



تأثیر وزن مولکولی کیتوزان و نوع نرم کننده در پوشش خوراکی بر شاخص های کیفیت داخلی و ریخت شناسی پوسته تخم مرغ

عارف شریفی^۱ و داریوش خادمی شورمستی^{۲*}

۱- کارشناسی ارشد، گروه کشاورزی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران.

۲- استادیار، گروه کشاورزی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران.

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۲/۱۱

کلمات کلیدی:

تخم مرغ،

سوربیتول،

کیتوزان،

گلیسرول،

ماندگاری.

به منظور بررسی تأثیر وزن مولکولی کیتوزان و نوع نرم کننده مورد استفاده در ترکیب پوشش خوراکی بر شاخص های کیفیت داخلی و ریخت شناسی پوسته تخم مرغ، آزمایشی با ۱۲۵ عدد تخم مرغ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار شامل تخم مرغ های فاقد پوشش (شاهد)، دارای پوشش های مبتنی بر کیتوزان های با وزن مولکولی زیاد (۴۵۰ کیلو دالتون) یا وزن مولکولی کم (۶۵ کیلو دالتون) و بکارگیری نرم کننده های گلیسرول یا سوربیتول و ۳ تکرار اجرا شد. پوشش - دهی به روش غوطه وری انجام شد و تخم مرغ ها به مدت ۴ هفته در دمای محیط نگهداری شدند. فراسنجه های کیفیت داخلی تخم مرغ شامل افت وزنی، واحد هاو، اندیس زرده و pH سفیده، بطور هفتگی ارزیابی شدند. در پایان دوره نگهداری، تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی جهت ریخت شناسی پوسته تهیه شد. نتایج نشان داد پوشش خوراکی بر پایه کیتوزان به طور معنی داری ($P < 0.05$) موجب بهبود تمام شاخص های مورد ارزیابی شد. در پایان هفته چهارم نگهداری، در این میان، کمترین مقادیر درصد افت وزنی (0.90 ± 0.07) و pH سفیده تخم مرغ (0.15 ± 0.08) و بیشترین مقادیر واحد هاو (3.23 ± 0.63) و اندیس زرده (0.06 ± 0.34) در تخم مرغ های حاوی پوشش کیتوزان وزن مولکولی زیاد - سوربیتول دیده شد ($P < 0.05$). در تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نیز ترک و ریزحفرات کمتر و یکنواختی و پیوستگی بیشتری در پوسته خارجی تخم مرغ ها در گروه مذکور دیده شد. لذا به منظور بهبود کیفی پوشش خوراکی بر پایه کیتوزان به عنوان یک بسته بندی زیست سازگار جهت افزایش زمان انبارمانی تخم مرغ، کیتوزان با وزن مولکولی بیشتر و نرم کننده سوربیتول توصیه می شود.

DOI: 10.22034/FSCT.20.136.137

DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.136.11.9

* مسئول مکاتبات:

dkhademi@gmail.com

۱- مقدمه

تخم مرغ، به عنوان یکی از منابع ایده آل و در عین حال ارزان قیمت پروتئین و سایر مواد مغذی، نقش مهمی در رژیم غذایی روزانه افراد ایفا می کند. فرآیند کهنگی تخم مرغ، بلافاصله پس از تخم گذاری مرغ ها، با تبدلات جرمی آغاز می شود و تخم مرغ ها را مستعد فساد کرده و لذا خواص شیمیایی، فیزیکی و عملکردی آنها دستخوش تغییر می گردد. در نتیجه، مشکلات متعددی مانند کاهش وزن، افت کیفیت داخلی و آلودگی میکروبیاتی نگهداری و انبارمانی تخم مرغ ها به وجود می آید. منافذ موجود روی پوسته تخم مرغ، شکستگی پوسته تخم مرغ و از دست دادن رطوبت و دی-اکسید کربن می تواند دلیلی برای افت کیفیت باشد [۱].

فیلم ها و پوشش ها می توانند با انسداد منافذ سطح پوسته تخم مرغ به عنوان مانعی برای انتقال رطوبت و گازها عمل کنند. بنابراین، پوشش های مختلفی برای غلبه بر مشکلات مذکور مورد استفاده قرار گرفته است. در این میان کیتوزان که یک چندقندی خطی متشکل از واحدهای ان استیل، دی گلوکز آمین است، به دلیل ویژگی های برتر خود مانند تجزیه پذیری، انحلال در اسیدهای ضعیف، حساسیت به pH، خاصیت تشکیل فیلم، زیست سازگاری، عدم سمیت و کم هزینه بودن مورد توجه قرار گرفته است [۲]. نتایج مطالعات نشان دادند که پوشش کیتوزان در حفظ کیفیت داخلی تخم مرغ بدون تأثیر منفی بر پذیرش مصرف کننده مؤثر است. بدین ترتیب که در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد، افت وزنی تخم مرغ های حاوی پوشش کیتوزان در مقایسه با تخم مرغ های بدون پوشش کاهش و ماندگاری آنها ۲ تا ۳ هفته افزایش یافت [۳-۵].

درجه دی استیله شدن و وزن مولکولی کیتوزان بر خواص فیزیکوشیمیایی و ضد میکروبی آن تأثیر می گذارند [۶]. نشان داده شد که با افزایش وزن مولکولی کیتوزان، برخی از خواص محلول تشکیل فیلم، مانند هدایت، ویسکوزیته،

کشش سطحی و زاویه تماس افزایش یافت. علاوه بر این، با افزایش وزن مولکولی، خاصیت مانع آب و استحکام کششی فیلم های کیتوزان نیز بهبود می یابد [۷]. از سوی دیگر با توجه به ساختار شکننده لفاف های تولیدی بر پایه چندقندی ها و پروتئین ها، استفاده از انواع نرم کننده جهت غلبه بر این مشکل توصیه شده است. نقش اصلی نرم کننده، جذب مولکول آب و کاهش نیروی بین مولکولی بین زنجیره های پلیمر و افزایش انعطاف پذیریلفاف هاست [۸]. از مهم ترین نرم کننده های مورد استفاده در لفاف های زیستی می توان به پلی آل هایمانند گلیسرول و سوربیتول اشاره کرد. گلیسرول و سوربیتول از دسته نرم کننده های قطبی، غیر فرار و با نقطه جوش بالا هستند [۹]. بروز خواص نرم کننده گیک ترکیب، تحت تأثیر وزن مولکولی، ساختار، تعداد گروه های هیدروکسیل، فاصله اتم های اکسیژن و توانایی آن برای پیوند با آب قرار می گیرد [۱۰]. نتایج مقایسه نرم کننده های پلی اتیلن گلیکول، سوربیتول و گلیسرول نشان داد نوع و غلظت نرم کننده به طور معنی داری بر خواص مکانیکی و بازدارندگی فیلم ها تأثیر گذاشت. فیلم های حاوی سوربیتول، شکننده ترین استحکام کششی را نشان دادند. با این حال، اثر آن بر نفوذپذیری بخار آب کم بود. در مقابل، فیلم های حاوی پلی اتیلن گلیکول و گلیسرول ساختار انعطاف پذیری از خود نشان دادند، اگرچه استحکام کششی کم بود و منجر به افزایش نفوذپذیری بخار آب شد [۱۱].

