



## بهینه‌سازی فرمولاسیون پاستیل رژیمی غنی شده حاوی ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس با استفاده از جایگزینی ساکارز با استویوزید- ایزومالت و ژلاتین با صمغ فارسی به روش سطح پاسخ (RSM)

مینا عبدالعظیمی<sup>۱</sup>، محمد گلی<sup>۳\*</sup>

۱- کارشناس ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

۳- دانشیار مرکز تحقیقات لیزر و بیوفوتونیک در فناوریهای زیستی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

### اطلاعات مقاله

### چکیده

#### تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۰۲

#### کلمات کلیدی:

پاستیل،  
اسپیرولینا پلاتنسیس،  
استویوزید،  
خصوصیات بافتی،  
ویژگی های حسی.

DOI: 10.52547/fsct.19.124.327

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.124.8.5

\* مسئول مکاتبات:

Mgolifood@yahoo.com

به منظور کاهش قند مصرفی در تهیه پاستیل و ارتقاء ارزش غذایی آن با استفاده از ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس، اثر جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت، جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی و اثر استفاده از اسپیرولینا به عنوان یک ترکیب عملگر بر روی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و بافتی پاستیل بررسی گردید. به منظور بهینه‌بازی شرایط تولید پاستیل رژیمی غنی‌سازی شده، از روش سطح پاسخ در قالب طرح مرکب مرکزی در ۵ سطح جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰٪)، جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰٪) و اسپیرولینا (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰٪) استفاده شد. نتایج حاصل از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، بافتی و حسی محصول منتخب طی بازه زمانی ۰، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز ارزیابی و با نمونه شاهد مقایسه گردید. نتایج نشان داد که با افزایش درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت و جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی، سختی بافت به ترتیب، افزایش و کاهش یافت. دانسیته و چسبندگی نیز با افزایش درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت به ترتیب، کاهش و افزایش چشمگیری داشتند. در بین فرمول‌های مورد بررسی، نمونه‌های حاوی ۱۳٪ جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت، ۱۰۰٪ جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی و ۲۸٪ اسپیرولینا؛ و ۶۰٪ جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت، ۱۰۰٪ جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی و ۲٪ اسپیرولینا به عنوان فرمول‌های بهینه تعیین شدند. مقایسه میان نمونه‌های بهینه و نمونه شاهد بیانگر کاهش رطوبت و افزایش دانسیته نمونه‌های پاستیل رژیمی غنی‌شده، بود ( $p < 0.05$ )، درحالی‌که سختی بافت نمونه‌های بهینه در طول دوره نگهداری تغییر محسوسی نداشت ( $p > 0.05$ ). نتایج ارزیابی حسی نشان داد نمونه شاهد ویژگی‌های حسی (طعم و مزه، طعم پس تلخ، بافت و پذیرش کلی) بهتری نسبت به نمونه‌های پاستیل رژیمی تولیدی داشت. افزودن ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس به عنوان یک مکمل غذایی فراسودمند می‌تواند سبب ایجاد خصوصیات تغذیه‌ای ارزشمند بخصوص از نظر پروتئین و مواد معدنی مانند آهن در محصول گردد.

## ۱- مقدمه

افزایش آگاهی مصرف‌کنندگان در رابطه با نقش تغذیه بر سلامتی انسان و تغییر شیوه زندگی انسان‌ها در نتیجه گسترش بروز بیماری‌هایی همچون چاقی، دیابت، فشار خون و بیماری‌های قلبی و عروقی موجب شده تا امروزه تولیدکنندگان به تولید فرآورده‌هایی با محتوی چربی، شکر و نمک کم و فیبر بیشتر روی آورند که مصرف چنین فرآورده‌هایی خطر ابتلا به برخی از بیماری‌ها و ناهنجاری‌ها را کاهش خواهد داد. در سال‌های اخیر، استفاده از فرآورده‌های غذایی کم‌کالری در جوامع مختلف رشد روز افزونی داشته است. پاستیل‌ها، از جمله فرآورده‌های ژله‌ای قنادی محسوب می‌شوند که به دلیل کاهش فعالیت آب، زمان ماندگاری بالایی دارند. ترکیبات موجود در پاستیل (طعم دهنده‌ها، ترکیبات دارویی، اسانس‌ها و مواد مؤثره) به تدریج با جویدن در دهان آزاد شده و تأثیر خود را اعمال می‌کنند. از جمله ترکیبات اصلی تشکیل دهنده پاستیل‌ها، می‌توان به هیدروکلوئیدها نظیر ژلاتین، گوار، آگار، پکتین و سایر صمغ‌ها مانند صمغ فارسی و عربی، شکر، طعم‌دهنده‌ها و رنگ‌های مجاز خوراکی اشاره نمود [۱]. با توجه به محبوبیت بالا و گستردگی مصرف این فرآورده به‌ویژه در میان کودکان و جوانان، تولید پاستیل رژیمی کم‌کالری، می‌تواند نقش به‌سزایی در کاهش مشکلات مطرح شده داشته باشد [۲]. شکر در فرآوری محصولات غذایی به عنوان یک شیرین‌کننده طبیعی و ویژگی‌های عملکردی منحصر به فردی دارد، اما مصرف بالا و مداوم آن ارتباط نزدیکی با بروز و گسترش برخی از بیماری‌ها نظیر دیابت، چاقی، فساد دندان، بیماری‌های قلبی و فشار خون دارد. لذا، استفاده از شیرین‌کننده‌های رژیمی برای جایگزین کردن ساکارز مورد توجه تولیدکنندگان و محققان صنعت غذا قرار گرفته است [۳]. گیاه استویا، و قند حاصل از آن با نام استویوزید، با درجه شیرینی ۲۵۰-۳۰۰ برابر بیشتر از ساکارز، کالری کمتر و اندیس گلیسمی پایین،

یک شیرین‌کننده طبیعی بدون کالری است که استفاده از آن به عنوان یک شیرین‌کننده رژیمی و جایگزین مناسب برای ساکارز، نقش مهمی در کاهش میزان کالری رژیم غذایی روزانه افرادی که می‌خواهند سبک زندگی سالمی داشته باشند، ایفا می‌کند [۴]. از آنجایی که اغلب شیرین‌کننده‌ها به تنهایی قادر به تأمین تمامی خواص عملکردی ساکارز نمی‌باشند، می‌توان از ترکیباتی مانند قندهای الکل به عنوان عامل پرکننده و بافت دهنده در فرمولاسیون محصولات رژیمی استفاده نمود. ایزومالت یکی از قند الکل‌های حاصل از تجزیه‌ی ساکارز است که در سیستم گوارشی تنها ۵۰٪ آن متابولیزه شده و انرژی معادل ۲ کیلوکالری بر گرم فراهم می‌کند [۵]. در مطالعه صورت گرفته توسط پیلهوران و همکاران (۱۳۹۳)، جهت کاهش کالری کیک یزدی از شیرین‌کننده‌هایی مانند سوربیتول، ایزومالت و استویوزید به جای ساکارز در فرمولاسیون استفاده شد. نتایج پژوهش آنها نشان داد که با افزایش نسبت جایگزینی شکر با استویوزید و قندالکلی ایزومالت بافت محصول تولیدی استحکام بیشتری نسبت به نمونه شاهد دارد [۶]. در یک تحقیق دیگر، آیدو و همکاران (۲۰۱۴)، به بررسی ویژگی‌های شکلات بدون شکر، با استفاده از استویا، عصاره توماتین، اینولین و پلی‌دکستروز پرداختند که نتایج نشان داد شکلات‌های بدون شکر، خصوصیات جریان‌پذیری (رئولوژی) و ویژگی‌های ذوبی مشابه با نمونه شاهد داشته است [۷]. در تحقیق دیگر، گائو و همکاران (۲۰۱۷)، به بررسی جایگزینی استویا با شکر در فرمولاسیون مافین پرداختند و بیان داشتند که افزایش استویا در فرمول مافین، میزان سختی نمونه‌ها را افزایش ولی میزان پذیرش کلی آنها را کاهش می‌دهد [۸]. از سوی دیگر، امروزه رویکرد مبنی بر غنی‌سازی مواد غذایی یکی از مناسب‌ترین و کاربردی‌ترین روش‌ها جهت جلوگیری از بروز سوء تغذیه تلقی می‌گردد. جلبک‌ها و ریزجلبک‌ها به‌صورت بالقوه منبع غنی از ترکیباتی هستند که قابلیت استفاده در تولید غذاهای عملگر و فراسودمند را دارند. اسپیرولینا

1. *Stevia rebaudiana*
2. *Stevioside*

پذیرش کلی فرآورده‌های غذایی از طریق افزایش پایداری فیزیکی غذا و احساس دهانی مطلوب نقش ویژه‌ای دارند [۱۳]. در میان عوامل ژل کننده بر پایه پروتئین، ژلاتین با توجه به خواص عملکردی همچون بافت دهندگی، تشکیل ژل، کف کنندگی، تثبیت کنندگی و امولسیون کنندگی بیشتر در فرآوری پاستیل یا ژله‌ها استفاده می‌شود. ژلاتین یک ترکیب غذایی پروتئین خالص با وزن مولکولی بالا است که از دنا تورا سیون حرارتی کلاژن به دست می‌آید. ژلاتین، ژل‌های برگشت پذیر حرارتی را تشکیل می‌دهد و نقطه ذوب ژل آن معمولاً پایین‌تر از ۳۵ درجه سانتی‌گراد است. این ویژگی در فرآورده‌های بر پایه ژلاتین، خواص ارگانولپتیکی منحصر به فرد و آزادسازی طعم مطلوبی را می‌بخشد [۱۴]. تحقیقات پیشین نشان داده است که با به‌کارگیری بیش از یک هیدروکلوئید در فرمولاسیون فرآورده‌های غذایی می‌توان به ایجاد ساختار فیزیکی مطلوب، بهبود کیفیت خوراکی و همچنین بهبود رفتار طی فرآوری محصول دست یافت. تاکنون از ژل‌های ترکیبی ژلاتین همراه با پلی‌ساکاریدهای مختلف برای تولید محصولات غذایی متنوع استفاده شده است.

صمغ فارسی از تراوشات طبیعی درخت بادام کوهی از خانواده گلسرخیان<sup>۵</sup>، با نام علمی *Amigdalus اسکوپاریا اسپاچ*<sup>۶</sup> است که در اثر تنش‌های دمایی، رطوبتی، گزش حشرات، بیماری گامبوسیس<sup>۷</sup> و غیره ترشح می‌شود. این صمغ به علت دارا بودن ترکیبات شیمیایی متعدد رنگ‌های مختلفی (سفید، زرد، قرمز، قهوه‌ای) دارد. صمغ فارسی همانند سایر صمغ‌ها در آب، محلول‌هایی چسبنده و ویسکوز تولید می‌کند و به‌طور گسترده-ای در صنایع دارویی و غذایی کاربرد دارد [۱۵]. در سال‌های اخیر، پژوهش‌هایی در رابطه با تولید و فرمولاسیون پاستیل‌های میوه‌ای توسط نوریزا و همکاران در سال ۲۰۱۵ [۱۶]، فیوضی و همکاران در سال ۲۰۱۴ [۱۷]، ماری و همکاران در سال ۲۰۱۲ [۱۸] و شهیدی و همکاران در سال ۲۰۱۱ [۱۹] انجام

پلاتنسیس<sup>۱</sup> از جمله ریزجلبک‌های چند سلولی و رشته‌ای سبز-آبی است. مصرف *اسپیروولینا* به عنوان غذا سابقه‌ای طولانی دارد و از سوی سازمان بهداشت جهانی<sup>۲</sup> به عنوان برترین غذای روی زمین و بهترین راه حل برای آینده اعلام گردیده است. آزمایشات سم شناسی متعدد ایمنی این ریزجلبک را اثبات کرده و بعد از تأیید سازمان غذا و دارو<sup>۳</sup> نیز به عنوان افزودنی مجاز<sup>۴</sup> معرفی شده است [۹]. *اسپیروولینا* منبع غنی از پروتئین‌ها، اسیدهای چرب چند غیر اشباعی و ضروری، گلیکولیپیدها، پلی‌ساکاریدها، فیبرهای رژیمی، انواع ویتامین‌های گروه ب و مواد معدنی مانند کلسیم، آهن، منیزیم، پتاسیم، روی و سلنیوم است که استفاده از آن در فرآوری محصولات غذایی می‌تواند موجب ارتقای سطح سلامت و پیشگیری از بروز سوء تغذیه در کودکان شود [۱۰]. در پژوهشی که توسط رسولی و همکاران (۱۳۹۴)، در ارتباط با بهینه‌سازی فرمولاسیون بستنی سنتی ایرانی با *اسپیروولینا* به روش سطح پاسخ انجام گرفت، مشاهده شد که حضور این ریز جلبک در فرمولاسیون بستنی به‌طور معنی‌داری موجب افزایش ویسکوزیته و مقاومت به ذوب و کاهش اورران بستنی سنتی می‌شود [۱۱]. بارکلا و همکاران (۲۰۱۷)، با غنی سازی ماست توسط ریز جلبک *اسپیروولینا*، ظرفیت نگهداری آب بهتر و آب اندازی کمتر نمونه‌های حاوی این ریز جلبک را در طی ۲۸ روز نگهداری در سرما گزارش نمودند [۱۲].

