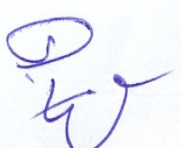
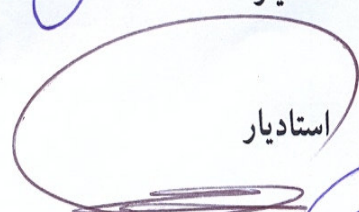
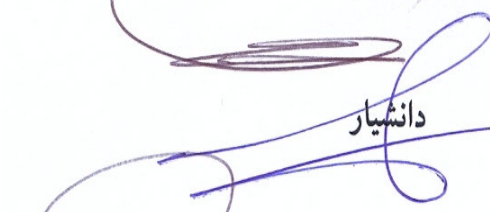
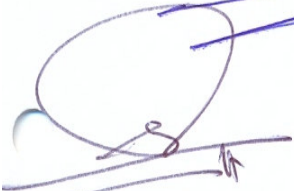
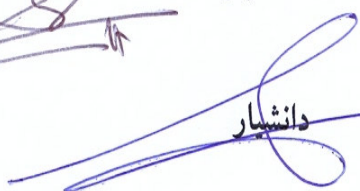


بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

تأییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

اعضای هیئت داوران نسخه نهائی پایان نامه خانم مینا اسمعیلی خاریکی
تحت عنوان: بهینه سازی استخراج و ارزیابی خواص فیزیکی شیمیای ژلاتین پوست کوسه

را از نظر فرم و محتوی بررسی نموده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد پیشنهاد
می کنند.

اعضای هیات داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضا
۱- استاد راهنما	دکتر مسعود رضائی	دانشیار	
۲- استاد مشاور	دکتر علی معتمد زادگان	استادیار	
۳- نماینده شورای تحصیلات تکمیلی	دکتر عبدالمحمد عابدیان	دانشیار	
۴- استاد ناظر	دکتر هاشم حسینی پرور	استادیار	
۵- استاد ناظر	دکتر عبدالمحمد عابدیان	دانشیار	

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش‌های علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهش‌های علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرح‌های تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان‌نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسؤلیت علمی مقاله مستخرج از پایان‌نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد. تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب و یا نرم افزار و یا آثار ویژه حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده‌ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده‌ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته‌ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/۴/۱ شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

آیین نامه چاپ پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله) ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) عبارت ذیل را چاپ کند:

«کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده در رشته **مهندسی منابع طبیعی- فرآوری محصولات شیلاتی**

است که در سال ۱۳۸۹ در دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی جناب آقای دکتر **مسعود رضایی** و مشاوره جناب آقای دکتر **علی معتمدزادگان** از آن دفاع شده است.»

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

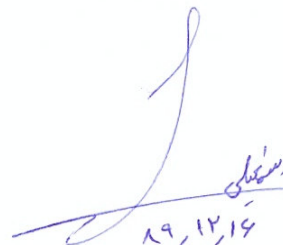
ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

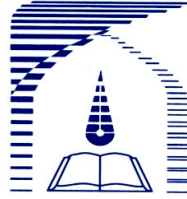
ماده ۶: اینجانب **مینا اسمعیلی خاریکی** دانشجوی رشته **مهندسی منابع طبیعی- فرآوری محصولات شیلاتی** مقطع **کارشناسی ارشد** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: مینا اسمعیلی خاریکی

تاریخ و امضا:



۱۶، ۱۲، ۸۹



دانشگاه تربیت مدرس

TARBIAT MODARES UNIVERSITY

دانشکده علوم دریایی

گروه شیلات

پایان نامه کارشناسی ارشد

عنوان

بهینه سازی استخراج و ارزیابی خواص فیزیکوشیمیایی ژلاتین پوست کوسه چانه سفید

نگارش

مینا اسمعیلی خاریکی

استاد راهنما

دکتر مسعود رضایی

استاد مشاور

دکتر علی معتمدزادگان

بهمن ۱۳۸۹

تقدیم به پدر و مادر عزیزتر از جانم

آنان که وجودم برایشان همه نخب بود و وجودشان برایم همه مهر.
توانشان رفت تا به توانایی برسم و مویشان سپیدگشت تا رویم سپید بماند.
آنان که راستی قائم در سگستی قاتشان تجلی یافت.
آنان که فروغ نگاهشان، گرمی کلامشان و روشنی رویشان سرمایه های
جادوانی زندگی من است.

در برابر وجود کرامتشان زانوی ادب بر زمین می زخم و بادلی ملو از

عشق، محبت و خضوع

بر دستانتان بوسه می زخم.

و

تقدیم به همراه همیشگی ام

همسر مهربانم

او که همواره دگر می های صبورانه اش راه کشایم است.

تقدیر و تشکر

حمد و سپاس خدای را که چهاره یاریم نموده است.

