

بهینه‌سازی فرمولاسیون نوشیدنی انرژی‌زا حاوی شیرین کننده طبیعی و پروتئین آب پنیر توسط روش طرح مخلوط - رئوس انتهای

فاطمه زنده‌بودی^۱، سمیرا یگانه‌زاد^{۲*}، علیرضا صادقیان^۲، محمد مهدی قلیان^۳

۱- دکتری علوم و صنایع غذایی، گروه فرآوری مواد غذایی، موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

۲- عضو هیئت علمی و استادیار گروه فرآوری مواد غذایی، موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

۳- کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۷/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۳/۰۱)

چکیده

تولید نوشیدنی‌های مغذی انرژی‌زا به‌ویژه بر پایه محصولات بومی و جانبی کارخانجات صنایع غذایی یکی از زمینه‌های تحقیقاتی مورد توجه در صنعت غذا می‌باشد. شیره خرما به عنوان محصول جانبی فراوری خرما حاوی مقادیر قابل ملاحظه‌ای از ترکیبات مغذی است اما همچنان از این ترکیب با ارزش استفاده بسیار ناچیزی در صنعت غذا می‌شود. پروتئین آب پنیر نیز از جمله محصولات جانبی مغذی و انرژی‌زا صنایع لبنی محسوب می‌شود که استفاده از آن توسط بسیاری از دانشمندان علم تغذیه توصیه شده است. در پژوهش حاضر، اثر غلظت هر یک از ترکیبات شامل شیره خرما (۱۲٪-۰)، کنسانتره پروتئین آب پنیر (۹٪-۰) و پایدارکننده زانتان (۰/۰۲٪-۰) بر میزان دو فاز شدن و خصوصیات رئولوژیکی نوشیدنی به کمک روش طرح مخلوط - رئوس انتهای مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش هر یک از ترکیبات به ویژه پایدار کننده دو فاز شدن کاهش یافت ($p < 0.05$). به طور کلی افزایش ترکیبات اصلی به ویژه پایدارکننده نوشیدنی باعث تغییر رفتار رئولوژیک نوشیدنی از حالت نیوتنی به غیرنیوتنی گردید هم‌چنین نتایج بهینه‌سازی نشان داد که دو فاز شدن در ۱/۴۹٪ وزنی / حجمی صمغ زانتان، ۸/۶٪ وزنی / حجمی پودر آب پنیر و ۱۰/۷۵٪ وزنی / حجمی شیره خرما، معادل ۴٪ بود. فرمولاسیون بهینه تولید شده دارای میزان پایداری ۹۵٪، شاخص قوام $Pa.s^m$ ۰/۰۵۴ و پتانسیل زتای mV ۳۴- بود.

کلید واژگان: نوشیدنی، دو فاز شدن، روش طرح مخلوط

۱- مقدمه

از نظر کارشناسان تغذیه استفاده از نوشیدنی‌ها در فعالیت‌های فیزیکی بالا، یک امر ضروری است و نیاز افراد به آب مطلوب برای حفظ تعادل آبی بدن، پیش نیاز موفقیت در فعالیت‌های فیزیکی است [۲ و ۱]. با توجه به این موضوع، لزوم تامین الکترولیت‌های ضروری بدن نظیر سدیم جهت به تاخیر انداختن عطش و جایگزینی الکترولیت‌های از دست رفته از طریق عرق کردن و تامین بخشی از انرژی مورد نیاز از طریق مصرف نوشیدنی روشن می‌شود. این نوع از نوشیدنی‌های در دسته‌ی نوشیدنی‌های عملگرا قرار دارد. استفاده از آب‌پنیر اولترافیلتر در تولید این نوع از نوشیدنی‌ها رو به افزایش می‌باشد؛ اما با این حال به دلیل نامناسب بودن فرمولاسیون این نوع از نوشیدنی‌ها تا به حال نتوانسته‌اند بازار مناسبی را به خود اختصاص دهند [۴ و ۳].

هم‌چنین در فعالیت‌های فیزیکی به دلیل فعالیت و استرس بالا، ذخیره انرژی بدن دچار افت شدید می‌شود، که می‌توان با مصرف ترکیبات مغذی، تا حدود زیادی این افت انرژی را جبران نمود. نوشیدنی انرژی‌زا به دسته‌ای از نوشیدنی‌ها اطلاق می‌شود که حاوی کافئین می‌باشد و ممکن است سایر ترکیبات مغذی نیز در آن وجود داشته باشد. اغلب این نوع از نوشیدنی‌ها حاوی میزان زیادی گلوکز یا شیرین‌کننده‌های مصنوعی می‌باشند [۵]. نوشیدنی‌های انرژی‌زا مورد نیاز برای استفاده توسط افراد با فعالیت بالای فیزیکی علاوه بر کافئین، باید حاوی ترکیبات خاصی باشد که عبارتند از قند، پروتئین، الکترولیت‌ها و ترکیبات طعم‌زا. این ترکیبات جهت جلوگیری از دفع آب بدن، جایگزینی الکترولیت‌های از دست رفته بدن و افزایش کارایی فیزیکی، تاخیر احساس خستگی و بازسازی ماهیچه‌ها مورد نیاز می‌باشد [۶].

استفاده از ترکیب پروتئین و کربوهیدرات به عنوان وسیله‌ای موثرتر جهت به تاخیر انداختن زمان احساس خستگی در مقایسه با نوشیدنی‌های به تنهایی کربوهیدراتی می‌باشد [۷]. استفاده از

منابع پروتئینی به همراه کربوهیدرات‌ها به افزایش قدرت بازسازی ماهیچه‌های بدن پس از فعالیت‌های فیزیکی کمک می‌کند [۸].

از جمله ترکیبات طبیعی حاوی گلوکز که می‌توان به عنوان شیرین‌کننده و تامین‌کننده کربوهیدرات از آن استفاده کرد می‌توان به عسل، شیره انگور و شیره خرما اشاره کرد. براساس گزارش سازمان غذا و کشاورزی جهانی^۲ در سال ۲۰۱۴ میزان ۷/۶ میلیون تن خرما در جهان تولید گردیده است که ایران به عنوان دومین کشور تولید کننده این محصول با ارزش می‌باشد. میوه خرما غنی از قندهای فروکتوز و گلوکز است. قند عمده موجود در خرما قندهای ساده است که در بدن انسان به سهولت جذب می‌گردد و سبب تولید انرژی می‌گردد [۹].

