بهینه‌سازی فرمولاسیون بستنی سنتی ایرانی حاوی ریزجلبک اسپیرولینا با استفاده از روش سطح پاسخ

فاطمه رسولی[a]، شیلا برنجی[b*]، علیرضا شهاب لواسانی[b]

[a] دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[b] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۷/۱۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۱۱/۱۸

چکیده

مقدمه: بستنی یکی از محبوب‌ترین دسرهای لبنی به شمار می‌آید و بر این اساس، محصول هدف مناسبی برای وارد کردن ریزجلبک سبز-آبی اسپیرولینا به عنوان یک ماده ارزشمند غذایی به زنجیره غذایی انسان می‌باشد. پژوهش پیش‌رو با هدف بهینه‌سازی فرمولاسیون بستنی سنتی ایرانی حاوی اسپیرولینا به روش سطح پاسخ صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها: بهینه‌سازی بوسیله روش سطح پاسخ (RSM) و در قالب یک طرح مرکب مرکزی (CCD) با دو متغیر در ۵ سطح انجام شد. متغیرهای فرآیند شامل درصد اسپیرولینا (۰-۵٪ وزنی/وزنی) و درصد کربوکسی‌متیل‌سلولز (۰-۰/۵٪ وزنی/وزنی) و پاسخ‌ها شامل پارامترهای فیزیکی (ویسکوزیته، درصد مقاومت به ذوب و درصد اوران) و ارگانولپتیکی (طعم، رنگ، بافت و پذیرش کلی) بودند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که اسپیرولینا به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) باعث افزایش ویسکوزیته و مقاومت به ذوب و کاهش اوران بستنی سنتی می‌شود این در حالی بود که کربوکسی‌متیل‌سلولز از تاثیر معنی‌داری ($p \geq 0.05$) بر اوران برخوردار نبود ولی در ارتباط با سایر پارامترهای فیزیکی، روندی مشابه با اسپیرولینا را رقم زد. بر اساس نتایج ارزیابی حسی، با افزایش میزان اسپیرولینا در فرمولاسیون بستنی سنتی، استقبال مصرف‌کنندگان از طعم، رنگ، بافت و پذیرش کلی محصول کاهش معنی‌داری ($p < 0.05$) پیدا کرد ولی در طرف مقابل، کربوکسی‌متیل‌سلولز از تاثیر معنی‌داری ($p \geq 0.05$) بر پارامترهای ارگانولپتیک برخوردار نبود. بر اساس نتایج بهینه‌سازی، نمونه بستنی سنتی حاوی ۰/۲۵٪ اسپیرولینا و ۰/۳۴٪ کربوکسی‌متیل‌سلولز، با مقاومت به ذوبی برابر با ۷۵/۴٪، اوران معادل ۵۵/۲۷٪ و نمره پذیرش کلی ۴/۲۵ (بین محدوده خوب و عالی) به عنوان نمونه بهینه برگزیده شد. نمونه بهینه از ویسکوزیته، مقاومت به ذوب و درصد اوران بالاتری ($p < 0.05$) نسبت به نمونه تجاری برخوردار بود. بین پذیرش کلی نمونه بهینه و نمونه تجاری نزد مصرف‌کنندگان تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p \geq 0.05$). نمونه بهینه از کیفیت میکروبی بهتری نسبت به نمونه تجاری برخوردار بود.

نتیجه‌گیری: می‌توان با تلفیق میزان بهینه‌ای از ریزجلبک اسپیرولینا به فرمولاسیون بستنی، به محصولی با خصوصیات فیزیکی و ارگانولپتیکی مطلوب دست یافت.

واژه‌های کلیدی: *اسپیرولینا، بستنی سنتی، روش سطح پاسخ، کربوکسی‌متیل‌سلولز*

[*] نویسنده مسئول مکاتبات email: shila135071@yahoo.com

مقدمه

با افزایش آگاهی‌های عمومی نسبت به نقش تغذیه در سلامتی، تقاضا برای غذاهای فراسودمند بیش از پیش فزونی یافته است. در میان گونه‌های شناخته‌شده جلبک‌ها، ریزجلبک سبز-آبی اسپیرولینا به سبب برخورداری از ویژگی‌های خیره‌کننده سلامت‌افزایی و تغذیه‌ای، کانون توجه پژوهشگران و صنعتگران عرصه غذاهای فراسودمند بوده است (Belay *et al*., 1993). اسپیرولینا حاوی بیش از صد نوع ماده مغذی می‌باشد و یک منبع غنی و ارزان قیمت از پروتئین، اسیدهای آمینه‌ضروری، اسیدهای چرب امگا ۳ و۶، مواد معدنی، و ویتامین‌های اساسی به شمار می‌آید (Belay *et al*., 1993). به علاوه، تاکنون مستندات بسیاری دال بر ویژگی‌های سلامت‌افزایی آن در ارتباط با بسیاری از بیماری‌ها همچون فشار خون بالا، دیابت، چربی خون بالا، برخی از انواع سرطان‌ها و حتی بیماری نقص سیستم ایمنی انسان[1] (ایدز)، در مجامع و پایگاه‌های مختلف علمی ارائه شده است (Belay *et al*., 1993). اسپیرولینا جزء لیست مواد ایمن‌انگاشته[2] (GRAS) محسوب می‌شود و مورد تائید سازمان‌های مختلف ملی و بین‌المللی متصدی امر غذا و سلامت می‌باشد (Deng, 2010). با این حال، به دلیل ویژگی‌های ارگانولپتیکی ناخوشایند اسپیرولینا، احتمالا معرفی این جلبک به تنهایی به عنوان یک غذا، با عدم استقبال مصرف‌کننده روبرو خواهد شد. یکی از استراتژی‌های کارآمد برای وارد کردن این‌دست اجزای غذایی به سبد غذایی مصرف‌کننده، استفاده از آنها در فرمولاسیون محصولات غذایی شناخته‌شده می‌باشد. تاکنون، از اسپیرولینا برای غنی‌سازی بسیاری از محصولات غذایی همچون نوشیدنی‌ها، فرآورده‌های گوشتی، فرآورده‌های پاستا و ... استفاده شده است (صالحی‌فر و همکاران، ۱۳۹۱). در ارتباط با محصولات لبنی نیز، نتایج امیدوارکننده‌ای در مورد غنی‌سازی ماست (توکلی لاهیجانی و همکاران، ۱۳۹۴)، پنیر فراپالایش (فدائی نوغانی و همکاران، ۱۳۹۴) و دوغ (اسلامی مشکنانی و همکاران، ۱۳۹۳) با ریزجلبک اسپیرولینا گزارش شده است.

بستنی یکی از محبوب‌ترین محصولات لبنی در ایران و بسیاری از کشورهای جهان به شمار می‌آید و از طرفداران بسیاری در گروه‌های مختلف سنی برخوردار می‌باشد. بر این اساس، به نظر می‌رسد که بستنی محصول هدف مناسبی برای وارد کردن اسپیرولینا به زنجیره غذایی عمومی باشد. به‌علاوه، رنگ سبز-آبی اسپیرولینا، احتمالا ظاهر جذاب‌تری به بستنی خواهد بخشید. افزون بر این‌ها، اسپیرولینا دارای ویژگی‌های قابل اعتنای امولسیفایری و جذب آب می‌باشد و از این رو می‌تواند نقش یک عامل قوام‌دهنده و پایدارکننده را نیز در بستنی بازی کند (Robinson *et al*., 2000). پایدارکننده‌ها از اصلی‌ترین اجزای فرمولاسیون بستنی به شمار می‌آیند و مطلوبیت بسیاری از ویژگی‌های فیزیکی بستنی‌ها همچون ویسکوزیته، اورران، مقاومت به ذوب و به طور کلی بافت بستنی‌ها، وابسته به نوع پایدارکننده و میزان حضور آنها در فرمولاسیون بستنی می‌باشد (عقدایی و همکاران، ۱۳۹۱). البته باید توجه داشت که نمی‌توان از اسپیرولینا به عنوان تنها عامل پایدارکننده در فرمولاسیون یک بستنی بهره جست چرا که اسپیرولینا بر خلاف پایدارکننده‌های معمول مورد استفاده در صنعت بستنی (که فاقد رنگ، عطر و طعم خاصی هستند)، دارای ویژگی‌های ارگانولپتیکی خاصی است که ممکن است چندان به مذاق مصرف‌کننده خوش نیاید. به عبارت دیگر، ممکن است غلظتی از اسپیرولینا که ویژگی‌های مطلوب پایدارکنندگی را باعث می‌شود از نقطه‌نظر ویژگی‌های ارگانولپتیک و به ویژه طعم، چندان خوشایند مصرف-کنندگان نباشد بر این اساس لازم است که اسپیرولینا در ترکیب با سایر پایدارکننده‌ها، در فرمولاسیون بستنی مورد استفاده قرار بگیرد.

