

تولید فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر از ژلاتین استخراج‌شده از پوست فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*) و بررسی مشخصات و ویژگی‌های آن‌ها

چکیده

در این تحقیق ژلاتین از پوست فیل ماهی پرورشی در شرایط مختلف pH (۳، ۵، ۷ و ۹) استخراج و به‌منظور تولید فیلم مورد استفاده قرار گرفت. ارزیابی اثر pH بکار رفته در استخراج ژلاتین بر خواص فیلم‌ها، آزمون‌های فیزیکی، مکانیکی، نوری و طیف‌سنجی مادون قرمز و سنجش تغییرات گرمایی-وزنی فیلم‌های مربوطه انجام شد. بر اساس نتایج در این تحقیق بالاترین میزان استحکام کششی در فیلم‌های با pH برابر ۷ و از نظر کشسانی، بیشترین میزان در pH ۵ مشاهده شد. حلالیت و تورم پذیری فیلم‌های تولیدی به ترتیب در pH ۷ و pH ۵ کمترین میزان را داشتند که بیانگر مقاومت نسبتاً بهتر آن‌ها به آب در مقایسه با سایر فیلم‌ها بود. از نظر نفوذپذیری به بخار آب مناسب‌ترین حالت در pH ۷ مشاهده شد. خواص نوری و شفافیت فیلم‌ها به‌طور کلی اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند. نتایج حاصل از طیف‌سنجی مادون قرمز نیز بیانگر این بود که فیلم تولیدشده در شرایط خنثی pH نسبت به pH‌های بالاتر و پایین‌تر به دلیل فرآیندهای تخریبی کمتر محتوای ماریچ سه‌گانه سبب بهبود خواص مکانیکی آن‌ها در مقایسه با سایر فیلم‌ها شده است. به‌طور کلی می‌توان عنوان کرد که از بین فیلم‌های تولیدشده، فیلم‌های حاصل از pH برابر ۷ از نظر خواص مکانیکی و پایداری در برابر آب نسبت به فیلم‌های تهیه‌شده در سایر pH‌ها مناسب‌تر بودند. همچنین پایداری حرارت فیلم‌های تولیدی در pH ۷ نسبت به pH ۵ بالاتر بود که این پدیده را می‌توان به اثر تخریبی pH اسیدی استخراج نسبت داد.

واژگان کلیدی: استخراج ژلاتین، فیلم خوراکی، پوست فیل ماهی، ساختار ماریچ سه‌گانه، پایداری حرارتی.

مقدمه

مشکلات زیست‌محیطی مواد مورد استفاده در صنعت بسته‌بندی به‌ویژه پلاستیک‌های سنتزی سبب شده تا فیلم‌های جدید زیست‌تخریب‌پذیر تهیه‌شده از منابع تجدیدپذیر به‌عنوان یک عامل مهم در کاهش اثر زیست‌محیطی زباله‌های پلاستیکی مورد توجه قرار گیرند (Gómez-Guillén et al., 2011). امروزه تولید فیلم‌های پروتئینی خوراکی فعال به دلیل مزایای آن از جمله زیست‌تخریب‌پذیری بودن و قابلیت انتقال مواد نگهدارنده توسعه زیادی یافته است. در نتیجه در سالهای اخیر تحقیقات بسته‌بندی بیشتر بر تولید فیلم‌های خوراکی یا زیست‌تخریب‌پذیر از پلیمرهای طبیعی متمرکز بوده است (Rui et al., 2017). از بین مواد مورد استفاده برای تهیه فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها به دلیل ویژگی‌های ساختاری و مکانیکی مطلوب گزینه‌های مناسبی می‌باشند. پروتئین‌ها به دلیل فراوانی نسبتاً بالا توانایی تشکیل فیلم و کیفیت مغذی مناسب می‌توانند به‌طور گسترده برای آماده‌سازی فیلم‌های خوراکی استفاده می‌شوند (Pires et al., 2011). ژلاتین به دلیل فراوانی و

میلاد زعفرانی تبریزی^۱

سید مهدی اجاق^{۲*}

علیرضا عالیشاهی^۳

محسن کاظمی^۴

۱. کارشناسی ارشد فرآوری محصولات شیلاتی،
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،
گرگان، ایران

۲، ۳. دانشیار گروه فرآوری محصولات شیلاتی،
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،
گرگان، ایران

۳. دانشجوی دکتری فرآوری محصولات شیلاتی،
دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

*مسئول مکاتبات:

mahdi_ojagh@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۲۰

کد مقاله: ۱۳۹۷۰۴۰۶۴۹

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی
ارشد است.

