



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

مدل سازی و بهینه یابی فرآیندهای استخراج ژلاتین پای مرغ با روش سطح پاسخ

هانیه اسمعیلی^۱، رضا فرهمندفر^۲، علی معتمدزادگان^۳، مریم اثنی عشری^{۳*}

۱-کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

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

۳-استادیار، بخش تحقیقات فرآوری تولیدات دامی، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج

کشاورزی، کرج، ایران

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۲۵

کلمات کلیدی:

پای مرغ،

سطح پاسخ،

بازده،

قدرت ژل،

بهینه سازی

DOI: 10.48311/fsct.2026.84003.0

* مسئول مکاتبات:

m.asnaashari@yahoo.com

مصرف فرآورده های جانبی حیوانی در دهه های اخیر رشد چشمگیری داشته است. این فرآورده ها می توانند به محصولات پایداری جهت مصارف کشاورزی و صنعتی تبدیل شوند. یکی از این محصولات پایدار، ژلاتین است. در بین ضایعات کشتارگاهی طیور، پای مرغ منبع خوبی برای تولید ژلاتین می باشد ولی مطالعات محدودی در مورد آن وجود دارد. در این تحقیق، به منظور تعیین شرایط بهینه استخراج ژلاتین از پای مرغ به ترتیب اثر چهار متغیر غلظت اسید سولفوریک (۱ تا ۳ نرمال)، نسبت وزن پای مرغ خمیر شده به محلول اسیدی (۱: ۲-۶ وزنی/حجمی)، دمای (۶۰ تا ۹۰ درجه سلسیوس) و زمان استخراج (۱ تا ۵ ساعت) به روش اسیدی و سه متغیر غلظت اسید سولفوریک (۱ تا ۳ نرمال)، توان (۳۶۰ تا ۷۲۰ وات) و زمان مایکروویو (۱۰ تا ۲۰ دقیقه) به روش مایکروویو بر بازده و قدرت ژل مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمایش ها با استفاده از روش طرح مرکب مرکزی سطح پاسخ تجزیه و تحلیل گردید. مدل های درجه دوم پیشنهادی برای بازده استخراج و قدرت ژل در روش های اسیدی و مایکروویو، R^2 و $Adj-R^2$ بالا و عدم برازش بی معنی داشتند، لذا به خوبی توانستند پاسخ ها را پیش بینی کنند. شرایط بهینه استخراج اسیدی در حداکثر بازده و قدرت ژل به ترتیب دمای ۷۶/۴۰ درجه سلسیوس، زمان ۳ ساعت، غلظت ۲ نرمال اسید و نسبت وزن پای مرغ به محلول اسیدی ۱:۴ وزنی/حجمی مشخص گردید. نتایج آماری حاصل از آنالیز واریانس خمیر شده فرآیند استخراج به کمک مایکروویو در غلظت ۲ نرمال اسید، توان ۵۴۰ وات و زمان ۲۰ دقیقه بالاترین بازده و قدرت ژل را به دنبال داشت. سپس، نمونه های بهینه هر دو روش با ژلاتین تجاری گاوی از نظر میزان الکتروفورز ژل اکریل آمید و رنگ مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل نشان داد که ژلاتین پای مرغ می تواند جایگزین مناسبی برای ژلاتین پستانداران باشد.

۱-مقدمه

صنایع فرآوری طیور در سراسر جهان مقدار زیادی محصولات جانبی همچون سر، پا، استخوان‌ها، احشا و پر تولید می‌کنند. این مواد زائد غالباً به صورت خوراک دام، کود و غذاهای حیوانات خانگی، فرآوری شده و یا کاملاً دور ریخته می‌شوند. دفع نامناسب این زباله‌ها، باعث آلودگی محیط زیست، به وجود آمدن بیماری‌های مختلف و از بین رفتن منابع بیولوژیکی مفید مانند پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و لیپیدها می‌شود [۱]. صنعت طیور هر ساله مقادیر زیادی فرآورده جانبی مانند پای مرغ تولید می‌کند. این محصولات جانبی حاوی پروتئین (به ویژه کلاژن) نسبتاً بالایی می‌باشند و برای تولید ژلاتین مورد استفاده قرار می‌گیرند. ژلاتین بیوپلیمری با خواص منحصر به فرد است که کاربرد بسیار گسترده‌ای در صنایع غذایی، داروسازی و عکاسی دارد [۲]. در گذشته، به طور عمده بیشتر ژلاتین‌های تجاری از منابع پستاندارانی همچون خوک و گاو گرفته می‌شد، اما به دلیل محدودیت‌های فرهنگی و مذهبی، بروز مکرر بیماری‌ها (مانند آنسفالوپای اسفنجی شکل گاوی^۱ (BSE)) باعث شد که برخی از مطالعات به بررسی جایگزینی کلاژن از منابع حیوانی مختلف مانند آبزیان و ماکیان بپردازند [۳، ۴]. گرچه تحقیقات زیادی در مورد تولید ژلاتین از ماهی انجام شده است، اما به دلیل ثبات کمتر ژل تشکیل شده، خواص رئولوژیکی ضعیفتر نسبت به ژلاتین استخراج شده از پستانداران و واکنش‌های آلرژیک، ژلاتین ماهی تنها حدود یک درصد از تولید سالانه ژلاتین را تشکیل می‌دهد [۵]. ژلاتین پای مرغ، دارای محتوی گلايسين، هیدروکسی پرولین و پرولین بالاتری است و ثبات حرارتی بالاتری در مقایسه با ژلاتین پستانداران و ماهی دارد [۶، ۷]. ژلاتین، پلی‌پتیدی با وزن مولکولی بالا است. این ماده در واقع مشتقی از کلاژن می‌باشد [۸]. در طی دناتوراسیون حرارتی کلاژن، تغییرات ساختاری و شکسته شدن پیوند درون مولکولی، تغییرات

شیمیایی و فیزیکی رخ می‌دهد که در نهایت منجر به تولید ژلاتین می‌گردد. خواص ژلاتین مانند قدرت ژل و دمای ذوب از مهمترین خصوصیات تعیین‌کننده کیفیت تجاری آن است. این خصوصیات به نوبه خود تحت تاثیر برخی از عوامل مانند توزیع وزن مولکولی و ترکیب اسید آمینه قرار می‌گیرند [۹].

روش‌های گوناگونی برای استخراج ژلاتین از سلول‌های بافت جانوری وجود دارد و تفاوت در این روش‌ها بستگی به ماده اولیه آن دارد. یکی از بهترین روش‌ها جهت استخراج ژلاتین، روش اسیدی می‌باشد و ژلاتین استخراجی دارای کیفیت مطلوبی است [۱۰]. تیمار اسیدی، باعث تورم کلاژن می‌شود تا کارایی استخراج ژلاتین را در طول هیدورلیز حرارتی افزایش دهد. تورم و محلول سازی بیشتر کلاژن به شدت تحت تاثیر نوع و غلظت اسید مورد استفاده قرار دارد [۱۱]. این فرآیند، موجب حذف مواد آلی مانند خون، موسین، مواد قندی، پروتئولایک‌تین و غیره (که در ماده اولیه وجود دارند) می‌شود [۱۲]. از دیگر روش‌های تولید ژلاتین، تکنیک استخراج با کمک مایکروویو^۲ (MAE) می‌باشد که به عنوان یکی از کارآمدترین روش‌ها، برای بهبود خصوصیات مولکولی و فیزیکوشیمیایی از جمله قدرت ژل، ویسکوزیته و نقطه ذوب پیشنهاد شده است. دستگاه مایکروویو، از راه تابش امواج الکترومغناطیسی و به جنبش درآوردن مولکول‌های آب و دیگر مولکول‌های قطبی باعث گرم شدن ماده می‌شود. این موج‌های تابشی، یک میلیون بار در ثانیه در جهت میدان الکتریکی قرار می‌گیرند و باعث اصطکاک داخلی مولکول‌ها می‌شوند و در نتیجه گرمای حجمی تولید می‌کنند. بنابراین، از مایکروویو می‌توان برای گرم کردن مواد و استخراج به صورت آنی استفاده کرد [۱۳]. این روش می‌تواند باعث کاهش قابل توجه زمان استخراج در مقایسه با روش‌های مرسوم گردد [۱۴]. کاهش هزینه و مقدار حلال استفاده شده، از دیگر مزایای آن می‌باشد. همچنین،

پارامترهای مختلف میکروویو مانند ماهیت حلال، دما، اندازه ذرات، میزان قدرت میکروویو و زمان تابش بر عملکرد ماده استخراج شده تاثیر می‌گذارد [۱۵]. بنابراین، در این مطالعه از دو روش اسیدی و میکروویو جهت استخراج ژلاتین از پای مرغ استفاده شد و پارامترهای فرآیند استخراج اسیدی شامل زمان، دما، غلظت و نسبت وزن خمیر پای مرغ به محلول اسیدی، پارامترهای استخراج ژلاتین به روش میکروویو با تاثیر هم زمان توان و زمان بهینه‌یابی شد. سپس خصوصیات ژلاتین بهینه از هر دو روش با ژلاتین تجاری گاوی مورد مقایسه قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه مواد اولیه

در این پژوهش، پای مرغ از فروشگاه محصولات پروتئینی شهرستان بابل خریداری گردید. مواد شیمیایی از قبیل اسید سولفوریک با درجه خلوص ۹۸ درصد، سدیم کلرید و کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده در پژوهش از شرکت مرک آلمان تهیه شد. همچنین ژلاتین تجاری گاوی از شرکت کیا تجارت باتیس خریداری گردید.

۲-۲- آماده سازی پای مرغ

پای مرغ خریداری شده در کیسه‌های نایلونی بسته‌بندی و به آزمایشگاه منتقل گردید. در آزمایشگاه پای مرغ به صورت دستی چندین بار با آب شستشو داده شد تا خون و دیگر مواد اضافی از روی آن برداشته شود. در مرحله‌ی بعد، پای مرغ توسط ساتور دستی به قطعات کوچک‌تری تقسیم شد و در خردکن قرار گرفت و به صورت خمیر درآمد.

۲-۳- استخراج ژلاتین با روش اسیدی و میکروویو

استخراج ژلاتین بر اساس روش‌های چاکا و همکاران (۲۰۱۶) و لیو و همکاران (۲۰۱۹) با اندکی تغییرات انجام شد [۱۶، ۱۳]. جهت استخراج، ابتدا خمیر پای مرغ با آب گرم شستشو داده شد تا مقداری از چربی آن کاسته شود. ۱۰۰ گرم از خمیر پای مرغ را در ۰/۵ مول محلول هیدروکسید سدیم به نسبت وزنی/حجمی ۲:۱ با استفاده از دستگاه همزن مکانیکی (پارس آزما، ایران) با سرعت ۵۰ دور بر دقیقه و به مدت زمان ۱۰ دقیقه مخلوط شد تا پروتئین‌های

غیرکلاژنی آن از بین برود. در مرحله بعد، نمونه آنقدر با آب سرد شستشو داده شد تا pH آن خنثی شود. پس از آن، نمونه را در پارچه صافی سه لایه قرار داده تا کاملاً آب اضافی از آن خارج گردد. سپس خمیر پای مرغ را در غلظت‌های اسیدی ۱ تا ۳ نرمال و نسبت وزن خمیر پای مرغ به محلول اسیدی ۱:۲-۶ وزنی/حجمی با استفاده از همزن مکانیکی با سرعت ۴۰ دور بر دقیقه و زمان ۶۰ دقیقه مخلوط شد و همانند مراحل قبلی اما این‌بار تا رسیدن pH به ۵/۵ تا ۶، شستشو ادامه یافت. سپس برای استخراج ژلاتین، نمونه با آب مقطر و به نسبت ۳:۱ وزنی/حجمی مخلوط و با در نظر گرفتن متغیرهای دما، زمان و توان در حمام آب (ممرت، WB14، آلمان) و میکروویو (Techno، Te341/342، آلمان) قرار داده شد. سپس، محلول استخراج شده با پارچه صافی سه لایه صاف شده و درون ظرف‌های آلومینیومی ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در روش اسیدی و ۴۸ ساعت در روش میکروویو با دمای ۴۵ درجه سلسیوس در دستگاه آون جریان هوای داغ (ممرت، ULM40، آلمان) خشک گردید. بعد از خشک شدن محلول ژلاتین، ورق‌های ژلاتینی بدست‌آمده به قطعات کوچک‌تری شکسته شد و توسط دستگاه آسیاب (بوش، MKM6000، آلمان) به پودر تبدیل و از الک عبور داده شد. پودر ژلاتین تا زمان استفاده برای آزمایش‌ها در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس و در نایلون‌های پلی‌اتیلنی نگهداری شد.

