مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

اثر پایدارکننده‌های زانتان، کاراگینان و مونودیگلیسیرید بر ویژگی‌های حسی و فیزیکوشیمیایی شیرکاکائو به روش سطح پاسخ

محمدجواد مرشدحسن [۱*]، شبنم حمزه [۲]، زهرا سیر [۳]

۱- کارشناس ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، موسسه غیرانتفاعی تجن، قائم‌شهر، ایران.

۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، موسسه غیرانتفاعی تجن، قائم‌شهر، ایران.

۳- کارشناس ارشد، مدیر تحقیق و توسعه شرکت شیر پاستوریزه پاک.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۵/۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۱۱

کلمات کلیدی:

پایدارکننده،

پایداری فیزیکی،

روش سطح پاسخ،

شیرکاکائو.

DOI: 10.22034/FSCT.20.143. 170

DOR:20.1001.1.20088787.1402.20.143.13.5

* مسئول مکاتبات:

siavashmorshedi@yahoo.com

چکیده

وجود یک لایه کاکائو در انتهای بطری شیرکاکائو از نظر مصرف‌کننده ناخوشایند است و معمولاً میزان رسوب ذرات کاکائو در انتهای بطری اولین موردی است که جلب توجه می‌کند. هدف از این پژوهش بررسی اثر پنج سطح از پایدارکننده‌ها شامل: زانتان، کاپاکاراگینان و مونودیگلیسیرید بر ویژگی‌های حسی و فیزیکوشیمیایی شیرکاکائو به روش سطح پاسخ (RSM) بود. از اینرو، ۲۰ تیمار در سه بلوک و با شش تکرار در نقطه‌ی مرکزی تولید شد. سپس آزمون‌های فیزیکوشیمیایی و حسی انجام پذیرفت. برای تولید شیرکاکائوی بهینه با ویسکوزیته‌ی مناسب ۱۱۰ سانتی‌پوآز و کمترین میزان رسوب و دوفازشدن، از روش بهینه‌یابی عددی استفاده شد. نمونه‌های پیشنهادی نرم‌افزار در آزمایشگاه تولید و با نتایج واقعی شیرکاکائوها با آزمون T-test یک‌نمونه‌ای در سطح اطمینان ۹۵٪ مورد مقایسه قرارگرفت که باتوجه به عدم مشاهده تفاوت معنی‌دار، صحت مدل پیش‌گویی‌شده تایید شد. بر اساس نتایج مشخص‌شد که افزایش هیدروکلوئیدها در سطح اطمینان($P<0.001$) سبب افزایش ویسکوزیته و همینطور افزایش پایداری محصول و کاهش میزان تشکیل رسوب گردید. ارزیابی حسی نشان داد که کاپاکاراگینان بیشترین تاثیر را بر پذیرش کلی داشت و سپس به‌ترتیب زانتان و مونودیگلیسیرید نقش مثبت داشته‌اند($P<0.001$).

۱- مقدمه

شیر یک نوشیدنی سالم، مغذی، خوشمزه و رفع‌کننده تشنگی است که توسط گروه زیادی از مردم مصرف می‌شود. با وجود این، طعم شیر با ذائقه برخی مصرف‌کنندگان، به‌ویژه کودکان سازگاری ندارد درحالی‌که بیشترین نیاز را به‌آن دارند. ازینرو، جهت ایجاد علاقه‌مندی به مصرف شیر و رفع این مشکل، بخش بزرگی از تولید شیرهای آشامیدنی به تولید شیرهای طعم‌دار اختصاص یافته است[۲،۱و۳]. « همبستگی بالایی بین مصرف فرآورده‌های لبنی و سطح سلامتی افراد جامعه به‌لحاظ کارآیی و ضریب هوشی، میزان ابتلا به بیماری‌های عفونی و تنظیم فعالیت‌های متابولیکی بدن، کاهش فشار خون، جلوگیری از ابتلا به سرطان روده بزرگ و پیشگیری از پوکی استخوان وجود دارد»[۴]. « نوشیدنی‌های لبنی طعم‌دار از جمله شیرهای طعم‌دار، لبنیات محبوب و پرمصرفی در سراسر جهان هستند که از رشد روزافزونی برخوردار بوده‌اند»[۵]. « پیشنهاد می‌شود شیر تازه با اسیدیته ۰/۱۳ تا ۰/۱۶ (درصد بر حسب لاکتیک اسید، ۱۳ تا ۱۶ درجه در مقیاس درنیک) در تهیه شیرکاکائو به‌کار رود. اسیدیته بالای ۰/۱۶٪ بر خواص رئولوژیکی شیرکاکائو اثر گذاشته و ممکن است تشکیل ژل سفت را در جریان نگهداری تسریع نموده و فرآورده را غیر قابل مصرف کند. شیر حاوی مقدار جزئی از مواد دیگر مثل رنگدانه‌ها، آنزیم‌ها، ویتامین‌ها، فسفولیپیدها وگازها می‌باشد اما ترکیباتی که در شیر بیش‌از سایر اجزا روی شیرکاکائو موثرند چربی و پروتئین هستند»[۶]. شیر طعم‌دار یکی از محبوب‌ترین فرآورده‌های شیر در سراسر دنیا محسوب می شود و گروه گسترده‌ای از انواع طعم‌ها شامل : شیرکاکائو، شیرقهوه، شیرعسل، شیرموز، شیرتوت‌فرنگی و ... را شامل می‌شود که محبوب‌ترین آنها شیرکاکائو است. این نوع شیرها می‌توانند به عنوان جایگزین نوشابه‌های غیرالکلی و انواع آب‌میوه‌های شیرین مورد مصرف قشر وسیعی از مردم قرار گیرند. شیرهای طعم‌دار در مقایسه با شیرهای ساده، شیرین بوده و مقدار قند و کالری بیشتری دارند. در سال‌های اخیر به دلیل افزایش سطح آگاهی جامعه در زمینه سلامت و تغذیه اغلب مردم دارای نگرانی‌هایی در خصوص رژیم غذایی خود هستند. از این رو استقبال فراوان مصرف‌کنندگان سبب شده که تولیدکنندگان صنایع لبنی تلاش قابل ملاحظه‌ای در راستای کنترل و حفظ ویژگی‌های آن، از جمله جلوگیری از ناپایداری فیزیکی انجام دهند[۲و۷]. برای تهیهٔ پودرکاکائو، مغز دانهٔ کاکائو را آسیاب کرده و خمیر کاکائو به دست می‌آید. خمیرکاکائو در مرحلهٔ بعد تحت فشار مکانیکی قرارگرفته و با خروج قسمتی از چربی آن، کیک کاکائو حاصل می‌شود. در نتیجهٔ پودرکردن باقیمانده‌ی کیک کاکائو به روش مکانیکی، پودرکاکائو به دست می‌آید[۸]. «شیرکاکائو نوعی نوشیدنی محبوب لبنی بر پایه شیر است که گسترش آن می‌تواند نقش موثری در نزدیک‌شدن به سرانه مناسب مصرف لبنیات در کشور داشته باشد. جهت پایداری این محصول از پایدارکننده‌های متفاوتی در صنعت استفاده می‌شود که رایج‌ترین آن کاراگینان‌ها هستند که به دلیل وارداتی‌بودن این محصول بر روی قیمت تمام‌شده محصول هم تاثیر دارد»[۶]. همچنین یکی از پرطرفدارترین نوشیدنی‌های لبنی طعم‌دار دربین کودکان، نوجوانان و جوانان می‌باشد که با استفاده از شیر، شکر، پودرکاکائو و بعضی از هیدروکلوئیدها برای بهبود قوام و جلوگیری از رسوب ذرات کاکائو و بصورت پاستوریزه یا استریلیزه تهیه می‌شود[۳]. «بنابر تعریف استاندارد ملی ایران شیرکاکائو فرآورده‌ای شیری است که در تهیه آن از پودرکاکائو و مواد پایدارکننده استفاده شده است که این شیر با استفاده از پاستوریزه‌کردن و یا فرآیندهای فرادمایی تولید و سالم‌سازی شده است»[۹]. با اینکه مزه، طعم و رنگ، جزء ویژگی‌های

کیفی مهم شیرکاکائو می‌باشند، وجود یک لایه کاکائو در انتهای بطری از نظر مصرف‌کننده ناخوشایند است و معمولاً میزان رسوب ذرات کاکائو در انتهای بطری، اولین موردی است که توجه مصرف‌کننده را جلب می کند[۱۰].

