



بهینه‌سازی فرمولاسیون پوشش‌های خوراکی بر پایه کربوکسی متیل سلولز بر اساس حداقل افت وزنی و حداکثر اندیس "هاو" در تخم‌مرغ با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM)

شهرام محمدی^۱، بابک قنبرزاده^{۲*}، محمود صوتی^۳ و شیوا قیاسی فر^۴

^۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تبریز، ^۲ دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تبریز، ^۳ دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تبریز، ^۴ استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تبریز، تاریخ دریافت: ۹۱/۰۹/۰۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۶/۰۲

چکیده

فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی، از طریق کاهش تبادل رطوبت و گازها بین محیط و مواد غذایی می‌توانند باعث بهبود کیفیت و ماندگاری مواد غذایی گردند. در این پژوهش، تاثیر بهینه‌سازی فرمولاسیون پوشش‌های خوراکی بر پایه کربوکسی متیل سلولز (CMC) بر فاکتورهای فیزیکی مهم تخم‌مرغ یعنی درصد افت وزنی و اندیس هاو (HU) مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور، غلظت‌های سه ترکیب کربوکسی متیل سلولز، اسیداولئیک و گلیسرول (متغیرهای مستقل) مورد استفاده در فرمولاسیون پوشش‌های خوراکی، با استفاده از مدل‌سازی سطح پاسخ (RSM) بر اساس طرح مرکب مرکزی با ۱۸ فرمول و ۴ تکرار در نقطه مرکزی مورد بررسی قرار گرفتند و سطوح غلظت بهینه جهت تولید بهترین فرمولاسیون پوشش، بر اساس حداقل درصد افت وزن (اسید اولئیک ۱/۹۹ درصد، گلیسرول ۰/۱ درصد و CMC ۰/۴۵ درصد) و حداکثر HU (اسیداولئیک ۱/۹۹ درصد، گلیسرول ۰/۱ درصد و CMC ۱/۰۱ درصد) تعیین گردید.

واژه‌های کلیدی: بهینه‌سازی، روش سطح پاسخ، پوشش خوراکی، CMC، کیفیت تخم مرغ

*مسئول مکاتبه: ghanbarzadeh@tabrizu.ac.ir

مقدمه

پوشش‌ها و فیلم‌های خوراکی، لایه‌های نازکی از ترکیبات و بیوپلیمرهای خوراکی می‌باشند که در سطح مواد غذایی یا در بین ترکیبات آنها قرار می‌گیرند و استفاده از آنها، یکی از روش‌های مهم جهت کنترل تغییرات فیزیکوشیمیایی، میکروبی و فیزیولوژیکی در مواد غذایی محسوب می‌شوند. پلی‌ساکاریدها و لیپیدها از اجزای اصلی سازنده پوشش‌ها و فیلم‌های خوراکی هستند. تبادل رطوبت می‌تواند اثراتی نامطلوبی بر کیفیت مواد غذایی در طی دوره نگهداری داشته باشد بنابراین لازم است به حداقل ممکن برسد تا ماندگاری ماده غذایی افزایش یابد. عملکرد پوشش‌های خوراکی به عنوان یک مانع مؤثر انتقال رطوبت، می‌تواند این مشکل را به صورت چشمگیری کاهش دهد. امروزه پوشش‌های مرکب که ترکیبی از پلی‌ساکاریدها یا پروتئین‌ها با ترکیبات لیپیدی می‌باشند، بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند، زیرا لیپیدها مانع مناسبی جهت ممانعت از تبادل بخار آب در مواد غذایی می‌باشند. طی دوره نگهداری تخم‌مرغ، آفت وزنی، به دلیل اختلاف فشار بین داخل و خارج پوسته و تبادل گازها (به طور عمده دی‌اکسید کربن و رطوبت) از طریق منافذ پوسته با محیط پیرامون آن، رخ می‌دهد (نو و همکاران ۲۰۰۷). تخم مرغ به دلیل دارا بودن میزان متناسبی از پروتئین‌های با اسیدهای آمینه ضروری و ویتامین‌های محلول در چربی، از کیفیت تغذیه‌ای بالایی برخوردار است (فاطمی، ۱۳۸۳؛ کوک و همکاران، ۱۹۸۶؛ فلورس و همکاران ۱۹۸۸) بنابراین کنترل و حفظ کیفیت آن، اهمیت زیادی دارد.

از جمله پلی‌ساکاریدهای مهم مشتق شده از سلولز که در تولید فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی مورد استفاده قرار می‌گیرد، کربوکسی متیل سلولز (CMC) می‌باشد که از طریق واکنش سلولز با هیدروکسید سدیم و اسید کلرواستیک تولید می‌شود و فیلم‌های آن دارای خواص فیزیکی مطلوب مانند خواص مکانیکی نسبتاً بالا و رنگ شفاف می‌باشد (کوچران و کوکس، ۱۹۵۷؛ قنبرزاده و همکاران، ۱۳۸۸).

