تاثیر استویا و اینولین بر خصوصیات شیمیایی و میکروبی دسر لبنی شکلاتی کم‌کالری

امین سید محمودزاده[1]، آسیه احمدی دستگردی[2*]، فاطمه کیانی علی‌آبادی[2]

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، خوراسگان، اصفهان، ایران.
۲. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اردستان، اردستان، ایران.

* **نویسنده مسئول:** *as.ahmadi17@gmail.com*

تاریخ دریافت۱۴۰۰/۱۱/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۱۷

چکیده

از آنجایی‌که کربوهیدرات و چربی به عنوان مهمترین منابع افزایش دهنده کالری در محصولات غذایی شناخته می‌شوند، توجه زیادی به جایگزین‌های بدون کالری یا کم‌کالری معطوف گردیده است. در این مطالعه، اینولین و استویا به عنوان جایگزین‌های چربی و شکر در فرمولاسیون دسر شیری شکلاتی استفاده شد. به منظور بهینه‌سازی فرمول و تولید دسر شیری شکلاتی کم کالری، سه فاکتور میزان اینولین (۰ تا ۸ گرم در ۱۰۰ گرم نمونه)، میزان استویا (۰ تا ۰/۰۶ گرم در ۱۰۰ گرم نمونه) و مدت انبارداری (۱ تا ۱۴ روز) با استفاده از طرح مرکب مرکزی با روش آماری سطح پاسخ انتخاب شدند. سپس ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی مورد ارزیابی قرار گرفت. از روش فلوچ برای استخراج اسیدهای چرب استفاده شد و برای تعیین میزان اسیدهای چرب از دستگاه گازکروماتوگرافی (GC) بهره‌گیری شد. نتایج نشان داد که pH با افزایش مقدار اینولین کاهش می‌یابد. افزایش میزان اسیدهای چرب غیر اشباع در نمونه دسر شیری شکلاتی کم کالری مشاهده شد. بیشترین درصد اسیدهای چرب در دسر شیری شکلاتی پالمیتیک اسید و اولئیک اسید بود. ارزیابی قندهای اصلی ساکارز، گلوکز و فروکتوز با تکنیک HPLC نشان داد که قند غالب در نمونه کنترل ساکارز بود و نمونه بهینه مقدار لاکتوز بیشتری داشت. تعداد کلی باکتری‌ها، کپک و مخمر در دسر شیری شکلاتی تا پایان دوره نگهداری کمتر از حد مجاز تعیین شده توسط استاندارد می‌باشد. براساس مدل بدست آمده، فرمولاسیون با ۵/۶۲۸ (گرم/۱۰۰ گرم) اینولین، ۰/۰۳۲ (گرم در صد گرم) استویا و ۵/۸۳ (گرم/ ۱۰۰ گرم) شکر انتخاب گردید.

کلید واژه‌ها: اینولین، استویا، دسر شیری شکلاتی، جایگزین چربی و شکر.

مقدمه

دسرهای لبنی مطابق استاندارد ملی ایران یک فرآورده ژله‌ای بوده که حاوی شیر، قوام دهنده‌ها (نشاسته و هیدروکلوئید)، شکر، ترکیبات طعم‌دهنده و رنگ‌دهنده می‌باشد. این فرآورده در دمای یخچال نگهداری و در بسته‌بندی یکبار مصرف به بازار عرضه می‌گردد (استاندارد ملی ایران، ۱۳۹۱). مصرف این فرآورده‌ها به منظور بهبود سلامت استخوان‌ها، کاهش ریسک بیماری‌های مزمن مانند پوکی استخوان و حفظ سلامت عمومی جامعه ضروری است (Tárrega, et al., 2004; De Wijk, et al., 2003; Rapaille and Vanhemelrijck, 1998). با افزایش چاقی و دیابت، تمایل زیادی برای مصرف غذاهای کم‌چرب و یا حتی فاقد چربی و شکر ایجاد شده است. محققین صنعت غذا سالیانی است که به دنبال راهکارهایی جهت کاهش چربی و قند موادغذایی می‌باشند که علاوه بر حفظ و حتی بهبود ارزش تغذیه‌ای و خواص تکنولوژیکی این محصول، خطر افزایش کلسترول خون را کاهش دهند (Rodríguez-García, et al., 2012; Chugh, et al., 2013). یوسفی و همکاران در سال ۱۳۹۱ به بررسی اثر جایگزینی شکر با پودر استویا در تولید مربای به کم‌کالری پرداختند و نشان دادند با استفاده از پودر استویا تولید