هیدروکلوئیدها یا صمغ‌ها، پلی‌ساکاریدهایی با وزن مولکولی بالا هستند که از طریق ایجاد ساختار در فرمولاسیون مایع و ایجاد ژل شیر در شیرهای طعم‌دار و نوشیدنی‌های ماستی باعث بهبود بافت می‌شوند. بیوپلیمرهایی آبدوست با ساختمانی پلی‌ساکاریدی یا پروتئینی هستند که بر اساس قانون استوک با به تاخیرانداختن حرکت قطره‌های فاز پراکنده و افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته سبب پایداری امولسیون می‌شوند. باعث افزایش ماندگاری شیرشکلات و نوشیدنی‌های اسیدی میوه‌ای شده و در مقابل ته‌نشین‌شدن ذرات پراکنده، خامه‌ای‌شدن و لخته‌شدن قطرات امولسیونی محافظت می‌کنند. بهبود ویژگی‌های رئولوژیکی و بافتی، ایجاد قوام در شیرکاکائو، احساس دهانی بهتر، افزایش پایداری، جلوگیری از ایجاد رسوب و دوفاز شدن در طول نگهداری، همچنین افزودن امولسیفایرها جهت ایجاد امولسیون بهتر و در نتیجه عدم ته‌نشینی کاکائو، مواردی هستند که با افزودن پایدارکننده‌ها مانند زانتان، کاراگینان، پکتین، آلژینات، گوار و کتیرا به شیرکاکائو محقق می‌شوند[۹،۲و۱۱]. پلی‌ساکاریدها امولسیفایرهای خوبی نیستند اما به دلیل ضخیم‌شدن و خاصیت نگهداری آب در فاز پیوسته می‌توانند در تشکیل ساختار شبکه‌ای نقش داشته باشند. همچنین با پوشاندن سطحی از لایه پروتئین روی گلبول‌های چربی، می‌توانند پایداری امولسیون را افزایش دهند[۱۲]. این اثرات به تعامل پروتئین-پلی ساکارید بستگی دارد. اثر هم‌افزایی بین پروتئین‌ها و پلی ساکاریدها را می‌توان تحت تأثیر نوع پلیمر زیستی، نسبت اختلاط و غلظت کل قرار داد. همینطور با افزایش ویسکوزیته ظاهری فرآورده یا در اثر برهم‌کنش کلوئیدی از نوع ممانعت فضایی و دفع الکتروستاتیک سبب پایداری بعضی از سیستم‌های غذایی می‌شوند [۲و۱۳]. شکر و کاکائو در افزایش ویسکوزیته در شیرکاکائو نقش دارند اما اصلی‌ترین مسئول پیدایش ویسکوزیته، عملکرد پایدارکننده‌ها می‌باشد. به همین‌دلیل باید در رابطه با نوع، میزان و شیوه صحیح کاربرد آنها، تحقیق و تفحص صورت گیرد. از مهم‌ترین پایدارکننده‌های مورد استفاده در سیستم‌های غذایی می‌توان به کارآگینان، آلژینات، گوار، تراگاکانت، زانتان، صمغ لوبیای لوکاست، ژلان، مونو و دی گلیسیرید اشاره کرد[۱۴]. در بین پایدارکننده‌های مورد استفاده در شیرکاکائو، کاراگینان کاربرد بیشتری دارد چرا که در افزایش پایداری و کاهش میزان رسوب شیرکاکائو موثر است و دلیل آن رفتار خواص منحصر به فرد مخلوط کاراگینان و شیر ناشی از تاثیر متقابل ملکولهای کاراگینان با میسل های کازئین می‌باشد[۱۵]. کاراگینان‌ها پلی‌ساکاریدهای طبیعی هستند که از جلبک‌های دریایی قرمز خوراکی (خزه ایرلندی) از خانواده *رودوفیسه‌آ*[1] استخراج می‌شوند و به انواع مختلفی مانند κ-(کاپا)، ι-(یوتا)، λ(لامبدا)، θ-(تتا) ، μ- (mu)، و(nu)-v تقسیم‌بندی می‌شوند. آنها به‌عنوان پلی‌ساکاریدهای طبیعی و زیست‌تخریب‌پذیر با خواص ژل، غلیظ‌کننده، امولسیون‌کننده و تثبیت‌کننده طبقه‌بندی می‌شوند. اگرچه نقش کاپاکاراگینان در غلظت کمتر آن برجسته است، اما مشخص شده است که ژل‌شدن در غلظت‌های بالا در حضور پروتئین‌های شیر کمتر است، به طور خاص، زمانی‌که غلظت کاپاکاراگینان کمتر از ۰/۰۱۸ درصد وزنی باشد، اهمیت پیدا می‌کند.[۱۷،۱۶و۱۸]. صمغ زانتان عمدتاً از گلوکز، مانوز و اسید گالاکترونیک تشکیل شده است و یک هتروپلی‌ساکارید خارج سلولی میکروبی

1-Rhodophycea

است که از *زانتاموناس کمپستریس*[1] تولید می‌شود. در غلظت‌های پایین، محلول ویسکوز می‌سازد و ویسکوزیته آن تحت تاثیر محسوس تغییرات pH قرار نمی‌گیرد و با اینکه وزن مولکولی بالایی دارد اما به‌راحتی در آب گرم حل می‌شود. زانتان در آب سرد نیز محلول است و محلول‌های ایجاد شده به‌شدت سودوپلاستیک هستند و این خاصیت صمغ زانتان باعث می‌شود که مواد غذایی به خصوص مرکبات و نوشیدنی‌هایی با طعم میوه‌ای احساس دهانی بهتری داشته باشند و با تاثیرات مناسبی که بر روی مواد غذایی دارد باعث می‌شود که محصولات کیفیت اولیه خود را بهتر حفظ کنند. ضمنا به دلیل خصوصیاتی از قبیل پایداری حرارتی خوب، سازگاری بالا با طیف وسیعی از نمک‌ها و قندها و پایداری در سیستم‌های اسیدی از جمله پایدارکننده‌هایی است که جهت بهبود بافت، جلوگیری از دوفازشدگی و رسوب در محصولات ماست مانند می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. « در صنایع نان این صمغ باعث نرمی، نگهداری هوا و مقاومت خمیر برای کیک‌ها، مافین‌ها، بیسکوئیت‌ها و مخلوط‌های نان می‌شود»[۱۹،۲۰و۲۱]. مونودیگلیسیریدها مخلوطی از اسیدهای چرب مونو، دی و تری‌استر همراه با مقدار کمی گلیسرول و اسیدهای چرب آزاد هستند. از طریق حرارت‌دادن روغن‌ها و گلیسرول یا استریفیکاسیون[2] مستقیم گلیسرول و اسیدهای چرب در دمای بالای ۲۰۰ درجه سانتیگراد در حضور یک کاتالیزور مناسب برای مواد غذایی تولید می‌شوند. رایج‌ترین امولسیفایرهای مورد استفاده در صنایع غذایی و دارویی بوده و اتحادیه اروپا آن‌را تحت شماره افزودنی مواد غذایی E471 تنظیم می‌کند و به دو نوع اشباع و غیراشباع تقسیم‌بندی می‌شود.[۲۲].

۲- مواد و روش ها

۲-۱) مواد

به منظور پیشگیری از نوسانات احتمالی در میزان درصد پروتئین و همین‌طور تنظیم دقیق درصد چربی نهایی نمونه‌ها، از شیر بازساخته با استفاده از شیرخشک بدون چربی و خامه، محصول شرکت لبنیات پاک(ایران) و آب تصفیه‌شده استفاده شد. شکر (قند اصفهان، ایران)، پودرکاکائو (Cargill GP50، هلند)، زانتان(Fuffeng، چین)، مونودیگلیسیرید (Dmg 0093، دانمارک) و کاپاکاراگینان (GPI 106، کانادا) تهیه شد. ضمنا مواد شیمیایی مورد نیاز برای آزمون‌های شیرکاکائو از قبیل آمیل‌الکل، کلریدریک اسید، سود و معرف فنل‌فتالئین همگی از شرکت مرک (آلمان) تهیه شد.

۲-۲) روش‌ها

۲-۲-۱) تهیه شیر بازساخته

جهت تهیه‌ی شیر بازساخته با کمی تغییرات از روش بخشی و همکاران استفاده شد[۱]. بدین‌صورت که با توجه به حجم شیر تولیدی طبق طراحی آزمایشات و همین‌طور دستیابی به چربی شیر ۱/۵درصد، ابتدا شیرخشک بدون چربی با رطوبت ۴-۴/۵٪ و آب تصفیه‌شده به ترتیب با نسبت ۹/۵ به ۹۰/۵ درصد و با خامه ۴۰٪ چربی طبق جدول پیرسون در ظروف استیل توزین و با همزن برقی (مدلST1400M، ساخت آمریکا) به مدت ۱۰ دقیقه با یکدیگر مخلوط شدند.

۲-۲-۲) آماده‌سازی نمونه‌های شیرکاکائو

آماده‌سازی شیرکاکائو با روش علی‌پور و همکاران با کمی تغییر صورت گرفت[۳]. ابتدا شکر(۶٪) و پودرکاکائو(۱٪) به میزان ثابت در تمامی نمونه‌ها توزین شده سپس هیدروکلوئیدهای سه‌گانه نیز بر اساس طرح آزمایشات

2- Xanthamonas campestris

3-Esterification

توزین شدند(جدول ۲). سپس به آرامی به شیر بازساخته‌ی حاوی ۱/۵٪ چربی که از قبل در حمام آب گرم به دمای ۵۵درجه سانتیگراد رسیده بود افزوده شده و با همزن برقی (مدل ST1400M، ساخت آمریکا) به مدت پنج دقیقه مخلوط گردیدند. شیرکاکائوهای تولید شده با دستگاه هموژنایزر دستی (مدل APV، ساخت دانمارک) با فشار ۲۰۰ بار هموژن شدند و بعد تا دمای ۸۵درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ ثانیه پاستوریزه و بلافاصله تا دمای کمتر از ۱۰ درجه سانتیگراد در حمام آب سرد خنک شده و در نهایت در بطری‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری پلی‌اتیلن بسته‌بندی گردیدند. محدوده غلظت‌های مورد استفاده هیدروکلوئیدها بر اساس مطالعات اولیه در مقالات مختلف، دیتاشیت[1] شرکت‌های تولیدکننده‌ی آنها و در نهایت پیش‌آزمون‌های گوناگون از سطوح متنوع آنها بدست آمد. آزمون‌های فیزیکوشیمیایی و حسی از جمله میزان ویسکوزیته و درصد رسوب پس از ۲۴ ساعت از زمان تولید و میزان دوفاز شدن پس از ۷ روز صورت گرفت.

۲-۲-۳ اندازه‌گیری ویسکوزیته

ویسکوزیته با استفاده از ویسکومتر بروکفیلد (مدل RV-DV2T، ساخت آمریکا) در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و با استفاده از اسپیندل شماره ۰۲ و با ۵ سرعت چرخشی ۳۰، ۷۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ دور در دقیقه بر حسب سانتی‌پوآز انجام شد و بنابر رسیدن به راندمان بالاتر در دور ۲۰۰، اعداد بدست آمده از این سرعت گزارش گردید[۲۳].

۲-۲-۴ اندازه‌گیری میزان رسوب

جهت اندازه‌گیری شاخص رسوب از روش عابدینی و همکاران با کمی تغییر و اصلاح استفاده شد[۲۴]. بدین‌صورت که، ۲۰ گرم از نمونه‌های شیرکاکائو را پس از هم‌زدن، در لوله‌های مخصوص ۲۵ میلی‌لیتری ریخته و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ (مدل Nova Safety، ساخت آلمان) گردید. بعد از سانتریفوژکردن، سرم آزادشده که در بالای لوله‌آزمایش قرار داشت جدا و مابقی محتویات به همراه لوله‌آزمایش توزین گردید. از تفاضل سرم جداشده و کل وزن نمونه میزان رسوب اندازه‌گیری شد. نتایج بر حسب گرم در صدگرم شیرکاکائو گزارش گردید.

۲-۲-۵ اندازه‌گیری میزان دوفازشدن

برای بررسی میزان دوفازشدن، از روش استادزاده و همکاران با کمی اصلاح استفاده شد[۱۰]. شیرکاکائوهای تولیدشده در بطری‌های استریل و دمای چهار درجه سانتیگراد و به مدت هفت روز به طور ثابت نگهداری شدند. سپس میزان فاز بالایی(سرمی) توسط خط‌کش اندازه‌گیری و بر مقدار کل نمونه داخل بطری تقسیم و در ۱۰۰ ضرب شد . نتایج برحسب میزان درصد دوفازشدن گزارش گردید.

