



University of Guilan

University of Guilan with collaboration of Iranian
Aquaculture Society

Aquatic Animals Nutrition

Vol. 8, No. 3, 2022, pages: 29-42
DOI: 10.22124/janb.2023.24038.1186



Physical, mechanical and antibacterial properties of the gelatin film obtained from the by-product of Talang queenfish, *Scomberoides commersonnianus*

Maryam Mobaraei¹, Sedigheh Babaei^{1*}, Mahmood Naseri¹, Marzieh Moosavi-Nasab²

1- Department of Natural Resources and Environmental Engineering, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Fars, Iran

2- Department of Food Science and Technology, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Fars, Iran

Received 11 July 2022

Revised 16 September 2022

Accepted 19 September 2022

KEYWORDS ABSTRACT

Talang
queenfish
Fish gelatin
Biodegradable
film
Antibacterial
film

In this study, gelatin was extracted from the by-product of *Scomberoides commersonnianus*, and after evaluating its characteristics, a biodegradable film was prepared from the gelatin. The results showed that the yield of extracting gelatin, pH and hardness were 12%, 5, and 100 grams, respectively. The gelation time and temperature were 18°C in 175 seconds. Evaluation of the mechanical properties of the edible film based on fish gelatin showed that the tensile strength and elongation at the break point were 3.6 MPa and 27.2%, respectively. The physical properties of thickness, humidity, solubility, and water vapor permeability were reported as 0.08 mm, 5.2%, 21.3%, and 5.8 g mm/h mm²kpa × 10⁻⁶, respectively. SEM images showed a smooth structure without pores. Moreover, gelatin film did not show antibacterial properties against *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, and *Bacillus cereus*. However, based on the results of the fish gelatin film can be introduced as a suitable candidate for the preparation of composite films with other biopolymers, and the addition of antibacterial compounds can improve their antibacterial property.

*Corresponding author: s-babaei@shirazu.ac.ir; Babaei.Sedigheh@gmail.com





"مقاله پژوهشی"

خصوصیات فیزیکی، مکانیکی و ضدباکتریایی فیلم ژلاتینی حاصل از ضایعات ماهی سارم دهان بزرگ
(*Scomberoides commersonnianus*)

مریم مبرایی^۱، صدیقه بابایی^{۱*}، محمود ناصری^۱، مرضیه موسوی نسب^۲

۱- بخش مهندسی منابع طبیعی و محیط زیست، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، فارس

۲- بخش علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، فارس

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۲۸

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۶/۲۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۲۰

کلمات کلیدی

چکیده

در این تحقیق، استخراج ژلاتین از فرآورده‌های جانبی ماهی شیر بندر انجام شد و بعد از ارزیابی خصوصیات آن، فیلم زیست‌تخریب‌پذیر از آن تهیه شد. نتایج نشان داد که بازده استخراج ژلاتین از فرآورده‌های جانبی ماهی شیر بندر حدود ۱۲٪، pH حدود ۵، درجه سختی ژل ۱۰۰ گرم، دما و زمان بسته و باز شدن ژل به ترتیب ۱۸ درجه سانتی‌گراد در ۱۷۵ ثانیه و ۲۵ درجه سانتی‌گراد در ۱۶۱ ثانیه بود. ارزیابی خصوصیات مکانیکی فیلم خوراکی حاصل از ژلاتین ماهی نشان داد که استحکام کششی و ازدیاد طول در نقطه شکست به ترتیب ۳/۶ مگاپاسکال و ۲۷/۲٪ بود. خصوصیات فیزیکی ضخامت، رطوبت، حلالیت و نفوذپذیری به ترتیب، ۰/۰۸ میلی‌متر، ۵/۲٪، ۲۱/۳٪ و $5 \times 10^{-6} \text{ g mm/h mm}^2 \text{ kpa}$ به دست آمد. تصاویر حاصل از SEM در فیلم، ساختاری صاف و بدون ترک خوردگی نشان داد. هم‌چنین فیلم ژلاتین ماهی خواص ضدباکتریایی علیه باکتری‌های اشیریشیا کولای، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سابتیلیس و باسیلوس سرئوس نشان نداد. با توجه به خصوصیات حاصل از ژلاتین ماهی شیر بندر و ارزیابی خصوصیات فیلم حاصل از آن می‌توان آن را گزینه مناسبی در تهیه فیلم‌های ترکیبی با بیوپلیمرهای دیگر معرفی کرد، هم‌چنین، افزودن ترکیبات ضدباکتریایی طبیعی و مصنوعی ممکن است سبب ارتقای این فیلم شود.

مقدمه

ژلاتین یک پلی‌مر زیستی با وزن مولکولی بالاست که ماهیت پروتئینی دارد و از هیدرولیز کلاژن به دست می‌آید. این ترکیب عمدتاً از اسیدهای آمینه گلیسین، پرولین، آلانین، آرژینین و آسپارژین تشکیل شده و بستر اتصال به این زیست‌بسیار، بسیار زیاد است و یک بیوپلی‌مر مناسب برای استفاده در توسعه فیلم‌های بسته‌بندی مواد غذایی است (Mousazadeh et al. 2021). این پروتئین حیوانی محلول به طور عمده از کلاژن موجود در بافت‌های پیوندی حیوانات مانند پوست خوک و گاو مشتق شده است. با توجه به بیماری‌های دامی و محدودیت‌های مذهبی برای استفاده از گوشت و محصولات جانبی خوک، ژلاتین حاصل از زایعات ماهی می‌تواند یک جایگزین مناسب برای تولید ژلاتین باشد (Gudmundsson, 2002).

ژلاتین را می‌توان از دورریزها شامل پوست، استخوان، فلس، امعا و احشا و سر استخراج کرد. دورریزهای فراوری ماهی مانند پوسته‌ها، فلس‌ها و استخوان حاوی مقادیر زیادی کلاژن هستند که می‌توانند یک ماده خام برای استخراج ژلاتین باشند. اگرچه ژلاتین ماهی در مقایسه با ژلاتین دیگر پستانداران دارای قدرت ژل و دمای ذوب پایین‌تر است که به دلیل سطح پایین‌تر پرولین و هیدروکسی پرولین است (Mohajer et al. 2017) اما به دلیل شفافیت مناسب، تجزیه‌پذیری زیستی و ویژگی‌های عملکردی به عنوان یک چسب، یک غلیظ‌کننده برای افزایش ویسکوزیته و همچنین یک تقویت‌کننده طعم استفاده می‌شود (Abdelhedi et al. 2021).

ماهی سالم دهان بزرگ با نام علمی (*Scomberoides commersonianus*) و نام انگلیسی Talang Queenfish و نام‌های بومی مقوا سلیمانی، شیر بندر، سالم و زرده شناخته می‌شود و از ماهیان خلیج فارس است که در آب‌های شور مناطق گرمسیری از جمله آب‌های گرم اقیانوس هند زندگی می‌کند. این ماهی از گونه‌های مهم تجاری و از خانواده گیش ماهیان است. ماهی سالم دهان بزرگ در اقیانوس آرام غربی، هند و سواحل استرالیا پراکنش وسیعی داشته و در جزایر مرجانی مناطق نزدیک یا دور از ساحل و همچنین در خورها زندگی می‌کند (Yahyavi et al. 2018). این ماهی در ایران و به خصوص مناطق ساحلی جنوبی از بازارپسندی بالایی

برخوردار است و معمولاً در زمان فیله پوست و باله های آن دور ریز محسوب می‌شوند.

