الارتقاء بالبحوث العلمية طريقنا لخدمة المجتمع

استخدام الكايتوسان Chitosan في ترويق عصير التفاح الطبيعي ودراسة الخصائص النوعية والحسية

هند محمد صالح العباسي[1] ، ايثار زكي ناجي[1] ، زيد أكرم ثابت[2]

[1] قسم علوم الاغذية ، كلية الزراعة ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

[2] مركز بحوث التقانات الاحيائية ، جامعة النهرين ، بغداد ، العراق

معلومات البحث

الكلمات المفتاحية:

الاسم: هند محمد صالح العباسي

البريد الاليكتروني:

salihhind4@gmail.com

رقم الهاتف:

الملخص

تناولت الدراسة الحالية إيجاد طريقة بسيطة وغير مكلفة لترويق وحفظ عصير التفاح الطبيعي باستعمال مسحوق الكايتوسان المحضر من قشور الروبيان *Metapenaeus affinis* بإزالة مجاميع الاستيل من الكايتين خلال مدة زمنية 15 دقيقة بالمؤصدة وباستعمال الجيلاتين كعامل ترويق تجاري وبنفس التراكيز المستعملة، لوحظ من النتائج ان درجة العكارة في عصير التفاح انخفضت خلال فترات الخزن 10 يوم عند اضافة الكايتوسان بتراكيز(0.2 و0.4 و0.6 و0.8 و1) غم/ لتر ولفترات زمنية (30 و60 و90) دقيقة مقارنةً مع العصير المعامل بالجيلاتين أما الدالة الحامضية للعصير الطبيعي قد ارتفعت في المعاملة T_5 وبلغت 4.6 وكذلك في المعاملة T_4 بلغت 4.3 مقارنة بعينة السيطرة التي بلغت 3.66. كما اظهرت النتائج انخفاض نسبة المواد الصلبة الذائبة الكلية عند معاملة العصير بتراكيز الكايتوسان المذكورة اعلاه خلال فترات الخزن اذ بلغت 10.5 % في المعاملة T_5 مقارنة مع عينة السيطرة والتي بلغت 11.2%، كذلك وجد ان هناك انخفاضاً واضحاً في اللون البني للعصير بلغ (0.77، 0.75، 0.72، 0.70، 0.70) على التوالي مقارنةً مع عينة السيطرة التي كانت 0.81 خلال مدة الخزن، كما وجد ان العصير الطبيعي المعامل بالكايتوسان وبتراكيز مختلفة قد أظهر كفاءة في تحسين صفات العصير الطبيعي وذلك من خلال قدرته على خفض درجة العكارة وخفض كمية المواد الصلبة الذائبة في العصير وخفض درجة اللون للعصير وهذا ينعكس على التقييم الحسي للعصير من خلال الصفات الحسية المقيمة كالطعم الذي يعد من اهم الصفات الحسية التي تعكس رغبة المستهلك. وكذلك فأن اضافة الكايتوسان للعصير الطبيعي ادى الى اطالة مدة الحفظ للعصير باعتباره مادة مضادة لنمو الاحياء المجهرية.

المقدمة

تعد البوليمرات الكايتينية ولاسيما الكايتوسان إحدى المجاميع الجزيئية البيولوجية التي ازداد الاهتمام بدراستها لما لها من أهمية كبيرة في العديد من التطبيقات والتي تصل الى ما يقارب 200 تطبيق، منها الطبية والصناعات الدوائية كالمراهم الخاصة بالحروق وصناعة الخيوط الجراحية التي تستخدم في العمليات كونه يتحلل تلقائياً ولا يترك بقايا ضارة بالجسم، وكذلك في مصانع الكيميائيات لمعالجة المياه وايضاً في الزراعة إذ استعمل كطلاء للبذور قبل الزراعة وكسماد للتربة، كما ادخل في صناعة المنتجات الغذائية كمادة رابطة وحافظة [1،2]. عرف الكايتوسان كمضاف غذائي في كوريا واليابان منذ عامي 1983–1995 على التوالي، واثبتت سلامتهُ عن طريق التجارب التغذوية للحيوانات المختبرية، ففي عام 2005 قُبل الكايتوسان المستخلص من الروبيان من قبل ادارة الغذاء والدواء الامريكية FDA واعتمد كمادة امنه. يوصف الكايتين والكايتوسان كيميائياً أنهما من السكريات المتعددة الحلقية ذات محتوى نتروجيني عالٍ يتراوح بين (2–8) % مع احتوائها على نسب متفاوتة من اواصر β(1–4) التي تربط وحدات الكلوكوز، فضلاً عن أنهما مشابهان للسليلوز من حيث الخصائص الفيزيائية والكيميائية والوظيفية بسبب التشابه في البناء الجزيئي وأن الفرق الوحيد الموجود بين السكريات

الثلاث هو وجود مجموعة الاستيامين عند الموقع C-2 في الكايتين ومجموعة الامين في الكايتوسان بدلاً من مجموعة الهيدروكسيل الموجودة في السليلوز [3]. وبالمقارنة يمتلك الكايتوسان طبيعة تفاعلية أكثر نسبياً من الكايتين ويمكن تصنيعه بسهولة على شكل مسحوق، معجون، رقائق والياف [4]. تعد عملية الترويق خطوه أساسية وهامة في تصنيع عصير الفاكهة وذلك بهدف ازالة البكتين وغيرها من الكربوهيدرات المتواجدة في العصير، ويمكن إجراء الترويق بطرائق عدة منها الطرد المركزي، والمعالجة الانزيمية، واستعمال مساعدات الترويق كالجلاتين، والتانينات ومتعدد فنيل بيرولدون ومحلول السليكا أو مزيج من تلك المركبات [5] والتي تحتاج إلى أيدي عاملة، وتستهلك وقتاً طويلاً وعملاً مستمراً إلى جانب ذلك قد يؤدي ذلك إلى استخدام بعض الإضافات الأخرى منها عوامل التصفية والمرشحات التي تؤدي إلى ترك طعم طفيف في المنتج النهائي [6]. لوحظ اهتمام كبير في الوقت الحاضر حول دور الكايتوسان كعامل ترويق في تصنيع عصائر الفاكهة كونه مصدر طبيعي وصديق للبيئة وهو موجب الشحنة فعالاً في فصل الدقائق الغروية المنتشرة [7] . وقد اشارت الدراسات الى انه تم استعمال الكايتوسان للسيطرة على الحموضة في عصائر الفواكه فقد وجد[8] أن الكايتوسان بتركيز 1.2 % المذاب في حامض الاسكوربيك قد خفض بشكل معنوي من الحموضة التسحيحية لعصيري التفاح والجزر بسبب خصائصه الرابطة للحامض، وساعد على منع تفاعلات الاسمرار الانزيمية في عصيري التفاح والخوخ عند اضافته بتركيز 1 % إلى العصير. وتعود كفاءة السيطرة على تفاعلات الاسمرار ومنع حصولها بسبب قدرة الكايتوسان ذي الشحنة الموجبة على الارتباط بالدقائق التي يرتبط بها انزيم متعدد فينول اوكسيديز [9].

