

مقایسه کیتوزان تولیدی از پوسته میگو به عنوان قوام دهنده در سس مایونز با کیتوزان تجاری و CMC

احمد کرباسی^۱، حسن برزگر^{۲*}، غلامرضا مصباحی^۳

- ۱- استاد یار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز
- ۲- مربی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین
- ۳- مربی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

چکیده

کیتوزان از مشتقات داستیله شده کیتین می باشد که در سخت پوستان، بند پایان، دیواره سلولی برخی از قارچها، پوست (پولک) ماهی و پوسته میگو یافت می شود. هدف از این پژوهش بررسی کارایی کیتوزان استخراجی از پوسته میگو به عنوان یک ماده تثبیت کننده و قوام دهنده و تأثیرات آن بر بافت سس مایونز در مقایسه با کیتوزان تجاری و کربوکسی متیل سلولز بوده است. در این تحقیق ابتدا کیتوزان به روش شیمیایی از پوسته میگو استخراج شد. درصد استحصال کیتوزان برحسب وزن مرطوب پوسته ۱۷ درصد بود. میزان پروتئین و خاکستر و درجه داستیلاسیون کیتوزان تولیدی اندازه گیری شد و با کیتوزان تجاری مقایسه گردید. آنگاه تأثیر غلظتهای مختلف کیتوزان تولیدی بر خواص رئولوژیک سس مایونز بررسی و با کیتوزان تجاری و کربوکسی متیل سلولز مقایسه شد. ثبات امولسیون و ویسکوزیته نمونه های حاوی ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد از کیتوزان تولیدی تعیین شد. بالاترین ویسکوزیته سس مایونز در غلظت ۰/۳ درصد کیتوزان بدست آمد. همچنین نتایج تحقیق نشان داد که نمونه سس مایونز حاوی ۰/۲ درصد کیتوزان تولیدی از نظر ویسکوزیته، مشابه نمونه سس مایونز تجاری حاوی ۰/۲ درصد کربوکسی متیل سلولز می باشد.

خواص حسی نمونه های سس تولیدی شامل رنگ، بو، عطر و طعم و بافت توسط گروه ارزیاب مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج مؤید این نکته بود که از نظر خواص حسی بین نمونه های حاوی غلظتهای مختلف کیتوزان تولیدی و نمونه های سس مایونز تجاری اختلاف معنی داری وجود ندارد. در نهایت این نتیجه گیری حاصل شد که در سس مایونز و سایر محصولات امولسیونی می توان از کیتوزان به عنوان یک ماده تثبیت کننده و قوام دهنده استفاده کرد.

کلیدواژگان: کیتوزان، کیتین، تثبیت کننده، قوام دهنده، سس مایونز

۱- مقدمه

ماده اولیه تولید کیتوزان^۱، کیتین^۲ می باشد. کیتین ماده ای

سخت با ساختار کریستالی و سفید رنگ است که به مقدار زیاد در پوسته سطحی سخت پوستان و حشرات و دیواره سلولی قارچها وجود دارد. منبع اصلی تولید صنعتی کیتین در دنیا، ضایعات پوسته حاصل از صنایع فرآوری میگو و خرچنگ است و کشورهایی مانند

E-mail: barzegarha@yahoo.com

* مسؤول مکاتبات:

1. Chitosan
2. Chitin

استفاده از کیتوزان را از نظر تأثیر آن برخواص بافتی و خصوصیات رئولوژیک در سس مایونز بررسی می‌کند. سس مایونز امولسیون روغن در آب است و از ترکیب روغن مایع، زرده تخم مرغ و سرکه (اسید استیک) به عنوان اجزاء اصلی و همچنین ترکیبات دیگری مانند نمک، مواد شیرین کننده، منوسدیم گلوتامات، اسیدهای خوراکی دیگر مانند اسید سیتریک یا آلبیمو و مواد افزودنی و نگهدارنده تشکیل یافته است. یکی از عمده ترین خواص کیفی در سس مایونز داشتن ساختار امولسیونی مناسب و پایداری امولسیون است. به همین دلیل با استفاده از زرده تخم مرغ که حاوی مواد امولسیفایر از جمله لستین^۴ می‌باشد، سعی می‌شود که سس مایونز تا زمان مصرف از امولسیونی مناسب و پایدار برخوردار باشد. اما اغلب این ماده برای سسهای مایونز تجاری که زمان ماندگاری طولانی و شرایط نگهداری متغیری دارند، کفایت نکرده و لذا اکثراً در تولید سسهای مایونز تجاری از مواد تثبیت کننده^۵ و قوام دهنده^۶ مانند زانتان^۷، کربوکسی متیل سلولز^۸، کاراگینان^۹، آلژیناتها^{۱۰}، کتیرا^{۱۱}، پکتین^{۱۲}، گوار^{۱۳} و سایر مواد صمغی و هیدروکلوئیدی^{۱۴} استفاده می‌شود تا ثبات و دوام بیشتری به ساختار امولسیون در سس ببخشند. در این پژوهش نیز سعی شده که استفاده از کیتوزان استخراجی از پوسته میگو به عنوان جایگزینی جدید برای مواد پایدار کننده و قوام دهنده تجاری مورد بررسی قرار گرفته و تأثیر این ماده بر بافت و خواص رئولوژیک سس مایونز در مقایسه با کیتوزان تجاری و کربوکسی متیل سلولز مورد ارزیابی واقع شود. مواد پایدار کننده و قوام دهنده، اغلب با افزایش ویسکوزیته فار پیوسته، از شکستن امولسیون

