

بهینه‌سازی شرایط پیش‌فراوری تولید ژلاتین از پوست مرغ به روش سطح پاسخ

فاطمه یزدانی^۱، زینب رفتنی امیری^{۲*}، هدی شهیری طبرستانی^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

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

۳- استادیار، گروه شیمی مواد غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ دریافت: ۹۶/۸/۲۰، تاریخ آخرین بازنگری: ۹۶/۱۰/۴، تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۷)

چکیده

هدف از پژوهش حاضر بهینه‌سازی شرایط پیش‌فراوری شیمیایی قلیایی-اسیدی پوست مرغ جهت استخراج ژلاتین بود. اثر غلظت‌های مختلف سود و اسید کلریدریک هر یک در سه سطح ۰/۰۵، ۰/۵۳ و ۱ N به‌عنوان متغیرهای مستقل بر فاکتورهای پاسخ شامل بازده استخراج، گرانروی، قدرت ژل و نقطه ذوب با استفاده از طرح مرکب مرکزی ثابت روش سطح پاسخ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد پارامترهای قدرت ژل و نقطه ذوب تحت تأثیر همزمان غلظت سود و اسید قرار گرفته است. در حالی که پارامتر بازده استخراج تنها به غلظت سود و گرانروی به غلظت اسید وابسته بوده است. غلظت سود ۱ N و اسید کلریدریک ۰/۰۵ N به‌عنوان شرایط بهینه مشترک پیش‌فراوری در تولید ژلاتین از پوست مرغ پیش‌بینی شدند. در این حالت مقادیر بازده استخراج ۳/۸ درصد، گرانروی ۸۱/۴ cP، قدرت ژل ۴۸۵/۴ g و نقطه ذوب ۴۲/۸ °C به‌دست آمد.

واژه‌های کلیدی: پیش‌فراوری، ژلاتین، پوست مرغ، سطح پاسخ، بهینه‌سازی.

۱- مقدمه

تولید گوشت مرغ در سال ۲۰۱۶، ۱۱۵ میلیون تن بوده است و بر اساس نظر سازمان غذا و کشاورزی جهانی (فائو) انتظار می‌رود این میزان تا سال ۲۰۲۵ میلادی به ۱۳۱ میلیون تن برسد. مصرف گوشت طیور نیز، که در حال حاضر تقریباً ۱۱۵ میلیون تن است، با توجه به افزایش رشد تولید تا سال ۲۰۲۵ افزایش خواهد یافت. در حال حاضر کشور ایران از نظر تولید گوشت مرغ در جهان در جایگاه هفتم قرار دارد. مصرف سرانه گوشت مرغ در ایران نزدیک به ۲۵ Kg می‌باشد در حالی که این رقم در جهان به حدود ۱۵ Kg می‌رسد. در جریان کشتارگاه و فرآوری مرغ، امعا و احشا، خون، استخوان، سر، پا و پوست حاصل می‌شوند. هر لاشه مرغ شامل تقریباً ۱۵٪ پوست است که به‌طور معمول در صنعت ماکیان یا مغازه‌های خرده فروشی مرغ در صنعت غذا مورد استفاده قرار نمی‌گیرد [۱]. از این رو با تولید ژلاتین به‌عنوان روش موفق فرآوری ضایعات کم مصرف می‌توان ضمن مدیریت ضایعات و صرفه اقتصادی، فرآورده تکنولوژیکی جدید با ارزش افزوده بالا ایجاد و از مشکلات زیست محیطی جلوگیری نمود. هم‌چنین استفاده از ژلاتین حاصل از ضایعات صنعت مرغداری در مقایسه با منابع تجاری متداول از جمله پوست و استخوان خوک، منابع گاوی و منابع دریایی به‌دلیل مشکلات مذهبی فرهنگی، خطر انتقال بیماری جنون گاوی و تداوم بوی باقی‌مانده ژلاتین از منابع دریایی می‌تواند جالب توجه باشد [۲].

ژلاتین به‌عنوان یک هیدروکلوئید پروتئینی از خواص کارکردی و شیمیایی و نیز کاربردهای تکنولوژیکی متنوعی برخوردار است. هیدروکلوئیدها باعث افزایش گرانیروی محصولات غذایی شده و با توجه به قدرتشان می‌توانند ساختار و بافت مواد غذایی را بهبود دهند. هم‌چنین دارای خواص دیگری از قبیل توانایی ایجاد و تثبیت امولسیون‌ها، جلوگیری از کریستاله‌شدن، چسبندگی، تصفیه نوشیدنی‌ها و تشکیل فیلم و کف می‌باشند [۳]. علاوه بر این می‌توانند با افزایش محتوای آبی یا جایگزینی بخشی از قند و چربی به‌طور معمول برای کاهش کالری مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرند. از جمله کاربردهای ژلاتین در محصولات مختلف می‌توان به پایدارکنندگی و غلیظ‌کنندگی در ماست و دوغ، جلوگیری

از کریستالیزاسیون در بستنی، پوشش پروتئینی برای افزایش ماندگاری گوشت، خاصیت ژله‌ای کننده و کف‌کنندگی در محصولات قنادی، شفاف‌سازی و پایدارسازی آب‌میوه‌ها اشاره کرد [۳]. در این رابطه فیزمن و همکاران نشان دادند با اضافه کردن ژلاتین با قدرت تشکیل ژل بالا به ماست سبب افزایش استحکام فرآورده تا نه برابر و کاهش آب اندازی آن می‌شود [۴]. در تحقیقات مختلف، ژلاتین پوست مرغ به‌عنوان جایگزین مناسب برای ژلاتین‌های تجاری بررسی شده است، از جمله رفیعیان و همکاران به‌منظور بهینه‌سازی استخراج ژلاتین، تاثیر متغیرهای غلظت اسیدکلریدریک، دما و زمان استخراج را بر بازده استخراج، گرانیروی و رنگ ژلاتین بررسی کردند. در شرایط دمای ۸۶/۸ °C، زمان ۱/۹۵ h غلظت اسید کلریدریک ۶/۷۳٪ ژلاتین با کیفیت مطلوب حاصل شد. این محققین به بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی ژلاتین حاصل از ضایعات مرغ و مقایسه آن با ژلاتین تجاری گاو پرداختند و بیان کردند ژلاتین حاصل میزان خاکستر، بلوم، گرانیروی، ظرفیت نگه‌داری آب، کف‌کنندگی و پایداری کف بیشتری از ژلاتین تجاری داشت [۵].

