استخلاص الغراء من جلود أسماك الجري

طالب الصفار
قسم الهندسة الكيمياوية – كلية الهندسة – جامعة بغداد - العراق

الخلاصة

وجد من خلال البحث إن جودة الغراء المستخلص يعتمد على النقاط التالية:

١. تجنب التلوث البكتريولوجي للجلود أثناء جمعها من الأسواق وذلك بحفظها في مكان بارد لتبقى طازجة لحين عملية الاستخلاص.

٢. تنظيف الجلود من اللحوم والدهون العالقة بها وغمر الجلود المنظفة في الماء المقطر دالته الحامضية (pH=4) لمدة ساعتين قبل الاستخلاص.

٣. يضاف الماء المقطر فقط الى الجلود بنسبة وزنية (1:2) في وعاء الاستخلاص والتسخين لمدة ساعة واحدة بدرجة حرارة لا تزيد عن (70 م°).

٤. يبرد المستخلص ويضاف له الكحول الاثيلي بتركيز (90 %) لترسيب الغراء وقصر لونه ولتجنب التلوث البكتريولوجي.

٥. يجمع الغراء في أطباق واسعة ويجفف بتيار من الهواء عند درجة حرارة الغرفة. الغراء المجفف يمكن خزنه لعدة سنوات في مكان جيد التهوية دون أن تتأثر خواصه.

المقدمة

جزيئه الكولاجين Collagen تنتمي إلى عائلة البروتينات الليفية وهذه البروتينات تشكل 25 % من البروتينات الموجودة في الكائنات الحية المتعددة الخلايا بشكل شبكة لأنسجة الجلد والعظام والأسنان والغضاريف والروابط العضلية والأوعية الدموية .

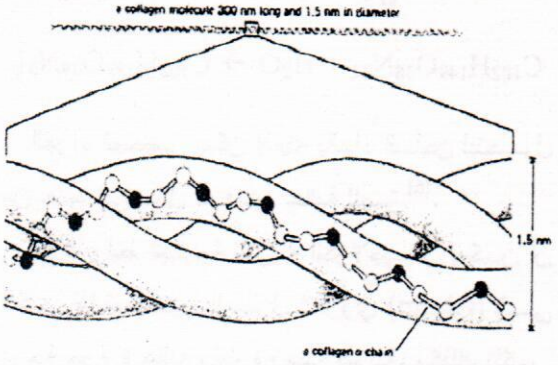
إن جزيئة الكولاجين صلبة ولها قوة شد عالية تتكون من ثلاث ضفائر[2] (شكل-١) كل ضفيرة هي سلسلة من الببتايد المتعدد (poly peptide) يدعى سلسلة ألفا (α – chams) طول الجزيئة (300 nm) وقطرها (1.5 nm).

إن سلسلة ألفا تحتوي بحدود (1000) حامض أميني وخاصة الحامض الأميني المعروف بصغر حجمه الكلايسين (Glycin) الذي يتعاقب بعد كل اثنين من الأحماض الأمينية الأخرى مشكلا ثلث مكونات جزيئة الكولاجين [3] التي تتكون من عدة أنواع من الأحماض الأمينية (جدول – 1) .

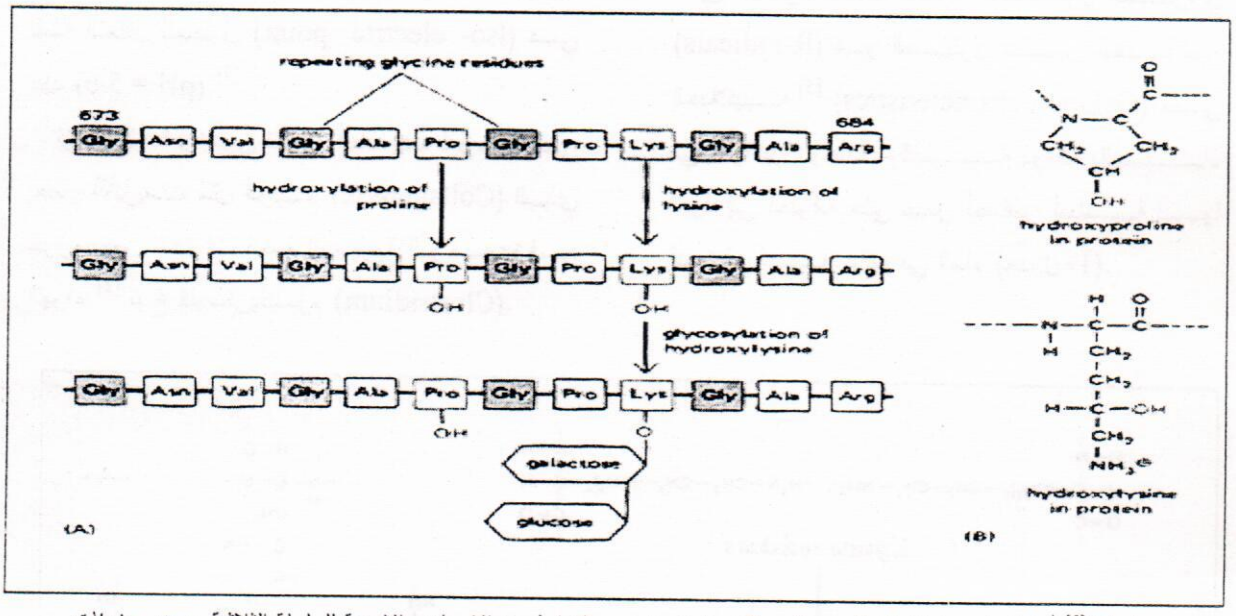
إن تعاقب هذا الحامض الأميني يعطي الشكل المنظم للجزيئة، بعض الأحماض الأمينية تظهر بشكل قاعدي خلال السلسلة مثل الايسين والبرولين اللذان يظهران بشكل (Hydroxylisine) و (Hydroxyproline) على التوالي وظهورهما على هذا الشكل يحدث خلال ارتباط الأحماض الامينية مع بعضها لتكوين جزيئة الكولاجين [2] مما يؤدي الى تداخل الروابط الهيدروجينية بين السلاسل الثلاثة (شكل– 2) لتكون الظفيرة اكثر تماسكا وصلابة.

