مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

تأثیر کیتوزان بر ویژگی های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی دوغ

مینا منافی دیزج یکان[۱] ، مهناز منافی دیزج یکان[۲]، جواد حصاری[۳*]، صدیف آزادمرد دمیرچی[۳] ، و نگار راوش[۱]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تبریز، ایران.

۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد خوی، دانشگاه آزاد اسلامی، خوی، ایران.

۳- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۹۷ /۰۹/۲۱

تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۹/۲٤

کلمات کلیدی:

کیتوزان،

پایدارکننده،

دوغ،

کپک و مخمر.

DOI: 10.52547/fsct.18.03.14

* مسئول مکاتبات:

jhesari@tabrizu.ac.ir

چکیده

دوغ، نوشیدنی لبنی تخمیری است که از اختلاط ماست پاستوریزه، آب، اسانس‌های گیاهی و نمک به دست می‌آید. به علت pH پایین، دوغ مستعد آلودگی به کپک‌ها و مخمرها و برخی از باکتری‌ها است که سبب افت کیفیت دوغ و کاهش ماندگاری آن می‌شود. یکی دیگر از مسایل قابل توجه در دوغ، قوام آن است که نقش بسیار مهمی در بازارپسندی آن دارد. از طرفی امروزه تمایل مصرف کنندگان برای استفاده از مواد ضد میکروبی طبیعی به جای نگهدارنده‌های شیمیایی افزایش پیدا کرده است. در این راستا، کیتوزان یکی از مشتقات کیتین می‌باشد که برخلاف ترکیبات پلیمری مصنوعی، ضمن سازگاری با بافت‌های زنده، غیر سمی و در طبیعت قابل تجزیه است. هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر افزودن کیتوزان بر ویژگیهای کیفی و ماندگاری دوغ بود. برای این منظور کیتوزان در چهار سطح (۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ ٪) به دوغ اضافه شد و تأثیر آن بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی در مدت ٦۰ روز نگهداری، بررسی شد. نتایج نشان داد، استفاده از کیتوزان موجب کاهش سرعت جداسازی فازی، اسیدیته، شمارش کپک و مخمر، شمارش *استرپتوکوکوس سالیواریس زیر گونه ترموفیلوس*، شمارش *لاکتو باسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس* و افزایش گرانروی و pH نمونه‌های دوغ شد. بطوری‌که در روز آخر نگهداری، دوغ‌های حاوی ۰/۳٪ کیتوزان، نسبت به دوغ‌های کنترل، ۹۷٪ کاهش سرعت جداسازی فازی، ۲٤٪ کاهش اسیدیته، ٦٪ کاهش کپک و مخمر، ۱۹٪ کاهش *استرپتوکوکوس سالیواریس*، ۱۱٪ کاهش لاکتوباسیلوس *دلبروکی*، ۱۲۲٪ افزایش گرانروی و ۱۵٪ افزایش pH داشتند. در مورد ویژگی‌های حسی، کیتوزان تأثیری بر رنگ و ظاهر دوغ نداشت، اما بر عطر و طعم دوغ مؤثر بود و همچنین باعث بهبود قوام دوغ شد.

۱- مقدمه

دوغ، نوشیدنی حاصل از تخمیر لاکتیکی شیر است که ماده خشک آن از راه رقیق کردن ماست دوغ سازی (پس از تخمیر) یا شیر دوغ سازی (پیش از تخمیر) استاندارد شده باشد [۱]. دوغ منبع بسیار خوبی از کلسیم، فسفر، ویتامین‌های گروه ب، منیزیم و روی می‌باشد [۲]. همچنین وجود باکتری‌های مفیدی مانند *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* در دوغ اثرات بسیار مفیدی بر سلامت دستگاه گوارش دارد و مانع رشد ارگانیسم‌های مضر می‌شود [۳]. امروزه تولید دوغ به جز ایران در آذربایجان، ارمنستان، افغانستان، عراق، سوریه، بلغارستان، ترکیه، جزایر بالکان و به مقدار کمتر در سایر کشورهای خاورمیانه و آسیای مرکزی به عنوان یک نوشیدنی مغذی در مقایسه با انواع نوشیدنی‌های دیگر، قابل توجه می‌باشد [٤ و ٥]. به علت pH پایین، دوغ مستعد آلودگی به کپک‌ها، مخمرها و برخی از باکتری‌ها است که سبب افت کیفیت دوغ و کاهش ماندگاری آن می‌شود. یکی دیگر از مسایل قابل توجه در دوغ، قوام آن است که نقش بسیار مهمی در بازارپسندی آن دارد. از طرفی امروزه تمایل مصرف کنندگان برای استفاده از غذاهای سالم با ترکیبات طبیعی افزایش پیدا کرده است. در این راستا، کیتوزان یکی از مشتقات کیتین است که دارای کاربردهای متعددی از جمله خواص ضد میکروبی و قوام‌دهندگی می‌باشد. فعالیت قارچ‌کشی کیتوزان در شرایط آزمایشگاهی به اثبات رسیده است و سطح محافظت کنندگی در برابر قارچ‌ها به مقدار زیادی به غلظت کیتوزان وابسته است [٦]. خاصیت ضد قارچی کیتوزان علیه گونه‌های *آلترناریا*، *پنی‌سیلیوم* و *کلادوسپوریوم* توسط آگولو و رودریکوز [۷] و *پنی‌سیلیوم* موجود در پرتقال، *آلترناریا*، *بوتریتیس* و *کولتوتریکوم* موجود در توت‌فرنگی توسط شهیدی و همکاران [۸] به اثبات رسیده است. در منابع علمی، علاوه بر خاصیت ضد قارچی، خواص ضد باکتریایی کیتوزان، نظیر نابودی کامل *استافیلوکوکوس اورئوس*، در نتیجه پژوهش وانگ [۹]، اثر نگهدارندگی علیه *اشریشیا کلی* در گوشت، توسط تحقیقات دارمارجی و ایزومیموتو [۱۰]، نابودی کلیه *کلی فرم‌ها* در پنیر موزارلا، توسط پژوهش التیری و همکاران [۱۱]، کاهش معنی‌دار باکتری‌های *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *سالمونلا انتریتیدیس* در سس مایونز در نتیجه تحقیقات انجام گرفته توسط برزگر و همکاران [٦]، به اثبات رسیده است. در مورد خاصیت قوام دهندگی کیتوزان نیز تحقیقاتی انجام گرفته است که از جمله آن‌ها می‌توان به موارد زیر اشاره کرد: کرباسی و همکاران [۱۲]، تأثیر کیتوزان را به عنوان قوام‌دهنده، بر بافت و خواص رئولوژیکی سس مایونز بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که در سس مایونز و سایر محصولات امولسیونی می‌توان از کیتوزان به عنوان یک قوام دهنده و تثبیت کننده استفاده نمود. بنجاکول و همکاران [۱۳]، با بررسی تأثیر کیتوزان بر ژل بدست آمده از پروتئین‌های نوعی ماهی، به این نتیجه رسیدند که می‌توان برای افزایش قوام و استحکام ژل مذکور، از کیتوزان به جای نشاسته استفاده کرد. در پژوهش حاضر امکان استفاده از کیتوزان در دوغ، به عنوان یک نگهدارنده و قوام دهنده طبیعی مورد مطالعه قرار گرفت. برای این‌کار، کیتوزان در چهار سطح ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳٪ به دوغ اضافه گردید و اثرات کیتوزان و زمان نگهداری بر خواص فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی دوغ در طی ٦۰ روز نگهداری بررسی شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه نمونه‌های دوغ

