

بررسی اثر کیتوزان بر برخی از ویژگی‌های میکروبی و شیمیایی آب پرتقال

مریم جیرانی خامنه^{۱*}، یحیی مقصدلو^۲

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت ا. ا. علمی، دانشکده کشاورزی، دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، آمل، ایران.

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: Maryam.jeirani@gmail.com

(دریافت مقاله: ۹۱/۲/۱۶ پذیرش نهایی: ۹۲/۴/۱۸)

چکیده

یکی از موانع تجارت آب پرتقال محدود بودن زمان ماندگاری آن است. فساد میکروبی از دلایل کاهش کیفیت آب پرتقال در طول زمان ذخیره‌سازی محسوب می‌گردد. هدف از این تحقیق مطالعه امکان استفاده از کیتوزان به عنوان ماده نگه‌دارنده طبیعی برای افزایش ماندگاری آب پرتقال طبیعی بود. در این مطالعه کیتوزان با غلظت‌های ۰، ۰/۴، ۰/۸، ۱، ۱/۲، ۱/۶ و ۲ گرم بر لیتر به آب پرتقال تازه اضافه و در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری گردید. در طی دوره نگهداری کیفیت شیمیایی (اندازه‌گیری بریکس و pH) و میکروبی (شمارش کلی باکتریایی) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد افزایش غلظت کیتوزان، اثر معنی‌داری ($p < 0/05$) بر مهار رشد میکروبی آب پرتقال دارد. هم‌چنین استفاده از کیتوزان با غلظت‌های بالاتر موجب افزایش pH و کاهش میزان بریکس در آب پرتقال شد. طوری که بریکس آب پرتقال کمترین مقدار را برابر با ۱۲/۰۳ و pH بیشترین مقدار را برابر با ۴/۵۱ در غلظت کیتوزان ۲ گرم بر لیتر دیده شد. هم‌چنین شمارش کلی میکروبی (total bacterial count) آب پرتقال بیشترین مقدار را برابر با ۳/۴۵ Log cfu/ml در نمونه شاهد و کمترین مقدار را برابر با ۲/۴۳ Log cfu/ml در غلظت کیتوزان ۱/۶ و ۲ گرم بر لیتر داشت. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که کیتوزان می‌تواند به عنوان یک ماده نگه‌دارنده طبیعی برای طولانی کردن زمان ماندگاری آب پرتقال تازه و به عنوان یک جایگزین برای پاستوریزاسیون مورد استفاده قرار گیرد. بنابراین می‌توان از استفاده روش‌های حرارتی متعارف که اثرات منفی روی ارزش تغذیه‌ای آب پرتقال دارند، اجتناب نمود. البته انجام تحقیقات بیشتر در خصوص طیف ضد میکروبی کیتوزان بر میکروب‌های مختلف ضروری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: کیتوزان، آب پرتقال، ویژگی‌های شیمیایی، فساد میکروبی

مقدمه

با رشد روز افزون جمعیت افزایش میزان مواد غذایی اهمیت فوق العاده‌ای پیدا کرده است. وجود تکنولوژی پیشرفته در صنعت مواد غذایی سبب شده است که بتوانیم حداکثر استفاده را از تولیدات کشاورزی به عمل آوریم و از ضایع شدن محصولات کشاورزی جلوگیری نماییم. صنعت آب‌میوه یکی از جدیدترین رشته‌های صنایع غذایی است علی‌رغم اینکه به تازگی در ایران معمول گردیده به عنوان یکی از روش‌های حفاظت و جلوگیری از ضایعات میوه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. آب‌میوه مایعی است که معمولاً در گیاهان یافت می‌شود و یکی از نوشیدنی‌های رایج دنیا است و به موازات افزایش جمعیت جامعه، مقدار مصرف آن نیز افزایش می‌یابد. آب‌میوه‌ها حاوی ترکیب خاصی از مواد مغذی هستند که برای حفظ و سلامتی سودمندند و به کاهش خطر ابتلا به بعضی از بیماری‌ها منجر می‌شوند (Soliva et al., 2003). در دهه‌های اخیر به موازات افزایش آگاهی مردم نسبت به بهداشت عمومی و اهمیت یافتن مسئله حفظ سلامت، مصرف سرانه انواع آب‌میوه طبیعی نیز افزایش یافته است. صنعت آب‌میوه‌گیری در هر کشوری از صنایع اساسی در حوزه صنایع غذایی به شمار می‌رود. در صنعت، آب‌میوه‌ها را برای ماندگاری، داشتن رنگ و ظاهری ایده‌آل پاستوریزه می‌کنند که در این روش غیر از به دست آمدن شکل و ظاهری مطلوب، ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی نیز مدنظر است (Watada et al., 1996).