۲-۲-۶ آزمون حسی

عطر و بو، طعم و مزه، رنگ، بافت و پذیرش کلی نمونه‌های شیرکاکائو در چهارچوب آزمون هدونیک پنج امتیازی توسط ۱۲ ارزیاب نیمه‌آموزش‌دیده ارزیابی شدند. به هر نمونه، به صورت تصادفی یک کد سه‌رقمی داده شد و نمونه‌ها به صورت تصادفی در اختیار ارزیاب‌ها قرار داده شدند. سپس میانگین نمرات داده‌شده به صورت عدد صحیح رند گزارش شد. برای هر یک از خصوصیات ذکرشده امتیازدهی از ۱ تا ۵ به صورت ۱= غیر قابل قبول، ۲= رضایت کم، ۳= متوسط، ۴= خوب، و ۵= عالی بود. باتوجه به اینکه درطول این مطالعه برخی از نمونه‌ها پایداری بافت خود را از دست دادند و به شدت دوفاز

4- Data Sheet

بودند مورد ارزیابی حسی قرار نگرفته و نمره ۱ دریافت کردند[۲۵].

۷-۲-۲ تجزیه و تحلیل آماری

روش سطح پاسخ (RSM[1]) مجموعه ای از تکنیک‌های آماری است که در بهینه‌سازی فرآیندهایی به‌کار می‌رود. در این روش ضمن اینکه تعداد آزمایشات به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد، پاسخ مورد نظر تحت تاثیر تعدادی از متغیرها هم‌زمان بررسی می‌گردد[۲۶و۲۷]. در این پژوهش با توجه به آزمایش‌های مقدماتی و تعیین دامنه هر یک از متغیرهای مستقل، از روش سطح پاسخ و طرح مرکب مرکزی با سه متغیر مستقل هر کدام در پنج سطح و شامل هیدروکلوئیدهای به ترتیب کاپاکاراگینان (۰و ۰/۰۰۸ و ۰/۰۲ و ۰/۰۳۱و ۰/۰۴)٪، مونودیگلیسرید (۰و ۰/۰۱۶ و ۰/۰۴ و ۰/۰۶۳ و ۰/۰۸)٪ و زانتان (۰و ۰/۰۳۰و ۰/۰۷۵ و ۰/۱۱۹و ۰/۱۵)٪ با ۲۰ تیمار در سه بلوک و با شش تکرار در نقطه‌ی مرکزی (جهت محاسبه‌ی خطا و تکرارپذیری فرایند)، به منظور بررسی اثر پایدارکننده‌های مذکور بر ویژگی‌های حسی و فیزیکوشیمیایی شیرکاکائو استفاده گردید. برای بررسی ارتباط بین پاسخ‌های بدست‌آمده و متغیرهای فرایند و بهینه‌سازی متغیرها، طراحی و تجزیه و تحلیل اطلاعات و رسم نمودارهای مربوطه از نرم‌افزار دیزاین‌اکسپرت[2] نسخه ۱۳,۰,۵,۰ استفاده شد و سپس تاثیر مستقل فاکتورها و اثرات متقابل آنها در سطح اطمینان ۹۵٪ ($P<0.05$) مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر عددی و فاکتورشده متغیرهای مستقل شامل درصد کاپاکاراگینان، مونودیگلیسرید و زانتان نشان داده شده است(جدول ۱). تعداد نمونه‌های مورد آزمایش و میزان پاسخ‌های مختلف نیز ارائه شده است(جدول ۲). شرایط فرمولاسیون بهینه با استفاده از تکنیک بهینه‌یابی عددی[3] نرم‌افزار صورت گرفت. بدین‌منظور در ابتدا اهداف بهینه‌سازی و حد بالا و پایین پارامترها که شامل ویسکوزیته ۱۱۰ سانتی‌پوآز و حداقل میزان دوفازشدن و رسوب بود را مشخص کرده و با استفاده از تکنیک بهینه‌یابی عددی، بهترین جواب‌ها به‌دست آمد (جدول ۴). همچنین آنالیز آماری خصوصیات بهینه بر پایه طرح آزمایش کاملاً تصادفی در سه تکرار و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون T-test در سطح ۹۵٪ در قالب طرح یک‌نمونه[4] با استفاده از نرم‌افزار IBM SPSS انجام گرفت[۱۸و۲۸]. با توجه به درصدهای بدست آمده از آزمون‌های تولید اولیه، حد بالا و پایین متغیرها بدست آمدند. سپس با نرم‌افزار دیزاین‌اکسپرت، نسخه 13.0.5.0 روش سطح پاسخ در غالب طرح مرکب مرکزی با میزان α =1.68 و ۶ نقطه‌ی مرکزی برای آن انتخاب شد. تعیین شرایط عملیاتی بهینه برای دستیابی به بهترین پاسخ‌ها با استفاده از تکنیک بهینه‌یابی عددی انجام شد. در این تکنیک فضای پاسخ با استفاده از مدل‌های ایجاد شده، به منظور یافتن بهترین شرایطی که اهداف بهینه‌سازی مورد نظر را برآورده کند صورت گرفت[۲۹].

5 -Response Surface Methodology

6 -Design Expert

7 -Numerical Optimization

8- One Sample

Independent process variables and their application levels Table 1)

Independent variables	Factor	-α	-1	0	+1	+α
κ-carrageenan	A	0	0.008	0.02	0.031	0.04
mono-diglyceride	B	0	0.016	0.04	0.063	0.08
Xanthan	C	0	0.030	0.075	0.119	0.15

Table 2) Suggested treatments by Design Expert software using the response surface methodology(rsm) and their related responses

Run	F 1 A: κ-Carrageenan %	F2 B:mono diglyceride %	F 3 C:xanthan %	R1 Viscosity cP	R2 Phase Separation %	R3 Precipitation %	R4 Overall Acceptance
1	0.008	0.063	0.119	97.8	14.47	5.202	1
2	0.031	0.0162	0.119	122.4	15.23	6.6	5
3	0.031	0.063	0.030	90.8	2.77	5.369	4
4	0.02	0.04	0.075	91.2	8.21	5.558	3
5	0.02	0.04	0.075	88.4	14.75	5.209	3
6	0.008	0.016	0.030	50.8	47	6.199	1
7	0.031	0.063	0.119	145.8	1.51	6.7	5
8	0.02	0.04	0.075	98.8	3.94	5.51	4
9	0.008	0.063	0.030	58	48	5.45	1
10	0.031	0.016	0.030	83	6.32	6.604	4
11	0.02	0.04	0.075	90	8.43	5.77	3
12	0.008	0.016	0.119	86.4	49.63	6.04	1
13	0.02	0.08	0.075	92	7.79	5.55	5
14	0.02	0	0.075	83.8	17.89	7	3
15	0	0.04	0.075	60	60	6.61	1
16	0.02	0.04	0.075	86	6.77	6.1	3
17	0.04	0.04	0.075	107.6	6.41	7.66	5
18	0.02	0.04	0	48.4	12.67	8.18	2
19	0.02	0.04	0.15	111	6.25	8.61	5
20	0.02	0.04	0.075	88	6.41	6.36	4

۳- نتایج و بحث

۳-۱ گزینش مدل مناسب و تجزیه مدل برازش‌یافته

به منظور حصول مدل‌های تجربی برای برازش پیش‌بینی پاسخ، رابطه‌های خطی و چندجمله ای درجه‌دوم بر داده‌های به‌دست‌آمده از آزمایش‌ها برازش شدند. سپس این مدل‌ها مورد آنالیز آماری قرار گرفتند تا مدل مناسب گزینش شود. از نظر آماری مدلی مناسب است که آزمون عدم برازش[1] آن معنی‌دار نبوده و دارای بالاترین مقدار ضریب تبیین تعدیل‌شده[2] و ضریب تبیین پیش‌بینی‌شده[3] باشد. همچنین تفاضل کمتر از ۰/۲ بین این دو، انحراف استاندارد ($Std.Dev$) و مجموع مربعات باقیمانده برآوردشده (Press) کم و مقدار ضریب همبستگی(R^2) بالا ، بیانگر قدرت بالای مدل در پیش‌بینی می‌باشد که تمامی پاسخ‌های این پژوهش شامل این خصوصیات بودند. نتایج آزمون عدم برازش و ارزیابی صحت مدل‌های برازش شده آورده شده است که آزمون عدم برازش مربوط به مدل برازش‌یافته (چندجمله‌ای درجه دوم) بر پاسخ معنی‌دار نبود($P>0.05$). از طرفی مدل چندجمله ای درجه دوم به دلیل دارابودن مقادیر بالای ضریب تبیین(R^2)، ضریب تبیین تعدیل شده وضریب تبیین پیش بینی‌شده در برازش داده‌ها توان بالایی را نشان دادند و بیانگر قدرت بالای مدل در پیش‌بینی بود. معادله‌های درجه‌دوم تصحیح‌شده پس از حذف متغیرهای معنی‌دارنشده تعیین شدند که برای همه پاسخ‌ها از نظر آماری معنی‌دار بودند ($P\leq0.001$)(جدول ۳). مدل پیشنهادی توسط نرم‌افزار برای پاسخ‌های ویسکوزیته و ارزیابی حسی مدل خطی(Linear) و برای پاسخ‌های دوفازشدن و رسوب مدل درجه‌دوم[4] بود[۳۰].