تاکنون، عملکرد پایدارکننده‌های بسیاری در فرمولاسیون بستنی‌های مختلف مورد بررسی و مطالعه قرار گرفته است و از بین آنها، کربوکسی‌متیل‌سلولز از جمله کارآمدترین قوام‌دهنده و پایدارکننده‌ها بوده است (Martinou-Voulasiki & Zerfiridis, 1990). بهرام‌پرور و همکاران (۱۳۹۰) در پژوهشی در زمینه بررسی امکان استفاده از هیدروکلوئیدهای مختلف به عنوان پایدارکننده بستنی، بر کارایی بهتر کربوکسی‌متیل‌سلولز تاکید کردند. Pintor و Totosaus (۲۰۱۲) نیز عنوان داشتند که افزودن کربوکسی متیل به نمونه‌های بستنی

[1] Human Immunodeficiency Virus Infection

[2] Generally Recognized As Safe

دارای پایدارکننده یوتا کاراگینان، منجر به اصلاح فرآیند کریستالی‌شدن یخ در این نمونه‌های بستنی و به دنبال آن بهبود بافت و ویژگی‌های ذوب شدن خواهد شد. از این رو، هدف اصلی پژوهش پیش‌رو، دستیابی به فرمولاسیون بهینه بستنی سنتی حاوی اسپیرولینا شامل غلظت مناسب اسپیرولینا و کربوکسی‌متیل‌سلولز در جهت تولید یک محصول فراسودمند با ویژگی‌های مطلوب فیزیکی و ارگانولپتیکی می‌باشد. لازمه دستیابی به فرمولاسیون بهینه بستنی حاوی اسپیرولینا، طرح‌ریزی تیمارهای فراوان و انجام آزمون و خطا تا دستیابی به فرمولاسیونی است که ویژگی‌های فیزیکی و ارگانولپتیکی مورد انتظار از یک بستنی را برآورده سازد. بدیهی است که این طریقه دستیابی به فرمولاسیون بهینه، بسیار پرهزینه و زمان‌بر خواهد بود (Goudarzi *et al.*, 2015). طی سال‌هایی اخیر، روش سطح پاسخ (RSM)[1]، به عنوان یک روش کارآمد برای بهینه‌سازی فرمولاسیون محصولات نوین، توجه زیادی را در بین پژوهشگران صنعت غذا به خود جلب کرده است. روش سطح پاسخ، تعداد تیمارهای مورد نیاز برای یک آزمون را کمینه می‌کند و با ارائه مدل‌های ریاضی توصیف‌کننده رابطه بین اجزای فرمولاسیون و ویژگی‌های محصول، علاوه بر تعیین اثر مستقل و متقابل اجزای فرمولاسیون بر ویژگی‌های فرآورده، سطوح بهینه هرکدام از اجزای فرمولاسیون برای تولید محصولی با اهداف از پیش تعریف شده را نیز معرفی می‌کند (Goudarzi *et al.*, 2015). از این‌رو، در پژوهش جاری، از روش سطح پاسخ برای دستیابی به فرمولاسیون بهینه بستنی سنتی ایرانی حاوی اسپیرولینا (شامل درصد اسپیرولینا و درصد کربوکسی‌متیل‌سلولز) با هدف تولید محصولی با ویژگی‌های خوشایند فیزیکی (ویسکوزیته، مقاومت به ذوب، اوران) و ارگانولپتیکی (عطر و طعم، رنگ و ظاهر، بافت و پذیرش کلی) بهره جسته خواهد شد. در انتها، نمونه بهینه معرفی شده بوسیله روش سطح پاسخ و نمونه بستنی تجاری (نمونه بدون اسپیرولینا و حاوی پایدارکننده ثعلب)، از نقطه‌نظر ویژگی‌های فیزیکی و ارگانولپتیکی و کیفیت میکروبی مورد مقایسه قرار خواهند گرفت.

مواد و روش‌ها

- مواد

پودر ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس از شرکت Algae center (تهران، ایران) خریداری شد. کربوکسی‌متیل‌سلولز از شرکت هنزک شیمی (تهران، ایران) تهیه گردید. تمامی محلول‌ها و مواد شیمیایی مورد استفاده در پژوهش پیش‌رو با درجه آنالیتیکال و از شرکت مرک خریداری شدند (دارمستادت[2]، آلمان). مواد اولیه موردنیاز برای تولید نمونه‌های بستنی شامل شیر کامل، خامه، شیرخشک بدون چربی، شکر آسیاب‌شده، پایدارکننده ثعلب، وانیل و گلاب توسط کارخانه بستنی سنتی نعمت (کرج، ایران) فراهم شد و تولید و تهیه نمونه‌ها در این واحد تولیدی انجام شد.

- روش تهیه بستنی

فرمولاسیون مورد استفاده در تهیه نمونه بستنی شاهد (نمونه بدون ریزجلبک اسپیرولینا)، شامل ۱۰ درصد چربی شیر، ۱۵ درصد شکر، ۱۱ درصد ماده خشک بی‌چرب، ۰/۱ درصد وانیل و ۰/۵ درصد پایدارکننده ثعلب بود. برای تهیه مخلوط بستنی، پس از توزین کلیه اجزای لازم، مواد مایع شامل شیر و خامه در یک ظرف استیل ریخته شده و ضمن حرارت دادن تا حداکثر ۵۰ درجه سلسیوس، مرتبا هم‌زده شدند. پس از آن، مخلوط مواد جامد شامل شکر، شیرخشک بی‌چرب و پایدارکننده به مایع حرارت‌دیده اضافه شده و هم‌زدن تا دستیابی به یک مخلوط همگن ادامه پیدا کرد. مخلوط تهیه شده در دمای ۸۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۵ ثانیه پاستوریزه شد و بلافاصله به کمک مخلوط سرمازا (یخ و نمک) تا دمای کمتر از ۵ درجه سلسیوس سرد گردید. سپس، به منظور انجام مرحله رسیدن، مخلوط بستنی به مدت ۱۲ ساعت در دمای یخچال (۵ درجه سلسیوس) نگهداری شد. پس از مرحله رسیدن، عصاره وانیل و گلاب به مخلوط بستنی اضافه شده و در دستگاه بستنی‌ساز غیرمداوم به مدت ۲۰ دقیقه (Feller ice cream maker, model IC 100, Feller Technologic GnbH, Germany) منجمد گردید. بستنی‌های تهیه شده، در ظروف پلاستیکی درب‌دار ریخته شده، کدگذاری گردیدند و جهت یکسان‌سازی دمایی به مدت ۱ ساعت در فریزر خانگی قرار داده شدند (بهرام‌پرور و همکاران، ۱۳۹۰).

[1] Response Surface Methodology (RSM)

[2] Darmstadt

روش تهیه مخلوط بستنی‌های غنی‌شده با ریزجلبک اسپیرولینا نیز دقیقا مشابه با شیوه تهیه نمونه بستنی شاهد بود با این تفاوت که از هیدروکلوئید کربوکسی‌متیل‌سلولز به عنوان جایگزین پایدارکننده ثعلب استفاده شد. به علاوه، میزان کربوکسی‌متیل‌سلولز و پودر ریزجلبک اسپیرولینا مورد استفاده در فرمولاسیون بستنی‌های مورد نظر، برای تیمارهای مختلف، متغیر بود و بر اساس مقادیری که بوسیله طرح آماری برای هر تیمار تعریف شده بود (جدول ۲) تعیین گردید. میزان مورد نیاز از پودر اسپیرولینا، همزمان با افزودن سایر اجزای جامد فرمولاسیون بستنی، به شیر در حال حرارت دیدن افزوده شد و مخلوط مورد نظر تا رسیدن به یک درجه همگنی مطلوب، هم‌زده شد.

- تجزیه و تحلیل آماری

طرح آزمایش استفاده شده برای بهینه سازی فرمولاسیون بستنی‌های غنی‌شده با پودر ریزجلبک اسپیرولینا، یک طرح مختلط مرکزی[1] (CCD) بود که با هدف تولید یک بستنی با ارزش غذایی بالا و ویژگی‌های فیزیکی و ارگانولپتیکی خوشایند پایه‌گذاری شد. طرح مورد نظر با استفاده از دو فاکتور و و هر فاکتور دارای پنج سطح طراحی شد. فاکتور ها شامل درصد کربوکسی متیل سلولز به عنوان پایدارکننده و درصد ریزجلبک اسپیرولینا بودند که سطوح هر کدام از آنها در جدول ۱ بصورت کددار مشخص شده است. طرح مختلط مرکزی با استفاده از ۲ فاکتور دارای ۵ سطح، ۱۳ تیمار بستنی با فرمولاسیون‌های مختلف ارائه کرد (جدول ۲) و نمونه‌های تولیدشده از نقطه‌نظر ویژگی‌های فیزیکی شامل وزن مخصوص، دمای ذوب، افزایش حجم و ویسکوزیته ظاهری و ویژگی‌های ارگانولپتیک شامل طعم و مزه، عطر و بو، رنگ و ظاهر، بافت و پذیرش کلی مورد ارزیابی قرار گرفتند. یک مدل چند جمله ای درجه دوم (رابطه شماره ۱) به داده‌های تجربی برازیده شد:

رابطه شماره (۱)

$$Y = \beta_{\circ} + \sum_{i=1}^{2} \beta_i X_i + \sum_{i=1}^{2} \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{1} \sum_{j=i+1}^{2} \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon_{ij}$$

جدول ۱- طرح استفاده شده برای ارزیابی بهینه‌سازی فرمولاسیون بستنی‌های غنی‌شده با اسپیرولینا

پارامترهای فرآیند	سطوح				
	۱	۰/۵	۰	-۰/۵	-۱
درصد کربوکسی‌متیل‌سلولز	۰/۵	۰/۳۷۵	۰/۲۵	۰/۱۲۵	۰
درصد ریزجلبک اسپیرولینا	۵	۳/۷۵	۲/۵	۱/۲۵	۰

جدول ۲- تیمارهای بستنی سنتی ایرانی حاوی غلظت‌های مختلف اسپیرولینا و کربوکسی متیل‌سلولز

ترتیب استاندارد نمونه‌ها	۱	۲	۳	٤	٥	٦	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳
اسپیرولینا (٪ وزنی/وزنی)	۰	۵	۰	۵	۱/۲۵	۳/۷۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵
کربوکسی‌متیل سلولز (٪ وزنی/ وزنی)	۰	۰	۰/۵	۰/۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۳۷۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵

[1] Central Composite Design

که Y پاسخ (پارامترهای فیزیکی و ارگانولپتیکی) و β0، βi، βii و βij ضرایب رگرسیونی به ترتیب برای عرض از مبداء، خطی، درجه دوم و برهم‌کنش‌ها بوده و Xi و Xj متغیرهای مستقل (درصد کربوکسی متیل سلولز، درصد پودر ریزجلبک اسپیرولینا) می‌باشند (Goudarzi *et al.*, 2012). تحلیل سطح پاسخ و ترسیم نمودارها با استفاده از مینی تب نسخه ۱۵/۱/۱/۰ (شرکت مینی تب، ایالات متحده) انجام شد.