اگرچه پاستوریزاسیون باعث جذابیت شکل ظاهری آب‌میوه‌ها و سالم‌سازی آنها از نظر بهداشتی می‌شود ولی در مقابل، این فرآیند به دلیل قرار دادن محصول در معرض حرارت، مقداری از مواد مغذی آنها از جمله

ویتامین C را که یک ماده ناپایدار در برابر حرارت و نور است، از بین می‌برد (Cortes et al., 2006). یکی از بزرگترین موانع برای تجارت آب پرتقال محدود بودن مدت زمان ماندگاری آن می‌باشد (Aihan et al., 2001). فساد میکروبی، تولید طعم نامطلوب و تجزیه اسید آسکوربیک سه دلیل مهم کاهش کیفیت آب پرتقال در طول مدت نگهداری می‌باشد (Cardello et al., 2007; Rosental, 1997). علی‌رغم اینکه پاستوریزاسیون آب پرتقال به طور قابل توجهی خطر ابتلا به بیماری‌ها را کاهش می‌دهد ولی باعث کاهش محتوای تغذیه‌ای آن می‌شود. به همین دلیل متخصصین صنایع غذایی به دنبال استفاده از تکنولوژی‌های جایگزین برای کنترل میکروارگانیسم‌های نامطلوب با کاهش کمتر کیفیت می‌باشند (FDA, 2005). کیتوزان (D-glucosamine -N-acetyl-β(1→4) پلی ساکاریدی است که بوسیله N-دی استیلاسیون کیتین از ضایعات خرچنگ و میگو تهیه می‌شود (Kamil et al., 2002) به عبارت دیگر کیتوزان از تجزیه کیتین که یک الیگوساکارید طبیعی می‌باشد و ترکیب اصلی دیواره سلولی سخت‌پوستان و حشرات است، بدست می‌آید (Ricardo et al., 1997). اثرات ضدقارچی و ضدباکتریایی کیتوزان به واسطه نیروهای الکترواستاتیکی بین گروه آمین پروتونه شده (NH₂) در کیتوزان و گروه با بار منفی در سطح سلول است. تعداد گروه‌های آمین پروتونه موجود در کیتوزان با بیشتر شدن درجه دی استیلاسیون افزایش می‌یابد که بر فعالیت ضدباکتریایی تاثیر می‌گذارد. بنابراین، تأثیر ضدباکتریایی کیتوزان و الیگومرهای آن وابسته به وزن مولکولی آنها است (Beverly et al., 2008).

والنسیا از بازارچه سنتی آمل خریداری و در دمای ۴ درجه سلسیوس تا زمان آب‌گیری نگهداری شدند.

آماده‌سازی آب پرتقال حاوی کیتوزان

پرتقال‌های پوست‌نکننده به صورت دستی با آب شهری شسته شدند و از نیمه بریده و با استفاده از آب‌میوه‌گیری اتوماتیک آب‌گیری انجام شد (مدل HS - CJ001، هاردستون). آب میوه تازه گرفته شده صاف شد تا پالپ و دانه‌ها گرفته شود. سپس کیتوزان با وزن مولکولی متوسط (شرکت سیگما - آلدریچ ایرلند Ltd. دوبلین، ایرلند) با غلظت‌های صفر (شاهد)، ۰/۴، ۰/۸، ۱، ۱/۲، ۱/۶ و ۲ گرم در لیتر به آب پرتقال‌ها اضافه و با میله شیشه‌ای به خوبی همزده و حل شدند (Martin-Diana et al., 2009). آب پرتقال‌ها به همراه نمونه شاهد در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس در ارلن‌های استریلی که با فویل آلومینیوم پوشانده بودند نگهداری شدند و بعد از ۱۲ ساعت آب پرتقال‌های حاوی کیتوزان صاف شدند زیرا اگر کیتوزان بیشتر از این در آب پرتقال بماند بر روی طعم و بوی آن تأثیر می‌گذارد همچنین آب پرتقال حاوی کیتوزان چنانچه بعد از ۱۲-۲۰ ساعت صاف نگردد معمولا دو فازه می‌شود که در غلظت‌های بالا این مورد به وضوح دیده می‌شود. بعد از صاف کردن فاکتورهای مورد نظر در همان روز و روزهای ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ اندازه‌گیری شدند (Martin-Diana et al., 2009).

