DOI: http://dx.doi.org/ 10.22104/JIFT.2019.3198.1768

فصلنامه فناوری‌های نوین غذایی، دوره ۷، شماره ۱، صفحه ۶۹-۵۷، پاییز ۱۳۹۸

مقاله پژوهشی

تأثیر موم زنبور عسل بر خواص فیلم ژلاتینی استخراج شده از فلس ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

لحاک برزگر[۱]، سید مهدی اجاق[۲*]، علیرضا عالیشاهی[۲]، مجتبی رئیسی[۳]، عباسعلی مطلبی[۴]

۱. دانشجو دکتری، گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲. دانشیار، گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۳. دانشیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

۴. استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، مرکز تحقیقات شیلات تهران

(تاریخ دریافت: ۹۷/۷/۱۹، تاریخ آخرین بازنگری: ۹۷/۹/۱۹، تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۱/۲۴)

چکیده

ژلاتین یک پروتئین کلوییدی منحصر به فرد است که به شکل گسترده‌ای در صنایع غذایی، داروسازی و پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف از این پژوهش بهبود خواص فیلم ژلاتین تولید شده از فلس کپور معمولی *Cyprinus carpio* با استفاده از موم عسل بود. نحوه استخراج ژلاتین از فلس ماهی کپور معمولی، شامل تیمار قلیایی، تیمار اسیدی و استخراج حرارتی با آب بود. نخست میزان خاکستر، رطوبت، پروتئین و چربی ژلاتین استخراج شده اندازه گیری شد. فیلم‌ها با ترکیب ژلاتین استخراج شده و موم عسل شامل دو تیمار ۳/۹ و ۶/۵ ٪ موم، با استفاده از روش محلول- قالب تهیه شدند. فیلم‌ها از نظر ویژگی‌های مکانیکی، فیزیکی، ظاهری و ضد میکروبی مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد میزان حلالیت، نفوذپذیری به نور و نفوذپذیری به بخار آب در مقایسه با نمونه شاهد (نمونه فیلم ژلاتینی بدون موم عسل) کاهش معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۵$) ولی میزان جذب آب، جذب نور، مقاومت کششی و افزایش طول در نقطه شکست فیلم‌ها در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد ($p<۰/۰۵$). از سوی دیگر، تغییرات رنگ در نمونه‌ها معنی‌دار نبود ($p<۰/۰۵$). نتایج مربوط به مطالعات پراش پرتو ایکس و میکروسکوپ الکترونی نشان داد که موم عسل به‌طور کامل و یکنواختی در ژلاتین پخش شده است. نتایج مطالعات میکروبی نیز نشان داد ترکیب ژلاتین و موم عسل در هر دو نمونه در مقایسه با شاهد اثر ضد میکروبی معنی‌داری بر باکتری‌های لیستریامونوسیتوژنز و اشرشیاکلی داشتند ($p<۰/۰۵$). به‌طورکلی موم عسل می‌تواند خواص فیلم ژلاتینی تولید شده از ژلاتین استخراج شده فلس ماهی کپور معمولی را بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: ژلاتین، موم عسل، خواص فیلم، کپور معمولی.

* نویسنده مسئول: ojagh@gau.ac.ir

۱. مقدمه

ژلاتین پروتئین استخراج شده از هیدروکلوئیدهای کلاژن موجود در پوست و استخوان بعضی حیوانات است. در این بین ژلاتین ماهی به‌عنوان یک منبع حلال در صنایع غذایی کاربرد زیادی دارد. در سال ۲۰۱۶ ارزش ژلاتین در صنایع به میزان ۴/۵۲ بیلیون دلار تخمین زده شد [۱]. بنابراین استخراج ژلاتین ماهی در بین محققین بسیار مورد توجه می‌باشد. تاکنون مطالعات زیادی در مورد استخراج ژلاتین ماهیان سرد آبی و گرمابی انجام شده است[۲]. در مورد استفاده از ژلاتین ماهی محدودیت‌هایی از قبیل کمبود ماده اولیه و کمتر بودن کیفیت آن در مقایسه با ژلاتین پستانداران وجود دارد. بنابراین تحقیق برای یافتن منابع مناسب ژلاتین ماهی همچنان ادامه دارد. کپور معمولی *Cyprinus carpio* به‌دلیل رشد سریع، مقاومت بالا و بازدهی زیاد یکی از رایج‌ترین گونه‌های ماهی پرورشی در جهان می‌باشد [۳]. ماهی کپور سالانه مقدار زیادی ضایعات تولید می‌کند که می‌توان از آن به‌عنوان منبعی برای تهیه ژلاتین در طول سال استفاده کرد. این ماهی در ایران در طول سال در دسترس می‌باشد که در نتیجه عمل آوری آن مقدار زیادی پوست و فلس تولید می‌شود که پتانسیل تولید به‌عنوان ژلاتین را داراست، از طرفی با توجه به مشکلات ناشی از مصرف نگه‌دارنده‌های شیمیایی، مواد ضد میکروبی طبیعی توجه خاصی به خود معطوف کرده‌اند [۴]. از سوی دیگر ممانعت کم از بخار آب، حساسیت بالا نسبت به رطوبت (به‌دلیل ماهیت آبدوستی) و خواص مکانیکی ضعیف، محدودیت‌های استفاده از فیلم‌های ژلاتینی هستند. یکی از راه‌های بهبود ویژگی‌های فیلم‌های خوراکی استفاده از افزودنی‌های مختلفی می‌باشد. مطابق با تحقیقی که توسط پرنتو و همکاران صورت گرفت، نتایج حاکی از آن بود که استحکام فیلم ژلاتینی ماهی با استفاده از افزودن ۱ و ۲٪ کاپا-کاراگینان تقویت و مشخص شد که کاراگینان می‌تواند در ساختار شبکه فیلم ژلاتینی پیوندهای یونی تشکیل دهد و باعث استحکام شبکه فیلم شود[۵]. در مطالعه ایکوما و همکاران، خواص فیزیکی- شیمیایی و مکانیکی فیلم ژلاتین ماهی مرکب در ترکیب با کیتوزان میگو *Penaeus kerathurus* مورد بررسی قرار داده شد. نتایج نشان داد ترکیب این دو با نسبت‌های ۲۵:۷۵ و یا ۵۰:۵۰ می‌تواند خواص فیلم تولیدی را بهبود دهد[۶]. در صنایع غذایی موم عسل را در بسته‌بندی معمولی مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌دهند. در برخی از تحقیقات، برای کاهش میزان نفوذپذیری فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی نسبت به بخار آب از موم عسل استفاده شده [۷] و نتایج حاکی از کاهش میزان نفوذپذیری فیلم‌ها به بخار آب با افزودن موم عسل بوده است. علاوه بر این مقاومت مکانیکی و خواص ممانعتی نسبت به اکسیژن و رطوبت در فیلم هیدروکسی پروپیل متیل سلولز با بررسی مطالعه اثر موم عسل گزارش شده است [۸]. علاوه بر موارد ذکر شده خاصیت ضد باکتریایی موم عسل نیز مورد توجه بسیاری از محققین بوده است [۹].

با در نظر داشتن حساسیت فیلم‌های ژلاتینی و با توجه به گزارشات ارائه شده در مورد خواص موم عسل هدف از این تحقیق تهیه و بررسی فیلم ژلاتینی تولید شده از فلس ماهی گرمابی کپور معمولی به‌وسیله تغییر فاکتورهای مؤثر در استخراج ژلاتین و استفاده از موم زنبور عسل به منظور کاهش خاصیت آبدوستی و نفوذپذیری نسبت به بخار آب، بهبود خواص مکانیکی و افزایش فعالیت ضد میکروبی آن بود.