هیون ووک و همکاران با بررسی اثر pH شست‌وشو در محدوده ۱-۱۳ و دمای استخراج ۷۵ و ۱۰۰ °C بر خواص فیزیکوشیمیایی ژلاتین پوست مرغ، نشان دادند که محتوای پروتئینی ژلاتین و بازده در pHهای قلیایی نسبت به pHهای اسیدی دارای مقادیر بالاتری بوده است و هم‌چنین افزایش دما باعث افزایش میزان بازده و محتوای پروتئینی شد [۶].

ساربون و همکاران نشان دادند ژلاتین استخراج شده از پوست مرغ با پیش تیمار قلیایی ۱۵ درصد وزنی/حجمی به مدت ۴۰ min و سپس پیش تیمار اسیدی با اسید سولفوریک ۱۵ درصد حجمی/حجمی و اسید سیتریک ۰/۷ درصد وزنی/حجمی قدرت ژل بالاتر و خواص بهتری دارد و می‌تواند به‌عنوان جایگزین ژلاتین تجاری گاوی مورد استفاده قرار گیرد [۷].

موناسینژ و همکاران با استفاده از پیش‌فرایند اسیدی (با اسید استیک، اسید سیتریک)، پیش‌فرایند قلیایی و پیش‌فرایند ترکیبی اسید و پپسین به استخراج ژلاتین از پوست و استخوان مرغ پرداختند. تیمار ترکیبی اسید استیک و پپسین دارای بازده $0.27 \pm 3/68$ و خلوص $18/16 \pm 72/19$ درصد بالاتری

ابتدا نمونه‌های پوست برای حذف مواد خارجی شست‌وشو داده شدند بعد از آن جهت حذف چربی‌ها و پروتئین‌های غیرکلژنی پوست، پیش‌فرایند قلیایی با سود در سه سطح ۰/۵۳، ۰/۰۵ و ۱ N با نسبت ۱:۳ وزنی/ حجمی به مدت یک ساعت و در سه بازه زمانی ۲۰ min انجام گرفت. در پایان پیش‌فراوری قلیایی به منظور خنثی سازی pH پوست، شست‌وشو با آب سرد صورت گرفت پس از آن جهت حذف مواد معدنی و املاح پوست، پیش تیمار اسیدی با اسید کلریدریک در سه سطح ۰/۵۳، ۰/۰۵ و ۱ N با نسبت ۱:۳ وزنی/ حجمی به مدت یک ساعت و در سه بازه زمانی ۲۰ دقیقه‌ای انجام گرفت و نمونه‌ها تا خنثی سازی pH پوست شست‌وشو شدند. پس از شست‌وشوی نهایی، پوست‌های پیش تیمار یافته در آب مقطر به نسبت حجمی/ وزنی ۱:۴ در دمای ۵۵ °C به مدت ۳ h در حمام آبی مدل دبلویو بی ۱۴ شرکت ممرت ساخت کشور آلمان استخراج و با عبور از پارچه صافی سه لایه، ژلاتین از پوست جدا و صاف گردید و بعد از جداسازی چربی سطحی از محلول ژلاتین (به کمک یخ به صورت دستی) نمونه‌های محلول در آن هوای داغ مدل یو ال ام ۴۰۰ شرکت ممرت ساخت کشور آلمان در دمای ۴۵ °C به مدت ۲۸ h خشک و با دستگاه آسیاب مدل ام کی ام ۶۰۰۰ شرکت بوش ساخت کشور اسلوانیا به پودر تبدیل شدند. پودر ژلاتین به صورت بسته‌بندی شده در فریزر تا زمان آزمون نگهداری شد.

۲-۲-۳- تعیین بازده استخراج ژلاتین

بازده استخراج ژلاتین (بر حسب درصد) مطابق رابطه (۱) محاسبه شد [۱۰].

(۱) = بازده استخراج

۱۰۰ × (وزن اولیه پوست مرطوب / وزن پودر خشک ژلاتین)

۲-۲-۴- اندازه‌گیری گرانروی

اندازه‌گیری گرانروی ژلاتین با استفاده از دستگاه ویسکومتر مجهز به سیرکولاتور حرارتی مدل ال وی شرکت بروکفیلد ساخت کشور آمریکا انجام شد. محلول ۶/۶۷ درصد وزنی/حجمی

نسبت به بقیه تیمارها بود [۸].

با توجه به مطالب بیان شده در این پژوهش به منظور استفاده بهینه از ضایعات مرغ و تولید ژلاتین از پوست مرغ، شرایط مختلف پیش فرایند ترکیبی سود و اسید کلریدریک بر کیفیت ژلاتین پوست مرغ بررسی شد. با استفاده از روش سطح پاسخ و مقادیر پارامترهای قدرت ژل، نقطه ذوب، گرانروی و بازده استخراج و بر مبنای شرایط بهینه پیش‌فراوری پیش‌بینی شدند.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد اولیه

در این پژوهش پوست مرغ از مرغ فروشی شهرستان آمل خریداری شد. مواد شیمیایی از قبیل اسید کلریدریک با درجه خلوص ۳۷٪، سود، متیل رد و کلروفرم از شرکت مرک کشور آلمان تهیه شد و حلال‌های مورد استفاده در آزمایش همگی از درجه خلوص بالایی برخوردار بودند.

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- آماده‌سازی پوست مرغ

پوست مرغ خریداری شده در کیسه‌های پلاستیکی بسته‌بندی شد و در مجاورت یخ به آزمایشگاه در حدود یک ساعت منتقل گردید. بلافاصله در آزمایشگاه بقایای گوشت چسبیده به پوست به صورت دستی جدا شد و برای حذف خون و مواد زائد با آب سرد در دمای ۴ °C شست‌وشو و سپس به قطعات ۲-۴ cm² خرد شد و در فریزر ۱۷ °C - نگهداری شد. در زمان استخراج ژلاتین، نمونه‌های پوست در طول شب در یخچال یخ‌زدایی شدند.

