استخراج ژلاتین از پای مرغ و کاربرد آن در صنایع غذایی

Gelatin extraction from chicken feet and its application in food industry

زهره یحیایی صوفیانی[۱]، محسن میلانی[۲*]

دریافت: ۱۴۰۰/۸/۲ **پذیرش: ۱۴۰۱/۳/۱۵**

چکیده

ژلاتین ماده پرمصرف در صنایع غذایی و دارویی است. ژلاتین تولید شده در جهان از پوست و استخوان خوک تهیه می‌گردد که مصرف آن از لحاظ شرعی در کشورهای مسلمان اشکال دارد. همچنین بیماری جنون گاوی تاکنون دام‌های زیادی را در اروپا و کشورهای دیگر مبتلا کرده است و خطر انتقال آن به انسان توسط ژلاتین تولیدی از پوست و استخوان این دام‌ها وجود دارد. نتایج حاصل از تحقیقات نشان می‌دهد که ژلاتین پای مرغ ارزش عملکردی بالایی داشته و با داشتن پتانسیل رقابت با ژلاتین حاصل از سایر منابع می‌تواند از واردات ژلاتین پوست خوک و گاو و غیره به کشور تا حدودی جلوگیری کند و با استفاده بهینه از محصولات جانبی و راه‌های بهره‌گیری از ضایعات طیور، نقش بسزایی در خود کفایی کشور ایفا کند. همچنین به دلیل خواص تغذیه ای و اطمینان از سلامت و کیفیت ژلاتین تولیدی در کشور، می‌تواند برای تولید فراورده‌های گوشتی، ژله‌ای و ژله، لبنی و بسته بندی مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: ژلاتین، پای مرغ، ارزش تغذیه‌ای، کیفیت ژلاتین.

مقدمه

ژلاتین یک ماده پروتئینی کلوئیدی و قدیمی‌ترین ماکرومولکولی است که از هیدرولیز کلاژن موجود در پوست، استخوان و بافت پیوندی حیوانات از جمله دام، طیور و آبزیان بدست می‌آید (Shayni *et al.*, 2014). کلاژن بخش اصلی بافت پیوندی است که قسمت اعظم پروتئین‌های پوست، رگها، بافتهای پیوندی و پروتئینهای استخوان و غضروف را تشکیل می دهد. این مواد در آب جوش و بخار آب گرم حل شده و تولید ژلاتین می‌نماید (Chakka *et al.*, 2017).

منبع، سن حیوان و نوع کلاژن از جمله فاکتورهای مؤثر بر خواص ژلاتین هستند. تا به امروز بیش از ۲۷ نوع ژلاتین شناسایی شده است. مولکول‌های کلاژن از سه زنجیره آلفا تشکیل شده و در هلیکس سه گانه درهم تنیده شده اند. این ساختار خاص که عمدتاً توسط پیوند هیدروژنی درون و بین زنجیره‌ای تثبیت می‌شود، حاصل تکرار پیوسته اسیدهای آمینه گلایسین، پرولین و هیدروکسی پرولین است. چهار تا هشت مولکول کلاژن به گونه ای ویژه کنار یکدیگر آرایش می‌یابند و یک ریز رشته را می‌سازند. تعداد زیادی از این ریزرشته‌ها به دور یکدیگر می‌پیچند و توسط پیوند کووالانسی تقویت می‌شوند تا واحد اساسی و پایه میوفیبریل‌های کلاژن تشکیل شود؛ بنابراین ماهیت قوی و محکم تاندون‌ها، استخوان و پوست ناشی از ساختار پایه و اساسی است که توسط این میو فیبریل‌های کلاژن تشکیل می‌شود. درجه تبدیل کلاژن به ژلاتین تابعی از pH، دما و زمان استخراج است (Gómez-Guillén *et al.*, 2011). ویژگی قابل توجه ژلاتین حلالیت آن در آب و برگشت پذیری ژل در مقابل

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا، ایران.
[۲] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.
***نویسنده مسئول**: mb.milani86@gmail.com

حرارت است و معمولا دمای ذوب آن از دمای بدن انسان کمتر است این ویژگی ذوب ژلاتین یکی از مهمترین ویژگی‌های این پروتئین است که به طور گسترده در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Karim & Bhat, 2009). در صنایع غذایی از ژلاتین برای بهبود الاستیسیته و قوام، پایدارکننده، جایگزین چربی، در تهیه شکلات، ژله، فیلم‌های خوراکی، شفاف سازی آبمیوه، فرآوری شیر، سوپ (Shakila *et al.*, 2012)، مارمالادها، شیرینی‌ها، بستنی‌ها و غیره استفاده می‌گردد که به‌آسانی در بدن جذب‌شده و به هضم سایر مواد غذایی از طریق تشکیل امولسیون با چربی‌ها و پروتئین‌ها کمک می‌نماید (Mahmoudi & Tavakolipour, 2018).

ژلاتین از ۹۰ ٪ پروتئین تشکیل شده است که تمامی اسیدهای آمینه ضروری به جز تریپتوفان را دارا بوده و از نظر اسیدآمینه لیزین غنی است، به‌طوری که ارزش بیولوژیکی مخلوط ۸۳ ٪ گوشت و ۱۷ ٪ ژلاتین دارای ارزش بیولوژیکی معادل ۹۹ می‌باشد. از انجایی که ژلاتین در بدن به خوبی متابولیزه می‌شود، بر فعالیت‌های روده و معده موثر بوده و در هضم دیگر پروتئین‌های موجود در غذا نیز کمک می‌کند. همچنین در کمک به بهبود بیماری‌های استخوان به خصوص پوکی و التهاب استخوان موثر است (Mariod & Adam, 2013).

تقاضای جهانی برای ژلاتین طی چند سال اخیر به دلیل هزینه پایین آن و قابلیت انحلال در محیط بیولوژیک افزایش یافته است. متداولترین فرم ژلاتین مورد استفاده در صنعت مواد غذایی، از منابع گاوی و خوکی استخراج می‌شود؛ اما در چند سال گذشته موضوع جایگزین کردن این ژلاتین به دلیل گیاه خواری و توسعه بازارهای حلال و همین‌طور بروز بیماری جنون گاوی یا گاو اسفنجی (Bovine spongiform encephalopathy) در راستای قرن بیستم مطرح شد. بنابراین ژلاتین ماهی و مرغ به عنوان جایگزین مناسب برای ژلاتین پستانداران شناخته شده است (Hanani *et al.*, 2012).