۲. مواد و روش

۱.۲. مواد مورد استفاده

موم عسل شرکت هانیران ساخت کشور ایران، گلیسرول شرکت مرک ساخت کشور آلمان، فلس ماهی کپور معمولی، توئین ۸۰، هیدروکسید سدیم و سیلیکات منیزیم شرکت مرک ساخت کشور آلمان، اسید کلریدریک شرکت سیگما ساخت کشور امریکا، پترولیوم اتر شرکت مرک ساخت کشور آلمان، آب مقطر شرکت زلال ساخت کشور ایران، کاغذ صافی شرکت واتمن ساخت کشور امریکا، فویل آلومینیومی ساخت کشور ایران، ظرف پلی پروپیلن شرکت صنایع پلاستیک تک ظرف ساخت کشور ایران، ظروف شیشه‌ای با قطر cm ۳ ساخت کشور ایران و دستکش یکبارمصرف شرکت دکتر گلاو ساخت کشور ایران در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت.

۲.۲. اندازه گیری تقریبی ترکیبات

اندازه‌گیری رطوبت (روش خشک کردن در آون)، پروتئین خام (N*۶/۲۵) ، چربی (استخراج با حلال اتر) و خاکستر به روش AOAC انجام شد [۱۰].

۳.۲. استخراج ژلاتین

ابتدا پروتئین‌های غیرکلاژنی به روش تیمار قلیایی حذف و بعد از تیمار قلیایی با استفاده از محلول سدیم هیدروکسید ۰/۵ مولار، فلس‌ها برای خنثی سازی با اسید کلریدریک ۰/۳ مولار شسته و سپس استخراج حرارتی به طریقه آب داغ، با استفاده از آب مقطر ۶۳ °C در مدت زمان ۲۴۰ min انجام شد. محلول استخراج شده به مدت ۳۰ دقیقه در ۳۰°C سانتریفیوژ و فاز بالایی به‌وسیله کاغذ صافی به روش خلاء فیلتر و محلول صاف و تا بریکس ۱۰ در ۶۰°C درون دستگاه روتاری درایر تحت خلاء تغلیظ و در خشک کن هوای داغ با سرعت چرخش هوا ۱/۴ متر بر ثانیه در دمای ۶۰ °C به مدت ۲۴h خشک شد [۱۱].

۴.۲. آماده سازی فیلم

فیلم‌های زیست‌ترکیب بر پایه ژلاتین ماهی و موم عسل با استفاده از روش محلول- قالب تهیه شدند. امولسیون موم عسل با استفاده از نسبت ۲:۲:۲۵:۵۰ برای آب:موم:عسل:توئین: بوراکس تهیه شد. از امولسیون حاصله جهت تهیه غلظت‌های مختلف موم عسل استفاده شده است. همچنین ژلاتین خشک ماهی با غلظت ۶/۹۲٪ در آب مقطر جهت تهیه فیلم حل و محلول نهایی به آرامی در مرکز پلیت شیشه‌ای دارای مساحت ۱۰۰ cm^2 ریخته و درون آون ۳۷ °C قرار داده شد؛ مدت زمان لازم برای تشکیل فیلم ۴۸ h بود. در نهایت، فیلم از قالب جدا و به مدت دو روز دیگر جهت حذف باقی‌مانده حلال (آب مقطر) در آون ۳۷ °C قرار داده، سپس تا زمان آنالیز درون پلاستیک بسته‌بندی شد [۳].

۵.۲.آزمون پراش پرتو ایکس (XRD)

آزمون با استفاده از دستگاه X' Pert MPD (Philips، ساخت کشورهلند) با پرتویی با طول موج ۱/۵۴۴۳۹ آنگستروم با ماده آندی کبالت در زاویه ۱۲-۱ = 2θ درجه در دمای محیط و با سرعت یک درجه در دقیقه مورد سنجش قرار گرفت [۶].

۶.۲. آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

بررسی ریز ساختار فیلم‌های تولیدی به‌وسیله عکسبرداری با میکروسکوپ الکترونی روبشی (Philips، ساخت کشور هلند) از سطح روکش‌ها انجام پذیرفت. تصویر برداری از نمونه‌ها با قدرت ۲۰ کیلووات و در بزرگنمائی‌های مختلف انجام گرفت [۵].

۷.۲. اندازه‌گیری میزان نفو پذیری فیلم‌ها در برابر بخار آب

سنجش میزان نفوذپذیری فیلم‌ها نسبت به بخار آب مطابق روش شماره E96 مصوب ASTM صورت گرفت. از ضرب نمودن نرخ انتقال بخار آب در ضخامت روکش‌ها و تقسیم آن در اختلاف فشار موجود در دو سمت روکش میزان نفوذپذیری بخار آب به دست آمد و به صورت $g.s^{-1}.m^{-1}.Pas^{-1}$ گزارش شد[۱۱].

۸.۲. اندازه‌گیری خواص مکانیکی فیلم‌ها

آزمایشات کشش با استفاده از دستگاه اندازه گیری خواص مکانیکی(Model 200, HIWA, Iran) انجام گرفت. فیلم‌ها به شکل مستطیل به ابعاد ۱۰cm^2 × ۲/۵ بریده شدند. فاکتورهایی شامل مقاومت کششی، درصد کرنش در نقطه شکست (تغییر طول نمونه تقسیم بر طول اولیه ضرب در ۱۰۰) مطابق روش شماره D882-01 مصوب ASTM از روی منحنی های نیرو بر حسب تغییر شکل به دست آمدند [۶].

۹.۲. ارزیابی منحنی جذب آب

محاسبه منحنی جذب رطوبت توسط فیلم‌ها نیز توصیف شد. نمونه های فیلم به صورت قطعات کوچک به ابعاد cm^2 ۲/۵× ۲/۵ و ضخامت mm ۰/۱ برش و به مدت یک شب در دسیکاتور قرار داده شد. سپس نمونه‌ها با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ توزین گردید تا وزن خشک اولیه نمونه‌ها محاسبه گردد و پس از آن نمونه در ظروف درب دار حاوی ۵۰ mL آب مقطر با pH = 7 و در دمای ۲۵ °C قرار داده شد. به منظور تعیین میزان جذب، نمونه‌ها به صورت دوره ای از ظرف خارج و پس از خشک کردن سطح آن‌ها به‌وسیله دستمال کاغذی دوباره توزین و سپس به ظرف آب بازگردانده می‌شد [۱۱].

۱۰.۲. سنجش میزان حلالیت در آب

وزن اولیه نمونه های فیلم cm^2 ۲/۵ × ۲/۵ پس از خشک شدن در دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴h تعیین شد و سپس نمونه‌های فیلم در ظروف حاوی ۵۰mL آب مقطر قرار گرفت. ظروف به‌مدت ۲۴h در دمای محیط قرار داده شد و پس از این مدت نمونه‌ها به‌وسیله کاغذ های صافی که قبلا خشک شده بود، فیلتر و دوباره در دمای ۱۰۵ °C خشک گردید[۱۰].

۱۱.۲. سنجش رنگ سطحی و شفافیت فیلم‌ها

سنجش رنگ با استفاده از سیستم CIELAB انجام شد. نمونه‌های فیلم به‌منظور سنجش رنگ بر روی کاشی استاندارد سفید رنگ قرار و سه فاکتور L^*، a^* و b^* نشان داده شده توسط دستگاه رنگ سنج BYK ساخت شرکت گاردنر امریکا یادداشت گردید.

به‌منظور سنجش میزان شفافیت فیلم‌ها و عبور نور، نمونه های فیلم به ابعاد mm ۴۰×۹ در درون سلول‌های اسپکتروفتومتری مدل (Lambda 25, PerkineElmer, Fremont, CA, USA) قرار گرفت و به منظور سنجش میزان عبور نور در طول موج-های nm ۸۰۰-۲۰۰ توسط دستگاه اسکن گردید.