- مقاومت به ذوب

به منظور اندازه‌گیری میزان مقاومت به ذوب نمونه‌های بستنی، ۳۰ گرم از نمونه بستنی در یک قیف مسطح مانند قیف بوخنر ریخته شده و روی دهانه یک ارلن مایر ۵۰۰ میلی‌لیتری خشک و تمیز که قبلا توزین شده بود قرار گرفت. سپس نمونه و ارلن به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱±۲۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. پس از طی زمان فوق، ارلن و محتویات آن یعنی همان بستنی ذوب شده وزن شده و از وزن ارلن مایر خالی کسر شد. درصد مقاومت به ذوب از رابطه شماره ۲ بدست آمد:

رابطه شماره (۲) $$MR\ (\%) = \frac{30 - (w_2 - w_1)}{30} \times 100$$

که MR درصد مقاومت به ذوب، w_1 وزن ارلن خالی و w_2 وزن بستنی ذوب‌شده می‌باشند (بهرام‌پرور و همکاران، ۱۳۹۰).

- افزایش حجم

میزان افزایش حجم نمونه‌های بستنی طبق رابطه شماره ۳ و از محاسبه نسبت وزن حجم مشخصی از بستنی و وزن همان حجم از مخلوط بستنی پیش از انجماد بدست آمد (عقدایی و همکاران، ۱۳۹۰).

رابطه شماره (۳)

$$\text{درصد اوران} = \frac{\text{وزن حجم معینی از مخلوط} - \text{وزن حجم معینی از بستنی}}{\text{وزن حجم معینی از بستنی}} \times 100$$

- ویسکوزیته ظاهری

ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های بستنی با استفاده از یک گرانروی‌سنج[1] چرخشی (مدل LV DV II، ابزارهای آزمایشگاهی مهندسی بروکفیلد، میدلبرو، ایالات متحده) مجهز به سیرکولاتور حرارتی در دمای ۰/۵±۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد و در نرخ برش ۵۱/۸ (بر ثانیه) گزارش شد (بهرام‌پرور و همکاران، ۱۳۹۰).

- ارزیابی حسی

آزمون ارزیابی حسی به‌وسیله یک گروه ارزیاب نیمه ماهر آموزش دیده ۱۰ نفره و به منظور انتخاب نمونه بستنی غنی‌شده با ریزجلبک اسپیرولینا که از بهترین ویژگی‌های حسی برخوردار بود، انجام شد. فاکتورهای مورد بررسی در این آزمون شامل عطر و طعم، رنگ و ظاهر، بافت و پذیرش کلی مخلوط‌های بستنی بودند و ارزیابی بر اساس یک طرح ارزیابی حسی ۵ نمره‌ای[2] صورت پذیرفت (عقدایی و همکاران، ۱۳۹۱).

- ارزیابی میکروبی

کیفیت میکروبی نمونه بهینه و نمونه شاهد از نقطه‌نظر شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها، شمارش *آنتروباکتریاسه*، *اشریشیاکلی*، *استافیلوکوکوس* و *سالمونلا* و شمارش کپک و مخمر مورد بررسی قرار گرفت. شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها با روش استاندارد به شماره ۵۴۸۴ تعیین گردید (بی‌نام، ۱۳۷۹). جستجو، شناسایی و شمارش *آنتروباکتریاسه* با روش استاندارد به شماره ۲۴۶۱ تعیین شد (بی‌نام، ۱۳۸۶). شمارش *اشریشیاکلی* به روش بیشترین تعداد احتمالی با روش استاندارد به شماره ۵۲۳۴ تعیین گردید (بی‌نام، ۱۳۸۵). روش جامع برای شمارش *استافیلوکوکوس‌های* کواگولاز مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس* و سایر گونه‌ها) با روش استاندارد به شماره ۳-۶۸۰۶ تعیین شد (بی‌نام، ۱۳۸۵). جستجو و شناسائی *سالمونلا* با روش استاندارد به شماره ۴۴۱۳ تعیین گردید (بی‌نام، ۱۳۸۸). شمارش واحد های تشکیل‌دهنده کلنی کپک و/ یا مخمر به شیوه شمارش کلنی در پلیت با روش استاندارد به شماره ۱۰۱۵۴ تعیین گردید (بی‌نام، ۱۳۸۶).

یافته‌ها

- ویژگی‌های فیزیکی

- ویسکوزیته

[1] Viscometer

[2] Five-Point Hedonic Scale

براساس نتایج تحلیل آماری (جدول ۳)، میزان اسپیرولینا و کربوکسی‌متیل‌سلولز مورد استفاده در فرمولاسیون بستنی سنتی، هر دو از تاثیر بسیار معنی‌داری ($p < 0.01$) بر وسیکوزیته این محصول برخوردار می‌باشند. مثبت‌بودن ضریب (b-coefficient) متغیرهای مستقل (ریزجلبک اسپیرولینا و پایدارکننده کربوکسی‌متیل سلولز) در رابطه ریاضی موجود بین اجزای فرمولاسیون و ویسکوزیته (جدول ۳) نشان دهنده این است که با افزایش غلظت اسپیرولینا و یا کربوکسی‌متیل سلولز در محدوده مورد استفاده، ویسکوزیته نمونه‌های بستنی به گونه چشمگیری افزایش می‌یابد. این در حالیست که بر اساس نتایج تحلیل آماری (جدول ۳)، اثر متقابل این دو جزء فرمولاسیون بر میزان ویسکوزیته بستنی سنتی ایرانی چندان قابل اعتنا نمی‌باشد. چگونگی تقابل این دو جزء فرمولاسیون در ارتباط با ویسکوزیته بستنی‌های مورد پژوهش، در نمودار سطح‌پاسخ ارائه شده در شکل ۱، به گونه بهتری به تصویر کشیده شده است. همانطور که در این شکل به خوبی می‌توان دید، بیشترین ویسکوزیته نمونه‌های بستنی زمانی حاصل شده است که بیشینه میزان اسپیرولینا و کربوکسی‌متیل‌سلولز، مورد استفاده قرار گرفته است و کمترین گرانروی نیز از آن نمونه‌هایی بوده است که از کمترین میزان این دو جزء در فرمولاسیون خود بهره جسته‌اند.

- مقاومت به ذوب

نتایج حاصل از ارزیابی آماری تاثیر اجزای فرمولاسیون بر درصد مقاومت به ذوب بستنی سنتی ایرانی (جدول ۳) نشان داد که با افزایش میزان استفاده از اجزای فرمولاسیون یعنی اسپیرولینا و کربوکسی‌متیل‌سلولز، مقاومت نمونه‌های بستنی به ذوب‌شدن به گونه قابل ملاحظه‌ای ارتقا می‌یابد ($p < 0.05$). براساس نمودار سه‌بعدی اثر متقابل اسپیرولینا و کربوکسی‌متیل‌سلولز بر ویژگی مورد نظر (شکل ۱)، شیب افزایش مقاومت به ذوب به موازات افزایش درصد کربوکسی‌متیل‌سلولز، در غلظت‌های کمتر اسپیرولینا به مراتب تندتر بوده است این روند در ارتباط با اسپیرولینا نیز صدق می‌کند بدین معنی که افزایش درصد اسپیرولینا در غلظت‌های کمتر کربوکسی‌متیل‌سلولز، منجر به بالا رفتن شدیدتر مقاومت به ذوب شده است در حالیکه در غلظت‌های بالاتر کربوکسی‌متیل‌سلولز، مقاومت به ذوب نمونه‌های حاوی اسپیرولینای بیشتر، آنگونه که انتظار می‌رفت افزایش نداشته است.

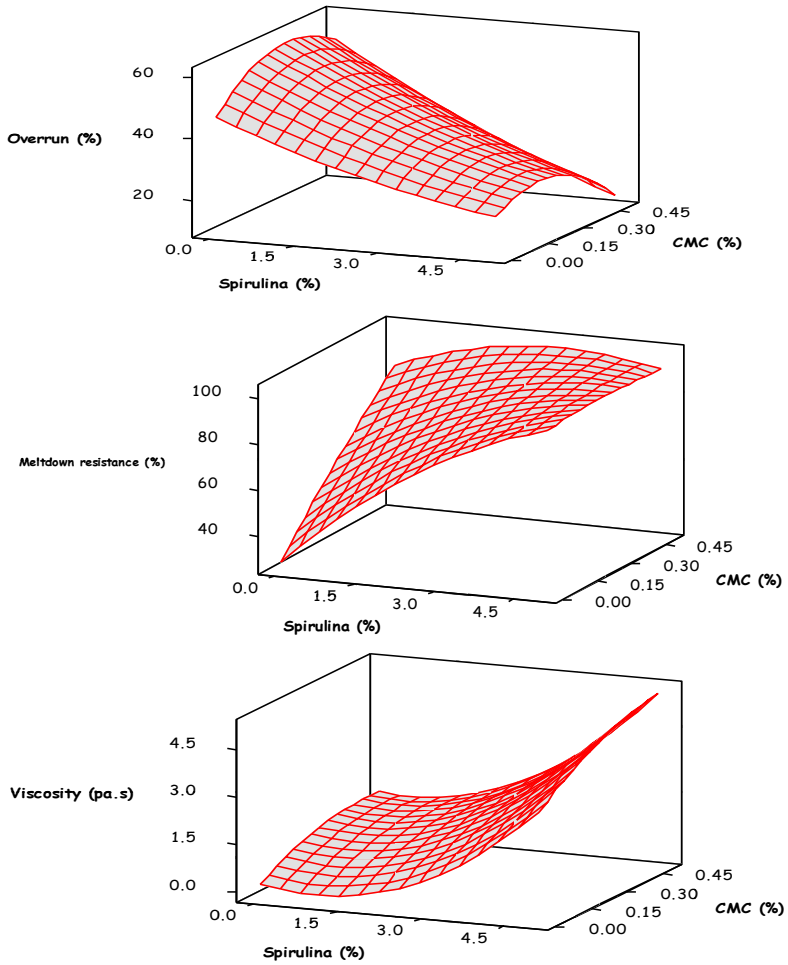
جدول ۳- تجزیه واریانس (ANOVA) اثر اسپیرولینا و کربوکسی‌متیل‌سلولز بر ویژگی‌های فیزیکی بستنی سنتی ایرانی