اندازه‌گیری pH

هر کدام از نمونه‌ها به مقدار ۲۰ میلی‌لیتر در ارلن ۱۰۰ میلی‌لیتر ریخته شد و با استفاده از pH متر (مدل Istek، ۲۴۰L، چین) pH نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. عدد

کیتوزان به عنوان یک پلیمر طبیعی، سازگار با بافت‌های زنده، با قابلیت تجزیه زیستی به اجزاء طبیعی، سالم و غیرسمی، ضدقارچ، ضدتومور، دارای عملکرد زیستی و سازگار با محیط زیست می‌باشد (Barzegar et al., 2008; Dota, 2004; Aider, 2010). کیتوزان می‌تواند به عنوان یک عنصر طبیعی برای افزایش ماندگاری و بالا بردن ارزش غذایی آب پرتقال تازه مورد توجه قرار گیرد (Martini-Diana et al., 2009). بسیاری از دانشمندان بر این عقیده‌اند که کیتوزان از رشد اغلب باکتری‌ها جلوگیری می‌کند، اگرچه اثرات پیشگیری آن با وزن مولکولی و گونه باکتریایی تغییر می‌کند. طبق گزارشات Tajik و همکاران (۲۰۰۸) کیتوزان تهیه شده از سیست آرتمیا در باکتری‌های گرم مثبت اثرات ضدباکتری قوی‌تری را نسبت به باکتری‌های گرم منفی نشان می‌دهد. همچنین افزایش غلظت کیتوزان منجر به افزایش اثر ضد میکروبی آن می‌شود (Tajik et al., 2008). هدف از این تحقیق بررسی اثر افزودن کیتوزان بر روی ویژگی‌های شیمیایی نظیر بریکس و pH و ویژگی‌های میکروبی شامل شمارش کلی میکروبی در آب پرتقال می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد مصرفی

کیتوزان، یدور پتاسیم، ید، الکل، چسب نشاسته، آب مقطر، آب پیتون، محیط کشت پلیت کانت آگار (PCA)، کلیه حلال‌ها و مواد شیمیایی مورد استفاده تولیدی شرکت مرک و دارای درجه تجزیه‌ای بودند پرتقال‌های

آنالیز آماری

داده‌های حاصل از آزمایش‌ها بر اساس آزمون آماری ANOVA و آزمون چنددامنه‌ای توکی در سطح $\alpha=0/05$ توسط نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم-افزار Excel صورت پذیرفت.

یافته‌ها

بریکس

بر اساس نتایج آماری به دست آمده ملاحظه شد متغیر غلظت کیتوزان و متغیر زمان نگهداری بر طبق روز بر مقدار بریکس تأثیرگذار است ولی اثر متقابل این دو متغیر تأثیری بر مقدار بریکس ندارد. بررسی اثر سطوح مختلف غلظت کیتوزان بر مقدار بریکس آب پرتقال در زمان نگهداری صفر روز (در روز اول)، نشان داد که با افزایش غلظت کیتوزان از مقدار بریکس آب پرتقال کاسته می‌شود که در تمامی سطوح این کاهش معنی‌دار بود ($p<0/05$) بجز زمانی که این مقدار از صفر به $0/4$ تغییر می‌یافت این کاهش معنی‌دار نبود. همچنین در زمان نگهداری ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ روز، با افزایش غلظت کیتوزان مقدار بریکس آب پرتقال کاهش می‌یابد که در تمامی سطوح این کاهش معنی‌دار بود ($p<0/05$). نمودار ۱ نشان می‌دهد که با افزایش غلظت کیتوزان مقدار بریکس در آب پرتقال تازه و ذخیره‌شده در دمای ۴ درجه سلسیوس کاهش می‌یابد و همچنین با افزایش زمان نگهداری بر طبق روز - مقدار بریکس در آب پرتقال تازه و ذخیره‌شده در دمای ۴ درجه سلسیوس کاهش می‌یابد. همانطور که در نمودار ۱ ملاحظه می‌شود مقدار بریکس آب پرتقال کمترین مقدار را برابر $12/03$ در غلظت کیتوزان ۲ گرم بر لیتر و زمان نگهداری

مورد نظر به صورت لگاریتم منفی غلظت یون هیدروژن در محلول بیان گردید (Martin-Diana et al., 2009)

اندازه‌گیری بریکس

بریکس از طریق رفاکتومتر (ایندکس اینسترومنت، انگلستان) در ۲۰ درجه سلسیوس مشخص شد (Martin-Diana et al., 2009).