إن هذا الترابط غير موجود في أي نوع من أنواع البروتينات الأخرى ، فالهايدروكسي لايسين الموجود في السلسلة يمكن ان يرتبط مع جزيئه او جزيئتين من السكر وارتباطهما بهذا الشكل يمكن ان يزيد من قوى الترابط بين سلاسل الكولاجين[4] ،كذلك يمكن للهابدروكسي لايسين أن يرتبط مع هيدروكسي لايسين آخر موجود في جزيئه أخرى من جزيئات الكولاجين

لتكوين الالديهايد او الهستايدين (شكل – 3). هذا الترابط يساهم في زيادة التماسك بين جزيئات الكولاجين مع بعضها (cross-link). إن الترابط بين جزيئات الكولاجين يحدث أثناء نمو الكائن الحي فبعد أن تفرز الكولاجين من الخلايا المكونة لها والموجودة في جسم الكائن الحي ترتبط مع بعضها بهذه الروابط، إضافة إلى وجود روابط أخرى[5] من نوع فاندرفال لتشكل مركب بولميري مستقر يطلق عليه الأليفة الكولاجينية (Collagen fibrils) وتسمى أيضا (Trop Collagen) الذي يبلغ طولها عدة أجزاء من المايكرومتر وبقطر (10 – 300 nm). هذه التراكيب تتجمع مع بعض مكونة حزم يطلق عليها الألياف الكولاجينية (Collagen Fiber) (شكل – 4).



شكل (1)[2] رسم تخطيطي يوضح جزيئة الكولاجين بهيئة ضفيرة



شكل (2)[5] مقطع في سلسلة الكولاجين يظهر 12 حامض اميني والترابط بين الاحماض الامينية للسلسلة الثلاثية. بعض جزيئات الهايدروكسيلايسين ترتبط مع جزيئات السكر (A) . وجزيئات اللايسين والبرولين بشكل قاعدي (B) .

إن جزيئات الكولاجين توجد بأنواع متعددة وهناك بحدود (100) نوع، تصنف، بأربعة أصناف رئيسية (جدول – ٢) يشكل الصنف الأول (95 %) من الكولاجين الكلي[2] في الكائنات متعددة الخلايا وخاصة أنسجة الجلد. إن قوى الترابط بين جزيئات الكولاجين تختلف حسب نوع الحيوان وبيئته ودرجة حرارة جسمه ونوع النسيج[4].

إن قابلية هذه الأنسجة للتحلل بفعل الحرارة ارتبط بنوعية الأحماض الأمينية الرابطة وخاصة البرولين والهايدروكسي برولين. إن درجة الحرارة التي تبدأ عندها نصف الألياف الكولاجينية بالتحلل T_m ترتبط بدرجة حرارة جسم الحيوان وكذلك بدرجة الحرارة التي ينتهي عندها التحلل (T_s) (جدول – ٣).

إن تسخين جلود الحيوانات بالماء يؤدي إلى تحلل الألياف الكولاجينية (Hydrolysis) وتتحول إلى محلول يطلق عليه (Glutin) عند تبريد هذا المحلول يأخذ شكل الجلاتين (Gelatin) وعند تجفيفه يتحول الى كتلة صلبة تسمى الغراء (Glue) بوزن جزيئي