پاس می دارم زحمت پدر و مادر عزیزم را کسانی که به من آموختند چگونه بزرگ شوم، همیشه قدر دان آن های ما نم.

از استاد راهنمای عزیز و بزرگوارم جناب آقای دکتر مسعود رضایی که با صبر و حوصله فراوان راهنمایی ام فرمودند و همواره صحبت های گرانبایشان را خشک نماندیم بوده است، نهایت تشکر و قدر دانی را به جای می آورم. هم چنین از استاد مشاور که تقدیرم جناب آقای دکتر علی مستعدزادگان که با هم فکری ها و دلگرمی ایشان مرا یاری رساندند و راهنمایی های بی دریغ ایشان بی شک کارگشای این پژوهش بود صمیمانه تشکر می کنم.

نهایت تشکر و سپاس خود را تقدیم حضور سرکار خانم مری شمسیری طبرستانی می نمایم که در طی مراحل تحقیقی و عملی این پروژه، با صبر و حوصله فراوان راهنمایی نموده و هیچ گاه وقت گرانبایشان را از بنده دریغ نفرمودند.

از استادی که تقدیرم جناب آقای دکتر هاشم حسینی پرور و جناب آقای دکتر عبدالمحمد علیان که با وجود مشغله فراوان زحمت داوری پایان نامه را قبل فرمودند کمال تشکر را دارم. از لطف و عنایت جناب آقای دکتر میر لاشاری در اداره دانشمندی بندرکنارک در شهرستان چابهار که در تاسیس ماده اولیه برای انجام این پروژه همکاری بی چشم داشتی باینده داشتند، بسیار سپاسگزارم. از زحمات ریاست محترم شرکت لیان مابی نزر جناب آقای مهندس کتاسب و کارکنان محترم این شرکت تشکر می نمایم. از مدیران محترم گروه های شیلات و صنایع غذایی دانشگاه کرگان و مدیر محترم گروه زیست شناسی دانشگاه مازندران به سبب در اختیار قرار دادن امکانات برای انجام بخشی از آزمایشات، نهایت تشکر و سپاس را دارم. از کارشناس محترم آزمایشگاه شیلات جناب آقای مهندس کالی و مسئولین محترم آزمایشگاه های شیعی، محیط زیست و صنایع چوب و همچنین سرکار خانم مهندس بابور مسئول محترم آزمایشگاه زیست شناسی سلولی و مولکولی دانشگاه مازندران، سپاسگزاری می کنم.

از دوستان گرامی خانم بافرمودی، فیروزه، حسن آبادی و عزیز می و آقایان یوسف زاده و چمن آرا، به سبب همکاری در انجام بخشی از آزمایشات، سپاسگزارم.

برای تمامی دوستان عزیزم که همواره همدل و همراهم بودند آرزوی سلامتی و موفقیت روز افزون دارم.

از خانواده خوبم و خانواده محترم همسرم برای همه ی هدیه های شان صمیمانه تشکر می نمایم.

در پایان از همسر مهربانم که در طی انجام این پژوهش صبورانه همراهم بودند و همواره به من دلگرمی داده و راهنمایی نمودند، نهایت تشکر و قدر دانی را دارم.

چکیده

در تحقیق حاضر، به منظور بهینه سازی استخراج ژلاتین از پوست کوسه چانه سفید (*Carcharhinus dussumieri*) به روش سطح پاسخ (RSM)، اثر سه متغیر غلظت سود (۰/۰۱-۱) نرمال، غلظت اسید کلریدریک (۰/۰۱-۱) نرمال و مدت زمان استخراج (۳-۸ ساعت) بر بازده استخراج، نقطه ذوب، قدرت ژل، ویسکوزیته و مقدار هیدروکسی پرولین نمونه‌های ژلاتین تولیدی، در قالب طرح مرکب مرکزی (CCD) بررسی شد. نتایج نشان داد که غلظت قلیا بیشترین تأثیر معنی‌دار را بر بازده استخراج و قدرت ژل و غلظت اسید بیشترین تأثیر معنی‌دار را بر نقطه ذوب و ویسکوزیته داشتند. متغیر زمان استخراج بر هیچ یک از ویژگی‌های مورد بررسی تأثیر معنی‌دار نداشت ($p \geq 0.05$). همچنین اثر متغیرهای فرآیند بر میزان هیدروکسی پرولین ژلاتین معنی‌دار نبود ($p \geq 0.05$). غلظت سود ۰/۰۱ نرمال، غلظت اسید کلریدریک ۰/۵۰۵ نرمال و زمان استخراج ۳ ساعت، به عنوان شرایط بهینه استخراج ژلاتین انتخاب شدند. در شرایط بهینه، حداکثر مقدار برای بازده استخراج ۲۵/۶۵۶٪، نقطه ذوب 30.7°C ، قدرت ژل ۹۶۵/۵ g، ویسکوزیته ۶/۱۶ mP.s و مقدار هیدروکسی پرولین ۶/۸۴۲٪ محاسبه شد. با توجه به بازده استخراج مناسب و خواص فیزیکوشیمیایی مطلوب ژلاتین استخراج شده در شرایط بهینه، پوست کوسه چانه سفید می‌تواند به عنوان منبع مناسبی برای استخراج ژلاتین مطرح باشد.