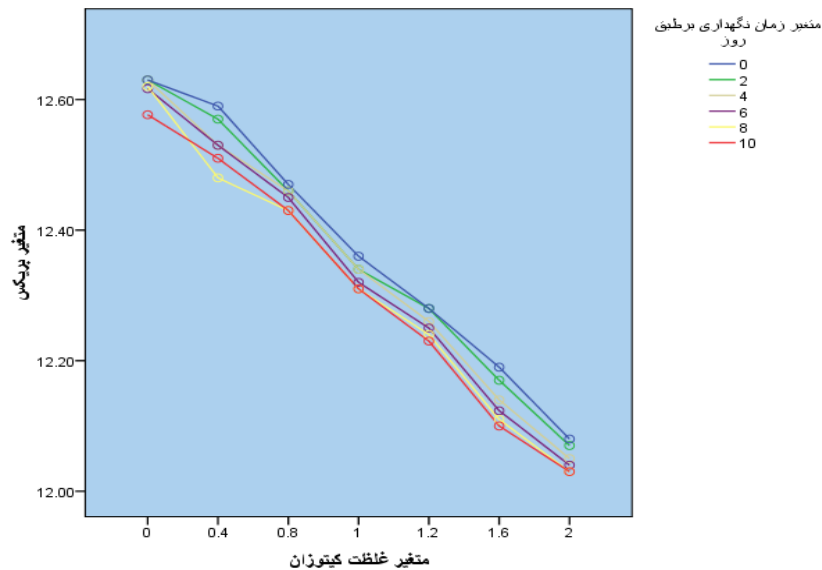
آزمون میکروبی (شمارش کلی)

کشت دادن آب پرتقال‌های حاوی کیتوزان در محیط کشت PCA

برای شمارش کلی میکروبی نمونه‌ها از روش کشت مخلوط و به صورت مضاعف یا دوپل استفاده شد. برای این منظور یک میلی‌لیتر از رقت 10^{-1} نمونه‌ها در شرایط آسپتیک و در مجاورت شعله به یک پلیت اضافه و به هر کدام از پلیت‌ها ۱۵ میلی‌لیتر از محیط کشت پلیت کانت آگار استریل شده اضافه گردید و پلیت‌ها به صورت هشت لاتین روی سطح صاف حرکت داده شد تا نمونه با محیط کشت بصورت کامل مخلوط شود و پلیت‌ها به صورت وارونه و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری شدند. پس از پایان این مدت پلیت‌ها را بررسی و در صورت تشکیل کلنی، شمارش گردید. چنانچه کلنی بر روی پلیت‌ها رشد نمی‌کرد نتایج به صورت منفی در هر میلی‌لیتر آب پرتقال بیان می‌شد. در موارد رشد کلنی، نتایج پس از محاسبه میانگین دو پلیت، به صورت تعداد میکروارگانیسم در یک میلی‌لیتر آب پرتقال بیان می‌شد (Martin-Diana et al., 2009). تمام مراحل آزمایشات و فاکتورهای ذکر شده نیز برای آب پرتقال تازه (نمونه شاهد) مورد انجام قرار گرفت.

نگهداری روز صفر دارد. از این رو تأثیر غلظت کیتوزان و زمان نگهداری بر میزان بریکس معنی‌دار بود ($p < 0/05$).

۱۰ و ۸ روز دارد و بیشترین مقدار را برابر ۱۲/۶۳ در نمونه شاهد و زمان نگهداری صفر و ۲ و ۴ روز و مقدار ۱۲/۵۹ در غلظت کیتوزان ۰/۴ گرم بر لیتر و زمان

