

۲-۱۰- نقطه ذوب

آنالیز تقریبی ژلاتین شامل رطوبت، درصد پروتئین و خاکستر ژلاتین بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۳۴۷۴ اندازه گیری شد [۱۸]. درصد رطوبت پودر ژلاتین با استفاده از آون و بر اساس رابطه (۱) محاسبه شد.

رابطه (۱):
$$\text{درصد وزنی رطوبت} = \frac{(w_1 - w_2)}{(w_1 - w_2)}$$
 که در آن w_1 : وزن ظرف و نمونه قبل از خشک شدن (گرم) و w_2 وزن ظرف و نمونه بعد از خشک شدن (گرم) است. w وزن ظرف خالی (گرم) است.

درصد پروتئین ژلاتین درصد پروتئین ژلاتین به وسیله کججدال و بر مبنای درصد ازت ژلاتین اندازه گیری شده و مقدار آن با استفاده از رابطه (۲) محاسبه گردید: رابطه (۲)

درصد وزنی ازت
$$= \frac{14 \times 100 \times \text{نرمالیتت اسید} \times \text{حجم اسید مصرفی}}{1000 \times \text{گرم وزن نمونه}}$$

مقدار خاکستر ژلاتین نیز با استفاده از کوره الکتریکی اندازه گیری شده و از رابطه (۳) جهت محاسبه آن استفاده شد:

رابطه (۳):
$$\text{درصد وزنی خاکستر} = \frac{(w_1 - w_2)}{(w_1 - w_2)}$$
 که در آن w_1 : وزن بوته و خاکستر نمونه و وزن بوته خالی و w_2 وزن نمونه مورد آزمایش است

۲-۶- بازده استخراج

برای تعیین میزان بازده استخراج ژلاتین، وزن پودر ژلاتین استحصالی و وزن خشک فلس اندازه گیری شده و از رابطه زیر (۴) راندمان استخراج ژلاتین به دست آمد.

$$100 \times \frac{\text{وزن ژلاتین خشک شده (گرم)}}{\text{وزن فلس (گرم)}} = \text{درصد راندمان ژلاتین}$$

۲-۷- طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه

FTIR

طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه توسط دستگاه Cary (Cary 630, Agilent Technologies Inc., Danbury, CT, USA)

از نظر مقدار رطوبت، پروتئین و همینطور خاکستر اختلاف معنی داری وجود دارد ($P < 0.05$). با توجه به نتایج آنالیز آماری نمونه ها، هم اثر ساده نوع تیمار، اثر ساده زمان و همچنین اثر متقابل این دو عامل روی فاکتور بازده تاثیر معنی داری داشت ($P < 0.05$). مقدار بازده ژلاتین حاصل از فراصوت در تمامی زمان های استخراج بالاتر از ژلاتین حاصل از روش بن ماری بود. همچنین با افزایش زمان واکنش از ۱ به ۳ ساعت، بازده ژلاتین به صورت معنی داری افزایش یافت به نحوی که بیشترین مقدار ژلاتین پس از ۱ و ۳ ساعت واکنش در روش فراصوت به ترتیب ۲۲.۹۴ و ۲۵.۵۱٪ و در روش سنتی پس از ۱ و ۳ ساعت واکنش به ترتیب برابر با ۱۸.۵ و ۲۲.۵۲٪ بود (جدول ۱). افزایش بازده در نتیجه افزایش زمان واکنش توسط محققان بسیاری گزارش شده است [۱۵، ۲۲]. زمان واکنش طولانی (به همراه دمای اعمالی) می تواند انرژی مورد نیاز برای از بین بردن پیوندهای ماریپیچ سه گانه را فراهم کرده و در نتیجه مولکول های ژلاتین آمورف شده و راحت تر می تواند از ماتریس بافت پیوندی خارج شوند. همچنین افزایش بازده ژلاتین در روش فراصوت را می توان به مکانیسم تاثیر این روش یعنی اثر مکانیکی و کاویتاسیون نسبت داد. به بیان بهتر، این اثرات فراصوت سبب از هم گسیختگی بافت مستحکم فلس شده و کمک کرد آب بیشتری به این نواحی نفوذ کرده و در نتیجه انتقال جرم و انرژی بیشتر، بازده استخراج ژلاتین را افزایش داد. این نتایج با آنچه که Tu و همکاران (۲۰۱۵) و Mirzapour-Kouhdasht و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند مشابهت داشت [۱۵، ۲۳].

نتایج آنالیز آماری نشان داد که اثر ساده نوع تیمار روی فاکتور رطوبت تفاوت معنی دار داشته ($P < 0.05$) در حالی که اثر زمان معنی دار نبود. همچنین اثر متقابل این دو فاکتور نیز معنی دار نشد. همچنین نتایج نشان داد که به طور کلی محتوای رطوبت نمونه های فراصوت بالاتر از نمونه های بن ماری بود و بیشترین مقدار رطوبت ۱۰.۹۳ و کمترین ۴.۷٪ بود. نتایج آنالیز آماری خاکستر نیز نشان داد که نوع تیمار اثر معنی داری بر مقدار خاکستر داشته در حالی که اثر ساده

محلول ژلاتین با غلظت ۶/۶۷ درصد (وزنی/حجمی) در لوله های آزمایشی درپوش دار ریخته شده و به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت در یخچال (۷ درجه سانتیگراد) نگهداری شدند. سپس لوله ها به حمام آب سرد (۴ درجه سانتیگراد) منتقل شدند و روی سطح آنها یک قطره حاوی ۰.۵٪ متیل رد-کلروفورم ریخته شد. حمام آب با سرعت ۰.۲ درجه سانتیگراد در دقیقه گرم شد. با افزایش دما، ژلاتین کم کم تبدیل به مایع می شود. دمایی که در آن ژل ذوب شده و به رنگ اجازه سقوط می دهد به عنوان نقطه ذوب ژلاتین گزارش شد [۲۰].