(250,000–20,000) يختلف حسب طريقة التحضير[5] ونوع الحيوان المأخوذ منه الجلد. بصورة عامة يمكن كتابة معادلة التحلل كما يلي:

$$C_{102}H_{149}O_{38}N_{31} + H_2O \rightarrow C_{102}H_{151}O_{39}N_{31}$$

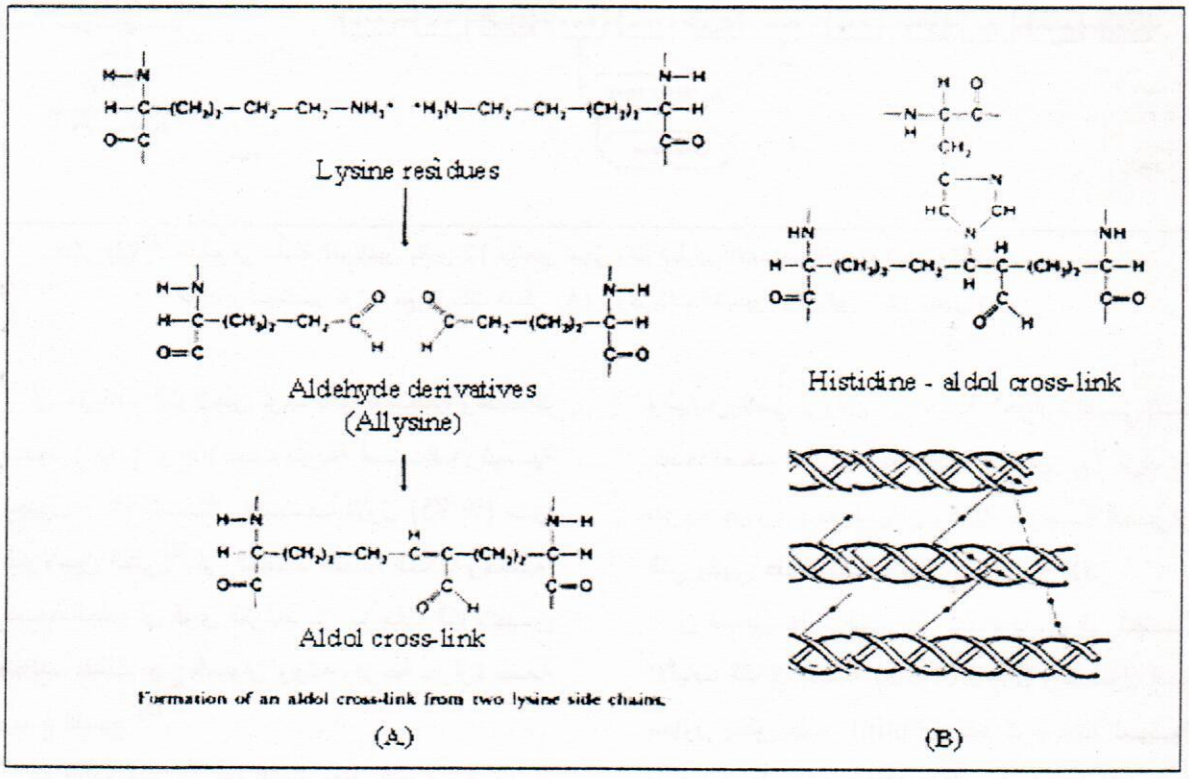
الغراء المحضر يمكن إذابته بالماء الساخن ليتحول من جديد إلى سائل له قابلية عالية للصق[6].

إن الروابط الببتيدية لجزيئة الكولاجين يمكن أن تتكسر إذا تم تسخين المحلول الغروي (Glutin) إلى درجة حرارة عالية ولفترة زمنية طويلة، وكذلك تتكسر الروابط الببتيدية إذا تعرض المحلول إلى محيط حامضي (pH<2) او محيط قاعدي (pH>9). إن نقطة التعادل للمحلول (Iso- electric point) هي عند (pH = 5.6) [5].

إن جزيئة الكولاجين تتكسر أيضا عند تعرضها إلى بعض الأنزيمات مثل أنزيم (Collagenase) الذي تفرزه بعض الكائنات الحية المجهرية الموجودة في الهواء [2] نوع كلوستريديوم (Clostridium).

الغراء المجفف يمكن خزنه لفترة طويلة (عدة سنوات) في مكان جاف جيد التهوية دون أن يتعرض إلى التلف [5] وحبيباته تكون بلون ابيض مصفر إلى قهوائي عديم الطعم والرائحة كثافته بحدود (1.27 غرام/سم^3) ونسبة الرطوبة فيه (10-14%) ينتفخ إذا وضع في الماء البارد ويتحول إلى محلول غروي في الماء الساخن ليس له شكل معين (Amorphous) ، يترسب المحلول المائي بالكحول وحامض التنيك وحامض الكريك والمحلول المشبع لكبريتات الزنك والألمنيوم والحديد.