مربای کم‌کالری امکان‌پذیراست، به‌طوری که می‌توان میزان شکر را به ۵۰ درصد میزان معمول آن تقلیل داد، بدون آنکه خصوصیات ارگانولپتیکی محصول تغییر یابد. باطبی و همکاران در سال ۱۳۹۲ طی تحقیقی بهینه‌سازی دسر لبنی با استفاده از استویا و کربوکسی متیل سلولز را مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که تولید دسر لبنی حاوی استویا امکانپذیر است. فلاح شجاعی و همکاران (۱۳۹۵)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره استویا در دسر لبنی و امکان جایگزینی شکر موجود در فرمولاسیون دسر را مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که این ویژگی می‌تواند منجر به تأخیر در اکسیداسیون خودبخودی چربی و افزایش زمان ذخیره‌سازی در محصولات غذایی حاوی آن شود. شوریده و همکاران (۱۳۸۹) تأثیر D-تاگاتوز و اینولین بعنوان جایگزین ساکارز بر خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و رئولوژیکی شکلات شیری را مورد ارزیابی قرار دادند و نشان دادند تاگاتوز از قابلیت بهتری جهت جایگزینی ساکارز برخور دارند و اینولین بعنوان فیبر رژیمی خصوصیات تغذیه‌ای ویژه‌ای داشته و ماده غذایی عملگر شناخته می‌شوند. Arcia و همکاران (۲۰۱۱)، اثر افزودن اینولین به عنوان ترکیب پری‌بیوتیک بر ویژگی‌های رئولوژیکی و ریزساختاری دسر لبنی را مورد مطالعه قرار دادند و مشاهده کردند با افزایش مدت انبارداری و غلظت اینولین شاخص قوام افزایش و شاخص جریان کاهش یافته است. همچنین با افزایش مدت نگهداری و افزایش میزان اینولین گرانروی و کشسانی نمونه‌ها افزایش یافت که نشان‌دهنده تقویت ساختار سیستم بوده است. Romanchik-Cerpovicz و همکاران (۲۰۰۶)، اثر جایگزین نمودن چربی شیر با موسیلاژ بامیه در دسر شیر شکلاتی منجمد را مورد بررسی قرار دادند. نتیجه‌گیری کلی حاکی از مناسب بودن موسیلاژ بامیه به‌عنوان جایگزین چربی شیر در دسر لبنی بوده است. از آنجا که تاکنون گزارشی در ارتباط با ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی دسر لبنی شکلاتی رژیمی با جایگزین‌های چربی و شکر ارائه نشده است، لذا هدف از این تحقیق بررسی اثرات استویا و اینولین بر خصوصیات شیمیایی و میکروبی دسر لبنی شکلاتی کم‌کالری می‌باشد.

مواد و روش کار

صمغ اینولین (Frutafit TEX) از شرکت Sensus هلند، ریبادیوزید A شرکت چرخه سبز طبیعت، شکر شرکت نقش جهان، خامه، شیر کم‌چرب استریلیزه و پودر شیر خشک کم‌چرب شرکت پگاه، پودر کاکائو کارگیل هلند، پودر ژلاتین (نوع B، بلوم ۱۶۰-۱۸۰) بنگلادش، هیدورکسید سدیم مرک آلمان، معرف فنل فتالئین مرک آلمان، اسید سولفوریک مرک آلمان، ایزو آمیل الکل مرک آلمان. سولفات‌مس، سولفات‌پتاسیم، اتر شرکت سیگما انگلستان، محیط‌های کشت پلیت کانت آگار، YGC، برد پارکر آگار و ویولت رد بایل آگار ساخت شرکت مرک آلمان.