هیدروکلوئیدها گروه بزرگی از پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها هستند که به دلیل داشتن ویژگی‌های عملکردی منحصر به فرد نه تنها در صنعت غذا، بلکه در صنایع مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرند. هیدروکلوئیدها در فرمولاسیون محصولات برای ایجاد و بهبود بافت، افزایش پایداری آنها به دلیل قابلیت نگهداری آب، تأثیر بر رهاسازی طعم و سایر ویژگی‌های ساختاری و حسی فرآورده استفاده می‌شوند. این ترکیبات در

5. Rosaceae  
6. *Amygdalus Scoparia Spach*  
7. gummosis

1. *Spirulina platensis*  
2. World Health Organization (WHO)  
3. Food and drug administration (FDA)  
4. Generally Recognized As Safe (GRAS)

فرمولاسیون پایه پاستیل (نمونه شاهد) شامل آب (۵۴/۸٪)، شکر (۲۷/۴٪)، سوربیتول (۸/۲٪)، ژلاتین (۸/۲٪) و طعم دهنده (۱/۴۰٪) بود و از ایزومالت به عنوان پرکننده استفاده گردید. برای تهیه پاستیل ابتدا مخلوط آب، سوربیتول و شکر تا رسیدن به دمای جوش و انحلال کامل حرارت داده شد. سپس پودر ژلاتین به شربت قندی حاصل اضافه و مخلوط گردید. عملیات همزدن تا زمانی که کدورت محلول برطرف شده و محلول شفاف ایجاد شود و حرارت‌دهی مخلوط در دمای ۶۵-۶۰ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به بریکس ثابت ۴۵، ادامه داشت. سپس مخلوط آماده شده درون قالب‌هایی از جنس استیل با ابعاد ۲×۲×۱/۲ سانتی‌متر ریخته شد و قالب‌ها به مدت ۲ ساعت در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد جهت بستن ژل قرار گرفتند. پس از آن ژل حاصل از درون قالب‌ها خارج گردید و نمونه‌ها به مدت ۶ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی-گراد درون خشک‌کن هوای داغ با سرعت جریان هوا ۱/۵ متر بر ثانیه خشک شدند. فرایند خشک کردن به‌منظور کاهش رطوبت فرآورده نهایی تا رطوبت ۳۰-۲۵ درصد و همچنین افزایش مدت زمان ماندگاری پاستیل انجام گرفت. پس از مرحله خشک شدن، نمونه‌ها در داخل کیسه‌های پلاستیکی پلی اتیلنی زیپ‌دار جهت حفظ رطوبت، بسته‌بندی و تا زمان انجام آزمایش در دمای محیط نگهداری شدند [۱]. جهت تهیه پاستیل رژیمی غنی‌شده، متغیرهای مستقل شامل جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت در سطوح (۱۰۰-۰ درصد)، جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی در سطوح (۱۰۰-۰ درصد) و درصد اسپیرولینا در سطوح (۱-۰ درصد وزن کل فرمول نهایی) انتخاب شدند (جدول ۱)، و بقیه ترکیبات ثابت در نظر گرفته شدند. برای به‌دست آوردن نقطه‌ی بهینه، ۳۳ آزمایش توسط نرم افزار دیزاین اکسپرت<sup>۴</sup> پیشنهاد گردید (جدول ۲)، که در این جدول فاکتورها و سطوح اندازه‌گیری آنها نیز آورده شده است.

گرفته است. در این پژوهش‌ها از محصولاتی همچون میوه پیتایا قرمز به همراه هیدروکلوئیدهای مختلف از جمله نشاسته ذرت، پکتین، ژلاتین و شیرین کننده‌های مختلف استفاده و ویژگی‌های بافتی محصولات تولیدی مشابه به پاستیل‌های رایج در بازار گزارش شده است. همچنین، پاستیل‌های فراسودمند تولیدی از لحاظ ارزش تغذیه‌ای و پذیرش با نوع رایج در بازار قابل رقابت بودند. با توجه به اینکه تاکنون در ایران تحقیق جامعی پیرامون کاربرد ریزجلبک اسپیرولینا، قند رژیمی استویوزید و قند الکلی ایزومالت در فرمولاسیون پاستیل و ژله‌ها انجام نگرفته است، هدف از پژوهش حاضر بررسی امکان غنی‌سازی پاستیل با اسپیرولینا پلاتنسیس و جایگزین کردن ساکارز آن با استفاده از مخلوط قندهای استویوزید- ایزومالت و همچنین جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی و تأثیر آنها بر خواص فیزیکوشیمیایی و بافتی پاستیل با هدف ارتقاء ارزش تغذیه‌ای و حفظ ویژگی‌های کیفی این محصول می‌باشد. در نهایت، نمونه‌های پاستیل رژیمی غنی‌شده تولیدی و نمونه شاهد، از نقطه نظر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، بافتی و حسی مقایسه گردیده‌اند.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد مورد استفاده

مواد اولیه مورد استفاده در این تحقیق شامل شکر (شرکت قند اصفهان)، سوربیتول (شرکت روکوئ<sup>۱</sup> فرانسه)، ایزومالت و استویوزید (شرکت بنکو<sup>۲</sup> آلمان)، صمغ فارسی (شرکت زرین گیاهینه اصفهان)، ژلاتین (شرکت فرمند ایران) و پودر ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس (شرکت سینا ریزجلبک قشم) تهیه گردیدند. کلیه مواد آزمایشگاهی مورد استفاده در این پژوهش، با خلوص بالا از شرکت مرک<sup>۳</sup> آلمان خریداری شدند.

### ۲-۲- آماده‌سازی نمونه‌ها

1. Roquette
2. Beneco
3. Merck

4. Design Expert

**Table 1** Independent variables and their coded and actual values used for optimization

Independent variable	Symbol	Coded level				
		- $\alpha$	-1	0	+1	+ $\alpha$
Replacement of sucrose with stevioside-isomalt (%)	A	0	25	50	75	100
Replacement of gelatin with persian gum (%)	B	0	25	50	75	100
<i>Spirulina</i> (%)	C	0	0.25	0.50	0.75	1.00

\* Considering the stevioside 300 times sweeter than sucrose, to supply the difference between the weight of stevioside consumed and sucrose removed, isomalt was used as a filler in all treatments.

**Table 2** RSM experimental design

Run	Replacement of sucrose with stevioside-isomalt (%)	Replacement of gelatin with persian gum (%)	<i>Spirulina</i> (%)	Run	Replacement of sucrose with stevioside-isomalt (%)	Replacement of gelatin with persian gum (%)	<i>Spirulina</i> (%)
2	0	50	0.5	16	50	50	0.5
26	0	50	0.5	18	50	0	0.5
3	25	25	0.25	22	50	50	0.5
14	25	75	0.25	31	50	0	0.5
17	25	75	0.25	30	50	50	1
29	25	25	0.25	33	50	50	1
1	25	25	0.75	6	75	25	0.25
20	25	25	0.75	9	75	75	0.25
21	25	75	0.75	25	75	75	0.25
27	25	75	0.75	32	75	25	0.25
5	50	50	0	12	75	25	0.75
11	50	50	0	13	75	75	0.75
4	50	50	0.5	19	75	75	0.75
7	50	100	0.5	23	75	25	0.75
8	50	50	0.5	24	100	50	0.5
10	50	100	0.5	28	100	50	0.5
15	50	50	0.5	-	-	-	-

\* Considering the stevioside 300 times sweeter than sucrose, to supply the difference between the weight of stevioside consumed and sucrose removed, isomalt was used as a filler in all treatments.

میلی‌متر به درون نمونه پاستیل با ضخامت ۲۰ میلی‌متر محاسبه گردید. نیروی لازم جهت نفوذ پروب به درون نمونه به عنوان شاخص سختی بافت بر حسب نیوتن گزارش شد. پیوستگی و ارتجاعیت نیز از روی نمودار فاصله- نیرو به دست آمد. صمغیت از حاصل ضرب سختی و پیوستگی، و قابلیت جویدن نیز از حاصل ضرب سختی و پیوستگی و ارتجاعیت محاسبه گردید [۲۶].

#### ۲-۳-۲- تصویرگیری و پردازش رنگ

برای بررسی رنگ نمونه‌های تولیدی، از هر نمونه پاستیل، ۳ قطعه به صورت تصادفی انتخاب و تصاویر با استفاده از اسکنر مسطح (HP Scanjet 4010) با رزولوشن ۲۰۰ dpi و نرم افزار در فضای RGB تهیه شدند. سپس برای به دست آوردن

#### ۲-۳-۲- ارزیابی فراورده

##### ۲-۳-۱- آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

اندازه‌گیری محتوی رطوبت، پروتئین، چربی، خاکستر و آهن به ترتیب مطابق با روش استاندارد بین المللی AACC (۲۰۰۰) انجام گرفت [۲۰-۲۴]. دانسیته نمونه‌های پاستیل پس از تعیین حجم با استفاده از روش جابه جایی دانه کلزا محاسبه گردید [۲۵]. برای ارزیابی میزان سختی بافت پاستیل از بافت سنج QTS مدل CNS Farnell, Hertfordshire, UK ساخت کشور انگلستان استفاده شد. بدین ترتیب، نیروی لازم توسط یک پروب استوانه‌ای (۳/۵ سانتی‌متر قطر در ۱/۸ سانتی‌متر ارتفاع) با سرعت نفوذ ۶۰ میلی‌متر در دقیقه و عمق نفوذ ۲۰

ثابت،  $\beta_0$ ، اثرات خطی  $\beta_a$ ،  $\beta_b$ ،  $\beta_c$ ، اثرات مربعی  $\beta_{aa}$ ،  $\beta_{bb}$ ،  $\beta_{cc}$  و اثرات متقابل  $\beta_{ab}$ ،  $\beta_{ac}$ ،  $\beta_{bc}$  می‌باشند.

$$Y = \beta_0 + \beta_a A + \beta_b B + \beta_c C + \beta_{aa} A^2 + \beta_{bb} B^2 + \beta_{cc} C^2 + \beta_{ab} AB + \beta_{ac} AC + \beta_{bc} BC \quad \text{معادله (۱)}$$

پس از تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم افزار، مدلی پیشنهاد شد که دارای انحراف استاندارد (S.D.) و مجموع مربعات باقی مانده برآورد شده (PRESS) کم و ضریب همبستگی ( $R^2$ ) بالا باشد. آنالیز نتایج بدست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم افزار SPSS ver: 9.1 صورت گرفت. به منظور مقایسه میانگین‌ها و بررسی معنی‌دار بودن اختلاف بین آنها، از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده گردید.

### ۳- نتایج و بحث

برای به دست آوردن مدل تجربی برای پیش بینی متغیرهای پاسخ (دانسیته، سختی بافت، چسبندگی، پیوستگی، ارتجاعیت، قابلیت جویدن) ابتدا رابطه‌های چند جمله‌ای شامل خطی، دو فاکتوریلی (تعاملی)، درجه دو و درجه سه بر داده‌های بدست آمده از این پاسخ برازش داده شدند و سپس این مدل‌ها مورد آنالیز آماری قرار گرفتند. از نظر آماری مدلی مناسب است که آزمون عدم برازش آن معنی‌دار نبوده و دارای بالاترین ضریب تبیین و ضریب تبیین اصلاح شده باشد. نتایج نشان داد مدل مناسب برای پیشگویی تغییرات دانسیته و چسبندگی در اثر متغیرهای مورد بررسی (جایگزینی شکر با استیویوزید- ایزومالت، جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی، درصد اسپیرولینا)، مدل خطی درجه دو، برای تغییرات سختی بافت، ارتجاعیت و قابلیت جویدن مدل خطی درجه سوم و برای تغییرات پیوستگی مدل خطی درجه اول با ضریب تبیین ( $R^2 > 0.80$ ) می‌باشد. نتایج مربوط به تجزیه واریانس برای متغیرهای پاسخ در جدول ۳ آورده شده است.