۱۲.۲. سنجش میزان رطوبت فیلم‌ها

نمونه‌های فیلم با وزن مشخص درون پلیت‌های شیشه‌ای که از قبل به تعادل رطوبتی رسیده و توزین شده بودند قرار گرفت. سپس به‌مدت h ۲۴ در دمای °C ۱۰۵ خشک گردید. نمونه‌ها همراه با پلیت پس از این مدت خارج و پس از سرد شدن در دسیکاتور مجددا توزین گردید [۱۲].

۱۳.۲. فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها

اثر ضدمیکروبی فیلم ترکیبی ژلاتین و موم عسل از طریق کشت باکتری‌های اشریشیاکلی و لیستریا مونوسیتوژنز بر روی محیط آگار بررسی شد. به این منظور فیلم‌ها با استفاده از قالب، به قطعات دایره‌ای شکل به قطر ۱۰ یا mm ۱۵ تبدیل و سپس در شرایط سترون بر روی محیط کشت BHIA قرار گرفتند. قبل از قراردادن دیسک‌ها بر روی سطح محیط کشت، عمل کشت سطحی با استفاده از mm ۰/۱ محلول مایع هرکدام از باکتری‌های مورد آزمایش انجام و سپس پلیت‌ها در دمای °C ۳۷ گرمخانه گذاری شدند[۱۳].

۱۴.۲.تجزیه و تحلیل آماری

طرح آماری به صورت سه تکرار انجام و میانگین نتایج به همراه انحراف معیار در تایید آزمون‌ها گزارش شد. آنالیز آماری نتایج تاییدی با استفاده از ANOVA ($p<0/05$) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن با استفاده از نرم افزار $SPSS_{16}$ انجام شد[۱۴].

۳. نتایج و بحث

۱.۳. اندازه گیری تقریبی ترکیبات

نتایج حاصل از آنالیز تقریبی فیلم‌های تولیدی شامل پروتئین، رطوبت، خاکستر و چربی بر حسب درصد از کل در جدول (۱) نشان داده شده است. میزان پروتئین در نمونه فیلم مرکب حاوی ۶/۵ ٪ موم عسل از بقیه بیشتر بود، در فیلم‌های تولیدی همان‌طور که مشاهده می‌شود درصد پروتئنن طبیعتا در فیلم خالص ژلاتین از همه بالاتر است و اما در فیلم‌های حاوی موم عسل بسته به میزان موم استفاده شده در ترکیب فیلم‌ها و برطبق محاسبه میزان پروتئین در فیلم برحسب درصد؛ هرچقدر درصد استفاده از موم عسل در فرمولاسیون افزایش یافته، به دنبال آن، از میزان درصد پروتئین موجود در بستر پلیمر کم شده است.

مقدار بالای پروتئین مواد کلاژنی نشان دهنده بالاترین بازده ممکن استخراج ژلاتین از آن‌ها می‌باشد[۱۵].در تحقیق میونگا و همکاران، میزان پروتئین ژلاتین کپور ۹۰/۲۷٪ گزارش گردید [۱۶]. ژلاتین عمدتاً شامل پروتئین و رطوبت است. حضور خاکستر، لیپید و دیگر ناخالصی‌ها در مقدار بسیار کم نیز، برای کیفیت ژلاتین بسیار مهم در نظر گرفته می‌شود [۱۷]. در این تحقیق محتوای خاکستر فلس کپور کمتر از حد توصیه شده (۲/۶٪) بود. میزان پروتئین، رطوبت و خاکستر ژلاتین تحقیق حاضر مطابق جدول (۱) بود که در حد مطلوبی قرار داشت.

۲.۳.آزمون پراش پرتو ایکس (XRD)

نتایج آزمون پراش پرتو ایکس ژلاتین خالص و ژلاتین حاوی درصدهای مختلف موم عسل در شکل (۱) نشان داده شده است. نتایج این آزمون نشان داد موم عسل استفاده شده در این تحقیق دارای یک پیک در ناحیه ۲۷ تتا می‌باشد که این امر نشان دهنده پراکنش کامل موم عسل در بستر پلیمر و شکل گیری کامپوزیت یکنواخت بود. در نمونه حاوی ۳/۹ ٪ موم در مقایسه با ۶/۵٪، از شدت پیک نمودار کاسته شد. افزایش شدت پیک در فیلم حاوی ۶/۵٪ موم عسل به‌دلیل غلظت بیشتر موم در فیلم ژلاتین بود [۱۸]. نتایج نشان داد موم عسل به خوبی در ماتریکس فیلم ژلاتینی جای گرفته است.

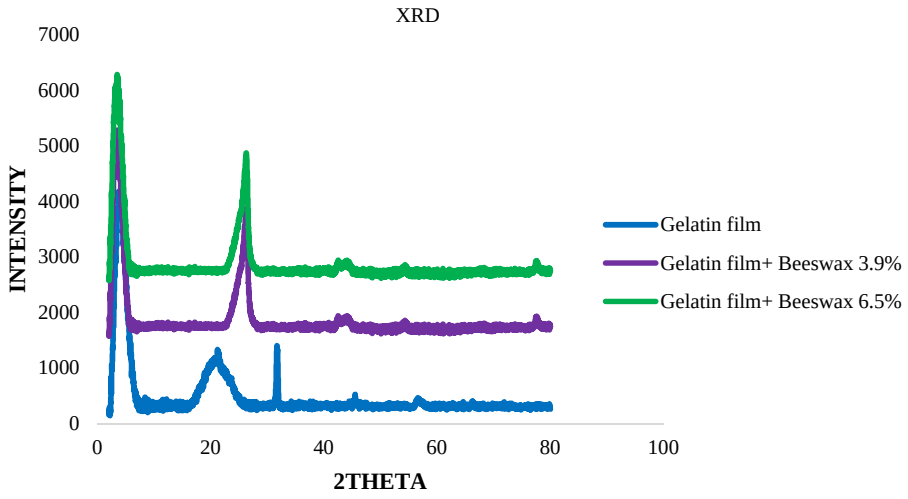
جدول (۱) ترکیبات تقریبی موجود فلس ماهی و فیلم ژلاتینی با درصد مختلف موم عسل

Table 1 Approximately components of fish scale and gelatin film including beeswax

نمونه Sample	درصد ترکیبات Percentage of components			
	رطوبت Moisture(%)	خاکستر Ash(%)	پروتئین Protein(%)	چربی Lipid(%)
فلس ماهی کپور معمولی Cyprinus carpio scale	37.74± 0.27[a]	43.17± 0.45[a]	19.00± 0.18[c]	0.23± 0.08
فیلم ژلاتین Gelatin film	11.13± 0.33[b]	6.33± 1.06[b]	82.54± 0.72[a]	-
فیلم ژلاتین+ 3.9٪موم عسل Gelatin film+ Beeswax 3.9%	9.20± 0.51[c]	6.03± 0.49[c]	80.30± 2.08[a]	-
فیلم ژلاتین+6.5٪ موم عسل Gelatin film+ Beeswax 6.5%	9.02± 0.64[c]	5.97± 0.50[c]	77.80± 1.18[b]	-

میانگین‌ها در هر ستون با حروف انگلیسی متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری با هم هستند (p<۰/۰۵).

داده‌ها به صورت میانگین± انحراف معیار ارائه شده است.