1- Lack of fit

2- R^2Adjusted

3- R^2Predicted

4- Quadratic model

Table 3) Results of ANOVA (Analysis of variance) of RSM for responses(P≤0.05)

Response	R^2	Adj-R^2	Pre-R^2	Press	p.Value Model	Lack of fit p.value	Std.Dev	Sequential p.value
Viscosity	0.9622	0.9541	0.9131	874.42	$_a$<0.0001 Linear	0.3026_{ns}	5.21	$<0.0001_a$
Phase Separation	0.9723	0.9411	0.7488	1546.52	$<0.0001_a$ Quadratic	0.2264_{ns}	4.62	0.0003_a
Precipitation	0.9557	0.9059	0.7082	7.16	0.0002_a Quadratic	0.7989_{ns}	0.3684	0.0024_a
Overall acceptance	0.8386	0.8040	0.6471	15.12	$<0.0001_a$ Quadratic	0.3836_{ns}	0.7027	$<0.0001_a$

Small letters include a and ns represent in order: a: (P≤0.05) at 95% level, ns(non-significant): (P≥0.05)

۲-۳ ویسکوزیته

بیشترین تاثیر به‌ترتیب مربوط به زانتان، کاپاکاراگینان و مونودیگلیسیرید بود. مشخص گردید که به فرض ثابت بودن زانتان ۰/۰۷۵٪، با افزایش کاپاکاراگینان در حضور حداقلی مونودیگلیسیرید، ویسکوزیته افزایش یافت. با این‌حال با حداقل کاپاکاراگینان و با افزایش مونودیگلیسیرید، تنها ۱۰ واحد به ویسکوزیته اضافه شده و به ۸۰ رسید. با حداقل مونودیگلیسیرید و افزایش کاپاکاراگینان از ۰/۰۰۸ به ۰/۰۳۱٪، مقدار ویسکوزیته ۳۲واحد، و با افزایش مونودیگلیسیرید از ۰/۰۱۶ به ۰/۰۶۳٪ تنها حدود ۱۰واحد افزایش یافت و به ۱۱۰رسید.(شکل ۱). ویسکوزیته با زانتان ۰/۰۳٪ تا حدود ۰/۰۷٪ ، در حد پایینی بوده (<۷۰) اما رفته‌رفته با افزایش زانتان افزایش یافت(شکل ۲). با بالارفتن میزان کاپاکاراگینان از صفر تا ۰/۰۱۵٪ ، ویسکوزیته همچنان پایین بود اما با افزایش بیشتر، افزایش یافت. با زانتان(۰/۰۳۰٪) و با افزایش کاپاکاراگینان از ۰/۰۰۸٪ به ۰/۰۳۱٪ ، ویسکوزیته رشد کمی داشت اما با افزایش زانتان از ۰/۰۳۰ به ۰/۱۱۹٪، به بالای ۱۲۶cP رسید. با کاپاکاراگینان ۰/۰۰۸٪ و با افزایش زانتان از ۰/۰۳۰٪ به ۰/۱۱۹ ٪ ویسکوزیته از ۵۱ به ۹۳ رسید، حال با افزایش کاپاکاراگینان از ۰/۰۰۸٪ به ۰/۰۲٪ ویسکوزیته از ۹۳ به ۱۱۰ رسید و با افزایش بیشتر کاپاکاراگینان ویسکوزیته هم افزایش یافت. به طور کلی افزایش هم‌زمان هر دو هیدروکلوئید باعث افزایش محسوس ویسکوزیته می‌شود به طوری‌که بالاترین میزان هم‌افزایی در بین سه‌حالت ایجادشده در همین‌مورد اتفاق افتاده است که علت آن می‌تواند مربوط به ساختمان شیمیایی این دو پایدارکننده باشد. هیدروکلوئیدها ترکیبات هیدروفیل و آب‌دوستی هستند که به واسطه گروه‌های هیدروکسید در ساختار خود توانایی واکنش با مولکول‌های آب و برقراری پیوندهای هیدروژنی را دارا می‌باشند که این امر منجر به افزایش جذب و نگهداری آب و درنتیجه افزایش ویسکوزیته محصول نهایی می‌شود[۱]. همچنین، کاراگینان از یک‌طرف به علت داشتن گروه‌های سولفات، به‌خوبی در آب هیدراته شده و این خاصیت آب‌دوستی موجب احاطه‌شدن آن توسط مولکول‌های آب می‌شود و از طرف دیگر قسمت سولفاته یا آنیونی آن با کازئین واکنش داده و تشکیل ژل می‌دهد لذا، تشکیل ژل منجر به افزایش ویسکوزیته می‌گردد [۷و۱۴]. با بررسی تاثیر دو فاکتور کاپاکاراگینان و

مونودیگلیسیرید، همچنین مونودیگلیسیرید و زانتان بر ویسکوزیته مشخص شد که مونودیگلیسیرید تاثیر چندان محسوسی روی ویسکوزیته نداشت(شکل۱و۳). این در حالی بود که افزایش زانتان از ۰/۰۶۴٪ سبب رشد ویسکوزیته شد و با افزایش مونودیگلیسیرید تا ۰/۰۴٪ و همینطور زانتان تا ۰/۰۵۴٪ به۸۰ سانتی‌پوآز رسید. با حداقل زانتان ۰/۰۳٪ و افزایش مونودیگلیسیرید از ۰/۰۱۶ تا حدود ۰/۰۴۲٪ ، ویسکوزیته از ۶۵ به۷۰، و از ۰/۰۴۲٪ تا ۰/۰۶۳٪، ویسکوزیته از حدود۷۰ به ۷۵ رسید. با حداقل مونودیگلیسیرید به میزان ۰/۰۱۶٪ و با افزایش زانتان از ۰/۰۳۰ تا ۰/۱۱۹٪ ، ویسکوزیته از حدود ۶۵ به ۱۰۵ سانتی‌پوآز رسید اما با افزایش مونودیگلیسیرید تغییرات کمی در ویسکوزیته حاصل شد و از ۱۰۵ به ۱۱۵ رسید. با توجه به موارد ذکر شده، بیشترین تاثیر روی ویسکوزیته را ابتدا زانتان، سپس کاپاکاراگینان و در نهایت مونودیگلیسیرید داشتند. نتایج آنالیز آماری نشان داد که اثرات خطی هر سه متغیر مستقل کاپاکاراگینان، مونودیگلیسیرید و زانتان بر ویسکوزیته معنی‌دار بود و آنها به‌صورت بسیار معنی‌داری($P\leq0.001$) منجر به افزایش ویسکوزیته شیرکاکائو شدند. با این‌حال اثر متقابل هیدروکلوئیدها به صورت دوتایی بر همدیگر و همچنین اثرات توان دوم آنها معنی‌دار نبود. معادله معنی‌داری برای ویسکوزیته بدین صورت است :

$$Viscosity = +89.50+16.77A+4.66B+20.14C$$

نتایج این پژوهش با یافته‌های دیگر محققان همسو می‌باشد از جمله سلیمیان و همکاران گزارش کردند کاپاکاراگینان سبب افزایش ویسکوزیته در شیرکاکائو و همچنین با میزان ۰/۰۱٪ تا ۰/۰۳٪ در خامه، سبب افزایش ویسکوزیته می‌گردد[۱۵]. زرآبادی‌پور و همکاران نیز در مقاله‌ای تحت عنوان بهینه‌سازی فرمولاسیون شیرنارگیل با صمغ تراگاکانتین بیان کردند استفاده از صمغ تراگاکانتین سبب افزایش ویسکوزیته در شیرنارگیل می‌گردد[۳۱] و همچنین در پژوهشی مشابه اثر دو متغیر پودرکاکائو و صمغ تراگاکانتین را در شیرکاکائو مورد بررسی قراردادند و گزارش‌کردند که استفاده از غلظت‌های مختلف گوار،کاراگینان و زانتان موجب افزایش ویسکوزیته شیرهای طعم‌دار می‌گردد[۲]. لیلا ناطقی و همکاران نیز در پژوهش اثر شیرهٔ توت، صمغ‌های دانهٔ ریحان و کتیرا بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، آنتی‌اکسیدانی و حسی شیرکاکائو بیان داشتند که افزودن غلظت‌های اندک صمغ‌هایی مانند پکتین، زانتان، گوار، صمغ لوبیای لوکاست، ژلاتین و کاراگینان، به منظور پایداری نوشیدنی‌های لبنی اسیدی و غیراسیدی، سبب افزایش ویسکوزیته‌ی محصول شده است که همسو با نتایج این مطالعه است[۲۴].