هندوستان، ژاپن، لهستان و استرالیا از جمله تولید کنندگان اصلی این بیوپلیمر به حساب می‌آیند [۱ و ۲]. بیوپلیمر کیتین از سازگاری مناسبی با بافتهای زنده برخوردار است و ماده‌ای غیر سمی و تجزیه پذیر^۱ در طبیعت می‌باشد. البته حلالیت آن کم است و واکنش پذیری ضعیفی دارد [۳ و ۴]. کیتوزان از مشتقات کیتین بوده که با فرآیند داستیلاسیون^۲ کیتین بدست می‌آید [۵]. غالباً کیتوزان را به عنوان ماده کیتینی با درصد استیلاسیون بالای ۵۰ درصد می‌شناسند. کیتوزانهای تجاری معمولاً درصد استیلاسیون بیش از ۷۰ درصد و وزن ملکولی بین ۱۰ هزار تا ۱/۲ میلیون دالتون دارند [۶ و ۷]. کیتوزان در pH کمتر از ۶ به صورت پلی کاتیونیک می‌باشد و به سهولت با ترکیبات دارای بار منفی مثل پروتئینها، پلی ساکاریدهای آنیونی، اسیدهای چرب و فسفو لیپیدها واکنش می‌دهد. این مسأله می‌تواند ساختار و بافت و خواص رئولوژیک^۳ محصولاتی را که کیتوزان در تولید آنها بکار می‌رود، تحت تأثیر قرار دهد. به دلیل وجود گروههای آمینی در ساختمان کیتوزان، این ماده در محیطهای اسیدی از حلالیت بهتری برخوردار است [۸]. درجه داستیلاسیون که نسبت گروههای استیل گلوکز آمین به گروههای آمین موجود در ساختار کیتوزان را نشان می‌دهد، عامل مهمی در میزان حلالیت و سایر خواص کیتوزان محسوب می‌شود [۹، ۱۰، ۱۱]. کیتوزان کاربردهای متعددی در صنایع غذایی، دارو سازی، پزشکی، کاغذ سازی و تصفیه آب دارد [۱۲، ۱۳] و از جمله خصوصیات مهم کیتوزان آثار ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی آن است که تحقیقات قابل ملاحظه‌ای در مورد این خواص کیتوزان و کاربرد آن در صنایع غذایی انجام شده است [۲۳، ۲۱، ۷، ۳]. استفاده از کیتوزان در ژاپن در سال ۱۹۸۳ و در کره در سال ۱۹۹۵ در برخی از مواد غذایی مجاز شمرده شده است [۲۴، ۶]. تحقیقات زیادی در مورد خواص ضد میکروبی و قدرت نگهدارنده کیتین و کیتوزان انجام شده است، این پژوهش

4. Lecithin
5. Stabilizer
6. Thickener
7. Xanthan
8. Carboxy methyl cellulose(CMC)
9. Carrageenan
10. Alginates
11. Tragacanth
12. Pectin
13. Guar
14. Hydrocolloides

1. Biodegradable
2. Deacetylation
3. Rheological properties

با ترکیب کیتوزان و پپتیدهای حاصل از تجزیه گلوتن بوسیله واکنش میلارد، حلالیت کیتوزان را در محیطهای اسیدی و خنثی افزایش داد. همچنین این واکنش باعث افزایش خاصیت امولسیون کنندگی و ضد میکروبی کیتوزان گردید [۲۱].

۲- مواد و روشها

مراحل کلی این پژوهش به صورت زیر انجام شد: استخراج کیتین از پوسته میگو و تولید کیتوزان از آن، مشخص کردن خصوصیات کیتوزان تولیدی از نظر درصد استحصال، میزان پروتئین، میزان خاکستر، درصد استیلاسیون، استفاده از مقادیر ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد کیتوزان تولیدی در سس مایونز و مقایسه تأثیر آن با کیتوزان تجاری، کربوکسی متیل سلولز و همچنین نمونه‌های سس فاقد مواد تثبیت کننده از نظر خواص، پایداری امولسیون، ویسکوزیته و خصوصیات حسی بویژه وضعیت بافت. برای بررسی فوق آزمونهای مربوط در سه تکرار انجام شد و در نهایت نتایج مورد بررسی آماری قرار گرفت.

۲-۱- استخراج کیتین از پوسته میگو

در این پژوهش از پوسته‌های مربوط به میگوی ببری^۳ تازه استفاده شد. پوسته‌های مذکور از عمده فروشیهای میگو تهیه گردید. در مرحله بعد پوسته‌ها با آب بطور کامل شستشو شد و به مدت ۴ ساعت در محلول سود سوز آور ۰/۵ درصد خیسانده شد تا بقایای گوشت میگو و احشاء داخلی میگو از پوسته‌ها جدا سازی شود. سپس پوسته‌ها مجدداً با آب شستشو شد و در اون 60°C به مدت دو ساعت خشک گردید و بعد با دستگاه آسیاب^۴ به پودر تبدیل شد. آنگاه استخراج کیتین از پوسته‌ها طی مراحل زیر که بر اساس روش پیشنهادی چانگ و همکاران (۱۹۹۷) می‌باشد، صورت گرفت [۱۰].

جلوگیری می‌کنند، البته برخی از این مواد نقش امولسیفایری نیز از خود نشان داده و با استقرار در بین دو فاز پراکنده و پیوسته ثبات بیشتری به امولسیون می‌دهند.

در اینجا به برخی از تحقیقات انجام شده در مورد کیتوزان و کاربردهای آن در صنایع غذایی اشاره می‌شود: رولر و کوویل (۲۰۰۰) نشان دادند که مقدار ۳ گرم در لیتر کیتوزان گلوتامات در سس مایونز با نگهداری در دمای 5°C سبب جلوگیری از رشد میکروارگانیسمهایی مانند *Zygosaccharomyces* و *Salmonella enteritidis* می‌شود، گرچه خاصیت ضد میکروبی ماده مذکور در دمای 25°C ضعیف تر گزارش شد. حاصل کار این پژوهشگران آن بود که از کیتوزان گلوتامات می‌توان به عنوان یک ماده ضد میکروب طبیعی در سس مایونز در دمای یخچالی استفاده کرد [۱۶] بنجاکول و همکاران (۲۰۰۰) تأثیر کیتوزان را بر ژل بدست آمده از پروتئینهای نوعی ماهی مورد مطالعه قراردادند و به این نتیجه رسیدند که می‌توان از کیتوزان بجای نشاسته برای افزایش قوام و استحکام ژل مذکور استفاده کرد [۳]. کامیل و همکاران (۲۰۰۰) اثر آنتی اکسیدانی سه نوع کیتوزان را بر گوشت نوعی ماهی پخته شده مورد بررسی قراردادند و با مواد آنتی اکسیدان دیگری مانند BHA^۱ و BHT^۲ مقایسه کردند و قدرت آنتی اکسیدانی مناسبی برای کیتوزان گزارش کردند و نتیجه گیری نمودند که می‌توان از کیتوزان به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی در غذاهای چرب استفاده کرد [۲۲] سانگ و همکاران (۲۰۰۱) کیتوزان و لیزوزیم را بوسیله واکنش میلارد ترکیب کردند. در اثر این واکنش خاصیت امولسیون کنندگی کیتوزان و پایداری امولسیون تولید شده توسط آن افزایش یافت. همچنین قدرت ضد میکروبی کیتوزان نیز افزایش پیدا کرد. در پایان این محققین نتیجه گرفتند که از ترکیب کیتوزان- لیزوزیم می‌توان به عنوان یک ماده امولسیفایر و ضد باکتری استفاده کرد [۱۹]. بایبکر (۲۰۰۲)