۲-۴- تعیین بازده استخراج ژلاتین

بازده استخراج ژلاتین بر حسب درصد براساس نسبت وزن پودر ژلاتین بدست آمده به وزن اولیه خمیر پای مرغ با استفاده از معادله (۱) مشخص گردید [۱۷].

$$\text{معادله (۱)} \quad 100 \times (\text{وزن اولیه خمیر پای مرغ} / \text{وزن پودر خشک ژلاتین}) = \text{بازده استخراج ژلاتین}$$

۲-۵- تعیین قدرت ژل

مقدار بلوم از نظر صنعتی، مهمترین معیار درجه‌بندی ژلاتین می‌باشد. قدرت، مقاومت ژل است که به عنوان وزن در گرم تعریف می‌شود و قیمت نهایی را تعیین می‌کند. انواع مختلف ژلاتین، قدرت ژلی متفاوتی را با غلظت‌های مختلف ایجاد

(معادله ۲). شاخص قهوه ای شدن^۳ (BI) میزان تغییر رنگ محصول به سمت رنگ قهوه ای را نشان می دهد (معادله ۳) [۱۹].

معادله (۲) $\Delta E =$

$$\sqrt{\Delta L^{*+2} + \Delta a^{*+2} + \Delta b^{*+2}}$$

معادله (۳)

$$BI = 100 \times \frac{(X-0.31)}{0.17}$$

۲-۸- آزمون ویسکوزیته

اندازه گیری ویسکوزیته ژلاتین به روش استاندارد و با استفاده از دستگاه ویسکومتر بروکفیلد DVII Ultra Brookfield ساخت کشور آمریکا انجام گرفت. ابتدا یک محلول ۶/۶۷ درصد ژلاتین تهیه و ویسکوزیته توسط اسپیندل با میزان سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴۰ درجه سلسیوس برحسب واحد سانتی پواز اندازه گیری شد [۱۷].

۲-۹- بهینه یابی به روش سطح پاسخ

روش سطح پاسخ^۴ (RSM) مجموعه ای از تکنیک های ریاضی و آماری برای مدلسازی و تحلیل مسائل می باشد که در آن یک یا چند پاسخ، تحت تاثیر چندین متغیر قرار می گیرند. در این مطالعه، از طراحی مرکب مرکزی^۵ (CCD) استفاده گردید. طرح مرکب مرکزی به طور گسترده ای برای برازش یک مدل درجه دوم استفاده می شود. با استفاده از این روش، مدل سازی امکان پذیر خواهد بود و تنها به حداقل تعداد و آزمایشات نیاز دارد. در جدول های ۱ و ۲، سطوح متغیرهای مستقل فرآیند استخراج اسیدی و مایکروویو در طرح مرکب مرکزی به صورت کد نمایش داده شده است. در این پژوهش، بهینه سازی استخراج ژلاتین در قالب طرح ثابت مرکب مرکزی با ۶ تکرار در نقطه مرکزی، در قالب طرح ۴ متغیره و ۳ متغیره به ترتیب برای روش های استخراج اسیدی و مایکروویو انجام شده است. در این طرح از ۴ فاکتور غلظت اسید و نسبت وزن خمیر پای مرغ به محلول

می کنند و باعث تغییر در بافت می شوند. اندازه گیری قدرت ژل حاصل از ژلاتین های اسیدی، مایکروویو و تجاری با استفاده از دستگاه آنالیز بافت (بروکفیلد، Ct3-10، آمریکا) انجام گرفت. ابتدا محلول ۶/۶۷ درصد ژلاتین تهیه گردید، سپس قبل از اندازه گیری قدرت ژل، به مدت ۱۶ ساعت در یخچال (دمای ۵ تا ۷ درجه سلسیوس) قرار داده شد. پس از گذراندن زمان رسیدگی ژل، قدرت ژل با استفاده از بلانچر استوانه ای با قطر پروب ۱۲/۷ میلی متر با سرعت ۱ میلی متر بر ثانیه و مقدار نفوذ ۴ میلی متر مشخص و مقدار بلوم (قدرت ژل) آن برحسب گرم اندازه گیری شد [۱۸].

۲-۶- آزمون SDS-PAGE ژلاتین پای مرغ

این آزمون جهت تجزیه و تحلیل الگوهای پروتئینی و تعیین وزن مولکولی پروتئین به کار گرفته می شود. بدین منظور، برای تهیه ژل پلی آکریل آمید ۵ درصد ژل جداکننده و ۶ درصد ژل متراکم کننده استفاده گردید. محلول ژلاتین ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر و مخلوط بافر ۰/۵ مول با pH=۶/۸، ۵ درصد مرکاپتواتانول، ۲۰ درصد گلیسرول و ۰/۱ درصد بروموفنل آبی در معرض حرارت ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت. بعد از حرارت دهی و سرما محلول به درون چاه های ژل متراکم کننده تزریق و الکتروفورز با سرعت ۱۵ میلی آمپر انجام شد [۱۶].

۲-۷- آزمون میزان قهوه ای شدن ژلاتین پای مرغ

شفافیت و رنگ، خواص مهم ژلاتین به شمار می روند و تعیین کننده کاربرد آن در صنایع گوناگون هستند. پارامترهای رنگی شامل L^* ، a^* و b^* می باشند. رنگ پودر ژلاتین توسط دستگاه رنگ سنج مدل IMG Pardazesh CAM-SystemXI اندازه گیری گردید. شاخص ΔE نشان دهنده تفاوت کلی پارامترهای رنگی اندازه گیری شده رنگ بین نمونه استاندارد و نمونه حاصل از آزمایش است و می توان از آن به عنوان یک فاکتور اصلی برای بررسی تغییرات رنگ استفاده نمود

اسید، دما و زمان استخراج و ۳ فاکتور غلظت اسید، توان و زمان میکروویو به عنوان متغیرهای مستقل و بازده استخراج و قدرت ژل به عنوان متغیرهای وابسته انتخاب گردیدند که

Table 1- Range of experimental values of independent variables in the central composite design for optimizing the extraction of chicken feet gelatin by the acidic method

Independent variables	Levels		
Code	-1	0	1
Acid concentraion	1	2	3
Ratio of chicken feet to acid	2	4	6
Temperature	60	75	90
Time	1	3	5

Table 2- Range of experimental values of independent variables in the central composite design for optimizing the extraction of chicken feet gelatin by microwave method

Independent variables	Levels		
Code	-1	0	1
Acid concentraion	1	2	3
Microwave power	360	540	720
Time	10	15	20

پاسخ‌های مربوطه از آزمون T-TEST استفاده گردید و از طریق نمودارهای سه بعدی و دو بعدی مدل شرح داده شد. نمونه‌های ژلاتین استخراجی بهینه توسط آنالیز واریانس یک طرفه با کمک نرم افزار SPSS ورژن ۲۶ در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و میانگین‌ها در سطح احتمال خطای ۵ درصد با آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مدل‌سازی فرآیند استخراج ژلاتین پای مرغ به روش اسیدی در مدل این پژوهش، اثر ۴ فاکتور غلظت اسید (نرمال)، نسبت وزن پای مرغ به محلول اسید (حجمی/وزنی)، دما (درجه سلسیوس) و زمان (ساعت) به عنوان متغیرهای مستقل و ۲ فاکتور بازده استخراج (درصد) و قدرت ژل (گرم) به عنوان متغیرهای وابسته انتخاب شدند که در آنها متغیرهای ورودی با نماد X و پاسخ خروجی با نماد Y مشخص و طبق پیشنهاد نرم‌افزار توسط یک معادله چند جمله‌ای درجه دوم بیان گردید.

این پاسخ‌ها برای یک مدل تجربی استفاده شده است و از الگوی معادله درجه دوم که در زیر برای هر کدام از روش‌های اسیدی در معادله (۴) و میکروویو در معادله (۵) ارائه شده است، تبعیت می‌کند.

$$Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + \text{معادله (۴)}$$

$$b_4x_4 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{33}x_3^2 + b_{14}x_1x_2 + b_{24}x_1x_4 + \varepsilon$$

$$Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + \text{معادله (۵)}$$

$$b_3x_3 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{33}x_3^2 + b_{12}x_1x_2 + b_{23}x_2x_3 + \varepsilon$$

ضرایب چندجمله‌ای با نماد b_0 (ضریب ثابت)، b_1 ، b_2 ، b_3 و b_4 (اثرات خطی)، b_{11} ، b_{22} ، b_{33} و b_{44} (اثرات درجه دوم) و b_{12} ، b_{14} و b_{24} (اثرات متقابل) می‌باشند. به منظور بهینه‌سازی دو روش استخراج اسیدی و میکروویو ژلاتین از پای مرغ و تحلیل بررسی دو فاکتور پاسخ بازده و قدرت ژل ژلاتین، از طرح مرکب مرکزی با استفاده از نرم افزار Design- Expert ورژن ۱۱.۲ استفاده گردید. بهینه‌یابی مشترک فاکتورهای خروجی جهت رسیدن به بالاترین سطح کیفیت ژلاتین تولیدی صورت گرفت و در پایان نیز به منظور تعیین اختلاف بین مقادیر پیش بینی شده و مقادیر واقعی در

ضریب تعیین تعدیل شده، میزان R^2 را با توجه به متغیرهای مستقل اضافه شده به خط رگرسیون و با توجه به عرض از مبداهای جدید، تعدیل و اصلاح می کند. هرچه تفاوت بین R^2 و R^2 تعدیل شده کمتر باشد؛ به این معناست که متغیرهای مستقل اضافه شده به مدل، به درستی انتخاب گردیدند. مقدار R^2 پیش بینی شده برای پاسخ بازده استخراج و قدرت ژل به ترتیب ۰/۹۳ و ۰/۸۵ بود. از این ضریب، می توان برای پیش بینی مدل استفاده نمود و نکته قابل توجه آن است که مقدار این ضریب با ضریب تعیین تعدیل شده باید نزدیک بهم باشد و اختلاف آنها نباید بیشتر از ۰/۲ باشد لذا در مدل پژوهش حاضر، اختلافات بسیار ناچیز است.

Adeq precision نسبت سیگنال به نویز را اندازه گیری می کند و میزان کاربرد و مطلوبیت مدل ارائه شده را در فرآیندهای صنعتی نشان می دهد. مقدار این ضریب باید بیشتر از ۴ باشد که در مدل ارائه شده این پژوهش متغیرهای وابسته Y_1 و Y_2 به ترتیب ۲۴/۲۰ و ۱۲/۷۷ برآورد شد و ضریب تغییرات (CV) برای فاکتور بازده استخراج و قدرت ژل به ترتیب ۶/۸۵ و ۸/۲۳ تعیین گردید (جدول ۳). این ضریب معیاری است برای اندازه گیری توزیع داده های آماری و از تقسیم انحراف معیار بر میانگین بدست می آید. به عبارت دیگر ضریب تغییرات، میزان پراکندگی به ازای یک واحد از میانگین را بیان می کند. هر چه مقدار این ضریب کمتر باشد (خصوصاً پایین تر از ۱۰) برای معادلات بهتر است. در پژوهش حاضر، مقدار ضریب تغییرات هر دو متغیر خروجی کمتر از ۱۰ بود. بنابراین مدل ارائه شده در هر دو پاسخ خروجی قابل تایید می باشد.