شکل (۱) نمودار XRD فیلم‌های ژلاتینی حاوی درصدهای مختلف موم عسل (: فیلم ژلاتین، : فیلم ژلاتین+ ۳/۹٪ موم عسل، فیلم ژلاتین+۶/۵٪ موم عسل)

Fig. 1 XRD of gelatin films including different percentage of beeswax (Gelatin film: Gelatin film+ Beeswax 3.9%: Gelatin film+ Beeswax 6.9%)

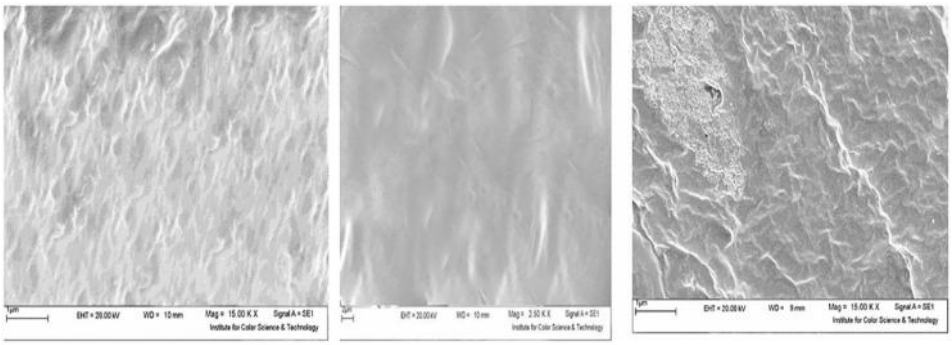
۳.۳.آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

شکل (۲) تصاویر میکروسکوپ الکترونی از سطح فیلم‌ها را نشان می‌دهد. همانگونه که مشاهده می‌شود فیلم ژلاتین خالص سطحی اسفنج مانند و در عین حال یک‌دست را نشان داد. فیلم ژلاتین حاوی موم عسل نیز دارای سطحی صاف و یکنواخت می‌باشد و در نمونه ۶/۵٪ تا حدی سطح نامنظم مشاهده می‌شود. تمام نمونه‌ها سطحی فشرده داشته و نمونه ۳/۹٪ موم عسل و ژلاتین خالص عاری از هرگونه ناهمواری و تجمع پلیمر می‌باشد. نمای سطحی همه فیلم‌ها عاری از هرگونه ترک و منفذ بود. تصاویر میکروسکوپ الکترونی از نمای سطحی فیلم‌ها نشان داد که فیلم مرکب ژلاتین- موم عسل با ۳/۹ و ۶/۵٪ موم دارای سطحی صاف و یکنواخت، بدون ناهمواری بود. در مطالعه‌ای که پیرامون فیلم ترکیبی کیتوزان-ژلاتین صورت گرفت، در فیلم مرکب، سطوح ناهمواری مشاهده شد که تشکیل این ناهمواری‌ها با تشکیل پیوندهای هیدروژنی مرتبط دانسته شد [۱۹].

۴.۳. ویژگی‌های فیزیکی فیلم‌ها

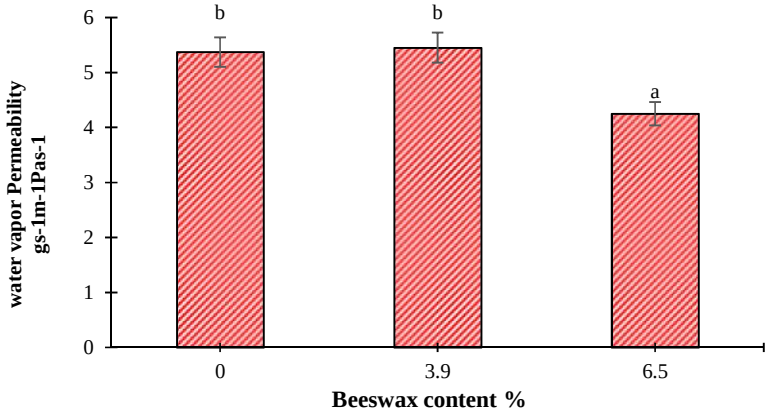
ویژگی‌های فیزیکی فیلم‌های تولید شده شامل؛ حلالیت، نفوذ پذیری فیلم‌ها در برابر بخار آب و جذب آب در شکل‌های ۵-۳ نشان داده شـده است. طـبق نتایج مشاهده شده با افزودن مـوم عسل به ژلاتین، ویژگی‌های فیزیکی فیلم تحت تاثیر قرار گرفت

و با افزودن موم عسل حلالیت فیلم ژلاتینی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت که این کاهش در نمونه ۶/۵ ٪ بیشتر بود ($p<۰/۰۵$). حلالیت از جمله ویژگی‌های مهم در فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر است که می‌تواند تعیین‌کننده میزان مقاومت فیلم نسبت به آب، به‌خصوص در محیط‌های حاوی رطوبت مثل مواد غذایی گوشتی باشد[۲۰]. نتایج حاصل از افزودن موم عسل به فیلم ژلاتین نشان دهنده کاهش میزان نفوذپذیری به بخار آب در فیلم تولیدی می‌باشد. به‌طوری‌که میزان نفوذپذیری به بخارآب در فیلم ژلاتین فاقد موم عسل از ۵/۳۷ ($g\cdot s^{-1}\cdot m^{-2}\cdot Pa^{-1}*10^{-10}$) به ۲/۴۸ ($g\cdot s^{-1}\cdot m^{-2}\cdot Pa^{-1}*10^{-10}$) در فیلم حاوی ۶/۵ درصد موم عسل کاهش یافت($p<۰/۰۵$). همانطور که نتایج نشان می‌دهد میزان رطوبت فیلم ژلاتین با افزودن موم عسل به‌طور معنی-داری کاهش یافت($p<۰/۰۵$). میزان کاهش رطوبت در نمونه حاوی ۶/۵ ٪ موم عسل در مقایسه با دو نمونه دیگر بیشتر بود (شکل ۶). کمتر بودن محتوای رطوبت فیلم‌های حاوی موم در مقایسه با فیلم ژلاتین خالص احتمالا به حضور ترکیبات لیپیدی در بستر شبکه‌ای پلیمر و در نتیجه جلوگیری آن‌ها از حضور ملکول‌های آب در اثر بهبود ویژگی آبگریزی فیلم برمی‌گردد. همچنین پر شدن فضاهای خالی موجود توسط ترکیب چربی مانند موم نیز می‌تواند دلیل دیگری برای وقوع این پدیده باشد. در واقع می‌توان گفت با حضور موم نسبت جایگاه‌های فعال قطبی برای جذب ملکول‌های آب در هر واحد ماده خشک ماتریکس پلیمر کاهش می‌یابد [۲۱]. در تحقیقی با افزودن درصدهای مختلف از موم عسل به فیلم ترکیبی پروتئین آب پنیر و پلولان، با افزایش محتوای موم عسل، حلالیت در آب کاهش یافت [۲۱]. بنابراین افزودن موم عسل اثر مثبتی در ویژگی فیلم مرکب ژلاتین جهت بسته بندی مواد غذایی با کاهش حلالیت در این تحقیق نشان داد.



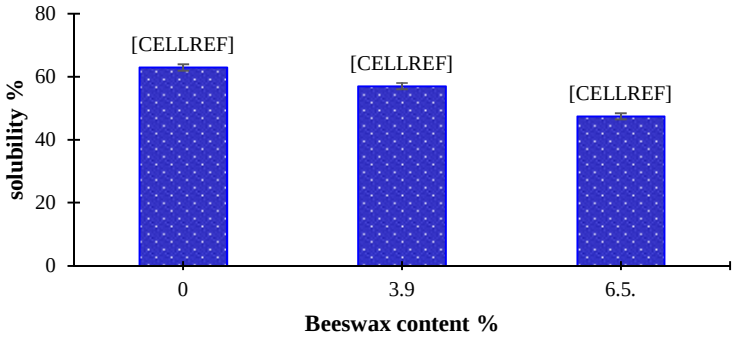
شکل (۲) تصاویر میکروسکوپ الکترونی از سطح فیلم‌ها (M1: فیلم ژلاتین، M2: فیلم ژلاتین+ ۳/۹٪موم عسل، M3:فیلم ژلاتین+۶/۵٪ موم عسل)

Fig. 2. SEM pictures of the surface of gelatin films (M1: Gelatin film, M2: Gelatin film+ Beeswax 3.9%, M3: Gelatin film+ Beeswax 6.9%)

