

## تاثیر پودر بزرک بر خواص ضد اکسایشی، میکروبی و حسی شکلات

زهرا حسن نژاد<sup>۱</sup>، صدیف آزادمرد دمیرچی<sup>۲</sup>، محمود صوتی خیابانی<sup>۳</sup>،

سیدهادی پیغمبردوست<sup>۴</sup>، هانیه رسولی پیروزیان<sup>۵\*</sup>

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی (پدیس بین‌المللی ارس)، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۲- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۳- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۴- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۵- دانش‌آموخته دکتری علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

(تاریخ دریافت: ۹۴/۱۲/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۱/۲۷)

### چکیده

در این پژوهش، پودر بزرک به شکلات در سطوح صفر (کنترل)، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد برای غنی‌سازی شکلات افزوده شد و ترکیبات ضد اکسایشی (توکوفرول‌ها)، عدد پروکسید و برخی از ویژگی‌های میکروبی در مدت ۳ ماه نگهداری اندازه‌گیری گردید. ویژگی‌های حسی شکلات با استفاده از ۱۴ ارزیاب حسی آموزش دیده در روزهای ۱، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۷۵ و ۹۰ نگهداری به روش هدونیک پنج‌نقطه‌ای انجام شد. نتایج نشان داد که با افزودن پودر بزرک، میانگین محتوای گاما توکوفرول تیمارها افزایش معنی‌داری یافت. مقدار گاما توکوفرول در نمونه شکلات کنترل، ۱۷/۱ ppm بود. در حالی که در اثر افزودن بزرک به مقدار ۲۰ درصد، محتوای توکوفرول به مقدار ۳۸/۵۷ ppm افزایش یافت. همچنین با افزایش پودر بزرک، عدد پروکسید تیمارها روند افزایشی نشان داد، به طوری که بیشترین مقدار پروکسید (۱/۸۷۵ meq/Kg) متعلق به نمونه با ۲۰ درصد بزرک در پایان روز ۹۰ و کمترین (۰/۵ meq/Kg) متعلق به نمونه کنترل در روز اول بود. هرچند این افزایش در عدد پروکسید در حد معمول بود و از حد استاندارد (حداکثر ۲ meq/Kg) خارج نشد. در مدت زمان نگهداری ۹۰ روز، بار میکروبی *انتروباکتریاسه*، *اشرشیاکلی*، *سالمونلا* (در ۲۵ گرم نمونه)، *استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت*، کپک و مخمر در محدوده قابل قبول قرار داشتند. در تمامی نمونه‌های شکلات، از لحاظ شمارش کپک و مخمرها تفاوتی نداشتند. بیشترین شمارش مخمر مربوط به نمونه شکلات حاوی ۲۰ درصد پودر بزرک در پایان روز ۹۰ نگهداری بود. از نظر پذیرش کلی، تیمار حاوی ۵ و ۱۰ درصد بزرک بیشترین پذیرش و تیمار محتوی ۲۰ درصد بزرک کمترین پذیرش را نسبت به نمونه کنترل دارا بودند. نتایج نشان داد که می‌توان با افزودن بزرک به شکلات محصول غنی شده با ترکیبات ضد اکسایشی تولید کرد که نقش مهمی در سلامت مصرف‌کنندگان می‌تواند داشته باشد.

کلید واژگان: بزرک، شکلات، ویژگی‌های حسی، ویژگی‌های میکروبی

\* مسئول مکاتبات: rasuly\_h@yahoo.com

## ۱- مقدمه

بازار جهانی فروش غذاهای فراسودمند حدود ۳۳ میلیارد دلار در سال ۲۰۰۰ تخمین زده شده است [۱]. در سال ۱۹۸۰ اولین محصولات غذایی فراسودمند در ژاپن تولید شد که هدف تقویت مواد غذایی مختلف با ویتامین‌های C، E و مواد معدنی مانند اسید فولیک، روی و کلسیم بود. حفاظت از این ترکیبات فاکتور تعیین‌کننده برای فراهم کردن پیش‌بینی اثرات مفید این غذاها می‌باشد [۲].

بزرک به عنوان افزودنی سلامتی‌بخش یا فراسودمند در غنی‌سازی مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۳]. بزرک گیاهی است که کشت آن از حدود ۵۰۰۰ سال قبل از میلاد به دلیل فواید دارویی آن صورت گرفته است [۴]. استفاده سنتی از بزرک و تاثیر آن بر سلامتی انسان به دلیل درمان یبوست بود [۵]. این خاصیت بزرک به دلیل ویژگی تشکیل پیوند با آب و وجود فیبرهای نامحلول است که باعث افزایش حجم فعالیت‌های روده‌ای شده و باعث درمان یبوست و بیماری‌های روده‌ای و شکمی می‌شود. یکی دیگر از ترکیبات بزرک، لیگنان‌ها می‌باشد [۶]. لیگنان‌ها قسمت عمده داروهای رژیم‌ی و گیاهی بوده و از سرطان پروستات، کولون، تیروئید و سینه جلوگیری می‌کنند [۵]. اثر آن در درمان و کنترل سرطان احتمالاً به دلیل تاثیر آلفا-لینولنیک آن بر روی سلول‌های سرطانی است. همچنین مصرف بزرک در کاهش بیماری‌های قلبی-عروقی و نیز کاهش سکنه‌های مغزی نقش دارد [۴]. از ترکیبات مهم دیگر موجود در این گیاه توکوفرول‌ها می‌باشند. توکوفرول‌ها به عنوان ماده ضد اکسایشی عمل کرده و از اکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری می‌کنند، به خصوص در روغن‌هایی که مقدار اسیدهای چرب غیراشباع بالایی داشته باشند [۷].

منتس و همکاران [۸] تاثیر استفاده از پودر بزرک روی کیفیت نان حجیم، بیاتی نان، میزان توکوفرول و اسیدهای چرب غیراشباع نان را مورد مطالعه قرار دادند و گزارش کردند که با افزایش درصد پودر بزرک در محصول، محتوای توکوفرول افزایش یافت. پوهجان هیمو و همکاران [۹] نیز در مطالعه‌ای، تاثیر استفاده از دانه بزرک بر ترکیب نان را مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که نمونه‌های حاوی بزرک، باعث نگهداری بهتر رطوبت و در نتیجه نرمی بافت نسبت به نمونه کنترل شدند، همچنین این نمونه‌ها، محتوای فیبر و اسیدهای چرب غیراشباع بالایی داشتند. استفاده از پودر بزرک در

محصولات غذایی دیگری نیز مطالعه شده است. چن و همکاران [۱۰] طی تحقیقات خود نشان دادند که می‌توان از دانه بزرک به شکل موفقیت‌آمیز برای غنی‌سازی کیک استفاده کرد، بدون این که تغییری در محتوای اسید آلفا-لینولنیک دیده شود.