معادلات (۶) و (۷)، میزان بازده استخراج (Y_1) و قدرت ژل (Y_2) به عنوان تابعی از غلظت (X_1)، دما (X_2)، زمان استخراج (X_3) و نسبت وزن پای مرغ به محلول اسیدی (X_4) نشان داده شده است:

$$Y_1 = -11.89 + 0.42X_1 + 0.28X_2 + 0.72X_3 - 0.39X_4 - 1.44X_1X_4 - 1.87X_1^2 - 3.49X_2^2 - 0.97X_3^2$$

معادله (۶)

$$Y_2 = 203.42 + 9.61X_1 + 9.22X_2 + 6.56X_3 + 9.00X_4 + 6.75X_2X_4 - 25.68X_1^2 - 28.18X_2^2 - 21.18X_3^2$$

معادله (۷)

کیفیت و تاثیرگذاری مدل ارائه شده از طریق آنالیز واریانس مشخص گردید. طبق جدول ANOVA، آزمون عدم برازش برای هر دو فاکتور خروجی معنی دار نبود ($P>0.05$). یک مدل خوب رگرسیونی مدلی است که مقدار احتمال آزمون (Lack of fit) آن بیشتر از سطح معنی داری آلفا (معمولاً پنج درصد) در نظر گرفته شود، یعنی فرض صفر مورد پذیرش قرار گیرد ($P>0.05$). همچنین، فاکتورهای X_1 ، X_2 ، X_3 ، X_4 ، X_1^2 ، X_2^2 و X_3^2 برای متغیر وابسته بازده استخراج و X_1 ، X_2 ، X_3 ، X_4 ، X_1X_2 ، X_1X_3 ، X_1X_4 ، X_2X_3 و X_2X_4 برای متغیر وابسته قدرت ژل در سطح معنی داری (۹۵ درصد)، ضریب تعیین (R^2) برای بازده استخراج و قدرت ژل به ترتیب ۰/۹۸ و ۰/۹۵ بدست آمد. ضریب تعیین، نسبتی از واریانس بر حسب متغیر وابسته می باشد که از متغیرهای مستقل قابل پیش بینی است. این ضریب در واقع نشان دهنده مطلوبیت مدل در پیش بینی فاکتورهای خروجی می باشد. هر دو مقدار R^2 بدست آمده نسبتاً بالا بوده اند (نزدیک به ۱) که نشان می دهد تناسب خوبی بین مقادیر تجربی و پیش بینی شده از مدل ها وجود دارد. ضریب تعیین تعدیل شده ($Adjusted R^2$) برای پاسخ های Y_1 و Y_2 به ترتیب ۰/۹۶ و ۰/۹۱ بود. مقدار

Table 3 - Analysis of Variance (ANOVA) regression for gel yield and strength responses by acidic extraction of chicken feet gelatin

Yield						Strength			
Source	df	Coefficients	Sum of Squares	F-value	p-value	Coefficients	Sum of Squares	F-value	p-value
Model	14		289.41	66.85	<0.0001		49286.27	22.57	<0.0001
Linear coefficients									
b_1	1	0.42	3.32	10.73	0.0051	9.61	1662.72	10.66	0.0052
b_2	1	0.28	1.43	4.62	0.0484	9.22	1530.89	9.81	0.0068

b ₃	1	0.72	9.40	30.41	<0.0001	6.56	773.56	4.96	0.0417
b ₄	1	-0.39	2.78	8.98	0.0090	9.00	1458.00	9.35	0.0080
Quadratic coefficients									
b ₁₁	1	-1.87	9.04	29.24	<0.0001	-25.68	1708.00	10.95	0.0048
b ₂₂	1	-3.49	31.53	101.95	<0.0001	-28.18	2056.81	13.18	0.0025
b ₃₃	1	-0.97	2.48	8.02	0.0126	-21.18	1161.76	7.45	0.0155
b ₄₄	1	0.05	0.0069	0.0224	0.8829	-11.18	323.58	2.07	0.1704
Interaction coefficients									
b ₁₂	1	-0.12	0.23	0.7685	0.3945	-0.50	4.00	0.0256	0.8749
b ₁₃	1	0.04	0.03	0.1261	0.7274	1.75	49.00	0.3141	0.5835
b ₁₄	1	-1.44	33.03	106.82	<0.0001	1.13	20.25	0.1298	0.7237
b ₂₃	1	0.02	0.009	0.0307	0.8632	2.63	110.25	0.7067	0.4137
b ₂₄	1	-0.18	0.54	1.76	0.2046	6.75	729.00	4.67	0.0472
b ₃₄	1	-0.08	0.10	0.3363	0.5706	-4.00	256.00	1.64	0.2196
Residual	15		4.64				2340.03		
Lack of fit	10		3.18	1.09	0.4915		1680.69	1.27	0.4166
Error	5		1.46				659.33		
Total	29		294.04				51626.30		
R ²		0.98				0.95			
Adj-R ²		0.96				0.91			
Pr-R ²		0.93				0.85			
Precision		24.20				12.77			
Adeq									
CV		6.85				8.23			

می‌دهد. با افزایش غلظت اسید در نسبت پای مرغ به اسید بالا و یا با افزایش نسبت پای مرغ به اسید در غلظت اسید بالا و همچنین افزایش دمای فرآیند، مقدار بازده استخراج به شدت کاهش یافت. در واقع، افزایش دما و حجم اسید به ترتیب باعث تبخیر محلول ژلاتین و تخریب کلاژن پای مرغ می‌گردد و در نتیجه ساختار پروتئینی آن را از بین می‌برد و کاهش وزن ژلاتین را به دنبال دارد.

در بین اثرات برهمکنش، دما-نسبت وزن پای مرغ به اسید، بالاترین اثر معنی‌داری را بر قدرت ژل ژلاتین نشان دادند. با توجه به شکل ۲ با افزایش بیش از اندازه نسبت و دما از مقدار قدرت ژل ژلاتین کاسته شد و ساختارهای پروتئینی ضعیف گردید و روند به حالت نزولی درآمد.

۳-۲- بررسی تاثیر متغیرهای مستقل بر بازده استخراج و قدرت ژل ژلاتین پای مرغ

براساس نتایج جدول ۳، در بین ضرایب خطی مؤلفه‌های غلظت اسید و نسبت وزن خمیر پای مرغ به محلول اسید، دما و زمان استخراج اثرات قابل توجهی را بر بازده و قدرت ژل استخراج ژلاتین داشتند که در این میان زمان و غلظت بیشترین تاثیر را بر بازده استخراج ژلاتین گذاشتند. در بین مؤلفه‌های درجه دوم، دما و غلظت اسید و در بین اثرات متقابل، مؤلفه غلظت-نسبت وزن پای مرغ به محلول اسید بر میزان بازده استخراج بیشترین تاثیر را نشان دادند. شکل ۱، سطوح پاسخ سه بعدی اثر ترکیبی غلظت-نسبت وزن پای مرغ به محلول اسید و دما-زمان را برای بازده استخراج نشان

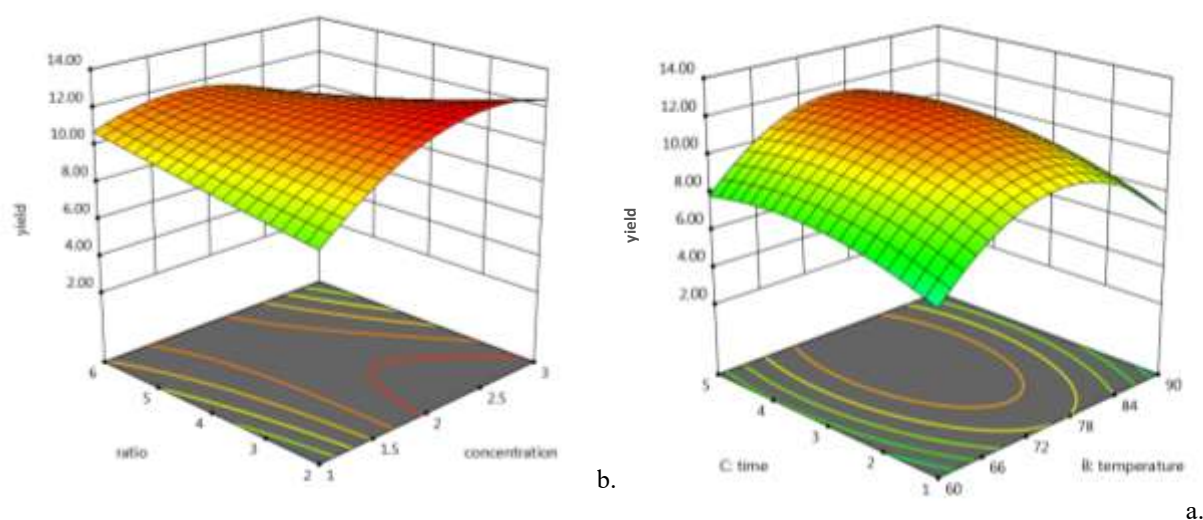


Figure 1- Three-dimensional response of the acidic process of chicken feet gelatin extraction: a) The effect of acid concentration and the ratio of chicken feet to acid, b) The effect of temperature and time on the extraction yield

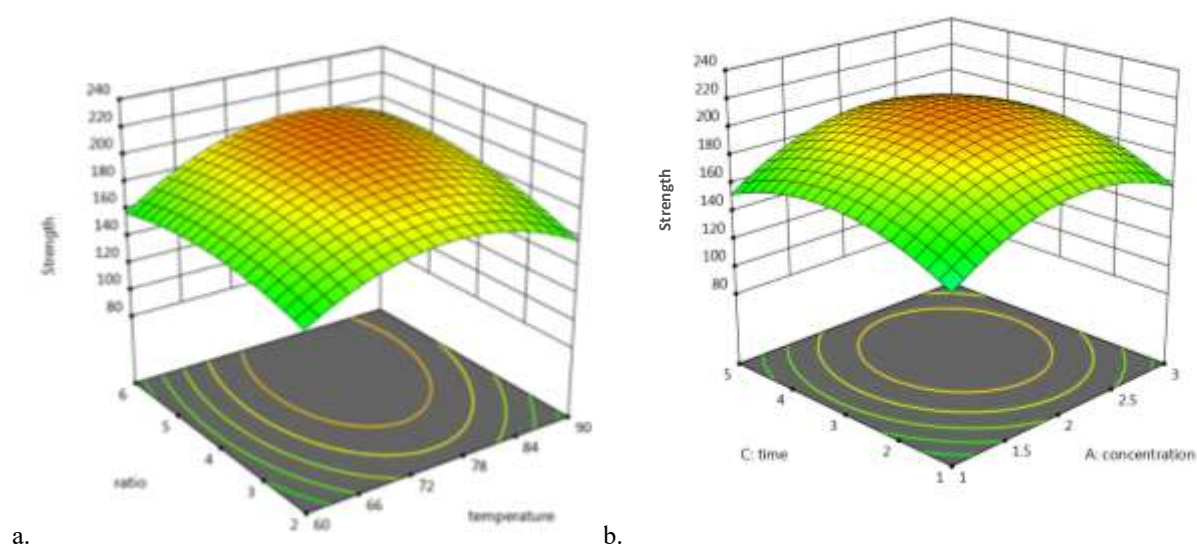


Figure 2- Three-dimensional response of the acidic process of chicken feet gelatin extraction: a) The effect of acid concentration and the ratio of chicken feet to acid, b) The effect of temperature and time on gel strength

۳-۳- بهینه سازی مشترک فرآیند استخراج ژلاتین پای مرغ به روش اسیدی

یکی از اهداف اصلی این مطالعه، یافتن پارامترهای بهینه برای تولید حداکثر ژلاتین بود. بنابراین ژلاتین استخراج شده باید دارای بازده بالا و همچنین قدرت ژل مطلوب برای استفاده در فرآیند صنعتی باشد. جدول ۴ مقادیر پیش بینی شده و واقعی را با خطاهای نسبتا کم در سه تکرار برای بازده استخراج ژلاتین و قدرت ژل نشان می دهد. اطلاعات محاسبه شده حاکی از آن است که این مقادیر بر یکدیگر منطبق بوده و این امر صحت مدل ها را تایید می نماید.