تجزیه‌پذیری برای تولید فیلم‌های خوراکی موردتوجه است. ژلاتین نوعی پروتئین است که در طبیعت موجود نیست و از طریق تخریب پیوندهای عرضی بین زنجیره‌های پلی‌پپتیدی کلاژن همراه با ایجاد سطوح مختلف شکستگی در زنجیرهای پلی‌پپتیدی آن حاصل می‌شود. در سال‌های اخیر با توجه به شیوع بیماری‌های ناشی از مصرف ژلاتین گاوی و همچنین عدم پذیرش ژلاتین خوک نزد گروه‌های مذهبی، تحقیق روی منابع خام دیگر ژلاتین افزایش‌یافته است (Nagarajan et al., 2017). امروزه تضمین پاک و حلال بودن محصول عامل بسیار مهمی در تجارت جهانی غذا محسوب می‌شود. غذاهای حلال بخش عمده‌ای از محصولات غذایی جدید را شامل می‌شوند. بسیاری از شرکت‌ها در صنعت غذا، به خاطر زبان و عوارض ناشی از برگشت و پس فرستادن غذا ترجیح می‌دهند تمام خطوط تولید و فرآوری آن‌ها بر اساس تولید غذای حلال و پاک عمل کنند. برای روشن شدن بهتر موضوع می‌توان عنوان کرد که تعداد مسلمانان جهان بیش از ۱/۳ میلیارد نفر بوده و تجارت غذای حلال در آمریکا به حدود ۱۵۰ میلیارد دلار می‌رسد (Pranoto et al., 2007) از طرفی مطالعات انجام‌شده روی تولید فیلم از ژلاتین ماهی نشان داد که ژلاتین تولیدی از همه ماهیان نیز خواص تشکیل فیلم عالی دارند (Qiao et al., 2017) عمل‌آوری آبزیان معمولاً منجر به تولید مقادیر زیادی ضایعات می‌شود که می‌توانند برای تولید ژلاتین استفاده شوند (Ninan et al., 2010). پوست‌واستخوان و فلس گونه‌های زیادی از ماهی‌ها برای تولید ژلاتین بررسی شده‌اند. باین‌حال پوست ماهیان خاویاری در این زمینه تاکنون مورد استفاده قرار نگرفته‌اند (Kelleher et al., 2005). پوست ماهی حاوی مقادیر متفاوتی از مواد معدنی مختلف، پروتئین‌های بافت پیوندی، چربی‌ها می‌باشد. فیل ماهی پرورشی از جمله ماهیانی خاویاری است که در ایران به دلیل تولید خاویار و استفاده از گوشت آن در طول سال پرورش و مصرف می‌شود. ژلاتین به دلیل فراوانی و تجزیه‌پذیری برای تولید فیلم‌های خوراکی موردتوجه بیشتری است. در سال‌های اخیر با توجه به شیوع بیماری‌های ناشی از مصرف ژلاتین گاوی و همچنین عدم پذیرش ژلاتین خوک نزد گروه‌های مذهبی، تحقیق روی منابع خام دیگر ژلاتین افزایش‌یافته است. عمل‌آوری آبزیان معمولاً منجر به تولید مقادیر زیادی ضایعات (فلس، پوست، استخوان و...) می‌شود که می‌توانند برای تولید ژلاتین استفاده شوند (Peranoto et al., 2007). بعلاوه چندین مطالعه گزارش کردند که خواص فیزیکی فیلم‌های تولیدی بر پایه پروتئین به میزان زیادی تحت تأثیر pH محلول تشکیل فیلم قرار می‌گیرد (Yeganeh et al., 2010). باین‌حال اطلاعات کمی مرتبط با اثرات تغییرات pH مورد استفاده در استخراج ژلاتین از پوست ماهی و تأثیر آن بر خواص فیلم تولیدی موجود هست. در مطالعه حاضر در مرحله اول ژلاتین از پوست فیل ماهی پرورشی در pH های مختلف استخراج شد و در مرحله بعد تأثیر pH فرآیند استخراج بر مشخصات فیلم‌های تولیدی به‌وسیله آزمون‌های مربوطه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از پوست فیل ماهی پرورشی تازه، NaOH، CH₂COOH و گلیسرول ساخت شرکت Merck، آب اکسیژنه (H₂O₂) استفاده گردید. پوست‌ها از هایپرمارکت تهران هنگام فیله کردن ماهیان تازه تهیه‌شده و پس از یخ پوشی به آزمایشگاه شیمی منتقل شدند. پس‌از آن کاملاً با آب سرد شسته و در دمای ۲۵°C نگهداری گردیدند.

۱- استخراج ژلاتین از پوست فیل ماهی بر اساس روش Ketnawa و همکاران (۲۰۱۷) با اندکی اصلاح انجام شد. ابتدا به‌منظور خیساندن پوست ماهی و حذف چربی و پروتئین‌های غیر کلاژنه، پوست‌ها در محلولی مرکب از NaOH (۰/۲ مولار) و H₂O₂ با نسبت ۱:۱۰۰ فلس/محلول (وزنی/حجمی) به مدت ۲ ساعت در دمای حدود ۴°C در هم زن یخچال دار قرار داده شدند. سپس پوست تیمار شده با آب شهری شستشو داده شد تا زمانی که PH آب موردنظر به زیر ۷/۵ برسد. زدودن مواد معدنی از پوست‌ها با استفاده از محلول CH₂COOH (۰/۰۵ مولار) با نسبت ۱:۱۰۰ (وزنی/حجمی) پوست/محلول به مدت ۳ ساعت در دمای اتاق انجام شد، سپس پوست‌های تیمار شده با اسید به روشی که گفته شد مجدد شست‌وشو داده می‌شود. بعد از انجام پیش تیمار، پوست‌های متورم در pH های متفاوت (۳، ۵، ۷ و ۹) که به‌وسیله CH₂COOH و NaOH

(۱) نرمال) ایجاد شد خیس‌انده و به‌منظور استخراج ژلاتین، در دمای 45°C به مدت ۱۲ ساعت حرارت داده شدند. بعدازاین مرحله، محلول‌های موردنظر به مدت ۳۰ دقیقه در دمای 20°C در دور ۱۵۰۰ (دور در دقیقه) سانتریفیوژ شدند Eppendorf 5810R جداسازی و فیلتر و فریز درایر انجام شد و ماده خشک به‌دست‌آمده به‌عنوان پودر ژلاتین در دمای 20°C تا زمان استفاده ذخیره شد.

فیلم‌های ژلاتینی بر اساس روش weng و همکاران در ۲۰۱۴ تولید شدند. پودرهای ژلاتین تولیدشده در pH های مختلف (۳، ۵، ۷ و ۹) به مدت ۳۰ دقیقه در آب مقطر که به‌وسیله CH_2COOH و NaOH (۱ نرمال) ایجاد شدند متورم شده و سپس در دمای 60°C به‌منظور تولید محلول تشکیل فیلم با غلظت پروتئین ۲ درصد (وزنی/حجمی) حل شدند. گلیسرول با غلظت ۳۰ درصد (وزنی-وزنی) پروتئین به محلول فیلم‌ساز افزوده شد، سپس محلول‌های فیلم‌ساز به‌وسیله دسیکاتور تحت خلأ حباب زدایی شده و متعاقباً ۱۵ سی‌سی از آن‌ها درون ظروف پلاستیکی لبه‌دار به ابعاد $8/4 \times 8/4$ سانتی‌متر ریخته شده و در دمای 25°C و رطوبت نسبی ۵۰ درصد به مدت تقریباً ۲۴ ساعت خشک شدند. فیلم‌ها سپس به‌صورت دستی جداشده و برای آنالیزهای فیزیکی، مکانیکی، نوری و حرارتی استفاده شدند.

