رقم الترتيب:.....

رقم التسلسل:.....

الجمهورية الجزائرية الديموقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة حمه لخضر بالوادي

كلية العلوم الدقيقة

قسم الكيمياء

مذكرة تخرج مقدمة لنيل شهادة ماستر اكاديمي

تخصص: كيمياء عضوية

اعداد الطلبة

بوغزاله حمد رحمه

موساوي سندس

Extraction and physico-chemical characterisation of gelatin extracted from some land mammal's

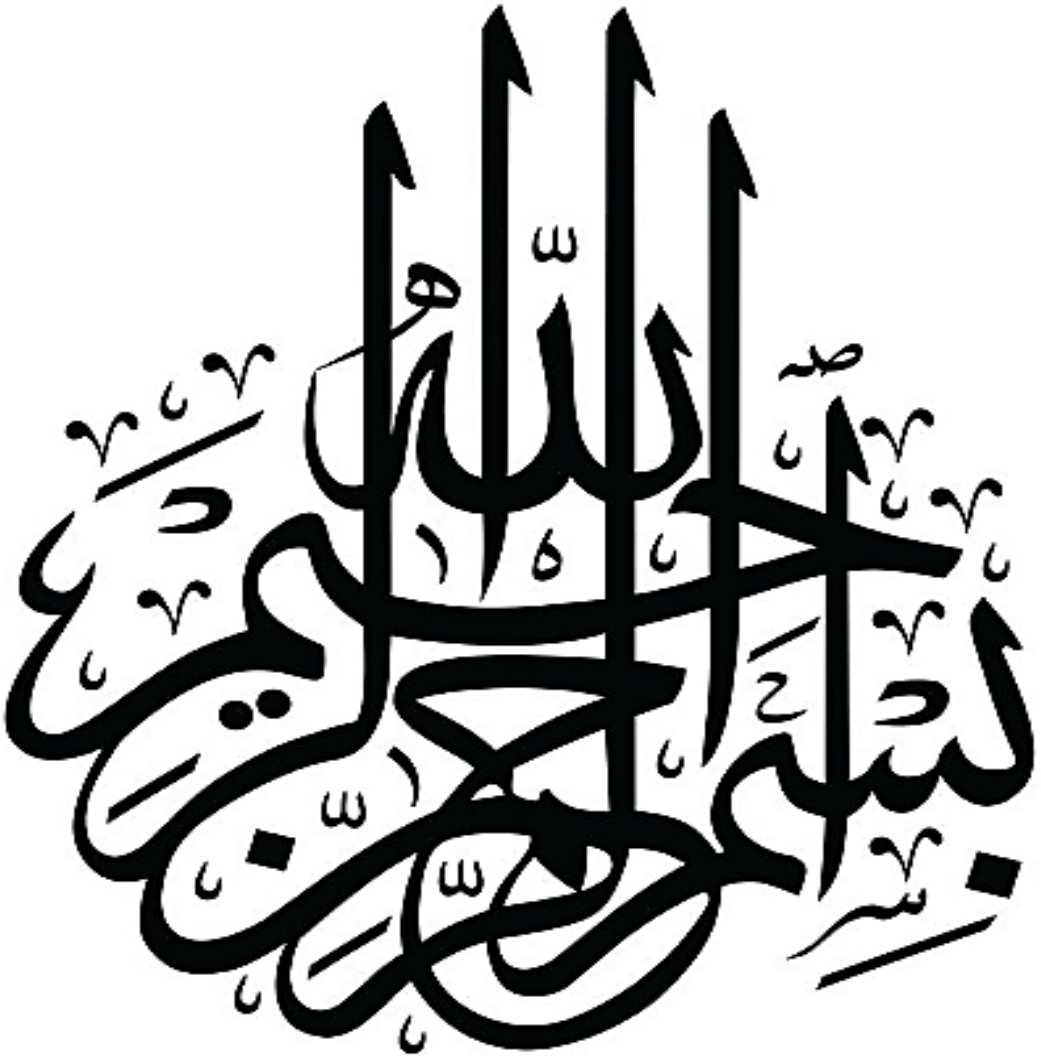
استخلاص وتحديد الخواص الفيزيوكيميائية للجيلاتين المستخرج من بعض الثدييات

نوقشت يوم: /06/2024.....

أمام الجنة المناقشة:

الاسم واللقب	الرتبة	الجامعة	الصفة
عطيــة جمال	أستاذ محاضر أ	جامعة الشهيد حمة لخضر – الوادي	رئيسا
ربيعي عبد الكريم	أستاذ تعليم عالي	جامعة الشهيد حمة لخضر – الوادي	مناقشا
زبيــدي عمار	أستاذ تعليم عالي	جامعة الشهيد حمة لخضر – الوادي	مشرفا

السنة الجامعية: 2023-2024


بسم الله الرحمن الرحيم

الملخـــــــص

يركز البحث الحالي على تحديد الظروف المثلى لاستخلاص الجيلاتين باستخدام عملية أحادية الخطوة من جلود الثدييات (الحصان والماعز والأبقار والأغنام والإبل) من أجل الحصول على الجيلاتين (حلال) من منتجات ثانوية غير مستغلة وغنية نسبيا بالبروتين يتم رميها في حين يتم استخدام كمية ضئيلة فقط لأغراض منزلية. تم تحسين طريقة الاستخلاص بخطوة واحدة باستخدام حمض الأسيتيك والماء باستخدام منهجية سطح الاستجابة (RSM). تم إجراء تصميم مركب مركزي (CCD) لتقييم آثار درجة حرارة الاستخلاص (X1)، ووقت الاستخلاص(X2) لزيادة المردود (Y) من الجيلاتين المُستخرج. أدى الجمع بين هذين العاملين إلى تحسين الخواص الفيزيائية والكيميائية لتحضير الجيلاتين النهائي. تم العثور على أعلى إنتاجية للجيلاتين عند درجة حرارة 80C° ووقت استخلاص 16h في عينات (جلود الأغنام والبقر والإبل)، في حين وجد الاستخلاص الأمثل في عينات (جلد الحصان والماعز) عند 70C° مدة 10h، مما ينتج جيلاتين بجودة ضمن معايير GMIA القياسية. أظهرت نسبة إنتاج الجيلاتين التي تم الحصول عليها في الحالة المثلى 32,53% ، قدرة امتصاص الماء (235,66%)، ربط الدهون (108%). أظهرت أطياف FT-IR أوجه تشابه عالية بين عينتي الجيلاتين. وبالتالي، يمكن استخدام الطريقة الأمثل لاستخراج الجيلاتين من المنتجات الثانوية لتطوير منتجات ذات قيمة عالية.

Abstract

The current paper focuses on determining the optimal conditions for gelatin extraction using a single-step process from the skins of mammals (horse, goat, cow, sheep and camel) in order to obtain (halal) gelatin from unexploited, relatively protein-rich by-products left in slaughterhouses that are discarded while being processed. Use only a small amount for household purposes. Single step extraction method with acetic acid and water was optimized using response surface methodology. A central composite design (CCD) was performed to evaluate the effects of extraction temperature (X1), and extraction time (X2) to maximize yield (Y) of the extracted gelatin. The combination of these two factors improved the physical and chemical properties of the final gelatin preparation. The highest gelatin yield was found at an extraction temperature of 80°C and an extraction time of 16 hours in the samples (sheep, cow and camel skin), while the optimal extraction was found in the samples (horse skin and goat) at 70°C and an extraction time of 10 hours, which producing the gelatin of the quality within the standard GMIA. Gelatin yield thus obtained at optimized condition exhibited high were 32,53%, water absorption capacity (235,66%), Fat Binding (108%). FTIR spectra depicted high similarities between both gelatin sample. Thus, the optimized method can be utilized for gelatin extraction from by-products for development of high value products such as food application

شكر وعرفان

قال تعالى (وَمَن يَشْكُرْ فَإِنَّمَا يَشْكُرُ لِنَفْسِهِ) سورة لقمان الآية 12

وقال النبي صلى الله عليه وسلم قال: «مَنْ لَمْ يَشْكُرِ النَّاسَ لَمْ يَشْكُرِ اللَّهَ»

مع وضع اللمسات الاخيرة لعملنا اغتنمنا الفرصة لنتوجه اليكم بهذه السطور التي تحمل في ثناياها

لكم أسمى عبارات الشكر والتقدير .

شكرا لك أستاذنا الفاضل **أ . د . زيدي عمار** على وقتك الثمين الذي قدمته لنا على جهودك التي

بذلتها لتوجيهنا على كل ما اعطيته لنا فأنت لم تبخل علينا بشيء، شكرا لقبولك الإشراف علينا

شكرا لكم أساتذتنا الكرام **د . عطية جمال**

والأستاذ **أ . د . ربيعي عبد الكريم** لقبولكم دعوة المناقشة

شكرا لكل الأساتذة الذين ساعدونا وأخص بالذكر الأستاذ **عياد رجب** أستاذ

جامعة ورقلة والأستاذة **غانم كنزة** و**ترعة حفيظة** إلى جانب بقية

المخبريات بمخبر كلية العلوم الدقيقة كل بإسمها وصفتها على وافر المساعدات التي قدموها لنا

فنشكركم جزيل الشكر.

شكرا لكل من ساهم في انجاز هذا العمل من بعيد أو من قريب.

الاهداء...

(وَآخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ)

الحمد لله حبا وشكرا وامتنان على البدء والختام

اهدي بكل حب بحث تخرجي

إلى روحِ أبي التي آنست وحدتي في لياليَّ التي سهرتها رفقةَ الكُتُبِ

إلي أمي التي قامت ليلا وصلت فجرا تدع لي ان انجح

هاانا ياأماه أخطو آخر خطواتِ مسيرتي التي كنتِ لي فيها القمَرُ والضياء

هاأنَا خريجة اقولها بتعبي. بتلكَ الايام الصعبة التي اجتزْتُها

أماه وإن كان دربي صِعابٌ بكِ يسهلُ كل صعب.

إلى القمر الذي تجلى في سماء مسيرتي اخوتي

هاانتمُ الكتِف الذي بعد ابي عليهِ اتكأ..

سندسُ، إليك ازف عبارات الامتنان،والشكر والعرفان،احساناً بالإحسان،فعلا' . لا تنسى مواقف الصداقة وجهودها وكيف تنسى وانت السندُ بعدَ العائِلة

إلى صديقاتي , أهدي لكم اجمل ما خطه القلمُ وأعبقُ ما نَطِقَه اللسان،أنتم احق من يُذكروا في هذا اليوم وأفضلُ من تُكتب أسماؤهم على هذه الورقة.وإلى كل استاذٍ ومعلم دمتم مبلغي رِسلاتكم ودمتُ اعلي راياتكم.

لكل من ذكرت اسمه وكتبته باحرف الفخر والنجاح إلى كل من رافقني في هاته المسيرة دعاًء ام ولاءا حضوراً ام غيابا.

أُهدي هذا التخرج وهاته الفرحة إن عبَّرت بكل جوارحي على الامتنان فلن تفيها حقها.

طبعا صدقَ من قال ""من قال انا لها نالهاَ'"

وانا لها وان ابت رغما عنها اتيت بها

بوغزاله حمد رحمه

الإهداء

بسم الله الرحمن الرحيم

(وَآخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِين)

حمد لله الذي ما تمّ جُهد ولا ختم سعي إلا بفضله، لم تكن الرحلة قصيرة ولا لم يكن الحلم قريبا ولا الطريق كان محفوفا بالتسهيلات لكني فعلتها ونلتها

إلى من علّموني معنى الصبر والإصرار، إلى من كانوا نبع الحنان والعطاء بلا حدود...

إلى والدي العزيز، الذي لم يدّخر جهدًا في دعمي ومساندتي على مدار سنوات دراستي، والذي علّمني أن النجاح لا يأتي إلا بالجد والمثابرة.

إلى والدتي الحبيبة، مصدر الحنان والقوة، التي كانت دعواتها الصادقة ليلاً ونهارًا، هي النور الذي أضاء طريقي نحو هذا الإنجاز.

إلى إخوتي وأخواتي، الذين كانوا لي سندًا وعونًا، وشاركوا معي لحظات الفرح والتعب، وكانوا دائمًا بجانبي بدعمهم وحبهم ادامكم الله ضلعا ثابتا لي.

اهدي اليكم بحثي وجهدي وليالي كثيرة من السهر والتعب والامنيات

إلى صديقتي "رحمة" التي شاركتني في إعداد هذه المذكرة. لقد كان تعاونك ودعمك لي مصدر إلهام وتشجيع. شكراً لكِ على الجهد المشترك، وعلى كل لحظة عملنا فيها معًا لتحقيق هذا الهدف.

إلى رفيق حياتي الجديدة، جعلك الله سندًا لي بقيت العمر.

إلى أصدقائي الأعزاء، الذين كانوا لي رفقاء الدرب، وشاركوا معي الأفراح والأحزان، وأعانوني بالنصح والتشجيع.

إلى كل من ساهم في تحقيق هذا الإنجاز، سواءً بالدعم المباشر أو غير المباشر، إلى كل من كان له دور في حياتي العلمية والعملية...

أهدي إليكم ثمرة جهودي وتعب السنين، راجيًا من الله أن يكون هذا العمل خطوة أولى في طريق النجاح والتميز.

موساوي سندس

فهرس المحتويات

فهرس المحتويات

المحتويات

الملخـــــــص ii

شكر وعرفان..... iv

الاهداء..... v

الإهداء..... vi

المقدمة العامة 1

الفصلI:..... 6

الدراسات السابقة 6

تمهيد:..... 7

I-1-تلخيص الدراسات السابقة :..... 8

الفصلII: 17

بحث توثيقي..... 17

II -عموميات حول الجيلاتين..... 18
II-1- تاريخ الجيلاتين:..... 18
II-2- تعريف الجيلاتين (Gelatin) :..... 20
II-3- تعريف الكولاجين(Collagen) :..... 20
II-4- مصادر الجيلاتين:..... 21
II-6- تحويل الكولاجين الى الجلاتين:..... 23
II-7- تصنيف الجيلاتين..... 24
II-8- الخواص الفيزيائية ،الكيميائية و المكروبيولوجية للجيلاتين :..... 25
II-9- العوامل المؤثرة على إنتاجية استخلاص الجيلاتين:..... 28
II-10- استعمالات الجيلاتين:..... 29
II-11- الحكم الشرعي لاستهلاك الجيلاتين:..... 30
II-12- الإنتاج العالمي للجيلاتين:..... 30
الفصلIII:..... 34
الطرق الأمثلية(Methods of Optimization) 34
III-1- تمهيد..... 35
III -2- منهجية استجابة السطح (Response Surface Methodology) (RSM)..... 36
III-3- أنواع التصميمات :..... 38
III -4- محاسن و مساوئ تصميم Box-behnken..... 42
III -5- تطبيقات منهجية سطح الإستجابة **RSM** 43
الفصلIV :..... 46
الاجهزة والطرق..... 46
تمهيد :..... 47
IV -1-المواد والطرق المستخدمة في استخلاص الجيلاتين:..... 47
IV -2- مرحلة الاستخلاص:..... 50
IV -4- الخواص الكيميائية، الفيزيائية والوظيفية:..... 55
الفصل :V..... 63
النتائج والمناقشة..... 63
V-1- تمهيد :..... 64
V-5- دراسة تأثير جرعة الممتزات وزمن الإتصال :..... 70
V-6- الخوص الفيزوكيميائية لإستخلاص الجيلاتين..... 72
الخلاصة العامة..... 73
الملاحق..... LXXIII

قائمة الاشكال

عنوان الشكل	الصفحة
الشكل (I-1): رسم بياني يوضح عدد المنشورات (2024_2013) المتعلقة بالجيلاتين وفقا لمحرك البحث (Science Direct)	8
الشكل (I-2): رسم تخطيطي يوضح خطوات استخلاص الكولاجين من جلد سمك الشبوط الذهبي مع معالجات حمضية مختلفة	11
الشكل (I-3): رسم تخطيطي يوضح تأثير درجة حرارة الاستخلاص على استقرار مستحلب الجيلاتين المستخرج من سمك البطئ	13
الشكل (I-4): رسم تخطيطي يوضح الاستخلاص الأخضر للجيلاتين_ اقتران التجميد السريع بالميكروويف والذوبان	14

الشكل (I-5): رسم تخطيطي يوضح عملية استخراج الجيلاتين	15
الشكل (II-1): استخدم المصريين القدامى الغراء للأثاث المنتج من الكالوجين جلود وعظام	16
الشكل (II-2): صورة توضح اثنين من أول آلات تصنيع كبسولات الجيلاتين الناعمة	16
الشكل (II-3): صور توضح التركيب الليفي للكولاجين 63، المكون الأساسي للجيلاتين	20
الشكل (II –4): التركيب الكيميائي المثالي لجزء من سلسلة الجيلاتين A التي تتميز بتكرار الثلاثيN(GLY-X-Y)، حيث يكون X و Y عادةً برولين هيدروكسي برولين، على التوالي	21
الشكل (II-5): تكوين الأحماض الأمينية للجيلاتين	22
الشكل (II-6): عملية تحويل الكولاجين الى الجلاتين	24
الشكل (II-7): تأثير الرقم الهيدروجيني على توزيع الشحنات الكهربائية للأنواع A وB من الجيلاتين	26
الشكل (II-8): التغير في الانتفاخ، بالنسبة للوقت وحجم جزيئات الجيلاتين	26
الشكل (II-9): تأثير درجة الحموضة على التغير في اللزوجة للجيلاتين النقية وللجيلاتين المضافة إليها الملح	27
الشكل (II-10): صورة توضح تطبيقات الجيلاتين	30
الشكل (II-11): دائرة نسبية تبين نسب استهلاك الجيلاتين في العالم	31
الشكل (III-1): فضاء التجارب	36
الشكل (III-2): سطح الاستجابة	38
الشكل (III-3): تصميم (CCD) المقدم بواسطة (DESIGN-EXPERT 13)	39
الشكل (III-4): الشكل الهندسي لتصميم (BBD).	40
الشكل (III-5): تصميم (BBD)لثلاث متغيرات بواسطة (DESIGN-EXPERT 13)	41
الشكل (IV-1):الجلود خلال مرحلة التحضير والتنظيف	48
الشكل (IV-2): المعالجة المسبقة	49
الشكل (IV-3): تعديل الحموضة pH	49
الشكل (IV-4): حمام مائي هزاز المستعمل في عملية الاستخلاص	50
الشكل (IV-5): قبل التجفيف	50
الشكل (IV-6) :الجيلاتين بعد التجفيف	51

الشكل (IV-7): صور لبرنامج منهجية سطح الاستجابة (RSM)	52
الشكل (IV-8): مخطط بروتوكول الاستخلاص	53
الشكل (IV-9): محلول الجيلاتين في جهاز الرج	54
الشكل (IV-10): المحاليل قبل التجفيف بالطرد المركزي	54
الشكل (IV-11): المحاليل بعد الطرد المركزي	55
الشكل (IV-12): جهاز الترشيح تحت الفراغ	55
الشكل (IV-13): العينات في جهاز الرج	56
الشكل (IV-14): العينات قبل عملية الطرد المركزي	56
الشكل (IV-15): العينات بعد عملية الطرد المركزي	56
الشكل (IV-16): قياس درجة الحموضة	57
الشكل (IV-17): محلول الجيلاتين مع زيت الصويا	57
الشكل (IV-18): جهاز الطيف الضوئي	58
الشكل (IV-19): استقرار الرغوة	59
الشكل (IV-20): صورة فوتوغرافية لجهاز طيف الاشعة تحت الحمراء	60
الشكل (IV-21): الماسح الضوئي الإلكتروني (SEM)	60
الشكل(V–1): العلاقة بين القيم التجريبية والمتوقعة لإستخلاص الجيلاتين: (A)،(B)،(C)،(D)،(E)	68
الشكل(V-2): مخططات سطح الإستجابة ثلاثية الأبعاد لتأثير درجة الحرارة وزمن لإستخلاص الجيلاتين: (A)،(B)،(C)،(D)،(E)	70
الشكل(V-3): طيف الاشعة تحت الحمراء (FT-IR) لعينات الجيلاتين المُستخلص	72
الشكل(V-4): صورة بالمجهر الالكتروني الماسح للجيلاتين المستخلص (A)،(B)،(C)،(D)،(E)	75

قائمة الجداول

عنوان الجدول	الصفحة
الجدول(II-1): المعايير البكتريولوجية	28
الجدول (III-1): تصميم (BBD) لثلاث متغيرات	41
الجدول (III-2): مقارنة تصميم (BBD) و (CCD)	42
الجدول (IV-1): المواد والأجهزة المستعملة في استخلاص الجيلاتين	46
الجدول (IV-2): تصنيف أنواع الثدييات حسب الجنس والعمر	47
الجدول (IV-3): المستويات التجريبية للعوامل المستقلة ورموزها في BBD	52
الجدول (V-1): تأثير درجة الحرارة ومدة الاستخلاص في مردود للجيلاتين(C) و(D) و(E)	64

الجدول (V-2): تأثير درجة الحرارة ومدة الاستخلاص في مردود للجيلاتين(A) (B)	66
الجدول (V-3): معادلة الانحدار لكل من(A),(B),(C),(D) و(E)	67
الجدول (V-4): قدرة امتصاص الماء للجيلاتين المستخلص من انواع جلود حيوانات	76
الجدول (V-5): نسبة امتصاص الزيت (ربط الدهون) للجيلاتين المستخلص من انواع جلود حيوانات	77
الجدول (V-6): نشاط الاستحلاب للجيلاتين	78
الجدول (V-7): سعة الرغوة (FE) وثبات الرغوة (FS)	79
الجدول (v-8): قيم pH	80

قائمة الرموز والاختصارات

الرمز	مدلوله	الترجمة باللغة العربية
A	Goat skin	جلد الماعز
ANOVA	Analysis of variance	تحليل التباين
B	Horse skin	جلد ابحصان
BBD	Box Behnken Design	تصميمBox Behnken
BSE	Bovine Spongiform Encephalopathy	اعتلال الدماغ الإسفنجي البقري
C	Sheep skin	جلد الخروف
CCD	Central Composite Design	تصميم التركيب المركزي
D	Cow skin	جلد البقر
E	Camel skin	جلد الابل
EAI	Emulsion Activity Index and Emulsion Stability Index	نشاط الاستحلاب
f_B	Response Function	وظيفة الاستجابة
FBC	Fat Binding Capacity	قدرة ربط الدهون
FDGG	Freeze-drying	التجفيف بالتجميد
FE	Foam Expansion	سعة الرغوة
FS	Foam Stability	ثبات الرغوة
FT-IR	Infra Red rays	مطيافية الأشعة تحت الحمراء

عدد العوامل	Number of factors	**K**
درجة الحموضة	Potential of Hydrogen	**pH**
نقطة التعادل الكهربائي	soelectric point	**PL**
مردود الاستخلاص	Extraction Yield	**R%**
منهجية استجابة السطح	Response Surface Methodology	**RSM**
التجفيف بالرش	Spray drying	**SDGG**
كبريتات لوريل الصوديوم	Sodium dodecyl sulfate	**SDS**
الماسح الضوئي الإلكتروني	Scanning Electron Microscopy	**SEM**
هو الحجم الأولي قبل الرج	volume before regression	**V_0**
هو الحجم الكلي مباشرة بعد الرج	Total volume immediately after regression	**VT**
هو الحجم الكلي بعد الرج والراحة لفترات زمنية مختلفة 15min	Total volume after rest and recovery for different periods of time 15min.	**Vt**
قدرة امتصاص الماء	Water absorption capacity	**WAC**
درجة حرارة الاستخلاص	Temperature	**X1**
وقت الاتصال	Time	**X2**
الاستجابة المستمرة	Continuous response	**Y**

المـــقدمة العامـــة

يُعد الجيلاتين مادةً هلاميةً ورغويةً ومستحلبةً، ويمكن استخلاصه من عظام وجلود وأوتار الثدييات التي تحتوي على الكولاجين، مثل الأبقار والخنازير. لدى الجيلاتين مجموعة واسعة من التطبيقات في الصناعات الغذائية وغير الغذائية نظرا لخصائصه الفنية الوظيفية الكبيرة مثل ربط الماء، والرغوة، والاستحلاب**[1, 2]**.

على مدى العقد الماضي، زاد الطلب العالمي على الجيلاتين بشكل كبير. بلغ سوق الجيلاتين في جميع أنحاء العالم 1.83 مليار دولار أمريكي في عام 2021 ومن المتوقع أن يرتفع بنحو 3,30%ليصل إلى 2.15 مليار دولار أمريكي في عام 2026 [3]. وفقًا لAkhade وأخرون (2000) [4] ، يبلغ الإنتاج العالمي من الجيلاتين ما يقرب من 326 الف طن سنويًا، ويمثل جيلاتين جلد الخنزير أعلى إنتاج (44%)، تليها جلود الأبقار (28%)، والعظام (27%) و1% من مصادر أخرى. يُفضل الجيلاتين من المصادر البرية نظرًا لخصائصه الوظيفية الأكبر، ومع ذلك، فإن هذه المصادر من الثدييات تثير عددًا من القضايا المطروحة للنقاش. على سبيل المثال، لا نستهلك نحن المسلمون أي منتجات متعلقة بالخنازير في وجباتهم الغذائية، والتي تُعد أيضًا عرضةً للأمراض المعدية مثل اعتلال الدماغ الإسفنجي البقري (BSE) [5] .

في العقود الأخيرة، كان هناك اتجاه مكثف في الجيلاتين المشتق من مصادر غير الثدييات مثل الجيلاتين البحري وجيلاتين الدواجن كجيلاتين بديل نظرًا ضعف الخصائص الفيزيائية والكيميائية والوظيفية التي تؤثر في النهاية على جودة المنتجات النهائية، وارتفاع تكاليف الإنتاج للأخيرة [5, 6] . ولذلك، هناك حاجة إلى مزيد من الدراسات حول إيجاد بديل الجيلاتين المحتمل من مصادر أخرى. [7]. حيث تتضمن عملية الإنتاج الأكثر استخداما لتصنيع الجيلاتين إخضاع المواد الخام للغسيل، والتحلل المائي الجزئي بالأحماض أو القلويات، والتحييد، والاستخلاص، والترشيح ، وإزالة المعادن، والتجفيف[8].

نظرًا لانخفاض جودة الجيلاتين المنتج في دراسات سابقة، فإن تحسين عملية الاستخلاص للحصول على إنتاجية عالية من جيلاتين الثدييات دون تعريض جودة الجيلاتين للخطر أمر بالغ الأهمية. إن أهم المتغيرات التي تؤثر على إنتاجية الاستخلاص والخصائص الوظيفية للجيلاتين هي درجة حرارة الاستخلاص، ووقت الاستخلاص، ولتحديد أفضل ظروف لاستخلاص الجيلاتين استخدمنا منهجية سطح الاستجابة (RSM) وهي تقنية إحصائية ورياضية لتطوير العمليات وتحسينها. للحصول على أفضل إنتاجية وخصائص وظيفية للجيلاتين، يجب إبراز عوامل مثل وقت ودرجة حرارة الاستخلاص. ومن ثم، فإن التحسين هو تقنية مناسبة لتطوير طرق الاستخلاص حيث تعتمد جودة المادة

المستخلصة فقط على معلمات المعالجة. يمكن إيجاد التفاعلات ذات الصلة بين العوامل وتحديدها كمياً باستخدام RSM[9] ، مما قد يؤدي إلى إنتاج جيلاتين عالي الجودة.

والغاية من دراستنا هو بناء رصيد من المعرفة يُمكن أن يُشكل أساسًا لتطوير قطاع جلود هذه الثدييات. لهذا الغرض، تم تحديد هذه أهداف:

- ✓ استخراج الجيلاتين من مصدر حلال.
- ✓ تحسين ظروف استخلاص الجيلاتين من جلود أنواع من الثدييات (الحصان، الماعز، البقر، الجمل، الخروف) باستخدام تقنية RSM .
- ✓ تحديد أي نوع من هذه الحيوانات يمكن استخراج منها الجيلاتين بكميات أكبر.
- ✓ تحديد الخصائص الفيزيائية والكيميائية والمكروبيولوجية للجيلاتين.

ولتحقيق الأهداف المذكورة سابقا، اعتمدنا خطة عمل قسمت الى جزئيين نظري وتطبيقي تسبقهما مقدمة عامة وتليهما خلاصة تتضمن بعض التوصيات

- ❖ الجزء النظري:

- الفصل الاول: الدراسات السابقة والتي تناولنا فيها بالتفصيل اهم الدراسات لعشر سنوات الأخيرة الخاصة باستخلاص واستخراج الجيلاتين.
- الفصل الثاني: بحث توثيقي حيث تناولنا فيه عموميات حول الجيلاتين.
- الفصل الثالث: طرق التحسين في النمذجة الاحصائية باستعمال منهجية سطح استجابة السطح (RSM).

- ❖ الجزء التطبيقي:

- الفصل الرابع: يحتوي الطرق والاجهزة المستعملة في استخلاص الجيلاتين.
- الفصل الخامس: النتائج والمناقشة عرضنا فيه جميع النتائج المتوصل اليها حيث قمنا بتحليلها وتفسيرها وكذا مقارنتها بدراسات ذات علاقة.

[1] A. Abedinia, A. M. Nafchi, M. Sharifi, P. Ghalambor, N. Oladzadabbasabadi, F. Ariffin*, et al.*, "Poultry gelatin: Characteristics, developments, challenges, and future outlooks as a sustainable alternative for mammalian gelatin," *Trends in Food Science & Technology,* vol. 104, pp. 14-26, 2020.

[2] W. Z. Siburian, E. Rochima, Y. Andriani, and D. Praseptiangga, "Fish gelatin (definition, manufacture, analysis of quality characteristics, and application): A review," *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies,* vol. 8, pp. 90-95, 2020.