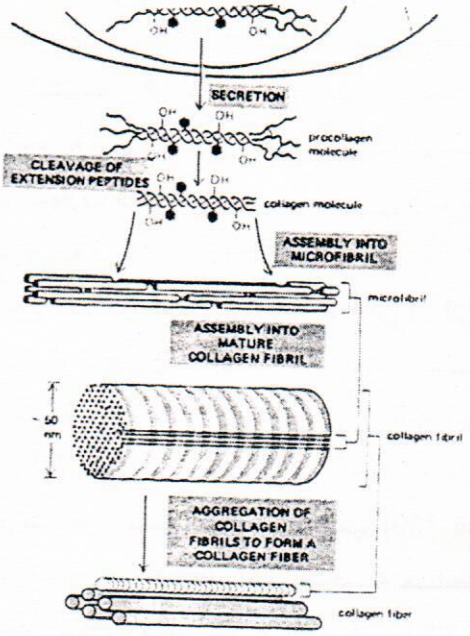
إن الجزء المستقطب للمحلول الغروي (R-radicals) هو المسئول عن الخواص الجيلاتينية [5] (Gelation characteristics) حتى في التراكيز الواطئة، وقابلية ذوبانه بالماء تعود إلى احتوائه على خمس أحماض أمينية لها قدرة ذوبانية عالية في الماء (جدول-1).



شكل(3)[5] الترابط بين نهايتي اثنين من اللا يسين (A)، تكوين الهستايدين (B) الترابط بين جزيئة الكولاجين وبين الجزيئات مع بعضها.

إن طرق استخلاص الغراء تعتبر سر من أسرار الشركات المصنعة له [7] وخاصة غراء السمك لأن هذه المادة تم استخلاصها نهاية (1800 أو بداية 1900). المعروف علميا إن غراء السمك يستخلص من جلود سمك الكود (Cod skin) وان الطن الواحد من جلود السمك يعطي (50 لتر) من الغراء .

البحث الحالي يحدد الأسس الأولية لدراسة طريقة استخلاص الغراء من الجلود بصورة عامة وجلود اسماك الجري بصورة خاصة والمتوفرة في أسواق السمك في بغداد يوميا كفضلات صلبة وبكلفة قليلة جداً.



شكل (4)[5] رسم تخطيطي يوضح عملية افراز جزيئات الكولاجين من داخل الخلايا المكونة لها، ثم ارتباط هذه الجزيئات مع بعضها واستقرار شكلها نتيجة لوجود اواصر (cross-links) بين جزيئات الكولاجين لتكوين الالياف الكولاجينية.

إن غراء الأسماك له استخدامات عديدة في الصناعة وخاصة في اللواصق الورقية لقابليته العالية في اللصق عند إعادة ترطيبه (Re – mois ten ability) حتى في الماء البارد. لذلك يمزج بنسب مع الغراء الحيواني لاستخدامه كلاصق للظروف البريدية والطوابع البريدية، وبقوة لصق عالية وسريعة (instant tack) ولمختلف السطوح الخشبية والمعدنية والزجاج والسيراميك. ان اكثر استخدامات غراء الأسماك هو في فن الكرافيك حيث يصبح الغراء حساس الى الضوء بعد خلطه ببعض المركبات الكيمياوية ويفقد قابليته على الذوبان في الماء، كذلك يمكن ان يفقد الغراء قابليته للذوبان في الماء إذا تم إضافة بعض المركبات الكيمياوية كالفورمالديهايد أو تعرضه لبخار الفورمالديهايد [6] لذلك يستخدم في الصناعات الورقية المقاومة للماء مثل الأوراق النقدية وغيرها من الصناعات الخشبية والفلين إضافة إلى استخدامه في الصناعات الغذائية والدوائية.

جدول (1) الأحماض الأمينية للغراء [5]

Amino Acid	Residues Per 1000 Total of All Residues	Character of R-Radical	
		Polarization	Ionic Character
Glycine	335.0	Nonpolar	Neutral
Proline	128.0	Nonpolar	Neutral
Alanine	113.0	Nonpolar	Neutral
Hydroxyproline	94.5	Polar	Neutral
Glutamic acid	72.0	Polar	Acid
Arginine	47.0	Polar	Basic
Aspartic acid	46.5	Polar	Acid
Serine	35.0	Polar	Neutral
Lysine	27.0	Polar	Basic
Leucine	23.0	Nonpolar	Neutral
Valine	20.0	Nonpolar	Neutral
Threonine	18.0	Polar	Neutral
Phenylalanine	13.0	Nonpolar	Neutral
Isoleucine	12.0	Nonpolar	Neutral
Methionine	5.0	Polar	Neutral
Hydroxylycine	5.0	Polar	Basic
Histidine	4.5	Polar	Basic
Tyrosine	1.4	Weakly polar	Very weakly acid

جدول (2) أصناف جزيئة الكولاجين[2]

Type	Composition	Distribution
I	$[\alpha 1\ (I)]_2\alpha 2$	Skin, tendon, bone, cornea
II	$[\alpha 1\ (II)]_3$	Cartilage, intervertebral disc, vitreous body
III	$[\alpha 1\ (III)]_3$	Fetal skin, cardiovascular system
IV	$[\alpha 1\ (IV)]_3$	Basement membrane

جدول (3) الثباتية الحرارية للجلود[2]

Source	Proline plus hydroxyproline (per 1000 residues)	Thermal stability (°C)		Body temperature (°C)
		T_s	T_m	
Calf skin	232	65	39	37
Shark skin	191	53	29	24-28
Cod skin	155	40	16	10-14