نمونه‌های دوغ طبق روش تولید در کارخانه پگاه تبریز طی مراحل شکل ۱ تهیه شدند:

Fig 1 Production stages of dough

لازم به ذکر است که برای افزودن کیتوزان به نمونه‌های مختلف دوغ، ابتدا غلظت‌های مختلف کیتوزان به صورت جداگانه در محلول ۰/۵٪ اسید استیک به مدت ۲٤ ساعت هیدراته شدند.

۲-۲-نمونه برداری

نمونه‌برداری از دوغ کنترل و نمونه‌های دوغ حاوی ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ ٪ کیتوزان، از روز اول به فاصله هر ۲۰ روز، طی ٦۰ روز نگهداری، به منظور بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی وحسی صورت گرفت.

۲-۳-آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

pH و اسیدیته مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۲۸۵۲ [۱٤]، گرانروی توسط گرانروی‌سنج بروکفیلد[1]، مطابق روش ارائه شده توسط اوزونلو [۱۵] و سرعت دوفازه شدن مطابق روش ارائه شده توسط فروغی‌نیا و همکاران [٤] تعیین شد.

۲-٤- آزمون‌های میکروبی

شمارش *استرپتوکوکوس سالیواریوس زیرگونه ترموفیلوس* توسط کشت در محیط ام ۱۷ آگار[2] با انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤۸ ساعت در شرایط هوازی و شمارش *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس* توسط کشت در محیط ام آر اس آگار[3] با انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت در شرایط بی‌هوازی، مطابق روش ارائه شده توسط کارنا و همکاران [۱٦] صورت گرفت. شمارش کپک و مخمر توسط کشت روی محیط دی آر بی سی آگار[4] با شرایط انکوباسیون ۵ روز در ۲۵ درجه سانتی‌گراد مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۱-۱۰۸۹۹ [۱۷] انجام گرفت.

۲-۵-ارزیابی حسی

دو نوع ارزیابی حسی توصیفی (محصول‌گرا) و هدونیک (مصرف گرا) انجام شد. برای تعیین شدت رنگ، قوام، عطر وطعم نمونه‌های دوغ از آزمون حسی توصیفی با روش خطی (خطی به طول ۱۰۰ میلی‌متر) استفاده شد. به اینصورت که از ۱۵ نفر ارزیاب آموزش دیده خواسته شد که در فرم ارزیابی توصیفی، بر اساس شدت ویژگی، نقطه‌ای را از صفر تا ۱۰۰ روی خط مشخص کنند. برای تعیین درجه مقبولیت کلی نمونه‌های دوغ، از روش هدونیک ۵ طبقه‌ای (درجه بندی بر مبنای ۱-۵، ۱: بسیار ناخوشایند، ۲: ناخوشایند، ۳: متوسط، ٤: خوشایند و ۵: بسیار خوشایند) توسط ۱۵ نفر پانلیست آموزش دیده انجام گرفت [۱۸].

۲-٦- آنالیز آماری

در این پژوهش تأثیر ۵ تیمار (٤ سطح کیتوزان و یک نمونه کنترل) بر اساس آزمایش اسپلیت پلات در زمان (روزهای ۱، ۲۰، ٤۰ و ٦۰) روی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی مورد بررسی قرار گرفت. آزمون‌های فیزیکوشیمیایی و میکروبی در ۳ تکرار و آزمون‌های حسی در ۱۵ تکرار انجام گرفت. داده‌های بدست آمده، از طریق آنالیز واریانس توسط نرم‌افزار SAS تجزیه و تحلیل شدند و آزمون مقایسه میانگین حداقل مربعات به روش توکی برای تعیین اختلاف بین نمونه‌ها انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی

۳-۱-۱- تغییرات pH

نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد تأثیر کیتوزان، زمان نگهداری و نیز اثر متقابل آن‌ها بر تغییرات pH معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$). pH نمونه‌های دوغ طی دوره نگهداری به طور جزئی افزایش یافت که این افزایش در طول زمان معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$). در بررسی‌های انجام شده توسط حسین و آتکینسون [۱۹]، کانگانلا و همکاران [۲۰] و محمد و همکاران [۲۱] نیز افزایش pH در نمونه‌های ماست مشاهده شد. افزایش pH طی دوره نگهداری به دلیل فعالیت میکروارگانیسم‌هاست و احتمالاً زمانی که منابع قندی به پایان می‌رسد میکروارگانیسم‌های آغازگر شروع به مصرف پروتئین‌ها می‌کنند که در نتیجه تولید برخی ترکیبات توسط این میکروارگانیسم‌ها pH افزایش می‌یابد [۲۲]. اختلاف میان pH نمونه‌های حاوی درصدهای مختلف کیتوزان و همچنین نمونه کنترل در تمامی روزهای نگهداری معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$). با افزایش غلظت کیتوزان، pH نمونه‌های دوغ نیز افزایش یافت. به طوری که بیشترین pH مربوط به تیمار حاوی ۰/۳٪ کیتوزان و کمترین pH مربوط به تیمار کنترل بود. احتمالاً pH محلول کیتوزان در افزایش pH نمونه‌های دوغ تأثیر داشته است. تغییرات pH در نمونه‌های مختلف دوغ طی دوره نگهداری در شکل ۲ آورده شده است.