Source	Y_1		Y_2		Y_3	
	b-coefficient	*P*-value	*b*-coefficient	*P*-value	*b*-coefficient	*P*-value
Intercept	۱/۵۴۴	۰/۰۰۰	۸۸/۰۵۷	۰/۰۰۰	۴۰/۱۸۷	۰/۰۰۰
X_1	۱/۷۴۲	۰/۰۰۰	۱۹/۵۵۴	۰/۰۰۱	−۱۶/۹۸۱	۰/۰۲۱
X_2	۰/۷۴۱	۰/۰۰۶	۱۴/۷۶۸	۰/۰۰۵	−۰/۸۰۶	۰/۸۹۲
$X_1.X_1$	۱/۲۵۹	۰/۱۷۲	−۹/۲۸۵	۰/۵۷۹	۲/۸۵۵	۰/۹۱۱
$X_2.X_2$	−۰/۳۴۳	۰/۶۹۱	−۱/۶۸۵	۰/۹۱۹	−۹/۷۶۴	۰/۷۰۳
$X_1.X_2$	۰/۲۰۸	۰/۳۴۱	−۱۴/۷۵۵	۰/۰۰۷	−۴/۵۷۲	۰/۴۷۶
R^2	۰/۹۴۱		۰/۸۹۹		۰/۵۹۴	
R^2-adjust	۰/۸۹۹		۰/۸۲۷		۰/۳۰۵	
Lack-of-Fit	-	۰/۰۹۳	-	۰/۰۱۰	-	۰/۱۹۱
Regression	-	۰/۰۰۰	-	۰/۰۰۲	-	۰/۱۸۸
Linear	-	۰/۰۰۰	-	۰/۰۰۱	-	۰/۰۵۸
Quadratic	-	۰/۰۲۳	-	۰/۱۵۶	-	۰/۶۶۱
Interaction	-	۰/۳۴۱	-	۰/۰۰۷	-	۰/۴۷۶

X_1 و X_2 به ترتیب درصد اسپیرولینا و کربوکسی‌متیل‌سلولز (CMC) هستند.

Y_1، Y_2 و Y_3 به ترتیب ویسکوزیته، مقاومت به ذوب و اوران هستند.

b-coefficient، ضریب هر متغیر در مدل توصیف‌کننده ویژگی‌های بستنی سنتی بر اساس اجزای فرمولاسیون آن می‌باشد.



شکل ۱- نمودار سطح پاسخ اثر متقابل اجزای فرمولاسیون بر ویژگی‌های فیزیکی بستنی سنتی ایرانی

- اوران

نتایج بررسی آماری اثر اجزای فرمولاسیون (اسپیرولینا و کربوکسی‌متیل‌سلولز) بر درصد افزایش حجم یا همان اوران نمونه‌های بستنی سنتی ایرانی در جدول ۳ قابل مشاهده است. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، افزایش درصد اسپیرولینای مورد استفاده در فرمولاسیون بستنی‌های مورد پژوهش، با کاهش معنی‌داری ($p < 0.05$) اوران همراه بوده است این در حالیست که دیگر جزء فرمولاسیون یعنی کربوکسی‌متیل‌سلولز، از تاثیر معنی‌داری بر اوران بستنی‌های سنتی برخوردار نبوده است ($p \geq 0.05$). به روایت نمودار سه بعدی اثر متقابل اجزای فرمولاسیون بر اوران بستنی سنتی (شکل ۱)، در تمامی غلظت‌های مورد استفاده اسپیرولینا، افزایش درصد کربوکسی‌متیل‌سلولز تا جایی باعث بهبود اوران شده و بیش از آن، کاهش اوران را به همراه داشته است. بر اساس نمودار ارائه شده در شکل ۱، افزایش میزان اسپیرولینای مورد استفاده، فارغ از میزان کربوکسی‌متیل‌سلولز به کار گرفته شده در فرمولاسیون، به گونه‌ای پیوسته کاهش اوران را به همراه داشته است به نحوی که نمونه‌های دارای بیشینه میزان اسپیرولینا، کمترین درصد افزایش حجم را از خود نشان داده‌اند.

- ویژگی‌های ارگانولپتیکی

بر اساس یافته‌های حاصل از پژوهش جاری، افزایش درصد استفاده از ریزجلبک اسپیرولینا در فرمولاسیون بستنی سنتی ایرانی، به گونه معنی‌داری کاهش استقبال مصرف‌کنندگان از طعم، رنگ و ظاهر، بافت و پذیرش کلی محصول را در پی داشت ($p < 0.05$) (جدول ۴). البته بستنی‌های حاوی غلظت‌های بسیار کم اسپیرولینا، مورد پذیرش پانل ارزیاب قرار گرفتند (شکل ۲). در ارتباط با دیگر جزء فرمولاسیون بستنی سنتی مورد بررسی در پژوهش جاری و تاثیر آن بر مطلوبیت ویژگی‌های حسی، نتایج حکایت از عدم تاثیر معنی‌دار کربوکسی‌متیل‌سلولز بر

مقبولیت حسی بستنی سنتی نزد مصرف کنندگان داشت ($p \geq 0.05$) (جدول ۴). البته به گواه نتایج تحلیل آماری، اثر متقابل آن با اسپیرولینا از تاثیر معنی‌داری بر پذیرش کلی محصول برخوردار بود (داده‌ها نشان داده نشده‌اند) بدین ترتیب که در غلظت‌های میانی کربوکسی‌متیل‌سلولز، حضور درصد بیشتری از اسپیرولینا از سوی مصرف‌کنندگان تحمل شد (شکل ۲).

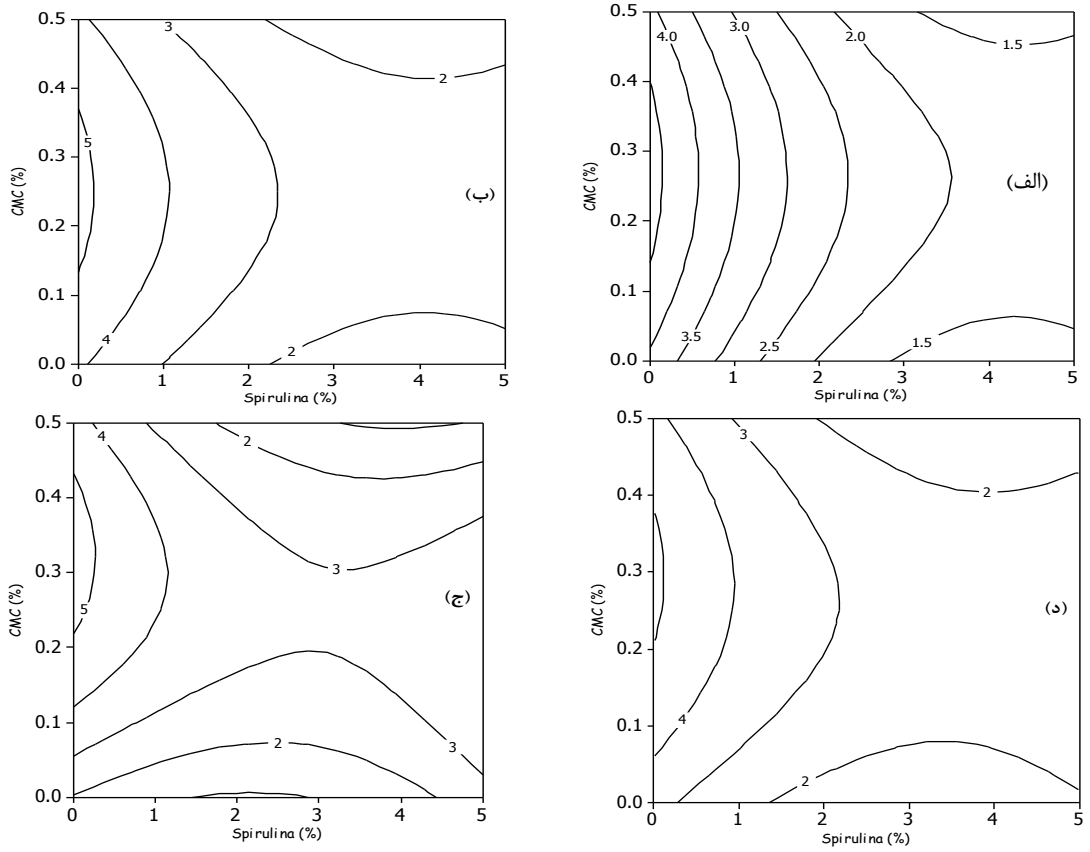
جدول ٤- تجزیه واریانس (ANOVA) اثر اسپیرولینا و کربوکسی‌متیل‌سلولز بر ویژگی‌های حسی بستنی سنتی ایرانی