لذا با توجه به محدود بودن تحقیقات در رابطه با تأثیر وزن مولکولی کیتوزان و نیز اثرات و کارایی گاهاً متفاوت نرم کننده ها در ترکیب انواع پوشش ها، این تحقیق به منظور بررسی مقایسه ای تأثیر وزن های مولکولی (کم یا زیاد) کیتوزان و نیز نرم کننده های گلیسرول و سوربیتول در ترکیب پوشش خوراکی بر شاخص های کیفیت داخلی و ریخت شناسی پوسته طی دوره نگهداری ۴ هفته ای در دمای محیط اجرا شد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

تخم مرغ تولیدی مرغان تخم‌گذار سویه تجاری های - لاین در هفته ۴۰ تولید با پوسته سفید، بدون آلودگی به فضولات، با میانگین وزنی حدود 60 ± 3 گرم که با نوربینی از عدم شکستگی پوسته آن اطمینان حاصل شده بود، از یک مزرعه پرورشی تجاری خریداری و به آزمایشگاه منتقل شد. کیتوزان در دو وزن مولکولی کم (۶۵ کیلودالتون) و زیاد (۴۵۰ کیلودالتون) با درجه استیل زدایی ۸۵ درصد (سیگما آلد ریچ - آلمان)، اسید استیک (مرک - آلمان)، گلیسرول و سوربیتول (مرک - آلمان) خریداری شد. تمام مواد شیمیایی با درجه آزمایشگاهی خریداری شده و محلول‌ها به صورت تازه تهیه شدند.

۲-۲- تهیه محلول‌های پوششی

ابتدا محلول ۱ درصد (حجمی/حجمی) اسید استیک تهیه شد و بر روی گرم‌کننده مجهز به همزن مغناطیسی (فاطر ریزپرداز- ایران) قرار گرفت. سپس محلول ۲ درصد (وزنی - حجمی) کیتوزان در اسید استیک با استفاده از انواع کیتوزان‌ها وزن مولکولی کم (۶۵ کیلو دالتون) یا زیاد (۴۵۰ کیلو دالتون) با درجه استیل زدایی ۸۵ درصد تهیه و pH محلول با استفاده از سود نرمال به حدود ۵ رسانیده شد و عمل همزدن تا حل شدن تمام کیتوزان و روشن شدن محلول ادامه یافت. در این مرحله گلیسرول یا سوربیتول به مقدار ۴۰ درصد وزن کیتوزان مصرفی به عنوان نرم‌کننده و توئین ۸۰ به میزان ۰/۲ درصد محلول کیتوزان‌ها افزوده شده و عمل همزدن به مدت ۳۰ دقیقه ادامه یافت. سپس محلول با کاغذ صافی واتمن شماره ۳ صاف گردید [۱۲]. همه محلول‌ها قبل از پوشش‌دهی تخم مرغ‌ها به صورت تازه تهیه شدند.

۲-۳- پوشش‌دهی تخم مرغ و تیمارهای آزمایشی

تعداد ۱۲۵ عدد تخم مرغ به طور تصادفی در ۵ تیمار (۲۵ تخم مرغ در هر تیمار)؛ شامل شاهد (فاقد پوشش)، دارای پوشش‌های کیتوزان با وزن مولکولی کم و حاوی گلیسرول (G LMW)، یا سوربیتول (S LMW)، دارای پوشش‌های کیتوزان با وزن مولکولی زیاد و حاوی گلیسرول (G HMW) یا سوربیتول (S HMW) توزیع شده و به مدت ۴ هفته در دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس نگهداری شدند. پوشش‌دهی به روش غوطه‌وری انجام شد. تخم مرغ‌ها ابتدا به طور جداگانه توزین سپس به مدت ۱ دقیقه در محلول‌های پوششی غوطه‌ور و پس از خشک شدن مجدداً عملیات تکرار شد. نمونه‌گیری جهت انجام آزمایشات، به طور هفتگی صورت گرفت [۱۳].

۲-۴- اندازه‌گیری افت وزنی

ابتدا وزن اولیه تخم مرغ‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال (AND FA 2104، امریکا) با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شد. وزن نهایی در پایان هر هفته اندازه‌گیری شد. درصد کاهش وزن تخم مرغ (WL) با تقسیم نسبت اختلاف وزن اولیه و وزن نهایی به وزن اولیه تخم مرغ محاسبه شد [۱۴].

۲-۵- اندازه‌گیری واحد هاو

جهت ارزیابی شاخص واحد هاو، تخم مرغ‌ها در صفحه شیشه‌ای مسطح شکسته شدند تا ارتفاع سفیده با استفاده از کولیس دیجیتال (INSIZE، آلمان) اندازه‌گیری شود. اندیس هاو (HU) با استفاده از رابطه $HU = 100 \log (H + 7.57 - 1.7 W^{0.37})$ محاسبه شد که در آن H: ارتفاع سفیده (میلی متر) و W: وزن تخم مرغ (گرم) است [۱۴].

۲-۶- اندازه‌گیری اندیس زرده

جهت تعیین این فراسنجه، ابتدا زرده و سفیده منفک شده، با استفاده از میکرومتر دیجیتال (Guanglu، چین) ارتفاع و قطر زرده اندازه‌گیری شد. اندیس زرده (YI) که حاصل نسبت

اندازه ارتفاع به قطر زرده است، با استفاده از رابطه $YI=h/d$ محاسبه شد. در این رابطه h : ارتفاع زرده (میلی‌متر) و d : قطر زرده (میلی‌متر) است [۱۵].

۷-۲- اندازه‌گیری pH سفیده

حدود ۲ گرم از نمونه در ۲۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه همگن شد و pH سفیده با استفاده از pH متر دیجیتال (طب‌آزما، ایران) اندازه‌گیری شد.