استفاده از پروتئین‌های شیر در کنار شیره خرما سبب ایجاد یک ترکیب مغذی رژیمی با اهمیت در زمینه تامین انرژی برای افراد با فعالیت بالای فیزیکی می‌شود. براساس تحقیقات انجام شده در دانشکده داروهای ورزشی آمریکا، به‌طور میانگین هر فرد که روزانه فعالیت فیزیکی بالا دارد به ازای هر کیلوگرم از وزن بدنش به میزان متوسط ۱/۶ - ۱/۷ گرم پروتئین نیاز دارد. آب‌پنیر پروتئینی است که به‌عنوان ترکیبی انرژی‌زا شناخته می‌شود. این پروتئین منبع غنی از پروتئین، ویتامین‌ها و مواد معدنی است (۱۰ و ۱۱). ارزش تغذیه‌ای بالای پروتئین‌های آب‌پنیر، به دلیل مقدار بالای اسیدهای آمینه ضروری آن می‌باشد [۱۲]. نشان داده شده است که نوشیدنی انرژی‌زا بر پایه آب‌پنیر، ترکیب مناسبی جهت تامین انرژی و به تاخیر انداختن احساس خستگی در فرد می‌باشد [۱۳].

یکی از عمده ترین مشکلات در تولید نوشیدنی‌های حاوی پروتئین‌های شیر، دوفاز شدن آن‌ها در زمان تولید و نگهداری است که این مسئله ناشی از گرانبوی پایین، دفعه الکترولیت‌های پایین و ترسیب و به هم پیوستن ذرات پروتئینی می‌باشد. برای جلوگیری و یا کاهش این پدیده نامطلوب از ترکیبات آب‌دوست کلوئیدی استفاده می‌گردد؛ از جمله‌ی این

فروکتوز، ۴۲٪ گلوکز و ۴۲/۶٪ آهن بود. پتاسیم کلرید از شرکت سیگما آلدریج، کافئین، اسید آسکوربیک و سترات سدیم ۵ آبه از شرکت مرک آلمان خریداری شد. زانتان از شرکت Fufeng (چین)، رودامین B از شرکت سیگما آلدریج خریداری شد.

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- تهیه فرمولاسیون اولیه نوشیدنی

جهت تهیه فرمولاسیون اولیه، براساس فرمول‌های به‌دست آمده (جدول ۱-۲) هر یک از ترکیبات توزین شدند. پودر زانتان با ترازوی دیجیتال^۵ با دقت ۴ رقم اعشار توزین شد و در نیمی از آب فرمولاسیون به آرامی اضافه گردید. جهت اختلاط بهتر و جلوگیری از کلوخه شدن پودر در آب ابتدا ظرف حاوی آب روی هم‌زن مغناطیسی^۶ قرار گرفت و سپس پودر به آرامی به آب اضافه گردید و به مدت یک شبانه‌روز به کمک هم‌زن مغناطیسی مخلوط شد. دمای آب مورد استفاده در تمامی تیمارها ۲۵ درجه سلسیوس بود [۱۸].

پودر کنسانتره آب‌پنیر، شیره خرما، کافئین (۴۰ میلی گرم در لیتر)، آنتی‌اکسیدان اسید اسکوربیک (۱۰۰ میلی گرم در لیتر) و الکترولیت‌ها شامل سترات سدیم (۳۷ میلی گرم در لیتر)، کلرید پتاسیم (۵۰ میلی گرم در لیتر) با ترازوی دیجیتالی با دقت ۴ رقم اعشار توزین شدند. مقدار معین و توزین شده پودر آب‌پنیر (جدول ۱) در نیمی دیگر از آب فرمولاسیون به آرامی اضافه گردید جهت اختلاط مناسب پودر آب‌پنیر با آب از هم‌زن مغناطیسی با مگنت استفاده شد و به مدت یک شبانه‌روز به کمک هم‌زن مغناطیسی در دمای محیط هم‌زده شدند. دمای آب مورد استفاده تمامی تیمارها ۲۵ درجه سلسیوس بود. سپس از نمونه‌های تهیه شده برای تولید فرمولاسیون نوشیدنی استفاده شد. پس از هیدراته شدن پودر آب‌پنیر، شیره خرما (شیرین‌کننده نوشیدنی) (طبق جدول ۱) به سوسپانسیون اضافه شد.

ترکیبات می‌توان به هیدروکلوئیدها اشاره نمود [۱۴]. از جمله هیدروکلوئیدهایی که از دیر باز در صنعت غذا به عنوان قوام دهنده و پایدارکننده استفاده می‌شده است می‌توان به زانتان اشاره کرد. زانتان یکی از پلی‌ساکاریدهای با وزن مولکولی بالاست (در حدود 2×10^6 دالتون) که توسط باکتری زانتاموناس کمپستریس^۳ تولید می‌گردد. این پلی‌ساکارید در آب سرد محلول می‌باشد و محلول‌های آن خواص رقیق‌شونده با برش را دارا می‌باشند (۱۵ و ۱۶). از جمله کاربردهای تجاری زانتان در صنعت غذا استفاده از آن در تولید نوشیدنی‌های پایدار، سس‌ها، محصولات قنادی و بستنی می‌باشد [۱۷].

در حال حاضر نوشیدنی‌های انرژی‌زا وارداتی موجود در کشور از طریق افزودن کافئین با دوزهای بالاتر از حد مجاز و محرک‌های غیر مجاز تنها سبب تحریک و عدم خواب آلودگی فرد و در بعضی موارد سبب بد خوابی و مشکلات عصبی فرد می‌شوند و در نتیجه به دلیل عدم تامین انرژی از طریق نوشیدنی فرد حتی پس از مدتی با افت شدید انرژی و سپس کاهش فعالیت فیزیکی مواجه می‌گردد. به همین دلیل هدف از انجام این پژوهش بهینه‌سازی فرمولاسیون نوشیدنی انرژی‌زا با پودر کنسانتره آب‌پنیر، استابیلایزر تجاری (زانتان) و شیره خرما به کمک روش طرح مخلوط- رئوس انتهایی^۴، هم‌چنین جلوگیری از جداسازی فازی آن و بررسی ویژگی رئولوژیکی نوشیدنی تولیدی تحت تاثیر غلظت‌های مختلف ترکیبات مذکور بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

پودر کنسانتره آب‌پنیر پودر به کار رفته از آب‌پنیر شیرین (آنزیمی) و محتوای پروتئینی آن ۸۰٪ پروتئین براساس وزن خشک بود که از شرکت Agri- Mark کشور آمریکا خریداری گردید. شیره خرما از شرکت مینو (ایران) حاوی ۴۲٪

5. AND-GR200), Japan
6. RCT BASIC ,IKA, German

3. Xanthomonas campestris
4. Mixture desing-extreme vertices

Table 1 Compositions concentration (%w/v) of protein based soft drink mixture samples in a extreme vertices mixture design.