Y_4		Y_3		Y_2		Y_1		Source
P-value	*b*-coefficient	*P*-value	*b*-coefficient	*P*-value	*b*-coefficient	*P*-value	*b*-coefficient	
۰/۰۰۰	۲/۸۳۴	۰/۰۰۰	۳/۱۸۰	۰/۰۰۰	۲/۹۱۰	۰/۰۰۰	۲/۵۱۵	Intercept
۰/۰۰۰	−۱/۱۰۵	۰/۰۱۰	−۰/۶۴۴	۰/۰۰۰	−۱/۳۰۵	۰/۰۰۰	−۱/۲۷۲	X_1
۰/۵۱۷	۰/۰۸۸	۰/۲۴۳	۰/۲۳۳	۰/۸۳۵	−۰/۰۲۲	۰/۶۵۴	۰/۰۵۰	X_2
۰/۰۷۶	۱/۱۶۷	۰/۱۲۷	۱/۳۶۱	۰/۰۷۸	۱/۰۲۳	۰/۰۷۱	۰/۹۷۷	X_1. X_1
۰/۰۴۹	−۱/۳۳۲	۰/۰۳۶	−۲/۰۳۸	۰/۰۶۶	−۱/۰۷۶	۰/۱۱۶	−۰/۸۲۲	X_2. X_2
۰/۰۳۰	−۰/۳۷۵	۰/۰۰۱	−۱/۰۰۰	۰/۷۶۸	−۰/۰۳۷	۱/۰۰۰	−۰/۰۰۰	X_1. X_2
	۰/۹۲۴		۰/۸۸۳		۰/۹۵۰		۰/۹۵۵	R^2
	۰/۸۷۱		۰/۸۰۰		۰/۹۱۴		۰/۹۲۲	R^2-adjust
۰/۲۹۸	-	۰/۴۳۹	-	۰/۰۷۲	-	۰/۳۲۷	-	Lack-of-Fit
۰/۰۰۱	-	۰/۰۰۴	-	۰/۰۰۰	-	۰/۰۰۰	-	Regression
۰/۰۰۰	-	۰/۰۲۱	-	۰/۰۰۰	-	۰/۰۰۰	-	Linear
۰/۱۱۴	-	۰/۰۲۸	-	۰/۱۶۴	-	۰/۱۴۷	-	Quadratic
۰/۰۳۰	-	۰/۰۰۱	-	۰/۷۶۸	-	۱/۰۰۰	-	Interaction

X_1 و X_2 به ترتیب درصد اسپیرولینا و کربوکسی‌متیل‌سلولز (CMC) هستند.

Y_1، Y_2، Y_3 و Y_4 به ترتیب پذیرش عطر و طعم، پذیرش رنگ و ظاهر، پذیرش بافت و پذیرش کلی هستند.

b-coefficient، ضریب هر متغیر در مدل توصیف‌کننده ویژگی‌های بستنی سنتی بر اساس اجزای فرمولاسیون آن می‌باشد.



شکل ۲- نمودار کنتور اثر متقابل اجزای فرمولاسیون بر ویژگی‌های حسی بستنی سنتی ایرانی (الف- عطر و طعم، ب-رنگ و ظاهر، ج- بافت، د- پذیرش کلی)

- بهینه‌سازی و تائید مدل

از آنجائیکه مهمترین شاخص‌های کیفی یک بستنی، درصد افزایش حجم و میزان مقاومت به ذوب آن می‌باشد و این فاکتورها نقش مهمی در میزان پذیرش این محصولات نزد مصرف‌کننده بازی می‌کنند هدف بهینه‌سازی، دستیابی به بالاترین درصد افزایش حجم، بیشترین مقاومت به ذوب و بیشینه استقبال مصرف‌کنندگان از محصول موردنظر، قرار داده شد. به گواه نتایج بدست آمده از فرآیند بهینه‌سازی روش سطح پاسخ (جدول ۵)، با ساخت بستنی تحت فرمولاسیونی شامل حدودا ۰/۲۵٪ اسپیرولینا و ۰/۳۴٪ کربوکسی‌متیل‌سلولز، می‌توان علاوه بر دستیابی به درصد اوورانی معادل حدود ۵۷٪ و درصد مقاومت به ذوبی حدودا برابر با ۷۳٪، انتظارات مصرف‌کننده را نیز تا سرحد ممکن برآورده ساخت. ضریب تعیین[1] (R^2) نزدیک به واحد و همچنین معنی‌دار نبودن آماری پارامتر عدم برازش (Lack of fit) مدل‌های ریاضی توصیف‌کننده ویژگی‌های فیزیکی و حسی بستنی بر اساس اجزای متغیر فرمولاسیون، نشان-دهنده قابل اعتماد بودن این مدل‌ها در پیش‌گویی فرمولاسیون بهینه می‌باشد. با این حال، به منظور تائید نهایی مدل، نمونه بستنی سنتی حاوی اسپیرولینا، تحت فرمولاسیون بهینه ارائه شده تهیه شد و پارامترهایی اوورران، مقاومت به ذوب و پذیرش کلی (پارامترهایی که در فرآیند بهینه سازی مورد استفاده قرار گرفتند) آن مورد ارزیابی قرار گرفت و با مقادیر پیش‌بینی‌شده بوسیله روش سطح پاسخ (جدول ۵)، در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ مقایسه شد. بر اساس نتایج بدست‌آمده (جدول ۵)، بین مقادیر پیش‌بینی‌شده بوسیله روش سطح‌پاسخ و مقادیر اندازه‌گیری شده، از لحاظ آماری ($p \geq 0.05$) اختلافی معنی‌داری وجود ندارد که مهر تائید نهایی بر صلاحیت مدل‌های ریاضی ارائه شده بوسیله روش سطح پاسخ در ارائه فرمولاسیون بهینه می‌باشد.

- مقایسه نمونه بهینه و نمونه شاهد

- ویژگی‌های فیزیکی و ارگانولپتیکی

نتایج مقایسه ویژگی‌های فیزیکی نمونه بهینه بستنی (۰/۳۴ پایدارکننده کربوکسی‌متیل‌سلولز و ۰/۲۵٪ اسپیرولینا) و نمونه شاهد (۰/۵٪ پایدارکننده ثعلب، عاری از اسپیرولینا) (شکل ۳) نشان داد که ویسکوزیته، درصد مقاومت به ذوب و درصد افزایش حجم نمونه بهینه به گونه معنی‌داری بیشتر از ویسکوزیته نمونه شاهد می‌باشد ($p < 0.05$). در ارتباط با ویژگی‌های ارگانولپتیک، اگر چه طعم نمونه شاهد به گونه معنی‌داری خوشایندتر از نمونه بهنیه می‌باشد ($p < 0.05$)، ولی در ارتباط با پارامترهای رنگ و ظاهر و بافت، برتری از آن نمونه بهینه بود ($p < 0.05$) البته، در مجموع، میزان پذیرش کلی نمونه بهینه و نمونه شاهد نزد مصرف‌کنندگان، از لحاظ آماری تفاوتی نداشت ($p \geq 0.05$).

- کیفیت میکروبی

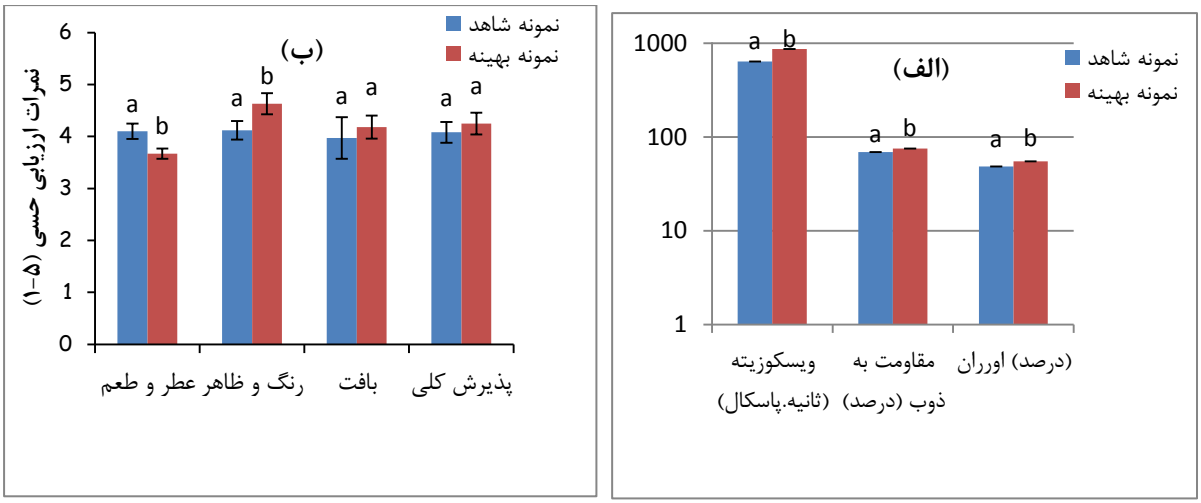
نتایج بررسی میکروبیولوژیکی نمونه بهینه و نمونه شاهد حکایت از آن داشت که هر دو نمونه عاری از میکروارگانیسم‌هایی مانند آنتروباکتریاسه، اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس و سالمونلا بودند با این حال، شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها و شمارش کپک و قارچ نمونه بهنیه نسبت به نمونه شاهد کمتر بود (جدول ۶).

جدول ۵- فرمولاسیون بهینه و راستی‌آزمایی آماری مدل‌های ریاضی در پیش‌گویی فرمولاسیون بهینه بستنی سنتی حاوی اسپیرولین

پارامتر	فرمولاسیون بهینه		مقدار پیش‌بینی شده	مقدار بدست آمده*	میانگین خطای استاندارد	اختلاف میانگین	*p*-Value
	اسپیرولینا (٪)	CMC (٪)					
اوران (٪)	۰/۲۵	۰/۳٤	۵۷/۶۱	۵۵/۲۷±۱/۹۰	۱/۰۹	-۲/۳۳	۰/۱۶۷
مقاومت به ذوب (٪)			۷۳/۲۷	۷۵/۴۰±۲/۶۲	۱/۵۱	۲/۱۳	۰/۵۳۳
پذیرش کلی (۵-۱)			۴/۷۴	۴/۲۵±۰/۲	۰/۱۱	-۰/۴۹	۰/۰۵۱

* مقادیر ارائه شده میانگین سه تکرار می‌باشد.