تاکنون مطالعات مختلفی در خصوص استخراج ژلاتین از ضایعات ماهیان انجام شده است، برای مثال ژلاتین از پوست ماهی سوف صورتی (*Nemipterus japonicas*) با بازده ۵۷/۵٪ و از استخوان ۳/۵۵٪ استخراج شد (Koli et al. 2012). ژلاتین استخراج شده از پوست ماهی سی-باس دریایی (*Lates calcarifer*) قدرت ژل بالاتری نسبت به ژلاتین گاوی نشان داد که می‌توان از آن به عنوان یک جایگزین برای ژلاتین‌های حیوانات خشکی استفاده کرد. همچنین قدرت ژل ژلاتین استخراج شده از ماهی باس دریایی با افزایش دما و زمان استخراج کاهش یافت و در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد بالاترین قدرت ژل را نشان داد (Sinthusamran et al. 2014). همچنین گزارش‌هایی در مورد استخراج ژلاتین از پوست طیف گسترده‌ای از گونه‌های ماهی از جمله تاسماهی سبیری (*Acipenser baerii*) (موسوی و همکاران، ۱۳۹۹)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Tabarestani et al. 2010)، پولاک آلاسکا (*Theragra chalcogramma*) (Zhou et al. 2006) و همچنین تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) (Zeng et al. 2010) وجود دارد.

در زمینه تولید فیلم‌های خوراکی و زیست‌تخریب‌پذیر مطالعات متنوعی انجام شده است که با توجه به حجم انبوه ضایعات حاصل از کارخانجات فرآوری آبزیان، شاید بتوان به فیلم‌های تهیه شده از این ضایعات را توجه کرد. زیرا از یک طرف هزینه ماده اولیه بسیار کاهش یافته و از دور ریزها استفاده بهینه می‌شود، دوم از آلودگی زیست محیطی (حاصل از دفع این ضایعات) جلوگیری شود. ژلاتین ماهی، غیرسمی، زیست‌سازگار و زیست‌تخریب‌پذیر است، بنابراین پتانسیل بسیار بالایی برای تولید فیلم‌های خوراکی دارد. این بیوپلی‌مر مناسب برای تولید بسته‌بندی‌های زیست‌تخریب‌پذیر به دلیل خواص خوب شامل توانایی تشکیل فیلم، فراوانی، نقطه تشکیل ژل و ذوب پایین و قابلیت بالقوه برای استفاده به عنوان حامل یا بستر برای عوامل عمل‌گراست. با وجود تمام مزایای ذکر شده، اما در برخی موارد ژلاتین دارای مشکلاتی از جمله سد ضعیف در برابر آب است که کاربرد آن‌ها را در بسته‌بندی‌های مواد غذایی محدود می‌کند (Amjadi et al. 2019).

تهیه ضایعات ماهی و استخراج ژلاتین

ضایعات ماهی شیر بندر یا سارم دهان بزرگ به صورت تازه و روزانه از بازار ماهی فروشان تهیه شد. ضایعات پوست و باله ماهی تمیز و شسته شده و به قطعات کوچک تبدیل شد. سپس تا زمان استفاده در کیسه پلاستیکی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

استخراج ژلاتین از ضایعات ماهی با پیش تیمار قلیایی و اسیدی انجام شد. برای زدودن چربی‌ها و پروتئین غیر-کلاژنی محلول سود ۰/۴ نرمال با نسبت ۱ به ۵ (وزنی: حجمی) به ۱۰۰ گرم نمونه اضافه و به مدت یک ساعت در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. مرحله تیمار با سود سه بار تکرار و در نهایت تا زمان خنثی سازی pH با آب مقطر سرد کاملاً شست و شو داده شد. برای حذف مواد معدنی و املاح از پوست در مرحله بعد محلول اسیدی ۰/۲ نرمال به نسبت ۱ به ۵ (وزنی: حجمی) به ۱۰۰ گرم نمونه اضافه و به مدت یک ساعت در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری و بعد از سه بار تکرار این مرحله، تا زمان خنثی کردن pH با آب مقطر سرد کاملاً شست و شو داده شد. پس از شستشوی نهایی، ژلاتین از پوست‌های تیمار یافته، آب مقطر با نسبت ۱ به ۶ (وزنی: حجمی) به نمونه اضافه و در گرمخانه شیک‌دار (متحرک) با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ ساعت نگهداری شد. سپس نمونه با پارچه نظیف و سپس با قیف بوختر فیلتر شد. محلول در ظرف سترون ریخته و در گرمخانه با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد تا زمان خشک شدن نگهداری شد. بعد از خشک شدن کامل، ژلاتین پودر شده و در ظرف درب‌دار نگهداری شد (موسوی و همکاران، ۱۳۹۹؛ Tabarestani et al. 2010).

بررسی خصوصیات ژلاتین ماهی

اندازه‌گیری بازده استخراج ژلاتین

میزان بازده ژلاتین بر اساس وزن مرطوب پوست و باله به مقدار گرم ژلاتین خشک شده بر اساس رابطه زیر اندازه‌گیری شد:

$$100 \times (\text{وزن ضایعات (گرم)} / \text{وزن ژلاتین (گرم)}) = \text{بازده ژلاتین (درصد)}$$

با توجه به اینکه تا به حال مطالعه‌ای در خصوص تهیه فیلم خوراکی و زیست‌تخریب‌پذیر بر پایه ژلاتین حاصل از ضایعات ماهی شیر بندر انجام نشده است، این مطالعه سعی دارد در ابتدا با بررسی امکان استخراج و بررسی خصوصیات ژلاتین حاصل از ضایعات این ماهی، و در ادامه امکان تشکیل فیلم بر پایه ژلاتین را بررسی و خصوصیات مکانیکی، فیزیکی و ضدمیکروبی آن را ارزیابی کند.

مواد و روش‌ها

مواد و ابزار مصرفی و غیرمصرفی

مواد و وسایل مورد استفاده در این آزمایش شامل موارد زیر بود: ضایعات (پوست و باله) ماهی سارم دهان بزرگ، NaOH، اسید کلریدریک، گلیسرول، محیط کشت Brain Heart Infusion، منیزیم نیترات، کاغذ صافی، پلیت استریل، پلیت الایزا، بوته چینی، دسیکاتور، فالدون ۵۰ میلی‌لیتر، سرسمپلر ۱۰۰۰ و ۱۰۰، سرم فیزیولوژی، ادوات شیشه‌ای آزمایشگاهی برای انجام آزمایش.

تجهیزات

تجهیزات مورد استفاده در این تحقیق شامل موارد زیر بود: یخچال (JTCL، ژال تجهیز، ایران)، دستگاه آب مقطر گیری Millipore (Direct-QUV3، فرانسه)، انکوباتور (۵۰۳، آراین آزما طب، ایران)، انکوباتور شیکر (Nargha Fara Azma، آون، ایران)، JTPIS، ایران، آون (Fara Azma، KM23S، ایران)، اتوکلاو (RT-2، ریحان طب، ایران)، هیتر مگنت (HS-860، آلفا تجهیز، ایران)، ترازو (Sartorius، ENTRIS224-IS، آلمان)، هود بیولوژی (JTLVC2X، ژال تجهیز، ایران)، دستگاه کشش مکانیکی (Test metric Machine M350-10C)، ورتکس (Nargha Tajhiz، ایران)، دستگاه بافت سنج (TX-، Surrey، XT2 Texture Analyser Mitutovo No. 293-، اینچ ۰/۰۰۱)، میکرومتر با دقت ۰/۰۰۱ (Tokyo، 766، ژاپن)، دستگاه پوشش دهنده طلا (R-، Quorum Technologies، ES150Q، انگلستان) و pH سنج (STARTER 3000، متروم؛ سوئیس) که در این پژوهش استفاده شد.