سنجش میزان ضخامت نمونه‌ها با استفاده از ریزسنج دیجیتالی با دقت $0/001$ میلی‌متر (Mitutoyo, Japan) انجام گرفت. ۱۰ نقطه از هر نمونه برای اندازه‌گیری انتخاب شد. میانگین ضخامت‌های به‌دست‌آمده برای تعیین میزان مقاومت کششی و نفوذپذیری به بخار آب استفاده گردید. خواص مکانیکی با استفاده از دستگاه تجزیه‌وتحلیل بافت (SANTAM-STM-5) ارزیابی شد. نمونه‌های فیلم در ابعاد 10 سانتی‌متر $\times$ $2/54$ برای انجام اندازه‌گیری‌ها برش داده شدند. فاصله بین دو فک 50 میلی‌متر و سرعت حرکت فک‌ها 50 میلی‌متر بر دقیقه بود. حداقل سه تکرار برای هر فیلم در نظر گرفته شد. فاکتورهایی شامل مقاومت به کشش و درصد افزایش طول تا نقطه پاره شدن طبق استاندارد ASTM D882-02 از روی منحنی‌های نیرو برحسب تغییر شکل به دست آمدند (ASTM, 2010).

نفوذپذیری فیلم‌ها بر اساس روش E96 مصوب ASTM اندازه‌گیری شد (ASTM, 2010) فیلم‌ها توسط گریس روی سطح سلول‌های اندازه‌گیری ثابت‌شده و درون دسیکاتور حاوی سیلیکاژل قرار داده شدند. آب در دمای 25°C رطوبت ۱۰۰ درصد ایجاد می‌کند. اختلاف رطوبت در دو سمت روکش در دمای 25°C سبب اختلاف فشار بخاری معادل $10^3 \times 2/337$ پاسکال می‌شود. سلول در لحظه صفر و ۱۰ ساعت پس از شروع آزمایش توزین و میزان تغییرات وزنی آن‌ها محاسبه شد. نفوذپذیری به بخار آب طبق رابطه ۱ به دست آمد.

/ میانگین ضخامت فیلم (X) $\times$ کاهش وزن (W) = نفوذپذیری به بخار آب (WVP) (10^{-10} g/ms Pa)

رابطه ۱:

اختلاف فشار دو سمت فیلم (ΔP) $\times$ زمان (t) $\times$ سطح در معرض فیلم (A)

نمونه‌ها ابتدا به مدت ۲۴ ساعت درون دسیکاتور حاوی سیلیکاژل قرار گرفتند سپس وزن اولیه آن‌ها مشخص شد. در مرحله بعد فیلم‌ها درون ظروف محتوی آب مقطر در دمای 25°C قرار داده شدند. فیلم‌ها به‌صورت دوره‌ای و در فواصل زمانی معین (۵ دقیقه) از ظرف خارج و قبل از وزن کردن سطح آن‌ها به‌آرامی توسط دستمال خشک‌شده و توزین نمونه تا رسیدن به وزن ثابت ادامه پیدا کرد. میزان جذب رطوبت از رابطه ۲ محاسبه گردید (Lavorgna et al., 2010).

رابطه ۲: $100 \times [\text{وزن فیلم قبل از غوطه‌وری} / (\text{وزن فیلم قبل از غوطه‌وری} - \text{وزن فیلم پس از غوطه‌وری})] = \text{جذب رطوبت } (\%)$

ابتدا وزن اولیه نمونه‌ها پس از خشک شدن در دمای 105°C تعیین گردید. سپس نمونه‌ها درون ظروف محتوی آب مقطر غوطه‌ور شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای 25°C به شکل ملایمی تکان داده شدند. سپس فیلم‌ها توسط کاغذهای صافی که از قبل خشک و توزین شده بودند فیلتر شدند و مجدداً در دمای 105°C خشک شدند. حلالیت فیلم‌ها از رابطه ۳ محاسبه گردید (Mahjoorian et al., 2013).

رابطه ۳: وزن نمونه خشک اولیه / ۱۰۰ × (وزن فیلم بعد از غوطه‌وری - وزن نمونه خشک اولیه) = حلالیت فیلم (%)

مقدار رطوبت به‌وسیله خشک‌کردن تکه‌های کوچکی از فیلم در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت تعیین شد. وزن فیلم‌ها قبل قرار دادن در آون و بعد از خشک‌کردن در آون ثبت شد. مقدار رطوبت به‌صورت درصد از دست رفتن وزن بر اساس وزن اولیه محاسبه شد. برای هر نوع فیلم ۳ تکرار انجام شد.

به‌منظور سنجش میزان رنگ سطحی از دستگاه رنگ‌سنج (BYK Gardner, USA) استفاده گردید. نمونه‌ها روی کاشی استاندارد سفیدرنگ قرار گرفتند و ۳ فاکتور L^* (شفافیت)، a^* (+ قرمز / - سبز) و b^* (+ زرد / - آبی) برای آن‌ها تعیین گردید. همچنین برای محاسبه اختلاف رنگ نمونه‌ها (ΔE)، داده‌های به‌دست‌آمده برای سه فاکتور فوق مرتبط با مرجع و نیز سه فاکتور L^* ، a^* و b^* مرتبط با هر نمونه در رابطه ۴ قرار داده شد (Ojagh et al., 2010).

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2} \quad \text{رابطه ۴:}$$

جهت سنجش میزان عبور نور و کدورت فیلم‌ها، نمونه‌های فیلم (4×1 سانتی‌متر)، جهت انجام آنالیز درون سلول‌های اسپکتروفتومتری قرار گرفتند. به‌منظور سنجش میزان عبور نور و کدورت، به ترتیب از طول موج ۸۰۰-۲۰۰ نانومتر و ۶۰۰ نانومتر برای اسکن استفاده گردید. جهت محاسبه میزان کدورت فیلم‌ها از رابطه ۵ استفاده شد:

رابطه ۵: ضخامت فیلم / میزان جذب در طول موج ۶۰۰ نانومتر = کدورت فیلم

طیف‌سنجی مادون‌قرمز با تبدیل فوریه در حالت عبور با استفاده از دستگاه FTIR اسپکتروفتومتر (Bruker Equinox 55) در گستره cm^{-1} ۴۰۰۰-۶۰۰ و در تفکیک‌پذیری cm^{-1} ۴ تعیین گردید.

نمونه فیلم‌های خشک‌شده در PH، ۷ و ۵ از دمای ۲۵ تا ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت گرمایش ۱۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه به همراه گاز نیتروژن خالص با سرعت جریان ۲۰ میلی‌لیتر در دقیقه با دستگاه (TGA-7، Perkin Elmer، Norwalk، CT، USA) مورد آنالیز قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری با نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ انجام گردید که در آن جهت بررسی اختلاف بین داده‌های حاصله از فیلم‌ها، از تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) استفاده شد. همچنین جهت تعیین وجود تفاوت معنی‌دار بین مقادیر میانگین تیمارهای مختلف از آزمون Duncan در سطح $P < 0.05$ استفاده شد. تمام آزمایش‌ها با حداقل ۳ تکرار انجام گرفت.