3. *Parapenopsis semisulactus*
4. Arthur-Thomas. USA

1. Butylated hydroxy anisol
2. Butylated hydroxy toluene

$$\text{وزن کیتوزان تولیدی} \times 100 = \frac{\text{وزن اولیه پوسته میگو}}{\text{درصد کیتوزان تولیدی}}$$

به منظور ارزیابی کیفیت کیتوزان تولیدی، خواص دیگری از آن اندازه گیری و با پوسته میگو و یا کیتوزان تجاری مقایسه شد.

۲-۳-۲- تعیین پروتئین کیتوزان با روش لوری^۴

تعیین مقدار پروتئین کیتوزان تا حد زیادی می‌تواند مشخص کننده درجه خلوص کیتوزان باشد. روش لوری بر اساس رنگ سنجی^۵ است و می‌تواند محلولهای محتوی پروتئین را در غلظتهای ۱ الی ۳۰۰ میکروگرم در لیتر اندازه گیری نماید [۲۶و۲۷]. در این آزمایش از دستگاه اسپکتروفتومتر^۶ استفاده شد و مقدار پروتئین موجود در عصاره جدا شده از نمونه‌های کیتوزان اندازه گیری گردید.

۲-۳-۳- اندازه گیری مواد معدنی (خاکستر) کیتوزان

برای اندازه گیری این خصوصیت در نمونه‌های کیتوزان، مقدار ۲ گرم نمونه را در بوته‌های چینی ریخته و سپس با استفاده از شعله نمونه‌ها را سوزانده و به مدت ۴ ساعت در کوره بادمای ۵۵۰°C قرار داده شد و با توجه به تفاوت وزن نمونه اولیه و نمونه ثانویه، درصد خاکستر محاسبه گردید [۸].

۲-۳-۴- تعیین درصد داستیلاسیون کیتوزان

در این مورد از روش طیف سنجی مادون قرمز استفاده شد و طیف مربوط به کیتوزان تولیدی با کیتوزان استاندارد مقایسه گردید و بر آن اساس درصد یا درجه داستیلاسیون^۷ کیتوزان تعیین شد. دستگاه مورد استفاده اسپکترو فتومتر مادون قرمز^۸ ساخت ژاپن بود و برای

۲-۱-۱- جداسازی مواد پروتئینی^۱ از پوسته

این عمل با استفاده از محلول سودسوزآوریک نرمال در دمای ۹۰°C به مدت دو ساعت انجام شد. نسبت وزنی پودر پوسته میگو به محلول سود، ۱ به ۲۰ بود. سپس بقایای پوسته راصاف کرده و مواد باقی مانده روی صافی بآب مقطر تا رسیدن به pH خنثی شستشو گردید.

۲-۱-۲- جداسازی مواد معدنی^۲ از پوسته

بقایای پوسته حاصل از مرحله قبل به مدت یک ساعت در محلول اسید کلریدریک ۱/۴ نرمال قرار داده شد. نسبت وزنی پوسته به اسید، ۱ به ۱۰ بود. سپس بقایای پوسته صاف شد و مواد باقی مانده روی صافی تا رسیدن به pH خنثی شستشو گردید. کیتین بدست آمده رنگ زرد داشته و باید رنگبری می‌شد.

۲-۱-۳- رنگبری^۳

برای تولید کیتین عاری از رنگیزه‌های کاروتنوئیدی، کیتین با استون شستشو شد تا رنگ آن شفاف و سفید گردد.

۲-۲- تهیه کیتوزان از کیتین

در این مرحله با داستیلاسیون کیتین، کیتوزان تولید گردید. عملیات داستیلاسیون در دمای ۱۰۰°C به مدت ۶ ساعت درون محلول سود غلیظ (۵۰درصد) انجام شد. سپس مواد معلق در محلول سود صاف شده و مواد مذکور (کیتوزان) که بر روی صافی باقی مانده بودند با استفاده از آب مقطر تا رسیدن به pH خنثی شستشو شدند. آنگاه کیتوزان بدست آمده در آون ۶۰°C به مدت ۱ ساعت خشک شد.

۲-۳- تعیین خصوصیات کیتوزان تولیدی

۲-۳-۱- تعیین درصد استحصال کیتوزان

برای این خصوصیت از فرمول زیر استفاده شد:

4. Lowry method
5. Colorimetric method
6. Spectrophotometer, jenway Model 6405, England
7. Degree of Deacetylation (DD)
8. Shimadzu, Inferared Spectrophotometer(Fourier Transform)

1. Deproteinization
2. Demineralization
3. Decolorization

فرمول تجاری انجام گرفت. به هنگام تولید سس سعی شد که دما از حد 15°C بالاتر نرود تا از تأثیر منفی دما برامولسیون جلوگیری شود. همچنین به منظور حفظ بهداشت سعی شد که تا حد امکان مواد اولیه مصرفی آلودگی میکروبی نداشته باشد. برای تهیه سس و مخلوط کردن مواد و ایجاد امولسیون مناسب از دستگاه مخلوط کن آزمایشگاهی^۱ با سرعت نزدیک ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه استفاده شد. در تولید سس با فرمولاسیون تجاری، ابتدا تخم مرغها با استفاده از مخلوط کن آزمایشگاهی کاملاً مخلوط گردید به طوری که رنگ آن متمایل به سفید و روشن شود سپس مواد پودری مطابق با فرمولاسیون جدول ۱ در آب حل شده و ضمن همزدن به مخلوط کن وارد گردید، آنگاه همزدن و مخلوط کردن به مدت یک دقیقه ادامه یافت. در مرحله بعد روغن و سرکه تدریجاً و ضمن همزدن به بقیه مواد اضافه شد، این کار طی حدود ۷ دقیقه انجام گرفت. در طول این زمان بقیه شکر و کربوکسی متیل سلولز که قبلاً در کمی روغن حل شده بودند تدریجاً و ضمن همزدن مداوم افزوده شدند. بعد از این مرحله، عمل همزدن به مدت یک دقیقه دیگر ادامه یافت تا بافت سس کاملاً همگن و امولسیون مناسبی حاصل شود.