استفاده از روغن بزرک برای غنی‌سازی نان نشان داد که نان‌های غنی شده با روغن بزرک دارای حجم کمتر و دانسیته بیشتر نسبت به نمونه کنترل بود. به دلیل وجود اسیدهای چرب غیراشباع، در محصول نهایی تندشدگی رخ داده و باعث کاهش ویژگی‌های حسی شد. همچنین رنگ نمونه‌های غنی شده نسبت به نمونه‌های کنترل تیره‌تر گزارش شد [۱۱]. حسین و همکاران [۱۲] از پودر بزرک در فرآورده کوکی استفاده کردند. نتایج آنها نشان داد که تیمارهای حاوی ۲۰ درصد بزرک و کمتر از نظر ویژگی‌های حسی از مقبولیت بیشتری برخوردار بودند. محققان گزارش کردند که کاربرد بزرک در تهیه نوعی نان باعث افزایش کیفیت نمونه‌ها از نظر ویژگی‌های حسی می‌شود [۱۳]. کونفورتی و دیویس [۱۴] در اثر به کارگیری آرد بزرک در نان کاهش حجم نان را گزارش کردند.

شکلات نوعی سیستم کلونیدی است که در آن فاز پیوسته را کره کاکائو و فاز پراکنده را پودر کاکائو و شکر تشکیل می‌دهند. فلاونوئیدهای کاکائو و شکلات ترکیبات حیاتی برای سلامتی انسان بوده و به علت عملکردهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی دارای اثرات مفیدی (به عنوان مثال، اثرات آنتی-اکسیدانی) هستند. این ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی باعث افزایش غلظت اپی‌کاتچین پلاسما می‌شود. سایر اثرات فلاونوئیدهای کاکائو شامل اثر جلوگیری‌کننده بر فعالیت مجدد پلاکت و بهبود عملکرد ایمنی و التهاب و اثرات حفاظتی قلب می‌باشد. همچنین به علت وجود ترکیبات فنیل‌اتیل‌آمین و N-آسیل-اتانول‌آمین در کاکائو و شکلات اثرات شغف‌بخش و شادی‌زایی در آن وجود دارد. با آگاهی مصرف‌کنندگان از اثرات سودمند سلامتی کاکائو و شکلات، استفاده این محصولات روند رو به رشدی را خواهد داشت [۱۵].

اگرچه کاکائو از نظر ترکیبات ضد اکسایشی غنی می‌باشد، ولی در اثر برشته شدن از مقدار این ترکیبات کاسته می‌شود [۱۶]. شکلات به عنوان یکی از پرمصرف‌ترین تغذیه‌ها در رژیم‌های غذایی می‌تواند فرآورده مناسبی برای غنی‌سازی باشد. یک چهارم از مصرف‌کنندگان غربی علاقه‌مند به مصرف شکلاتی

ابتدا مواد اولیه شکلات یعنی خمیر کاکائو، کره کاکائو، پودر کاکائو، شکر، پودر بزرک، وانیلین و لسیتین براساس جدول ۲، با استفاده از یک سیستم دو غلتکی (استیل، شرکت تروسویمای آلمان)، با هم میکس شدند. سپس با استفاده از دستگاه کاهش دهنده اندازه ذرات (ریفاینر غلتکی فایو رول، استیل، شرکت تروسویمای آلمان) عمل کاهش اندازه ذرات (Refining) تا حد ۲۵-۳۰ میکرون صورت گرفت. هدف از انجام این کار، عدم احساس شنی مواد حین خوردن و نیز پخش و پراکندگی کامل تمامی اجزاء سازنده شکلات با یکدیگر جهت ایجاد طعم یکدست و مطلوب بود. عمل ورز دادن شکلات (کانچینگ) توسط دستگاه کانچ در مرحله بعد انجام گرفت تا توده به هم چسبیده شکلات را به یک مایع روان و سیال و یکدست تبدیل کند. مدت زمان این مرحله بین ۲۲-۱۰ ساعت می‌تواند متغیر باشد. کانچینگ فرآیند ضروری برای بهبود ویسکوزیته، بافت و عطر و طعم نهایی در محصول است. معمولاً عمل کانچینگ با ورز دادن (تکان و مالش شدید) شکلات در دمای بالای  $50^{\circ}\text{C}$  به مدت چندین ساعت انجام می‌گیرد. در مراحل اولیه، با حذف برخی ترکیبات فرار نامطلوب نظیر اسید استیک، رطوبت نیز کاهش می‌یابد و متعاقباً برهم‌کنش‌هایی میان فاز پیوسته و پراکنده صورت می‌گیرد. فرآیند کانچینگ به علت اینکه در دماهای بالا صورت می‌گیرد، باعث بهبود عطر و طعم می‌شود و عطر و طعم کاراملی در شکلات ایجاد می‌کند. در مرحله بعد، نمونه‌ها توسط دستگاه تولید کننده هسته پایدار بتا (استیل، solish آلمان) مشروط دمایی<sup>۱</sup> شدند. شکلات در قالب‌های از جنس پلی‌کربنات ریخته شد و در یخچال در دمای  $5^{\circ}\text{C}$  سرد شد. سرانجام، نمونه‌های شکلات پس از قالب‌گیری ابتدا در سلفون‌های OPP بسته‌بندی شد و در ظروف در بسته در

با مزیت حفظ سلامتی می‌باشند [۱۷]. در این پژوهش از پودر بزرک به عنوان ماده افزودنی فراسودمند در تولید شکلات با هدف افزایش اثرات سلامتی‌بخش محصول استفاده و سپس اثر افزودن آن با درصدهای مختلف بر مقدار ترکیبات فعال زیستی (توکوفرول‌ها) و ویژگی‌های حسی در طول مدت نگهداری در مقایسه با تیمار کنترل مورد بررسی قرار گرفت.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد

مواد اولیه عبارت بودند از خمیر کاکائو (ماده اولیه تولید شکلات که از آسیاب دانه کاکائو به دست می‌آید و حاوی چربی کاکائو و ترکیبات سلولزی دانه است که پودر کاکائو را تشکیل می‌دهند) (نام تجاری آلتین مارکای ترکیه)، پودر کاکائو (نام تجاری آلتین مارکای ترکیه)، کره کاکائو (نام تجاری آلتین مارکای ترکیه)، ساکارز (شرکت قند پیرانشهر)، وانیلین (نام تجاری خرس قطبی از شانگهای چین)، لسیتین (ADM آمریکا) و دانه بزرک (بازار داخلی).

### ۲-۲- تهیه پودر بزرک

دانه‌های بزرک از بازار محلی خریداری شدند. از مواد زائد پاک شده، پس از برشته کردن در دمای  $90^{\circ}\text{C}$  به مدت ۴۵ دقیقه در آسیاب آزمایشگاهی کن‌وود LTD (انگلیس) آسیاب گردید. سپس دانه‌های بزرک توسط الک با منافذ حداکثر ۳۰ مش الک شد. آنالیز ترکیبات شیمیایی بزرک انجام شد (جدول ۱) و پودر بزرک در کیسه‌های پلاستیکی تا زمان اختلاط با شکلات در یخچال نگهداری گردید.