1. Brookfield DVII+
2. M 17 Agar
3. Man Rogosa-Sharpe Agar
4. Dicholoran Rose Bengal Chloramphenicol Agar

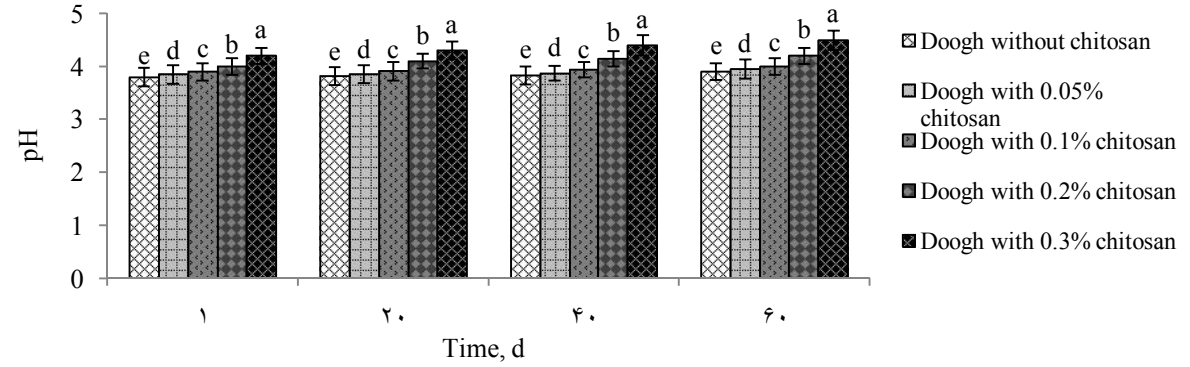

Fig 2 Changes in pH of doogh during storage*
*All data represent the mean of 3 determinations
[a-e] Indicate significant differences (P< 0.05) between the different samples in one storage day

۳-۱-۲-تغییرات اسیدیته

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها مؤید معنی‌دار بودن اثر کیتوزان بر تغییرات اسیدیته بود (P<۰/۰۵). افزودن کیتوزان، موجب کاهش اسیدیته نمونه‌های دوغ گردید و با افزایش غلظت کیتوزان، میزان کاهش اسیدیته، بیشتر بود. با توجه به نتایج مقایسه میانگین حداقل مربعات با استفاده از آزمون توکی، اختلاف بین اسیدیته نمونه‌های کنترل و نمونه‌های حاوی ۰/۰۵٪ کیتوزان در روزهای ۱ و ۲۰ معنی‌دار نبود (P<۰/۰۵). تغییرات اسیدیته نمونه‌های دوغ، طی نگهداری در شکل ۳ آورده شده است.

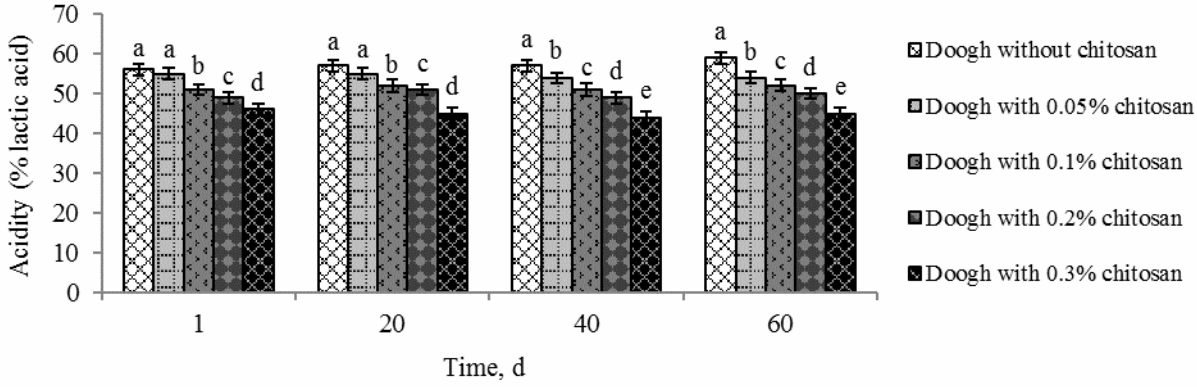

Fig 3 Changes in acidity of doogh during storage
*All data represent the mean of 3 determinations
[a-e] Indicate significant differences (P< 0.05) between the different samples in one storage day

۳-۱-۳- تغییرات سرعت دوفازه شدن

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد تأثیر کیتوزان، زمان نگهداری و نیز اثر متقابل آن‌ها بر میزان دوفازه شدن معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). کمترین مقدار دو فازه شدن مربوط به نمونه‌های روز اول و بیشترین مقدار مربوط به نمونه‌های روز ۶۰ نگهداری بود. استفاده از کیتوزان به صورت معنی‌داری (P<۰/۰۵) جدا شدن سرم را کاهش داد. تفاوت بین نمونه‌های حاوی کیتوزان و کنترل پس از گذشت ۶۰ روز همچنان به شدت خود باقی بود. همچنین با افزایش غلظت کیتوزان، میزان پایداری افزایش یافت. بطوری که در غلظت ۰/۳٪ تقریباً پایداری کامل به وجود آمد. احتمالاً هیدروکلوئیدهای اضافه شده به ویژه در غلظت‌های بالا یک شبکه هیدروکلوئیدی در سراسر دوغ پدید می‌آورند که آب و کازئین‌ها در این شبکه، به دام افتاده و در نتیجه، از جداسازی سرمی جلوگیری می‌شود. این ساز و کار در واقع ساز و کار اصلی پایدارسازی توسط هیدروکلوئیدهای غیر جاذب نیز هست که در غلظت‌های مناسب با تشکیل چنین شبکه‌ای و افزایش گرانروی، سبب پایدار شدن مخلوط‌های کلوئیدی می‌شوند [۲۳]. مکانیسم عمل هیدروکلوئیدها در جلوگیری از جدا شدن سرم، به ساختار مولکولی هیدروکلوئید مورد استفاده نیز بستگی دارد. در صورتی که صمغ مورد استفاده باردار باشد از طریق ممانعت