[3] R. R. Market, "27| Industry Share, Size, Growth-Mordor Intelligence," *Information on: https://www. mordorintelligence. com/industryreports/fumaric-acid-market# faqs,* 2022.

[4] A. R. Akhade, J. M. Koli, A. S. Mohite, M. M. Shirdhankar, and S. B. Patange, "Optimization process to extract gelatin from the skin of talang queenfish (Scomberoides commersonnianus)," 2020.

[5] O. Kaewdang, S. Benjakul, T. Kaewmanee, and H. Kishimura, "Characteristics of collagens from the swim bladders of yellowfin tuna (Thunnus albacares)," *Food Chemistry,* vol. 155, pp. 264-270, 2014.

[6] Z.-c. Tu, T. Huang, H. Wang, X.-m. Sha, Y. Shi, X.-q. Huang*, et al.*, "Physico-chemical properties of gelatin from bighead carp (Hypophthalmichthys nobilis) scales by ultrasound-assisted extraction," *Journal of food science and technology,* vol. 52, pp. 2166-2174, 2015.

[7] L.-K. Chua, P.-K. Lim, Y.-Y. Thoo, Y.-P. Neo, and T.-C. Tan, "Extraction and characterization of gelatin derived from acetic acid-treated black soldier fly larvae," *Food Chemistry Advances,* vol. 2, p. 100282, 2023.

[8] S. S. Kanwar, A. K. Nadda, T. A. Nguyen, S. Sharma, and Y. Slimani, *Biopolymeric Nanomaterials: Fundamentals and Applications*: Elsevier, 2021.

[9] R. A. Ramli, U. H. M. Razali, and N. Q. I. M. Noor, "Optimization of extraction conditions of gelatin from buffalo (Bubalus bubalis) skins using response surface methodology," *Heliyon,* vol. 9, 2023.

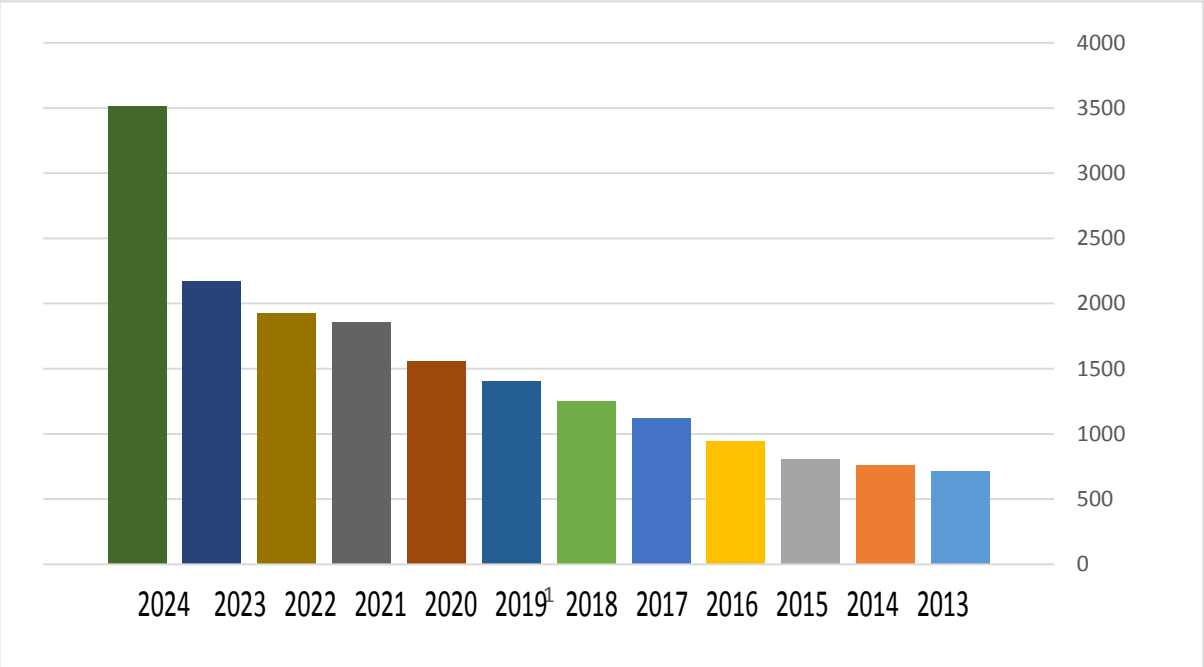
الفصل I :
الدراسات السابقة

تمهيد:

يُعد الجيلاتين مادة متعددة الاستخدامات ذات خصائص فريدة تجعله عنصرًا أساسيًا في العديد من الصناعات. يُستخرج الجيلاتين من مصادر حيوانية مثل عظام وجلود الحيوانات، ولهذا الجيلاتين تركيبة فريدة غنية بالأحماض الأمينية مثل الجلايسين(glycine) والبرولين(proline) والهيدروكسي برولين(hydroxyproline)، والتي تؤثر بشكل كبير على خصائصه عند استخدامه في تشكيل الأغشية والطلاء. وتتميز مصادر الجيلاتين الثديية بخصائص تغليف فائقة مقارنةً بالدواجن والأسماك، ويعود ذلك لاختلافات جوهرية في تركيبها**[1]**.

وعلى الرغم من أن جلد الخنزير يمثل المصدر الرئيسي لإنتاج الجيلاتين تجاريًا، إلا أن القيود الدينية (الحلال) والمخاوف الصحية المرتبطة بأمراض مثل جنون البقر، دفعت الباحثين لاستكشاف مصادر بديلة، مثل مخلفات الأسماك والدواجن الغنية بالكولاجين. وتوفر هذه البدائل حلولًا تلبي المتطلبات الدينية وتجنب المخاطر الصحية المحتملة. ويمر بعمليات معالجة دقيقة لتحويله إلى مادة قابلة للذوبان في الماء وتتميز بقدرتها على التبلور والذوبان بتغير درجات الحرارة. يلعب الجيلاتين دورًا هامًا في الصناعات الغذائية وغير الغذائية، حيث يُستخدم كمادة رابطة للماء ومكون رئيسي في الرغوات والمستحلبات. كما أنه يُستخدم في عمليات التنقية **[2]** .

شهدت السنوات الأخيرة ارتفاعًا كبيرا لعدد المنشورات المتعلقة بالجيلاتين ، حيث تم تسجيل وفقا لمحرك البحث (Science Direct) ما يقارب (15294) ما بين (2013-2024)



الشكل(I -1): رسم بياني يوضح عدد المنشورات (2013-2024) المتعلقة الجيلاتين وفقا لمحرك البحث (Science Direct)

I-1- تلخيص الدراسات السابقة :

- أظهرت الدراسة في سنة 2013 تأثير استخدام إنزيم البيبسين (pepsin enzyme) بتركيزات مختلفة (5، 10 ،15 وحدة بيبسين لكل جرام من الجلد) على استخلاص الجيلاتين من جلد الحبار(skin of cuttlefish) المعالج بالقلويات. حيث وجد أن زيادة تركيز الإنزيم تؤدي إلى زيادة في إنتاجية الاستخلاص، حيث وصلت إلى 9,22%عند استخدام 15 وحدة بيبسين لكل جرام من الجلد، مقارنة ب 2,68% فقط بدون استخدام الإنزيم. ومع ذلك، فإن استخدام البيبسين أثر على خصائص الجيلاتين الناتج، حيث انخفض الوزن الجزيئي، وقوة الهلام، ودرجات حرارة التبلور والانصهار مع زيادة تركيز الإنزيم. كما تأثرت خاصية تمدد الرغوة سلبًا بزيادة تركيز البيبسين، في حين حافظت الجيلاتين المتحللة جزئيًا على خصائص الاستحلاب **[3]** .
- اظهرت دراسة في سنة 2014 أن جيلاتين جلد سمك القاروص(skin of seabass) يمتلك خصائص مبشرة تجعله بديلاً محتملاً للجيلاتين الحيواني التقليدي. حيث أثرّت ظروف الاستخراج، مثل درجة الحرارة والمدة، على كمية الجيلاتين المستخلصة وجودة الهلام الناتج.

أعلى قوة هلام تم الحصول عليها كانت عند استخراج الجيلاتين عند درجة حرارة 45C° لمدة 3h. وعلى الرغم من أن زيادة درجة الحرارة والمدة زادت من كمية الجيلاتين المستخلصة، إلا أنها قللت من قوة الهلام. تميز جيلاتين جلد القاروص بدرجة حرارة تبلور منخفضة وسرعة تثبيت عالية، مما يجعله مناسبًا للاستخدام في مجموعة متنوعة من التطبيقات.بمقارنته بالجيلاتين البقري، أظهر جيلاتين جلد سمك القاروص قوة هلام أعلى، مما يجعله خيارًا جذابًا للصناعات الغذائية والدوائية ومستحضرات التجميل **[4]** .

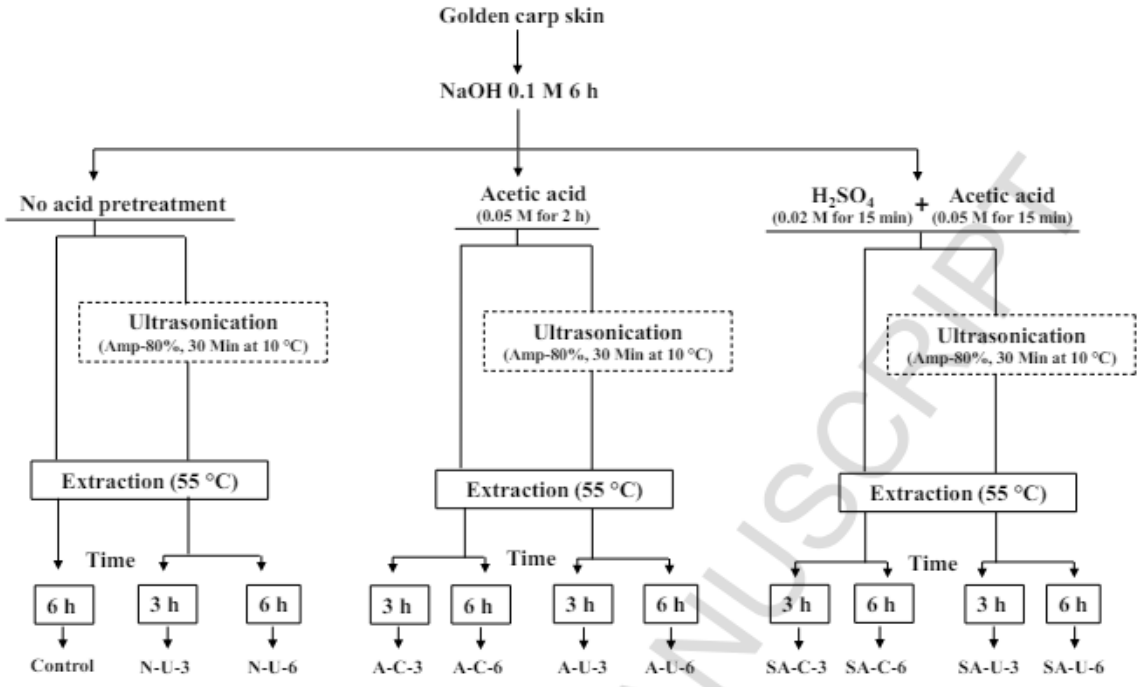
- تناولت دراسة في سنة 2015 خصائص جيلاتين مستخلص من بقايا عظام الدجاج(chicken deboner residue) ، ومقارنته بالجيلاتين التجاري المتوفر. حيث تم تحديد أفضل طريقة لاستخلاص الجيلاتين من بقايا العظام باستخدام حمض الهيدروكلوريك بتركيز 100ml/6,73g، يليه استخلاص بالماء الساخن عند 86,8C° لمدة 1,95h.حيث شملت المقارنة بين الجيلاتينين تحليل مكوناتهما (نسبة الدهون والبروتين والرطوبة والرماد)، وقياس خصائصهما الفيزيائية مثل اللزوجة وقوة الهلام والقدرة على امتصاص الماء والدهون، بالإضافة إلى خصائص الرغوة واللون.كما اظهرت النتائج تفوق جيلاتين بقايا الدجاج في عدة جوانب، حيث امتلك نسبة رطوبة أعلى، ولزوجة وقوة هلام أكبر، وقدرة أعلى على امتصاص الدهون وتكوين الرغوة، بالإضافة إلى لون أفتح مقارنة بالجيلاتين التجاري. بينما لم يكن هناك فرق كبير بينهما في محتوى البروتين والدهون والرماد، وبعض خصائص اللون والقدرة على امتصاص الماء.بشكل عام، أشارت الدراسة إلى أن جيلاتين بقايا عظام الدجاج يمتلك خصائص واعدة تجعله بديلاً جيداً للجيلاتين التجاري في مختلف التطبيقات **[5]**.

- أجريت دراسة في سنة 2016 لمقارنة الخواص البينية لجيلاتين جلد الماعز(goat skin) الذي تم تجفيفه بطريقتين مختلفتين: التجفيف بالرش (SDGG) والتجفيف بالتجميد (FDGG)، مع الجيلاتين البقري التجاري (BG). حيث كشفت النتائج أن طريقة التجفيف تؤثر بشكل كبير على خصائص الجيلاتين السطحية ورغوته واستحلابه. أظهر الجيلاتين المجفف بالرش (SDGG) أعلى مستوى من كره الماء السطحي مقارنة بالأنواع الأخرى، مما يشير إلى ميله لتكوين روابط مع الدهون بدلاً من الماء. من ناحية أخرى، أظهر الجيلاتين المجفف بالتجميد (FDGG) حساسية أكبر للتغيرات في درجة الحموضة، حيث يصبح مشحونًا بشكل أكبر عند مستويات الحموضة فوق أو تحت نقطة تساوي الشحنة الكهربائية. عند دراسة خصائص الرغوة، وجد أن كلا النوعين من جيلاتين جلد الماعز شكلا رغوة أكثر استقرارًا مع زيادة تركيزهما. ومع ذلك،

تفوق الجيلاتين المجفف بالرش (SDGG) في تكوين رغوة ذات تمدد واستقرار أكبر مقارنة بالجيلاتين المجفف بالتجميد (FDGG). وبالمثل، أثر نوع التجفيف على خصائص الاستحلاب، حيث شكل الجيلاتين المجفف بالرش مستحلبًا ذا قطرات أكبر وأكثر عرضة للتلبد. هذا المستحلب أظهر أيضًا استقرارًا أقل بمرور الوقت مقارنة بالمستحلب الذي تم تحضيره باستخدام الجيلاتين المجفف بالتجميد. تؤكد هذه النتائج أهمية اختيار طريقة التجفيف المناسبة عند إنتاج جيلاتين جلد الماعز، حيث أن لها تأثيرًا كبيرًا على خواصه البينية وتطبيقاته المختلفة في الصناعات الغذائية والدوائية وغيرها**[6]**.

- ركزت دراسة في سنة 2017 على استخلاص الجيلاتين من نسيج القلب البقري الضام (bovine heart) ومقارنة تأثير طريقتين للاستخلاص: الأولى باستخدام الحرارة، والثانية باستخدام إنزيم البيبسين، وذلك على جودة وكمية الجيلاتين الناتج. حيث أظهرت النتائج أن استخدام الحرارة عند 80C° لمدة 4 أو 6h ينتج جيلاتين عالي الجودة يتميز بقوة جل عالية. وبالرغم من أن استخدام البيبسين بعد الاستخلاص الحراري زاد من كمية الجيلاتين المستخلصة، إلا أنه أدى إلى انخفاض في جودته وقوة الجل الناتج. كشفت التحاليل أن جيلاتين القلب البقري المستخلص بالحرارة يتكون بشكل رئيسي من سلسلتي α1 وα2 ، ويظهر خصائص ميكانيكية جيدة بغض النظر عن مدة الاستخلاص. بشكل عام، تُظهر هذه الدراسة أن جيلاتين القلب البقري المستخلص بالحرارة يتمتع بخصائص مشابهة لجيلاتين المصادر الأخرى، مما يجعله مناسبًا للعديد من التطبيقات. ومع ذلك، يجب الأخذ في الاعتبار أن استخدام البيبسين، بالرغم من أنه يزيد من كمية الجيلاتين المستخلصة، إلا أنه يؤثر سلبًا على جودته **[7]** .
- تمت دراسة الجيلاتين المستخلصة من جلد سمك الكارب الذهبي(golden carp skin) بمعالجة مسبقة باستخدام حمضين مختلفين (حمض الخل وحمض الكبريتيك بالإضافة إلى حمض الخل)، مع وبدون تردد فوق الصوتي مسبق، واستخراجها عند درجة حرارة 55C° لمدة 3 و 6h. أسفرت معالجة الأحماض المختلفة عن كفاءة استخراج وخصائص جيلاتين متباينة. أظهرت الترددات الفوق صوتية المسبقة (20kh) بمقدار 80% زيادة في إنتاج الجيلاتين من جلد سمك الكارب الذهبي المعالج بحمض الخل وحمض الكبريتيك بالإضافة إلى حمض الخل بنسبة 110,9% و 174,8%على التوالي، مقارنة بالمجموعات المراقبة (بدون تردد فوق الصوتي مسبق)، عند استخراجها لمدة 6h. كانت جميع عينات الجيلاتين تحتوي على سلاسل α و β كمكونات رئيسية. أظهرت الجيلاتين المستخلصة بالتردد الفوق صوتي مسبق محتوى

أعلى قليلاً من الأحماض الإيمينية، مقارنة بتلك المنتجة بالطريقة التقليدية، بغض النظر عن المعالجات المسبقة بالحمض. بالإضافة إلى ذلك، كانت لجيلاتين المستخلصة بالتردد الفوق صوتي درجة حرارة تجلد وانصهار أعلى من تلك المنتجة بالطريقة التقليدية بنسب تتراوح بين 9,1%إلى 12% و 8,2%إلى 12,2% على التوالي. كشف طيف الاشعة تحت الحمراء (FT–IR) أن الجيلاتين المستخلصة بهذه الطريقة كانت تحتوي على روابط ترابط أعلى مستقرة بواسطة روابط هيدروجين بالمقارنة مع تلك المنتجة بالطرق التقليدية. بناءً على دراسة الهيكل الدقيق، تبين أن الجيلاتين المستخلصة بهذه الطريقة كانت تحتوي على عدد أكبر من المناطق الانتقالية مع شبكات أدق. بشكل عام، فإن معالجة السمك الكارب الذهبي بواسطة حمض الكبريتيك / حمض الخل بالتردد الفوق الصوتي المسبق قد تحسن بشكل فعال كفاءة الاستخراج وخصائص التجلد للجيلاتين **[8]**.

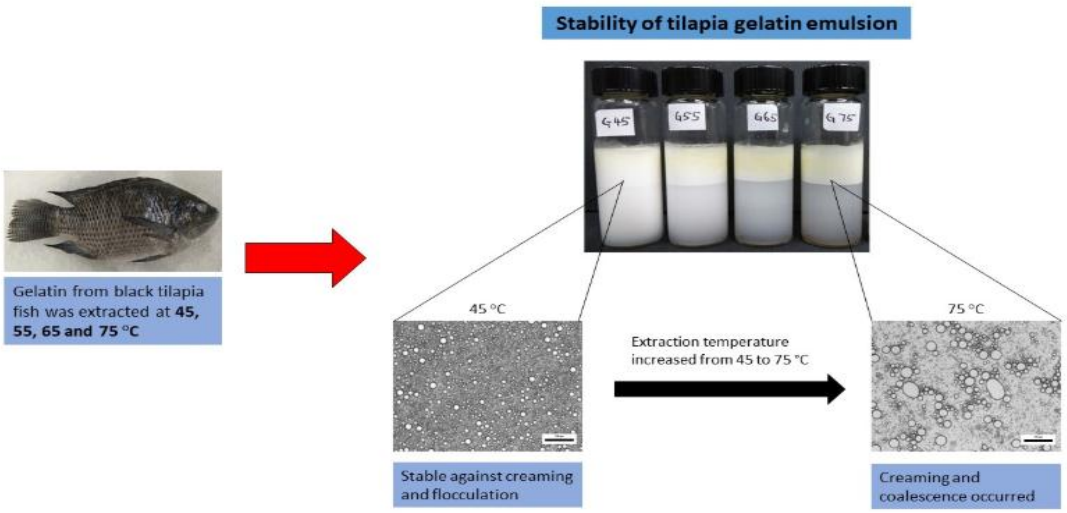


الشكل(I -2): رسم تخطيطي يوضح خطوات استخلاص الكولاجين من جلد سمك الشبوط الذهبي مع معالجات حمضية مختلفة **[8]**.

- أظهرت دراسة في سنة 2019 أن الجيلاتين المستخلص من جلد سمك (fish skin) والمعالج بإنزيم ألكالاز (Alcalase) يتميز بقدرته الفائقة على تشكيل أغشية رقيقة ومرنة. يعود ذلك لاحتواء هذا الجيلاتين على نسبة عالية من سلاسل الببتيد ذات الوزن الجزيئي العالي، والتي تصل إلى 33% من إجمالي البروتين الموجود فيه.تم الوصول لهذه النتيجة بعد تحديد الظروف

المثلى لعملية الاستخلاص، والتي تشمل معالجة الجلد بإنزيم ألكالاز بتركيز محدد ولمدة زمنية معينة، ثم استخلاصه بالماء الساخن. أثبتت التجارب وجود تأثير كبير لكل من المعالجة الأنزيمية والاستخلاص المائي على محتوى سلاسل الببتيد ذات الوزن الجزيئي العالي في الجيلاتين النهائي.يتميز الجيلاتين الناتج باحتوائه على نسبة عالية من الأحماض الأمينية الهامة مثل الجلايسين والبرولين والهيدروكسي برولين. وقد أظهرت الأغشية الرقيقة المكونة من هذا الجيلاتين خصائص فيزيائية وكيميائية ممتازة، مثل انخفاض العتامة، وقوة الشد العالية، والاستقرار الحراري الجيد. كما أظهرت الصور الميكروسكوبية أن هذه الأغشية تتمتع ببنية متجانسة وناعمة**[9]**.

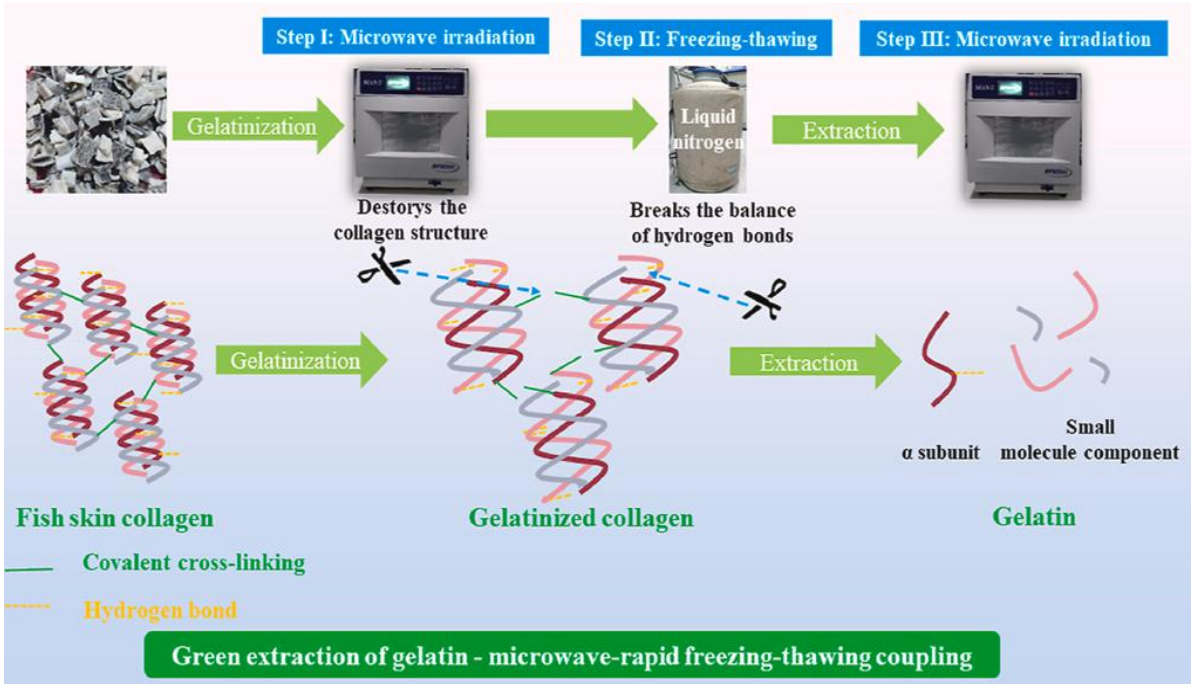
- ركزت دراسة في سنة 2020 على تأثير درجات حرارة استخلاص جيلاتين جلد سمك البلطي (The skin of tilapia fish) (بين 45 و 75C°) على قدرته في استحلاب الدهون والماء. حيث وجدت الدراسة أن زيادة درجة الحرارة تؤدي إلى تكسير البروتينات الرئيسية في الجيلاتين إلى أجزاء أصغر، مما يزيد من قدرته على التفاعل مع الماء والدهون. كما لوحظ انخفاض في نقطة تساوي الكهرباء للجيلاتين مع ارتفاع درجة الحرارة. بشكل عام، كما أظهرت محاليل الجيلاتين والمستحلبات سلوكًا كالنيوتون Newtonian ، أي أن لزوجتها لا تتغير بتغير معدل القص، باستثناء المستحلب المستقر بالجيلاتين المستخرج عند 45C° (G45) والذي أظهر سلوكًا غير نيوتوني (ترقق القص). كما أظهر المستحلب G45 استقرارًا عاليًا دون أي تكتل أو فصل للطور، بينما المستحلبات المستخلصة عند درجات حرارة أعلى كانت أقل استقرارًا. وأخيرًا، أظهر مستحلب G45 استقرارًا أفضل للكريمة والقطرات مقارنة بمستحلب جيلاتين الأبقار. تُظهر هذه النتائج أن جيلاتين جلد سمك البلطي المستخلص عند 45C° يمكن أن يكون مكونًا فعالًا في إنتاج مستحلبات زيت في الماء مستقرة **[10]** .



الشكل(I -3): رسم تخطيطي يوضح تأثير درجة حرارة الاستخلاص على استقرار مستحلب الجيلاتين المستخرج من سمك البلطي**[10]** .

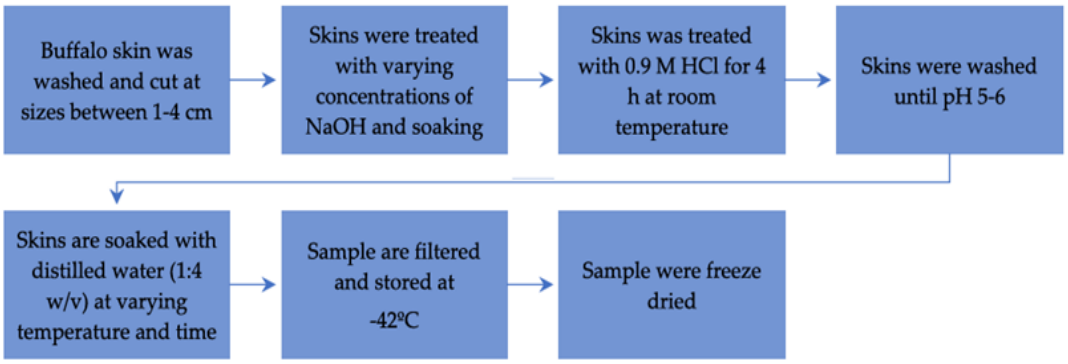
- تم في دراسة 2021 استخدام الجيلاتين المستخرج من جلد سمك (Fish skin) لتطوير أغشية بلاستيكية قابلة للتحلل تحتوي على مستخلصات من بذور نبات الجرجير (Lepidium sativum)، وذلك لتحسين خصائصها الوظيفية. تم استخدام هذه الأغشية المحسنة لحفظ الجبن أثناء التخزين في درجة حرارة منخفضة. أظهرت النتائج أن إضافة مستخلصات الجرجير أدت إلى تغيير في خصائص الألوان للأغشية، مع زيادة في اللون الأصفر وانخفاض في اللون الفاتح والأحمر. كما أظهرت الدراسة أن استخدام الأغشية المحتوية على مستخلصات الجرجير بتركيز 20 µg/ml أدى إلى تحسين كفاءتها في الحفاظ على الجبن. تم التأكيد على الخصائص المضادة للأكسدة العالية لهذه الأغشية القائمة على الجيلاتين، مما يجعلها مرشحة جيدة كأغشية نشطة للتعبئة والتغليف**[11]**.

- يهدف هذا البحث الذي درس في سنة 2022 إلى استحداث طريقة مستدامة لاستخراج الجيلاتين من جلد السمك(fish skin)، بديلة للطرق التقليدية التي تستخدم الأحماض والقلويات. حيث تعتمد هذه الطريقة المبتكرة على تقنية اقتران التجميد السريع بالموجات الدقيقة.تم دراسة تأثير هذه التقنية على تحويل الكولاجين إلى جيلاتين بشكل مفصل. حيث تبين أن زيادة وقت المعالجة بالموجات الدقيقة تؤدي إلى تفكك بنية ألياف الكولاجين، وتحويلها تدريجيًا إلى جيلاتين. هذا بدوره يزيد من إنتاج الجيلاتين ويقلل من قوة الهلام الناتج.كذلك، تبين أن تكرار دورات التجميد والذوبان يزيد من تفتيت بنية ألياف الكولاجين ويخل بتوازن الروابط الهيدروجينية، مما يؤدي إلى زيادة إنتاج الجيلاتين وتقليل قوة الهلام.تم تحديد الظروف المثلى لهذه العملية، والتي تتمثل في معالجة مسبقة بالموجات الدقيقة لمدة 15min ودورة تجميد وذوبان واحدة، حيث تم الحصول على إنتاج جيلاتين بنسبة 17,01% وقوة هلام591,50g **[12]** .