سطوح یکسان از هر نمونه با استفاده از نرم افزار فتوشاپ (Adobe, V.7.0) تصاویر در اندازه  $150 \times 130$  پیکسل جدا و با فرمت BMP در فضای رنگی RGB ذخیره شدند. پارامترهای رنگی ( $L^*$ ،  $a^*$ ،  $b^*$ ) با استفاده از نرم افزار Image J توسط Plugin با عنوان Color Space Converter به دست آمدند [۲۷].

### ۲-۳- ارزیابی حسی

ارزیابی ویژگی‌های حسی نمونه‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و با آزمون هدونیک ۵ نقطه‌ای توسط ۱۵ ارزیاب آموزش داده شده، مورد ارزیابی قرار گرفت. از ارزیاب‌ها خواسته شد تا صفات مورد بررسی شامل طعم و مزه، شیرینی، طعم پس تلخ، رنگ، بافت و پذیرش کلی را از عدد ۱ تا ۵ رتبه‌بندی نمایند. برای بهترین کیفیت عدد ۵ و برای نازل‌ترین کیفیت عدد ۱ در نظر گرفته شد [۲۸].

### ۲-۴- تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این تحقیق، به منظور بررسی تأثیر متغیرهای مستقل شامل درصد جایگزینی شکر با استیویوزید- ایزومالت (A)، درصد جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی (B) و درصد اسپیرولینا (C) بر پاسخ‌ها (دانسیته، سختی بافت، چسبندگی، پیوستگی، ارتجاعیت، قابلیت جویدن) از نرم افزار دیزاین اکسپرت ورژن ۹ و روش سطح پاسخ در قالب طرح مرکب مرکزی با میزان  $\alpha$  برابر ۲ و ۶ نقطه مرکزی استفاده شد. کلیه بررسی‌های آماری و معنی‌داری و یا غیر معنی‌داری داده‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام گردید. جست و جوی شرایط عملیاتی بهینه جهت دستیابی به پاسخ‌های مطلوب مورد نظر با استفاده از تکنیک بهینه‌سازی عددی انجام شد. در روش RSM برای هر متغیر وابسته مدلی تعریف شد که آثار اصلی و متقابل متغیرها را بر روی هر فاکتور بیان می‌کند، مدل چند متغیره به صورت زیر می‌باشد. در معادله (۱)، پاسخ پیش بینی شده  $Y$ ، ضریب

**Table 3** The assessed coefficients contents of the selected model for the studied attributes and the results of the analysis of variance

Source	Response											
	Density (g/cm <sup>3</sup> )		Hardness (N)		Cohesiveness		Adhesiveness (N.min)		Springiness		Chewiness (N)	
	df	Sum squares	df	Sum squares	df	Sum squares	df	Sum squares	df	Sum squares	df	Sum squares
model	5	0.3***	10	424.89**	4	0.039***	4	0.026***	2	0.029***	9	217.92***
A	1	0.048***	1	96.6***	1	0.022***	1	0.019***	-	-	1	26.19**
B	-	-	1	4.61 <sup>ns</sup>	-	-	1	1.29×10 <sup>-3ns</sup>	-	-	1	28.09**
C	-	-	-	-	1	1.71×10 <sup>-3*</sup>	-	-	-	-	-	-
AB	1	0.16***	1	20.66***	1	0.015***	-	-	-	-	-	-
AC	1	0.068***	1	74.1***	1	0.01***	-	-	-	-	1	31.66**
BC	1	0.07***	1	52.39***	-	-	-	-	-	-	1	20.27*
ABC	-	-	1	105.3***	-	-	-	-	-	-	1	52.83***
A <sup>2</sup>	-	-	1	78.79***	-	-	-	-	-	-	1	13.4*
B <sup>2</sup>	1	0.07***	1	8.71*	-	-	1	3.70×10 <sup>-3**</sup>	-	-	1	40.22***
C <sup>2</sup>	-	-	-	-	-	-	1	4.85×10 <sup>-3**</sup>	-	-	-	-
A <sup>2</sup> B	-	-	1	30.72***	-	-	-	-	-	-	1	83.36***
A <sup>2</sup> C	-	-	1	39.01***	-	-	-	-	1	5.79×10 <sup>-3***</sup>	1	13.62***
A <sup>3</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0.024***	-	-
B <sup>3</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C <sup>3</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Residual	22	0.08	17	23.61	24	9.30×10 <sup>-3</sup>	24	8.47×10 <sup>-3</sup>	23	6.86×10 <sup>-3</sup>	22	56.28
Lack of fit	8	0.037 <sup>ns</sup>	3	2.69 <sup>ns</sup>	9	1.05×10 <sup>-3ns</sup>	8	1.78×10 <sup>-3ns</sup>	11	3.04×10 <sup>-3ns</sup>	5	8.87 <sup>ns</sup>
R <sup>2</sup>		0.79		0.94		0.80		0.75		0.80		0.80
Pure error	14	0.044	14	20.92	15	8.25×10 <sup>-3</sup>	16	6.70×10 <sup>-3</sup>	12	3.82×10 <sup>-3</sup>	17	47.42
Cor total	27	0.38	27	448.51	28	0.049	28	0.034	25	0.036	31	274.21

A: Replacement of sucrose with stevioside-isomalt (%), B: Replacement of gelatin with persian gum (%), C: *Spirulina* (%)

-: Non significant effect of variable on response, \*Significant at 5%; \*\* Significant at 1%, \*\*\* Significant at 0.1%, ns= Not significant.

فاکتور دانسیته معنی دار بود ( $p < 0.001$  و  $p < 0.01$ ). طبق

معادله (۱)، افزایش درصد جایگزینی شکر با استویوزید-ایزومالت نیز باعث کاهش دانسیته شد که علت را می توان به افزایش ویسکوزیته مخلوط، افزایش قابلیت نگهداری گازها در مخلوط و افزایش سرعت انتقال حرارت ناشی از افزایش دمای دانه شدن پروتئین ها که موجب انبساط کافی حباب های هوا و افزایش پایداری مخلوط در طی فرایند پخت می شود، نسبت داد [۳۰]. در حقیقت، ترکیبات موجود در استویا (قند و پروتئین) برای جذب آب با سایر اجزاء موجود در فرمولاسیون رقابت کرده که این امر منجر به خروج مقدار زیادی آب از مخلوط و افزایش حجم و در نهایت کاهش دانسیته محصول نهایی خواهد شد. در تحقیقی که توسط آیدو و همکاران (۲۰۱۴) بر روی فرمولاسیون شکلات بدون قند با استفاده از جایگزین کننده های ساکارز انجام شد، نتایج بیانگر آن بود که

### ۳-۱- تغییرات دانسیته

دانسیته بیانگر میزان هوای به دام افتاده در مخلوط است. فاکتورهای متعددی از جمله نوع و میزان ترکیبات موجود در فرمولاسیون (حضور ترکیبات فعال سطحی و پروتئین ها)، ویسکوزیته، ترکیبات مولد گاز و شرایط فرایند تولید همچون فرایند هم زدن، آمیختن هوا در مخلوط و تبخیر مولکول های آب در طول فرایند پخت تأثیر به سزایی بر قابلیت نگهداری گازها توسط مخلوط در حین پخت دارد [۲۹]. همانطور که در معادله (۱) نشان داده شد، اثر خطی جایگزینی شکر با استویوزید-ایزومالت، اثر متقابل جایگزینی شکر با استویوزید-ایزومالت و جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی، اثر متقابل جایگزینی شکر با استویوزید-ایزومالت و درصد اسپیرولینا، اثر متقابل جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی و درصد اسپیرولینا و اثر درجه دوم جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی بر

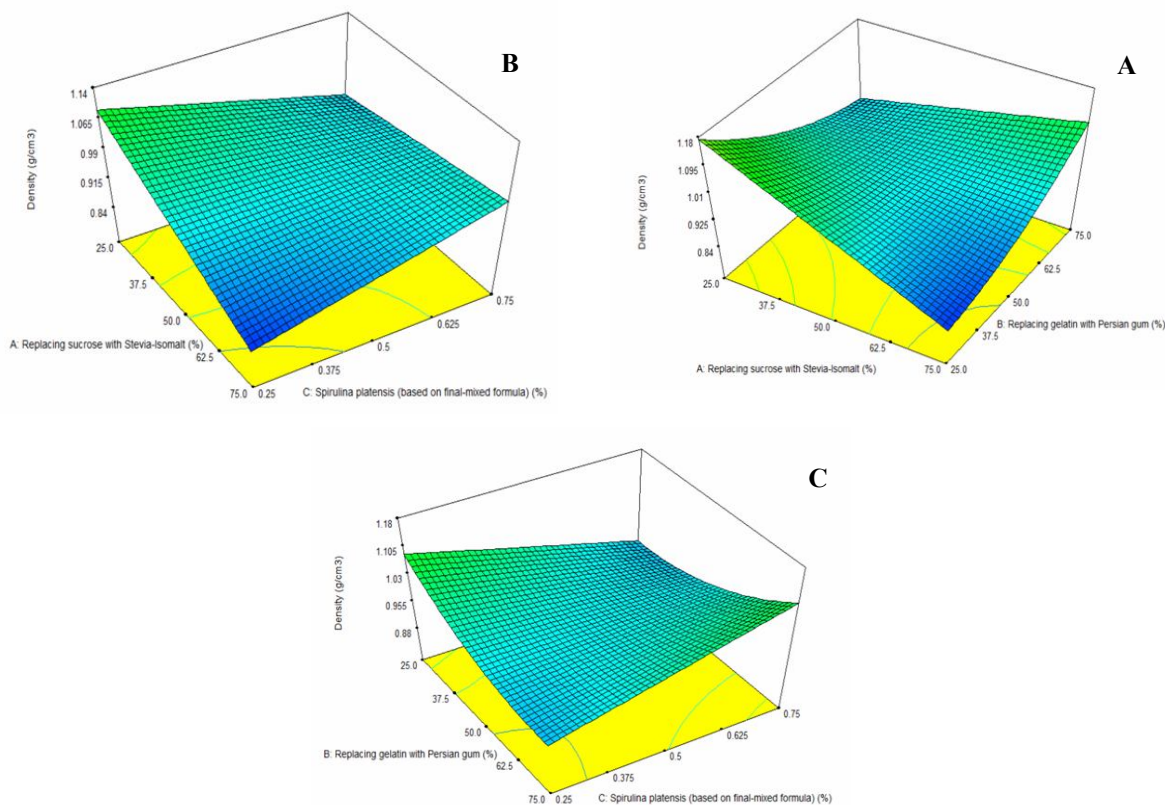
با افزایش درصد جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی ابتدا کاهش و سپس افزایشی با شیب بسیار ملایم بود. کمترین میزان دانسیته در مقادیر کمتر جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی (۲۵٪)، و مقادیر بالاتر جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت (۷۵٪)، به دست آمد. در شکل (B-۱) نیز مشاهده می‌شود که در سطح ۵۰ درصد جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی و در هر سطح از اسپیرولینا، دانسیته با کاهش درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت به‌طور خطی افزایش یافت. در سطوح بالاتر و پایین‌تر جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت، روند تغییرات دانسیته با افزایش درصد اسپیرولینا به‌ترتیب، افزایشی و کاهش‌ی بوده است. کمترین میزان دانسیته در مقادیر کمتر اسپیرولینا (۲۵٪)، و مقادیر بالاتر جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت (۷۵٪)، حاصل گردید. در شکل (C-۱) ملاحظه می‌شود که در سطح ۵۰ درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت و در سطوح پایین‌تر اسپیرولینا، دانسیته با کاهش درصد جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی افزایش یافت. به علاوه، در سطوح بالاتر اسپیرولینا، دانسیته با کاهش درصد جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی ابتدا کاهش و سپس افزایش پیدا کرد.

نوع شیرین کننده تأثیر معنی‌داری بر ویسکوزیته داشته و ویسکوزیته نمونه‌های حاوی استویا و توماتین به‌طور معنی‌داری بالاتر از نمونه‌های حاوی ساکارز بوده است [۷]. با توجه به تفاوت‌های ساختاری میان ژلاتین و صمغ فارسی و برهم‌کنش میان آنها که موجب تغییر ویسکوزیته شبکه ژلی می‌شود [۳۱]، افزایش دانسیته در مقادیر بالاتر جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی مشاهده شد که مثبت بودن ضریب رگرسیونی اثر درجه دوم جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی مؤید این مطلب می‌باشد.

