

بهینه‌سازی فرمولاسیون شکلات شیری غنی‌شده با روغن دانه چیا، ویتامین D3 و کلسیم به روش سطح پاسخ

بی‌بی‌مرضیه رضوی‌زاده^{1*}، مصطفی شهیدی نوقابی²، سمیرا یگانه‌زاد³، سحر هاشمی⁴

1- دانشیار، گروه ایمنی و کنترل کیفیت مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران
* نویسنده مسئول (m.razavizadeh@rifst.ac.ir)

2- دانشیار، گروه شیمی مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

3- دانشیار، گروه فرآوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

4- مدیر تولید، شرکت بهناز گلپهار، مشهد، ایران

چکیده

تاریخ دریافت: 1399/01/20
تاریخ بازنگری: 1399/05/13
تاریخ پذیرش: 1399/06/12
تاریخ انتشار برخط: 1399/06/15

واژه‌های کلیدی

ارزیابی حسی
غنی‌سازی
فراسودمند

در این پژوهش بهینه‌یابی فرمولاسیون شکلات غنی‌شده با روغن چیا به‌عنوان منبع امگا-3، ویتامین D3 و کلسیم به روش سطح پاسخ مطالعه گردید. براین اساس مقادیر متفاوت کلسیم (60، 95 و 130 میلی‌گرم)، ویتامین D3 (0/5، 0/75 و 1 میکروگرم) و روغن چیا (1، 3 و 5 میلی‌گرم) در 20 فرمولاسیون به شکلات افزوده شدند و سپس ویژگی‌های حسی شکلات‌های غنی‌شده توسط ارزیابان سنجیده شدند. براساس آنالیز سطح پاسخ، 24 نمونه بهینه پیشنهاد شد که در تمام آنها مقدار روغن چیا در حد کمینه دامنه (1 میلی‌گرم) و کلسیم در حد بیشینه آن (130 میلی‌گرم) قرار داشت. لذا از میان آنها سه فرمول با مقادیر متفاوت ویتامین D3 (0/5، 0/75 و 1 میکروگرم) انتخاب شدند و آزمون‌های ارزیابی حسی، بافت‌سنجی، رنگ‌سنجی، رفتار گرمایی، تعیین رطوبت، فعالیت آبی و عدد پراکسید روی این نمونه‌ها در ابتدای تولید و پس از 3 ماه نگهداری انجام شدند. ارزیابی‌های حسی نشان داد که شاخص‌های طعم، بافت و پذیرش کلی شکلات‌های غنی‌شده نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار داشتند ($P < 0/05$). شاخص سفیدی و فعالیت آبی به‌ترتیب نسبت به نمونه شاهد افزایش و کاهش معنی‌دار نشان دادند؛ درحالی‌که سفتی و عدد پراکسید تیمارها نسبت به شاهد تغییرات معنی‌داری نداشتند. دمای شروع ذوب شکلات غنی‌سازی‌شده نسبت به شاهد کاهش یافت اما نقطه ذوب تقریباً یکسانی داشتند. براساس این یافته‌ها به‌نظرمی‌رسد کاهش پذیرش کلی شکلات‌های غنی‌شده به واسطه عطر و طعم روغن چیا حاوی امگا-3 باشد.

مقدمه

شوند. تمامی اسیدهای چرب امگا-3 برای سوخت‌وساز معمولی بدن انسان مهم و اساسی هستند (Awad, Helgason, Weiss, A. Decker, & McClements, 2009). یکی از منابع گیاهی امگا-3، گیاه چیا¹ است. از دانه‌های چیا می‌توان 25 تا 30 درصد روغن استخراج

اسیدهای چرب امگا-3 موادی کلیدی برای رشد طبیعی و نرمال افراد هستند. این اسیدهای چرب امگا-3 را به‌این‌دلیل ضروری نامیده‌اند که برای ادامه حیات بدن کاملاً ضروری هستند و توسط بدن انسان قابل تولید نیستند و حتماً باید از طریق رژیم غذایی و مکمل‌ها تأمین

¹ *Salvia hispanica*

Konar, Poyrazoğlu و Artik (2015) در تحقیق خود از کربنات کلسیم در سطوح مختلف برای غنی‌سازی شکلات شیری استفاده کردند. نتایج آنها نشان داد که بهترین غلظت کربنات کلسیم در فرمول شکلات مقدار 450 میلی‌گرم به ازای 100 گرم شکلات شیری است به طوری که کلیه خواص فیزیکوشیمیایی و نیز خواص حسی آن مشابه با شکلات معمولی می‌باشد. در تحقیق دیگری Toker و همکاران (2018) شکلات سفید را با دکوزاهگزانوئیک اسید (DHA³) و ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA⁴) (به دو صورت کپسول شده و میکروالگا حاوی این اسیدهای چرب) پس از فرایند کنچینگ⁵ غنی‌سازی کردند و دریافتند که شکلات سفید می‌تواند به عنوان حاملی برای مواد زیست‌فعال حساس به حرارت استفاده شود. از سوی دیگر، Freitas و همکاران (2016) روی غنی‌سازی شکلات تیره با بادام، بذر کتان و کینوآ مطالعه‌ای انجام دادند. در این مطالعه بادام، بذر کتان و کینوآ به میزان 9 درصد در شکلات جایگزین شدند و ارزیابی پذیرش (پذیرش کلی، ظاهر و قصد خرید) و ارزش تغذیه‌ای فرمولاسیون‌ها بررسی گردید. نمونه‌های شکلات‌های مختلف، به جزء موارد غنی‌شده با دانه کتان، مورد پذیرش و سطح مطلوبی از قصد خرید را نشان دادند (Freitas et al., 2016).

با وجود تحقیق‌های صورت گرفته در خصوص غنی‌سازی شکلات با منابع مختلف امگا-3 یا ویتامین‌های A، E، یا D که به آنها اشاره شد (Freitas et al., 2016)، تاکنون گزارشی در خصوص استفاده از دانه چیا و روغن آن برای غنی‌سازی شکلات منتشر نشده است. ضمن اینکه غنی‌سازی شکلات با چند عامل امگا-3، ویتامین D3 و کلسیم به طور هم‌زمان صورت نگرفته است. لذا، این پژوهش با هدف بهینه‌یابی فرمولاسیون و بررسی برخی خواص فیزیکی و شیمیایی شکلات شیری غنی‌شده با استفاده از روغن دانه چیا به عنوان منبع امگا-3 و نیز ویتامین D3 و کلسیم به روش پاسخ سطح بعد از تولید و پس از 3 ماه نگهداری مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه شکلات شامل کاکائو، پودر شیر بدون چربی،

کرد، روغن دانه‌های چیا از حدود 55 درصد اسید چرب امگا-3 (آلفا لینولنیک اسید¹)، 18 درصد امگا-6، حدود 6 درصد امگا-9 و حدود 10 درصد چربی‌های اشباع شده تشکیل شده است (Ayerza, 1995; Costantini et al., 2012; Dunn, 2015; Solorza-Feria, 2014).

ویتامین D3 یک ویتامین محلول در چربی است و در زمره ویتامین‌های حیاتی جای دارد. ویتامین D3 برای سلامت استخوان‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و با سلامت سیستم ایمنی بدن و مقابله با انواع سرطان پیوند خورده است. همچنین، ویتامین D3 برای تنظیم میزان کلسیم و فسفات بدن لازم است (Holick, 1996). کلسیم از مهم‌ترین مواد معدنی موجود در بدن است که به طور طبیعی می‌توان آن را از انواع مختلف غذاها و نوشیدنی‌ها دریافت کرد. این ماده معدنی به حفظ سلامت استخوان‌ها، به حفظ عروق خونی سالم در بدن، تنظیم فشارخون و حتی پیشگیری از ابتلا به دیابت نوع 2 نیز کمک می‌کند (van der Hee et al., 2009).

شکلات به عنوان یکی از پرمصرف‌ترین تنقلاتی است که در رژیم‌های غذایی وجود دارد و فراورده مناسبی برای غنی‌سازی است (Afoakwa, 2010). شکلات‌های غنی‌شده یا فراسودمند به عنوان یکی از فراورده‌های جدید در بازار مصرف امروز دنیا مطرح هستند. براین اساس و با هدف ارتقاء شاخص‌های تغذیه‌ای، غنی‌سازی شکلات با انواع مواد ریزمغذی معدنی مانند فومارات آهن، مس، منیزیم و نیز ویتامین‌های مختلف از جمله ویتامین A و یا ویتامین D صورت پذیرفته است (Gültekin-Özgülven, Karadağ, Duman, Özkal, & Özçelik, 2016; Marsanasco, Calabró, Piotrkowski, Chiamoni, & del V. Alonso, 2016; Tolve et al., 2018). همچنین استفاده از انواع فیبرهای محلول خوراکی مثل اینولین یا الیگوفروکتوز² از جمله مواردی هستند که برای غنی‌سازی شکلات مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Lacatusu et al., 2013). استفاده از پروبیوتیک‌ها نیز در شکلات دارای اثرات مثبت سلامتی است که در راستای غنی‌سازی فراورده‌های کاکائویی صورت می‌پذیرد (Douglas, Rainey, Wong, Edmondson, & LaCroix, 1981). شاکر، 1394؛ کاظمی‌پور، 1393).