**Table 1** The chemical analysis of flaxseed powder

Ingredients	Quantity
Moisture (%)	5.53±0.006
Water activity	0.64±0.007
Ash (%)	3.23±0.008
Fat (%)	32.3±0.17
Palmitic acid	6.4±0.21
Stearic acid	2.5±0.22
Oleic acid	18.9±0.05
Linoleic acid	15.2±0.11
Linolenic acid	53.2±0.13
Peroxide value (meq/kg)	1.9±0.04
Acid index (mgKOH/g)	2.9±0.09

### ۲-۳- تهیه نمونه‌های شکلات

۱ روش طبیعی به دست آوردن حالت کریستالی پایدار عبارت است از حرارت دادن شکلات تا  $45^{\circ}\text{C}$  (جهت ذوب کردن تمامی کریستال‌ها) و سپس سرد کردن تا دمای زیر  $28^{\circ}\text{C}$  همراه با هم زدن. این عمل باعث تشکیل دو شکل کریستالی می‌شود. پس از آن مجدداً حرارت دادن و هم زدن تا دمای  $29-30^{\circ}\text{C}$  برای شکلات‌های شیری و سفید و  $30-31^{\circ}\text{C}$  برای شکلات‌های تیره صورت می‌گیرد. این عمل باعث ذوب کلیه کریستال‌های ناپایدار و تولید توده سیالی می‌گردد که باید ویسکوزیته خاصی داشته باشد و زیر نقطه ذوب کریستال‌های پایدار کره کاکائو باشد.

دمای  $15^{\circ}\text{C}$  تا زمان انجام آزمایش نگهداری شدند [۱۸]. در این پژوهش چهار تیمار شکلات حاوی بزرک با درصدهای مختلف (جدول ۲) همراه با نمونه کنترل تولید شدند.

**Table 2** Formulations used for the chocolate samples

Treatment	Sugar (%)	Cocoa Butter (%)	Cocoa Powder (%)	(%) Liquor	Lecithin (%)	Vanillin (%)	Flaxseed (%)
Control	57.50	22	12	8	0.40	0.10	0
F <sub>1</sub>	54.61	20.90	11.41	7.61	0.38	0.09	5
F <sub>2</sub>	51.71	19.81	10.82	7.21	0.36	0.09	10
F <sub>3</sub>	48.83	18.72	10.22	6.81	0.36	0.08	15
F <sub>4</sub>	46	17.60	9.60	6.40	0.32	0.08	20

Control: sample without flaxseed powder, F<sub>1</sub>: sample containing 5% flaxseed powder, F<sub>2</sub>: sample containing 10% flaxseed powder, F<sub>3</sub>: sample containing 15% flaxseed powder, F<sub>4</sub>: sample containing 20% flaxseed powder.

شمارش سالمونلا طبق استاندارد ملی به شماره ۱۸۱۰، انجام شد و حدود قابل قبول آن در ۲۵ گرم نمونه باید منفی باشد [۲۱]. شمارش اشرشیاکلی طبق استاندارد ملی به شماره ۲۹۴۶، انجام گردید و حدود قابل قبول آن منفی باید باشد [۲۲]. شمارش استافیلوکوکوس های کواگولاز مثبت، طبق استاندارد ملی به شماره ۳-۶۸۰۶، صورت گرفت و حدود قابل قبول آن منفی باید باشد [۲۳]. شمارش انتروباکتریاسه طبق استاندارد ملی به شماره ۱-۲۴۶۱، انجام گردید و حدود قابل قبول آن حداکثر ۱۰ می باشد [۲۴]. شمارش کپک و مخمر با استفاده از محیط کشت YGC آگار، طبق استاندارد ملی به شماره ۳-۱۰۸۹۹، انجام شد و حدود قابل قبول آن حداکثر ۱۰۰ می باشد [۲۵].

#### ۷-۲- ارزیابی ویژگی‌های حسی

ارزیابی ویژگی‌های حسی شامل خواص ظاهری (رنگ شکلات، وجود شکوفه چربی و براقیت)، خواص بافتی (همگنی و یکنواختی، ترد و شکننده بودن و احساس دهانی) و خواص عطر و طعمی (طعم و بو) بودند. شکلات حاوی پودر بزرک با استفاده از ۱۴ ارزیاب حسی آموزش دیده در روزهای ۱، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۷۵ و ۹۰ پس از تولید انجام شد و به روش هدونیک پنج نقطه‌ای بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۶۰۸ انجام گرفت [۲۶].

#### ۸-۲- تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. تیمارهای مورد بررسی شامل افزودن بزرک در پنج سطح صفر، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد بود. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده

#### ۲-۴- اندازه‌گیری مقدار توکوفرول با کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

اندازه‌گیری مقدار توکوفرول در نمونه‌های روغن با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) ساخت شرکت KNAUER آلمان انجام شد. به این منظور ستون ۵- LICHROSORB SI ۶۰ با ابعاد  $250\text{mm} \times 4/6\text{mm}$  و اندازه ذرات ۵ میکرومتر، پمپ ۱۰۰۰ KNAUER و آشکارگر فلورسنس RF-۵۵۱ KNAUER مورد استفاده قرار گرفت. فاز متحرک ترکیبی از n- هگزان: ایزوپروپانول (۶:۹۴) انتخاب شده [۱۹] و مورد استفاده قرار گرفت. سرعت جریان فاز متحرک ۰/۵ ml/min بود. استانداردهای مصرفی آلفا، بتا، گاما و دلتا توکوفرول خالص بودند. بر اساس زمان ماندن  $\alpha$ - توکوفرول و نیز کروماتوگرام حاصل از نمونه‌های روغن، ترکیبات مختلف توکوفرول در نمونه‌ها مشخص گردید [۱۹].

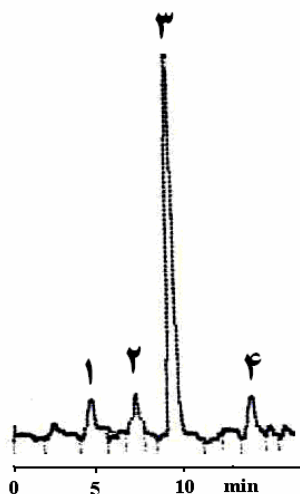
#### ۲-۵- عدد پروکسید

عدد پروکسید با استفاده از روش استاندارد AOAC<sup>۲</sup> [۲۰] اندازه‌گیری گردید.

#### ۲-۶- آزمون‌های میکروبی

<sup>2</sup> Association of Official Analytical Chemists

توکوفرول می‌باشد. بنابراین، با افزودن پودر بزرک و همچنین افزایش درصد بزرک در فرمولاسیون نمونه‌های شکلات، محتوای گاما توکوفرول‌ها افزایش می‌یابد (شکل ۲).



**Fig 2** An example of a HPLC chromatogram of flaxseed tocopherols

1: alpha-tocopherol (7.5 ppm), 2: beta-tocopherol (5 ppm), 3: gamma-tocopherol (480 ppm) and 4: delta-tocopherol (5 ppm).