Table 4- The predicted and experimental values of the dependent variable for the optimal sample of chicken feet gelatin extracted by the acidic method

Response	Experimental data	Predicted data
Yield	11.44 ^a	11.89 ^a
Gel strength	206 ^a	203 ^a

براساس بهینه‌سازی در روش اسیدی، دمای $76/40$ درجه سلسیوس و نسبت ۱ به ۴ (حجمی/وزنی) وزن پای مرغ به محلول اسیدی، غلظت ۲ نرمال اسید و زمان استخراج ۳ ساعت به عنوان نقطه بهینه در این روش تعیین شد. در این پژوهش، بازده استخراج ژلاتین از ۳/۱۰ تا ۱۲/۶۵ متغیر بود. بازده ژلاتین علاوه بر مواد خام، به فرآیند پیش‌تیمار نیز بستگی دارد. ساربون و همکاران (۲۰۱۵) ژلاتین را از پوست مرغ با استفاده از پیش‌تیمار قلیایی و متعاقباً اسید استخراج نمودند و تنها به بازده $2/16$ درصد دست یافتند [۱۲]. ما و همکاران (۲۰۱۸) گزارش دادند که بازده استخراج ژلاتین استخوان خوک با استفاده از روش پیش‌تیمار اسید کلریدریک تنها حدود ۳ درصد بود [۲۰]. هائو و همکاران (۲۰۰۹) در یک مطالعه روی پوست ماهیان خاویاری پیش‌تیمار شده با کلسیم هیدروکسید، بازده ژلاتین را از $2/40$ تا $3/52$ درصد افزایش دادند [۲۱]. بازده ژلاتین استخراج شده از ماهی قرمز $7/81$ درصد، ماهی تیلاپیا سیاه $5/39$ درصد، scad باله کوتاه $7/25$ درصد و پوست مرغ $2/16$ درصد بود [۲۲]. بازده استخراج ژلاتین حاصل از پای مرغ توسط چیئو و همکاران (۲۰۱۸) با استفاده از اسید هیدروکلریک در دمای‌های مختلف از $4/65$ تا $5/31$ درصد متغیر گزارش شد [۲۳]. بازده استخراج ژلاتین به شدت به ثبات ساختار کلاژن مرتبط است. به طور کلی، پیش‌تیمار اسیدی، پیوندهای متقابل را بی-ثبات می‌کند و منجر به از بین رفتن ساختار منظم کلاژن طبیعی و در نتیجه تسهیل استخراج ژلاتین می‌شود [۲۴]. نتایج پژوهش‌ها به وضوح نشان می‌دهد که فرآیند استخراج استاندارد شده در مطالعه ما، بازده نسبتاً بالاتری از ژلاتین پای مرغ را داراست ($12/65$ درصد). کائو و همکاران (۲۰۲۰) درصد اثرات اسیدهای مختلف و پیسین بر خواص ژلاتین‌های استخراج شده از کلاژن استخوان گاو را مورد بررسی قرار دادند [۲۵]. در این پژوهش، بازده ژلاتین استخوان گاو از $4/26$ تا $11/75$ درصد متغیر بود که مشابه با پژوهش حاضر می‌باشد.

مقادیر قدرت ژل بدست آمده در این پژوهش از ۹۶ تا ۲۲۳ گرم متغیر بود. قدرت ژل ژلاتین گاوی (۲۰۰ گرم) کمتر از نمونه بهینه ژلاتین پای مرغ (۲۰۶ گرم) بدست آمد. قدرت ژل به شدت به مقدار زنجیره آلفا در ژلاتین وابسته است. با توجه به اینکه نسبت بالایی از پپتیدها با وزن مولکولی کمتر از زنجیره‌های آلفا می‌توانند قدرت ژل را کاهش دهند، بنابراین هرچه زنجیره‌های آلفا در الگوی ژلاتین بالاتر باشد، قدرت ژل بالاتر است. محققین همچنین گزارش دادند که پایداری ساختار ماریچ سه‌گانه در ژلاتین‌های بازسازی شده متناسب با محتوای کل اسیدهای پیرولیدین ایمینو می‌باشد. اعتقاد بر این است که هیدروکسی پرولین به دلیل توانایی پیوند هیدروژنی، نقش منحصر به فردی در تثبیت ماریچ کلاژن سه رشته‌ای ایفا می‌کند [۹]. آیکین-دینسر و همکاران (۲۰۱۷) ثابت کردند که پوست جوجه‌های گوشتی دارای قدرت ژل ۱۶۶ گرم می‌باشد. ژلاتین پوست و تاندون پای مرغ با غلظت $3/33$ درصد دارای قدرت ژل کمتری نسبت به ژلاتین با غلظت $6/67$ درصد بود. بنابراین همانطور که انتظار می‌رفت، قدرت ژل با غلظت ژلاتین افزایش می‌یابد [۲۶]. سای-لئو و همکاران (۲۰۱۶) قدرت ژل ژلاتین استخراج شده از پوست باس دریایی با پیش‌تیمارهای مختلف و فرآیندهای چربی‌زدایی را در مقادیر ۲۱۹، ۲۰۲ و ۲۲۲ گرم مشخص نمودند [۲۷]. تفاوت در قدرت ژل بین نمونه‌ها می‌تواند به دلیل تفاوت در ویژگی‌های ذاتی مانند توزیع وزن مولکولی، طول زنجیره پروتئین و برهمکنش‌های پیچیده تعیین شده توسط ترکیب اسید آمینه و نسبت زنجیره-های آلفا/بتا موجود در ژلاتین باشد [۲۸]. قدرت ژل کلاژن استخراج شده از پای مرغ با استفاده از اسیدهای مختلف همانند اسید استیک، لاکتیک و سیتریک در غلظت‌های متفاوت از ۱۲۳ تا ۲۰۴ گرم متغیر بود و قدرت ژل ژلاتین استخراج شده با استفاده از $1/5$ درصد حجمی-حجمی اسید استیک، بالاترین ارزش بلوم (۲۰۴ گرم) را نشان داد [۲۲]. قدرت ژل ژلاتین غیر پستانداران مانند ژلاتین ماهی (ماهی خال مخالی ۱۸۰ گرم، تیلاپیا ۱۸۱ گرم، سین کروکر و باله کوتاه ۱۲۵ و ۱۷۷ گرم) توسط بدیعی و هوول (۲۰۰۶)

$$Y_2 = 203.42 + 9.61X_1 + 9.22X_2 + 6.56X_3 - 25.68X_1^2 - 28.18X_2^2$$

(۹)

کیفیت و تاثیرگذاری مدل ارائه شده از طریق آنالیز واریانس مشخص گردید. طبق جدول ۵، آزمون عدم برازش برای هر دو فاکتور خروجی Y_1 و Y_2 معنی دار نبود ($P > 0.05$). همچنین، ضریب ثابت و فاکتورهای $X_1, X_2, X_3, X_1X_2, X_1X_3, X_2X_3$ و X_1^2, X_2^2, X_3^2 برای متغیر وابسته بازده استخراج و ضریب ثابت و فاکتورهای $X_1, X_2, X_3, X_1^2, X_2^2, X_3^2$ برای متغیر وابسته قدرت ژل در سطح ۹۵ درصد معنی دار بوده است. ضریب تعیین R^2 برای پاسخ های بازده استخراج و قدرت ژل به ترتیب ۰/۹۹ و ۰/۹۸ بدست آمد، لذا هر دو مقدار R^2 بدست آمده نسبتاً بالا بودند (نزدیک به ۱) که نشان می دهد تناسب خوبی بین مقادیر تجربی و پیش بینی شده از مدل ها وجود دارد. ضریب تعیین تعدیل شده برای پاسخ های Y_1 و Y_2 به ترتیب ۰/۹۸ و ۰/۹۷ بود و اختلاف بسیار ناچیزی با مقدار R^2 predicted (برای متغیرهای Y_1 و Y_2 به ترتیب ۰/۹۷ و ۰/۹۳) داشت. همچنین، نسبت سیگنال به نویز برای بازده استخراج و قدرت ژل به ترتیب ۵۰/۵۳ و ۲۶/۷۷ و ضریب تغییرات برای بازده، ۳/۴۱ درصد و برای قدرت ژل، ۳/۵۳ درصد بود. بنابراین، مدل ارائه شده مطلوب است.

Table 5 - Analysis of Variance (ANOVA) regression for gel yield and strength responses by microwave extraction of chicken feet gelatin

Yield					Strength				
Source	df	Coefficients	Sum of Squares	F-value	p-value	Coefficients	Sum of Squares	F-value	p-value
Model	9		137.67	164.39	<0.0001		42731.90	97.09	<0.0001
Linear coefficients									
b_1	1	1.38	19.15	208.88	<0.0001	9.61	883.60	18.07	0.0017
b_2	1	2.11	44.35	483.66	<0.0001	9.22	324.90	6.64	0.0275
b_3	1	1.34	17.88	194.93	<0.0001	6.56	302.50	6.19	0.0322
Quadratic coefficients									
b_{11}	1	-2.44	16.34	178.21	0.0043	-25.68	3885.96	79.49	<0.0001
b_{22}	1	-2.09	11.99	130.71	0.2280	-28.18	11651.27	238.24	<0.0001
b_{33}	1	1.80	8.88	96.87	0.0001	-21.18	23.27	0.47	0.5060
Interaction coefficients									
b_{12}	1	0.39	1.23	13.44	<0.0001	-0.50	28.13	0.57	0.4657
b_{13}	1	0.13	0.15	1.65	<0.0001	1.75	6.13	0.12	0.7308
b_{23}	1	-0.66	3.51	38.29	<0.0001	1.13	6.13	0.12	0.7308
Residual	10								

مشخص شد [۲۸] که کمتر از ژلاتین پای مرغ (اسیدی) در این مطالعه می باشد. محتوای کم هیدروکسی پرولین ژلاتین پوست ماهی یکی از دلایل اصلی قدرت ژل پایین ژلاتین بود. ارزش بلوم بالاتر به نقطه ذوب و ژل شدن بالاتر و زمان ژل شدن کوتاه تر محصول نهایی کمک می کند. علاوه بر این، قدرت بلوم ژلاتین به عواملی مانند غلظت اسید، زمان خیساندن و دمای استخراج نیز بستگی دارد. به طور کلی، ژلاتین با بلوم زیاد، در مقایسه با ژلاتین با بلوم نسبتاً کم، به خواص کف و امولسیون کنندگی بهتر محصول نهایی کمک می کند [۹].