۸-۲- ارزیابی ریخت‌شناسی پوسته

جهت ارزیابی ریخت‌شناسی سطح بیرونی پوسته تخم‌مرغ از تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (Philips, XL 300) استفاده شد. ابتدا پوسته‌های تخم‌مرغ با آب شستشو و با استفاده از آون در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس قطعات حدود ۱ سانتی‌متر مربعی از پوسته تهیه شد و با استفاده از چسب نقره بر روی پایه آلومینیومی چسبانده شدند. پایه‌ها در یک دستگاه پوشش‌دهنده-پاشنده تا نقطه بحرانی خشک شدند و برای ایجاد رسانی با لایه نازکی از طلا پوشش‌دهی شدند. تصویربرداری از سطح خارجی پوسته تخم‌مرغ با سرعت ۱۰ Kv انجام شد [۱۶].

۹-۲- تجزیه و تحلیل آماری

در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۳ تکرار در هر تیمار، داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS با رویه GLM به روش آنالیز واریانس دوطرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۹۵ درصد مقایسه شدند.

۳- نتایج و بحث

۱-۳- افت وزنی

با توجه به شکل ۱ طی دوره نگهداری، وزن تخم‌مرغ بطور معنی‌داری ($P<0.05$) کاهش یافت. افت وزنی در تخم‌مرغ-

های فاقد پوشش از ۲/۶۵ درصد در پایان هفته اول به ۹/۱۰ درصد در پایان دوره نگهداری رسید. این در حالی است که استفاده از پوشش خوراکی موجب کاهش سرعت افت وزن تخم‌مرغ‌ها شد و کمترین درصد افت وزنی ($7/01 \pm 0/90$) در پایان هفته چهارم در تخم‌مرغ‌های حاوی پوشش کیتوزان با وزن مولکولی زیاد - سوربیتول اندازه‌گیری شد ($P<0.05$).

افت وزن تخم‌مرغ بطور مستقیم با خروج بخار آب و گازها به‌ویژه دی‌اکسید کربن از منافذ متعدد موجود در سطح پوسته مرتبط است. بدیهی است بکارگیری روش‌هایی که با انسداد بیشتر منافذ، مانع از تبادلات گازی شود، می‌تواند بر کاهش درصد افت وزنی تخم‌مرغ مؤثر باشد [۱۳]. از دست دادن رطوبت و دی‌اکسید کربن عامل بسیاری از تغییرات شیمیایی در سفیده و زرده است و لذا بر سایر شاخص‌های کیفی تخم‌مرغ مؤثر است [۱۷]. بنابراین می‌توان کاهش وزن تخم‌مرغ را به کارایی روش یا ترکیب مورد استفاده طی دوره نگهداری نسبت داد. لذا نتایج این تحقیق نشان داد که بکارگیری کیتوزان با وزن مولکولی بالا و سوربیتول به‌عنوان نرم‌کننده در ترکیب پوشش خوراکی مورد استفاده، از طریق ممانعت مؤثرتر از تبادل گازی بیشتر از سطح پوسته، نسبت به سایر ترکیبات، کارایی بیشتری داشت.

همان‌طور که ذکر شد ویژگی‌های فیزیکی- شیمیایی، زیستی و رئولوژیکی کیتوزان تابعی از وزن مولکولی آن هستند. تخلخل یکی از ویژگی‌های مهم زیست‌ماده‌هاست. وجود حفره در زیست‌ماده باعث می‌شود تا تنش در آن ناحیه متمرکز شده و استحکام مکانیکی کاهش یابد. تصاویرهای میکروسکوپ الکترونی نشان داد اندازه حفرات داربست‌های تهیه شده از کیتوزان‌هایی با وزن‌های مولکولی متفاوت، تحت تأثیر وزن مولکولی قرار می‌گیرند [۱۸]. داربست‌های تهیه شده از کیتوزان با وزن مولکولی زیاد، در مقایسه با وزن مولکولی کم دارای حفرات کوچکتری بودند. در تحقیق

نتیجه کاهش استحکام کششی شوند [۲۰]. در این تحقیق نیز در مقایسه انواع نرم‌کننده مورد استفاده در هریک از پوشش‌ها، کارایی بهتر سوربیتول نسبت به گلیسرول در کاهش افت وزنی مشهود بود.

در تحقیقی Kim و همکاران (۲۰۰۸) از پوشش‌های مبتنی بر کیتوزان ترکیب شده با انواع مختلف نرم‌کننده‌ها استفاده کردند و نشان دادند استفاده از سوربیتول به جای پروپیلن گلیکولیا گلیسرول به‌عنوان یک نرم‌کننده در کاهش افت وزن تخم‌مرغ کارآمدتر است [۲۱]. علاوه بر این، گزارش شد که فیلم‌های حاوی آرد برنج و سوربیتول نسبت به آب نفوذپذیری کمتری دارند و سفت‌تر هستند، در حالی که فیلم‌های حاوی گلیسرول خاصیت سدی ضعیف‌تری در برابر بخار آب دارند. سوربیتول ممکن است یک سد محافظ در برابر انتقال دی‌اکسید کربن و رطوبت روی پوسته تخم‌مرغ ایجاد کند، بنابراین کاهش وزن را به حداقل می‌رساند و عمر مفید تخم‌مرغ را افزایش می‌دهد [۲۲].

۳-۲- واحد هاو

واحد هاو در تیمارهای آزمایشی تحت تأثیر معنی‌دار نوع پوشش خوراکی و زمان نگهداری قرار گرفت ($P < 0.05$). در بازه‌های زمانی مختلف و در پایان دوره، این شاخص در تخم‌مرغ‌های پوشش‌دار بالاتر بود (شکل ۲). بکارگیری کیتوزان با وزن مولکولی بالا به‌ویژه زمانی که حاوی نرم‌کننده سوربیتول بود، در جلوگیری از افت واحد هاو با گذشت زمان مؤثرتر بود. در حالی که واحد هاو در پایان هفته چهارم در تخم‌مرغ‌های فاقد پوشش با افت حدود ۶۰ درصدی به ۳۲/۶۰ رسید، این مقدار در تخم‌مرغ‌های حاوی پوشش کیتوزان وزن مولکولی بالا - سوربیتول حدود ۲۲ درصد افت داشته و به ۶۳/۸۰ در زمان مشابه رسید که بطور معنی‌داری مقدار بیشتری نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد نشان داد ($P < 0.05$).

حاضر نیز صرف‌نظر از نوع نرم‌کننده، پوشش‌های حاوی کیتوزان با وزن مولکولی زیاد، در مقایسه با انواع کم، دارای کارایی بیشتری در کاهش افت وزنی بودند.