الشكل(I -4): رسم تخطيطي يوضح الاستخلاص الأخضر للجيلاتين – اقتران التجميد السريع بالميكروويف والذوبان **[12]**.

- سعت دراسة في سنة 2023 إلى تحسين عملية استخلاص الجيلاتين من جلد الجاموس (buffalo skins)عبر تحديد أفضل الظروف لتحقيق ذلك. اعتمدت الدراسة على منهجية سطح الاستجابة وتصميم مركزي مركب لتقييم تأثير عدة عوامل على جودة وكمية الجيلاتين المستخلص. حيث شملت هذه العوامل تركيز هيدروكسيد الصوديوم، ومدة المعالجة المسبقة، ودرجة حرارة الاستخلاص، ومدة الاستخلاص.أظهرت النتائج أن درجة حرارة ومدة الاستخلاص هما العاملان الأكثر تأثيرًا على العائد، وقوة الهلام، ومحتوى هيدروكسي برولين. ومن جهة أخرى، أثر وقت المعالجة المسبقة سلبًا على العائد ومحتوى هيدروكسي برولين.حددت الدراسة مجموعة مثالية من العوامل لإنتاج جيلاتين عالي الجودة بكميات جيدة، مما يفتح الباب لاستخدام جلد الجاموس كمصدر بديل لإنتاج الجيلاتين **[2]**.



الشكل(I -5): رسم تحطيطي يوضح عملية استخراج الجيلاتين**[2]**.

- اجريت دراسة في سنة 2024 لاستكشاف إمكانية استخدام ببتيد الجيلاتين المستخلص من جلود الابقار، المعروف بخصائصه المضادة للأكسدة، في الحفاظ على جودة المهلبية ومنع تدهورها أثناء التخزين.تميزت ببتيدات الجيلاتين المستخدمة في الدراسة بخصائص فريدة مقارنة بالأنواع التجارية، حيث أظهرت قدرة عالية على مقاومة الأكسدة، وانخفاض في الثبات الحراري والتبلور، وزيادة في محتوى الأحماض الأمينية الكارهة للماء، فضلاً عن تعرض أكبر للروابط الهيدروجينية السطحية.أظهرت النتائج أن إضافة كمية صغيرة من ببتيد الجيلاتين (0.5–1.0%) إلى المهلبية كان لها تأثير إيجابي ملحوظ في الحفاظ على جودتها. فقد ساهم في إبطاء انخفاض درجة الحموضة والحفاظ على الخصائص الحسية المرغوبة، كما أنه قلل بشكل كبير من نمو البكتيريا. وبالتالي، تمكنت المهلبية المضاف إليها ببتيد الجيلاتين من الاحتفاظ بصلاحيتها لمدة أطول، حيث زادت فترة صلاحيتها لخمسة أيام عند تخزينها في درجة حرارة 4C°، وثلاثة أيام عند تخزينها في درجة حرارة 25C° **[13]** .

[1] J. A. Rather, N. Akhter, Q. S. Ashraf, S. A. Mir, H. A. Makroo, D. Majid*, et al.*, "A comprehensive review on gelatin: Understanding impact of the sources, extraction methods, and modifications on potential packaging applications," *Food Packaging and Shelf Life,* vol. 34, p. 100945, 2022.

[2] R. A. Ramli, U. H. M. Razali, and N. Q. I. M. Noor, "Optimization of extraction conditions of gelatin from buffalo (Bubalus bubalis) skins using response surface methodology," *Heliyon,* vol. 9, 2023.

[3] M. Jridi, R .Nasri, I. Lassoued, N. Souissi, A. Mbarek, A. Barkia*, et al.*, "Chemical and biophysical properties of gelatins extracted from alkali-pretreated skin of cuttlefish (Sepia officinalis) using pepsin," *Food Research International,* vol. 54, pp. 1680-1687, 20.13

[4] S. Sinthusamran, S. Benjakul, and H. Kishimura, "Characteristics and gel properties of gelatin from skin of seabass (Lates calcarifer) as influenced by extraction conditions," *Food chemistry,* vol. 152, pp. 276-284, 2014.

[5] F. Rafieian, J. Keramat, and M. Shahedi, "Physicochemical properties of gelatin extracted from chicken deboner residue," *LWT-Food Science and Technology,* vol. 64, pp. 1370-1375, 2015.

[6] S. Mad-Ali, S. Benjakul, T. Prodpran, and S. Maqsood, "Interfacial properties of gelatin from goat skin as influenced by drying methods," *LWT,* vol. 73, pp. 102-107, 2016.

[7] B. C. Roy, C. Das, H. Hong, M. Betti, and H. L. Bruce, "Extraction and characterization of gelatin from bovine heart," *Food bioscience,* vol. 20, pp. 116-124, 2017.

[8] A .M. M. Ali, H. Kishimura, and S. Benjakul, "Physicochemical and molecular properties of gelatin from skin of golden carp (Probarbus Jullieni) as influenced by acid pretreatment and prior-ultrasonication," *Food Hydrocolloids,* vol. 82, pp. 164-172, 2018.

[9] Y. Zhang, P. Dutilleul, C. Li, and B. K. Simpson, "Alcalase-assisted production of fish skin gelatin rich in high molecular weight (HMW) polypeptide chains and their characterization for film forming capacity," *Lwt,* vol. 110, pp. 117-125, 2019.

[10] C-.C. Tan, A. A. Karim, U. Uthumporn, and F. C. Ghazali, "Effect extraction temperature on the emulsifying properties of gelatin from black tilapia (Oreochromis mossambicus) skin," *Food Hydrocolloids,* vol. 108, p. 106024, 2020.

[11] A. Salem, M. Jridi, O. Abdelhedi, N. Fakhfakh, M. Nasri, F. Debeaufort*, et al.*, "Development and characterization of fish gelatin-based biodegradable film enriched with Lepidium sativum extract as active packaging for cheese preservation," *Heliyon,* vol. 7, 2021.

[12] X. Feng, T .Liu, L. Ma, H. Dai, Y. Fu, Y. Yu*, et al.*, "A green extraction method for gelatin and its molecular mechanism," *Food Hydrocolloids,* vol. 124, p. 107344, 2022.

[13] W. Wang, Y. Zhao, L. He, Z. Song, C. Shi, P. Jia*, et al.*, "Cowhide gelatin peptide as a source of antioxidants for inhibiting the deterioration of pudding quality during storage," *Food Chemistry: X,* vol. 22, p. 101327, 2024.

الفصل II :

بحث توثيقي

II -عموميات حول الجيلاتين

II-1- تاريخ الجيلاتين:

يعود تاريخ الجيلاتين إلى آلاف السنين، حيث اكتشف سكان الشرق الأوسط القدماء قدرته على التحول إلى مادة لاصقة قوية مستخرجة من أنسجة الحيوانات. لم يقتصر استخدام الجيلاتين على اللصق فقط، بل أدرك المصريون القدماء قيمته في صناعة الأثاث، حيث استخدموا غراءً خشبيًا مشتقًا من الكولاجين لتجميع القطع الخشبية معًا كما موضح في **الشكل (II– 1)[1]**.

وفقًا لكتاب« Viandier of Taillevent » **[2]**، يرجع تاريخه إلى عام 1375 تقريبًا، الذي يعرض طريقة تحضير مرق اللحم الهلامي، والذي يعد الجيلاتين أيضًا جزءًا لا يتجزأ منه. وفي القرن الخامس عشر، في بريطانيا لنفس الغرض، بدأ استخدام مخلفات إنتاج اللحوم وحوافر الماشية كمواد خام لإنتاج الجيلاتين**[3]**، وفي عام 1681، قام المخترع الفرنسي دينيس بابان (Denis Papin) بتحسين هذه التكنولوجيا من خلال تطوير طريقة جديدة لاستخلاص الجيلاتين بغلي العظام **[3]** . وبعد قرن ونصف تقريبًا، واصل باحث فرنسي آخر، وهو جان بيير (Jean Pierre)، 1812، تجارب سلفه بإدخال حمض الهيدروكلوريك في عملية استخلاص الجيلاتين من المواد الخام للعظام مع الاستخلاص بالبخار، والذي زيادة كبيرة في كفاءتها **[4]**. منذ منتصف القرن التاسع عشر، بدأ إنتاج الجيلاتين في شكل مسحوق في هذا البلد وبيعه على نطاق واسع. أدى هذا الظرف إلى توسيع إمكانيات استخدام هذا المنتج البروتيني بشكل كبير **[3]**. شهد القرن التاسع عشر تحولًا جذريًا في استخدامات الجيلاتين، حيث دخل عالم الصناعات الدوائية والتصوير الفوتوغرافي. في عام 1874، حصل فريتز كيلر (Fritz Keller) على براءة اختراع لآلاته لتصنيع كبسولات الجيلاتين الناعمة كما موضح في **الشكل(II– 2)**، مما أحدث ثورة في مجال الأدوية وسهّل عملية تناولها**[5]**.

في الوقت الحاضر، ربما يكون الجيلاتين هو عامل التبلور الأكثر طلبًا في صناعة المواد الغذائية بشكل عام والطهي بشكل خاص، وتستخدم أنواعه وأصنافه المختلفة في تحضير مجموعة واسعة من المنتجات الغذائية وغير الغذائية. ومن أمثلة المنتجات الغذائية التي تحتوي على هذا البروتين حلويات الجيلاتين، والهلام للأطفال. يمكن استخدام الجيلاتين كمثبت أو مكثف أو مُثخن في منتجات مثل الزبادي والجبن الكريمي والسمن، كما أنه يستخدم في المنتجات قليلة الدسم لتقليد الشعور بالدهون في الفم وإعطاء الانطباع بالكتلة**[6]**. حتى القرن العشرين، ظل استخدام الجيلاتين كمنتج غذائي، إن لم يكن الوحيد، هو الاتجاه الرئيسي لاستخدامه العملي. ولا شك أن هذا الاتجاه هو من أهم الاتجاهات في الوقت

الحاضر، وتشمل هذه التطبيقات في مجال النشاط الثقافي مثل تركيبات الغراء والمواد اللاصقة في الرسم، وفي صناعة الحرف اليدوية والمنتجات الفنية من الخشب والجلود والمنسوجات والكتب والصحف والمجلات؛ كأغلفة قابلة للذوبان في الماء لأقراص الغسيل وغسالة الأطباق. ومع ذلك، ترتبط جميع هذه التطبيقات بطريقة أو بأخرى بالخصائص الفيزيائية أو الميكانيكية لجيلاتين**[7]**.

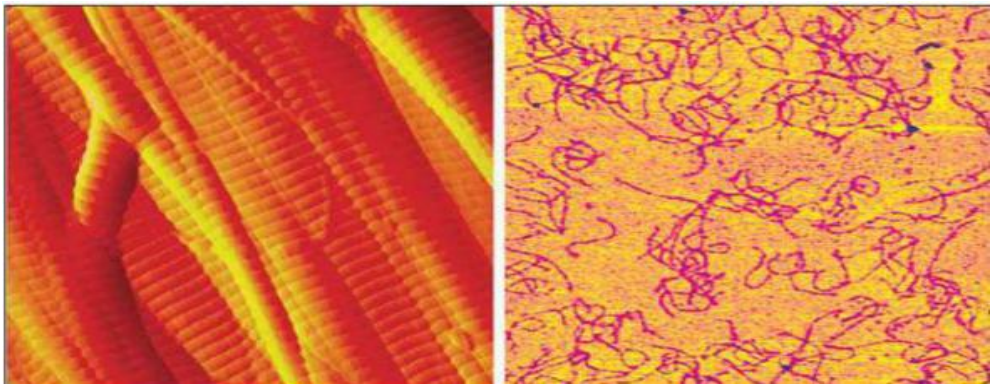
باختصار، تطور الجيلاتين من مادة لاصقة بسيطة إلى مكون متعدد الاستخدامات مع تطبيقات في مختلف المجالات، مما يدل على أهميته عبر التاريخ وقدرته على التكيف مع احتياجات الإنسان المتغيرة**[1]** .

الشكل(II– 1): استخدم المصريين القدامى الغراء للأثاث المنتج من الكالوجين جلود وعظام **[1]**

الشكل(II– 2): صورة توضح اثنين من أول آلات تصنيع كبسولات الجيلاتين الناعمة **[1].**

II-2- تعريف الجيلاتين (Gelatin) :

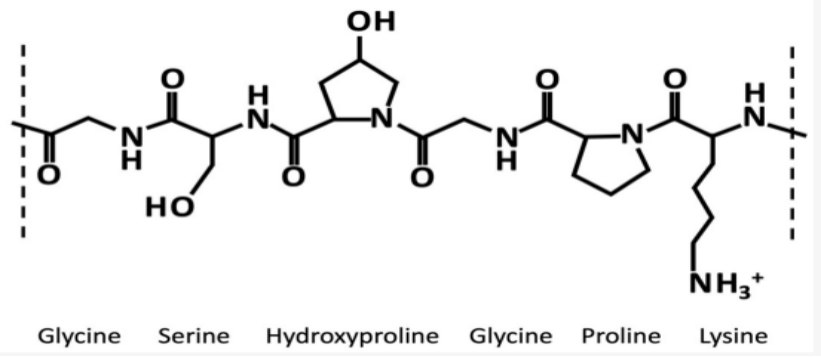
الجبلاتين هي عبارة عن كلمة مشتقة من فعل لاتيني (Gelatin) اي بمعنى القدرة على تكوين الهلام، الجيلاتين مادة بروتينية ذات خصائص فريدة، تستخرج من الكولاجين، وهو بروتين رئيسي موجود في الأنسجة الضامة للحيوانات، مثل العظام والغضاريف والجلد والأوتار يتم الحصول عليه عمومًا عن طريق التحلل المائي الحمضي الجزئي (النوع A) أو التحلل المائي القلوي الجزئي (النوع B) لألياف الكولاجين 63 الممثلة **بالشكل(II– 3) [8].** إذ يمكن تشكيلها من خليط النوعين **[9]** .يمكن للجيلاتين أن يغطي مجموعة واسعة من المنتجات ذات الخصائص المختلفة.



الشكل(II– 3): صور توضح التركيب الليفي للكولاجين 63، المكون الأساسي للجيلاتين**[8].**

II-3- تعريف الكولاجين (Collagen) :

الكولاجين هو بروتين هيكلي ليفي وهو المكون الرئيسي للأنسجة الضامة في الحيوانات **[10]** ، ويمثل حوالي 30% من إجمالي البروتين في الجسم **[11].** وهو مسؤول عن توفير القوة والدعم والمرونة للأنسجة المختلفة، بما في ذلك الجلد والعظام والغضاريف والأوتار والأربطة والأوعية الدموية والأسنان والقرنية. بشكل عام، يتميز الكولاجين بتكرار الثلاثي (Gly–X–Y)n **الشكل(II– 4).** ويتكون ثلث السلسلة من الجلايسين (glycine)، في حين أن الثلث الآخر يتكون من البرولين(proline) أو الهيدروكسي برولين (hydroxyproline) والليسين (lysine) **[12].** يمتلك الجيلاتين مجموعات كاتيونية وأنيونية إلى جانب مجموعات كارهة للماء بشكل تقريبي بنسبة 1:1:1. ولذلك، فإن حوالي 13% من سلسلة البولي ببتيد في الجيلاتين مشحونة بشكل إيجابي (أساسا ليسين(lysine) وأرجينين (arginine))، و12% مشحونة سلبا (أساسا الجلوتاميك (glutamic) وحمض الأسبارتيك (aspartic acid)، و11% كارهة للماء (ليوسين(leucine)، آيزوليوسين (isoleucine) ، ميثيونين(methionine)...) **[12].**



الشكل(II– 4):التركيب الكيميائي المثالي لجزء من سلسلة الجيلاتين α التي تتميز بتكرار الثلاثي (Gly–X–Y)n ، حيث يكون X و Y عادةً برولين هيدروكسي برولين، على التوالي**[12]**.

تجعل خصائص الكولاجين الفريدة، مثل قوة الشد والمرونة والقدرة على الاحتفاظ بالرطوبة، مادة ذات قيمة عالية في مجموعة واسعة من التطبيقات**[11]**.

التركيب الكيميائي المثالي لجزء من سلسلة الجيلاتين α تتميز بتكرار الثلاثي (Gly–X–Y)n ، وعادةً وجود برولين هيدروكسي برولين

II-4- مصادر الجيلاتين:

يُستخرج الجيلاتين من الكولاجين، وهو بروتين ليفي رئيسي موجود في الأنسجة الضامة للحيوانات. حيث تعتبر عظام الماشية والجلود المصادر الرئيسية لذلك وهي تمثل نسبة 70% من الجيلاتين وتتنوع مصادر الجيلاتين لتشمل خيارات حيوانية ونباتية، مما يتيح تلبية احتياجات المستهلكين المختلفة**[13, 14]**.

I–4–1– جيلاتين الثديات:

من بين المصادر الحيوانية، يُعد جيلاتين الثدييات المستخرج من جلود وعظام الأبقار والخنازير الأكثر شيوعًا. يتميز هذا النوع من الجيلاتين بقوة تماسكه ونقاط انصهاره العالية**[13]**.

I–4–2–جيلاتين الأسماك:

ويُستخرج جيلاتين الأسماك من جلود وعظام الأسماك، وهو مصدر مستدام يستفيد من مخلفات صناعة الأسماك. يتميز بنقاط انصهار منخفضة مقارنةً بجيلاتين الثدييات، مما يجعله مناسبًا لبعض التطبيقات الخاصة **[13, 14]**.

I–4–3–جيلاتين الحشرات:

يعتبر جيلاتين الحشرات مصدرا بديلا وجديدًا واعدًا، خاصة مع تزايد الاهتمام بالاستدامة الغذائية والبحث عن بدائل بروتينية. يتميز بقوة تماسكه العالية واحتوائه على نسبة عالية من البروتين[13].

I-4-4-جيلاتين الدواجن:

كما يُستخرج جيلاتين الدواجن من عظام وجلود الدواجن، وهو مصدر اقتصادي ومتوفر بسهولة، ويشبه جيلاتين الثدييات في خصائصه، ولكنه قد يكون أقل قوة تماسكًا**[15, 16]**.

I-4-4-البدائل النباتية للجيلاتين: هناك العديد من البدائل النباتية للجيلاتين منها

I-1-4-1-الأجار (Agar): المستخرج من الأعشاب البحرية الحمراء، وهو بديل شائع يتميز بقوة تماسكه العالية ونقاط انصهاره المرتفعة، مما يجعله مناسبًا لتحضير الحلويات والمنتجات الغذائية الأخرى.

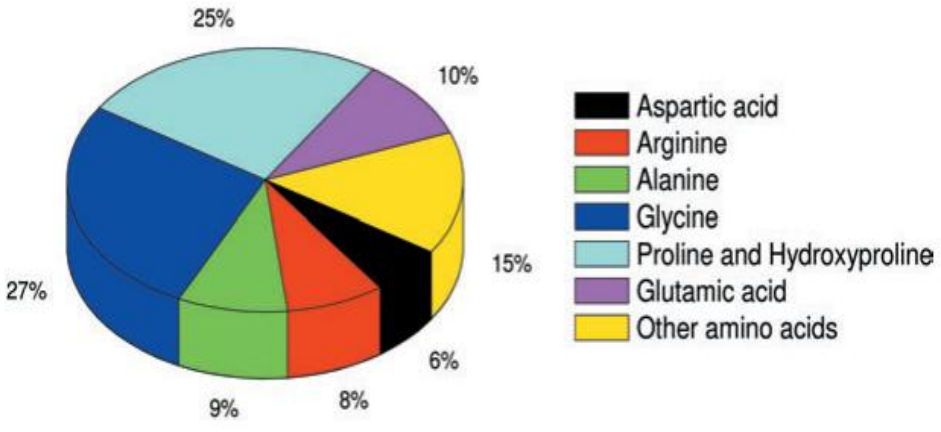
I-1-4-2-الكاراجين (Carrageenan) : وهو من نوع من الطحالب البحرية، ويستخدم في تحضير المواد الغذائية ومستحضرات التجميل، ويتميز بخصائصه المغلظة والمستحلبة.

I-1-4-3-الغشاء المشطي (Ciliary process) : والذي يكون بشكل طبيعي في أصناف الفواكه والخضار والذي يستخدم في تحضير المربى والمواد الحافظة، ويتميز بقدرته على تكوين جل في وجود السكر والحمض**[14]**.

باختصار، تتنوع مصادر الجيلاتين لتشمل خيارات حيوانية ونباتية، ولكل منها خصائص ومزايا فريدة، مما يتيح تلبية احتياجات المستهلكين المختلفة والتطبيقات المتنوعة.

II-5- التركيب الكيميائي و هيكل للجيلاتين :

تظهر التحاليل أن الجيلاتين يحتوي على نسب كتلية تبلغ: 26.4 إلى 30.5% جليسين(Glycine)؛ 14.8 إلى 18% برولين(proline)؛ 13.3 إلى 14.5% هيدروكسي برولين(hydroxyproline)؛ 11.1 إلى 11,7%حمض الجلوتاميك(glutamic acid)؛ و8.6 إلى 11,3% ألانين(.alanine)**[17]**.



الشكل(II– 5): تكوين الأحماض الأمينية للجيلاتين**[17].**

تجاريًا، هناك نوعان من الجيلاتين، النوع A والنوع B.

– الجيلاتين الكاتيوني من النوع A، ينتج من التحلل المائي الحمضي الجزئي للكولاجين. خلال هذا العلاج، يتم تحويل مجموعات أميد الجلوتامين والأسباراجين إلى مجموعات كربوكسيل، مما يؤدي إلى تحول نقطة التعادل الكهربائي (isoelectric point) إلى قيم أعلى (pI = 7–9)**[18, 19]** .

– الجيلاتين الأنيوني من النوع B، مشتق من معالجة الكولاجين القلوي. أثناء معالجة التحلل المائي القلوي، تحدث إزالة جزئية لمجموعات أميد الأسباراجين والجلوتامين، مع ما يترتب على ذلك من زيادة في محتوى حمض الأسبارتيك والجلوتاميك [35،34]. الزيادة الناتجة في مجموعات الكربوكسيل تجعل الجيلاتين من النوع B مشحونًا سلبيًا، مع نقطة التعادل الكهربائي أقل (pI = 4.7–5.5) **[20 ,18].**

وفقًا لذلك، اعتمادًا على نوع عملية الاستخراج ومعلماتها، يمكن أن يكون للجيلاتين نقاط كهربية مختلفة، والتي تعتمد على درجة تفكك مجموعات الكربوكسيل والأمينية الحرة **[18, 21].**

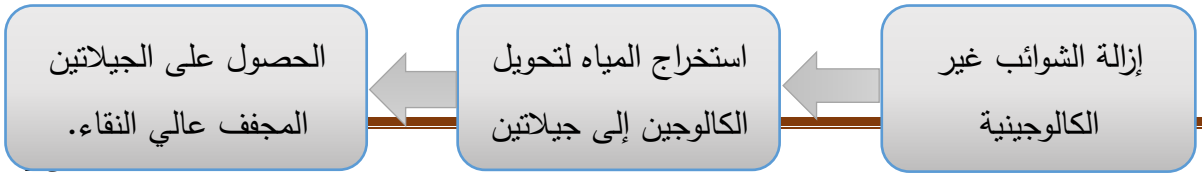
II-6- تحويل الكولاجين الى الجلاتين:

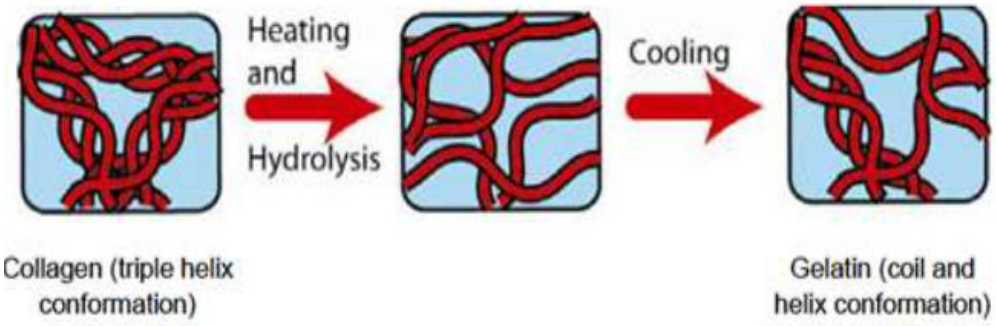
هناك العديد من الطرق التي تستخدمها الصناعة لإنتاج الجلاتين، الغرض الرئيسي من عملية انتاج الجلاتين هو تحويل الكولاجين غير قابل للذوبان في الماء الى جيلاتين قابل للذوبان في الماء، حيث يتم الحصول على الجيلاتين باستخدام سلسلة من ثلاث خطوات للمعالجة **[8, 22].**

- **الخطوة الأولى**: يتم غسل المواد الخام بالماء لإزالة الشوائب الواضحة ثم معالجتها بالقلويات والاحماض لإضعاف بنية الكولاجين عن طريق كسر الروابط المتدخلة داخل الجزيئات بما في ذلك الروابط التساهمية والهيدروجينية والتخلص من الشوائب الأخرى.

- **الخطوة الثانية**: يتم التسخين في درجات حرارة دافئة لفترة من الزمن من المياه. المعالجة الحرارية والتحلل المائي يؤديان الى انهيار لا رجعة فيه للبنية الحلزونية الثلاثية. وبذلك يتم تشكيل لفائف الجيلاتين العشوائية، والتي يمكن ان تتجدد جزئيا عند التبريد، كما موضح في **الشكل(II– 6)**

- **الخطوة الاخيرة**: يتعرض الجيلاتين المستخرج للفصل بعدة طرق بما في ذلك الترشيح، التبخر وازالة تليها التجفيف والطحن. أي باختصار تكون المعالجة عبر:





الشكل(II– 6):عملية تحويل الكولاجين الى الجلاتين**[22]**

II-7- تصنيف الجيلاتين

يصنف الجيلاتين وفقا للحمض او القاعدة المستخدم قبل الاستخراج إذا تم استخدام محلول حمض كمذيب، يتم الحصول على نوع A (عملية الحمضية) ، وفي حالة استخدام المذيبات القلوية يتم الحصول على نوع B (عملية قلوية) **[13].**

II-7-1-المعالجة المسبقة للحمض

تؤدي المعالجة المسبقة للحمض إلى ظهور الجيلاتين من النوع A في هذه العملية، يتم غمر المادة الخام الرطبة المغسولة في حمض معدني مخفف بارد (pH= 1.5–3) لمدة 8 –30h (عادة 18–24h) اعتمادًا على سمك وحجم المادة الخام. بعد المعالجة، يتم غسل المادة بالماء الجاري وتحييدها حتى الوصول إلى الرقم الهيدروجيني للاستخلاص**[19]**.

II-7-2-المعالجة المسبقة القلوية

الجيلاتين من النوع B هو المنتج النهائي من المعالجة المسبقة القلوية. يمكن استخدام مجموعة من العوامل القلوية لهذه المعالجة، لكن ماء الجير المشبع ($Ca(OH)_2$)، (pH=12) هو عمومًا سائل المعالجة الأكثر استخدامًا. يتم وضع المادة الخامة في أوعية مع كمية كافية من الجير المطفأ للحفاظ على التشبع. تبقى درجة الحرارة أقل من 24°C ويقلب الخليط على فترات باستخدام خلاط ميكانيكية. تستمر العملية لمدة 20 يومًا على الأقل حتى 6 أشهر (عادةً 2 ± 3 أشهر) اعتمادًا على سمك المادة الخام ونوعها. عند اكتمال المعالجة، يتم غسل المادة المُتكلسة بالماء حتى تصل إلى ظروف محايدة تقريبًا قبل المعالجة بالحمض المخفف (مثل حمض الهيدروكلوريك) للحصول على الرقم الهيدروجيني الصحيح للاستخلاص**[18, 20].**

وبصفة عامة، تعتمد اختيار الطريقة لاستخراج الجيلاتين على**[23]:**

- المواد الخام: تستجيب المواد المختلفة بشكل أفضل للعلاجات المختلفة.
- خصائص الجيلاتين المطلوبة: قوة الجل، اللزوجة، الوضوح، إلخ.
- اعتبارات التكلفة: المواد الكيميائية، استهلاك الطاقة، والمعدات

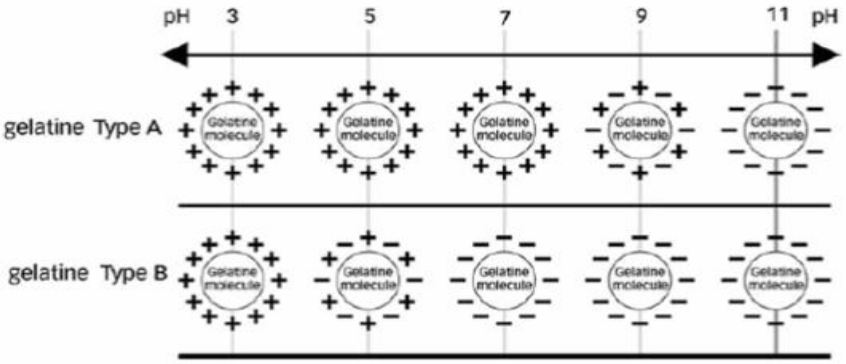
II-8- الخواص الفيزيائية ،الكيميائية و المكروبيولوجية للجيلاتين :

تتأثر طبيعة الجيلاتين وسلوكها بشكل أساسي ببنية جزيئاتها وتركيبها الكيميائي، بالإضافة إلى العوامل المحيطة مثل درجة الحموضة ووجود مواد أخرى. ويتميز الجيلاتين بخصائص متعددة تجعله مكونًا هامًا في مختلف التطبيقات.