۲-۲-۲- استخراج ژلاتین

استخراج ژلاتین با روش شهیری طبرستانی و همکاران با اندکی تغییر در پارامترهای پیش فرایند انجام گرفت. نوع و غلظت متغیرهای مستقل شامل غلظت سود و غلظت اسیدکلریدریک با آزمایشات اولیه تعیین گردید [۹]. برای تعیین کمینه و بیشینه سطوح غلظت سود و اسید چندین دامنه مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت دامنه مناسب انتخاب

ژلاتین تا انحلال کامل در حمام آب 45°C قرار داده شد. این مخلوط به ظرف مخصوص ویسکومتر که به حمام آب 60°C متصل است انتقال داده شد و گرانیروی محلول با استفاده از اسپیندل شماره ۲ و میزان دور 100 rpm بر حسب cP اندازه‌گیری شد [۹].

آب با کمک یخ به 4°C رسانده شد و سپس حمام آبی روشن و دما در هر دقیقه 0.2°C افزایش یافت با افزایش دما تا نقطه ذوب ژلاتین، قطره کلروفوم به پایین لوله سقوط می‌کند که به دلیل وجود متیل رد قابل رویت خواهد بود. دمایی که اولین قطره کلروفوم به کف سقوط نمود به‌عنوان نقطه ذوب گزارش گردید.

۲-۲-۵- تعیین استحکام ژل ژلاتین

پودر ژلاتین در آب مقطر به نسبت $6/67$ درصد وزنی/حجمی مخلوط و تا حل شدن کامل ژلاتین در دمای 60°C حرارت داده شد. مخلوط حاصل پس از خنک شدن تا دمای اتاق، به مدت 17 h در دمای 7°C قرار گرفت. بعد از طی دوره رسیدگی در دمای پایین، استحکام ژل با مدل بافت‌سنج پرو سی تی ۳ شرکت بروکفیلد ساخت کشور آمریکا و با استفاده از پلانجر استوانه‌ای با قطر $12/7\text{ mm}$ تحت بار سل 5 KN ، سرعت نفوذ 1 mm/s و عمق نفوذ 4 mm اندازه‌گیری شد. بیش‌ترین نیرو بر حسب گرم به‌عنوان بلوم گزارش شد [۳].

در این پژوهش بهینه‌سازی استخراج ژلاتین با دو متغیر مستقل شامل غلظت سود و غلظت اسید کلریدریک در ۳ سطح، ۵ تکرار در نقطه مرکزی و در قالب طرح ثابت مرکب مرکزی (FCCD). (آلفا = یک) با نرم افزار Design Expert (نسخه 7.0.0) صورت گرفت و بازده استخراج، گرانیروی، بلوم و نقطه ذوب نیز به‌عنوان متغیر وابسته برای ترکیبی از متغیرهای مستقل انتخاب شدند. در جدول (۱) متغیرهای مستقل، سطوح کدبندی شده و واقعی آورده شده است.

۲-۲-۴- بهینه سازی مشترک و تأیید مدل

برای به‌دست آوردن شرایط بهینه مشترک تولید ژلاتین از پوست مرغ غلظت‌های سود و اسید کلریدریک، در محدوده مورد مطالعه و متغیرهای پاسخ در بیشینه مقدار خود تنظیم شدند و به‌منظور تأیید آماری صحت پیش‌گویی مدل‌های رگرسیونی، نمونه بهینه با غلظت‌های پیشنهادی در آزمایشگاه تولید شد و به منظور تعیین اختلاف بین مقادیر پیش‌بینی شده و مقادیر واقعی در پاسخ‌های مربوطه از آزمون t-student و نرم افزار SPSS16.0 استفاده شد.

۲-۲-۶- اندازه‌گیری نقطه ذوب

نقطه ذوب ژلاتین با روش BS755 (BSI, 1975) اندازه‌گیری شد [۱۱]. برای اندازه‌گیری نقطه ذوب، محلول ژلاتین در غلظت $6/67$ درصد وزنی/حجمی تهیه و سپس حدود 4 ml از محلول به داخل لوله آزمایش ریخته شد، لوله‌های آزمایش به مدت $12-18\text{ h}$ در دمای یخچال $4-6^{\circ}\text{C}$ قرار داده شدند. سپس دو تا سه قطره محلول $0/5$ درصد وزنی/حجمی متیل رد-کلروفوم به نمونه‌ها اضافه و نمونه‌ها داخل حمام آبی گذاشته شدند. دمای اولیه آب

جدول (۱) مقادیر آزمایشی متغیرهای مستقل در طرح مرکب مرکزی برای بهینه‌سازی استخراج ژلاتین
Table 1 The experimental values of independent variables in the central composite design for optimizing gelatin extraction

محدوده و سطوح Range and levels			
-1	0	+1	متغیرهای مستقل کدگذاری شده Encoded independent variables
0.05	0.53	1	غلظت سود (N) Concentration of NaOH (N)
0.05	0.53	1	غلظت اسید کلریدریک (N) Concentration of chloride acid(N)

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بهینه‌سازی سطح پاسخ

عملی می‌باشد. در پاسخ‌های بازده استخراج، گرانیوی، قدرت ژل و نقطه ذوب به ترتیب، ۳/۶۴، ۱۵/۶۹، ۸/۷۹، ۹/۴۶ بوده است. در روش بهینه‌سازی سطح پاسخ آن‌چه در نهایت تعیین می‌شود شرایط بهینه است (جدول ۳).

به‌منظور تعیین معادلات چند جمله‌ای سطح پاسخ برآزش شده، تمام ضرایب فاقد معنی ($p < 0.05$) حذف شدند و ضرایب معنی‌دار مورد استفاده قرار گرفتند. طبق ضرایب موجود در جدول اثر خطی غلظت اسید بر نقطه ذوب، قدرت ژل و گرانیوی چندین برابر اثر ساده غلظت سود بر این ویژگی‌ها می‌باشد، بنابراین غلظت اسید تأثیر بیشتری بر پارامترهای مذکور داشته است. در ارتباط با بازده استخراج اثر ساده غلظت سود بیش‌تر از اثر اسید می‌باشد.