Sample	Xanthan (x ₁)	Whey protein concentrate (x ₂)	Date syrup (x ₃)
1	0.05	7.85	12.10
2	0.15	7.75	12.10
3	0.05	8.60	11.35
4	0.00	7.50	12.50
5	0.00	9.00	11.00
6	0.20	9.00	10.80
7	0.15	8.60	11.25
8	0.20	7.30	12.50
9	0.10	8.20	11.70

۲-۲-۲- تهیه فرمولاسیون نهایی نوشیدنی

پس از تهیه محلول حاوی آب‌پنیر و شیره‌خرما و دیسپرسیون‌های هیدروکلوئید، جهت اختلاط مناسب، دیسپرسیون هیدروکلوئید به محلول پروتئین و شیره خرما اضافه شد و به مدت دو ساعت روی هم‌زن مغناطیسی جهت اختلاط مناسب هم‌زده شد. سپس املاح شامل سیترات سدیم و کلرید پتاسیم، کافئین و اسید آسکوربیک و کنسانتره انبه (طعم دهنده) افزوده گردید و به مدت دو ساعت روی هم‌زن مغناطیسی در دمای محیط هم‌زده شد. سپس جهت اختلاط مناسب و همگن‌کردن بافت نوشیدنی، از دستگاه اولتراتوراکس استفاده شد و با دور 6000 rpm به مدت ده دقیقه هر یک از نمونه‌های نوشیدنی هم زده شد. جهت کاهش احتمال فساد میکروبی نوشیدنی‌های به‌دست‌آمده در حمام آب گرم با دمای 70°C درجه سلسیوس قرار گرفت و پس از رسیدن به دمای مورد نظر به مدت 15 دقیقه در این دما حرارت داده شدند. سپس در شرایط کاملاً استریل، در بطری شیشه‌ای استریل بسته‌بندی شدند و تا زمان انجام آزمون‌های مربوط به نوشیدنی، در دمای 4°C درجه سلسیوس نگهداری شد [۱۸].

۲-۲-۳- اندازه‌گیری گرانروی ظاهری

برخی ویژگی‌های رفتار جریان نوشیدنی طبق روش آذری‌کیا و عباسی [۱۹] مورد بررسی قرار گرفت. یک روز پس از تهیه، نمونه‌ها توسط ویسکومتر چرخشی^۷ مجهز به ژئومتری Bob and cup مجهز به سیستم کنترل دمایی با دقت 0.1°C درجه سلسیوس مورد ارزیابی قرار گرفت. در هر بار آزمایش 5 میلی‌لیتر از محلول نوشیدنی با استفاده از سرنگ حجمی

مخصوص به دستگاه تزریق شد و در دمای 10°C درجه سلسیوس و در سرعت برشی 1 s^{-1} تا 120 رفتار جریان و گرانروی ظاهری هر یک از نمونه‌ها ارزیابی شد. برنامه داده شده به دستگاه به این صورت بود که بعد از گذشت هر 4 ثانیه 2 واحد به سرعت برشی افزوده شد و در نهایت 60 نقطه در هر تیمار به‌دست آمد. برای این منظور ارتباط تنش برشی و گرانروی به صورت تابعی از سرعت برشی برای تعیین نوع رفتار جریان نمونه‌ها بررسی شد. داده‌های حاصله با معادلات مدل‌های مختلف از جمله نیوتنی، قانون توان، بینگهام، هرشل بالکی تطبیق داده شد و پس از انتخاب بهترین مدل، مؤلفه‌های مربوط به مدل برازش داده شده نظیر شاخص‌های رفتار جریان شامل k (شاخص قوام) و n (ضریب رفتار جریان) به‌دست آمد. تمام اندازه‌گیری‌ها در هر تیمار حداقل 3 بار تکرار انجام شد.

۲-۲-۴- اندازه‌گیری میزان دو فاز شدن در زمان**ماندگاری**

جهت اندازه‌گیری این ویژگی، 10 میلی‌لیتر از هر یک از نوشیدنی‌ها در لوله‌های آزمایش شیشه‌ای ریخته شدند و در دمای 5°C درجه سلسیوس به مدت 30 روز نگهداری شدند. سپس ارتفاع فاز پایینی جدا شده تعیین شد و از محاسبه ارتفاع فاز پایینی تقسیم بر ارتفاع کل نوشیدنی در لوله، میزان درصد دو فاز شدن نوشیدنی در هر فرمولاسیون محاسبه گردید [۱۹].

۲-۲-۵- مشاهده ریزساختار توسط میکروسکوپ**نوری**

بررسی ریز ساختار با استفاده از دستگاه میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین دیجیتال^۸ در بزرگنمایی $400\times$ مورد بررسی قرار

8. AM-7013 MZT, Dino Light

7. DVIII Ultra, Brookfield, USA

خصوصیات نوشیدنی‌ها به منظور بهینه‌سازی نوشیدنی مورد استفاده قرار گرفت. بهینه‌سازی با هدف به دست آوردن نوشیدنی با بیشترین پایداری و قوام مناسب صورت گرفت. برای بهینه‌سازی از نرم‌افزار مینی‌تب استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- گرانروی ظاهری و خصوصیات جریان

نوشیدنی

مدل قانون توان برای توضیح رفتار جریان سیالات تضعیف شونده با برش و تقویت شونده با برش بسیار پرکاربرد می‌باشد. برای نمونه‌های نوشیدنی در تحقیق حاضر، پس از برازش داده‌های حاصل از آزمون ویسکومتری در مدل‌های مختلف، به دلیل همبستگی بالای مدل قانون توان، این مدل برای اندازه‌گیری شاخص‌های رئولوژیکی نوشیدنی‌ها انتخاب شد.

