

(OPEN ACCESS)

The use of UV rays in improving the quality of gelatin extracted from the skin of long-tailed fish (*Thunnus tonggol*)

Fatemeh Shakeri¹, Zabihollah Bahmani^{*2}, Leila Mirmoghtadaie³

1. Dept. of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. E-mail: fatemeh.sh63@yahoo.com
2. Corresponding Author, National Fish Processing Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Bandar Anzali, Iran. E-mail: zabihbahmani@gmail.com
3. Dept. of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. E-mail: le_mirmoghtadaie@yahoo.com

Article Info	ABSTRACT
Article type: Full Length Research Paper	Background and Objectives: Given the abundance of longtail tuna (<i>Thunnus tonggol</i>) fishing in Bandar Abbas (Iran), the skin of this fish is a suitable source for gelatin extraction. In this study, gelatin was extracted from tuna skin by acid pretreatment and the physicochemical structure of gelatin was modified by ultraviolet irradiation.
Article history: Received: 09.30.2023 Revised: 11.13.2023 Accepted: 11.26.2023	Materials and Methods: Gelatin was extracted from the skin of the <i>Thunnus tonggol</i> fish through the process of acid hydrolysis with 0.8% acetic acid after removing fat and salts with a 10% solution of 96% ethanol and 0.2% sodium hydroxide. For collagen hydrolysis, the samples were placed in an acidic solution of acetic acid for 58 minutes, and after removing color and odor with activated carbon, a water bath at 73 °C was used for 18 hours to convert collagen to gelatin. The centrifuged and dried sample was placed under ultraviolet C rays with a wavelength of 253.7 nm, 30 W and a distance of 30 cm to modify its physicochemical properties, and its gel strength, viscosity, and melting temperature were modified.
Keywords: Fish skin, Gelatin, Structural modification, Ultraviolet radiation	Results: The gel strength and melting point in the unmodified treatment (control) were 78.68 g and 18.5 °C, respectively, which increased to 117.61 g and 24.7 °C by irradiating with ultraviolet waves at a wavelength of 253.7 nm for 4 h. In the irradiated gelatin, the viscosity at low shear rates was higher than that of the control sample, indicating that the modification of gelatin with ultraviolet radiation can change the molecular shape and the strength of the extramolecular chemical bonds of gelatin molecules. The FTIR test results showed changes caused by ultraviolet C radiation by shifting the positions of some peaks in the secondary structures of gelatin proteins. Based on SDS.PAGE results, the modified gelatin had higher molecular weight peptides and contained clearer bands in the α_1 , α_2 , and β chains, indicating the production of more hydrogen bonds and, consequently, higher melting temperature and gel strength due to the irradiation process.
	Conclusion: It can be concluded that the irradiation process, by accumulating and destroying gelatin and forming free radicals in tyrosine

and phenylalanine residues, increases the possibility of intermolecular crosslinks, which can increase the gel strength and increase the enthalpy of fusion in fish gelatin. Therefore, by performing physicochemical and structural modifications, gelatin extracted from long-tailed fish can be used as commercial gelatin in the food and pharmaceutical industries.

Cite this article: Shakeri, Fatemeh, Bahmani, Zabihollah, Mirmoghtadaie, Leila. 2025. The use of UV rays in improving the quality of gelatin extracted from the skin of long-tailed fish (*Thunnus tonggol*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 14 (1), 21-35.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/japu.2023.21788.1820

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

استفاده از اشعه فرابنفش در بهبود کیفیت ژلاتین استخراج شده از پوست ماهی هوور دم دراز (*Thunnus tonggol*)

فاطمه شاکری^۱، ذبیح‌اله بهمنی^{۲*}، لیلا میرمقتدایی^۳

۱. گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. رایانامه: fatemeh.sh63@yahoo.com
۲. نویسنده مسئول، مرکز ملی تحقیقات فرآوری آبزیان، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران. رایانامه: zabihbahmani@gmail.com
۳. گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. رایانامه: le_mirmoghtadaie@yahoo.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: سابقه و هدف: با توجه به فراوانی صید ماهی هوور دم دراز (<i>Thunnus tonggol</i>) در بندرعباس (ایران)، پوست این نوع ماهیان، منبع مناسبی برای استخراج ژلاتین می‌باشد در این مطالعه ژلاتین از پوست ماهی هوور به روش پیش‌تیمار اسیدی استخراج و ساختار فیزیکوشیمیایی ژلاتین توسط روش پرتوتابی با پرتوهای فرابنفش اصلاح گردید. تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۰۸ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۸/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۰۵ واژه‌های کلیدی: اصلاح ساختار، پرتو فرابنفش، پوست ماهی، ژلاتین	مواد و روش‌ها: استخراج ژلاتین از پوست ماهی هوور طی فرایند هیدرولیز اسیدی با اسید استیک ۰/۸ درصد پس از حذف چربی و املاح توسط محلول ۱۰ درصد اتانول ۹۶ درصد و هیدروکسید سدیم ۰/۲ درصد و جهت هیدرولیز کلاژن، نمونه‌ها به مدت ۵۸ دقیقه در محلول اسیدی اسید استیک قرار داده شدند و پس از حذف رنگ و بو توسط کربن اکتیو، برای تبدیل کلاژن به ژلاتین از حمام آب با دمای ۷۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت استفاده شد. نمونه سانتریفوژ و خشک شده جهت اصلاح خواص فیزیکوشیمیایی تحت پرتوهای ماوراءبنفش نوع C با طول موج ۲۵۳/۷ نانومتر، ۳۰ وات و به فاصله ۳۰ سانتی‌متر قرار گرفت و خصوصیات قدرت ژل، ویسکوزیته و دمای ذوب آن اصلاح گردید. یافته‌ها: قدرت ژل و نقطه ذوب در تیمار اصلاح نشده (کنترل) به ترتیب ۷۸/۶۸ گرم و ۱۸/۵ درجه سانتی‌گراد بود که با فرایند پرتوتابی با امواج فرابنفش با طول موج ۲۵۳/۷ نانومتر به مدت ۴ ساعت به ۱۱۷/۶۱ گرم و ۲۴/۷ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت. در ژلاتین پرتودهی داده شده ویسکوزیته در سرعت‌های برشی پایین بیش‌تر از ویسکوزیته نمونه کنترل می‌باشد که نشان

می‌دهد که اصلاح ژلاتین با اشعه ماوراءبنفش می‌تواند شکل مولکولی و استحکام پیوندهای شیمیایی خارج مولکولی مولکول‌های ژلاتین را تغییر دهد. نتایج آزمون FTIR تغییرات ناشی از تابش اشعه فرابنفش C، را با تغییر مکان برخی از پیک‌ها در ساختارهای ثانویه پروتئین ژلاتین نشان داد. بر اساس نتایج SDS.PAGE، ژلاتین اصلاح شده دارای پپتیدهای با وزن مولکولی بالاتر و حاوی باندهای واضح‌تری در زنجیره‌های آلفا ۱، آلفا ۲ و بتا بود که نشان‌دهنده تولید پیوندهای هیدروژنی بیش‌تر و در نتیجه دمای ذوب و قدرت ژلی بالاتر در اثر فرآیند پرتودهی بود.