آليـــة عمـــل الاستخلاص

تحضيـــر الجلـــود

تجمع الجلود من الأسواق المحلية لبيع السمك وهـــي طرية، تغسل لمدة ربع ساعة بالماء الجـــاري درجـــة حرارته بحدود (17 م°) , تعـــزل الجلـــود الصغـــيرة والمتضررة . القطع الصالحة للتجارب تجمـــع بشـــكل كوم للتخلص من الماء الزائد بعد ذلك تـــوزن الجلـــود بميزان حساسيته (0.01 غـــرام) . اســـتخدم مـــيزان كهربائي نوع (Mettler 2000) في جميع التجارب.

تنظف الجلود التي وزنت، من المواد العالقـــة بـــها (اللحم والدهن) بواسطة السكين على لوح خشبي ملائم. توزن من جديد بعد التنظيف لمعرفـــة نســـبة المـــواد العالقة. تخزن بدرجة حرارة (4– م°) لحين استخدامها بالتجارب.

وجد من خلال التجارب التي أجريت إن معدل وزن المواد العالقة يشكل (51 %) من وزن الجلود الأصلي، هذه المواد يتم طهيها تحت تأثير الضغط عنـــد درجـــة حرارة عالية فيتحول الدهن إلى زيت اصفر رائق يطفو عند التبريد يمكن الاستفادة منه في الصناعـــة. المـــواد المتخلفة الأخرى معظمها بروتين (لحم السمك) تجفـــف وتسحق وتستخدم كعلف للدواجن.

العوامل المؤثرة على استخلاص الغراء من الجلود

وجد من خلال التجارب إن هناك عوامـــل عديـــدة أخرى تؤثر على استخلاص الغراء من جلود الأسماك، يجب دراستها للحصول على غراء بنوعية جيدة وبلـــون ابيض وكذلك لتحديد الفترة الزمنية اللازمـــة لعمليـــة الاستخلاص ومعرفة الطاقـــة الحراريـــة المصروفـــة وإيجاد طريقة لتركيز الغراء أي التخلص مـــن المـــاء الزائد دون التعرض للحرارة العاليـــة وإضافـــة مـــادة حافظة تجنب التلوث البكتريولوجي للغراء المستخلص. يمكن تحديد ثلاث عوامل رئيسية يتم دراستها وهي:

١. الدالة الحامضية pH للماء التي تنقع فيه الجلود قبل عملية الاستخلاص.

٢. كمية الماء المضاف في وعاء الاستخلاص ودرجـــة الحرارة أثناء العملية.

٣. الفترة الزمنية الازمة لاكمال عملية الاستخلاص.

ان دراسة هذه العوامل متفردة قد تساعد في معرفـــة الية عملية الاستخلاص.

١. الدالة مضية pH

من خلال التجارب التي أجريت لوحظ إن الجلـــود التي يتم نقعها بالماء المقطر يـــزداد وزنـــها (تنتفـــخ) والغراء المستخلص يكون افضل فيما لو استخدم المـــاء الاعتيادي كما وجد إن نقع الجلود بالمحاليل الحامضيـــة والقاعدية ضمن (pH = 6±2) تكون الفـــترة الزمنيـــة لعملية الاستخلاص اقل أي إن سرعة تحلـــل الجلـــود تزداد. لمعرفة ما يحدث خلال عمليـــة نقـــع الجلـــود أجريت التجارب التالية في درجـــة حـــرارة (17 م°) وهي موضحة في الشكل (5).:

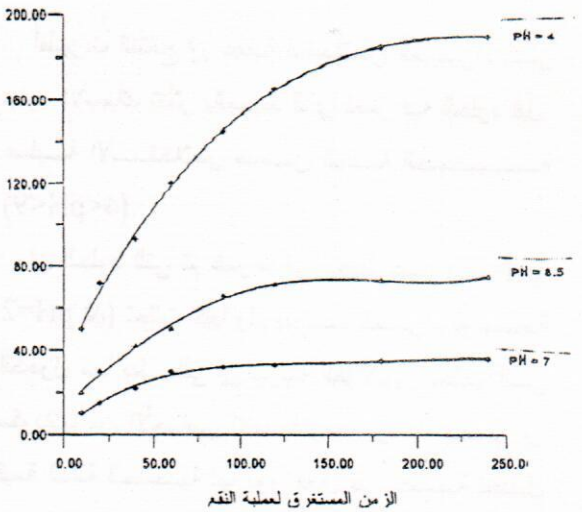
١. تم نقع قطعة من الجلد تزن (100 غم) في (١ لتر) من الماء المقطر (pH=7) في اناء زجاجي ســـعة (2 لتر) ومراقبة مقدار الزيادة في وزن قطعة الجلد لمدة (4) ساعات.