المواد وطرائق العمل

جمع وتحضير العينات

تم الحصول على الروبيان (Shrimp) نوع *Metapenaeus affinis* الطازج من سوق الاسماك الموجود في مدينة البصرة / جنوب العراق، إذ وضعت العينة في الثلج ونقلت إلى المختبر ولغرض التحضير فصلت القشور (Scrared) عن الانسجة باستعمال سكين حاد لتصبح خالية من الانسجة تماماً، ومن ثم غسلت جيداً بماء الحنفية الجاري عدة مرات للتخلص من المواد العضوية القابلة للذوبان والبروتينات الملتصقة وغيرها من الشوائب. بعد ذلك جففت العينة لمدة 4 ايام متتالية عند درجة حرارة 65 °م باستعمال فرن حراري هوائي ولحين ثبات الوزن، طُحِنت القشور المجففة باستعمال مطحنة كهربائية لمدة 2 دقيقة للحصول على مسحوق ناعم متجانس تم الاحتفاظ به في عبوات بلاستيكية مغلقه عند درجة حرارة الغرفة لحين الاستعمال في عمليات التنقية اللاحقة [10]. كما تم الحصول على التفاح الاحمر الطازج من السوق المحلي في مدينة تكريت.

تحضير الكايتين والكايتوسان: حضر الكايتين من قشور الروبيان وفقاً للطريقة المذكورة من قبل [11]، كما تم تحضير الكايتوسان CS_3، بإدخال عينة الكايتين المعاملة بمحلول هيدروكسيد الصوديوم تركيزه 50 % في المؤصدة لمدة 15 دقيقة عند121°م وضغط 15 باوند/ انج^2، ثم رُشِّحَت وغُسِلَت بالماء المقطر عدة مرات لحين الوصول إلى pH التعادل ثم جُففَّت في فرن حراري هوائي عند درجة 60 °م مدة 24 ساعة.

تصنيع عصير التفاح Apple Juice industry

حضر المنتوج وذلك بغسل ثمار التفاح الاحمر الطازج بماء الحنفية الجاري جيداً وازالة الاجزاء غير المرغوب فيها، ثم قطعت الثمار إلى قطع صغيرة ووضعت في الخلاط الكهربائي للحصول على العصير، بعدها رشح العصير من خلال قطعة قماش من الململ وكررت عملية الترشيح مرة ثانية، ثم عبأ العصير مباشرة بعد تعقيم العبوات الزجاجية والاغطية بالماء المقطر المغلي لمدة 3 دقائق، وقد تمت عملية التعبئة بالقرب من اللهب لتقليل حدوث التلوث، بعد ذلك خزن بالتجميد –18 لحين إجراء التحليلات المختلفة. وقد رمز الى التراكيز (0.2 و0.4 و 0.6 و0.8 و 1) غم/ لتر $T_{(1)}$و T_2 و T_3 و T_4 و T_5) على التوالي.

ترويق عصير التفاح Clarifying

أجريت عملية الترويق وفقاً لطريقة [12]. بأستعمال الكايتوسان والجيلاتين (للمقارنة).

التحليلات النوعية

أجريت التحليلات النوعية لعينات العصير من (0 –10) يوم والتي شملت ما يأتي:

تقدير نسبة المواد الصلبة الذائبة الكلية

Total Soluble Solids Determination (TSS)

قدرت نسبة المواد الصلبة الذائبة الكلية لعينات العصير باستعمال جهاز الرفراكتوميتر اليدوي Refractometer عند درجة حرارة 25°م.

قياس الاس الهيدروجيني pH Determination

قدر باستعمال جهاز pH meter حسب الطريقة الموضحة في [13].

تقدير التلون البني للعصير

Browing potential Determination

تم تقدير التلون البني المحتمل للعصير تبعاً للطريقة المتبعة من قبل [14].

الاختبارات الميكروبية

اجريت الاختبارات وفقاً للطريقة المذكورة من قبل [15]، وتضمنت الطريقة اختبار العدد الكلي للبكتريا الهوائية والعدد الكلي للخمائر والاعفان لعصير التفاح المضاف له الكايتوسان المستخلص بثلاث تراكيز شملت (0.01 ، 0.1 ، 1) % والمخزن عند درجة حرارة 4 °م لمدة 12 يوم، وبأجراء التخافيف اللازمة (لغاية التخفيف الرابع)، وتم سحب 0.1 مل من التخفيف الاخير للفترات (0، 4، 8، 12) يوم ونشر على سطح الوسط باستعمال الاوساط الزرعية Nutrient Agar و Potato dextrose agar المحضرة وفق تعليمات الشركة

المصنعة Himedia الهندية، ثم قدر العدد الكلي للبكتريا والخمائر والأعفان.

التقييم الحسي Sensory evaluation

اجري التقييم الحسي لعينات عصير التفاح تبعاً للطريقة المذكورة من قبل [16,17].