نتیجه‌گیری: می‌توان نتیجه گرفت که فرایند پرتوتابی با تجمع و تخریب ژلاتین و تشکیل رادیکال‌های آزاد در باقی‌مانده‌های تیروزین و فنیل آلانین باعث افزایش احتمال اتصالات عرضی بین مولکولی می‌شود که این اتصالات می‌توانند باعث افزایش قدرت ژلی و افزایش آنتالپی ذوب در ژلاتین ماهی گردند بنابراین با انجام اصلاحات فیزیکوشیمیایی و ساختاری ژلاتین استخراج شده از ماهی هوور دم دراز به‌عنوان ژلاتین تجاری در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار گیرد.

استناد: شاکری، فاطمه، بهمنی، ذبیح‌اله، میرمقصدایی، لیلا (۱۴۰۴). استفاده از اشعه فرابنفش در بهبود کیفیت ژلاتین استخراج شده از پوست ماهی هوور دم دراز (*Thunnus tonggol*). نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۴ (۱)، ۳۵-۲۱.

DOI: 10.22069/japu.2023.21788.1820



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

ژلاتین یک ترکیب پروتئینی پر مصرف در صنایع غذایی، دارویی و پزشکی می باشد که قابل حل در آب بوده و از هیدرولیز جزئی کلاژن به دست می آید (۱). با وجود خواص بسیار مطلوب ژلاتین به دلیل محدودیت های مذهبی، استفاده از ژلاتین خوک در دین اسلام و یهود حرام است و ژلاتین به دست آمده از پوست و استخوان گاو تنها در صورت ذبح شرعی قابل استفاده می باشد. در سال های اخیر با توجه به شیوع بیماری جنون گاوی^۱، استفاده از پوست و استخوان آبزیان به عنوان منبع تولید ژلاتین، بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۲). سالانه مقادیر زیادی ژلاتین به کشور وارد می گردد که این موضوع باعث خروج مقدار زیادی ارز از کشور می شود. بنابراین پژوهشگران در حال پژوهش برای پیدا کردن منابع ژلاتین جایگزین هستند. این ترکیب، یکی از اجزای اصلی در مواد دور ریز ماهی بوده که به مقدار زیادی در استخوان، پوست و فلس ماهی یافت می شود (۳). در حال حاضر، تولید ژلاتین ماهی خیلی رایج نیست و حدود ۱ درصد تولید سالانه ژلاتین در جهان را تشکیل می دهد، اما با توجه به حجم عظیم صید ماهیانی که مصرف خوراکی ندارند و یا قسمت های دورریز انواع ماهیان خوراکی در حین فرآوری (پوست، فلس، استخوان و باله) باعث به ثمر رسیدن پژوهش هایی در زمینه استخراج این ماده ارزشمند و رشد آمار تولید ژلاتین از آبزیان شده است. ماهی هوور دم دراز با نام علمی *Thunnus tonggol* به طول حداکثر ۱۴۵ سانتی متر و حداکثر وزن ثبت شده آن ۳۵/۹ کیلوگرم می باشد که بیشترین صید جهانی این ماهی متعلق به تایوان و سپس ایران می باشد. این ماهی یکی از گونه های مهم اقتصادی خلیج فارس و دریای عمان به شمار می رود و پوست این ماهی منبع

خوب کلاژن و ژلاتین است. عمده ترین تفاوت در ژلاتین پستانداران و ماهیان این است که ژلاتین ماهی دمای تشکیل ژل، دمای ذوب و قدرت ژل پایین تری دارد که استفاده از آن را در محصولات نیازمند به ساختار ژل قوی، محدود می سازد (۴). در بسیاری از کاربردها لازم است با استفاده از روش های فیزیکی و شیمیایی، تغییراتی در ساختار پروتئین ایجاد کرد تا بتوان ویژگی های عملکردی ژلاتین از جمله خواص ژل آن را بهبود بخشید. یک مسیر برای بهبود ویژگی های ژلاتین ایجاد پیوندهای عرضی در بین زنجیره های پپتیدی ژلاتین می باشد که می تواند باعث افزایش استحکام و پایداری ساختمان ژل گردد. در بین روش های مختلف ایجاد اتصال عرضی، روش پرتوتابی با اشعه ماوراءبنفش یک روش فیزیکی غیرحرارتی و مؤثر است که در سال های اخیر برای اصلاح ساختار پروتئین ها مورد استفاده قرار گرفته است (۵). در این پژوهش جهت بهبود ویژگی های ساختاری ژلاتین اسیدی استخراج شده از پوست ماهی هوور، از پرتو ماوراءبنفش نوع C با طول موج ۲۵۳/۷ نانومتر استفاده گردید.

مواد و روش ها

در این پژوهش 100 ± 100 گرم پوست ماهی هوور از کارخانه کنسرو ماهی بندرعباس تهیه و به صورت یخ پوشی به آزمایشگاه پژوهشگاه اکولوژی بندرعباس منتقل و تا زمان انجام آزمایش نمونه ها در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد نگهداری گردید. استخراج ژلاتین از پوست ماهی هوور به روش هیدرولیز اسیدی و مطابق روش طبرستانی و همکاران (۲۰۱۰) و کولیاب و همکاران (۲۰۱۳) انجام شد و ژلاتین استحصال، نوع A بود (۶ و ۷). پوست منجمد شده را انجمادزدایی نموده و جهت حذف چربی، به مدت ۲۴ ساعت در محلول ۱۰ درصد اتانول ۹۶ درصد

1- Bovine spongiform encephalopathy (BSE)

و درجه بلوم ژلاتین اندازه‌گیری و با تیمار شاهد مقایسه و مدت زمان بهینه برای افزایش درجه بلوم ژلاتین تعیین شد.