نتایج

خواص مکانیکی نتایج حاصل از آزمون مکانیکی فیلم‌های تولیدی از ژلاتین استخراجی از پوست فیل ماهی در pH های مختلف در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: خواص مکانیکی فیلم‌های حاصل از ژلاتین استخراج‌شده از پوست فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*) در

pH های مختلف.

pH استخراج	مقاومت به کشش (Mpa)	ازدیاد طول (%)	ضخامت (mm)
۳	4.5 ± 0.45	11.8 ± 4.93	0.069 ± 0.008
۵	5.28 ± 1.08	66.66 ± 23.35	0.061 ± 0.003
۷	6.87 ± 1.16	52.75 ± 14.77	0.047 ± 0.006
۹	4.75 ± 0.55	11.72 ± 4.145	0.063 ± 0.001

حروف متفاوت (a, b, C و...) در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح $P < 0.05$ است

طبق جدول بالاترین میزان استحکام کشش مربوط به فیلم ژلاتینی با pH برابر ۷ بود (6.87 Mpa) و با افزایش و کاهش pH این شاخص کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$) و به پایین‌ترین سطح در pH برابر ۳ رسید (4.5 Mpa). همچنین ازدیاد طول در نقطه شکست فیلم‌ها به بالاترین میزان خود در pH ۵ (66.66 Mpa) و pH ۷ رسید (52.75 Mpa) اما با تغییر pH از این حدود مجدداً کاهش یافته و به (11.72) در pH ۹ رسید؛ بنابراین می‌توان گفت فیلم‌های ژلاتینی بهترین خواص مکانیکی را در pH ۷ و ضعیف‌ترین را در pH ۳ ارائه دادند. به‌طور کلی TS و E به‌منظور نشان دادن چگونگی ارتباط خواص مکانیکی مواد تشکیل‌دهنده فیلم با ساختار شیمیایی‌شان مورد استفاده قرار می‌گیرند.

نتایج مربوط به رطوبت، حلالیت، تورم پذیری، نفوذپذیری در برابر بخار و ضخامت فیلم‌های ژلاتینی در جدول ۲ ارائه شده است. در ارتباط با درصد رطوبت با افزایش pH ابتدا درصد رطوبت فیلم‌ها ابتدا کاهش و سپس افزایش یافت به گونه‌ای که کمترین درصد رطوبت را pH ۵ ($8/86$ درصد) و بیشترین درصد را pH ۳ ($11/87$ درصد) داشتند. داده‌های مربوط به حلالیت نیز نشان داد که با افزایش pH به بالاتر از ۷ این شاخص به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و به بالاترین حد خود در pH ۹ ($30/25$ درصد) رسید در حالی که کمترین میزان آن در pH ۷ ($23/9$ درصد) مشاهده شد.

طبق نتایج مربوط به درصد تورم پذیری که در (جدول ۲) نشان داده شده است، بالاترین میزان در pH ۵ مشاهده شد اما در فیلم‌های حاصل از ژلاتین استخراجی در pH ۷ به‌طور معنی‌داری کمتر شده بود و به پایین‌ترین حد خودش رسید ($55/72$ درصد). به‌طور کلی درصد تورم پذیری فیلم‌های ژلاتینی بالا است و در مدت‌زمان کمی به میزان قابل توجهی آب جذب کرده و متورم می‌شوند (Weng et al., 2015). علاوه بر این تورم رابطه مستقیمی با ضعف مکانیکی فیلم‌ها دارد و جلوگیری از تورم برای فیلم‌های مورد استفاده در بسته بندی مواد غذایی امری مفید است (Mu et al., 2012)؛ بنابراین و با توجه به نتایج حاصل از حلالیت می‌توان گفت که فیلم‌های حاصل از ژلاتین استخراجی در pH ۷ بیشترین مقاومت را نسبت به سایر تیمارها در برابر آب دارند.

نتایج حاصل از بررسی نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های تولیدی نشان داد که بیشترین میزان نفوذپذیری در فیلم‌های حاصل از ژلاتین استخراجی در pH ۳ مشاهده شد ($1/91 \times 10^{-10}$ g/ms Pa) و کمترین میزان ($1/35 \times 10^{-10}$ g/ms Pa) در pH ۷ مشاهده شد. است.

تولید فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر از ژلاتین استخراج‌شده از پوست فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*) و بررسی ... / زعفرانی تبریزی

جدول ۲: خواص فیزیکی فیلم‌های حاصل از ژلاتین استخراج‌شده از پوست فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*) در pH

های مختلف.

pH استخراج	رطوبت (%)	حلالیت (%)	تورم پذیری (%)	نفوذپذیری (10 ⁻¹⁰ g/ms Pa)	ضخامت (mm)
۳	^a ۱۱/۸۷±۳/۰۵	^a ۲۴/۳±۰/۴۲	^b ۵۷۵/۷۲±۴۴۵/۲۰	^a ۱/۹۱±۰/۲۴	^b ۰/۰۸۶±۰/۰۰۵
۵	^a ۸/۸۶±۳/۷۹	^a ۲۴/۷۳±۱/۸۷	^a ۱۲۲۸/۱۰±۱۴۹/۸۶	^{ab} ۱/۷۲±۰/۰۶	^a ۰/۱۰۲±۰/۰۰۴
۷	^a ۱۰/۰۲±۲/۰۹	^a ۲۳/۹±۲/۱۹	^b ۵۵۱/۷۲±۸۸/۹۷	^b ۱/۳۵±۰/۲۳	^c ۰/۰۷۶±۰/۰۰۵
۹	^a ۱۰/۶۸±۰/۹	^a ۳۰/۲۵±۹/۵۷	^a ۱۲۰۹/۳۰±۴/۱۸	^{ab} ۱/۶۶±۰/۲۳	^{ab} ۰/۰۹۵±۰/۰۰۲

حروف متفاوت (a, b, c و...) در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح P<۰/۰۵ است.

همان‌گونه که در جدول ۳ مشهود است شاخص ^a* و ^b* فیلم‌های تولیدی در pH های مختلف تفاوت معنی‌داری نشان ندادند.