التحليل الاحصائي Statical Analysis

حللت التجارب إحصائياً باستعمال اختبار تحليل التباين (ANOVA) وتم مقارنة المتوسطات الحسابية لتحديد الفروقات بينها بتطبيق اختبار دنكن متعدد الحدود بمستوى معنوية 0.05 % [18] .

النتائج والمناقشة

تأثير الكايتوسان في ترويق العصير الطبيعي Clarification of juice

استخدم الكايتوسان بتراكيز مختلفة تراوحت بين (0.2–1) غم/ لتر وعند اوقات مختلفة شملت (30 و 60 و90) دقيقة في ترويق عصير التفاح الطبيعي المصنع، وتبين نتائج الجدول (1) تأثيره في ترويق العصير مقارنةً مع العصير المضاف له الجيلاتين، إذ أظهرت النتائج ان الكايتوسان كان أكثر فاعلية من الجيلاتين في الترويق عند الفترات الزمنية المختلفة من خلال تقدير الكثافة الظاهرية ، فقد أعطى تركيز الكايتوسان 1 % اختلافاً معنوياً في قدرته على الترويق بلغت (0.65، 0.55، 0.45) بعد (30 و60 و90) دقيقة على التوالي مقارنة مع الجيلاتين الذي اعطى (0.97 و0.91 و0.82) عند الاوقات نفسها على التوالي، في حين بلغت قيمة عينة السيطرة غير المعاملة 1.42 وللفترات الزمنية جميعها، كما أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن قابلية الترويق للكايتوسان والجيلاتين تناسبت طردياً مع ازدياد التركيز. وقد تعود هذه القابلية الى وجود الشحنات الموجبة في جزئ الكايتوسان الذي يعمل على تجميع المواد العالقة والتي من خلالها يمكن السيطرة على التعكر مما يؤدي الى التصفية [19]، وهذا ما توصل اليه [20] عند استخدامهم 0.4 غم/ 20 مل كايتوسان في ترويق عصير البرتقال. إذ تتضمن عمليات التنقية والترويق لعصائر الفاكهة استعمال عوامل تنقية مختلفة كالجيلاتين والبنتونايت والسليكا والتانينات [21] ، ونتيجة لكون الكايتوسان يحمل شحنة موجبة قوية فقد أثبت انه فعال كعامل تنقية لعصائر الفاكهة [22].

جدول (1) تأثير إضافة الكايتوسان على ترويق العصير الطبيعي

الوقت	Control	الكثافة الظاهرية (540 نانوميتر)									
		تركيز الجيلاتين					تركيز الكايتوسان				
		0.2	0.4	0.6	0.8	1	0.2	0.4	0.6	0.8	1
30	1.42	1.34_a	1.18_b	1.08_b	0.97_c	0.97_c	1.20_a	0.93_b	0.92_b	0.88_b	0.65_c
60	1.42	1.11_a	1.03_b	1.01_b	0.93_c	0.91_c	1.0_a	0.62_b	0.6_b	0.58_b	0.55_c
90	1.42	1.13_a	1_a	0.94_b	0.93_b	0.82_c	0.85_a	0.49_b	0.47_b	0.46_b	0.45_b

- الاحرف المتشابهة تعني عدم وجود فروقات معنوية في قيم المتوسطات عند مستوى $P \leq 0.05$.

وجاءت هذه النتائج مقاربة لما استنتجه [23] عند تنقية عصير الرمان بإضافة تراكيز مختلفة من الكايتوسان، وقد استنتج [24] إن عمليات التنقية والترويق التي يضاف فيها الكايتوسان تضمن تقليل العكارة بنسبة 10 % تقريباً للعصير الخام. أظهرت نتائج الدراسة الحالية أمكانية استخدام الكايتوسان في ترويق عصير التفاح الطبيعي، ولكن قد يكون لنسب الإضافات هذه تأثيرات في خصائص العصير او تقبله، عليه تم دراسة بعض هذه الخصائص في محاولة لاختبار أفضل التراكيز.

تأثير الكايتوسان في الصفات النوعية للعصير

1: الدالة الحامضية للعصير pH of juice

أظهرت النتائج المبينة في الجدول (2) وجود فروقات معنوية بين معاملات الكايتوسان (T_1 وT_2 و T_3 و T_4 و T_5) مقارنة بعينة السيطرة، إذ يتبين من النتائج ان الدالة الحامضية للعصير تزداد تدريجياً خلال مدة الخزن عند إضافة الكايتوسان للعصير الطبيعي فقد ارتفعت قيمة pH في المعاملة T_5 وبلغت 4.6 وكذلك في المعاملة وT_4 وبلغت 4.3 مقارنةً بعينة السيطرة التي بلغت 3.66 بينما كانت قيم pH (3.92 و 3.95 و 4.1) للمعاملات (T_1 وT_2 و T_3) على التوالي. وقد جاءت النتائج متقاربة مع ما توصل اليه [25] إذ ارتفع معدل الدالة الحامضية من 4.1 الى 5.7 عند معاملة العصير الطبيعي بتراكيز مختلفة من الكايتوسان. وان السبب في زيادة الدالة الحامضية واستقرار العصير خلال العمر الخزني يمكن ان يعود الى قدرة الكايتوسان موجب الشحنة عند دالة حامضية واطئة أقل من6.5 للارتباط بالحوامض سالبة الشحنة للعصير وبالتالي تقليل الحموضة [26]. تقاربت النتائج مع[27] اللذان وجدا زيادة قيم pH مع زيادة تركيز الكايتوسان بصورة معنوية إذ تراوحت القيم بين (3.71–4.22) لعصير التفاح المخزن، كما اتفق مع [28] لعصير البرتقال الطبيعي الذين استنتجوا ان قيم pH تراوحت بين (3.05–3.35).

جدول (2) تأثير أضافة الكايتوسان على قيمة pH لنموذج عصير التفاح خلال مدة الخزن

مدة الخزن (يوم)	المعاملات					
	Control	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5
0	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8
2	3.8	3.8	3.8	3.9	4	4.1
4	3.8	3.9	3.9	4	4.1	4.3
6	73.	3.9	3.9	4	4.2	4.6
8	53.	4	4.1	4.2	4.7	5.2
10	3.3	.14	4.2	4.5	5	5.5
المعدل	**663.** c	**23.9** b	**3.95** b	**4.1** b	**4.3** ab	**4.6** a

- الاحرف المتشابهة تعني عدم وجود فروقات معنوية في قيم المتوسطات عند مستوى $P \leq 0.05$.