اندازه‌گیری ویژگی‌های ساختاری و عملکردی ژلاتین‌های اصلاح‌شده

تعیین بازده استخراج ژلاتین: با استفاده از رابطه زیر میزان بازده (راندمان) استخراج ژلاتین به‌دست می‌آید (۹).

$$\text{راندمان} = \frac{\text{وزن ژلاتین (گرم)}}{\text{وزن پوست (گرم)}} \times 100$$

تعیین قدرت ژلی (درجه بلوم): طبق استاندارد انگلیس BSI/۷۵۷ روش تعیین مقدار بلوم یک نمونه ژلاتین به این صورت است (۹) که ۷/۵ گرم نمونه با ۱۰۵ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شده و در یک بطری قرار داده شد. این مخلوط در درجه حرارت اتاق به مدت ۳۰ دقیقه به حال خود گذاشته تا ژلاتین به‌طور کامل متورم گردد. سپس در حمام آب ۴۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شد تا ژلاتین حل گردد. سپس بطری در حمام آب سرد ۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت قرار داده و در نهایت با دستگاه بلوم ژلومتر قدرت ژلی آن بر حسب درجه بلوم اندازه‌گیری شد (۱۰).

تعیین نقطه ذوب ژلاتین: نقطه ذوب ژلاتین طبق روش چوی و همکاران (۲۰۰۰) انجام گرفت (۱۱). بدین‌منظور محلول ژلاتین به غلظت ۶/۶۷ درصد را تهیه و ۵ میلی‌لیتر از آن به یک لوله آزمایش کوچک منتقل شد. لوله آزمایش در یک حمام آب در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه گرم شد سپس لوله در حمامی از یخ سرد شد و به مدت ۱۷ ساعت در یخچال با دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد

(مرک، آلمان) قرار داده شد و برای حذف املاح و مواد معدنی از محلول هیدروکسید سدیم (مرک، آلمان) ۰/۲ درصد (w/v) به مدت ۴۰ دقیقه استفاده شد سپس از محلول اسیدسیتریک (مرک، آلمان) با غلظت ۰/۸ درصد و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق با همزن مغناطیسی (JP Selecta, Agimatie-N, اسپانیا) جهت هیدرولیز کلاژن استفاده شد. فرآیند حذف اسید با استفاده از قیف بوخنر و شست و شوی مکرر اوسئین با آب صورت گرفت هر چند شستشوی مکرر با آب در مواردی باعث کاهش بازدهی می‌شود ولی باعث تنظیم pH می‌گردد. سپس pH کلاژن با NaOH و شستشو با آب بین ۶/۵ تا ۷ تنظیم و با pH متر دیجیتالی (HORIBAF-12، ژاپن) اندازه‌گیری شد. در مرحله بعد کربناکتیو (مرک، آلمان) به میزان ۳ گرم در لیتر جهت کاهش بو و طعم نامطلوب ماهی هم‌چنین جهت شفافیت رنگ افزوده شد. برای تبدیل کلاژن به ژلاتین از حمام آب با دمای ۷۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت استفاده شد. بلافاصله پس از خروج محلول ژلاتین از حمام آب، به‌ازای هر ۸۰ میلی‌لیتر محلول یک میلی‌لیتر سفیده تخم‌مرغ اضافه و برای حذف ناخالصی‌ها، محلول ژلاتین را از صافی عبور داده و سپس عمل جداسازی با سانتریفیوژ (HB190، بهسان، ایران) دور ۲۵۰۰ rpm، به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. برای خشک نمودن محلول ژلاتین از آون با دمای ۷۰ درجه و به مدت ۲۴ ساعت استفاده شد که مایع ژلاتینی به ورقه‌های خشک تبدیل کرد.

اصلاح ویژگی‌های ساختاری و عملکردی ژلاتین با استفاده از روش‌های پرتوتابی اشعه فرابنفش: آزمون پرتوتابی با اشعه فرابنفش مطابق روش وو و همکاران (۲۰۱۵) و روش بات و کریم (۲۰۰۹) انجام شد (۵ و ۸). نمونه ژلاتین به مدت ۲، ۴ و ۶ ساعت در معرض پرتوی فرابنفش با طول موج ۲۵۳/۷ نانومتر و ۳۰ وات و به فاصله ۳۰ سانتی‌متر از سطح قرار گرفت

غلظت نمونه‌ها با استفاده از روش برادفورد قرائت شد ($A=0.71$ میلی گرم بر میلی لیتر، $DA=0.09$ میلی گرم بر میلی لیتر، $UV=0.28$ میلی گرم بر میلی لیتر، $G=0.80$ میلی گرم بر میلی لیتر). در ادامه ۵ میکروگرم از نمونه‌های اصلاح شده با پرتو و کنترل مورد استفاده قرار گرفت. برای این منظور ۱۸ میکرولیتر از نمونه پرتو زده شده با ۳ میکرولیتر سمپل بافر 6X و ۴ میکرولیتر سمپل بافر 1X و در نهایت ۶/۳ میکرولیتر از تیمار شاهد با ۶/۳ میکرولیتر سمپل بافر 2X و ۱۲/۴ میکرولیتر سمپل بافر 1X در وضعیت احیاء مخلوط و در ادامه، همه نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد حرارت داده شد و سپس در داخل چاهک‌ها لود شد. مارکر پروتئینی SMOBIO (PM2600) به میزان ۵ میکرولیتر از به داخل چاهک‌ها لود شد.

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. آزمون آنالیز واریانس یک طرفه^۱ و دانکن جهت مقایسه میانگین‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد و برای رسم نمودار از نرم افزار Excel استفاده شد. تمام آزمایش‌ها در ۳ تکرار و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شد.

نتایج و بحث

ویژگی ظاهری ژلاتین استخراجی: رنگ ژلاتین حاصل به رنگ سفید مایل به زرد است که به صورت پودر و کریستالی حاصل گردید. ژلاتین حاصل دارای بو و طعم خاص ژلاتین بوده و عاری از هر گونه بوی نامطلوب خارجی می‌باشد.

راندمان (بازده استخراج): تولید ژلاتین را می‌توان به سه مرحله اصلی تقسیم کرد: الف) پیش تیمار، ب) استخراج، ج) خشک کردن. تمام فرآیندهای مورد

پس از این مدت نمونه‌ها از یخچال خارج شده و پنج قطره معرف رنگی حاوی ۷۵ درصد کلروفرم و ۲۵ درصد متیلن بلو به ژل افزوده شد سپس در حمام آب با دمای اولیه ۱۵ درجه سانتی گراد به تدریج گرم شد (0.2 درجه سانتی گراد بر دقیقه). هنگامی که قطرات رنگی شروع به حرکت در ژل نموده و به عنوان نقطه ذوب در نظر گرفته شد.