ناهماهنگی بین تأمین پروتئین و رشد جمعیت منجر به مطالعه در مورد منابع جدید پروتئینی شده است. استفاده از منابعی که به اندازه کافی استفاده نمی‌شوند هم تغذیه جامعه را بهبود می‌دهد و هم اقتصادی است. بیشتر کشورهای در حال توسعه بعنوان کشورهایی شناخته شده‌اند که از نظر مصرف پروتئین دامی فقیر هستند. بر مبنای ارزش تغدیه ای بالایی که برای پای مرغ و ژلاتین بدست آمده، گزارش شده است می‌توان آن را بعنوان یک مکمل پروتئینی در رژیم غذایی مطرح نمود (شاهی و همکاران.، ۱۳۹۰) و همچنین با استفاده بهینه از محصولات جانبی و راه‌های بهره‌گیری از باقیمانده‌های کم ارزش (پای مرغ) در جهت تولید ژلاتین که ماده ای بسیار پر مصرف در صنایع غذایی و دارویی است، نقش بسزایی در خودکفایی کشور ایفا می‌کند (رضایی زاده و رفتنی، a۱۳۹۶). در این مقاله مروری بر تحقیقات انجام شده بر روی استخراج ژلاتین از پای مرغ و استفاده در فراورده‌های غذایی مورد بررسی قرار گرفته است.

۱- انواع ژلاتین

دو نوع ژلاتین را بسته به روش پیش تصفیه می‌توان به دست آورد که به لحاظ تجاری آن را تحت عنوان ژلاتین نوع A و ژلاتین نوع B می‌شناسند که به ترتیب تحت شرایط تیمار اسیدی و قلیایی به دست آمده اند (استاندارد ملی ایران به شماره ۳۴۷۳؛ Gómez-Guillén *et al.*, 2011). بعضی مواد اولیه نظیر استخوان با هر دو روش تهیه می‌شوند ولی برخی دیگر نظیر پوست خوک عمدتا به وسیله یک روش ویژه بدست می‌آیند (Choe & Kim, 2018). در صنعت روش اسیدی از روش قلیایی موثرتر بوده و کیفیت ژلاتین A بیشتر از ژلاتین B است (آبرومند، ۱۳۸۶). پیش تیمار اسیدی زمان کمتری نیاز دارد و فاضلاب اسیدی نیز کمتر از روش قلیایی است (Yung & Deng, 2004). در جدول ۱، به برخی از ویژگی‌های شیمیایی ژلاتین نوع اسیدی (A) و قلیایی (B) در برخی از منابع ژلاتین اشاره گردیده است (استاندارد ملی ایران به شماره ۳۴۷۳).

جدول ۱- برخی از ویژگی‌های شیمیایی انواع ژلاتین نوع A و نوع B از منابع مختلف

Table 1- Some chemical characteristics of type A and type B gelatin from different sources

Different sources	Gelatin type	% protein	% total nitrogen	% Ash
Shredded chicken skin	type A	55.91	10.24	25.88
	type B	17.081	3.1	45.35
Chicken feet	type A	60.06	11	86
	type B	27.55	5	45
Beef ribs	type A	70.70	12.95	7.58
	type B	65.67	11.92	22.95
Veins of beef	type A	57.04	10.447	8
	type B	35.26	6.4	26
Sheep pen bone	type A	67.212	12.31	11.25
	type B	58.62	10.64	33.8
Fitofak fish skin and fins	type A	86.03	15.76	2.2
	type B	88.168	16	2.70

۲- استخراج ژلاتین از پای مرغ

استخراج، خصوصیات فیزیکوشیمیایی و ارزیابی حسی ژلاتین پای مرغ توسط برخی محققین بررسی گردید. در این مطالعه به منظور تعیین درصد عملکرد ژلاتین (وزنی/وزنی) استخراج شده از پای مرغ (CFG) و مقایسه خصوصیات فیزیکوشیمیایی و ویژگیهای حسی CFG با ژلاتین‌های تجاری گاوی (CBG) انجام شد. استخراج CFG بر اساس روش ژلاتین نوع B از طریق سه تیمار قلیایی با خیساندن در ۴ درصد هیدروکلراید، ۱۰ درصد سدیم هیدروکلراید و ۶۰ درجه سانتیگراد هیدرولیز حرارتی به مدت ۵ ساعت انجام شد. درصد بالاتری از پودر CFG با ۱۸ ٪ w/w به دست آمد و تجزیه و تحلیل مشخصات بافت بین استحکام بلوم و سختی ژل همبستگی (R2 = ۰/۹۸) را نشان داد. تجزیه و تحلیل نشان داده است که پودر CFG استخراج شده مطابق با استاندارد تنظیم شده در قانون مواد غذایی ۱۹۸۳ و مقررات غذایی ۱۹۸۵ با رطوبت ۶/۴۳ ٪، خاکستر ۱/۵۴ ٪، پروتئین ۶۷/۴۰ ٪ و چربی ۰/۴۲ ٪ است. بین خاکستر و درصد چربی در CFG و CBG اختلاف معنی داری (P≥۰/۰۵) وجود نداشت زیرا مقادیر آن برای خاکستر به ترتیب ۱/۵۶ و ۱/۳۶ و همچنین برای چربی به ترتیب ۰/۳۲ و ۰/۱۹ است. اختلاف معنی داری (P≤۰/۰۵) در میزان رطوبت و درصد پروتئین CFG و CBG با مقادیر ۶/۶۴ و ۸/۰۳ برای رطوبت و همچنین ۶۷/۴۰ و ۸۸/۱۸ برای پروتئین وجود داشت. ارزیابی حسی نشان داد که CFG در مقایسه با CBG از نظر رنگ، عطر و خصوصیات بافت کمتر قابل قبول است. میانگین نمره برای پذیرش کلی CFG در مقایسه با CBG به ترتیب ۵/۹۵ و ۶/۶۵ بود (Rahman & Jamalulail, 2012).