2: النسبة المئوية للمواد الصلبة الذائبة الكلية في العصير
Total Soluble Sold (TSS) Percentage of juice

يلاحظ من الجدول (3) معدل نسبة المواد الصلبة الكلية الذائبة لمعاملات العصير قيد الدراسة، ومن نتائج التحليل الاحصائي يتبين وجود اختلافات معنوية عند مستوى ($P \leq 0.05$) بين بعض المعاملات مقارنةً مع العينة المقارنة باختلاف التراكيز المضافة من الكايتوسان خلال فترات الخزن للعصير الطبيعي البالغة 10 ايام، إذ يلاحظ من النتائج انخفاض متوسط قيم TSS للعصير مع زيادة فترة الخزن لمدة 10 ايام ومع ارتفاع التركيز المضاف من الكايتوسان، فقد أعطت المعاملة T_5 قيمة بلغت 10.5 % مقارنة مع عينة السيطرة والبالغة 11.2 % خلال فترة الخزن، كما يلاحظ عدم وجود فروقات معنوية بين المعاملات T_1 و T_2 وعينة السيطرة إذ كان متوسط قيمة TSS 11.2 % و 11.1 % على التوالي، أما المعاملتان T_3 و T_4 فقد تقاربتا بالنتائج واختلفتا معنوياً مع عينة السيطرة إذ بلغت متوسطات قيم TSS 10.9 % و 10.8 % على التوالي خلال مدة الخزن المبرد. قد يعزى التأثير هذا الى قدرة بوليمر الكايتوسان (موجب الشحنة) على تجميع وترسيب المواد الصلبة العالقة من خلال مسكها وتجميعها مع بعضها وذلك بسبب اختلاف الشحنة على السطح [9, 25]. جاءت هذه النتائج متوافقة مع [20] الذين وجدوا انخفاضاً في قيم TSS عند معاملة عصير البرتقال الطبيعي بالكايتوسان بكمية 0.4 غم خلال 10 ايام من الخزن، كما توافقت مع ما توصل اليه [27] عند إضافتهما تراكيز مختلفة من الكايتوسان لعصير التفاح المخزن لمدة 10 ايام، ومع ما ذكره [29] عند دراسة تأثير الكايتوسان بتركيز 2 % في عصائر التفاح والعنب والليمون والبرتقال إذ توصلوا الى قيم TSS تراوحت بين (8.80 –15.02) %.

جدول (3) تأثير اضافة تراكيز مختلفة من الكايتوسان على قيم المواد الصلبة الذائبة الكلية (TSS) في عصير التفاح الطبيعي خلال مدة الخزن

المعاملات / مدة الخزن (يوم)	المواد الصلبة الذائبة الكلية (TSS)%					
	Control	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5
0	11.3	11.3	11.3	11.3	11.3	11.5
2	11.3	11.3	11.3	11.2	11.2	11.0
4	11.3	11.2	11.2	11.1	11.0	10.8
6	11.2	11.2	11.2	11.2	10.8	10.2
8	11.2	11.1	11.1	11.1	10.5	9.7
10	11.2	11.1	10.7	10.2	10.2	8.5
متوسط المواد الصلبة الكلية الذائبة	**11.2** a	**11.2** a	**11.1** a	**10.9** b	**10.8** b	**10.5** c

- الاحرف المتشابهة تعني عدم وجود فروقات معنوية في قيم المتوسطات عند مستوى $P \leq 0.05$.

3: التلون البني للعصير Browning of juice

تظهر النتائج في الجدول (4) قابلية الكايتوسان في الحد من التفاعلات الأنزيمية، وتأثيره في خفض حدوث تفاعلات الاسمرار الأنزيمي التي تحدث في العصير الطبيعي خلال مدة الخزن، إذ يتبين ان استعمال الكايتوسان بتراكيز (0.2 و 0.4 و 0.6 و 0.8 و 1) غم/ لتر أدى الى انخفاض معنوي واضح في شدة اللون البني للعصير (0.77 و 0.75 و 0.72 و 0.70 و 0.70)على التوالي، مقارنةً مع العصير غير المعامل بالكايتوسان التي كانت 0.81 خلال مدة الخزن المبرد، وقد يعزى ذلك الى قدرة الكايتوسان على تخثير المواد الصلبة ذات الصلة باللون البني والأنزيمات، إذ يعمل الكايتوسان على تثبيط عملية الأكسدة من خلال ربط الأنزيم المسبب للون البني، فضلاً عن أنّ الكايتوسان يعد مضاد اكسدة فعال لذا فأنه يمنع الأكسدة التي تعطي اللون البني للعصير[28, 30].

الجدول (4) تأثير اضافة تراكيز مختلفة من الكايتوسان على قيم التلون البني في عصير التفاح الطبيعي خلال مدة الخزن

المعاملات / مدة الخزن(يوم)	قيم التلون البني (الامتصاصية 320 نانوميتر)					
	Control	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5
0	0.72	0.69	0.69	0.67	0.66	0.66
2	0.76	0.72	0.7	0.68	0.65	0.66
4	0.8	0.75	0.73	0.69	0.67	0.68
6	0.82	0.78	0.75	0.72	0.69	0.69
8	0.86	0.83	0.79	0.76	0.74	0.73
10	0.91	0.87	0.84	0.82	0.78	0.77
متوسط القيم	**0.81 a**	**0.77 b**	**0.75 bc**	**0.72cd**	**0.70 d**	**0.70 d**

- الاحرف المتشابهة تعني عدم وجود فروقات معنوية في قيم المتوسطات عند مستوى $P \leq 0.05$.