تعیین ویسکوزیته: تعیین ویسکوزیته محلول ژلاتین طبق روش محمودانی و همکاران (۲۰۱۴) با کمی تغییر انجام گرفت. بدین منظور از محلول با غلظت ۶/۷ درصد (w/v) و توسط دستگاه رئومتر (Anton Paar, Physica, MCR 501، اتریش) صفحه مخروطی (۵ سانتی متر، با زاویه مخروط: ۲ درجه و شکاف: ۵۲ میلی متر)، پس از خارج شدن نمونه‌ها از حمام آب گرم استفاده گردید. سرعت برش تا ۱۴۰۰ ثانیه در ۲۴۰ ثانیه و منحنی جریان برای هر کدام از نمونه‌ها به دست آمد (۱۲).

طیف سنجی مادون قرمز جهت بررسی جهش‌های ارتعاشی مولکول‌های ژلاتین قبل و بعد از اصلاح ساختار: ژلاتین و برومید پتاسیم را به نسبت ۲ درصد وزنی- وزنی با هم مخلوط و سپس آسیاب کرده و توسط دستگاه پرس به مدت ۵ دقیقه پرس شد. یک قرص خیلی شفاف به دست آمد که نتیجه را جهت اندازه گیری طیف مادون قرمز زیر دستگاه مربوطه (FT-IR/FT-NIR Spectrometer, PerkinElmer، آمریکا) قرار داده شد تا طیف نمونه به دست آید (۱۳).

تعیین وزن مولکولی ژلاتین با استفاده از SDS-Page: آماده سازی محلول مارکر جهت مقایسه با نمونه‌های ژلاتین اصلاح شده و اصلاح نشده، هر کدام از محلول‌های شاهد (اصلاح نشده) و اصلاح شده به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۴۰۰۰ سانتریفیوژ و محلول رویی آن‌ها برای انجام آزمون مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا

نمونه پرتو داده شده (۱۱۷ گرم) دیده می‌شود (جدول ۱). نمونه پرتو زده با تشکیل رادیکال‌های آزاد در پایانه‌های تیروزین و فنیل آلانین منجر به افزایش اتصالات عرضی در مولکول ژلاتین شده و در نتیجه قدرت ژل ژلاتین افزایش یافته است (۵). ون چین و همکاران (۲۰۱۴) فرایند پرتوتابی توسط اشعه فرابنفش با دوز ۱۰ تا 30 J/m^2 و اشعه گاما با دوز ۲ تا ۱۰ کیلوگری را بر روی نمونه‌های ژلاتین ماهی و گاوی بررسی کردند. نتایج نشان داد که در هر دو نمونه ژلاتین گاوی و ماهی در دوز 30 J/m^2 درجه بلوم افزایش یافت. با افزایش پرتوی گاما تا ۱۰ کیلوگری کاهش محسوسی در هر دو نمونه ژلاتین دیده شد که این به دلیل کاهش میزان کراس لینک توسط اشعه گاما می‌باشد (۱۸). چنگ کو و همکاران (۲۰۱۵) تأثیر امواج فرابنفش را بر روی قدرت ژلی ژلاتین استخراج شده از پوست ماهی تیلپیا بررسی کردند و بیان داشتند که امواج UV به مدت ۳ تا ۲۴ ساعت تأثیر قابل‌توجهی بر روی افزایش قدرت ژلی ژلاتین ماهی داشت. طول موج اشعه UV مورد استفاده ۲۵۳/۷ نانومتر و با قدرت ۳۰ وات و به فاصله ۳۰ سانتی‌متر از نمونه قرار داده شد. که این افزایش در قدرت ژل ممکن است به علت افزایش اتصال عرضی بین زنجیره‌های مولکول ژلاتین باشد (۸).

استفاده برای استخراج ژلاتین تأثیر مستقیمی بر عملکرد و خواص ژلاتین به‌دست آمده، دارند (۱۴). فرایند استخراج برای به حداکثر رساندن بازده ژلاتین طراحی شده است. این با بهینه‌سازی تعادل بین pH، دما و زمان استخراج به‌دست می‌آید (۱۵). در این پژوهش راندمان استخراج ژلاتین ۱۸/۶۷ درصد بود. آبرومند (۱۳۸۶)، میزان راندمان ژلاتین استخراجی از مواد دور ریز کارخانه فیله‌زنی ماهی را به روش اسیدی ۱۹/۷۵ درصد گزارش کرد (۱۶).

قدرت ژلی (درجه بلوم): مهم‌ترین خاصیت ژلاتین، قدرت ژل و یا بلوم آن است، که تابعی از وزن مولکولی ژلاتین است. خواص قدرت ژل به اجزا زنجیره α و زنجیره β در ژلاتین مرتبط است. قدرت بلوم معمولاً درجه ژلاتین را تعیین می‌کند. ژلاتین باید تحت آزمایش دقیق دستورالعمل‌هایی که به‌عنوان استحکام ژل تعریف شده است قرار گیرد. قدرت ژل از مشخصات مهم برای یک ژل محسوب می‌شود. ژل شدن ژلاتین توسط اتصال عرضی فیزیکی، منجر به شکل‌گیری مناطق متصل و در نهایت یک شبکه انشعابی سه‌بعدی می‌شود. هم‌چنین قدرت ژل تابعی از فعل و انفعالات پیچیده‌ای است که توسط ترکیبات اسید آمینه و نسبت زنجیر α و مقدار اجزا β تعیین می‌شود (۱۷). افزایش قابل‌توجهی در میزان درجه بلوم (قدرت ژل) بین نمونه‌های کنترل (۷۸ گرم) و

جدول ۱- مقادیر اندازه‌گیری شده جهت قدرت ژل و دمای ذوب ژلاتین اصلاح‌شده و اصلاح‌نشده و ژلاتین گاوی.

Table 1. Measured values for gel strength and melting temperature of modified and unmodified gelatin and bovine gelatin.

ژلاتین پرتو داده شده (۴ ساعت) Irradiated gelatin (4 h)	ژلاتین اصلاح‌نشده (کنترل) Unmodified gelatin (control)	ژلاتین گاوی Bovine gelatin	پارامتر Parameter
117.61 ± 2.3^b	78.68 ± 0.8^c	272.14 ± 0.07^a	قدرت ژل (گرم) Gel strength (g)
24.7 ± 0.6^b	18.5 ± 0.5^c	31 ± 0.4^a	نقطه ذوب (سانتی‌گراد) Melting point (°C)

*داده‌ها به‌صورت (M±SD) گزارش شد

*Data were reported as (SD±M)