۳-۲- اثر پیش‌فرآوری غلظت سود و اسید کلریدریک بر بازده استخراج ژلاتین پوست مرغ

بازده استخراج تیمارهای مختلف از ۳/۳۱ تا ۴/۵۶ درصد متغیر بود میزان بازده ژلاتین بر اساس وزن خشک ژلاتین به وزن مرطوب پوست مرغ اولیه در این تحقیق بیش‌تر از یافته‌های ساربون و همکاران با مقدار ۲/۱۶ درصد [۷] و نزدیک به مقدار

نتایج به‌دست آمده از ترکیب متغیرهای مستقل و نتایج آزمون‌های کیفی ژلاتین به‌صورت پاسخ در طرح مرکب مرکزی در جدول (۲) نشان داده شده است. تمامی ضرایب ساده X_1 ، X_2 ، درجه دوم X_{11} ، X_{22} ، و اثرات متقابل آن‌ها X_{12} جهت بررسی معنی‌داری هر یک از متغیرهای غلظت سود و غلظت اسید بر ویژگی‌های ژلاتین در جدول (۳) نشان داده شده است. آزمون عدم برآزش برای هیچ‌یک از آزمون‌های اندازه‌گیری شده معنی‌دار نبود ($p < 0.05$). این مسئله بیانگر تناسب مدل‌های انتخابی در نمایش روند داده‌ها است مقادیر ضریب تبیین R^2 نیز نشانگر این است که مدل به‌دست آمده برای هر پاسخ چند درصد از تغییرات را می‌تواند تشریح نماید که هر چه این مقدار به ۱ نزدیک‌تر باشد مدل بهتر پاسخ را پیش‌بینی می‌کند و بالا بودن R^2 نشان دهنده صحت مدل می‌باشد. مدل رگرسیون بازده، گرانیوی، بلوم و نقطه ذوب به ترتیب با ضریب تبیین ۰/۹۲۴، ۰/۹۱۱، ۰/۹۸ و ۰/۸۶ به تأیید رسیدند. ضریب تغییرات CV نشان دهنده قابلیت پراکندگی داده‌ها می‌باشد که مقادیر کم آن نشان از قابلیت اعتماد به آزمایش‌ها و کارهای

جدول (۲) مقادیر سطوح واقعی فاکتورها و نتایج حاصل از آزمایش‌های ژلاتین استخراج شده از پوست مرغ

Table 2 Actual levels of factors and results from gelatin experiments extracted from chicken skin

پاسخ‌ها				سطوح واقعی		تیمار
Response				Real levels		Treatment
Y_4	Y_3	Y_2	Y_1	X_2	X_1	
36.75	105	34.2	4.65	0.53	0.53	1
37.6	138	37.5	4.48	0.53	0.53	2
40	391	58	3.31	1	0.05	3
44.3	492	74	3.38	0.05	0.05	4
33.35	160	41.2	4.43	0.53	1	5
42.1	485	49.2	4.05	0.05	0.53	6
42.7	463	85.2	3.8	0.05	1	7
33.8	110	30.5	4.56	0.53	0.53	8
32.15	262	35	4.41	1	1	9
31.35	135	35.1	4.34	0.53	0.53	10
33.95	118	27.3	4.24	0.53	0.53	11
30.3	270.15	30.1	4.29	1	0.53	12
40.15	208	38.7	4.02	0.53	0.05	13

X_1 : غلظت سود (N)، X_2 : غلظت اسید (N)، Y_1 : بازده استخراج (g)، Y_2 : گرانیوی (cP)، Y_3 : قدرت ژل (gr)، Y_4 : نقطه ذوب ($^{\circ}C$)

X_1 (concentration of NaOH, N), X_2 (Concentration of chloride acid, N), Y_1 (yield, g), Y_2 (viscosity, cP), Y_3 (gel strength, gr), Y_4 (melting point, $^{\circ}C$).

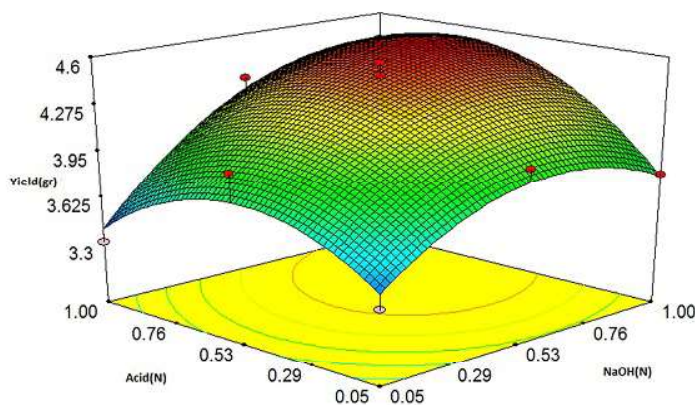
با مقادیر به ترتیب ۳/۶۸، ۳/۳۰، ۱/۹۹ درصد بوده است [۱۳]. نتایج تحقیق مونا سینژ و همکاران در استخراج ژلاتین از پوست مرغ با پیش فرایندهای اسیدی با استیک اسید، سیتریک اسید، پیش فرایند قلیایی و استفاده از پیش فرایند اسیدی و آنزیمی به ترتیب با داشتن مقادیر ۶/۱، ۶/۲، ۵، ۳۸/۷ درصد بیش تر از مقادیر به دست آمده در این پژوهش بوده است [۸]. مدل رگرسیون پیش بینی بازده استخراج ژلاتین از پوست مرغ قادر به توصیف ۹۲/۴ درصد تغییرات مشاهده شده در پاسخ بوده است (جدول ۳). اثر تغییر غلظت سود (A) و اسید (B) بر تغییرات بازده استخراج نشان می‌دهد (شکل ۱) که بازده استخراج با افزایش غلظت سود تا نقطه مرکزی غلظت ۰/۵۳ N افزایش پیدا می‌کند که این افزایش را می‌توان به هیدرولیز بیش تر مولکول‌های کلاژن نسبت داد. بازده ژلاتین در غلظت‌های میانی ۰/۵۳ تا ۰/۷۱ تقریباً ثابت بوده و در غلظت‌های بالای سود تا غلظت ۱ N میزان بازده کاهش پیدا کرده است که دلیل کاهش بازده در غلظت‌های بالاتر را می‌توان افزایش اتلاف کلاژن و پپتیدهای کوچک در آب شست‌وشو و مرحله پیش فرایند قلیایی دانست و هم‌چنین می‌توان به دناتوره شدن اجزای کلاژنی که در شرایط ایجاد شده برای استخراج به صورت محلول در نیامدند نسبت داد. نتایج این تغییرات با تحقیق عطاء صالحی و همکاران در استخراج ژلاتین از غضروف کوسه ماهی چانه سفید [۱۴] و هم‌چنین هیون ووک کیم و همکاران در استخراج ژلاتین از پوست مرغ مطابقت دارد [۶]. هم‌چنین با افزایش غلظت اسید تا ۰/۴۸ N بازده به بیش‌ترین مقدار

عملی می‌باشد. در پاسخ‌های بازده استخراج، گرانیوی، قدرت ژل و نقطه ذوب به ترتیب، ۳/۶۴، ۱۵/۶۹، ۸/۷۹، ۹/۴۶ بوده است. در روش بهینه‌سازی سطح پاسخ آن‌چه در نهایت تعیین می‌شود شرایط بهینه است (جدول ۳).