طبق مطالعات انجام یافته مقدار متوسط توکوفرول در روغن ۸ گونه از گیاه بزرک ۳۹۵-۵۰۰ ppm است، طوری که محتوای توکوفرول به گونه زراعی و شرایط محیطی بستگی دارد [۷]. در پژوهش پیغمبردوست و همکاران [۳] در اثر افزودن پودر بزرک به آرد گندم، مقدار توکوفرول با افزایش درصد پودر بزرک در نمونه‌ها افزایش یافت. در طی فرآیند پخت از مقدار توکوفرول‌ها به دلیل مصرف آنها برای محافظت از اسیدهای چرب غیراشباع به طور معنی‌دار کاسته شد.

منتس و همکاران [۸] در پژوهشی با افزودن پودر بزرک به نان در سطوح ۵، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درصد مشاهده کردند که مقدار گاما توکوفرول در تیمارها به ترتیب برابر ۰/۲۳، ۰/۲۲، ۰/۲۳ و ۰/۲۴ درصد بود و این افزایش با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت داشت.

محققان تغییرات ویتامین E در شکلات تیره را با افزودن کوینوا<sup>۳</sup> (نوعی گیاه که سرخپوستان آمریکای جنوبی دانه آن را مصرف می‌کنند) در سطوح ۱۲، ۱۶ و ۲۰ درصد مورد مطالعه قرار دادند. کوینوا منبع مناسبی برای توکوفرول بوده و سرشار

<sup>3</sup> Quinoa

از نرم‌افزار SPSS۱۶ (IBM Inc, Chicago, USA) رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار EXCEL انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزار SPSS با کمک آزمون دانکن در سطح  $\alpha=0/05$  انجام گرفت.

### ۳- نتایج و بحث

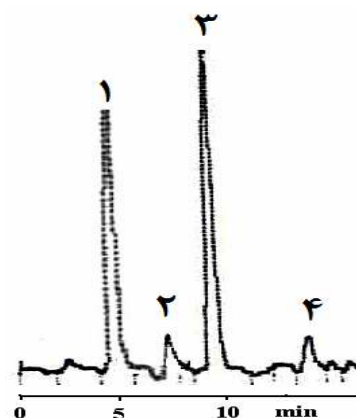
#### ۳-۱- توکوفرول‌ها

با افزودن پودر بزرک میانگین محتوای گاما توکوفرول تیمارها افزایش یافت (جدول ۳). نتایج آنالیز آماری نشان داد که بین نمونه‌های شکلات اختلاف معنی‌داری وجود داشت. با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها، مقدار گاما توکوفرول در نمونه شکلات کنترل، ۱۷/۱ ppm بود، در حالی که در اثر افزودن بزرک به مقدار ۲۰ درصد، محتوای توکوفرول، ۲۱/۴۹ ppm افزایش پیدا کرد و به مقدار ۳۸/۵۷ ppm رسید (شکل ۱).

**Table 3** Gamma and alfa Tocopherol changes of chocolate samples

Treatment	gamma Tocopherol (ppm)	alfa tocopherol (ppm)
Control	17.08 <sup>e</sup>	50 <sup>a</sup>
F <sub>1</sub>	22.55 <sup>d</sup>	49 <sup>a</sup>
F <sub>2</sub>	24.76 <sup>c</sup>	45 <sup>b</sup>
F <sub>3</sub>	30 <sup>b</sup>	40 <sup>c</sup>
F <sub>4</sub>	38.57 <sup>a</sup>	38 <sup>d</sup>

Lowercase letters indicate significant differences ( $P<0.05$ ) among the samples



**Fig 1** An example of a HPLC chromatogram of chocolate tocopherols enriched with 20% of flaxseed

1: alpha-tocopherol, 2: beta-tocopherol, 3: gamma-tocopherol and 4: delta-tocopherol

دانه‌های بزرک منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی نظیر گاما توکوفرول‌ها هستند. کره کاکائو موجود در شکلات دارای آلفا

که بین تیمارها اختلاف معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) وجود دارد. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین مقدار عدد پروکسید ( $1/875 \text{ meq/Kg}$ ) متعلق به نمونه با ۲۰ درصد بزرک در پایان روز ۹۰ و کمترین مقدار ( $0/5 \text{ meq/Kg}$ ) متعلق به نمونه کنترل بود (جدول ۴). با توجه به اینکه بزرک حاوی اسیدهای چرب ضروری (چند غیر اشباعی) می‌باشد و از آنجایی که اسیدهای چرب با پیوندهای دوگانه مستعد اکسیداسیون هستند، در نتیجه در اثر اکسیداسیون، پروکسید یا اکسیژن فعال در نمونه‌ها تولید شده و عدد پروکسید افزایش می‌یابد. پروکسید همه نمونه‌ها تا پایان زمان نگهداری در محدوده قابل قبول بود.

از پروتئین می‌باشد. نتایج پژوهش نشان داد که در نمونه‌های شکلات حاوی ۲۰ درصد کوینوا، محتوای توکوفرول ۹ درصد افزایش یافت. محتوای ویتامین E در شکلات تیره  $mg/100g$   $3/1 \pm 0/6$  و در شکلات حاوی کوینوا این مقدار به  $mg/100g$   $3/5 \pm 0/1$  (۹ درصد) افزایش یافت. ۱۰۰ گرم دانه کوینوا حاوی  $5/3$  میلی‌گرم آلفا-توکوفرول و  $2/6$  میلی-گرم گاما-توکوفرول می‌باشد. بنابراین، روغن کوینوا حاوی مقادیر بالایی ویتامین E بوده و در نتیجه مانع از اکسیداسیون چربی در نمونه‌ها می‌شود [۲۷].

### ۲-۳- تغییرات عدد پروکسید

با افزایش مقدار پودر بزرک، عدد پروکسید نمونه‌های شکلات افزایش یافت (جدول ۴). همچنین نتایج آنالیز آماری نشان داد

**Table 4** Changes of peroxide value (meq/Kg) of chocolate samples during 3 months storage

Treatment	Production day	Day 15	Day 30	Day 45	Day 60	Day 75	Day 90
Control	0.448 <sup>Bd</sup>	0.473 <sup>Cd</sup>	0.473 <sup>Ce</sup>	0.498 <sup>Ce</sup>	0.546 <sup>Bc</sup>	0.574 <sup>Bd</sup>	0.648 <sup>Ae</sup>
F <sub>1</sub>	0.618 <sup>Cc</sup>	0.624 <sup>Cc</sup>	0.648 <sup>BCd</sup>	0.674 <sup>Bd</sup>	0.698 <sup>Bd</sup>	0.648 <sup>Bc</sup>	0.924 <sup>Ad</sup>
F <sub>2</sub>	0.873 <sup>Bb</sup>	0.935 <sup>Bb</sup>	1.025 <sup>ABc</sup>	1.14 <sup>Ac</sup>	1.224 <sup>Ac</sup>	1.324 <sup>Ab</sup>	1.374 <sup>Ac</sup>
F <sub>3</sub>	0.983 <sup>Cb</sup>	1.075 <sup>Bb</sup>	1.19 <sup>Bb</sup>	1.35 <sup>Ab</sup>	1.49 <sup>Ab</sup>	1.492 <sup>Ab</sup>	1.64 <sup>Ab</sup>
F <sub>4</sub>	1.373 <sup>Ba</sup>	1.473 <sup>Ba</sup>	1.519 <sup>Ba</sup>	1.622 <sup>Aa</sup>	1.651 <sup>Aa</sup>	1.751 <sup>Aa</sup>	1.875 <sup>Aa</sup>

a-d: Lowercase letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) among the samples and capital letters (A-C) indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) during storage

عدد پروکسید به طور معنی‌دار در طی فرآیند پخت افزایش یافت. تاثیر مستقیم حرارت پخت می‌تواند باعث افزایش عدد پروکسید شود.