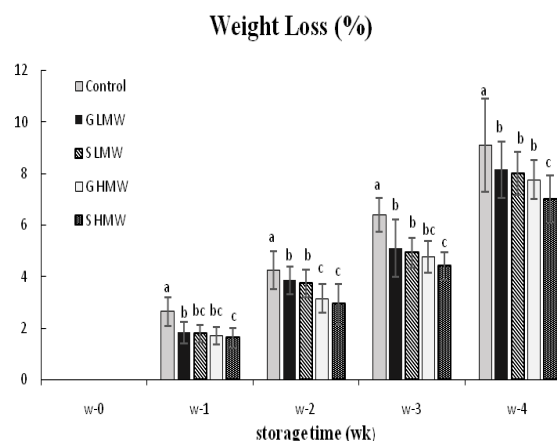


Fig 1 Changes in weight loss (%) of different groups during storage. G: glycerol, S: sorbitol, LMW, HMW: low and high molecular weight. Means with different superscripted letters (a-d) are significantly different ($p < 0.05$).

نرم‌کننده‌ها از طریق تأثیر بر پیوندهای موجود در پلیمرها و افزایش حجم آزاد، موجب افزایش انعطاف‌پذیری و نرمی فیلم‌های کیتوسان می‌شوند. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نرم‌کننده‌ها و نیز سازگاری این مواد با پلیمرها، بر خواص مکانیکی فیلم‌های محتوی آنها مؤثرند [۱۹]. نتایج تحقیقی نشان داد، افزودن گلیسرین به فیلم کامپوزیت نشاسته برنج - کیتوزان باعث کاهش استحکام کششی نسبت به نمونه - های حاوی سوربیتول و پلی‌اتیلن گلیکول شد. تفاوت در این تغییرات به دلیل ساختار این مواد است. ساختار حلقه‌ای سوربیتول باعث اختلال کمتر در بین پیوندهای پلیمر می‌شود. اما مولکول‌های گلیسرین به دلیل کوچکتر بودن و برخورداری از وزن مولکولی کم می‌توانند میان زنجیره‌های پلیمری وارد شوند و نفوذ بیشتری در بین آنها داشته باشند و بنابراین با افزایش نفوذ باعث تضعیف بیشتر پیوندها و در

نگهداری کاهش یافت. در پایان هفته سوم در حالی که تخم- مرغ‌های بدون پوشش، در محدوده درجه B قرار گرفتند، تخم‌مرغ‌های حاوی پوشش کیتوزان وزن مولکولی زیاد - سوربیتولهمچنان در درجه AA باقی ماندند و تخم‌مرغ‌های سایر ترکیبات پوششی در محدوده درجه A قرار داشتند. لذا استفاده از کیتوزان با وزن مولکولی زیاد و سوربیتول به- عنوان نگهدارنده در ترکیب پوشش خوراکی نسبت به سایر ترکیبات، می‌تواند کیفیت سفیده تخم‌مرغ را حداقل یک هفته بیشتر حفظ نماید. از طرفی واحد هاو تخم‌های پوشش داده‌شده با کیتوزانوزن مولکولی زیاد - سوربیتول (۶۳/۸۰) پس از ۴ هفته ذخیره‌سازی تا حدودی بیشتر از تخم‌های بدون پوشش پس از ۲ هفته ذخیره‌سازی بود. این نشان می- دهد که پوشش کیتوزان (۴۵۰ کیلو دالتون) - سوربیتول می- تواند کیفیت آلبومین تخم‌مرغ‌های پوشش داده شده را در مقایسه با تخم‌مرغ‌های بدون پوششبرای حداقل دو هفته بیشتر حفظ کند. حفظ کیفیت سفیده تخم‌مرغ به مدت چند هفته، در تحقیقات مشابهی با استفاده از پوشش‌های خوراکی مختلف و در دماهای مختلف نگهداری گزارش شده است [۱، ۳ و ۵].

۳-۳- اندیس زرده

روند کاهشی در اندیس زرده تخم‌مرغ‌ها طی دوره نگهداری، مشابه واحد هاو بود (شکل ۳). بکارگیری پوشش‌های خوراکی نقش مؤثری در جلوگیری از افت شدید این شاخص داشت. تخم‌مرغ‌های حاوی پوشش کیتوزان با وزن مولکولی بالا - سوربیتول از پایان هفته اول تا انتهای دوره نگهداری، بطور معنی‌داری ($P < 0.05$) اندیس زرده بالاتری داشتند. طی ۴ هفته نگهداری تخم‌مرغ‌ها در دمای محیط، اندیس زرده با افت حدود ۵۶ درصدی در تخم‌مرغ‌های بدون پوشش به 0.19 ± 0.05 رسید که بطور معنی‌داری نسبت به تخم‌مرغ‌های حاوی پوشش کمتر بود. در زمان مشابه، بیشترین مقدار این شاخص (0.34 ± 0.06)

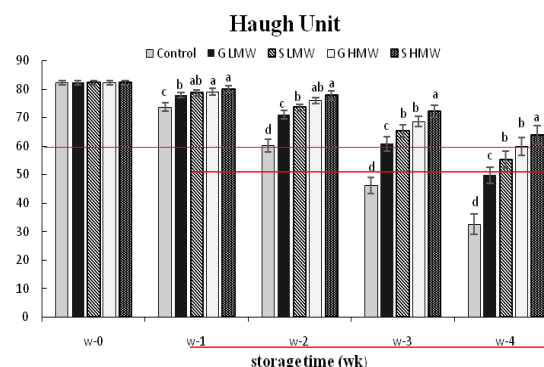


Fig 2 Changes in Haugh unit of different groups during storage. G: glycerol, S: sorbitol, LMW, HMW: low and high molecular weight. Means with different superscripted letters (a-d) are significantly different ($p < 0.05$).

یکی از شاخص‌های تعیین کیفیت داخلی تخم مرغ اندازه گیری واحد هاو است. هرچه مقدار عددی این شاخص بیشتر باشد، بیانگر کیفیت بالاتر تخم‌مرغ است. محققان اعتقاد دارند که بین واحد هاو و وزن تخم‌مرغ ارتباطاتی وجود دارد. در طول ذخیره‌سازی، فقدان دی‌اکسید کربن و مهاجرت آب از سفیده به زرده تخم‌مرغ، کمی pH زرده تخم‌مرغ را تغییر می‌دهد که بر کیفیت آلبومین تأثیر می- گذارد. تخم‌مرغ‌ها بر اساس واحد هاو در گروه‌های AA: بیشتر از ۷۲، A: ۶۰-۷۲، B: ۳۱-۵۹ و C: کمتر از ۳۰ درجه‌بندی می‌شوند [۲۳].