معادله (۲) = دانسیته (گرم بر سانتی‌متر مکعب)

$$0.97 - 0.047A + 0.12AB + 0.075AC + 0.078BC + 0.043B^2$$

در نمودار سطح پاسخ (شکل A-۱)، در سطح ۵۰٪ اسپیرولینا و در هر سطح از جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی، دانسیته با کاهش درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت افزایش یافت. در سطوح بالاتر جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت، دانسیته با افزایش درصد جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی افزایش پیدا کرد و در سطوح پایین‌تر جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت، روند تغییرات دانسیته



**Fig 1** The 3D response surface plots for the interaction effects of Replacement of sucrose with stevioside-isomalt and gelatin with persian gum (A), Replacement of sucrose with stevioside-isomalt and *Spirulina* (B), and Replacement of gelatin with persian gum and *Spirulina* (C) on density.



## ۳-۲- تغییرات ویژگی‌های بافتی

صفات بافتی مواد غذایی در پذیرش آن از سوی مصرف کننده از جایگاه ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. ویژگی‌های بافتی مواد غذایی را می‌توان به ویژگی‌های مکانیکی (سختی، الاستیسیته، پیوستگی، قابلیت جویدن و چسبندگی)، ویژگی‌های هندسی (شکل و اندازه) و سایر ویژگی‌ها (میزان رطوبت و چربی) طبقه‌بندی کرد [۳۳]. سختی بافت در آزمون بافت سنجی به حداکثر ارتفاع منحنی نیرو در اولین فشار اطلاق می‌شود که حداکثر نیروی اعمال شده طی عمل گاز زدن را نشان می‌دهد. این شاخص به شدت تحت تأثیر قابلیت باند کردن آب در قندهای الکلی و از دست دادن آن در طی نگهداری و برهم‌کنش این قندها با سایر ترکیبات موجود در فرمول قرار می‌گیرد. عوامل دیگر مانند رطوبت، ماده خشک، میزان و نوع پروتئین و چربی نیز تا حدودی بر سختی بافت مؤثر هستند [۳۴]. با توجه به نتایج حاصل از جدول ۳، اثر خطی و درجه دوم درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت، اثر درجه دوم جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی، اثر متقابل متغیرها، اثر متقابل درجه دوم جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت و درجه اول جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی و همچنین اثر متقابل درجه دوم جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت و درجه اول درصد اسپیرولینا بر تغییرات سختی و قابلیت جویدن؛ اثر خطی درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت و اثرات درجه دوم جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی و درصد اسپیرولینا بر تغییرات چسبندگی؛ اثرات خطی درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت و درصد اسپیرولینا، اثر متقابل درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت و ژلاتین با صمغ فارسی و اثر متقابل درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت و درصد اسپیرولینا بر تغییرات پیوستگی، و اثر درجه سوم درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت و اثر متقابل درجه دوم جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت و درجه اول درصد اسپیرولینا بر تغییرات ارتجاعیت معنی‌دار بود ( $p < 0.001$ ،  $p < 0.001$ ،  $p < 0.05$  و  $p < 0.001$ ). همانطور که معادله (۳ و ۷) نشان می‌دهد، سختی بافت و قابلیت جویدن با افزایش درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت به‌ویژه در مقادیر بالاتر افزایش یافت که علت این امر را می‌توان به تغییر ماده خشک فرمول، تغییر ویسکوزیته شبکه ژل و فراهم شدن امکان بیشتر جهت تشکیل

برهم‌کنش‌ها میان اجزای فرمولاسیون نسبت داد [۱۹]. به نظر می‌رسد که اتصال ژلاتین به قند موجود در فرمول پاستیل و جذب آب توسط ژلاتین باعث می‌شود که بافت نهایی پاستیل که حاوی درصد ژلاتین بیشتری است، سختی بیشتری از خود نشان دهد [۳۱]. از این‌رو، سختی بافت و قابلیت جویدن با افزایش درصد جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی کاهش یافت. با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان گفت صمغ فارسی قادر به تشکیل ژل واقعی نبوده و در غلظت‌های پایین به یک بخش نامحلول کدر و خمیری شکل (ژل ضعیف) و همچنین یک بخش محلول و شفاف تقسیم می‌شود. درحالی‌که در غلظت‌های بالاتر، مقدار آب جذب شده توسط صمغ بیشتر بوده و شبکه ایجاد شده نیز حجیم‌تر است، به‌طوری‌که مابقی آب را نیز در خود حبس کرده و فاز محلول مشاهده نمی‌شود. در غلظت‌های خیلی بالا نیز احتمالاً به دلیل کم شدن سهم آب در مخلوط و افزایش آب جذب شده توسط صمغ، شبکه محکم و پایداری ایجاد می‌گردد که در این حالت فاز محلول قابل جداسازی نبوده و فقط یک توده ژلی ضعیف مشاهده می‌شود. به همین دلیل شاید نتوان از صمغ فارسی به تنهایی در تهیه پاستیل استفاده کرد و نیاز به حضور صمغ دیگری است که بتواند شبکه ژلی محکم و پایداری ایجاد نماید. شاید بتوان اینطور نتیجه گرفت که رفتار صمغ فارسی و بخش محلول آن همانند پکتین و کاراگینان بوده و حضور آن در شبکه ژل ژلاتین از طریق شکستن برخی پیوندها و یا ایجاد پیوندهای ضعیف با آن موجب کاهش سفتی می‌گردد [۳۵]. در مطالعه‌ای که توسط فیوضی و همکاران (۱۳۹۲)، انجام گرفت، نتایج نشان داد در فرآورده ژله‌ای خرما حاوی نسبت‌های مشخص ژلاتین، زانتان و آب پنیر، با افزایش میزان ژلاتین در فرمولاسیون استحکام ژل نهایی و سختی بافت افزایش یافته است [۱۷]. در مطالعه ماری و همکاران (۲۰۱۲)، در رابطه با خصوصیات بافتی و ساختاری پاستیل حاوی نشاسته ذرت و ژلاتین، تجزیه و تحلیل‌ها نشان داد که ژلاتین نقش مهمی در تمام پارامترهای بافت مورد مطالعه داشته است به‌طوری‌که در غلظت‌های برابر، اثر ژلاتین بر سختی پاستیل بیشتر از اثر نشاسته ذرت است [۱۸].

طبق معادله (۴)، با افزایش درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت و ژلاتین با صمغ فارسی تغییرات چسبندگی روند افزایشی داشت. مقادیر بالاتر جایگزینی ژلاتین

معادله (۷)

با صمغ فارسی و اسپیرولینا نیز باعث کاهش چسبندگی گردید. تغییرات چسبندگی تیمارها احتمالاً با افزایش ویسکوزیته و استحکام ژل، و تغییر نوع و میزان ترکیبات فرمولاسیون پاستیل رژیمی در اثر استفاده از استویوزید، صمغ فارسی و اسپیرولینا، و همچنین وقوع واکنش‌های شیمیایی متعدد میان اجزاء با یکدیگر و تأثیر آنها بر روی ویسکوزیته شبکه ژلی و ساختار و پیوندهای داخلی آن مرتبط می‌باشد [۳۶]. بر طبق معادله (۵)، پیوستگی و انسجام بافت با افزایش درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت و درصد اسپیرولینا کاهش یافت. روند کاهش پیوستگی نمونه‌ها با افزایش درصد اسپیرولینا احتمالاً به علت دناتور شدن آن در حین فرایند تولید پاستیل و فرار گرفتن قسمت‌های هیدروفوب در سطح پروتئین بوده که منجر به باز شدن ساختار پروتئین آن و عدم تشکیل برخی پیوندهای بین مولکولی اسپیرولینا با سایر اجزای فرمولاسیون می‌شود [۳۷]. همچنین باید اشاره داشت که ساکارز موجود در فرمولاسیون محصولات، به واسطه‌ی افزایش ماده خشک، کاهش آب آزاد، افزایش قدرت یونی محیط و افزایش اثر هم-افزایی میان ساکارز با سایر اجزاء فرمول نظیر پروتئین سبب افزایش مقاومت مخلوط در برابر فشار و نیرو، و در نهایت افزایش پیوستگی و انسجام بافت می‌گردد. اما از طرفی غلظت‌های بالای آن نیز می‌تواند باعث سست شدن ماتریکس و تضعیف شبکه ژلی و کاهش انسجام و پیوستگی بافت گردد [۳۸]. بنابراین، جایگزینی شکر با استویوزید در فرمول پاستیل رژیمی تا حدودی می‌تواند اثر مثبت بر انسجام و پیوستگی بافت داشته باشد.

معادله (۳)

سختی بافت (N) =

$$+ 0.055A^2 + 0.095B^2 - 1.91ABC + 3.31A^2B - 0.97A^2C$$

$$2/94 + 0.93A - 1.32B - 1/48AC - 1/18BC$$

در نمودار سطح پاسخ (شکل ۲- A, G) مشاهده می‌شود که در سطح ۵۰ درصد اسپیرولینا و در هر سطح از جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت، سختی بافت و قابلیت جویدن با افزایش درصد جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی افزایش یافت. در سطوح بالاتر جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی، سختی بافت و قابلیت جویدن با افزایش درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت ابتدا کاهش و سپس با شیب بیشتری افزایش پیدا کرد. در حالیکه در سطوح پایین‌تر جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی، با افزایش درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت سختی بافت و قابلیت جویدن ابتدا افزایش و سپس با شیب بسیار ملایمی کاهش یافت. اثر متقابل درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت و درصد جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی در مقادیر بالاتر (۷۵٪)، منجر به افزایش سختی بافت و قابلیت جویدن نمونه‌های پاستیل رژیمی شد. در نمودار سه بعدی (شکل ۲- B)، در سطح ۵۰ درصد جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی و در سطوح پایین‌تر اسپیرولینا، سختی بافت با افزایش درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت ابتدا روند یکنواخت و سپس افزایشی داشت. در سطوح بالاتر و پایین‌تر جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت، به ترتیب، کاهش و افزایش سختی با افزایش درصد اسپیرولینا مشاهده شد. در سطح ۵۰ درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت و در هر سطح از اسپیرولینا، سختی با کاهش درصد جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی افزایش پیدا کرد. در سطوح بالاتر و پایین‌تر جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی، سختی با افزایش درصد اسپیرولینا به ترتیب، کاهش و افزایش یافت (شکل ۲- C). با توجه به نمودار سه بعدی (شکل ۲- H) مشاهده می‌شود که در سطح ۵۰ درصد جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی و در هر سطح از جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت، قابلیت جویدن با کاهش درصد اسپیرولینا افزایش یافت.

معادله (۴)

سختی بافت (N) =

$$+ 1/73 A^2 + 1/91 B^2 - 2/71 ABC + 4/77 A^2 B - 1/65 A^2 C$$

$$3/71 + 2/08A - 1/72B + 1/2 AB - 2/28 AC - 1/91BC$$

معادله (۵)

چسبندگی (N.min) =

$$0.12 + 0.025A + 8/84E - 0.3B - 0.12B^2 - 0.01C^2$$

معادله (۶)