به‌منظور تعیین معادلات چند جمله‌ای سطح پاسخ برازش شده، تمام ضرایب فاقد معنی ($p < 0.05$) حذف شدند و ضرایب معنی‌دار مورد استفاده قرار گرفتند. طبق ضرایب موجود در جدول اثر خطی غلظت اسید بر نقطه ذوب، قدرت ژل و گرانیوی چندین برابر اثر ساده غلظت سود بر این ویژگی‌ها می‌باشد، بنابراین غلظت اسید تأثیر بیش‌تری بر پارامترهای مذکور داشته است. در ارتباط با بازده استخراج اثر ساده غلظت سود بیش‌تر از اثر اسید می‌باشد.

۳-۲- اثر پیش‌فرآوری غلظت سود و اسید کلریدریک بر بازده استخراج ژلاتین پوست مرغ

بازده استخراج تیمارهای مختلف از ۳/۳۱ تا ۴/۵۶ درصد متغیر بود میزان بازده ژلاتین بر اساس وزن خشک ژلاتین به وزن مرطوب پوست مرغ اولیه در این تحقیق بیش‌تر از یافته‌های ساربون و همکاران با مقدار ۲/۱۶ درصد [۷] و نزدیک به مقدار به دست آمده در تحقیق رضایی زاده و همکاران از ژلاتین پای مرغ با مقدار ۴/۸۰ بود [۱۲]. هم‌چنین مقدار بازده به دست آمده در این تحقیق بیش‌تر از بازده ژلاتین استخراج شده از پوست مرغ در تحقیق چیاوی لین و همکاران با پیش فرایند اسید استیک، اسید لاکتیک و اسید سیتریک



شکل (۱) تاثیر غلظت سود و اسید بر بازده استخراج ژلاتین پوست مرغ

Fig 1. The effect of NaOH and acid concentration on the yield of chicken skin gelatin

جدول (۳) آنالیز واریانس رگرسیون یازده، گرانروی، قدرت ژل، نقطه ذوب

Table 3 Analysis of variance (ANOVA) for the response surface model of yield, viscosity, gel strength, melting point

منبع	درجه آزادی	Yield(g)		گرانروی (cP)		بلوم		نقطه ذوب		Sources
		مجموع مربعات	ضریب احتمال	مجموع مربعات	ضریب احتمال	مجموع مربعات	ضریب احتمال	مجموع مربعات	ضریب احتمال	
	DF	SS	PV	SS	PV	SS	PV	SS	PV	
مدل	5	1.94	0.0008	346.56	0.0015	2.691E+005	0.0001	229.22	0.0054	مدل
model										
A	1	0.62	0.0012	14.41	0.60	7072.67	0.0074	44.01	0.02	A
B	1	0.10	0.072	1212.68	0.0016	44522.32	0.0001	118.37	0.0018	B
A ²	1	0.29	0.0091	615.87	0.0019	5413.88	0.013	21.61	0.075	A ²
B ²	1	0.40	0.0042	591.37	0.01	1.562E+005	0.0001	13.95	0.137	B ²
AB	1	0.12	0.058	292.41	0.04	2500.00	0.06	9.77	0.20	AB
باقی مانده										
residual		0.16		338.47		3565.69		34.63		
عدم برازش										
Lack of fit		0.079	0.387	273.66	0.064	2694.89	0.10	9.42	0.703	
خطای خالص										
Pure error		0.080		64.81		870.80		25.21		
خطای کل اصلاح شده										
Cor total	13	2.10		3808.03		2.727E+005		263.85		
ضریب تبیین										
R ²		0.924		0.911		0.986		0.868		
ضریب تبیین تعدیل شده										
Adj_R ²		0.870		0.847		0.977		0.775		

جدول (۴) معادلات سطح پاسخ

Table 4 Response surface equations

پاسخ ها Responses	معادلات models
Y_1	$Y_1 = 3.31 + 1.78 A - 1.43 A^2 - 1.67 B^2$
Y_2	$Y_2 = 73.76 - 78.13 B - 37.89 AB + 66.18 A^2 + 64.85 B^2$
Y_3	$Y_3 = 573.75 - 220.14 A - 1230.06 B + 196.22 A^2 + 1054.17 B^2$
Y_4	$Y_4 = 46.63 - 15.08 A - 16.17 B$

Y_1 (بازده استخراج، گرم)، Y_2 (گرانروی، سانتی پواز)، Y_3 (قدرت ژل، گرم)، Y_4 (نقطه ذوب، درجه سانتی‌گراد)

Y_1 (yield, gr), Y_2 (viscosity, cP), Y_3 (gel strength, gr), Y_4 (melting point, °C)

اثرات غلظت قلیا و اسید نشان می‌دهد که با افزایش غلظت سود تا نقطه مرکزی ۰/۵۳ گرانروی کاهش پیدا می‌کند (شکل ۲). این موضوع می‌تواند به اثر قلیا بر باندهای پپتیدی و شکسته شدن کلاژن و کاهش وزن مولکولی در مولکول آن مرتبط باشد [۷]. در غلظت‌های بالاتر سود به خصوص غلظت‌های نزدیک به ۱ N گرانروی افزایش پیدا می‌کند. همچنین با افزایش اسید به دلیل هیدرولیز بیش‌تر زنجیره‌های ژلاتین و در نتیجه کاهش میزان زنجیره‌های با وزن مولکولی بالا در ژلاتین گرانروی کاهش یافته است (شکل ۲). نتایج حاصل از این تحقیق با گزارش اسماعیل زاده و همکاران در بررسی خواص ژلاتین حاصل از پوست ماهی فیتوفاک [۱۶] و همچنین لی‌هنگ نیو و همکاران در استخراج ژلاتین از پوست تیلاپیا در غلظت‌های بالای اسید سیتریک و هیدروکلریک اسید مطابقت دارد. این محققین کاهش گرانروی در استخراج ژلاتین از پوست تیلاپیا در غلظت‌های بالای اسید سیتریک و هیدروکلریک اسید را به کاهش زنجیره پروتئینی نسبت دادند [۱۷].