II-8-1- نقطة التعادل الكهربائي (isoelectric point) (pI)

إن تحولات الجيلاتين ليست متطابقة تمامًا في الوسط القلوي وفي الوسط الحمضي. يكمن الاختلاف الأساسي في قيمة النقطة الكهربية للجيلاتين الذي تم الحصول عليه. تتراوح النقطة الكهربائية للجيلاتين A بين 9– 7 لأن المعالجة الحمضية تحافظ على المجموعات الأمينية من الجلوتامين بالإضافة إلى تلك الموجودة في بقايا الأسبارتيك. تبلغ النقطة الكهربائية للجيلاتين B بين 4.7 – 5.5 بسبب التخلص من هذه المجموعات الأمينية عن طريق المعالجة القلوية (**الشكل(II– 7)**). وهذا أمر مهم من ناحية لأنه عند نقطة الجهد الكهربي يكون ذوبان الجزيئات عند الحد الأدنى ومن ثم يكون هناك خطر التلبد**[24]**.

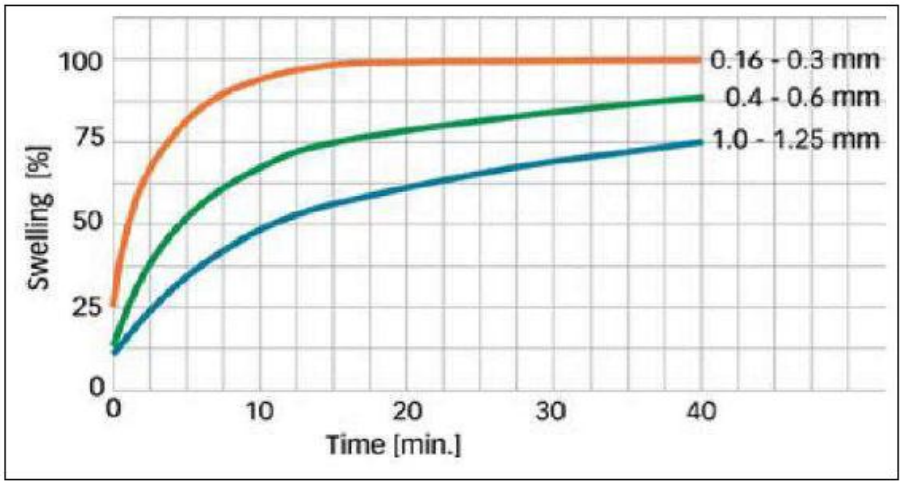
- ✓ لا يمكن استخدام الجيلاتين A إلا في الوسط حمضي.
- ✓ يمكن استخدام الجيلاتين B عند درجة حموضة قريبة من المحايدة **[24]**.



الشكل(II– 7):تأثير الرقم الهيدروجيني على توزيع الشحنات الكهربائية للأنواع A و B من الجيلاتين **[1]**

II-8-2-الذوبان والأنتفاخ (Solubility and swelling)

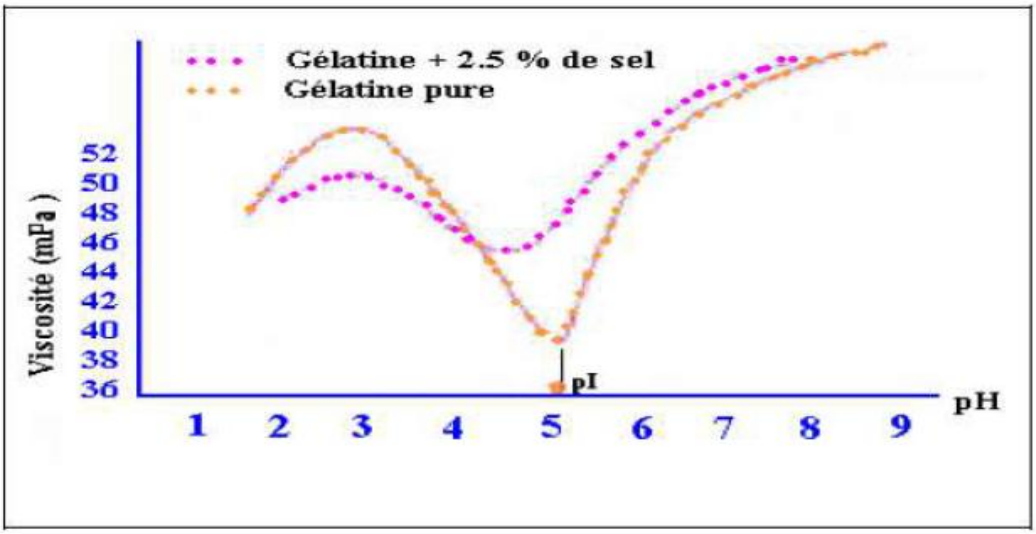
الجيلاتين غير قابل للذوبان بشكل كبير في الماء البارد. فعندما تُضاف حبيبات الجيلاتين إلى الماء البارد (في درجة حرارة الغرفة)، تمتص الماء حتى تصل إلى 100 ضعف وزنها الأصلي وتنتفخ بسرعة. ولكنها تذوب بسرعة في الماء الساخن **[24]**. عند درجة حرارة 40C°، تذوب حبيبات الجيلاتين وتشكل محلولًا متجانسًا. وتعتمد سرعة الذوبان على درجة الحرارة وتركيز الجيلاتين وحجم حبيباته **[25]** . كما تذوب الجيلاتين في حمض الخليك والجلسرين وبعض المذيبات العضوية الأخرى**[26]** .



الشكل(II– 8):التغير في الانتفاخ، بالنسبة للوقت وحجم جزيئات الجيلاتين**[24]**

II-8-3-اللزوجة (viscosity):

تزداد لزوجة محلول الجيلاتين بزيادة تركيزه وتنخفض بارتفاع درجة الحرارة. كما يؤدي وجود الأملاح الحرة في المحلول إلى تقليل اللزوجة. وعند درجة حموضة معينة تسمى نقطة التعادل الكهربائي، تصل لزوجة الجيلاتين إلى أدنى مستوى لها، بغض النظر عن تركيز المحلول. ويتضح ذلك من خلال المنحنيين الموضحين في **الشكل(II– 9) [24].**



الشكل(II– 9): تأثير درجة الحموضة على التغير في اللزوجة للجيلاتين النقية وللجيلاتين المضافة إليها الملح**[27]**.

II-8-4-قوة التبلور أو قوة الهلام (Gelling power or gel strength)

يُظهر الجيلاتين خصائص التبلور إذا كانت جزيئاته قادرة على التجمع لتكوين شبكة مسامية ثلاثية الأبعاد يتم من خلالها تثبيت سائل التشتت. ومن أهم المعايير التي تحدد جودة الجيلاتين؛ إنها درجة الإزهار التي تتراوح بشكل عام بين 50 و300. وهي تميز قوة الجيلاتين في تكوين الفيلم والتبلور (درجة الإزهار العالية تعني قوة تبلور عالية) **[25]**.

تعتمد هذه القوة على التركيز والقوة الجوهرية للجيلاتين الذي لديه القدرة على تكوين مواد هلامية قابلة للانعكاس الحراري اعتمادًا على درجة الحرارة. هذه الخاصية مهمة جدًا لدراسة تطبيقات الجيلاتين**[1]**.

II-8-5-اللون (Color)

ويعتمد ذلك على طبيعة المادة الخام المستخدمة في تحضيره ومستوى الاستخلاص. يحتوي محلول الجيلاتين على لون أصفر–بني ملحوظ إلى حد ما. هذا التلوين له أهمية أكبر أو أقل اعتمادًا على المستخدمين. يتم إجراء قياس التلوين على محاليل الجيلاتين 6,67% باستخدام مقياس الطيف الضوئي عند 450nm**[28]**.

II-8-6-الرائحة والطعم (Scent and flavor)

لا توجد طريقة لتحديد الرائحة والذوق. سيتم التخلص عمليا من الطعم الضعيف المميز للجيلاتين في جميع قطاعات الاستخدام من خلال عوامل النكهة والطعم الأخرى المستخدمة مع المنتج النهائي **[28]**.

II-8-7-العكارة (Turbidity) :

يمكن اعتبار العكارة مؤشرًا على سوء المعالجة أو الجيلاتين من النوعية الرديئة. يتم تقييمها على الجيلاتين في حالة المحلول والهلام؛ يعكس هذا القياس درجة "تعكر" المحلول أو عتامة الهلام. عادةً ما يتم قياس هذه الخاصية باستخدام مقياس التعكر، المجهز بخلية كهروضوئية تحدد كمية الضوء المنتشر بواسطة هلام بتركيز 6,67% الموجود في أنبوب اختبار مضاء، وفقًا لمحور معين**[28]**.

II-8-8-الخصائص البكتريولوجية :

يتم فحص كل دفعة من إنتاج الجيلاتين بشكل دقيق للتأكد من مطابقتها للمعايير المحددة في الجدول المرفق.

الجدول **(II– 1)**: المعايير البكتريولوجية **[27, 28]**

Paramètres microbiologiques	Normes (1)
Flore mésophile totale	< 103/g
Coliformes (30 °C)	Abs /g
Coliformes (44,5 °C)	Abs / 10g
Spores de bactéries anaérobies sulfito réductrices (absence de dégagement gazeux)	< 10/g
Clostridium perfringens	Abs. /g
Staphylococcus aureus	Abs. /g
Salmonelle	Abs. /25g

II-9- العوامل المؤثرة على إنتاجية استخلاص الجيلاتين:

تُعتبر عملية استخلاص الجيلاتين عملية معقدة تتأثر بعدة عوامل، وتلعب هذه العوامل دورًا حاسمًا في تحديد جودة وكمية الجيلاتين المستخلص. من أهم العوامل المؤثرة على استخلاص الجيلاتين:

II-9-1-درجة الحرارة: تزدهر عملية استخراج الجيلاتين ضمن نطاق درجة حرارة معين، عادة ما بين 60 و 100C°. غالبًا ما تزداد درجة الحرارة المثالية مع كل خطوة استخراج.

II-9-2-الوقت: يمكن أن تستغرق عمليات استخراج الجيلاتين التقليدية ما بين 10 إلى 20h. على غرار درجة الحرارة، عادة ما يزداد وقت الاستخراج مع كل خطوة متتالية.

II-9-3-مستوى الأس الهيدروجيني: يتأثر هذا العامل بشدة بطريقة المعالجة المسبقة وطبيعة المادة الخام. يتطلب استخراج العظام عادةً درجة حموضة تتراوح بين 5 و7، بينما يفضل جلد الخنزير نطاقًا يتراوح بين 3.5 و4.5، ويزدهر جلد الأبقار بين 5.2 و7.

II-9-4-التقليب: للتقليب اللطيف أثناء عملية الطهي تأثير إيجابي على إنتاجية الاستخراج**[29]**.

II-10- استعمالات الجيلاتين:

لجيلاتين، المستخرج من الكولاجين الحيواني، مادة بروتينية ذات تطبيقات متنوعة في مجالات مختلفة دعونا نستكشف بعض استخداماته الرئيسية:

II-10-1- في عالم الغذاء:

الجيلاتين عنصر رئيسي في صناعة الأغذية، حيث يساهم في تحسين قوام المنتجات المتنوعة. يستخدم الجيلاتين لضمان سلاسة الآيس كريم، والحفاظ على شكل الحلويات، وتعزيز قوام الأطعمة منخفضة السعرات، وزيادة اللزوجة في منتجات اللحوم. بالإضافة إلى ذلك، يُستخدم الجيلاتين في تحسين قوام منتجات الألبان، وتنقية المشروبات مثل العصائر.

II-10-2- في المجال الطبي:

يُستخدم الجيلاتين بشكلٍ واسع في صناعة الأدوية، خاصةً في صنع قشور الكبسولات. تُصنع الكبسولات الصلبة من الجيلاتين عالي التركيز، بينما تُصنع الكبسولات اللينة من جيلاتين أقل تركيزًا مع مواد ملدنة. ويستخدم الجيلاتين أيضًا في صنع إسفنج لامتصاص الدم أثناء العمليات الجراحية، وفي محاليل البلازما لتعويض فقدان الدم، وذلك بسبب توافقه الحيوي العالي .

II-10- 3- في التصوير الفوتوغرافي:

يُستخدم الجيلاتين في صناعة الأغشية الضوئية، حيث يعمل كعامل رابط للفضة الحساسة للضوء ويسمح بمرور المواد الكيميائية الضرورية لمعالجة الصور. تطبيقاته تشمل أفلام الأشعة السينية،

والتصوير بالأشعة تحت الحمراء، والتصوير العلمي والفني **[30]** .

الشكل(II– 10): صورة توضح تطبيقات الجيلاتين.

II-11- الحكم الشرعي لاستهلاك الجيلاتين:

قال تعالى: **(إِنَّمَا حَرَّمَ عَلَيْكُمُ الْمَيْتَةَ وَالدَّمَ وَلَحْمَ الْخِنْزِيرِ وَمَا أُهِلَّ بِهِ لِغَيْرِ اللَّهِ فَمَنِ اضْطُرَّ غَيْرَ بَاغٍ وَلَا عَادٍ فَلَا إِثْمَ عَلَيْهِ إِنَّ اللَّهَ غَفُورٌ رَّحِيمٌ) [سورة البقرة : 173]**

الحكم الشرعي لاستهلاك الجيلاتين يعتمد بشكل أساسي على مصدره وطريقة ذبح الحيوان.

الحالات المسموح بها:

الحيوانات المباحة المذكاة تذكية شرعية:

إذا كان الجيلاتين مستخرجًا من حيوان مأكول اللحم (مثل البقر أو الغنم) وتمت ذكاته وفقًا للشريعة الإسلامية، فهو يُعتبر طاهرًا وحلالًا، ويجوز استخدامه في جميع الاستعمالات.

الحيوانات غير المذكاة أو الميتة:

إذا كان الجيلاتين مستخرجًا من حيوان لم يذك ذكاة شرعية، أو من ميتة، فهو يُعتبر غير طاهر وحرام أكله.

الحيوانات المحرمة:

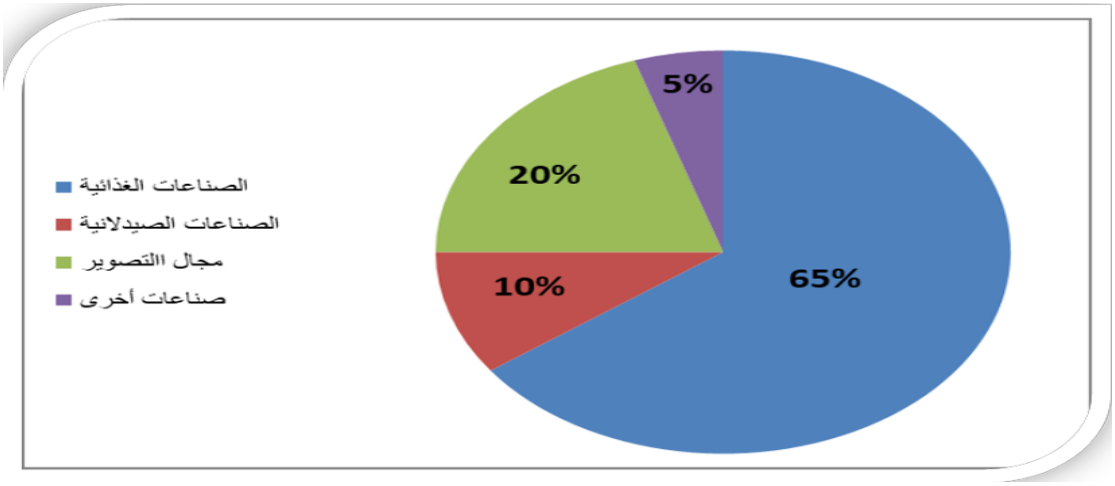
إذا كان الجيلاتين مستخرجًا من حيوان محرم أكله في الإسلام، مثل الخنزير، فهو يُعتبر غير طاهر وحرام أكله.

فهو موضوع جدل و خلاف بين أهل العلم بين جواز و عدم جواز استهلاكه رغم أن مجلس المجمع الفقهي الاسلامي لرابطة العالم الاسلامي في مكة المكرمة يوم السبت 1998/10/31 اصدر قرارا حول حكم استعمال مادة الجيلاتين ونصه : **يجوز استعمال الجيلاتين المستخرج من المواد المباحة ومن الحيوانات المباحة المذكاة تذكية شرعية ولا يجوز استخراجه من محرم كجلد الخنزير وعظامه وغيره من الحيوانات والمواد المحرمة} [31]**

II-12- الإنتاج العالمي للجيلاتين:

يمثل الجيلاتين سوقًا عالميًا ضخمًا، بإنتاج سنوي يصل إلى 350,000 طن بقيمة تتجاوز 2 مليار دولار. مصدر هذا الجيلاتين متنوع، لكن جلود الخنازير تتصدر القائمة بنسبة 45%، تليها جلود الأبقار بحصة 30%، وتساهم عظام الخنازير والأبقار بنسبة 23%، بينما تظل مصادر أخرى مثل الدجاج والأسماك هامشية بنسبة 1,5% ، تختلف الصورة قليلاً في أوروبا، حيث تعتمد صناعة الجيلاتين بشكل أكبر على جلود الخنازير بنسبة 80% بينما تمثل جلود الماشية 15% فقط. وتشكل عظام

الحيوانات المختلفة والدواجن والأسماك نسبة 5% المتبقية. وتتنوع استخدامات الجيلاتين لتشمل مجالات صناعية عديدة. موضحة في الشكل التالي **[32]**



الشكل(II– 11): دائرة نسبية تبين نسب استهلاك الجيلاتين في العالم

[1] R. Schrieber and H. Gareis, *Gelatine handbook: theory and industrial practice*: John Wiley & Sons, 2007.
[2] T. Scully, *The Viandier of Taillevent: An edition of all extant manuscripts*: University of Ottawa press, 1988.
[3] C. Viel and J. Fournier, "Histoire des procédés d'extraction de la gélatine et débats des commissions académiques (XIXe siècle)," *Revue d'histoire de la pharmacie,* vol. 94, pp. 7-28, 2006.
[4] J. J. Davis, *Defining Culinary Authority: The Transformation of Cooking in France, 1650-18* :30 LSU Press, 2013.
[5] S. Al-Nimry, A. A. Dayah, I. Hasan, and R. Daghmash, "Cosmetic, biomedical and pharmaceutical applications of fish gelatin/hydrolysates," *Marine drugs,* vol. 19, p. 145, 2021.
[6] O. V. Mikhailov, "Gelatin as it is: history and modernity," *International Journal of Molecular Sciences,* vol. 24, p. 3583, 2023.
[7] K. B. Djagny, Z. Wang, and S. Xu, "Gelatin: a valuable protein for food and pharmaceutical industries," *Critical reviews in food science and nutrition,* vol. 41, pp. 481-492.2001 ,
[8] M. Dessi, M. A. Alvarez-Perez, R. De Santis, M. Ginebra, J. Planell, and L. Ambrosio, "Bioactivation of calcium deficient hydroxyapatite with foamed gelatin gel. A new injectable self-setting bone analogue," *Journal of Materials Science: Materials in Medicine,* vol. 25, pp. 283-295, 2014.
[9] B. Brodsky and A. V. Persikov, "Molecular structure of the collagen triple helix," *Advances in protein chemistry,* vol. 70, pp. 301-339, 2005.
[10] A. Karim and R. Bhat, "Fish gelatin: properties, challenges ,and prospects as an alternative to mammalian gelatins," *Food hydrocolloids,* vol. 23, pp. 563-576, 2009.
[11] L. Senaratne, P.-J. Park, and S.-K. Kim, "Isolation and characterization of collagen from brown backed toadfish (Lagocephalus gloveri) skin," *Bioresource technology,* vol. 97, pp. 191-197, 2006.
[12] A. O. Elzoghby, "Gelatin-based nanoparticles as drug and gene delivery systems: Reviewing three decades of research," *Journal of Controlled Release,* vol. 172, pp. 1075-1091, 2013.
[13] A. A. Mariod and H. Fadul, "Gelatin, source, extraction and industrial applications," *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria,* vol. 12, pp. 135-147, 2013.
[14] PEGGY TROWBRIDGE FILIPPONE (6-4-2018), "GelatinVarieties and Types" ، thespruceeats, Retrieved 18-9-2018. Edited
[15] S. Y. Elsanat, M. Korish, and A. K. Ammar, "Optimizing The Extraction Conditions of Gelatin Obtained from Chicken Processing By-Products," *Alexandria Journal of Food Science and Technology,* vol. 11, pp. 43-52, 2014.
[16] W. I. Kurdi and M. F. Al-Baghdadi, "Gelatin Processing From bones, legs, heads and skins of spent hens (1-study its Chemical contents and yield)," *ANBAR JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCES,* vol. 8, 2010.
[17] S. Kommareddy, D. B. Shenoy, and M. M. Amiji, "Gelatin nanoparticles and their biofunctionalization," *Nanotechnologies for the life sciences: Online,* 2007.
[18] F. Johnston-Banks, "Gelatin: food gels," *Elsevier Applied Science, London,* vol. 26, pp. 885-891, 1990.
[19] Z. S. Patel, M. Yamamoto, H. Ueda, Y. Tabata ,and A. G. Mikos, "Biodegradable gelatin microparticles as delivery systems for the controlled release of bone morphogenetic protein-2," *Acta biomaterialia,* vol. 4, pp. 1126-1138, 2008.
[20] D. Ozhava, P. Winkler, and Y. Mao, "Enhancing antimicrobial activity and reducing cytotoxicity of silver nanoparticles through gelatin nanoparticles," *Nanomedicine,* vol. 19, pp. 199-211, 2024.

[21] O. Madkhali, G. Mekhail, and S. D. Wettig, "Modified gelatin nanoparticles for gene delivery," *International Journal of Pharmaceutics,* vol. 554, pp. 224-234, 2019.

[22] M.-M. Giraud-Guille, E. Belamie, G. Mosser, C. Helary, F. Gobeaux, and S. Vigier, "Liquid crystalline properties of type I collagen: Perspectives in tissue morphogenesis," *Comptes Rendus. Chimie,* vol. 11, pp.2008 ,252-245 .

[23] J. Koliab, S. Basu, G. Venkteshwarlu, M. Choukasy, and B. Nayak, "Optimization of fish gelatin extraction from skins and bones: A comparative study," *Ecol Environ Conserv J,* vol. 19, pp. 47-56, 2013.

[24] A. Le Hir, "Pharmacie galénique. Bonnes pratiques de fabrication des médicaments," *Lyon Pharmaceutique,* vol. 6, p. 332, 1997.

[25] C. Chène, "La gelatine," *J. de l'Adrianor, Agro-jonction,* pp. 752-788Septembre, 2000.

[26] A. Courts and A. G. Ward, *The science and technology of gelatin*: Academic Press, 1977.

[27] A. REDJEB, "Valorisation des déchets d'abattage du dromadaire: Extraction de la gélatine à partir de la peau," 2022.

[28] G. Monograph, "Standard method for the testing of edible gelatin," *Gelatinmonograph version-June,* 2005.

[29] R. Benamor and H. Logab, "Caractérisation de film biodégradable à base de gélatine cameline," UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA.

[30] G. O. Phillips and P. A. Williams, *Handbook of hydrocolloids*: Elsevier, 2009.

[31] ع. م. عثمان, "الجيلاتين ك كقوع الاستحالة: دراسة من منظور كيميائي تصنيعي ك من منظور فقهي تأصيلي," *Al-Adwa/Al-Aẓvā,* vol. 33, 2018.

[32] O. F. Al-Delimi and E. J. Al-Attar, "EXTRACTION TEMPERATURE AND PERIOD OF COWS'BONES GELATIN AND IT'S FUNCTIONAL AND SENSORY PROPERTIES," *Iraqi Journal of Agricultural Sciences,* vol. 44, 2013.

الفصل III:

طرق التحسين

(Methods of Optimization)

III- طرق التحسين (Methods of Optimization)

III-1- تمهيد

تصميم التجارب هو عبارة عن مجموعة خطوات متبعة بهدف جمع البيانات أو المعلومات وتحليلها احصائيا، بالإضافة الى الوصول الى استنتاجات يمكن تعميمها للاستفادة منها، وتسمح هذه التجارب بتطبيق الطرق الإحصائية في التجربة العلمية واستغلال الإمكانيات المتاحة لوضع أنسب التصميمات التجريبية على أساس علمي سليم لمحاولة التقليل من الخطأ التجريبي، ان الغرض من التصميم الحديث التجارب الى تقدير وتقليل الخطأ التجريبي والقيام بالاختبارات والتقديرات المطلوبة في البحث واستعنى في تجاربنا ببرنامج (Design-Expert 13) لتصميم التجارب وتحليلها ونمذجتها وفي هذا الفرع من العلوم يندرج مصطلحات جديده وغير مألوفة لهذا إرتأينا تقديمها لتعم الفائدة**[1, 2]**:

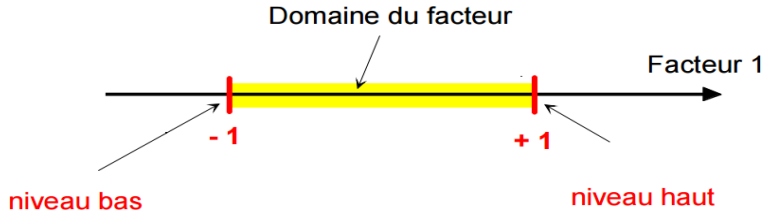
أ- **التصميم (Design)**: هو تخطيط بحثي لاجراء تجربة معينه للحصول على بيانات يمكن تحليله والتوصل الى استنتاج معين.

ب- **التحليل (Analysis)**: وتشمل طريقه جمع البيانات وترتيبها واختزالها ثم اجراء الاختبارات الإحصائية معينه يستعان بها لإتخاذ القرارات بخصوص الاهداف التي صممت للتجربة لدرستها.

ج-**التجربة (Experiment)**: وهي وسيله لاختبار الفرضية والكشف عن العلاقة بين المتغيرات.

د- **المعالجات (Treatments)**: وهو المعالم الذي تم تطبيقها في الوحدات التجريبية بهدف الوصول الى أفضل مستوى منها ويراعى ان توزع هذه المعالجات بشكل عشوائي.

هـ-**مستوى العامل أو المتغير (Factor level)** : ينحصر المجال التغيير المعامل بين نهايتين صغرى وكبرى ويمز لها بالرمز (1-) و (1+)



الشكل (III-1) : فضاء التجارب

حيث تعد منهجية استجابة السطح (RSM) من أهم الطرق المستخدمة في هذا المجال .

III-2- منهجية استجابة السطح (Response Surface Methodology) (RSM)

منهجية استجابة السطح (RSM) هي عبارة عن مجموعة من التقنيات الإحصائية والرياضية المستعملة لنمذجة وتحسين التجارب العلمية، كما أن لها العديد من التطبيقات المهمة في تصميم وتطوير وصياغة منتجات جديدة، وتهدف هذه المنهجية إلى تحليل العلاقة بين المتغيرات المختلفة التي تؤثر على متغير استجابة معين، وتحديد القيم الأمثل لهذه المتغيرات التي تؤدي إلى تحسين الإستجابة المطلوبة**[3]**.

III-2-1- مبدأ منهجية استجابة السطح (RSM)

تعتمد منهجية استجابة السطح (RSM) على تصميم مجموعة من التجارب المختلفة، حيث يتم تغيير قيم المتغيرات المختلفة بشكل نظامي ومنهجي في كل تجربة، ويتم قياس الاستجابة في كل مرة. وبعد جمع البيانات , يتم تحليلها باستخدام تقنيات الإحصاء المختلفة , مثل تحليل الانحدار وتحليل الإنحدار العشوائي ، وتستخدم هذه التقنيات لتقدير العلاقة بين المتغيرات والإستجابة ، وتحديد القيم الأمثل للمتغيرات التي تؤدي إلى الإستجابة المطلوبة **[4]**.

III-2-2- مراحل النمذجة باستخدام RSM

أ- التخطيط التجريبي لمنهجية استجابة السطح (RSM)

للحصول على تخطيط تجريبي جيد، من المستحسن التقليل من عدد التجارب قدر المستطاع وهذا لتقليل احتياجات الحوسبة والتأخير وتكاليف التجربة، مما يسمح بتقليل تباين معاملات النموذج الرياضي المستخدم، والذي سيجعل أسطح الإستجابة المتحصل عليها أكثر دقة. يجب أن

نحدد التصميم التجريبي الأنسب للحصول على التجارب المراد الوصول إليها. التخطيطات المستخدة في إطار دراسة RSM هي تخطيطات تربيعية مثل تصميم التركيب المركزي (Central Composite Design – CCD) أو تصميم (Box–Behnken Design–BBD) **[5]**.