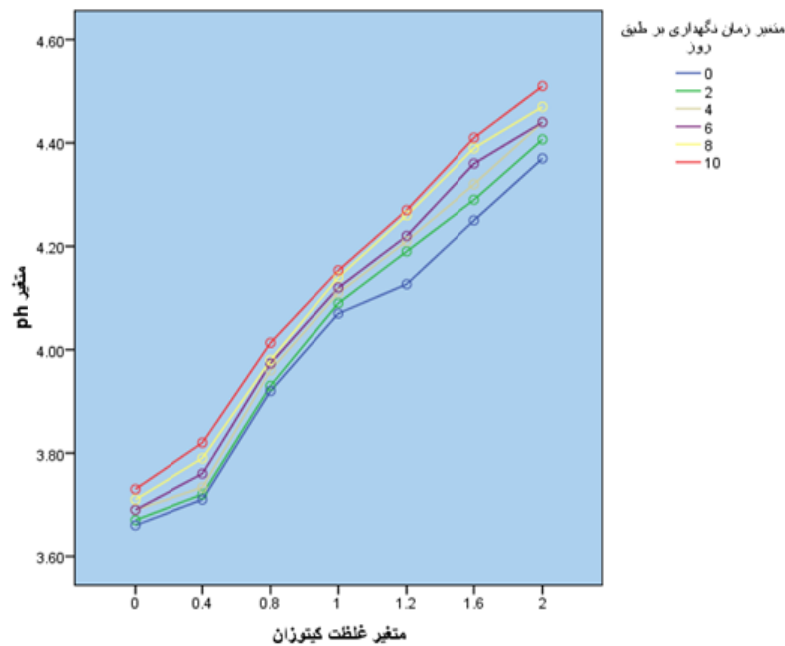


نمودار ۱- مقدار بریکس بر طبق دو متغیر غلظت کیتوزان (g/l) و زمان نگهداری (روز) در آب پرتقال

درجه سلسیوس نیز افزایش می‌یابد. مقدار pH آب پرتقال کمترین مقدار را برابر ۳/۶۶ در غلظت کیتوزان صفر و زمان نگهداری صفر روز و مقدار ۳/۷۱ در غلظت کیتوزان ۰/۴ گرم بر لیتر و زمان نگهداری صفر روز را دارد و بیشترین مقدار را برابر ۴/۵۱ در غلظت کیتوزان ۲ گرم بر لیتر و زمان نگهداری ۱۰ روز دارد (نمودار ۲).

تأثیر غلظت کیتوزان (g/l) و زمان نگهداری (روز) بر pH
آنالیزهای آماری نشان داد که متغیر غلظت کیتوزان و

متغیر زمان نگهداری بر طبق روز بر مقدار pH تأثیرگذار است ولی اثر متقابل این دو متغیر تأثیری بر مقدار pH ندارد. نمودار ۲ نشان می‌دهد که با افزایش غلظت کیتوزان در مقدار pH آب پرتقال تازه و ذخیره‌شده در دمای ۴ درجه سلسیوس نیز افزایش می‌یابد و همچنین با افزایش زمان نگهداری بر طبق روز مقدار pH در آب پرتقال تازه و ذخیره‌شده در دمای ۴

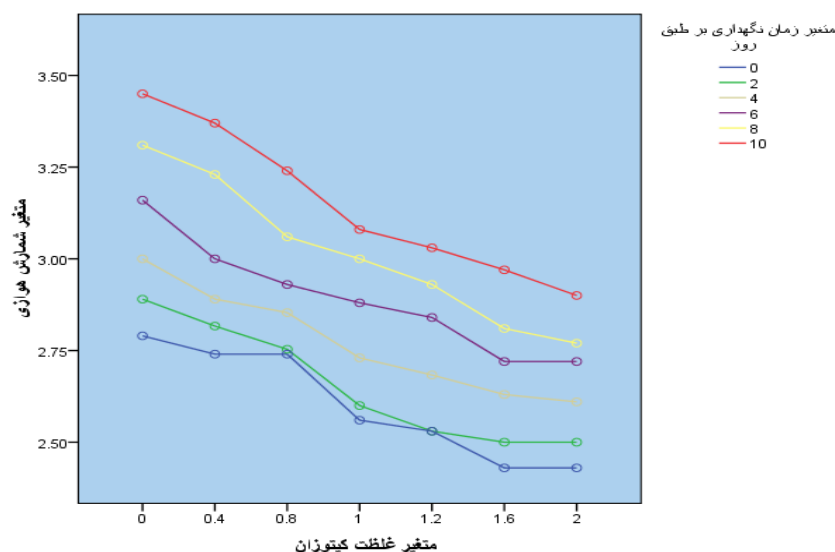


نمودار ۲- مقدار PH بر طبق دو متغیر غلظت کیتوزان (g/l) و زمان نگهداری (روز) در آب پرتقال

شمارش کلی میکروب‌ها در آب پرتقال ذخیره‌شده در دمای ۴ درجه سلسیوس افزایش می‌یابد. نمودار ۳ نشان می‌دهد که شمارش کلی میکروبی آب پرتقال بیشترین مقدار را برابر $3/45 \text{ Log CFU/m}$ در زمان نگهداری ۱۰ روز و غلظت کیتوزان صفر و مقدار $3/37 \text{ Log CFU/m}$ در زمان نگهداری ۱۰ روز و غلظت کیتوزان $0/4$ گرم بر لیتر دارد و کمترین تعداد را برابر $2/43 \text{ Log CFU/m}$ در زمان نگهداری صفر روز و غلظت کیتوزان $1/6$ و ۲ گرم بر لیتر دارد.