واژه‌های کلیدی: ژلاتین، کوسه چانه سفید، پوست، سطح پاسخ

فهرست مطالب

صفحه	عنوان	بخش
	مقدمه و کلیات	فصل اول
۲ مقدمه	۱-۱
۳ کلیات	۲-۱
۳ ژلاتین	۱-۲-۱
۴ کلاژن	۲-۲-۱
۶ تبدیل کلاژن به ژلاتین	۳-۲-۱
۷ تولید ژلاتین	۴-۲-۱
۷ فرآیند پیش فرآوری	۱-۴-۲-۱
۸ فرآیند اسیدی	۱-۱-۴-۲-۱
۸ فرآیند قلیایی	۲-۱-۴-۲-۱
۸ استخراج	۲-۴-۲-۱
۹ ساختمان ژلاتین	۵-۲-۱
۹ آنالیز اسیدهای آمینه	۱-۵-۲-۱
۱۱ توزیع وزن ملکولی	۲-۵-۲-۱
۱۱ مکانیسم تشکیل ژل	۶-۲-۱
۱۲ قدرت ژل	۱-۶-۲-۱
۱۲ فعالیت بیولوژیکی ژلاتین	۷-۲-۱
۱۳ بهینه سازی فرآوری ژلاتین	۸-۲-۱
۱۳ ضرورت انجام تحقیق	۳-۱
۱۴ اهداف	۱-۳-۱
۱۵ سؤالات تحقیق	۲-۳-۱
۱۵ فرضیه‌ها	۳-۳-۱
	مروری بر مطالعات انجام شده	فصل دوم
۱۷ تولید ژلاتین ماهی	۱-۲
۱۸ استفاده از فرآورده‌های مختلف در تولید ژلاتین ماهی	۲-۲
۲۱ بهینه سازی تولید ژلاتین ماهی	۳-۲
	مواد و روش‌ها	فصل سوم
۲۴ مواد و تجهیزات مورد استفاده	۱-۳
۲۵ روش کار	۲-۳
۲۵ تهیه پوست کوسه و آماده سازی نمونه	۱-۲-۳
۲۶ استخراج ژلاتین از پوست کوسه چانه سفید	۲-۲-۳
۲۷ اندازه گیری پروتئین به روش بیورت	۳-۲-۳
۲۸ تعیین بازده استخراج	۴-۲-۳
۲۹ تعیین میزان هیدروکسی پرولین	۵-۲-۳
۳۰ اندازه گیری نقطه ذوب	۶-۲-۳

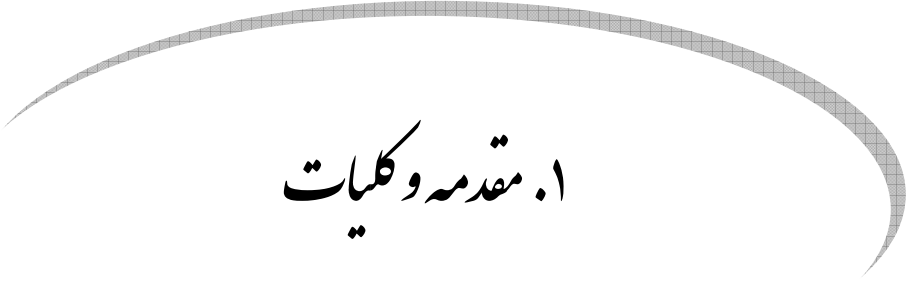
۳۱ تعیین استحکام ژل.....	۷-۲-۳
۳۲ اندازه‌گیری ویسکوزیته.....	۸-۲-۳
۳۲ اجرای الکتروفورز.....	۹-۲-۳
۳۵ طرح آزمایشی.....	۱۰-۲-۳
۳۷ آنالیز داده های نتایج.....	۱۱-۲-۳
نتایج فصل چهارم		
۳۹ آنالیز تقریبی ترکیبات پوست کوسه چانه سفید.....	۱-۴
۳۹ بهینه سازی فرآوری ژلاتین.....	۲-۴
۳۹ بررسی مدل های برازش شده.....	۱-۲-۴
۴۰ آنالیز واریانس.....	۲-۲-۴
۴۶ پلات های سطح پاسخ و اثر فاکتورها.....	۳-۲-۴
۴۶ تأثیر شرایط فرآوری بر خواص فیزیکوشیمیایی ژلاتین پوست کوسه.....	۳-۴
۴۶ توزیع وزن ملکولی و الگوی الکتروفورز.....	۱-۳-۴
۴۸ اثر شرایط مختلف استخراج بر بازده استخراج ژلاتین.....	۲-۳-۴
۵۲ اثر شرایط مختلف استخراج بر قدرت ژل ژلاتین.....	۳-۳-۴
۵۶ اثر شرایط مختلف استخراج بر نقطه ذوب ژلاتین.....	۴-۳-۴
۶۰ اثر شرایط مختلف استخراج بر ویسکوزیته ژلاتین.....	۵-۳-۴
۶۴ اثر شرایط مختلف استخراج بر میزان هیدروکسی پرولین.....	۶-۳-۴
۶۴ انتخاب تیمار بهینه.....	۷-۳-۴
فصل پنجم بحث، نتیجه گیری و پیشنهادات		
۶۶ توزیع وزن ملکولی و الگوی الکتروفورز.....	۱-۵
۶۷ بازده استخراج.....	۲-۵
۶۹ قدرت ژل.....	۳-۵
۷۱ نقطه ذوب.....	۴-۵
۷۳ ویسکوزیته.....	۵-۵
۷۵ میزان هیدروکسی پرولین.....	۶-۵
۷۶ انتخاب تیمار بهینه.....	۷-۵
۷۷ نتیجه‌گیری کلی.....	۸-۵
۷۸ آزمون فرضیات.....	۹-۵
۷۹ پیشنهادات.....	۱۰-۵
۸۰ فهرست منابع.....	۱۱-۵