کیم و همکاران (۲۰۰۹) تاثیر پلاستی‌سایزرهای مختلف شامل گلیسرول، پروپیلن گلیکول و سوربیتول و روش پوشش‌دهی (اسپری کردن، غوطه‌وری یا برس‌زنی) روی کیفیت و ماندگاری تخم مرغ‌های پوشش داده شده با کیتوزان طی ۵ هفته نگهداری در ۲۵ درجه سانتی‌گراد را بررسی نمودند و نشان دادند که نوع پلاستی‌سایزر، اثر چشمگیری بر درصد کاهش وزن و اندیس‌ها^۱ نداشته، اگرچه استفاده از سوربیتول نسبت به گلیسرول و پروپیلن گلیکول، کاهش وزن کمتری را نشان داد. همچنین، روش‌های

1- Haugh unit

غوطه‌وری و برس‌زنی، pH آلبومین کمتری را نسبت به روش اسپری، نشان دادند و HU هم در روش برس‌زنی بیشتر از دو روش دیگر بود، بنابراین برای پوشش‌دهی روش برس‌زنی و پلاستی سائزر سوربیتول برای تخم‌مرغ‌ها پیشنهاد شد. تاثیر بهینه‌سازی فرمولاسیون پوشش‌های متیل سلولز (۲ درصد وزنی-حجمی) و هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (۱ درصد وزنی-حجمی) با استفاده از روش RSM روی درصد کاهش وزن تخم‌مرغ و میزان نفوذپذیری به بخار آب پوشش توسط سوپاکول و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد که غلظت‌های بهینه برای پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰ و مخلوط اسید پالمیتیک- استئاریک در ترکیب پوشش به ترتیب ۱ و ۴ درصد می باشد.

یکی از روش‌های مدل‌سازی آماری، به منظور فرمولاسیون فرآورده‌های غذایی، روش سطح پاسخ^۱ (RSM) است. از مزیت‌های این نوع مدل، تخمین مقادیر بهینه فاکتورها با کمترین تعداد آزمایش و بررسی تاثیر متقابل متغیرها بر نتایج حاصل می‌باشد (میر، ۱۹۹۱؛ رجینک و همکاران، ۲۰۰۸؛ کیم و همکاران، ۲۰۰۹).

هدف از این تحقیق، بهینه‌سازی فرمولاسیون پوشش خوراکی بر پایه CMC - اسید اولئیک، توسط روش RSM بر اساس دو ویژگی کیفی مهم تخم‌مرغ، یعنی درصد کاهش وزن^۲ و اندیس هاو (HU) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد: کربوکسی متیل سلولز با وزن مولکولی متوسط ۴۱۰۰۰ (گرم بر مول) از شرکت کاراگام پارسیان، تخم‌مرغ از یک واحد فارم محلی و سایر ترکیبات از شرکت مرک آلمان خریداری شد.

طراحی مدل سطح پاسخ: در این تحقیق، روش سطح پاسخ (RSM) بر اساس طرح مرکب مرکزی جهت حصول فرمولاسیون بهینه برای پوشش CMC و بررسی تاثیر خطی و متقابل فاکتورهای غلظت CMC، گلیسرول و اسید اولئیک (اجزای تشکیل دهنده پوشش) بر درصد کاهش وزن و HU تخم‌مرغ‌های پوشش داده شده، انتخاب شد. در این طرح، ابتدا دامنه تغییرات برای هر یک از فاکتورهای غلظت CMC، گلیسرول و اسید اولئیک در پنج سطح انتخاب گردید (جدول ۱). براساس شمار متغیرها و سطوح آنها،

1- Response surface methodology

2- % Weight loss

جدول طرح آماری (۱۸ آزمایش با ۴ تکرار در نقطه مرکزی) انتخاب گردید (گاردینر و گتینی، ۱۹۹۸). نقاط مرکزی سه متغیر محاسبه و با در نظر گرفتن گدهای درج شده، شرایط ۱۸ آزمایش از نظر غلظت CMC، گلیسرول و اسید اولئیک تعیین گردید. گدهای تعریف شده آزمایش برای مقادیر کمتر از نقطه مرکزی $-1/682$ و -1 ، صفر در نقطه مرکزی و برای مقادیر بیشتر از نقطه مرکزی $+1$ و $+1/682$ بودند (بوکس و ویلسون، ۱۹۵۱). در این طرح X_1 (غلظت CMC)، X_2 (غلظت گلیسرول) و X_3 (غلظت اسید اولئیک) سه فاکتور مستقل و درصد کاهش وزن و HU دو متغیر وابسته می‌باشند (جدول ۱). در روش سطح پاسخ، به ازای هر متغیر وابسته مدل رگرسیون چند متغیره‌ای تعریف می‌شود که تاثیر خطی، درجه دوم و متقابل متغیرهای مستقل را روی هر متغیر وابسته جداگانه بیان می‌نماید. در این آزمایش، از مدل رگرسیون درجه دوم برای این منظور استفاده شد:

$$Y_i = \beta_0 + \sum_i \beta_i X_i + \sum_{ii} \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i,j} \beta_{ij} X_i X_j$$

در این مدل، β_0 ، β_i ، β_{ii} ، β_{ij} ، به ترتیب عرض از مبدا، ضریب رگرسیون خطی فاکتور i ام، ضریب رگرسیون درجه دوم فاکتور i ام، اثر متقابل فاکتور i ام و فاکتور j ام و Y_i متغیر وابسته می‌باشد. برای سه متغیر خواهیم داشت:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3 \quad (1)$$

جدول ۱- متغیرهای بهینه‌سازی غلظت ترکیبات تشکیل دهنده پوشش و سطوح آنها در طرح مرکب مرکزی.

نوع متغیر	واحد	نماد	سطوح کدبندی شده متغیر				
			$-1/682$	-1	0	$+1$	$+1/682$
غلظت CMC	% W/V	X_1	$0/1$	$0/38$	$0/8$	$1/21$	$1/5$
غلظت گلیسرول	% V/V	X_2	0	$0/4$	1	$1/6$	2
غلظت اسید اولئیک	% V/V	X_3	$0/1$	$0/48$	$1/05$	$1/61$	$1/99$

کل مدل شامل جملات خطی، درجه دوم و حاصلضربها^۱ می‌باشد (رضایی و سلطانی، ۱۳۷۷). برای نشان دادن ارتباط هر یک از متغیرهای تابع در مدل رگرسیون با متغیرهای مستقل، نمودارهای سطح پاسخ و کنتور آنها توسط نرم‌افزار Basic Statistica رسم گردید. تجزیه آماری معادلات چند

1- Cross-Product

متغیره با استفاده از نرم افزار آماری SAS 9.1 انجام شد و ضرایب مربوطه و آثار فاکتورها بر متغیرها معین گردید.