۲-۱۱- گرماسنجی روبشی افتراقی (DSC)

خصوصیات حرارتی ژلاتین ها توسط دستگاه گرماسنجی روبشی افتراقی (DSC, 400-Ci, Sanaf, Iran) به روش Rezaei و Motamedzadegan (۲۰۱۵) با اندکی تغییر انجام شد. به طور خلاصه، ۱۵ میلی گرم از نمونه درون پن آلومینیومی قرار داده شده و نمونه از دمای ۳۵ تا ۴۰۰ درجه سانتیگراد با نرخ حرارت دهی ۱۰ درجه بر دقیقه و تحت اتمسفر نیتروژن حرارت دهی شد. از یک پن آلومینیومی خالی نیز به عنوان رفرنس استفاده شد [۲۱].

۳- تجزیه و تحلیل آماری

کلید تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار infoSTAT انجام شد. داده های حاصل در آزمایش فاکتوریل ۳*۲ در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفت تا تفاوت بین تیمارها مشخص شود. مقایسه میانگین دانکن بین تیمارها نیز در سطح معنی داری ۹۵٪ در نظر گرفته شد. تمامی تیمارها در سه تکرار انجام شد.

۴- نتایج و بحث

۴-۱- آنالیز تقریبی و بازده استخراج ژلاتین

نتایج حاصل از آنالیز تقریبی و همینطور بازده ژلاتین در جدول ۱ آمده است. نتایج نشان داد که بین تیمارهای مختلف

ساعت واکنش مشاهده شد در حالی که با افزایش زمان به ۲ و ۳ ساعت، مقدار پروتئین موجود در نمونه نیز افزایش یافت. با این حال به طور کلی پروتئین نمونه های تیمار شده با فراصوت بالاتر بود. این نتایج با آنچه که TU و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند مشابهت داشت. این محققان بیان کردند که مقدار پروتئین و همچنین خاکستر نمونه های استخراج شده با حمام فراصوت بالاتر از ژلاتین استخراج شده با روش سنتی است [۱۵]. از طرف دیگر، حداکثر مقدار مجاز رطوبت و خاکستر در ژلاتین طبق استاندارد ملی ایران به ترتیب ۱۵٪ و ۲٪ تعیین شده است که نتایج تمامی تیمارهای ارائه شده در مقاله پایین تر از مقدار مجاز هستند [۱۸].

زمان استخراج و همچنین اثر متقابل تیمار*زمان استخراج روی نمونه ها تاثیر معنی داری نداشت (جدول ۱). به بیان بهتر، میزان خاکستر تمامی نمونه های فراصوت به صورت معنی داری بالاتر از سایر نمونه ها بود در حالی که در نمونه های بن ماری مقدار این پارامتر با افزایش زمان واکنش از ۱ به ۳ ساعت افزایش معنی داری داشت به نحوی که کمترین مقدار خاکستر (۰.۹۷) در نمونه ای که یک ساعت در حمام بن ماری استخراج شد مشاهده گردید ($P<0.05$). در رابطه با مقدار پروتئین نیز نتایج آنالیز آماری مشابه با فاکتور بازده بود و اثر ساده زمان، تیمار و اثر متقابل زمان*تیمار روی مقدار پروتئین نمونه ها تاثیر معنی داری داشت ($P<0.05$). از طرف دیگر، مقدار پروتئین نیز در هر دو تیمار فراصوت و بن ماری با افزایش زمان واکنش به صورت معنی داری افزایش یافت به نحوی که کمترین مقدار پروتئین پس از ۱

Table1: proximate composition of gelatin extracted by conventional and ultrasound

Extraction conditions		Parameters				
Type	Time (h)	Moisture (%)	Protein (%)	Ash (%)	Yield (%)	Melting point (°C)
Conventional	1	4.77±1.27 ^b	68.03±0.22 ^d	0.97±0.02 ^c	18.5±1.34 ^c	28.0±0.0 ^a
Conventional	2	5.05±1.2 ^b	70.87±0.87 ^{bc}	0.99±0.006 ^b	19.88±0.14 ^c	27.33±0.58 ^{abc}
Conventional	3	4.7±1.25 ^b	71.09±0.21 ^{bc}	1±0.006 ^b	22.52±0.11 ^b	27.67±0.58 ^{ab}
Ultrasound	1	8.93±1.67 ^a	69.56±2.18 ^{cd}	1.49±0.0 ^a	22.94±1.72 ^b	26±0.0 ^d
Ultrasound	2	10.93±1.57 ^a	71.87±0.12 ^a	1.48±0.006 ^a	25.79±0.05 ^a	26.33±0.58 ^{cd}
Ultrasound	3	10.6±1.1 ^a	85.0±1 ^a	1.5±0.0 ^a	25.51±0.27 ^a	26.67±1.15 ^{bcd}

Different lowercase letter in each column represents statistical differences among treatments ($P<0.05$)

در شکل ۱ مشخص است که با افزایش زمان واکنش هم در تیمار بن ماری و هم تیمار فراصوت، شدت این پیک افزایش یافته است در مقابل ژلاتین حاصل از تیمار بن ماری پس از یک ساعت واکنش کمترین شدت را داشت. گزارش شده است که پیک مربوط به آمید I می تواند اطلاعاتی راجع به ساختار ثانویه ژلاتین بدهد. از طرف دیگر کاهش شدت این پیک را می توان مرتبط با افزایش بی نظمی در ساختار ژلاتین و متعاقب آن از بین رفتن ساختار ماریچ سه گانه باشد. در همین راستا *Muyonga* و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که با افزایش دمای استخراج ژلاتین، شدت پیک آمید I افزایش می یابد که مشابه با نتایج این تحقیق بود [۲۴]. در

۲-۴- طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه

FTIR

شکل ۱ طیف های FTIR نمونه های ژلاتین استخراج شده با حمام فراصوت و بن ماری را نشان می دهد. پیک های شاخص در تمامی طیف ها مشابه با هم بوده و مهمترین آنها که نشان دهنده گروه های عاملی ژلاتین هستند به شرح زیر می باشند: پیک تیز ظاهر شده در حوالی ۱۶۲۵ مربوط به آمید I بوده و نشان دهنده پیوند هیدروژنی در ارتعاش کششی پیوند هیدروژنی $C=O$ که با COO جفت شده را نشان می دهد که در عین حال حاوی CN کششی، دفرمه گی CNN و حالت خمشی درون صفحه NH نیز هست [۱۵].