معین کردن درجه دی استیلاسیون کیتوزان روش خط پایه و فرمول زیر بکار برده شد [۱۹].

$$DD=100-[(A_{1655}/A_{3450})\times 115]+ \text{baseline}$$

DD = درجه داستیلاسیون

A_{1655} = جذب در 1655 wave number/cm (مربوط به

گروه‌های آمینی و معیاری از تعداد گروه‌های استیل)

A_{3450} = جذب در 3450 wave numver/cm (مربوط به

گروه‌های هیدروکسیل و به عنوان فاکتور تصحیح کننده برای غلظت‌های مختلف کیتوزان در پودر کیتوزان و پتاسیم بروماید)

به منظور آماده سازی نمونه‌های کیتوزان، پودر آنها به صورت نمونه‌های جامد قرص مانند در آورده شد.

پودرهای مذکور قبلاً با پودر پتاسیم بروماید مخلوط شده بود. نسبت پودر کیتوزان به پودر پتاسیم بروماید ۵۰ میلی

گرم به ۱۲۰ میلی گرم بود. مخلوط پودری بدست آمده با استفاده از دستگاه پرس مخصوص ساخت قرص به

صورت قرص مانند درآمد و پس از خشک شدن در آن تحت خلأ در دمای 80°C ، برای آزمایشهای

اسپکتروفتومتری مادون قرمز آماده شد [۲۰].

۲-۴- تولید سس مایونز

تولید سس مایونز با فرمول مندرج در جدول ۱، به عنوان

جدول ۱ مقادیر ترکیبات مصرفی در تولید سس مایونز با فرمولاسیون تجاری

مواد اولیه	آب	روغن	سرکه	تخم مرغ	نمک	بنزوات سدیم	کربوکسی متیل سلولز	خردل	شکر
خصوصیت	معمولی	مایع آفتاب گردان ساعی	۱۱ درصد اسید	کامل	سپید دانه	پودر	پودر	پودر	درجه یک
درصد	۸/۲۰	۶/۵۰	۷/۷	۱۳/۱۵	۱/۵۰	۰/۱۰	۰/۲۰	۰/۳۰	۳/۸۵

برای افزودن کیتوزان به سسها، ابتدا کیتوزان در سرکه مصرفی حل شد، سپس به هنگام تهیه سس تدریجاً به فرمولاسیون اضافه گردید. کربوکسی متیل سلولز مصرفی در تهیه سس با فرمولاسیون تجاری از محصولات یک

گذشته از تهیه سس مایونز با فرمول تجاری فوق الذکر، نمونه‌های سس با مقادیر ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ درصد کیتوزان تولیدی و کیتوزان تجاری نیز تهیه شد، کیتوزان در نمونه‌ها ی مذکور بجای ماده تثبیت کننده کربوکسی متیل سلولز در نمونه‌ها بکار رفت، همچنین نمونه‌هایی از سس مایونز بدون ماده تثبیت کننده به عنوان نمونه‌های شاهد تولید شد.

1. National MJ-176 NR.Japan

شرکت دانمارکی^۱ و کیتوزان تجاری نیز از محصولات شرکت سیگما^۲ بود.

۲-۵- آزمون پایداری امولسیون نمونه‌های سس

مایونز

پس از تولید نمونه‌های سس مایونز با مواد پایدار کننده ذکر شده و نمونه‌های شاهد بر روی آنها آزمون پایداری امولسیون انجام شد تا مشخص شود که آیا مواد پایدار کننده مصرفی در تهیه نمونه‌های سس، موجب پایداری مناسب در آنها می‌شوند یا خیر. در این آزمون نمونه‌های سس به مدت ۵۶ ساعت در اینکوباتور^۳ بادهای ۵۵°C قرار داده شد. پس از پایان زمان مذکور سسها از نظر وضعیت شکستن امولسیون و به سطح آمدن قطرات روغن و بهم پیوستگی فاز پراکنده (روغن زدگی) و استحکام بافت مورد بررسی ظاهری قرار گرفتند [۱].

۲-۶- اندازه گیری ویسکوزیته نمونه‌های سس

مایونز

باتوجه به اینکه سس مایونز سیال غیرنیوتنی و دارای رفتار شبه پلاستیک^۴ از جنبه خواص رئولوژیک می‌باشد، لذا بجای واژه ویسکوزیته از واژه ویسکوزیته ظاهری^۵ استفاده می‌شود. ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های سس تولیدی توسط دستگاه ویسکومتر بروکفیلد^۶ انجام شد. برای این آزمایشها از میله شماره ۷۳ دستگاه مذکور استفاده گردید. کلیه آزمایشها در شرایط کاملاً یکسان و با کنترل دمایی در حدود $25^{\circ}\text{C} \pm 1$ انجام شد و ویسکوزیته نمونه‌ها بر حسب سانتی پواز^۸ گزارش شد [۱۷].

۲-۷- ارزیابی حسی^۹ نمونه‌های سس مایونز

در این قسمت از گروه ارزیابی^{۱۰} ۱۳ نفره استفاده شد، افراد گروه مذکور آزمون مقدماتی آستانه چشایی تشخیصی طعمهای اصلی را با موفقیت پشت سر گذاشته بودند [۳]. برای ارزیابی نمونه‌های سس مایونز، به هریک از آزمون کنندگان نمونه‌های سس (حدود ۱۵ گرم) در ظروف پلاستیکی کوچک داده شد و از آنها خواسته شد که خصوصیات مختلف نمونه‌ها مانند رنگ، عطر و طعم، بو و بافت را مورد ارزیابی قرار دهند. آزمون مورد استفاده در این ارزیابی، امتیاز بندی براساس روش هدونیک^{۱۱} به صورت پنج نقطه‌ای (عالی، بسیار خوب، خوب، قابل قبول و ضعیف) بود که در نهایت به منظور امکان بررسی آماری، نتایج ارزیابی به صورت عددی در آمد [۳]. قابل ذکر است که برای ارزیابی بافت نمونه‌های سس نیز از همین آزمون کنندگان استفاده و در این مورد از آنها خواسته شد که با حرکت دادن قاشق درون نمونه‌های سس، ساختار فیزیکی و بافت آنرا ارزیابی نمایند.