۳-۱-۱- بررسی اثر ترکیبات نوشیدنی بر خصوصیات

گرانروی ظاهری و رفتار جریان نوشیدنی

به منظور به دست آوردن مدل تجربی برای پیش بینی پاسخ، رابطه‌های خطی و چند جمله‌ای درجه دوم بر داده‌های به دست آمده از آزمایش برازش شدند. عبارات بی‌معنی از معادله پیشگویی حذف گردید و روند تغییرات گرانروی ظاهری با توجه به مؤلفه‌های فرمولاسیون نوشیدنی و به صورت نمودار کنتور در شکل ۱ و معادله حاصل در جدول ۲ مشاهده می‌گردد. در جدول ۲ نتایج تجزیه و تحلیل واریانس ترکیبات نوشیدنی آورده شده است. عبارات‌های معنی‌دار شامل درصد غلظت هیدروکلوئید زانتان، پروتئین کنسانتره آب پنیر و شیر خرم بودند. بررسی معادله به دست آمده برای گرانروی ظاهری نوشیدنی با این روش نشان می‌دهد که معادله حاصل از ضریب تبیین (۰/۹۹) و ضریب تبیین تعدیل شده (۰/۹۸) بالایی برخوردار می‌باشد. آزمون ضعف برازش آن بی‌معنی و ضریب تغییرات آن نیز پایین است که اشاره به مناسب بودن مدل ارائه شده دارد.

همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده است با افزایش میزان هیدروکلوئید گرانروی ظاهری افزایش یافته است که علت این امر خاصیت هیدروکلوئیدهایی نظیر زانتان می‌باشد که با حل شدن این هیدروکلوئید در آب، زنجیره طویل مولکولی آن باز شده و نقاط آب‌دوست آن با جذب مولکول‌های آب از حرکت

گرفت. جهت آماده‌سازی نمونه‌ها، ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رودامین ب (محلول ۰/۰۵٪ وزنی/حجمی) به ۹/۵ میلی‌لیتر از هر یک از نمونه‌ها اضافه شد و سپس نمونه‌ها ۱۰ بار رقیق‌تر گردید و پس از هم‌زدن شدید بلافاصله در زیر میکروسکوپ نوری مشاهده گردید [۱۹].

۲-۲-۶- اندازه‌گیری پتانسیل زتا

جهت تعیین پتانسیل کلی زتای نوشیدنی بهینه‌سازی شده، نمونه با آب یون‌زدایی شده، ۱۰۰ برابر رقیق شدند و در ظرف مخصوص دستگاه اندازه‌گیری پتانسیل زتا قرار گرفتند و به این وسیله پتانسیل زتای هر یک از نوشیدنی‌ها اندازه‌گیری شد [۲۰].

۲-۲-۷- تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش به منظور بررسی اثرات متغیرهای فرمولاسیون بر خصوصیات فیزیکی از جمله گرانروی ظاهری، قوام، ضریب رفتار جریان و پایداری فازها در نوشیدنی‌های مختلف، از روش طرح مخلوط-رئوس انتهایی استفاده شد. این طرح شامل سه متغیر مستقل در پنج سطح و سه تکرار بود. تیمارهای حاصل در جدول ۱ ذکر شده اند. برای طراحی آزمایش و تجزیه و تحلیل نتایج از نرم‌افزار مینی‌تب (نسخه ۱۹) استفاده گردید. بدین منظور معادلات ریاضی درجه دوم کامل با استفاده از تجزیه رگرسیون گام به گام پس رونده روی متغیرهای وابسته برازش شدند. در این روش آماری برای هر متغیر وابسته مدلی تعریف می‌شود که آثار اصلی و متقابل فاکتورها را روی هر متغیر جداگانه بیان می‌نماید. مدل چند متغیره به صورت معادله ۱ می‌باشد.

$$Y = b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3$$

در معادله ذکر شده Y پاسخ پیش‌بینی شده b_1, b_2 و b_3 اثرات خطی و b_{12}, b_{13} و b_{23} اثرات متقابل می‌باشند.

برای نشان دادن رابطه هر یک از متغیرهای وابسته در مدل رگرسیون با متغیرهای مستقل، نمودار کنتور آن‌ها به وسیله نرم افزار مینی‌تب ترسیم شد. به منظور ارزیابی صحت مدل‌های برازش داده شده، ضریب تغییرات، مقادیر ضریب تبیین تعدیل شده مدل تعیین شدند.

همچنین مدل‌های به دست آمده از بررسی رفتار متغیرها بر

همکاران (۲۰۰۷)، علت این پدیده را کاهش تحرک و آنتروپی مولکول‌های آب متصل شده با پلی‌مر آبدوست زانتان و افزایش اصطکاک لایه‌های سیال مجاور زنجیره‌ی پلی‌مر زانتان در زمان به جریان افتادن ذکر کرده‌اند [۲۱].

آزادانه آب جلوگیری به عمل می‌آورد و در نتیجه‌ی آن گرانروی محلول‌های حاوی این هیدروکلوئید افزایش می‌یابد [۱۵]. در پژوهشی که سان و همکاران (۲۰۰۷)، جهت بررسی اثر زانتان بر گرانروی ظاهری محلول حاوی پودر آب پنیر انجام دادند نتایج مشابهی با این تحقیق به دست آمد. سان و

Table 2 Results of analysis of dependent variables variance in protein based soft drink production

Source of variation	Degrees of freedom	Apparent viscosity (mPa.s)		Consistency index (mPa.s ⁿ)		Flow behavior index		Phase separation (%)	
		Standard coefficients error	Coefficient	Standard coefficients error	Coefficient	Standard coefficients error	Coefficient	Standard coefficients error	Coefficient
x ₁	5	3045	12821646	10699	35986359	3799	-96714	52073	-15859975
x ₂	2	1584	-61645	5566	-166837	197	616	270	81195
x ₃	3	8487	-32907	2981	-89323	105	329	1451	43932
x ₁ x ₂	1	3063	-12894121	10762	-36188324		ns	5238	15986943
x ₁ x ₃	1	3063	-12904995	10762	-36223401		ns	5238	15926219
x ₂ x ₃	1	4781	185942	16798	503974	59	-1854	8176	245974
Lack of fit		ns		ns		ns		ns	
Residual error	3	60.71		749.4		0.00		177.54	
total	8	1730.54		27779.4		0.56		2968.51	
Coefficient of variation		4.49		1.85		0.05		7.6	
R- square			0.96		0.97		0.98		0.94
adjusted R- square			0.90		0.92		0.95		0.84

ns: not significant at $p < 0.05$

خرما روابط متقابل پارامترها تاثیر معنی‌داری بر میزان شاخص قوام نوشیدنی دارند. بررسی جدول تجزیه و تحلیل واریانس (جدول ۴-۲) نشان می‌دهد که پارامتر غلظت زانتان در مقایسه با سایر ترکیبات نوشیدنی تاثیر بیشتری بر میزان شاخص قوام نوشیدنی دارد. بررسی مدل پیش‌بینی شده برای شاخص قوام نشان می‌دهد که معادله حاصل دارای ضریب تبیین و ضریب تبیین تعدیل شده (به ترتیب ۰/۹۷ و ۰/۹۲) بالا و معنی‌دار و مناسبی است (جدول ۴-۲). آزمون ضعف برازش آن بی‌معنی ($p > 0.05$) و ضریب تغییرات آن نیز پایین (۱/۸۵) می‌باشد که نشان‌دهنده مناسب بودن مدل انتخاب شده است.