دو پیک شاخص دیگر ژلاتین مربوط به آمید A و آمید b هستند که به ترتیب در ۳۲۷۵ و ۳۰۷۹ مشاهده شدند. به طور کلی، گروه NH پیک جذبی حدود ۳۴۰۰ نشان می دهد با این حال، وقتی که گروه NH پیوند هیدروژنی برقرار کند به طول موج های پایین تر یعنی حدود ۳۲۰۰-۳۳۰۰ شیفت پیدا می کند [۱۵]. در این مطالعه، پیک آمید A در تیمار بن ماری پس از ۱ ساعت واکنش در حوالی ۳۲۵۸ مشاهده شد در حالی که با افزایش واکنش به ۳ ساعت در تیمار بن ماری به ۳۲۸۲ و در تیمار فراصوت به ۳۲۷۵ (طول موج های بالاتر) شیفت پیدا کرد که نشان می دهد با افزایش زمان واکنش، تعداد گروه های NH آزاد ژلاتین افزایش یافته است. پیک آمید B نیز که از پیک های شاخص ژلاتین است نشان دهنده برهمکنش گروه NH₃ بین زنجیره های پپتیدی است. و روند افزایش شدن آن مشابه با شیار پیک های شاخص ژلاتین بود به این معنی که با افزایش زمان واکنش، شدت این پیک نیز افزایش یافت [۱۵]. نتایج حاصل از طیف های FTIR تایید کننده تاثیر فراصوت و زمان واکنش بر تغییر ساختار ژلاتین است.

این مطالعه دمای استخراج پارامتر متغیر نبود، اما از طرف دیگر مدت زمان استخراج بالاتر به این معنی بود که ژلاتین مدت بیشتری در این دما قرار گرفته و در نتیجه این احتمال هست که ساختار سه گانه آن بیشتر تخریب شده باشد.

پیک آمید II در محدوده ۱۵۲۱ مشاهده شد که نشان دهنده ترکیبی از CH کششی نامتقارن و دفرمگی نامتقارن درون صفحه NH گروه پپتیدی است. همچنین پیک آمید III در ۱۲۳۴ ظاهر شد. آمید III حالت ارتعاشی پیچیده ای دارد که ناشی از پیک های ترکیبی و ارتعاشات کششی CN و ارتعاشات خمشی درون صفحه NH مربوط به اتصالات آمیدی و نیز جذب قابل توجه ناشی از ارتعاشات جنبندگی گروه های CH₂ مربوط به اسکلت گلیسینی و زنجیره های جانبی پرولین است [۱۵]. همانند آمید A، شدت پیک های مربوط به آمید II و آمید III نیز در هر دو تیمار بن ماری و فراصوت با افزایش زمان واکنش افزایش یافت به نحوی که در تیمار بن ماری پس از یک ساعت واکنش این پیک تقریباً محو شده بود. همانطور که گفته شد، افزایش شدت این پیک ها در نتیجه مدت زمان بیشتر تماس با دمای بالا منجر به تخریب ماریچ سه گانه شده و در مقابل میزان نظم مولکولی در ژلاتین های استخراج شده در زمان بالاتر بیشتر باشد [۲۴].

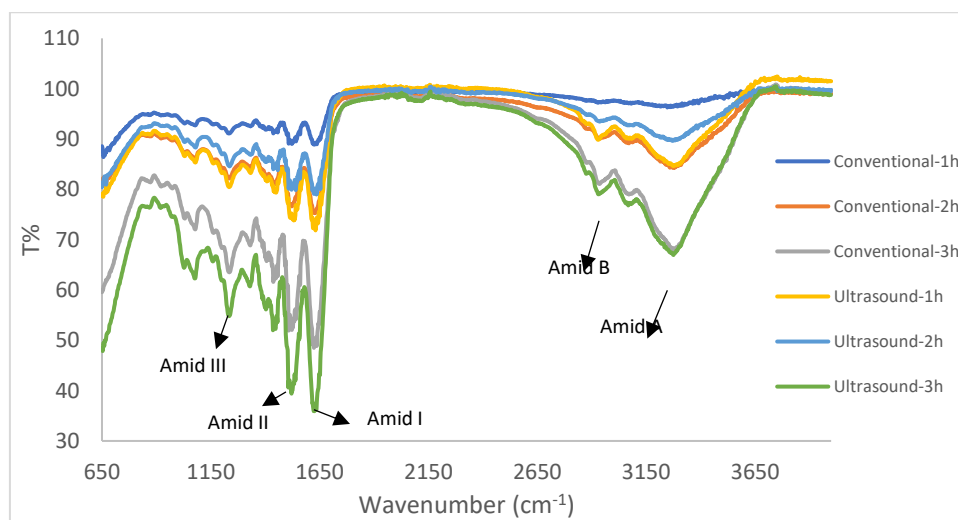


Figure 1. FTIR spectra of gelatin extracted by conventional and ultrasound

۲-۴- قدرت ژل

قدرت ژل مهمترین ویژگی فیزیکی است که در مورد ژلاتین اهمیت داشته و مقدار آن در معیار درجه بندی ژلاتین های تجاری است که در این نوع ژلاتین ها معمولا بین ۱۰۰ تا ۳۰۰ درجه بلوم است. دلیل مقدار بلوم متفاوت ژلاتین ها را می توان تفاوت در منشا اولیه ژلاتین، اندازه زنجیره های پروتئینی، و برهمکنش های ناشی از ترکیب اسیدهای آمینه مختلف در ساختار ژلاتین دانست. همچنین این پارامتر می تواند انعکاس دهنده وزن پروتئین، ترکیب آمینو اسیدی، و نسبت زنجیره های آلفا به زنجیره های بتا باشد [۲۳]. داده های قدرت ژل یا بلوم ژلاتین در شکل ۲ آورده شده اند. مطابق با نتایج، از نظر آماری اختلاف معنی داری بین نوع تیمار یا زمان استخراج وجود نداشت. با این حال از نظر مقدار عددی، در زمان واکنش ۱ ساعت، بلوم ژل تیمار فراصوت بالاتر از تیمار بن ماری بود با این حال این روند در نمونه ها پس از ۲ و ۳ ساعت استخراج متفاوت بوده مقدار آن در تیمارهای فراصوت پایین تر از بن ماری بود (شکل ۱). پایین بودن بلوم ژل در نمونه های فراصوتی که زمان استخراج ۲ و ۳ ساعت داشتند می تواند به دلیل تخریب ژلاتین در حین استخراج باشد که باعث می شود رنجیره های بلند تخریب شده و زنجیره های کوتاه تری تولید شوند. که در نهایت باعث کاهش توانایی زنجیره آلفا برای بازتشکیل ژل حین سرد کردن باشد. به طور کلی می توان گفت که پپتیدهای با وزن مولکولی پایین که در حین استخراج با