تهیه محلول‌های کربوکسی متیل سلولوز: جهت فرمولاسیون تولید پوشش CMC، ابتدا مقادیر معین از کربوکسی متیل سلولوز (براساس طرح RSM) به آب مقطر اضافه گردید، سپس به مخلوط حاصل، براساس داده های حاصل از طرح سطح پاسخ، گلیسرول و اسید اولئیک افزوده شد و حرارت‌دهی در ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه تا انحلال کامل CMC انجام شد (جدول ۲).

پوشش‌دهی: ابتدا شستشوی نمونه‌های سالم تخم‌مرغ (۶۰-۷۰ گرم) با آب ولرم انجام گردید و بعد از خشک شدن آنها در دمای محیط، پوشش‌دهی تخم‌مرغ‌ها در ۱۸ تیمار مختلف تعیین شده براساس طرح RSM انجام گردید (کانر، ۲۰۰۵). بدین صورت که ابتدا تخم‌مرغ‌ها، به مدت یک دقیقه در محلول‌های پوشش‌دهی غوطه‌ور نموده و سپس آنها را در دمای محیط خشک نموده و مجدداً عمل غوطه‌وری ب مدت یک دقیقه در محلول‌های مورد نظر انجام شد. سپس در دمای اتاق کاملاً خشک شدند و در جعبه‌های پوشیده شده با فویل آلومینیوم، در ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج هفته نگهداری شدند و بررسی‌های کیفی ذیل در طی هفته‌های اول، دوم، سوم، چهارم و پنجم انجام گرفت.

آزمایش‌های کیفی

اندازه‌گیری "واحد هاو (HU)": برای اندازه‌گیری اندیس هاو، ارتفاع آلبومین توسط یک کولیس دیجیتالی تعیین شد و عدد بدست آمده جهت تعیین اندیس هاو در رابطه زیر قرار داده شد (کانر و کانسیز، ۲۰۰۷).

$$100 \log(H - 1/\sqrt{W} + 7/6) = \text{اندیس هاو} \quad (2)$$

که در این معادله W، معرف وزن هر تخم مرغ بر حسب گرم و H، نیز نشان‌دهنده ارتفاع آلبومین بر حسب میلی‌متر می‌باشد.

اندازه‌گیری میزان آفت وزنی: همه نمونه‌های پوشش داده شده، بعد از خشک شدن پوشش سطح آنها، بلافاصله توزین شدند. سپس در هفته‌های متوالی نیز (به مدت ۵ هفته) توزین تخم‌مرغ‌های مورد آزمایش، انجام شد و براساس رابطه زیر، میزان آفت وزنی نمونه‌ها تعیین گردید (کانر و کانسیز، ۲۰۰۷):

$$\text{درصد افت وزن} = \frac{W_2 - W_1}{W_1} \times 100 \quad (3)$$

W_1 : وزن اولیه تخم مرغ بلافاصله بعد از پوشش دهی، W_2 : وزن تخم مرغ در هفته مورد نظر.

نتایج و بحث

بررسی تاثیر فرمولاسیون بر میزان افت وزنی: در طی نگهداری تخم مرغ، بدلیل خروج رطوبت از طریق منافذ پوسته، وزن تخم مرغ کاهش می یابد. با توجه به نتایج جدول ۲، درصد افت وزن در همه آزمایش ها، از ۸/۵۳ تا ۵/۱۱ متغیر بود و کمترین و بیشترین میزان کاهش وزن بترتیب برابر با ۵/۱۱ درصد و ۸/۵۳ درصد در آزمایش شماره ۱۴ و آزمایش شماره ۱۱ بدست آمد. ضرایب رگرسیون اثرات خطی، درجه دو و متقابل برای درصد افت وزن در جدول ۳ و نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل واریانس برازش مدل رگرسیونی درجه دو در جدول ۴ ارائه شده اند. با توجه به جدول ۴، مدل و اثرات خطی معنی دار هستند در صورتی که اثرات درجه ۲ و اثرات متقابل معنی دار نمی باشند و از طرفی، مقادیر فقدان برازش^۱ معنی دار نمی باشد. این نتایج نشان می دهد که مدل رگرسیونی درجه ۲ بدست آمده، توانایی پیش بینی اثرات متغیرهای مستقل بر متغیر وابسته را دارد.