در مطالعه‌ای، واحد هاو تخم‌های بدون پوشش پس از ۴ هفته نگهداری در دمای ۲۵ درجه سلسیوساز مقدار اولیه ۹۱/۷۳ به ۳۰/۸۷ کاهش یافت [۱۲]. در این تحقیق نیز واحد هاو در تخم‌مرغ‌های فاقد پوشش در پایان هفته چهارم از ۸۲/۲۰ به ۳۲/۶۰ کاهش یافت. با توجه به شکل ۲، واحد هاو از ۸۲ (درجه AA) به ۷۳-۸۰ در پایان هفته اول

شاخص در تخم مرغ‌های حاوی پوشش آلفا کیتوزان با وزن مولکولی ۱۱۱۰ کیلو دالتون و نیز بتا کیتوزان به طور معنی داری کمتر بود [۱۲]. لذا ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی پوشش‌های مبتنی بر کیتوزان، علاوه بر وزن مولکولی، تحت تأثیر نوع کیتوزان نیز قرار می‌گیرد. همچنین گزارش گردید که پوشش کیتوزان، صرف‌نظر از انواع نرم‌کننده، به حفظ کیفیت زرده تخم مرغ‌های پوشش داده شده برای تقریباً ۳ هفته بیشتر از تخم مرغ‌های بدون پوشش کمک کرد [۲۱].

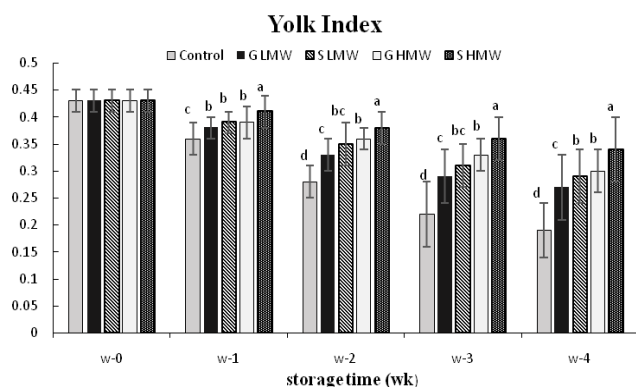


Fig 3 Changes in yolk index of different groups during storage. G: glycerol, S: sorbitol, LMW, HMW: low and high molecular weight. Means with different superscripted letters (a-d) are significantly different ($p < 0.05$).

۳-۴- pH سفیده

همان‌طوری که در شکل ۴ نشان داده شد؛ با گذشت زمان نگهداری، pH سفیده در تمامی گروه‌ها با افزایش همراه بود ($P < 0.05$). همانند سایر فراسنجه‌های مورد مطالعه، استفاده از پوشش خوراکی تأثیر معنی داری بر مقادیر این شاخص داشت. از پایان هفته اول نگهداری تا پایان دوره نگهداری در هفته چهارم، مقدار عددی pH تخم مرغ‌های حاوی پوشش کیتوزان با وزن مولکولی بالا - سوربیتول نسبت به سایر تیمارها، پایین‌تر بود ($P < 0.05$). طی دوره نگهداری،

در تخم مرغ‌های حاوی پوشش کیتوزان با وزن مولکولی بالا - سوربیتول دیده شد ($P < 0.05$).

اندیس زرده، شاخصی است که با تعیین آن می‌توان بطور غیر مستقیم استحکام غشای ویتلین و شکل کروی زرده را ارزیابی کرد و می‌تواند به عنوان نشانه‌ای از تازگی تخم مرغ مورد استفاده قرار گیرد. ماهیت کروی زرده تخم مرغ را می‌توان با اندازه‌گیری ارتفاع و قطر زرده به صورت اندیس زرده گزارش کرد. اندیس زرده تخم مرغ‌های تازه و با کیفیت حدود $0.39 - 0.45$ است، در حالی که تخم مرغ‌های قدیمی دارای مقدار عددی کمتری هستند. از این رو، هر چه مقدار عددی این شاخص بالاتر باشد، کیفیت زرده بهتر است. با این حال، زمان ذخیره‌سازی تأثیر قابل توجهی بر این شاخص دارد [۱].

به نظر می‌رسد در طول دوره ذخیره‌سازی طولانی مدت، پوشش‌های خوراکی توانایی کارآمدی در کاهش سرعت انتقال جرم (اتلاف رطوبت و دی‌اکسید کربن) از سفیده دارند. افزایش عرض زرده فرآیندی است که در اثر انتشار آب از طریق غشای ویتلین (از سفیده به زرده) ایجاد می‌شود. این فرآیند مایع شدن سفیده و جذب آب توسط زرده را مهار می‌کند و کاهش کیفیت زرده را به حداقل می‌رساند [۲۴]، که می‌تواند مزایای تخم مرغ‌های پوشش داده شده در تحقیق حاضر را توضیح دهد.

با توجه به اینکه مقدار عددی شاخص زرده در تخم مرغ‌های حاوی پوشش کیتوزان وزن مولکولی زیاد - سوربیتول در پایان هفته چهارم بیشتر از تخم مرغ‌های فاقد پوشش در انتهای هفته دوم ذخیره‌سازی بود، لذا می‌توان گفت استفاده از پوشش مذکور توانست حداقل ۲ هفته بر تازگی تخم مرغ بیفزاید. این نتیجه با ارزیابی واحد هاو (شکل ۲) نیز تأیید شد. نتیجه تحقیقی نشان داد اندیس زرده در تخم مرغ‌های حاوی پوشش آلفا کیتوزان با وزن مولکولی از ۲۸۲ تا ۷۴۶ کیلو دالتون تفاوت معنی داری نشان نداد. در حالی که این

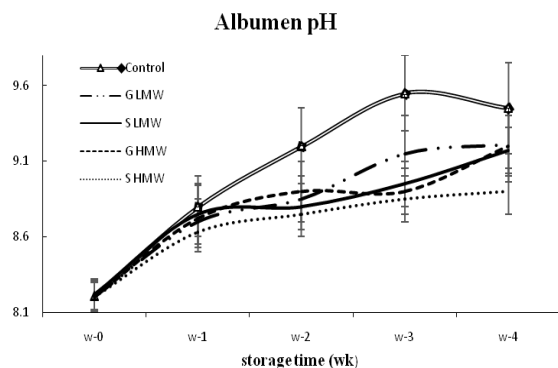


Fig 4 Changes in albumen pH of different groups during storage. G: glycerol, S: sorbitol, LMW, HMW: low and high molecular weight. Means with different superscripted letters (a–d) are significantly different ($p < 0.05$).