طرح آزمایش

تأثیر متغیرهای میزان اینولین (۸-۰ درصد)، نسبت استویا / ساکارز (استویا حاوی ۹۷ درصد ریبادیوزید) در پنج سطح ۰/۱۰۰، ۲۵/۷۵، ۵۰/۵۰، ۷۵/۲۵ و ۱۰۰/۰ و مدت زمان نگهداری (۹-۱ روز) از طریق‌طرح مرکب مرکزی (CCD) بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و میکروبی دسر لبنی شکلاتی مورد ارزیابی قرار گرفت. در این آزمون ۱۸ تیمار با ۳ متغیر مستقل تأثیرگذار بر ویژگی‌های دسر شکلاتی با ۵ سطح برای هر یک از متغیرها درنظرگرفته شد که شامل ۸ نقطه فاکتوریل، ۶ نقطه استار و ۴ نقطه مرکزی می‌باشد. نقاط فاکتوریل برای تخمین مقادیر خطی و متقابل متغیرها استفاده می‌شود. در حالی‌که نقاط محوری، سطوح اضافی برای تخمین مقادیر درجه دوم متغیرها را تأمین می‌کند. تکرارهای نقاط مرکزی برای تخمین خطای خالص و مقادیر درجه دوم استفاده می‌شود. همچنین تکرارهای نقاط مرکزی برای تعیین عدم برازش استفاده می‌شود. سطوح متغیرها در جدول ۱ و نمایش طراحی آزمون‌ها در جدول ۲ آمده است. پیش‌بینی

بهترین فرمولاسیون دسر شکلاتی از طریق رابطه زیر بیان گردید:

$$y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_i^2 X_i^2 + \sum \beta_{ij} X_i X_j$$

رابطه ۱

در این رابطه y بیان‌کننده ویژگی پیش‌بینی‌شده، β_0 نقطه‌تلاقی، β_1، β_2، β_3 ضرایب رگرسیون برای مقادیر خطی، β_{11}، β_{22}، β_{33} اثرات درجه دوم متغیرها، β_{12}، β_{13}، β_{23} تأثیرات متقابل متغیرها را نشان می‌دهد و X_1، X_2 و X_3 متغیرهای مستقل تأثیرگذار بر ویژگی‌های محصول نهایی می‌باشد. معنی‌دار بودن مدل و اثرات متغیرها با در نظرگرفتن آنالیز واریانس در سطح احتمال ۰/۰۵ مورد ارزیابی قرار گرفت.

جدول۱- نمایش متغیرهای مستقل فرایند و مقادیر آن‌ها

کد / متغیر	-2α	-α	0	+α	+2α
میزان اینولین (٪)	۰	۲	۴	۶	۸
نسبت استویا/ ساکارز	۰/۱۰۰	۲۵/۷۵	۵۰/۵۰	۷۵/۲۵	۱۰۰/۰
مدت نگهداری (روز)	۱	۴	۷	۱۰	۱۴

جدول۲- طراحی آزمون‌ها بر اساس مدل طرح مرکب مرکزی

شماره آزمون	میزان اینولین (٪)	نسبت استویا/ ساکارز (٪)	مدت نگهداری (روز)
۱	۰	۵۰/۵۰	۷
۲	۴	۵۰/۵۰	۱۴
۳	۶	۲۵/۷۵	۴
۴	۴	۵۰/۵۰	۱
۵	۴	۱۰۰/۰	۷
۶	۴	۰/۱۰۰	۷
۷	۲	۲۵/۷۵	۴
۸	۶	۷۵/۲۵	۱۰
۹	۶	۲۵/۷۵	۱۰
۱۰	۲	۷۵/۲۵	۱۰
۱۱	۸	۵۰/۵۰	۷
۱۲	۲	۲۵/۷۵	۱۰
۱۳	۴	۵۰/۵۰	۷
۱۴	۴	۵۰/۵۰	۷