اندازه‌گیری pH

pH محلول ژلاتین طبق استاندارد ملی ایران با تهیه ۱ گرم ژلاتین در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و با استفاده از دستگاه pH سنج اندازه‌گیری شد.

تعیین دما و زمان بسته شدن ژل

برای تعیین دمای بستن ژلاتین، محلول ۱۰٪ (وزنی: حجمی) ژلاتین در آب مقطر تهیه، پس از حل کردن در حمام آب گرم مقداری از نمونه‌های حل شده در لوله آزمایش به حمام آب دیگری با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شد. سپس حمام آب به آرامی با افزودن آب سرد با دمای ۲ درجه سانتی‌گراد در فواصل زمانی ۱۵ ثانیه سرد شد. در این حالت دماسنج را در محلول قرار داده و هر ۱۵ ثانیه از آن خارج شد. دمایی که هیچ قطره‌ای از روی دماسنج در هنگام خارج کردن، نچکد به عنوان دما و زمان بستن ژل ثبت شد (Muyonga et al. 2004a).

تعیین دما و زمان باز شدن ژل

برای تعیین دما و زمان باز شدن ژلاتین، محلول ۱۰٪ (وزنی: حجمی) ژلاتین را در آب مقطر آماده و به مدت ۱۸-۱۶ ساعت در یخچال در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس به حمام آب ۱۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شد و به تدریج به آن آب گرم ۴۵ درجه سانتی‌گراد در فواصل ۶۰ ثانیه اضافه شد. بدین وسیله دما و زمان باز شدن ژلاتین ثبت شد. هر زمانی که میله شاخص از محلول به-راحتی جدا شد، به عنوان زمان باز شدن و دمایی که دماسنج به راحتی جدا شد، به عنوان دمای باز شدن تعیین شد (Muyonga et al. 2004a).

تعیین درجه سختی ژل (درجه بلوم)

سختی ژلاتین استخراج شده از پوست ماهی با استفاده از دستگاه بافت سنج اندازه‌گیری شد. ژلاتین (۶/۶۷٪) در آب مقطر به مدت ۱ ساعت قرار داده شد تا به خوبی آب جذب

نماید و هیدراته شود. سپس روی هیتر مگنت با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به خوبی هموزن شد. محلول حاصل در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ الی ۱۸ ساعت نگهداری شد. استحکام ژل از طریق اندازه‌گیری حداکثر نیرویی که موجب نفوذ پروب استاندارد به میزان ۴ میلی‌متر و با سرعت ۰/۵ میلی‌متر در ثانیه در ژل می‌گردد، به دست آمد (Rosseto et al. 2019).

تهیه فیلم ژلاتینی

ژلاتین ماهی به میزان ۳٪ (وزنی: حجمی) در آب مقطر حل شد. برای تورم و انحلال بهتر در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده شد تا کاملاً حل شود بعد از آن محلول با کیف بوختر فیلتر شد. برای انعطاف‌پذیری بیشتر فیلم‌ها ۴۰٪ وزن ماده خشک گلیسرول به محلول اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه هم زده شد (موسوی و همکاران، ۱۳۹۹؛ Lin et al. 2020). سپس به میزان ۱۲ میلی‌لیتر در پلیت‌های ۸ سانتی‌متری ریخته، و به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد.

آزمون‌های مکانیکی فیلم‌ها

اندازه‌گیری میزان مقاومت کششی (TS) و کشش تا نقطه شکست (%E) فیلم‌ها با استفاده از دستگاه کشش مکانیکی با استفاده از استاندارد ASTM D882-02 (۲۰۰۲) اندازه‌گیری شد. ابتدا فیلم به شکل مستطیل به ابعاد ۱×۶ سانتی‌متر مربع بریده شده و در دسیکاتور حاوی نیترات منیزیم (برای ایجاد رطوبت نسبی ۵۳٪) و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد. سپس نمونه‌ها بین دو فک دستگاه قرار گرفت. فاصله اولیه بین دو فک و سرعت حرکت فک بالایی به ترتیب برابر ۵۰ میلی‌متر و ۵۰ میلی‌متر/دقیقه تعیین و داده‌ها توسط کامپیوتر ثبت شد (Valizadeh et al. 2019). مقاومت کششی فیلم‌ها از رابطه زیر محاسبه شد:

(ضخامت فیلم × عرض فیلم) ÷ حداکثر نیرو در لحظه پاره شدن = مقاومت کششی

تصادفی در پنج نقطه از هر نمونه تکرار شد میانگین ضخامت این نقاط برای تعیین ضخامت فیلم در نظر گرفته شد (Valizadeh et al. 2019).

آزمون‌های فیزیکی فیلم‌ها

ضخامت

برای اندازه‌گیری ضخامت فیلم از دستگاه میکرومتر با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر استفاده شد. اندازه‌گیری‌ها به صورت

رطوبت

مقدار مشخصی از نمونه‌ها توزین و داخل پلیت‌های شیشه-ای قرار داده شد، سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد خشک شد. پس از این نمونه همراه با

پلیت از گرمخانه خارج، و پس از سرد شدن در دسیکاتور مجدداً توزین شد. محتوای رطوبت فیلم‌ها بر پایه وزن مرطوب از رابطه زیر محاسبه شد (Valizadeh et al. 2019):

$$100 \times (\text{وزن نمونه تر} / \text{وزن نمونه خشک} - \text{وزن نمونه تر}) = \text{رطوبت} (\%)$$

حلالیت در آب

برای تعیین حلالیت فیلم، فیلم‌های بدون رطوبت با اندازه ۲×۲ سانتی‌متر وزن شدند و در ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر در دمای اتاق غوطه‌ور شدند. پس از ۲۴ ساعت نمونه‌ها برداشته

و در آن با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. حلالیت با اختلاف وزن بین ماده خشک که در آب حل نشده و وزن اولیه قبل از غوطه‌وری تعیین شد. سه تکرار برای هر فیلم انجام شد و نتایج حلالیت به صورت درصد بیان شد (Sani et al. 2019).

$$100 \times (\text{وزن فیلم خشک اولیه} / \text{وزن فیلم خشک پس از غوطه‌وری} - \text{وزن فیلم خشک اولیه}) = \text{حلالیت} (\%)$$

اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری در برابر بخار آب

سنجش میزان نفوذپذیری فیلم‌ها نسبت به بخار آب طبق استاندارد ASTM E96 محاسبه شد. فنجان‌هایی با قطر ۴×۳×۳ سانتی‌متر حاوی ۴ گرم کلرید کلسیم (CaCl₂) بدون آب (رطوبت نسبی صفر) و یک فنجان کنترل (خالی از کلسیم کلرید) در بندی شد. فنجان‌ها در یک محفظه‌ی حاوی سدیم کلرید فوق اشباع (رطوبت نسبی ۰/۷۵) قرار گرفتند. رطوبت نسبی فنجان‌ها همیشه کمتر از بیرون بود. این اختلاف رطوبت میان دو سمت فیلم منجر به ایجاد