فراصوت تولید می شوند نمی توانند نقاط اتصالی درون مولکولی متعدد ایجاد کرده و باعث می شوند که توده های متشکل از زنجیره های ژلاتینی منسجمی تشکیل نشود. در مقابل، نمونه های استخراج شده با بن ماری احتمالا حاوی زنجیره های آلفا و بتا بلندتری بوده و احتمالا به همین دلیل می تواند ژل مستحکم تری تشکیل دهند [۱۵، ۲۵]. همچنین نتایج ما نشان داد که استفاده از حمام فراصوت به مدت ۱ ساعت تاثیر بر تضعیف ژل نداشت. در همین راستا، Senarathna و همکاران (۲۰۲۱) تاثیر دو روش فراصوت و بن ماری را در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳ ساعت با یکدیگر مقایسه نمود و گزارش کرد که قدرت ژل استحصالی از این دو روش با یکدیگر تفاوت معنی داری نداشتند با این حال از نظر عددی ژلاتین استخراج شده با فراصوت قدرت ژل پایین تری داشت که مشابه با نتایج حاصل از کار ما بود [۲۶]. در مطالعه دیگری که توسط Asih و همکاران (۲۰۱۹) روی ژلاتین حاصل از استخوان ماهی به روش فراصوت انجام شد نیز گزارش گردید که زمان استخراج طولانی تر با فراصوت به دلیل اینکه انرژی بیشتری در محیط ایجاد می کند می تواند منجر به شکستن زنجیره آمینواسیدها شده و زنجیره های کوتاه تری تولید کند که به نوبه خود باعث می شود مقاومت ژل کاهش یابد. این محققان مقدار بلوم ژل را بین ۱.۷۴ تا ۱۷۳/۹۴g به دست آوردند که پایین تر از مقدار به دست آمده در مطالعه ما بود [۲۷]. این تفاوت را می تواند در نتیجه تفاوت گونه ماهی و منشا ژلاتین (که در مطالعه این محققان استخوان و در مطالعه حاضر فلس بود) نسبت داد.

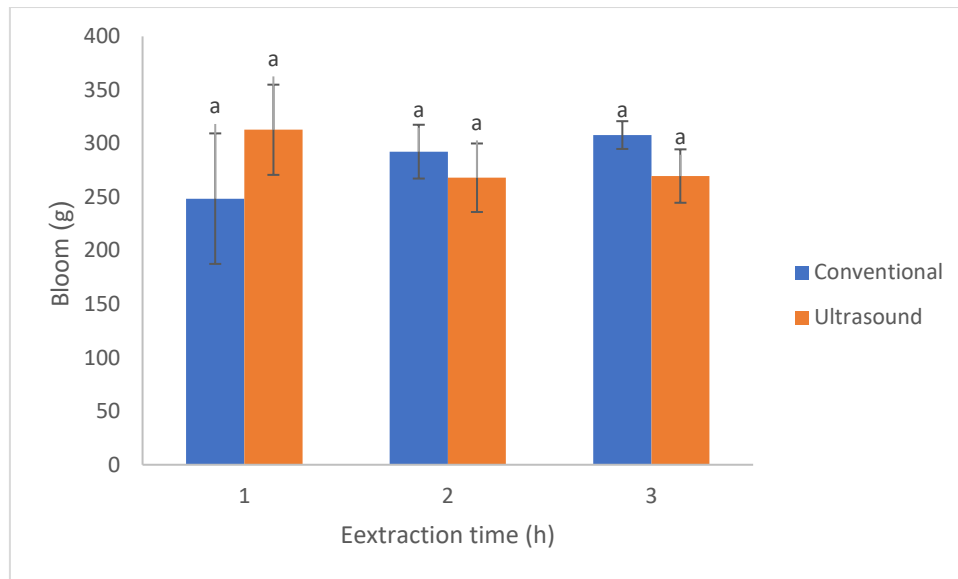


Figure2. Bloom of gelatin extracted by conventional and ultrasound (Different lowercase letter represents statistical differences among treatments)

کاهش یافت. این نتایج الکتروفورز، نتایج حاصل از بلوم ژل را تایید می کند و همانطور که پیشتر ذکر شد، بلوم ژل در نمونه های فراصوت پس از ۲ و ۳ ساعت استخراج پایین تر از نمونه های بن ماری بود که می تواند به دلیل کاهش مقدار زنجیره های آلفا در ژلاتین باشد. این نتایج با آنچه که Asih و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند مشابهت داشت. این محققان بیان کردند در زمان استخراج طولانی تر با فراصوت (که در مطالعه این محققان ۷ ساعت بود)، شدت باند مربوط به زنجیره های آلفا کاهش یافت که با آنچه که ما مشاهده کردیم مطابقت داشت [۲۷]. همچنین در مطالعه انجام شده توسط Tu و همکاران (۲۰۱۵) گزارش شد که ژلاتین استخراج شده توسط حمام فراصوت پس از ۵ ساعت شدت باند آلفا پایین تری نسبت به ژلاتین استخراج شده توسط حمام فراصوت پس از ۳ ساعت داشت که مطابق با یافته های ما بود. همچنین همین محققان گزارش کردند که میزان زنجیره های آلفا در تیمارهای استخراج شده با بن ماری بالاتر از نمونه های استخراج شده با فراصوت بود که تایید کننده نتایج حاصل از کار ماست [۱۵].