³ Docosahexaenoic acid (DHA)

⁴ Eicosapentaenoic acid (EPA)

⁵ Conching

¹ α - Linolenic acid (ALA)

² Oligofructose

شکلات شیری (کاکائو 6/4 درصد، چربی 31 درصد، لسیتین 0/6 درصد، پودر شیر بدون چربی 15 درصد و شکر 47 درصد) در دستگاه آسیاب ساچمه‌ای نیمه‌صنعتی (حاوی ساچمه‌های استیل با قطر 9 میلی‌متر)، (Memak، ساخت ترکیه) به روش Yeganehzad، Ashkezary، Todaro، Vatankhah و Maghsoudlou (2017) با بعضی اصلاح‌ها تهیه گردید. ابتدا مواد اولیه شکلات (پودر کاکائو، شکر، لسیتین و چربی) وزن شدند و به آسیاب ساچمه‌ای منتقل شدند و با سرعت 100 دور در دقیقه و به مدت 90 دقیقه تحت فرایند ریفاینینگ⁴ قرار گرفتند. شکلات به‌دست‌آمده تحت فرایند کنچینگ در همان دستگاه با دور آهسته (66 دور در دقیقه) به مدت 3 ساعت و در دمای 45 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. مقادیر مختلف کرینات کلسیم، ویتامین D3 و روغن چیا (حاوی امگا-3) براساس ترکیب تیماری به‌دست‌آمده از نرم‌افزار دیزاین اکسپرت⁵ (نسخه 7) در 15 دقیقه انتهایی مرحله کنچینگ به شکلات اضافه و مخلوط شدند. شکلات غنی‌شده در قالب‌های پلی‌کرینات (با ابعاد 29×29×4 میلی‌مترمکعب) که از قبل در آون (Memmert، UF 55، ساخت آلمان) و در دمای 45 درجه سانتی‌گراد گرم‌شده بودند، ریخته‌شده و سرد شدند. شکلات آماده‌شده پس از جداسازی از قالب در کاغذ مناسب مخصوص شکلات بسته‌بندی شدند و در پاکت‌های سلفونی زیبدار قرار گرفتند. سپس این شکلات‌ها برای آزمون‌های حسی، آزمون‌های بافت‌سنجی، حرارتی و فیزیکوشیمیایی استفاده شدند.

برای بررسی اثر میزان سطوح مختلف ویتامین D3، روغن چیا و کلسیم بر ویژگی‌های حسی شکلات تولیدشده از طرح مرکب مرکزی (CCD⁶) استفاده شد. لازم به ذکر است که سطوح مختلف این سه ترکیب مغذی براساس مقادیر حداقلی و حداکثری تعیین‌شده توسط سازمان غذا و دارو انتخاب شدند. پاسخ‌های موردبررسی شامل پارامترهای رنگ، طعم، بافت و پذیرش کلی بود.

لسیتین، چربی جایگزین کره کاکائو (CBS¹) و شکر با همکاری شرکت بهناز گلپهار تهیه گردید. ویتامین D3 (50000IU) از شرکت زهراوی (تبریز، ایران) خریداری شد. کرینات کلسیم (CaCO₃) و آنتی‌اکسیدان 2،6-دی-ترشری-بوتیل-1-4-متیل فنول² (BHT) از شرکت مرک (ساخت آلمان) تهیه شدند. دانه چیا از شرکت کیان فود (ایران) خریداری گردید. تمام حلال‌های مورداستفاده در این طرح و نیز پتاسیم هیدروکسید (KOH) از شرکت دکتر مجلی (ایران) خریداری شد. لازم به ذکر است که برای تمام آزمون‌ها از آب یون‌زدایی‌شده استفاده گردید.

روش‌ها

روغن دانه چیا به روش پرس سرد (دستگاه روغن‌گیری شرکت باراد، مدل D90، ساخت ایران) در دمای 40 درجه سانتی‌گراد از دانه‌های روغنی چیا تهیه گردید و تا زمان مصرف در فریزر (19- درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد. از روغن به‌دست‌آمده پروفایل اسیدهای چرب آن توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی (Agilent، 7890A، ساخت آمریکا) و با آشکارساز یونش شعله³ تهیه گردید (Ferreira *et al.*, 2017). بر پایه این آنالیز بیشینه اسید چرب موجود در آن آلفا-لینولنیک اسید (63/62 درصد) و مجموعه اسید چرب ترانس آن 0/01 درصد به‌دست‌آمد. **جدول (1)** پروفایل اسیدهای چرب روغن دانه‌های چیا در این پژوهش را نشان می‌دهد.

جدول 1- پروفایل اسیدهای چرب روغن دانه چیا

نام اسید چرب	نوع اسید چرب	غلظت (درصد)
میریستیک	C14:0	0/20
پالمیتیک	C16:0	8/00
پالمیتولنیک	C16:1	0/02
مارگاریک	C17:0	0/03
استئاریک	C18:0	2/93
اولئیک	C18:1	5/27
لینولنیک	C18:2	19/71
لینولنیک	C18:3	63/62
آراشیدیک	C20:0	0/11
بهنیک	C22:0	0/15
لینگوسریک	C24:0	0/06

⁴ Refining

⁵ Design Expert

⁶ Central Composite Design

¹ Cacao Butter Substitution

² 2,6-Di-tert-butyl-4- methylphenol

³ Flam Ionisation Detector (FID)

جدول 2- تیمارها و پاسخ‌های مربوط به آنالیز حسی برای بهینه‌یابی نمونه‌های شکلات غنی‌شده براساس روش پاسخ سطح*

دور	متغیرهای مستقل			پاسخ‌ها			
	ویتامین D3 (میکروگرم)	روغن چیا (میلی‌گرم)	کلسیم (میلی‌گرم)	رنگ	طعم	بافت	پذیرش کلی
1	60	5	1/00	1/95	3/34	1/81	3/56
2	130	5	1/00	2/53	3/98	1/82	3/70
3	130	3	0/75	2/85	3/93	2/59	3/53
4	95	3	0/75	2/71	3/71	2/67	3/69
5	60	1	1/00	3/60	3/41	3/92	3/89
6	95	5	0/75	2/24	3/52	2/12	3/62
7	95	3	0/75	3/10	3/80	2/87	3/68
8	95	3	0/75	3/23	3/80	2/95	3/76
9	60	3	0/75	2/74	3/39	2/72	3/75
10	60	5	0/50	1/84	3/41	1/75	3/62
11	130	1	1/00	3/68	3/97	3/82	3/72
12	95	1	0/75	3/98	3/84	3/65	3/75
13	130	1	0/5	4/00	4/00	3/90	3/69
14	95	3	1/00	2/64	3/65	2/52	3/71
15	60	1	0/50	3/23	3/44	3/96	3/97
16	95	3	0/75	3/31	3/81	2/94	3/58
17	95	3	0/75	2/60	3/90	2/67	3/68
18	95	3	0/75	2/91	3/75	2/77	3/65
19	130	5	0/50	2/84	3/97	2/26	3/65
20	95	3	0/50	2/77	3/90	2/64	3/72

* مقادیر در نظر گرفته شده به ازای 100 گرم شکلات می‌باشد.

داشتند و در محدوده سنی 30 تا 45 سال بودند. شکلات‌های غنی‌شده در ظروف یکبار مصرف چیده شدند و از کدهای سه رقمی جهت نام‌گذاری نمونه‌ها استفاده شد. در فواصل بین ارزیابی نمونه‌ها از ارزیابان خواسته شد تا برای از بین بردن اثر طعم نمونه قبلی قطعه‌ای نان بستنی و مقداری آب مصرف کنند (Larmond, 1977; Toker et al., 2018).

نمونه‌های شکلات از نظر طعم، بافت، رنگ و پذیرش کلی، توسط آزمون 5 نقطه‌ای هدونیک (5= بسیار دوست دارم؛ 4= دوست دارم؛ 3= نه دوست دارم و نه دوست ندارم؛ 2= دوست ندارم؛ 1= بسیار دوست ندارم) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

رنگ‌سنجی و شاخص سفیدی

اندازه‌گیری شاخص‌های رنگی L^* ، a^* و b^* نمونه‌های شکلات با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج 1^1 (WF-30، Dwave، ساخت چین) در دمای 5 درجه سانتی‌گراد انجام شد.