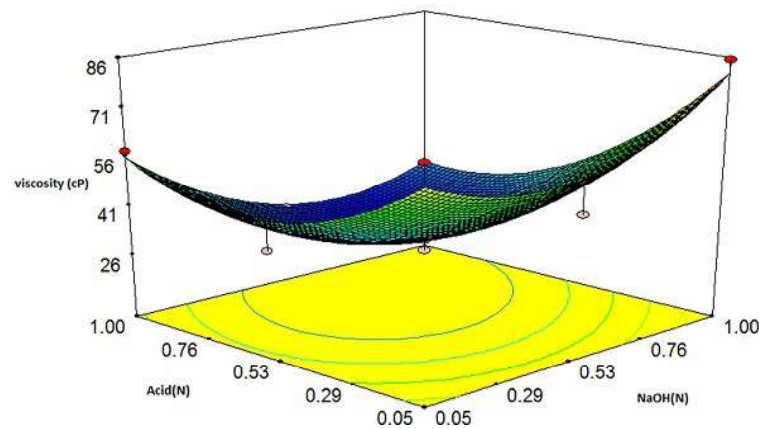
۳-۴- اثر پیش‌فرآوری غلظت سود و اسید کلریدریک بر قدرت ژل ژلاتین پوست مرغ

یکی از مهم‌ترین خواص فیزیکی ژلاتین قدرت ژل یا بلوم آن می‌باشد که کاربرد خاص آن در برخی مواد غذایی و دارویی را منعکس می‌کند. ژلاتین‌های تولیدی به روش ترکیبی قلیایی-اسیدی به‌طور قابل توجهی قدرت ژل بیش‌تری نسبت به ژلاتین اسیدی برخوردار هستند. هم‌چنین تفاوت قدرت ژل به ترکیب اسید آمینه و توزیع وزن مولکولی نیز بستگی

خود افزایش یافت. این افزایش را می‌توان به شکسته شدن پیوندهای عرضی و از بین رفتن باندهای هیدروژنی کلاژن نسبت داد که باعث استخراج بیش‌تر پروتئین می‌گردد. افزایش بازده استخراج تا غلظت‌های میانی و نقطه مرکزی نیز می‌تواند به دلیل تاثیر مثبت غلظت اسید و قلیا و رسانیدن pH مناسب برای استخراج و در نتیجه افزایش بازده باشد که نتیجه این پژوهش با عطاء صالحی و همکاران مطابقت دارد [۱۴].

۳-۳- اثر پیش‌فرآوری غلظت سود و اسید کلریدریک بر گرانروی ژلاتین پوست مرغ

گرانروی از خواص مهم فیزیکی و تجاری ژلاتین است که به توزیع و اندازه وزن مولکولی پروتئین، غلظت پروتئین، شرایط پیش‌فرآوری از قبیل pH و دما بستگی دارد که در روند تغییر گرانروی، پیوندهای هیدروژنی و زنجیره‌های پروتئینی با وزن مولکولی بالا نقش مهمی داشته و باعث افزایش آن می‌گردند [۱۵]. گرانروی ژلاتین تیمارهای مختلف در این پژوهش از ۳۰ cP تا ۸۵/۲ متغیر بوده که از مقادیر به‌دست آمده از اکثر ژلاتین‌های تجاری که تا ۱۳ cP می‌باشد بیش‌تر است [۷]. رفیعیان و همکاران گرانروی ژلاتین استخراج شده از ضایعات مرغ را ۵/۵ cP، که بسیار کم‌تر از نتایج این تحقیق می‌باشد را گزارش نمودند [۵]. مدل رگرسیون پیش‌بینی گرانروی ژلاتین پوست مرغ قادر به توصیف ۹۱/۱ درصد تغییرات مشاهده شده در پاسخ می‌باشد (جدول ۳). در مدل مربوط به گرانروی محلول ژلاتین مولفه‌های خطی غلظت اسید B و درجه دوم غلظت اسید B² و غلظت سود A² و اثر متقابل غلظت سود و اسید AB معنی‌دار شده است (p < ۰/۰۱). کانتورهای سه بعدی



شکل (۲) تاثیر غلظت سود و اسید بر گرانروی ژلاتین پوست مرغ

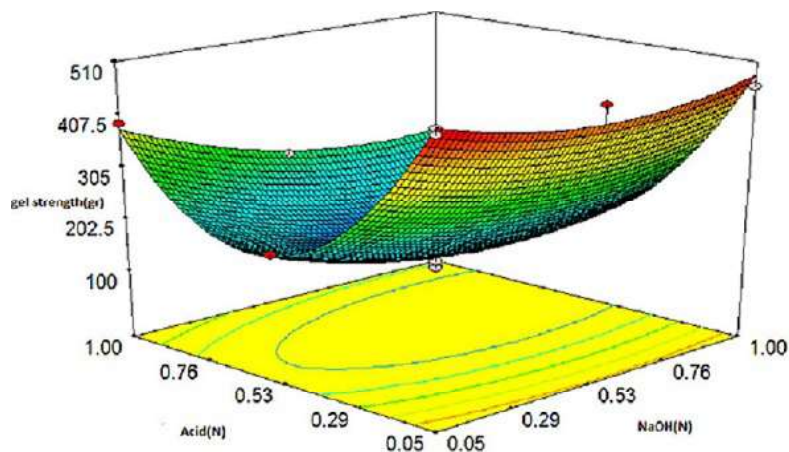
Fig 2. The effect of NaOH and acid concentration on the viscosity of chicken skin gelatin