٢. أجريت تجربة مشابهة لقطعة تزن أيضا (100 غم) في ماء مقطر (pH=4) وذلك بإضافـــة حـــامض الهايدروكلوريك والســـيطرة علـــى قيمـــة الدالـــة الحامضية باستخدام جـــهاز (pH meter) نـــوع (Metro HM 605).

٣. تم نقع قطعة مشابهة (100 غم) فـــي مـــاء دالتـــه الحامضية (pH = 8.5) وذلك بإضافة هيدروكســـيد الصوديوم للماء المقطر والسيطرة على قيمة الدالـــة الحامضية كما في التجربة السابقة.

٢ ف ود ء عملية الاستخلاص

إن تحديد كمية الماء المقطر المضاف الى الجلـــود خـــلال عمليـــة الاســـتخلاص يجنـــب التســـخين



شكل (5) منحني يوضح الزيادة بالوزن لقطعة من الجلد مغمورة في محاليل مختلفة الـ pH

الإضافي لغرض تركيز المحلول, ويقلل من الطاقة الحرارية المصروفة لعملية الاستخلاص. لمعرفة تأثير نسبة الماء المضاف على عملية الاستخلاص تم أجواء التجارب التالية:

١. نقع (4/1 كغم) من الجلود في الماء المقطر درجة حرارته (17 م°) لمدة ثلاث ساعات, بعد ذلك نقلت الجلود الى دورق الاستخلاص وأضيف الماء المقطر بحيث اصبح الوزن الكلي لمحتويات الدورق (2/1 كغم) أي نسبة (1:1). وضع مكثف عاكس للفتحة الوسطية للدورق الزجاجي سعة (2 لتر) ومحرار زئبقي للفتحة الجانبية للدورق لمراقبة درجة الحرارة وجعلها بحدود (90 م°) خلال فترة التسخين عن طريق السيطرة على مصدر التسخين الكهربائي (Heating Mantle).

تحللت قطع الجلود إلى محلول لونه بني, بُرِدَ المحلول إلى درجة حرارة (30 م°) ورشح على قطعة قماش مربعة (خام ابيض) معروفة الوزن. وزنت المخلفات المتبقية على قطعة القماش, أما الراشح فتم ترسيب الغراء منه بإضافة الكحول المثيلي (90 %) مباشرة إلى الراشح مع التحريك المستمر. إن الغراء المترسب يكون لونه ابيض ناصع يجمع ويوضع في أناء واسع ويجفف بتسليط تيار من الهواء في درجة حرارة الغرفة وبعد التأكد من جفافه يوزن ويحول وزنه نسبة إلى وزن (100 غم) من الجلود المنظفة.

أجريت تجارب مشابهة للتجربة السابقة بعد زيادة كمية الماء المقطر المضاف إلى الجلود بحيث تكون النسبة الوزنية للماء الى الجلود (1:2) و (1:3) و (1:4).

٢. لمعرفة تأثير درجة الحرارة أثناء عملية الاستخلاص على كمية ونوعية ولن الغراء تم اتباع نفس أسلوب التجارب الأربعة السابقة بعد السيطرة على درجة الحرارة عند (70 م°) وكذلك تم إعادة التجارب عند درجة حرارة (60 م°) , وفي الحالتين كان لون الغراء بني فاتح تم ترسيبه أيضا بالكحول الاثيلي (90%) ثم جفف ووزن وحول وزنه نسبة إلى (100 غم) من الجلود.

نتائج التجارب السابقة موضحة بالشكل (6).

٣. *الفترة الزمنية لعملية الاستخلاص*

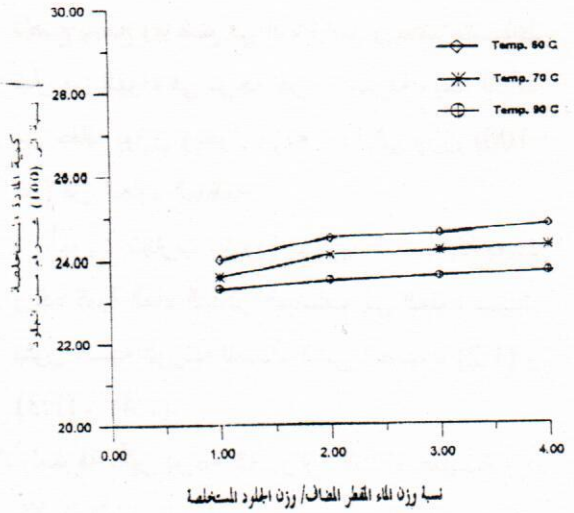
اتضح من خلال التجارب السابقة إن الغراء المستخلص يكون افضل ولونه اقرب الى البياض إذا تم تقليل الفترة الزمنية لعملية الاستخلاص (الفترة التي يتعرض بها الغراء للحرارة).

لمعرفة الفترة الزمنية اللازمة لعملية الاستخلاص أجريت التجارب التالية في درجة حرارة (70 م°) ولمدة ثلاث ساعات لكل تجربة, نسبة اضافة الماء إلى الجلود هي (1:2) لكل التجارب.