۳-۴- الگوی الکتروفورز

با استفاده از SDS-PAGE می توان توزیع وزن مولکولی و همچنین مقادیر زنجیره های α و زنجیره β را مشخص کرد. همچنین گزارش شده است که مقادیر این زنجیره ها می تواند روی خواص ژلاتین مانند قدرت ژل و نقطه ذوب تاثیر بگذارد [۱۵]. شکل ۳ تصاویر مربوط به الکتروفورز نمونه های ژلاتین را نشان می دهد. زنجیره های β ، α_1 و α_2 به ترتیب در ۲۵۰، ۱۲۰ تا ۱۲۵ دیده می شوند. به طور کلی با توجه به شکل می توان مشاهده کرد که شدت باند مربوط به زنجیره β در تمامی نمونه ها بیشتر از مجموع زنجیره های α_1 و α_2 کمتر است. از طرف دیگر تحقیقات متعددی گزارش کرده اند که مقادیر بالا زنجیره های آلفا در ژلاتین باعث می شود که مقاومت ژل و همچنین نقطه ذوب آن بالاتر باشد [۱۵، ۲۳]. نتایج آنالیز باندهای ظاهر شده در تصویر با استفاده از نرم افزار imageJ نشان داد که مجموع مقدار زنجیره های آلفا در تیمار با بن ماری مشابه با یکدیگر بوده و همچنین تیمار فراصوت پس از ۱ ساعت استخراج نیز مقدار زنجیره های آلفا مشابه با تیمارهای بن ماری داشت. در مقابل با افزایش زمان استخراج به ۲ و ۳ ساعت، مقدار این زنجیره ها

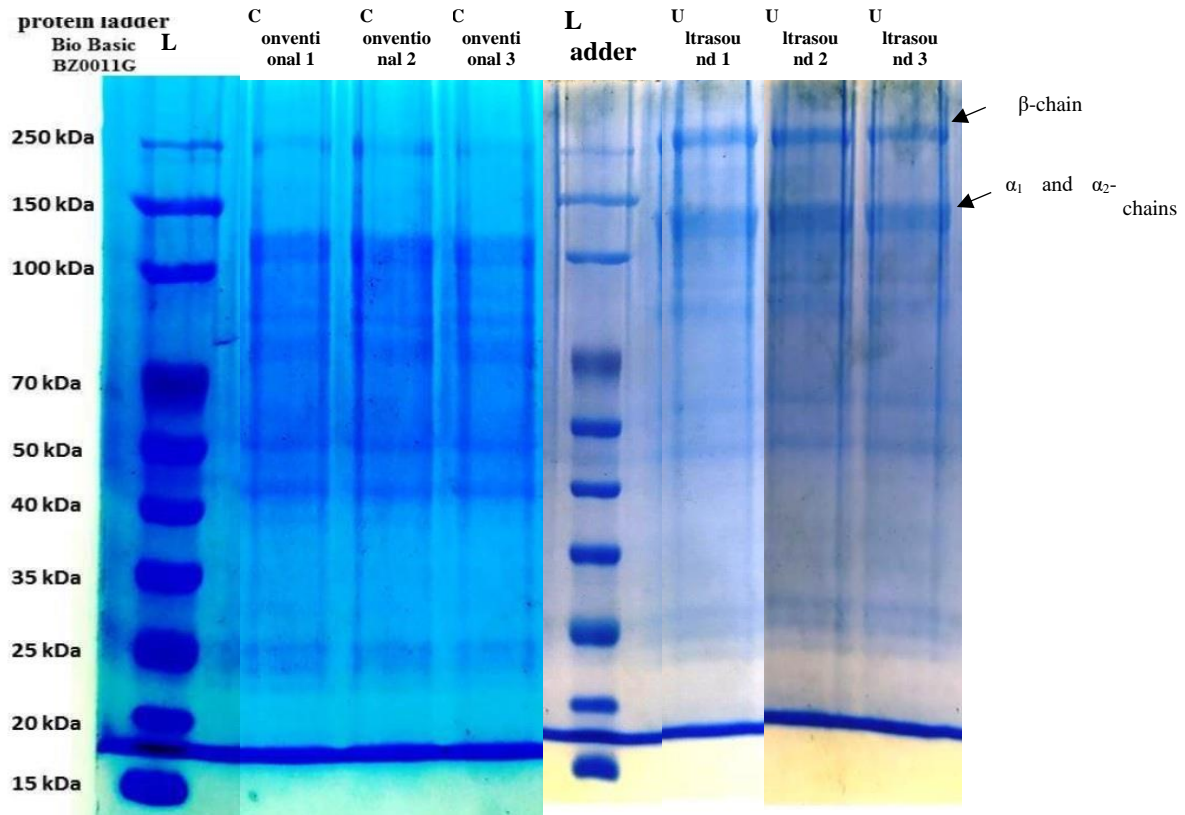


Figure3. SDS-PAGE image of gelatin extracted by conventional and ultrasound

۴-۴- نقطه ذوب

می توان سرعت حرارت دهی، غلظت ژل، سرعت انتقال حرارت بین محیط حرارت دهنده و ژل اشاره کرد [۲۶]. نتایج نشان داد که بین تمام تیمارها اختلاف معنی داری وجود دارد ($P < 0.05$). مطابق با داده ها، نقطه ذوب تمامی تیمارهای بن ماری به صورت معنی داری بالاتر از فراصوت بود. کمتر بودن نقطه ذوب نمونه های فراصوت در برابر نمونه های بن ماری را می توان در نتیجه قدرت بیشتر فراصوت جهت تخریب قطعات و زنجیره های بلند با وزن مولکولی بالا و کاهش اندازه آنها دانست که در نهایت سبب تضعیف شبکه ژل شده و نقطه ذوب آن را کاهش می دهند [۸، ۱۵]. این نتایج با آنچه که در بخش بلوم ژل در مورد ژلاتین به دست آوردیم مطابقت داشت. به بیان دیگر نقطه ذوب مستقیماً با قدرت ژل مرتبط بود و نمونه هایی که