همچنین محققین دیگری، ساختار کلاژن پای مرغ و ژلاتین تجاری گاو با استفاده از روش طیف سنجی FTIR (Fourier Transform Infrared) مقایسه کرده و مشاهده کردند که طیفFTIR ژلاتین پای مرغ نسبت به ژلاتین تجاری گاو، میزان اسید آمینه بیشتری دارد. لذا، تولید ژل با استفاده از پای مرغ را به صنعت طیور پیشنهاد داده و اعلام کردند قدرت ژلی و کیفیت تغذیه ای ژلاتین پای مرغ بیشتر از ژلاتین تجاری گاو است (Almeida *et al.*, 2012).

در تحقیقی تاثیر زمان‌های مختلف (۱، ۲/۵ و ۴ ساعت) و دماهای مختلف (۵۰، ۶۵ و ۸۰ درجه سانتیگراد) در استخراج ژلاتین از پای مرغ بر کیفیت ژلاتین تولیدی بررسی شدند. نتایج نشان داد که دما و زمان تاثیر زیادی بر کیفیت ژلاتین داشته به طوری که با افزایش دما و زمان استخراج، ویسکوزیته و سختی تا سطح خاصی افزایش یافته و سپس کاهش می‌یابد و اپتیمم شرایط استخراج دمای ۷۳ درجه سانتیگراد و زمان ۳/۴۰ ساعت می‌باشد (Zhou *et al.*, 2016; Almeida & Silva Lannes, 2013). تحقیقات دیگری نیز بر روی پای مرغ انجام گردید که نتایج مشابه را بیان می‌کند (Dhakal *et al.*, 2018).

امکان استحصال ژلاتین از ضایعات کشتارگاه مرغ توسط محققین مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق پیش‌تیمارهای اسیدی و قلیایی برای جداسازی ناخالصی‌های غیرژلاتینی و نیز محلول کردن کلاژن به‌کار گرفته شد که در مرحله بعد امکان استخراج ژلاتین را فراهم می‌ساخت. برای استحصال ژلاتین دو روش استخراج به‌کار گرفته شد: ۱- استخراج یک‌مرحله‌ای که در آن مواد اولیه پس از پیش‌تیمار اسیدی و قلیایی در سه دمای ۶۰، ۷۵ و ۹۵ درجه سانتی‌گراد استخراج شدند و ۲- استخراج سه‌مرحله‌ای که در آن مواد نامحلول باقی‌مانده از استخراج در دمای ۶۰ مورد استخراج در دمای ۷۵ درجه قرار گرفتند و به همین شیوه در دمای ۹۵ درجه نیز استخراج شدند. ژلاتین استخراج شده در تمام روش‌ها به دو صورت معمولی در آون و در خشک‌کن انجمادی خشک شدند. مواد ژلاتینی حاصل مورد آزمایشات خلوص، راندمان و برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی قرار گرفتند. نتایج نشان دادند که اعمال پیش‌تیمار قلیایی باعث تولید ژلاتین با بافت چرمی و تیره رنگ می‌کند در حالی‌که استفاده از پیش‌تیمار اسیدی ژلاتینی با چربی کمتر و رنگ روشن تولید می‌نماید. همچنین با بررسی تمام تیمارها مشخص شد که بهترین دما برای استخراج ژلاتین دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳ ساعت می‌باشد (قربانی و همکاران.، ۱۳۹۰).

در تحقیقی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ژلاتین استخراج شده از پای مرغ به روش اسیدی بررسی گردید و نتایج نشان داد که راندمان استخراج بر اساس وزن تر ۵/۴۳ درصد، مقدار پروتئین ۸۲/۳۹ درصد، میزان چربی صفر درصد، خاکستر ۲/۴۵ درصد و رطوبت ۶/۵ درصد به دست آمد. افزایش pH (قبل از خشک کردن) از ۱ به ۳/۲ نیز نشان داد که مراحل شست و شو برای از بین بردن میزان باقیمانده اسید و دستیابی به محدوده pH مورد نظر کافی بود. pH ژلاتین بعد از خشک کردن به ۶/۵ رسید (میلانی و همکاران.، ۱۴۰۱).

همچنین محققین دیگری بعد از استخراج اسیدی ژلاتین پای مرغ، بیان نمودند متوسط عملکرد ژلاتین بر اساس وزن تر ۴/۸۰ درصد، pH قبل از خشک کردن ۳/۷، میزان پروتئین کل ۸۳/۹۵ درصد، خاکستر کل ۰/۸۹ درصد، رطوبت ۹/۶۶ درصد بود (رضایی زاده و رفتنی، ۱۳۹۶b).

تاثیر زمان‌های مختلف (۱، ۲/۵ و ۴ ساعت) و دماهای مختلف (۵۰، ۶۵ و ۸۰ درجه سانتی‌گراد) استخراج ژلاتین از پای مرغ بر کیفیت ژلاتین تولیدی بررسی شد و نتایج نشان داد که دما و زمان تاثیر زیادی بر کیفیت ژلاتین داشته به طوری که با افزایش دما و زمان استخراج، ویسکوزیته و سختی تا سطح خاصی افزایش یافته و سپس کاهش می‌یابد و اپتیمم شرایط استخراج دمای ۷۳ درجه سانتی‌گراد و زمان ۴۰: ۳ می‌باشد (Almeida & Silva Lannes, 2013).

ویژگی‌های ژلاتین پای مرغ استخراج شده توسط روش اسید و اولتراسوند مورد بررسی قرار گرفت و با ژلاتین تجاری گاو از لحاظ پودر ژلاتین و ژل ژلاتین مقایسه شد. بالاترین عملکرد ژلاتین پای مرغ از روش استخراج اسید با ۴/۰۵ ٪ (وزن مرطوب یا ۱۲/۶۴ ٪ بر اساس وزن خشک) بدست آمد. تجزیه و تحلیل ژلاتین پای مرغ نشان داد که استخراج توسط اسید دارای محتوای پروتئینی بالاتری نسبت به استخراج به روش اولتراسوند با مقدار ۱/۴۳ ± ۹۰/۰۶ بود، در حالی که ژلاتین بدست امده توسط روش اولتراسوند دارای کمترین مقدار رطوبت با ۲/۴۴ ± ۵/۴۴ بود. با این حال، در مقادیر پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت بین روش اسید، اولتراسوند و ژلاتین گاو تجاری، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p>0/05$). pH محلول ژلاتین برای هر دو روش دارای دامنه بین ۶/۴۹-۶/۱۳ بود (Widyasari & Rawdkuen, 2014).