فهرست جداول

صفحه	عنوان	جدول
۶ فرم‌های مختلف زنجیره‌های ژلاتین	۱-۱
۲۴ مواد شیمیایی مورد استفاده	۱-۳
۲۵ تجهیزات و دستگاه‌های مورد استفاده	۲-۳
۳۴ SDS-PAGE (۱۰٪) (جدا کننده)	۳-۳
۳۴ SDS-PAGE (۴/۵٪) (متراکم کننده)	۴-۳
۳۵ محلول‌های لازم جهت اجرای الکتروفورز و رنگ آمیزی ژل	۵-۳
۳۶ محدوده و مقادیر آزمایشی متغیرهای مستقل در طرح مرکب مرکزی جهت استخراج ژلاتین	۶-۳
۴۱ طرح مرکب مرکزی و پاسخ‌های متغیرهای وابسته به متغیرهای مستقل برای استخراج ژلاتین	۱-۴
۴۲ ضرایب معادله چند جمله‌ای برازش شده برای پاسخ‌های مختلف	۲-۴
۴۲ مدل سطح پاسخ شرایط استخراج ژلاتین از پوست کوسه چانه سفید	۳-۴
۴۳ آنالیز واریانس (ANOVA) اثر ساده متغیرها بر ویژگی‌های مورد آزمایش	۴-۴
۴۴ آنالیز واریانس (ANOVA) پاسخ متغیرهای وابسته	۵-۴
۴۵ آنالیز باقیمانده‌های مدل‌های رگرسیون	۶-۴
۴۵ ضرایب همبستگی میان متغیرهای فرآوری و توابع پاسخ در تولید ژلاتین	۷-۴
۶۴ شرایط متغیرهای مستقل و پاسخ‌ها در بهینه سازی تولید ژلاتین	۸-۴