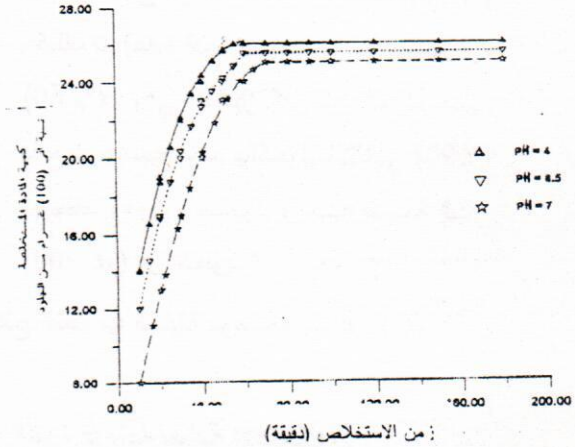
اتبعت نفس طريقة العمل لتحديد كمية الماء المضلف للتجارب السابقة وباستخدام نفس الدورق سعة (2 لتر).

التجربة الأولى: جلود منظفة (4/1 كغم) تم نقعها بالماء عند (pH=7) لمدة ثلاث ساعات.

التجربة الثانية: جلود منظفة (4/1 كغم) تم نقعها بالماء عند (pH=4) لمدة ثلاث ساعات.



شكل (6) علاقة توضح كمية الغراء المستخلص نسبة الى وزن الماء المضاف



شكل (7) منحني يوضح كمية المادة المستخلصة خلال عملية الاستخلاص

التجربة الثالثة: جلود منظفة (4/1 كغم) تم نقعها بالماء عند (pH=8.5) لمدة ثلاث ساعات.

خلال عملية الاستخلاص تم سحب عينات من المحلول المستخلص بواسطة قطارة من الفتحة الجانبية للدورق بفترات زمنية ثابتة كل (10) دقائق. يوزن من كل عينة (1 غم) بصورة دقيقة وبسرعة في أطباق زجاجية معروفة الوزن ومرقمة باستخدام ميزان حساسيته (0.01 غم).

تجفف العينات بتيار من الهواء في درجة حرارة الغرف. توزن لمعرفة وزن الغراء المترسب في كل طبق من الأطباق, تحول هذه الأوزان إلى وزن الغراء المترسب نسبة إلى (100) غرام من الجلود. نتائج التجارب موضحة بالشكل (7).

المناقشة والاستنتاجات

أظهرت النتائج إن عملية استخلاص الغراء من جلود الأسماك تتأثر بالمحيط الذي تغمر فيه الجلود قبل عملية الاستخلاص ضمن الدالة الحامضية (4<pH<9).

إن الجلود التي تم غمرها في محيط عند (pH=11 & pH=2) تحللت كليا ولم يترسب الغراء بواسطة الكحول مما يدل على إن جزيئه الكولاجين تحللت الى مكوناتها من الأحماض الأمينية وهذا يرشدنا إلى إن قيمة الدالة الحامضية لها دور فعال في عملية تحلل الكولاجين, اختيار القيمة الملائمة من الـ(pH) يحتاج إلى دراسة إلى كل نوع من أنواع الجلود المدروسة.

الجلود التي غمرت بالماء المقطر عند (pH=4) انتفخت الى ما يقرب ثلاث أضعاف وزنها الاصلي (شكل – 5), إن تنافذ الماء هو نتيجة لارتفاع الضغط التناضحي داخل قطعة الجلد وذلك بسبب تحلل الاليلف الكولاجينية وفقدان الأواصر الرابطة بين حزم الكولاجين عند هذه القيمة للدالة الحامضية.

إن الابتعاد عن نقطة التعادل الكهربائي (Iso-electric point)التي هي بحدود (pH=5.6) لغراء الأسماك [7] , يمكن أن يؤدي إلى تغيير في شكل الجزيئات الموجودة في المحلول وتغيير في الخواص الفيزيائية للمحلول, فاللزوجة في المحاليل المخففة للغراء المستخلص من جلود العجول يزداد إلى حدود (6) أمثال عند (pH=3) عنها عند (pH=5)[9] .

إن القوى الجيلاتينية (Gelling Forces) بين الجزيئات تزداد عندما يكون معدل الوزن الجزيئي بحدود (20000) وذلك لازدياد الروابط الهيدروجينية بين مجاميع (>NH & > CO) للجزيئات المتجاورة[8] ، وهذه تعتمد على قيمة الشحنة السائدة في المحيط والتي عندها تسبب ترابط قوي ومستمر بين الجزيئات. إن استمرارية الترابط وزيادة الصلابة (Rigidity) للغراء عند هذه القيمة من الوزن الجزيئي يمكن أن يفسر نتيجة التتابع في تنظيم الاحماض الامينية (Sequence Amino Acid) بين الجزيئات مع بعض.