۳-۵- ریخت‌شناسی پوسته

ریخت‌شناسی پوسته خارجی تخم‌مرغ یکی از ویژگی مهم در ارزیابی وضعیت ساختاری و فیزیکی آن به‌شمار می‌رود. با توجه به این واقعیت که توانایی‌های بازدارنده پوسته تخم‌مرغ به‌شدت با ریخت‌شناسی سطح خارجی پوسته تخم‌مرغ مرتبط است، بنابراین ارزیابی و مقایسه تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی پوسته تخم‌مرغ اجتناب ناپذیر است. شکل ۵ تصاویر تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی در روز ۲۸ دوره نگهداری از سطح خارجی پوسته تخم‌مرغ تحت تیمارهای مختلف را نشان می‌دهد. شکل ۵ ریخت‌شناسی پوسته تخم‌مرغ بدون پوشش را نشان می‌دهد که در آن ترک‌های متعدد و حفرات ریز آشکاری دیده می‌شود. در شکل‌های b تا e که مربوط به پوسته خارجی تخم‌مرغ‌های پوشش‌دار است می‌توان دید که ترک‌های پوسته تخم‌مرغ تا حد زیادی با پوشش کیتوزانی پوشانده شده است. در شکل‌های b و d که مربوط به استفاده از کیتوزان با وزن مولکولی بالا در ترکیب پوشش مورد استفاده است، به وضوح تعداد و عمق نسبی ترک‌ها

pH از $8/20 \pm 0/10$ در شروع دوره به $9/45 \pm 0/20$ و $8/90 \pm 0/15$ به ترتیب در تخم‌مرغ‌های فاقد پوشش و دارای پوشش کیتوزان با وزن مولکولی بالا - سوربیتول رسید.

pH سفیده نشانگر تغییرات شیمیایی تخم‌مرغ طی نگهداری است و می‌تواند شاخص مهمی از تازگی و کیفیت تخم‌مرغ باشد. همان‌طوری‌که در شکل ۴ نشان داده شد pH سفیده تخم‌مرغ‌ها به تدریج افزایش یافت. افزایش pH آلبومین در طول ذخیره‌سازی را می‌توان به از دست دادن دی‌اکسید کربن از طریق منافذ پوسته تخم‌مرغ نسبت داد که به‌طور طبیعی پس از گذاشتن تخم در سفیده رخ می‌دهد و منجر به تغییرات در سیستم بافر بی‌کربنات می‌شود. سفیده تخم‌مرغ برای تأمین دی‌اکسید کربن و آب بیشتر با افزایش سن تخم‌مرغ تجزیه می‌شود و در نتیجه سفیده تخم‌مرغ نازک می‌شود و pH سفیده آن افزایش می‌یابد [۲۵]. همسو با نتایج این تحقیق، افزایش pH سفیده تخم‌مرغ طی ذخیره‌سازی با استفاده از انواع پوشش تخم‌مرغ گزارش شد [۱، ۲۵ و ۲۶].

تخم‌مرغ‌های حاوی پوشش pH پایین‌تری نسبت به تخم‌مرغ‌های بدون پوشش نشان داد که بیانگر کاهش نفوذپذیری گاز به‌خصوص دی‌اکسید کربن بود. مواد پوشش دهنده منافذ پوسته تخم‌مرغ را پوشانده و از نفوذ رطوبت جلوگیری کرده و نفوذپذیری گاز در طول ذخیره‌سازی طولانی مدت را کاهش می‌دهد. در این بین کارایی کیتوزان با وزن مولکولی زیاد همراه با نرم‌کننده سوربیتول بیش از سایر ترکیبات بود.

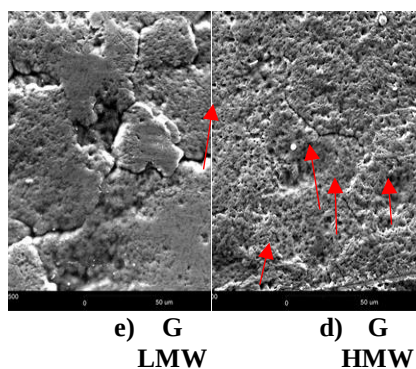


Fig 5 Scanning Electron Microscopy ($\times 500$) analysis of outer eggshell surface on d 28 (scale bar=50 μ m)

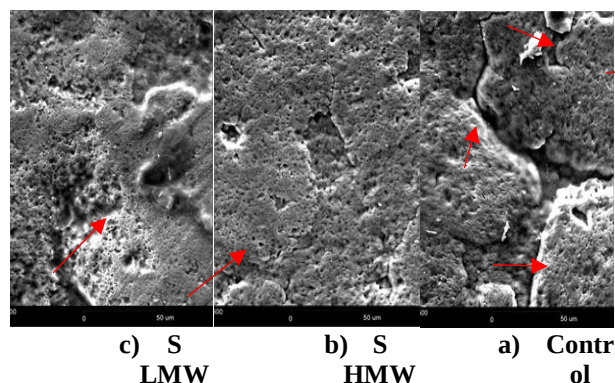
بسیاری از شاخص‌های ارزیابی کیفیت داخلی تخم‌مرغ، به تبادل گاز بین تخم‌مرغ و محیط مربوط می‌شود. بنابراین، هر چه چسبندگی و ضخامت پوشش بیشتر باشد، محافظت بیشتری در برابر تبادل گاز و در نتیجه ماندگاری مواد غذایی بیشتر می‌شود. در تطابق با یافته‌های این تحقیق در خصوص برتری نسبی پوشش خوراکی مبتنی بر کیتوزان با وزن مولکولی زیاد (۴۵۰ کیلو دالتون) در برابر وزن کم (۶۵ کیلو دالتون) در ترکیب پوشش خوراکی بر شاخص‌های کیفیت داخلی و ریخت‌شناسی پوسته تخم‌مرغ، در مطالعه‌ای به منظور بررسی اثرات وزن‌های مولکولی مختلف پوشش کیتوزان بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و نرم شدن موزانجام شد، نشان داده شد که وزن‌های مولکولی بالا و متوسط پوشش کیتوزان (۵۴۰ و ۲۶۵ کیلو دالتون) کیفیت میوه موز طی نگهداری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس را در مقایسه با وزن مولکولی پایین پوشش کیتوزان (۶۵ کیلو دالتون) و تیمار شاهد به‌طور مؤثرتری حفظ کرد [۲۸].