جدول ۳: ویژگی‌های رنگ سطحی فیلم‌های حاصل از ژلاتین استخراج‌شده از پوست فیل ماهی پرورشی (*Huso*)

(*huso*) در pH های مختلف.

pH استخراج	L*	a*	b*	ΔE
۳	^c ۸۵/۷۶±۰/۲۳	^a ۲/۲۳±۰/۴	^b ۵/۱۰±۰/۰۰	^a ۱۲/۱۴±۰/۱۸
۵	^a ۹۱/۳۰±۰/۶۲	^a ۲/۰۰±۰/۰۰	^a ۴/۰۰±۰/۴۶	^c ۶/۹۴±۰/۵۸
۷	^b ۸۷/۴۶±۰/۶۳	^a ۲/۰۰±۰/۰۰	^a ۵/۳۶±۰/۹۲	^b ۱۰/۷۰±۰/۹۴
۹	^c ۸۶/۰۳±۰/۴۶	^a ۲/۲۳±۰/۴	^a ۵/۱۰±۰/۰۰	^a ۱۱/۹۱±۰/۳۶

حروف متفاوت (a, b, c و...) در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح P<۰/۰۵ است

در جدول ۴، درصد عبور اشعه نور فرابنفش و مرئی و همچنین میزان کدورت فیلم‌های تولیدی از ژلاتین استخراج‌شده در pH های مختلف، در طول موج‌های انتخابی (نانومتر ۲۰۰ تا ۸۰۰) در جدول ۴ ارائه شده است.

جدول ۴: ویژگی کدورت و نفوذپذیری به نور فیلم‌های حاصل از ژلاتین استخراج‌شده از پوست فیل ماهی پرورشی

(*Huso huso*) در pH های مختلف.

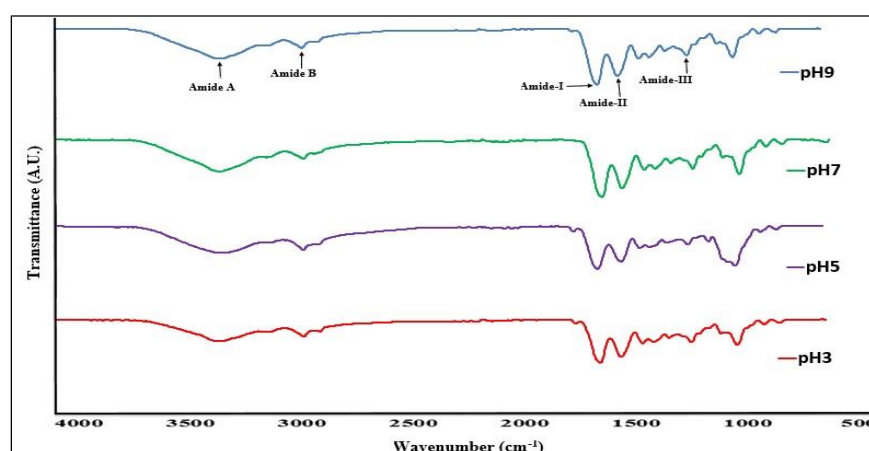
pH استخراج	۲۰۰	۲۸۰	۳۵۰	۴۰۰	۵۰۰	۶۰۰	۷۰۰	۸۰۰	کدورت
۳	۲/۸۹	۰/۹۷	۰/۴۵	۰/۱	۰/۰۹۴	۰/۰۹۲	۰/۰۹۴	۰/۰۴۹	^c ۰/۵۸±۱/۵۸
۵	۲/۹۷	۰/۹۲	۱/۳۷۱	۰/۱۶	۰/۱۵۶	۰/۱۴	۰/۱۴۱	۰/۰۸۷	^b ۰/۹۲±۰/۵۲
۷	۱/۲۰	۰/۶۱۰	۱/۰۸۱	۰/۰۵۱	۰/۰۵۶	۰/۰۴۳	۰/۰۵	۰/۰۳۸	^a ۰/۰۸±۰/۴۳
۹	۲/۹۲	۰/۹۰۶	۰/۹۲۴	۰/۰۹۲	۰/۱۱	۰/۰۹۹	۰/۱۰۸	۰/۰۵۸	^c ۰/۸۳±۰/۸۵

حروف متفاوت (a, b, c و...) در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح P<۰/۰۵ است. طول موج (nm)

نتایج مرتبط با طیف‌سنجی مادون قرمز فیلم‌های پروتئینی خالص در شکل ۱ نشان داده شده است. نمودارهای مرتبط با فیلم‌های پروتئین خالص در پی اچ های ۳، ۵، ۷، ۹ در حالت کلی تقریباً شبیه بودند؛ اما در بررسی دقیق تغییراتی را در شدت و مکان پیک‌ها نشان دادند. این فیلم‌ها به‌طور کلی پیک‌های عمده‌ای را در نواحی موسوم به Amide ارائه دادند. باندهای واقع در ۳۳۷۰، ۳۰۰۲، ۱۶۵۶، ۱۶۲۵، ۱۰۷۹ به ترتیب به آمید A و آب آزاد،

آمید B، آمید I، آمید II و آمید III، مربوط است که در فیلم‌های مختلف باهم شباهت دارند آمید A نشان‌دهنده C=O (کششی) همراه با پیوند هیدروژنی (N-H کششی / OH کششی)، آمید B نیز نشان‌دهنده اسیدهای چرب، آمید I نشان‌دهنده C=O کششی / پیوند هیدروژنی به همراه COO، آمید II ناشی از ارتعاشات خمشی گروه N-H و ارتعاشات کششی گروه‌های C-N و آمید III به ارتعاشات گروه‌های N-H و C-N محدود آمیدی و یا ارتعاشات گروه CH₂ گلايسين وابسته است.