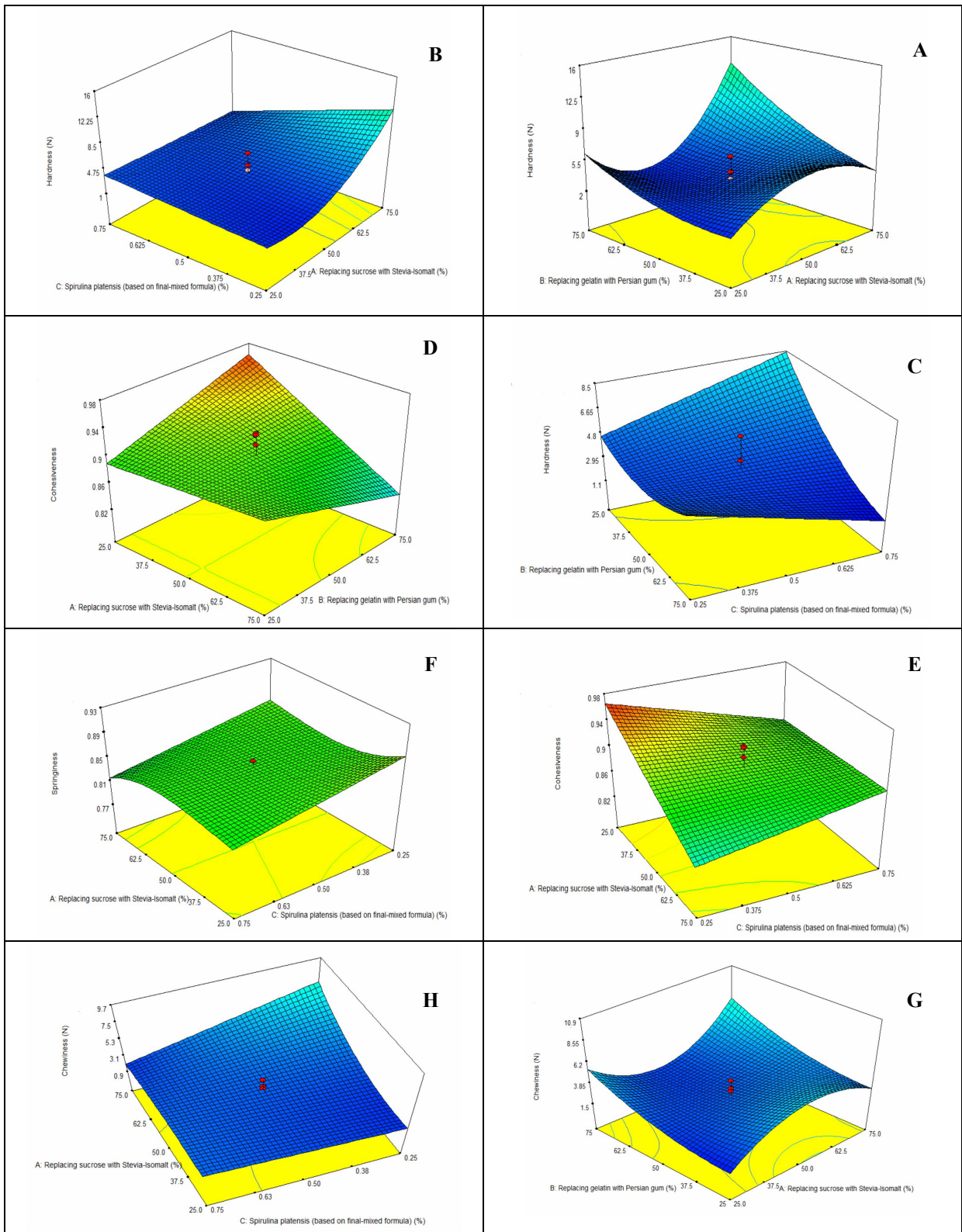
پیوستگی =

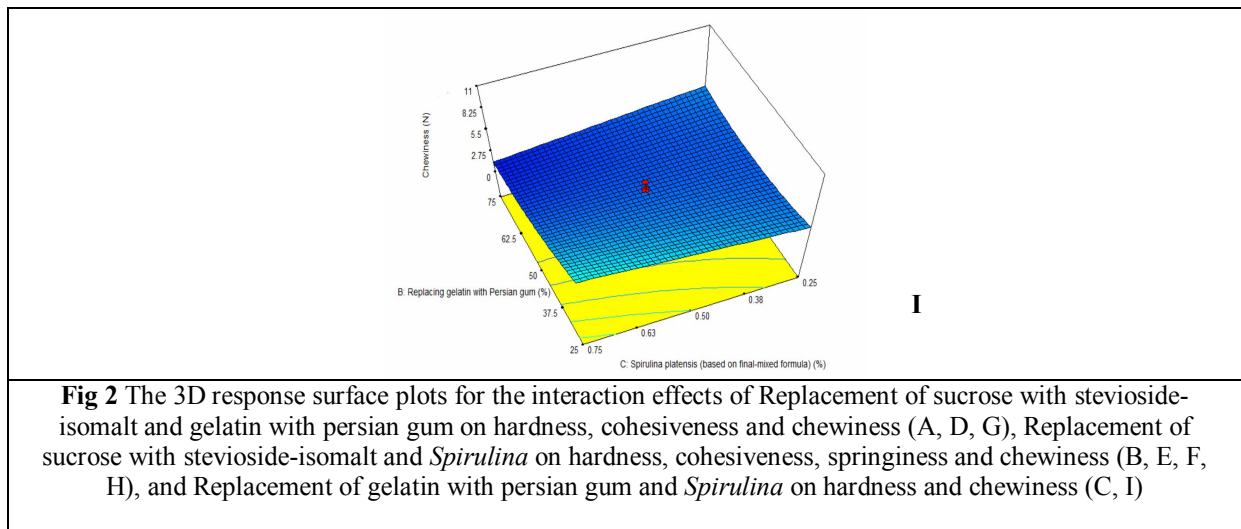
$$0.90 - 0.029A - 8/11E - 0.3C - 0.037AB + 0.031AC$$

معادله (۷)

ارتجاعیت =

$$0.85 - 0.022A^2C - 9/50E - 0.3A^3$$





امولسیون روغن در آب (O/W)، استحکام و مقاومت امولسیون به صورت خطی افزایش یافته است [۴۰]. نتایج پژوهش چروناکیس (۲۰۰۱)، نیز نشان داد که با افزایش غلظت ایزوله پروتئین اسپیرولینا پلاتنسیس، مدول الاستیسیته ژل افزایش می‌یابد که این ناشی از پیوندهای الکترواستاتیک حین تشکیل ژل می‌باشد [۴۱].

با این وجود، در مقادیر بالاتر جایگزینی شکر با استویوزید-ایزومالت و ژلاتین با صمغ فارسی (۷۵٪)، کاهش سختی بافت را با افزایش درصد اسپیرولینا شاهد بوده که علت را می‌توان قابلیت جذب و نگهداری آب بالا توسط ترکیبات فیبری موجود در اسپیرولینا و اثرات سینرژیستی میان اجزا فرمولاسیون از جمله ژلاتین، صمغ فارسی و قند استویوزید با اسپیرولینا نسبت داد. به علاوه، برخی از محققان بر این باورند که ذرات بزرگ اسپیرولینا و سلول‌های پروکاریوتی آن که فاقد دیواره‌های سخت سلولی هستند از طریق جذب سریع آب می‌تواند باعث ناپایداری و سست شدن شبکه‌ی ژلی و نهایتاً ایجاد ساختار نرم‌تر شود [۴۲]. مالیک (۲۰۱۱)، گزارش نمود که با افزایش سطوح جایگزینی اسپیرولینا با پایدار کننده‌ها در مخلوط بستنی به‌ویژه در سطوح جایگزینی بالاتر از ۵۰٪، سختی بافت بستنی کاهش معنی‌داری داشته است [۴۳].

پدیده سینرژیستی میان ژلاتین و صمغ فارسی می‌تواند منجر به افزایش ویسکوزیته، افزایش قدرت تشکیل ژل و یا افزایش انسجام اجزای فرمولاسیون در شبکه ژلی در کنار یکدیگر گردد [۱]. لذا، در هر سطح از جایگزینی شکر با استویوزید-ایزومالت، پیوستگی با افزایش درصد جایگزینی

به علاوه، در هر سطح از اسپیرولینا روند تغییرات قابلیت جویدن با افزایش درصد جایگزینی شکر با استویوزید-ایزومالت افزایشی بود. در نمودار سه بعدی (شکل ۲- I)، در سطح ۵۰ درصد جایگزینی شکر با استویوزید-ایزومالت و در هر سطح از جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی، افزایش قابلیت جویدن با کاهش درصد اسپیرولینا مشاهده شد. در هر سطح از اسپیرولینا نیز با افزایش درصد جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی قابلیت جویدن افزایش پیدا کرد. نتایج حاصل از این تحقیق بیانگر آن است که در مقادیر کمتر جایگزینی شکر با استویوزید-ایزومالت و ژلاتین با صمغ فارسی (۲۵٪)، افزایش درصد اسپیرولینا در فرمول پاستیل سبب افزایش سختی بافت نمونه‌ها شد. به نظر می‌رسد که ریزجلبک اسپیرولینا به دلیل داشتن مقادیر قابل توجه پروتئین، چربی و فیبر رژیمی باعث تغییر ویسکوزیته مخلوط می‌شود، و از این طریق می‌تواند تأثیر قابل توجهی بر میزان سختی بافت نمونه‌ها داشته باشد. احتمالاً بخش پروتئینی اسپیرولینا از طریق تعامل‌های الکترواستاتیک و ایجاد پیوندهای هیدروژنی میان گروه‌های آمید- هیدروکسیل و هیدروکسیل- کربونیل با گروه‌های قطبی موجود در ساختار ژلاتین و صمغ فارسی باعث افزایش استحکام و مقاومت ژل شده، که در نهایت منجر به افزایش سختی شده است. البته افزایش جذب آب فرمولاسیون توسط اجزای اسپیرولینا از جمله فایکوسیانین نیز می‌تواند باعث افزایش استحکام ژل و سختی بافت گردد [۳۹]. باتیستا و همکاران (۲۰۰۶)، مشاهده نمودند که با افزودن فایکوسیانین استخراج شده از اسپیرولینا به

سپس افزایش یافت. تغییرات مشاهده شده در میزان ارتجاعیت تیمارها، احتمالاً به دلیل تغییر ویسکوزیته سیستم و واکنش‌های شیمیایی متعدد میان اسپیرولینا و سایر اجزاء موجود در فرمولاسیون بوده است. به عبارتی، این امکان وجود دارد که تداخل مولکول‌های چربی و پروتئین موجود در اسپیرولینا با سایر ترکیبات فرمولاسیون سبب ایجاد اتصالات متقاطع در سیستم و ایجاد شبکه‌ای با ویژگی‌های بافتی متفاوت شده باشد [۴۴].

### ۳-۳- بهینه‌یابی فرمولاسیون

پس از تعیین مدل، بهینه‌سازی به منظور دست‌یابی به سطحی از متغیرهای مستقل که در نتیجه به کارگیری آنها بهترین فرمولاسیون از لحاظ ویژگی‌های فیزیکی و بافتی پاستیل رژیمی غنی شده به دست آید، انجام شد. نمونه‌های پاستیل رژیمی تولیدی با فرمولاسیون حاوی ۱۳٪ جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت، ۱۰۰٪ جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی و ۲۸٪ اسپیرولینا، و فرمولاسیون حاوی ۶۰٪ جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت، ۱۰۰٪ جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی و ۰۲٪ اسپیرولینا به عنوان بهترین فرمولاسیون معرفی گردید. در جدول ۴ دامنه مقادیر بدست آمده برای فرایند بهینه‌سازی و هدف آن مشخص شده است.

ژلاتین با صمغ فارسی به طور خطی افزایش یافت. و بیشترین پیوستگی در مقادیر بالاتر جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی (۷۵٪)، و مقادیر کمتر جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت (۲۵٪) حاصل گردید. با توجه به نمودار سه بعدی (شکل ۲- D)، در سطح ۵۰ درصد اسپیرولینا و در هر سطح از جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی، افزایش پیوستگی با کاهش درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت مشاهده شد. مطابق با شکل (۲- E)، در سطح ۵۰ درصد جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی و در هر سطح از اسپیرولینا، افزایش پیوستگی با کاهش درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت مشاهده شد. در سطوح بالاتر و پایین‌تر جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت، پیوستگی با افزایش درصد اسپیرولینا به ترتیب، روند افزایشی و کاهش‌ی داشت. همانطور که در شکل (۲- F) مشخص است، در سطح ۵۰ درصد جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی و در هر سطح از جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت، ارتجاعیت با کاهش درصد اسپیرولینا افزایش یافت. در سطوح بالاتر اسپیرولینا، روند تغییرات ارتجاعیت با افزایش درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت ابتدا افزایشی و سپس کاهش‌ی با شیب بسیار کم بود. درحالی‌که در سطوح پایین‌تر اسپیرولینا، ارتجاعیت با افزایش درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت ابتدا کاهش و

Table 4 Values for optimization and its feature or purpose

Independent variable and response	Lower limit	Higher limit	Purpose
Replacement of sucrose with steviolside- isomalt (%)	0	100	Maximize
Replacement of gelatin with persian gum (%)	0	100	Maximize
<i>Spirulina</i> (%)	0	1.00	is in range
Density (g/cm <sup>3</sup> )	0.82	1.3	Minimize
Hardness (N)	1.2	21.2	Maximize
Adhesiveness (N.min)	0.0022	0.0261	Minimize
Cohesiveness	0.79	0.97	Maximize
Springiness	0.77	0.92	Maximize
Chewiness (N)	0.909	14.65	Maximize

را به جذب آب فرمول توسط بخش پروتئینی اسپیرولینا (۳۳)، و یا آزاد شدن بخش مهمی از آب جذب شده توسط صمغ فارسی در اثر تخریب حرارتی ساختمان این هیدروکلوئید حساس به حرارت (۱۴)، در حین فرایند تولید پاستیل نسبت داد. نمونه پاستیل رژیمی تولیدی حاوی درصدهای کمتر اسپیرولینا (بهینه ۲) از میزان رطوبت کمتری نسبت به نمونه

### ۳-۴- مقایسه نمونه‌های بهینه و شاهد در طول

#### دوره نگهداری

#### ۳-۴-۱- ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی

با توجه به نتایج جدول ۵ مشاهده می‌شود که میزان رطوبت نمونه‌های بهینه نسبت به نمونه شاهد در طی دوره نگهداری کاهش معنی‌داری داشت ( $p < 0.05$ )، که می‌توان علت این امر

نگهداری (روز ۶۰)، نسبت به روزهای آغازین بود ( $p < 0.05$ )، که علت این مطلب را می‌توان با پدیده مهاجرت رطوبت طی زمان نگهداری مرتبط دانست.