وهذه النتائج مقاربة لما توصل اليه [31] عند إضافتهم 1.2 % من الكايتوسان و 1 % حامض الستريك لعصير فاكهة Longan المخزن لمدة 27 يوم، إذ وجدوا انخفاضاً في عملية التلون البني واكسدة الفينولات بشكل معنوي من خلال خفض تأثير أنزيم بولي فينول اوكسديز اثناء الخزن.

4: التقييم الحسي للعصير

يوضح الجدول (5) تأثير اضافة الكايتوسان بالتراكيز (0.2 و 0.4 و0.6 و0.8 و1) غم/ لتر ولمدة 10 ايام عند درجة حرارة 4°م على متوسطات التقييم للصفات الحسية المدروسة مقارنةً مع عينة السيطرة، بينت نتائج التحليل الاحصائي ان تفوق قيمة متوسط المعاملة T_5 وT_4 معنوياً عن باقي المعاملات المدروسة في صفة اللون إذ بلغت 7.6 و7.3 درجة على التوالي، وكانت الاقرب الى عينة السيطرة، إذ لم تختلف عنها معنوياً، في حين اختلفت بقية العينات معنوياً عنها.

واظهرت صفة الطعم وجود اختلاف معنوي بين المعاملات، مع ملاحظة تفوق المعاملتين T_5 وT_4 ايضاً فقد بلغت قيم المتوسط لهما 6.9 و6.6 درجة على التوالي مقارنةً مع عينة السيطرة البالغة 7.1 درجة، كما تبين نتائج الجدول نفسه وجود اختلافات معنوية في صفة المظهر لبعض معاملات عصير التفاح مع اختلاف التراكيز المضافة من الكايتوسان إذ بلغت درجة تقييم المعاملات T_5 (6.9) درجة و T_4 (6.5) وT_3 (6.3) مقارنة مع (7.0) للسيطرة في حين اظهرت باقي المعاملات اختلافات معنوية عنها بقيم بلغت 5.7 و 5.9 للمعاملات T_2و T_3 على التوالي. كما يوضح الجدول تأثير اضافة الكايتوسان بعد الخزن على صفة القبول العام لمعاملات العصير، ويلاحظ فيه عدم وجود فروقات معنوية في صفة القبول العام لمعاملات العصير مع اختلاف التراكيز المضافة من الكايتوسان مقارنة مع العينة القياسية ماعدا للمعاملة T_1، ويوضح الجدول ان قيمة متوسط المعاملة T_5 سجلت اعلى درجات التقييم وأقربها الى معاملة السيطرة إذ بلغت 6.7 درجة.

جدول (5) تأثير إضافة تراكيز مختلفة من الكايتوسان على التقييم الحسي لعصير التفاح عند نهاية فترة الخزن

المعاملات (غم/ لتر)	الخصائص المقيمة			
	اللون	الطعم	المظهر	القبول العام
السيطرة	7.7 a	7.1 a	7.0 a	6.8 a
T_1	6.7 b	4.3 C	5.7 b	5.1 b
T_2	6.7 b	5.8 b	5.9 b	6.2 a
T_3	6.8 b	6.0 b	6.3 ab	6.4 a
T_4	7.3 ab	6.6 ab	6.5 ab	6.5 a
T_5	7.6 a	6.9 a	6.9 a	6.7 a

- الاحرف المتشابهة تعني عدم وجود فروقات معنوية في قيم المتوسطات عند مستوى $P \leq 0.05$.
- درجة التقييم (10 درجة) لكل صفة.

جاءت هذه النتائج متوافقة مع كل من [27] عند تصنيع عصير التفاح المضاف له نسب من الكايتوسان كمادة حافظة ومروقة. و [29] الذين وجدوا تحسن في القبول العام والمظهر عند معاملة العصائر بالكايتوسان. مما يدل على ان النماذج المعاملة بالكايتوسان وبتراكيز مختلفة قد أظهرت كفاءة في تحسين صفات العصير الطبيعي وذلك من خلال قدرته على خفض درجة العكارة وخفض كمية المواد الصلبة الذائبة في العصير كذلك خفض الدالة الحامضية وخفض درجة اللون للعصير وهذا ينعكس على التقييم الحسي للعصير من خلال الصفات الحسية المقيمة كالطعم الذي يعد من اهم الصفات الحسية التي تعكس رغبة المستهلك بالنسبة لتفضيل العصير الطبيعي على الصناعي فضلاً عن تأثير المعاملة بالكايتوسان على درجة الدالة الحامضية وكمية المواد الصلبة الذائبة ولون العصير الطبيعي إذ يعد من الصفات الحسية.

تأثير الكايتوسان في المحتوى الميكروبي لعصير التفاح

Effect of Chitosan in microbial content of apple juice

استخدمت تراكيز مختلفة من الكايتوسان شملت (0.01 و 0.1 و 1) % لمتابعة امكانية استخدام الكايتوسان كعامل حفظ في عصير التفاح من خلال تحديد تأثيره على النموات الميكروبية .