فضایی و دفع الکترواستاتیک سبب پایداری نوشیدنی‌های تخمیری می‌شود. به نظر می‌رسد مکانیسمی که در این بررسی باعث افزایش پایداری دوغ می‌شود، افزایش ویسکوزیته و به دام افتادن ذرات پروتئینی در یک شبکه مولکولی که توسط صمغ مورد استفاده ایجاد شده است، باشد [٤]. با توجه به شکل، یک سیر صعودی در میزان دوفازه شدن در طول دوره نگهداری مشاهده می‌شود و اختلاف سرعت دوفازه شدن بین روزهای مختلف نگهداری معنی‌دار (P<۰/۰۵) بود. این امر با نتایج حاصل از تحقیقات ازونلو [۱۵] مطابقت داشت. با توجه به نتایج مقایسه میانگین مربعات داده‌ها با آزمون توکی، اختلاف بین نمونه‌های حاوی ۰/۰۵٪ و ۰/۱٪ کیتوزان از روز ۱ تا ٤۰ معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). تغییرات سرعت دوفازه شدن در نمونه‌های مختلف دوغ طی نگهداری در شکل ٤ آورده شده است.

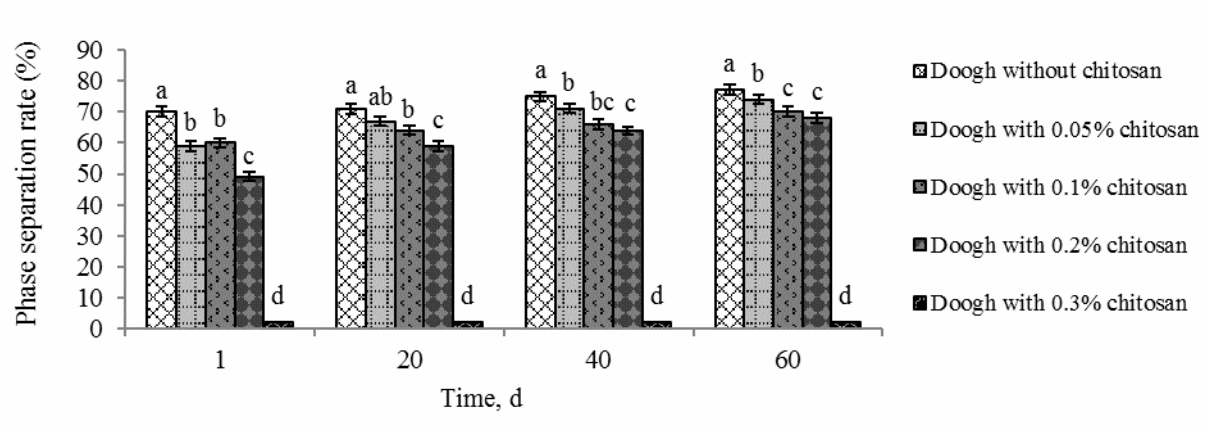

Fig 4 Changes in phase separation rate of doogh during storage*
*All data represent the mean of 3 determinations
[a-d] Indicate significant differences (P<0.05) between the different samples in one storage day

۳-۱-٤-ویسکوزیته

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از معنی‌دار بودن اثر کیتوزان بر ویسکوزیته نمونه‌ها بود (P<۰/۰۵). با افزایش غلظت کیتوزان، ویسکوزیته نمونه‌ها نیز بطور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵) و بیشترین میزان ویسکوزیته مربوط به نمونه حاوی ۰/۳٪ کیتوزان بود. در پژوهش‌های متعددی نیز به افزایش گرانروی انواع نوشیدنیهای اسیدی شیر (از جمله دوغ و آیران) در اثر افزودن انواع هیدروکلوئیدها اشاره شده است [٤، ٢٤ و ٢٥]. شکل۵ تأثیر کیتوزان بر ویسکوزیته نمونه‌های مختلف دوغ را در زوز اول نشان می‌دهد.

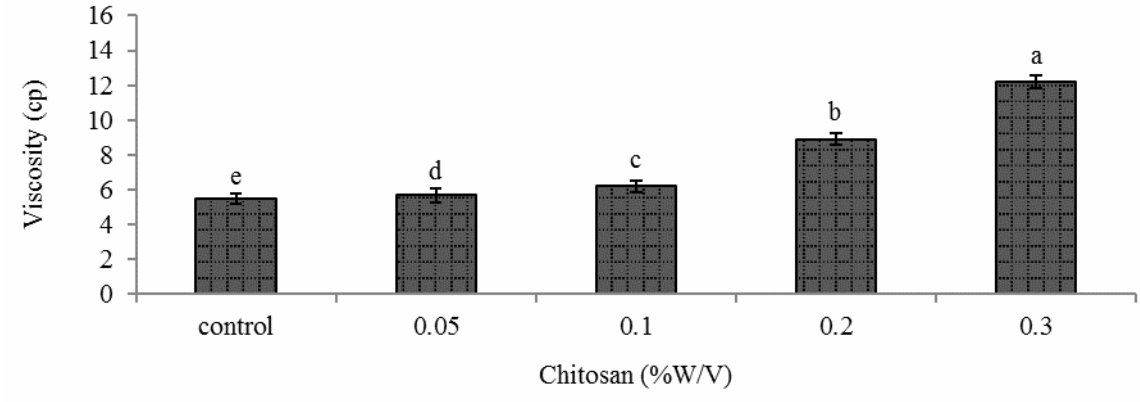

Fig 5 Effect of chitosan on the viscosity of doogh at first day*
*All data represent the mean of 3 determinations
[a-e] Indicate significant differences (P< 0.05) between the different samples

۳-۲-تغییرات میکروبی

۳-۲-۱- شمارش *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس*

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از معنی‌دار بودن (P<۰/۰۵) اثر تیمار، زمان نگهداری و اثر متقابل آن‌ها بر تغییرات شمارش *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس* بود. تعداد *لاکتوباسیلوس* در طول زمان بطور