بر طبق شکل ۲ بیشترین شاخص قوام نوشیدنی در غلظت ۰/۲٪ از زانتان، ۱۲٪ شیر خرمای ۷/۸٪ پروتئین آب‌پنیر به دست آمده است. بین این نتایج و نتایج حاصل از بررسی گرانروی ظاهری همبستگی معنی‌دار و بالایی وجود دارد. شاخص قوام معیاری است که نشان‌دهنده گرانروی محلول نیز می‌باشد و رابطه شاخص قوام و ویسکوزیته با هم هم‌سو

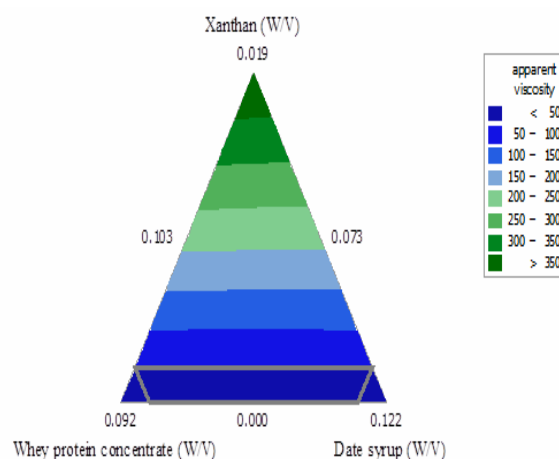


Fig 1 contour plot of the effects of processing components on apparent viscosity of soft drink at shear rate of 60 s^{-1} .

۳-۱-۲- بررسی اثر ترکیبات نوشیدنی بر شاخص قوام

و رفتار جریان نوشیدنی

نتایج این پژوهش نشان داد که غلظت زانتان و پروتئین و شیر

معمولاً در محلول‌های رقیق‌شونده با برش با افزایش سرعت برشی گرانروی محلول کاهش می‌یابد. رفتار رقیق‌شونده با برش هیدروکلوئیدها به دلیل جهت‌گیری مولکول‌های بیوپلیمرها در دیسپرسیون در نتیجه اثر سرعت برشی می‌باشد. در سرعت‌های برشی پایین تغییر بسیار کمی در جهت‌گیری مولکول‌ها رخ می‌دهد و رفتار نیوتنی از خود نشان می‌دهد در حالی که با افزایش سرعت برشی، مولکول‌های پلیمر در جهت جریان قرار می‌گیرند و رفتار رقیق‌شوندگی با برش را از خود نشان می‌دهند و برهم‌کنش بین مولکولی کاهش می‌یابد [۲۳-۲۵].

از آنجایی که ضریب رفتار جریان در همه‌ی نمونه‌ها کوچک‌تر از یک است این امر نشان‌دهنده‌ی ماهیت رقیق‌شوندگی با برش نوشیدنی می‌باشد.

۳-۲- بررسی جدایش فازی

زانتان از جمله هیدروکلوئیدهای غیرجاذب است. هیدروکلوئیدهای غیرجاذب از طریق افزایش گرانروی و قوام سیستم سبب پایداری سیستم‌ها می‌گردند. براساس شکل ۳ افزایش غلظت زانتان سبب افزایش پایداری به طور معنی‌داری شده است که می‌توان دلیل این امر را افزایش گرانروی و کاهش جنبش مولکولی ذکر کرد. در اثر کاهش تحرک مولکولی احتمال نزدیک شدن مولکول‌های پروتئین کم می‌گردد و در نتیجه‌ی آن از ایجاد ساختارهای متصل به هم جلوگیری به عمل می‌آید [۲۶].

داده‌های حاصل با داده‌های حاصل از سنجش گرانروی این نمونه‌های نوشیدنی هم‌سو است به طوری که افزایش در غلظت زانتان سبب افزایش شاخص قوام و گرانروی ظاهری نمونه‌های محلول شد. در غلظت‌های پایین این صمغ به دلیل ایجاد لخته^{۱۰} سرعت ته‌نشینی و دوفاز شدن در مقایسه با نمونه‌های بدون هیدروکلوئید، بسیار بالا می‌رود. همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است. در غلظت‌های پایین صمغ و غلظت بالای شیر خرم و پروتئین آب‌پنیر میزان دوفاز شدن حداکثر می‌باشد که نشان‌دهنده‌ی این حقیقت است که به دلیل پایین بودن گرانروی، تحرک مولکولی و ایجاد اتصالات پروتئینی و حتی اتصال پروتئین و مولکول‌های شیر خرم بالا رفته و در نتیجه آن سبب کاهش پایداری و افزایش سرعت رسوب‌گذاری شده است.

می‌باشد. نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج سایر محققان هم‌سو بود [۲۱].

نتایج بررسی جدول تجزیه و تحلیل واریانس (جدول ۲) نشان داد که غلظت زانتان بیشترین تاثیر را بر شاخص رفتار جریان (n) داشته است. اثر متقابل غلظت پروتئین کنسانتره آب‌پنیر و شیر خرم نیز بر کاهش میزان n اثر معنی‌داری دارد. بررسی ضریب تبیین مدل پیشگو نشان داد که دارای ضریب تبیین و ضریب تبیین تعدیل شده (به ترتیب ۰/۹۸ و ۰/۹۵) بالا و معنی‌داری است که نشان‌دهنده‌ی مناسب بودن مدل انتخاب شده می‌باشد.

با توجه به نمودار ارائه شده در شکل ۲، با افزایش غلظت هیدروکلوئید و شیر خرم میزان n به زیر ۱ سیر کرده است که نشان‌دهنده‌ی رفتار رقیق‌شونده با برش نوشیدنی در این غلظت‌ها می‌باشد. یکی از ویژگی‌های بارز محلول‌های حاوی صمغ زانتان و شیر خرم رفتار رقیق‌شونده با برش آن‌ها می‌باشد [۲۱ و ۲۲].