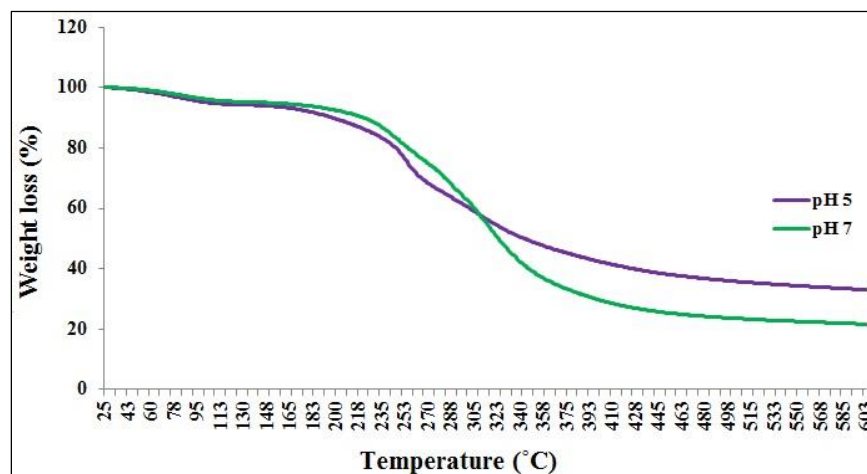
بررسی FTIR نشان داد PH روش استخراج ژلاتین از پوست فیل ماهی بر خواص مختلف فیلم‌های تولیدی اثرگذار است، اما اختلاف معنی‌دار چشمگیری نداشتند و به‌طور کلی از بین ۴ تیمار PH (۳، ۵، ۷، ۹) که مورد بررسی قرار گرفتند، مناسب‌ترین فیلم در PH، ۷ مشاهده شد که از نظر خواص فیزیکی و مکانیکی بر سه تیمار دیگر برتری داشت.



شکل ۱: نمودار FTIR فیلم‌های حاصل از ژلاتین استخراج‌شده از پوست فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*) در pH های مختلف.

الگوهای رفتاری مرتبط با تغییرات گرمایی-وزنی فیلم‌های ژلاتینی در pH های مختلف ۵ و ۷ به دلیل دارا بودن خواص فیزیکی و مکانیکی بهتر نسبت به pH های دیگر در شکل زیر ارائه شده است. طبق نمودارها سه مرحله اصلی تخریب و کاهش وزن در تمام فیلم‌های تولیدی مشاهده شد. کاهش وزن اول در رنج دمایی کمتر از ۱۰۰ احتمالاً به دلیل کاهش و یا تبخیر آب آزاد، آب متصل و همچنین دیگر ترکیبات فرار جذب‌شده در فیلم می‌باشد که در هر دو فیلم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد و مرحله دوم تخریب بیانگر شروع تخریب و تجزیه دمایی در ماتریس فیلم‌هاست که به‌عنوان مهم‌ترین دمای شروع کاهش وزن نام‌برده می‌شود. مرحله دوم تخریب/کاهش وزن ($W2\Delta=24/73-29/95\%$) در رنج دمایی (Td2) ۱۵-۲۲۴/۱۹۵ بسته به فیلم‌های مختلف آغاز شد.

سومین مرحله تخریب/کاهش وزن ($W3\Delta=34/56-51/39\%$) در فیلم‌های مختلف در محدوده دمایی (Td3) ۳۳-۲۸۶/۶۶ آغاز شد. به‌طور کلی مشاهده شد که در فیلم‌های ژلاتینی در pH ۷ پایداری حرارتی بالاتری نسبت به pH ۵ وجود دارد. همچنین بالاترین درصد وزن باقی‌مانده در فیلم‌های ژلاتینی در pH ۵ مشاهده شد. فیلم‌های ژلاتینی در pH (۵ و ۷) دمای تخریب ابتدایی تقریباً مشابهی داشتند اما میزان کاهش وزن کمتر و باقی‌مانده بیشتری در pH (۵) مشاهده شد و همچنین پایداری حرارت در pH ۷، ۵ بالاتر بود که می‌توان این‌گونه بیان کرد که با افزایش pH در طی فرآیند استخراج و تولید فیلم‌های ژلاتینی از پوست فیل ماهی پایداری حرارتی به نسبت افزایش یافته و درصد وزن باقی‌مانده کاهش می‌یابد.



شکل ۲: نمودار آزمون سنجش تغییرات گرمایی وزنی (TGA) فیلم‌های حاصل از ژلاتین استخراج‌شده از پوست فیل ماهی پرورشی (pH های ۵ و ۷).

بحث و نتیجه‌گیری

طبق نتایج Weng و همکاران (۲۰۱۴) مشخص شده است که خواص مکانیکی فیلم‌های حاصل از ژلاتین تولیدی از پوست فیل ماهی در pH های مختلف تحت تأثیر میزان محتوای ماریچ سه‌گانه قرار می‌گیرد و ارتباط بالایی بین TS و محتوای ماریچ آلفا ژلاتین پوست وجود دارد که بر این اساس می‌توان استنتاج کرد که ضعف TS در pH ۳ و ۹ ناشی از تخریب قابل‌توجه ساختار سه‌گانه در اثر هیدرولیز اسیدی و قلیایی بوده است. حالیت یکی از ویژگی‌های مهم در فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر است، زیرا میزان مقاومت فیلم نسبت به آب، مخصوصاً در محیط‌های حاوی رطوبت مثل مواد گوشتی را تعیین و مقایسه کند (Siripatrawan *et al.*, 2010). به‌طور کلی ژلاتین هیرو کرومیک است یعنی به نسبت رطوبت محیط تغییر پذیر است و همچنین ژلاتین ماهی در مقایسه با ژلاتین پستانداران محتوای ایمینواسید (پرولین و هیدروکسی پرولین) کمتری دارد که این می‌تواند دلیل حالیت بیشتر فیلم‌های حاصل از آن‌ها در مقایسه با پستانداران باشد (Bigi *et al.*, 2002) اما نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که میزان حالیت در فیلم‌های تولیدی از ژلاتین استخراج‌شده از پوست فیل ماهی در pH ۷ نسبت به میزان حالیت مشاهده‌شده در تحقیقات مشابه به مراتب کمتر است و با فیلم‌های تولیدی از ژلاتین پستانداران قابل‌مقایسه است. به‌طور کلی درصد تورم پذیری فیلم‌های ژلاتینی بالا است و در مدت‌زمان کمی به میزان قابل‌توجهی آب جذب کرده و متورم می‌شوند (Weng *et al.*, 2015). علاوه بر این تورم رابطه مستقیمی با ضعف مکانیکی فیلم‌ها دارد و جلوگیری از تورم برای فیلم‌های مورد استفاده در بسته بندی مواد غذایی امری مفید است (Mu *et al.*, 2012)؛ بنابراین و با توجه به نتایج حاصل از حالیت می‌توان گفت که فیلم‌های حاصل از ژلاتین استخراجی در pH ۷ بیشترین مقاومت را نسبت به سایر تیمارها در برابر آب دارند. نفوذپذیری نسبت به بخار آب عاملی مهم در درک تغییر رطوبت بین پوشش محصول و محیط اطراف است. به‌طور کلی فیلم‌های پروتئینی به دلیل داشتن گروه‌های آب‌دوست نفوذپذیری بالایی به بخار آب دارند (Hao *et al.*, 2009). در این تحقیق بالاترین میزان نفوذپذیری در شرایط اسیدی مشاهده شد که با افزایش pH به سمت pH ۷ کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$) اما با افزایش pH به سمت قلیایی مجدداً افزایش یافت. این نتایج به یافته‌های حاصل از تحقیق Weng و همکاران (۲۰۱۴) نزدیک بود که اظهار داشته‌اند پایین‌تر بودن نفوذپذیری در فیلم‌های حاصل از ژلاتین استخراجی در pH های مختلف مثل ۷ می‌تواند ناشی از محتوای بالاتر آمینواسیدهای هیدروفوبیک به دلیل نبود اسید و باز در آن‌ها باشد که می‌توانند نقش سد کننده در برابر عبور بخار آب داشته باشند (da Trindade Alfaro *et al.*, 2013).