¹ Colorimeter

از رابطه (1) چندجمله‌ای درجه دوم برای برازش داده‌های تجربی و پیش‌بینی پاسخ‌ها استفاده شد. معنی‌داری هر معادله از طریق آنالیز واریانس (ANOVA) در سطح 5 درصد تعیین شد.

رابطه (1)

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3$$

در رابطه (1)، Y متغیر وابسته (پاسخ‌ها)، b ضرایب معادله و X متغیرهای مستقل می‌باشد. بهترین مدل دارای مدلی است که معنی‌دار بوده و عدم برازش آن معنی‌دار نباشد و ضریب همبستگی قابل‌قبولی داشته باشد. متغیرهای مستقل و پاسخ‌های در نظر گرفته شده برای بهینه‌یابی در جدول (2) آورده شده است.

آزمون‌ها

ارزیابی‌های حسی

جهت انجام ارزیابی حسی فرم‌های ارزیابی در اختیار 37 نفر از افراد (مرد و زن) قرار گرفت که مصرف‌کننده دائم شکلات بودند و با پارامترهای کیفی شکلات آشنایی کامل

زیر صافی (فاز روغنی) در دمای محیط و زیر هود آزمایشگاهی انجام شد. مقدار 5 گرم از روغن استخراج شده در 30 میلی‌لیتر از مخلوطی از حلال‌های کلروفرم و اسید استیک به نسبت 3:2 در یک ارلن مایر حل گردید و 0/5 میلی‌لیتر از محلول اشباع یدور پتاسیم به آن افزوده شد و به مدت 1 دقیقه در تاریکی قرار گرفت. سپس، از تاریکی درآورده و بلافاصله 30 میلی‌لیتر آب مقطر تازه جوشیده به آن اضافه گردید. بعد از افزودن معرف چسب نشاسته تازه تهیه شده با محلول تیوسولفات سدیم 0/01 نرمال تیترا شد. عدد پراکسید (PV¹) برحسب میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم مطابق با رابطه (4) محاسبه گردید.

رابطه (4)

$$PV = \frac{N \times V \times 1000}{m}$$

در رابطه (4)، N نرمالیت تیوسولفات، V حجم تیوسولفات مصرفی و m جرم روغن وزن شده است.

رفتار گرمایی شکلات

ویژگی‌های حرارتی نمونه‌های شکلات با استفاده از گرماسنج روبشی افتراقی² (Mettler, Model DSC1, Toledo, ساخت سوئیس) ارزیابی شد. در دمای 25 درجه سانتی‌گراد و رطوبت هوای 30 درصد، حدود 15 میلی‌گرم از نمونه شکلات با دقت در ظرف آلومینیومی مهرموم شده وزن شد، سپس از صفر تا 70 درجه سانتی‌گراد با سرعت تغییر دمای 5 درجه سانتی‌گراد در دقیقه و تحت اتمسفر نیتروژن خشک حرارت داده شدند (Afoakwa, Paterson, Fowler, & Vieira, 2008;) (Ostrowska-Ligęza et al., 2018).

محاسبه‌های آماری

برای بهینه‌یابی از روش پاسخ سطح و برای بررسی ویژگی‌های شکلات تولید شده طی زمان از طرح کاملاً تصادفی ساده در قالب آزمایش‌های فاکتوریل استفاده شد. مقایسه میانگین توسط آزمون توکی در سطح اطمینان 95 درصد و با کمک نرم‌افزار مینی‌تب نسخه 16.2.4 صورت گرفت.

براساس پارامترهای L*, a* و b*، تغییرات رنگ (ΔE) شاخص سفیدی (WI) براساس رابطه‌های (2) و (3) محاسبه شدند (Goyal et al., 2015; Jeyarani, Banerjee, Ravi, & Krishna, 2015; Salehi, 2017; 2018).

رابطه (2)

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0.5}$$

رابطه (3)

$$WI = 100 - [(100 - L^*)^2 + (a^*)^2 + (b^*)^2]^{0.5}$$

فعالیت آبی و رطوبت

تعیین فعالیت آبی شکلات‌ها با استفاده از دستگاه سنجش فعالیت آبی (Novasina, lab master-Standard, ساخت سوئیس) در دمای 25 درجه سانتی‌گراد و در سه تکرار برای هر تیمار انجام پذیرفت. برای اندازه‌گیری رطوبت شکلات‌ها از روش آون تحت‌خلأ و تا رسیدن به وزن ثابت استفاده شد (Salehi, 2018).

سفتی و چسبندگی

پارامترهای بافتی نمونه‌های شکلات با استفاده از دستگاه سنجش بافت (TA.XTplus, Stable Micro Systems, ساخت انگلستان) به روش فشاری اندازه‌گیری شد. برای این منظور از پروب استوانه‌ای با قطر 20 میلی‌متر با سرعت 1 میلی‌متر بر ثانیه استفاده شد و نیروی بارگذاری روی 30 درصد ارتفاع نمونه تنظیم و جهت نمونه درمورد تمام نمونه‌ها ثابت نگه‌داشته شد. ابعاد نمونه‌های شکلات 4×29×29 میلی‌متر مکعب بود (Konar, Ozhan, Nevzat, Dalabasmaz, & Poyrazoglu, 2014; Konar et al., 2015; Toker et al., 2018).

تعیین عدد پراکسید

عدد پراکسید روغن معیاری از پایداری اکسیداسیونی آن در محصول غذایی است. از روش یدومتری برای تعیین عدد پراکسید روغن شکلات استفاده شد (AOAC, 2005). برای این منظور، حدود 50 گرم از نمونه شکلات رنده شد و به یک ارلن 250 میلی‌لیتری حاوی 100 میلی‌لیتر این-هگزان منتقل گردید. درحالی‌که اطراف و دهانه ارلن با فویل آلومینیومی پوشانده شد و روی همزن مغناطیسی (500 دور در دقیقه) در دمای 25 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از 24 ساعت محتوای ارلن از کاغذ صافی گذرانده شد و عمل حذف حلال روی مایع

¹ Peroxide Value

² Differential Scanning Calorimeter (DSC)

نتایج و بحث

ویژگی‌های حسی

شکلات از جمله محصول‌هایی است که مصرف‌کنندگان بیشتر به جهت طعم (بو و مزه) و احساس مطلوبی که هنگام مصرف آن تجربه می‌نمایند، آن را مصرف می‌کنند. لذا با توجه به اهمیت ویژگی‌های حسی در محصول‌هایی همچون شکلات، در این تحقیق در گام نخست 20 فرمولاسیون به دست آمده به روش سطح پاسخ، براساس آزمون ارزیابی حسی بررسی شد. در ادامه فرمولاسیون‌هایی که از نظر مصرف‌کننده مطلوب‌تر ارزیابی شدند، در مرحله بعدی مورد بررسی بیشتر قرار گرفت. لذا در این تحقیق از 20 فرمولاسیون تهیه شده با درصد‌های مختلف کلسیم، ویتامین D3 و روغن دانه چیا (امگا-3) براساس آنالیز سطح پاسخ و بهینه‌یابی، 3 فرمولاسیون که مطلوبیت بیشتری نشان دادند در مرحله بعدی به صورت کامل‌تری مورد آزمون فیزیکوشیمیایی، مکانیکی و حرارتی قرار گرفتند.

براین اساس ویژگی‌های حسی شکلات‌های غنی شده با کلسیم و ویتامین D3 و روغن دانه چیا (امگا-3) توسط ارزیابان مورد بررسی قرار گرفتند. سپس، براساس نتایج ارزیابی حسی، مدل درجه دوم به عنوان بهترین مدل برای برازش پاسخ‌های این مرحله تشخیص داده شد. پس از انجام آنالیزهای آماری برای بررسی اثر متغیرهای مستقل روی هریک از پاسخ‌ها، براساس معنی‌دار بودن مدل، معنی‌دار نبودن عدم برازش، ضریب همبستگی و دیگر پارامترهای آماری، قدرت پیش‌بینی مدل‌ها ارزیابی گردید. در ارزیابی‌های انجام شده مشخص گردید که مدل‌های مورد استفاده برای تمامی پاسخ‌ها معنی‌دار بوده و عدم برازش آنها فاقد معنی و ضریب همبستگی قابل قبولی را دارا می‌باشند. در جدول (3) تعدادی از ضرایب مربوط به معادله هریک از پاسخ‌ها و ضریب همبستگی (R^2) مربوطه ارائه شده است. دیگر ضرایب این معادله یعنی b_1 ، b_{12} ، b_{11} ، b_{22} ، b_{33} و b_{13} دارای مقادیر صفر بودند که در جدول (3) نوشته نشده است.