۱۵	۴	۵۰/۵۰	۷
۱۶	۴	۵۰/۵۰	۷
۱۷	۲	۷۵/۲۵	۴
۱۸	۶	۷۵/۲۵	۴

تولید دسر لبنی شکلاتی

مقدار پودر شیرخشک کم‌چرب، پودر کاکائو، پودر ژلاتین و شیر استریلیزه کم‌چرب در تمام نمونه‌ها ثابت بوده است. مقدار شکر و خامه در فرمولاسیون‌های مختلف متفاوت بوده و در نمونه‌های کم‌کالری، بخشی از شکر و خامه در فرمولاسیون حذف شده و به جای آن‌ها به ترتیب از پودر استویا و اینولین بلند زنجیره استفاده شد. فرمولاسیون دسر لبنی شکلاتی شاهد مطابق با جدول ۳ انجام گرفت. در نمونه‌های دسر لبنی شکلاتی کم‌کالری از اینولین بلند زنجیر در پنج سطح ۰، ۲، ۴، ۶ و ۸ درصد به عنوان جایگزین خامه و نسبت ساکارز/ استویا در پنج سطح ۰/۱۰۰، ۲۵/۷۵، ۵۰/۵۰، ۷۵/۲۵ و ۱۰۰/۰ استفاده گردید. کلیه آزمون‌ها در طول ۱۴ روز نگهداری در دمای یخچال و در روزهای اول، چهارم، هفتم، دهم و چهاردهم اندازه‌گیری شد.

مواد اولیه جامد در ظرفی کاملاً خشک با یکدیگر ترکیب شدند. شیر کم‌چرب استریلیزه توسط حمام آب گرم تا دمای ۴۰ درجه سلسیوس گرم شده و به مواد جامد اضافه گردید و در این مدت مخلوط به طور مستمر و به آرامی همزده شد. سپس دمای حمام آب تا ۲ ± ۹۵ درجه سلسیوس افزایش یافته تا دمای دسر به ۹۰ درجه سلسیوس افزایش یافت و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در این دما باقی ماند. درطول حرارت‌دهی عمل همزدن به طور مستمر انجام گرفت. بعد از این بازه زمانی دمای دسر تا ۴۰ درجه سلسیوس کاهش یافته و خامه به مخلوط اضافه شد و همزدن تا ۲ دقیقه دیگر هم ادامه یافت.

سپس دسر در یک فلاسک سردکننده قرار داده شده تا به دمای ۴ درجه سلسیوس برسد. سپس محصول در ظروف آکریلیک ریخته شده و در دمای یخچال ۱± ۴ درجه سلسیوس تا زمان انجام آزمون‌های فیزیکوشیمیایی قرار گرفت (موراریس و همکاران، ۲۰۱۴). برای محاسبه میزان استویا در تیمارهای جایگزین شکر از موازنه میزان شیرینی شیرین‌کننده موجود در فرمول استفاده شد. شیرینی شکر معادل ۱ و استویا ۱۶۰ برابر شیرینی ساکارز در نظرگرفته می‌شود (شوریده و همکاران، ۱۳۹۰ ;2012 ,.Lisak, et al). فرمول نمونه‌های دسر لبنی شکلاتی در جدول ۴ آورده شده است.

میزان شیرین کنندگی = (میزان شیرین کنندگی استویا × مقدار استویا) + (میزان شیرین کنندگی شکر × مقدار شکر)

جدول ۳- ترکیبات تشکیل‌دهنده دسر لبنی شکلاتی (Morais, et al., 2014)

مواد اولیه	درصد وزنی
شکر	۱۰
پودر شیر خشک	۱۲
پودر کاکائو	۴/۵
پودر ژلاتین	۲
خامه	۲۵

شیر کم چرب استریلیزه	۴۶/۵

جدول ۴- فرمولاسیون نمونه‌های مختلف دسر لبنی شکلاتی بر حسب درصد وزنی.

مواد اولیه / نمونه	شکر	استویا	اینولین	پودر شیر خشک کم چرب	پودر کاکائو	پودر ژلاتین	خامه کم چرب	شیر استریلیزه کم چرب
۱	۵	۰/۰۳	-	۱۲	۴/۵	۲	۲۵	۵۱/۴۷
۲	۵	۰/۰۳	۴	۱۲	۴/۵	۲	۲۱	۵۱/۴۷
۳	۷/۵	۰/۰۲	۶	۱۲	۴/۵	۲	۱۹	۴۸/۹۸
۴	۵	۰/۰۳	۴	۱۲	۴/۵	۲	۲۱	۵۱/۴۷
۵	-	۰/۰۶	۴	۱۲	۴/۵	۲	۲۱	۵۶/۴۴
۶	۱۰	-	۴	۱۲	۴/۵	۲	۲۱	۴۶/۵
۷	۷/۵	۰/۰۲	۲	۱۲	۴/۵	۲	۲۳	۴۸/۹۸
۸	۲/۵	۰/۰۵	۶	۱۲	۴/۵	۲	۱۹	۵۳/۹۵
۹	۷/۵	۰/۰۲	۶	۱۲	۴/۵	۲	۱۹	۴۸/۹۸
۱۰	۲/۵	۰/۰۵	۲	۱۲	۴/۵	۲	۲۳	۵۳/۹۵
۱۱	۵	۰/۰۳	۸	۱۲	۴/۵	۲	۱۷	۵۱/۴۷
۱۲	۷/۵	۰/۰۲	۲	۱۲	۴/۵	۲	۲۳	۴۸/۹۸
۱۳	۵	۰/۰۳	۴	۱۲	۴/۵	۲	۲۱	۵۱/۴۷
۱۴	۵	۰/۰۳	۴	۱۲	۴/۵	۲	۲۱	۵۱/۴۷
۱۵	۵	۰/۰۳	۴	۱۲	۴/۵	۲	۲۱	۵۱/۴۷
۱۶	۵	۰/۰۳	۴	۱۲	۴/۵	۲	۲۱	۵۱/۴۷
۱۷	۲/۵	۰/۰۵	۲	۱۲	۴/۵	۲	۲۳	۵۳/۹۵
۱۸	۲/۵	۰/۰۵	۶	۱۲	۴/۵	۲	۱۹	۵۳/۹۵