1- التأثير في العدد الكلي للبكتريا

The total count of Bacteria

يبين الجدول (6) تقديرات المحتوى البكتيري لعينات عصير التفاح الطبيعي بدون او مع إضافة الكايتوسان كمادة حافظة خلال خزنه لفترة تراوحت بين (0–12) يوم عند درجة حرارة الثلاجة (4–5) °م ، وكما يلاحظ من النتائج ان لوغاريتم العدد الكلي للبكتريا في عينة المقارنة قد أرتفع مع تقدم فترة الحفظ من 1.51 CFU/ ml في اليوم الأول الى 3.31 CFU/ ml في اليوم الثاني عشر، وهذه الاعداد تفوق لوغاريتم أعداد البكتريا في عينة العصير المضاف أليها الكايتوسان عند التراكيز الثلاثة المحددة (0.01 و 0.1 و 1) % ولجميع فترات الحفظ، وعند المقارنة بين المعاملات جميعاً وخلال فترات الحفظ المحددة، تبين ان التركيز 1 % أعطى أقل الإعداد لوغارتمياً مع ملاحظة ارتفاع أعدادها مع انخفاض التركيز، إذ شجعت الزيادة في تركيز الكايتوسان على الانخفاض في لوغارتم الأعداد الكلية في العصير المضاف اليه الكايتوسان، كما يلاحظ عدم حصول أي زيادة في لوغارتم أعداد البكتريا عند التركيز 1 % خلال فترة الخزن إذ بلغت 1.2 CFU/ ml لجميع فترات الخزن، مقارنةً مع تراكيز الكايتوسان وعينة المقارنة والتي حصل فيها زيادة واضحة في أعداد البكتريا مع استمرار فترة الخزن، وعلى الرغم من ذلك فأن النتائج أظهرت عدم وجود فروقات معنوية بين متوسطات العدد الكلي للبكتريا بين جميع العينات. تتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه [32] إذ اشاروا الى الزيادة في تثبيط النمو البكتيري مع زيادة التركيز للمادة المضادة للأحياء المجهرية وخلال مدة الخزن البالغة 16 يوم لعصير البرتقال، كما اتفقت مع كل من [33, 34] الذين أكدوا على ان الكايتوسان هو عامل مضاد فعال للنمو البكتيري، إذ ساعد في تثبيط البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام على حد سواء. وقد يعزى الانخفاض في العدد الكلي للبكتريا الى الفعالية التثبيطية للكايتوسان من خلال عدة أليات منها تفاعل نواتج التحلل المائي مع الحامض النووي الميكروبي DNA وبالتالي تثبيط الحامض النووي الرايبوزي RNA وتخليق البروتين [35] او قد تتداخل جزيئات الكايتوسان موجبة الشحنة مع البقايا السالبة الشحنة الموجودة على السطح الخلوي البكتيري أي مع غشاء البكتريا ومن ثم تغيير في نفاذية الخلية [36,37] وبالتالي ضعف نموها وموتها. وقد يمنع الكايتوسان نمو الميكروبات من خلال استحلاب العناصر الغذائية والمعادن الاساسية [38,39]، او من خلال قدرة الكايتوسان على تشكيل غشاء بوليمر على سطح الخلية يمنع المواد الغذائية من دخول الخلية او قد يكون بمثابة حاجز للأوكسجين وبذلك يعمل على منع نمو البكتريا الهوائية [40].

الجدول (6) تأثير اضافة تراكيز مختلفة من الكايتوسان على لوغاريتم العدد الكلي للبكتريا في عصير التفاح المنتج خلال مدة الخزن

تركيز الكايتوسان / مدة الخزن (يوم)	لوغارتم العدد الكلي للبكتريا (CFU/ ml)			
	0	0.01	0.1	1
0	1.51	1.51	1.32	1.2
4	2.44	2.4	2.38	1.2
8	3.00	2.46	2.36	1.2
21	3.31	3.02	2.97	1.2
متوسط لوغارتم اعداد البكتريا	2.565 a	2.3475 a	2.2575 a	2.1725 a

- الاحرف المتشابهة تعني عدم وجود فروقات معنوية في قيم المتوسطات عند مستوى 0.05 ≥P.
- لوغارتم العدد الكلي للبكتريا للأس 4.

2: الفطريات Fungus

يتضح من الجدول (7) ان الكايتوسان قد أثر بشكل فعال في خفض لوغاريتم النمو الفطري عند جميع التراكيز المستخدمة مقارنةً مع اعدادها في العينة القياسية، إذ ارتفع لوغاريتم الاعفان والخمائر فيها من 2.71 الى 6.02 CFU/ ml خلال فترة الخزن البالغة 12 يوم، في حين اعطت تراكيز الكايتوسان المستخدمة انخفاضاً في النمو الفطري خلال فترات الخزن، مع ملاحظة زيادة الفعالية في خفض لوغارتم النمو مع زيادة التركيز المستخدم إذ اعطى التركيز 0.01 % لوغارتم نمو للفطريات بلغ 2.7 CFU/ ml في وقت الصفر ووصل الى 5.4 CFU/ ml في نهاية فترة الخزن، في حين كان للتركيز 0.1 % من 2.65 الى 3.61CFU/ml، اما التركيز 1 % فقد أعطى اعلى فعالية إذ وصل لوغارتم النمو من 1.98 CFU/ ml في وقت الصفر الى 2.21 CFU/ ml في اليوم الثاني عشر، قد اظهرت مقارنة متوسطات نمو الأعفان والخمائر بعد انتهاء مدة الخزن فروقات معنوية باختلاف التركيز إذ بلغت (4.5125 و 4.2725 و 3.6425 و 2.8575) CFU/ml للتراكيز (0 و 0.01 و 0.1 و 1) % على التوالي. اتفقت النتائج الحالية مع ما ذكره [32] عند تصنيعهم عصير البرتقال المضاف اليه نسب من الكايتوسان كمادة حافظة، إذ وجدوا ان عينة السيطرة ذات محتوى عالي من المستعمرات الفطرية كما انها ترتفع بشكل مباشر مع زيادة ايام الخزن وان عدد المستعمرات الفطرية

يتناقص ايضاً مع زيادة تركيز الكايتوسان المضاف. أوضح [4] أن تحديد نوعية الكايتوسان كمادة حافظة يكون على اساس درجة ازالة استلته العالية فكلما زادت زاد عدد المجاميع الامينية (-NH2) للسلسلة الجانبية لجزيئات الكايتوسان وبالتالي جعل الكايتوسان أكثر فعالية، وعليه فأن فعالية الكايتوسان كمادة حافظة تعتمد في الأساس على المجاميع الامينية، فضلاً عن ان الكايتوسان يعد مادة طبيعية مضادة للميكروبات (Antimicrobials) ومنتجة من مصادر طبيعية، إذ اعتمد كمادة أمنة الاستخدام Considered as generally recognized as safe (GRAS) يمكن استخدامها في عصائر الفواكه [41]، وقد أعطت نتيجة التقديرات في هذه الدراسة مؤشراً على قدرة الكايتوسان في اطالة مدة الحفظ للعصير باعتباره مادة مضادة لنمو الاحياء المجهرية.