نقطه ذوب نمونه های ژلاتین در جدول ۱ آورده شده اند و بررسی آنالیز آماری این فاکتور نشان داد که اثر ساده نوع تیمار روی نقطه ذوب نمونه ها تاثیر معنی دار داشته درحالی که اثر ساده زمان استخراج و همچنین اثر متقابل نوع تیمار*زمان استخراج تاثیر قابل توجهی نداشت. نقطه ذوب یکی از خواص عملکردی اصلی ژلاتین است و گزارش شده که ژلاتین های حاصل از موجودات آبی نقطه ذوب کمتری نسبت به ژلاتین استخراج شده از پستانداران دارند [۲۶]. معمولاً عوامل تاثیرگذار روی نقطه ذوب ژلاتین، برهمکنش های پیچیده ناشی از ترکیب اسید آمینه و نسبت زنجیره های α/β ، و همچنین وزن مولکولی ژلاتین است [۱۵]. با این حال، گفته می شود که عوامل بیرونی مختلفی نیز ممکن است روی نقطه ذوب ژلاتین تاثیر بگذارند که از جمله این عوامل

این محققان گزارش کردند که اگرچه مقدار نقطه ذوب ژلاتین حاصل از فراصوت اندکی پایین تر از ژلاتین بن ماری است، اما بین آنها اختلاف معنی داری وجود ندارد که به دلیل زمان نه چندان طولانی مورد استفاده در کار آنها بود [۱۵].

کلی آب متبلور بین دمای ۲۵ تا ۱۰۰ درجه و غیر متبلور ژلاتین از دمای ۲۵ تا حدود ۳۰۰ درجه به تدریج از ساختار خارج می شود که با نتایج حاصل از کار ما مشابهت داشت.

در شکل ۴ همچنین یک پیک اندوترم در تمامی نمونه ها وجود دارد که از دمای تقریباً ۳۰۰ درجه شروع شده و تا ۴۰۰ درجه ادامه داشت که می توان آن را به تجزیه حرارتی ژلاتین نسبت داد. در همین راستا، Emamverdian و همکاران (۲۰۲۰) با بررسی نمودارهای TGA ژلاتین گزارش کردند که عمده کاهش وزن ژلاتین در دمای حدود ۴۰۰ درجه رخ می دهد که با نتایج حاصل از نمودارهای DSC ما مطابقت داشت. این محققان گزارش کردند که کاهش وزن ژلاتین در این دما در نتیجه تبخیر آب و همچنین تجزیه حرارتی پروتئین رخ داده است [30]. همچنین بررسی پایداری حرارتی پودر ژلاتین توسط Dang و همکاران (۲۰۱۷) مشخص شد که پودر ژلاتین حدود ۸۰٪ از وزن خود را در طول حرارت دهی از ۲۳۰ تا ۴۰۰ درجه سانتیگراد از دست می دهد. با توجه به این که فرایند کاهش وزن در نتیجه تخریب و تبدیل مولکول های آلی به کربن است، این محققان نتیجه گرفتند که قسمت عمده ژلاتین در ۴۰۰ درجه سانتیگراد دچار تجزیه حرارتی می شود. این نتایج با آنچه که در ترموگرام های ژلاتین در شکل ۴ آورده شده است مشابهت داشت [31].

قدرت ژل بیشتری داشتند، نقطه ذوب بالاتری نیز داشتند [28]. از طرف دیگر، نتایج حاصل از الکتروفورز نیز تایید کننده داده های حاصل از نقطه ذوب بود. این نتایج با آنچه که Tu و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند مشابهت داشت.

۵-۴- گرماسنجی روبشی افتراقی (DSC)

شکل ۴ ترموگرام های DSC نمونه های ژلاتین را نشان می دهد. تمامی نمودارها پیک اندوترمیک وسیعی را بین ۳۵ تا ۲۰۰ درجه سانتیگراد نشان می دهند که مربوط به تبخیر آب متصل و آزاد موجود در ساختار ژلاتین است. با توجه به ماهیت آبدوست این پلیمر، وجود چنین پیک گرماگیر بزرگی قابل توجه است. در همین راستا Apostolov و همکاران (۱۹۹۹) گزارش کردند که پیک گرماگیر وسیع را از دمای ۲۵ تا ۱۷۵ مشاهده نمودند و آن را با تبخیر آب متبلور و غیر متبلور ژلاتین مرتبط دانسته و گزارش کردند که هر قدر مقدار آب ژلاتین بیشتر باشد این پیک پهن تر است. همچنین این محققان در برخی از نمونه های ژلاتین که محتوای آبی بالاتری داشتند مشاهده کردند که پیک گرماگیر اولیه آنها دارای دو قله است [29]. در این مطالعه پیک گرماگیر دو قله ای مشاهده نشد اما برخی از ترموگرام ها دارای یک شکستگی در ابتدای پیک بودند که ممکن است مربوط به ذوب قطعات کوچک و ناقص کریستال های ژلاتین باشد. همچنین در ترموگرام های این تحقیق دمای انتقال شیشه ای مشاهده نشد چرا که دمای انتقال شیشه ای ژلاتین توسط پیک اندوترمیک تبخیر آب پوشانده شده بود. این نتایج با آنچه که Apostolov و همکاران در رابطه با ترموگرام های ژلاتین مشاهده کردند مشابهت داشت. همچنین این محققان با بررسی نمودارهای TGA ژلاتین ها عنوان کردند که به طور