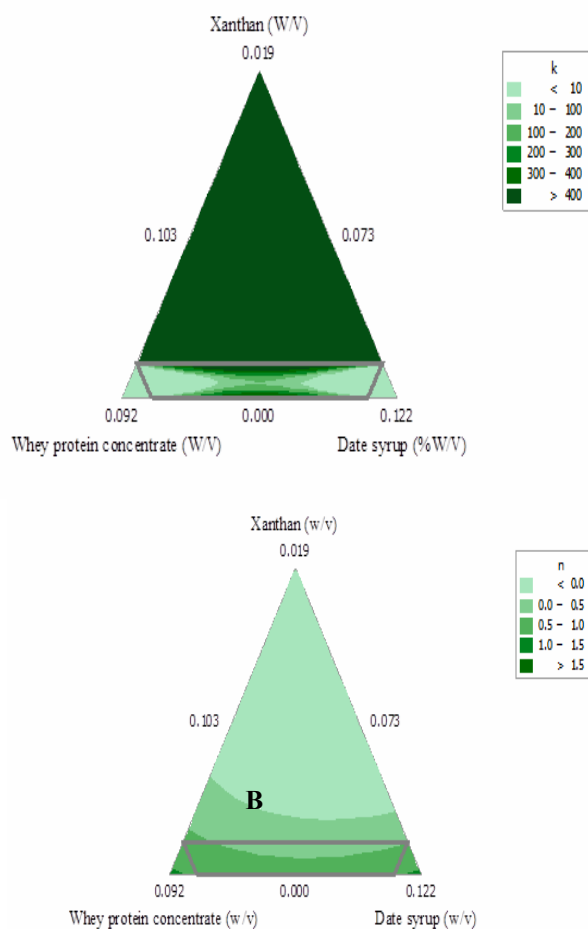


Fig 2 Contour plots of the effects of processing components on A) consistency index (mPa.sⁿ) and B) flow behavior of soft drink.

در شکل ۴ تصاویر مربوط به نوشیدنی در حضور صمغ زانتان ارائه شده است. مولکول زانتان از زنجیره پلی ساکارییدی طولی برخوردار می‌باشد. مولکول زانتان بار منفی‌تری به سیستم نوشیدنی وارد کرده است. در نتیجه از یک سو حضور زانتان سبب ایجاد گرانیوی بالاتر و از سوی دیگر سبب افزایش میزان دافعه الکترواستاتیک بین ذرات شده است و نوشیدنی حاوی این صمغ باید پایداری بیشتری داشته باشد. براساس شکل ۴ با افزایش غلظت صمغ، به دلیل افزایش بارهای هم‌نام و گرانیوی، تحرک مولکول‌ها به سمت هم و ایجاد تجمع کاهش یافته است. همانطور که در شکل ۴-B نشان داده شده است در غلظت‌های پایین این صمغ میزان تجمعات نسبت به نمونه عاری از صمغ بیشتر شده است چنین مشاهداتی توسط سایر محققان نیز مشاهده شد، که در غلظت‌های زیر ۰/۲ درصد از صمغ تجمع مولکول‌های پروتئینی افزایش یافت. زانتان از جمله هیدروکلوئیدهای غیرجاذب است. در زمانی که ذرات به دلیل حرکت براونی به سمت هم حرکت می‌کنند، فضای بین ذرات از مولکول زانتان خالی می‌شود و تنها حلال (در اینجا آب) باقی می‌ماند [۱۹]. این پدیده سبب ایجاد شیب غلظتی زانتان بین فضای بین ذرات و کل سیستم می‌شود و در نتیجه فشار اسمزی رخ می‌دهد. حلال تمایل به انتشار و خروج از بین ذرات، جهت کاهش شیب غلظتی زانتان را دارد که در نتیجه آن ذرات به هم متصل می‌شوند [۲۸].

به‌ویژه در دمای بالا (حرارت‌دهی جهت پاستوریزاسیون) پیوندهای کووالانسی بین قندهای موجود در شیر (به‌ویژه فروکتوز) با پروتئین‌های آب‌پنیر می‌شود که این اتصالات غیرقابل برگشت سبب بزرگ شدن مولکول پروتئین و ترسیب سریع آن می‌شود و در زمانی که گرانیوی سیستم پایین باشد حرکت مولکول‌ها سریع‌تر اتفاق می‌افتد و در نتیجه آن دوفاز شدن رخ می‌دهد [۲۷].

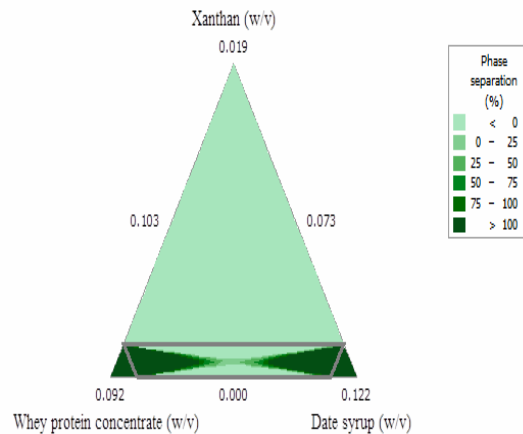


Fig 3 contour plot of the effects of processing components on phase separation (%) of soft drink after 30 days of storage at 4°C.

۳-۳- تغییرات میکروسکوپی نوشیدنی پس از افزودن غلظت‌های مختلف پروتئین، شیر خرمای و زانتان

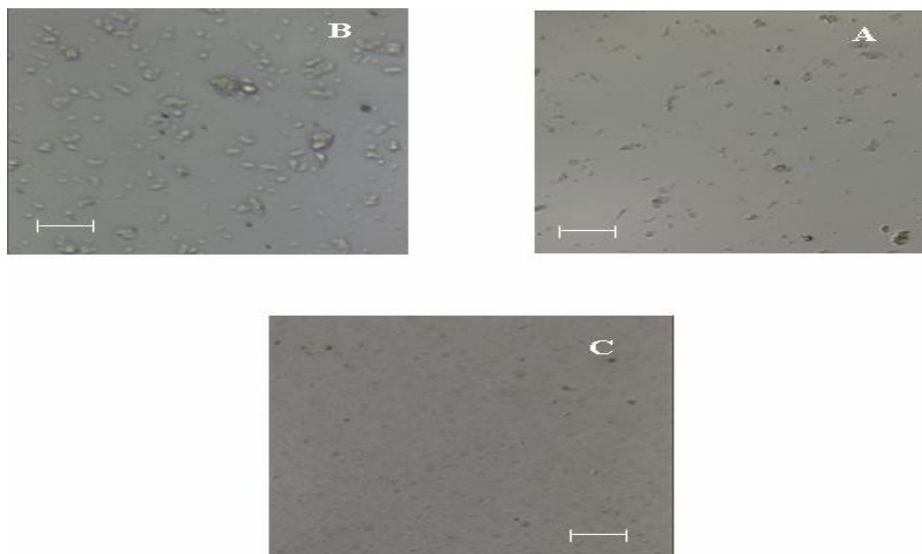


Fig 4 Micrograph of soft drink A) soft drink without hydrocolloid (sample 5) B) unstable soft drink (sample 3) and C) stable soft drink (sample 7)