همچنان که مشاهده می شود، اثر خطی فاکتور غلظت CMC (x_1) غیر معنی دار و اثر درجه دوم آن بر روی درصد افت وزن معنی دار بود (۰/۰۳۰۸) و منفی بودن β_2 نشانگر آن است که با افزایش غلظت CMC، درصد افت وزن بصورت درجه دوم کاهش می یابد. همچنین حداقل درصد افت وزن در غلظت های میانه و بالای CMC مشاهده گردید، به عنوان مثال در غلظت ۱/۲۱ و ۱/۵ درصد از CMC، درصد کاهش وزن به ترتیب در حدود ۵/۲۴ و ۶/۴۷ درصد بود. بنابراین با ثابت فرض کردن تغییرات سطح غلظت اسید اولئیک و گلیسرول، درصد کاهش وزن با غلظت CMC در سطح احتمال ۵ درصد رابطه درجه دوم را نشان داد. تاثیر خطی و درجه دو متغیر غلظت گلیسرول (x_2) بر درصد افت وزن معنی دار نبود (جدول ۳). یعنی تغییرات غلظت گلیسرول تاثیرات قابل ملاحظه ای بر تغییرات افت وزنی نداشته است. همچنین اثر خطی متغیر مستقل غلظت اسید اولئیک (x_3) بر میزان افت وزن در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار است ولی اثر درجه دو آن معنی دار نیست، به این معنا که فاکتور مذکور با درصد افت

1- Lack of Fit

وزن رابطه خطی دارد و با افزایش غلظت اسید اولئیک، میزان افت وزن به صورت خطی کاهش می‌یابد که منفی بودن ضریب رگرسیون خطی اثر اسید اولئیک بر میزان کاهش وزن (-0.7970) بیانگر این موضوع می‌باشد.

جدول ۲- طرح آزمایش مرکب مرکزی مورد استفاده جهت بررسی تاثیر غلظت‌های CMC، گلیسرول و اسید اولئیک بر ویژگی‌های پوشش CMC (مقادیر میانگین درصد کاهش وزن و اندیس هاو در جدول نشان داده شده است).

تیمار	متغیرهای کد دار			متغیرهای بدون کد		متغیرهای وابسته	
	X_1	X_2	X_3	CMC	گلیسرول	اسید اولئیک	درصد کاهش وزن
۱	-۱	-۱	-۱	۰/۳۸	۰/۴	۰/۰۴۸	۶/۳۲
۲	-۱	-۱	۱	۰/۳۸	۰/۴	۱/۶۱	۵/۲۱
۳	-۱	۱	-۱	۰/۳۸	۱/۶	۰/۰۴۸	۷/۱۸
۴	-۱	۱	۱	۰/۳۸	۱/۶	۱/۶۱	۵/۹
۵	۱	-۱	-۱	۱/۲۱	۰/۴	۰/۰۴۸	۷/۸۶
۶	۱	-۱	۱	۱/۲۱	۰/۴	۱/۶۱	۵/۲۴
۷	۱	۱	-۱	۱/۲۱	۱/۶	۰/۰۴۸	۶/۰۲
۸	۱	۱	۱	۱/۲۱	۱/۶	۱/۶۱	۵/۵۶
۹	-۱/۶۸۲	۰	۰	۰/۱	۱	۱/۰۵	۶/۴۲
۱۰	۱/۶۸۲	۰	۰	۱/۵	۱	۱/۰۵	۶/۴۷
۱۱	۰	-۱/۶۸۲	۰	۰/۸	۰	۱/۰۵	۸/۵۳
۱۲	۰	۱/۶۸۲	۰	۰/۸	۲/۰۱	۱/۰۵	۶/۶۴
۱۳	۰	۰	-۱/۶۸۲	۰/۸	۱	۰/۱	۸/۳۳
۱۴	۰	۰	۱/۶۸۲	۰/۸	۱	۲	۵/۱۱
۱۵	۰	۰	۰	۰/۸	۱	۱/۰۵	۷/۱۱
۱۶	۰	۰	۰	۰/۸	۱	۱/۰۵	۷/۶۲
۱۷	۰	۰	۰	۰/۸	۱	۱/۰۵	۸/۰۳
۱۸	۰	۰	۰	۰/۸	۱	۱/۰۵	۷/۲۵

از نظر آماری تاثیر متقابل بین فاکتورهای CMC - اسید اولئیک، CMC - گلیسرول و اسید اولئیک - گلیسرول، معنی دار نبود که این نشان دهنده عدم وجود رابطه خطی توام، بین فاکتورهای مورد بررسی بر درصد کاهش وزن می باشد.

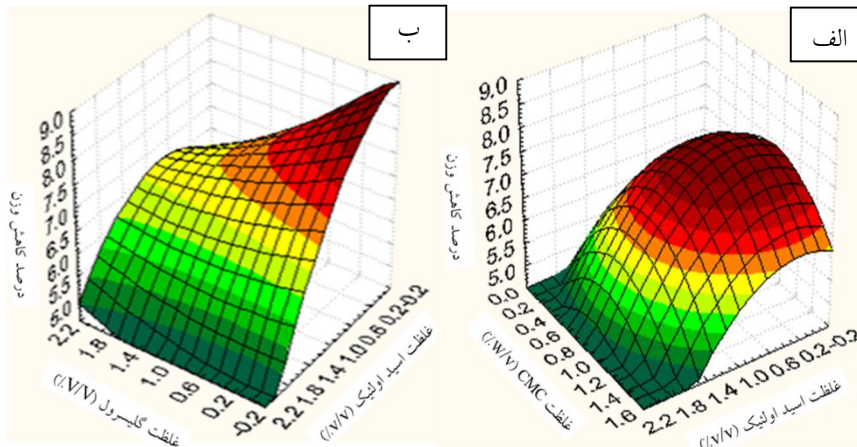
جدول 3- ضرایب رگرسیون و مقادیر معنی دار بودن آنها برای اندیس ها و افت وزنی.