شاخص اختلاف رنگ فیلم‌های تولیدی نیز گواه بر این مسئله داشت که با افزایش pH استخراج ژلاتین از پوست فیل ماهی پرورشی اختلاف رنگ فیلم‌ها با کاشی استاندارد سفیدرنگ افزایش میابد. به‌طور کلی می‌توان عنوان کرد که فیلم‌های تولیدی در شرایط اسیدی از خواص رنگی بهتری نسبت به pH قلیایی برخوردار بودند. هرچه فیلم خاصیت سد کنندگی بیشتری در برابر UV داشته باشد مناسب‌تر است و می‌تواند سبب جلوگیری از بروز فساد اکسیداسیونی در مواد غذایی بسته‌بندی شده گردد. در ناحیه نور مرئی نیز فیلم‌ها گذرده‌ی مناسبی نشان دادند که این مطلب نیز بر اساس نتایج تحقیقات مشابه اثبات شد (Weng et al., 2014؛ Hosseini et al., 2013). کدورت نیز معیاری جهت سنجش شفافیت فیلم‌هاست. هرچه کدورت بالاتر باشد شفافیت کمتر است. مقایسه میزان کدورت فیلم‌های تولیدی نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها وجود داشت و رنج پایین کدورت در pH ۷ و بیشترین در pH ۵ بود که این بیانگر این است که تا pH ۵، افزایش یافته و بعد از آن مجدداً تا pH ۷ شروع به کاهش و در آخر افزایش یافته است. (جدول ۴). باندهای جذبی طیف محدوده‌ی آمیدی، در ناحیه‌ای مشابه به فیلم‌های تولیدی از ژلاتین حاصل از پوست ماهی مرکب در تحقیق ونگ و همکاران و فیلم‌های تولیدی از ژلاتین تولیدی از فلس کپور معمولی در تحقیق اجاقی و همکاران قرار گرفته است. در تحقیق مشابه (Weng et al., 2014) گزارش کردند که مقیاس pH استخراج ژلاتین بر فرکانس آمید های A و ۱ تأثیر نمی‌گذارد. همچنین گزارش شده است. بر اساس مشاهدات (Weng et al., 2014)، آنالیز پیک در گستره ۱۶۹۰-۱۶۰۶ بدین ترتیب است که: باند در گستره ۱۶۰۶ و ۱۶۲۶ مختص گروه‌های آمیدی است که در ساختار صفحات بتا دخالت دارند، باندهای قوی در ناحیه ۱۶۴۲ و ۱۶۵۸ به ترتیب مختص به ساختارهای نامنظم و همچنین ساختار ماریچ آلفا می‌باشد. به‌طور کلی ژلاتین از تخریب ماریچ سه‌گانه کلاژن حاصل می‌شود که مشخص شده است که خواص مکانیکی ژل حاصل از ژلاتین مستقیماً تحت تأثیر میزان محتوای ماریچ سه‌گانه قرار دارد. می‌توان گفت که فیلم تولیدشده در شرایط خنثی (pH ۷) نسبت به pH های بالاتر و پایین‌تر با استناد به پیک‌های موجود و به دلیل فرآیندهای تخریبی کمتر محتوای ماریچ سه‌گانه (ساختار ثانویه پروتئین) به همچنین عدم وجود اسید و قلیا و تخریب کمتر ساختار پروتئین باند جذبی قوی‌تری در ناحیه آمید ۱ دارد، بنابراین از خواص مکانیکی بهتری نیز برخوردار است. بررسی FTIR نشان داد PH روش استخراج ژلاتین از پوست فیل ماهی بر خواص مختلف فیلم‌های تولیدی اثرگذار است، اما اختلاف معنی‌دار چشمگیری نداشتند و به‌طور کلی از بین ۴ تیمار PH (۳، ۵، ۷، ۹) که مورد بررسی قرار گرفتند، مناسب‌ترین فیلم در pH ۷ مشاهده شد که از نظر خواص فیزیکی و مکانیکی بر سه تیمار دیگر برتری داشت. به‌طور کلی مشاهده شد که در فیلم‌های ژلاتینی در pH ۷ پایداری حرارتی بالاتری نسبت به pH ۵ وجود دارد. همچنین بالاترین درصد وزن باقی‌مانده در فیلم‌های ژلاتینی در pH ۵ مشاهده شد. فیلم‌های ژلاتینی در pH (۵ و ۷) دمای تخریب ابتدایی تقریباً مشابهی داشتند اما میزان کاهش وزن کمتر و باقی‌مانده بیشتری در pH (۵) مشاهده شد و همچنین پایداری حرارت در pH ۷، ۵ بالاتر بود که می‌توان این‌گونه بیان کرد که با افزایش pH در طی فرآیند استخراج و تولید فیلم‌های ژلاتینی از پوست فیل ماهی پایداری حرارتی به نسبت افزایش یافته و درصد وزن باقی‌مانده کاهش می‌یابد. ارزیابی اثر تغییر pH استخراج ژلاتین بر خواص فیلم‌های تولیدی از آن بوسیله آزمون‌های فیزیکی، مکانیکی، نوری و FTIR نشان داد که pH روش استخراج ژلاتین بر خواص مختلف فیلم‌های تولیدی اثر گذار است و به طور کلی از بین ۴ تیمار pH (۳، ۵، ۷، ۹) بررسی شده، مناسب ترین فیلم در pH ۷ مشاهده شد که از نظر خواص فیزیکی و مکانیکی بر سه تیمار دیگر برتری داشت.