[1] Coefficient of Determination



شکل ۳- مقایسه ویژگی‌های فیزیکی (الف) و ارگانولپتیکی (ب) نمونه بهینه و نمونه شاهد

جدول ٦- مقایسه کیفیت میکروبی نمونه شاهد و نمونه بهینه

نوع میکروارگانیسم	تعداد کلنی در گرم نمونه		
	حد مجاز	نمونه بستنی شاهد	نمونه بهینه بستنی
شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها	5×10^4	۵۳	۲۳
آنتروباکتریاسه	$10 <$	منفی	منفی
اشریشیا کلی	منفی	منفی	منفی
استافیلوکوکوس	منفی	منفی	منفی
سالمونلا	منفی	منفی	منفی
کپک و مخمر		۳	۰

بحث

- ویژگی‌های فیزیکی

همانطور که پیش‌تر عنوان شد، افزایش میزان استفاده از اسپیرولینا و کربوکسی‌متیل‌سلولز در فرمولاسیون بستنی سنتی منجر به افزایش قابل ملاحظه ویسکوزیته شد. به طور کلی، افزایش ویسکوزیته یک فرمولاسیون غذایی در اثر افزودن یک جزء فرمولاسیون، عمدتا به توانایی جذب آب آن جزء نسبت داده می‌شود (امیری و احمدی، ۱۳۹۳). گفته می‌شود که اسپیرولینا از قدرت جذب آبی معادل ۱/۴۵ گرم آب/گرم پروتئین برخوردار می‌باشد (Robinson *et al.*, 2000). اسلامی مشکنانی و همکاران (۱۳۹۳) نیز افزایش چشمگیر ویسکوزیته دوغ در نتیجه افزودن پودر ریزجلبک اسپیرولینا را گزارش کردند. کربوکسی‌متیل‌سولز به واسطه توانایی کم نظیر جذب آب و قابلیت امولسیون‌کنندگی قابل‌توجه، از معمولترین ترکیباتی است که به عنوان پایدارکننده در فرمولاسیون انواع بستنی‌ها به کار برده می‌شود. در این ارتباط، بهرام‌پرور و همکاران (۱۳۹۰) در پژوهشی در ارتباط با بررسی تاثیر غلظت پایدارکننده‌های مختلف بر ویژگی‌های فیزیکی بستنی نشان دادند که افزایش غلظت کربوکسی‌متیل‌سلولز (۰، ۰/۳، ۰/۴ و ۰/۵٪) به گونه پیوسته و معنی‌داری ویسکوزیته نمونه‌های بستنی را ارتقا می‌دهد. ویسکوزیته یکی از اصلی‌ترین عوامل تاثیر گذار بر نرخ ذوب شدن بستنی می‌باشد (گوهری و همکاران، ۱۳۸۴). بر این اساس، به نظر می‌رسد علت بهبود شگرف مقاومت به ذوب بستنی مورد بررسی در این پژوهش، به موازات افزایش غلظت اسپیرولینا و یا کربوکسی‌متیل‌سولز را باید در تاثیر افزایشی این اجزا بر ویسکوزیته بستنی مورد نظر جستجو کرد. بهرام‌پرور و همکاران (۱۳۹۰)، علت مقاومت به ذوب کمتر بستنی حاوی پایدارکننده ثعلب پنجه‌ای را نسبت به انواع پایدار شده با کربوکسی متیل‌سلولز و یا صمغ دانه بالنگوی شیرازی را به ویسکوزیته کمتر آن نسبت دادند. Guven و همکاران (۲۰۰۳) نیز در پژوهشی در این ارتباط نشان دادند که جایگزین کردن ثعلب با ترکیبی از پایدارکننده‌های لوبیای لوکاست، کربوکسی متیل سلولز، صمغ گوار و سدیم آلژینات، منجر به افزایش ویسکوزیته بستنی مورد بررسی و به دنبال آن بهبود مقاومت آن به ذوب شدن خواهد شد. امیری و احمدی (۱۳۹۳) نیز عنوان

داشتند که کاهش غلظت مورد استفاده از کربوکسی‌متیل‌سلولز در فرمولاسیون یک نوع بستنی نرم، منجر به افزایش سرعت آب‌شدن آن خواهد شد. در اکثر پژوهش‌های انجام گرفته در ارتباط با تاثیر افزایش غلظت پایدارکننده بر نرخ ذوب شدن بستنی، بهبود این پارامتر (افزایش مقاومت به ذوب) گزارش شده است و اختلاف عمده مشاهده شده در این پژوهش‌ها، تفاوت در میزان ارتقای مقاومت به ذوب و یا غلظت بحرانی مورد نیاز از یک پایدارکننده برای دستیابی به یک مقاومت به ذوب مطلوب می‌باشد. Martinou-Voulasiki و Zerfiridis (۱۹۹۰) در بررسی کارایی پایدارکنندگی چند صمغ متفاوت در فرمولاسیون یک مخلوط بستنی فرموله‌شده از شیر گوسفند عنوان داشتند که افزایش غلظت صمغ زانتان در تمامی سطوح مورد مطالعه، منجر به افزایش معنی‌دار مقاومت به ذوب شد این در حالی بود که این پدیده در ارتباط با صمغ گوار، تنها بعد از یک غلظت مشخص رخ داد. به طور کلی، سرعت ذوب شدن بستنی تحت تاثیر فاکتورهای متعددی مانند مقدار هوای وارد شده، طبیعت کریستال‌های یخ، و نیز شبکه گلبول چربی که در حین انجماد شکل می‌گیرد، می‌باشد (امیری و احمدی، ۱۳۹۳). در طی ذوب شدن، حرارت محیط تدریجا از قسمت خارجی به قسمت داخلی بستنی نفوذ کرده و موجب ذوب شدن کریستال‌های یخ می‌شود. آب حاصل از ذوب کریستال‌های یخ، در فاز سرمی غیر منجمد پخش شده و سپس مخلوط رقیق‌شده از بین ساختار کفی بستنی عبور کرده و در انتها، اصطلاحا چکه می‌کند و به عبارتی جریان می‌یابد (امیری و احمدی، ۱۳۹۳). پایدارکننده‌ها با ایجاد ویسکوزیته، موجب کاهش تحرک مولکول‌های آب و حرکت آزادانه آنها میان مولکول‌های مخلوط می‌شوند و بدین ترتیب باعث بهبود مقاومت به ذوب بستنی می‌شوند. به علاوه، گفته می‌شود که این مولکول‌ها می‌توانند با پروتئین‌های شیر برهمکنش داشته و باعث افزایش ویسکوزیته فاز سرمی و کاهش حرکت آزادانه آنها شوند (Goff, 1997). گفته می‌شود که یکی از مهمترین عوامل موثر بر کاهش مقاومت به ذوب بستنی، ناپایداری فاز چربی آن می‌باشد (Muse, 2004). بر این اساس و با توجه به توان امولسیفایری ۱/۱۳ میلی‌لیتر چربی/ گرم پروتئین اسپیرولینا (Robinson *et al*., 2000)، نقش بهبود دهنده آن در ارتباط با مقاومت به ذوب بستنی‌های پژوهش یاد شده، از این منظر نیز قابل تفسیر می‌باشد.

عمده‌ی پژوهش‌ها، تاثیر منفی افزایش غلظت پایدارکننده بر میزان اوورران بستنی را گزارش کرده‌اند و آن را ناشی از افزایش ویسکوزیته ایجاد شده در اثر حضور پایدارکننده‌ها دانسته‌اند. بهرام‌پرور و همکاران (۱۳۹۰) عنوان داشتند که افزایش میزان استفاده از هر یک از پایدارکننده‌های کربوکسی-متیل‌سلولز، صمغ دانه بالنگوی شیرازی و صمغ ثعلب پنجه‌ای در فرمولاسیون بستنی، کاهش اوورران را به همراه خواهد داشت آنها علت این مشاهدات را، به افزایش ویسکوزیته حاصل از افزایش غلظت پایدارکننده نسبت دادند. Mahdian و Karazhian (۲۰۱۳) افزایش ویسکوزیته وکاهش اوورران را به موازات افزایش درصد استفاده از اینولین در فرمولاسیون بستنی کم‌چرب گزارش کردند. عقدایی و همکاران (۱۳۹۱) نیز در پژوهشی مشابه نشان دادند که افزایش میزان استفاده از صمغ اسفرزه در فرمولاسیون بستنی، با کاهش اوورران همراه خواهد بود. در پژوهش پیش‌رو، اسپیرولینا به گونه قابل‌توجهی کاهش اوورران راسبب شد ولی کربوکسی‌متیل‌سلولز تاثیر دوگانه‌ای در این ارتباط نشان داد. بدین‌معنی که تا یک غلظت مشخص باعث بهبود اوورران شد و پس از آن، کاهش اوورران را سبب شد. گوهری و همکاران (۱۳۸۴) نیز در بررسی تاثیر جایگزینی شکر با شیره خرما بر ویژگی‌های فیزیکی و حسی بستنی نرم عنوان داشتند که با افزایش سطح جایگزینی تا ۵۰٪، میزان اوورران افزایش و پس از آن در سطوح جایگزینی ۷۵ و ۱۰۰٪ کاهش یافت این در حالی بود که ویسکوزیته با روند پیوسته‌ای با افزایش درصد جایگزینی افزایش پیدا کرد. به نظر می‌رسد ریشه تناقضات مشاهده شده در ارتباط با روند تغییرات اوورران با افزایش میزان پایدارکننده را باید در تاثیر ویسکوزیته ایجاد شده بوسیله این ترکیبات بر اوورران جستجو کرد. اوورران یا همان افزایش حجم در فرآیند تولید بستنی و طی فرآیند هم‌زدن، در نتیجه ورود هوا به مخلوط بستنی ایجاد می‌شود. معمولا حجمی از هوا معادل با وزن مخلوط بستنی، طی مرحله هم‌زدن وارد محصول می‌شود که عامل شکل‌گیری بافت و ساختار منحصر به فرد بستنی می‌باشد. حباب‌های هوای وارد شده به مخلوط بستنی تمایل به هم‌پیوستن و خروج از ساختار بستنی را دارند (Dickinson & Stainsby, 1982). گفته می‌شود که یکی از کارکردهای پایدارکننده‌ها در فرمولاسیون بستنی، افزایش ویسکوزیته و به دنبال آن، جلوگیری از به هم پیوستن حباب‌های هوا و خروج آنها از محصول و بدین ترتیب افزایش اوورران و یا دست‌کم حفظ اوورران ایجاد شده می‌باشد (Marshall, 2003). حال اگر ویسکوزیته از حدی بیشتر شود فرآیند هم‌زدن دشوار شده و هوا به اندازه کافی وارد بافت نخواهد شد و در نتیجه اوورران کاهش خواهد یافت (Kaya, 2001). بر اساس این فرضیات، تاثیر دوگانه افزایش غلظت پایدارکننده بر میزان افزایش حجم بستنی قابل توجیه خواهد بود.