۳-۴- مدل سازی فرآیند استخراج ژلاتین پای مرغ به روش مایکروویو از نتایج بدست آمده حاصل از اندازه گیری فاکتورهای هدف که شامل بازده استخراج (Y_1) و قدرت ژل (Y_2) می باشد، در سطوح مختلف متغیرهای مستقل از جمله غلظت اسید سولفوریک (X_1)، توان (X_2) و زمان استخراج (X_3) طبق پیشنهاد نرم افزار، برای فاکتورهای بازده استخراج و قدرت ژل، مدل درجه دوم انتخاب گردید.

$$Y_1 = 10.26 + 1.38X_1 + 2.11X_2 + 1.34X_3 + 0.39X_1X_2 + 0.13X_1X_3 - 0.66X_2X_3 - 2.44X_1^2 + 1.80X_3^2$$

معادله (۸)

Lack of fit	5	1.99	0.2336	2.66	0.1531
Error	5				
Total	19				
R ²	0.99		0.98		
Adj-R ²	0.98		0.97		
Pr-R ²	0.97		0.93		
Precision	50.53		26.77		
Adeq					
CV	3.41		3.53		

وات به دلیل از بین رفتن ساختار پروتئینی و تبخیر مقدار محلول ژلاتین منحنی بازده، حالت نزولی پیدا می‌کند. همچنین، با افزایش زمان (در توان ثابت) نمودار حالت صعودی به خود گرفت. با توجه به شکل ۳، در مقادیر کم زمان و توان، تاثیر شدید کاهشی بر بازده ژلاتین مشاهده شد. براساس جدول ۵ نیز، بالاترین میزان ضرایب و F-value مربوط به توان و غلظت بود. بنابراین، غلظت و توان دو فاکتور بسیار قابل توجه در این روش از استخراج می‌باشند.

۳-۵- بررسی تاثیر متغیرهای مستقل بر بازده استخراج ژلاتین بر اساس نتایج جدول ۵، در بین ضرایب خطی توان مایکروویو و غلظت اسید بیشترین اثر را بر بازده ژلاتین تحمیل کرد. در بین مؤلفه‌های درجه دوم، بیشترین اثر را غلظت اسید و در بین اثرات متقابل، مؤلفه‌های توان-زمان و غلظت-توان بر میزان بازده بیشترین تاثیر را نشان دادند. شکل ۳، سطوح پاسخ اثر ترکیبی غلظت-توان و زمان-توان را نشان می‌دهد. در این شکل مشخص شد که با افزایش توان به ۷۲۰

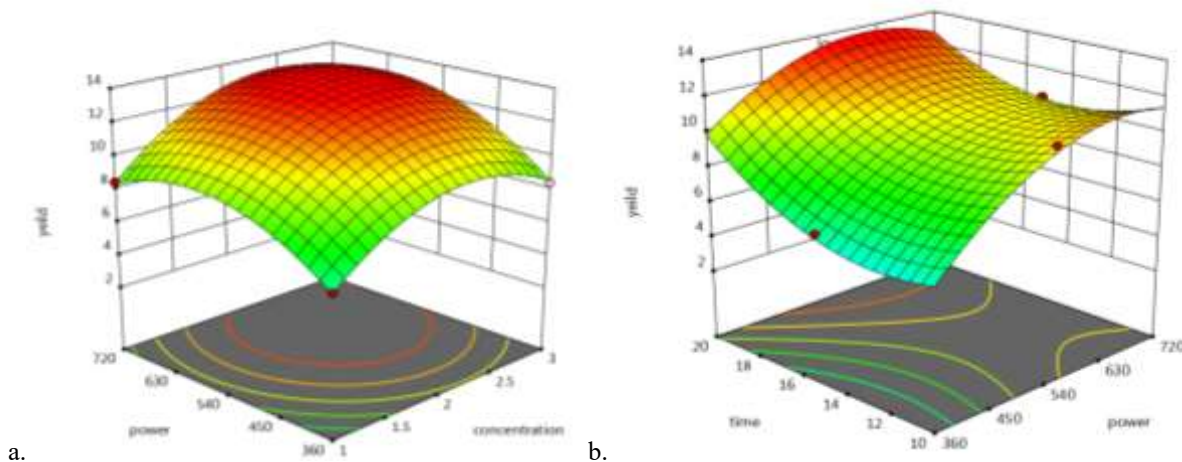


Figure 3 - Combined effect of concentration-power and power-time on the gelatin extraction yield by microwave method

قدرت ژل ژلاتین داشتند. فاکتور درجه دوم توان و غلظت نیز به ترتیب با مقادیر F، ۲۳۸/۲۴ و ۷۹/۴۹ اثرات قابل توجهی را بر قدرت ژل تحمیل کردند. هیچ یک از مؤلفه‌های برهمکنش بر روی قدرت ژل اثرات معنی‌داری نداشتند. با

۳-۶- بررسی تاثیر متغیرهای مستقل بر قدرت ژل ژلاتین براساس جدول ۵، هر سه فاکتور غلظت اسید، توان و زمان استخراج و همچنین اثرات درجه دوم غلظت و توان در این مدل معنی‌دار خوانده شده‌اند. غلظت با مقدار F ۱۸/۰۷ بیشترین اثر را بر قدرت ژل دارا بود. همچنین، توان و زمان با مقادیر F به ترتیب ۶/۱۹ و ۶/۶۴ اثرات مشابهی را بر

توجه به شکل ۴، با افزایش بیش از اندازه غلظت و توان از مقدار قدرت ژل ژلاتین کاسته شد که علت این امر را می توان به تضعیف ساختارهای پروتئینی نسبت داد.

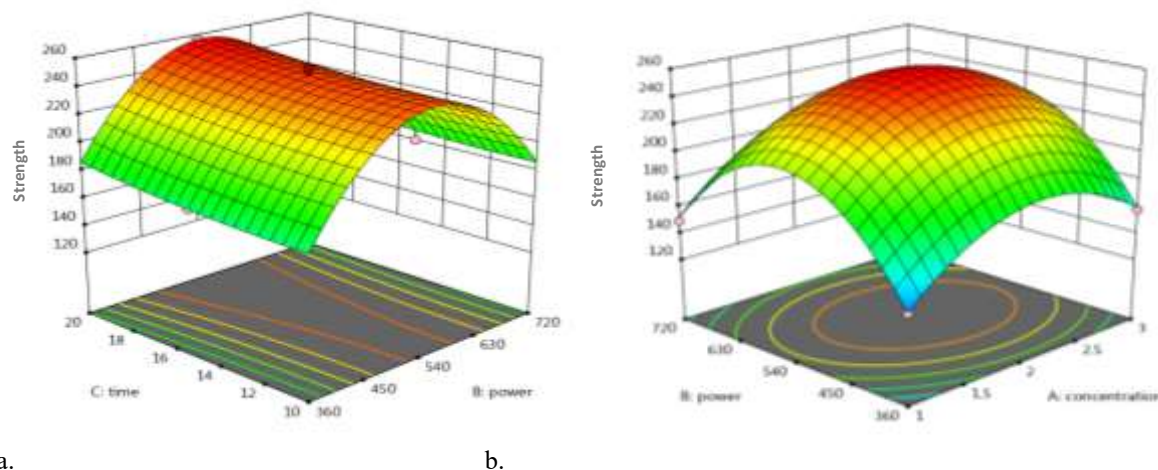


Figure 4 - Combined effect of concentration-power and power-time on the gelatin extraction yield by microwave method

روش های مختلف استخراج باعث شکستن پیوندهای هیدروژنی در مولکول کلاژن می شود، لذا ساختار سه بعدی را به طور غیر قابل برگشتی مختل می کند و منجر به حل شدن کلاژن برای تشکیل ژلاتین می شود [۲۹]. روش استخراج می تواند به طور قابل توجهی بر بازده ژلاتین تاثیر گذار باشد [۱۴]. در روش استخراج ژلاتین پای مرغ با میکروویو، بازده ژلاتین از ۲/۱۰ تا ۱۳/۳۷ درصد متغیر بود. لیو و همکاران (۲۰۱۹) به کمک میکروویو، بازده، ساختار و خواص ژلاتین پوست خرگوش را بررسی نمودند. در مقایسه با ژلاتین استخراج شده با حمام آب، ژلاتین مستخرج از روش میکروویو، توانست در زمان کوتاه (۵ تا ۳۰ دقیقه) بازده قابل توجهی داشته باشد. میزان بازده ژلاتین استخراج شده توسط میکروویو با افزایش زمان استخراج روند صعودی به خود گرفت که نشان دهنده تأثیر مثبت میکروویو است. با افزایش زمان میکروویو از ۵ به ۶۰ دقیقه، میزان بازده به ۶/۴۴ درصد رسید و سپس با افزایش بیشتر زمان استخراج میکروویو از ۶۰ به ۹۰ دقیقه، بازده اندکی کاهش یافت [۱۳]. در مقالات منتشر شده، بازده ژلاتین استخراج شده توسط میکروویو نسبتاً کم می باشد و مقادیر ۰/۷۵، ۱/۲۷ و ۰/۹۱ درصد گزارش شده است [۳۰]. در این پژوهش، میزان بازده تا مقدار

۷-۳- بهینه سازی مشترک فرآیند استخراج ژلاتین پای مرغ به روش مایکروویو

بر اساس بهینه یابی نرم افزار، شرایط بهینه استخراج ژلاتین در روش مایکروویو شامل ۲ نرمال اسید، ۲۰ دقیقه زمان و ۵۴۰ وات توان مایکروویو است. جدول ۶ مقادیر پیش بینی شده و واقعی (با خطاهای نسبتاً کم، در سه تکرار) برای بازده استخراج ژلاتین و قدرت ژل در روش مایکروویو را نشان می دهد. نتایج ارائه شده حاکی از آن است که اختلاف بسیار کمی بین مقادیر پیش بینی شده و آزمایش شده وجود دارد. لذا، مدل ارائه شده قابل تایید می باشد.

Table 6- The predicted and experimental values of the dependent variable for the optimal sample of chicken feet gelatin extracted by the microwave method

Response	Exprimental data	Predicted data
Yield	10.48 ^a	10.25 ^a
Gel strength	253 ^a	247 ^a

بازده استخراج قطعا عامل مهمی است که باید در هنگام تعیین شرایط بهینه برای تولید صنعتی ژلاتین در نظر گرفته شود زیرا می تواند به طور قابل توجهی بر امکان سنتزی تولید انبوه ژلاتین تأثیر گذار باشد. عملیات حرارتی مربوط به هر یک از

۱۳/۳۷ درصد بدست آمد که بیشتر از مطالعات دیگر می باشد. در پژوهش پارک و همکاران (۲۰۱۳) طی فراوری استخراج ژلاتین به سه روش مایکروویو و بخار فوق گرم و حمام آب میانگین مقدار بازده ژلاتین بدست آمده ۰/۷۵ درصد بود که کمتر از مطالعه حاضر است [۱۴]. کیم و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی شرایط بهینه برای متورم شدن پوست اردک و روش های استخراج ژلاتین آنها به عنوان یک منبع جدید پرداختند. ژلاتین با استفاده از روش های حمام آب، فراصوت، بخار فوق گرم و مایکروویو استخراج شد. در این پژوهش، مقدار بازده ژلاتین استخراج شده با مایکروویو، ۲/۰۵ درصد گزارش شده است [۳۱] که پایین تر از مطالعه حاضر بود.

قدرت ژل ژلاتین پای مرغ حاصل از استخراج مایکروویو، بیشتر از ژلاتین تجاری گاو (۲۰۰ گرم) شد. در مطالعه لیو و همکاران (۲۰۱۹) که ژلاتین پوست خرگوش را با مایکروویو استخراج نمودند، قدرت ژل تا بالای ۴۰۰ گرم گزارش شد. ژلاتین های بدست آمده توسط مایکروویو در زمان های ۵، ۱۵ و ۳۰ دقیقه، قدرت ژل قابل توجهی نسبت به حمام آب نشان دادند که مشخص می کند زمان کوتاه مایکروویو، می تواند قدرت ژل بهتری را بدست آورد. این احتمال وجود دارد که زمان کوتاه استخراج مایکروویو می تواند اجزای زیر واحد آن را به درستی آزاد کند تا به قدرت ژل بالاتر دست یابد. با طولانی تر شدن زمان مایکروویو از ۶۰ تا ۹۰ دقیقه، قدرت ژل به طور قابل توجهی کاهش یافت. کاهش قدرت ژلاتین ممکن است به دلیل کاهش محتوای اسید آمینه یا تخریب زیر واحدهایی با وزن مولکولی بالا در ژلاتین باشد [۱۳]. در مطالعه کیم و همکاران (۲۰۲۰) قدرت ژل ژلاتین استخراج شده از پوست اردک با روش حمام آب و استخراج مایکروویو در مقایسه با دیگر روش ها بیشتر بود [۳۱]. نتایج حاصل از پارک و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد که مایکروویو بالاترین مقدار قدرت ژل را نشان می دهد چراکه زمان کوتاه فرآیند در استخراج مایکروویو منجر به استخراج کلاژن قبل از دنا توره شدن کامل پروتئین می شود. قدرت ژل ژلاتین حاصل از استخراج مایکروویو در این مطالعه، ۲۶۰ گرم

گزارش شده است [۱۴] که مشابه تحقیق حاضر می باشد. فنج و همکاران (۲۰۲۱) تابش مایکروویو را به عنوان یک فرآیند جدید برای بهبود خواص فیزیکی و شیمیایی ژلاتین پوست خوک بررسی و مشخص نمودند که با افزایش زمان تابش مایکروویو، قدرت ژل به تدریج کاهش می یابد به طوری که قدرت ژل در زمان ۳۰ دقیقه به پایین ترین مقدار یعنی ۶۰ گرم رسید [۳۲] که بیشتر از مطالعه حاضر می باشد.