ب- النمذجة لمنهجية استجابة السطح (RSM)

عند استخدام RSM نحاول ربط الاستجابة المستمرة Y (Optimizing) بعدد عوامل المؤثرة على عملية الاستجابة (K) باستخدام نموذج الإنحدار الخطي , والذي يمكن كتابته كالتالي **[6]**:

$$Y=f_B\ (X_1, X_2.....X_k)$$

على الرغم من أن الشكل الدقيق لوظيفة الاستجابة f_B غير معروف، إلا أن التجربة توضح ذلك. يمكننا الحصول على تقريب جيد من خلال كثير الحدود. في حالة وجود عاملين , يكون نموذج الإنحدار الخطي بالشكل :

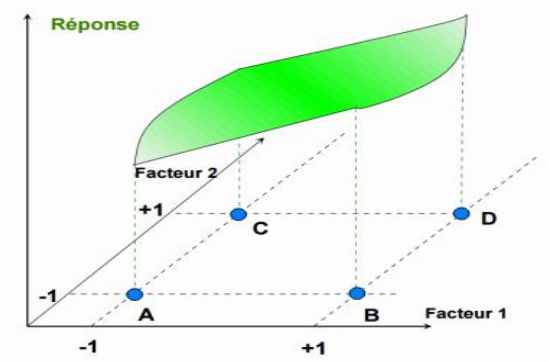
$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} \beta_i \chi_i + \sum_{i=1}^{k} \beta_{ii} \chi_i^2 + \sum_{i=1}^{k} \sum_{j=1}^{k} \beta_{ij} \chi_i \chi_j + \varepsilon$$

حيث: يتم استخدام المؤشرين i و j لتمثيل العدد المتغير ، و $\beta 0$ هو المعامل الثابت ، تمثل βi, β_{ii} و β_{ij} المعاملين الخطي والمربعي ، على التوالي. يشير ε خطأ عشوائيًا. تتوافق القيمتان Xi و Xj مع استجابة والقيم المشفرة للعوامل المستقلة (−1 ، 0 ، +1).

ج- تحليل التباين:

يسمى تحليل التباين "Analysis of variance"، عادة ما يتم اختصاره بـ ANOVA . بشكل عام، من حيث الانحدار، فإن مبدأ تحليل التباين هو تقسيم التباين الكلي إلى مكون عاملي يتعلق بمعادلة الانحدار أو النموذج المستخدم والمكون. يتم تمثيل المكونات العاملية المتبقية رياضيا بالمربعات المتوسطة، أي التباينات. وتتمثل ميزة تحليل التباين في القدرة على الاختبار المطلق لتأثير العوامل على الاختلافات في استجابة معينة**[7]**.

ويكون سطح الاستجابة هندسيا كالتالي:



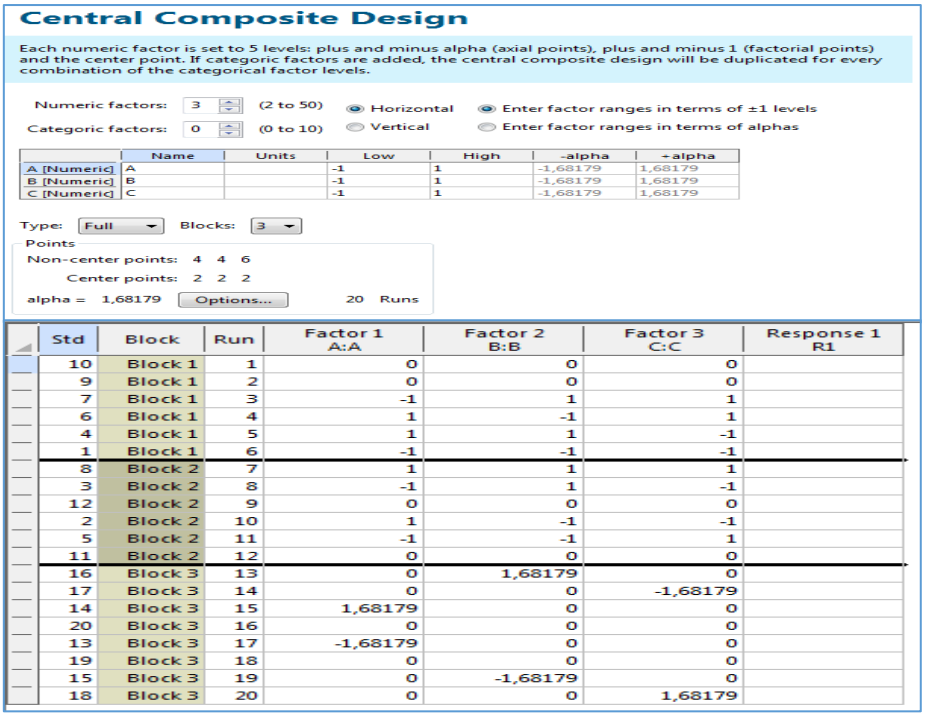
الشكل (III-2) : سطح الاستجابة .

III-3- أنواع التصميمات :

يوجد عدة أنواع من التصميمات الخاصة بمنهجية استجابة السطح (RSM) ونذكر من بين التصميمات الشائعة:

III-3-1- التصميم المركب المركزي (Central Composite Design – CCD) :

يرمز له بتصميم (CCD) والذي قدمه (Box and Wilson) في عام 1951 , وهو التصميم الأكثر استخداما لبناء نماذج من الدرجة الثانية , وقد طرأت عليه الكثير من التغييرات لتطويره بسبب خصائصه , كما أنه له العديد من الاستخدامات في الجانب العلمي . يجمع هذا التصميم بين التصميم العاملي الكامل (full factorial design) أو الجزئي (fractional factorial design) , مع نقاط بداية إضافية ونقطة واحدة على الأقل في مركز مجال التجارب**[8]**.



Central Composite Design

Each numeric factor is set to 5 levels: plus and minus alpha (axial points), plus and minus 1 (factorial points) and the center point. If categoric factors are added, the central composite design will be duplicated for every combination of the categorical factor levels.

Numeric factors: 3 (2 to 50) Horizontal Enter factor ranges in terms of ±1 levels

Categoric factors: 0 (0 to 10) Vertical Enter factor ranges in terms of alphas

	Name	Units	Low	High	-alpha	+alpha
A [Numeric]	A		-1	1	-1,68179	1,68179
B [Numeric]	B		-1	1	-1,68179	1,68179
C [Numeric]	C		-1	1	-1,68179	1,68179

Type: Full Blocks: 3

Points

Non-center points: 4 4 6

Center points: 2 2 2

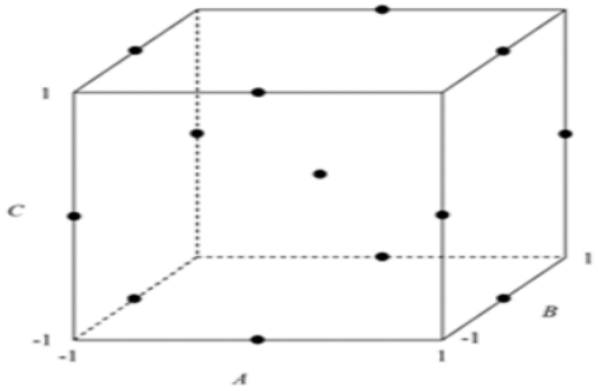
alpha = 1,68179 Options... 20 Runs

Std	Block	Run	Factor 1 A:A	Factor 2 B:B	Factor 3 C:C	Response 1 R1
10	Block 1	1	0	0	0	
9	Block 1	2	0	0	0	
7	Block 1	3	-1	1	1	
6	Block 1	4	1	-1	1	
4	Block 1	5	1	1	-1	
1	Block 1	6	-1	-1	-1	
8	Block 2	7	1	1	1	
3	Block 2	8	-1	1	-1	
12	Block 2	9	0	0	0	
2	Block 2	10	1	-1	-1	
5	Block 2	11	-1	-1	1	
11	Block 2	12	0	0	0	
16	Block 3	13	0	1,68179	0	
17	Block 3	14	0	0	-1,68179	
14	Block 3	15	1,68179	0	0	
20	Block 3	16	0	0	0	
13	Block 3	17	-1,68179	0	0	
19	Block 3	18	0	0	0	
15	Block 3	19	0	-1,68179	0	
18	Block 3	20	0	0	1,68179	

الشكل (III-3) : تصميم (CCD) المقدم بواسطة (Design-Expert 13)

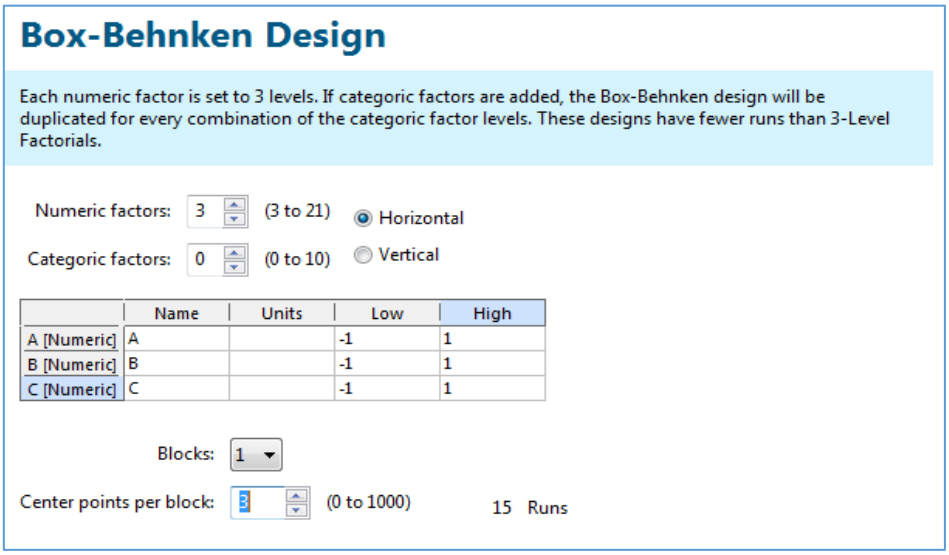
III-3-2- تصميم Box-Behnken Design-BBD:

تم تطوير هذا التصميم من قبل (Box and Behnken) , يقدم هذا التصميم ثلاث مستويات (1- , 0 , 1+) لكل متغير , وهي متساوية المسافات . كل النقاط باستثناء المركزية تقع على منتصف أضلاع المكعب داخل دائرة نصف قطرها (1) , لهذا نجد أن هذا التصميم متناظر وقابل للدوران , بالإضافة إلى ذلك لا يحتوي هذا التصميم على أي نقاط عند رؤوس المكعب أو عند الحدود العليا والدنيا لكل متغير**[6]**.



الشكل (III-4) : الشكل الهندسي لتصميم (BBD) .

وBBD هو تصميم بديل لتحسين الأساليب التحليلية وهو عبارة عن نموذج شائع لمعالجة الاستجابات المتعددة باستخدام دالة الرغبة (D) التي اقترحها درينجروسويك عام 1980 , حيث يتم تحديد الشروط المثلي باستخدام هذه الدالة وبيانات سطح الاستجابة، ومنه يمكن تحديد القيم الدقيقة لكل متغير عند الشروط المثلى وبالتالي القيمة العظمى والدنيا للاستجابة حسب الحالة التي نريد بلوغها، كما يمكن التصميم بناء على نموذج رياضي للظاهرة المدروسة. هذا التصميم مفيد وفعال خاصة في الكيمياء عموما وفي تحسين الشروط في الكروماتوغرافيا على وجه الخصوص تكمن مزايا هي التصميم في كونه يغطي مساحة تجريبية معتبرة مع نقاط تجريبية (عدد تجارب أقل) مقارنة بـ (Full factorial design) , وهذا لأنه لا يحوي نقاط في الزوايا ومراكز أوجه السطوح الخارجية للمكعب , كما أنه مشابه لحد ما لتصميم المركب المركزي , لكنه يختلف عنه في مميزات أخرى , وليس له نقاط محورية موسعة لذلك يستخدم عوامل ثلاثية المستويات. هذا التصميم يسمح للباحثين بفهم التداخل أو التأثيرات التي تمكن من بناء النموذج بشكل أفضل. وهو التصميم الذي اعتمدنا عليه في دراستنا هذه**[9]**.



الشكل (III-5) : تصميم (BBD) لثلاث متغيرات بواسطة (Design-Expert 13) .

الجدول (III-1): تصميم (BBD) لثلاث متغيرات .

Std	Run	Factor 1 A:A	Factor 2 B:B	Factor 3 C:C	Response 1 R1
15	1	0	0	0	
4	2	1	1	0	
10	3	0	1	-1	
11	4	0	-1	1	
1	5	-1	-1	0	
3	6	-1	1	0	
2	7	1	-1	0	
9	8	0	-1	-1	
14	9	0	0	0	
12	10	0	1	1	
5	11	-1	0	-1	
7	12	-1	0	1	
8	13	1	0	1	
13	14	0	0	0	
6	15	1	0	-1	

لتصميم (BBD) مزايا أفضل مقارنة بـ (CCD) عموما، خاصة عندما يكون عدد المتغيرات قليل، فهو يتطلب أقل عدد من التجارب لنفس الظاهرة المدروسة كما هو موضح في الجدول أدناه.

الجدول (III-2): مقارنة تصميم (BBD) و (CCD) .

Create Response Surface Design - Display Available Designs

Available Response Surface Designs (with Number of Runs)

Design		Factors								
		2	3	4	5	6	7	8	9	10
Central Composite full	unblocked	13	20	31	52	90	152			
	blocked	14	20	30	54	90	160			
Central Composite half	unblocked				32	53	88	154		
	blocked				33	54	90	160		
Central composite quarter	unblocked							90	156	
	blocked							90	160	
Central Composite eighth	unblocked									158
	blocked									160
Box-Behnken	unblocked		15	27	46	54	62		130	170
	blocked			27	46	54	62		130	170

Help OK

III-4- محاسن و مساوئ تصميم Box-behnken

أ- محاسن تصميم Box-behnken [6, 10] :

- يعتبر أقل تكلفة مقارنة بالتصميمات الأخرى.
- يحتوي على نقاط تصميم أقل.
- لا تحتوي تصميم (BBD) على نقاط محورية، بالتالي يمكن التأكد من أن كل نقاط التصميم تقع داخل فضاء التجارب.
- أكثر اقتصادا وفعالية من حيث عدد التجارب المطلوبة.
- يضمن تصميم (BBD) عدم تعيين جميع العوامل على مستوياتها العلمية في نفس الوقت.
- مفيد في تجنب التجارب التي سيتم اجراؤها في ظروف صعبة والتي قد تنتج عنها نتائج غير مطلوبة.
- يتطلب هذا التصميم عدد أقل من التجارب مقارنة بتصميم العامل التام أو المجزأ.

ب- مساوئ تصميم Box-behnken [6] :

- غير فعال في الحالات التي نود فيها معرفة الاستجابات العكسية.

- غير مناسب للتجارب المتسلسلة.

III-5- تطبيقات منهجية سطح الإستجابة RSM :

يمكن استخدام منهجية سطح الإستجابة في العديد من التطبيقات، مثل:

- عمليات الإنتاج وتحسين جودة المنتجات
- تحسين كفاءة العمليات الصناعية
- تحسين العمليات الزراعية والبيئية
- تحسين التصميم الهندسي للمنتجات والأجهزة والأنظمة
- استخدام تصميم (BBD) في المحاكاة.
- التحليل الكروماتوغرافي باستخدام تصميم (BBD) لتحسين شروط اجراء الكروماتوغرافيا

[1] D. C. Montgomery, *Design and analysis of experiments*: John wiley & sons, 2017.

[2] L. C. Onyiah, *Design and analysis of experiments: classical and regression approaches with SAS*: CRC Press, 2008.

[3] C. M. Anderson-Cook, "Response Surface Methodology :Process and Product Optimization Using Designed Experiments," *Journal of the American Statistical Association,* vol. 97, p. 1216, 2002.

[4] A. I. Khuri, *Response surface methodology and related topics*: World scientific, 2006.

[5] A. I. Khuri and S. Mukhopadhyay, "Response surface methodology," *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics,* vol. 2, pp. 128-149, 2010.

[6] M. Kousha, E. Daneshvar, H. Dopeikar, D. Taghavi, and A. Bhatnagar, "Box–Behnken design optimization of Acid Black 1 dye biosorption by different brown macroalgae," *Chemical Engineering Journal,* vol. 179, pp. 158-168, 2012.

[7] A. B. Naik and A. C. Reddy, "Optimization of tensile strength in TIG welding using the Taguchi method and analysis of variance (ANOVA)," *Thermal Science and Engineering Progress,* vol. 8, pp. 327-339, 2018.

[8] J. Li, C. Ma, Y. Ma, Y. Li, W. Zhou, and P. Xu, "Medium optimization by combination of response surface methodology and desirability function: an application in glutamine production," *Applied microbiology and biotechnology,* vol. 74, pp. 563-571, 2007.

[9] K. Aziz, R. Mamouni, A. Azrrar, B. Kjidaa, N. Saffaj, and F. Aziz, "Enhanced biosorption of bisphenol A from wastewater using hydroxyapatite elaborated from fish scales and camel bone meal: A RSM @BBD optimization approach," *Ceramics International,* vol. 48, pp. 15811-15823, 2022.

[10] L. Wu, K.-l. Yick, S.-p. Ng, and J. Yip, "Application of the Box–Behnken design to the optimization of process parameters in foam cup molding," *Expert Systems with Applications,* vol. 39, pp. 8059-8065, 2012.

[11] M. Yolmeh and S. M. Jafari, "Applications of response surface methodology in the food industry processes," *Food and Bioprocess Technology,* vol. 10, pp. 413-433, 2017.

الفصل IV :

الاجهزة والطرق

تمهيد :

في هذا الفصل سنقوم بوصف طريقة استخلاص الجيلاتين من مصدر حيواني لأنواع مختلفة من الثدييات (الجمل، الحصان، الماعز، البقر والخروف) من خلال تحسين ظروف استخلاص الجيلاتين بالإستعانة بتطبيق تصميم إحصائي وهو Box Behnken Design (BBD) في منهجية سطح الاستجابة Response Surface Methodology (RSM) ، حيث تم فحص تأثيرات متغيرات المعالجة (درجة حرارة الاستخلاص، ووقت الاستخلاص) على المردود، وتم تحديد الظروف المثلى لاستخلاص جيلاتين في هذه الدراسة. لاختيار أفضل طريقة (كمية ونوعية) لاستخلاص الجيلاتين وتقدير تركيبهما الكيميائي وبعض خواصهما الفيزيائية والوظيفية ومقارنتها مع دراسات أخرى ذات صلة.

IV -1- المواد والطرق المستخدمة في استخلاص الجيلاتين:

IV -1 -1- المواد والاجهزة المستخدمة في استخلاص الجيلاتين: للقيام بتجربتنا استعملنا المواد والأدوات التالية

الجدول (IV –1) : المواد والأجهزة المستعملة في استخلاص الجيلاتين

المواد المستعملة	الادوات
جلود: الخروف ،البقر، الحصان، الجمل و الماعز	بيشر – ماصة–مقص– سكين – شفرة حلاقة
ماء مقطر	ميزان الكتروني حساس
هيدروكسيد الصوديوم NAOH	حمام مائي
حمض كلور الماء HCl	ورق pH– ورق الترشيح
حمض الخل CH_3COOH	عُلْبة بِتْرِي
زيت الصويا	جهاز الرج المغناطيسي
زيت عباد الشمس	تجهيز الترشيح تحت الفراغ
SDS (LE DODECYLSULFATE DE	جهاز pH متر

SODIUM)	
	مجفف
	جهاز الاشعة تحت الحمراء(FT–IR)
	جهاز الماسح الضوئي الالكتروني(SEM)

IV -1 -2-تحضير المادة الخام:

تم الحصول على جلود (الحصان، الجمل، الماعز، البقر والخروف) من مسالخ مختلفة في مدينة الوادي، مباشرة بعد ذبح الحيوانات، ومن ثم تم تعبئتها في أكياس بلاستيكية ونقلها إلى مخبر الكيمياء التابع لكلية علوم الدقيقة في جامعة حمه لخضر بالوادي. ويلخص الجدول التالي تصنيف أنواع الثدييات حسب الجنس والعمر.

الجدول (IV –2) : تصنيف أنواع الثدييات حسب الجنس والعمر

النوع	**الحصان**	**الجمل**	**الماعز**	**البقر**	**الخروف**
الجنس	ذكر	ذكر	ذكر	ذكر	ذكر
العمر(سنة)	1,8 –2	1–1,5	6 اشهر	2	6 اشهر

خضعت الجلود كمرحلة أولية لعملية نزع الشعر باستخدام شفرة حلاقة، وتمت إزالة اللحوم والدهون الملتصقة عن طريق غسل العينات بماء الصنبور عدة مرات ، وتم قطع الجلود إلى مربعات صغيرة باستخدام مقص حوالى $1cm \times 1$ وذلك لزيادة المساحة السطحية المتاحة للتفاعل بين المواد الخام ومحاليل الاستخراج كما هو موضح في **الشكل(IV-1)** . وأخيرًا، تم وضع العينات في صناديق بلاستيكية وتخزينها في الثلاجة حتى استخدامها.

الشكل (**IV –1**): الجلود خلال مرحلة التحضير والتنظيف

IV –1–3 المعالجة المسبقة (Pre–treatment) :

IV –1–3–1– ازالة المواد غير الكولاجينية:

قبل الاستخلاص تم معالجة الجلود مسبقًا، باتباع طريقة Lassoued et.,(2014) [1] مع تعديل طفيف، وذلك لإزالة البروتينات غير الكولاجينية. التغيير الرئيسي هو زيادة مدة المعالجة المسبقة. باختصار، تم نقع الجلود في محلول هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) بتركيز 1.5%، بنسبة 1:10 (حجم/ وزن) للجلد إلى المحلول القلوي. ثم تترك الجلود في هذا المحلول عند درجة حرارة 25C° لمدة 24h مع استبدال المحلول القلوي كل 12h. هذه العملية أدت إلى انتفاخ وتليين الجلود كما موضح في

الشكل (IV –2) ، مما ساعد في إزالة المركبات غير المرغوب فيها التي قد تؤثر سلبًا على التركيب الكيميائي للجيلاتين النهائي. بعد ذلك، تم غسل الجلود المعالجة بالقلويات بعناية باستخدام ماء الصنبور حتى عاد الرقم الهيدروجيني إلى الوضع المحايد أو قريب من الرقم الهيدروجيني لماء الصنبور، وذلك لإزالة أي آثار لهيدروكسيد الصوديوم (NaOH) عن العينات كما موضح في الشكل(**IV –3**) .

الشكل (**IV –2**): المعالجة المسبقة

الشكل(**IV –3**): تعديل الحموضة pH

IV –1–3–2–ازالة الاملاح:

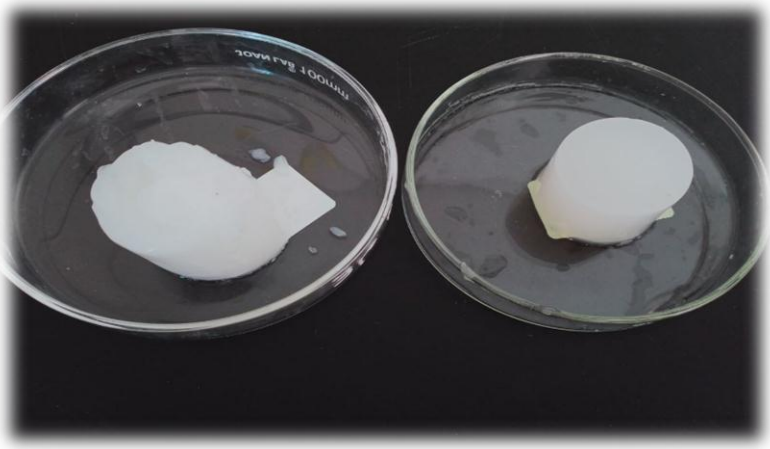
بعد انتهاء مرحلة المعالجة القلوية للجلود بهيدروكسيد الصوديوم(NaOH)، تأتي مرحلة هامة من أجل إزالة الأملاح الزائدة. يتم ذلك بنقع الجلود في محلول حمض الخل (CH_3COOH) بتركيز mol 0,2بنسبة 1:4 (g/ml) يستغرق النقع مدة 6h . بعد ذلك، يتم غسل الجلود بعناية للتخلص من أي آثار متبقية لحمض الخل (CH_3COOH) ، حتى الوصول إلى درجة حموضة متعادلة .

IV –2– مرحلة الاستخلاص:

عملية الاستخلاص، وهي المرحلة التي يتم فيها استخراج الجيلاتين فعليًا. تعتمد فكرة الاستخلاص على إذابة بروتينات العينة في الماء الساخن، بعد أن تم تحريرها من الروابط المتشابكة خلال المعالجة القلوية والحمضية. بعد الانتهاء من المعالجة الاولية تغمر الجلود في الماء المقطر بنسبة 1:4 (g/ml) بعد ذلك توضع العينات في حمام مائي هزاز كما موضح في **الشكل (IV –4)**.

الشكل(IV –4) : حمام مائي هزاز المستعمل في عملية الاستخلاص

بعد عملية الاستخلاص توضع العينات في علبة بتري (لتسريع عملية التجفيف) كما موضح في الشكل **(IV –5)**. ثم توضع في المجفف عند دراجة حرارة 60C° لمدة 24h . بعد عملية التجفيف، تم طحن الجيلاتين باستخدام خلاط Moulinex .



الشكل(IV –5) : قبل التجفيف

وأدت عمليتا التجفيف والطحن إلى الحصول على مسحوق الجيلاتين ناعم ومستقر كما موضح في **الشكل(IV –6)**.

الشكل(IV –6) : الجيلاتين بعد التجفيف

IV –3 – نمذجة باستعمال برنامج منهجية استجابة السطح (Response Surface Methodology)

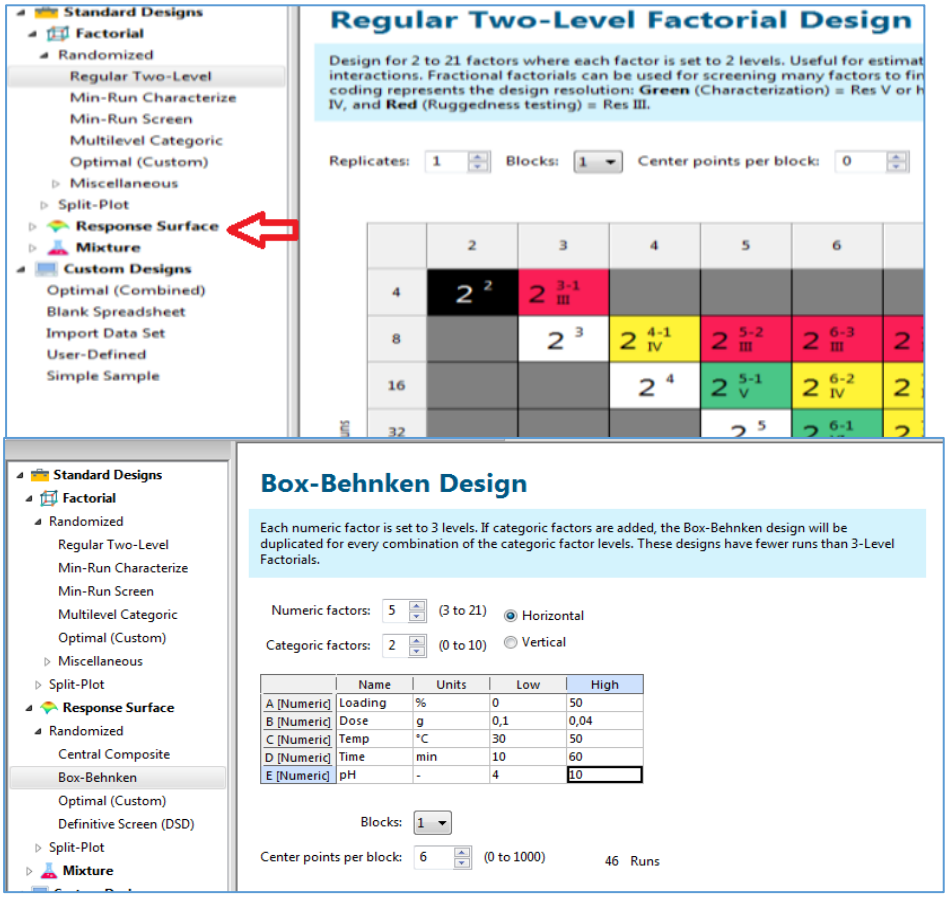
تم اختبار العوامل المؤثرة الرئيسية ونطاق عملها، من خلال تتبع العديد من الدراسات [2, 3]. حيث خلصنا في تتبع متغيرين مستقلين وهما A: درجة حرارة الإستخلاص (60–80 °C)، B: وقت الأستخلاص (4–16 h). تم تحسينها باستخدام تصميم Box – Behnken (BBD) في منهجية سطح الاستجابة Response Surface Methodology (RSM).