الجدول (7) تأثير اضافة الكايتوسان بتراكيز مختلفة على لوغاريتم العدد الكلي للخمائر والاعفان في عصير التفاح الطبيعي المنتج خلال مدة الخزن

تركيز الكايتوسان / مدة الخزن (يوم)	لوغارتم العدد الكلي للخمائر والاعفان CFU/ ml			
	0	0.01	0.1	1
0	2.71	2.7	2.65	1.98
4	4.52	4.43	3.91	3.31
8	4.8	4.56	4.4	3.93
21	6.02	5.4	3.61	2.21
متوسط لوغارتم الفطريات	4.5125 a	4.2725 b	3.6425 c	2.8575 d

- الاحرف المتشابهة تعني عدم وجود فروقات معنوية في قيم المتوسطات عند مستوى 0.05 ≥P.
- لوغارتم العدد الكلي للفطريات للأس 4.

المصادر

[1] El Ghaouth, S.; Francisco, H. A.; Antonio André, G. B.; Adley, F. R. and Edvani, C. M. (2007). Superabsorbent hydrogel composite made of cellulose nanofibrils and chitosan-graft-poly(acrylic acid) J. Control Release. **94 (1)** :200-220.

[2] Grem, I. C.; Lima, B. N.; Carneiro, W. F.; Queirós, Y. G. and Mansur, C. R. (2014). Chitosan Microspheres Applied for Removal of Oil from Produced Water in the Oil Industry. Polímeros. **23 (6) :** 705-711.

[3] Abdel-Rahman, R. M. et al. (2015). Chitin and chitosan from Brazilian Atlantic Coast: Isolation, characterization and antibacterial activityRasha. International Journal of Biological Macromolecules. **80** : 107–120.

[4] Killay, A.; Taslim, N. A.; As'ad, S. and Mahendratta, M. (2015). Chitosan as antimicrobial agent and fatty acid absorber in smoked skipjack tuna processed using coconut shell. American J. of Life Sciences. **3 (2) :** 93-99.

[5] Peralta, N. V.; Meller, H. and Knorr, D. (1989). Effects of chitosan treatments on the clarity and color of apple juice. J. Food Sci. **54 (2)** :495.

[6] Alvarez, S.; Riera, F.; Alvarez, R.; Coca, J.; Cuperus, F. F.; Bouwer, S. (2000) . A new integrated membrane process for producing clarified apple juice and apple juice aroma concentrate. J. Food Eng. **46** :109–25.

[7] No, H. K. and Meyers, S. P. (2000). Application of chitosan for treatment of wastewaters. Rev. Environ Contam. Toxicol.**163** :1-27.

[8] Imeri, A. G. and Knorr, D. (1988). Effect of chitosan on yield and compositional data of carrot and apple juice. J. Food Sci. **53 (6) :**1707.

[9] Sapers, G. (1992). Chitosan enhances control of enzymatic browning in apple and pear juice by filtration. J. Food Sci. **57 (5)** : 1192-3.

[10] Toan, N.V. (2009). Production of Chitin and Chitosan from Partially Autolyzed Shrimp Shell Materials. The Open Biomaterials Journal.1:21-24.

[11] Toan, N. V.; Ng, C.; Aye, K. N.; Trang , T. S. and Stevens, W. F. (2006). Production of high-quality chitin and chitosan from preconditioned shrimp shells. J. Chem. Technol. Biotechnology. **81**: 1113-1118.

[12] Oszmianski, J. and Wojdylo, A. (2007). Effects of various clarification treatments on phenolic compounds and color of apple juice. Eur. Food Res. Technol. **224** :755-762.

[13] A.O.A.C. (2004). Association of Official Analytical Chemists,12th ed.Washington , D. C.

[14] Vina, S. Z. and Chaves, A. S. (2006). Antioxidant responses in minimally processed celery during refrigerated storage Food chemistry. **94** :68-74.

[15] Harrigan, W. F. and MacCance, M. E. (1976). Laboratory methods in microbiology. Academic press. London. U. K.

[16] Larmond, E. (1970). Method for sensory evalution of foods. Canada dep. Of Agric. Publ. No.1984.

[17] Fellers, P.J. (1985). Citrus. Sensory quality as related to root stock, cultivator, maturity and season. In "Evaluation of quality of fruit and vegetables. (Pattee, H.E.P. ed.) 83 Avi publishing co., Westport, C.T.

[18] **الراوي، خاشع محمود وخلف الله، عبد العزيز محمد (2000).** تصميم وتحليل التجارب الزراعية ،الطبعة الثانية ، دار الكتب للطباعة والنشر، كلية الزراعة والغابات جامعة الموصل ، 488 ص.

[19] Grassin, C. and Fauquembergue, P. (1996). Application of Pectinases in Beverages. In J. Visserand A. G. J. Voragen (Eds.), Pectin and Pectinases. 453 -462.

[20] الطائي، منير عبود جاسم والعامري، علي حسين عبد الكريم و الخاقاني، رسول عقيل عبدالعظيم (2017). تأثير أضافة الكايتوسان chitosan المحضر من قشور الروبيان shrimp shellعلى الصفات النوعية لعصير البرتقال الطبيعي. مجلة جامعى الكوفه للعلوم الزراعية **9(4)** :.278-268.

[21] Simpson, B. K.; Gagane, N. and Simpson, M. V. (1994). Biotechnological applications, (Martin, A.M.,ed)155-173 Chapman and Hall, London, UK.

[22] Chen, Y. and Li, C. (1996). Studies on the application of chitosan to clarification of grapefruit juice. Food science Taiwan. **23** :617-628.

[23] Tastan, O. and Baysal, T. (2015). Clarification of pomegranate juice with chitosan: Changes on quality characteristics during storage. Food Chemistry. **180** : 211–218.

[24] Domingues, R. C.; Junior, S. B. F.; Silva, R. B.; Cardoso, V. L. and Reis, M. H. M. (2012). Clarification of passion fruit juice with chitosan: Effects of coagulation process variables and comparison with centrifugation and enzymatic treatments.Process Biochemistry. **47**: 467-471.