### ۳-۳- ویژگی‌های میکروبی

نتایج حاصل از آزمون میکروبی در نمونه‌های شکلات در طول مدت زمان نگهداری نشان داد که بار میکروبی اتروباکتریاسه، اشرشیاکلی، سالمونلا (در ۲۵ گرم نمونه)، استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت، کپک و مخمر در محدوده قابل قبول قرار داشتند. در مدت زمان ۹۰ روز نگهداری، در تمام نمونه‌های شکلات، شمارش کپک و مخمرها بسیار نزدیک به هم و اندک بوده و تغییرات معنی‌داری مشاهده نگردید. بیشترین شمارش مخمر مربوط به نمونه شکلات حاوی ۲۰ درصد پودر بزرک - در پایان روز ۹۰ نگهداری بود (جدول ۵). علت افزایش شمارش مخمر در برخی از نمونه‌های شکلات حاوی پودر بزرک طی ۹۰ روز نگهداری، احتمالاً در نتیجه وجود آلودگی ثانویه ناشی از دستگاه‌ها و ظروف بود. شمارش کپک در طی نگهداری در هیچ کدام از نمونه‌ها افزایش نشان نداد.

در پژوهش یاغچی و همکاران [۲۸]، پودر بزرک به دوشاب در سطوح صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد افزوده شد و نتایج نشان داد که مقدار پروکسید به طور معنی‌داری افزایش یافت. طوری‌که کمترین مقدار پروکسید مربوط به محصول با ۵ درصد بزرک و در ابتدای تولید بود و بیشترین مقدار مربوط به محصول با ۱۵ درصد بزرک و در ماه سوم نگهداری بود. این افزایش احتمالاً به دلیل افزایش در غلظت بزرک مورد استفاده بود. مقدار پروکسید با مقدار اسیدهای چرب آزاد ارتباط مستقیم دارد. نتایج پژوهش رندون-ویلالوبوس و همکاران [۲۹] نشان می‌دهد که افزایش تدریجی در مقدار پروکسید با افزایش درصد بزرک اضافه شده به ترتیلا دیده می‌شود.

در پژوهش پیغمبردوست و همکاران [۳]، اثرات افزودن پودر بزرک در مقادیر صفر (کنترل)، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد به نان روغنی نیمه حجیم بررسی گردید. عدد پروکسید روغن استخراج شده از نان و همچنین تغییرات آنها در برابر حرارت پخت بررسی شد. نتایج نشان داد که عدد پروکسید نمونه‌های مختلف با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ( $P > 0.05$ ) نداشتند. ولی

**Table 5** Enumeration of microorganisms during storage time

	Storage	Control	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub>	F <sub>4</sub>
Mold count	Day 1	<10	<10	<10	<10	<10
	Day 30	<10	<10	<10	<10	<10
	Day 60	<10	<10	<10	<10	<10
	Day 90	<10	<10	<10	<10	<10
Yeast count	Day 1	<10	<10	<10	<10	10
	Day 30	<10	<10	<10	10	10
	Day 60	<10	10	10	20	20
	Day 90	10	10	10	30	30

## ۳-۴- ارزیابی حسی

## ۳-۴-۱- خواص ظاهری

از نظر ویژگی رنگ، تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند ( $P < 0.05$ ) (جدول ۶). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در بین نمونه‌ها، بیشترین امتیاز رنگ (۴/۳۶) مربوط به نمونه کنترل در روز اول تولید بود. همچنین کمترین امتیاز رنگ به نمونه حاوی ۱۰ درصد بزرک تعلق داشت. اگر شکلات سطح صافی داشته باشد، رنگ روشن‌تری خواهد داشت. میزان روشنایی به اندازه ذرات، میزان چربی و لسیتین شکلات نیز بستگی دارد [۳۰]. در پژوهش حاضر با افزایش محتوای پودر بزرک، پودر کاکائو و لسیتین مورد استفاده بسته به فرمولاسیون، میزان روشنایی کاهش یافت. با کاهش درصد پودر کاکائو و لسیتین در فرمولاسیون شکلات، میزان روشنایی نمونه‌ها افزایش یافت و در نتیجه نمونه‌ها از مقبولیت بالایی برخوردار شدند. از طرف دیگر با افزایش محتوای پودر بزرک به علت درصد بالای ترکیبات و همچنین افزایش درصد فیبر روشنایی نمونه‌ها کاهش یافتند.

نتایج آنالیز آماری نشان داد که کمترین شکوفه چربی در نمونه‌های کنترل در روز اول تولید مشاهده گردید. با افزایش

محتوای بزرک و زمان نگهداری در فرمولاسیون، شکوفه چربی افزایش یافت، به طوری که در نمونه شکلات حاوی ۲۰ درصد بزرک، میانگین امتیاز شکوفه چربی نسبت به نمونه کنترل ۰/۶۲ واحد افزایش یافت که نشان از افزایش بلومینگ (شکوفه‌زنی) در شکلات می‌باشد (جدول ۶). این پدیده به علت عدم سازگاری چربی‌های غیرکاکائوی بزرک با کره کاکائو می‌باشد. تری‌گلیسیریدهای بزرک متفاوت از تری‌گلیسیریدهای کره کاکائو است. کره کاکائو پلی‌مورف بوده ولی بزرک فاقد ساختار پلی‌مورف می‌باشد و سریعاً ساختار تری‌گلیسیریدی کره کاکائو را به هم می‌زند (امتزاج ناهمگون چربی‌ها). در نتیجه با افزایش محتوای چربی، احتمال جدا شدن فاز چربی افزایش می‌یابد [۳۱].

از نظر ویژگی براقیت، آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که بیشترین امتیاز مربوط به نمونه کنترل (۴/۳۴) بود. با افزایش محتوای بزرک در نمونه‌های شکلات، براقیت نمونه‌ها کاهش یافت. به طوری که در نمونه‌های حاوی ۲۰ درصد بزرک میانگین امتیاز براقیت ۴/۱۷ بود که نسبت به نمونه کنترل ۰/۱۷ واحد کاهش یافت (جدول ۶) و لذا پیشنهاد می‌گردد که کمترین مقدار بزرک در تولید شکلات استفاده شود.