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} \beta_i \chi_i + \sum_{i=1}^{k} \beta_{ii} \chi_i^2 + \sum_{i=1}^{k} \sum_{j=1}^{k} \beta_{ij} \chi_i \chi_j + \varepsilon$$

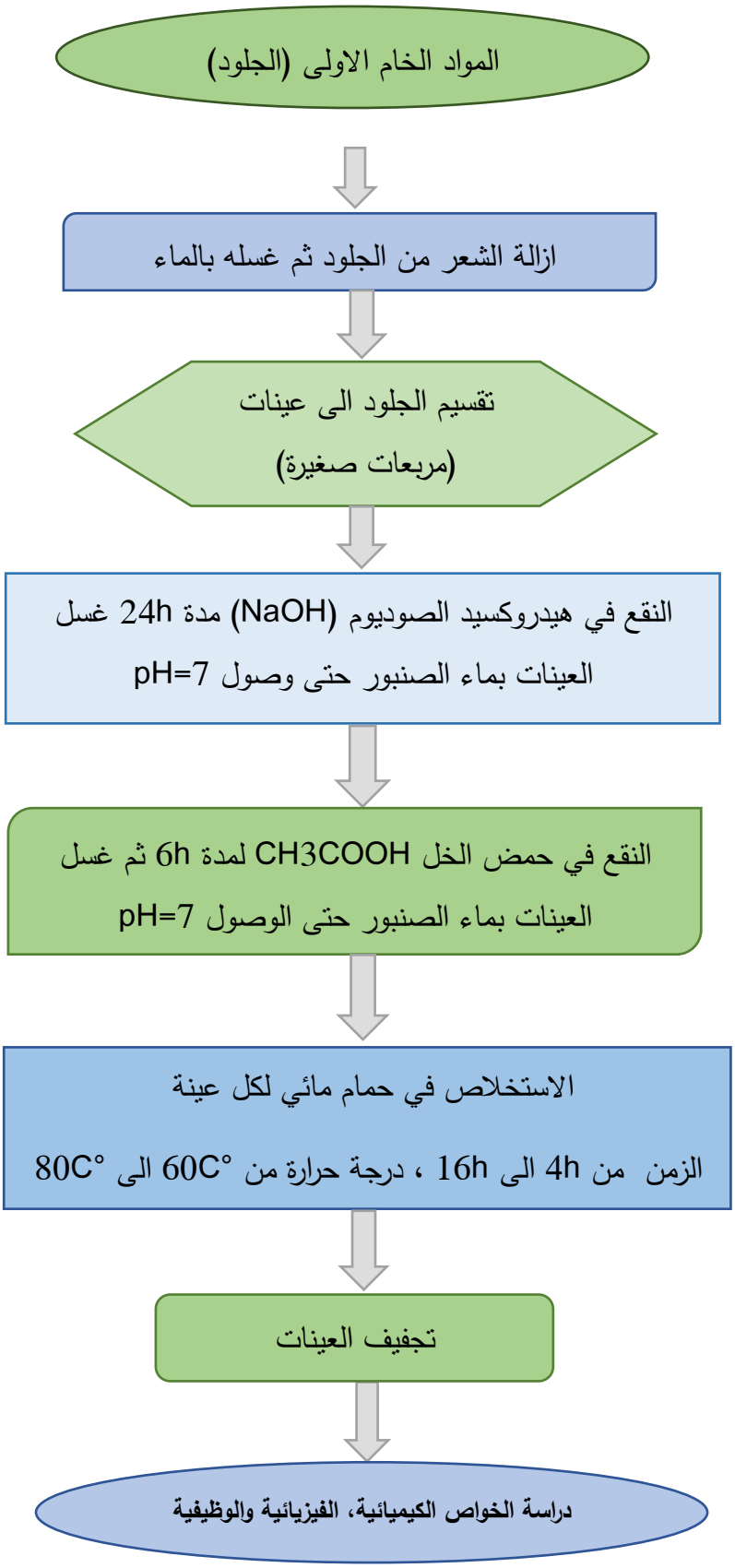
حيث تمثل Y هي الاستجابة المتوقعة لإستخلاص الجيلاتين (R%) ؛ $\mathbf{x_i}$ و $\mathbf{x_j}$المتغيرات المستقلة المشفرة β_0 وهو ثابت ، و β_i و β_{ii} وهي المعاملات الخطية والتربيعية للمتغيرات المستقلة ، على التوالي. وفقًا لـ BBD ، تم تنفيذ 13 تجربة بثلاثة مستويات وعاملين على إستخلاص الجيلاتين من أنواع مختلفة من الجلود.

الجدول (IV -3): المستويات التجريبية للعوامل المستقلة ورموزها في BBD

Codes	Variables	Level 1(−1)	Level 2 (0)	Level 3 (+1)
X_1	Temperature (°C)	60	70	80
X_2	Time (h)	4	8	16



الشكل (IV –7): صور لبرنامج منهجية سطح الإستجابة (RSM)



الشكل(IV–8) : مخطط بروتوكول الاستخلاص

IV -4- الخواص الكيميائية، الفيزيائية والوظيفية:

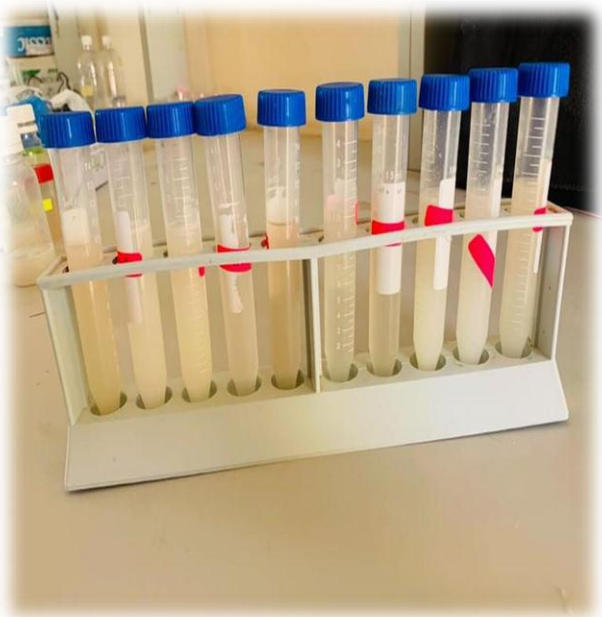
تم قياس مجموعة من الخواص الكيميائية، الفيزيائية والوظيفية حسب توفر المواد والأجهزة في مخابر الجامعة

IV -4- 1 - سعة امتصاص الماء(WAC):

تُعرف قدرة امتصاص الماء (WAC) بأنها كمية الماء ب g ، التي يحتفظ بها 100g من الجيلاتين، بعد التشبع والتجفيف بالطرد المركزي. لقياس قدرة الاحتفاظ بالماء، تمت إضافة 10ml من الماء المقطر إلى 0,5g (M0) من الجيلاتين، وتم الاحتفاظ بها في درجة حرارة الغرفة لمدة ساعة مع الرج كما موضح في **الشكل(IV -9)** ، كل 15min نوقف الرج 5s . بعد ذلك، تم تجفيف المحاليل بالطرد المركزي 2500 tr/min لمدة 20min كما موضح في **الشكل(IV -10)**. تم جمع الراسب (M1) وترشيحه على ورق ترشيح كما موضح في **الشكل(IV -12)**. تم حساب قدرة الاحتفاظ بالماء، ويتم التعبير عنها كنسبة مئوية %.

$$\mathbf{WAC\%} = \frac{(\mathbf{M1-M0})}{\mathbf{M0}} \times \mathbf{100}$$

الشكل(IV -9): العينات في جهاز الرج



الشكل(IV -10):العينات قبل عملية الطرد المركزي

الشكل(IV –11): المحاليل بعد الطرد المركزي **الشكل(IV –12):** جهاز الترشيح تحت الفراغ

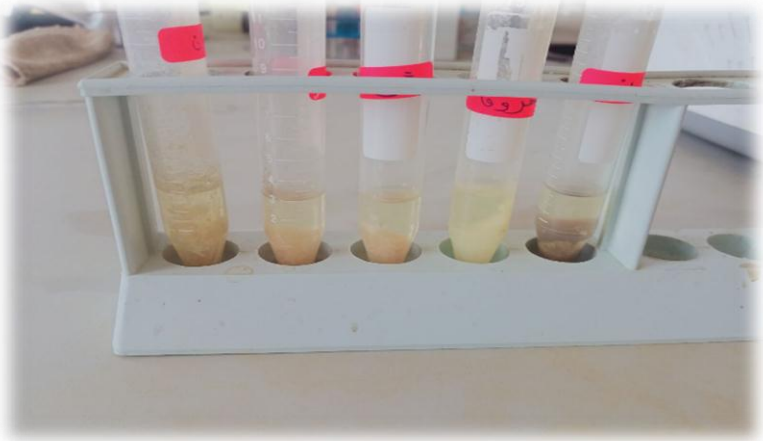
IV –4–2 – قدرة ربط الدهون(FBC):

تُعرف قدرة ربط الدهون(**FBC**) بأنها كمية الدهن g ، التي يحتفظ بها 100g من الجيلاتين، بعد التشبع والتجفيف بالطرد المركزي كما موضح في الشكل . لقياس قدرة الاحتفاظ بالدهن، تمت إضافة 3ml من زيت عباد الشمس إلى 0,5g (M0) من الجيلاتين، وتم الاحتفاظ بها في درجة حرارة الغرفة لمدة ساعة مع الرج كما موضح في **الشكل (IV –13)**، كل 15min نوقف الرج 5s . بعد ذلك، تم تجفيف المحاليل بالطرد المركزي 2500 tr/min لمدة 20min كما موضح في **الشكل(IV –14)**. تم جمع الراسب (M1) وترشيحه على ورق ترشيح . بعد ذالك تم حساب قدرة الاحتفاظ بالزيت ، ويتم التعبير عنها كنسبة مئوية %.

$$\mathbf{FBC\%} = \frac{\mathbf{(M\,1 - M\,0)}}{\mathbf{M0}} \times \mathbf{100}$$

الشكل(**IV –13**): العينات في جهاز الرج

الشكل(**IV –14**): العينات قبل عملية الطرد المركزي



الشكل(**IV –15**): العينات بعد عملية الطرد المركزي

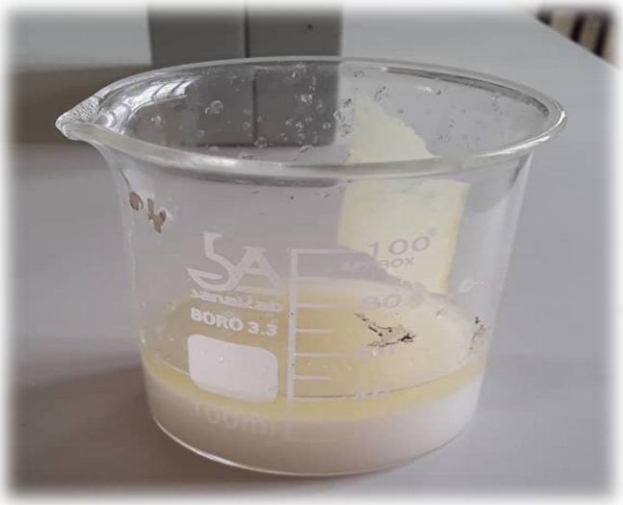
IV –4–3 – تحديد درجة الحموضة (pH):

تعتمد هذه الطريقة على قياس درجة الحموضة . عمليًا، يتم وزن 1g من الجيلاتين وإذابته في الماء المقطر حتى الحصول على محلول 30ml. تم تسخين المحلول عند درجة حرارة 45C° لمدة 5min بعد ذلك يتم تبريد المحلول في درجة حرارة الغرفة . ويتم قياس درجة الحموضة لهذا المحلول باستخدام مقياس درجة الحموضة (pH–meter) (**انظر الشكل**(**IV –16**)) . يتم تكرار القياس ثلاث مرات لضمان دقة النتيجة .

الشكل(IV –16): قياس درجة الحموضة

IV –4–4 – نشاط الاستحلاب (EAI) :

تم تحديد نشاط واستقرار المستحلبات للجيلاتين وفقًا لطريقة [4] Pearce et Kinsella مع تعديل طفيف. تم تحضير محاليل الجيلاتين عن طريق إذابة الجيلاتين المجفف في الماء المقطر عند درجة حرارة 60C° لمدة 30min . تم تجانس 30ml من محلول الجيلاتين بتركيز 1% مع 10ml من زيت الصويا لمدة 5min عند درجة حرارة الغرفة باستخدام جهاز خلاط مغناطيسي كما موضح في **الشكل(IV –17)** .



الشكل(IV –17): محلول الجيلاتين مع زيت الصويا

تم أخذ 0,5ml من المستحلب من قاع الأنبوب عند 0 و 10min بعد التجانس وتخفيفها 100 مرة بمحلول SDS بتركيز 0,1%. تم خلط المحاليل جيدًا لمدة 1min باستخدام خلاط مغناطيسي . تم قياس امتصاصية المحاليل المخففة عند 500nm باستخدام مقياس الطيف الضوئي **الشكل**(**IV –18**) .

تم استخدام الامتصاصية المقاسة على الفور (A_0) وبعد 10min (A_{10}) لحساب مؤشر نشاط المستحلب (EAI). حيث تم حساب نشاط الاستحلاب وفقا للعلاقة التالية :

$$\mathbf{EAI} = \frac{\mathbf{2 \times 2,308 \times A0}}{\mathbf{0,25 \times m}}$$

الشكل(**IV –18**): جهاز الطيف الضوئي

IV –4–5 – تحديد خصائص الرغوة:

تم قياس خاصية الرغوة للجيلاتين بالتوافق مع الطريقة الموصوفة من قِبل **Aewsiri et al, 2008[5]** . تم تحضير محلول من الجيلاتين باضافة 1g في 50ml من الماء المقطر. تم تجانس الخليط لمدة 10min في درجة حرارة الغرفة باستخدام جهاز خلاط كهربائي **الشكل** (**IV –19**). تم تحديد قدرة الرغوة (FE) واستقرار الرغوة (FS) باستخدام المعادلتين التاليتين حيث :

$$\mathbf{FE\%} = \frac{\mathbf{VT}}{\mathbf{V0}} \times \mathbf{100}$$

$$\mathbf{FS\%} = \frac{\mathbf{Vt}}{\mathbf{V0}} \times \mathbf{100}$$

V_T: هو الحجم الكلي مباشرة بعد الرج.

V_0: هو الحجم الأولي قبل الرج.

V_t: هو الحجم الكلي بعد الرج والراحة لفترات زمنية مختلفة 15min .

الشكل(IV –19): استقرار الرغوة

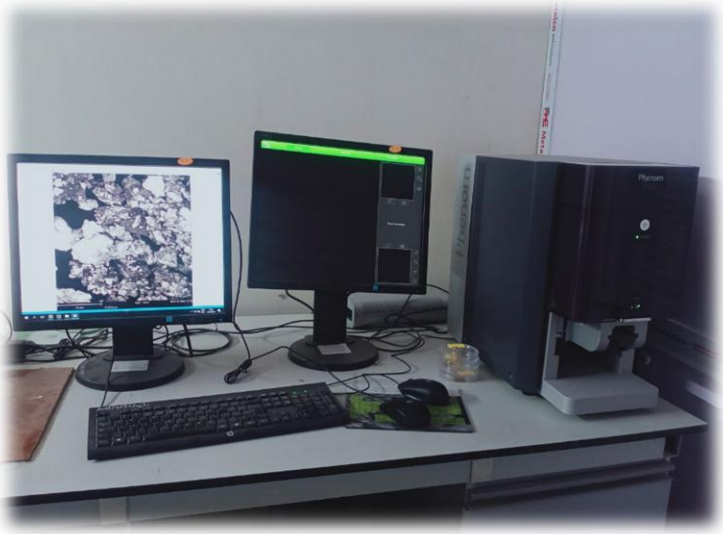
IV –4–6– مطيافية الأشعة تحت الحمراء (FT–IR) :

هي تقنية لتحليل المواد الكيميائية وطريقة توصيف شائعة الاستخدام، ويتم استخدام هذه التقنية لتحليل هياكل بعض الجزيئات البسيطة والمجموعات الوظيفية في الجزيئات العضوية، كما توفر معلومات عن طبيعة الروابط الكيميائية، حيث تم في هذه الدراسة تسجيل اطياف الاشعة تحت الحمراء باستخدام تحليل فورية(**FT – IR**) بجهاز(**echnologies Cary 630 FTRI** و **Agile**) وذلك من اجل فحص عينات الجيلاتين المستخلص من انواع الجلود التي استخدمت في الدراسة.

الشكل(IV –20) : صورة فوتوغرافية لجهاز طيف الاشعة تحت الحمراء

IV – 4–7– الماسح الضوئي الإلكتروني(SEM):

تمت دراسة البنية المجهرية للجيلاتين بغرض تحديد تاثير المعالجة الكيميائية عليه عن طريق فحصها بالمجهر الإلكتروني (SEM/EDX) باستخدام الجهاز (Phenom prox) كما تم تحديد العناصر الكيميائية الداخلة في تركيب عينات الجيلاتين المستخلص.



الشكل(IV –21) : الماسح الضوئي الإلكتروني (SEM)

[1] I. Lassoued, M. Jridi, R. Nasri, A. Dammak, M. Hajji, M. Nasri*, et al.*, "Characteristics and functional properties of gelatin from thornback ray skin obtained by pepsin-aided process in comparison with commercial halal bovine gelatin," *Food hydrocolloids,* vol. 41, pp. 309-318, 2014.

[2] N. Kaushik, K. N. Widell, R. Slizyte, and A. Kumari, "Optimization of novel single-step gelatin extraction method using RSM model for valorization of surimi industry by-products," 2022.

[3] R. A. Ramli, U. H. M. Razali ,and N. Q. I. M. Noor, "Optimization of extraction conditions of gelatin from buffalo (Bubalus bubalis) skins using response surface methodology," *Heliyon,* vol. 9, 2023.

[4] K. N. Pearce and J. E. Kinsella, "Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique," *Journal of agricultural and food chemistry,* vol. 26, pp. 716-723, 1978.

[5] T. Aewsiri, S. Benjakul, and W. Visessanguan, "Functional properties of gelatin from cuttlefish (Sepia pharaonis) skin as affected by bleaching using hydrogen peroxide," *Food Chemistry,* vol. 115, pp. 243-249, 2009.

الفصل ٧:

النتائج والمناقشة

V-1- تمهيد :

يتم في هذا الفصل تقدير التركيب الكيميائي وبعض الخواص الفيزوكيميائية و الوظيفية للجيلاتين من خلال اختيار أفضل طريقة (كمية و نوعية) لاستخلاص الجيلاتين بالاستعانة بتصميم Box – Behnken في برنامج نمذجة استجابة السطوح (RSM) لتحديد الشروط المثلى للإستخلاص ومقارنتها بالجيلاتين المستخلص في دراسات أخرى.

V-2- مردود الاستخلاص:

قمنا بتجربة العديد من الطرق إستخلاص الجيلاتين المذكروة في الفصل الرابع وتم الحصول على النتائج التالية: حيث تم استخلاص حوالى **2g** من الجيلاتين انطلاقا من كتلة قدرها **3-6g** من الجلود .

$$R\% = \frac{m_f}{m_i} \times 100$$

يبين الجدول(**V-1**) تأثير درجة الحرارة ومدة الاستخلاص في مردود للجيلاتين قيد الدراسة ، إذ لوحظ أن لكل من درجة الحرارة ومدة الاستخلاص تأثيراً واضحاً على قيمة مردود ، وسجل أعلى مردود للجلاتين من أصل الخروف، البقر و الجمل ، ويتم الحصول عليه عند درجة حرارة **80C°** ولمدة استخلاص **16h** اذ بلغ **32,53%**، **30,29%** و **27,77%** على التوالي والتي لم تختلف فيما بينها بفروق معنوية، وأقل قيمة عند درجة حرارة **60C°** ولمدة استخلاص **4h** اذ بلغ **12,45%**، **9,66 %** و **1,78%** على التوالي، وقد يعزز ارتفاع قيمة المردود مع زيادة درجة الحرارة ومدة الاستخلاص و بحدود معينة الى تحلل اكبر كمية من المادة الكولاجينية وتحولها الى جيلاتين ، إذ تزداد معدلات الكولاجين المتحطم مما يسبب ارتفاع كمية البروتين المستخلص وهذا يتفق مع ما ذكرها [1]عند استخلاصه للجيلاتين من عظام الدجاج.

الجدول(**V–1**): تأثير درجة الحرارة ومدة الاستخلاص في مردود الجيلاتين ل(C) ،(B)،(E)

Camel skin	Independent Variables		R%
Run	Temp (°C) (X_1)	Time (min) (X_2)	
1	60	16	15,11
2	70	4	4,05
3	80	10	9,98
4	70	10	12,05
5	60	4	1,78
6	80	4	3,58
7	70	16	20,98
8	60	10	16,61
9	60	10	18,77
10	70	4	5,87
11	70	16	19,02
12	80	16	27,77
13	80	10	10,25

Sheep skin	Independent Variables		R%
Run	Temp (°C) (X_2)	Time (min) (X_2)	
1	60	16	10,42
2	70	4	13,62
3	80	10	32,34
4	70	10	21,23
5	60	4	12,45
6	80	4	22,28
7	70	16	14,11
8	60	10	12,98
9	60	10	13,05
10	70	4	14,66
11	70	16	15,22
12	80	16	32,53
13	80	10	30,99

Cow skin	Independent Variables		R%
Run	Temperature (°C) (X_1)	Time (min) (X_2)	
1	60	16	12,32
2	70	4	11,96
3	80	16	30,29
4	70	10	29,18
5	60	4	9,66
6	80	4	14,48
7	70	16	26,19
8	60	10	28,57
9	60	10	28,33
10	70	4	12,06
11	70	16	27,88
12	80	16	29,22
13	80	10	30,22

كما لوحظ ازدياد في قيمة المردود بشكل مستمر مع زيادة مدة الاستخلاص من**4-10h** حتى درجة حرارة **70C°** فقد كانت اعلاها في مدة استخلاص **10h** في الجيلاتين المُستخلص من أنواع الحصان و الماعز، والتي بلغت **29,02%، 20,22%** . ومع ذلك، فإن أدنى مردود بلغ **6,18 %** و **11,54%** ويتوافق مع أدنى شروط الاستخلاص عند قيمة درجة حرارة **60C°** ولمدة **4h**. إذ تتأثر النسبة المئوية بشكل كبير بطريقة الاستخلاص المستعملة (المعالجة المسبقة ودرجة الحرارة والتي تؤثر بشكل كبير على عملية تحلل الكولاجين في المادة الخام ، فالانخفاض في قيمة المردود قد يعود الى التحلل غير الكامل للكولاجين مما يؤدي الى فقدانه أثناء عمليات الغسل[2]، إذ تتأثر قيمة المردود بتركيز الحامض المستعمل، فبزيادة التركيز يزداد المردود الا أنه يؤثر على الخواص الوظيفية للجيلاتين الناتج من خلال زيادة التحلل وانخفاض الوزن الجزئي للبروتين وعلى العكس من ذلك فأن التراكيز المنخفضة تعطي جيلاتين بخواص وظيفية جيدة الا أن مردود الإستخلاص يكون منخفض نوعا ما حسب ما ذكر في دراسة سابقة [3].

في حين ان قيمة المردود تقل بشكل ملحوظ بازدياد مدة الاستخلاص في الدرجات الحرارية العالية **80C°** ، وقد يعزى السبب في ذلك الى ان استمرار التسخين لمدد زمنية طويلة في الدرجات الحرارية

المرتفعة الذي سيؤدي الى تحطم السلاسل الببتيدية فضلاً عن تأثيرها في فك التفاف هذه السلاسل بعضها حول بعض[4].

وجاءت نسبة المئوية لإستخلاص الجيلاتين المُنتج قيد الدراسة مقارنة الى ما توصل اليها [5] عند استخلاصه للجيلاتين من جلد البقر بالطريقة الحامضية التي بلغت **18,27%** عند درجة حرارة **60C°** بإستعمال حامض الخليك **0,2M** .

Horse skin	Independent Variables		R%
Run	Temp (°C) (X_1)	Time (min) (X_2)	
1	60	16	9,34
2	70	4	20,07

في دراسة أخرى [6]جلد الدجاج بالطريقة الحامضية التي بلغت حوالى **6,2%** لكلاً من حامض الخليك **0,5M** والستريك **0,5M** ، وكذا قيمة المردود للجيلاتين المُحضر من جلود جلد الجنزير والتي بلغت **10,22%**[7]. ووجد ان مردود استخلاص الجيلاتين مقارنة ايضاً لنسبة المنتج من جلود الماعز باستخدام ماء الجير **NaOH** عند **0,75 M** ، حيث بلغ مردود الجيلاتين **15,95%** حسب ماذكرها [8].

وبما أن مردود في هذه الدراسة تراوح حوالى **32,53%** عند جلد الخروف فقد اتفقت مع ما ذكره [9] الذي بين أن الانخفاض في قيمة المردود للجيلاتين المُحضر من جلود الجمال والتي بلغت **35,5-42,2%** باستخدام ماء الجير $Ca(OH)_2$ عند **1,5M**، قد تعود الى عدة اسباب منها عمر الحيوان والتركيب التقريبي (محتوى الكولاجين) للمادة الخام وطريقة الاستخلاص المتبعة وعدم التحلل الكامل للكولاجين سبب عدم كفاءة المعاملة المسبقة أو بسبب فقدان الكولاجين اثناء اجراء عمليات الغسل والترشيح المفرطة [10].

V-3- النمذجة باستعمال منهجية استجابة الأسطح (RSM) :

Source (النوع)	Regression equation (معادلة الانحدار)	R^2

Goat Skin	Independent Variables		R%
Run	Temp (°C) (X_1)	Time (min) (X_2)	
1	80	10	13,77
2	80	10	13,98
3	70	10	20,22
4	60	16	16,73
5	60	10	17,26
6	70	16	18,64
7	60	4	11,54
8	80	4	13,84
9	70	16	18,98
10	60	10	18,66
11	70	4	19,82
12	80	16	13,33
13	70	4	18,98

الجدول(**V–2**): تأثير درجة الحرارة ومدة الاستخلاص في مردود الجيلاتين ل(**A**) و(**B**)

تم تقييم التأثيرات الفردية والتفاعلية لمتغيرات الإدخال ودرجة الحرارة($\mathbf{X_1}$) ووقت الاتصال($\mathbf{X_2}$)على كفاءة إستخلاص الجيلاتين بواسطة BBD–RSM . تم تحليل البيانات التجريبية لإستخلاص إحصائيًا بواسطة ANOVA (الجدول (**V–3**)). كانت القيمة F والقيمة p الأقل من 0.05 ملاءمة نموذج BBD المُعبر عنها في الجداول (**10,9,8,7,6,5,4,3,2,1**)(الملاحق) ذات دلالة إحصائية عند إستخلاص الجيلاتين، ومع ذلك، تم تجاهل الشروط الأخرى لنموذج BBD بقيمة p الأكبر من 0,1 من معادلة متعددة الحدود من الدرجة الثانية للحصول على أفضل ملاءمة [11].

بشكل عام، تم اعتبار شروط نموذج BBD ذات دلالة إحصائية عندما تكون القيمة p أقل من0.05 (Prob> F <0.05)في ظل الظروف المحددة. ومن ثم تم تحديد علاقة المعادلات متعددة الحدود من الدرجة الثانية بين العوامل التي تم فحصهم والاستجابة إستخلاص الجيلاتين باستخدام المعادلات التالية:

الجدول(**V–3**): معادلة الانحدار لكل من (A)،(B)،(C)،(D)و(E)

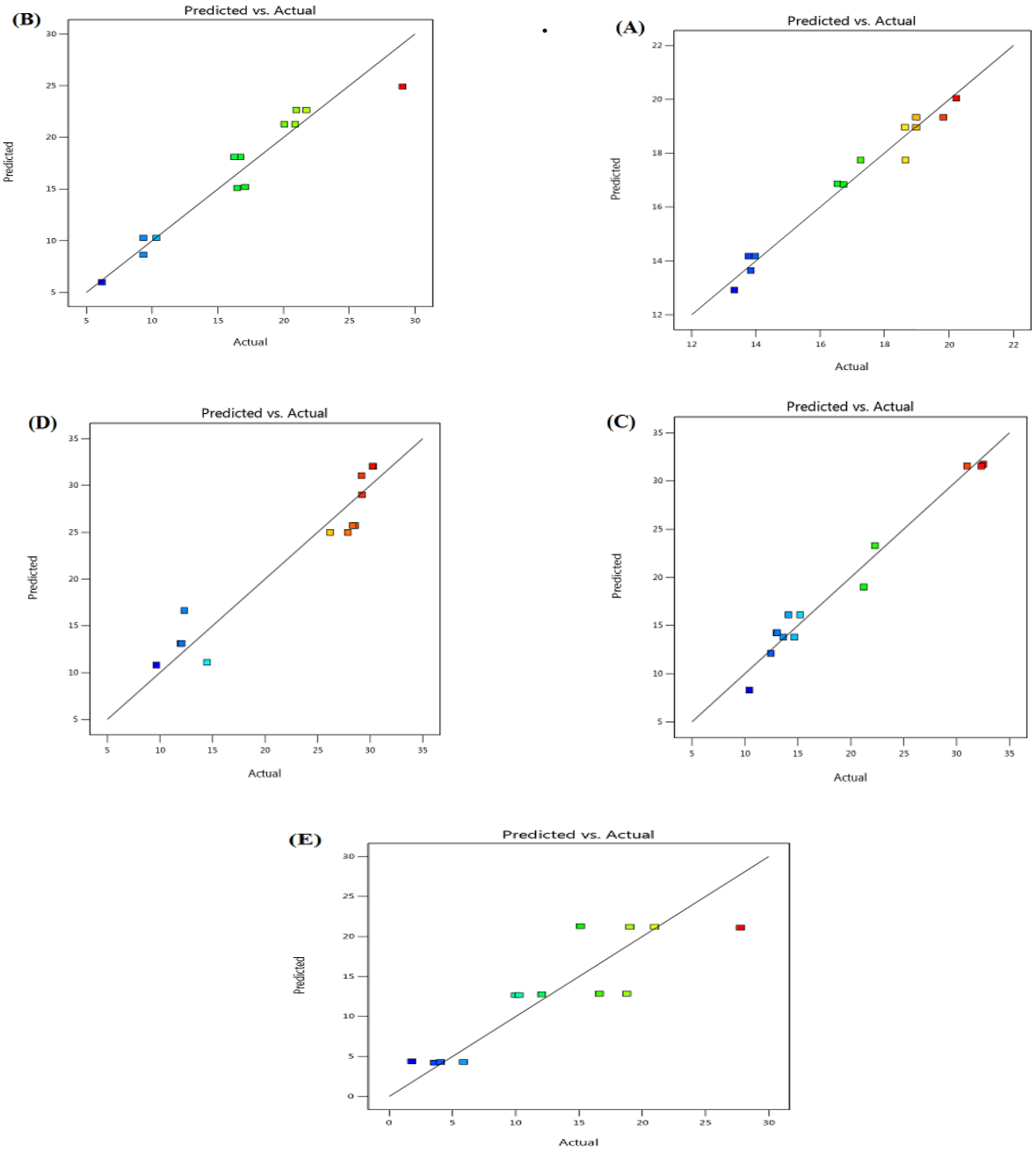
Horse skin (جلد الحصان)	$Y\ (\%) = 24{,}91 + 3{,}91\ X_1 - 10{,}72\ X_1^2$	**0,93**
Goat skin (جلد الماعز)	$Y\ (\%) = 20{,}04 - 1{,}78\ X_1 - 4{,}08\ X_1^2 - 0{,}89\ X_2^2$	**0,97**
Camel skin (جلد الجمل)	$Y\ (\%) = 12{,}75 + 8{,}45\ X_2$	**0,78**
Sheep skin (جلد الخروف)	$Y\ (\%) = 18{,}99 + 8{,}65\ X_1 + 3{,}07\ X_1X_2 + 3{,}90\ X_1^2 - 4{,}03\ X_2^2$	**0,97**
Cow skin (جلد البقر)	$Y\ (\%) = 31{,}05 + 3{,}16\ X_1 + 5{,}93\ X_2 - 11{,}99\ X_2^2$	**0,92**

كما أن معامل الارتباط (correlation cofficient) (R^2) وهو قريب من 1 , مما يشير إلى الارتباط العالي بين الكميات التجريبية والمتوقعة في إستخلاص الجيلاتين في جميع أنواع الجلود عدا نوع الجمل، والمتوقع أنه لو تم إضافة خواص أخرى مثل تأثير pH للاحظنا قيمة (R^2) تكون أكثر وهذا ما أثبتته دراسة قام بها فريق بحث لإستخلاص الجيلاتين في عدة مراحل على نفس العوامل (درجة الحرارة والوقت ودرجة الحموضة) [5]. من جهة أخرى، قيمة(R^2) لنتائج المُتنبؤ بها (Predicted R^2) تتوافق مع قيمة R^2 التجريبية (Adjusted R^2)، حيث أن الفرق بينهما أقل من 0,2 في جميع الأنواع وهذا يشير إلى قوة النموذج الرياضي في تنبؤه بالنتائج. كما تم قياس الدقة المناسبة (Adeq Precision) حيث كانت قيمها جدا مقبولة لأنها أكبر من 4، وهذا يدل على أنها إشارة جيدة للتصميم النموذج [12] .وتم تلخيص جميع نتائج التناسب الإحصائي (Fit Statistics) في الجداول(**10,9,8,7,6,5,4,3,2,1**) (الملاحق).