فهرست اشکال

شکل	عنوان	صفحه
۱-۱	ساختار شیمیایی هیدروکسی پرولین، پرولین و گلايسين	۴
۲-۱	شکل رشته ای و اجزای ساختاری کلاژن.....	۵
۳-۱	توزیع میزان اسیدهای آمینه غالب در ژلاتین.....	۱۰
۴-۱	تبدیل زنجیره تصادفی به شبکه سه بعدی در طی تشکیل ژل.....	۱۲
۱-۳	کوسه چانه سفید (<i>Carcharhinus dussumieri</i>).....	۲۶
۲-۳	ورقه‌های خشک شده و بسته بندی شده ژلاتین پوست کوسه چانه سفید.....	۲۷
۳-۳	منحنی استاندارد آلومین سرم گاوی جهت تعیین میزان پروتئین به روش بیورت.....	۲۸
۴-۳	منحنی استاندارد تعیین میزان هیدروکسی پرولین.....	۳۰
۵-۳	دستگاه بافت سنج جهت اندازه‌گیری قدرت ژل.....	۳۱
۶-۳	ویسکومتر بروکفیلد جهت اندازه‌گیری ویسکوزیته ژلاتین.....	۳۲
۱-۴	الگوی الکتروفورز پروتئین‌های ژلاتین پوست کوسه چانه سفید.....	۴۸
۲-۴	سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (ب) اثرات همزمان غلظت قلیا و اسید بر بازده استخراج.....	۵۰
۳-۴	سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (ب) اثرات همزمان غلظت قلیا و زمان بر بازده استخراج.....	۵۱
۴-۴	سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (ب) اثرات همزمان غلظت اسید و زمان بر بازده.....	۵۲
۵-۴	سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (ب) اثرات همزمان غلظت قلیا و زمان بر قدرت ژل.....	۵۳
۶-۴	سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (ب) اثرات همزمان غلظت اسید و زمان بر قدرت ژل.....	۵۵
۷-۴	سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (ب) اثرات همزمان غلظت قلیا و اسید بر قدرت ژل.....	۵۶
۸-۴	سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (ب) اثرات همزمان غلظت قلیا و زمان بر نقطه ذوب.....	۵۷
۹-۴	سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (ب) اثرات همزمان غلظت اسید و زمان بر نقطه ذوب.....	۵۸
۱۰-۴	سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (ب) اثرات همزمان غلظت اسید و قلیا بر نقطه ذوب.....	۵۹
۱۱-۴	سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (ب) اثرات همزمان غلظت قلیا و زمان بر ویسکوزیته.....	۶۱
۱۲-۴	سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (ب) اثرات همزمان غلظت اسید و زمان بر ویسکوزیته.....	۶۲
۱۳-۴	سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (الف) اثرات همزمان غلظت قلیا و اسید بر ویسکوزیته.....	۶۳



۱. مقدمه و کلیات

۱-۱- مقدمه

وجود نیازهای تغذیه‌ای بخصوص در کشورهای در حال توسعه و امکان تأمین آن از طریق منابع دریایی سبب گردیده است تا در دو دهه اخیر توجه خاصی به این منابع مبذول گردد. چنین امری ضرورت شناخت و بهره‌گیری بهینه از این منابع را به خوبی نمایان می‌سازد. سالانه مقادیر زیادی ضایعات غنی از پروتئین از کارخانه‌های فرآوری غذاهای دریایی، بدون تلاش در بازیافت، دور ریخته می‌شوند. در واقع تقاضای بازار و اولویت بسیاری از مصرف‌کنندگان برای فیله‌های بدون پوست و استخوان و فرآورده‌های حاصل از آن سبب می‌گردد تا بخش قابل توجهی از ماهی به عنوان ضایعات، بدون مصرف باقی بماند (Wasswa و همکاران، ۲۰۰۷). این ضایعات حدود ۷۰-۸۵٪ از وزن کلی صید را شامل می‌شوند (Shahidi, ۱۹۹۴) که حدود ۳۰ درصد آن را پوست و استخوان با میزان بالای کلاژن تشکیل می‌دهند (Gómez-Guillén و همکاران، ۲۰۰۲). تحقیقات مختلفی جهت بررسی امکان بکارگیری فرآورده‌های جانبی ماهیان گوناگون انجام شده است که در نتیجه آنها بسیاری از ترکیب‌های با ارزش به ویژه پروتئین و از جمله ژلاتین را می‌توان از فرآورده‌های جانبی حاصل از فرآوری ماهی جداسازی کرد. ژلاتین یکی از پرمصرف‌ترین مواد پروتئینی کلوئیدی در صنایع غذایی، دارویی، صنعتی، پزشکی و نظامی است (Senchiu و همکاران، ۲۰۰۶) که از دناتوراسیون حرارتی کلاژن، پروتئین عمده بافت پیوندی حیوانات، بدست می‌آید (Bailey و همکاران، ۱۹۹۸). ژلاتین را می‌توان از منابع گوناگون کلاژن تولید کرد. استخوان گاو، پوست گاو و پوست خوک منابع اصلی تجاری هستند (Wasswa و همکاران، ۲۰۰۷). گزارشات اخیر نشان می‌دهند که تولید جهانی سالانه ژلاتین حدود ۳۲۶۰۰۰ تن است که ژلاتین بدست آمده از پوست خوک با تولید حدود (۴۶٪)

بیشترین مقدار را داشته و به دنبال آن ژلاتین حاصل از پوست گاو (۲۹/۴٪) و استخوان گاو (۲۳/۱٪) و سایر منابع (۱/۵ درصد) قرار دارند (Karim و همکاران، ۲۰۰۹). اما در سال‌های اخیر با توجه به شیوع بیماری جنون گاوی و همچنین محدودیت ادیان اسلام و یهود در استفاده از فرآورده‌های حاصل از خوک و دام‌هایی که ذبح شرعی بر روی آنها صورت نگرفته، استفاده از پوست و استخوان آبریان به عنوان منبع تولید ژلاتین، مورد توجه بسیاری قرار گرفته است (Ladislaus و همکاران، ۲۰۰۷).