معنی‌داری افزایش یافت که این افزایش تا روز ۲۰ سیر صعودی داشت ولی از روز ۲۰ تا ٦۰ با سرعت کمتری ادامه یافت. الکادامانی و همکاران [۲٦] با بررسی تغییرات شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک طی ۱۲ روز نگهداری نشان دادند که شمارش این باکتری‌ها در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد افزایش می‌یابد که با نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر مطابقت دارد. افزودن کیتوزان در تمامی روزها به طور معنی‌داری ($P<۰,۰۵$) جمعیت *لاکتوباسیلوس‌ها* را کاهش داد. در تمامی روزها بیشترین و کمترین جمعیت *لاکتوباسیلوس دلبروکی* به ترتیب مربوط به نمونه کنترل و نمونه‌های حاوی ۰/۳٪ کیتوزان بود. تأثیر کیتوزان بر رشد *لاکتوباسیلوس دلبروکی* به طول زنجیر پلیمری کیتوزان و بار میکروبی اولیه محیط بستگی دارد. جدول ۱ تغییرات جمعیت *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس* در نمونه‌های مختلف دوغ را در طی نگهداری نشان می‌دهد.

Table 1 Changes in count of *Lactobacillus delbrueckii subspecies bulgaricus* (Log 10 cfu/ml) during storage

Doogh with 0.3% chitosan	Doogh with 0.2% chitosan	Doogh with 0.1% chitosan	Doogh with 0.05% chitosan	Doogh without chitosan	Samples / Time, d
1.77 ± 0.073^{d}	2.06 ± 0.058^{c}	2.48 ± 0.036^{b}	2.44 ± 0.015^{b}	2.64 ± 0.015^{a}	1
5.67 ± 0.056^{c}	5.95 ± 0.048^{b}	5.69 ± 0.088^{c}	5.88 ± 0.09^{b}	6.73 ± 0.033^{a}	20
5.99 ± 0.088^{d}	6.04 ± 0.039^{d}	6.26 ± 0.028^{c}	6.43 ± 0.016^{b}	6.72 ± 0.029^{a}	40
5.92 ± 0.029^{d}	6.08 ± 0.053^{c}	6.44 ± 0.087^{b}	6.38 ± 0.027^{b}	6.69 ± 0.013^{a}	60

Mean ± SD; n=3

$^{a-d}$ Indicate significant differences ($P< 0.05$) between the different samples in one storage day

۳-۲-۲-شمارش *استرپتوکوکوس سالیواریوس زیرگونه ترموفیلوس*

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از معنی‌دار بودن ($P<۰,۰۰۰۱$) اثر تیمار، زمان نگهداری و اثر متقابل آن‌ها روی تغییرات شمارش *استرپتوکوکوس سالیواریوس زیرگونه ترموفیلوس* بود. جمعیت *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* در تمامی نمونه‌ها تا روز ۲۰ افزایش یافت و از روز ۲۰ تا ٦۰ بطور جزئی کاهش پیدا کرد. از طرفی دیگر، افزودن کیتوزان در تمامی روزها به طور معنی‌داری ($P<۰,۰۵$) جمعیت *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* را کاهش داد. در تمامی روزها بیشترین جمعیت مربوط به نمونه کنترل و کمترین جمعیت مربوط به تیمار حاوی ۰/۳٪ کیتوزان بود. تغییرات جمعیت *استرپتوکوکوس سالیواریوس زیرگونه ترموفیلوس* در نمونه‌های مختلف دوغ طی نگهداری در جدول ۲ آورده شده است.

Table 2 Changes in count of *Streptococcus salivarius subspecies thermophilus* (Log 10 cfu/ml) during storage

Doogh with 0.3% chitosan	Doogh with 0.2% chitosan	Doogh with 0.1% chitosan	Doogh with 0.05% chitosan	Doogh without chitosan	Samples / Time, d
2.63 ± 0.026^{c}	3.21 ± 0.019^{b}	3.41 ± 0.034^{a}	3.41 ± 0.002^{a}	3.44 ± 0.012^{a}	1
6.6 ± 0.049^{b}	6.61 ± 0.037^{b}	6.87 ± 0.031^{a}	6.84 ± 0.022^{a}	6.92 ± 0.013^{a}	20
6.13 ± 0.082^{c}	6.01 ± 0.063^{c}	6.32 ± 0.053^{b}	6.44 ± 0.055^{b}	6.68 ± 0.014^{a}	40
5.26 ± 0.241^{c}	5.4 ± 0.173^{cb}	5.83 ± 0.128^{b}	5.76 ± 0.151^{b}	6.53 ± 0.078^{a}	60

Mean ± SD; n=3

$^{a-c}$ Indicate significant differences ($P< 0.05$) between the different samples in one storage day

۳-۲-۳- شمارش کپک و مخمر

طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، اثر تیمار، زمان و اثر متقابل آنها بر تغییرات شمارش کپک و مخمر معنی‌دار ($P<۰,۰۵$) بود. جمعیت کپک و مخمر با گذشت زمان به طور معنی‌داری ($P<۰,۰۰۰۱$) افزایش یافت. افزودن کیتوزان بطور معنی‌داری ($P<۰,۰۵$) تعداد کپک و مخمر را در طول زمان کاهش داد. در تمامی روزها بیشترین تعداد کپک ومخمر در نمونه کنترل و کمترین تعداد در تیمار حاوی ۰/۳٪ کیتوزان بود. در طی نگهداری، اختلاف معنی‌داری ($P<۰,۰۰۰۱$) بین تیمار کنترل و تیمارهای حاوی کیتوزان وجود داشت ولی بین تیمارهای حاوی درصدهای مختلف کیتوزان اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($P>۰,۰۵$). طبق نتایج حاصل از تحقیقات محبی و همکاران [۲۷]، استفاده از کیتوزان به میزان ۲ و ٦ درصد در خمیر خرما تفاوت معنی‌داری در کاهش میزان رشد کلنی کپک بین تیمارها نسبت به نمونه کنترل ایجاد کرد

(P<۰/۰۵) و با افزایش میزان کیتوزان استفاده شده، کاهش چشمگیری در تعداد میکروارگانیسم‌ها اتفاق افتاد. تغییرات شمارش کپک و مخمر در جدول ۳ آورده شده است.