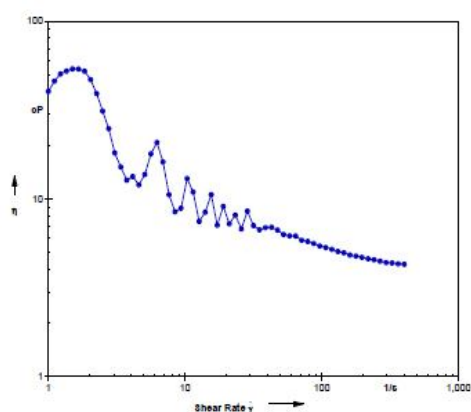
نقطه ذوب ژلاتین: ژلاتین به عنوان یک ژل برگشت پذیر با حرارت، وقتی دما به بالای یک نقطه ویژه (نقطه ذوب ژل) می رسد، شروع به ذوب شدن می کند. نقاط ذوب معمولاً برای ژلاتین ماهی در محدوده ۱۱ تا ۲۸ درجه سانتی گراد می باشد. به طور کلی دمای ذوب ژلاتین حاصل از پوست حیوانات خونگرم و ماهیان آبگرم نسبت به ژلاتین ماهیان آب سرد، بالاتر می باشد (۱۹). حضور مقدار بالای زنجیره های آلفا، می تواند افزایش نقطه ذوب را در این نمونه ها تشریح کند. هرچه زنجیره های آلفا ۱ و آلفا ۲ بیش تر باشد، نقطه ذوب نیز افزایش می یابد. بالا بودن نقطه ذوب در ژلاتین با وزن مولکولی زنجیره های مولکولی آن در ارتباط است (۲۰). در بررسی نقطه ذوب ژل باید به ترکیب امینو اسیدی ژلاتین هم توجه داشت. حضور دو اسید آمینه تیروزین و فنیل آلانین باعث افزایش نقطه ذوب ژل می شود. اندازه گیری نقطه ذوب طبق استاندارد انگلیس BSI/۷۵۷ انجام شد. از محلول ژلاتین ۶/۶۷ درصد وزنی - حجمی استفاده شد. دمای ذوب اندازه گیری شده در نمونه های کنترل و اصلاح شده در جدول ۱، گزارش شد. نقطه ذوب تیمارهای مختلف از ۱۸ درجه تا ۲۸ درجه متغیر بوده است. نقطه ذوب ژلاتین ماهی اصلاح نشده، نسبت به ژلاتین گاوی تجاری پایین تر اما در نمونه های اصلاح شده دمای ذوب افزایش یافت. در نمونه پرتو داده شده (۱، ۲، ۴ و ۶ ساعت) بیش ترین میزان نقطه ذوب در نمونه ۴ ساعت پرتو داده شده، مشاهده گردید. سپس در نمونه ۶ ساعت این میزان کاهش یافت. این یافته نشان می دهد که تابش اشعه ماوراءبنفش باعث ایجاد بیش از حد پیوند متقاطع (Overcross linking) یا پیوند کووالانسی شده که منجر به نامحلول شدن پودر ژلاتین می شود (۲۱).

ویسکوزیته: حل کردن ژلاتین در آب باعث افزایش ویسکوزیته آن می شود که میزان افزایش ویسکوزیته

متناسب با غلظت ژلاتین، وزن مولکولی، دما، pH و قدرت یونی ژلاتین می باشد (شکل ۱). در ژلاتین پرتو دهی داده شده ویسکوزیته در سرعت های برشی پایین بیش تر از ویسکوزیته نمونه کنترل می باشد که نشان می دهد که اصلاح ژلاتین با اشعه ماوراءبنفش می تواند شکل مولکولی و استحکام پیوندهای شیمیایی خارج مولکولی مولکول های ژلاتین را تغییر دهد. محلول ژلاتینی حاوی زنجیره های داخلی درهم پیچیده ای می باشد. در حالت استراحت، این زنجیره ها آرایش داخلی خود را حفظ کرده و با مقاومت در برابر جریان یافتن منجر به ویسکوزیته بالا می شود. با افزایش سرعت برشی این زنجیره ها می توانند از هم باز یا کشیده شوند و یا به موازات نیروی وارد شده قرار گیرند. این جهت گیری منجر به سهولت لغزش زنجیره ها بر روی یکدیگر و در نتیجه کاهش ویسکوزیته خواهد شد (۲۲). بنابراین، افزایش ویسکوزیته نمونه کنترل و هم چنین نمونه های اصلاح شده، در سرعت برشی کم می تواند به دلیل ایجاد پیوندهای عرضی بین مولکولی (ارتباط عرضی بین مولکول ژلاتین و مولکول آب) باشد. اما کاهش ویسکوزیته در نرخ برش بالاتر را می توان به پیوند عرضی درون مولکولی در ژلاتین (Internal crosslinking of a single polymer molecule) مرتبط دانست. تغییر در نیروهای بین مولکولی منجر به تغییر در ویسکوزیته ظاهری پروتئین می شود (۲۳). در تمام نمونه ها ابتدا یک شاخص تنش تسلیمی (افزایش ویسکوزیته در ابتدای شکل ۱) و سپس رفتار غیرنیوتنی از نوع رقیق شونده با برش قابل مشاهده است. در واقع در رفتار سودوپلاستیک، ویسکوزیته سیال وابسته به سرعت برشی بوده و با افزایش سرعت برشی کاهش پیدا کرده است. در رفتارهای غیرنیوتنی رابطه بین تنش و سرعت برش، خطی نیست. در واقع رفتار جریان در محلول ژلاتین می تواند یک رفتار تیکسوتروپیک

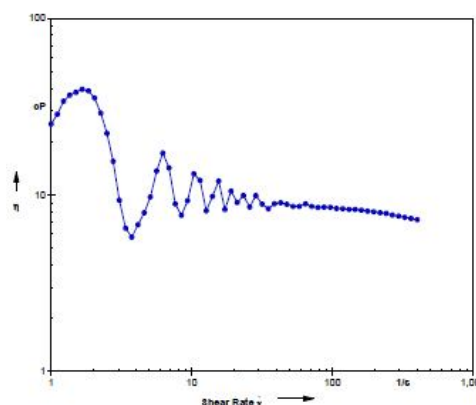
شیمیایی در اسیدهای آمینه و تولید رادیکال‌های آزاد در انتهای اسیدهای آمینه و در نتیجه افزایش ویسکوزیته می‌شود. تابش هم‌چنین قدرت چسبندگی را افزایش می‌دهد (۲۵). یافته‌های این پژوهش با نتایج بات و کریم (۲۰۰۹) مغایرت داشت، آن‌ها کاهش قابل‌توجهی در ویسکوزیته در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در اندازه‌گیری‌های رئولوژیکی با رئومتر نشان دادند (۵). میناجول اسلام و همکاران (۲۰۱۴)، گزارش کردند استفاده از پرتوهای گاما با دوز ۰/۵ کیلوگری باعث کاهش ویسکوزیته ژلاتین و با افزایش دوز اشعه تا ۱ کیلوگری باعث افزایش ویسکوزیته گردید (۲۶).