۲-۸- تجزیه و تحلیل آماری نتایج

از طرح آماری کاملاً تصادفی برای تجزیه و تحلیل استفاده شد و برای این منظور برنامه آماری (SAS) بکار برده شد. برای بررسی وجود اختلاف معنی دار بین میانگینها از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد و در مورد ارزیابی حسی از آزمون (LSD) استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تعیین ضریب استحصال کیتوزان از پوسته میگو

$$17 = \frac{17}{100} \times 100 = \text{درصد کیتوزان استحصالی}$$

این نتایج با تحقیقات چانگ و همکاران [۱۰] و هیو و همکاران [۲۶] مطابقت نشان می‌دهد

1. Crindstedt
2. Sigma
3. Incubator.Model 503.Finher
4. Pseudoplastic
5. Apparent Viscosity
6. Bookfiled viscometer.Model DV0III,England
7. Spindle No3
8. Centipose

9. Sensory Evaluation
10. Panelist
11. Hedonic Scale

۳-۲- تعیین میزان پروتئین باقی مانده در کیتوزان

نتایج این بررسی در مورد کیتوزان تولیدی، کیتوزان تجاری و پوسته میگو در جدول ۲ خلاصه شده است. ملاحظه می شود که در صد پروتئین در کیتوزان تولیدی کمتر از کیتوزان تجاری بوده و این مسأله نشان دهنده درجه خلوص بالاتر کیتوزان تولیدی است و به عبارت

دیگر مؤید این نکته است که عملیات پروتئین زدایی از کیتوزان تولیدی بهتر انجام گرفته است. کنترل دمای فرآیند، کاربرد نسبت و درصد مناسب مواد و شستشوی مناسبتر بقایای پروتئین با آب مقطر از جمله عوامل مؤثر در این زمینه هستند [۱۰].

جدول ۲ نتایج اندازه گیری پروتئین، خاکستر و درصد (درجه) داستیلاسیون در کیتوزان تولیدی، کیتوزان تجاری و پوسته میگو

نمونه	پروتئین (درصد نسبت به وزن مرطوب)	خاکستر (درصد نسبت به وزن مرطوب)	درصد دی استیلاسیون
پوسته میگو	۱۱/۵۷	۸/۲۰	-
کیتوزان تجاری	۰/۳۲	۰/۴۹	۸۵
کیتوزان تولیدی	۰/۱۳	۰/۱۱	۹۱

۳-۳- اندازه گیری درصد مواد معدنی (خاکستر) کیتوزان

نتایج این بخش از پژوهش در مورد کیتوزان تولیدی، کیتوزان تجاری و پوسته میگو در جدول ۳ آمده است. نتایج نشان می دهد که در کیتوزان تولیدی در مقایسه با کیتوزان تجاری جداسازی ناخالصیهای معدنی بهتر صورت گرفته و از این جنبه نیز از خلوص بالاتری

برخوردار می باشد. کاربرد نسبت مناسب پوسته میگوبه اسید، همزدن کافی ضمن تماس پوسته میگو و اسید و همچنین شستشوی مناسب مواد باقی مانده بر روی صافی پس از صاف کردن از جمله نکات مؤثر در این مورد است [۱۰].

جدول ۳ میانگین خواص حسی نمونه های سس مایونز در مقایسه با نمونه تجارتي (آزمون LSD - سطح ۵٪)

نمونه سس	رنگ	بافت	بو	طعم
تجارتي	^a ۸/۹۲	^a ۸/۶۰	^a ۷/۴۵	^a ۷/۶۷
۰/۱ درصد کیتوزان	^a ۷/۵۰	^a ۷/۸۰	^a ۷/۵۵	^a ۷/۵۰
۰/۲ درصد کیتوزان	^a ۶/۹۲	^a ۸/۵۲	^a ۶/۹۵	^a ۶/۶۵
۰/۳ درصد کیتوزان	^a ۷/۳۸	^a ۸/۲۷	^a ۶/۸۰	^b ۵/۸۵

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین نمونه های حاوی کیتوزان و نمونه تجارتي در سطح ۵ درصد است.

۳-۴- تعیین درصد داستیلاسیون کیتوزان

نتایج این بررسی در جدول ۳ آمده است و نشان می دهد که در مراحل تولید کیتوزان تولیدی جدا شدن گروههای

استیل در فرآیند داستیلاسیون کیتین، به مقدار بیشتری نسبت به کیتوزان تجاری انجام شده است. در مجموع بررسی میزان پروتئین، میزان خاکستر و درصد

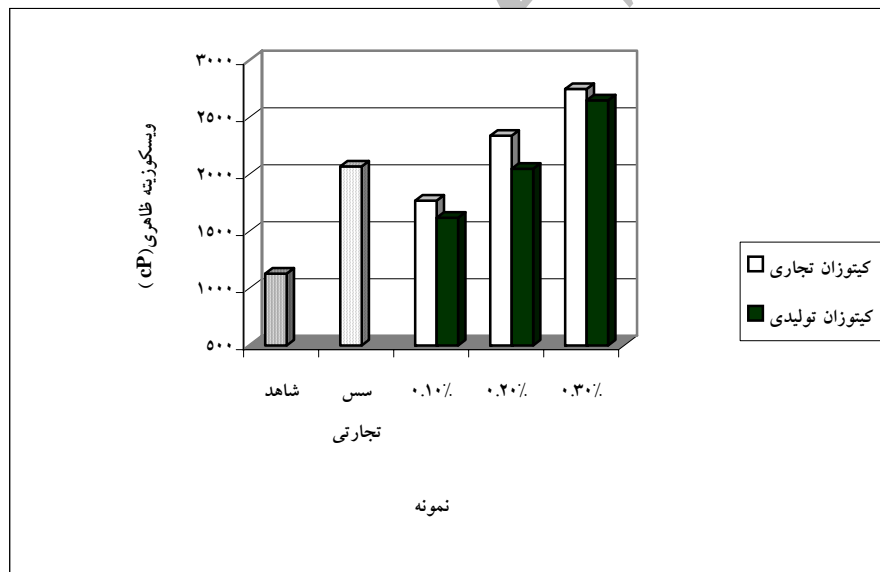
شاهد که فاقد مواد تثبیت کننده افزودنی بوده و تنها مواد امولسیفایری طبیعی مانند لستین زرده تخم مرغ در آن وجود داشته، با موفقیت این آزمون را پشت سر گذاشته‌اند.