۱-۲- کلیات

۱-۲-۱- ژلاتین

ژلاتین یک مخلوط ناهمگن از پروتئین‌های محلول در آب با وزن ملکولی بالا و خواص عملکردی با ارزش می‌باشد (Senchiu و همکاران، ۲۰۰۶) که از دناتوراسیون حرارتی کلاژن، پروتئین عمده بافت پیوندی حیوانات، بدست می‌آید (Bailey و همکاران، ۱۹۹۸).

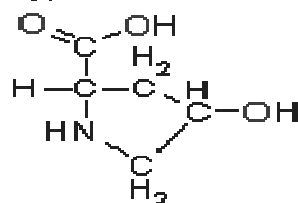
انسان بیش از دو هزار سال پیش از بافت پیوندی حیوانات و فرآورده‌های حاصل از آن به دلیل خاصیت ژله‌کنندگی و چسبندگی آن در مواد غذایی و امور دیگر استفاده می‌کرد (Poppe، ۱۹۹۲). اگرچه ژلاتین از زمان‌های قدیم شناخته شده و به نام چسب استخوان معروف بود، ولی برای اولین بار در سال ۱۶۸۱ پاپن آن را به کمک دیگ معروف خود که پیش‌تاز اتوکلاوهای امروزی بود، تهیه نمود. نام ژلاتین از ریشه لاتین ژلاتوس به معنی سفت، محکم و منجمد گرفته شده است. ژلاتین در کتاب دستور داروسازی آمریکا (USP) به عنوان فرآورده‌ای تعریف شده است که از هیدرولیز جزئی کلاژن پوست، غضروف و استخوان حیوانات بدست می‌آید. در صنایع غذایی، ژلاتین یکی از پلیمرهای محلول در آب بوده که به عنوان عامل ژله‌ای‌کننده، تغلیظ‌کننده و تثبیت‌کننده کاربرد دارد. ژلاتین‌های تجاری حاوی تقریباً ۸۸٪ پروتئین، ۱۰ درصد رطوبت و ۲-۱٪ خاکستر می‌باشند (Kittiphattanabawon و همکاران، ۲۰۱۰ a).

ژلاتین تنها هیدروکلوئید پروتئینی می‌باشد، درحالی‌که عوامل ایجادکننده ژل قابل رقابت با ژلاتین نظیر نشاسته، آلژینات، پکتین، آگار و کاراجینان همگی کربوهیدرات‌های حاصل از منابع گیاهی هستند. این ترکیبات کربوهیدراتی به دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد ژلاتین، نمی‌توانند به عنوان جایگزین آن به کار روند (Wolfenbarger و همکاران، ۱۹۹۴).

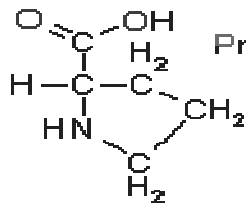
۱-۲-۲- کلاژن

کلاژن فراوان‌ترین پروتئین با منشأ حیوانی بوده و مهم‌ترین ترکیب ساختمانی بافت پیوندی است و در تمام بافت‌ها و اعضا وجود دارد. تقریباً ۳۰ درصد کل پروتئین‌های حیوانی را تشکیل می‌دهد و در زیر میکروسکوپ به صورت فیبرهای سفید ماتی به نظر می‌رسد که به وسیله سایر پروتئین‌ها و موکوپلی ساکاریدها احاطه شده است. فرمول بسته کلاژن به صورت $C_{102}H_{149}N_{31}O_{38}$ می‌باشد (Shreve و همکاران، ۱۹۷۷). کلاژن با مقدار بالای اسیدهای آمینه گلیسین، پرولین و هیدروکسی پرولین (شکل ۱-۱) مشخص می‌شود. هیدروکسی پرولین که ۴-۱۸ درصد کل اسیدهای آمینه را تشکیل می‌دهد، در مورد کلاژن یک اسید آمینه اختصاصی است.