۳-۵- اثر پیش‌فرآوری غلظت سود و اسید کلریدریک بر نقطه ذوب ژلاتین پوست مرغ

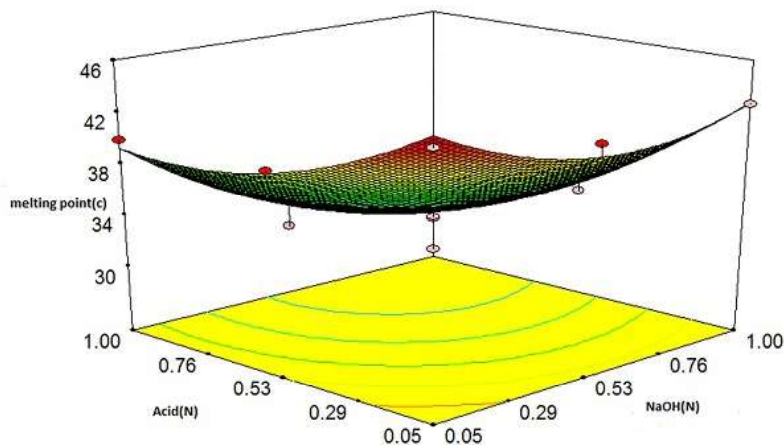
نقطه ذوب یکی از ویژگی‌های مهم ژلاتین می‌باشد و بالا بودن آن محدوده کاربرد ژلاتین به ویژه در فرآورده‌های غذایی را افزایش می‌دهد. در تحقیق حاضر نقطه ذوب تیمارهای مختلف از $30/3^{\circ}\text{C}$ تا $44/3^{\circ}\text{C}$ متغیر بوده است. نقطه ذوب بالای ژلاتین می‌تواند مرتبط با مقدار بالای ایمینو اسیدهای آن باشد [۱۹]. مدل رگرسیون پیش‌بینی نقطه ذوب ژلاتین از پوست مرغ در این پژوهش قادر به توصیف $86/8$ درصد تغییرات مشاهده شده در پاسخ می‌باشد (جدول ۳). در مدل مربوط به نقطه ذوب مدل خطی غلظت اسید و غلظت سود معنی‌دار شده است ($p < 0/01$). همچنین کانتورهای سه بعدی در تغییرات نقطه ذوب نشان می‌دهد (شکل ۴) که با افزایش غلظت سود تا نقطه مرکزی ($0/53\text{ N}$) نقطه ذوب کاهش و در غلظت بالا یک نرمال نقطه ذوب افزایش یافت. در این رابطه هیون ووک کیم و همکاران [۶] نیز مقدار نقطه ذوب ژلاتین استخراج شده از پوست مرغ را در محدوده $36/88$ تا $39/83^{\circ}\text{C}$ و تقریباً در مقادیر نزدیک به این پژوهش گزارش کردند و نشان دادند با افزایش قلیا در دمای ثابت نقطه ذوب ژلاتین پوست مرغ کاهش یافته است.

همچنین با افزایش غلظت اسید نقطه ذوب روند کاهشی داشته است (شکل ۴). اسمعیلی خاریکی و همکاران نیز ارتباط منفی بین افزایش غلظت اسید و قلیا با نقطه ذوب ژلاتین پوست کوسه چانه سفید را گزارش کردند [۲۰].

دارد [۳]. در این تحقیق قدرت ژل ژلاتین تیمارهای مختلف از 105 تا 492 g متغیر بوده و در برخی از نمونه‌ها بیش‌تر از مقادیر به‌دست آمده در تحقیق هیون ووک کیم و همکاران با مقادیر 217 تا 271 g بوده است و مدل رگرسیون قدرت ژل ژلاتین از پوست مرغ قادر به توصیف $98/6$ درصد تغییرات مشاهده شده در پاسخ می‌باشد [۶]. همان‌طور که ضریب معادله در جدول (۴) نشان می‌دهد تاثیر اسید بر تغییرات بلوم خیلی بیش‌تر از تاثیرات سود می‌باشد و مدل مربوط به قدرت ژل همه مدل‌های خطی X_1 ، X_2 و درجه دوم غلظت سود و اسید X_{12} ، X_{22} معنی‌دار شده‌اند ($p < 0/01$) و کانتورهای سه بعدی نیز نشان می‌دهد که در غلظت‌های پایین با افزایش غلظت سود از $0/05\text{ N}$ تا $0/15$ به دلیل از دست رفتن پیوندهای عرضی و افزایش غلظت پروتئین‌های با وزن مولکولی پایین قدرت ژل کاهش و تا غلظت 1 N تقریباً قدرت ژل ثابت می‌باشد (شکل ۳) که با نتایج وانگچویی و نامهورم تطابق دارد [۱۸]. همچنین با افزایش غلظت اسید تا غلظت 1 N $0/43$ قدرت ژل به شدت کاهش پیدا می‌کند به طوری که بیش‌ترین قدرت ژل مربوط به غلظت $0/05$ نرمال و بعد از آن در غلظت‌های $0/3\text{ N}$ تا 1 قدرت ژل رو به افزایش است. محدوده قدرت ژل به‌دست آمده در این تحقیق مشابه گزارش ساربن و همکاران با مقدار 358 بوده [۷] و کم‌تر از مقدار به‌دست آمده از ژلاتین ضایعات مرغ در تحقیق رفیعیان و همکاران با مقدار 520 g بوده است [۵].



شکل (۳) تاثیر غلظت سود و اسید بر قدرت ژل ژلاتین پوست مرغ
 Fig 3. The effect of NaOH and acid concentration on the gel strength of chicken skin gelatin



شکل (۴) تاثیر غلظت سود و اسید بر نقطه ذوب ژلاتین پوست مرغ
 Fig 4. The effect of NaOH and acid concentration on the melting point of chicken skin gelatin

۴- نتیجه‌گیری

پوست مرغ به‌عنوان ضایعات حاصل از کشتارگاه می‌تواند منبع خوبی برای تولید ژلاتین باشد. با توجه به نتایج و بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف سود و اسید بر شرایط استخراج پارامترهای قدرت ژل و نقطه ذوب تحت تاثیر هم‌زمان غلظت سود و اسید قرار گرفته است، در حالی که پارامتر بازده استخراج تنها به غلظت سود و گرانیوی به غلظت اسید وابسته بوده است. شرایط بهینه استخراج ژلاتین از پوست مرغ شامل غلظت سود ۱ N و غلظت اسید ۰/۰۵ N بود و نمونه ژلاتین تولید شده در این شرایط دارای خواص فیزیکوشیمیایی بالایی می‌باشد که می‌تواند به‌عنوان جایگزین ژلاتین تجاری مورد استفاده قرار گیرد.