یک فشار بخار به اندازه ۱۷۵۳/۵۵ پاسکال می‌شود. انتقال بخار آب از طریق افزایش وزن فنجان تشخیص داده شد. تغییرات وزن فنجان (با فواصل ساعتی) با استفاده از ترازویی با دقت ۰/۰۰۰۱ اندازه‌گیری و نمودار افزایش وزن به عنوان تابعی از زمان رسم شد. در تمام نمونه‌ها با رسم منحنی تغییرات وزن یاخته نسبت به زمان، یک معادله درجه یک بود. نرخ انتقال بخار آب برحسب $(\text{gmm}^2/\text{hmm}^2\text{Kpa} \times 10^{-13})$ معادل با شیب خطوط حاصل، تقسیم بر سطح یاخته است که از رابطه زیر محاسبه شد (Mousavi et al. 2019):

$$(\text{فشار بخار داخل فنجان} - \text{فشار بخار بیرون فنجان}) / \text{سطح فنجان} (\text{mm}^2) \div \text{ضخامت} (\text{mm}) \times \text{شیب خط} = \text{میزان نفوذپذیری}$$

آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

برای بررسی ساختار نمونه فیلم تولیدی، از دستگاه SEM (TESCAN-Vaga 3، جمهوری چک) استفاده شد. ابتدا

فیلم در ابعاد بسیار کوچک بریده شده و به کمک چسب نقره بر روی پایه آلومینیومی چسبانده شد. پایه‌ها در یک دستگاه پوشش دهنده/پاشنده طلا پوشش داده شده سپس تصویربرداری از نمونه در بزرگنمایی‌های مختلف انجام شد. تحقیق، از آزمایشگاه صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز تهیه شد.

باکتری‌های مورد استفاده

استوک باکتری (*Escherichia* (ATCC 25922)، *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)، *coli* (ATCC) و *Bacillus subtilis* (ATCC 1023) مورد استفاده در این

ارزیابی خواص آنتی باکتریال فیلم

برای ارزیابی فعالیت ضد میکروبی فیلم از روش چگالی نوری (Optical Density) استفاده شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از هر باکتری با رقت خاص (۰/۵ مک فارلند) به لوله‌های

آزمایشگاهی حاوی ۳/۹ میلی لیتر محیط کشت BHI استریل اضافه شد. سپس ۰/۰۲۵ گرم از فیلم‌ها، توسط لامپ UV به مدت ۵ دقیقه استریل شد و به لوله‌های آزمایشگاهی حاوی سوسپانسیون میکروبی اضافه شد. ظروف در دمای ایده‌آل رشد باکتری‌ها در انکوباتور شیکردار (۳۷ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. نمونه‌ها با سه بار تکرار در ساعت‌های صفر، ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ برداشته شد (۷۵۰ ماکرولیتتر)، سپس نمونه‌ها در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای ریخته شد و توسط دستگاه الیزا در طول موج ۶۲۰ نانومتر قرائت شد (Mousavi et al. 2019).

نتایج و بحث

ویژگی‌های ژلاتین استخراج شده از ضایعات ماهی

سالم دهان بزرگ

بازده استخراج

طبق جدول ۱ بازده استخراج ژلاتین از ماهی سالم دهان بزرگ (شیر بندر) ۱۱/۹٪ بود. بر اساس مطالعات قبلی، بازده ژلاتین حاصل از پوست ماهی سالمون (*Salmo salar*) ۱۵/۴ درصد، (Arnesen et al. 2007)، بازده استخراج ژلاتین از پوست نیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) Jamilah and Harvinder, (۵/۷-۳۹/۸۱ درصد، (2002)، پوست سوف (*Lates niloticus*) ۱۶-۱۲/۵ درصد، (Muyonga et al. 2004b)، زایدات تاسماهی سیبری ۲۰/۰۶ درصد، (موسوی و همکاران، ۱۳۹۹) و ماهی کیلکا (*Clupeonella cultriventris*) ۹/۰۲٪ (میبینی و همکاران، ۱۴۰۰) گزارش شده است. از آنجا که ذخیره کلاژنی در پوست و استخوان ماهیان مختلف متفاوت است، بازده استخراج نیز با توجه به گونه متفاوت خواهد بود. غلظت سود و اسید نیز دو فاکتور مهم تاثیرگذار بر بازده استخراج ژلاتین است (Bower et al. 2006).

pH

ویژگی‌های عملکردی ژلاتین تولید شده به pH وابسته است. تفاوت در pH ژلاتین به نوع معرف و روش استخراج بستگی دارد. طبق جدول ۱ میزان pH ژلاتین استخراج شده از ماهی سالم دهان بزرگ ۴/۹ بود. pH ژلاتین استخراج شده از پوست تاسماهی سیبری برابر ۴ (موسوی و همکاران، ۱۳۹۹)، کپور معمولی ۴/۰۵ (Alfaro et al. 2014) و گربه ماهی (*Larias batrachus*) ۵/۲۲

درجه سختی ژل (درجه بلوم)

قدرت ژل مهمترین ویژگی فیزیکی یک ژلاتین است. قدرت ویسکوزیته ژلاتین با قدرت ژل یا بلوم اندازه‌گیری می‌شود. درجه بلوم به سه دسته کم (۱۵۰)، متوسط (۱۵۰-۲۲۰) و بلوم زیاد (۲۲۰-۳۰۰) طبقه‌بندی می‌شود (Shafiur Rahman and Al-Mahrouqi, 2009). از جمله عوامل مؤثر بر قدرت ژلی ژلاتین، اندازه زنجیره‌های پروتئین، غلظت ژلاتین، توزیع وزن مولکولی ژلاتین و pH است (Intarasirisawat et al. 2007). درجه بلوم ژلاتین ماهی پایین‌تر از ژلاتین پستانداران است، زیرا میزان پرولین و هیدروکسی پرولین برای ژلاتین ماهی کمتر از ژلاتین پستانداران است (Muyonga et al. 2004b). طبق جدول ۱ درجه بلوم ژلاتین حاصل از پوست و باله ماهی شیر بندر حدود ۱۰۰ گرم بود. قدرت ژل ژلاتین‌های استخراج شده از ماهی پولاک آلاسکا (*Theragra chalcogramma*) ۹۸ گرم (Zhou et al. 2006)، کپور معمولی ۱۳۸ گرم (Ristyanti et al. 2022) و ماهی روهو (*Labeo rohita*) ۱۸۸ گرم (Ninan et al. 2011) گزارش شده است.

دما و زمان باز و بسته شدن ژل

در این پژوهش طبق جدول ۴-۱ دما و زمان باز شدن ژلاتین به ترتیب ۲۵/۳ درجه سانتی‌گراد در ۱۶۱ ثانیه بود. همچنین، دما و زمان بسته شدن ژلاتین ۱۸ درجه سانتی-گراد در ۱۷۵ ثانیه بود. دمای باز و بسته شدن ژلاتین حاصل از پوست ماهی اسکات (*Raja kenoei*)، ۱۹/۳ و ۱۶/۱۲ درجه سانتی‌گراد گزارش شد (Cho et al. 2006). نقطه ذوب ژلاتین استخراج شده از پوست ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) ۲۳ درجه سانتی‌گراد گزارش شده است (Tabarestani et al. 2010). دما و زمان بسته شدن ژل در ژلاتین ماهی روهو، ۱۸/۲۵ در ۱۰۶ ثانیه و در کپور معمولی ۱۷/۹۶ در ۱۰۳ ثانیه گزارش شده است (Ninan et al. 2014). تفاوت در دمای تشکیل ژل،

نتایج نشان داد که دمای ذوب ژلاتین که از پوست ماهیان سردابی به دست می‌آید به طور قابل توجهی کمتر از دمای ذوب ژلاتین حاصل از پستانداران و ماهیان گرمایی است (Karim and Bhat, 2009).