نماد ضرایب	درجه آزادی	اندیس هاو		درصد افت وزن	
		P	ضریب رگرسیون	P	ضریب رگرسیون
β_0	1	-	55/3999	-	7/2531
β_1	1	0/30056	0/861	0/9552	0/0112
β_2	1	0/588754	0/4382	0/2708	-0/2305
β_3	1	0/438239	0/6346	0/034**	-0/7970
β_4	1	0/515549	0/5498	0/0308*	-0/4327
β_5	1	0/977918	-0/0230	0/5489	-0/0296
β_6	1	0/370416	0/7671	0/0652	-0/3355
β_{12}	1	0/157823	-1/5837	0/1702	-0/3837
β_{13}	1	0/450545	-0/8062	0/7435	-0/0862
β_{23}	1	0/7244	-0/3712	0/3572	0/2487

*: نشان دهنده معنی داری در سطح احتمال 5 درصد می باشد. **: نشان دهنده معنی داری در سطح احتمال 1 درصد می باشد.

جدول 4- نتایج حاصل از تجزیه واریانس برازش مدل رگرسیون درجه دو بر ویژگی های مورد مطالعه.

منابع تغییرات	درجه آزادی	اندیس هاو		درصد کاهش وزن	
		P	میانگین مربعات	P	میانگین مربعات
مدل	9	0/6355	6/5321	0/0576	1/6049
خطی	3	0/5594	6/0825	0/0170	3/1346
درجه دوم	3	0/6493	4/7242	0/1653	1/1025
اثر متقابل	3	0/4169	8/7896	0/3850	0/5775
باقیمانده	8	-	8/2654	-	0/5003
عدم برازش	5	0/0008	13/1712	0/0548	0/7441
خطای خالص	3	-	0/0892	-	0/0939
کل	17				



شکل ۱- نمودار سطح پاسخ برای اثر هم‌زمان متغیرها بر درصد افت وزن در تخم‌مرغ: اثر غلظت‌های اسید اولئیک و CMC (الف)، اثر هم‌زمان غلظت‌های اسید اولئیک و گلیسرول (ب).

به‌طور کلی، در بین اثرات خطی، اثرات درجه دوم و اثرات متقابل برای هر سه متغیر مستقل، تنها تاثیر خطی اسید اولئیک (۰/۷۹۷۰) و تاثیر درجه دوم غلظت CMC (۰/۴۳۲۷) روی درصد کاهش وزن معنی‌دار بودند. اگر چه اثر درجه دو کلی مدل (برای هر سه متغیر مستقل به‌صورت جمعی) غیر معنی‌دار بود (جداول ۳ و ۴). همچنین R^2 مدل رگرسیونی برای درصد افت وزنی ۷۸/۳ درصد بود که نشان از تطابق نسبتاً خوب داده‌های بدست آمده از آزمایش با داده‌های پیش‌بینی شده توسط مدل می‌باشد. بنابراین می‌توان معادله رگرسیونی درجه ۲ را برای درصد افت وزن (Y_1) به‌صورت زیر بیان نمود:

$$Y_1 = 7/253 - 0/11X_1 - 0/230X_2 - 0/797X_3 - 0/432X_1^2 - 0/383X_1X_2 - 0/0862X_1X_3 - 0/296X_2^2 + 0/248X_1X_2 - 0/335X_3^2 \quad (4)$$

با حذف عواملی که معنی‌دار نمی‌باشند خواهیم داشت:

$$Y_1 = 7/253 - 0/797X_2 - 0/432X_3^2 \quad (5)$$

نمودارهای سطح پاسخ مربوط به اثرات متغیرهای مستقل بر افت وزنی در مقادیر مرکزی متغیر سوم در شکل‌های ۱-الف و ۱-ب ارائه شده‌اند. با توجه به شکل ۱-الف، با افزایش مقادیر اسیداولئیک در هر غلظتی از CMC، مقادیر افت وزن، کاهش می‌یابد و حداقل و حداکثر افت وزنی به ترتیب در حداکثر و حداقل اسید اولئیک مشاهده می‌گردد. اثر افزایش غلظت CMC وابسته به غلظت اسید اولئیک بوده و تنها در غلظت‌های پایین اسید اولئیک موجب کاهش جزئی در افت وزنی می‌گردد. کاهش میزان افت با افزایش غلظت اسید اولئیک را می‌توان به افزایش میزان هیدروفوب سطحی پوشش نسبت داد که موجب کاهش خروج رطوبت و کاهش افت وزنی می‌شود.

با توجه به شکل ۱-ب، با افزایش غلظت اسید اولئیک در هر غلظتی از گلیسرول، افت وزن کاهش می‌یابد و حداقل افت وزن در حداکثر غلظت اسید اولئیک مشاهده می‌شود. همچنین حداکثر افت وزن در حداقل غلظت اسید اولئیک و گلیسرول قابل مشاهده است. افزایش گلیسرول، تنها در غلظت‌های پایین اسیداولئیک تاثیر جزئی بر کاهش افت وزن داراست. مطابقت داشت و نتایج نشان داد که تخم‌مرغ‌های پوشش داده شده افت وزنی کمتری (۲/۴۶ درصد برای غلظت ۱۲ درصد پروتئین سرمی و ۲/۳۸ درصد برای غلظت ۱۸ درصد پروتئین سرمی در مقایسه با ۳/۱ درصد برای نمونه شاهد) را نشان دادند، همچنین وونگ و همکاران (۱۹۹۶) گزارش کردند که میزان درصد کاهش وزن بعد از ۲۸ روز در دمای اتاق در گروه کنترل و گروه‌های پوشیده شده با روغن‌های معدنی (با ویسکوزیته‌های مختلف) به ترتیب ۱۱/۰ و ۹/۲ بود.