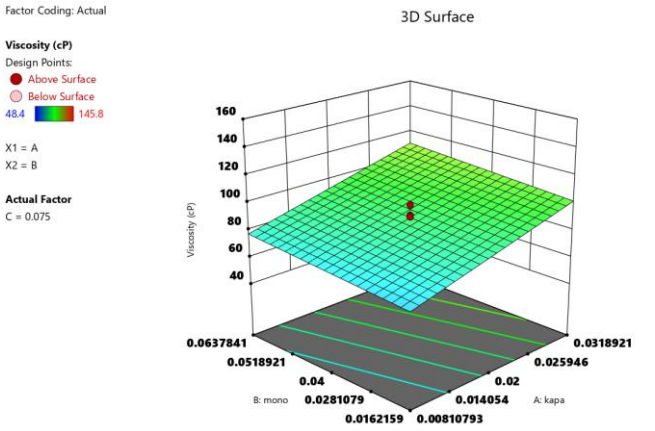

Fig 1) Effect of κ-carrageenan and mono-diglyceride on viscosity

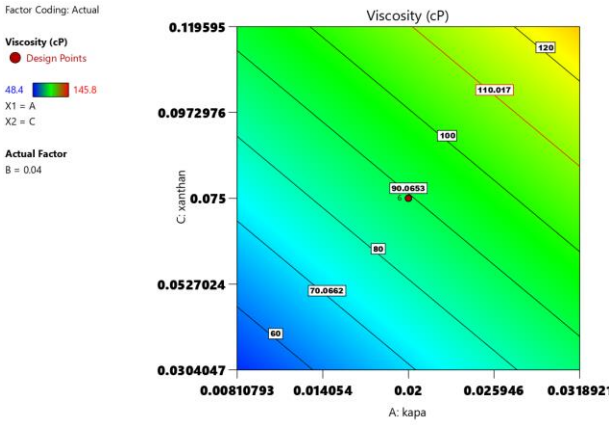

Fig 2) Effect of κ-carrageenan and mono-diglyceride on viscosity

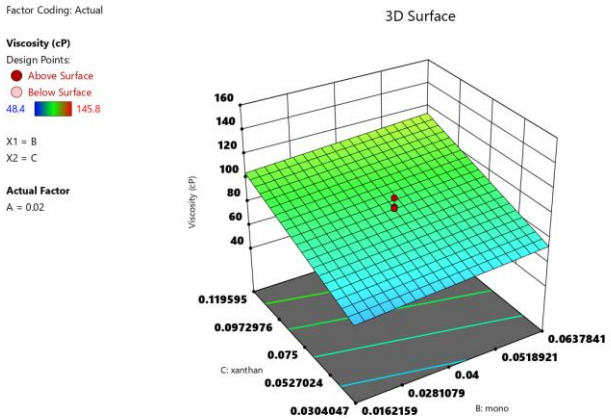

Fig 3) Effect of mono-diglyceride and xanthan on viscosity

۳-۳ دوفازشدن

نتایج نشان داد که اثر معادله‌ی درجه‌دوم متغیرهای مستقل کاپاکاراگینان(A) و مونودیگلیسیرید(B) به همراه اثر هم‌زمان مونودیگلیسیرید-زانتان(BC) و کاپاکاراگینان-زانتان(AC) و اثر توان دوم کاپاکاراگینان(A^2) در سطح معنی‌داری بودند. ضمنا اثر توان دوم مونودیگلیسیرید(B^2) با میزان ۰/۰۶۷۱ بسیار به حد معنی‌داری($P\leq0.05$) نزدیک بود. طبق داده‌های آماری کمترین میزان دوفازی مربوط به تیمار شماره ۷ با ۱/۵۱٪ بود که در فرمول آنها سطح +۱ هیدروکلوئیدها استفاده شده بود و حداکثر آن برای تیمار شماره ۱۵ با ۶۰٪ دوفازی (کاملا دو و سه‌فاز شده) بود که از سطح -α کاپاکاراگینان و سطح ۰ مونودیگلیسیرید و زانتان استفاده شد(جدول ۲). اصولاً کاراگینان به عنوان یک هیدروکلوئید جاذب عمل می‌کند. لذا اگر مقدار کاراگینان تا حدی کم باشد که این مولکول برای پوشش‌دادن کامل ذرات کازئین کافی نباشد (معمولاً یک مولکول از این هیدروکلوئید جذب سطح دو یا تعداد بیشتری از ذرات کازئین می‌شود) در نتیجه از طریق تشکیل پل موجب اتصال ذرات به یکدیگر می‌شود که ناپایداری سامانه را به دنبال دارد. درحالی که استفاده از کاراگینان در غلظت مناسب سبب پایداری شیرکاکائو می‌شود[۱۰]. مشخص گردید که با فرض زانتان ۰/۰۷۵٪ ، در صورتی‌که مونودیگلیسیرید ۰/۰۱۶٪ باشد، افزودن کاپاکاراگینان سبب کاهش دوفازی به مقدار ۳۶٪ شد. اما افزایش کاپاکاراگینان از ۰/۰۰۸٪ تا ۰/۰۲ ٪ و از ۰/۰۲ تا ۰/۰۳۱٪ سبب کاهش حدود ۳۰٪ و ۸٪ دوفازی گشت(شکل۴).

اگر مقدار کاپاکاراگینان ۰/۰۰۸٪باشد، افزایش مونودیگلیسیرید باعث کاهش کم دوفازی گردید به طوری‌که، افزایش مونودیگلیسیرید از ۰/۰۱۶٪ تا ۰/۰۶۳٪ فقط ۱۳٪ کاهش درپی داشت. با میزان کاپاکاراگینان ۰/۰۲٪، افزایش مونودیگلیسیرید از ۰/۰۱۶٪ به ۰/۰۴٪ سبب کاهش دوفازی از ۱۵/۵٪ به ۸٪ بود و با افزایش بیشتر مونودیگلیسیرید تا ۰/۰۶۳٪ این عدد از ۸٪ به ۵/۵ ٪ رسید. در صورتی‌که میزان کاپاکاراگینان ۰/۰۳۱ ٪ ثابت باشد با افزایش مونودیگلیسیرید از ۰/۰۱۶ به ۰/۰۶۳٪ ، دوفازی از ۷٪ به حدود ۱٪ رسید. مطابق این تحلیل افزایش مونودیگلیسیرید سبب کاهش ناچیز دوفازشدن گردید اما افزایش کاپاکاراگینان سبب کاهش محسوس دوفازی شد. نکته قابل توجه دیگر اینکه با میزان کاپاکاراگینان ۰/۰۲۹٪ و با افزایش مونودیگلیسیرید از ۰/۰۱۶ تا ۰/۰۵۵٪ دوفازشدن کاهش، اما با اضافه‌کردن میزان بیشتری از مونودیگلیسیرید، دوفازشدگی نیز افزایش یافت. همینطور در میزان مونودیگلیسیرید ۰/۰۵۵٪ و با افزایش کاپاکاراگینان تا ۰/۰۲۹٪، دوفازشدن کاهش و بعد از آن افزایش یافت. با فرض بر اینکه میزان مونودیگلیسیرید ۰/۰۲٪ باشد و زانتان۰/۰۳۰٪ باشد افزایش کاپاکاراگینان از ۰/۰۰۸ تا ۰/۰۲٪ سبب کاهش محسوس دوفازی گردید و در ادامه با افزایش کاپاکاراگینان تا ۰/۰۳۱٪ دوفازی از ۱۲ به ۰/۰۵۵٪ رسید(شکل۵). در صورتی‌که به طور همزمان از کاپاکاراگینان و زانتان در فرمول شیرکاکائو استفاده گردد تا زمانیکه زانتان مورد استفاده در سطح -۱ باشد با افزایش کاپاکاراگینان تا ۰/۰۲۹٪، دوفازی کاهش می‌یابد اما اگر در

این مقدار از کاپاکاراگینان، افزایش زانتان رخ دهد نه‌تنها باعث کاهش دوفازی نمی‌گردد بلکه دوفازی را افزایش نیز می‌دهد. در تحلیل تاثیر متقابل مونودیگلیسیرید و زانتان بر روی دوفازی، اگر کاپاکاراگینان ۰/۰۲٪ باشد، با حداقل زانتان به میزان ۰/۰۳۰٪ و با افزایش مونودیگلیسیرید از ۰/۰۱۶ تا ۰/۰۳۶٪، دوفازی از ۱۳/۷۲ به ۱۱/۸۷۲٪رسید و کاهش ناچیزی در حدود ۲٪ داشت اما با افزایش مونودیگلیسیرید از ۰/۰۳۶ تا ۰/۰۶۳٪، دوفازی افزایش یافته و حدود ۳/۵٪ رشد کرده و از ۱۱/۸۷۲ به ۱۵/۲۲٪ رسید(شکل۶). مطابق این تحلیل استفاده از زانتان جهت کاهش دوفازی زمانی موثر بود که میزان استفاده از کاپاکاراگینان حداقل ۰/۰۲٪ و مونودیگلیسیرید ۰/۰۶۳٪ باشد در این صورت با افزایش زانتان دوفازی به شدت کاهش یافته و تقریبا به صفر می‌رسید. بیشترین تاثیر بر دوفازی را به‌ترتیب متغیر مستقل کاپاکاراگینان(A)، اثر توان دوم کاپاکاراگینان(A^2)، اثر هم‌زمان مونودیگلیسیرید-زانتان(BC)، اثر هم‌زمان کاپاکاراگینان-زانتان(AC) و اثر مستقل مونودیگلیسیرید(B) داشتند.

$$\text{Phase Separation} = +8.07-16.36A-5.01B+4.82AC-5.79BC+9.78A^2$$

افزایش کاپاکاراگینان و مونودیگلیسیرید به‌تنهایی، همچنین افزایش زانتان در صورتی‌که سطح کاپاکاراگینان ۰/۰۲٪ و مونودیگلیسیرید ۰/۰۴٪ باشد، سبب کاهش دوفازی گردید. کمترین مقدار دوفازی نیز با سطح +۱ هر سه هیدروکلوئید بدست آمد. داده‌های این مطالعه همسو با یافته‌های بیتا بخشی و همکاران است[۱] که گزارش کردند استفاده از پایدارکننده‌ها تا حد زیادی دوفازشدن را کاهش می‌دهد. پایدارکننده‌های هیدروکلوئیدی با افزایش ویسکوزیته ظاهری فرآورده یا در اثر برهم‌کنش کلوئیدی از نوع ممانعت فضایی و دافعه الکترواستاتیکی، سبب پایداری سیستم‌های غذایی می‌شوند. اصولا کاراگینان در غلظت‌های پایین قادر به پایدارسازی شیرکاکائو نیست. همچنین طبق یافته‌های استادزاده و همکاران[۱۰]، در غلظت‌های ۰/۰۱٪ و ۰/۰۱۵٪ کاپاکاراگینان، ذرات کاکائو رسوب نکرده بودند، اما شیرکاکائو دوفاز شده بود و مقدار این دوفازشدن در ۰/۰۱۵٪ از ۰/۰۱ ٪ کمتر بود؛ در حالی‌که در غلظت ۰/۰۲٪ کاراگینان کاملاً پایداری ایجاد شد که مطابق داده‌های این مطالعه نیز هست.

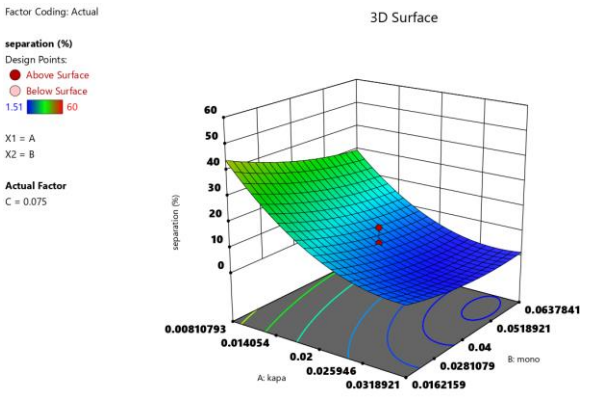

Fig 4) Effect of κ-carrageenan and mono-diglyseride on separation

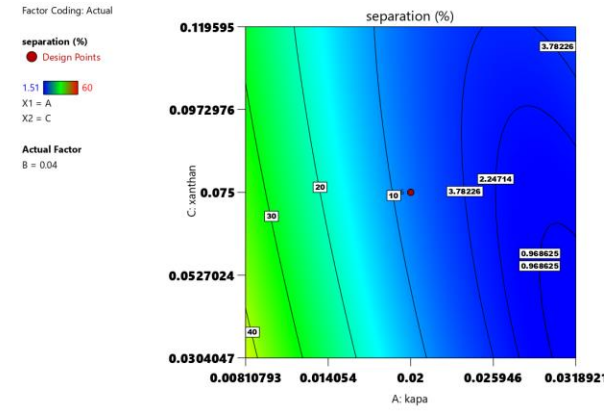

Fig 5) Effect of κ-carrageenan and xanthan on separation

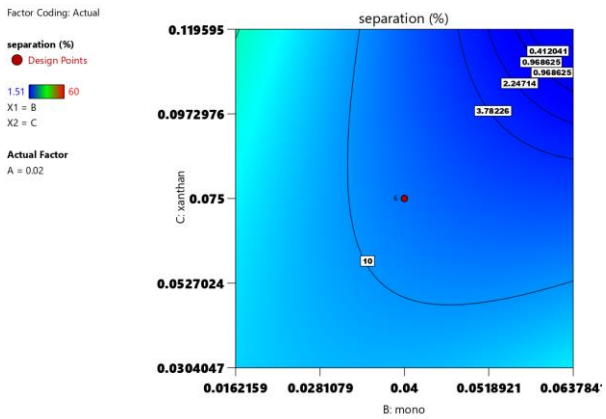

Fig 6) Effect of mono-diglyceride and xanthan on separation

۴-۳ رسوب

نتایج نشان داد که بر اساس جدول آنالیز واریانس[1]، اثر معادله درجه‌دوم متغیرهای مستقل کاپاکاراگینان(A) و مونودیگلیسیرید(B)، اثر هم‌زمان کاپاکاراگینان-زانتان(AC) و اثر هم‌زمان مونودیگلیسیرید-زانتان(BC)، اثر توان دوم کاپاکاراگینان(A^2) و اثر توان دوم مونودیگلیسیرید(B^2) در سطح معنی‌داری($P\leq0.05$) بودند.