در ارتباط با ترکیب اسیدهای آمینه پرولین و هیدروکسی پرولین آن‌ها است. بنابراین در شبکه ژلی، هرچه مقدار این دو اسید آمینه بیشتر باشد (با توجه به گونه ماهی)، ژل در دمای بالاتری می‌بندد (Burjanadze et al. 1979).

جدول ۱ خصوصیات ژلاتین استخراج شده از زایدات ماهی شیر بندر.

زمان باز شدن ژل (ثانیه)	دمای باز شدن ژل (°C)	زمان بسته شدن ژل (ثانیه)	دمای بسته شدن ژل (°C)	درجه سختی (گرم)	pH	بازده (%)
۱۶۱/۶ ± ۲۰/۲	۲۵/۳ ± ۱/۱	۱۷۵ ± ۸/۶	۱۸ ± ۰/۰۰	۹۹/۹ ± ۵/۸	۴/۹ ± ۰/۰۹	۱۱/۹ ± ۱/۲

($p < 0.05$). افزایش ضخامت فیلم به دلیل افزایش محتوای جامد فیلم است (Roy and Rhim, 2021). نتایج مطالعات قبلی نشان داد که ضخامت فیلم ژلاتین ۵۰/۵ میکرومتر است که با افزودن نانوذرات کیتوزان به ماتریس فیلم ضخامت فیلم نانوکامپوزیت زیستی به ۶۴/۸ میکرومتر افزایش یافت (Hosseini et al. 2015). نتایج مشابهی در گزارش Arfat و همکاران (۲۰۱۴) روی فیلم‌های ترکیبی ایزوله پروتئین ماهی و مخلوط ژلاتین پوست ماهی مشاهده شد.

رطوبت

یکی از کاربردهای مهم بسته‌بندی مواد غذایی کاهش جابه‌جایی رطوبت بین محیط مجاور و مواد غذایی است که این امر باعث حفظ کیفیت مواد غذایی بسته‌بندی شده می‌شود. جذب آب یکی از شاخص‌های فیزیکی مهم فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر محسوب می‌شود که برای تعیین پایداری و تغییرات کیفیت مواد بسته‌بندی شده نسبت به آب به ویژه در محیط‌های مرطوب کاربرد دارد (وجدان و همکاران، ۱۳۹۴). طبق جدول ۲ رطوبت فیلم حدود ۵/۲٪ بود. به طور کلی، هر چه میزان جذب آب کمتر باشد، فیلم خوراکی توانایی بهتری برای مقاومت به خصوص در محیط‌های مرطوب دارد (Sihombing et al. 2022).

در یک مطالعه میزان رطوبت فیلم دو لایه آگار-ژلاتین با فیلم تک لایه آگار و ژلاتین مقایسه شد. نتایج نشان داد که فیلم ژلاتین بیشترین میزان جذب آب را نشان می‌دهد، به طوری که فیلم ژلاتین در لحظات اولیه به میزان زیادی

خواص مکانیکی فیلم ژلاتینی

استحکام کششی (TS) و ازدیاد طول در نقطه شکست (E%)

استحکام کششی یا مقاومت کششی شاخصی برای سنجش استحکام فیلم است که به ساختار شیمیایی مولکول‌ها یا به هم پیوستگی زنجیرهای پلیمر در بستر عرضی فیلم‌ها بستگی دارد. افزایش درازا در نقطه شکست نیز معیاری برای کشسانی فیلم قبل از پارگی است که هر دو از فراسنجه‌های مهم در ارزیابی فیلم‌های بسته‌بندی محسوب می‌شوند. همچنین افزودن اسانس‌ها و عصاره‌ها به ماتریس فیلم استحکام کششی (TS) را کاهش و ازدیاد طول (E) را افزایش می‌دهد (Khaneghah et al. 2018). طبق جدول ۲ فیلم ژلاتینی به ترتیب TS و E ۳/۶۲ مگاپاسکال و ۲۷/۱۷٪ از خود نشان داد. فیلم ژلاتینی حاصل از ژلاتین تالسامی سبیری به ترتیب مقاومت کششی و ازدیاد طول در نقطه شکست ۳/۵۴ مگاپاسکال و ۷۷/۵۸٪ نشان داد (موسوی و همکاران، ۱۴۰۰). برعکس، فیلم کیتوزانی کشش مکانیکی بیشتر (۳/۵۱ مگاپاسکال) و ازدیاد درازای کمتری (۳۲/۲۷٪) نسبت به ژلاتین نشان داد. این یافته‌ها با گزارش‌های پیشین (Denavi et al. 2009; Limpisophon et al. 2010) مطابقت داشت.

خواص فیزیکی فیلم ژلاتینی

ضخامت

ضخامت فیلم زیست تخریب‌پذیر، فراسنجه‌ای مهم است، زیرا روی خواص فیزیکی مواد بسته‌بندی تأثیر می‌گذارد. طبق جدول ۲ ضخامت فیلم ژلاتین ۰/۰۸ میلی‌متر بود

آگار-ژلاتین است. بالا بودن حلالیت ژلاتین ناشی از خاصیت آب دوست بودن و همچنین، فراوان بودن گروه هیدروکسیل در آن است (Abdollahi et al. 2013).

نفوذپذیری به بخار آب (WVP)

نفوذپذیری به بخار آب یکی از پارامترهای مهم فیلم‌های زیست تخریب پذیر است که نقش مهمی در تخریب مواد غذایی دارند (Mousavi et al. 2019) و یک روش استاندارد برای ارزیابی کیفیت فیلم‌ها به عنوان یک مانع رطوبتی است. نفوذپذیری بالای فیلم‌های زیست تخریب-پذیر در برابر بخار آب نسبت به کاربرد و کارایی آن‌ها مطلوب نیست (Pereda et al. 2011). به همین دلیل، مواد اولیه انتخاب شده برای تولید فیلم‌های بسته‌بندی باید قابلیت‌های بالایی در به حداقل رساندن WVP داشته باشند (Zhou et al. 2009). با توجه به نتایج جدول ۲ نفوذپذیری به بخار آب فیلم ژلاتین ۵/۸ بود. نتایج پیشین نشان داد افزودن بیش از ۶٪ کیتوزان به ماتریس فیلم نانو-کامپوزیت زیستی بر پایه ژلاتین ماهی باعث افزایش اندکی در WVP شد (Hosseini et al. 2015). نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های نانورس/ژلاتین نشان داد با افزایش محتوای خاک رس، نفوذپذیری لایه‌های ژلاتینی کاهش یافت که این ممکن است به دلیل ماهیت آبدوست بیشتر ژلاتین نسبت به ذرات نانورس باشد (Farahnaky et al. 2014).

آب جذب کرده و متوم شده و پیش از رسیدن به تعادل متلاشی شده است (وجدان و همکاران، ۱۳۹۴).