از آنجایی که معادله‌های مربوط به هریک از پاسخ‌ها قابلیت پیش‌بینی پاسخ براساس متغیرهای وابسته را داراست، لذا می‌توان از آنها برای رسم نمودارها و ارزیابی روند تغییرات آنها و همچنین بهینه‌یابی استفاده نمود. از آنجایی که هدف از این مرحله به دست آوردن نقاط بهینه است، لذا نمودارهای مربوط به هر پاسخ و جدول آنالیز واریانس آن آورده نشده است و تنها از آنها برای بهینه‌یابی استفاده شده است.

برای بهینه‌یابی، دامنه متغیرها در دامنه به کاررفته در آزمایش‌ها در نظر گرفته شد و امتیاز هریک از پاسخ‌های حسی ماکزیمم در نظر گرفته شد. قابل ذکر است که اثر متغیرها روی رنگ معنی‌دار نبود و معادله‌ای برای برازش داده‌های تجربی حاصل نشد. همچنین، از جدول (2) نیز مشاهده می‌گردد که با تغییر متغیرهای مستقل پاسخ رنگ بین 3/53 تا 3/97 تغییر کرده است، که در ارزیابی‌های حسی مقدار قابل توجهی نیست. با توجه به اینکه افزودن این ترکیبات تغییر چندانی در رنگ محصول ایجاد نمی‌کرد، لذا در بهینه‌یابی از این پاسخ استفاده نشد. حدود 24 فرمول بهینه توسط نرم‌افزار روش سطح پاسخ (RSM^1) پیشنهاد گردید که در تمام آنها مقدار روغن چیا در حد کمینه دامنه (1 میلی‌گرم) در نظر گرفته شده و کلسیم در حد بیشینه آن (130 میلی‌گرم) قرار داشت. لذا سه فرمول از این 24 فرمول بهینه پیشنهاد داده شده توسط نرم‌افزار انتخاب شد که تنها در مقادیر ویتامین D3 با هم متفاوت بودند. اما همان‌طور که در جدول (4) مشاهده می‌شود پاسخ‌ها در هر سه فرمول بسیار شبیه به هم هستند که می‌توان نتیجه گرفت سطوح مختلف ویتامین D3 (در دامنه مورد استفاده در این تحقیق) اثری بر طعم، بافت و پذیرش کلی نداشته است. قابل ذکر است که سه فرمول پیشنهاد شده توسط نرم‌افزار به شماره‌های 1، 2 و 3 در جدول (4) در ادامه مطلب به ترتیب با کدهای n_1 ، n_2 و n_3 و نمونه شاهد (n_0) نام‌گذاری شدند.

جدول 3- ضرایب معادله‌های مربوط به پاسخ‌های مختلف

متغیر	ضرایب				
	R^2	b_{23}	b_3	b_2	b_0
رنگ	0/74	1/11	-4/07	-0/15	5/30
طعم	0/93	-	-	-0/47	5/24
بافت	0/83	-	8/17	-	3/94
پذیرش	0/84	-	7/26	-	4/31

¹ Response Surface Methodology

جدول 4- سه فرمول بهینه پیشنهاد شده توسط نرم افزار به همراه پاسخ های مربوطه

دور	متغیرهای مستقل			پاسخ
	ویتامین D3 (میکروگرم)	روغن چیا (میلی گرم)	کلسیم (میلی گرم)	
1	0/92	1	130	پذیرش کلی بافت طعم 3/89 4/03 3/74
2	0/75	1	130	3/90 4/05 3/77
3	0/5	1	130	3/93 4/12 3/85

پیغمبر دوست و رسولی پیروزیان، 1396؛ فرزانه مهر، عباسی و سحری، 1387).

نتایج آزمون حسی بعد از 3 ماه نگهداری شکلات‌ها در دمای محیط (حدود 25 درجه سانتی‌گراد) نیز در جدول 5 آورده شده است. براساس این ارزیابی ویژگی‌های حسی شکلات‌های غنی شده پس از 3 ماه نگهداری نسبت به شاهد کاهش یافته بود. اگرچه در ویژگی رنگ تفاوت‌ها معنی‌دار نبودند ($P > 0/05$)، اما طعم، بافت و پذیرش کلی شکلات‌های غنی شده نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار نشان دادند. علت این امر به وجود ویتامین D3 و نیز روغن دانه چیا که حاوی اسید چرب امگا-3 نسبت داده می‌شود که سبب نرمی بافت شکلات می‌شوند و نیز گذشت زمان سبب اکسیداسیون اسید چرب امگا-3 موجود در روغن چیا می‌شود و این امر سبب تغییر طعم شکلات می‌گردد (Ilmi et al., 2017؛ حسن نژاد و همکاران، 1396؛ فرزانه مهر و همکاران، 1387). لذا ویژگی‌های حسی این شکلات‌ها از لحاظ طعم، بافت و پذیرش کلی به مرور زمان نسبت به شاهد کاهش یافتند. از آنجایی که مقدار روغن چیا در هر سه نمونه n_1 ، n_2 و n_3 ثابت بود، این تغییرات در میان تیمارها نسبت به یکدیگر معنی‌دار نبودند.

با انجام تست تأییدی (ارزیابی حسی) پاسخ‌های پیش‌بینی شده تأیید گردید (جدول 5، داده‌های مربوط به روز اول تولید). به‌طور کلی آزمون حسی نشان داد که افزایش ویتامین D3 و روغن چیا حاوی امگا-3 روی رنگ شکلات‌ها معنی‌دار نبود. اما طعم، بافت و پذیرش کلی نسبت به شکلات شاهد کاهش یافت (جدول 5). در حالی که در این سه فرمولاسیون بهینه (میان سطوح مختلف ویتامین D3) تفاوت معنی‌داری در ویژگی‌های آنها مشاهده نشد. گمارونی‌پور و عزیز (1397) اثر سطوح مختلف اسیدهای چرب امگا-3 استخراج شده روغن بزرک (0، 8، 12، 16 و 20 درصد) را بر شکلات شیری بررسی کردند و دریافتند که ویژگی‌های حسی نمونه‌های تولیدی کاهش یافت، اگرچه مزه، رنگ و قابلیت ذوب شدن در دهان کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان ندادند. اما ویژگی‌های بافت، شیرینی، تردی و پذیرش کلی نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری داشتند. آنها این نتایج را به افزایش سطوح مختلف امگا-3 در فرمولاسیون شکلات و جایگزینی آن به جای قند مصرفی در شکلات نسبت دادند. همچنین، نتایج مشابهی توسط دیگر محققان گزارش شده است (Ilmi, Praseptianga, & R A Muhammad, 2017؛ حسن نژاد، آزاد مرد دمیرچی، صوتی خیابانی،

جدول 5- ویژگی‌های حسی نمونه‌های شکلات براساس سه فرمول پیشنهاد شده توسط نرم افزار

کد نمونه	زمان	طعم	رنگ	بافت	پذیرش کلی
n_0	ابتدا	4/85±0/21 ^{a*}	4/10±0/12 ^a	4/81±0/09 ^a	4/85±0/20 ^a
	بعد از سه ماه	4/26±0/56 ^{ab}	4/00±0/79 ^a	4/29±0/91 ^a	4/25±0/65 ^{ab}
n_1	ابتدا	3/65±0/40 ^b	3/75±0/61 ^a	3/84±0/74 ^b	3/68±0/75 ^b
	بعد از سه ماه	3/03±0/14 ^c	3/53±0/66 ^a	3/21±0/78 ^{bc}	3/01±0/10 ^c
n_2	ابتدا	3/82±0/25 ^b	3/72±0/59 ^a	3/97±0/56 ^b	3/98±0/64 ^b
	بعد از سه ماه	3/07±0/21 ^c	3/26±0/53 ^{ab}	3/33±0/22 ^{bc}	3/09±0/22 ^c
n_3	ابتدا	3/90±0/41 ^b	3/69±0/88 ^a	4/00±0/56 ^b	4/00±0/32 ^b
	بعد از سه ماه	3/08±0/23 ^c	3/35±0/72 ^{ab}	3/29±0/63 ^{bc}	3/11±0/31 ^c

* حروف متفاوت در هر ستون به معنی تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($P < 0/05$).