بررسی تاثیر فرمولاسیون بر اندیس هاو (HU): اندیس هاو، ارتفاع ضخیم‌ترین بخش آلبومین را نشان می‌دهد و هرچه قدر بالاتر باشد کیفیت سفیده بالاتر خواهد بود. این اندیس به ارتفاع و وزن سفیده تخم‌مرغ مطابق معادله ۳ وابسته است. در طی نگهداری تخم‌مرغ، خروج دی اکسید کربن از طریق منافذ پوسته، موجب افزایش pH آلبومین، شکسته شدن پیوند اووموسین-لیزوزیم و آبکی شدن سفیده می‌گردد که باعث کاهش اندیس هاو می‌گردد (کوک و یریگس ۱۹۹۸، کانر ۲۰۰۵ و کانر و کانسیز ۲۰۰۸). با توجه به جدول ۲، اندیس هاو برای نمونه‌های تخم‌مرغ پوشش داده شده در محدوده ۶۰/۴۷ - ۴۸/۰۶ متغیر بود. با توجه به نتایج جدول ۳، همه ضرایب رگرسیون درجه اول، دوم و اثر متقابل سه متغیر مستقل مورد بررسی، غیر معنی‌دار بدست آمد. جدول ۴ نتایج حاصل از برازش مدل رگرسیون درجه دو

بر پارامتر کیفی HU در تخم مرغ را به همراه ضرایب رگرسیون مدل نشان می‌دهد. هیچکدام از اثرات خطی، درجه دو و متقابل مدل رگرسیونی درجه ۲ بر اندیس هاو معنی دار نبودند. این نشان‌دهنده آن است که رابطه خطی و درجه ۲ بین HU و سه متغیر ذکر شده وجود ندارد. اگرچه مثبت بودن β_1 ، β_2 و β_3 نشانگر آن است که با افزایش سطح غلظت CMC، گلیسرول و اسید اولئیک، HU در محدوده تغییرات X ها افزایش می‌یابد. همچنین، از نظر آماری تاثیر اثر متقابل بین فاکتورهای CMC - اسید اولئیک، CMC - گلیسرول و اسید اولئیک - گلیسرول، معنی دار نبود که این مبین عدم وجود رابطه خطی توأم بین فاکتورهای مورد بررسی بر HU می‌باشد.

مقدار عددی ضریب تبیین برای اندیس هاو ($R^2=47/6$) نشان‌دهنده ضعف مدل رگرسیونی می‌باشد و می‌توان نتیجه گرفت که مدل رگرسیون نتوانسته است به خوبی رابطه بین متغیرهای مستقل (غلظت CMC، گلیسرول و اسید اولئیک) و وابسته یعنی اندیس هاو را نشان داده و پیش‌بینی کنند.

بنابر داده‌های ضرایب رگرسیونی ارائه شده در جدول ۳، معادله رگرسیونی را برای HU (Y_2) می‌توان بصورت زیر بیان نمود:

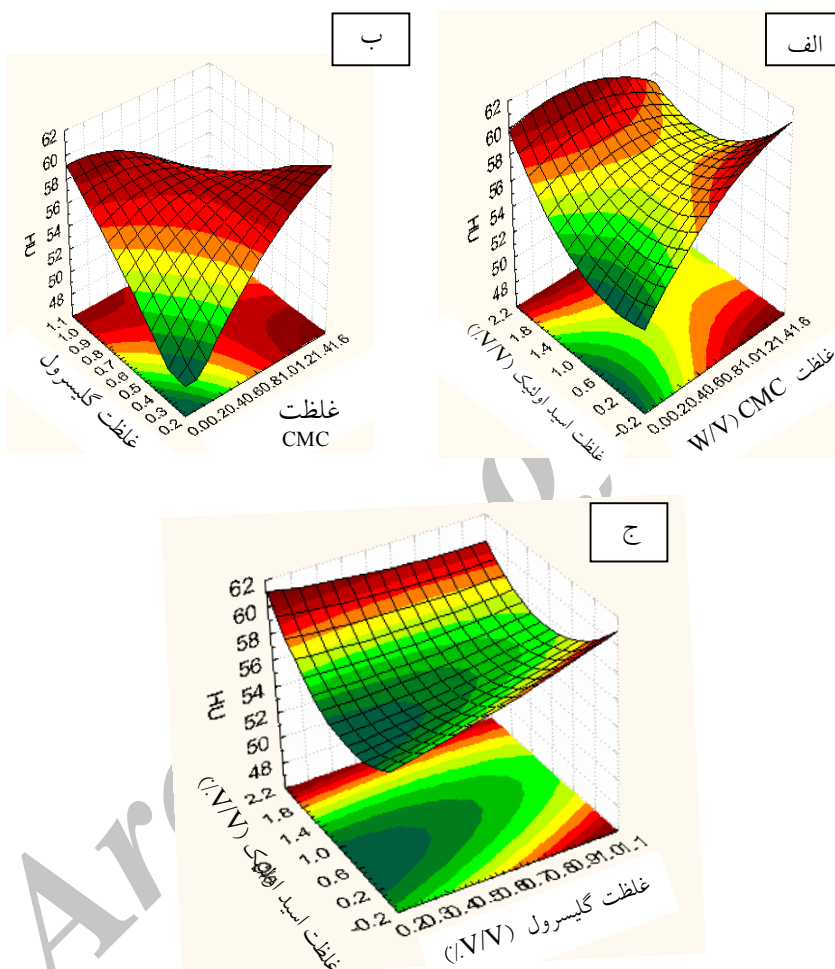
$$Y_2 = 55/399 + 0/861X_1 + 0/438X_2 + 0/634X_3 - 0/549X_1^2 - 1/583X_1X_2 - 0/806X_1X_3 - 0/023X_2^2 + 0/371X_2X_3 - 0/767X_3^2 \quad (6)$$

علامت ضرایب موجود در جدول ۳ نشان‌دهنده نوع رابطه بین فاکتورها (مستقیم یا معکوس) می‌باشد. بعنوان مثال با افزایش CMC و اسید اولئیک، HU افزایش می‌یابد. همچنین با افزایش اسید اولئیک و افزایش گلیسرول به صورت توأم میزان HU افزایش می‌یابد.