بررسی ویژگی‌های شیمیایی

میزان اسیدیته مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۵۲، میزان pH مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۵۲ و با استفاده از دستگاه pH متر، در دمای ۲۰ درجه سلسیوس و در دامنه بین ۶-۴ اندازه‌گیری شد. از روش‌کجلدال جهت تعیین میزان پروتئین استفاده شد. برای اندازه‌گیری چربی از روش استخراج با حلال و دستگاه سوکسله استفاده گردید.

آماده‌سازی و تهیه عصاره قندی از دسر لبنی

به یک‌گرم دسر لبنی ۱۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر شده اضافه شد. بعد از یکنواخت‌کردن، این محلول به داخل لوله‌های سانتریفوژ منتقل شده و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ انجام گرفت. محلول شفاف فوقانی از صافی ۰/۴۵ میکرون عبور داده شده و در ظرف نمونه شیشه‌ای جمع‌آوری شد و از آن برای تزریق به دستگاه HPLC بهره‌گیری شد.

اندازه‌گیری قندهای اصلی دسر لبنی با سیستم HPLC

پس از فیلترشدن نمونه‌های آماده‌شده، یک میکرولیتر با سرنگ همیلتون به دستگاه تزریق شد. ستون جداکننده به ابعاد ۷/۹ در۳۰۰ میلی‌متر از نوع 1N SCR-10 ، مخصوص تجزیه قندها با مکانیزم غربالی یونی (Ion Exclusion)، گارد یا محافظ ستون SCR به ابعاد ۷/۹ در۴۰ میلی‌متر، سیستم فاز متحرک ایزوکراتیک (Isocratic)، فاز متحرک آب دوبار تقطیرشده، پمپ HPLC مدل LC-6A، سرعت جریان فاز متحرک ۰/۵ میلی‌لیتر در دقیقه، دمای ستون جداکننده ۸۰ درجه سلسیوس با آون، شناساگر ضریب انکسارسنجی RID مدل شیمادزو ژاپن مخصوص شناسایی قندها بود. غلظت قندهای اصلی موجود در نمونه با توجه به منحنی‌های استاندارد مشخص و محاسبه شد.

تعیین ترکیب اسیدهای چرب

به منظور استخراج اسیدهای چرب از روش فولچ استفاده شد (Folch, et al., 1957).