نتایج حاصل از بررسی برخی ویژگی‌های کیفی نمونه‌های پاستیل رژیمی تولیدی و نمونه شاهد (۰٪ جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت، ۰٪ جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی، ۰٪ اسپیرولینا) نشان داد که محتوی پروتئین، چربی و خاکستر پاستیل رژیمی غنی شده حاوی ۰/۲۸٪ اسپیرولینا، نسبت به نمونه پاستیل رژیمی حاوی ۰/۰۲٪ اسپیرولینا و نمونه شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد ( $p < 0.05$ ). به عبارت دیگر، استفاده از اسپیرولینا به‌ویژه مقادیر بالاتر آن در فرموله کردن پاستیل رژیمی اثر چشمگیری بر بهبود ارزش تغذیه‌ای محصول نهایی داشت. زیرا اسپیرولینا پلاتنسیس منبع غنی از پروتئین (۶۰-۷۰ درصد وزن خشک) و لیپیدها (۸-۶ درصد) می‌باشد. به علاوه، اسپیرولینا منبع خوبی از آهن، کلسیم، و سایر عناصر معدنی از جمله روی، منیزیم، سلنیوم و پتاسیم است [۴۱].

بهینه ۱ برخوردار بود ( $p < 0.05$ ). رسولی و همکاران (۱۳۹۴)، با بررسی بهینه‌سازی فرمولاسیون بستنی سنتی ایرانی حاوی ریز جلبک اسپیرولینا به این نتیجه دست یافتند که با افزایش سطوح اسپیرولینا در فرمول بستنی، فعالیت آبی و رطوبت تیمارها نسبت به گروه کنترل کاهش پیدا کرده است [۱۱]. با توجه به نتایج مقایسه دانسیته نمونه‌های بهینه و نمونه شاهد، دانسیته نمونه‌های پاستیل رژیمی تولیدی به‌طور معنی‌داری ( $p < 0.05$ )، نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت. دانسیته نمونه‌های پاستیل رژیمی تولیدی با افزایش درصد اسپیرولینا و کاهش درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت نیز کاهش قابل توجهی داشت ( $p < 0.05$ ). به نظر می‌رسد تفاوت دانسیته میان نمونه‌ها به دلیل وجود تفاوت‌های ساختاری از جمله وزن مولکولی، درجه پلیمریزاسیون و خاصیت آبدوستی میان ساکارز با استویوزید، و همچنین ژلاتین و صمغ فارسی، و در نهایت تغییر ویسکوزیته شبکه ژلی در اثر حضور ریزجلبک اسپیرولینا باشد [۴۵]. بررسی روند تغییرات دانسیته طی مدت زمان ماندگاری بیانگر کاهش دانسیته نمونه‌ها در روز پایانی

**Table 5** Comparison of physicochemical characteristics of optimal and control samples during storage

Sample	Day	Moisture (%)	Density (g/cm <sup>3</sup> )	Protein (%)	Fat (%)	Ash (%)
Blank	0	28.00±0.51 <sup>a</sup>	0.88±0.07 <sup>def</sup>	0.23±0.02 <sup>b</sup>	0.16±0.02 <sup>b</sup>	0.45±0.03 <sup>c</sup>
	15	21.87±1.13 <sup>b</sup>	0.87±0.13 <sup>def</sup>	-	-	-
	30	19.73±0.20 <sup>c</sup>	0.79±0.06 <sup>defg</sup>	-	-	-
	45	14.85±1.02 <sup>d</sup>	0.74±0.05 <sup>fg</sup>	-	-	-
	60	12.39±0.41 <sup>e</sup>	0.69±0.04 <sup>g</sup>	-	-	-
Optimal 1	0	15.05±0.69 <sup>d</sup>	1.1±0.12 <sup>ab</sup>	12.61±0.90 <sup>a</sup>	0.29±0.02 <sup>a</sup>	0.70±0.02 <sup>a</sup>
	15	10.97±0.10 <sup>f</sup>	0.96±0.04 <sup>bcd</sup>	-	-	-
	30	7.43±0.60 <sup>g</sup>	0.91±0.09 <sup>cde</sup>	-	-	-
	45	4.53±0.50 <sup>i</sup>	0.84±0.04 <sup>defg</sup>	-	-	-
	60	3.68±0.52 <sup>ij</sup>	0.78±0.07 <sup>efg</sup>	-	-	-
Optimal 2	0	7.54±0.56 <sup>g</sup>	1.18±0.13 <sup>a</sup>	0.58±0.10 <sup>b</sup>	0.18±0.02 <sup>b</sup>	0.55±0.03 <sup>b</sup>
	15	6.04±0.78 <sup>h</sup>	1.12±0.13 <sup>a</sup>	-	-	-
	30	4.41±0.24 <sup>i</sup>	1.11±0.12 <sup>ab</sup>	-	-	-
	45	2.98±0.53 <sup>j</sup>	1.05±0.06 <sup>abc</sup>	-	-	-
	60	3.01±0.16 <sup>j</sup>	0.92±0.07 <sup>cde</sup>	-	-	-

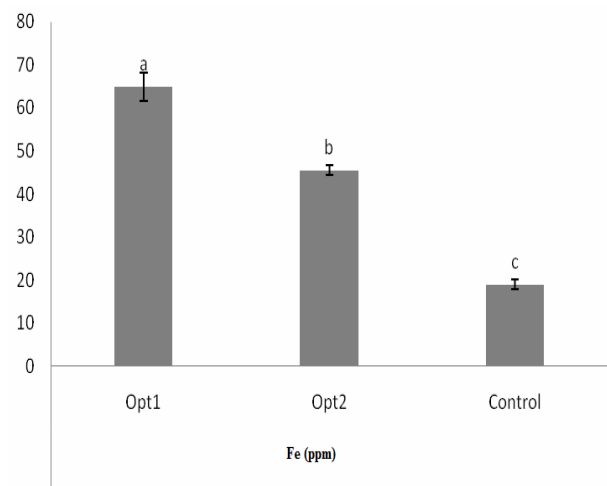
Different superscript letters indicate significant difference ( $P < 0.05$ )

Optimal 1: 60% replacement of sucrose with stevioside- isomalt, 100% replacement of gelatin with persian gum and 0.02% *Spirulina*; Optimal 2: 13% replacement of sucrose with stevioside- isomalt, 100% replacement of gelatin with persian gum and 0.28% *Spirulina*



ارزیابی بافت نمونه‌ها نشان داد میزان سختی بافت نمونه‌های بهینه و نمونه شاهد در طی روزهای ۰، ۱۵، ۴۵ و ۶۰ نگهداری تغییر معنی‌داری نکرد ( $p > 0/05$ )، و تنها در روز ۳۰ نگهداری، افزایش چشمگیر سختی بافت در نمونه بهینه ۲ نسبت به سایر نمونه‌ها مشاهده شد ( $p < 0/05$ ). در روزهای پایانی نگهداری (روز ۴۵ و ۶۰)، نمونه بهینه ۲ از چسبندگی بالاتری نسبت به سایر نمونه‌ها برخوردار بود ( $p < 0/05$ ). نتایج حاصل از آنالیز پروفایل بافت بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار میان نمونه‌های پاستیل رژیمی تولیدی و نمونه شاهد در طول دوره نگهداری از نظر پیوستگی بود، و نمونه شاهد پیوستگی بیشتری نسبت به نمونه‌های بهینه داشت ( $p < 0/05$ ). با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان گفت که در روزهای ۳۰، ۴۵ و ۶۰ نگهداری، ارتجاعیت نمونه شاهد به‌طور قابل ملاحظه‌ای بالاتر از نمونه‌های پاستیل رژیمی تولیدی بود ( $p < 0/05$ ). نمونه شاهد و نمونه بهینه ۲ از نظر میزان صمغی بودن تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ( $p > 0/05$ )، و نسبت به نمونه بهینه ۱ صمغی‌تر بودند ( $p < 0/05$ ). روند تغییرات قابلیت جویدن میان نمونه‌های بهینه و نمونه شاهد در طول دوره نگهداری شباهت زیادی با یکدیگر داشت ( $p < 0/05$ )، (جدول ۶). به‌طور کلی، به نظر می‌رسد بتوان تغییرات مشاهده شده در پارامترهای بافتی را با مکانیسم‌هایی که باعث تغییر ویسکوزیته سیستم شده‌اند، مرتبط دانست [۵۰]. از سوی دیگر، تغییر در ساختار ژلی و خواص رئولوژیکی نمونه‌های پاستیل رژیمی تولیدی در اثر تغییر مقادیر متغیرهای فرمولاسیون را می‌توان با ناسازگاری ترمودینامیکی میان پروتئین‌های ریز جلبک اسپیرولینا با سایر اجزای نمونه مرتبط دانست [۱۳]. همچنین باید اظهار داشت که تغییرات ویژگی‌های بافتی نمونه‌ها در طی دوره نگهداری احتمالاً به علت از دست رفتن رطوبت، آرایش مجدد پلی‌مرها در ناحیه آمورف و توزیع رطوبت میان ناحیه آمورف و کریستالی بوده است [۳۴].

نتایج پژوهش مستولی زاده و همکاران (۱۳۹۶)، در رابطه با تأثیر افزودن پودر ریز جلبک اسپیرولینا در سطوح ۰٪ تا ۱٪ به فرمول پاستا، بیانگر افزایش محتوی پروتئین و چربی با افزایش سطوح اسپیرولینا است [۴۶]. سوزنکار و همکاران (۱۳۹۷)، با غنی‌سازی ویفر روکش‌دار با استفاده از پودر ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس در سطوح ۰/۵٪ و ۱٪، بیان داشتند که مقادیر پروتئین و آهن در نمونه‌های ویفر غنی شده با اسپیرولینا به‌طور قابل توجهی افزایش یافته است [۴۷]. با توجه به نتایج شکل ۳ مشاهده می‌شود که محتوی آهن نمونه‌های بهینه نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). به علاوه، افزایش محتوی آهن در نمونه پاستیل رژیمی دارای درصد بالاتر (۰/۲۸٪) اسپیرولینا کاملاً مشهود بود ( $p < 0/05$ ). در تحقیقات پیشین میزان آهن در ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس، حدود ۱۲۵۰۰۰ میکروگرم آهن در هر ۱۰۰ گرم وزن خشک گزارش شده است [۴۸]. نتایج گلمکانی و همکاران (۱۳۹۳)، در رابطه با غنی‌سازی کیک یزدی با استفاده از ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس نیز نشان داده است که مقادیر آهن، سلنیوم، فسفر، منیزیم، منگنز و کلسیم نمونه‌های کیک غنی شده افزایش یافته است [۴۹].



**Fig 3** Comparison of iron content of optimal and control samples

Different superscripts indicate a significant difference at  $p < 0.05$ .