حلالیت

شاخص حلالیت فیلم، اندازه‌گیری مقاومت فیلم در برابر آب است که به ماهیت آب دوستی آن مربوط می‌شود (Sani et al. 2019). یکی از ویژگی‌های نامطلوب و مهم فیلم‌های زیست تخریب پذیر حلالیت است. این خصوصیت نامطلوب مقاومت فیلم نسبت به محیط‌های مرطوب مثل مواد گوشتی را کاهش می‌دهد (Siripatrawan and Harte, 2010). ژلاتین ماهی به دلیل وجود مقدار پایین تر پرولین و هیدروکسی پرولین نسبت به ژلاتین پستانداران از حلالیت بالاتری برخوردار است (Weng and Zheng, 2015). طبق جدول ۲ فیلم ژلاتین دارای حلالیت ۲۱ درصدی است. در پژوهش Pereda و همکاران (۲۰۱۱) میزان حلالیت فیلم‌های ترکیبی کیتوزان-ژلاتین نشان داد که فیلم‌های ترکیبی و دو لایه به طور قابل توجهی کمتر از ژلاتین حل می‌شوند. Hosseini و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند حلالیت لایه‌های ژلاتین خالص در آب مقطر حدود ۷۲٪ بود که با افزودن نانوذرات کیتوزان به ماتریس فیلم میزان حلالیت کاهش یافت. پژوهش وجدان و همکاران (۱۳۹۴) نشان داد میزان حلالیت فیلم‌های ژلاتین، آگار و آگار ژلاتین پس از گذشت ۲۴ ساعت به ترتیب برابر ۵۱/۴۷، ۳۴/۲۹ و ۳۷/۴۵ است که نشان دهنده حلالیت بالای فیلم ژلاتین نسبت به فیلم‌های آگار و فیلم ترکیبی

جدول ۲ خصوصیات مکانیکی و فیزیکی فیلم ژلاتین ماهی.

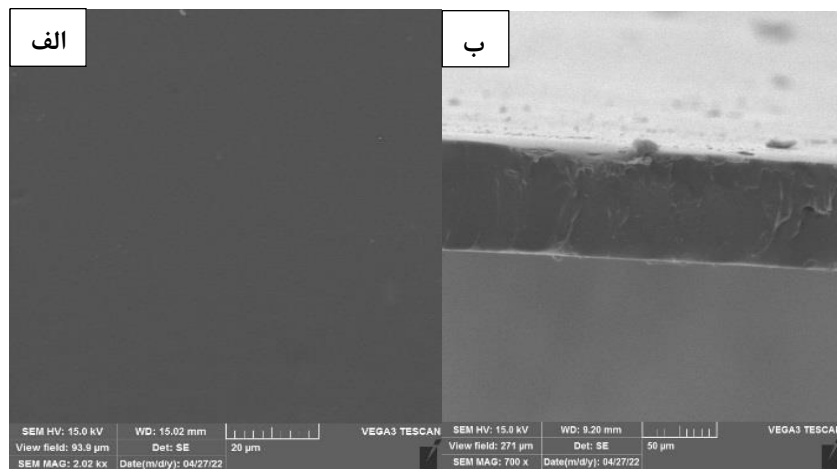
نفوذپذیری به بخار آب (g mm/h mm ² kPa × 10 ⁻³)	حلالیت (%)	رطوبت (%)	ضخامت (mm)	ازدیاد طول در نقطه شکست (%)	استحکام کششی (MPa)
۵/۸ ± ۱	۲۱/۳ ± ۳/۲	۵/۲ ± ۰/۷	۰/۰۸ ± ۰/۰۱	۲۷/۲ ± ۱/۶	۳/۶ ± ۰/۱

گزارش کردند که مقطع عرضی فیلم‌های ژلاتین و آگار از ساختار یکنواخت و به هم فشرده‌ای برخوردار است و فیلم دو لایه آگار-ژلاتین یکنواختی کمتری نسبت به فیلم آگار و ژلاتین به تنهایی دارد. نتایج پژوهش Ahmadi و همکاران (۲۰۲۱) نشان داد که فیلم‌های ژلاتین-سلولز دارای سطوح صاف، همگن و بدون شکستگی هستند. نتایج مشابهی در خصوص فیلم خوراکی حاصل از ژلاتین

میکروسکوپ الکترونی SEM

بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناسی فیلم‌های تهیه شده یکی از روش‌های مناسب برای بررسی همگنی و یکنواختی فیلم‌های ترکیبی تهیه شده بیش از یک پلی‌مر می‌باشد. تصاویر SEM فیلم ژلاتینی در شکل ۱ نشان داده شد. تصویر ریزبینی، مربوط به سطح و مقطع عرضی صاف و بدون هیچ گونه منفذ و ترک خوردگی است که همگنی و یکپارچگی ساختار فیلم را نشان می‌دهد. وجدان و همکاران (۱۳۹۴)

تاسماهی سیبری نیز گزارش شده است (موسوی و همکاران، ۱۳۹۹).

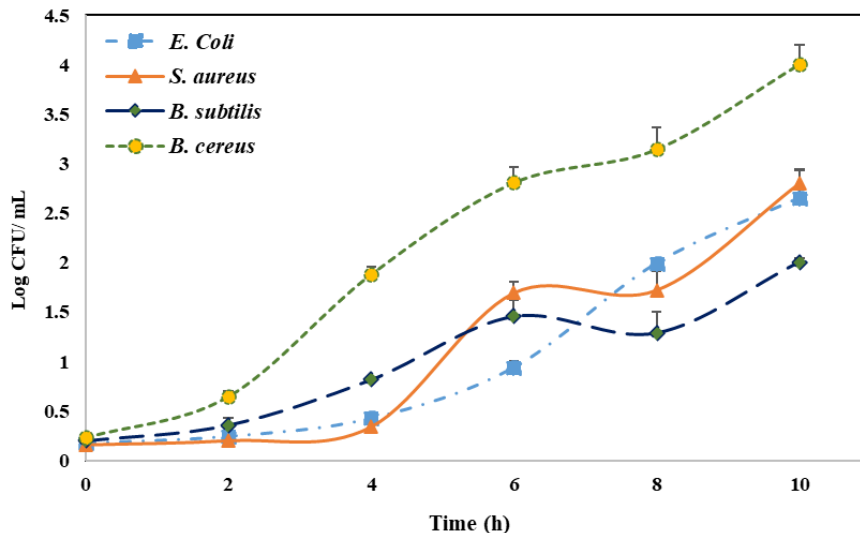


شکل ۱ تصویر میکروسکوپ الکترونی مربوط به فیلم حاصل از ژلاتین ماهی؛ الف) سطحی؛ ب) مقطع عرضی.

al. 2022). این باکتری گرم مثبت و بی‌هوازی اختیاری است که منجر به مسمومیت غذایی و عفونت‌های انسانی و دامی می‌شود (Li et al. 2021). باکتری‌های *B. cereus* و *B. subtilis* نیز پاتوژن‌های مهم و عامل شایع مسمومیت غذایی هستند. به‌طور کلی، فیلم ژلاتین در برابر کلیه باکتری‌ها فعالیت ضد باکتریایی خوبی از خود نشان نداد و رشد باکتری‌ها در طی زمان افزایش یافت. فیلم‌های ترکیبی بر پایه ژلاتین و کتیرا حاوی ۱، ۳ و ۵٪ نانوذرات اکسید روی فعالیت ضد میکروبی علیه باکتری‌های اشریشیاکلای و استافیلوکوکوس اورئوس نشان دادند (Shahvalizadeh et al. 2021). لذا وجود عوامل ضد-میکروبی در فیلم‌های زیست تخریب پذیر می‌تواند از طریق رویکردهای مختلف رشد میکروبی را متوقف کنند. این رویکردها شامل تغییر یا دناتوره شدن ساختار پروتئین، تغییر دادن پروتئین‌های غشای یاخته‌ای یا لیپیدهای غشایی و مسدود کردن تولید دیواره یاخته‌ای است (Khaneghah et al. 2018).