$$Precipitation = +5.69-0.9055A-0.5517B+0.3826AC-0.4949BC+0.5064A^2+0.3438B^2$$

حداقل میزان رسوب ۵/۲۰۲ ٪ و حداکثر ۸/۶۱ ٪ بود(جدول ۲). با زانتان حداقل ۰/۰۷۵٪ ، افزایش کاپاکاراگینان و مونودیگلیسیرید هر دو باعث کاهش میزان رسوب گردید(شکل۷). اگر مونودیگلیسیرید برابر با حداقل ۰/۰۴٪ باشد، افزایش کاپاکاراگینان سبب کاهش میزان رسوب گردید اما با افزایش زانتان تا میزان ۰/۰۲٪ کاپاکاراگینان، رسوب کاهش یافت و با بیشتر شدن مقدار کاپاکاراگینان مقدار رسوب نیز کمی افزایش یافت(شکل۸). با کاپاکاراگینان ۰/۰۲٪ ، افزایش مونودیگلیسیرید سبب کاهش رسوب گردید. افزایش زانتان نیز تا مقادیر حدود ۰/۰۴٪ مونودیگلیسیرید سبب افزایش رسوب و در مقادیر بالاتر مونودیگلیسیرید سبب کاهش رسوب گردید(شکل۹). سلیمیان و همکاران بیان داشتند که استفاده از ۰/۱٪ پایدارکننده تجارتی موجب افزایش معنی‌دار میزان رسوب نمونه‌های شیرکاکائو گردید و علت آن شاید تشکیل ژل بسیار قوی باشد که در اثر کاربرد مقدار بالای این پایدارکننده ایجاد می‌شود که موجب افزایش مقدار ویسکوزیته گردید اما مقاومت کمتری در برابر دوفازشدن نشان داد[۱۵]. طبق گزارش زرآبادی پور و همکاران علت تاثیر متفاوت درصد استفاده از هیدروکلوئیدها در میزان رسوب به نظریه سیربه و همکاران برمی‌گردد که در آن پدیده لخته‌سازی تخلیه[2] رخ می‌دهد آن هم زمانی که غلظت هیدروکلوئید آزاد بیش از مقدار مورد نیاز باشد و بنابراین هیدروکلوئید نمی‌تواند آب جذب کند و خود را به شکل رسوب نشان می‌دهد. همچنین در ادامه بیان کردند کاپا و لانداکاراگینان[3] در غلظت‌های ۰/۰۱و ۰/۰۳ ٪ موجب پایداری و کاهش میزان رسوب در شیرکاکائو گردید و غلظت‌های ۰/۰۵ و ۰/۱٪ کاراگینان موجب افزایش رسوب شیرکاکائو شد که همسو با نتایج این پژوهش است [۲]. به طور کلی اما نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که با لحاظ‌کردن درصدهای مختلف از هیدروکلوئیدها و متناسب بودن درصد بکارگیری آنها در فرمولاسیون شیرکاکائو، درنهایت افزایش پایداری محصول و کاهش میزان تشکیل رسوب مورد انتظار است. زرآبادی‌پور و همکاران نیز همسو با بخشی و همکاران گزارش کردند جهت جلوگیری از رسوب و ته‌نشینی ذرات کاکائو در شیرکاکائو از هیدروکلوئیدها استفاده می‌کنند[۱]. سلیمیان و همکاران بیان داشتند که افزایش کاراگینان به میزان ۰/۲٪ به دلیل تولید ژل

1 -ANOVA

2 -Depletion Flocculation

3 -λ-Carrageenan

بسیار قوی، موجب افزایش ویسکوزیته خامه شد ولی در برابر دوفازشدن مقاومت کمتری داشت [۱۵]. یافته‌های لیلا ناطقی و همکاران در مورد کاهش رسوب توسط کاپاکاراگینان در شیر کاکائو نیز با داده‌های پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد[۲۴].

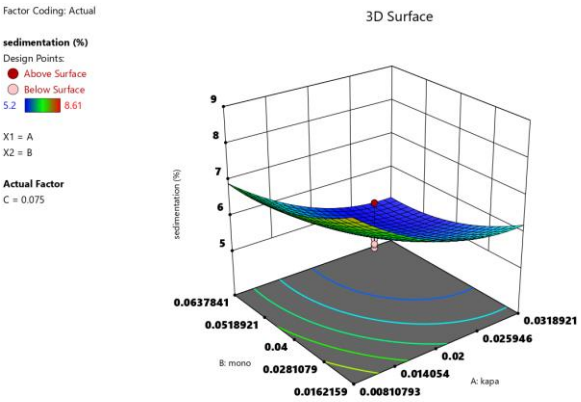

Fig 7) Effect of κ-carrageenan and mono-diglyseride on precipitation

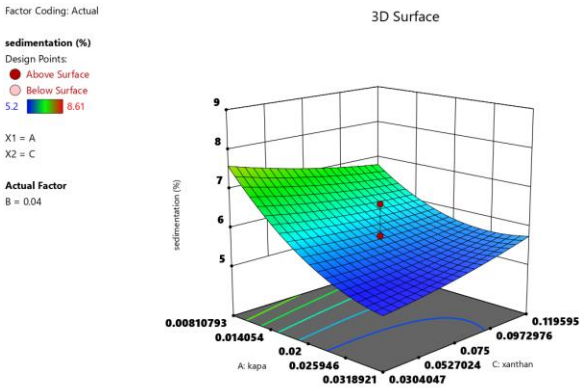

Fig 8) Effect of κ-carrageenan and xanthan on precipitation

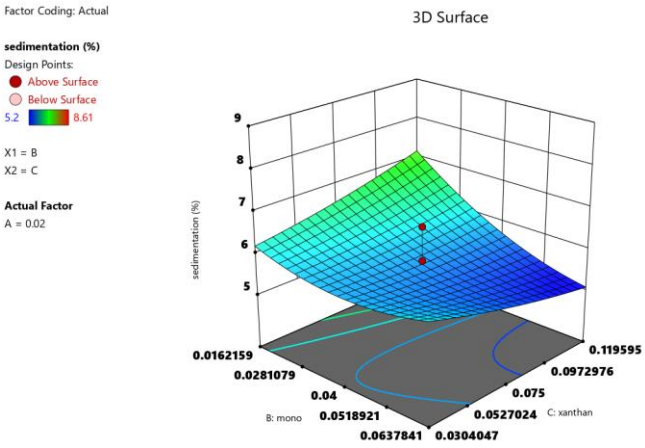

Fig 9) Effect of mono-diglyseride and xanthan on precipitation

۳-۵ ارزیابی حسی(پذیرش کلی)

پذیرش کلی مهم‌ترین فاکتور در ارزیابی حسی به‌شمار می‌آید که ارزیاب‌ها با در نظر گرفتن تمامی خصوصیات محصول به آنها امتیاز می‌دهند. این خصوصیات تا حد زیادی مرتبط با پذیرش مصرف‌کنندگان از آن محصول است. نتایج آنالیز آماری نشان‌داد که اثرات خطی دو متغیر مستقل کاپاکاراگینان(A) و زانتان(C) بر پذیرش کلی معنی‌دار بود و آنها به صورت بسیار معنی‌داری ($P\leq0.001$) در فرمولاسیون شیرکاکائو منجر به افزایش پذیرش کلی شدند. با این حال اثر متقابل هیدروکلوئیدها به صورت دوتایی بر همدیگر و همچنین اثرات توان دوم آنها معنی‌دار نبود. بیشترین تاثیر بر پذیرش کلی را ابتدا کاپاکاراگینان و سپس زانتان داشتند.

$$\text{Overall acceptance} = +3.11+1.52A+0.5159C$$

با زانتان ۰/۰۷۵٪ و با افزایش کاپاکاراگینان در هر سطحی از مونودیگلیسیرید، نمره تست حسی افزایش یافته به طوری‌که از نمره کمتر از دو با ۰/۰۰۸٪ کاپاکاراگینان به حدود نمره پنج در ۰/۰۳۱٪ کاپاکاراگینان رسید اما افزایش مونودیگلیسیرید تغییر محسوسی در میزان رضایت کلی ایجاد نکرد و فقط ۰/۵٪ در هر سطحی از کاپاکاراگینان افزایش رضایت رخ داد(شکل ۱۰). با ۰/۰۴٪

مونودی‌گلیسیرید و با افزایش کاپاکاراگینان در همه سطوح زانتان، نمره تست حسی افزایش یافت اما با افزایش زانتان در هر سطحی از کاپاکاراگینان، فقط یک نمره بهبود یافت(شکل۱۱). بدون حضور کاپاکاراگینان، حتی در بالاترین مقادیر مونودیگلیسیرید و زانتان نمره آزمون حسی بالاتر از ۳/۸ نشد . اما با حضور حداقل ۰/۰۲۵٪ کاپاکاراگینان نمره حداقل چهار شد(شکل۱۲). این داده‌ها همسو با داده‌های بیتا بخشی و همکاران است که گزارش کردند امتیازهای مربوط به آزمون حسی به طور معنی‌داری با افزایش پایدارکننده‌ها افزایش یافت[۱]. نتایج پژوهش سلیمیان و همکاران نیز نشان داد که استفاده از پایدارکننده‌ها به دلیل تاثیر مطلوبی که روی خصوصیات فیزیکی شیمیایی شیرکاکائو داشت، امتیاز حسی بهبود یافت[۱۵]. ناطقی و همکاران نیز گزارش‌کردند افزودن کارآگینان سبب بهبود ویژگی‌های حسی نوشیدنی می‌شود بدین صورت که افزودن هیدروکلوئیدها سبب افزایش ویسکوزیته‌ی نوشیدنی می‌شود ولی پذیرش طعم نوشیدنی را کاهش می‌دهد[۲۴]. استفاده بیش از حد صمغ‌ها سبب کاهش مقبولیت از سمت مصرف‌کننده می‌گردد چراکه با افزایش ویسکوزیته از میزان روانی محصول که خود یکی از پارامترهای مطلوبیت است کاسته می‌شود[۳۲و۳۳].