V-4-العلاقة بين القيم التجريبية والمتوقعة إستخلاص الجيلاتين:

تم استخدام الطرق الرسومية للتحقق من صحة نموذج BBD من خلال تقييم طبيعة التوزيع المتبقي والارتباط بين الكميات التجريبية والمتوقعة في إستخلاص الجيلاتين، و الشكل(V– 1)يوضح العلاقة بين القيم التجريبية والمتوقعة في إستخلاص الجيلاتين لجميع أنواع عينات الدراسة التي تم الحصول عليه في ظل ظروف استخلاص مختلفة. حيث يظهر جليا قوة وقدرة التنبؤ إثر التطابق الكبير بين القيم التجريبية والمُتنبأ بها، حيث تكون القيم التجريبية والمتوقعة قريبة من بعضها البعض وتتبع القيم خطًا مستقيمًا [13] . ونلحظ عدم توافق في حالة نوع عينة الجمل كما هو موضح في المخطط (E)، ويمكن تفسير

ذلك من خلال الاختلاف في المنهجية المستخدمة بين عملية الإستخلاص ونقص العوامل المؤثرة كال pH المذكور سابقًا في الأدبيات [5, 14].



الشكل(V– 1): العلاقة بين القيم التجريبية والمتوقعة لإستخلاص الجيلاتين: (A)،(B)،(C)،(D)،(E).

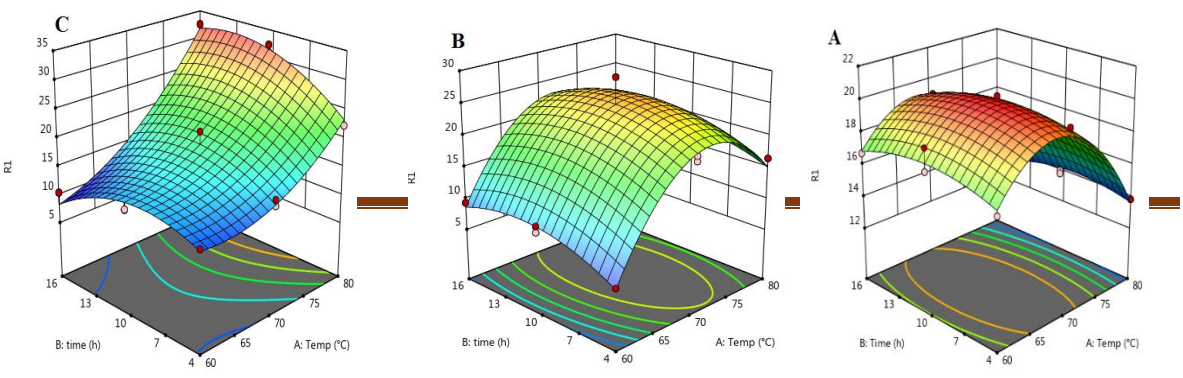
V-5- دراسة تأثير درجة الحرارة وزمن الإتصال :

تم تحديد المستويات المثلى لكل المتغير للحصول على أقصى مردود من الجيلاتين المستخرج بكثافة نطاق سلاسل عالية من خلال إنشاء مخططات سطح استجابة ثلاثية الأبعاد الشكل(V–2). تم عمل

هذه المخططات باستخدام الاستجابة **(Y)** على المحور **Z** مقابل أي متغيرين مستقلين، مع الاحتفاظ بمتغير آخر عند قيمة النقطة المركزية. و يزداد إنتاج الجيلاتين ذو السلاسل **α** مع زيادة درجة حرارة الاستخلاص **(X_1)** وزمن الاستخلاص **(X_2)** تم اعتماد تنسيق رسومي الشكل(V-2) لتصور الظروف المثلى بسهولة أكبر. ضمن نطاق شروط الاستخلاص المستخدمة، تم تحقيق التحسين في نقاط معينة. أشار التحليل الإحصائي الإضافي إلى المردود الأمثل بنسبة **32,53%** ، **30,29%**، **27,77%** جيلاتين من جلد الخروف، البقر و الإبل على التوالي عند **80C°** بعد **16h**. ومردود **29%**، **22,22%** جيلاتين من أصل الحصان والماعز عند **70C°** بعد **10h**.

وفي هذا السياق، قد لوحظت زيادة في شظايا السلسلة الأقصر وانخفاض في كثافة سلاسل بروتين الجيلاتين ذات الوزن الجزيئي العالي في الجيلاتين المستخرج من جلد قرش الخيزران ذي النطاق البني، والقرش الأسود الطرف [15]، وسمك السلور الأفريقي [16]عند استخدام درجات حرارة استخراج أعلى.

وكان المردود المتحصل عليه في الدراسة أعلى من تلك التي أبلغت عنها **Grossman and Bergman** (1992) [17] لجلد البلطي **(2,6-7,8%)**، في لجلد السمكة المقطوعة **(14,3%)** [18]، وكذا في لجلد سمك القد **(cod skin)** **(11-14%)** [19].



ا

لشكل(V-2): مخططات سطح الإستجابة ثلاثية الأبعاد لتأثير درجة الحرارة وزمن لإستخلاص الجيلاتين: (A)،(B)،(C)،(D)،(E).

V-6- الخوص الفيزوكيميائية لإستخلاص الجيلاتين

V-6-1- تحليل مطيافية الأشعة تحت الحمراءFT-IR

يوضح الشكل أطياف FT-IR للجيلاتين المستخرج من جلود البقر، والخروف، والجمل، والماعز والحصان. يمكن تحليل الأطياف و تحديد العصابات الموجودة كما يلي:

العصابة($3200-3500cm^{-1}$) : تمثل هذه المنطقة اهتزاز تمدد N-H المرتبط بروابط هيدروجينية. حيث تظهر القمم في هذه المنطقة اختلافات طفيفة بين أنواع الجيلاتين المختلفة، مما يعكس اختلافات طفيفة في قوة وتوزيع الروابط الهيدروجينية. على سبيل المثال، يلاحظ أن جيلاتين البقر لديه قمة أكثر حدة عند $3286cm^{-1}$ مقارنة بالأنواع الأخرى، مما يشير إلى وجود روابط هيدروجينية أقوى.

العصابة($2900-3000cm^{-1}$) : ترتبط هذه المنطقة باهتزاز تمدد C-H asymmetric في سلاسل الببتيد. حيث تظهر القمم في هذه المنطقة تشابهًا كبيرًا بين جميع أنواع الجيلاتين، مما يشير إلى تشابه في تكوين سلاسل الببتيد.

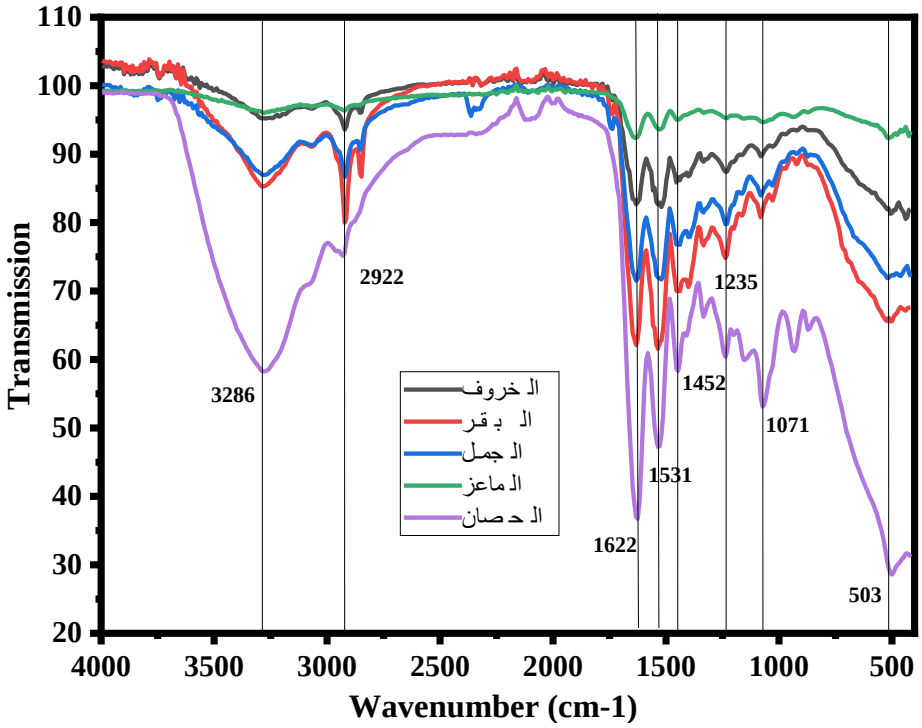
العصابة($1600-1700cm^{-1}$) : تعتبر هذه المنطقة الأكثر أهمية في تحليل بنية البروتينات، حيث تمثل اهتزاز تمدد C=O مقترنًا بتمدد C-N وتشوهات CCN وانحناء N-H في المستوى. حيث تظهر

القمم في هذه المنطقة اختلافات واضحة بين أنواع الجيلاتين المختلفة، مما يعكس اختلافات في البنية الثانوية للبروتين. على سبيل المثال، يلاحظ أن جيلاتين الحصان لديه قمة أكثر بروزًا عند $1622cm^{-1}$ مقارنة بالأنواع الأخرى، مما يشير إلى وجود نسبة أكبر من بنية بيتا شيت.(β–sheet)

العصابة($1500–1600cm^{-1}$) : تمثل هذه المنطقة مزيجًا من اهتزاز تمدد C–N وتشوهات N–H في مجموعة الببتيد. حيث تظهر القمم في هذه المنطقة اختلافات طفيفة بين أنواع الجيلاتين المختلفة، مما يعكس اختلافات طفيفة في تكوين سلاسل الببتيد.

العصابة($1200–1300cm^{-1}$): تمثل هذه المنطقة مزيجًا معقدًا من اهتزازات تمدد C–N وانحناء N–H وتشوهات C–C. حيث تظهر القمم في هذه المنطقة اختلافات ملحوظة بين أنواع الجيلاتين المختلفة، مما يعكس اختلافات في البنية الثلاثية للبروتين. على سبيل المثال، يلاحظ أن جيلاتين الجمل لديه قمة أضعف عند $1235cm^{-1}$ مقارنة بالأنواع الأخرى، مما يشير إلى وجود نسبة أقل من بنية ألفا هيلكس (α–helix).

بشكل عام، تظهر أطياف FT–IR للجيلاتين المستخرج من جلود الحيوانات المختلفة تشابهًا كبيرًا في مناطق ($1500–1600cm^{-1}$) و ($2900–3000cm^{-1}$) ، مما يشير إلى تشابه في تكوين سلاسل الببتيد. ومع ذلك تظهر اختلافات ملحوظة في مناطق($1200–1300cm^{-1}$) و($3200–3500cm^{-1}$) ($1600–1700cm^{-1}$) ، مما يعكس اختلافات في البنية الثانوية والثلاثية للبروتين. تفسر هذه الاختلافات من خلال اختلاف تركيب الأحماض الأمينية وتوزيعها في أنواع الجيلاتين المختلفة.

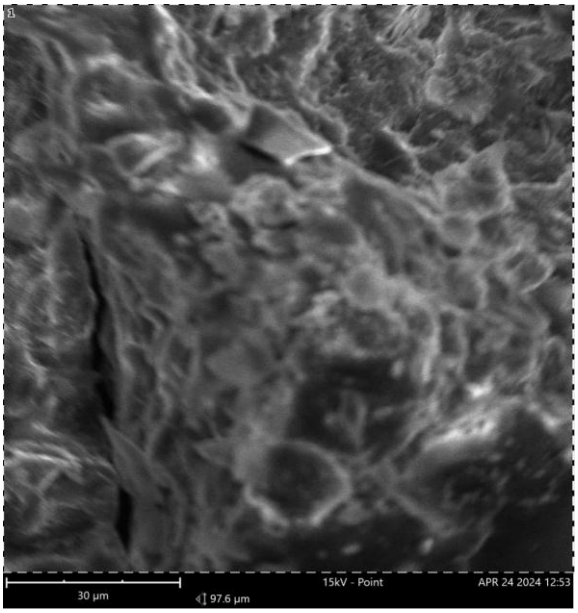


الشكل(V-3): طيف الاشعة تحت الحمراء (FT-IR) لعينات الجيلاتين المُستخلص

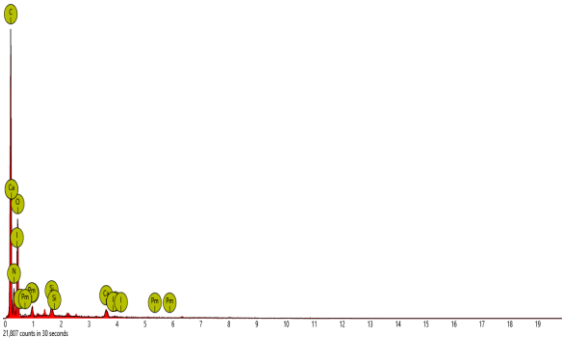
V-6-2- التحليل بواسطة المجهر الالكتروني الماسح(SEM)

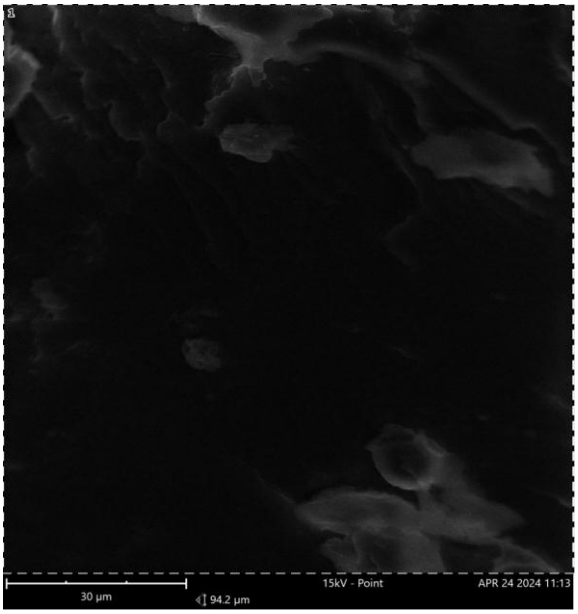
أظهر تحليل SEM لعينات الجيلاتين أنه تتكون من جزيئات كروية مختلفة الحجم والشكل. حيث تحتوي العينات على جسيمات كروية صغيرة أكثر شبهاً بالخرز ببعضها مرتب في مجموعات والبعض الآخر في ترتيب غير منتظم. تم الإبلاغ عن نتائج مماثلة فيما يتعلق بمسامية الجيلاتين وتشكله [20, 21]. وبشكل عام تُظهر صورة SEM للجيلاتين البنية المسامية المتجانسة، وهو ما يتوافق مع طبيعة الجيلاتين كبروتين متعدد السلاسل. هذه البنية المسامية تمنح الجيلاتين قدرة امتصاص الماء وتكوين هلام، مما يجعله مادة قيمة في العديد من التطبيقات[22].

كما بينت نتائج تحاليل EDX للجيلاتين المستخلص من العينات الدراسة، والموضحة في الشكل(V-4). يُلاحظ أن العناصر الرئيسية في الجيلاتين (الكربون، الأكسجين، والنيتروجين) موجودة بتركيزات عالية مما يؤكد هوية العينة كجيلاتين. يُشير وجود الفوسفور، الكالسيوم، السليكون والصوديوم إلى احتمالية وجود شوائب أو تلوث، قد ينشأ من المعالجة أو عوامل بيئية.

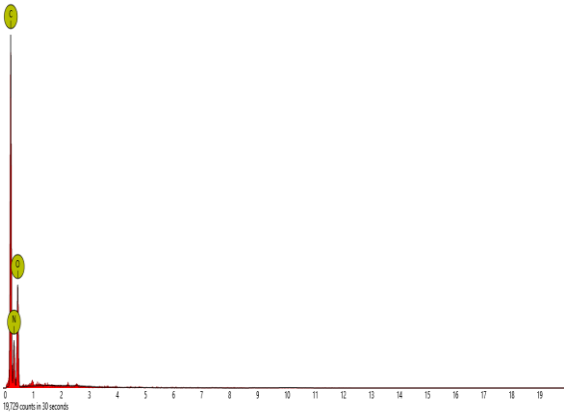


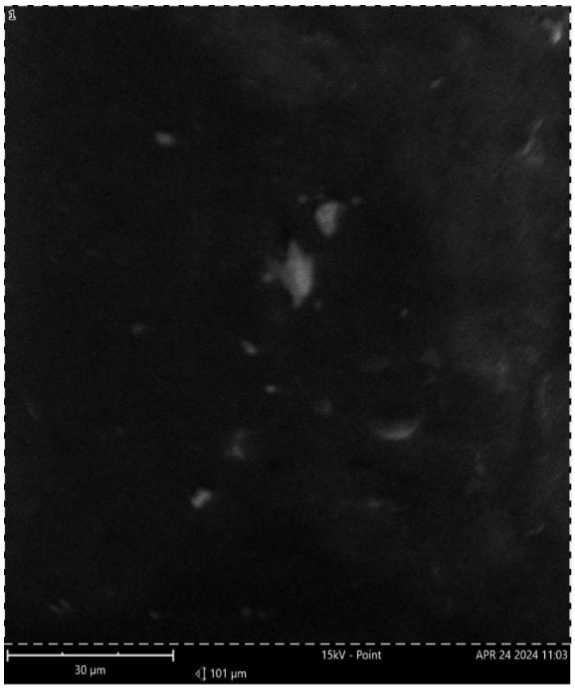
Element Number	Element Symbol	Element Name	Atomic Conc.	Weight Conc.
6	C	Carbon	47.08	40.66
8	O	Oxygen	29.61	34.06
7	N	Nitrogen	22.50	22.66
20	Ca	Calcium	0.41	1.19
14	Si	Silicon	0.32	0.65



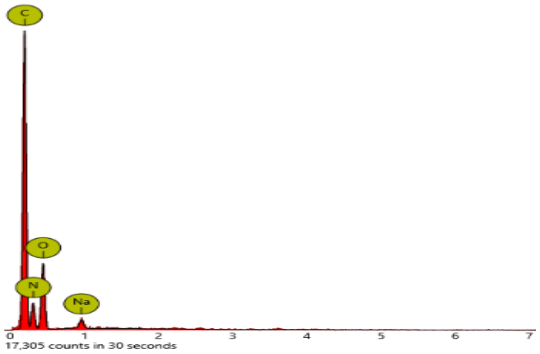


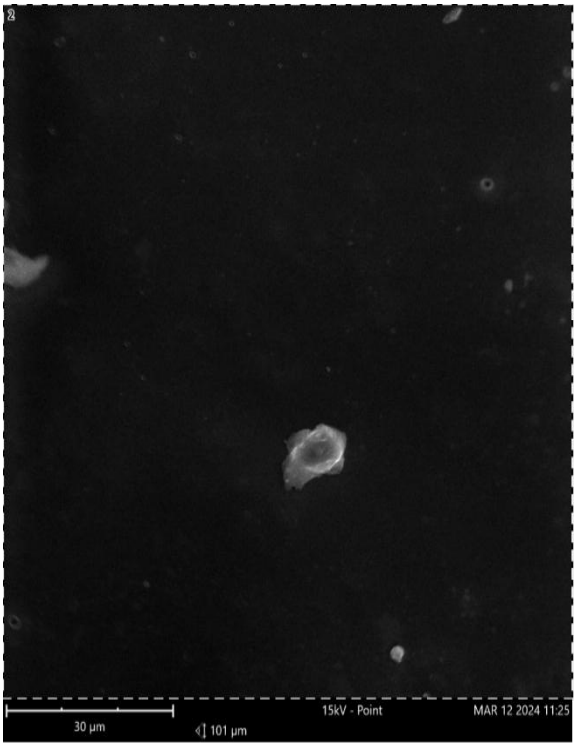
Element Number	Element Symbol	Element Name	Atomic Conc.	Weight Conc.
6	C	Carbon	46.00	40.58
8	O	Oxygen	26.45	31.08
7	N	Nitrogen	27.56	28.35



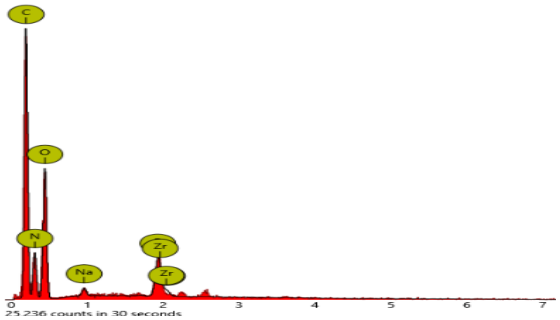


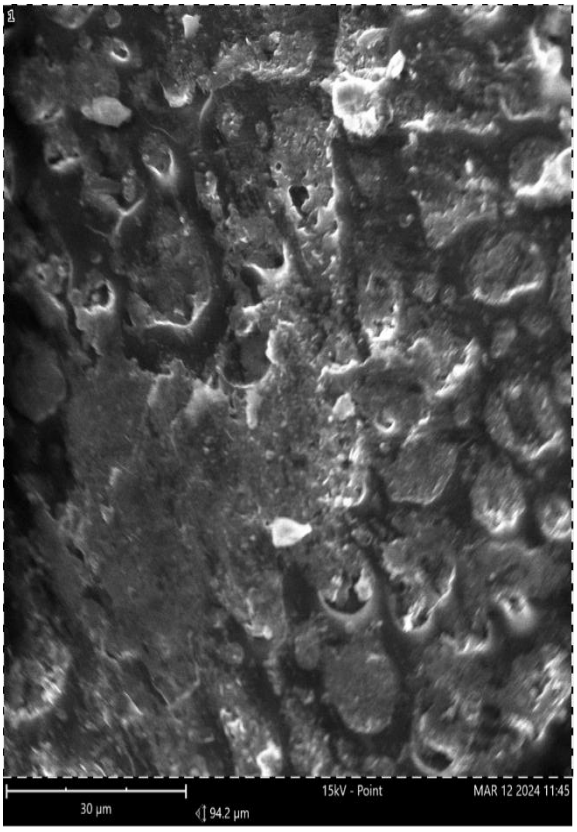
Element Number	Element Symbol	Element Name	Atomic Conc.	Weight Conc.
6	C	Carbon	52.02	46.34
8	O	Oxygen	23.33	27.69
7	N	Nitrogen	24.10	25.04
11	Na	Sodium	0.55	0.94



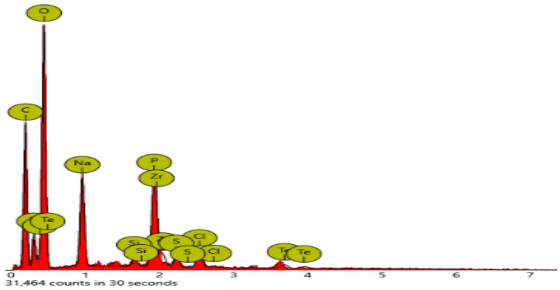


Element Number	Element Symbol	Element Name	Atomic Conc.	Weight Conc.
6	C	Carbon	44.43	37.81
8	O	Oxygen	29.09	32.98
7	N	Nitrogen	25.00	24.81
40	Zr	Zirconium	0.32	2.04
15	P	Phosphorus	0.82	1.79
11	Na	Sodium	0.34	0.56





Element Number	Element Symbol	Element Name	Atomic Conc.	Weight Conc.
8	O	Oxygen	38.42	39.89
6	C	Carbon	37.60	29.31
7	N	Nitrogen	16.14	14.67
11	Na	Sodium	3.80	5.68
15	P	Phosphorus	2.54	5.11
52	Te	Tellurium	0.20	1.68
40	Zr	Zirconium	0.23	1.37
17	Cl	Chlorine	0.52	1.20
16	S	Sulfur	0.34	0.70



الشكل(V-4): صورة بالمجهر الالكتروني الماسح للجيلاتين المستخلص (A)، (B)، (C)، (D)، (E).

V-6-3- قدرة امتصاص الماء(WAC):

تعد قدرة الجيلاتين على الاحتفاظ بالماء عاملاً مناسبًا يسمح بذلك تقليل فقدان بالماء وتقليل العصارة في الأسماك المجمدة أو منتجات اللحوم أثناء الذوبان أو الطهي[23].

تشير النتائج في الجدول(**V-4**)الى قدرة امتصاص الماء للجيلاتين المستخلص من انواع جلود حيوانات في ظل ظروف استخلاص يتمتعون بقدرات عالية جدًا على امتصاص الماء ، فقد لاحظنا زيادة قابلية مسحوق الجيلاتين المستخلص من جلد البقر على امتصاص الماء بنسبة اكبر والتي 933,2% الا انها تنخفض انخفاض معتبرا مقارنة بالجيلاتين من جلد الماعز بنسبة 70,9% ، قد يعود السبب في هذا الاختلاف الى زيادة المواقع القطبية المحبة للماء مقارنة بالمجموعات الكارهة للماء الموجودة على سطح الجزيئات الجيلاتينية وبالتالي تمكنها من الارتباط بالماء فتدمص على سطح جزيئات الجيلاتين وتكون حيزا من الماء يحيط بكل جزيئة جيلاتين لتكون حاملة للماء بصورة جيدة [24].

ومن جهة أخرى، قد يكون السبب في انخفاض كمية الماء الممتص الى تغيير طبيعة البروتين خلال مراحل الاستخلاص الاخيرة وكذلك تعتمد كمية الماء الممتصة على حجم حبيبات مسحوق الجيلاتين التي تلعب دورا مهما في كمية الماء الممتص فالحبيبات الكبيرة تكون اقل قدرة على امتصاص الماء من الحبيبات الناعمة وهذا ما يحصل للجيلاتين المستخلص على درجات حرارة عالية ولمدد استخلاص طويلة وهذا ما بينه [4].

كما تعتمد قابلية امتصاص ماء لمسحوق الجيلاتين بدرجة كبيرة على الرقم الهيدروجيني البعيد عن التعادل 8-6 فكلما ابتعد الرقم الهيدروجيني عن نقطة التعادل ازدادت المواقع القطبية على الاحماض الامنية المكونة للبروتين ومن ثم زيادة القطبية وبنفس الوقت يزداد ربط جزيئات الماء[25].

وبصفة عامة ، تعتمد قدرة الجيلاتين على امتصاص الماء على عدد من العوامل، مثل: تكوين الأحماض الأمينية، وعدد المجموعات القطبية في الجزيئات، وتوافر الروابط المحبة للماء، ودرجة الحموضة البيئية، والقوة الأيونية، ودرجة الحرارة وتركيز البروتين [25, 26].

الجدول**(V-4)**: قدرة امتصاص الماء للجيلاتين المستخلص من انواع جلود حيوانات

النوع	الجمل CAMEL	الخروف SHEEP	البقر COW	الحصان HORSE	الماعز GOAT
WAC %	183,05	235,66	933,2	94,72	70,9

V-6-4- قدرة ربط الدهون(FBC):

تعد قدرة ربط الدهون أيضًا خاصية وظيفية ترتبط ارتباطًا وثيقًا بالملمس والتفاعلات بين المكونات مثل الماء والزيت.