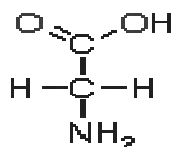
Hydroxyproline



Proline

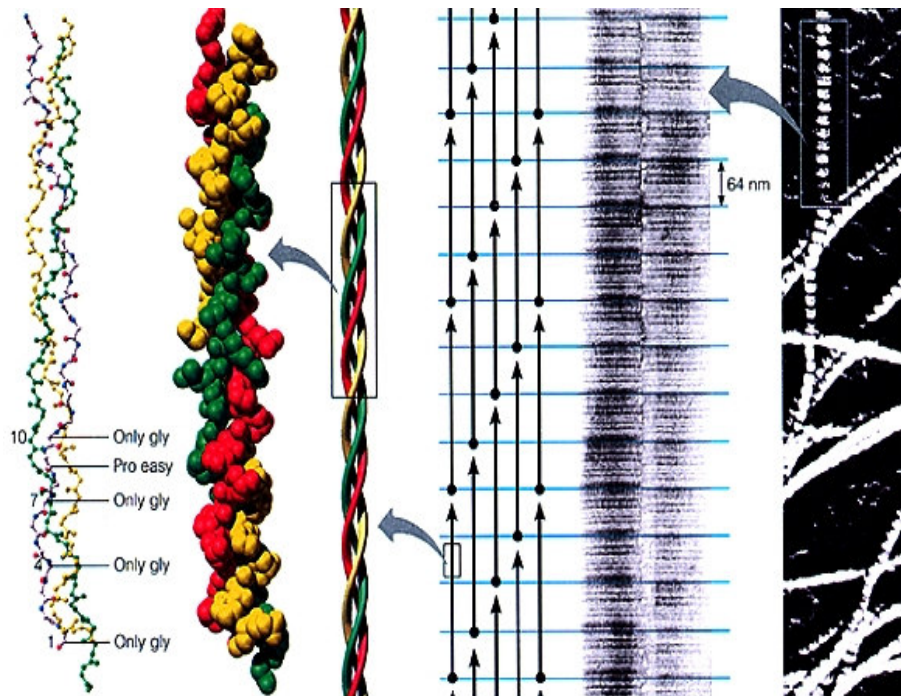


Glycine



شکل ۱-۱- ساختار شیمیایی هیدروکسی پرولین، پرولین و گلیسین

عنصر اصلی در ساختمان فضایی کلاژن، تروپوکلاژن است که از سه زنجیره درهم پیچیده تشکیل شده است (شکل ۱-۲) که با پیوندهای هیدروژنی به هم متصل می‌شوند. ترکیب‌های مختلف زنجیره‌های پلی پپتیدی سه تایی منجر به تشکیل انواع مختلف مولکول‌های تروپوکلاژن می‌شود. مولکول‌های تروپوکلاژن با پیوند شیمیایی به هم ربط پیدا می‌کنند و فیبریل‌ها را تشکیل می‌دهند. هر کدام از فیبریل‌ها با یک چهارم طول خود در راستای ملکول مجاورشان قرار گرفته و فیبرها را به وجود می‌آورند. این فیبرها با پیوند عرضی پایدار می‌شوند که این پیوند بین یک لیزین یا هیدروکسی لیزین و یک آلدئید مشتق از لیزین یا هیدروکسی لیزین بوجود می‌آید.



شکل ۱-۲- شکل رشته ای و اجزای ساختاری کلاژن

تا کنون ۲۷ نوع کلاژن شناسایی شده است. کلاژن نوع I به طور گسترده در بافت‌های پیوندی مثل پوست و استخوان پستانداران وجود دارد. کلاژن نوع II به طور ویژه در بافت‌های غضروفی وجود دارد و وجود کلاژن نوع III به شدت وابسته به سن است؛ پوست بسیار جوان حاوی بیش از ۵۰٪ کلاژن

نوع III است اما در اغلب موارد مقدار آن کمتر از ۵ تا ۱۰٪ می باشد. سایر انواع کلاژن‌ها به مقدار بسیار کم وجود داشته و معمولا مخصوص هر اندام هستند. (Schrieber و Gareis, ۲۰۰۷).

۱-۲-۳- تبدیل کلاژن به ژلاتین

پیچیدگی ساختمان کلاژن و تنوع روش‌های شیمیایی و آنزیمی در ساخت ژلاتین باعث تولید انواع مختلف ژلاتین می‌شود. ساده ترین راه برای تبدیل کلاژن به ژلاتین، دناتوراسیون حرارتی کلاژن است. در این شرایط فیبرها و فیبریل‌های کلاژن با از بین رفتن پیوندهای هیدروژنی و آب‌گریز که موجب پایداری ساختار مارپیچ کلاژن می‌گردند، به واحدهای تروپوکلاژن تجزیه می‌شوند. مرحله بعدی در تجزیه کلاژن، شکسته شدن پیوندهای درون ملکولی بین سه زنجیره مارپیچ کلاژن است. این آبکافت سه نتیجه احتمالی را در بر دارد:

- تشکیل سه زنجیره مستقل آلفا
 - تشکیل یک زنجیره بتا (دو زنجیره آلفا که با یک یا چند پیوند کووالان به هم متصل شده اند) و یک زنجیره مستقل آلفا
 - تشکیل یک زنجیره گاما (سه زنجیره آلفا که با پیوندهای کووالان به هم متصل شده اند).
- در اثر شکسته شدن متفاوت پیوندهای کلاژن در زمان تولید ژلاتین، ژلاتین حاصل شامل پروتئین‌هایی با وزن ملکولی متفاوت می‌باشد. تفاوت اصلی میان فرم‌های آلفا، بتا و گامای ژلاتین در وزن ملکولی آنهاست که در جدول ۱-۱ نشان داده شده است.