۸-۳-۸- مقایسه ژلاتین پای مرغ استخراج شده به روش های اسیدی و مایکروویو در مقایسه با ژلاتین تجاری

۳-۱-۸-۳- بررسی SDS-PAGE

SDS-PAGE متداول ترین روش تحلیلی مورد استفاده برای شناسایی زنجیره های کلاژن است. ژلاتین مخلوطی از قطعات کلاژن است که از هیدرولیز پیوندهای آمیدی کلاژن در زنجیره اصلی مولکول های کلاژن با وزن مولکولی در محدوده ۱۶ تا ۱۵۰ کیلو دالتون بدست آمده است [۳۳]. توزیع وزن مولکولی، ساختار و ترکیب زیر واحدها شامل زنجیره های آلفا و بتا و قطعات پروتئینی با وزن مولکولی کم، تأثیر قابل توجهی بر خواص عملکردی و فیزیکی ژلاتین ها دارد [۳۴]. در واقع، تجزیه و تحلیل الکتروفوریتیک به شناسایی یکپارچگی پروتئین و بازیابی اجزای مختلف ژلاتین (به دلیل تنوع در شرایط استخراج) کمک می کند [۳۵]. پروفایل SDS-PAGE ژلاتین ها از پای مرغ و ژلاتین تجاری گاوی در شکل ۵ نشان داده شده است. برای هر سه نوع ژلاتین زنجیره های آلفا یک و آلفا دو مشاهده شد. طبق شکل ۵ در نمونه بهینه ژلاتین مایکروویو نوارهای روشن تری مشاهده شد و درصد بیشتری از وزن مولکولی را به خود اختصاص داده و این پارامتر تا حد زیادی بر بازده و قدرت محصول نهایی تأثیر گذاشت. گرم شدن مواد توسط مایکروویو عمدتاً به دلیل ماهیت دوقطبی آب است. هنگامی که یک میدان الکتریکی نوسانی به مولکول های آب برخورد می کند، مولکول های دوقطبی دائماً (یک میلیون بار در ثانیه) در جهت میدان الکتریکی مرتب می شوند و این امر باعث اصطکاک داخلی مولکول ها و در نتیجه گرمایش حجمی شود. در طول فرآیند استخراج مایکروویو نیروی ارتعاشی

مولکول های آب همراه با انرژی گرمایی باعث شکاف آبی پیوندهای کووالانسی و در نتیجه انحلال کلاژن می گردد. بنابراین، زیر واحدهایی با وزن مولکولی بالا در ژلاتین استخراج شده به روش مایکروویو می توانند به سرعت حل شوند. اما از طرف دیگر، با افزایش زمان مایکروویو می توانند کاملاً تخریب شوند [۱۵].

در پروفایل های SDS-PAGE ژلاتین های استخراج شده از سر مرغ و بوقلمون در دمای ۵۰ و ۶۰ درجه سلسیوس نیز زنجیره های آلفا یک و آلفا دو دیده شد که مشابه با نمونه بهینه ژلاتین پای مرغ در این مطالعه بود. به نظر می رسد که ژلاتین سر بوقلمون نسبت به ژلاتین سر مرغ دارای تعداد بیشتری از نوارهایی با وزن مولکولی بالا و همچنین نوارهای بیشتری در محدوده وزن مولکولی پایین تر بودند. علاوه بر این، به نظر می رسد که تخریب ژلاتین با افزایش دمای آماده سازی رخ می دهد و در آن بخش های بیشتری با وزن مولکولی پایین تشکیل می گردد. به گفته مویانگ و همکاران (۲۰۰۴) درجه حرارت بالا باعث افزایش شکاف زنجیره های ژلاتینی و در نتیجه تشکیل اجزای مولکولی با وزن پایین تر می شود [۳۶]. به طور کلی، ژلاتین با محتوای زنجیره آلفا بالاتر، خواص عملکردی (از جمله خواص ژل کننده، امولسیون کننده و کف کننده) بهتری نشان داد [۳۷]. نتایج توزیع وزن مولکولی ژلاتین ها پس از پیش تیمار پوست ماهی دم شلاقی با اسید کلریدریک و اسید استیک در غلظت های مختلف نشان داد که صرف نظر از نوع اسید مورد استفاده، پروفایل الکتروفوریتیک ژلاتین شامل دو باند پروتئینی بتا و آلفا (با وزن مولکولی ۲۰۰ و ۱۲۵ کیلودالتون) و یک نوار با چگالی کمتر از ۱۰۰ کیلودالتون بود. اسید کلریدریک، هیدرولیز کلاژن را تقویت کرد و نوارهای پروتئینی با وزن های مولکولی متنوع (۵۷-۸۴ کیلودالتون) را ارائه داد. با این حال، اسید استیک باندهایی با مقدار ۱۲۵ و ۱۰۰ کیلودالتون (به ترتیب آلفا یک و آلفا دو) متراکمتری نسبت به اسید کلریدریک ایجاد کرد که نشان دهنده مزیت آن برای استخراج پروتئین است. بنابراین، استخراج ژلاتین

پوست ماهی دم شلاقی به غلظت اسید مورد استفاده بستگی داشت [۳۸] که تا حدی مشابه نمونه بهینه ژلاتین (اسیدی و مایکروویو) در پژوهش حاضر می باشد. کائو و همکاران (۲۰۲۰) وزن مولکولی ژلاتین های مختلف استخراج شده از کلاژن استخوان گاو را بررسی کردند [۲۵]. نتایج تجزیه و تحلیل کمی زنجیره های آلفا یک و آلفا دو در نمونه های ژلاتینی نشان داد که شدت باند بالاتر کلاژن با وزن مولکولی (۷۰-۱۰۰ کیلودالتون و ۱۵-۲۵ کیلودالتون) در پیش تیمار اسید-پسین کمتر از نمونه بهینه ژلاتین پای مرغ در این مطالعه می باشد. در واقع، زنجیره آلفا در ژلاتین به خوبی با خواص عملکردی ژلاتین از جمله قدرت با درجه بلوم، ویسکوزیته و نقطه ذوب پایین آن ارتباط دارد [۱۷]. کائوات و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که پیش تیمار با غلظت بالای اسید، منجر به تجزیه بیش از حد مولکول های کلاژن و کاهش مقدار زنجیره های بتا و قطعات با وزن مولکولی کمتر از ۲۰۰ کیلودالتون می شود. همچنین، الگوهای پروتئینی ژلاتین های استخراج شده از ماهی روهو را با استفاده از اسیدهای مختلف با وزن مولکولی ۳۲، ۴۰ و ۸۰ کیلودالتون گزارش نمودند. نتایج نشان داد اسیدهای مختلف بر ماهی روهو باعث تخریب بیش از حد مولکول های کلاژن می شوند که در نهایت منجر به حذف مولکول های پروتئین (ژلاتین) در طول شستشو با آب می شود [۳۹].

نتایج کمی سازی پروتئین با SDS-PAGE نمونه های استخراج شده از پوست اردک با استفاده از روش های مختلف استخراج توسط کیم و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد که نمونه های حاصل از بخار فوق گرم (۲۴/۶۱ میکروگرم بر میلی لیتر) و مایکروویو (۹۷/۵۹ میکروگرم بر میلی لیتر) غلظت پروتئین بالاتری نسبت به نمونه های حاصل از روش حمام آب (۱۹/۴۶ میکروگرم بر میلی لیتر) و روش های استخراج فراصوت داشتند [۳۱]. همچنین، نمونه های حاصل از این دو روش، نوارهای شدیدتری نسبت به نمونه های بدست آمده از روش های استخراج حمام آب و فراصوت داشتند که نشان از تجزیه بیشتر ژلاتین دارد و با نتایج این

نظر گرفتن زمان استخراج در نمونه‌هایی که در دمای ۷۰ درجه سلسیوس استخراج شده بودند، زنجیره بتا یافت نشد. زنجیره آلفا یک و آلفا دو به ترتیب ۱۳۱ و ۱۲۴ کیلو دالتون وزن مولکولی داشتند. نتایج نشان داد که تخریب زنجیره‌های آلفا و بتا با افزایش دما و زمان استخراج، مشهود است [۳۱].

تحقیق مطابقت داشت. الگوهای پروتئین ژلاتین استخراج شده از پوست بز در دماهای مختلف توسط ماد علی و همکاران (۲۰۱۷) برای زمان‌های متفاوت نشان داد که در تمام نمونه‌های ژلاتین، زنجیره‌های آلفا به عنوان اجزای اصلی بودند. زنجیره بتا نیز در ژلاتین‌های استخراج شده در دماهای ۵۰ و ۶۰ درجه سلسیوس یافت شد؛ با این حال، بدون در

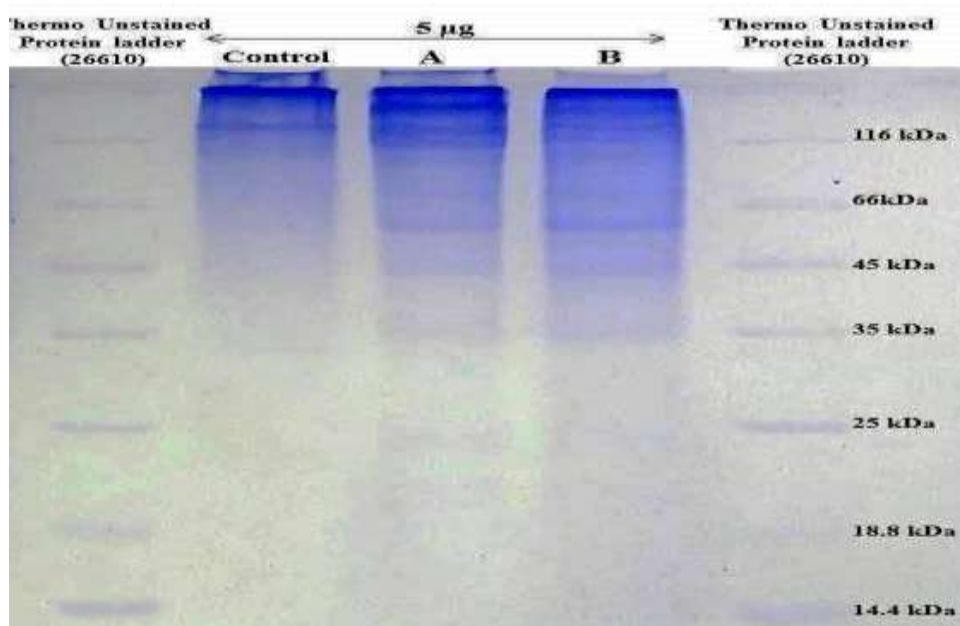
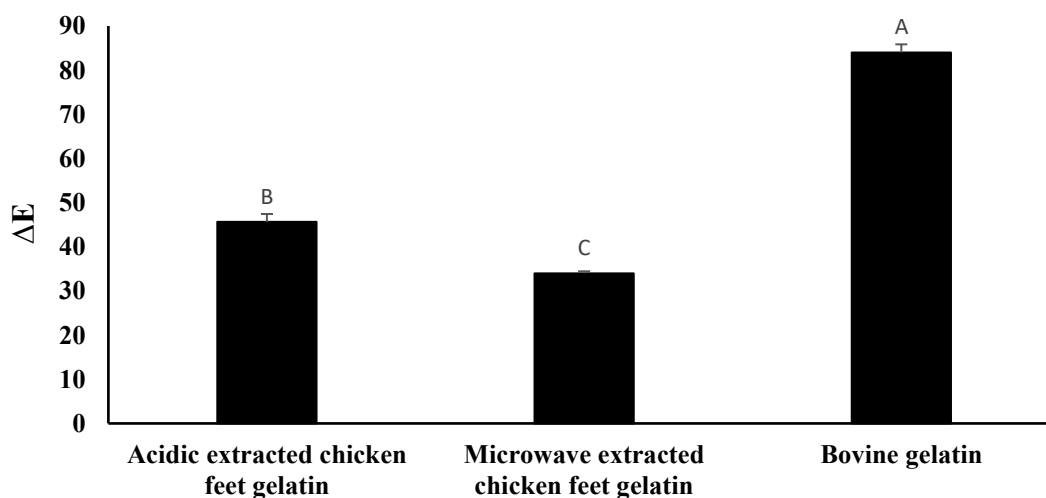