**Table 6** Effect of flaxseed concentration on sensory attributes of formulated chocolates

Treatment	Color	Fat bloom	Lightness	Uniformity	Brittleness	Mouth-feel	Taste	Overall acceptance
Control	4.29 <sup>a*</sup>	1.17 <sup>e</sup>	4.34 <sup>a</sup>	3.95 <sup>a</sup>	4.16 <sup>a</sup>	1.01 <sup>c</sup>	3.91 <sup>a</sup>	3.26 <sup>a</sup>
F <sub>1</sub>	4.12 <sup>b</sup>	1.53 <sup>d</sup>	4.34 <sup>a</sup>	3.74 <sup>b</sup>	4.13 <sup>b</sup>	1.00 <sup>c</sup>	3.42 <sup>b</sup>	3.18 <sup>b</sup>
F <sub>2</sub>	4.00 <sup>d</sup>	1.67 <sup>b</sup>	4.25 <sup>b</sup>	3.77 <sup>b</sup>	4.12 <sup>c</sup>	1.01 <sup>c</sup>	3.32 <sup>c</sup>	3.16 <sup>b</sup>
F <sub>3</sub>	4.10 <sup>c</sup>	1.60 <sup>c</sup>	4.26 <sup>b</sup>	3.07 <sup>c</sup>	4.05 <sup>d</sup>	1.35 <sup>a</sup>	2.73 <sup>d</sup>	3.00 <sup>c</sup>
F <sub>4</sub>	4.12 <sup>b</sup>	1.79 <sup>a</sup>	4.17 <sup>c</sup>	2.52 <sup>d</sup>	3.64 <sup>e</sup>	1.51 <sup>b</sup>	1.50 <sup>e</sup>	2.75 <sup>d</sup>

Lowercase letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) among the samples

\*: %CV < 10

## ۳-۴-۲- خواص بافتی (یکنواختی و تردی)

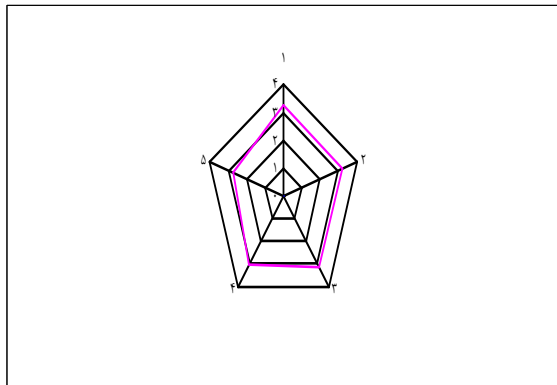
در ارتباط با صفت یکنواختی بافت، نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند ( $P < 0.05$ ) (جدول ۶). همچنین

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در بین نمونه‌ها بیشترین امتیاز مربوط به نمونه کنترل بود. نمونه با ۱۰ درصد بزرک در پایان روز ۷۵ نگهداری بیشترین یکنواختی بافت و نمونه با ۲۰

## ۳-۴-۴- نمره نهایی

نتایج آنالیزهای آماری نشان داد که نوع تیمار می‌تواند اثر معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) روی ویژگی‌های حسی شکلات داشته باشد. با توجه به مندرجات جدول ۶، شکلات تولید شده با ۵ و ۱۰ درصد بزرک به دلیل داشتن طعم مطلوب، یکنواختی زیاد، براقیت و رنگ مناسب و نزدیک بودن به نمونه کنترل از پذیرش بیشتری برخوردار بود و تیمار ۲۰ درصد به دلیل داشتن شکوفه چربی بیشتر و براقیت، یکنواختی، تردی کم و طعم نامناسب از پذیرش کم و تیمار ۱۵ درصد از پذیرش نسبی برخوردار بودند (شکل ۳).

مقادیر بالای روغن بزرک سبب تشدید اکسیداسیون، کاهش طعم، افزایش طعم اکسیده و بوی بد و پذیرش کلی پایین نمونه‌های ۲۰ درصد خواهد شد. نمونه کنترل نسبت به نمونه‌های ۵ و ۱۰ درصد بزرک هرچند محتوای گاما توکوفرول کمتر دارد، اما به دلیل اکسیداسیون کمتر، دارای پذیرش بهتری از سوی مصرف‌کنندگان می‌باشد.



**Fig 3** The overall acceptance of treatments Numbers on the vertices of the pentagon represents treatments (1: sample without flaxseed powder, 2: sample containing 5% flaxseed powder, 3: sample containing 10% flaxseed powder, 4: sample containing 15% flaxseed powder, 5: sample containing 20% flaxseed powder) and numbers inside the pentagon represents scores.

در پژوهش شیوماکر و همکاران [۲۷] شکلات غنی شده توسط کوینوا (۱۲، ۱۶ و ۲۰٪) توسط ۹۲ درصد ارزیاب‌های حسی مورد پذیرش قرار گرفت. تفاوت معنی‌داری در ترجیح مصرف‌کنندگان در نمونه‌های شکلات با درصدهای مختلف کوینوا، مشاهده نگردید. تمامی فرمولاسیون‌ها پذیرش بالای ۷۰ درصد را نشان دادند [۲۷].

درصد در روز ۹۰ نگهداری کمترین یکنواختی بافت را دارا بودند. بنابراین، افزودن بزرک در کاهش یکنواختی بافت شکلات تاثیر می‌گذارد و استفاده از درصدهای پایین پودر بزرک بر یکنواختی بافت شکلات تاثیری نخواهد داشت.

اندازه ذرات شکلات که از بالمیل یا فایو رول خارج می‌شوند، بایستی کمتر از ۴۰ میکرون باشد تا مانع از ایجاد حالت شنی در دهان گردد، به این حالت یکنواختی بافت می‌گویند [۳۱]. تیمارهای شکلات حاوی ۱۵ و ۲۰ درصد پودر بزرک به علت درصد بالای ترکیبات از یکنواختی کمتر بافت نسبت به نمونه‌های ۱۰ درصد و کنترل دارا بودند. همچنین در درصدهای بالای پودر بزرک، کیفیت بافت به علت رطوبت و فیبر بالا کاهش یافته و لذا نیروی کمتری برای شکستن شکلات لازم می‌باشد، زیرا پودر بزرک حاوی مقادیر بالایی فیبر و ترکیبات موسیلاژی می‌باشد و فیبر عامل افزایش نگهداری آب در شکلات است. با افزایش فیبر، ماده خشک شکلات افزایش پیدا می‌کند و قابلیت نگهداری رطوبت افزایش می‌یابد.

در ارتباط با صفت تردی و شکنندگی، نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند ( $P < 0/05$ ) (جدول ۶). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در بین نمونه‌ها بیشترین امتیاز مربوط به نمونه کنترل بود. سپس نمونه با ۵ درصد بزرک در پایان روز ۹۰ نگهداری، بیشترین تردی و شکنندگی و نمونه با ۲۰ درصد بزرک در روز ۷۵ نگهداری کمترین تردی و شکنندگی را داشتند. از نظر ویژگی ماسیدگی در دهان، تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند.

## ۳-۴-۳- خواص عطر و طعم

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که نمونه‌ها از نظر عطر و طعم اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند ( $P < 0/05$ ). در بین نمونه‌ها بیشترین امتیاز عطر و طعم مربوط به نمونه کنترل بود (جدول ۶). نمونه با ۵ درصد بزرک در پایان روز ۶۰ نگهداری بیشترین عطر و طعم شکلات و نمونه با ۲۰ درصد در روز ۴۵ نگهداری کمترین عطر و طعم را به ترتیب دارا بودند. توکوفرول‌ها ترکیباتی محلول در چربی می‌باشند، از آنجایی که ترکیب اصلی آرومایی شکلات نیز از نوع محلول در چربی است، بنابراین با افزایش توکوفرول در تیمارهای شکلات امتیاز عطر و طعم افزایش می‌یابد [۳۱].