Table 3 Changes in count of mold and yeast (Log 10 cfu/ml) during storage

Doogh with 0.3% chitosan	Doogh with 0.2% chitosan	Doogh with 0.1% chitosan	Doogh with 0.05% chitosan	Doogh without chitosan	Samples / Time, d
1.1 ± 0.174^{b}	1.59 ± 0.256^{b}	1.47 ± 0.151^{b}	1.16 ± 0.275^{b}	2.65 ± 0.034^{a}	1
6.06 ± 0.058^{c}	6.06 ± 0.058^{c}	5.88 ± 0.090^{b}	5.98 ± 0.026^{b}	6.6 ± 0.022^{a}	20
6.03 ± 0.153^{b}	6.19 ± 0.043^{b}	6.17 ± 0.017^{b}	6 ± 0.043^{b}	6.82 ± 0.028^{a}	40
6.54 ± 0.104^{b}	6.56 ± 0.012^{b}	6.63 ± 0.025^{b}	6.58 ± 0.029^{b}	6.95 ± 0.010^{a}	60

Mean ± SD; n=3

[a-c] Indicate significant differences (P< 0.05) between the different samples in one storage day

۳-۳- ارزیابی ویژگی‌های حسی

۳-۳-۱-ارزیابی حسی رنگ

طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، تأثیر کیتوزان بر رنگ نمونه‌های دوغ معنی‌دار (P>۰/۰۵) نبود.

۳-۳-۲-ارزیابی حسی طعم و مزه

طبق نتایج، تأثیر کیتوزان بر طعم نمونه‌های دوغ معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). اختلاف طعم بین نمونه کنترل و نمونه حاوی ۰/۰۵٪ کیتوزان معنی‌دار نبود ولی اختلاف بین آن دو با سایر نمونه‌ها معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). نمونه کنترل و نمونه حاوی ۰/۰۵٪ کیتوزان دارای امتیاز بیشتری نسبت به سایر نمونه‌ها بودند و کمترین امتیاز مربوط به نمونه حاوی ۰/۳٪ کیتوزان بود که این امر به علت ایجاد طعم تلخ توسط کیتوزان در مقادیر بالا بود. امتیازهای مربوط به طعم و مزه نمونه‌های مختلف دوغ در شکل ۵ آورده شده است.

۳-۳-۳-ارزیابی حسی قوام

طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، مؤید معنی‌دار بودن (P<۰/۰۵) تأثیر کیتوزان بر قوام نمونه‌های دوغ بود. بالاترین امتیاز از لحاظ قوام مربوط به نمونه‌های حاوی ۰/۲ و ۰/۳٪ کیتوزان بود که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری داشتند (P<۰/۰۵) و کمترین امتیاز مربوط به نمونه کنترل بود. با افزایش میزان کیتوزان، ویسکوزیته (در سرعت برشی خاص)، بطور معنی‌داری افزایش یافت و همین عامل سبب افزایش مطلوبیت دوغ از نظر مصرف کننده گردید. فروغی نیا و همکاران [٤]، نیز افزایش میزان استفاده از صمغ کتیرا در دوغ را عامل افزایش ویسکوزیته و پذیرش کلی معرفی کردند. از طرفی کوکسوی و کیلیک [٢٤]، استفاده از مقدار زیاد هیدروکلوئیدها را به عنوان کاهش دهنده مطلوبیت معرفی کردند و به این نتیجه رسیدند که با توجه به نوع هیدروکلوئید مورد استفاده، میزان مناسب آن برای افزایش قوام متفاوت است. امتیازهای مربوط به قوام نمونه‌های مختلف دوغ در شکل ۵ آورده شده است.

۳-۳-٤- ارزیابی حسی عطر و بو

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، حاکی از معنی‌دار بودن (P<۰/۰۵) اثر کیتوزان بر عطر و بوی نمونه‌های دوغ بود. بیشترین امتیاز از لحاظ عطر و بو مربوط به نمونه حاوی ۰/۰۵٪ کیتوزان و کمترین مقبولیت مربوط به نمونه‌های حاوی ۰/۲ و ۰/۳٪ کیتوزان بود. اختلاف بین نمونه کنترل و نمونه حاوی ۰/۱٪ کیتوزان معنی‌دار نبود که از نظر مقبولیت در درجه دوم قرار داشتند. طبق تحقیقات لوسی و همکاران [۲۸]، کوکسوی وکیلیک [٢٤] و گالاردو اسکامیلا و همکاران [۲۹] به نظر می‌رسد استفاده از ترکیبات هیدروکلوئیدی به واسطه افزایش ویسکوزیته می‌تواند فراریت طعم و آروما را کاهش دهد. در واقع این هیدروکلوئیدها با به دام انداختن ترکیبات طعمی استفاده شده، از جدا شدن تدریجی آن‌ها در زمان ماندگاری جلوگیری می‌کنند. بعبارت دیگر با افزایش ویسکوزیته محلول، نرخ انتقال جرم ترکیبات آرومایی کاهش یافته، در نتیجه مصرف کننده کمتر آن را در هنگام خوردن حس می‌کند. از طرفی دیگر، احتمالاً ماهیت خود کیتوزان، همانند طعم و مزه روی عطر و بو نیز تأثیر منفی داشته است. امتیازهای مربوط به عطر و بوی نمونه‌های مختلف دوغ در شکل ٦ آورده شده است.

۳-۳-۵-ارزیابی مقبولیت کلی

طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، تأثیر کیتوزان بر مقبولیت کلی نمونه‌های دوغ معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). بیشترین امتیاز داده شده به مقبولیت کلی مربوط به نمونه حاوی ۰/۰۵٪ کیتوزان بود و کمترین امتیاز مربوط به نمونه حاوی ۰/۳٪ کیتوزان بود. اختلاف بین نمونه‌های حاوی ۰/۱ و ۰/۲٪ کیتوزان معنی‌دار نبود. امتیازهای مربوط به مقبولیت کلی نمونه‌های مختلف دوغ در شکل ٦ آورده شده است.