Figure 5 – The SDS-PAGE electrophoretic pattern of the optimal chicken feet gelatin of acidic extraction (B), microwave extraction (A) and commercial bovine gelatin (Control)

و پذیرش مصرف‌کننده می‌شود [۴۰]. روش خشک کردن ممکن است تأثیر زیادی بر رنگ ژلاتین داشته باشد [۴۱].

۳-۸-۲- رنگ سنجی

رنگ ژلاتین به طور قابل توجهی تحت تأثیر مواد خام، فرآیند استخراج و خشک کردن قرار می‌گیرد و منجر به تفاوت رنگ



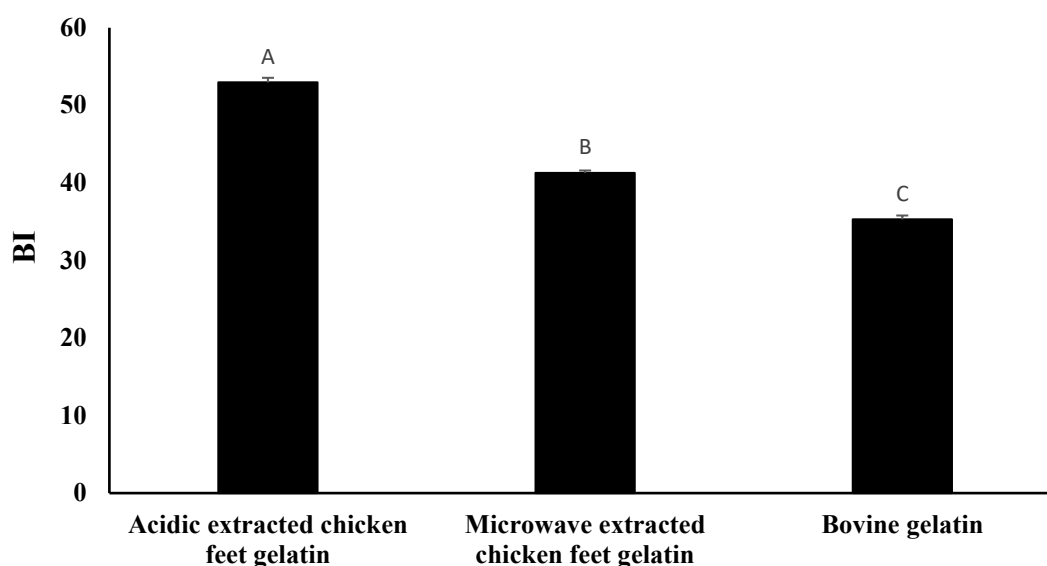


Figure 6- Color changes (ΔE) and browning index (BI) of microwave and acidic extracted chicken feet gelation compared to commercial bovine gelatin

بدست آمد. لازم به ذکر است که قرمزی و زردی ژلاتین استخراج شده با روش های حرارتی مختلف تفاوت های آماری را نشان می داد [۳۱]. ویدیاساری و همکاران (۲۰۱۴) رنگ ژلاتین پای مرغ را با استفاده از روش استخراج اسیدی در مقادیر $a^* = 8/24$, $b^* = 0/34$ و $L^* = 61/45$ گزارش کردند [۴۳]. پارک و همکاران (۲۰۱۳) ژلاتین استخراج شده از پای اردک را با سه روش مختلف بررسی نمودند و در این میان رنگ ژلاتین استخراج شده به روش مایکروویو با مقدار b^* , a^* و L^* به ترتیب ۱/۱۹، ۰/۹۹، ۳۴ گزارش شد [۱۴]. به گفته رحمان و جمالی (۲۰۱۲) مقادیر روشنایی ژلاتین پای مرغ (۴۲/۲۴) به طور قابل توجهی بالاتر از ژلاتین تجاری گاوی (۳۶/۴۰) بود [۴۴]. آل و همکاران (۲۰۲۰) ژلاتین پوست شتر را در سه سن مختلف ۲/۵، ۴/۵ و ۷ سالگی به روش حرارت دهی و پیش تیمار شیمیایی استخراج کردند. رنگ ژلاتین استخراج شده تفاوت معنی داری در بین نمونه ها نشان نداد. با این حال، پودر ژلاتین دارای رنگ زرد طلایی بود. همه نمونه ها دارای مقادیر روشنایی ۲۸/۱۲ تا ۴۱/۰۲ و نسبت به ژلاتین گاوی تجاری، درخشندگی بیشتر و زردی کمتری را نشان دادند [۴۵]. آلمدیا و همکاران (۲۰۱۲) خواص فیزیکوشیمیایی ژلاتین استخراج شده از پوست و تاندون پای مرغ را به عنوان جایگزینی برای ژلاتین

بالاترین مقدار ΔE متعلق به نمونه ژلاتین گاوی بود. بالاترین شاخص قهوه ای شدن در نمونه ژلاتین اسیدی یافت شد (شکل ۶). قهوه ای شدن غیرآنزیمی از واکنش میان گروه های آمین آزاد پروتئین با گروه هیدروکسیل گلوکزیدی قندهای احیاء کننده یا ترکیبات کربونیلی مثل آلدئیدها و کتون ها به وجود می آید. در طی فرآیند برشته کردن، مقدار ترکیبات آمینی و هیدروکسیلی زیاد شده لذا سرعت انجام واکنش های قهوه ای شدن غیرآنزیمی افزایش می یابد.

رحیم و همکاران (۲۰۲۱) ژلاتین های استخراج شده از پا و سر مرغ را بررسی نمودند. نتایج فاکتورهای رنگ a^* , b^* و L^* حاصل از دو نمونه نامبرده شده به ترتیب برای پا مرغ ۱۷/۹۳، ۰/۱۷ و ۵۳ و برای سر مرغ ۱۵/۳۰، ۱/۷۳ و ۶۲ گزارش شد [۴۲] که مشابه با نتایج فاکتورهای رنگ حاصل از پژوهش حاضر می باشد. در پژوهش دیگری با استفاده از روش های مختلف، ژلاتین را از پوست اردک استخراج نمودند. بالاترین مقدار روشنایی برابر با ۴۲/۵۶ برای ژلاتین استخراج شده به روش فراصوت به دست آمد، درحالی که کمترین مقدار روشنایی مربوط به ژلاتین استخراج شده به روش بخار فوق گرم بود. بعد از روش استخراج فراصوت، بیشترین مقدار روشنایی برابر با ۲۸ برای استخراج مایکروویو

مرغ به محلول اسیدی (۱ به ۴ حجمی/وزنی)، دما (۷۶/۴۰) درجه سلسیوس) و زمان استخراج (۳ ساعت) در روش اسیدی می‌توان ژلاتینی با حداکثر بازده ۱۱/۸۹ درصد و قدرت ژل ۲۰۳ گرم بدست آورد. همچنین در غلظت (۲ نرمال)، توان (۵۴۰ وات) و زمان (۲۰ دقیقه) می‌توان قدرت ژل ۲۴۷ گرم و بازده بیش از ۱۰ گرم بدست آورد. بنابراین هر دو فرآیند استخراج اسیدی و مایکروویو قابلیت مدل-سازی را با روش رگرسیون سطوح پاسخ دارند. براساس نتایج مقایسه با ژلاتین تجاری، ثابت شد که ژلاتین استخراج شده از پای مرغ ویژگی‌های برتری دارد و به طور بالقوه می‌تواند به عنوان منابع جایگزین ژلاتین پستانداران مورد استفاده قرار گیرد.

۵-منابع

- [1] Lasekan, A., Bakar, F. A., & Hashim, D. (2013). Potential of chicken by-products as sources of useful biological resources. *Waste management*, 33(3), 552-565.
- [2] Fatima, S., Mir, M. I., Khan, M. R., Sayyed, R. Z., Mehnaz, S., Abbas, S., ... & Masih, R. (2022). The optimization of gelatin extraction from chicken feet and the development of gelatin based active packaging for the shelf-life extension of fresh grapes. *Sustainability*, 14(13), 7881.
- [3] Mokrejš, P., Mrázek, P., Gál, R., & Pavlačková, J. (2019). Biotechnological preparation of gelatines from chicken feet. *Polymers*, 11(6), 1060.
- [4] Kaewdang, O., Benjakul, S., Kaewmanee, T., & Kishimura, H. (2014). Characteristics of collagens from the swim bladders of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Food Chemistry*, 155, 264-270.
- [5] Shahidi, F., & Botta, J. R. (2012). *Seafoods: chemistry, processing technology and quality*. Springer Science & Business Media.
- [6] Nik Aisyah, N. M., Nurul, H., Azhar, M. E., & Fazilah, A. (2014). Poultry as an alternative source of gelatin. *Health and the Environment Journal*, 5(1), 37-49.
- [7] Bichukale, A. D., Koli, J. M., Sonavane, A. E., Vishwasrao, V. V., Pujari, K. H., & Shingare, P. E. (2018). Functional properties of gelatin extracted from poultry skin and bone waste. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, 6(4), 87-101.
- [8] Gál, R., Mokrejš, P., Mrázek, P., Pavlačková, J.,

پستانداران (که معمولاً به صورت تجاری استفاده می‌شود) بررسی نمودند و رنگ پودر ژلاتین بدست آمده با مقادیر a^* و L^* به ترتیب ۱۹/۲، ۳/۰۱ و ۵۱/۳ گزارش کردند [۴۶]. در نتیجه مقدار روشنایی نمونه بهینه ژلاتین پای مرغ در این پژوهش بالاتر از مطالعات مطرح شده می‌باشد. پارک و همکاران (۲۰۱۳) گزارش دادند که استفاده از مایکروویو باعث افزایش روشنایی شده و اختلاف معنی‌داری با دیگر روش‌ها دارد. علاوه بر این، پیش تیمار پوست با این روش منجر به افزایش مقادیر زردی می‌شود که با تولید گروه‌های آمینه آزاد در ژلاتین حاصل در ارتباط است [۱۴].