در تحقیقی دیگر، خواص فیزیکی و شیمیایی ژلاتین پای مرغ استخراج شده در حضور پاپائین بررسی و با ژلاتین تجاری گاو (CBG) مقایسه گردیدند. ژلاتین پای مرغ با حضور پاپائین خام ۱٪ (w / w) به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد استخراج شد. ژلاتین به دست آمده حاوی پروتئین کمتر از CBG به میزان ۴۰/۰۶ ٪ و همچنین میزان رطوبت ۷/۵۶ ٪ و میزان چربی ۱/۱۳ ٪ بود. ژلاتین استخراج شده دارای ویسکوزیته ۲/۹۸ Cp در ۲۰ درجه سانتیگراد و نقطه ذوب در دمای ۳۰ درجه

سانتیگراد بود که شبیه به CBG است. ژلاتین پای مرغ دارای قابلیت اتصال به چربی، خواص فوم و امولسیون مشابه با CBG داشته، در حالی که ظرفیت ذخیره آب کمی متفاوت است (Widyasari & Rawdkuen, 2015).

اخیرا برخی محققین، به تهیه بیوتکنولوژیکی ژلاتین از پای مرغ پرداختند. این تحقیق بر تهیه ژلاتین از مواد اولیه جانبی کلاژن حاصل از ذبح مرغ (پای مرغ) تمرکز داشت. تأثیر عوامل فرآیند انتخابی بر عملکرد ژلاتین، استحکام ژل، ویسکوزیته و خاکستر ژلاتین مشاهده شد. از یک آزمایش فاکتور دو سطحی با سه عامل فرآیند متغیر (علاوه بر آنزیم ، مدت زمان استفاده از آنزیم و زمان استخراج ژلاتین) استفاده شد. پس از آسیاب کردن و جدا کردن پروتئین‌ها و چربی‌های محلول، مواد اولیه خالص شده در آب با pH ۷/۵ با افزودن اندوپروتئیناز در دمای ۲۳ درجه سانتیگراد و پس از شستشوی کامل با آب در ۸۰ درجه سانتیگراد، ژلاتین استخراج شد. با انتخاب مناسب شرایط فرآیند، ژلاتین با استحکام ژل بالا (بلوم ۲۲۰-۳۲۰)، میزان خاکستر کم (۰/۲ ٪ >) و ویسکوزیته ۳/۵- ۷/۳ mPa. s تهیه گردید. راندمان استخراج ۱۸- ۳۸ ٪ بود. نتایج نشان داد که این فناوری ارائه شده بطور عمده با پردازش آنزیمی مواد اولیه منبع نوآورانه‌ای است که از نظر اقتصادی، فناوری و سازگار با محیط زیست برای تولید کنندگان مفید است. همچنین ژلاتین پای مرغ جایگزین مناسبی برای ژلاتین‌های ساخته شده از پستانداران یا ماهی‌ها هستند و می‌توان در بسیاری از برنامه-های غذایی، دارویی و زیست پزشکی استفاده کرد (Mokrejš *et al*., 2019).

نتایج حاصل از تحقیقات انجام شده، نشان داد که ژلاتین پای مرغ ارزش عملکردی بالایی داشته و با داشتن پتانسیل رقابت با ژلاتین حاصل از سایر منابع می‌تواند از واردات ژلاتین پوست خوک و غیره به کشور جلوگیری کند. همچنین به دلیل خواص تغذیه‌ای و اطمینان از سلامت و کیفیت، ژلاتین تولیدی می‌تواند به‌عنوان یک عامل شفاف کننده در نوشیدنی‌ها و آبمیوه‌ها، کاهش میزان کالری در مواد غذایی به‌منظور افزایش سطح پروتئین به‌ویژه در غذاهای ورزشکاران (به‌طور خاص، بدن‌سازان) و کاهش کربوهیدرات در غذاهای فرموله شده برای بیماران دیابتی مورد استفاده قرار گیرد.

۳- کاربردهای ژلاتین پای مرغ

در سال‌های اخیر، تقاضای مصرف ژلاتین، افزایش‌یافته است به‌طوری‌که تولید سالیانه‌ی ژلاتین در جهان در حدود ۳۲۶۰۰۰ تن است که ۴۶ ٪ آن از پوست خوک، ۲۹/۴ ٪ از پوست گاو، ۲۳/۱ ٪ از استخوان و ۱/۵ ٪ از منابع دیگر به دست می‌آید (Karim & Bhat, 2009). اخیراً تحقیقات زیادی برای پیدا کردن منابع جایگزین ژلاتین به‌دست‌آمده از پستانداران شده است. در دهه گذشته، گرایش زیادی به ژلاتین به‌دست‌آمده از ماهی و ماکیان وجود داشته است. پوست و استخوان ماکیان برای تولید ژلاتین به کار می‌روند اما به علت بازده پایین، تولید آن‌ها در مقیاس تجاری محدود شده است (Arnesen & Gildberg, 2006).

۳-۱- فرآورده‌های گوشتی

تولیدکنندگان فرآورده‌های گوشتی با افزایش تقاضای مشتریان در مورد گوشت و فرآورده‌های گوشتی سالم و باکیفیت مواجه شده اند. به ویژه در سالهای اخیر، فرآورده‌های گوشتی کمتر فرآیند شده، کاملا طبیعی، آماده مصرف و با ذکر دقیق افزودنی‌های به کار رفته بیشتر مورد توجه قرارگرفته اند. محصولات ممکن است حاوی اجزاء طبیعی یا ارگانیک و بدون مواد نگهدارنده باشند که حساسیت‌ها و آلرژی‌های معمول را ایجاد نمی‌کنند (Marietta Salejda *et al*., 2017).