[25] Barry, C.; Martin-Diana, A.; Rico, A. and Barat, J. (2009). Orange Juices Enriched with Chitosan Optimization for Extending the Shelf life Innovative Food Science and Emerging Technologies. **10** : 590–600.

[26] Einbu, A.; and Varum, K. M. (2003). Structure –Property Relationship In Chitosan In T. Priotr (Ed.), Chemical And Functional Properties Of Food Saccharides :223.

[27] Abd, A. J. and Niamah, A. K. (2012). Effect of chitosan on apple juice quality. Intearnational Journal of Agricultural and Food Science. **2 (4):**153-157.

[28] Kelebek, H.; Canbas, A. and Selli, S. (2008). Determination of phenolic composition and antioxidant capacity of blood orange juice obtained from cvs. Moro and sanguimello (Citrus sinensis L. Osbeck) grown in Turkey. Food chemistry. **107**: 1710-1716.

[29] Chatterjee, S.; Chatterjee, S.; Chatterjee, B. and Guhas, A. (2004). Clarification of fruit juice with chitosan. Process Biochemistry. **39**: 2229-2232.

[30] Park, J. W and Kim, J. S. (2004). Characterization Of Acid- Soluble collagen From Pacific Whiting Surimi Processing, Journal Of Food Science. **69**: 637 – 642.

[31] Apai, W.; Sardsud, V.; Boonprasom; P. and Sardsud, U. (2009). Effects of chitosan and citric acid on pericarp browning and polyphenol oxidase activity of longan fruit. Songklanakarin J. Sci. Technol. **31(6)**:621-628.

[32] Sarwar, M. T.; Rahman, S.; Z. Hossain and Alam, M. M. (2014). Preparation of chitosan and its application on ginger paste and fruit juice as food preservative. Journal of Food and Nutrition Sciences. **2 (6)** : 243-249.

[33] Kamala, K.; Sivaperumal, P. and Rajaram, R. (2013). Extraction and Characterization of Water Soluble Chitosan from Parapeneopsis Stylifera Shrimp Shell Waste and Its Antibacterial Activity. International Journal of Scientific and Research Publications. **3 (4)** : 2250-3153.

[34] Tareq, A.; Alam, M.; Raza, S.; Sarwar, T.; Fardous, Z.; Chowdhury, A. Z. and S. Hossain (2013). Comparative Study of Antibacterial Activity of Chitin and Chemically Treated Chitosan Prepared from Shrimp (Macrobrachium Rosenbergii) Shell Waste. Journal of Virology & Microbiology. **3692**: 9-17.

[35] Yuan, G.; Tang, W.; Zhang, X. and Sun, H. (2016). Effect of Chitosan coatingcombined with pomegranate peel extract on the quality of Pacific white shrimp during iced storage, Food Control. **59** : 818–823.

[36] Li, Z.; Yang, F. and Yang, R. (2015). Synthesis and characterization of chitosan derivatives with dual-antibacterial functional groups, Int. J. Biol. Macromol. **75**: 378–387.

[37] Severino, R.; Ferrari, G.; Vu, K. D.; Donsì, F.; Salmieri, S. and Lacroix, M. (2015). Antimicrobial effects of modified chitosan based coating containing nano emulsion of essential oils: modified atmosphere packaging and gamma irradiation against Escherichia coli O157:H7 and Salmonella typhimurium on green beans, Food Control. **50** : 215–222.

[38] Li, L. H.; Deng, J. C.; Deng, H. R.; Liu, Z. L. and Li, X. L. (2010). Preparation characterization and antimicrobial activities of chitosan/Ag/ZnO blend films, Chem. Eng. J. **160**: 378–382.

[39] Chien, R. C.; Yen, M. T. and Mau, J. L. (2015). Antimicrobial and antitumor activities of chitosan from shiitake stipes, compared to commercial chitosan from crab shells, Carbohydr. Polym.**138** :259-264.

[40] Liu, H.; Du, Y.; Yang, J. and Zhu, H. (2004). Structural characterization and anti-microbial activity of Chitosan betain derivative complex, Carbohydr. Polym. **55**: 291–297.

[41] Aneja, K. R.; Dhiman, R.; Aggarwal, N. K. and Aneja, A. (2014). Emerging Preservation Techniques for Controlling Spoilage and Pathogenic Microorganisms in Fruit Juices. International Journal of Microbiology, Article ID 758942, 14 pages http://dx.doi.org/10.1155/2014/758942.

Use Chitosan in natural apple juice agitation and study qualitative and sensory properties

Hind Mohammed Al-Abbasy[1] , Ethar Zeki Nagi[1] , Zaid Akram Thabet[2]

[1] *Department of Food Science , College of Agriculture, University of Tikrit, Tikrit, Iraq*

[2] *Biotechnology Research Center , Nahrain University, Baghdad, Iraq*

Abstract

The current study investigated simple and inexpensive method for the promotion and preservation of apple juice using the chitosan powder prepared from the crusts of shrimp *Metapenaeus affinis* by removing the groups of acetyls from the chitin with in a period of 15 minutes using autoclave. The possibility of natural apple juice was studied by chitosan powder. The turbidity in the apple juice decreased during storage periods 10 days when adding chitosan with concentrations (0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1) g / l for (30, 60, 90) minutes, compared with juice treatment with gelatin. The pH of natural juice was increased in treatment T_5 was 4.6 and T_4 was 4.3 compared to sample Control it was 3.66. This result showed a decrease in the ratio of total soluble solids (TSS) in the treatment of chitosan juice and different concentrations during the storage periods it was 10.5 % in T_5 compared to sample control was 11.2%. There was also a significant decrease in the brown color of the juice were (0.77, 0.75, 0.72, 0.70, 0.70) respectively compared to sample control was 0.81 . different concentrations have shown efficiency in improving the qualities of natural juice by the ability to reduce the degree of turbidity and reduce the amount of soluble solids in the juice and reduce the color. Degree of juice and this is reflected on the sensory evaluation of juice through the sensory qualities evaluated as the taste, which is one of the most important row, which reflects the consumer's desire. The addition of chitosan to natural juice served to prolong the conservation period of juice as a material against the growth of microorganisms.