جدول 6- پارامترهای رنگ سنجی نمونه‌های شکلات غنی شده

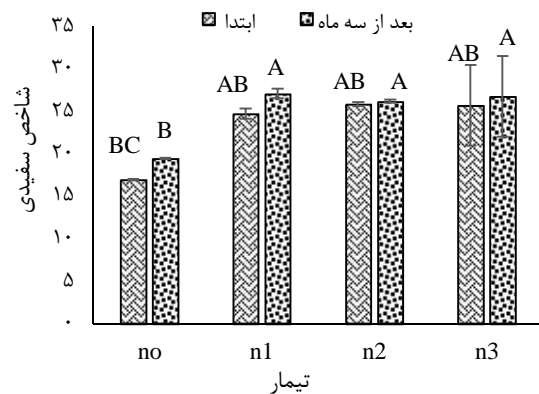
نمونه	زمان	L*	a*	b*	ΔE
n ₀	ابتدا	19/74± 0/04 ^c	8/26± 0/05 ^{bc}	18/16± 0/06 ^{ab}	0/106± 0/09 ^b
	سه ماه بعد	21/88± 0/14 ^{bc*}	9/89± 0/00 ^a	19/01± 0/17 ^a	0/117± 0/10 ^b
n ₁	ابتدا	27/60± 4/17 ^{ab}	7/13± 0/04 ^d	12/18± 0/34 ^c	8/965± 0/26 ^a
	سه ماه بعد	28/43± 0/66 ^a	8/74± 0/56 ^b	14/43± 3/14 ^{bc}	9/356± 0/52 ^a
n ₂	ابتدا	26/12± 0/56 ^{ab}	7/06± 0/02 ^d	12/42± 0/14 ^c	8/160± 0/30 ^a
	سه ماه بعد	27/55± 0/29 ^{ab}	7/81± 0/00 ^c	12/49± 0/21 ^c	10/42± 0/16 ^a
n ₃	ابتدا	27/23± 0/21 ^{ab}	8/07± 0/32 ^c	14/21± 2/41 ^{bc}	7/796± 4/58 ^a
	سه ماه بعد	28/59± 3/89 ^a	7/71± 0/05 ^{cd}	12/09± 0/04 ^c	9/189± 5/20 ^a

* حروف متفاوت در هر ستون به معنی تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($P < 0/05$).

رنگ‌سنجی

کلسیم کربنات، ویتامین D3 و روغن دانه چیا دارای تفاوت رنگ با شاهد بودند. این در حالی است که بین این سه نمونه اختلاف رنگ معنی‌داری مشاهده نگرددید. علت این امر آن است که مقدار کلسیم کربنات و روغن دانه چیا در سه فرمول بهینه ثابت بود (Jeyarani et al., 2015; Konar et al., 2015; Toker et al., 2018).

شاخص‌های رنگ نمونه‌های شکلات (L^* ، a^* و b^*) در ابتدای تهیه و نیز پس از مدت 3 ماه در جدول (6) داده شده است. شاخص L^* که معیاری از سفیدی و روشنی رنگ ماده موردنظر است برای نمونه‌های شکلات در محدوده 20-30 قرار گرفته‌اند. مقادیر این شاخص در سه نمونه شکلات غنی شده n₁، n₂ و n₃ نسبت به کنترل بیشتر بود و در زمان ابتدایی در هر سه نمونه شکلات غنی شده افزایش معنی‌دار نسبت به نمونه شاهد نشان داد. پس از مدت 3 ماه نگهداری شکلات‌ها در دمای محیط، این شاخص در سه نمونه نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار داشت، درحالی‌که تغییرات آن نسبت به مقدار اولیه خود نمونه‌ها (که عبارت از 19/75 برای شاهد و برای تیمارهای نمونه شکلات غنی شده n₁، n₂ و n₃ به ترتیب برابر با 27/23، 26/12 و 27/60 بودند) معنی‌دار نبود ($P > 0/05$)، (Jeyarani et al., 2015; Konar et al., 2015; Toker et al., 2018).



شکل 1- شاخص سفیدی شکلات‌های غنی شده در ابتدای تهیه و پس از 3 ماه نگهداری

مقدار تفاوت رنگ نمونه‌های شکلات (ΔE) در هر دو زمان بلافاصله بعد از تولید و پس از 3 ماه در سه نمونه شکلات غنی شده نسبت به شاهد به‌طور معنی‌دار افزایش یافت ($P < 0/05$)، درحالی‌که این سه نمونه نسبت به یکدیگر تفاوت رنگ معنی‌دار نداشتند. به‌طور کلی، بررسی پارامترهای رنگی حاکی از آن بود که شکلات‌های غنی شده با روغن چیا، ویتامین D3 و کلسیم کربنات دارای رنگی روشن‌تر از نمونه شاهد بود. علت این امر می‌تواند به محتوای مواد افزوده شده به فرمولاسیون شکلات مربوط باشد. سه نمونه غنی شده با

شاخص سفیدی یا شکوفه‌زدن معیاری از پایداری و ماندگاری شکلات در طی زمان است. با افزودن ویتامین D3 و روغن دانه چیا و نیز کربنات کلسیم به هر سه فرمولاسیون شکلات، مقدار شاخص سفیدی در هر دو زمان ابتدای تهیه و 3 ماه بعد نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار ($P < 0/05$) نشان داد (شکل 1). این نتایج حاکی از آن است که افزودن مستقیم ویتامین‌های چرب بر مقدار شکوفه‌زنی شکلات اثر گذاشته و به آن سرعت بخشیده است. وجود اسیدهای چرب امگا-3 در روغن

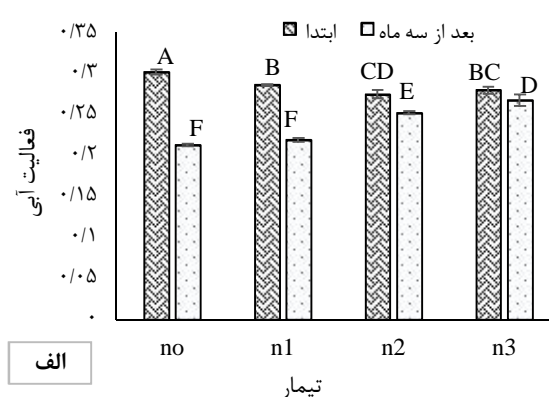
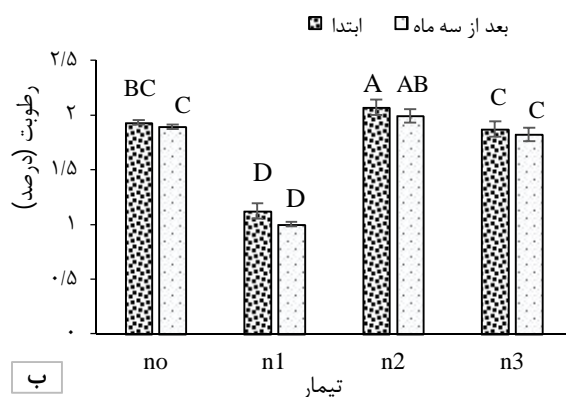
گذاشته است و فعالیت آبی آنها را کاهش داده است. این ویژگی را می‌توان به ویژگی جذب آب در کربنات کلسیم نسبت داد. همچنین، مقدار و نحوه افزودن امگا-3 و ویتامین D3 نیز ممکن است کمی بر میزان فعالیت آبی اثرگذار باشد (Konar et al., 2015; Toker et al., 2018).

شکل (2-ب) تغییرات محتوی رطوبت نمونه‌های شکلات را در زمان ابتدایی و پس از 3 ماه نگهداری نشان می‌دهد. مقادیر رطوبت نمونه‌های شکلات نسبت به شاهد متفاوت بودند اما در تمامی نمونه‌ها و نیز شاهد مقدار رطوبت پس از 3 ماه نسبت به مقدار اولیه خود کاهش یافت و البته این تغییرات معنی‌دار نبودند. Al-Marazeeq (2018) در مطالعه خود روی شکلات تیره غنی شده با جوانه گندم مقادیر رطوبت را 6/2 و 6/8 درصد به ترتیب برای شکلات تیره شاهد و شکلات تیره غنی شده با جوانه گندم گزارش کرد. در حالی که Ashkezary و همکاران (2017) در تحقیقی که روی فرمولاسیون شکلات‌های کم‌کالری با امولسیفایرهای گوناگون انجام دادند مقدار رطوبت شکلات‌ها را در محدوده 0/39 تا 0/52 درصد گزارش کردند. در پژوهش حاضر، مقادیر رطوبت شکلات‌های غنی شده و نیز شاهد کمتر یا مساوی 2 درصد به دست آمدند. این مقادیر رطوبت در محدوده قابل قبول برای شکلات است.