با وجود غیرمعنی دار بودن ضرایب رگرسیون و همچنین عدم کارایی مدل، نمودارهای سطح پاسخ می‌توانند به صورت تقریبی اثر متغیرهای مستقل بر اندیس هاو را نشان دهند (شکل ۲). با توجه به شکل ۲، مقادیر اندیس هاو، بیشتر به غلظت اسید اولئیک وابسته است تا دو متغیر دیگر. اگرچه افزایش غلظت گلیسرول و CMC نیز موجب افزایش اندیس هاو می‌شوند.

فرمولاسیون بهینه برای محلول پوشش دهنده، فرمولاسیونی است که حداقل میزان افت وزنی و حداکثر میزان HU در تخم مرغ‌های پوشش داده شده ایجاد نماید. بررسی نتایج حاصل، با استفاده از نرم افزار SAS و نمودارهای سطح پاسخ نشان داد که سطوح غلظت بهینه برای متغیرهای مستقل آزمایش برای درصد افت وزن عبارت‌اند از اسید اولئیک = $1/99$ (درصد ۷/۷)، گلیسرول = $0/01$ (درصد ۷/۷) و

CMC = ۰/۴۵ (درصد w/v) و برای HU عبارت‌اند از اسیداولئیک = ۱/۹۹ (درصد v/v)، گلیسرول = ۰/۱ (درصد v/v) و CMC = ۱/۰۱ (درصد w/v).



شکل ۲- نمودار سطح پاسخ برای اثر همزمان متغیرها بر اندیس هاو در تخم مرغ: اثر غلظت‌های اسید اولئیک و CMC (الف)، اثر همزمان غلظت‌های CMC و گلیسرول (ب) اثر همزمان غلظت‌های اسیداولئیک و گلیسرول (ج).

تعیین نقاط بهینه غلظت‌های متغیرها در فرمولاسیون پوشش: نتایج نقاط بهینه حاصل نشان می‌دهد که غلظت بهینه برای بیوپلیمر CMC در محدوده (w/v درصد) ۱/۰۱ - ۰/۴۵ قرار دارد. همچنین افزایش غلظت اسید اولئیک به حداکثر مقدار خود (۱/۹۹ v/v درصد)، با توجه به خاصیت هیدروفوب آن می‌تواند مانع خروج رطوبت و در نتیجه کاهش افت وزنی و افزایش HU در تخم‌مرغ گردد. همچنین نقاط بهینه برای متغیر گلیسرول (به‌عنوان پلاستی‌سایزر) نشان می‌دهد که در غلظت‌های پایین گلیسرول (۷/۷ درصد ۰/۰۱ تا ۰/۱) درصد کاهش وزن کمتر و اندیس هاو بیشتری را شاهد خواهیم بود. این موضوع را می‌توان با توجه به خاصیت پلاستی‌سایزرها، یعنی کاهش برهم‌کنش‌های زنجیر به زنجیر و جدا شدن نسبی زنجیرها از همدیگر و ایجاد فضای بین زنجیره‌های بیوپلیمر و افزایش هیدروفیل شدن پوشش توضیح داد (توران و همکاران، ۲۰۰۱)، که احتمالاً منجر به کاهش نفوذ پذیری پوشش به گازها و افزایش نفوذ پذیری آن به رطوبت می‌گردد که این موارد بترتیب، منجر به افزایش اندیس هاو و کاهش درصد افت وزنی در نمونه‌های پوشش داده شده تخم‌مرغ می‌گردد (واتکینس، ۱۹۹۵؛ وبر، ۲۰۰۰؛ سویاتما و همکاران، ۲۰۰۵). نتایج حاصل از این پژوهش با مشاهدات کانر (۲۰۰۵) که تاثیر غلظت‌های ۶، ۱۲ و ۱۸ درصد پوشش خوراکی ایزوله پروتئین سرمی شیر را روی درصد وزن و اندیس هاو تخم مرغ مورد بررسی قرار دادند، مطابقت داشت و نتایج نشان داد که تخم‌مرغ‌های پوشش داده شده افت وزنی کمتری (۲/۴۶ درصد برای غلظت ۱۲ درصد پروتئین سرمی و ۲/۳۸ درصد برای غلظت ۱۸ درصد پروتئین سرمی در مقایسه با ۳/۱ درصد برای نمونه شاهد) را نشان دادند، همچنین آنها مشاهده کردند که HU برای غلظت‌های ۱۸ و ۱۲ درصد بالاتر از غلظت ۶ درصد و نمونه‌های شاهد بود. همچنین وونگ و همکاران (۱۹۹۶). گزارش کردند که میزان درصد کاهش وزن بعد از ۲۸ روز در دمای اتاق در گروه کنترل و گروه‌های پوشیده شده با روغن‌های معدنی (با ویسکوزیته‌های مختلف) به ترتیب ۱۱/۰ و ۹/۲ بود.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج مشخص شد که اسید اولئیک عامل تاثیرگذار اصلی بر درصد کاهش وزن در تخم‌مرغ‌های پوشش داده شده با بیوپلیمر CMC می‌باشد و تاثیر دو متغیر دیگر یعنی غلظت گلیسرول و CMC نسبت به اثر متغیر اسید اولئیک کمتر می‌باشد. حداقل میزان درصد کاهش وزن نیز در غلظت‌های

بالای اسید اولئیک و غلظت‌های پایین گلیسرول حاصل شد و مدل رگرسیونی کارایی به‌دست آمد. همچنین در مورد HU هیچ یک از اثرات خطی سه متغیر CMC، اسید اولئیک و گلیسرول بر اندیس هاو معنی‌دار نبودند. این نشان می‌دهد که رابطه خطی بین HU و سه متغیر ذکر شده وجود ندارد. مشابه درصد افت وزن، نقطه بهینه برای HU تخم‌مرغ‌های پوشش داده شده در غلظت‌های بالای اسید اولئیک و غلظت‌های پایین از گلیسرول حاصل شد.