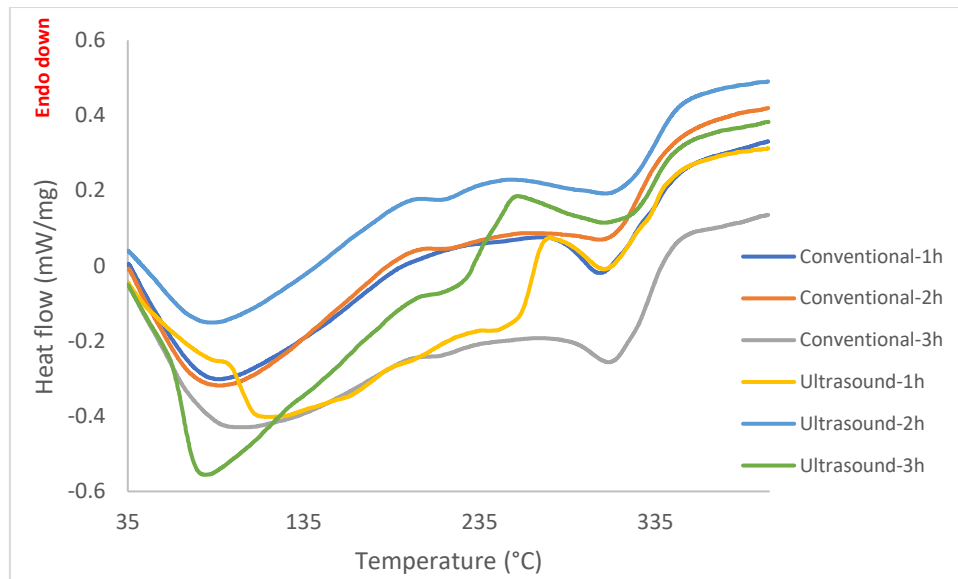


Figure4. DSC thrmograms of gelatin extracted by conventional and ultrasound methods

تمامی نمونه ها دو پیک شاخص، پی اندوترمیک بین ۳۵ تا ۲۰۰ مربوط به تبخیر آب و پیک اگزوترمیک بین ۳۰۰ تا ۴۰۰ درجه سانتیگراد مربوط به تجزیه حرارتی نشان دادند. نتایج حاصل از این مطالعه به طور کلی نشان داد که فراصوت می تواند ساختار پروتئینی ژلاتین را تغییر دهد و در نتیجه روی خصوصیات فیزیکی آن نیز تاثیرگذار باشد. در مجموع، با توجه به نتایج نقطه ذوب، قدرت ژل و بازده، به نظر می رسد استخراج به روش فراصوت و زمان واکنش ۱ ساعت از نظر بازده استخراج و همینطور نقطه ذوب و قدرت ژل تقریباً معادل با ژلاتین استخراج شده به روش سنتی بعد از ۲ و ۳ ساعت زمان واکنش بوده و می توان آن را بهترین نمونه از بین تیمارها دانست.

۶ - منابع

- [1] Pranoto, Y., C.M. Lee, and H.J. Park, *Characterizations of fish gelatin films added with gellan and κ -carrageenan*. LWT-Food Science and Technology, 2007. **40**(5): p. 766-774.
- [2] Gómez-Guillén, M.C., et al., *Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study*. Food Hydrocolloids, 2002. **16**(1): p. 25-34.
- [3] He, J., et al., *The Structural and Functional Differences between Three Species of Fish*

۵- نتیجه گیری

نتایج آنالیز ژلاتین های استخراج شده به روش بن ماری و فراصوت از نظر خصوصیات فیزیکیوشیمیایی با یکدیگر تفاوت داشتند. الکتروفورز نمونه های ژلاتین نشان داد که میزان زنجیره های آلفا در ژلاتین های استخراج شده به روش بن ماری بالاتر بود. همچنین طیف های FTIR نشان داد که شدت پیک های مربوط به آمیدهای شاخص موجود در ژلاتین در نتیجه اعمال فراصوت و همچنین افزایش زمان استخراج افزایش یافته است. این تغییرات باعث شد که بلوم ژل و همچنین نقطه ذوب ژلاتین های استخراج شده به روش بن ماری بالاتر باشد و در واقع فراصوت به خصوص در زمان استخراج بالاتر سبب تضعیف ژلاتین شد. از طرف دیگر استفاده از فراصوت برای استخراج ژلاتین سبب افزایش بازده استخراج، محتوای پروتئین و همچنین خاکستر نمونه ها شد.

Scale Gelatin and Pigskin Gelatin. Foods, 2022. **11**(24): p. 3960.

- [4] Mahjoorian, A., et al., *Rheological properties of skin gelatin of Beluga Sturgeon (Huso huso) from The Caspian Sea*. Annals of Biological Research, 2013. **4**(7): p. 227-234.
- [5] Zhang, F., S. Xu, and Z. Wang, *Pretreatment optimization and properties of gelatin from freshwater fish scales*. Food and Bioproducts processing, 2011. **89**(3): p. 185-193.