أظهر النتائج المبينة في الجدول**(V-5)**الى نسبة ربط الدهون للجيلاتين المستخلص من انواع جلود حيوانات قيد الدراسة ذو قيم جدا مرتفعة. اذ يلاحظ ان لانواع جلود الحيوانات تأثيرا واضحا على قابلية الجيلاتين المنتج على امتصاص الدهن فقد لاحظنا زيادة قابلية مسحوق الجيلاتين المستخلص من جلد البقر على امتصاص الزيت بنسبة اكبر وهي 466,1% الا انها تنخفض انخفاض كبير في الجيلاتين

المستخلص من جلد الحصان بنسبة 94,72% وقد يعود السبب في ذلك الى اختلاف محتوى البروتيني عالي النوعية (وزن جزيئي عالي) للجيلاتين المستخلص من انواع مختلفة من جلود الحيوانات والذي له القدرة على قابلية ربط الدهن من خلال المواقع غير القطبية الموجودة على سطح جزيئاته [4] .

إن آلية ربط الدهون بالبروتينات ليست مفهومة تمامًا، ولكن يبدو أنها تتأثر بمحتوى البروتين ومركب البروتين الدهني [27]. وأفادت دراسة قام بها مجموعة من الباحثين (2003) [27] أن قدرة امتصاص الزيت تتعلق إما بالسلاسل الجانبية غير القطبية للبروتين أو بالخصائص المطابقة المختلفة للبروتينات. تشير نتائجنا إلى أن قدرة الاحتفاظ بالزيت تعتمد أيضًا على ظروف الاستخراج.

وجاءت هذه النتائج متفقة مع ما توصلت اليه [28] عند دراستها لخاصية ربط الدهن لمسحوق الجيلاتين المنتج من العظام. وعند مقارنة كمية الدهن الممتصة من الجيلاتين المنتج قيد الدراسة مع الجيلاتين البقري التجارب وجد أن كمية الزيت الممتص كانت مقاربة جدا لكمية الزيت الممتص من الجيلاتين البقري، إذ تؤدي قابلية الجيلاتين العالية على قابلية ربط الدهن الى زيادة الاحتفاظ بمواد النكهة لأنها عادة تكون ذائبة في الدهن ومن ثم فأنها تزد من قبوله وتعد هذه الخاصية ذات اهمية كبيرة في الأغذية المصنعة [2].

الجدول(**V-5**): نسبة امتصاص الزيت (ربط الدهون) للجيلاتين المستخلص من انواع جلود حيوانات

النوع	الجمل CAMEL	الخروف SHEEP	البقر COW	الحصان HORSE	الماعز GOAT
FBC%	108	108	466,1	94,72	255 ,66

V-6-5- نشاط الاستحلاب(EAI):

المستحلبات عبارة عن مواد خافضة للتوتر السطحي تمتز عند السطوح البينية وتسهل إنتاج قطيرات صغيرة عن طريق خفض التوتر السطحي أثناء التجانس مما يسهل إستعمالها في التطبيقات الغذائية ، الصيدلانية ، الطبية والتقنية [29] ، إلا أن هناك اتجاه متزايد داخل صناعة المواد الغذائية لاستبدال المستحلبات الاصطناعية بمستحلبات طبيعية أكثر [31 ,30].

يوضح الجدول(**V-6**) نشاط الاستحلاب للجيلاتين الذي تمت دراسته بتركيز 1%. ويلاحظ اختلافات جدا معتبرة بين الجيلاتين الذي تم الحصول، حيث كانت المستحلبات المُحصل عليه من الجيلاتين (الحصان والبقر) (14,73 – 15,10 m^2/g) أكثر استقرارًا من المستحلبات المُحصل عليه من (الجمل والخروف والماعز) (1,88 – 5,62 m^2/g) ، مما يدل على أن ظروف الاستخلاص تؤثر على نشاط الاستحلاب للجيلاتين الذي تم الحصول عليه. إذ تُشير النتائج عند متابعة ثبات الاستحلاب إلى أن الفرق في خصائص الاستحلاب بين جميع أنواع الجيلاتين قيد الدراسة قد ينشأ من الاختلافات الموجودة في خصائصها الجوهرية، مثل حجم الببتيد و تركيب و تكوينات البروتينات أو الببتيدات [32].

مع ذلك فقد أبلغ Aewsiri وآخرون [33] أن نشاط استحلاب الجيلاتين لعينة عظم البقر كانت أعلى من جميع عينات جيلاتين جلد الحصان والماعز والجمل والبقر والماعز. وقد نشأ ذلك ربما من الاختلافات في الخصائص الجوهرية و تكوينات الجيلاتين من مصادر مختلفة[34] . وفقًا لدراسة فريق بحث (2000)[35]، لا توجد صلة واضحة بين حجم الببتيد و الاستحلاب، مما يُشير إلى أن التكوين الفيزيائي الكيميائي للببتيدات قد يُلعب دورًا هامًا في الخصائص الوظيفية. افترض Mutilangi وآخرون [36] أن المحتوى العالي من الببتيدات، ذات الوزن الجزيئي العالي، يساهم في استقرار المستحلب.

الجدول(**V-6**): نشاط الاستحلاب للجيلاتين

الاصناف	بقر	حصان	ماعز	خروف	جمل
الامتصاصية A_0(min)	0,8	0,82	0,09	0,163	**0.11**
الامتصاصيةA_{10} A_{10}(min)	0,107	0,74	0,098	0,292	**0,158**
EAI(m^2/g)	14,73	15,107	1,88	3,45	**5,62**

V-6-6- خصائص الرغوة:

تعد القدرة على الرغوة (FE) واحدة من أهم خصائص الجيلاتين للمنتجات الغذائية شائعة الاستخدام، حيث ترتبط قدرة البروتينات الرغوية بقدرتها على تكوين فيلم عند السطح البيني للهواء والماء [14].

يتم عرض سعة الرغوة (FE) وثبات الرغوة (FS) في الجدول (**V**–**7**). ولم يتم تسجيل فرق معنوي بين الجيلاتين المستخلص من العينات قيد الدراسة مقارنة بـ FE وFS، وقد أظهرت هذه النتائج أن ظروف الاستخلاص وإختلاف المواد الخام لا تؤثر على خصائص الرغوة الجيلاتين المستخلص.

بالإضافة إلى ذلك، فإن الجيلاتين الذي تم الحصول عليه يحتوي على FE كبير جدًا نظرًا لوجود نسبة كبيرة من المجموعات الكارهة للماء على سطح جزيئات جيلاتين عظم الجمل. وهذا ما أكده Jellouli وآخرون (2011)[37] الذين ذكروا أن الزيادة في محتوى الأحماض الأمينية الكارهة للماء في الجيلاتين ترتبط بزيادة قدرة الرغوة. تشكل المخلفات الإضافية الكارهة للماء كرة كبيرة كارهة للماء على سطح البروتين وتحسن قدرة الرغوة[38].

وبصفة عامة، يعتمد استقرار الرغوة على عوامل مختلفة، مثل معدل الوصول إلى التوتر السطحي المتوازن، واللزوجة الظاهرة والسطحية، والثبات الفراغي والتنافر الكهربائي بين جانبي الصفيحة الرغوية[39].

الجدول(**V**–**7**): سعة الرغوة (FE) وثبات الرغوة (FS)

الاصناف	بقر	حصان	ماعز	خروف	جمل
V_0(ml)	44	46	50	45	**47**
V_{5min}(ml)	50	52	52	60	**50**
FE%	**113,63**	**113,04**	**104**	**133,33**	**106,38**
V_{15min}(ml)	54	50	52	58	**50**
FS%	**122,72**	**108,69**	**104**	**128,88**	**106,38**

V–6–7– درجة الحموضة (pH):

يعتبر الرقم الهيدروجيني (pH) معلمة مهمة لأنه يمكن أن يؤثر على خصائص الجيلاتين والتي يمكن أن تحدد التطبيقات اللاحق للجيلاتين. وتعكس درجة حموضة لمحلول الجيلاتين المعالجة الكيميائية المستخدمة أثناء خطوة الاستخراج [40].

الجيلاتين الذي تم الحصول عليه له قيم pH مختلفة قليلاً عن بعضها البعض الجدول(**V–8**). ربما تكون هذه الاختلافات ناتجة عن شروط الاستخراج المطبقة. حيث ان قيمة الرقم الهيدروجيني للجيلاتين التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة ضمن نطاق الرقم الهيدروجيني الطبيعي (بين 3,8 و7,5) وفقًا لمعايير GMIA[41, 42]، عدا عينات البقر و الجمل سبب عدم كفاءة المعاملة المسبقة أو بسبب فقدان الكولاجين اثناء اجراء عمليات الغسل والترشيح المفرطة [10].

الجدول(**V–8**): قيم pH

الاصناف	بقر	حصان	ماعز	خروف	جمل
pH	8,59	4,12	3,86	6,19	8,68

[1] K. Rammaya, Q. Y. Voon, and A. S. Babji, "Physicochemical analysis of gelatin extracted from mechanically deboned chicken meat (MDCM) residue," *International Journal of Food, Nutrition and Public Health,* vol. 5, p. 147, 2012.

[2] B. A. R. Ahamed and A. M. D. AL-Abadi, "Preparation Gelatin from Chicken Skin and Study its Functional and sensory Properties," *iraq journal of market research and consumer protection,* vol. 7, 2015.

[3] A. Mahjoorian, S. A. Mortazavi, H. Tavakolipour, A. Motamedzadegan, and B. Askari, "Rheological properties of skin gelatin of Beluga Sturgeon (Huso huso) from The Caspian Sea," *Annals of Biological Research,* vol. 4, pp. 227-234, 2013.

[4] H. W. Ockerman and C. L. Hansen, *Animal by-product processing & utilization*: CRC press, 1999.

[5] A. REDJEB, "Valorisation des déchets d'abattage du dromadaire: Extraction de la gélatine à partir de la peau," 2022.

[6] K. A. Munasinghe, J. G. Schwarz, and A. K. Nyame, "Chicken collagen from law market value by-products as an alternate source," *Journal of Food Processing,* vol. 2014, 2014.

[7] N. M. Sarbon, F. Badii, and N. K. Howell, "Preparation and characterisation of chicken skin gelatin as an alternative to mammalian gelatin," *Food hydrocolloids,* vol. 30, pp. 143-151, 2013.

[8] S. Mad-Ali, S. Benjakul, T. Prodpran, and S. Maqsood, "Characteristics and gel properties of gelatin from goat skin as influenced by alkaline-pretreatment conditions," *Asian-Australasian journal of animal sciences,* vol. 29, p. 845, 2016.

[9] A. A. Al-Hassan, "Gelatin from camel skins: Extraction and characterizations," *Food Hydrocolloids,* vol. 101, p. 105457, 2020.

[10] H. A. Al-Kahtani, I. Jaswir, E. A. Ismail, M. A. Ahmed, A. Monsur Hammed, S. Olorunnisola*, et al.*, "Structural characteristics of camel-bone gelatin by demineralization and extraction," *International journal of food properties,* vol. 20, pp. 2559-2568, 2017.

[11] S.-B. Ghaffari, M.-H. Sarrafzadeh, M. Salami, and M. R. Khorramizadeh, "A pH-sensitive delivery system based on N-succinyl chitosan-ZnO nanoparticles for improving antibacterial and anticancer activities of curcumin," *International Journal of Biological Macromolecules,* vol. 151, pp. 428-440, 2020.

[12] M. Kaya, S. Erdogan, A. Mol, and T. Baran, "Comparison of chitin structures isolated from seven Orthoptera species," *International journal of biological macromolecules,* vol. 72, pp. 797-805, 2015.

[13] S. Pandey and S. Tiwari, "Facile approach to synthesize chitosan based composite—characterization and cadmium (II) ion adsorption studies," *Carbohydrate Polymers,* vol. 134, pp. 646-656, 2015.

[14] A. KALLA, "Extraction de la gélatine à partir de l'os camelin (Camelus dromedarius," UNIVERSITE KASDI MERBAH–OUARGLA.

[15] P. Kittiphattanabawon, S. Benjakul, W. Visessanguan, and F. Shahidi, "Comparative study on characteristics of gelatin from the skins of brownbanded bamboo shark and blacktip shark as affected by extraction conditions," *Food hydrocolloids,* vol. 24, pp. 164-171, 2010.

[16] A. T. Alfaro, F. C. Biluca, C. Marquetti, I. B. Tonial, and N. E. de Souza, "African catfish (Clarias gariepinus) skin gelatin: Extraction optimization and physical–chemical properties," *Food research international,* vol. 65, pp. 416-422, 2014.

[17] S. Grossman and M. Bergman, "Process for the production of gelatin from fish skins," ed: Google Patents, 1992.

[18] R. Osborne, M. Voigt, and D. Hall, "Utilization of lumpfish (Cyclopterus lumpus) carcasses for the production of gelatin," *Advances in fisheries technology and biotechnology for increased profitability,* pp. 145-150, 1990.

[19] M. Gudmundsson and H. Hafsteinsson, "Gelatin from cod skins as affected by chemical treatments," *Journal of Food science,* vol. 62, pp. 37-39, 1997.

[20] M. A. Ahmed, H. A. Al-Kahtani, I. Jaswir, H. AbuTarboush, and E. A. Ismail, "Extraction and characterization of gelatin from camel skin (potential halal gelatin) and production of gelatin nanoparticles," *Saudi Journal of Biological Sciences,* vol. 27, pp. 1596-1601, 2020.

[21] A. Barbetta, M. Dentini, E. M. Zannoni, and M. E. De Stefano, "Tailoring the porosity and morphology of gelatin–methacrylate polyHIPE scaffolds for tissue engineering applications," *Langmuir,* vol. 21, pp. 12333-12341, 2005.

[22] A. Kanni Raj, "Nanocomposite containing Bioceramic Hydroxy-Apatite, Biopolymer Gelatin and Metal Ions Yttrium and Cerium: Bioactive and Antibacterial Nature," *Research Journal of Chemistry and Environment_____Vol,* vol. 24, p. 12, 2020.

[23] J. M. Koli, S. Basu, B. B. Nayak, S. B. Patange, A. U. Pagarkar, and V. Gudipati, "Functional characteristics of gelatin extracted from skin and bone of Tiger-toothed croaker (Otolithes ruber) and Pink perch (Nemipterus japonicus)," *Food and bioproducts processing,* vol. 90, pp. 555-562, 2012.

[24] G. Ninan, J. Jose, and Z. Abubacker, "Preparation and characterization of gelatin extracted from the skins of rohu (Labeo rohita) and common carp (Cyprinus carpio)," *Journal of Food Processing and Preservation,* vol. 35, pp. 143-162, 2011.

[25] J. M. Koli, S. Basu, N. Kannuchamy, and V. Gudipati, "Effect of pH and ionic strength on functional properties of fish gelatin in comparison to mammalian gelatin," 2013.

[26] J. F. Zayas and J. F. Zayas, "Water holding capacity of proteins," *Functionality of proteins in food,* pp. 76-133, 1997.

[27] U. Chavan, D. McKenzie, and F. Shahidi, "Functional properties of protein isolates from beach pea (Lathyrus maritimus L.)," *Food chemistry,* vol. 74, pp. 177-187, 2001.

[28] صفاته النوعية في الانظمة ودراسة Silurus triostequs ب. ع. ا. احمد, "إنتاج بروتين محور من أسماك الجري الغذائية: بتول عبد الرحيم أحمد و فرح طارق حمد الدهان," *The Iraqi Journal of Veterinary Medicine,* vol. 39, pp. 30-36, 2015.

[29] P. Walstra, *Physical chemistry of foods*: CRC Press, 2002.

[30] A. J. Borderías, F. JIMÉNEZ- COLMENERO, and M. Tejada, "Viscosity and emulsifying ability of fish and chicken muscle protein," *International Journal of Food Science & Technology,* vol. 20, pp. 31-42, 1985.

[31] J. E. Kinsella and N. Melachouris, "Functional properties of proteins in foods: a survey," *Critical Reviews in Food Science & Nutrition,* vol. 7, pp. 219-280, 1976.

[32] S. Damodaran, "Protein-stabilized foams and emulsions. Damodaran S and Paraf A editors. Food proteins and their applications," ed: New York: Marcel Dekker. p, 1997.

[33] T. Aewsiri, S. Benjakul, and W. Visessanguan, "Functional properties of gelatin from cuttlefish (Sepia pharaonis) skin as affected by bleaching using hydrogen peroxide," *Food Chemistry,* vol. 115, pp. 243-249, 2009.

[34] S. Benjakul, K. Oungbho, W. Visessanguan, Y. Thiansilakul, and S. Roytrakul, "Characteristics of gelatin from the skins of bigeye snapper, Priacanthus tayenus and Priacanthus macracanthus," *Food Chemistry,* vol. 116, pp. 445-451, 2009.

[35] H. G. Kristinsson and B. A. Rasco, "Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties," *Critical reviews in food science and nutrition,* vol. 40, pp. 43-81, 2000.

[36] W. Mutilangi, D. Panyam, and A. Kilara, "Functional properties of hydrolysates from proteolysis of heat- denatured whey protein isolate," *Journal of Food Science,* vol. 61, pp. 270-275, 1996.

[37] K. Jellouli, R. Balti, A. Bougatef, N. Hmidet, A. Barkia, and M. Nasri, "Chemical composition and characteristics of skin gelatin from grey triggerfish (Balistes capriscus)," *LWT-Food Science and Technology,* vol. 44, pp. 1965-1970, 2011.

[38] R. J. Shakila, E. Jeevithan, A. Varatharajakumar, G. Jeyasekaran, and D. Sukumar, "Functional characterization of gelatin extracted from bones of red snapper and grouper in comparison with mammalian gelatin," *LWT-Food science and technology,* vol. 48, pp. 30-36, 2012.

[39] J. Liu, G. Xu, S. Yuan, and P. Jiang, "The effect of macromolecules on foam stability in sodium dodecyl sulfate/cetylpyridinium bromide mixtures," *Journal of dispersion science and technology,* vol. 24, pp. 779-787, 2003.

[40] A. d. T. Alfaro, E. Balbinot, C. I. Weber, I. B. Tonial, and A. Machado-Lunkes, "Fish gelatin: characteristics, functional properties, applications and future potentials," *Food Engineering Reviews,* vol. 7, pp. 33-44, 2015.

[41] O. V. Mikhailov, "Gelatin as it is: history and modernity," *International Journal of Molecular Sciences,* vol. 24, p. 3583, 2023.

[42] R. Schrieber and H. Gareis, *Gelatine handbook: theory and industrial practice*: John Wiley & Sons, 2007.

الخلاصة العامة

الخلاصة العامة

المخلفات الحيوانية (جلود الثدييات) لها اهمية كبيرة في انتاج الجيلاتين الغذائي الذي يُعد من المكملات الغذائية المفيدة لما يحمله من مكونات ذات قيمة غذائية عالية.

في هذه الدراسة، تم إجراء استخلاص الجيلاتين من المنتجات الثانوية من جلود الثدييات (الحصان والماعز والأبقار والأغنام والأبل) من أجل الحصول على الجيلاتين (الحلال)، باستخدام طريقة الاستخلاص بخطوة واحدة مع حمض الأسيتيك. تم تحسين هذه العملية باستخدام منهجية سطح الاستجابة عند درجة حرارة ووقت مختلفة لزيادة المردود من الجيلاتين المُستخرج. وأدى الجمع بين هذين العاملين إلى تحسين الخواص الفيزيائية والكيميائية لتحضير الجيلاتين النهائي. تم العثور على أعلى إنتاجية للجيلاتين عند درجة حرارة 80°C ووقت استخلاص 16 ساعة في عينات (جلود الأغنام والبقر والإبل)، في حين وجد الاستخلاص الأمثل في عينات (جلد الحصان). (والماعز) عند 70°C مدة 10 ساعات حيث أظهرت نسبة إنتاج الجيلاتين التي تم الحصول عليها في الحالة المثلى 32,53% (جلد الخروف).

إن استخدام الأحماض العضوية يجعل الطريقة الأمثل فعالة من حيث التكلفة ومستدامة بيئيًا. علاوة على ذلك، أظهرت منتجات الجيلاتين الثانوية من جلود الثدييات التي تم الحصول عليها بهذه الطريقة نشاطًا استحلابيًا جيدًا (70,9–235,66%) وتوسعًا رغويًا (104– 133,33%) وقدرة على امتصاص الماء (70,9–933,2%) والزيت (94,72–466,1%) مما يشير إلى إمكانية تطبيقه لتطوير أنظمة غذائية مختلفة، كما أظهرت أطياف FTIR أوجه تشابه عالية بين عينات الجيلاتين.

أظهرت هذه الدراسة أن التلاعب بمعلمات محددة يمكن أن يحسن كفاءة الاستخلاص دون المساس بجودة الجيلاتين، وبالتالي، توفير بديل مستدام لجيلاتين الثدييات إلى جانب فوائد إضافية تتمثل في تقليل مخاطر النواقل المسببة للأمراض مثل البريونات وزيادة الإقبال من مستهلكي الجيلاتين من مصادر حلال.

التوصيات والآفاق المستقبلية:

فبالرغم من الاهتمام الكبير في هذا المجال والبحث فيه الا انه لا يزال يحمل كما هائلا من مواضيع قيد الدراسة والبحث والاكتشاف وكذلك لما يحمله من افاق مستقبلية والتي تكمن في:

- تشجيع وتعزيز الانتاج الحلال المحلي وكذلك تثمين المخلفات الحيوانية.

- توعية المربيين بأهمية وقيمة الجلود كمصدر بديل للدخل من خلال حملة ارشادية وتدريب هادف فيما يتعلق بالمربين مما يسمح لهم بتحسين جودة الجلود
- استخدام مصادر بديلة مثل النباتات والفطريات.
- تطوير واستخدام تقنيات جديدة صديقة للبيئة لتحسين كفاءة عملية استخلاص الجيلاتين، مثل استخدام الموجات فوق الصوتية أو الميكروويف أو التقنيات الأنزيمية.
- يجب إجراء المزيد من الأبحاث لتحسين طرق استخلاص الجيلاتين لتصبح أكثر كفاءة، أمانًا وامتلاكا للخصائص المطلوبة للاستخدام المحدد.

نلفت انتباه زملائنا الطلبة إلى ضرورة الاستعانة في تصميم تجاربهم في المستقبل باستخدام منهجية سطح الاستجابة لأنه برنامج مفيد وفعال ويتم هندسة التجارب فيه بأسلوب حديث ونتائجه دقيقة، كما أنه يوفر الوقت ويخفض من التكلفة.

الملاحق

الجدول(**1**): تحليل التباين(ANOVA) لنوع الخروف .

Source (الخروف) Sheep skin	مجموع المربعات	df	مربع	قيمة –F	قيمة –P	
Model	773,74	5	154,75	52,05	< 0.0001	significant
X_1–Temp	599,27	1	599,27	201,55	< 0.0001	**significant**
X_2–time	10,74	1	10,74	3,61	0,0991	Insignificant
X_1 X_2	37,70	1	37,70	12,68	0,0092	**significant**
X_1^2	42,61	1	42,61	14,33	0,0068	**significant**
X_2^2	45,62	1	45,62	15,34	0,0058	**significant**
متبقية	20,81	7	2,97			
خطأ في النموذج	18,74	3	6,25	12,07	0,0179	significant
الخطأ الناتج عن المجرب	2,07	4	0,5176			
التصحيح العام	794,55	12				

الجدول(**2**): التناسب الإحصائي لنوع الخروف.

انحراف معياري	**1,72**	**R^2**	**0,97**
متوسط	18,91	**مُعدلةR^2**	0,95
		مُتنبأهR^2	0,86
		الدقة المناسبة	20,01

Source (الجمل) Camel skin	مجموع المربعات	df	مربع	قيمة –F	قيمة –P	
Model	571,28	2	285,64	17,86	0,0005	significant
X_1–Temp	0,0595	1	0,0595	0,0037	0,9526	Insignificant
X_2–time	571,22	1	571,22	35,71	0,0001	**significant**
متبقية	159,94	10	15,99			
خطأ في النموذج	154,00	6	25,67	17,27	0,0079	significant
الخطأ الناتج عن المجرب	5,95	4	1,49			
التصحيح العام	731,22	12				

الجدول(**3**): تحليل التباين(ANOVA) لنوع الأبل.

الجدول(**4**): التناسب الإحصائي لنوع الأبل.

انحراف معياري	**4,00**	**R^2**	**0,78**
متوسط	12,76	**مُعدلةR^2**	0,77
		مُتنبأهR^2	0,58
		الدقة المناسبة	8,89

الجدول(**5**): تحليل التباين(ANOVA) لنوع البقر.

Source **Cow** skin (**البقر**)	**مجموع المربعات**	**df**	**مربع**	**قيمة –F**	**قيمة –P**	**قيمة –F**
Model	807,42	5	161,48	16,48	0,0009	significant
X_1–Temp	80,20	1	80,20	8,18	0,0243	**significant**
X_2–time	281,44	1	281,44	28,72	0,0011	**significant**
X_1 X_2	36,48	1	36,48	3,72	0,0950	Insignificant
X_1^2	13,15	1	13,15	1,34	0,2847	Insignificant
X_2^2	402,98	1	402,98	41,13	0,0004	**significant**
متبقية	68,59	7	9,80			
خطأ في النموذج	67,13	3	22,38	61,12	0,0008	significant
الخطأ الناتج عن المجرب	1,46	4	0,3661			
التصحيح العام	876,01	12				

الجدول(**6**): التناسب الإحصائي لنوع البقر.

انحراف معياري	**2,22**	**R^2**	**0,93**
متوسط	16,49	**مُعدلةR^2**	0,87
		مُتنبأهR^2	0,68
		الدقة المناسبة	12,57

Source **Horse** skin (**الحصان**)	**مجموع المربعات**	**df**	**مربع**	**قيمة –F**	**قيمة –P**	**قيمة –F**
Model	450,25	5	90,05	18,21	0,0007	significant
X_1–Temp	122,77	1	122,77	24,83	0,0016	significant
X_2–time	3,80	1	3,80	0,7674	0,4101	Insignificant
X_1 X_2	1,64	1	1,64	0,3313	0,5829	significant
X_1^2	321,84	1	321,84	65,08	< 0.0001	significant

X_2^2	24,51	1	24,51	4,96	0,0613	significant
متبقية	34,61	7	4,94			
خطأ في النموذج	33,41	3	11,14	37,02	0,0022	significant
الخطأ الناتج عن المجرب	1,20	4	0,3009			
التصحيح العام	484,86	12				

الجدول(7): تحليل التباين(ANOVA) لنوع الحصان.

الجدول(8): التناسب الإحصائي لنوع الحصان.

انحراف معياري	**3,13**	**R^2**	**0,92**
متوسط	22,34	**مُعدلةR^2**	0,86
		مُتنبأهR^2	0,46
		الدقة المناسبة	9,99

الجدول(9): تحليل التباين(ANOVA) لنوع الماعز.

Source Sheep skin (الخروف)	**مجموع المربعات**	**df**	**مربع**	**قيمة –F**	**قيمة –P**	**قيمة –F**
Model	72,87	5	14,57	48,70	< 0.0001	significant
X_1–**Temp**	25,45	1	25,45	85,06	< 0.0001	significant
X_2–time	0,2813	1	0,2813	0,9399	0,3646	Insignificant
X_1 X_2	0,1225	1	0,1225	0,4094	0,5427	significant
X_1^2	46,68	1	46,68	155,97	< 0.0001	significant
X_2^2	2,24	1	2,24	7,50	0,0290	significant
متبقية	2,09	7	0,2992			
خطأ في النموذج	0,6821	3	0,2274	0,6438	0,6262	significant
الخطأ الناتج عن المجرب	1,41	4	0,3532			
التصحيح العام	74,96	12				

الجدول(10): التناسب الإحصائي لنوع الماعز.

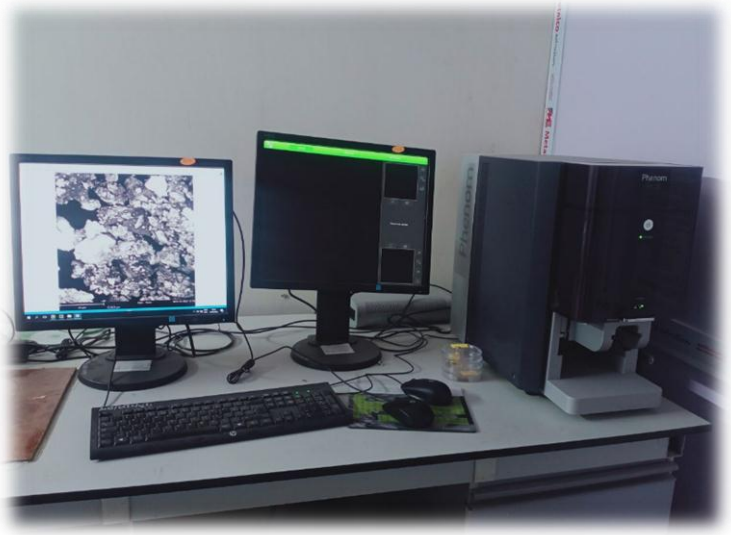
انحراف معياري	**0,5470**	**R^2**	**0,97**
متوسط	16,98	**مُعدلةR^2**	0,95
		مُتنبأهR^2	0,89
		الدقة المناسبة	19,17

جهاز الترشيح تحت الفراغ

قياس درجة الحموضة

جهاز الطيف الضوئي

صورة فوتوغرافية لجهاز طيف الاشعة تحت الحمراء



الشكل: الماسح الضوئي الإلكتروني (SEM)

تم بحمد الله