داستیلایسیون در کیتوزان تولیدی و مقایسه آن با کیتوزان تجاری نمایانگر خلوص بالاتر کیتوزان تولیدی در این پژوهش است.

۳-۵- نتایج آزمون پایداری امولسیون

پس از اعمال این آزمون بر روی نمونه‌های سس مایونز حاوی ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد کیتوزان تولیدی و کیتوزان تجاری و همچنین نمونه‌های سس تجاری حاوی کربوکسی متیل سلولز و نمونه شاهد، بررسی وضعیت ظاهری و بافت نمونه‌ها نشان داد که در هیچ یک از نمونه‌ها آثار شکستن امولسیون و دوفاز شدن و یا به سطح آمدن روغن پدید نیامده است. پس می‌توان گفت که در ابتدای تولید، همه سسهای مذکور از نظر ثبات امولسیون در حد قابل قبولی بوده‌اند و حتی نمونه‌های

۳-۶- تأثیر کیتوزان تولیدی برویسکوزیته سس مایونز در این بخش از پژوهش هدف آن بود که اولاً تأثیر غلظتهای مختلف (۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد) کیتوزان تولیدی بر ویسکوزیته سس مایونز مشخص شده و همچنین تعیین شود که کدام غلظت مصرفی از آن توان ایجاد ویسکوزیته مشابه سس مایونز تجاری حاوی کربوکسی متیل سلولز است. نتایج اندازه گیری ویسکوزیته ظاهری این تیمارها پس از یک هفته نگهداری در دمای ۲۵°C در شکل ۱ آمده است.



شکل ۱ مقایسه بین ویسکوزیته نمونه های حاوی کیتوزان تجاری و تولیدی.

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است

کربوکسی متیل سلولز در نمونه‌های سس تجاری عمل می‌کند و لذا توان جایگزینی با آنرا دارد.

نتایج بدست آمده در شکل ۱ نشان می‌دهد که کیتوزان تولیدی در غلظتهای مختلف به صورت معنی داری نسبت به نمونه شاهد ویسکوزیته بیشتری را پدید آورده است. از طرف دیگر افزایش غلظت کیتوزان تولیدی بطور معنی دار ویسکوزیته نمونه‌ها را بالا برده است. این آزمون همچنین نشان می‌دهد که کاربرد غلظت ۰/۲ درصد کیتوزان تولیدی از نظر ویسکوزیته مشابه غلظت ۰/۲

۳-۷- تأثیر کیتوزان تجاری بر ویسکوزیته سس مایونز

نتایج بررسی اثر غلظتهای مختلف (۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد) کیتوزان تجاری بر ویسکوزیته ظاهری

بیشتر از کیتوزان تولیدی بوده است. دلیل این تأثیر را کامیل و همکاران چنین توجیه کرده اند که با افزایش درجه د استیلاسیون، ویسکوزیته حاصل توسط کیتوزان کاهش می یابد [۲۲].

۳-۹- مقایسه تأثیر کیتوزان و کربوکسی متیل سلولز بر ویسکوزیته سس مایونز

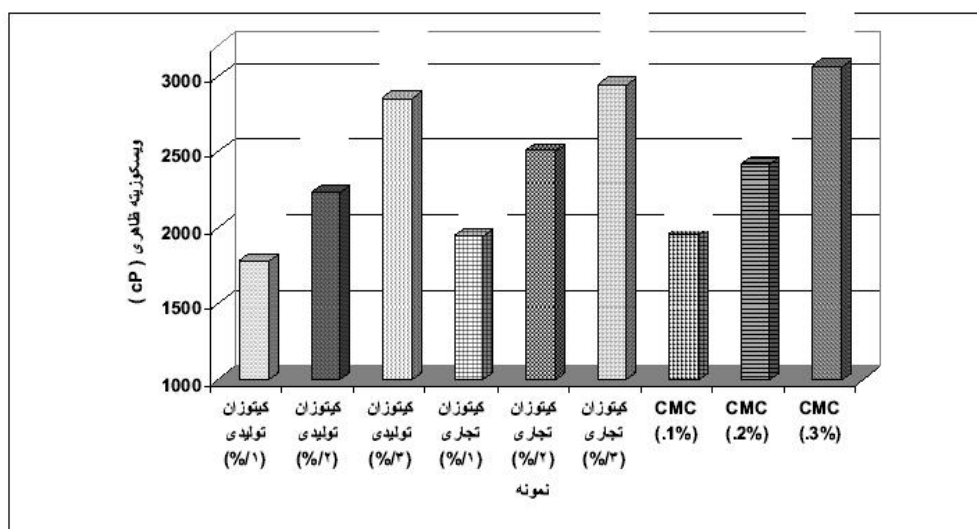
نتایج این بررسی در شکل ۲ به نمایش در آمده است. ملاحظه می شود که کاربرد مقادیر ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد از کربوکسی متیل سلولز ویسکوزیته بالاتری را نسبت به همین غلظتها از کیتوزان تولیدی پدید آورده است. گرچه کیتوزان تجاری در غلظتهای ۰/۱ و ۰/۲ درصد از نظر ایجاد ویسکوزیته تقریباً نزدیک به همین غلظتها از کربوکسی متیل سلولز عمل کرده، لیکن در غلظت ۰/۳ درصد، کربوکسی متیل سلولز ویسکوزیته بالاتری را در سس مایونز بوجود آورده است.

نمونه های سس مایونز و مقایسه آن با تأثیر کربوکسی متیل سلولز در سس تجاری و همچنین نمونه های شاهد در شکل ۱ آورده شده است. نتایج مذکور نشان می دهد که در همه غلظتها، کیتوزان تجاری ویسکوزیته بالاتری را نسبت به نمونه شاهد ایجاد کرده و با افزایش غلظت، افزایش معنی داری در ویسکوزیته سسها پدید می آید. همچنین در غلظت ۰/۲ درصد کیتوزان تجاری، ویسکوزیته ظاهری سس مایونز از سس تجاری حاوی ۰/۲ درصد کربوکسی متیل سلولز بیشتر بوده است.