- ویژگی‌های ارگانولپتیک

آنگونه که انتظار می‌رفت، افزایش درصد استفاده از ریزجلبک اسپیرولینا در فرمولاسیون بستنی سنتی ایرانی، کاهش مطلوبیت طعم را در پی داشت. صالحی‌فر و همکاران (۱۳۹۱)، در بررسی امکان استفاده از پودر ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس

در تولید کلوچه صنعتی، نشان دادند که مطلوبیت عطر و طعم کلوچه با افزایش میزان استفاده از ریزجلبک اسپیرولینا، نسبت به نمونه شاهد کاهش معنی‌داری پیدا می‌کند. این در حالیست که خزائی‌پول و همکاران (۱۳۹۴) در مطالعه‌ای در ارتباط با استفاده از اسپیرولینا در فرمولاسیون پاستیل میوه‌ای بر پایه پوره کیوی بیان داشتند که افزایش غلظت مورد استفاده از اسپیرولینا در محدوده مورد مطالعه (۰/۲۵ تا ۱ درصد)، انگونه که انتظار می‌رفت، تاثیرمعنی‌دار نامطلوبی ($p < 0.05$) بر پارامترهایی مانند طعم نداشت. این پژوهشگران در تفسیر این یافته، عنوان داشتند که احتمالا کیوی به خوبی توانسته است اثرات طعمی اسپیرولینا را بپوشاند. در ارتباط با دیگر جزء فرمولاسیون بستنی سنتی مورد بررسی در پژوهش جاری و تاثیر آن بر مطلوبیت طعم، نتایج حکایت از عدم تاثیر معنی‌دار کربوکسی‌متیل‌سلولز بر مقبولیت طعم بستنی سنتی نزد مصرف کنندگان داشت ($p \geq 0.05$) (جدول ۴). این باید توجه داشت که ترکیباتی که با عنوان پایدارکننده در فرمولاسیون بستنی مورد استفاده قرار می‌گیرند معمولا ترکیباتی بی‌رنگ و بی‌مزه هستند و از این رو تاثیر چندانی بر رنگ و عطر و طعم محصول ندارند و در واقع کارکرد اصلی آنها بهبود بافت است که بی‌شک بر پذیرش کلی محصول نزد مصرف‌کننده تاثیر گذار خواهد بود. در این ارتباط، عقدایی و همکاران (۱۳۹۱) نشان دادند که تغییر نوع پایدارکننده و یا افزایش میزان استفاده از پایدارکننده‌هایی همچون صمغ دانه ریحان و و دانه اسفرزه در فرمولاسیون بستنی، تاثیر معنی‌داری بر طعم این محصولات نخواهد داشت. تاثیر کربوکسی‌متیل‌سلولز بر رنگ و ظاهر بستنی نیز قابل اعتنا نبود. اما در ارتباط با اسپیرولینا، پیش‌بینی می‌شد که بستنی حاوی اسپیرولینا به واسطه رنگ سبز–آبی خود بیشتر مورد استقبال واقع شود ولی نتایج حاکی از کاهش معنی‌دار استقبال مصرف‌کنندگان به موازات افزایش میزان استفاده از اسپیرولینا در فرمولاسیون بستنی سنتی بود. شاید علت این پدیده را بتوان در میزان بالای استفاده از اسپیرولینا جستجو کرد چرا که نمونه‌های حاوی کمتر از ۱٪ اسپیرولینا نه تنها با عدم مقبولیت مصرف‌کننده مواجه نشدند بلکه بسیار مورد پسند آنها قرار گرفتند به گونه‌ای که نمونه‌های یاد شده نمراتی در محدوده رنگ و ظاهر خوشایند و بسیار خوشایند (نمرات ۵–۴) دریافت کردند (شکل ۲). Fradique و همکاران (۲۰۱۰) نیز در پژوهشی در مورد استفاده از پودر ریزجلبک اسپیرولینا برای غنی‌سازی اسپاگتی نشان دادند که اسپاگتی‌های غنی‌شده با اسپیرولینا از رنگ سبز خوشایندی برخوردار بودند و همین امر منجر به چربش قابل ملاحظه نمره ارزیابی حسی آنها نسبت به نمونه کنترل (نمونه بدون جلبک) شد. اسپیرولینا در ارتباط با بافت بستنی نیز کاهش مطلوبیت را در پی داشت و حتی اثر کربوکسی‌متیل سلولز را نیز تحت تاثیر قرار داد. بدین ترتیب که در غلظت‌های کم اسپیرولینا، افزایش میزان کربوکسی‌متیل‌سلولز به بیش از حدود ۰/۱٪، موجب ارتقای پذیرش بافت نزد مصرف‌کننده شد ولی در غلظت‌های بالاتر اسپیرولینا، محدوده مطلوب درصد کربوکسی‌متیل‌سلولز، محدودتر شد (شکل ۲). پیشتر، در مورد نقش پایدار کننده‌ها در ایجاد ویسکوزیته بستنی و تاثیر آن بر پارامترهای مهم کیفیت بافت از جمله درصد اوران و مقاومت به ذوب، سخن رانده شد. با این حال، علت کاهش مطلوبیت بافت به موازات افزایش این دو جزء را می‌توان به افزایش بیش از اندازه ویسکوزیته مخلوط قبل از انجماد و ایجاد ساختمان سخت، سنگین و صمغ مانند محصول نسبت داد (امیری و همکاران، ۱۳۹۳). فدائی نوغانی و همکاران (۱۳۹۴) نشان دادند که با افزایش میزان استفاده از اسپیرولینا در فرمولاسیون پنیر فراپالایش، بافت پنیر سفت‌تر شده و به دنبال آن، استقبال مصرف‌کنندگان از محصول موردنظر کاهش می‌یابد؛ با این حال، نمونه پنیر حاوی ۰/۳٪ وزنی/وزنی اسپیرولینا، از نقطه‌نظر میزان پذیرش مصرف‌کنندگان، تفاوت معنی‌داری با نمونه شاهد (نمونه بدون اسپیرولینا) نداشت. توکلی لاهیجانی و همکاران (۱۳۹۴) نیز با استناد به تصاویر بدست‌آمده از میکروسکوپ الکترونی روبشی، بر تراکم پروتئینی نامطلوب ماست‌های حاوی غلظت‌های بالاتر از ۱٪ اسپیرولینا تاکید کردند. اما در ارتباط با پذیرش کلی محصول، همانطور که از نامش بر می‌آید پذیرش کلیت محصول را در بر می‌گیرد که در مورد بستنی تقریبا همان شاخص‌های ارگانولپتیکی بود که ذکر آن‌ها رفت (عطر و طعم، رنگ و ظاهر و بافت). بر این اساس به نظر می‌رسد باید ریشه کاهش میزان پذیرش کلی محصول با افزایش اسپیرولینا و عدم تاثیر آماری کربوکسی‌متیل‌سلولز را در تاثیری که تغییرات این اجزا بر تک‌تک ویژگی‌های ارگانولپتیک می‌گذارند جستجو کرد.

- مقایسه نمونه بهینه و نمونه شاهد

نتایج این پژوهش حاکی از ویسکوزتر بودن نمونه بهینه نسبت به نمونه شاهد بود. بهرام‌پرور و همکاران (۱۳۹۰) نیز نشان دادند که در غلظت‌های یکسان پایدارکننده، نمونه بستنی حاوی کربوکسی‌متیل‌سلولز به مراتب ویسکوزتر از نمونه حاوی ثعلب می‌باشد. درصد مقاومت به ذوب و درصد افزایش حجم نمونه بهینه نیز نسبت به نمونه شاهد بیشتر بود (شکل ۳) که می‌توان آن را به عنوان پیامد ویسکوزیته بیشتر این نمونه به شمار آورد. در ارتباط با رنج معمول اوران در بستنی، گفته می‌شود که افزایش حجمی بین ۵۰ تا ۶۰٪ یک میزان مطلوب به شمار می‌آید (Martinou-Voulasiki & Zerfiridis,

1990). بر این اساس، اوران نمونه بهینه (۵۵/۲۷٪) و نمونه شاهد (۴۸/۵۲) در پژوهش جاری نیز، تقریبا در محدوده مطلوب افزایش حجم بستنی قرار داشتند. معمولا در بستنی‌های نرم و نیمه‌نرم که بوسیله فریزرهای غیرمداوم تولید می‌شوند اوران بین ۴۰-۴۵ درصد، یک میزان مطلوب به شمار می‌آید چرا که کارایی این بستنی‌سازها در ترکیب کردن هوا و هم‌زدن مخلوط کردن چندان بالا نمی‌باشد (بهرام‌پرور و همکاران، ۱۳۹۰). اوران و مقاومت به ذوب بالاتر نمونه بهینه نسبت به نمونه شاهد منجر به استقبال به مراتب بیشتر پانل ارزیاب از بافت این نمونه شد. این در حالی بود که طعم نمونه بهینه کمتر مورد پسند آنها قرار گرفت. اما نکته جالب توجهی که در این بررسی مقایسه‌ای به دست آمد چربش محسوس مطلوبیت رنگ و ظاهر نمونه بهینه نسبت به نمونه شاهد بود. به نظر می‌رسد که بستنی سبز-آبی حاوی اسپیرولینا بیشتر مورد پسند مصرف‌کنندگان قرار گرفته است. البته در مجموع بین پذیرش کلی آنها تفاوت چشمگیری مشاهده نشد.