بررسی خواص ضد میکروبی تیمارها

اثر فیلم ژلاتین ماهی با استفاده از روش چگالی نوری علیه رشد باکتری گرم منفی *E. Coli* و باکتری‌های گرم مثبت *S. aureus*، *B. subtilis* و *B. cereus* طی ۱۰ ساعت گرمخانه‌گذاری در شکل ۲ نشان داده شده است. دیواره یاخته‌ای باکتری‌های گرم مثبت ضخیم، و از پپتیدوگلیکان چند لایه تشکیل شده است، اما دیواره یاخته‌ای باکتری‌های گرم منفی به دلیل وجود یک غشای بیرونی پیچیده‌تر است که علاوه بر لایه نازک پپتیدوگلیکان عمدتاً از لیپو پلی- ساکراید نیز تشکیل شده است (Amjadi et al. 2019). اشریشیا کلای یکی از شایع‌ترین ریزموجودات آلوده کننده مواد غذایی هستند که تکامل یافته است و بیماری‌های مختلفی را براساس اثرات آن‌ها بر میزبان ایجاد می‌کند (Enciso-Martinez et al. 2022). *E. coli* می‌تواند عامل بیماری‌های مختلف از جمله اسهال خونی، عفونت ادراری، مننژیت نوزادی و نارسایی کلیه شود. استافیلوکوکوس اورئوس نیز یک پاتوژن غذایی است که سلامت انسان را در جهان به خطر می‌اندازد (Wang et



شکل ۲ روند رشد باکتری گرم منفی *E. Coli* و باکتری‌های گرم مثبت *S. aureus*، *B. subtilis* و *B. cereus* طی ۱۰ ساعت در مقابل فیلم ژلاتین ماهی.

کیلکا و بررسی خواص فیزیکوشیمیایی، رئولوژیکی و حسی آن در مقایسه با ژلاتین تجاری (گاوی). پژوهش-های علوم و صنایع غذایی ایران ۱۷: ۸۴۷-۸۳۱. موسوی، ز، بابایی، ص، وردی زاده، ف، ناصری، م. ۱۳۹۹. ارزیابی ژلاتین استخراج شده از پوست تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*, Brandt) و تولید فیلم زیست تخریب پذیر. علوم و فنون شیلات ۸: ۲۴۱-۲۴۹. وجدان، ا، اجاق، س، عادل، ا، عبدالهی، ا. ۱۳۹۴. ارزیابی ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم دولایه آگار-ژلاتین ماهی برای کاربرد در بسته‌بندی مواد غذایی. علوم و فنون شیلات ۴: ۱۴۷-۱۳۳.

با توجه به خصوصیات حاصل از ژلاتین ماهی شیر بندر و ارزیابی خصوصیات فیلم حاصل از آن می‌توان آن را گزینه مناسبی در تهیه فیلم‌های ترکیبی با بیوپلیمرهای دیگر معرفی کرد. همچنین افزودن ترکیبات ضدباکتریایی طبیعی و مصنوعی می‌تواند سبب ارتقای این فیلم شود.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی را در این پژوهش شناسایی نکردند.

منابع

مبینی، ا، ناطقی، ل، اسحاقی، م. ۱۴۰۰. بررسی شرایط تولید پاستیل با استفاده از ژلاتین استخراج شده از ماهی

Abdelhedi, O., Salem, A., Nasri, R., Nasri, M., Jridi, M. 2021. Food applications of bioactive marine gelatin films. *Current Opinion in Food Science* 43: 206-215.
 Abdollahi, M., Alboofetileh, M., Rezaei, M., Behrooz, R. 2013. Comparing physico-mechanical and thermal properties of alginate nanocomposite films reinforced with organic and/or inorganic nanofillers. *Food Hydrocolloids* 32: 416-424.
 Ahmadi, A., Ahmadi, P., Sani, M.A., Ehsani, A., Ghanbarzadeh, B. 2021. Functional biocompatible

nanocomposite films consisting of selenium and zinc oxide nanoparticles embedded in gelatin/cellulose nanofiber matrices. *International Journal of Biological Macromolecules* 175: 87-97.
 Alfaro, A.T., Biluca, F.C., Marquetti, C., Tonial, I.B., de Souza, N.E. 2014. African catfish (*Clarias gariepinus*) skin gelatin: Extraction optimization and physical-chemical properties. *Food Research International* 65: 416-422.
 Amjadi, S., Emaminia, S., Davudian, S.H., Pourmohammad, S., Hamishehkar, H.,

- Roufegarinejad, L. 2019. Preparation and characterization of gelatin-based nanocomposite containing chitosan nanofiber and ZnO nanoparticles. *Carbohydrate Polymers* 216: 376-384.
- Arfat, Y.A., Benjakul, S., Prodpran, T., Sumpavapol, P., Songtipya, P. 2014. Properties and antimicrobial activity of fish protein isolate/fish skin gelatin film containing basil leaf essential oil and zinc oxide nanoparticles. *Food Hydrocolloids* 41: 265-273.
- Arnesen, J.A., Gildberg, A. 2007. Extraction and characterisation of gelatine from Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin. *Bioresource Technology* 98: 53-57.
- Bower, C.K., Avena-Bustillos, R.J., Olsen, C.W., McHugh, T.H., Bechtel, P.J. 2006. Characterization of fish-skin gelatin gels and films containing the antimicrobial enzyme lysozyme. *Journal of Food Science* 71: M141-M145.
- Burjanadze, T.V. 1979. Hydroxyproline content and location in relation to collagen thermal stability. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules* 18: 931-938.
- Cho, S.H., Jahncke, M.L., Chin, K.B., Eun, J.B. 2006. The effect of processing conditions on the properties of gelatin from skate (*Raja kenoujei*) skins. *Food Hydrocolloids* 20: 810-816.
- Denavi, G.A., Montero, P., Adriana, N. 2009. Structural and functional properties of soy protein isolate and cod gelatin blend films. *Food Hydrocoll* 23: 2094-2101.
- Enciso-Martínez, Y., González-Aguilar, G. A., Martínez-Téllez, M. A., González-Pérez, C.J., Valencia-Rivera, D.E., Barrios-Villa, E., Ayala-Zavala, J.F. 2022. Relevance of tracking the diversity of *Escherichia coli* pathotypes to reinforce food safety. *International Journal of Food Microbiology*, 109736.
- Farahnaky, A., Dadfar, S.M.M., Shahbazi, M. 2014. Physical and mechanical properties of gelatin-clay nanocomposite. *Journal of Food Engineering* 122: 78-83.
- Gudmundsson, M. 2002. Rheological properties of fish gelatins. *Journal of Food Science* 67: 2172-2176.
- Hosseini, S.F., Rezaei, M., Zandi, M., Farahmandghavi, F. 2015. Fabrication of bio-nanocomposite films based on fish gelatin reinforced with chitosan nanoparticles. *Food Hydrocolloids* 44: 172-182.
- Intarasirisawat, R., Benjakul, S., Visessanguan, W., Prodpran, T., Tanaka, M., Howell, N.K. 2007. Autolysis study of bigeye snapper (*Priacanthus macracanthus*) skin and its effect on gelatin. *Food Hydrocolloids* 21: 537-544.
- Jamilah, B., Harvinder, K.G. 2002. Properties of gelatins from skins of fish-black tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and red tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Food Chemistry* 77: 81-84.
- Karim, A.A., Bhat, R. 2009. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids* 23: 563-576.
- Khaneghah, A.M., Hashemi, S.M.B., Limbo, S. 2018. Antimicrobial agents and packaging systems in antimicrobial active food packaging: An overview of approaches and interactions. *Food and Bioproducts Processing* 111: 1-19.
- Koli, J.M., Basu, S., Nayak, B.B., Patange, S.B., Pagarkar, A.U., Gudipati, V. 2012. Functional characteristics of gelatin extracted from skin and bone of Tiger-toothed croaker (*Otolithes ruber*) and Pink perch (*Nemipterus japonicus*). *Food and Bioproducts Processing* 90: 555-562.
- Limpisophon, K., Tanaka, M., Osako, K. 2010. Characterisation of gelatin-fatty acid emulsion films based on blue shark (*Prionace glauca*) skin gelatin. *Food Chemistry* 122: 1095-1101.
- Lin, D., Yang, Y., Wang, J., Yan, W., Wu, Z., Chen, H., Tu, Z. 2020. Preparation and characterization of TiO₂-Ag loaded