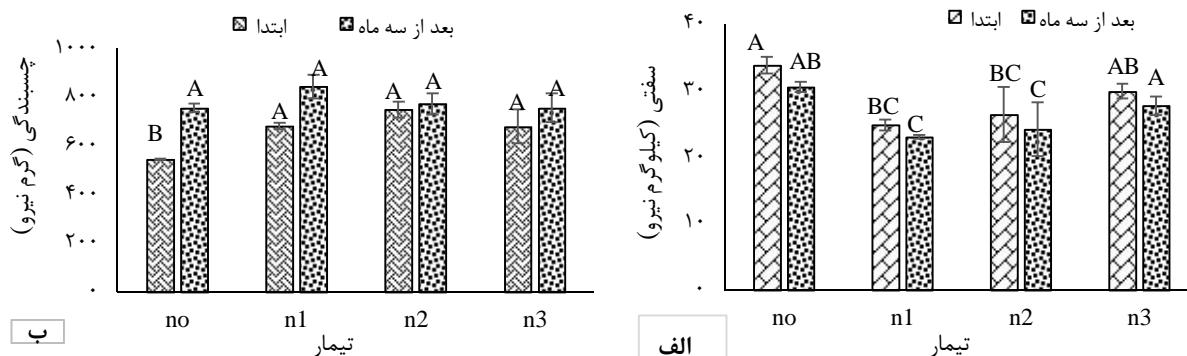
دانه چیا که دارای نقطه ذوب کمتری از روغن پالم CBS یا کره کاکائو می‌باشد، می‌تواند بر جریان روغن و مورفولوژی شکلات اثر گذاشته و اثر شکوفه‌زنی را افزایش دهد (Awad et al., 2009; Jeyarani et al., 2015; Konar et al., 2015; Toker et al., 2018). از آنجایی که مقدار روغن چیا در هر سه تیمار یکسان بود، شاخص سفیدی آنها تفاوت معنی‌دار نسبت به یکدیگر نداشتند. همچنین، این شاخص پس از 3 ماه در هر یک از نمونه‌ها و نیز شاهد اندکی افزایش نسبت به مقدار ابتدایی نشان دادند که این تغییرات نسبت به زمان ابتدایی هر یک از آنها معنی‌دار نبودند ($P > 0/05$).

فعالیت آبی و محتوی رطوبت

افزایش ویتامین‌های چرب D3 و روغن دانه چیا (امگا-3) و کربنات کلسیم به فرمولاسیون روغن سبب کاهش معنی‌دار ($P < 0/05$) فعالیت آبی در نمونه‌های شکلات نسبت به شاهد شد (شکل 2-الف). مقدار فعالیت آبی شکلات‌ها پس از 3 ماه نسبت به مقدار ابتدایی آنها دارای کاهش معنی‌دار بود، در حالی که نسبت به نمونه شاهد تنها در نمونه‌های n₂ و n₃ معنی‌دار بود. مقادیر فعالیت آبی نمونه‌های شکلات غنی شده در سطح قابل قبول (کمتر از 1 درصد) به دست آمد (Toker et al., 2018). به نظر می‌رسد افزودن ویتامین‌های چرب و نیز کربنات کلسیم بر فعالیت آبی و نیز رطوبت شکلات‌ها اثر



شکل 2- فعالیت آبی (الف) و محتوی رطوبت (ب) شکلات‌های غنی شده در ابتدای تهیه و پس از 3 ماه نگهداری



شکل 3- تغییرات سفتی (الف) و چسبندگی (ب) شکلات‌های غنی‌شده در ابتدای تهیه و پس از 3 ماه نگهداری

بافت‌سنجی

نتایج بافت‌سنجی نشان داد که افزایش ویتامین D3 و روغن دانه چیا (امگا-3) سبب کاهش سفتی شکلات گردید (شکل 3-الف). براساس آنالیز آماری، این کاهش در نمونه n3 که دارای کمترین مقدار ویتامین D3 بود نسبت به شاهد معنی‌دار نبود ($P>0/05$)، اما برای دو نمونه غنی‌شده n2 و n3 سفتی شکلات نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار نشان داد ($P<0/05$). گذشت زمان 3 ماه نیز سبب تغییرات معنی‌دار با روند نزولی در سفتی شکلات‌ها شد.

لازم به ذکر است که تغییرات سفتی شکلات‌های غنی‌شده نسبت به یکدیگر معنی‌دار نبود ($P>0/05$). همچنین، چسبندگی شکلات‌های غنی‌شده در ابتدای تهیه فرمولاسیون نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد ($P<0/05$)، (شکل 3-ب). این در حالی است که پس از گذشت 3 ماه چسبندگی کلیه تیمارها افزایش یافت، درحالی‌که این افزایش‌ها معنی‌دار نبودند ($P<0/05$). به‌طورکلی به‌نظر می‌رسد افزودن مخلوط روغن دانه چیا (امگا-3) و ویتامین D3 سبب کاهش سفتی شکلات و افزایش چسبندگی آن شده است. این امر می‌تواند به‌وجود اسیدهای چرب موجود در روغن دانه چیا نسبت داده شود که دارای دمای ذوب پایین‌تر از چربی مورد استفاده در شکلات بوده و لذا به شکلات بافت نرم‌تر می‌دهد (Jeyarani et al., 2015; Konar et al., 2015; Toker et al., 2018).

عدد پراکسید

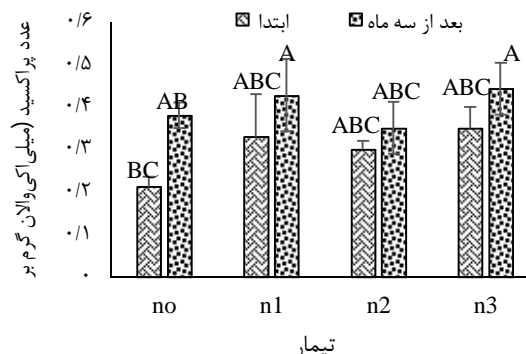
شکل 4) عدد پراکسید نمونه‌های شکلات n3 و n2، n1، n0، که به‌ترتیب حاوی مقادیر صفر (شاهد) 1، 0/75 و 0/5 درصد ویتامین D3 بودند را در ابتدای تهیه و پس از 3 ماه نگهداری نشان می‌دهد. مقادیر عدد پراکسید برای

نمونه‌های شکلات غنی‌شده (n1، n2 و n3 به‌ترتیب 0/33، 0/30 و 0/35 میلی‌اکی‌والان‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به نمونه شاهد (0/21 میلی‌اکی‌والان‌گرم بر کیلوگرم) افزایش یافت، اما به لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار نشان ندادند ($P>0/05$). همچنین، نتایج حاکی از آن بود که عدد پراکسید شکلات‌های غنی‌شده و نیز نمونه شاهد (n0) بعد از 3 ماه نسبت به ابتدای تهیه آنها بیشتر شده است. این تغییرات در شکلات‌های غنی‌شده نسبت به یکدیگر و نیز نسبت به شاهد معنی‌دار نبود ($P>0/05$). گمارونی‌پور و عزیز (1397) عدد پراکسید شکلات‌های شیری غنی‌شده با سطوح مختلف اسیدهای چرب امگا-3 (8-20 درصد) را بررسی کردند و نتیجه گرفتند که به علت استفاده از آنتی‌اکسیدان در فرمولاسیون شکلات‌ها، تفاوت معنی‌داری میان عدد پراکسید شکلات‌ها مشاهده نشد. ازسوی‌دیگر حسن نژاد و همکاران (1396) سطوح مختلف پودر دانه بزرک (5 تا 20 درصد) را به فرمولاسیون شکلات افزودند و پی‌بردند که با افزایش مقدار پودر دانه بزرک عدد پراکسید شکلات‌ها افزایش معنی‌دار یافت، به‌طوری‌که بیشترین مقدار عدد پراکسید مربوط به تیمار حاوی 20 درصد پودر بزرک بعد از 3 ماه نگهداری بود و کمترین مقدار عدد پراکسید مربوط به شکلات شاهد (فاقد پودر بزرک) بود. آنها این نتیجه را به آزاد شدن اسیدهای چرب امگا-3 از پودر دانه بزرک نسبت دادند که با افزایش سطح پودر بزرک در فرمولاسیون شکلات میزان اسید چرب امگا-3 نیز افزایش یافته و بنابراین عدد پراکسید نیز افزایش می‌یابد. در پژوهش حاضر از آنجایی‌که نمونه‌های شکلات دارای مقدار ثابتی از روغن دانه چیا (امگا-3) بودند و تنها سطوح ویتامین D3 در تیمارها تغییر کرد و نیز در تهیه شکلات از آنتی‌اکسیدان نیز استفاده شده بود. بنابراین تغییرات پراکسید در تیمارها نسبت به شاهد معنی‌دار نبود.