تأثیر غلظت کیتوزان (g/l) و زمان نگهداری (روز) بر شمارش کلی میکروب‌ها ($\log \text{CFU mL}^{-1}$)

نتایج حاصل نشان می‌دهد که متغیر غلظت کیتوزان و متغیر زمان نگهداری بر طبق روز بر مقدار شمارش کلی میکروب‌ها تأثیرگذار است همچنین اثر متقابل این دو متغیر بر مقدار شمارش کلی میکروب‌ها تأثیر معنی‌داری دارد ($p < 0/05$). نمودار ۳ نشان می‌دهد که با افزایش غلظت کیتوزان مقدار شمارش کلی میکروب‌ها در آب پرتقال تازه و ذخیره‌شده در دمای ۴ درجه سلسیوس کاهش می‌یابد و همچنین با افزایش زمان نگهداری



نمودار ۳- روند تغییرات شمارش کلی میکروبه‌ها بر طبق دو متغیر غلظت کیتوزان (g/l) و زمان نگهداری (روز) در آب پرتقال

بحث و نتیجه‌گیری

(2008). در مطالعات Martin-Diana و همکاران (۲۰۰۹) تفاوت معنی‌داری ($p < 0.05$) در افزودن کیتوزان بر روی مقدار pH در آب پرتقال غنی‌شده با کیتوزان بدست آمد. که با افزایش غلظت کیتوزان مقدار pH افزایش یافت، که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. چندین تفسیر احتمالی برای فعالیت ضدباکتریایی پیشنهاد شده است. مانند: ۱- مولکول کیتوزان پلی کاتیونی عمدتاً با ترکیبات آنیونی دیواره سلولی میکروارگانیسم (لیپو پلی ساکاریدها و پروتئین‌ها) برهم کنش کرده و باعث نشت ترکیبات داخل سلولی به دلیل تغییرات در نفوذپذیری می‌شود، ۲- جلوگیری از ورود مواد مغذی به داخل سلول، ۳- بعد از ورود به داخل سلول (مخصوصاً کیتوزان با وزن مولکولی پایین) و باند شدن با DNA و در نتیجه بازداری از سنتز RNA، پروتئین و غیره (Parshant, 2007). Roller (۱۹۹۹)، اثر ضدقارچی گلوتامات کیتوزان را بر روی ۱۵ گونه مخمر و کپک عامل ایجاد فساد در محیط آزمایشگاهی بررسی

کاهش بریکس به علت تمرکز کیتوزان از طریق شارژ مثبت پلی ساکاریدها برای منعقد کردن مواد جامد معلق قابل توضیح است (Saperse, 1992). در مطالعات Martin-Diana و همکاران (۲۰۰۹) تفاوت معنی‌داری ($p < 0.05$) در افزودن کیتوزان بر روی مواد جامد محلول آب پرتقال مشاهده شد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. Chaterji و همکاران (۲۰۰۴) تغییرات در مواد جامد محلول آب سیب را پس از افزودن کیتوزان، بتونیت و ژلاتین مقایسه کردند. مطالعات آنها تفاوت معنی‌داری ($p > 0.05$) را در بریکس آب سیب نشان نداد که این بدان معنی است که غلظت قند موجود در آب سیب بدون تغییر باقی مانده است. نتایج نشان داد که ظرفیت کیتوزان برای کاهش اسیدیته در آب میوه تازه به علت اتصال اسیدی می‌باشد (Imeri, 1998). افزایش pH در طی زمان نگهداری به همراه فساد میکروبی می‌باشد (Kamil et al., 2002; Cortes et al.,