- fish gelatin-chitosan antibacterial composite film for food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules* 154: 123-133.
- Mohajer, S., Rezaei, M., Hosseini, S. F. 2017. Physico-chemical and microstructural properties of fish gelatin/agar bio-based blend films. *Carbohydrate Polymers* 157: 784-793.
- Mousazadeh, S., Ehsani, A., Kia, E.M., Ghasempour, Z. 2021. Zinc oxide nanoparticles and periodate oxidation in developing pH-sensitive packaging film based on modified gelatin. *Food Packaging and Shelf Life* 28: 100654.
- Mousavi, Z., Babaei, S., Vardizadeh, F., Naseri, M. 2019. Evaluation of gelatin extracted from Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869) skin and biodegradable film fabrication. *Fisheries Science and Technology* 8: 241-249.
- Muyonga, J.H., Cole, C.G.B., Duodu, K.G. 2004a. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of acid soluble collagen and gelatin from skins and bones of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chemistry* 86: 325-332.
- Muyonga, J.H., Cole, C.G.B., Duodu, K.G. 2004b. Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. *Food Hydrocolloids* 18: 581-592.
- Ninan, G., Jose, J., Abubacker, Z. 2011. Preparation and characterization of gelatin extracted from the skins of rohu (*Labeo rohita*) and common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Food Processing and Preservation* 35: 143-162.
- Ninan, G., Joseph, J., Aliyamveetil, Z.A. 2014. A comparative study on the physical, chemical and functional properties of carp skin and mammalian gelatins. *Journal of Food Science and Technology* 51: 2085-2091.
- Pereda, M., Ponce, A. G., Marcovich, N.E., Ruseckaite, R.A., Martucci, J.F. 2011. Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. *Food Hydrocolloids* 25: 1372-1381.
- Ristyanti, E., Triastuti, J., Saputra, E. 2022. The effect of different maceration solutions towards characteristic gelatin from bone of common carp (*Cyprinus carpio*). In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 1036: 012042.
- Rosseto, M., Krein, D.D., Balbé, N.P., Dettmer, A. 2019. Starch-gelatin film as an alternative to the use of plastics in agriculture: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 99: 6671-6679.
- Sani, I.K., Pirsá, S., Tagı, S. 2019. Preparation of chitosan/zinc oxide/*Melissa officinalis* essential oil nano-composite film and evaluation of physical, mechanical and antimicrobial properties by response surface method. *Polymer Testing*, 79, 106004.
- See, S.F., Hong, P.K., Ng, K.L., Wan Aida, W.M., Babji, A.S. 2010. Physicochemical properties of gelatins extracted from skins of different freshwater fish species. *International Food Research Journal* 17: 809-816.
- Shafiur Rahman, M., Al-Mahrouqi, A.I. 2009. Instrumental texture profile analysis of gelatin gel extracted from grouper skin and commercial (bovine and porcine) gelatin gels. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 60: 229-242.
- Shahvalizadeh, R., Ahmadi, R., Davandeh, I., Pezeshki, A., Moslemi, S.A.S., Karimi, S., Mohammadi, M. 2021. Antimicrobial bio-nanocomposite films based on gelatin, tragacanth, and zinc oxide nanoparticles-Microstructural, mechanical, thermo-physical, and barrier properties. *Food Chemistry* 354: 129-92.
- Sihombing, N., Elma, M., Thala'ah, R.N., Simatupang, F.A., Pradana, E.A., Rahma, A. 2022. Garlic essential oil as an edible film antibacterial agent derived from

- Nagara sweet potato starch applied for packaging of Indonesian traditional Food-Dodol. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 999: 12-26.
- Sinthusamran, S., Benjakul, S., Kishimura, H. 2014. Characteristics and gel properties of gelatin from skin of seabass (*Lates calcarifer*) as influenced by extraction conditions. Food Chemistry 152: 276-284.
- Siripatrawan, U., Harte, B.R. 2010. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. Food Hydrocolloids 24: 770-775.
- 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: 6207-6214.
- Valizadeh, S., Naseri, M., Babaei, S., Hosseini, S.M.H., Imani, A. 2019. Development of bioactive composite films from chitosan and carboxymethyl cellulose using glutaraldehyde, cinnamon essential oil and oleic acid. International Journal of Biological Macromolecules 134: 604-612.
- Weng, W., Zheng, H. 2015. Effect of transglutaminase on properties of tilapia scale gelatin films incorporated with soy protein isolate. Food Chemistry 169: 255-260.
- Wang, X., Guo, C., Hao, W., Ullah, N., Chen, L., Li, Z., Feng, X. 2018. Development and characterization of agar-based edible films reinforced with nano-bacterial cellulose. International Journal of Biological Macromolecules 118: 722-730.
- Yahyavi, M., Parishani Heydarpoor, L., Kamali, E. 2018. Diet Composition of *Scomberoides commersonianus* in the Coastal Waters of Hormozgan Province, Iran. Fisheries Science and Technology 7: 65-69.
- Zeng, S., Yan, X., Cao, W., Hong, P., Zhang, C., Li, L. 2010. Optimization of extraction conditions and characteristics of skin gelatin from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). International Journal of Food Science & Technology 45: 1807-1813.
- Zhou, J.J., Wang, S.Y., Gunasekaran, S. 2009. Preparation and characterization of whey protein film incorporated with TiO₂ nanoparticles. Journal of Food Science 74: 50-56.
- Zhou, P., Mulvaney, S.J., Regenstein, J.M. 2006. Properties of Alaska pollock skin gelatin: a comparison with tilapia and pork skin gelatins. Journal of Food Science 71: 313-321.