Optimal 1: 60% replacement of sucrose with stevioside- isomalt, 100% replacement of gelatin with persian gum and 0.02% *Spirulina*; Optimal 2: 13% replacement of sucrose with stevioside- isomalt, 100% replacement of gelatin with persian gum and 0.28% *Spirulina*





**Table 6** Comparison of textural properties of optimal and control samples during storage

Sample	Day	Hardness (N)	Adhesiveness (N. min)	Cohesiveness	Springiness	Gumminess (N)	Chewiness (N)
Blank	0	4.50± 0.53 <sup>b</sup>	0.01± 0.00 <sup>c</sup>	1.00±0.015 <sup>a</sup>	0.87± 0.09 <sup>a</sup>	4.49 ± 0.59 <sup>bc</sup>	3.87± 0.20 <sup>bc</sup>
	15	14.52± 0.36 <sup>b</sup>	0.00±0.01 <sup>c</sup>	0.98±0.014 <sup>a</sup>	0.93± 0.03 <sup>a</sup>	14.18±0.16 <sup>abc</sup>	13.24 ± 0.35 <sup>bc</sup>
	30	33.63± 1.93 <sup>b</sup>	0.01± 0.01 <sup>c</sup>	0.95± 0.016 <sup>a</sup>	0.93±0.04 <sup>a</sup>	31.80± 1.72 <sup>abc</sup>	29.53± 2.92 <sup>abc</sup>
	45	27.53 ± 3.79 <sup>b</sup>	0.01± 0.01 <sup>c</sup>	0.97±0.017 <sup>a</sup>	0.95 ± 0.04 <sup>a</sup>	26.67± 3.57 <sup>abc</sup>	25.47± 4.27 <sup>abc</sup>
	60	42.87± 8.05 <sup>b</sup>	0.02± 0.01 <sup>c</sup>	0.94± 0.01 <sup>a</sup>	0.94± 0.05 <sup>a</sup>	40.37± 7.25 <sup>abc</sup>	37.61± 5.91 <sup>ab</sup>
Optimal 1	0	80.20± 11.62 <sup>b</sup>	1.10± 0.51 <sup>a</sup>	0.36± 0.098 <sup>cd</sup>	0.97±0.02 <sup>a</sup>	29.42± 11.07 <sup>abc</sup>	28.50± 10.18 <sup>abc</sup>
	15	96.00± 62.55 <sup>b</sup>	1.01± 0.72 <sup>a</sup>	0.47±0.224 <sup>b</sup>	0.75 ± 0.08 <sup>ab</sup>	37.86±26.85 <sup>abc</sup>	28.68± 21.85 <sup>abc</sup>
	30	38.20± 17.93 <sup>b</sup>	0.11 ± 0.08 <sup>c</sup>	0.10± 0.035 <sup>efg</sup>	0.39±0.10 <sup>cd</sup>	3.45± 0.066 <sup>c</sup>	1.34 ± 0.50 <sup>bc</sup>
	45	78.73±45.25 <sup>b</sup>	0.16 ± 0.08 <sup>c</sup>	0.11± 0.015 <sup>efg</sup>	0.54 ± 0.14 <sup>bc</sup>	9.04 ± 6.18 <sup>bc</sup>	4.92± 3.88 <sup>bc</sup>
	60	73.53± 13.11 <sup>b</sup>	0.39± 0.19 <sup>bc</sup>	0.04± 0.011 <sup>g</sup>	0.27± 0.13 <sup>d</sup>	3.01± 1.03 <sup>c</sup>	0.80± 0.53 <sup>c</sup>
Optimal 2	0	74.77± 38.05 <sup>b</sup>	0.37± 0.15 <sup>bc</sup>	0.23± 0.054 <sup>cd</sup>	0.97± 0.04 <sup>a</sup>	15.55 ± 4.27 <sup>abc</sup>	15.04± 3.98 <sup>abc</sup>
	15	130.54± 183.14 <sup>b</sup>	0.27± 0.33 <sup>bc</sup>	0.22± 0.083 <sup>cd</sup>	0.57 ± 0.31 <sup>bc</sup>	37.42± 56.81 <sup>a</sup>	32.59± 53.01 <sup>a</sup>
	30	658.74± 406.46 <sup>a</sup>	0.20±0.17 <sup>c</sup>	0.08± 0.023 <sup>fg</sup>	0.24±0.12 <sup>d</sup>	47.38± 24.51 <sup>ab</sup>	9.97 ± 5.13 <sup>abc</sup>
	45	110.37± 31.49 <sup>b</sup>	0.82± 0.54 <sup>ab</sup>	0.30± 0.112 <sup>bc</sup>	0.52± 0.23 <sup>bc</sup>	35.03± 19.96 <sup>abc</sup>	21.05± 15.54 <sup>abc</sup>
	60	198.03± 62.85 <sup>b</sup>	0.82± 0.42 <sup>ab</sup>	0.19± 0.055 <sup>def</sup>	0.55± 0.10 <sup>bc</sup>	35.59± 3.89 <sup>abc</sup>	19.36± 3.81 <sup>abc</sup>

Different superscripts indicate a significant difference at  $p < 0.05$ .

Optimal 1: 60% replacement of sucrose with stevioside- isomalt, 100% replacement of gelatin with persian gum and 0.02% *Spirulina*; Optimal 2: 13% replacement of sucrose with stevioside- isomalt, 100% replacement of gelatin with persian gum and 0.28% *Spirulina*

### ۳-۴-۳- خصوصیات حسی

از نظر امتیاز بافت تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نشان دادند، به‌طوریکه نمونه بهینه ۲ نسبت به نمونه بهینه ۱، امتیاز بافت بالاتری دریافت کرد ( $p < 0.05$ ). در مجموع، پذیرش کمتر نمونه‌های بهینه در مقایسه با نمونه‌ی شاهد را می‌توان به تغییر ویسکوزیته شبکه ژلی آنها که تأثیر معکوس بر عطر و طعم دارد، نسبت داد [۵۱]. نتایج تحقیقی در رابطه با استفاده از پودر ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس در تولید کلوچه سنتی، حاکی از کاهش معنی‌دار امتیاز حسی نمونه‌های حاوی این ریز جلبک بود، و پس از نمونه‌ی شاهد، نمونه‌های حاوی ۱ و ۱/۵ درصد اسپیرولینا بالاترین امتیاز حسی را داشتند [۴۸]. آگوستینی و همکاران (۲۰۱۶)، بیان کردند که افزودن اسپیرولینا پلاتنسیس به بستنی و پنیر نرم تأثیر منفی بر بوی آنها داشته و باعث ایجاد بوی ناخوشایند شبیه به بوی ماهی در این محصولات گردیده است [۵۲].

بر طبق نتایج جدول ۷، نمونه‌های بهینه و نمونه شاهد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر از نظر میزان شیرینی و رنگ نداشتند ( $p > 0.05$ ). عدم وجود تفاوت معنی‌دار میان نمونه‌های بهینه و نمونه‌ی شاهد از نظر امتیاز رنگ را می‌توان اینگونه توضیح داد که شاید رنگ سبز اسپیرولینا برای برخی مورد پسند بوده و شاید برخی دیگر این رنگ را نوعی تنوع و نوآوری دانستند و بیشتر پسندیدند. به‌نظر می‌رسد که در صورت آگاهی مصرف کنندگان از اضافه شدن پودر سبز رنگ اسپیرولینا به پاستیل رژیمی و بهبود ارزش تغذیه‌ای آن، با تغییر رنگ به‌وجود آمده کنار خواهند آمد. نمونه شاهد از حیث برخی از ویژگی‌های حسی نظیر طعم و مزه، طعم پس تلخ، بافت و پذیرش کلی امتیاز بالاتری را نسبت به نمونه‌های پاستیل رژیمی غنی‌شده کسب نمود ( $p < 0.05$ ). نمونه‌های پاستیل رژیمی تولیدی تنها

**Table 7** Comparison of sensory properties of optimal and control samples

Treatment	Sweetness	Taste	After taste	Colour	Texture	Overall acceptance
Optimal 1	3.67±1.23 <sup>a</sup>	3.33±1.50 <sup>b</sup>	3.00±1.31 <sup>b</sup>	3.53±1.41 <sup>a</sup>	2.87±1.13 <sup>c</sup>	3.00±1.20 <sup>b</sup>
Optimal 2	4.00±0.93 <sup>a</sup>	3.47±1.13 <sup>b</sup>	3.60±0.91 <sup>b</sup>	3.80±1.08 <sup>a</sup>	3.60±0.99 <sup>b</sup>	3.60±0.99 <sup>b</sup>
Blank	4.20±0.68 <sup>a</sup>	4.40±0.91 <sup>a</sup>	4.67±0.74 <sup>a</sup>	4.33±0.82 <sup>a</sup>	4.76±0.49 <sup>a</sup>	4.67±0.72 <sup>a</sup>

Different superscripts indicate a significant difference at  $p < 0.05$ .

Optimal 1: 60% replacement of sucrose with stevioside- isomalt, 100% replacement of gelatin with persian gum and 0.02% *Spirulina*; Optimal 2: 13% replacement of sucrose with stevioside- isomalt, 100% replacement of gelatin with persian gum and 0.28% *Spirulina*

## ۴- نتیجه گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که روش سطح پاسخ، روش خوب و قابل اطمینان برای انتخاب شرایط بهینه تولید پاستیل رژیمی غنی شده با استفاده از مخلوط قند استویوزید- ایزومالت و اسپیرولینا پلاتنسیس است. افزایش درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت و جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی به ترتیب موجب افزایش و کاهش سختی بافت تیمارها شد. روند تغییرات دانسیته و چسبندگی با افزایش درصد جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت به ترتیب، کاهشی و افزایشی بود. بهترین شرایط تولید پاستیل رژیمی غنی شده را می توان فرمولاسیون های حاوی ۱۳٪ جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت، ۱۰۰٪ جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی و ۲۸٪ اسپیرولینا؛ و ۶۰٪ جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت، ۱۰۰٪ جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی و ۰/۰۲٪ اسپیرولینا پیشنهاد کرد که تحت این شرایط میزان آهن به طور چشمگیری افزایش یافت. جایگزینی ساکارز با استویوزید- ایزومالت و ژلاتین با صمغ فارسی و همچنین استفاده از اسپیرولینا در فرمول پاستیل موجب افزایش دانسیته نمونه های رژیمی غنی سازی شده نسبت به نمونه شاهد گردید ( $p < 0/05$ )، درحالی که سختی بافت را تحت تأثیر قرار نداد ( $p > 0/05$ ). پاستیل رژیمی تولیدی با فرمولاسیون شامل ۶۰٪ جایگزینی شکر با استویوزید- ایزومالت، ۱۰۰٪ جایگزینی ژلاتین با صمغ فارسی و ۰/۰۲٪ اسپیرولینا از نظر صمغی بودن مشابه با نمونه شاهد بود ( $p > 0/05$ ). نتایج حاصل از ارزیابی حسی نشان داد نمونه شاهد نسبت به نمونه پاستیل های رژیمی تولیدی از امتیاز طعم، بافت و پذیرش کلی بالاتری برخوردار بودند ( $p < 0/05$ ). به طور کلی، ریزجلبک اسپیرولینا و مخلوط استویوزید- ایزومالت به طور موفقیت آمیزی می توانند در فرمولاسیون پاستیل رژیمی غنی شده با هدف بهبود ویژگی های کیفی، فیزیکی و بافتی مورد استفاده قرار گیرند.

## ۵- سپاسگزاری

از شرکت دانش بنیان سلامت گستران آرایان به دلیل همکاری های علمی و پژوهشی در راستای محقق شدن این تحقیق کمال تشکر را دارد.

## ۶- منابع

- [1] Basiri, S.H., and Shahidi, F. 2015, Investigation on the effects of different amounts of gellan and guar on texture, organoleptic and color properties of white mulberry pastille, Iranian Food Science and Technology Research Journal, 13 (1), 1-13 (In Persian).
- [2] Maghami kia, H., Khalilian, S., and Mohammadi, A. 2013, The possibility of using natural sweetener (graps concentrate white and red) in the formulation of soy bean, 29-31 Oct, The 21<sup>st</sup> congress of Iranian food science and technology. Shiraz university, 1-5 (In Persian).
- [3] Homayouni-Rad, A., Hajieghrary, F., and Khodavirdvand Keshtiban, A. 2017, The effects of sucrose substitution with date syrup on rheological and organoleptic properties of Kooshab, Food Science and Technology. 14 (64), 155-163 (In Persian).
- [4] Pon, S.Y., Lee, W.J., and Chong, G.H. 2015, Textural and rheological properties of Stevia ice cream, International Food Research Journal, 22 (4), 1544-1549.
- [5] Grotz, V.L. and Munro, I.C. 2009, An overview of the safety of sucralose, Journal of Regulatory Toxicology and Pharmacology, 55, 1-5.
- [6] Pilehvaran, M., Bi farqi toosi, S.H., Tavakolipoor, H., and Golimovahed, G.H. 2014, Use texture profile analysis Tpa at effect of alternative sweetener in steviosid, sorbitol and isomalt at texture Yazdi Cakes. 1<sup>th</sup> National Conference on between meals Mashhad, Mashhad university jihad institute of food science and technology, 30 Apr, 1-8. (In Persian).
- [7] Aidoo, R.P., Afoakwa, E.O., and Dewettinck, K. 2014, Rheological properties, melting behaviors and physical quality characteristics of sugar-free chocolates processed using inulin/ polydextrose bulking mixtures sweetened with stevia and thaumatin extracts, LWT- Food Science and Technology, 62 (1), 592-597.
- [8] Gao, J., Brennan, M.A., Mason, S.L., and Brennan, C.S. 2017, Effects of sugar substitution with "Stevianna" on the sensory characteristics of muffins, Journal of Food Quality, 1-11, doi.org/10.1155/2017/8636043.
- [9] Shetty, k., Paliyath, G., Pometto, A., and Levin, R.E. 2006, Food Biotechnology, CRC Press, 498P.
- [10] Mostafa, M.S.I., Yassin, M.E.A., and Michele, P. 2016, Role of pH on antioxidants production by Spirulina (Arthrospira)