شکلات شاهد بر روان پذیر بودن آن اثر گذاشته و نقطه ذوب آن را کاهش می دهند. از سوی دیگر، مقایسه نمودارهای رفتار گرمایی این تیمارها نشان می دهد که اگرچه شکلات غنی شده و شکلات شاهد دمای ذوب مشابهی را نشان دادند، اما در شکلات غنی شده پیک ترموگرام ذوب به دست آمده کمی پهن تر شده و حالت دو قله ای به خود گرفته است. این رفتارها به وجود ترکیبات و اجزاء سازنده شکلات و تفاوت در رفتار گرمایی آنها نسبت داده می شود که سبب تغییرات در پیک ترموگرام ذوب این شکلات شده است (Smith, 2016).

نتیجه گیری

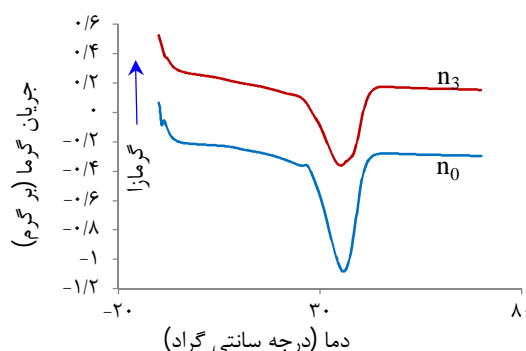
مقادیر مختلف کلسیم (60، 95، 130 میلی گرم)، ویتامین D3 (0/5، 0/75، 1 میکروگرم) و امگا-3 (1، 3، 5 میلی گرم) بر اساس روش پاسخ سطح به شکلات های شیری افزوده شدند و بهینه فرمولاسیون ها به روش پاسخ سطح و براساس ارزیابی حسی تعیین شدند که در آنها مقدار روغن دانه چیا کمینه دامنه (1 میلی گرم) و کلسیم در حد بیشینه آن (130 میلی گرم) قرار داشت و مقادیر ویتامین D3 با هم متفاوت بودند. بررسی ویژگی های فیزیکوشیمیایی انجام شده روی شکلات های غنی شده بهینه حاکی از آن بودند که افزودن روغن دانه چیا (امگا-3) و ویتامین D3 و کلسیم سبب تغییرات برجسته ای در این ویژگی ها نسبت به شکلات شاهد نشد، هرچند که ارزیابی پارامترهای حسی انجام شده یعنی طعم، بافت و پذیرش کلی از سه فرمولاسیون بهینه نشان داد که شکلات های غنی شده پذیرش کمتری نسبت به شکلات شاهد داشتند و بخصوص تکرار آزمون ها بعد از 3 ماه نشان دهنده کاهش معنی دار شاخص های طعم، بافت و پذیرش کلی شکلات های غنی شده نسبت به شکلات شاهد بودند. براساس این یافته ها به نظر می رسد کاهش پذیرش کلی شکلات های غنی شده به واسطه طعم و مزه امگا-3 باشد که به فرمولاسیون شکلات افزوده شده است و لذا انجام تحقیق های بیشتری برای غنی سازی شکلات با این ماده از طریق روش های پوشاننده طعم و مزه این ترکیب نیاز است.



شکل 4- عدد پراکسید شکلات های غنی شده در ابتدای تهیه و پس از 3 ماه نگهداری

رفتار گرمایی

نمودارهای رفتار گرمایی به دست آمده از آنالیز تفاضل حرارتی روبشی (DSC) برای شکلات شیری غنی شده با ویتامین D3، امگا-3 و کلسیم (نمونه n3) و نیز شکلات شاهد (n0) در بازه دمایی صفر تا 70 درجه سانتی گراد در شکل (5) نشان داده شده است (Lacatusu et al., 2013).



شکل 5- ترموگرام های DSC مربوط به شکلات های غنی شده و شاهد

همان طور که در شکل (5) مشاهده می شود نمودارهای رفتار گرمایی شکلات غنی شده و شاهد در محدوده دمایی صفر تا 70 درجه سانتی گراد تنها یک پیک گرماگیر نشان دادند. همچنین، براساس این نمودارها، دمای شروع ذوب در شکلات شاهد 27/54 درجه سانتی گراد به دست آمد، در حالی که در شکلات شیری غنی شده این دما 25/72 درجه سانتی گراد تعیین شد. دمای پایین تر شروع ذوب شکلات غنی شده به حضور اسیدهای چرب امگا-3 موجود در روغن دانه چیا و ویتامین D3 و نیز کلسیم در فرمولاسیون شکلات نسبت داده می شود که در مقایسه با

منابع

- حسن نژاد، ز، آزادمرد دمیرچی، ص، صوتی خیابانی، م، پیغمبردوست، س. ه. و رسولی پیروزیان، ه. (1396). تاثیر پودر بزرک بر خواص ضد اکسایشی، میکروبی و حسی شکلات. *علوم و صنایع غذایی ایران*, 14(70), 271-282.
- شاکر، س. (1394). ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی، بافتی و حسی شکلات و پوشش‌های شکلاتی شیری سینبیتیک رژیمی. (پایان‌نامه کارشناسی ارشد، منتشر نشده)، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی.
- فرزان مهر، ح، عباسی، س، و سحری، م. (1387). ارزیابی تاثیر جایگزین های قند روی برخی ویژگی های فیزیکی - شیمیایی، رئولوژیکی و حسی شکلات شیری. *مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران*, 3(3), 65-82.
- کاظمی‌پور، س. (1393). بررسی خصوصیات فیزیکی، شیمیایی، میکروبی و حسی شکلات شیری ترکیب شده با سلول‌های لاکتوباسیلوس پلانتروم ریزپوشانی شده به روش خشک کردن پاششی. (پایان‌نامه کارشناسی ارشد، منتشر نشده)، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده مهندسی کشاورزی.
- گمارونی‌پور، آ، و عزیزی، م. ح. (1397). مطالعه اثر افزودن اسید چرب امگا 3 استخراج شده از روغن بزرک بر خواص فیزیکی و شیمیایی شکلات شیری فرا سودمند. *مجله علوم و صنایع غذایی ایران*, 15(79), 183-190.
- Afoakwa, E. O. (2010). *Chocolate Science and Technology*. Oxford, UK.: Wiley-Blackwell Publishers,.
- Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M., & Vieira, J. (2008). Characterization of melting properties in dark chocolates from varying particle size distribution and composition using differential scanning calorimetry. *Food Research International*, 41(7), 751-757. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.05.009>
- Al-Marazeeq, K. (2018). Research Article Evaluation of Proximate Composition and Sensory Attributes of Dark Chocolate Fortified with Wheat Germ. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 14, 103-107. doi:<https://doi.org/10.19026/ajfst.14.5843>
- AOAC. (2005). Official Method Of Sampling and Analysis of Commercial Fats and Oils.
- Ashkezary, M.R., Yeganehzad, S., Vatankhah, H., Todaro, A., & Maghsoudlou, Y. (2017). Effects of Different Emulsifiers and Refining Time on Rheological and Textural Characteristics of Compound Chocolate. *Italian Journal of Food Science*, 30(1), 26-36. doi:<https://doi.org/10.14674/ijfs-759>
- Awad, T., Helgason, T., Weiss, J., A. Decker, E., & McClements, D. (2009). *Effect of Omega-3 Fatty Acids on Crystallization, Polymorphic Transformation and Stability of Tripalmitin Solid Lipid Nanoparticle Suspensions* (Vol. 9).
- Ayerza, R. (1995). Oil content and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica* L.) from five northwestern locations in Argentina. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 72(9), 1079-1081. doi:<https://doi.org/10.1007/bf02660727>
- Costantini, L., Lukšič, L., Molinari, R., Kreft, I., Bonafaccia, G., Manzi, L., & Merendino, N. (2014). Development of gluten-free bread using tartary buckwheat and chia flour rich in flavonoids and omega-3 fatty acids as ingredients. *Food Chemistry*, 165, 232-240. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.095>
- Douglas, F. W., Rainey, N. H., Wong, N. P., Edmondson, L. F., & LaCroix, D. E. (1981). Color, Flavor, and Iron Bioavailability in Iron-Fortified Chocolate Milk. *Journal of Dairy Science*, 64(9), 1785-1793. doi:[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(81\)82767-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(81)82767-1)
- Dunn, C. (2015). Is chia the next quinoa? Retrieved from <http://www.nutritionaloutlook.com/food-beverage/chia-new-quinoa>
- FarzanMehri, H., Abbasi, S., & Sahari, M. (2008). Effects of sugar replacers on physicochemical, rheological and sensory properties of milk chocolate. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 3(3), 65-82. (in Persian)
- Ferreira de Souza, M., Francisco, C. R., Sanchez, J., Guimarães Inácio, A., Valderrama, P., Bona, E., . . . Gonçalves, O. (2017). *Fatty acids profile of chia oil-loaded lipid microparticles* (Vol. 34).
- Freitas, J. B. d., Matos Souza, J. C. d., Velloso, L. A., Simão, R. A. S., Fernandes, D. C., Alves, A. M., & Naves, M. M. V. (2016). Acceptability and nutritional value of dark chocolate enriched with baru almonds, flaxseed and quinoa. *Vertices*, 17(3), 99-109. doi:<https://doi.org/10.19180/1809-2667.v17n315-05>
- GamarooniPour, A., & Azizi, M. H. (2018). Studying effect of omega-3 extracted of Linseed oil on physicochemical properties of functional milk chocolate. *J Food Sci Technol*, 15(79), 183-190. (in Persian)
- Goyal, A., Sharma, V., Sihag, M. K., Tomar, S. K., Arora, S., Sabkhi, L., & Singh, A. K. (2015). Development and physico-chemical characterization of microencapsulated flaxseed oil powder: A functional ingredient for omega-3 fortification. *Powder Technology*, 286, 527-537. doi:<https://doi.org/10.1016/j.powtec.2015.08.050>