منابع

- Gómez-Guillén, M. C., Giménez, B., López-Caballero, M. A. and Montero, M. P., 2011. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. Food hydrocolloids, 25(8): 1813-1827.
- Rui, L., Xie, M., Hu, B., Zhou, L., Yin, D., and Zeng, X. 2017. A comparative study on chitosan/gelatin composite films with conjugated or incorporated gallic acid. Carbohydrate polymers, 173, 473-481.

- Pires, C., Ramos, C., Teixeira, G., Batista, I., Mendes, R., Nunes, L. and Marques, A., 2011. Characterization of biodegradable films prepared with hake proteins and thyme oil. *Journal of Food Engineering*, 105(3): 422-428.
- Nagarajan, M., Prodpran, T., Benjakul, S. and Songtipya, P., 2017. Properties and characteristics of multi-layered films from tilapia skin gelatin and poly (lactic acid). *Food Biophysics*, 12(2): 222-233.
- Pranoto, Y., Lee, C. M. and Park, H. J., 2007. Characterizations of fish gelatin films added with gellan and κ -carrageenan. *LWT-Food Science and Technology*, 40(5): 766-774.
- Qiao, C., Ma, X., Zhang, J. and Yao, J., 2017. Molecular interactions in gelatin/chitosan composite films. *Food chemistry*, 235, 45-5.
- Ninan, G., Joseph, J., and Abubacker, Z., 2010. Physical, mechanical, and barrier properties of carp and mammalian skin gelatin films. *Journal of food science*, 75(9): E620-E626.
- Kelleher, K. 2005. Discards in the world's marine fisheries: an update (No. 470). Food and Agriculture Org.
- Weng, W., Zheng, H. and Su, W., 2014. Characterization of edible films based on tilapia (*Tilapia zillii*) scale gelatin with different extraction pH. *Food Hydrocolloids*, 41, 19-26.
- Yeganeh, S., Shabanpour, B., Hosseini, H., Imanpour, M. R. and Shabani, A., 2010. An investigation of spawning effect on lipid quality changes of cultured Common carp (*Cyprinus carpio*) fillet during frozen storage. *Journal of Fisheries (Iranian Journal of Natural Resources)*, Vol. 63, No. 1, 20. pp. 57-69
- Wihodo, M. and Moraru, C. I., 2013. Physical and chemical methods used to enhance the structure and mechanical properties of protein films: A review. *Journal of Food Engineering*, 114(3), 292-302.
- ASTM., 2002. Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. Annual book of ASTM. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Material, D 882-02.
- ASTM., 2010. Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials. Annual book of ASTM. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Material, Designation: E96/E96M-10.
- Lavorgna, M., Piscitelli, F., Mangiacapra, P. and Buonocore, G. G., 2010. Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films. *Carbohydrate Polymers*, 82(2), 291-298.
- Mahjoorian, A., Mortazavi, S. A., Tavakolipour, H., Motamedzadegan, A. and Askari, B., 2013. Rheological properties of skin gelatin of Beluga Sturgeon (*Huso huso*) from The Caspian Sea. *Annals of Biological Research*, 4(7): 227-234.
- Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H. and Hosseini, S. M. H., 2010. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry*, 122(1), 161-166.
- Krochta, J. M. and De Mulder-Johnston, C., 1997. Edible and biodegradable polymer films. *Food Technolog*, 51, 61-74.
- Ketnawa, S., Benjakul, S., Martínez-Alvarez, O. and Rawdkuen, S., 2017. Fish skin gelatin hydrolysates produced by visceral peptidase and bovine trypsin: Bioactivity and stability. *Food chemistry*, 215, 383-390.
- Siripatrawan, U. and Harte, B. R., 2010. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids*, 24(8), 770-775.
- Weng, W. and Zheng, H., 2015. Effect of transglutaminase on properties of tilapia scale gelatin films incorporated with soy protein isolate. *Food chemistry*, 169, 255-260.
- Bigi, A., Cojazzi, G., Panzavolta, S., Roveri, N. and Rubini, K., 2002. Stabilization of gelatin films by crosslinking with genipin. *Biomaterials*, 23(24), 4827-4832.
- Mu, C., Guo, J., Li, X., Lin, W. and Li, D., 2012. Preparation and properties of dialdehyde carboxymethyl cellulose crosslinked gelatin edible films. *Food Hydrocolloids*, 27(1), 22-29.
- Hao, S., Li, L., Yang, X., Cen, J., Shi, H., Bo, Q. and He, J., 2009. The characteristics of gelatin extracted from sturgeon (*Acipenser baeri*) skin using various pretreatments. *Food Chemistry*, 115(1), 124-128.

- da Trindade Alfaro, A., Fonseca, G. G. and Prentice-Hernández, C., 2013.** Enhancement of functional properties of wami tilapia (*Oreochromis urolepis hornorum*) skin gelatin at different pH values. *Food and Bioprocess Technology*, 6(8), 2118-2127.
- Hosseini, S. F., Rezaei, M., Zandi, M. and Ghavi, F. F., 2013.** Preparation and functional properties of fish gelatin–chitosan blend edible films. *Food chemistry*, 136(3), 1490-1495
- Aewsiri, T., Benjakul, S. and Visessanguan, W., 2009.** Functional properties of gelatin from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin as affected by bleaching using hydrogen peroxide. *Food Chemistry*, 115(1), 243-249.
- Hoque, M. S., Benjakul, S. and Prodpran, T., 2010.** Effect of heat treatment of film-forming solution on the properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin. *Journal of Food Engineering*, 96(1), 66-73.
- Arfat, Y. A., Ahmed, J., Hiremath, N., Auras, R. and Joseph, A., 2017.** Thermo-mechanical, rheological, structural and antimicrobial properties of bionanocomposite films based on fish skin gelatin and silver-copper nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, 62, 191-202.
- Prystupa, D. A. and Donald, A. M., 1996.** Infrared study of gelatin conformations in the gel and sol states. *Polymer Gels and Networks*, 4(2), 87-110.

تولید فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر از ژلاتین استخراج‌شده از پوست فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*) و بررسی ... / زعفرانی تبریزی