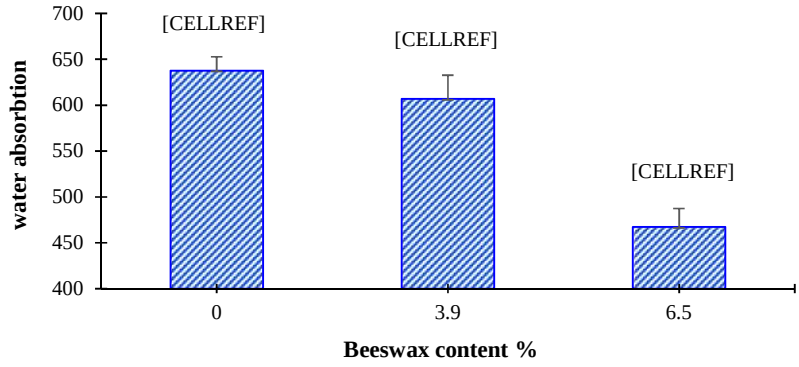


شکل (۳) میزان نفوذپذیری به بخار آب در فیلم ژلاتین- موم عسل (: فیلم ژلاتین، : فیلم ژلاتین+ ۳/۹ ٪ موم عسل، فیلم ژلاتین+۶/۵ ٪ موم عسل)

Fig. 3. water vapor Permeability of gelatin-beeswax film: gelatin film: gelatin film + 3.9% beeswax, gelatin film + 6.5% beeswax)

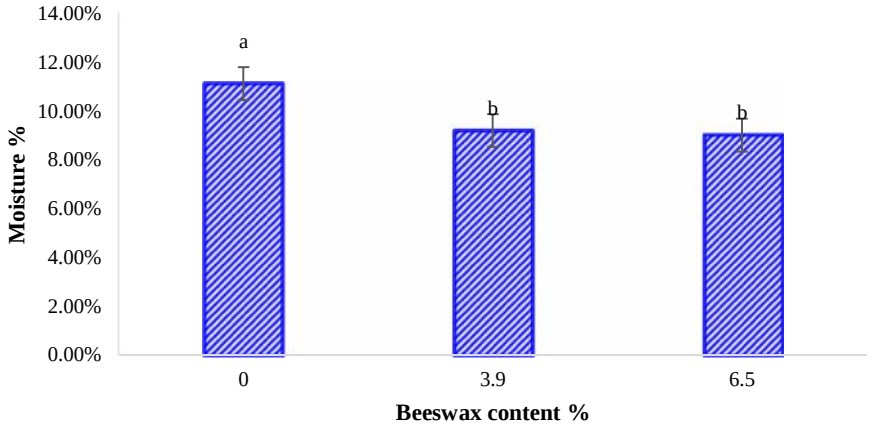


شکل (۴) میزان حلالیت در فیلم ژلاتین- موم عسل (: فیلم ژلاتین، : فیلم ژلاتین+ ۳/۹ ٪ موم عسل، فیلم ژلاتین+۶/۵٪ موم عسل)
Fig. 4. Solubility in gelatin-wax film (gelatin film: gelatin film + 3.9% beeswax, gelatin film + 6.5%beeswax)



شکل (۵) میزان جذب آب در فیلم ژلاتین- موم عسل (: فیلم ژلاتین، : فیلم ژلاتین+ ۳/۹ ٪ موم عسل، فیلم ژلاتین+ ۶/۵ ٪ موم عسل)
Fig. 5. Water absorption in gelatin-beeswax film: gelatin film: gelatin film + 3.9% beeswax, gelatin film + 5.6%beeswax

عسل به ژلاتین، ویژگی‌های فیزیکی فیلم تحت تاثیر قرار گرفت و با افزودن موم عسل حلالیت فیلم ژلاتینی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت که این کاهش در نمونه ۶/۵ ٪ بیشتر بود ($p<۰/۰۵$). حلالیت از جمله ویژگی‌های مهم در فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر است که می‌تواند تعیین‌کننده میزان مقاومت فیلم نسبت به آب، به‌خصوص در محیط‌های حاوی رطوبت مثل مواد غذایی گوشتی باشد[۲۰]. نتایج حاصل از افزودن موم عسل به فیلم ژلاتین نشان دهنده کاهش میزان نفوذپذیری به بخار آب در فیلم تولیدی می‌باشد. به‌طوری‌که میزان نفوذپذیری به بخارآب در فیلم ژلاتین فاقد موم عسل از ۵/۳۷ ($g{\cdot}s^{-1}{\cdot}m^{-2}{\cdot}Pa^{-1}*10^{-10}$) به ۲/۴۸ ($g{\cdot}s^{-1}{\cdot}m^{-2}{\cdot}Pa^{-1}*10^{-10}$) در فیلم حاوی ۶/۵ ٪ موم عسل کاهش یافت($p<۰/۰۵$). همانطور که نتایج نشان می‌دهد میزان رطوبت فیلم ژلاتین با افزودن موم عسل به‌طور معنی‌داری کاهش یافت($p<۰/۰۵$). میزان کاهش رطوبت در نمونه حاوی ۶/۵ ٪ موم عسل در مقایسه با دو نمونه دیگر بیشتر بود (شکل ۶). کمتر بودن محتوای رطوبت فیلم‌های حاوی موم در مقایسه با فیلم ژلاتین خالص احتمالا به حضور ترکیبات لیپیدی در بستر شبکه‌ای پلیمر و در نتیجه جلوگیری آن‌ها از حضور ملکول‌های آب در اثر بهبود ویژگی آبگریزی فیلم برمی‌گردد. همچنین پر شدن فضاهای خالی موجود توسط ترکیب چربی مانند موم نیز می‌تواند دلیل دیگری برای وقوع این پدیده باشد. در واقع می‌توان گفت با حضور موم نسبت جایگاه‌های فعال قطبی برای جذب ملکول‌های آب در هر واحد ماده خشک ماتریکس پلیمر کاهش می‌یابد [۲۱]. در تحقیقی با افزودن درصدهای مختلف از موم عسل به فیلم ترکیبی پروتئین آب پنیر و پلولان، با افزایش محتوای موم عسل، حلالیت در آب کاهش یافت [۲۱]. بنابراین افزودن موم عسل اثر مثبتی در ویژگی فیلم مرکب ژلاتین جهت بسته بندی مواد غذایی با کاهش حلالیت در این تحقیق نشان داد.



شکل (۶) میزان رطوبت در فیلم ژلاتین- موم عسل (: فیلم ژلاتین، : فیلم ژلاتین+ ۳/۹٪ موم عسل، فیلم ژلاتین+۶/۵٪ موم عسل)
Fig. 6. Moisture content in gelatin- beeswax film: gelatin film: gelatin film + 3.9% beeswax, gelatin film + 5.6%beeswax

جدول (۲) خواص ضد میکروبی فیلم دارای موم عسل در آزمایش دیسک
Table 1 Antibacterial effects of gelatin film including beeswax by disc test.

نمونه Sample	نام باکتری Name of bacteria	
	لیستریا منوسیتوژنز L.monositogenes	اشریشیا کلی E.coli
شاهد control	-	-
فیلم ژلاتین+ 3.9٪موم عسل Gelatin film+ Beeswax 3.9%	+	+
فیلم ژلاتین+6.5٪ موم عسل Gelatin film+ Beeswax 6.5%	++	+

++: اثر مهارکنندگی خوب، +: اثر مهارکنندگی ضعیف، --: فاقد اثر مهارکنندگی

میانگین‌ها در هر ستون با حروف انگلیسی متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری با هم هستند ($p<۰/۰۵$). داده‌ها به صورت میانگین± انحراف معیار ارائه شده است.