۳-۸- مقایسه تأثیر کیتوزان تولیدی و کیتوزان تجاری بر ویسکوزیته سس مایونز

در شکل ۱ نتایج این بررسی نشان داده شده است. ملاحظه می شود که هر دو نوع کیتوزان با افزایش غلظت کیتوزان، ویسکوزیته ظاهری بالاتری در سس مایونز حاصل شده است. همچنین نتایج مؤید این نکته است که در هر یک از غلظتها، ویسکوزیته پدید آمده توسط کیتوزان تجاری

شکل ۲ مقایسه بین ویسکوزیته ایجاد شده توسط کیتوزان تجاری، کیتوزان تولیدی و CMC در سس مایونز حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است



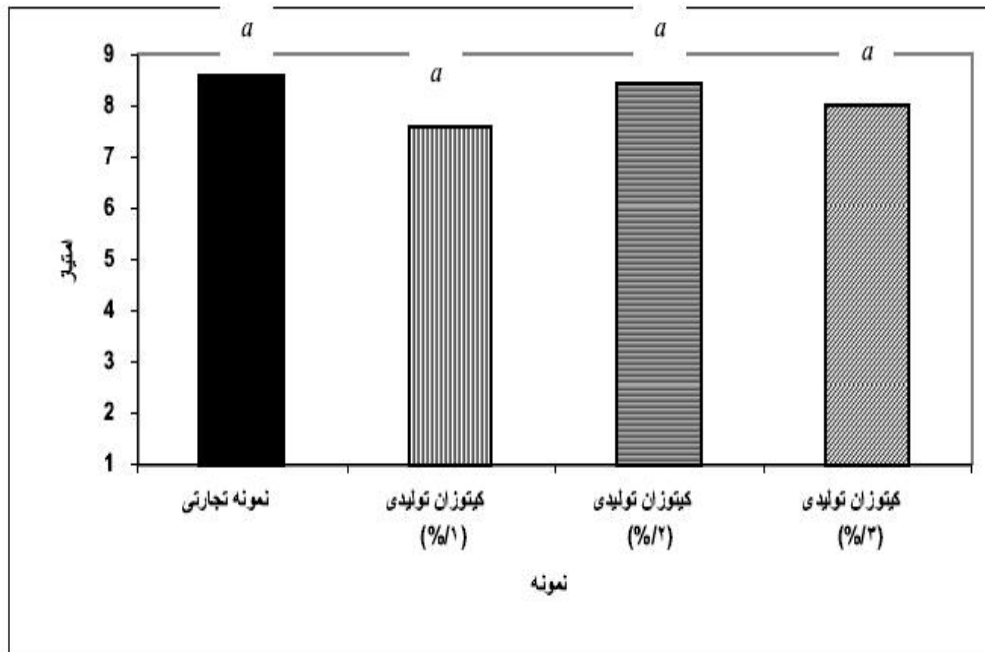
سس مایونز تجاری حاوی کربوکسی متیل سلولز از نظر خواص حسی مورد ارزیابی قرار گرفتند که در شکل ۳ نتایج این بررسی از نظر وضعیت بافت نشان داده شده است. ملاحظه می شود که افراد آزمون کننده نتوانستند

۳-۱۰- نتایج ارزیابی حسی نمونه های سس مایونز حاوی کیتوزان

نمونه های سس مایونز حاوی ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد از کیتوزان تولیدی پس از یک ماه نگهداری در یخچال با

تجاری بودند. قابل ذکر است که آزمون کنندگان از نظر سایر خواص حسی یعنی عطر و طعم و رنگ نیز تفاوت معنی داری را بین نمونه‌های سس مایونز مورد آزمایش گزارش نکردند.

تفاوت معنی داری را از نظر بافت بین سسهای حاوی غلظتهای مختلف کیتوزان و سس مایونز تجاری تشخیص دهند به عبارت دیگر از نظر افراد آزمون کننده، نمونه‌های سس حاوی کیتوزان دارای بافتی مشابه سس مایونز



شکل ۳ نتایج ارزیابی بافت در نمونه‌های سس مایونز حاوی غلظتهای مختلف کیتوزان تولیدی و سس مایونز تجاری حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است.

لازم و مراحل اجرایی این پژوهش همکاری داشته اند، تشکر و قدر دانی می‌شود.

۶- منابع

- [1] Cola, K. A., and Stuffer, K.R. (1987). Shelf life study of oil / water emulsion using various commercial hydrocolloides. J. Food Sci. 52(1):166-172.
- [2] Dominic, V. S. (1989). Mechanism and Theory in Food Chemistry. 2nd ed. Van Nostrand, Reinhold. London. pp:52-60.
- [3] Jia, Z., Chen, D., and Xu, W. (2001). Synthesis and anti bacterial activity of chitosans of quaternary ammonium salt of chitosan. Carbohydrate Research.33:1-6.

۴- نتیجه گیری نهایی

گرچه کاربرد کیتوزان اغلب از جنبه آثار ضد میکروبی آن مطرح می‌شود اما نتایج این پژوهش نشان داد که کیتوزان می‌تواند به عنوان یک ماده قوام دهنده و تثبیت کننده نیز در محصولاتمانند سس مایونز مورد استفاده قرار گیرد و کاربرد غلظت ۰/۲ درصد آن با نتایج قابل قبولی از نظر تأثیر بر بافت و خواص رئولوژیک محصولات مذکور همراه است. البته چنانچه در تولید کیتوزان، خواص قوام دهنده و تثبیت کننده آن مطرح باشد، بهتر است که درجه داستیلاسیون آن در حد متعادتری باشد.