وابسته به زمان باشد که علاوه بر سرعت برشی به مدت زمان اعمال تنش برشی نیز وابسته است یعنی در این نوع سیال، همانند سیالات پseudoplastic که با افزایش سرعت برشی ویسکوزیته کاهش پیدا می‌کند، با گذشت زمان در یک سرعت برشی ثابت نیز ویسکوزیته کاهش پیدا می‌کند تا به یک مقدار ثابت که ویسکوزیته تعادلی گفته می‌شود، برسد (۲۴). در واقع برش باعث اختلال در ساختار نمونه می‌شود. افزایش ویسکوزیته در نرخ‌های برشی پایین نشان‌دهنده یک تنش تسلیمی ظاهری است. اشعه فرابنفش به مدت طولانی (۴ ساعت) باعث کاهش تحرک مولکول‌های ژلاتین و هم‌چنین باعث تغییرات



ب. ژلاتین اصلاح‌شده با پرتو UV

B. Gelatin modified with UV radiation



الف. ژلاتین اصلاح‌نشده (کنترل)

A. Unmodified gelatin (control)

شکل ۱- تغییر ویسکوزیته در برابر نرخ‌های برشی مختلف. الف) ژلاتین اصلاح‌نشده (کنترل)، ب) ژلاتین اصلاح‌شده.

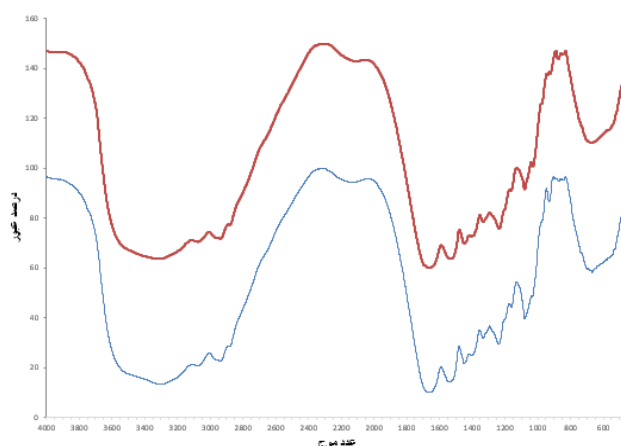
Figure 1. Change in viscosity against different shear rates. A) Unmodified gelatin (control), B) Modified gelatin.

مهم و با ارزش می‌باشد. ۹ طیف FTIR در مورد جذب باندها که شامل آمید A، B، I، II، III، VI و V گزارش شده است. طیف‌سنجی ژلاتین ماهی اصلاح‌نشده (کنترل) باندهای اصلی را در ۳۲۹۹/۳۴، ۲۹۳۷/۱۸، ۱۵۳۶/۶، ۱۰۷۸/۹۳ به ترتیب مربوط به آمید A، آمید B، آمید II و آمید III هستند (شکل ۲). آمید A نماینده کشش C=O همراه با پیوند هیدروژنی کششی (N-H) می‌باشد. آمید II ناشی از ارتعاشات

طیف‌سنجی مادون قرمز ژلاتین (FTIR): این روش براساس جذب تابش فروسرخ و بررسی جهش‌های ارتعاشی مولکول‌ها و یون‌های چنداتمی عمدتاً برای شناسایی ترکیبات آلی به کار می‌رود و طیف‌های این ترکیبات معمولاً پیچیده هستند و تعداد زیادی پیک دارند که می‌توانند برای اهداف مقایسه‌ای به کار گرفته شوند (۲۷). طیف FTIR در مورد ساختمان دوم پروتئین و پلی‌پپتیدها بحث می‌کند. این طیف بسیار

شد (۳۱). طیف جذبی ناحیه آمید B پس از فرایند پرتودهی از ۲۹۳۷ به 2931 cm^{-1} کاهش یافت. پیک جذب آمید II معمولاً در محدوده $1600-1550 \text{ cm}^{-1}$ رخ می‌دهد (۳۲)، در این پژوهش پیک جذبی آمید II برای نمونه اصلاح‌نشده ژلاتین در طول موج 1536.06 cm^{-1} دیده شد و در نمونه پرتو داده شده به طول موج 1532.67 cm^{-1} کاهش یافت. تغییر به طول موج‌های پایین‌تر نشان‌دهنده وجود باندهای هیدروژنی است (۳۱). نتایج این پژوهش با نتایج بات و کریم (۲۰۰۹) مطابقت داشت (۵). هم‌چنین پیک‌های جذب مشابهی در گزارش حنانی و همکاران (۲۰۱۳)، در رابطه با فیلم تولید شده از ژلاتین گوشت گاو ترکیب شده با گلیسرول، در آمید II (1540 cm^{-1}) و آمید B (2924 cm^{-1}) پیک مشاهده شد (۳۳).

خمش‌های گروه H-N و ارتعاشات کششی گروه N-C آمید III به ارتعاشات گروه‌های N-C و H-N محدوده آمیدی و ارتعاشات گروه CH_2 گلیسین مربوط است (۲۸). باندهای جذبی طیف محدوده آمیدی، در ناحیه‌ای مشابه ژلاتین حاصل از پوست ماهی تیلاپیا بود (۲۹). عدد جذبی $3299/34$ به عدد $3316/54$ در نمونه پرتو داده شده افزایش یافت که نتیجه افزایش تعداد باندهای هیدروژنی در اثر کراس لینک در نمونه پرتودهی شده می‌باشد (۳۰). پیک جذب آمید B در این مطالعه در طول موج $2937/18$ دیده شد. در مطالعه فنگ و همکاران (۲۰۱۳) با موضوع بهینه‌سازی استخراج و خصوصیات کلاژن تهیه شده از پوست ماهی خاویاری چینی به کمک آنزیم صورت گرفت، پیک آمید B در طول موج $2920-2922 \text{ cm}^{-1}$ یافت



شکل ۲- مقایسه طیف FTIR نمونه‌های ژلاتین. نمودار آبی: نمونه کنترل، نمودار قرمز: نمونه پرتو داده شده.

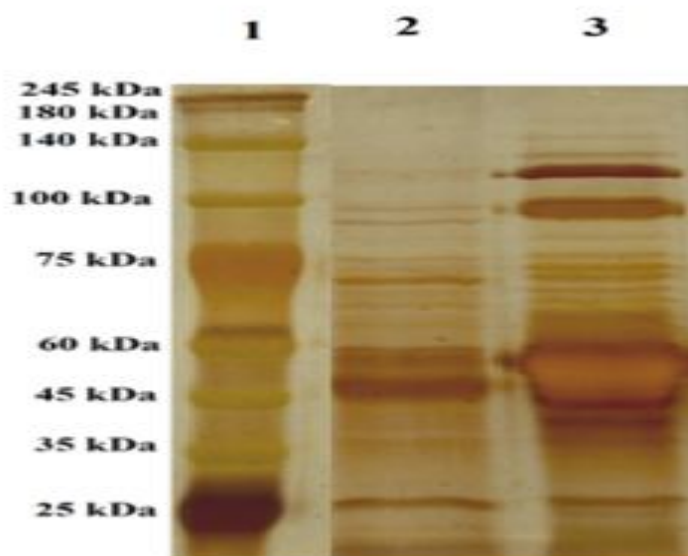
Figure 2. Comparison of FTIR spectra of gelatin samples. Blue graph: control sample, red graph: irradiated sample.