نفوذپذیری فیلم‌ها به بخار آب یک ویژگی مهم است که باید هنگام انتخاب مواد فیلم برای کالاهای خاص مورد توجه قرار گیرد، زیرا نشان دهنده توانایی آن‌ها در حفاظت از محصول در برابر خشک شدن است. با توجه به مطالعه حاضر با افزایش محتوای موم عسل تا ۶۰ g مقاومت ممانعتی فیلم‌ها در برابر رطوبت افزایش یافت اما در مطالعه رودریگیوز و همکاران [۲۲] نفوذپذیری در برابر بخارآب فیلم‌های امولسیونی پروتئین آب‌پنیر- موم عسل با محتوای ۳۵٪ از موم عسل به‌دنبال یک روند سیگموئیدالی کاهش شدیدی یافت. این محققین تفاوت در رفتار نفوذپذیری در برابر بخار آب را به ماهیت تعاملی بین پروتئین و یا پلی‌ساکارید و فاز چربی نسبت دادند که احتمالا می‌تواند بر خواص فیلم‌ها از طریق تاثیر بر رطوبت تاثیرگذار باشد. در فیلم‌های امولسیونی توزیع چربی در داخل ماتریس پلیمری بر روی رطوبت فیلم تاثیر گذار بوده [۲۳] لذا می‌تواند بر میزان نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها تاتیر گذار بوده و آن را کاهش دهد. مطابق شکل (۵)، میزان جذب آب با افزودن موم عسل تا ۶/۵٪ به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت ($p<۰/۰۵$). در نمونه ۳/۹٪ نیز در مقایسه با شاهد میزان کاهش جذب آب معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$).

۵.۳. سنجش رنگ سطحی و شفافیت فیلم‌ها

مقادیر L^*، a^* و b^* فیلم ژلاتین و فیلم‌های حاوی درصدهای مختلف موم عسل در جدول (۳) مشاهده می‌شود. در حالت کلی فیلم‌های تولیدی بی‌رنگ بودند. همانطور که مشاهده

می‌شود، با افزودن درصدهای مختلف موم عسل تغییر معنی‌داری در روشنایی فیلم‌ها (L^*) و پارامترهای a^* و b^* تغییری ایجاد نشد. به‌طور کلی تغییرات رنگ فیلم ژلاتین خالص و نمونه‌های حاوی موم عسل چندان معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$).

یکی از عوامل مهم اثرگذار بر ظاهر کلی محصول و پذیرش مصرف‌کنندگان، رنگ مواد بسته‌بندی می‌باشد. رنگ فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر اهمیت زیادی در کاربرد آن‌ها در صنعت

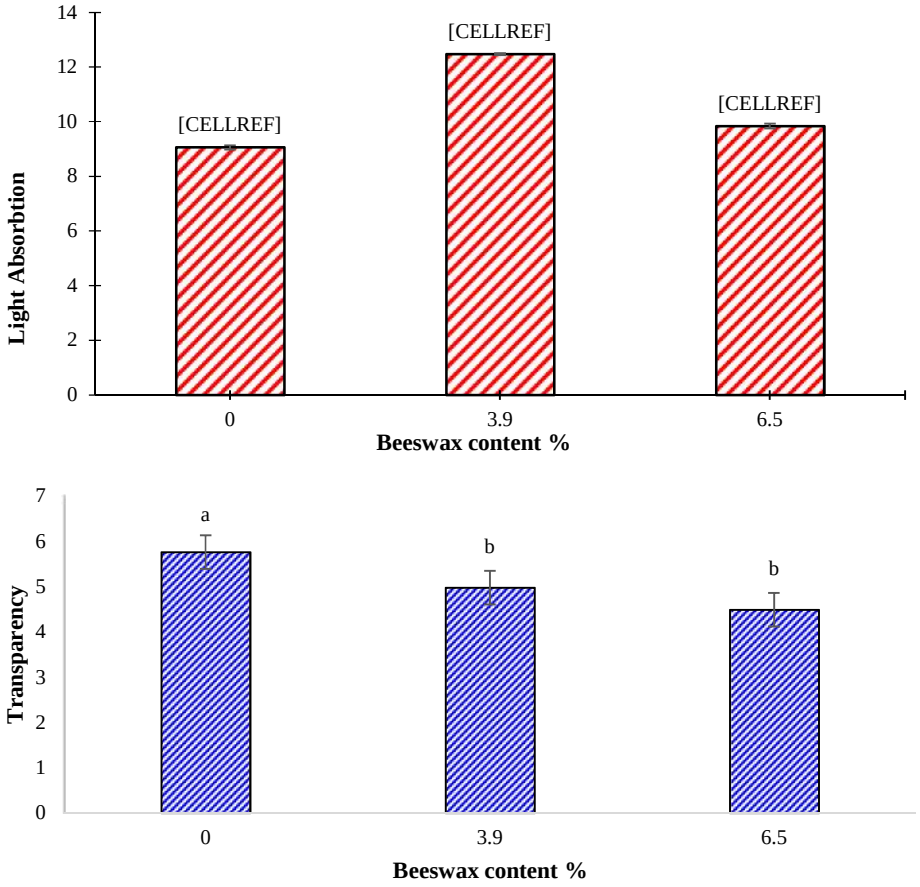
جدول (۳) ویژگی‌های رنگ فیلم‌های تولیدی حاوی موم عسل.

Table 1 Color characteristics of gelatin films including beeswax.

نمونه Sample	شاخص رنگ Color Index		
	L*	a*	b*
فیلم ژلاتین Gelatin film	93.7[a]	2[a]	2.7[a]
فیلم ژلاتین+ 3.9٪موم عسل Gelatin film+ Beeswax 3.9%	93.7[a]	2.47[b]	2.7[a]
فیلم ژلاتین+6.5٪ موم عسل Gelatin film+ Beeswax 6.5%	93.7[a]	2.47[b]	2.7[a]

میانگین‌ها در هر ستون با حروف انگلیسی متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری با هم هستند ($p<۰/۰۵$).

داده‌ها به صورت میانگین± انحراف معیار ارائه شده است.



شکل(۷) میزان نفوذپذیری به نور و کدورت فیلم‌های تولیدی (فیلم ژلاتین، : فیلم ژلاتین+ ۳/۹ ٪ موم عسل، فیلم ژلاتین+۶/۵ ٪ موم عسل)

Fig. 7. Permeability to light and opacity of films (gelatin films: gelatin film + 3.9% beeswax, gelatin + 6.5% beeswax)

بسته‌بندی دارد و یکی از عوامل مهم در تعیین کیفیت فیلم تهیه شده به شمار می‌آید [۲۴]. در مورد اثر موم عسل بر رنگ فیلم ژلاتینی تاکنون مطالعه‌ای صورت نگرفته و به نظر می‌رسد عدم وجود تغییر رنگ در فیلم مرکب می‌تواند به‌دلیل نبود بازتاب منتشر شده حاصل از پراکندگی نور در ترکیب مومی عسل باشد که اثری بر شاخص رنگی فیلم مرکب ایجاد نشد. مقادیر نفوذپذیری فیلم‌های حاوی موم عسل نسبت به نور در طول‌موج‌های ۸۰۰-۲۰۰ nm و همچنین کدورت فیلم‌های تولیدی در شکل (۷) نشان داده شده است. نتایج نشان داد که افزودن موم عسل به فیلم ژلاتین منجر به کاهش عبور نور به‌ویژه در ناحیه فرابنفش شد ($p<۰/۰۵$). به‌طوری که کمترین میزان عبور نور، برای فیلم ژلاتین حاوی ۶/۵٪ موم عسل بود. همچنین با افزایش مقدار موم عسل به فیلم ژلاتینی، کدورت فیلم‌های تولیدی افزایش معنی‌دار یافت ($p<۰/۰۵$). به‌طوری‌که میزان کدورت در فیلم ژلاتین خالص کمترین مقدار و فیلم حاوی ۶/۵٪ موم عسل بیشترین کدورت را نسبت به سایر فیلم‌ها نشان داد. به‌طور کلی افزودن موم عسل باعث افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) میزان کدورت در فیلم‌ها شد.