۵- سپاسگزاری

از همه کارکنان بخش علوم و صنایع غذایی و مسئولین پژوهشی و آموزشی دانشگاه شیراز که در تأمین امکانات

- chitosan by irradiation. *J. Sci. Food Agric.* 73(3):237-241.
- [12] Fang, R. S. Daw, Z. Y., Hewedi, F M. and Boulet, M. (1991). Antifungal activity of chitosan.
- [13] Kumar, M. N. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers.* 46:1-2.
- [14] Knowles, J., and Roller, S. (2000). efficacy of chitosan, carvacrol and hydrogen peroxide-based biocide against foodborne microorganisms in suspension and adhered to stainless steel. *J Food Prot.* 64(10):1542-1548.
- [15] Khalid, M. N., Agaely, F., Yagoubi, N., and Courraze, G. (2002). Water state characterization, swelling behavior, thermal and chemical properties of chitosan networks. *European J. Pharm. Sci.* 15:425-432.
- [16] Benjakul, S., Viessanguan, W., Tanaka, M., Ishizaki, S., Suthdham, R., and Sugpech, O. (2000). Effect of chitin and chitosan on gelling properties of surimi from barred gar fish (*Hemiraphus far.*). *J. Sci. Food Agric.* 81(1):102-108.
- [17] Babiker, E., (2002). Effect of chitosan conjugation on functional properties and bactericidal activity of gluten peptides. *Food Chem.* 79:367-372.
- [18] Watts, B. M. Ylimamaki, G. I., and Elias, L. G. (1989). *Basic Sensory Methods for Food Evaluation.* International Development Research Center. Ottawa, Canada. pp: 140-162.
- [4] Mathur, N. K., and Naranuy, C. K. (1990). Chitin and chitosan, versatile polysaccharides from marine animals. *J. Polymer Edu.* 73:245-248.
- [5] New, N., Chandkrachni, S., Sterens, W. F., and Wony, S. M. (2002). Production of chitosan by solid state and submerged fermentation. *Carbohydrate Polymers.* 49:235-237.
- [6] Nakamura, S., Kato, A., and Kobayashi, N. (1991). New antimicrobial characteristics of lysozyme-dextran conjugate. *J. Agric. Food Chem.* 39(2):647-650.
- [7] Reddy, M., Aral, G., Angress, P., and Coutare, L. (1991). Chitosan treatment of wheat seed induces resistance to *Fusarium graminearum* and improves seed quality. *J. Agric. Food Chem.* 47(9):1208-1216.
- [8] Chen, C. S., Liau, W. Y., and Tsai, G. J. (1998). Antibacterial activity of N-sulfonated and N-sulfobenzoyl chitosan and application to oyster preservation. *J. Food Prot.* 62(9):1124-1128.
- [9] Wang, G. H. (1992). Inhibition and inactivation of foodborne pathogens by chitosan. *J. Food Prot.* 55(11):916-919.
- [10] Chang, K. L., and Tsai, G. (1997). Response surface optimization and kinetics of isolating chitin from pink shrimp (*Solenocera melanthero*) shell waste. *J. Agric. Food Chem.* 45(5):1900-1904.
- [11] Matsushashi, S. and Kume, T. (1997). Enhancement of antimicrobial activity of

- influence of analytical methods. *J. Pharm. Phaceut. Sci.* 5(3):205-212.
- [24] Kamil, J. Y., Joen Y. J., Shahidi, F. (2002). Antioxidant activity of chitosans of different viscosity in cooked comminuted flesh of herring. (*Clueahare nagus*). *J. Food Chem.* 79:69-77.
- [25] No, H. K., Park, N. Y., Lee, S. H., and Meyers, S. P. (2002). Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *Int. J. Food Microbiology.* 74:65-72.
- [26] Heu, M. S., Kim, J. S., and Shahidi, F. (2003). Components and nutritional quality of shrimp processing by products. *Food Chem.* 82:235-242.
- [27] Steckel, H., and Nogly, f. M. (2003). Production of chitosan pellets by extrusion/spherinization. *European J. Pharm. Biophar.* 46:1-6.
- [19] Dyle, M.P., Beuchat, L. R., and Montvill, T. J. (2001). *Food Microbiology (Fundamentals and Frontiers)* 2nd ed. ASM Press, Washington. pp:141-150.
- [20] Shahidi, F., and synwieki, J. (1991). Isolation and characterization of nutrients and value added products from snow crab (*Chinocete sopilio*) and shrimp (*Pandalus boreqlis*) processing discards. *J. Agric. Food Chem.* 39(8): 1532-1572.
- [21] Roller, S., and Covil, N. (2000). The antimicrobial properties of chitosan in mayonnaise and mayonnaise-based shrimp salads. *J. Food Prot.* 63(2):202-209.
- [22] Song, Y., Babiker, E., Usai, M., Saito, A. and Kato, A. (2001). Emulsifying properties and bactericidal action of chitosan- lysozyme conjugates. *Food Res. Int.* 35:459-466.
- [23] Ahmad Khan, T., Peh, K., and Chang, H., S., (2002). Reporting degree of deacetylation values of chitosan: The

Archive of SID

Comparison of chitosan produced from shrimp shell as a mayonnaise stabilizer with commercial chitosan and CMC

Ahmad Karbassi¹, Hassan Barzegar^{2*}, Gholamreza Mesbahi³

1- Ph.D., Assistant Professor Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Shiraz University

2- M. Sc., Instructor, Department of Food science and Technology, Ramin Higher Educational Agriculture and Natural Resources Complex

3- M.Sc., Instructor, Department, of Food Science and Technology., College of Agriculture, shiraz university

Chitosan, a deacetylated derivative of chitin, is found in crustacean, arthropod, cell walls of some fungi, fish shell and shrimp shell. The objective of this research was to investigate the effectiveness of chitosan (extracted from shrimp shell) as a stabilizer and thickener and to compare its textural effects with commercial chitosan and carboxymethyl cellulose (CMC) in mayonnaise. In this study chitosan was produced by chemical method from shrimp shell. The percent recovery of chitosan from shrimp shell on wet basis was 17%. Protein and ash contents and degree of deacetylation of the produced chitosan were determined and compared with commercial chitosan. The effect of different concentrations of chitosan on rheological properties of mayonnaise in comparison with commercial chitosan and CMC were investigated. The emulsion stability and viscosity of mayonnaise samples at different chitosan concentrations (0.1, 0.2 and 0.3%) were determined. At 0.3% concentration the highest viscosity of mayonnaise was achieved. Also the results showed that mayonnaise containing 0.2% of produced chitosan can have the same viscosity as commercial mayonnaise (containing 0.2% CMC). Sensory evaluation by panelists proved that in term of texture, there are no any significant differences between the mayonnaise samples containing different concentrations of produced chitosan and commercial chitosan. This investigation demonstrated that chitosan can be used in mayonnaise and other similar emulsion products as a new stabilizer and thickener agent.

Keywords: Chitosan, Chitin, Stabilizer, Thickener, Mayonnaise.

* Corresponding author E-mail: barzegarha@yahoo.com

Archive of SID