خصوصیات ویژه ژلاتین در جذب و نگهداری آب و نیز تشکیل ژل، باعث شده که در تولید فرآورده‌های گوشتی مورد توجه قرار گیرد. کاربرد ژلاتین در فرمولاسیون سوسیس تولیدی در برخی از کارخانجات فرآورده‌های گوشتی دنیا گزارش شده است (Pietrasik *et al*., 2007). معمولا در فرمولاسیون فرآورده‌های گوشتی یا از هیدروکلوئیدهای غیرپروتئینی و یا از پروتئین‌هایی با منشا گیاهی استفاده می‌شود. در حالی‌که ژلاتین می‌تواند گزینه مناسب‌تری باشد چرا که ضمن تامین اسیدهای آمینه ضروری، ترکیبات آلرژی‌زا و یا ضدتغذیه‌ای پروتئین‌های گیاهی را نیز به همراه ندارد.

کیفیت سوسیس مرغ کم چرب حاوی کلاژن پای مرغ مورد بررسی قرار گرفت. مطالعه حاضر با هدف جایگزینی چربی موجود در سوسیس‌های مرغ پخته شده با پودر کلاژن هیدرولیز و کلاژن پای مرغ و ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی انجام شد. سه کالباس تهیه شد: SS (۱۵ ٪ چربی)، SC (۷/۵ ٪ چربی و ۷/۵ ٪ پودر کلاژن هیدرولیز) و SG (۷/۵ ٪ چربی و ۷/۵ ٪ کلاژن پای مرغ). کاهش چربی مقادیر a*، b* و Hue را افزایش داد. با توجه به پایداری امولسیون، SG نزدیکترین مقدار (۹۵/۸ درصد) به مقدار استاندارد (SS) داشت و از سوسیس SC (۳۳/۸۷ درصد) پایدارتر بود. با توجه به مشخصات بافت، کالباس SC دارای پارامترهای مشابه SS بود و نمونه SG دارای چسبندگی (Adhesiveness)، قابلیت جویدن (Chewiness) و صمغی بودن (Gumminess) کمتری بود. با توجه به مشخصات اسیدهای چرب، SG کمترین شاخص‌های آتروژن و ترومبوژنیک (Atherogenic and thrombogenic) را داشت. استفاده از ژلاتین ۵۰ ٪ قابل استفاده است زیرا باعث افزایش پایداری امولسیون و احتباس آب شده و علاوه بر استفاده از فرآورده جانبی برای تهیه سوسیس سالم‌تر، به ویژه در مورد کاهش چربی مورد استفاده می‌باشد (Araujo *et al.*, 2020).

اثر جایگزینی خمیرمرغ با ژلاتین پای مرغ بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی سوسیس هات‌داگ مرغ مورد بررسی قرار گرفت. استخراج ژلاتین از پای مرغ به روش اسیدی انجام شد و جایگزینی آن در فرمولاسیون سوسیس هات‌داگ مرغ در پنج سطح ۰ ، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بجای خمیر مرغ بود. نتایج نشان داد که با افزودن ژلاتین پای مرغ به جای بخشی از خمیر مرغ در سوسیس هات‌داگ، میزان خاکستر و پروتئین بطور معنی‌داری ($p\leq۰/۰۵$) افزایش و میزان چربی، pH، رطوبت و افت پخت و خواص حسی (طعم، رنگ، بافت و پذیرش کلی) بطور معنی‌داری ($p\leq۰/۰۵$) کاهش یافت. طی مدت زمان نگهداری، با افزایش زمان نگهداری از روز تولید تا روز ۴۵ام، میزان pH بطور معنی‌داری ($p\leq۰/۰۵$) افزایش، میزان رطوبت، افت پخت و ویژگی‌های حسی (طعم، رنگ، بافت و پذیرش کلی) در کلیه تیمارها، بطور معنی‌داری ($p\leq۰/۰۵$) کاهش یافت و طی ۴۵ روز نگهداری، ویژگی‌های بافتی (سختی، صمغی بودن، قابلیت جویدن) کاهش معنی‌دار ($p>۰/۰۵$) یافت در حالی که کاهش میزان بهم پیوستگی و کشسانی بافت معنی دار نبود. بنابراین می‌توان با جایگزین کردن بخشی از خمیرمرغ با ژلاتین پای مرغ (۲۵ ٪)، سوسیس هات‌داگ مرغ با ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی مطلوب تولید کرد (میلانی و همکاران.، ۱۴۰۱).

۳-۲- فرآورده‌های ژله‌ای و ژله

امروزه تقاضا برای محصولات غذایی کم‌کالری مبتنی بر میوه‌ها با تولید آسان و حفظ ویژگی‌های اولیه مانند مزه، بافت و طعم در رژیم‌غذایی رو به افزایش است. ژله یکی از محصولات کم کالری تولید شده از میوه‌ها و دیگر مواد است که استفاده از آن افزایش یافته و برای حفظ سلامت انسان بکار می‌رود (Trachootham *et al.*, 2015). بطوریکه استفاده از ژلاتین پای مرغ در تولید پاستیل زنجبیلی با شیرین کننده طبیعی بررسی شده و نتایج نشان داد افزایش غلظت ژلاتین باعث کاهش میزان روشنایی، قرمزی و زردی نمونه‌ها شد (مجاوریان، ۱۳۹۶).

استخراج و ویژگیهای فیزیکوشیمیایی ژلاتین بدست امده از تاندون پای مرغ نشان داد که می‌توان از ان به عنوان جایگزینی برای ژلاتین پستاندارن (که معمولا به صورت تجاری استفاده می‌شود)، استفاده نمود. مقدار پروتئین در ژلاتین بدست امده بالا بوده و مقدار مشاهده شده برای قدرت ژل برای ژلاتین با غلظت۶/۶۷ ٪ (۲۹۴/۷۸ گرم)، به عنوان بلوم بالا طبقه بندی شد، در حالی که ژلاتین با غلظت ۳/۳۳ ٪ (۴۷/۴۶ گرم) قدرت ژل پایین و مقدار بلوم کم بود. سختی و قابلیت جویدن با افزایش غلظت ژلاتین به میزان قابل توجهی افزایش می‌یابد و ژلاتین با غلظت ۶/۶۷ ٪ به عنوان جامد عمل می‌کند و می‌تواند در آماده‌سازی پاستیل‌های ژلاتین، مارشمالوها، دسرهای ژلاتینی با قدرت بلوم بالا استفاده شود (Fernandes Almeida *et al.*, 2013).