- soy flour, feeds, and mixed feeds; 2000, 11<sup>th</sup> ed methods. 30-25.01.
- [22] Approve Methods of the American Association of Crude protein- Kjeldahl method, Boric Acid modification. 2000; 11<sup>th</sup> ed methods. 46-12.
- [23] Approve Methods of the American Association of Iron-spectrophotometric Method; 2000, 11<sup>th</sup> ed methods. 40-41.03.
- [24] Approve Methods of the American Association of Moisture- Air Oven Methods; 2000, 11<sup>th</sup> ed methods. 44-15.02.
- [25] Le-Bail, A., Nicolitch, C., and Vuillod, C. 2010, Fermented frozen dough: impact of pre-fermentation time and off-freezing rate for a pre-fermented frozen dough on final volume of the bread, *Food and Bioprocess Technology*, 3 (2), 197-203.
- [26] Afoakwa, E.O., Paterson, A., Fowler, M., and Vieira, J. 2008, Particle size distribution and compositional effects on textural properties and appearance of dark chocolates, *Food Engineering*, 87, 181-90.
- [27] Sun, D. 2008, Computer vision technology for food quality evaluation. Academic Press, New York, 658p.
- [28] Saricoban, C., and Yilmaz, M.T. 2010, Modelling the effects of processing factors on the changes in colour parameters of cooked meatballs using response surface methodology, *World Applied Sciences Journal*, 9, 14-22.
- [29] Purfarzad, A., Haddad Khodaparast, M., Karimi, M., and Mortazavi, A. 2012, Optimizing the gel composition to improve the properties of dough and bread improvers response surface methodology, *Food Science and Technology*, 47 (12), 181-196 (In Persian).
- [30] Akesowan, A. 2009, Quality of reduced-fat chiffon cakes prepared with erythritol-sucralose as replacement for sugar, *Pakistan Journal of Nutrition*, 8 (9), 1383-1386.
- [31] Farahnaki, A., Majzoubi, M., and Mesbahi, G.H. 2009, Properties and applications of hydrocolloids in food and medicine: gelatin, katira, gum Arabic, starch, modified starch and pectin, Publication of Science and Agriculture of Iran, Tehran, 234 p (In Persian).
- [32] Alvarez-Jubete, L., Arendt, E. K., and Gallagher, E. 2010, Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients, *Trends in Food Science and Technology*, 21 (2), 106-113.
- [33] Szczesniak, A.S. 2002, Texture is a sensory property, *Food Quality and Preference*, 13, 215-225.
- [11] Rasouli, F., Berenji, S.H., and Lavasani, A.S. 2017, Optimization of Traditional Iranian Ice Cream Formulation Enriched with Spirulina Using Response Surface Methodology, *Journal of Food Technology and Nutrition*, 14 (3), 15-28 (In Persian).
- [12] Barkallah, M., Dammak, M., Louati, I., Hentati, F., Hadrich, B., Mechichi, T., Ayadi, M.A., Fendri, I., Attia, H., and Abdelkafi, S. 2017, Effect of Spirulina platensis fortification on physicochemical, textural, antioxidant and sensory properties of yogurt during fermentation and storage, *LWT - Food Science and Technology*, 84, 323-330.
- [13] Khazee pool, A., Shahidi, B., Mortazavi, A., and Mohebbi, M. 2013, Formulation of kiwi Gummy candy and effects of different concentrations of agar and guar on moisture content and texture and sensory properties, *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 10, 27-37 (In Persian).
- [14] Bhat, R., and Karim, A.A. 2009. Ultraviolet irradiation improves gel strength of fish gelatin, *Food Chemistry*, 113, 1160-1164.
- [15] Abbasi, S., and Rahimi, S. 2007. Introduction of an unknown local plant gum: Persian gum, *Flour and Food Industry Magazine*, 4, 42-51 (In Persian).
- [16] Norziah, M., Rashima Romli, S., and Ahmad, M. 2015, Influences of red pitaya fruit puree and gelling agents on the physicomechanical properties and quality changes of gummy confections, *International Journal of Food Science and Technology*, 50, 331-339.
- [17] Fiyouzi, B., Mazaheri tehrani, M., and Khazaii pool, A. 2014, Formulation of date jelly product and condensed whey and its physicochemical and sensory properties. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 12 (1), 61-78 (In Persian).
- [18] Marfi, P., Anhê, A., and Telis, V. 2012, Texture and microstructure of gelatin/corn starch-based gummy confections, *Food Biophysics*, 7, 236-243.
- [19] Shahidi, F., Khalilian, S., Mohebi, M., and Fathi, M. 2011, Apple bean formulation and evaluation of different formulas based on sensory characteristics and water activities, *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 7 (2), 129-136 (In Persian).
- [20] Approve Methods of the American Association of Ash- Basic Method; 2000, 11<sup>th</sup> ed methods. 08-01.01.
- [21] Approve Methods of the American Association of Crude fat in wheat, corn, and

- Fisheries Sciences University, Bidar, 170 p.
- [44] Jairo Lindarte, A., and Luis-Felipe, G. 2019, Effects of replacing fat by betaglucans from *Ganoderma lucidum* on batter and cake properties, *Food Science and Technology*, 56, 1.451-461.
- [45] Saniah, K., and Sharifah, M. 2012, The application of Stevia as sugar substitute using response surface methodology, *Trop Agriculture and Food Science*, 40 (1), 23-34.
- [46] Mostolizadeh, S., Moradi, Y., Mortazavi, M.S., Motallebi, A. and Ghaeni, M. 2017, Application effects of Spirulina powder on the fatty acid and amino acid composition of pasta, *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 26 (4), 119-130 (In Persian).
- [47] Sozankar, R., Movahed, S., and Ghaighi Nosrati, R. 2018, Enrichment of coated wafer using arthrospira algae powder (*Spirulina platensis*), *Iranian Journal of Nutrition Sciences*, 13 (2), 51-60 (In Persian).
- [48] Salehifar, M., Shahbazi Zade, S., Khosravi Darani, K., Behmadi, H., and Ferdosi, R. 2012, Investigation of the use of Spirulina platensis microalgae powder in industrial cookie production, *Iranian Journal of Nutrition Sciences*, 7 (4), 63-72 (In Persian).
- [49] Golmakani, M.T., Moayyedi, M., Raissjalali, A., Pesaran, Y., and Aghajani, A. 2015, Investigation of physicochemical, nutritional, textural, and sensory properties of Iranian Yazdi cupcake enriched with Spirulina (*Arthrospira platensis*), *International Conference on Latest Trends in Food, Biological and Ecological Sciences* (In Persian).
- [50] Ronda, F., Gamez, M., Blanco, C.A., and Caballero, P.A. 2005, Effects of polyols and nondigestible oligosaccharides on the quality of sugar-free sponge cakes, *Food Chemistry*, 90 (4), 549-555.
- [51] Shourideh, M., Taslimi, A., Azizi, M.H., and Mohammadifar, M.A. 2012, Effects of D-Tagatose and inulin on some physicochemical, rheological and sensory properties of dark chocolate, *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, 2 (5), 314-319 (In Persian).
- [52] Agustini, T.W., Ma'ruf, W.F., Widayat, W., Suzery, M., Hadiyanto, H., and Benjakul, S. 2016, Application of spirulina platensis on ice cream and soft cheese with respect to their nutritional and sensory perspectives, *Teknologi (Sciences and Engineering)*, 78, 245-251.
- [34] Karimi, M., Sahraiyani, B., Naghipour, F., Sheikholeslami, Z., and Ghiafeh Davoodi, M. 2013, Functional effects of different humectants on dough rheology and flat bread (Barbari) quality, *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 11 (1), 1209-1213 (In Persian).
- [35] Lubbers, S., and Guichard, E. 2003, The effect of sugars and pectin on flavour release from a fruit pastille model system, *Food Chemistry*, 81, 269-273.
- [36] Sandoval-Castilla, O., Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E., and Vernon-Carter, E.J. 2004, Microstructure and texture of yogurt as influenced by fat replacers, *International Dairy*, 14, 151-159.
- [37] Batista, A.P., Gouveia, L., Nunes, M.C., Franco, J.M., and Raymundo, A. 2007, Microalgae biomass as a novel functional ingredient in mixed gel systems. In *Gums and Stabilisers for the Food Industry – 14th Edition*. Eds. Williams, P.A., and Phillips, G.O. Royal Society of Chemistry, 488-494.
- [38] Savitha, Y.S., Indrani, D., and Prakash, J. 2008, Effect of sugar with sucralose and maltodextrin on rheological characteristics of wheat flour dough and quality of soft dough and quality of soft dough biscuit, *Journal of Texture Studies*, 39, 605-616.
- [39] Batista, A.P., Ristiana Nunes, M.C., Fradinho, P., Gouveia, L., Sabel Sousa, I., Raymundo, A., and Franco, J.M. 2012, Novel foods with microalgal ingredients – Effect of gel setting conditions on the linear viscoelasticity of Spirulina and Haematococcus gels, *Food Engineering*, 110, 182-189.
- [40] Batista, A.P., Raymundo, A., Sousa, I., and Empis, J. 2006, rheological characterization of coloured oil-in-water food emulsions with lutein and phycocyanin added to the oil and aqueous phases, *Food Hydrocolloids*, 20, 44-52.
- [41] Chronakis, I.S. 2001, Gelation of edible blue-green algae protein isolates (*Spirulina platensis*) thermal transitions, rheological properties, and molecular forces involved, *Bioresource Technology*, 77, 19-24.
- [42] Bescos, P., Estrada, E., and Fresno, A. 2008, Neuroprotection by Spirulina platensis protean extract and phycocyanin against iron-induced toxicity in SHSY5Y neuroblastoma cells, *Toxicology in Vitro*, 22, 1496-1502.
- [43] Malik P. 2011, Utilization of Spirulina Powder for Enrichment of Ice Cream and Yoghurt, *Karnataka Veterinary Animal and*



## Optimization of Enriched Diet Pastille Formulation Containing *Spirulina Platensis* Microalgae Using Replacement of Sucrose with Stevioside-Isomalt and Gelatin with Persian Gum by Response Surface Methodology (RSM)

Abdolazimi, M.<sup>1</sup>, Goli, M.<sup>2,3\*</sup>

1. M. Sc., Department of Food Science & Technology, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.
2. Associate Professor, Department of Food Science & Technology, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.
3. Associate Professor, Laser and Biophotonics in Biotechnologies Research Center, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

### ABSTRACT

In order to reduce the sugar consumption in the pastille formulation and improve its nutritional value using *Spirulina platensis* microalgae, the effect of sugar replacement with stevioside-isomalt, gelatin replacement with Persian gum and effect of using *spirulina* as a bioactive compound on the physicochemical and textural properties of pastilles were investigated. In order to optimization the production conditions of enriched diet pastille, the response surface method (RSM) in the form of a central composite design were used in 5 levels of sugar replacement with stevia-isomalt (0, 25, 50, 75, 100%), gelatin replacement with persian gum (0, 25, 50, 75, 100%) and *Spirulina* (0, 0.25, 0.50, 0.75, 1%). The results of physicochemical, textural and sensory properties of the selected product were evaluated during 0, 15, 30, 45 and 60 days and compared with the control sample. The results showed that an increase in the percentage of sucrose replacement with stevioside-isomalt and gelatin replacement with persian gum, resulted in an increase and decrease the hardness, respectively. Density and adhesiveness decreased and increased significantly with increasing percentage of sucrose replacement with stevioside-isomalt, respectively. Among the investigated formuls, samples containing 13% sucrose replacement with stevioside-isomalt, 100% gelatin replacement with persian gum and 0.28% *Spirulina*; and 60% sucrose replacement with stevioside-isomalt, 100% gelatin replacement with persian gum and 0.02% *Spirulina* were determined as the best formulation. Comparison between treatments revealed a moisture reduction and density increment of the optimal samples ( $p < 0.05$ ), while the hardness of the optimal samples did not significantly change during storage time ( $p > 0.05$ ). Results of sensory analysis indicate that control sample had better sensory characteristics (taste, after taste, texture and overall acceptability) than the other samples. The addition of *Spirulina platensis* microalgae as a functional supplement can improve nutritional properties, especially protein and minerals such as iron in the product.

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received 2021/ 07/ 06  
Accepted 2021/ 08/ 24

#### Keywords:

Pastille,  
*Spirulina platensis*,  
Stevioside,  
Texture properties,  
Sensory characteristics

DOI: 10.52547/fsct.19.124.327

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.124.8.5

\*Corresponding Author E-Mail:  
Mgolifood@yahoo.com