جدول ۱-۱- فرم‌های مختلف زنجیره‌های ژلاتین

وزن ملکولی (کیلو دالتون)	نوع زنجیره
۸۰ - ۱۲۵	α
۱۶۰ - ۲۵۰	β
۲۴۰ - ۳۷۵	γ

در حین تبدیل کلاژن به ژلاتین، بسیاری از باندهای غیر کووالانسی به همراه برخی از اتصالات کووالانسی بین و خارج ملکولی و تعداد اندکی از باندهای پپتیدی، شکسته می‌شوند. این تغییرات دناتوراسیون ملکول کلاژن را تشکیل داده و در نتیجه ساختار مارپیچی کلاژن به فرم بی شکل آن که ژلاتین نام دارد، تبدیل می‌شود (Foegeding و همکاران، ۱۹۹۶). هرچه فرآیند استخراج شدیدتر باشد، شدت هیدرولیز اتصالات پپتیدی و در نتیجه میزان پپتیدهای با وزن ملکولی کمتر از آلفا افزایش می‌یابد.

۱-۲-۴- تولید ژلاتین

تولید ژلاتین تخریب ساختار دوم و سوم و تا حدودی ساختار اول ملکول کلاژن می‌باشد و میزان تجزیه بستگی به شرایط پیش فرآوری و شدت فرآیند استخراج دارد (Bosch و Gielens، ۲۰۰۳).
تبدیل کلاژن به ژلاتین از دو مرحله اصلی تشکیل می‌شود که عبارتند از :

- فرآیند پیش فرآوری
- فرآیند استخراج

۱-۲-۴-۱- فرآیند پیش فرآوری

در تولید ژلاتین، فرآیند پیش فرآوری، برای تبدیل کلاژن بافت به شکل مناسب برای استخراج لازم است. ماهیت و میزان کلاژن بطور معنی‌داری از یک بافت تا نوع دیگر و نیز بر اساس نوع جانور تغییر می‌کند (Giménez و همکاران، ۲۰۰۵a). درجه اتصال عرضی در ساختار کلاژن فاکتور کلیدی در تصمیم‌گیری درمورد فرآیند پیش‌تیمار لازم در تولید ژلاتین است و به فاکتورهایی از قبیل نوع کلاژن، بافت، گونه حیوانی، سن و بستگی دارد. در حال حاضر به منظور تبدیل کلاژن نامحلول به ژلاتین محلول، دو فرآیند به صورت تجاری وجود دارد:

۱-۲-۴-۱-۱- فرآیند اسیدی (ژلاتین نوع A)

فرآیند اسیدی برای استخوان احشام جوان و پوست خوک با پیوند عرضی کمتر و پوست ماهی به عنوان منبع کلاژن بسیار محلول و دارای میزان پایین اتصالات عرضی بین زنجیره‌ای و خارج زنجیره‌ای، مناسب است (Montero و همکاران، ۱۹۹۰). فرآیند پیش تیمار به منظور تبدیل کلاژن به شکل مناسب برای استخراج طراحی می‌شود. جهت جدا شدن زنجیره‌های آلفا لازم است اتصالات عرضی کووالانسی به اندازه کافی شکسته شوند. این فرآیند همچنین به منظور حذف مواد آلی مانند پروتئوگلیکون، خون، موسین، مواد قندی و ... که در ماده اولیه وجود دارند طراحی شده است. عمدتاً اسید سولفوریک و اسید کلریدریک به همراه اسید فسفریک استفاده می‌شود (Johnston-Banks، ۱۹۹۰). ژلاتین نوع A نقطه ایزوالکتریک بین ۹/۴ - ۷ دارد.

۱-۲-۴-۲-۱- فرآیند قلیایی (ژلاتین نوع B)

عمدتاً از پوست گاو و منابع کلاژن حاصل از لاشه حیوانات نسبتاً مسن تولید می‌شود و منجر به ایجاد انواع مختلف وزن ملکولی می‌شود. آب آهک اشباع متداول‌ترین منبع مورد استفاده است. هدف اصلی از فرآیند قلیایی صرف نظر از حذف مواد چرب، پروتئین‌های ظریف، موکوپلی ساکاریدها و دیگر ترکیبات آلی، از بین بردن پیوندهای عرضی است که هنوز در کلاژن وجود دارند و به این ترتیب موجب محلول شدن کلاژن می‌شود. نقطه ایزوالکتریک ژلاتین نوع B بین ۵/۳ - ۴/۵ خواهد بود.

۱-۲-۴-۲-۱- استخراج

فرآیند استخراج برای تمامی مواد اولیه‌ای که مرحله پیش فرآوری را پشت سر گذاشته‌اند شبیه به هم بوده و در پنج مرحله اصلی صورت می‌گیرد:

الف- شستشو ب- استخراج ج- خالص‌سازی د- تغلیظ ه- خشک کردن