استخراج و ویژگی‌های ژلاتین پای مرغ و کاربرد آن در ژله طالبی را بررسی نمودند. در این پژوهش، ژلاتین از پای مرغ به روش اسیدی استخراج شد و تأثیر ژلاتین استخراج شده در غلظت‌های ۰ تا ۱/۵ درصد بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی ژله

طالبی مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان داد که متوسط عملکرد ژلاتین بر اساس وزن تر ۴/۸۰ درصد، pH قبل از خشک کردن ۳/۷، میزان پروتئین کل ۸۳/۹۵ درصد، خاکستر کل ۰/۸۹ درصد، رطوبت ۹/۶۶ درصد، ویسکوزیته ۲۱۶ سانتی پواز و قدرت ژل ۴۸۷ گرم بود. ژلاتین پای مرغ در طیف وسیعی از فرکانس مدول ذخیره بالاتر از مدول ویسکوز در آزمون نوسانی داشته که نشان‌دهنده ثبات بالای شبکه ژل تشکیل شده می‌باشد. همچنین نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که ژلاتین پای مرغ ارزش عملکردی بالایی داشته و با داشتن پتانسیل رقابت با ژلاتین حاصل از سایر منابع می‌تواند ژلاتین پوست خوک و غیره به کشور جلوگیری کند. همچنین به دلیل خواص تغذیه ای و اطمینان از سلامت و کیفیت، ژلاتین تولیدی می‌تواند برای تولید فراورده‌های ژله ای و ژله مورد استفاده قرار گیرد (رضایی زاده و رفتنی، ۱۳۹۶b).

۳-۳- فرآورده‌های لبنی

با گسترش مزایای سلامتی بخش ترکیبات غذایی فراسودمند، بازار این دسته از فراورده‌های غذایی به سرعت در حال رشد است. مواد غذایی فراسودمند در ظاهر شبیه غذاهای معمولی مورد مصرف در رژیم غذایی می‌باشند ولی علاوه بر تأمین نیازهای تغذیه‌ای ساده، نقش فیزیولوژیکی و سلامت بخش نیز ایفا می‌کنند (Norani *et al.*, 2013).

بطور مثال، حذف چربی در فراورده‌های غذایی به راحتی امکانپذیر نبوده چون ویژگیهای رئولوژیکی و حسی غذاها مانند بافت، بو، مزه و احساس دهانی تحت تاثیر قرار می‌گیرد. از این رو در فرمولاسیون محصولات کم چرب، استفاده از ترکیباتی که به طور نسبی و یا کامل جایگزین چربی شودن و ویژگیهایی نظیر بافت، ویسکوزیته، طعم، احساس دهانی و سایر خصوصیات ارگانولپتیک را ایجاد کنند، پیشنهاد شده است (Aslanzadeh *et al.*, 2012). ژلاتین پروتئین حیوانی تولیدشده از کلاژن است که با میزان بالای اسید آمینه‌های پرولین و هیدروکسی پرولین انعطاف پذیری بالایی دارد. دمای ذوب این هیدروکلوئید از دمای بدن کمتر است بنابراین در دهان سریع ذوب میشود. این خواص منحصر بفرد ژلاتین موجب شده تا جزء پلیمرهای زیستی مهم به شمار آید و به طور گسترده در صنایع غذایی از جمله لبنیات مورد استفاده قرار گیرد (Cheng *et al.*, 2008).

بررسی خواص کیفی خامه کم چرب تهیه شده از ژلاتین پای مرغ و کنسانتره پروتئین شیر پرداخته و نتایج نشان داد افزایش سطح جایگزینی چربی با ژلاتین، کنسانتره پروتئین شیر و ترکیب این دو پروتئین به خامه کم چرب موجب کاهش اب انداختگی و افزایش پایداری در مقابل انجماد نمونه‌ها شد. پژوهش نشان داد که می‌توان از پروتئین‌های ژلاتین و کنسانتره پروتئین شیر در سطوح ۰/۳۸ و ۴/۵ درصد بترتیب، جهت بهبود کیفیت خامه کم چرب استفاده کرد (رضایی زاده و رفتنی، ۱۳۹۶a).

۳-۴- بسته بندی مواد غذایی

پلاستیک‌های مصنوعی مشکلات زیست محیطی و بهداشتی جدی ایجاد می‌کنند که به همین دلیل مفهوم توسعه بسته بندی مواد غذایی زیست تخریب پذیر توجه قابل توجهی را به خود جلب کرده است (Dhakal *et al.*, 2018).

بهینه سازی استخراج ژلاتین از پای مرغ و توسعه بسته بندی فعال مبتنی بر ژلاتین برای افزایش ماندگاری انگور تازه مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه، استخراج ژلاتین از پای مرغ بهینه شد و سپس خصوصیات ژلاتین مشخص شد. ژلاتین پای مرغ برای تولید فیلم‌های نانوکامپوزیت زیست تخریب پذیر با ترکیب نانوذرات کیتوزان (CS) و اکسید روی (ZnO) (NPs) استفاده شد. از فیلم‌های نانوکامپوزیت ژلاتینی برای افزایش ماندگاری انگور تازه با تعیین شاخص قهوه‌ای شدن، کاهش وزن و مشخصات میکروبی انگور تازه استفاده شد. لایه‌های نانوکامپوزیت ژلاتینی با ۰/۳ درصد نانوذرات ZnO به طور معنی‌داری کاهش وزن و شاخص قهوه‌ای شدن انگور را در مقایسه با تیمارهای شاهد کاهش دادند و بار میکروبی تا روز پنجم ذخیره‌سازی در مقایسه با تیمارهای شاهد کمتر از ۴ log CFU/mL باقی ماند. بنابراین ژلاتین حاصل از محصولات جانبی طیور مانند پای

مرغ می‌تواند به عنوان یک بیوپلیمر کارآمد برای توسعه بسته بندی مواد غذایی زیست تخریب پذیر برای افزایش ماندگاری محصولات غذایی فاسد شدنی عمل کند (Fatima *et al*., 2022).