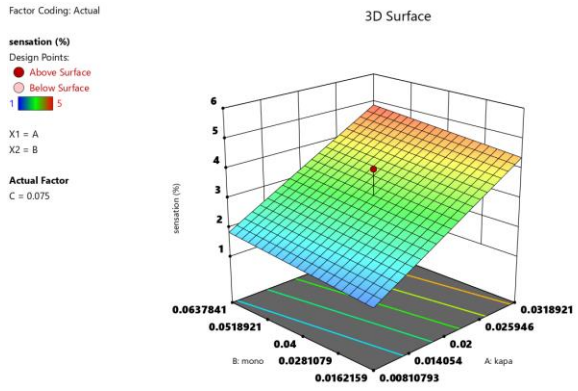

Fig 10) Effect of κ-carrageenan and mono-diglyseride on overall acceptance

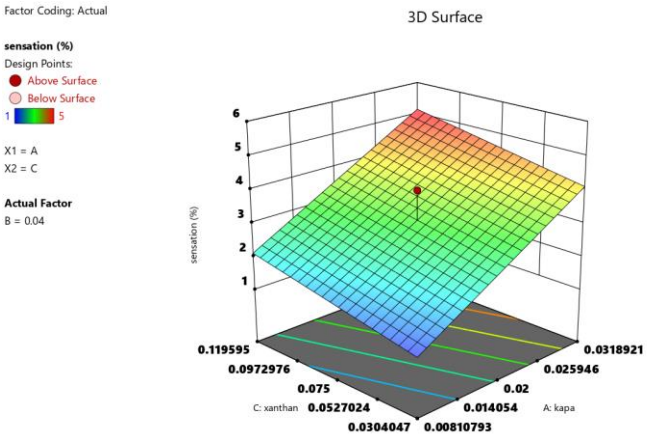

Fig 11) Effect of κ-carrageenan and xanthan on overall acceptance

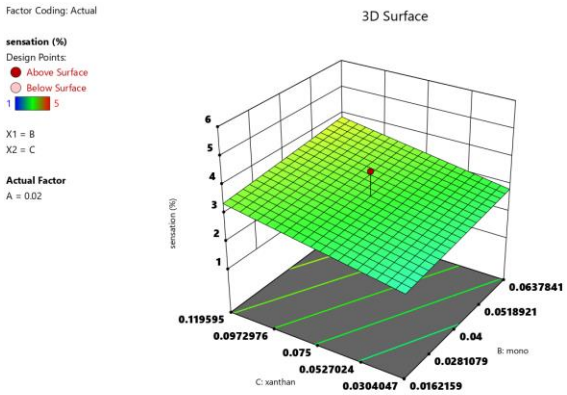

Fig 12) Effect of mono-diglyseride and xanthan on overall acceptance

۳-۶ بهینه‌یابی

برای تولید شیرکاکائوی بهینه حاوی هیدروکلوئیدهای سه‌گانه از روش بهینه‌یابی عددی استفاده شد. دامنه مقادیر بدست آمده برای فرآیند بهینه‌سازی و هدف آن در جدول۴ مشخص شده است. سطح مطلوبیت نمونه‌های بهینه شامل ویسکوزیته با ۱۱۰ سانتی‌پوآز و بالاترین نمره پذیرش کلی با سطح اهمیت ۳ از ۵، همینطور پایین‌ترین میزان رسوب و دوفازی با سطح اهمیت ۵ از ۵ در نرم‌افزار درنظر گرفته شد. نمونه‌های بهینه پیشنهادی نرم افزار شامل ۲۶ فرمول بود اما فرمول شماره یک به علت داشتن بالاترین سطح

مطلوبیت[1] انتخاب شد که شامل ۰/۰۳۱٪ کاپاکاراگینان، ۰/۰۶۴ ٪ مونودیگلیسیرید و ۰/۰۷۵٪ زانتان بود. نمونه‌ی بهینه پیشنهادی نرم‌افزار با شرایط مشابه سایر تیمارها تولید و با نتایج واقعی شیرکاکائوهای تولید شده توسط آزمون t-test یک نمونه‌ای با نرم‌افزار IBM Spss نسخه ۲۶ در سطح اطمینان ۹۵٪ ($P<0.05$) مورد مقایسه قرار گرفت(جدول ۵) و با توجه به اینکه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد درنتیجه صحت مدل پیش‌گویی‌شده تایید شد(جدول ۶).

Table 4) Optimizing the percentage of physical and sensory characteristics

Name	Goal	Lower Limit	Upper Limit	Importance
A:kapa	is in range	0.008	0.031	3
B:mono	is in range	0.016	0.063	3
C:xanthan	is in range	0.030	0.119	3
Viscosity	is target = 110	48.4	145.8	3
Phase separation	Minimize	1.51	60	5
Precipitation	Minimize	5.202	8.61	5
Overall Acceptance	Maximize	1	5	3

Table 5) Evaluation of the average of optimal laboratory samples and the optimal sample proposed by the software

	Viscosity	Phase Separation	Precipitation	Overall Acceptance
Lab. Samples	110.000	0.533	5.266	4.33
Suggested	110.200	0.807	5.051	4.77

1 -Desirability

Table 6) No significant difference between the optimal sample proposed by the software and the experimental optimal samples

Number	Name	Mean	Test Value	Sig.(2-tailed)
1	Viscosity	110.2	111.933	0.489 ns
2	Phase Separation	0.533	0.116694	0.103 ns
3	Precipitation	5.26667	5.03	0.115 ns
4	Overall Acceptance	4.33	4.6666	0.423 ns

($P\geq0.05$) at 95% level and ns= no significant difference

۴- نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حال حاضر نشان داد که روش آماری سطح پاسخ، روشی قابل اطمینان برای انتخاب سطوح بهینه شرایط تولید شیرکاکائو حاوی هیدروکلوئیدهای سه‌گانه است. با توجه به مشاهده عدم اختلاف معنی‌دار پاسخ‌های پیش‌بینی شده برنامه سطح پاسخ توسط نرم‌افزار دیزاین‌اکسپرت و نتایج واقعی (آزمایشگاهی) توسط آزمون T.test، کارایی مناسبی برای پیش‌بینی و بهینه‌یابی پارامترهای مورد ارزیابی وجود داشت (جدول۵و۶). در نتیجه فرمول بهینه شامل ۰/۰۳۱٪ کاپاکاراگینان، ۰/۰۶۴٪ مونودیگلیسیرید و ۰/۰۷۵٪ زانتان جهت تولید شیرکاکائو با ویسکوزیته مناسب ۱۱۰ سانتی‌پوآز و کمترین میزان رسوب و دوفازشدن پیشنهاد می‌گردد. نتایج نشان داد که افزایش هیدروکلوئیدها تاثیر معنی‌داری در افزایش ویسکوزیته تیمارها داشتند به نحوی‌که بیشترین تاثیر به ترتیب مربوط به زانتان و کاپاکاراگینان و کمترین مربوط به مونودیگلیسیرید بود. بالاترین میزان هم‌افزایی مربوط به زانتان و کاپاکاراگینان بود. نتایج آنالیز آماری نشان داد که اثرات خطی هر سه متغیر مستقل کاپاکاراگینان، مونودیگلیسیرید و زانتان بر ویسکوزیته معنی‌دار بود و آنها در فرمولاسیون شیرکاکائو

منجر به افزایش ویسکوزیته شدند. با این حال اثر متقابل هیدروکلوئیدها به صورت دوتایی بر همدیگر و همچنین اثرات توان دوم آن ها معنی‌دار نبود. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد افزایش مونودیگلیسیرید سبب کاهش ناچیز دوفازشدن و افزایش کاپاکاراگینان سبب کاهش محسوس دوفازی گردید و با لحاظ کردن درصدهای مختلف از هیدروکلوئیدها و متناسب بودن درصد بکارگیری آنها در فرمولاسیون شیرکاکائو، درنهایت افزایش پایداری محصول و کاهش میزان تشکیل رسوب مورد انتظار است. نتایج آنالیز آماری نشان داد که اثرات خطی دو متغیر مستقل کاپاکاراگینان و زانتان بر پذیرش کلی معنی‌دار بود و آنها منجر به افزایش پذیرش کلی شدند. با این حال اثر متقابل هیدروکلوئیدها به صورت دوتایی بر همدیگر و همچنین اثرات توان دوم آنها معنی‌دار نبود. بیشترین تاثیر بر پذیرش کلی را ابتدا کاپاکاراگینان و سپس زانتان داشتند اما افزایش مونودیگلیسیرید تغییر محسوسی در میزان رضایت کلی ایجاد نکرد و فقط ۰/۵٪ در هر سطحی از کاپاکاراگینان افزایش رضایت رخ داد.

۵) سپاسگزاری

نگارندگان این مقاله مراتب تشکر و سپاس خود را از پروفسور علی معتمدزادگان از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به جهت راهنمایی‌های ارزنده ایشان و همچنین شرکت شیر پاستوریزه پاک برای در اختیار قراردادن امکانات لازم جهت انجام این پژوهش اعلام می‌دارند.

۶- منابع

[1] Bakhshi, B., Hakimzadeh, V., Rashidi, H. (2021). Producing and Investigating the Physicochemical and Sensory Properties of Flavored Milk Drink Using Berry Juice and Two types of low-fat and high-fat milk. Iranian Journal of Food Science and Technology, No. 118, Vol. 18, Pages 337-348.

[2] Zarabadipour, F., Piravi-vanak, Z., Aminifar, M. (2018). Optimization of chocolate milk formulation containing gum tragacanthin using response surface method. Journal of food industry research, No 3, Vol. 29, Pages 131-144.