می‌شوند و نتیجه آن تشکیل با وزن مولکولی کم‌تر می‌شود، که α و β زنجیره‌های این الگوی الکتروفورز به خوبی این را بیان می‌کند. زنجیره‌های α_1 و α_2 در تمام نمونه‌ها دیده شد. در نمونه اصلاح‌نشده (کنترل) باندهای ضعیفی در محدوده ۷۵ تا ۱۰۰ کیلوالتون مشاهده گردید در حالی‌که در نمونه‌های اصلاح‌شده زنجیره α_2 بیش‌تر و واضح‌تر مشاهده

الکتروفورز SDS PAGE: توزیع وزن مولکولی ژلاتین با تجزیه و تحلیل SDS-PAGE مشخص شد (شکل ۳). جهت تعیین وزن اجزاء ژلاتین، از مارکر پروتئینی با وزن مولکولی از ۱۱ تا ۲۴۵ کیلوالتون استفاده شد. در هنگام تبدیل کلاژن به ژلاتین پیوندهای درون و برون مولکولی اتصال زنجیره‌های کلاژن و هم‌چنین برخی از پیوندهای پپتیدی، شکسته

استخراج شده از فیل ماهی، بیان داشتند که بالابودن نقطه ذوب ژلاتین با وزن زنجیره‌های مولکولی در ارتباط است به‌طوری‌که در نمونه‌ها با نقطه ذوب بالا، زنجیره‌های آلفا ۱ و ۲ بیش‌تری مشاهده گردید. پروسه استخراج می‌تواند بر روی مشخصات اساسی پلی‌پپتیدی و همچنین بر روی مشخصات اساسی ژلاتین تأثیر بگذارد. پارامترهای مؤثر در تهیه پروسه ژلاتین، دما و زمان آماده‌سازی مواد اولیه و مشخصات و روش‌های محافظتی از مواد خام بودند (۳۵).

گردید. وو و همکاران (۲۰۱۵) نیز نتایج مشابهی از تأثیر امواج فرابنفش بر روی قدرت ژل پوست ماهی تیلاپیا به‌دست آوردند (۸). بالابودن نقطه ذوب ژلاتین با وزن زنجیره‌های مولکولی در ارتباط است به‌طوری‌که در نمونه‌ها با نقطه ذوب بالا، زنجیره‌های α_1 و α_2 بیش‌تری مشاهده می‌گردد. در نمونه پرتو دیده، زنجیره‌های α_1 و β در محدوده ۱۰۰ تا ۱۴۰ مشاهده شد. این روند افزایش ویسکوزیته و نقطه ذوب در این تیمار را تأیید می‌کند (۳۴). مهجوریان و همکاران (۱۳۹۴) با بررسی خواص رئولوژیکی ژلاتین



شکل ۳- ژل SDS-PAGE در وضعیت احیاء (درصد ژل Resolving: ۷ درصد، رنگ‌آمیزی‌شده با روش نترات نقره): چاهک ۱ مربوط به محلول مارکر (SMOBIO, PM2600)، چاهک ۲ مربوط به محلول ژلاتین کنترل (اصلاح‌نشده)، چاهک ۳ مربوط به محلول ژلاتین اصلاح‌شده با UV می‌باشد.

Figure 3. SDS-PAGE gel in the reducing state (gel percentage: Resolving 7%, stained with silver nitrate method): well 1 corresponds to the marker solution (SMOBIO, PM2600), well 2 corresponds to the control gelatin solution (unmodified), well 3 corresponds to the UV-modified gelatin solution.

به‌دست آمده از پوست ماهی ۱۸/۶۷ درصد بود. با اعمال روش پرتوتابی، خصوصیات قدرت ژل، دمای ذوب، ویسکوزیته ژلاتین به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافت که بیش‌ترین میزان دمای ذوب در تیمار ۴

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که از مواد دورریز پوست ماهی هوور می‌توان به‌عنوان ماده اولیه مطلوب برای استخراج ژلاتین استفاده کرد. بازده ژلاتین

آنتالپی ذوب در ژلاتین ماهی گردند. نتایج هم‌چنین نشان داده است که ژلاتین ماهی با اصلاحات فیزیکوشیمیایی می‌تواند جایگزین مناسبی برای ژلاتین خوک و گاو و به‌عنوان عوامل ژل‌کننده، امولسیون‌کننده و کف‌ساز در صنایع غذایی استفاده شود.

ساعت پرتودهی مشاهده شد. پرتوتابی با تجمع و تخریب ژلاتین و تشکیل رادیکال‌های آزاد در باقی‌مانده‌های تیروزین و فنیل آلانین باعث افزایش احتمال اتصالات عرضی بین مولکولی می‌شود که این اتصالات می‌توانند باعث افزایش قدرت ژلی و افزایش