۳-۴- بهینه‌سازی فرمولاسیون نوشیدنی بر پایه

پایداری فیزیکی

دست‌یابی به فرمولاسیون نوشیدنی با بیشترین پایداری فیزیکی یکی از اهداف در تولید نوشیدنی‌ها است. هدف اصلی در این پژوهش بررسی آثار اصلی و متقابل غلظت کنسانتره پروتئین آب‌پنیر، شیره‌خرما و زانتان بر خصوصیات فیزیکی به‌ویژه شاخص قوام، کمترین جداسدن فازی در نظر گرفته شد. براساس پژوهش‌های پیشین شاخص قوام قابل قبول برای نوشیدنی شیرخرما در حدود ۰/۰۳۶-۰/۰۹۵ پاسکال‌ثانیه می‌باشد [۲۹]. براساس داده‌های حاصل از پایداری فیزیکی فاکتورهایی از مدل که بر این شاخص اثر معنی‌دار دارد عبارت است از اثرات پایدارکننده، شیره‌خرما و کنسانتره پروتئین آب‌پنیر ($p < 0.05$). نتایج نشان داد که افزایش هیدروکلوئید سبب افزایش بیشتر در پایداری سیستم شد و در غلظت‌های پایین پایدارکننده میزان دو فاز شدن تسریع یافت. براساس سه فاکتور ذکر شده در بالا بهینه‌سازی صورت گرفت. فرمول بهینه نوشیدنی براساس بیشترین پایداری فیزیکی عبارت است از ۱/۴۹٪ وزنی / حجمی صمغ زانتان، ۰/۸۶٪ وزنی / حجمی پودر آب‌پنیر و ۱۰/۷۵٪ وزنی / حجمی شیره‌خرما. شاخص‌های قوام، پتانسیل زتا و پایداری پس از ۳۰ نگاهداری در دمای یخچال اندازه‌گیری شد. براساس داده‌های به‌دست آمده میزان پایداری ۹۵٪، شاخص قوام $Pa \cdot s^n$ ۰/۰۵۴ و پتانسیل زتای -3.4 میلی‌ولت برای این فرمول از نوشیدنی به‌دست آمد. براساس تجزیه ترکیبات شیمیایی نوشیدنی نشان داد این نوشیدنی حاوی پروتئین به میزان ۱۰/۰۱٪، قند کل به میزان ۱۱/۵۷٪، چربی ۰/۲۹٪، ماده خشک به میزان ۱۵/۸٪ و دارای $pH = 4.81$ بود.

۴- نتیجه‌گیری

با افزودن هر یک از ترکیبات نوشیدنی به ویژه هیدروکلوئید زانتان گرانروی ظاهری افزایش یافت که به دنبال آن ته‌نشینی و دو فاز شدن کاهش یافت. با افزایش غلظت هر یک از ترکیبات به ویژه غلظت زانتان و شیره‌خرما رفتار نوشیدنی تبدیل به غیر نیوتنی رقیق شونده با برش شد به گونه‌ای که در عدم حضور رفتار نوشیدنی نیوتنی ($I \approx n$) بود. نتایج بهینه‌سازی آزمون پایداری و قوام نشان داد که کمترین دو فاز شدن و مناسب‌ترین قوام در ۱/۴۹٪ وزنی / حجمی صمغ زانتان، ۰/۸۶٪ وزنی /

حجمی پودر آب‌پنیر و ۱۰/۷۵٪ وزنی / حجمی شیره‌خرما بوده است. تصاویر میکروسکوپ نوری نیز نشان داد که افزودن هیدروکلوئید به میزان قابل توجهی سبب کاهش به هم پیوستن ذرات پروتئینی شد که به دنبال آن رسوب در نوشیدنی نیز نوشیدنی کاهش یافت.

۵- منابع

- [1] Tharion, W. J., Hoyt, R. W., DeLany, J. P., Cline, A. D., & Lieberman, H. R. (1997). Effect of a carbohydrate drink on energy and fluid balance during a military field exercise in the desert. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 11: A442.
- [2] Kalman, D. S., Feldman, S., Krieger, D. R., & Bloomer, R. J. (2012). Comparison of coconut water and a carbohydrate-electrolyte sport drink on measures of hydration and physical performance in exercise-trained men. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 9:1.
- [3] El-Khair, A.A. A. (2009). Formulation of Milk Permeate for Utilization as Electrolyte Beverages. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(2): 572-578.
- [4] Hattem, H.E.A., Abouel-Einin, E. H., & Mehanna, N.M. (2011). Utilization of milk permeate in the manufacture of sport drink. *Journal of Agricultural Technology*, 7(5): 1247-1254.
- [5] Alsunni, A. A. (2015). Energy Drink Consumption: Beneficial and Adverse Health Effects. *International Journal of Health Sciences*, 9(4), 468-474.
- [6] Grivetti L.E., Wilson T. (2004) A Brief History of Human Beverage Consumption. In: Wilson T., Temple N.J. (eds) *Beverages in Nutrition and Health*. Nutrition and Health. Humana Press, Totowa, NJ
- [7] Palmer, Q. (2005). Special topics. In: *Chemistry and Technology of Soft Drinks and Fruit Juices*. Ashurst, P. R. (Ed.). Black well publishing. Hereford. chapter 13.
- [8] Ferrari, C. C., Germer, S. P. M., Alvim, I. D., Vissotto, F. Z., & de Aguirre, J. M. (2012). Influence of carrier agents on the physicochemical properties of blackberry powder produced by spray drying. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(6), 1237-1245.
- [9] FAO (Food and Agriculture Organization