[3] Alipoor, A., Danshi, M., Sadeghian, A. (2020). Aroma and texture related cross-modal interactions for sugar reduction in chocolate milk. Iranian Journal of Food Science and Technology, No. 105, Vol. 17, Pages 169-179.

[4] Mehrabi, Z., Goli, M. (2018). Production of Dairy Dessert Based on Formulation of Date Syrup, Corn Starch and Gelatin Using Response Surface Methodology (RSM). Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, Vol. 13, No. 3, Pages 115-125.

[5] Arab, M., Razavi, S. H., Hosseini, S. M., Nayebzadeh, K., Meybodi, N. M., Khanniri, E., & Mortazavian, A. M. (2019). Production and characterization of functional flavored milk and flavored fermented milk using microencapsulated canthaxanthin. LWT, 114, 108373.

[6] Samari, N., Honarvar, M., Mizani, M. (2022). Effect of using a combination modified starch white kappa and uta carrageenan stability and rheological and sensory properties of chocolate milk. Iranian Journal of Food Science and Industry, No. 126, Volume 19, Pages 373-386.

[7] Jafari, M., Fadaei Noghani, V., Daneshi, M. (2015). Investigating production of functional chocolate milk using sweetners rebaudioside A, inulin, oligofructose and isomalt. Journal of Food Industry Research, Vol. 26, No 1, Pages 123-137.

[8] Mohammadi Alasti, F., Asefi, N., Maleki, R., Seiiedlou Heris, S. (2020). The Evaluation of Desirable Aromatic Components and Polyphenolic Compounds in the Process of Cocoa Powder Production. Journal of research and innovation in food science and industry, Vol. 9, No 2, Pages 161-174.

[9] Shahab Navaei, F., Qadi, A., Naghizadeh Raisi, Sh. (2023). Investigating the effectiveness of carboxymethyl cellulose and κ-carrageenan gums in stabilizing cocoa milk with reduced protein. Journal of innovation in food science and technology, 15th volume, 2nd issue, pages 119-136.

[10] Ostadzadeh, M., Abbasi, S., Ehsani, M. (2012). The effect of ultrasound treatment on increasing the stability of cocoa milk. Iranian Journal of Nutritional Sciences and Food Technology. The seventh year, number 2, pages 47-56.

[11] Gerdabi Targhi, S., Aminifar, M., Moslehi Shad, M. (2017). Optimization pistachio milk formulation using response surface methodology and evaluation of its viscosity, physicochemical and sensory properties. Food Science and Industry, No. 75, Vol. 15, Pages 161-172.
[12] Ouraji, M., Alimi, M., Motamedzadegan A., & Shokoohi SH. (2020). Faba bean protein in reduced fat/cholesterol mayonnaise: Extraction and physico-chemical modification process. Journal of food science and technology. 57, 1774-1785.
[13] Seo, C. W., & Yoo, B. (2021). Effect of κ-carrageenan/milk protein interaction on rheology and microstructure in dairy emulsion systems with different milk protein types and κ-carrageenan concentrations. Journal of Food Processing and Preservation, 45(1), e15038.
[14] Shahidi, S. A. (2022). Effect of solvent type on ultrasound-assisted extraction of antioxidant compounds from Ficaria kochii: Optimization by response surface methodology. Food and Chemical Toxicology, 112981.
[15] Salimian, S., Khosrowshahi Asal, A., Zamordi, Sh. (2012). The effect of type and amounts of three different stabilizers on stability, rheological and sensory properties of chocolate milks. Journal of Food Industry Research, Vol. 22, No. 2, Pages 166-173.
[16] Kamińska-Dwórznicka, A., Kot, A., & Samborska, K. (2021). Ice recrystallization in model glucose/fructose and honey powder solutions as affected by selected stabilizers. Journal of Food Processing and Preservation, 45(10), e15793.
[17] Thilakarathna, R. C. N., & Madhusankha, G. D. M. P. (2020). Impact of Ultra-Sonication on Gelation Process in Dairy Products Incorporated with Polysaccharides. Food and Nutrition Sciences, 11(5), 327-335.
[18] Utomo, A. R., Budianta, T. D., Harianto, E. F. E., Anastasia, G., Widayu, G. C., & Wiradinata, R. A. (2022). Effect of Kappa-Carrageenan Concentration on Physical Properties of Carrot Pineapple Velva. In E3S Web of Conferences (Vol. 344, p. 04006). EDP Sciences.
[19] Ataye Salehi, A., Irani, M., Mazaheri Tehrani, M. (2020). Optimum Formulation of Fruit Acidic Drink from Mixture of Soybean Milk Powder and Milk Powder by RSM Method. Journal of innovation in food science and industry, 11th volume, 4th issue, pages 13-24.
[20] Lajevardi, J., Yarmand, M., Imam Djoma, Z., Niasri Neslaji, A. (2019). Synergistic effect of locust bean and xanthan gum on viability of probiotic bacteria and water holding capacity of synbiotic yugort from camel milk. Iranian food science and technology research Journal, Vol. 16, No. 1, Pages 131-143.
[21] Natghi, L., Rezaei, M. (2021). Effect of xanthan gum and carboxymethyl cellulose gum on physicochemical properties and sensory of Baguette bread. Iranian Journal of Food Sciences and Technology, No. 113, Vol. 18.
[22] Loi, C. C. (2020). Monoglyceride-based emulsifier technology to enhance emulsion stability in milk coffee beverages (Doctoral dissertation, University of Otago).
[23] Lotfian, F., Emam Djome, Z., Karami, M., Moeini, S. (2020). The role of egg whites and pH increase on the shelf life and viscosity of chocolate milk drinks. Iranian Journal of Food Science and Technology, No. 99, Vol. 17, Pages 137-146.
[24] Abedini, A., Pourahmad, R., Hashemi Rawan, M. (2019). The effect of replacing rhabdioside A and maltodextrin on the physicochemical and sensory characteristics of cocoa milk. Journal of Innovation in Food Science and Technology, 11th year, 2nd issue, pages 131-142.
[25] Nateghi, L., Shahab Lavasani, A., Ahmadi, M. (2019). Effect of Mulberry Syrup and Basil Seed and Tragacanth Gums on Physicochemical, Antioxidant and Sensory Characteristics of Chocolate Milk. Journal of Food Industry Engineering Research, Vol. 18, No. 66, Pages 87-100.
[26] Zarabadipour, F., Piravi-Vanak, Z., Aminifar, M. (2020). Optimization of coconut milk formulationcontaining gum tragacanth using response surface method. Journal of Food Sciences and Industries, No. 104, Vol. 17, pages 13-25.
[27] Mirarab Razi S., Motamedzadegan, A., Shahidi, S. A., & Rashidinejad A. (2019). Physical and rheological properties of egg albumin foams are affected by ionic strength and basil seed gum supplementation. International Journal of Chemical Engineering 2019, 1-8.
[28] Amini, H., Rufe Garinejad, L. (2018). Optimizing the production of doogh containing transglutaminase enzyme using milk protein concentrate. Journal of innovation in food science and industry, 10th year, 4th issue, pages 13-30.
[29] Hami, D., Gelli, M. (1400). Optimization of Vanilla Ice Cream Formula by Replacement of Skim Milk Powder with Quinoa Flour by Response Surface Methodology (RSM). Iranian food science and technology research Journal, Vol. 17, No. 2, pages 273-285.
[30] Kazemizadeh, R., Fadai-Noghani, V. (2016). The determination of some physicochemical properties and overall acceptability of functional flavored milk containing pomegranate peel extract and date palm syrup during cold storage. Iranian

Journal of Food Science and Technology, No. 54, Vol. 13, pages 15-24.
[31] Ahmadzadeh Qavidel, R., Askari, H., Ghiafe Davoudi, M. (2016). Investigation on the effect of carrageenan gum addition on the qualitative characteristics of walnut drink. Food Science and Industry Quarterly, No. 57, Vol. 13, pages 45-54.
[32] Biglarian, N., Rafe, A., & Shahidi, S. A. (2021). Effect of basil seed gum and κ-carrageenan on the rheological, textural, and structural properties of whipped cream. Journal of the Science of Food and Agriculture, 101(14), 5851-5860.
[33] Taheri, A., Abedian Kenari, A., Motamedzadegan, A., & Habibi Rezaie, M. (2011) Optimization of goldstripe sardine (Sardinella gibbosa) protein hydrolysate using Alcalase® 2.4L by response surface methodology. CyTA-Journal of Food 9 (2), 114-120.

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Effect of xanthan, carrageenan and mono-diglyceride stabilizers on the sensory and physicochemical characteristics of cocoa milk using the response surface methodology

Mohammad Javad, Morshedhassan[1*], Shabnam, Hamzeh[2], Zahra, Siyar

1- MSc., Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tajan Institute for Higher Education, Qaemshahr, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tajan Institute for Higher Education, Qaemshahr, Iran.

3- MSc., Research and development manager, Pak Dairy Company, Tehran, Iran.

ABSTRACT

Phase separation and cocoa precipitation at the bottom of the bottle of cocoa milk is unpleasant from the consumer's point of view. Usually the amount of cocoa particles precipitate at the bottom of the bottle is of most importance. The aim of this research was to investigate the effect of five levels of stabilizers including: xanthan, κ-carrageenan and mono-diglyceride on the sensory and physicochemical characteristics of cocoa milk using the response surface method (RSM). Therefore, 20 treatments were produced in three blocks with six replications at the central point, then physicochemical properties and sensory evaluation tests were performed. Numerical optimization method has been applied to produce optimal cocoa milk with a suitable viscosity of 110 centipoise and the lowest amount of phase separation and precipitation. The suggested samples of the software were compared in the production laboratory with the real results of cocoa milk with a one-sample T-test software at a 95% confidence level, which confirmed the correctness of the predicted model due to the absence of significant differences. Based on the results, it was found that the increase of hydrocolloids caused an increase in viscosity as a confidence level ($p<0.001$), as well as an increase in product stability and a decrease in the amount of sediment formation. Sensory evaluation showed that κ-carrageenan had the greatest effect on overall acceptance, followed by xanthan and mono-diglyceride ($p<0.001$).

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 2023/7/27
Accepted: 2023/9/2

Keywords:

cocoa milk,
response surface method,
stabilizer,
physical stability.

DOI: 10.22034/FSCT.20.143.170
DOR:20.1001.1.20088787.1402.20.143.13.5

*Corresponding Author E-Mail:
siavashmorshedi@yahoo.com