- Gültekin-Özgülven, M., Karadağ, A., Duman, Ş., Özkal, B., & Özçelik, B. (2016). Fortification of dark chocolate with spray dried black mulberry (*Morus nigra*) waste extract encapsulated in chitosan-coated liposomes and bioaccessibility studies. *Food Chemistry*, 201, 205-212. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.091>
- Hassannezhad, Z., Azadmard-Damirchi, S., Sowti- Khiabani, M., Peighambaroust, S. H., & Rasouli-Pirouziyan, H. (2017). The Effects of Flaxseed Powder on Antioxidative, Microbial and Sensory Properties of Chocolate. *J Food Sci Technol*, 14(70), 271-282. (in Persian)
- Holick, M. F. (1996). Vitamin D and bone health. *J Nutr*, 126(4 Suppl), 1159S-1164S. doi:https://doi.org/10.1093/jn/126.suppl_4.1159S
- Ilmi, A., Praseptianga, D., & R A Muhammad, D. (2017). Sensory Attributes and Preliminary Characterization of Milk Chocolate Bar Enriched with Cinnamon Essential Oil. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 193, 012031. doi:<https://doi.org/10.1088/1757-899X/193/1/012031>
- Jeyarani, T., Banerjee, T., Ravi, R., & Krishna, A. G. (2015). Omega-3 fatty acids enriched chocolate spreads using soybean and coconut oils. *J Food Sci Technol*, 52(2), 1082-1088. doi:<https://doi.org/10.1007/s13197-013-1053-4>
- Kazemipour, S. (2014). *Study of physical, chemical, microbial and sensory properties of milk chocolate combined with microcoated Lactobacillus plantarum cells by spray drying method* (Unpublished master's thesis), Isfahan University of Technology. (in Persian)
- Konar, N., Ozhan, B., Nevzat, A., Dalabasmaz, S., & Poyrazoglu, E. S. (2014). *Rheological and Physical Properties of Inulin-Containing Milk Chocolate Prepared at Different Process Conditions* (Vol. 12).
- Konar, N., Poyrazoğlu, E. S., & Artik, N. (2015). Influence of calcium fortification on physical and rheological properties of sucrose-free prebiotic milk chocolates containing inulin and maltitol. *J Food Sci Technol*, 52 (4), 2033-2042. doi:<https://doi.org/10.1007/s13197-013-1229-y>
- Lacatusu, I., Mitrea, E., Badea, N., Stan, R., Oprea, O., & Meghea, A. (2013). Lipid nanoparticles based on omega-3 fatty acids as effective carriers for lutein delivery. Preparation and in vitro characterization studies. *Journal of Functional Foods*, 5(3), 1260-1269. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.04.010>
- Larmond, E. (1977). *Laboratory method for sensory evaluation of food*. Ottawa, Canada: Food Research Institute.
- Marsanasco, M., Calabró, V., Piotrkowski, B., Chiamaroni, N. S., & del V. Alonso, S. (2016). Fortification of chocolate milk with omega-3, omega-6, and vitamins E and C by using liposomes. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 118(9), 1271-1281. doi:<https://doi.org/10.1002/ejlt.201400663>
- Ostrowska-Ligeza, E., Górska, A., Wirkowska-Wojdyła, M., Bryś, J., Dolatowska-Żebrowska, K., Shamilowa, M., & Ratusz, K. (2018). Thermogravimetric characterization of dark and milk chocolates at different processing stages. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 134(1). doi:<https://doi.org/10.1007/s10973-018-7091-4>
- Salehi, F. (2017). Rheological and physical properties and quality of the new formulation of apple cake with wild sage seed gum (*Salvia macrosiphon*). *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(4), 2006-2012. doi:<https://doi.org/10.1007/s11694-017-9583-5>
- Salehi, F. (2018). Color changes kinetics during deep fat frying of carrot slice. *Heat and Mass Transfer*, 54(11), 3421-3426. doi:<https://doi.org/10.1007/s00231-018-2382-7>
- Shaker, S. (2015). *Evaluation of physicochemical, textural and sensory properties of chocolate and dietary*. (Unpublished master's thesis), Isfahan University of Technology. (in Persian)
- Smith, M. J. (2016). Using Differential Scanning Calorimetry To Explore the Phase Behavior of Chocolate. *Journal of Chemical Education*, 93(5), 898-902. doi:<https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.5b00284>
- Solorza-Feria, J. (2012). Formulation, physicochemical, nutritional and sensorial evaluation of corn tortillas supplemented with chia seed (*Salvia hispanica* L. *Czech Journal of Food Science*, 30 (2), 118-125. doi:<https://doi.org/10.17221/393/2010-CJFS>
- Toker, O. S., Konar, N., Pirouziyan, H. R., Oba, S., Polat, D. G., Palabiyik, İ., . . . Sagdic, O. (2018). Developing functional white chocolate by incorporating different forms of EPA and DHA - Effects on product quality. *LWT - Food Science and Technology*, 87, 177-185. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.087>
- Tolve, R., Condelli, N., Caruso, M. C., Barletta, D., Favati, F., & Galgano, F. (2018). Fortification of dark chocolate with microencapsulated phytosterols: chemical and sensory evaluation. *Food Funct*, 9(2), 1265-1273. doi:<https://doi.org/10.1039/c7fo01822c>
- van der Hee, R. M., Miret, S., Slettenaar, M., Duchateau, G. S. M. J. E., Rietveld, A. G., Wilkinson, J. E., . . . Fairweather-Tait, S. J. (2009). Calcium Absorption from Fortified Ice Cream Formulations Compared with Calcium Absorption from Milk. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 109(5), 830-835. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jada.2009.02.017>

Optimization of Fortified Milk Chocolate Formulation with Chia Seed Oil, Vitamin D3, and Calcium by Surface Response Method

Bibi Marzieh Razavizadeh^{1*}, Mostafa Shahidi Noghabi², Samira Yeganehzad³,
Sahar Hashemi⁴

1- Associate Professor, Department of Food Safety and Quality Control, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran

* Corresponding author (m.razavizadeh@rifst.ac.ir)

2- Associate Professor, Department of Food Chemistry, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran

3- Associate Professor, Department of Food Processing, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran

4- Production Manager, Behnaz Golbahar Company, Mashhad, Iran

Abstract

In the present research, the optimization of formulation of fortified chocolate using Chia seed Oil as source of Omega-3, vitamin D3 and calcium was investigated by surface response method. Different amounts of calcium (60, 95 and 130 mg), vitamin D3 (0.5, 0.75 and 1 μg) and Chia Oil (1, 3 and 5 mg) were added to the chocolate in the 20 formulations designed by Design Expert software and the sensory properties of the fortified chocolates were then tested by the evaluators. Based on the analysis of response surface method, 24 optimized samples were proposed by the software, all of which contained Omega-3 in the minimum range (1 mg) and calcium in the maximum range (130 mg) and three formulas were selected that they differed only in the amounts of vitamin D3 (0.5, 0.75 and 1 μg). Texture and thermal analysis, colorimetry, moisture, water activity and peroxide value tests were performed on these samples at first and 3 months later. Evaluation of sensory properties showed that the taste, texture and overall acceptance parameters of fortified chocolates were reduced compared to control ($P < 0.05$). The whiteness index and water activity compared to the control were increased and decreased, respectively. However, the hardness and the peroxide values of the treatments were not changed significantly with respect to the control. The start temperature of melting of the fortified chocolate decreased compared to the control, while their melting points were the same. Due to taste and flavor of Omega-3, the overall acceptability of the fortified chocolates seems to decrease.

Keywords: Fortification, Functional, Sensory evaluation