نتیجه گیری کلی

به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که نوع ماده اولیه (پوست، استخوان، غضروف و غیره)، بافت ماده اولیه، ترکیب ماده اولیه (مقداراسیدهای آمینه موجود در کلاژن آن بخصوص پرولین و هیدروکسی پرولین)، شرایط مختلف فرآیند (دما ، زمان، pH و غیره)، شرایط پیش فرآیند (نوع اسید و قلیا، غلظت اسید و قلیا، مدت زمان به کار برده شده و ...)، عملیات فیلتراسیون، خشک کردن و غیره، همه می‌توانند به نوعی در کیفیت ژلاتین حاصل تأثیر مطلوب یا نامطلوب بگذارند.

با توجه به اینکه جامعه کنونی ما در جهت خودکفایی سیر می‌کند، در نتیجه استفاده بهینه از تولیدات و راه‌های بهره گیری از ضایعات می‌تواند در این راه موثر واقع افتد. همچنین با توجه به موجود بودن دامداری‌های مرغ و طیور در کشور، استفاده از ضایعات کشتارگاه‌های آن می‌تواند تا حدی در تحقق اهداف اقتصادی کشور کمک شایانی نماید. در پایان، بررسی فرآیند تولید ژلاتین از پای مرغ با استفاده از نتایج آزمایشگاهی به دست آمده از تحقیقات مختلف، درمقیاس پایلوت و صنعتی و استفاده از این ماده با ارزش تغذیه‌ای بالا در دیگر فرآورده‌های غذایی و صنایع بسته‌بندی، پیشنهاد می‌گردد.

منابع

۱. **آبرومند، ع. ۱۳۸۶.** تولید ژلاتین خوراکی از ضایعات ماهی. مجله تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی، (۱۱)۱، ۴۱۹-۴۰۹.

۲. **سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران . ۱۳۷۳.** روشهای آزمون کیفی ژلاتین. استاندارد ملی ایران، شماره ۳۴۷۳.

۳. **شاهی, ط. قربانی، م. و مقصودلو، ی. ۱۳۹۰.** تولید ژلاتین از ضایعات مرغ، همایش ملی صنایع غذایی، قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان،.https://www.civilica.com/Paper-GHOCHANFOOD01-GHOCHANFOOD01_210.html

٤. **رضایی زاده، ع. و رفتنی امیری، ز. ۱۳۹۶a.** بررسی خواص کیفی خامه کم چرب تهیه شده از ژلاتین پای مرغ و کنسانتره پروتئین شیر. نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران، (۱۴)۷۳، ۱۸۶- ۱۷۵.

٥. **رضایی زاده، ع. و رفتنی امیری، ز. ۱۳۹۶b.** استخراج و ویژگیهای ژلاتین پای مرغ و کاربرد آن در ژله طالبی. نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران، (۲)۱۳، ۳۳۲- ۳۲۲.

٦. **قربانی، م.، مقصودلو، ی. و شاهی، ط. ۱۳۹۰.** بررسی امکان استحصال ژلاتین از ضایعات کشتارگاه مرغ. معاونت پژوهشی و فناوری دانشکده صنایع غذایی- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

۷. **مجاوریان، س. پ. ۱۳۹۶.** استفاده از ژلاتین پای مرغ در تولید پاستیل زنجبیلی با شیرین کننده طبیعی، پایان نامه کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، دانشکده مهندسی زراعی.

۸. **میلانی، م.، رحمن، ع.ر. و حسینی، س.الف. ۱۴۰۱.** بررسی اثر جایگزینی خمیرمرغ با ژلاتین پای مرغ بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی سوسیس هات داگ مرغ. علوم غذایی و تغذیه، (۲)۱۹، ۱۰۱-۱۱۷.

9. **Almeida, P., Silva Lannes, S., Calarge, F., Brito Farias, T. and Curvelo Santana, J. 2012.** FTIR characterization of gelatin from chicken feet. Journal of chemistry and chemical engineering, 6(11), 1029-1032.
10. **Almeida, P.F. and Silva Lannes, S.C. 2013.** Extraction and Physicochemical Characterization of Gelatin from Chicken By-Product. Food process engineering, 36(6), 824-833.
11. **Araujo, I.B.S., Darlinne, L.A.S., Pereira, S.F. and Madruga, M.S. 2020.** Quality of low-fat chicken sausages with added chicken feet collagen. Poultry Science, 98, 1064–1074.
12. **Arnesen, J.A. and Gildberg, A. 2006.** Extraction of muscle proteins and gelatin from cod head. Process Biochemistry, 41, 697-700.
13. **Aslanzadeh, M., Mizani, M., Alimi, M. and Gerami, A. 2012.** Rheological properties of low fat mayonnaise with different levels of modified wheat bran. Journal of Food Biosciences and Technology, 2, 27-34.