مستقیم‌ترین پاسخ برای ارزیابی کیفیت تخم‌مرغ کاهش وزن است. در مطالعه ما، تخم‌های پوشش داده شده با کیتوزان وزن مولکولی زیاد و سوربیتول (S HMW) کاهش وزن کمتری نسبت به سایر تیمارها دادند. از هفته سوم، تخم‌های پوشش داده شده با S LMW، G LMW و G HMW کاهش

کمتر و ساختار صاف‌تری از تخم‌مرغ‌های حاوی پوشش کیتوزان با وزن مولکولی کم (شکل‌های c و e) مشهود است.

افزودن نرم‌کننده‌های گلیسرول و سوربیتول در ترکیب پوشش‌های خوراکی مبتنی بر کیتوزان با وزن مولکولی کم یا زیاد، نیز موجب بروز برخی تغییرات شکلی در سطح پوسته شده است (شکل‌های b تا e). مشاهده شده که در پوسته‌های حاوی نرم‌کننده سوربیتول در ترکیب پوشش، تا حدی ساختار صاف‌تر و نیز ترک‌های کمتر و کم عمق‌تر هستند (شکل‌های b و c).

تقریباً ثابت شده است که اگر ساختار فیزیکی سطح خارجی پوسته تخم‌مرغ به هر دلیلی مخدوش شود، خواص بازدارنده پوسته تخم‌مرغ به همان اندازه تضعیف می‌شود و در نتیجه شاخص‌های کیفیت داخلی تغییر می‌کند. بنابراین، ارزیابی تغییرات ساختاری خارجی پوشش پوسته تخم‌مرغ تحت تأثیر عوامل محیطی اجتناب ناپذیر به نظر می‌رسد [۲۷]. لذا نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های کیفیت داخلی تخم‌مرغ که در شکل‌های ۴-۱ آمده است، کاملاً با تصاویر میکروسکوپی تهیه شده جهت ارزیابی ریخت‌شناسی سطح خارجی پوسته منطبق هستند.



نتایج این تحقیق نشان داد که وزن مولکولی کیتوزان و نوع نرم‌کننده مورد استفاده توانست کارایی پوشش خوراکی را تحت تأثیر قرار دهد. با توجه به شاخص‌های کیفیت داخلی مورد ارزیابی، استفاده از کیتوزان با وزن مولکولی زیاد در پوشش خوراکی به‌ویژه با استفاده از نرم‌کننده سوربیتول، موجب افزایش حداقل ۲ هفته‌ای ماندگاری تخم‌مرغ شد. با توجه به نتایج به‌خصوص افت وزنی تخم‌مرغ طی دوره نگهداری، بررسی ریخت‌شناسی پوسته خارجی تخم‌مرغ با استفاده از تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان داد توانایی محافظتی پوشش‌ها بر کیفیت داخلی تخم‌مرغ را عمده‌تأ می‌توان به حفظ ساختار فیزیکی یکپارچه و متعاقباً خواص بازدارندگی تبادلات گازی پوسته خارجی نسبت داد.

وزن مشابهی را نشان دادند که کمتر از تیمار شاهد بود. با این‌حال، بیشتر از کاهش وزن گزارش شده در تخم‌های پوشش داده شده با S LMW است. تأیید شده است که افزایش محتوای گلیسرول باعث افزایش نفوذپذیری به گازهای فیلم‌های آبدوست می‌شود. بنابراین، این افزودنی به مولکول‌های زیست‌پلیمر، افزایش تحرک و کاهش چگالی بین مولکول‌ها، تسهیل عبور گازها از مواد را افزایش می‌دهد. در ضمن حلالیت در آب یک عامل مهم در انتخاب نرم‌کننده است. نرم‌کننده‌هایی که رطوبت کمتری نسبت به گلیسرول دارند (مانند سوربیتول) می‌توانند خواص مانع آب بیشتری را در پوشش‌ها ایجاد کنند [۲۹]. تصاویر میکروسکوپی در شکل ۵ نیز در تطابق با این یافته‌هاست.

۴- نتیجه‌گیری کلی

۵- منابع

- [1] Xu, L., Zhang, H., Lv, X., Chi, Y., Wu, Y. and Shao, H. 2017. Internal quality of coated eggs with soy protein isolate and montmorillonite: Effects of storage conditions, International Journal of Food Properties, 20:8, 1921-1934, DOI: 10.1080/10942912.2016.1224896.
- [2] Kumari, S. and Rath, P.K. 2014. Extraction and characterization of chitin and chitosan from (*Labeorohit*) fish scales. Procedia Materials Science, 6: 482-489.
- [3] No, H.K., Prinyawiwatkul, W. and Meyers, S.P. 2005. Comparison of shelf life of eggs coated with chitosan prepared under various deproteinization and demineralization times. Journal of Food Science, 70: S377-82.
- [4] HajighasemSharbatdar, H. and KhademiShurmasti, D. 2022. The effect of bio-filler-reinforced chitosan coating with types of solvent on internal changes and outer eggshell morphology. SVU- International Journal of Veterinary Sciences, 5(2): 45-54.
- [5] Ehsan, M. and KhademiShurmasti, D. 2021. Effect of washing and active nanocomposite coating of carboxymethyl cellulose-nanoclay containing marjoram extract (*Origanum vulgare* L) on egg quality during storage at ambient temperature. Iranian Journal of Food Science and Technology, 118(18): 107-118. (In Persian).
- [6] Peniche, C., Peniche, H. and Pérez, J. 2018. Chitosan based self-assembled nanoparticles in drug delivery. Polymers, 10: 235.
- [7] Zhong, Y., Zhuang, C., Gu, W. and Zhao, Y. 2019. Effect of molecular weight on the properties of chitosan films prepared using electrostatic spraying technique. Carbohydrate Polymers, 212: 197-205.
- [8] Suyatma, N. E., Tighzert, L., Copinet, A. and Coma, V. 2005. Effects of hydrophilic plasticizers on mechanical, thermal, and surface properties of chitosan films. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(10): 3950-3957.
- [9] Vieira, M.G.A., da Silva, M.A., dos Santos, L.O. and Beppu, M.M. 2011. Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. European Polymer Journal, 47(3): 254-263.