استفاده از کیتوزان باعث افزایش ماندگاری آب پرتقال می‌شود. نتایج نشان داد که مقدار شمارش کلی میکروبی آب پرتقال بیشترین مقدار ۳/۳۷ در زمان نگه‌داری ۱۰ روز و غلظت کیتوزان ۰/۴ گرم بر لیتر دارد و کمترین مقدار را برابر ۲/۴۳ در زمان نگه‌داری صفر روز و غلظت کیتوزان ۱/۶ و ۲ گرم بر لیتر دارد. همچنین استفاده از کیتوزان در غلظت‌های بالا باعث افزایش pH و کاهش مواد جامد محلول (بریکس) در آب پرتقال می‌شود. نتایج نشان داد که مقدار بریکس آب پرتقال کمترین مقدار را برابر ۱۲/۰۳ در غلظت کیتوزان ۲ گرم بر لیتر و زمان نگه‌داری ۱۰ و ۸ روز دارد و بیشترین مقدار را برابر ۱۲/۵۹ در غلظت کیتوزان ۰/۴ گرم بر لیتر و زمان نگه‌داری روز صفر دارد. همچنین مقدار pH آب پرتقال کمترین مقدار را برابر ۳/۷۱ در غلظت کیتوزان ۰/۴ گرم بر لیتر و زمان نگه‌داری صفر روز دارد و بیشترین مقدار را برابر ۴/۵۱ در غلظت کیتوزان ۲ گرم بر لیتر و زمان نگه‌داری ۱۰ روز دارد استفاده از کیتوزان به علت افزایش ماندگاری در آب پرتقال تازه می‌تواند جایگزین روش پاستوریزاسیون شود. افزودن کیتوزان با غلظت‌های کمتر از ۱ گرم بر لیتر به آب پرتقال تازه باعث حفظ کیفیت ارزش غذایی می‌شود. این تحقیق نشان می‌دهد که کیتوزان می‌تواند به عنوان یک ماده نگه‌دارنده طبیعی برای افزایش ماندگاری آب پرتقال طبیعی مورد استفاده قرار گیرد. آب پرتقال‌ها با غلظت‌های بالاتر کیتوزان کیفیت بهتری از غلظت‌های کمتر از دیدگاه کیفی دارند. بنابراین می‌توان از روش‌های حرارتی استاندارد که اثرات منفی روی ارزش تغذیه‌ای دارند اجتناب کرد.

کردند. غلظت‌های بین ۰/۱ تا ۰/۵ گرم بر لیتر کیتوزان در آب سیب (pH=۳/۴) از رشد تمامی گونه‌های کپک و مخمر مورد مطالعه جلوگیری کرد و قدرت ضد میکروبی کیتوزان بستگی به غلظت آن و شرایط pH محیط داشت. Martin-Diana و همکاران (۲۰۰۹) در شمارش کلی میکروب‌ها در آب پرتقال غنی‌شده با کیتوزان به این نتیجه رسیدند که کیتوزان تا ۱ گرم بر لیتر شمارش کلی میکروب‌ها را با لگاریتم ۱ کاهش می‌دهد و با استفاده از ۱ g/l تا ۲ کاهش بیشتری نداشت و تفاوت در شمارش کلی میکروب‌ها بین نمونه با کیتوزان کم یا بدون کیتوزان و با کیتوزان بالای ۱ g/l در طول زمان نگه‌داری حفظ شده و اثر فعال آنتی میکروبی کیتوزان در طول زمان اتفاق افتاد. بسیاری از دانشمندان بر این عقیده‌اند که کیتوزان از رشد اغلب باکتری‌ها جلوگیری می‌کند، اگرچه اثرات پیشگیری آن با وزن مولکولی و گونه بخصوص باکتریایی تغییر می‌کند. طبق گزارشات Tajik و همکاران (۲۰۰۸) در کل کیتوزان در باکتری‌های گرم مثبت اثرات ضدباکتری قوی‌تری را نسبت به باکتری‌های گرم منفی نشان داد. همچنین افزایش غلظت کیتوزان منجر به افزایش اثر ضد میکروبی آن می‌شود (Tajik et al., 2008). دانشمندان دو تئوری را در زمینه مکانیسم ضد میکروبی کیتوزان پیشنهاد داده‌اند. اول آن که کیتوزان با استفاده از خاصیت پلی کاتیونی خود توانایی چلاته کردن فلزات و عناصر ضروری و خارج کردن آنها از دسترس باکتری‌ها را دارد. دوم آن که کیتوزان از طریق تشکیل پیوند با آنیون‌های دیواره سلولی باکتری‌ها، سبب تخریب دیواره سلولی آنها می‌شود (Barzegar et al., 2008).