إن الوصول إلى هذه القيمة من الوزن الجزيئي هو عن طريق السيطرة على قيمة الدالة الحامضية ومدى ابتعادها عن نقطة التعادل الكهربائي للغراء المستخلص وهذه تعتمد على طبيعة الجلود والبيئة التي يعيشها الحيوان المأخوذ منه الجلد لاستخلاص الغراء.

إن جلود الأسماك التي تم غمرها عند الدالة الحامضية (pH=8.5) كان لون الغراء المستخلص رمادي ويظهر أن الصبغة الموجودة على السطح الخارجي للجلود قد تحللت عند هذه القيمة منالدالة الحامضية. إن رفع درجة الحرارة خلال عملية الاستخلاص إلى اكثر من (70 م°) غير مرغوب فيه[10] , إن سبب ذلك يمكن أن يعود الى إن لون الغراء يتغير عند رفع درجة الحرارة حيث يصبح بلون بني, وكذلك يسبب زيادة في تحلل جزيئات الكولاجين وتحولها الى احماض امينية,حيث أظهرت النتائج إن رفع درجة الحرارة إلى (90 م°) سبب في تغير لون الغراء إلى البني وكذلك كانت كمية الغراء المتريب بالكحول أقل من الغراء الذي تم ترسيبه عند درجة حرارة (70 م° و 60 م°) (الشكل 6).

إن الفترة الزمنية اللازمة لاستخلاص الغراء من جلود الأسماك تعتبر قصيرة (ساعة واحدة) (الشكل-7) مقارنة مع الغراء المستخلص من جلود الحيوانات الأخرى والتسخين عند درجة حرارة (70 م°) لا تؤثر على الغراء المستخلص من حيث اللون أو الخواص الأخرى. لذلك تعتبر قيمة معقولة ومفضلة.

إن اختيار درجة حرارة أقل من (70 م°) قد تكون غير كافية لقتل الأحياء المجهرية وتعقيم المحلول، إن حفظ الجلود طرية في درجة حرارة منخفضة (4- م°) لحين استعماله يساعد على عدم تكاثر الأحياء المجهرية نوع (كلوستريديوم) التي تفرز أنزيم المحلل كولاجينيز (Colagenase).

إن وجود الأحياء المجهرية وفرزها الأنزيم يسبب تلوث الغراء المستخلص لأن هذا الأنزيم له قابلية في الاستمرار على تحلل جزيئة الكولاجين حتى في حالة موت الكائنات الحية. كذلك يمكن حفظ الجلود بعملية التمليح والتجفيف وهي طريقة تستخدم عالميا في حفظ جلود سمك الكود[7] .

إن الجلود المملحة يمكن إرجاعها طرية في حالة غسلها ثم طمرها في الماء المقطر.

إن أيجاد طريقة ملائمة لتجفيف الغراء تعتبر مشكلة صناعية لأن التجفيف يجب أن يتم في درجة حرارة منخفضة لتجنب تحلل الغراء عند الحرارة العالية أو مهاجمته من قبل الكائنات الحية عند درجة حرارة الغرفة ويمكن استخدام المواد الحافظة لتجنب التلوث البكتريولوجي.

في هذا البحث تم استخدام طريقة ترسيب الغراء بواسطة الكحول الأثيلي (90 %). إن هذه الطريقة تساعد على جعل الغراء المستخلص عالي النقاوة لأن المواد البروتينية والأحماض الامينية الموجودة في المحلول لا تترسب في الكحول وتساعد أيضا في قصر لون الغراء وجعله بلون ناصع البياض ويساهم في تعقيم المحلول المستخلص لحين عملية التجفيف.

إن الغراء المجمع بطريقة الترسيب بالكحول يوضع في أطباق واسعة ويجفف عند درجة حرارة الغرفة بواسطة تيار من الهواء، إن الكحول يمكن تركيزه من جديد و أعادة استعماله والكمية المفقودة قليلة نسبيا. الغراء المجفف في درجة حرارة الغرفة جيدة التهوية دون أن تتأثر خواصه لعدة سنوات دون إضافة أي مادة حافظة أخرى.

المصادر

1. Ramachandran, G. N. and Rejdi, A. H., Biochemistry of collagen,
2. (1976), Paenum.
3. Lubert Stryer, Biochemistry, W. H. Freeman and Company, (1981),
4. Sanfrancisco.
5. Hay, E. D., Cell Biology of extra cellular Matrix, (1982), New York.
6. Bruce Albert, Molecular Biology of cell, Garland Publishing (1983), New York.
7. John, R. H., Animal Glue, In, I. Skeist, Hand book of Adhesives, Reinhold (1962), New York.

8. R. Houwink, G. Salomon, Adhesion and Adhesives, Elesvir pubblishing company (1965).
9. H. C., Walsh, Fish Glue, I. Skeist, Hand book of Adhesives, Reinhold (1962), New York.
10. A. E. Ward, The chemical structure and physical properties of gelatin, J. phot. Sci, 3(1955) 60.
11. G. Stainsby, Viscosity of dilute gelatin solution, Nature, 169(1952) 662.
12. British Standard 647:1959. Sampling and testing glues.