14. **Chakka, A.K., Muhammed, A., Sakhare, P.Z. and Bhaskar, N. 2017.** Poultry processing waste as an alternative source for mammalian gelatin: Extraction and characterization of gelatin from chicken feet using food grade acids. Waste Biomass Valorization, 8, 2583–2593.
15. **Cheng, L.H., Lim, B.L., Chow, K.H., Chong, S.M. and Chang, Y.C. 2008.** Using fish gelatin and pectin to make a low-fat spread. Food Hydrocolloids, 22, 1637-1640.
16. **Choe, H. and Kim, H.Y. 2018.** Effects of chicken feet gelatin extracted at different temperatures and wheat fiber with different particle sizes on the physicochemical properties of gels. Poultry Science, 97(3),1082-1088.
17. **Dhakal, D., Koomsap, P,. Lamichhane, A., Sadiq, M.B. and Anal, A.K. 2018.** Optimization of collagen extraction from chicken feet by papain hydrolysis and synthesis of chicken feet collagen based biopolymeric fibres. Food Biosci, 23, 23–30.
18. **Fatima, S., Mir, M.I., Khan, M.R., Sayyed, R.Z., Mehnaz, S., Abbas, S., Sadiq, M.B. and Masih, R. 2022.** The Optimization of Gelatin Extraction from Chicken Feet and the Development of Gelatin Based Active Packaging for the Shelf-Life Extension of Fresh Grapes. Sustainability, 2022, 14(13), 7881; https://doi.org/10.3390/su14137881
19. **Fernandes Almeida, P., Caetano, S. and Lannes, D.S. 2013.** Extraction and physicochemical characterization of gelatin from chicken by product. Journal of Food Process Engineering, 36, 824–833.
20. **Gómez-Guillén, M.C., Giménez, B., López-Caballero, M.E. and Montero, M.P. 2011.** Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. Food hydrocolloids, 25, 1813-1827.
21. **Hanani, Z.A., Roos, Y.H. and Kerry, J. 2012.** Use of beef, pork and fish gelatin sources in the manufacture of films and assessment of their composition and mechanical properties. Food hydrocolloids, 29, 144-151.
22. **Karim, A.A. and Bhat, R. 2009.** Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. Food hydrocolloids, 23, 563–576.
23. **Mahmoudi, P. and Tavakolipour, H. 2018.** Production of fruit pastilles based on kiwi puree using gelatin and guar hydrocolloids and the study of the use of date juice as a natural sweetener. Journal of Food Science and Technology, 15 (74), 249-235.
24. **Marietta Salejda, A., Nawirska-OlszaNska, A., Janiewicz, U. and Krasnowska, G. 2017.** Effects on Quality Properties of Pork Sausages Enriched with Sea Buckthorn (Hippophae rhamnoides L.). Journal of Food Quality. 2017, 1-7.
25. **Mariod, A.A. and Adam, H.F. 2013**. Review: Gelatin, Source, Extraction and Industrial Applications. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment, 12, 135-147.
26. **Mokrejš, P., Mrázek, P., Gál, R. and Pavlaˇcková, J. 2019.** Biotechnological Preparation of Gelatines from Chicken Feet. Polymers, 11, 1060; doi:10.3390/polym11061060.
27. **Norani, M., Elhami Rad, A. and Hossein Tabatabaii, F. 2013.** Functional foods. National Conference on Science and Technology in Food Industry. Islamic Azad University of Torbat Heydarieh.
28. **Pietrasik, Z., Jarmoluk, A. and Shand, P.J. 2007.** Effect of non-meat proteins on hydration and textural properties of pork meat gels enhanced with microbial transglutaminase. LWT-Food science and Technology, 40, 915-920.
29. **Rahman, M.N.A. and Jamalulail Shariffah, A.S.K.A. 2012.** Extractions, Physicochemical Characterizations and Sensory Quality of Chicken Feet Gelatin. Borneo Science, 30, 11-13.
30. **Shakila, R., Jeevithan, E., Varatharajakumar, A., Jeyasekaran, G. and 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, 30-36.
31. **Shayni, K., Hema, G.S., Ninan, G, Mathew, S, Joshy, C.G and Lakshmanan, P.T. 2014**. Isolation and characterization of gelatin from the skins of skipjack tuna (Katsuwonus pelamis), dog shark (Scoliodon sorrakowah), and rohu (Labeo rohita). Food hydrocolloids, 39, 68-76.
32. **Trachootham, D., Songkaew, W., Hongsachum, B., Wattana, C.H., Changkluengdee, N., Karapoch, J., Thirdsuttironnapumi, S., Meennuch, E., Klaitong, Ch., Sinthusek, T. and Lam-u bol, A. 2015**. Nutri-jelly may improve quality of life and decrease tube feeding demand in head and neck cancer patients, Support care cancer, 23, 1421–1430.
33. **Widyasari, R. and Rawdkuen, S. 2014.** Extraction and characterization of gelatin from chicken feet by acid and ultrasound assisted extraction. Food and Applied Bioscience Journal, 2 (1), 85-97.
34. **Widyasari, R. and Rawdkuen, S. 2015.** Gelatin from chicken feet: papain-assisted extraction, characterization and its application. Journal of Food Science and Agricultural Technology, 1(1), 136-143.

35. **Yung, K.L. and Deng C.L. 2004.** Effects of pepsin digestion at different temperatures and times on properties of telopeptide-poor collagen from bird feet. Food Chemistry, 94, 621–625.
36. **Zhou, C., Li, Y., Yu, X., Yang, H., Ma, H., Yagoub, A.E., Cheng, Y., Hu, J. and Yarley Out, P.N. 2016.** Extraction and characterization of chicken feet soluble collagen. LWT - Food Science and Technology, 74, 145-153.

Gelatin extraction from chicken feet and its application in food industry

Zohreh Yahyaei Soofyani[1], Mohsen Milani[2]*

Received: 2021/10/24 **Accepted:2022/06/05**

ABSTRACT

Gelatin is a widely used material in the food and pharmaceutical industries. Gelatin produced in the world is made from the skin and bones of pigs, which has problems in Muslim countries from the Islamic point of view. Also, mad cow disease has so far infected many animals in Europe and other countries, and there is a risk of its transmission to humans through gelatin produced from the skin and bones of these animals. The results of the research show that chicken foot gelatin has a high functional value and having the potential to compete with gelatin from other sources, it can prevent the import of pig and cow skin gelatin to the country to some extent and by optimally using By-products and ways of using poultry waste play a significant role in the country's self-sufficiency. Also, due to its nutritional properties and ensuring the health and quality of gelatin produced in the country, it can be used for the production of meat, jelly and jelly, dairy and packaging products.

Key words: gelatin, chicken feet, nutritional value, quality of gelatin.

[1] M Sc, Department of Food Science and Industry, Faculty of Agriculture, Varamin Pishva Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
[2] M Sc. student, Department of Food Science and Industry, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
*Corresponding authors: mb.milani86@gmail.com