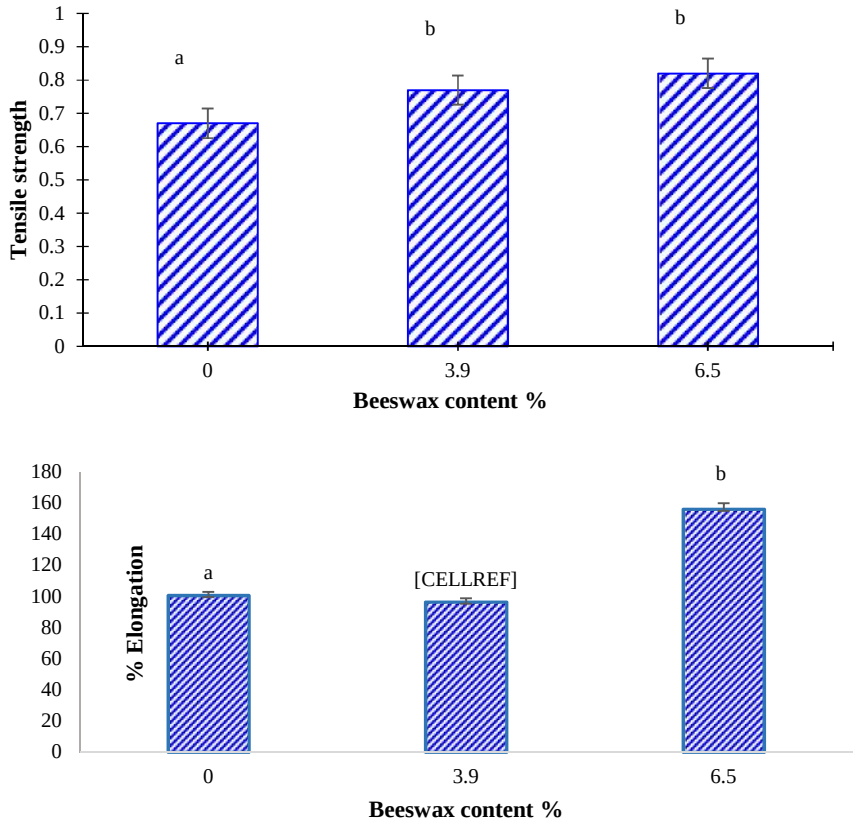
۶.۳. اندازه‌گیری خواص مکانیکی فیلم‌ها

مقاومت کششی و درصد افزایش طول در لحظه پاره شدن فیلم‌های تولیدی در شکل (۸) نشان داده شده است. با افزودن درصدهای موم عسل در سطح ۳ و ۶/۵٪ به فیلم ژلاتینی، میزان مقاومت کششی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($p<۰/۰۵$)، به‌طوری که کمترین میزان مقاومت کششی ۰/۶۷ Mpa و مربوط به فیلم شاهد و بیشترین میزان مقاومت کششی مربوط به فیلم حاوی ۶/۵٪ موم عسل و به میزان ۰/۸۲ Mpa بود. درحالی که درصد افزایش طول در نقطه شکست ابتدا با افزودن ۳/۹٪ موم عسل کاهش و سپس با افزایش میزان موم عسل تا ۶/۵٪ افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) نشان داد. تغییرات نمونه‌های حاوی موم عسل در مقایسه با شاهد نیز معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). خانزادی و همکاران، با افزودن موم عسل به فیلم پروتئین آب‌پنیر- پلولان مشاهده کردند که مقاومت کشش فیلم‌ها افزایش و تغییر طول در نقطه شکست فیلم‌ها با افزایش محتوای موم عسل کاهش یافت[۲۶]. در مطالعه‌ای تاثیر افزودن مقادیر مختلف موم عسل (۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ گرم بر صد گرم وزن خشک) بر ویژگی‌های فیلم هیدروکسی پروپیل متیل سلولز بررسی شد. مطابق نتایج، افزودن محتوای موم عسل به فیلم‌ها مقاومت کشش و تغییر طول در نقطه شکست را کاهش داد. که حاکی از فیلم‌های ضعیف‌تر با قابلیت انعطاف کمتر بود. محققین این اثر را به مقاومت مکانیکی لیپیدها و توسعه یک ساختار فیلم ناهمگن در شبکه پلیمری نسبت دادند که باعث کاهش مقاومت مکانیکی ماتریس پلیمری هیدروکلوئید می‌شود [۱۵]. مطالعات نشان می‌دهد که اثر محتوای لیپیدها بر خواص مکانیکی فیلم‌های کامپوزیت خوراکی بستگی به ماهیت ماتریس پلیمری دارد [۲۵]. در فیلم‌ها بر پایه پروتئین آب‌پنیر، افزایش محتوای موم عسل به‌طور معنی‌داری باعث کاهش مقاومت کشش فیلم‌ها گردید [۲۶]. علاوه‌بر این در فیلم بر پایه نشاسته نخود فرنگی، مقاومت کشش و افزایش طول در نقطه شکست با افزودن موم عسل بالاتر از ۳۰ گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک کاهش یافت بدون این‌که در غلظت‌های پایین موم عسل تاثیر داشته باشد[۱۵]. در تحقیق حاضر با افزایش میزان موم عسل کاهش شدید در مقاومت کشش و تغییر طول در نقطه شکست را نشان داد که نشان می‌دهد افزایش میزان موم عسل باعث کاهش مقاومت مکانیکی شده و تاثیر منفی روی انعطاف‌پذیری فیلم دارد.

۷.۳. فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها

نتایج بررسی اثر ضد میکروبی فیلم مرکب ژلاتین- موم عسل علیه باکتری‌های اشرشیاکلی و لیستریامونوسیتوژنز در جدول (۲) نشان داده شده و مشاهده می‌شود موم عسل توانست باکتری‌های نام برده را به شکل موثری مهار کند. قدرت اثر مهارکنندگی فیلم مرکب در نمونه حاوی ۶/۵٪ موم عسل بیشتر بود و ژلاتین خالص به تنهایی بر هیچ یک از باکتری‌ها اثر ضد باکتریایی نشان نداد.

اثر فیلم مرکب ژلاتین- موم عسل در غلظت ۶/۵٪ بیشتر بود. در مطالعه‌ای محققان اثر ضد باکتریایی موم عسل را بر باکتری پنی باسیلوس مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند اثر معنی‌داری بر میزان مهارکنندگی این باکتری دارد[۲۷]. به نظر می‌رسد اثر ضدباکتریایی موم عسل بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر باشد که به‌دلیل حساسیت دیواره باکتری‌ها می‌باشد [۲۸].



شکل(۸) میزان مقاومت کششی و درصد افزایش طول فیلم‌های تولیدی (: فیلم ژلاتین، : فیلم ژلاتین+ ۳/۹ ٪ موم عسل، فیلم ژلاتین+۶/۵ ٪ موم عسل)

Fig. 8. Tensile strength and film length percentage (gelatin film: gelatin film + 3.9% beeswax, gelatin film + 6.5%beeswax)

۴. نتیجه‌گیری

تحقیق حاضر نشان داد که افزودن موم عسل به ژلاتین خالص، به‌طور قابل ملاحظه‌ای موجب بهبود خواص مکانیکی و فیزیکی فیلم‌های ژلاتینی شده و از میزان حساسیت آن‌ها نسبت به رطوبت می‌کاهد. همچنین آزمون‌های XRD و تصاویر SEM اثبات کردند که موم عسل می‌تواند به‌طور یکنواخت در بستر فیلم ژلاتینی توزیع شده و به شکل مناسبی با رشته‌های پلیمری واکنش دهند. با توجه به نتایج این مطالعه به نظر می‌رسد فیلم‌های ترکیبی ژلاتین/موم عسل پتانسیل فراوانی جهت کاربرد در بسته بندی مواد غذایی دارد.