۴- نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج بدست آمده از آزمایش‌ها در این پژوهش با استفاده از متغیرهای غلظت اسید (۲ نرمال)، نسبت خمیر پای

- Janáčová, D., & Orsavová, J. (2020). Chicken heads as a promising by-product for preparation of food gelatins. *Molecules*, 25(3), 494.
- [9] Gómez-Guillén, M. C., Giménez, B., López-Caballero, M. A., & Montero, M. P. (2011). Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food hydrocolloids*, 25(8), 1813-1827.
- [10] Abedinia, A., Nafchi, A. M., Sharifi, M., Ghalambor, P., Oladzadabbasabadi, N., Ariffin, F., & Huda, N. (2020). Poultry gelatin: Characteristics, developments, challenges, and future outlooks as a sustainable alternative for mammalian gelatin. *Trends in Food Science & Technology*, 104, 14-26.
- [11] Damrongsakkul, S., Ratanathammapan, K., Komolpis, K., & Tanthapanichakoon, W. (2008). Enzymatic hydrolysis of rawhide using papain and neutrase. *Journal of industrial and Engineering Chemistry*, 14(2), 202-206.
- [12] Sarbon, N. M., Badii, F., & Howell, N. K. (2015). The effect of chicken skin gelatin and whey protein interactions on rheological and thermal properties. *Food Hydrocolloids*, 45, 83-92.
- [13] Liu, T., Dai, H., Ma, L., Yu, Y., Tang, M., Li, Y., ... & Zhang, Y. (2019). Structure of Hyla rabbit skin gelatin as affected by microwave-assisted extraction. *International journal of food properties*, 22(1), 1594-1607.
- [14] Park, J. H., Choe, J. H., Kim, H. W., Hwang, K. E., Song, D. H., Yeo, E. J., ... & Kim, C. J. (2013). Effects of various extraction methods on quality characteristics of duck feet gelatin. *Food Science of Animal Resources*, 33(2), 162-169.
- [15] Moret, S., Conchione, C., Srbinovska, A., & Lucci, P. (2019). Microwave-based technique for fast and reliable extraction of organic

- contaminants from food, with a special focus on hydrocarbon contaminants. *Foods*, 8(10), 503.
- [16] Sabzi, F., Varidi, M. J., Varidi, M., & Asnaashari, M. (2024). Effect of verjuice (*Vitis vinifera* L.) on physicochemical and textural properties of beef *M. biceps femoris*. *Food Science & Nutrition*, 12(8), 5497-5517.
- [17] Erge, A., & Zorba, Ö. (2018). Optimization of gelatin extraction from chicken mechanically deboned meat residue using alkaline pretreatment. *Lwt*, 97, 205-212.
- [18] Farahmandfar, R., Asnaashari, M., Amraie, M., & Salehi, M. (2019). Color and weight changes of fresh-cut banana slices coated by quince seed gum: Effect of concentration, storage temperature and duration. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 14(6), 75-85.
- [19] Farahmandfar, R., Mohseni, M., & Asnaashari, M. (2017). Effects of quince seed, almond, and tragacanth gum coating on the banana slices properties during the process of hot air drying. *Food science & nutrition*, 5(6), 1057-1064.
- [20] Ma, M., Ma, L., Yu, W., Zhang, X., Shen, Y., & Zhang, Y. (2018). Research on rapid gelatinization of rabbit skin collagen as effect of acid treatment. *Food Hydrocolloids*, 77, 945-951.
- [21] Hao, S., Li, L., Yang, X., Cen, J., Shi, H., Bo, Q., & He, J. (2009). The characteristics of gelatin extracted from sturgeon (*Acipenser baeri*) skin using various pretreatments. *Food Chemistry*, 115(1), 124-128.
- [22] Chakka, A. K., Muhammed, A., Sakhare, P. Z., & Bhaskar, N. (2017). Poultry processing waste as an alternative source for mammalian gelatin: Extraction and characterization of gelatin from chicken feet using food grade acids. *Waste and Biomass Valorization*, 8, 2583-2593.
- [23] Choe, J., & Kim, H. Y. (2018). Effects of chicken feet gelatin extracted at different temperatures and wheat fiber with different particle sizes on the physicochemical properties of gels. *Poultry Science*, 97(3), 1082-1088.
- [24] Benjakul, S., Thiansilakul, Y., Visessanguan, W., Roytrakul, S., Kishimura, H., Prodpran, T., & Meesane, J. (2010). Extraction and characterisation of pepsin-solubilised collagens from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus* and *Priacanthus macracanthus*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(1), 132-138.
- [25] Cao, S., Wang, Y., Xing, L., Zhang, W., & Zhou, G. (2020). Structure and physical properties of gelatin from bovine bone collagen influenced by acid pretreatment and pepsin. *Food and Bioproducts Processing*, 121, 213-223.
- [26] Aykın-Dinçer, E., Koç, A., & Erbaş, M. U. S. T. A. F. A. (2017). Extraction and physicochemical characterization of broiler (*Gallus gallus domesticus*) skin gelatin compared to commercial bovine gelatin. *Poultry Science*, 96(11), 4124-4131.
- [27] Sae-Leaw, T., Benjakul, S., & O'Brien, N. M. (2016). Effect of pretreatments and defatting of seabass skins on properties and fishy odor of gelatin. *Journal of Food Biochemistry*, 40(6), 741-753.
- [28] Badii, F., & Howell, N. K. (2006). Fish gelatin: structure, gelling properties and interaction with egg albumen proteins. *Food hydrocolloids*, 20(5), 630-640.
- [29] Ahmad, M., & Benjakul, S. (2011). Characteristics of gelatin from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*) as influenced by acid pretreatment and extraction time. *Food Hydrocolloids*, 25(3), 381-388.
- [30] Li, S., Zeng, W., Li, R., Hoffman, L. C., He, Z., Sun, Q., & Li, H. (2018). Rabbit meat production and processing in China. *Meat science*, 145, 320-328.
- [31] Kim, T. K., Ham, Y. K., Shin, D. M., Kim, H. W., Jang, H. W., Kim, Y. B., & Choi, Y. S. (2020). Extraction of crude gelatin from duck skin: effects of heating methods on gelatin yield. *Poultry science*, 99(1), 590-596.
- [32] Feng, X., Dai, H., Ma, L., Fu, Y., Yu, Y., Zhu, H., ... & Zhang, Y. (2021). Effect of microwave extraction temperature on the chemical structure and oil-water interface properties of fish skin gelatin. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 74, 102835.
- [33] Duan, R., Zhang, J., Liu, L., Cui, W., & Regenstein, J. M. (2018). The functional properties and application of gelatin derived from the skin of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Food chemistry*, 239, 464-469.
- [34] Balti, R., Jridi, M., Sila, A., Souissi, N., Nedjar-Arroume, N., Guillochon, D., & Nasri, M. (2011). Extraction and functional properties of gelatin from the skin of cuttlefish (*Sepia officinalis*) using smooth hound crude acid protease-aided process. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 943-950.
- [35] Kittiphattanabawon, P., Benjakul, S., Visessanguan, W., & Shahidi, F. (2010). Comparative study on characteristics of gelatin from the skins of brownbanded bamboo shark and blacktip shark as affected by extraction conditions. *Food hydrocolloids*, 24(2-3), 164-171.
- [36] Muyonga, J. H., Cole, C. G. B., & Duodu, K. G. (2004). 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*, 86(3), 325-332.
- [37] Guo, L., Harnedy, P. A., Zhang, L., Li, B., Zhang, Z., Hou, H., ... & FitzGerald, R. J.

- (2015). In vitro assessment of the multifunctional bioactive potential of Alaska pollock skin collagen following simulated gastrointestinal digestion. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(7), 1514-1520.
- [38] Sántiz-Gómez, M. A., Mazorra-Manzano, M. A., Ramírez-Guerra, H. E., Scheuren-Acevedo, S. M., Navarro-García, G., Pacheco-Aguilar, R., & Ramírez-Suárez, J. C. (2019). Effect of acid treatment on extraction yield and gel strength of gelatin from whiptail stingray (*Dasyatis brevis*) skin. *Food Science and Biotechnology*, 28, 751-757.
- [39] Kanwate, B. W., & Kudre, T. G. (2017). Effect of various acids on physicochemical and functional characteristics of gelatin from swim bladder of rohu (*Labeo rohita*). *Journal of Food Science and Technology*, 54, 2540-2550.
- [40] Usman, M., Sahar, A., Aadil, R. M., & Shahid, M. (2024). Extraction and physicochemical characterization of native and broiler chicken feet gelatin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 104(14), 8939-8944.
- [41] Shyni, K., Hema, G. S., Ninan, G., Mathew, S., Joshy, C. G., & Lakshmanan, P. T. (2014). Isolation and characterization of gelatin from the skins of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*), dog shark (*Scoliodon sorrakowah*), and rohu (*Labeo rohita*). *Food hydrocolloids*, 39, 68-76.
- [42] Ab Rahim, H., Ahmad, H., & Ab Rahim, M. H. (2021). Extraction of Gelatin from Different Parts of Gallus Gallus Domesticus. *Current Science and Technology*, 1(1), 50-55.
- [43] Widyasari, R., & Rawdkuen, S. (2014). Extraction and characterization of gelatin from chicken feet by acid and ultrasound assisted extraction. *Food and Applied Bioscience Journal*, 2(1), 85-97.
- [44] Rahman, M. N. A., & Jamalulail, S. A. S. K. A. (2012). Extraction, physicochemical characterizations and sensory quality of chicken feet gelatin. *Borneo Science*, 30, 1-13.
- [45] Al-Hassan, A. A. (2020). Gelatin from camel skins: Extraction and characterizations. *Food Hydrocolloids*, 101, 105457.
- [46] da Almeida, P. F., da Silva Lannes, S. C., Calarge, F. A., da Brito Farias, T. M., & Santana, J. C. C. (2012). FTIR characterization of gelatin from chicken feet. *Journal of chemistry and chemical engineering*, 6(11), 1029.



Scientific Research

Modeling and optimization of different chicken feet gelatin extraction processes using Response Surface Methodology

Hanieh Esmaceli¹, Reza Farahmandfar², Ali Motamedzadegan², Maryam Asnaashari^{3*}

1-MSc, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences & Natural Resources

University (SANRU), Sari, Iran

2-Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences & Natural Resources

University (SANRU), Sari, Iran

3-Assistant Professor, Department of Animal Processing, Animal Science Research Institute of Iran (ASRI),

Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received: 2025/03/18

Accepted: 2025/08/16

Keywords:

Chicken feet,

Response surface,

Efficiency,

Gel strength,

Optimization

DOI: 10.48311/fsct.2026.84003.0

*Corresponding Author E-

m.asnaashari@yahoo.com

The consumption of animal by-products has grown significantly in recent decades. These by-products can be converted into sustainable products for agricultural and industrial uses. One of these sustainable products is gelatin. Among poultry slaughterhouse wastes, chicken feet are a good source for gelatin production, but there are limited studies on it. In this study, in order to determine the optimal conditions for gelatin extraction from chicken feet, the effects of four variables: sulfuric acid concentration (1 to 3 N), weight ratio of kneaded chicken feet to acid solution (1: 2-6 W/V), temperature (60 to 90°C), and extraction time (1 to 5 hours) by the acid method and three variables: sulfuric acid concentration (1 to 3 N), microwave power (360 to 720 W), and microwave time (10 to 20 min) by the microwave method on the yield and strength of the gel were investigated, respectively. The results of the experiments were analyzed using the response surface central composite design method. The proposed quadratic models for extraction efficiency and gel strength in the acid and microwave methods had high R^2 and Adj- R^2 and no significant lack of fit, so they were able to predict the responses well. The optimal conditions for acid extraction for maximum efficiency and gel strength were determined as temperature 76.40°C, 3 hours, 2 N acid and weight ratio of kneaded chicken feet to acid solution 1:4 W/V. Analysis of variance showed the microwave extraction process at 2 N acid concentration, power 540 W and time 20 min resulted in the highest efficiency and gel strength. Then, the optimal samples of both methods with commercial bovine gelatin were examined in terms of acrylamide gel electrophoresis and color. The results showed that chicken feet gelatin can be a suitable alternative to mammalian gelatin.