منابع

1. Renaldi, G., Sirinupong, N., & Samakradhamrongthai, R. S. (2022). Effect of extraction pH and temperature on yield and physicochemical properties of gelatin from *Atlantic salmon (Salmo salar)* skin. *Agriculture and Natural Resources*, 56 (4), 687-696.
2. Ghaly, A. E., Ramakrishnan, V. V., Brooks, M. S., Budge, S. M., & Dave, D. (2013). Fish processing wastes as a potential source of proteins. *Amino acids and oils: A critical review. J. Microb. Biochem. Technol.* 5 (4), 107-129.
3. Usman, M., Sahar, A., Inam-Ur-Raheem, M., Rahman, U. U., Sameen, A., & Aadil, R. M. (2022). Gelatin extraction from fish waste and potential applications in food sector. *International Journal of Food Science & Technology*, 57 (1), 154-163.
4. Shakila, R. J., Jeevithan, E., Varatharajakumar, A., Jeyasekaran, G., & Sukumar, D. (2012). Functional characterization of gelatin extracted from bones of red snapper and grouper in comparison with mammalian gelatin. *LWT-Food science and technology*, 48 (1), 30-36.
5. Bhat, R., & Karim, A. A. (2009). Ultraviolet irradiation improves gel strength of fish gelatin. *Food chemistry*, 113 (4), 1160-1164.
6. Tabarestani, H. S., Maghsoudlou, Y., Motamedzadegan, A., & Mahoonak, A. S. (2010). Optimization of physico-chemical properties of gelatin extracted from fish skin of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Bioresource technology*, 101 (15), 6207-6214.
7. Koliab, J. M., Basu, S., Venkateshwarlu, G., Choukasy, M. K., & Nayak, B. B. (2013). Optimization of fish gelatin extraction from skins and bones: A comparative study. *Ecol. Environ. Conserv. J.* 19 (1), 47-56.
8. Wu, C. K., Tsai, J. S., & Sung, W. C. (2015). Impact of ultraviolet treatment on improving gel strength of tilapia skin gelatin. *International Journal of Food Properties*, 18 (8), 1702-1706.
9. British standard institute. (1975). Methods for sampling and testing gelatin (physical & chemical methods). Gr 8. London, UK. BSI /757.
10. Baydin, T., Aarstad, O. A., Dille, M. J., Hattrem, M. N., & Draget, K. I. (2022). Long-term storage stability of type A and type B gelatin gels: The effect of Bloom strength and co-solutes. *Food Hydrocolloids*, 127, 107535.
11. Boran, G., & Regenstein, J. M. (2010). Fish gelatin. *Advances in food and nutrition research*, 60, 119-143.
12. Mahmoodani, F., Ardekani, V. S., See, S. F., Yusop, S. M., & Babji, A. S. (2014). Optimization and physical properties of gelatin extracted from *pangasius catfish (Pangasius sutchi)* bone. *Journal of food science and technology*, 51, 3104-3113.
13. Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., & Vyvyan, J. A. (2014). *Introduction to spectroscopy*. Cengage learning.
14. Al-Saidi, G., Rahman, M. S., Al-Alawi, A., & Guizani, N. (2011). Thermal characteristics of gelatin extracted from *shaari fish skin*: effects of extraction conditions. *Journal of thermal analysis and calorimetry*, 104 (2), 593-603.

15. Sebastian, M. (2014). Industrial gelatin manufacture-theory and practice.
16. Aberomand, A. (2007). Production of Edible Gelatin From Fishery Wastes. *Isfahan University of Technology- Journal of Crop Production and Processing*, 11 (1), 409-419.
17. Koli, J. M., Basu, S., Nayak, B. B., Kannuchamy, N., & Gudipati, V. (2011). Improvement of gel strength and melting point of fish gelatin by addition of coenhancers using response surface methodology. *Journal of food science*, 76 (6), 503-509.
18. Sung, W. C., & Chen, Z. Y. (2014). UV treatment and γ irradiation processing on improving porcine and fish gelatin and qualities of their premix mousse. *Radiation Physics and Chemistry*, 97, 208-211.
19. Huang, T., Tu, Z. C., Shangguan, X., Sha, X., Wang, H., Zhang, L., & Bansal, N. (2019). Fish gelatin modifications: A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, 86, 260-269.
20. Alfaro, A. D. T., Balbinot, E., Weber, C. I., Tonial, I. B., & Machado-Lunkes, A. (2015). Fish gelatin: characteristics, functional properties, applications and future potentials. *Food Engineering Reviews*, 7, 33-44.
21. Wisotzki, E. I., Tempesti, P., Fratini, E., & Mayr, S. G. (2017). Influence of high energy electron irradiation on the network structure of gelatin hydrogels as investigated by small-angle X-ray scattering (SAXS). *Physical Chemistry Chemical Physics*, 19 (19), 12064-12074.
22. Ahmed, J. (2023). Rheology of gelatin and advances in rheological measurements. In *Advances in Food Rheology and Its Applications* (pp. 591-636). Woodhead Publishing.
23. Huang, T., Tu, Z. C., Shangguan, X., Wang, H., Sha, X., & Bansal, N. (2018). Rheological behavior, emulsifying properties and structural characterization of phosphorylated fish gelatin. *Food Chemistry*, 246, 428-436.
24. Ghanbarzadeh, B. (2009). principles of foods biopolymer rheology. Tehran University Publications, pp. 47-58.
25. Arvanitoyannis, I. S. (2010). Irradiation of food commodities: techniques, applications, detection, legislation, safety and consumer opinion. *Academic Press*.
26. Islam, M. M., Zaman, A., Islam, M. S., Khan, M. A., & Rahman, M. M. (2014). Physico-chemical characteristics of gamma-irradiated gelatin. *Progress in Biomaterials*, 3, 1-9.
27. Amir, R. M., Anjum, F. M., Khan, M. I., Khan, M. R., Pasha, I., & Nadeem, M. (2013). Application of Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for the identification of wheat varieties. *Journal of food science and technology*, 50, 1018-1023.
28. Nandiyanto, A. B. D., Oktiani, R., & Ragadhita, R. (2019). How to read and interpret FTIR spectroscopy of organic material. *Indonesian Journal of Science and Technology*, 4 (1), 97-118.
29. Wu, C. K., Tsai, J. S., & Sung, W. C. (2019). Functional characteristics of ultraviolet-irradiated tilapia fish skin gelatin. *Molecules*, 24 (2), 254.
30. Hoque, M. S., Benjakul, S., & Prodpran, T. (2011). Properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin incorporated with cinnamon, clove and star anise extracts. *Food Hydrocolloids*, 25 (5), 1085-1097.
31. Feng, W., Zhao, T., Zhou, Y., Li, F., Zou, Y., Bai, S., ... & Wu, X. (2013). Optimization of enzyme-assisted extraction and characterization of collagen from Chinese sturgeon (*Acipenser sturio Linnaeus*) skin. *Pharmacognosy magazine*, 9 (Suppl 1), S32.
32. Hirbo, H. G., Kuse, K. A., & Alemu, A. D. (2023). Extraction and Characterization Of Gelatin From Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) Skin Wastes Generated In Arba Minch Local Fish Processing Industry and Its Value Addition As Stabilizer On Yoghurt.

33. Hanani, Z. N., McNamara, J., Roos, Y. H., & Kerry, J. P. (2013). Effect of plasticizer content on the functional properties of extruded gelatin-based composite films. *Food Hydrocolloids*, 31 (2), 264-269.
34. Mahmoodani, F., Ardekani, V. S., See, S. F., Yusop, S. M., & Babji, A. S. (2014). Optimization and physical properties of gelatin extracted from pangasius catfish (*Pangasius sutchi*) bone. *Journal of food science and technology*, 51, 3104-3113.
35. Mokhtarian, M. (2019). The extraction of gelatin from Caspian Sea (*Huso Huso*) skin and survey its rheological properties. *Journal of food science and technology (Iran)*, 15 (84), 429-439.