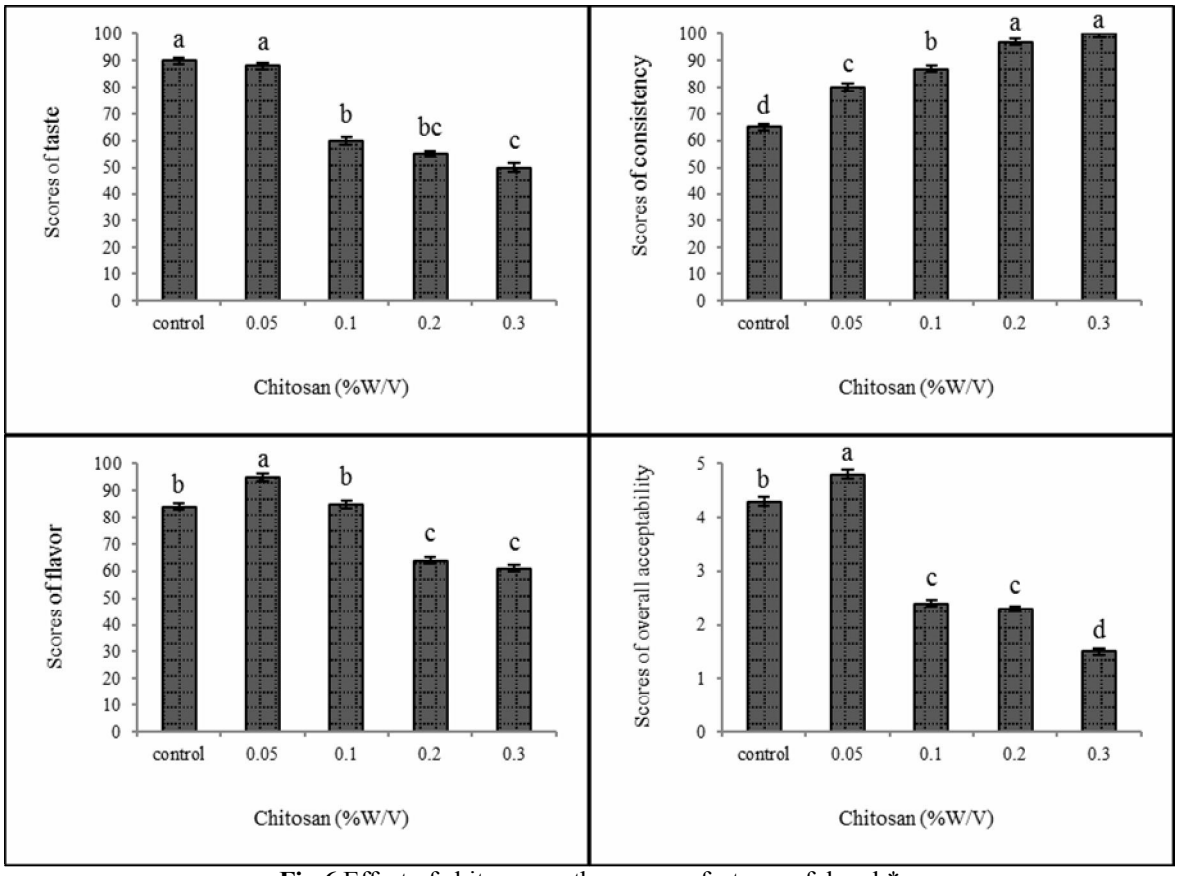

Fig 6 Effect of chitosan on the sensory features of doogh*
*All data represent the mean of 15 determinations
[a-d] Indicate significant differences (P< 0.05) between the different samples

٤- نتیجه‌گیری کلی

طبق نتایج حاصل از این پژوهش، استفاده از کیتوزان موجب کاهش سرعت جداسازی فازی، اسیدیته و افزایش گرانروی و pH نمونه‌های دوغ شد. تأثیر کیتوزان بر باکتری‌های *استرپتوکوکوس سالیواریس زیر گونه ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس* و کپک و مخمر معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) و باعث کاهش قابل توجه تعداد این میکروارگانیسم‌ها شد. در مورد ویژگی‌های حسی، کیتوزان تأثیری بر رنگ و ظاهر دوغ نداشت، اما بر عطر و طعم دوغ مؤثر بود و همچنین باعث بهبود قوام دوغ شد.

٥- منابع

[1] Isiri, 2453, 2nd.revision. (2008). Doogh- Specifications ans test method.
[2] Mckinley, M. C. 2005. The nutrition and health benefits of yoghurt, *International Journal of Dairy Technology*, 58, 1-12.
[3] Taheri, P., Ehsani, M. R.,and Khosravi darae, K. 2009. Effects of Lactobacillus acidophilus La-5 on microbiological characteristics, sensory attributes and phase separation of Iranian doogh drink during refrigerated storage, *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 4, 15-24.
[4] Foroughinaia, S., Abbasi, S., and Hamidi Esfahani, Z. 2007. Effect of individual and combined addition of salep, tragacantin and guar gums on the stabilisation of Iranian doogh, *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 2, 15-25.
[5] Koksoy, A., and Kılıc, M. 2003. Effects of water and salt level on rheological properties of ayran, a Turkish yoghurt drink, International Dairy Journal, 13, 835-839.
[6] Barzegar, H., Karbassi, A., Jamalian, J., and Aminlari, M. 2008. Investigation of the possible use of chitosan as a natural preservative in mayonnaise sauce, JWSS-Isfahan University of Technology, 12, 361-370.
[7] Agullo ,E., Rodriguez, M. S., Ramos, V., and Albertengo, L. 2003. Present and future role of chitin and chitosan in food, Macromolecular Bioscience, 3, 521-530.