منابع

- Box, G. and Wilson, K. 1951. On the experimental attainments of optimum conditions. *Journal of Research of Statistical Society*, 13: 1-45.
- Caner, C. 2005. Whey protein isolate coating and concentration effects on egg shelf life. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85: 2143-2148.
- Caner, C. and Cansiz, O. 2007. Effectiveness of chitosan-based coating in improving shelf-life of eggs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87: 227-232.
- Caner, C. and Cansiz, O. 2008. Chitosan coating minimizes eggshell breakage and improves egg quality. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 88: 56-61.
- Cook, F. and Briggs, G. 1986. The nutritive value of eggs. *Egg Science and Technology*, 10: 141-63.
- Cochran, G. and Cox, G. 1957. *Experimental Designs*. John Wiley & Sons. Inc, New York, 390p.
- Fatemi, H. 2003. *Food Chemistry*. Enteshar Company. Press, 476p.
- Floros, D. and Chinnan, M. 1988. Computer graphics-assisted optimization for product and process development. *Food Technology*, 42: 72-78.
- Gardiner, P. and Gettinby, G. 1998. *Experimental Design Techniques in Statistical Practice: A Practical Software-Based Approach*, Harwood, England, 436p.
- Ghanbarzade, B., Almasi, H., and Zahedi, Y. 2009. *Biodegradable Edible biopolymers In Food and Drug Packaging*. Tehran polytechnic University Press, 514p.
- Kim, H., Youn, No. H., and Choi, H. 2009. Effects of chitosan coating and storage position on quality and shelf life of eggs. *International Journal of Food Science and Technology*, 44: 1351-1359.
- Myers, H. 1991. Response Surface Methodology in quality improvement. *Common Statistics Theory and Methods*, 20: 457-476.
- No, H., Meyers, S., Prinyawiwatkul, W. and Xu, Z. 2007. Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: A review. *Journal of Food Science*, 72: 87-100.
- Reijrink, M., Meijerhof, R., Kemp, B., and Van, H. 2008. The chicken embryo and its microenvironment during egg storage and early incubation. *World's Poultry Science Journal*, 64: 581-598.

- Rezaei, A., and Soltani, A. 1998. Introduction to Applied Regression Analysis, Isfahan University Press, 276p.
- Suppakul, P., Jutakorn, K., Yannawit, B. 2010. Efficacy of cellulose-based coating on enhancing the shelf life of fresh eggs. *Journal of Food Engineering*, 98: 207–213.
- Suyatma, N.E., Tighzert, L., and Copinet, A. 2005. Effects of hydrophilic plasticizers on mechanical, thermal, and surface properties of chitosan films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 3950–3957.
- Turhan, K.N., Sahbaz, F., Güner, A. 2001. A spectrophotometric study of hydrogen bonding in methylcellulose-based edible films plasticized by polyethylene glycol. *Journal of Food Science*, 66: 59–62.
- Watkins, A. 1995. The nutritive value of the egg. *Egg Science and Technology*, 4: 177–194.
- Weber, C. 2000. Bio based packaging materials for the food industry: Status and perspective. www.mli.kvl.dk/foodchem/special/biopack.
- Wong, C., Herald, J., and Hachmeister, A. 1996. Evaluation of mechanical and barrier properties of protein coating on shell eggs. *Poultry Science*, 75: 417–422.

Optimization of CMC based coating formulation on the base of minimum weight loss and maximum Haugh unit in eggs by response surface methodology (RSM)

Sh. Mohammadi¹, B. Ghanbarzadeh², M. Sowti*³ and Sh. Ghiyasifar⁴

¹ M.Sc. Dept. of Food Science and Technology, University of Tabriz, Tabriz, Iran, ² Associate Prof., Dept. of Food Science and Technology, University of Tabriz, Tabriz, Iran, ³ Assistant Prof., Dept. of Food Science and Technology, University of Tabriz, ⁴ M.Sc of Department of Food Science and Technology, University of Tabriz

Abstract

Edible films and coatings can improve quality and shelf life of foods (including egg) by reducing the loss of moisture and gases. In the present study, the effects of optimization of carboxymethyl cellulose-based coating on important physical properties of eggs (i.e, weight loss and Haugh units) were investigated. For this purpose, concentration of three ingredients (independent variable) used in formulation of CMC based edible coating (i.e, CMC, oleic acid and glycerol) was studied by using response surface methodology (RSM) on the base of central composite design with 18 treatment and 4 replication of central point. The optimum concentration levels of independent variables for producing the best coating on the base of minimum weight loss and maximum HU (dependent variables) in egg determined to be as follows: Weight loss: 0.45 (%w/v) CMC, 0.01 (%v/v) glycerol and 1.99 (%v/v) oleic acid
Haugh unit: 1.01 (%w/v) CMC, 0.1 (%v/v) glycerol and 1.99 (%v/v) oleic acid.

Keywords: Optimization, RSM, Edible coating, CMC, Weight loss, Haugh units.

*Corresponding author; ghanbarzadeh@tabrizu.ac.ir