عصاره تغلیظ شده، کمترین پذیرش حسی را به خود اختصاص دادند. بو و رایحه شکلات‌های غنی شده تحت تاثیر عصاره قرار نگرفتند. تمامی نمونه‌های شکلات (شیری، نیمه شیرین و تیره) حاوی عصاره خشک شده به روش انجمادی از نقطه نظر احساس دهانی مشابه نمونه کنترل بودند [۳۳].

#### ۴- نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که افزودن پودر بزرک به نمونه‌های شکلات، در مدت زمان نگهداری ۹۰ روز اثر معنی‌داری بر بار میکروبی *انتروباکتریاسه*، *اشرشیاکلی*، *سالمونلا*، *استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت*، کپک و مخمر نداشت و شمارش میکروارگانیزم‌ها در محدوده قابل قبول قرار داشتند. همچنین تحلیل خواص حسی نمونه‌ها از لحاظ رنگ، عطر و طعم، براقیت و بافت محصول نشان داد که در بین نمونه‌های شکلات حاوی پودر بزرک بیشترین مقبولیت در سطح ۵ و ۱۰ درصد و کمترین مقبولیت مربوط به سطح ۲۰ درصد بود. نتایج بدست آمده بیانگر این است که دانه بزرک به دلیل اینکه منبع غنی از ترکیبات فعال زیستی از جمله انواع توکوفرول می‌باشد، می‌تواند به عنوان یک افزودنی و مکمل غذایی مورد استفاده قرار گیرد و با استناد به نتایج پژوهش می‌توان شکلات غنی شده با پودر بزرک را به عنوان یک محصول جدید فراسودمند معرفی نمود.

#### ۵- منابع

- [1] Hilliam M. 2000b. Functional food—How big is the market? *The World of Food Ingredients*, 12: 50–52.
- [2] Ottaway P. B. 2008. *Food Fortification and Supplementation, Technological, Safety and regulatory aspects*. Woodhead Publishing in Food Science, Technology and Nutrition.
- [3] Peighambardoust S. H, Azadmard-Damirchi S, Fathnejhad Kazemi R, Nemati M. Rafat S. A. 2013. Application of flaxseed in breadmaking: effect on chemical characteristics, fat composition of flour and bread, and sensory quality of enriched semi-flat bread. *Journal of Food Research*, 23(2): 281-292.
- [4] Hall C, Tulbek M. C, Xu Y. 2006. Flax seed. *Advances in Food and Nutrition Research*, 51: 1-97.
- [5] Dabrosin C, Chen J, Wang L, Thompson L. 2002. Flaxseed inhibits metastasis and

محققان اثرات ترکیبات ضد اکسایشی قهوه سبز و برشته شده را بر ویژگی‌های حسی نمونه‌های شکلات مطالعه کردند. بدین منظور دو ترکیب عصاره‌ای با فعالیت ضد اکسایشی بالا از قهوه برشته شده و سبز مورد استفاده قرار گرفت. عصاره‌ها در مقادیر ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد به شکلات افزوده شدند. نتایج نشان داد که عطر و طعم نامطلوب در شکلات حاوی عصاره قهوه سبز در مقادیر ۱ درصد مشاهده نگردید، در حالی که در نمونه‌های شکلات تهیه شده توسط عصاره قهوه برشته شده عطر و طعم ملایم قهوه مشهود بود. هرچند که مورد پسند ارزیاب‌های حسی قرار گرفت. قسمت مرکزی نمونه‌های شکلات حاوی عصاره‌ها، کمی ترد و شکننده بود و از میزان چسبندگی و ویژگی روغنی شکلات‌ها کاسته شد. بنابراین، ویژگی‌های حسی نمونه‌های شکلات حاوی ۱ درصد عصاره قهوه که به مدت ۱۲ هفته نگهداری شده بودند، مورد پذیرش بالایی قرار گرفتند [۳۲].

افزودن عصاره‌های قهوه منجر به افزایش سختی و چسبندگی نمونه‌های شکلات تازه تهیه شده و نگهداری شده گردید. افزایش خاصیت چسبندگی در نمونه‌های شکلات طی نگهداری منجر به بهبود بافت شد. این اثر احتمالاً در نتیجه خاصیت جذب رطوبت عصاره‌ها بود که رطوبت موجود در مرکز شکلات را باند کرده و در نتیجه باعث کاهش فعالیت آبی نمونه‌ها پس از نگهداری ۱۲ هفته‌ای در مقایسه با نمونه کنترل می‌شود. کاهش فعالیت آبی می‌تواند کریستالیزاسیون مجدد ساکارز را در محصول کاهش دهد، زیرا کریستالیزاسیون مجدد باعث افزایش تردی و احساس دهانی شنی شده و منجر به زوال ویژگی‌های حسی شکلات می‌شود [۳۲].

در پژوهشی نمونه‌های شکلات توسط پلی‌فنل‌های گونه‌ای از گیاه تمشک قرمز (*Rubus idaeus L.*) غنی‌سازی شده و ویژگی‌های حسی مورد مطالعه قرار گرفتند. بدین منظور، از عصاره‌های تغلیظ شده گیاه در مقادیر ۱ و ۳ درصد و نمونه‌های خشک شده به روش انجمادی در مقادیر ۱ درصد استفاده نمودند. نتایج پژوهش نشان داد که ویژگی‌های ظاهری و بافت نمونه‌های خشک شده به روش انجمادی و کنترل در شکلات مسطح تفاوت معنی‌داری نداشتند، در حالی که نمونه‌های شکلات حاوی ۱ و ۳ درصد از عصاره تغلیظ شده گیاه، ویژگی‌های براقیت، سطح، شکستن و ذوب را تحت تاثیر قرار داد. نمونه شکلات‌های نیمه شیرین و تیره حاوی ۳ درصد