مراجع

[1] Arnesen, J. A., Gildberg, A. (2007). Extraction and characterization of gelatin from Atlantic salmon *(Salmo salar)* skin. *Bio Tech*., 98, 53- 57.

[2] Al-Hassan, A. A., Norziah, M.H. (2012). Starch-gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. *Food Hydro*, 26, 108-117.

[3] Amiza, M. A., Wan Maizatul Shima, W. M., Nor Hayati, I., Nizaha Juhaida, M. (2015). Optimization of gelatin extraction conditions from Cobia (*Rachycentron canadum*) skin and its physicochemical characteristics as compared to bovine gelatin. *International Food Re J*., 22(1) 50-87.

[4] AOAC.(2005). Official Method of Analysis (17th ed). Washington, DC: Association of Official Analytical.

[5] Pranoto, Y., Lee, C. M., Park, H. J. (2007). Characterizations of fish gelatin films added with gellan and κ-carrageenan. LWT-Food Sci and Technol., 40, 766-774.

[6] Ikoma, T., Kobayashi, H., Tanaka, J., Walsh, D., Mann, S. (2003). Microstructure, mechanical, and biomimetic properties of fish scales from *Pagrus major*.

on the physical properties of starch based edible films. *Food Re Inter*, 39(8):840-846.
[22] TMR. (2017). Collagen Peptide and Gelatin Market (Type - Type I (Fish and Others), and 845 Type II (Hydrolyzed and Undenatured)) - *Global Industry Analysis*, Size, Share, 846 Growth, Trends, and Forecast 2016 - 2025. In T. M. Research.
[23] Yang, H., Wang, Y., Jiang, M., OH, J. H., Herring, J., Zhou, P. (2007). 2-Step Optimization of the Extraction and Subsequent Physical Properties of Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) Skin Gelatin. *Food Chem and ToxicVol*. 72, Nr. 4,
[24] Kuhdasht, M., Moosavi-Nasab , M., Aminlari, M. (2017). Investigation of Characteristics of Gelatin Produced From Common Carp (*Cyprinus Carpio*) Wastes by Enzymatic Hydrolysis. *Iran J of Nut Sci & Food Technol*, 105-113
[25] Zhang, W., Xiao, H., Qian, L. (2014). Enhanced water vapour barrier and grease resistance of paper bilayer-coated with chitosan and beeswax. *Carbo poly*, 101, 401-406.
[26] Rezvan Nejad, A., Shakeri Sh., Nasirifar. (2017). A Comparative Study on the Antibacterial Effects of Propolis and Honey on the Secondary Agent of the European Luke (Penny Bacillus Elui) in Bee. *Veterinary Re and Bio Products*, 149-136.
[27] Khanzadi, M., Jafari, S.M., Mirzaei, H., Chegini, F.K., Maghsoudlou, Y., Dehnad, D. (2015). Physical and mechanical properties in biodegradable films of whey protein concentrate–pullulan by application of beeswax. *Carbo poly*, 118, 24-29.
[28] Monedero, F.M., Fabra, M.J., Talens, P., Chiralt, A. (2009). Effect of oleic acid–beeswax mixtures on mechanical, optical and water barrier properties of soy protein isolate based films. *J of Food Eng*., 91, 509-515.
Journal Stru Bio., 142(3):327-33.
[7] Cho, S., Gu, Y., Kim, S. (2005). Extracting optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin compared to mammalian gelatins. *Food Hydro*, 19, 221-229.
[8] Davidson, P. M., Zivanovic, S. (2003). The use of natural antimicrobials. *Food Micro Techniq*, 5-30.
[9] Gómez-Guillén, M. C., Pérez-Mateos, M., Gómez-Estaca, J., López-Caballero, E., Giménez, B., Montero, P. (2009). Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films. *Trends in Food Sci and Technol*. 20(1), 3-16.
[10] ASTM. (2002). Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. Annual book of ASTM Standards. Designation D882-02. Philadelphia: *American Society for Testing Materials*.
[11] ASTM. (2002). Standard test methods for water vapor transmission of material, E 96-95. Annual book of ASTM, American Society for Testing and Material. *Philadelphia, PA.*
[12] Jones, N. R. (1977). Uses of gelatin in edible products. *The science and technol of gel*, 366-92.
[13] Jeya Shakila, R., Jeevithan, E., Varatharajakumar, A., Jeyasekaran, G., Sukumar, D. (2012). Comparison of the properties of multi-composite fish gelatin films with that of mammalian gelatin films. *Food Chem*., 135(4), 2260–2267.
[14] Xiaowei, Z. (2017). An Overview of Recently Published Global Aquaculture Statistics.
[15] Lavorgna, M., Piscitelli, F., Mangiacapra, P., Buonocore, G.G. (2010). Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films. *Carbohydrate Poly*, 82(2), 291-298.
[16] Muyonga, J. H., Cole, C. G. B., Duodu, K. G. (2004). Extraction and physico-chemical characterization of Nile perch *(Lates niloticus)* skin and bone gelatin, *Food Hydro*., 18(4), 581 – 592.
[17] Navarro-Tarazaga, M.L., Massa, A., Pérez-Gago, M.B. (2011). Effect of beeswax content on hydroxypropyl methylcellulose-based edible film properties and postharvest quality of coated plums (*Cv. Angeleno*). *LWT-Food Sci and Technol*., 44, 2328-2334.
[18] Norajit, K., Laohakunjit, N., Kerdchoechuen, O. (2007). Antibacterial Effect of Five Zingiberaceae Essential Oils. *Molecules*, 12, 2047-2060.
[19] Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., Hosseini, S. M. H. (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chem*., 120(1), 193-198.
[20] Pranoto, Y., Lee, C.M., Park, H.J. (2005). Characterizations of fish gelatin films added with gellan and κ-carrageenan. *LWT-Food Sci and Technol*., 40, 766-774.
[21] Rodríguez, M., Oses, J., Ziani, K., Maté, J. I. (2006). Combined effect of plasticizers and surfactants

Research Article

Effect of Beeswax on Gelatin Properties Extracted from Common Carp Scale *(Cyprinus carpio)*

Lahak Barzegar[1], Seyed Mahdi Ojagh[2 *], Alireza Alishahi[2], Mojtaba Raeisi[3] , Abbas Motalebi[4]

1. Ph.D. Student, Seafood Processing, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran.
2. Associate Professor, Seafood Processing, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran.
3. Associate Professor, Food Hygen, Golestan University of Medical sciences, Iran.
4. Professor, Food Hygen, Iranian Fisheries Research Organization (IFRO).

Abstract

Gelatin is a unique colloidal protein that is used extensively in the food, pharmaceutical, medical and other industries. The aim of this study was to improve the properties of gelatin films produced from common carp scales (*Cyprinus carpio*) using beeswax. The extraction method of gelatin from common carp scales was alkaline treatment, acid treatment and thermal extraction with water. First, ash, moisture, protein and fat content of extracted gelatin was measured. The films were obtained from gelatin mixture and beeswax (containing treatments of 3.9 and 6.5% wax) and were prepared using solvent-mold method. Films evaluated for mechanical, physical, apparent and antimicrobial properties.The results showed that solubility, permeability to light and water vapor permeability was significantly decreased ($p < 0.05$) compared to control sample (gelatin film without beeswax sample) while water absorption , Light absorption, tensile strength and elongation at break of films showed a significant increase compared to the control ($p < 0.05$). On the other hand, the color changes were not significant in the samples ($p > 0.05$). The results of X-ray diffraction and electron microscopy showed that beeswax distribute in gelatin completely. In addition, the results of microbial studies showed that the composition of gelatin and beeswax in both of samples compared with the control, had a significant antibacterial effect on the bacteria of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* ($p < 0.05$). Totally, beeswax can improve the properties of gelatin films produced from gelatin extracted from common carp scales.

Keywords: Gelatin, Beeswax, Film properties, Common carp.

* Corresponding author: ojagh@gau.ac.ir