- during Thermal Processing: A Review. Compressive Review on Food Science in Food Safety, 13, 1234-1251.
- [21] Sun, CH., Gunasekaran, S., & Richards, M. P. (2007). Effect of xanthan gum on physicochemical properties of whey protein isolate stabilized oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 21, 555-565.
- [22] Milani, E., & Koocheki, A. (2011). The effect of date syrup and guar gum on physical, rheological and sensory properties of low fat frozen. *International Journal of Dairy Technology*, 64, 121-129.
- [23] Rao, M.A. (1999). *Rheology of Fluid and Semisolid Foods Principles and Applications*, Aspen Publishers., Maryland.
- [24] Karazhiyan, H., Razavi, S.M.A., Philips, G.O., Fang, Y., Al-Assaf, S., Nishinari, K., & Farhoosh, R. (2009). Rheological properties of *Lepidium sativum* seed extract as a function of concentration, temperature and time. *Food Hydrocolloid*, 23 (8), 2062-2068.
- [25] Koocheki, A., Mortazavi, S.A., Shahidi, F., Razavi, S.M.A., Taherian, A. (2009). Rheological properties of mucilage extracted from *Alyssum homolocarpum* seed as a new source of thickening agent, *Journal of Food Engineering*, 1, 490-496.
- [26] Williams, P. A., & Philips, G. O. (2000). Introduction to food hydrocolloids. In G. O. Phillips, & P. A. Williams (Eds.), *Handbook of hydrocolloids* (2nd ed., pp. 1-19). New York: CRC Press.
- [27] Semenova, M. G., Antipova, A. S., & Belyakova, L. E. (2002). Food protein interactions in sugar solutions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 7, 438-444.
- [28] Blijdenstein, T. B. J., Van Winden, A. J. M., Van Vliet, T., Van der Linden, E., & Van Aken, G. A. (2004). Serum separation and structure of depletion- and bridging-flocculated emulsions: A comparison. *Colloids and Surfaces A—Physicochemical and Engineering Aspects*, 245, 41-48.
- [29] Keshtkaran, M., Mohammadifar, M. A., Asadi, Gh. H., Azizi, N. R., & Balaghi, S. (2013). Effect of gum tragacanth on rheological and physical properties of a flavored milk drink made with date syrup. *Journal of Dairy Science*, 96 (8): 4794-4803.
- of the United Nations). 2017. Statistical Databases. Downloaded from <http://faostat.org/faostat/en/#data/QC> on september 20, 2017.
- [10] Brinkworth G., Buckley J., Bourdon P., Bulbin J., David A. (2002) Oral bovine colostrum supplementation enhances buffer capacity, but not rowing performance in elite female rowers. *International Journal of Sports Nutrition and Exercise Metabolism* 12, 349-363.
- [11] Walzem, R.L., C.J. Dillard and J.B. German, 2002. Whey components: Millennia of evolution create functionalities for mammalian nutrition: What we know and what we may be overlooking. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 42: 353-375.
- [12] Smithers, G. W. (2008). Whey and whey proteins—From ‘gutter-to-gold’. *International Dairy Journal*, 18(7): 695-704.
- [13] Shiby V. K., Radhakrishna K., Bawa A. S. Development of whey-fruit-based energy drink mixes using Doptimal mixture design. *Int. J. Food Sci. Technol.* (2013);48:742-748.
- [14] Genovese, D.B., & Lozano, J.E. (2001). The effect of hydrocolloids on the stability and viscosity of cloudy apple juices. *Food Hydrocolloids*, 15,1-7
- [15] Harding, N. E., Cleary, J. M., & Ielpi, L. (1995). Genetics and biochemistry of xanthan gum production by *Xanthomonas campestris*. *Food Biotechnology Microorganisms*”. VCH Publishers, New York.
- [16] Morris, E.R. (1977) Molecular origin of xanthan solution properties. In: P.A. Sandford and A. Laskin (eds), *Extracellular Microbial Polysaccharides*, ACS symposium series no. 45, American Chemical Society, Washington, DC, 81-89.
- [17] Pettitt, D.J. (1983) Xanthan gum. In: M. Glicksman (ed.), *Food Hydrocolloids*, Vol I. CRC Press Inc., Florida, 127-149.
- [18] Bacchouche, A., Ennouri, M., Felfoul, I., & Attia, H. (2013). Physical stability study of whey-based prickly pear beverages. *Food Hydrocolloids*, 33, 233-244.
- [19] Azarikia, F., & Abbasi, S. (2010). On the stabilization mechanism of Doogh (Iranian yoghurt drink) by gum tragacanth. *Food Hydrocolloids*, 24, 358-363.
- [20] Wijayanti, H.B., Bansal, N., & Deeth, H.C. (2014). Stability of Whey Proteins

Optimization of formulation of energetic soft drink containing natural sweetener and whey protein using mixture design-extreme vertices

Zendeboodi, F. ¹, Yeganehzad, S. ^{2*}, Sadeghian, A. R. ², Gholian, M. M. ³

1. PhD, food processing department, Research Institute of Food Science and Technology (RIFST), Mashhad, Iran
2. PhD, assistant professor, food processing department, Research Institute of Food Science and Technology (RIFST), Mashhad, Iran
3. MSc, Tabriz University, Tabriz, Iran

(Received: 2018/10/08 Accepted:2019/05/22)

Production of nutritious drink powders specially based on native or industrial by products is one of the research fields of interests in the food industry. Date syrup as a byproduct of date palm processing is containing a considerable amount of nutritious ingredients and monosaccharides. However this is a little use of this valuable ingredient in the food industry. Whey protein is also one of nutritious and energetic dairy industry byproduct that use of it has been recommended by many food science scientists. In the present study, the effect of concentration of each one of the components include date syrup (0-12%), whey protein concentrate (0-9%) and xanthan stabilizer (0-0.02%) on the phase separation and rheological properties of soft drink by mixture design- extreme vertices were investigated. The results indicated that phase separation decreased with increasing each components specially stabilizer ($p < 0.05$). Generally, increase in components specially stabilizer altered the rheological behavior of soft drink from Newtonian to non-Newtonian. Also optimization results showed that the phase separation was about 4% in the concentration of 1.49% w/v of xanthan, 8.6% w/v of whey protein and 10.75% w/v date syrup. Optimized formulation had 95 percents of stabilization, consistency index of 0.054 Pa. sⁿ and zeta potential of -34 mV.

Key words: Soft drink, Phase separation, Mixture design method.

* Corresponding Author E-Mail Address: s.yeganehzad@rifst.ac.ir