در ارتباط با مقایسه کیفیت میکروبی این دو نمونه، برتری نسبی میکروبیولوژیکی نمونه بهینه نسبت به نمونه شاهد را می‌توان ناشی از ویژگی‌های ضدمیکروبی اسپیرولینای موجود در فرمولاسیون این نمونه دانست. Kaushik و Chauhan (۲۰۰۸) در مطالعه‌ای نشان دادند که انواع اجزا و عصاره‌های استخراج شده از اسپیرولینا، کم و بیش از فعالیت ضدمیکروبی برخوردار می‌باشند ولی بالاترین فعالیت ضدمیکروبی از آن عصاره استخراج شده بوسیله متانول می‌باشد. Ozdemir و همکاران (۲۰۰۴) در پژوهشی در مورد بررسی خواص ضدمیکروبی عصاره‌ها و اجزای فرار متنوع استخراج شده از اسپیرولینا پلاتنسیس نشان دادند که در مقایسه با آنتی‌بیوتیک توبرامایسین[1] به عنوان استاندارد، اجزا و عصاره‌های استخراج شده از اسپیرولینا-به استثنای اجزای استخراج شده بوسیله حلال متانول- دارای فعالیت ضدمیکروبی نسبتا پایینی هستند. در ارتباط فعالیت ضدقارچی نیز، تنها اجزای استخراج شده بوسیله اتانول و یا متانول، دارای فعالیت ضدقارچی بودند البته میزان آن نسبت به ضدقارچ نیستاتین[2] به عنوان استاندارد، کمتر بود.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که حضور غلظت‌های بالای اسپیرولینا در فرمولاسیون بستنی سنتی ایرانی، ویژگی‌های فیزیکی و ارگانولپتیکی محصول را به گونه‌ای منفی تحت تاثیر قرار می‌دهد این در حالی‌بود که با استفاده ار روش سطح پاسخ و به کارگیری غلظت‌های اپتیمم اسپیرولینا و کربوکسی‌متیل‌سولز، فرآورده سلامت‌افزایی حاصل شد که در قیاس با نمونه تجاری بستنی سنتی ایرانی، از ویژگی‌های فیزیکی و ارگانولپتیکی خوشایندی برخوردار بود.

منابع

اسلامی مشکنانی، ع.، فدائی نوغانی، و.، خسروی دارانی، ک. و مزینانی، ص. (۱۳۹۳). بررسی اثر افزودن ریزجلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی دوغ پروبیوتیک حاوی پودر نعناع. فصلنامه علوم و فناوری‌های نوین غذایی، ۲ (۶)، ۵۹-۷۰.

امیری، ز. ر. و احمدی، م. ا. (۱۳۹۳). بررسی امکان جایگزینی کربوکسی‌متیل‌سلولز با صمغ کتیرا بر ویژگی‌های فیزیکی و حسی بستنی. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۴ (۲)، ۲۷۹-۲۹۰.

بهرام‌پرور، م.، خداپرست، م. ح. ح. و رضوی، م. ع. (۱۳۹۰). اثر پایدارکننده‌های منتخب بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی بستنی. فرآوری و تولید مواد غذایی. ۱ (۱)، ۷-۱۴.

بی نام. (۱۳۸۵). موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، بستنی، ویژگی‌ها و روش‌های آزمون. شماره ۵۲۳۴.

بی نام. (۱۳۸۸). موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، جستجو و شناسایی سالمونلا. شماره۴۴۱۳.

بی‌نام. (۱۳۷۹). موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، شمارش میکروارگانیسم‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد. شماره ۵۴۸۴.

بی‌نام. (۱۳۸۵). موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، روش جامع برای شمارش استافیلوکوکوس‌های کواکولاز مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس و سایر گونه ها). شماره۳-۶۸۰۶.

بی‌نام. (۱۳۸۶). موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، جستجو، شناسایی و شمارش آنتروباکتریاسه. شماره۲۴۶۱.

بی‌نام. (۱۳۸۶). موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، شمارش واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی کپک و/ یا مخمر- شمارش کلنی در پلیت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد. شماره ۱۰۱۵۴.

توکلی لاهیجانی، س. ا.، شهیدی، ف.، وریدی، م. و محبی، م. (۱۳۹۴). بررسی اثر زیست‌توده ریزجلبک *Spirulina platensis* بر کینیتیک اسیدی‌شدن و ویژگی‌های ریزساختاری ماست. نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی، ۱۱ (۲)، ۱۵۲-۱۶۰.

خزائی‌پول، ا.، شهیدی، ف.، مرتضوی، ع. و محبی، م.

[1] Tobramycin [2] Nystatin

(۱۳۹۴). بررسی اثر سطوح مختلف ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس (*Spirulina platensis*) و هیدروکلوئیدهای آگار و گوار روی فعالیت آب، بافت، پارامترهای رنگ و پذیرش کلی پاستیل میوه‌ای بر پایه پوره کیوی. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۴۸ (۱۲)، ۴۷- ۵۹.

صالحی‌فر، م.، شهبازی‌زاده، س.، دارانی، ک. خ.، بهمدی، ه. و فردوسی، ر. (۱۳۹۱). بررسی امکان استفاده از ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس در تولید کلوچه صنعتی. مجله علوم و صنایع غذایی ایران، ۷ (۴)، ۶۳- ۷۲.

عقدایی، س. ا.، اعلمی، م.، رضایی، ر.، دادپور، م. و خمیری، م. (۱۳۹۱). تاثیر موسیلاژ دانه‌های ریحان و اسفرزه بر ویژگی-های فیزیکوشیمیایی،رئولوژیکی و حسی بستنی نرم. نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، ۱ (۱)، ۲۳-۳۶.

فدائی نوغانی، و.، مزینانی، ص.، خسروی دارانی، ک.، اسلامی مشکنانی، ع. و میرزاده، ا. (۱۳۹۴). اثر پودر توده زیستی *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی پنیر سفید ایرانی پروبیوتیک حاوی پودر پونه کوهی تهیه-شده به روش فراپالایش. فصلنامه علوم و فناوری‌های نوین غذایی، ۲ (۷)، ۳-۱۲.

گوهری اردبیلی، ا.، نجفی، م. ب. ح. و خداپرست، م. ح. ح. (۱۳۸۴). بررسی تاثیر جایگزینی شکر با شیره خرما بر ویژگی‌های فیزیکی و حسی بستنی نرم. پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی، ۱ (۲)، ۲۳-۳۲.

Belay, A., Ota, Y., Miyakawa, K. & Shimamatsu, H. (1993). Current knowledge on potential health benefits of Spirulina. Journal of Applied Phycology, 5, 235-241.

Deng, R. (2010). Hypolipidemic, antioxidant, and ant inflammatory activities of microalgae Spirulina, Journal of Cardiovascular Therapeutics, 28, 33-45.

Dickinson, E. & Stainsby, G. (1982). Colloids in foods (pp. 382-383). London: Applied Science Publishers.

Fradique, M., Batista, A. P., Nunes, M. C., Gouveia, L., Bandarra, N. M. & Raymundo, A. (2010). Incorporation of Chlorella vulgaris and Spirulina maxima biomass in pasta products. Part 1: Preparation and evaluation. Journal of the Science of Food and Agriculture, 90, 1656-1664.

Goudarzi, M., Madadlou, A., Mousavi, M. E. & Emam-Djomeh, Z. (2012). Optimized preparation of ACE-inhibitory and antioxidative whey protein hydrolysate using response surface method. Dairy Science and Technology, 92, 641–653.

Goudarzi, M., Madadlou, A., Mousavi, M. E. & Emam-Djomeh, Z. (2015). Formulation of apple juice beverages containing whey protein isolate or whey protein hydrolysate based on sensory and physicochemical analysis. International Journal of Dairy Technology, 68 (1), 70-78.

Guven, M., Karaca, B. & Karaca, A. (2003). The effects of the combined use of stabilizers containing locust bean gum and of the storage time on Kahramanmaraß-type ice creams. International Journal of Dairy Technology, 56 (4), 223-228.

Kaushik, P. & Chauhan, A. (2008). In vitro antibacterial activity of laboratory grown culture of Spirulina platensis. Indian Journal of Microbiology, 48, 348–352.

Kaya, S. & Tekin, A. R. (2001). The effect of salep content on the rheological characteristics of a typical ice-cream mix. Journal of Food Engineering, 47, 59-62.

Mahdian, E. & Karazhian, R. (2013). Effects of fat replacers and stabilizers on rheological, physicochemical and sensory properties of reduced-fat ice cream. Journal of Agricultural Science and Technology, 15, 1163-1174.

Marshall, R.T., Goff, H. D. & Hartel, R.W. (2003). Ice cream, 6th edn. Kluwer Academic and Plenum, New York, 371 pages.

Martinou-Voulasiki, I. S. & Zerfiridis,G. K. (1990). Effect of some stabilizers on textural and sensory characteristics of yogurt ice cream from sheep's milk. Journal of Food Science, 55 (3), 703-707.

Muse, M. R. & Hartel, R.W. (2004). Ice cream structural elements that affect melting rate and hardness. Journal of Dairy Science, 87, 1-10.

Ozdemir, G., Karabay, N. U., Dalay, M. C. & Pazarbas, B. (2004). Antibacterial activity of volatile component and various extracts of spirulina platensis. Phytotherapy Research, 18, 754–757.

Pintor, A. and Totosaus, A. (2012). Ice cream properties affected by lambda-carrageenan or iota-carrageenan interactions with locust bean gum/carboxymethylcellulose mixtures. International Food Research Journal, 19(4), 1409-1414.

Robinson, R. K., Carl, A. B. & Pradip, D. P. (2000). Encyclopedia of food microbiology. In: Single- Cell Protein/The algae. Academic press, A Harcourt Sc. and Tech. Company. Vol. 3, pp 2025-2026.