- [10] Haq, M.A., Hasnain, A. and Azam, M. 2014. Characterization of edible gum cordia film: Effects of plasticizers. *LWT-Food Science and Technology*, 55(1): 163-169.
- [11] Wittaya, T. 2013. Influence of type and concentration of plasticizers on the properties of edible film from Mung bean proteins. *KMITL Science and Technology Journal*, 13(1): 51-58.
- [12] Kim, S.H., No, H.K., Prinyawiwatkul, W. 2007. Effect of molecular weight, type of chitosan, and chitosan solution pH on the shelf-life and quality of coated eggs. *Journal of Food Science*, 72(1): S044-S048.
- [13] Park, Y.S., Yoo, I.J., Jeon, K.H., Kim, H.K., Chang, E.J. and Oh, H.I. 2003. Effects of various eggshell treatments on the egg quality during storage. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 16(8): 1224-1229.
- [14] Haugh, R.R. 1937. A new method for determining the quality of an egg. *US Egg Poultry*, 39: 27-49.
- [15] Funk, E.M. 1973. Egg science and technology. In: *Egg Science and Technology*. Stadelman, W.J. and Cotterill, O.J. (Eds.). AVI Publishing Company, Inc., Westport, CT.
- [16] Koga, O., Fujihara, N. and Yoshimura, Y. 1982. Scanning electron micrograph of surface structures of soft-shelled eggs laid by regularly laying hens. *Poultry Science*, 61:403-406.
- [17] Suresh, P.V., Raj, K.R., Nidheesh, T., Pal, G.K. and Sakhare, P.Z. 2015. Application of chitosan for improvement of quality and shelf life of table eggs under tropical room conditions. *Journal of Food Science and Technology*, 52: 6345-6354.
- [18] Yaghobi, N., Mirzadeh, H. and Vakili, H. 2013. Preparation of different molecular weight chitosans by controlling multistage deacetylation conditions and its effect on porosity of prepared scaffolds. *Journal of Applied Research in Chemistry*, 7(2):41-50. (In Persian)
- [19] Talebi, H., GhasemiAshenai, F. and Ashori, A. 2019. The effect of solvent and plasticizer on mechanical properties of chitosan-based biocomposites. *Polymerization*, 9(3):62-71. (In Persian)
- [20] Bourtoom, T. 2008. Plasticizer effect on the properties of biodegradable blend film from rice-chitosan. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 30:149-165.
- [21] Kim, S.H., No, H.K. and Prinyawiwatkul, W. 2008. Plasticizer types and coating methods affect quality and shelf life of eggs coated with chitosan. *Journal of Food Science*, 73:111-117.
- [22] Dias, A.B., Muller, C.M., Larotonda, F.D. and Laurindo, J.B. 2010. Biodegradable films based on rice starch and rice flour. *Journal of Cereal Science*, 51:213-219.
- [23] USDA. 2000. United States standards, grades, and weight classes for shell eggs. AMS 56.210.
- [24] Pires, P.G.S., Leuven, R.F.A., Franceschi, C.H., Machado, G.S., Pires, P.D.S., Moraes, P.O., Kindlein, L. and Andretta, I. 2020. Effects of rice protein coating enriched with essential oils on internal quality and shelf life of eggs during room temperature storage. *Poultry Science*, 99:604-611.
- [25] Soares, R.D.A., Borges, S.V., Dias, M.V., Piccoli, R.H., Fassani, E.J. and Cunha da Silva, E.M. 2021. Impact of whey protein isolate/sodium monmorillonite/sodium metabisulfite coating on the shelf life of fresh eggs during storage. *LWT- Food Science and Technology*, 139:110611.
- [26] Rachtanapun, P., Homsaard, N., Kodsangma, A., Phongthai, S., Leksawasdi, N., Phimolsiripol, Y., Seesuriyachan, P., Chaiyaso, T., et al. 2022. Effects of storage temperature on the quality of eggs coated by cassava starch blended with carboxymethyl cellulose and paraffin wax. *Poultry Science*, 101:101509.
- [27] Xu, D., Wang, J., Ren, D., Wu, X. 2018. Effects of chitosan coating structure and changes during storage on their egg preservation performance. *Coatings*, 8: 317. Doi:10.3390/coatings8090317.
- [28] Wantat, A., Rojsitthisak, P. and Seraypheap, K. 2021. Inhibitory effects of high molecular weight chitosan coating on 'Hom Thong' banana fruit softening. *Food Packaging and Shelf Life*, 29(54):100731.

[29] Pires, P.G da silva, Franceschi, C.H., Bavaresco, C., Leuven, A.F.R. and Andretta, I. 2020. Plasticizer types and whey protein coatings on internal quality and shelf life of eggs stored for 42 days. Food Science and Technology, 78(suppl. 1): e20200271.



Scientific Research

Effect of chitosan molecular weight and type of plasticizer in edible coating on internal quality and eggshell morphology

A. Sharifi¹ and D. Khademi Shurmasti^{2*}

1- Master, Dep. of Agriculture, Savadkooh Branch, Islamic Azad University, Savadkooh, Iran

2- Assistant Prof., Dep. of Agriculture, Savadkooh Branch, Islamic Azad University, Savadkooh, Iran

ABSTRACT

ARTICLE INFO

To investigate the effect of molecular weight of chitosan and the type of plasticizer used in the composition of edible coating on internal quality parameters and morphology of eggshell, an experiment with 125 eggs in a completely randomized design with 5 treatments included uncoated eggs (control), coated based on chitosan with high molecular weight (450 kDa) or low molecular weight (65 kDa) and the use of glycerol or sorbitol and 3 replicates was conducted. Coating was done by immersion method and the eggs were stored at ambient temperature for 4 weeks. The internal quality parameters of eggs including weight loss (WL), Haugh unit (HU), yolk index (YI) and albumen pH were evaluated weekly. At the end of the storage period, scanning electron microscope (SEM) micrograph were prepared for eggshell morphology. The results showed that the edible coating based on chitosan improved significantly ($P < 0.05$) all the evaluated parameters. At the end of the week 4, among these, the lowest values of WL (7.01 ± 0.90) and pH of albumen (8.90 ± 0.15) and the highest values of HU (± 3.23) 63.80 and YI (0.34 ± 0.06) were seen in eggs containing high molecular weight chitosan-sorbitol coating ($P < 0.05$). In the SEM micrograph, more integrated and less porous and fractured in the mentioned group. Therefore, in order to improve the quality of edible coating based on chitosan as a biocompatible packaging to increase the storage time of eggs, chitosan with higher molecular weight and sorbitol as plasticizer are recommended.

Article History:

Received: 2022/12/29

Accepted: 2023/5/1

Keywords:

Tannin removal,

Color

Native gums,

Soaking,

Rheological properties.

DOI: 10.22034/FSCT.20.136.137

DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.136.11.9

*Corresponding Author E-Mail:
dkhademi@gmail.com