۳-۶- بهینه‌سازی

راه حل پیشنهادی نرم افزار برای دستیابی به بالاترین مقادیر بازده، نقطه ذوب، گرانیوی و قدرت ژل، غلظت سود ۱ N و غلظت اسید ۰/۰۵ N بود. در این شرایط مقادیر بازده استخراج، گرانیوی، قدرت ژل و نقطه ذوب به ترتیب ۳/۷۸ درصد، ۸۱/۴۴ cP، ۴۸۵/۴۲ g و ۴۲/۸۲ °C با درجه مطلوبیت ۰/۷۶ توسط نرم افزار پیش‌بینی گردید. مقادیر شرایط بهینه پیش‌بینی شده و نتایج حاصل از آزمون در جدول (۵) نشان داده شده است. بر اساس نتیجه تحلیل آماری بین مقادیر پیش‌بینی شده به‌وسیله مدل و مقادیر اندازه‌گیری شده واقعی اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($p < 0.05$).

جدول (۵) مقادیر پیش‌بینی شده از مدل و اندازه‌گیری شده متغیرهای وابسته نمونه بهینه ژلاتین پوست مرغ

Table 5 Estimated values of the model and measured dependent variables of optimum sample of gelatin of chicken skin

نقطه ذوب Melting point	قدرت ژل Gel strength	گرانروی Viscosity	بازده yield	نمونه sample
42.84 ^a	485.42 ^a	81.44 ^a	3.78 ^a	پیش‌بینی شده Predicted
41.53 ± 0.50 ^a	433.33 ± 6.50 ^a	86.73 ± 1.61 ^a	3.72 ± 0.30 ^a	اندازه‌گیری شده Measured

حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ است.

Different letters at each column show significant difference in 95% of confidence level (p<0.05).

منابع

- [7] Sarbon, N., Abdi, F., Howell, N. (2013). Preparation and characterisation of chicken skin gelatin as an alternative to mammalian gelatin. *Food Hydrocoll.*, 30, 143-151.
- [8] Munasinghe, KA., Schwarz, JG., Nyame, AK. (2014). Chicken collagen from low market value by-products as an alternate source. *J. Food Processing*.
- [9] Shahiri Tabarestani, H., Maghsoudlou, Y., Motamedzadegan, A., SadeghiMahoona, A.R. (2010). Optimization of physico-chemical properties of gelatin extracted from fish skin of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Bioresour. Technol.*, 101, 6207-6214.
- [10] Horwitz, W. (2000). Official Methods of the Association of Official Analytical Chemists International, 17th ed., AOAC International, Gaithersburg.
- [11] BS 755. (1975). British Standards Institution Specification for Gelatin. Pentonville Rd, London, UK.
- [۱۲] رضایی زاده، ع.؛ رفتنی امیری، ز. (۱۳۹۵) استخراج و ویژگی‌های ژلاتین پای مرغ و کاربرد آن در ژله طالبی. پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، جلد ۱۳، شماره ۲، ص ۳۳۲-۳۲۲.
- [13] Chia-Wei, L., Loughran, M., Tsung-Yu, T., Tsai, Sh. (2013). Evaluation of convenient extraction of chicken skin collagen using organic acid and pepsin combination.
- [1] Farmani, J., Roostammiri, L. (2015). Characterization of chicken waste fat for application in food technology. *J. Food Measure. Characteriz.*, 9, 143-150.
- [2] Bae, H., Darby, D., Kimmel, R. M., Park, H., Whiteside, W. (2009). Effects of transglutaminase-induced cross-linking on properties of fish gelatin-nanoclay composite film. *Food Chem.*, 114, 180-189.
- [3] Schreiber, R., Greis, H. (2007). Gelatin handbook: Theory and industrial practice, Wiley-VCH, Weinheim, Germany.
- [4] Fiszman, SM., Lluch, MA., Salvador, A. (1999). Effect of addition of gelatin on microstructure of acidic milk gels and yoghurt and on their rheological properties. *Int. Dairy J.*, 9, 895-901.
- [5] Rafeian, F., Keramat, J., Kadivar, M. (2013). Optimization of gelatin extraction from chicken deboner residue using RSM method. *Food Sci. Technol.*, 50, 374-380.
- [6] Hyun-Wook, K., Dong-Heon, S., Yun-Sang, Ch., Hack-Youn, K., Ko-Eun, H., Jae-Hyun, P., Yong-Jae, K., Ji-Hun, Ch., Cheon-Jei, K. (2012). Effects of soaking pH and extracting temperature on the physicochemical properties of chicken skin gelatin. *Korean, J. Food Sci.*, 32, 316-322.

J. Chin. Soc. Anim. Sci., 42(1), 27-38.

[۱۴] عطاء صالحی، ع.؛ حافظیه، م.؛ غلامحسینی، ف. (۱۳۹۱) بهینه سازی استخراج ژلاتین از غضروف کوسه ماهی چانه سفید، مجله علوم و فناوری غذایی، جلد ۴، شماره ۳، ص ۶۷-۷۴.

[15] Zhou, P., Mulvaney, S. J., Regenstein, J. M. (2006). Properties of alaska Pollock skin gelatin: A comparison with tilapia and pork skin gelatins. *J. Food Sci.*, 71, 313-321.

[۱۶] اسماعیل زاده کناری، ر.؛ شکوه صارمی، ا.؛ اورجی، ح.؛ معتمدزادگان، ع. (۱۳۸۸) تعیین ترکیب آمینواسیدی و بررسی نقطه ذوب و گرانروی ژلاتین حاصل از پوست ماهی فیتوفاک، مجله الکترونیک فراوری و نگهداری مواد غذایی، جلد ۱، شماره ۴، ص ۱۲-۱.

[17] LihongNiu, A., Xin Zhou, B., Chuqiao Yuan, A., Yun Bai, A., Keqiang Lai, A., Fuxin Yang, A., Yiqun, H. (2013). Characterization of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin extracted with alkaline and different acid pretreatments. *Food Hydrocoll.*, 33, 336-341.

[18] Wangtueai, S., Noomhorm, A. (2009). Processing optimization and characterization of gelatin from lizardfish (*Saurida spp.*) scales. *LWT-Food Sci. Techno.*, 42, 825-834.

[19] Choi, S.S., Regenstein, J.M. (2000). Physico-chemical and sensory characteristics of fish gelatin. *J. Food Sci.*, 65, 194-199.

[۲۰] اسمعیلی خاریکی، م؛ رضائی، م؛ معتمدزادگان، ع. (۱۳۹۱) نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، جلد ۸، شماره ۲، ص ۱۵۷-۱۵۰.