[8] Shahidi, F., Arachchi, J. K. V., and Jeon, Y. J. 1999. Food applications of chitin and chitosans, Trends in Food Science & Technology, 10, 37-51.
[9] Wang, G. H. 1992. Inhibition and inactivation of five species of foodborne pathogens by chitosan, Journal of Food Protection, 55, 916-919.
[10] Darmadji, P., and Izumimoto, M. 1994. Effect of chitosan in meat preservation, Meat Science, 38, 243-254.
[11] Altieri, C., Scrocco, C., Sinigaglia, M., and Del Nobile, M. 2005. Use of chitosan to prolong mozzarella cheese shelf life, Journal of Dairy Science, 88, 2683-2688.
[12] Karbassi, A., Barzegar, H., and Mesbahi, G. 2005. Comparison of chitosan produced from shrimp shell as a mayonnaise stabilizer with commercial chitosan and *CMC, Journal of Food Science and Iran*, 2, 67-79.
[13] Benjakul, S., Visessanguan, W., Tanaka, M., Ishizaki, S., Suthidham, R., and Sungpech, O. 2001. Effect of chitin and chitosan on gelling properties of surimi from barred garfish (Hemiramphus far), Journal of the Science of Food and Agriculture, 81, 102-108.
[14] Isiri, 2852, 2006, 1 st. Edition.. Milk and milk products- Determination of titrable acidity and value pH- Test method.
[15] Ozunlu, B. 2005. Ayran kalitesinde etkili bazi parametreler uzerine arastirmalar, *Doktora Tezi,* Ankara Universitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara*, 109s*.
[16] Karna, B., Emata, O., and Barraquio, V. 2007. Lactic acid and probiotic bacteria from fermented and probiotic dairy products, *Science Diliman*, 19, 23-24.
[17] Isiri, 10899, 1 st. Edition. 2008. Microbiology of food and animal feeding stuffs- Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds- Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0.95.
[18] Isiri, 695, 2008. 4th.revision.. Yogurt- Specifications and test methods.
[19] Hussain, I., and Atkinson, N. 2009. Quality comparison of probiotic and natural yogurt, *Pakistan* Journal of Nutrition, 8, 9-12.
[20] Canganella, F., Giontella, D., Nespica, M., Massa, S., and Trovatelli, L. 2000. Survival of Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium infantis in yogurts manufactured from cowmilk and soymilk during storage at two temperatures, Annals of Microbiology, 50, 43-54.
[21] Muhammad, B., Abubakar, M., and Adegbola, T. 2009. Effect of period and condition of storage on properties of yoghurt produced from cow milk and soymilk materials, Research Journal of Dairy Sciences, 3, 18-24.
[22] Vahedi, N., Tehrani, M. M., and Shahidi, F. 2008. Optimizing of fruit yoghurt formulation and evaluating its quality during storage, American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences, 3, 922-927.
[23] Syrbe, A., Bauer, W., and Klostermeyer, H. 1998. Polymer science concepts in dairy systems-an overview of milk protein and food hydrocolloid interaction, International Dairy Journal, 8, 179-193.
[24] Koksoy, A., and Kilic, M. 2004. Use of hydrocolloids in textural stabilization of a yoghurt drink, ayran, Food Hydrocolloids, 18, 593-600.
[25] Janhoj, T., Frost, M. B., and Ipsen, R. 2008. Sensory and rheological characterization of acidified milk drinks, Food Hydrocolloids, 22, 798-806.
[26] Al-Kadamany, E., Toufeili, I., Khattar, M., Abou-Jawdeh, Y., Harakeh, S., and Haddad, T. 2002. Determination of shelf life of concentrated yogurt (labneh) produced by in-bag straining of set yogurt using hazard analysis, Journal of Dairy Science, 85, 1023-1030.
[27] Mohhebi, A., Mehrabian, S., Nasiri, S.H., and Gharibzadeh, S. 2009. The antifungal effects of chitosan and cellulase on growth of Aspergillus niger in date paste, Regional Conference of Food and Biotechnology, Islamic Azad University of Kermanshah.
[28] Lucey, J., Tamehana, M., Singh, H., and Munro, P. 1999. Stability of model acid milk beverage: effect of pectin concentration, storage temperature and milk heat treatment, Journal of Texture Studies, 30, 305-318.
[29] Gallardo-Escamilla, F., Kelly, A., and Delahunty, C. 2007. Mouthfeel and flavour of fermented whey with added hydrocolloids, International Dairy Journal, 17, 308-315.

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Effect of chitosan on the physico-chemical, microbiological and sensory properties of doogh

Manafi Dizaj Yekan, M. [1], Manafi Dizaj Yekan, M. [2], Hesari, J. [3*], Azadmard-Damirchi, S. [2], Ravash, N. [4]

1. M.Sc., Dept. of Food Science and Technology, University of Tabriz
2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Khoy Branch
3. Professor., Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz

ARTICIE INFO

Article History:

Received 12 December 2018
Accepted 15 December 2019

Keywords:

Chitosan,
Stabilizer,
Doogh,
Mold and Yeast.

DOI: 10.52547/fsct.18.03.14

*Corresponding Author E-Mail:
jhesari@tabrizu.ac.ir

ABSTRACT

Doogh is a fermented dairy drink that produced with mixing of pasteurized yogurt, water, essential oils and salt. Due to low pH, doogh is susceptible to spoilage with mold and yeast that is the main challenge for its shelf life. At the same time, the consistency is very important in quality and marketability of doogh. Nowadays, the interesting of consumers to natural antimicrobial substances rather than chemical preservatives has been progressively increased. Chitosan is a derivative of chitin, unlike synthetic polymer compounds, is non-toxic and biodegradable in nature. The aim of this study was investigation on the effect of chitosan on the qualitative features and shelf life of doogh. In this research, chitosan was added to the doogh in four levels (0.05, 0.1, 0.2, 0.3%) and qualitative characteristics of them were investigated by physico-chemical, microbiological and sensory analysis during 60 days. The results showed that, use of chitosan resulted decreasing of phase separation rate, acidity, mold and yeast, *Streptococcus salivarius subspecies thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii subspecies bulgaricus* counts and increasing of viscosity and pH. So that, samples containing 0.3% chitosan had 97% decrease in phase separation rate, 24% decrease in acidity, 6% decrease in mold and yeast count, 19% decrease in *Streptococcus salivarius* count, 11% decrease in *Lactobacillus delbrueckii* count, 122% increase in viscosity and 15% increase in pH compared with control samples, at the last day of storage. In the case of sensory features, chitosan did not have any effect on the color and appearance of doogh, but had effect on the flavor and also consistency was improved.