- Tennessee, Knoxville, M.S. Trace: Tennessee Research and Creative.
- [17] Eyre C. 2008. Functional chocolate creeps up on main steam, UPL.
- [18] Beckett S. T. 2000. The Science of Chocolate. London: Royal Society of Chemistry Paperbacks.
- [19] Fathi-Achachlouei B, Azadmard damirchi S. 2009. Milk thistle seed oil constituents from different varieties in Iran. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 86: 643-649.
- [20] AOAC. 2005. Official Method of Sampling and Analysis of Commercial Fats and Oils.
- [21] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2002. Microbiology of food and animal feeding stuffs- Horizontal method for the detection of salmonella. ISIRI no 1810. 3rd Edition, Karaj: ISIRI.
- [22] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2005. Microbiology of food and animal feeding stuffs -Detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli* - Most probable number. ISIRI no 2946. 2nd Revision, Karaj: ISIRI.
- [23] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2006. Microbiology of food and animal feeding stuffs- Horizontal method for the enumeration of positive *Staphylococci* -coagulase (*Staphylococcus aureus* and other species) Part 3 Detection and MPN technique for low numbers. ISIRI no 6806-3. 1st Edition, Karaj: ISIRI.
- [24] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2007. Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* - Part 1: Detection and enumeration by MPN technique with per-enrichment. ISIRI no 2461-1. 1st Revision, Karaj: ISIRI.
- [25] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2013. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Enumeration of Yeast and mould-Colony count techni in products with water activity Less than or equal to 0.6. ISIRI no 143. 3rd revision, Karaj: ISIRI no 10899-3. 1st Edition, Karaj.
- [26] Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Chocolate 2010. Specification and test methods. ISIRI no 608. 6th Edition, Karaj: ISIRI.
- [27] Schumacher A. B, Brandelli A, Macedo F. C, Pieta L, Klug T. V, de Jong E. V. 2010. Chemical and sensory evaluation of dark xenografts. *Cancer Letters*, 185: 31-37.
- [6] Williams D, Verghese M, Walker L. T, Boateng J, Shackelford L, Chawan C. B. 2007. Flax seed oil and flax seed meal reduce the formation of aberrant crypt foci (ACF) in azoxymethane-induced colon cancer in Fisher 344 male rats. *Food and Chemical Toxicology*, 45: 153-159.
- [7] Oomah B. D, Kenaschuk E. O, Mazza G. 1997. Tocopherols in Flaxseed. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(6): 2076-80.
- [8] Menten O, Bakkalbai E, Ercan R. 2009. Effect of the use of ground flaxseed on quality and chemical composition of bread. *Food Science and Technology International*, 14(4): 299-306.
- [9] Pohjanheimo T. A, Hakala M. A, Tahvonon R. L, Salminen S. J, Kallio H. P. 2006. Flaxseed in breadmaking: Effects on sensory quality, aging, and composition of bakery products. *Journal of Food Science*, 71:S343-S348.
- [10] Chen Z. Y, Ratnayake W. M. N, Cunnane S. C. 1994. Oxidative stability of flaxseed lipids during baking. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 7:629-632.
- [11] Saldivar S. O, Zorrilla R, De La Parra C, Stagnitti G, Abril R. 2006. Effect of DHA containing oils and powders on baking performance and quality of white pan bread. *Plant Foods for Human Nutrition*, 61(3): 121-9.
- [12] Hussain S, Anjum F. M, Butt M. S, Khan M. I, Asghar A. 2006. Physical and sensory attributes of flaxseed flour supplemented cookies. *Turkish Journal of Biology*, 30: 87-92.
- [13] Alpaslan M, Hayta M. 2006. The effects of flaxseed, soy and corn flours on the textural and sensory properties of a bakery product. *Journal of Food Quality*, 29: 617-27.
- [14] Conforti F. D, Davis S. F. 2006. The effect of soya flour and flaxseed as a partial replacement for bread flour in yeast bread. *International Journal of Food Science and Technology*, 41: 95-101.
- [15] Paoletti R, Poli A, Conti A, Visioli F. 2012. *Chocolate and Health*. Springer-Verlag Italia.
- [16] Harrington W. L. 2011. The Effects of Roasting Time and Temperature on the Antioxidant Capacity of Cocoa Beans from Dominican Republic, Ecuador, Haiti, Indonesia, and Ivory Coast. University of

Blackwell Publishers, Inc.

[31] Minifie B. W. 1989. *Chocolate, Cocoa and Confectionery – Science and Technology*. London: Chapman and Hall.

[32] Budryn G, Nebesny E. 2012. Effect of green and roasted coffee antioxidants on quality and shelf life of cookies and chocolates. *Journal of Food Processing and Preservation*, 1745-4549.

[33] Belščak-Cvitanović A, Komes D, Benković M, Karlović S, Hečimović I, Ježek D, Bauman I. 2012. Innovative formulations of chocolates enriched with plant polyphenols from *Rubus idaeus* L. leaves and characterization of their physical, bioactive and sensory properties. *Food Research International*, 48: 820–830.

chocolate with addition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Journal of Food Science Technology*, 47(2): 202–206.

[28] Yaghchi F, Peighambaroust S. H, Hesari J, Mohammadi R, Alizadeh A. A. 2014. Production of Pekmez fortified with Flaxseed and evaluation of some chemical properties. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 10: 1.55-61.

[29] Rendon-Villalobos J. R, Bello-Prez L. A, Agama-Acevedo E, Islas-Hernandez J. J, Osorio-Daz P, Tovar J. 2009. Composition and characteristics of oil extracted from flaxseed-added corn tortilla. *Food Chemistry*, 117, (1): 83-7.

[30] Afoakwa E. O. 2010. *Chocolate Science and Technology*. 1st ed. Oxford, Wiley-

## The Effects of Flaxseed Powder on Antioxidative, Microbial and Sensory Properties of Chocolate

Hassannezhad, Z. <sup>1</sup>, Azadmard-Damirchi, S. <sup>2</sup>, Sowti- Khiabani, M. <sup>3</sup>,  
Peighambardoust, S. H. <sup>4</sup>, Rasouli-Pirouzian, H. <sup>5\*</sup>

1. MSc graduated, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz

2. Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz

3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz

4. Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz

5. PhD student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz

(Received: 2016/03/02 Accepted: 2017/04/16)

In this research, the effects of fortification of chocolate samples with flaxseed at different levels of 0% (control treatment), 5%, 10%, 15% and 20% were assessed on the microbial properties, peroxide value and tocopherol content of chocolate samples during 3 months storage. Sensory attributes of chocolate samples were determined by fourteen trained panelists using 5-point Hedonic scale in 1<sup>st</sup>, 15, 30, 45, 60, 75 and 90<sup>th</sup> days. It was observed that with increasing flaxseed content in chocolate samples, the mean content of gamma-tocopherols increased. The level of gamma tocopherols in control samples were 17.1 ppm, compared with 38.57 ppm in samples containing 20% flaxseed. Moreover, peroxide value showed an increasing trend with increasing flaxseed powder content. In addition, the highest peroxide value (1.875 meq/Kg) belonged to samples containing 20% flaxseed powder at the end of storage time and the lowest peroxide value (0.5 meq/Kg) was observed in control treatments in 1<sup>st</sup> day. However, all the peroxide values were in the standard range (max: 2 meq/Kg). Microbial enumeration of *enterobacteriaceae*, *E. coli*, *salmonella*, coagulase-positive *staphylococci*, yeast and molds were in the standard range during 90 days of storage. The maximum count of yeasts belonged to samples containing 20% flaxseed powder. With regard to the consumer acceptance, chocolate samples containing 5% and 10% flaxseed received higher sensory scores compared with other treatments and samples containing 20% flaxseed had the lowest sensory acceptance compared with control treatment. Consequently, the results indicated that by incorporating of flaxseed powder in chocolate, it is possible to produce functional product fortified with anti-oxidants that could have important role in the health of consumers.

**Keywords:** Chocolate, Flaxseed, Microbial properties, Sensory attributes

---

\*Corresponding Author E-Mail Address: rasuly\_h@yahoo.com