منابع

- Aider, M. (2010). Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. *Journal of LWT- Food Science and Technology*, 28: 1-6.
- Ayhan, Z., Yeom, H.Y., Zhang, Q.H. and Min, D.B. (2001). Flavour, colour and vitamin C retention of pulsed electric field processed orange juice in different packaging materials. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 49: 669–674.
- Barzegar, H., Carbasi, A., Jamalian, J. and Lari, M.A. (2008). The possibility of using chitosan as a natural preservative in mayonnaise. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 12: 43.
- Beverly, R.L., Janes, M.E., Prinyawiwatkula, W. and No, H.K. (2008). Edible chitosan films on ready-to-eat roast beef for the control of *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology*, 25: 534-537.
- Chatterjee, S., Chatterjee, S., Chatterjee, B.P. and Guha, A.K. (2004). Clarification of fruit juice with chitosan. *Process Biochemistry*, 39: 2229–32.
- Cardello, A.V., Schutz, H.G. and Leshner, L.L. (2007). Consumer perceptions of foods processed by innovative and emerging technologies: A conjoint analytic study. *Emerging Technologies*, 8: 73–83.
- Cortes, C., Esteve, M.J. and Frigola, A. (2008). Colour of orange juice treated by high intensity pulsed electric fields during refrigerated storage and comparison with pasteurized juice. *Food Control*, 19: 151–158.
- Dutta, P.K., Dutta, J. and Tripathi, V.S. (2004). Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 63: 20-31.
- Imeri, A.G. and Knorr, D. (1988). Effect of chitosan on yield and compositional data of carrot and apple juice. *Journal of Food Science*, 53: 1707–1709.
- Kamil, J.Y.V.A., Jeon, Y.J., and Shahidi, F. (2002). Antioxidative activity of chitosans of different viscosity in cooked comminuted flesh of herring (*Clupea harengus*). *Food Chemistry*, 79: 69-77.
- Martín-Diana, A., Rico, D., Barat, J.M. and Barry-Ryan, C. (2009). Orange juices enriched with chitosan: Optimisation for extending the shelf-life. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10: 590–600.
- Prashanth, K.V. and Tharanathan, R.N. (2007). Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential-an overview. *Trends in Food Science & Technology*, 18: 117-131.
- Rosenthal, A. and Silva, J.L. (1997). Foods under pressure. *Food Engineering*, 14: 37–39.
- Riccardo, A., & Muzzarelli, A. (1977). Chitin. London: Pergamon Press.
- Roller, S. and Covill, N. (1999). The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice. *International Journal of Food Microbiology*, 47: 67–77.
- Soliva-Fortuny, R.C. and Martín-Belloso, O. (2003). New advances in extending the shelf life of fresh-cut fruits: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 14: 341–353.
- Sapers, G.M. (1992). Chitosan enhances control of enzymatic browning in apple and pear juice by filtration. *Journal of Food Science*, 57: 1192–1193.
- Tajik, H., Moradi, M., Razavi Rohani, S.M., Erfani, A.M. and Shokouhi Sabet Jalali, F. (2008). Preparation of chitosan from brine shrimp (*Artemia urmiana*) cyst shells and effects of different chemical processing sequences on the physicochemical and functional properties of the product. *Molecules*, 13: 1263-1274.
- Tajik, M., Rohani, H., Uromiei, M., Malekinejad, A. and Dehkordi, S. (2008). Evaluation of antioxidant characteristics, color and antibacterial effects of chitosan edible film containing essential oils against *listeria monocytogenes*. *Journal of Armaghane Danesh*, 16: 60.
- Watada, A.E., Ko, N.P. and Minott, D.A. (1996). Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. *Postharvest Biology & Technology*, 9: 115–125.

Effect of Chitosan on some Microbial and chemical quality of orange juice

Jeiranikhameneh, M.^{1*}, Maghsodloo, Y.²

1-Msc student of Food Science and Technology Department, Faculty of Agriculture, Amol branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

2- Associate professor of Food Science and Technology Department, Faculty of Agriculture, Gorgan branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran.

*Corresponding author email: Maryam.jeirani@gmail.com

(Received: 2012/5/5 Accepted: 2013/7/9/)

Abstract

One of the biggest obstacles towards orange juice trade is its limited shelf-life. Microbial spoilage is among the reasons for declining the quality of orange juice during storage. The purpose of this study was to determine the impact of chitosan as a natural preservative to increase the shelf-life of orange juice. For this, different concentrations of chitosan including 0, 0.4, 0.8, 1, 1.2, 1.6 and 2 g/L were used. During the storage period microbial (total bacterial count) and chemical (Brix and pH) characteristics were assessed. Results showed that higher concentrations of chitosan significantly ($p < 0.05$) inhibit the proliferation microbial population throughout the storage period. Moreover, application of higher concentrations (1.6, 2 g/L) of chitosan increased the pH and Brix in orange juice. That is to say, minimum Brix (12.03) and maximum pH value (4.51) was found in the samples containing 2 g/L of chitosan. Microbial (total bacterial count) counts showed the highest value of 3.45 log cfu/ml in the control sample, and the lowest quantity of 2.43 was determined at concentrations of 1.6 and 2 g/L of chitosan. It was concluded that chitosan can be used as a natural preservative to prolong the shelf-life of orange juice. Consequently, it could be used as an alternative for thermal treatments which have harmful effects on the nutritional properties of orange juice. However, comprehensive evaluations dealing with the effect of chitosan on various microbial groups should be performed.

Key words: Chitosan, Orange juice, Chemical Properties, Microbial spoilage