- [6] Zarubin, N.Y., et al., *Application of the Gadidae fish processing waste for food grade gelatin production*. Marine drugs, 2021. **19**(8): p. 455.
- [7] Mahjoorian, A., S. Jafarian, and F. Fazeli, *Nettle (*Urtica dioica*) Essential oil incorporation in edible film from caspian whitefish (*Rutilus frisii kutum*) scale: physical, antimicrobial, and morphological characterization*. Journal of Aquatic Food Product Technology, 2021. **30**(2): p. 151-161.
- [8] Huang, T., et al., *Rheological and structural properties of fish scales gelatin: Effects of conventional and ultrasound-assisted extraction*. International Journal of Food Properties, 2017. **20**(sup2): p. 1210-1220.
- [9] Abbasi, H., et al., *Antibacterial properties and stability of emulsions containing Cuminum cyminum and Oliveria decumbens Vent. essential oils prepared by ultrasound*. Journal of food science and technology (Iran), 2019. **16**(87): p. 41-51.
- [10] Shahidi, S.-A., *Effect of solvent type on ultrasound-assisted extraction of antioxidant compounds from *Ficaria kochii*: Optimization by response surface methodology*. Food and Chemical Toxicology, 2022. **163**: p. 112981.
- [11] Khan, S.A., *Mini-Review: Opportunities and challenges in the techniques used for preparation of gelatin nanoparticles*. Pak. J. Pharm. Sci, 2020. **33**(1): p. 221-228.
- [12] Hosseini-Parvar, S.H., et al., *Optimising conditions for enzymatic extraction of edible gelatin from the cattle bones using response surface methodology*. International journal of food science & technology, 2009. **44**(3): p. 467-475.
- [13] Derkach, S.R., et al., *Tailoring cod gelatin structure and physical properties with acid and alkaline extraction*. Polymers, 2019. **11**(10): p. 1724.
- [14] Parker, F.S. and F.S. Parker, *Amides and amines. Applications of infrared spectroscopy in biochemistry, biology, and medicine*, 1971: p. 165-172.
- [15] Tu, Z.-c., et al., *Physico-chemical properties of gelatin from bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*) scales by ultrasound-assisted extraction*. Journal of food science and technology, 2015. **52**: p. 2166-2174.
- [16] Manikandan, A., et al., *Engineered fish scale gelatin: An alternative and suitable biomaterial for tissue engineering*. Journal of Bioactive and Compatible Polymers, 2018. **33**(3): p. 332-346.
- [17] Fahim, H., A. Motamedzadegan, and S. Hamzeh, *The Effect of Combination of Sorbitol and Polyethylene Glycol on Physicochemical Properties of Gelatin Films Made From (*Parastromateus Niger*)*. Research and Innovation in Food Science and Technology, 2017. **6**(2): p. 211-220.
- [18] Iran National Standards Organization, I., *Food grade gelatin - Specifications and test methods - Amd. No. 1*. 2022.
- [19] Eskandari, Z. and S.A. Jafarpour, *A Comparative study on Physio-Chemical Properties of Recovered Gelatin from Beluga (*Huso huso*) fish skin by Enzymatic and Chemical Methods*. Iranian Food Science and Technology Research Journal, 2020. **16**(1): p. 157-170.
- [20] Tabarestani, H.S., et al., *Optimization of physico-chemical properties of gelatin extracted from fish skin of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*)*. Bioresource technology, 2010. **101**(15): p. 6207-6214.
- [21] Rezaei, M. and A. Motamedzadegan, *The effect of plasticizers on mechanical properties and water vapor permeability of gelatin-based edible films containing clay nanoparticles*. 2015.
- [22] Sinthusamran, S., S. Benjakul, and H. Kishimura, *Characteristics and gel properties of gelatin from skin of seabass (*Lates calcarifer*) as influenced by extraction conditions*. Food chemistry, 2014. **152**: p. 276-284.
- [23] Mirzapour-Kouhdasht, A., et al., *Physicochemical, rheological, and molecular characterization of colloidal gelatin produced from Common carp by-products using microwave and ultrasound-assisted extraction*. Journal of texture studies, 2019. **50**(5): p. 416-425.
- [24] Muyonga, J., C. Cole, and K. Duodu, *Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of acid soluble collagen and gelatin from skins and bones of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*)*. Food chemistry, 2004. **86**(3): p. 325-332.
- [25] Ahmad, T., et al., *Effects of ultrasound assisted extraction in conjugation with aid of actinidin on the molecular and physicochemical properties of bovine hide gelatin*. Molecules, 2018. **23**(4): p. 730.
- [26] Senarathna, P.D.S. and R.A.U.J. Marapana, *Comparative Analysis of the Effect of Ultrasound-Assisted and Conventional Water Bath Extraction Methods on the Physicochemical Characteristics of Tilapia Scales Gelatin*. Journal of Aquatic Food Product Technology, 2021. **30**(7): p. 893-906.
- [27] Asih, I., T. Kemala, and M. Nurilmala, *Halal gelatin extraction from Patin fish bone (*Pangasius hypophthalmus*) by-product with*

- ultrasound-assisted extraction. in IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2019. IOP Publishing.*
- [28] Choi, S.S. and J. Regenstein, *Physicochemical and sensory characteristics of fish gelatin. Journal of Food Science, 2000. 65(2): p. 194-199.*
- [29] Apostolov, A., et al., *DSC and TGA studies of the behavior of water in native and crosslinked gelatin. Journal of applied polymer science, 1999. 71(3): p. 465-470.*
- [30] Emamverdian, P., et al., *Characterization and optimization of complex coacervation between soluble fraction of Persian gum and gelatin. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2020. 607: p. 125436.*
- [31] Dang, X., et al., *On spray drying of oxidized corn starch cross-linked gelatin microcapsules for drug release. Materials Science and Engineering: C, 2017. 74: p. 493-500.*



Scientific Research

Comparison of the Physicochemical Properties of Gelatin Extracted from the *Caspian Kutum* Scales by Conventional Water-Bath and Ultrasound-Assisted Extraction

Mahjoubi Asil, Mahsa¹, Motamedzadegan, Ali², Fahim Hoda³, Farmani Jamshid⁴

1- Master's student, Department of Food Industry Science and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources

2- Full Professor of the Department of Food Industry Science and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources

3- Ph.D. Department of Food Industry Science and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources

4- Professor of the Department of Food Industry Science and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received: 2023/8/20

Accepted: 2023/12/28

Keywords:

Antioxidative properties,

Antioxidative activity,

Microbial mass,

phycocyanin pigment,

Ice cream

DOI: 10.22034/FSCT.21.149.99.

*Corresponding Author E-Mail:

Due to its unique role, phycocyanin pigment extracted from the cyanobacterium *Spirulina platensis* can play an important role in enriching traditional cheese. In this study, the amount of protein, fat, total sugar, aeration, melting speed of fortified ice cream with different concentrations of phycocyanin pigment were determined. In addition, the counting of bacteria was done along with the assessment of antioxidant properties. Also, GC/MS test was performed to identify volatile compounds. The results of tests showed that the amount of fat, total sugar, melting speed, DPPH of fortified ice cream has decreased significantly compared to the control. Also, the amount of protein, aeration, FRAP and ABTS significantly compared to the control. Sensory evaluation, the acceptability of the smell decreased with increasing concentration, but there was no significant difference in other parameters compared to the control. In addition, no signs of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *salmonella* were found during different days. However, the presence of coliform bacteria 42 to 56 days in enriched and control ice cream. The presence of mold and yeast on days 28 to 56 was evident only in the control sample. The presence of psychrophilic bacteria on days 14 to 56 of fortified ice cream has decreased significantly compared to the control. Also, the results of the volatile compounds obtained from GC/MS test in control ice cream and enriched ice cream with 2% phycocyanin pigment show the presence of antioxidant and antimicrobial properties that played an important role in the shelf life and quality of ice cream. It is hoped that the results of this study will be the basis for empowering the food industry in using of pigments obtained from cyanobacteria.