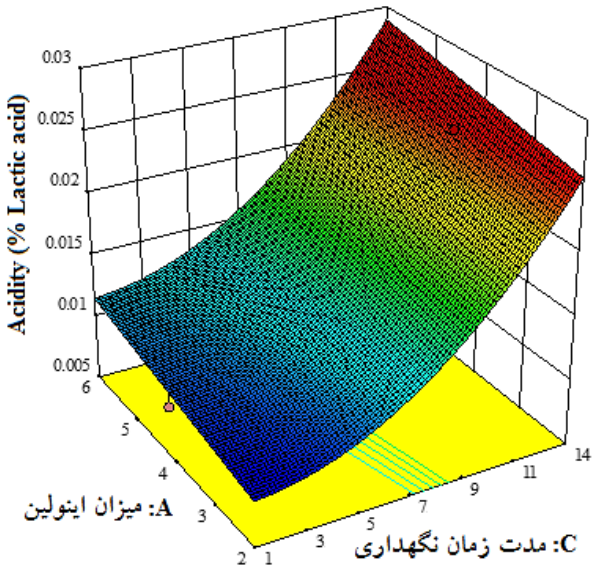
تعیین بار میکروبی دسر شکلاتی

به منظور شمارش مجموع باکتری‌های هوازی مزوفیل، کپک و مخمر، استافیلوکوک‌ها و شمارش *اشرشیاکلی*، نمونه‌ها از محیط یخچال به آزمایشگاه منتقل شدند. در این‌پژوهش، بررسی در ۶ رقت (10^{-2} تا 10^{-7}) و در ۳ تکرار و در ۵ بازه زمانی ۱، ۴، ۷، ۱۰ و ۱۴ روز پس از تولید انجام شد. شمارش مجموع باکتری‌های هوازی مزوفیل مطابق با استاندارد ملی شماره ۵۴۴، شناسایی کپک و مخمر، مطابق با استاندراد ملی شماره ۱۰۱۵۴، شمارش استافیلوکوک‌ها براساس استاندارد ملی شماره ۶۸۰۶، کلی‌فرم‌ها بر اساس استاندارد ملی ایران ۲ و ۱-۵۴۸۶، تشخیص نوع کلی‌فرم بخصوص *اشرشیاکلی* با کمک محیط‌های افتراقی SIM، PAD، KIA، اوره و سیترات بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۵۲۳۴ صورت پذیرفت. در کلیه آزمون‌ها پس از کشت در محیط‌های اختصاصی شمارش پرگنه‌های تشکیل‌شده توسط دستگاه پرگنه شمار انجام شد.

نتایج

بررسی اسیدیته نمونه‌های دسر شیری شکلاتی کم‌کالری در شکل ۱، نمودار سطح پاسخ سه‌بعدی اسیدیته در مقابل میزان اینولین و مدت نگهداری ترسیم‌شده است. همان‌طورکه در معادله دیده می‌شود، از بین متغیرهای مستقل، مقدار اینولین و مدت نگهداری دارای اثر مثبت بر میزان اسیدیته دسر شیری شکلاتی بودند.

$$(\text{Acidity}) = ۰/۰۱۴ + ۰/۰۰۱۵۶۳\ X_1\ ۰/۰۰۳۶۸ + X_3 + ۰/۰۰۰۸۵\ X_3^2$$



شکل ۱- نمودار سطح پاسخ برای اثر همزمان میزان اینولین و مدت زمان نگهداری بر اسیدیته دسر شیری شکلاتی

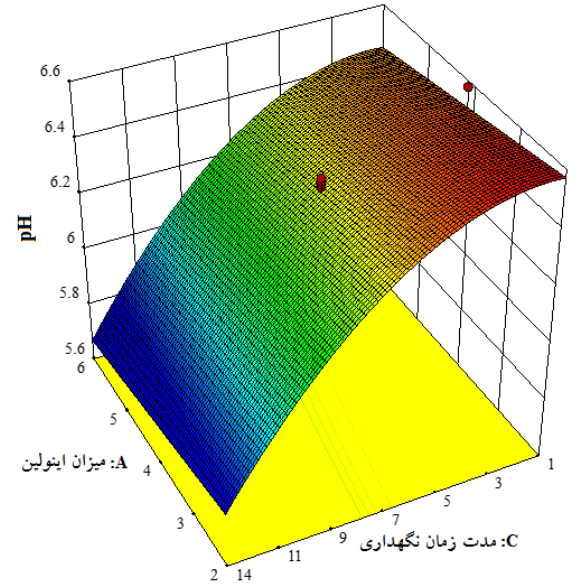
بررسی میزان pH در نمونه‌های دسر شیری شکلاتی کم-کالری

علائم ضرایب موجود در معادله نشان‌دهندهٔ نوع رابطهٔ بین فاکتورها (مستقیم یا معکوس) می‌باشد. بر این اساس با افزایش میزان اینولین و مدت زمان نگهداری، pH کاهش می‌یابد (شکل ۲).

بررسی ترکیبات شیمیایی دسر شیری شکلاتی کم‌کالری

میزان ترکیبات شیمیایی موجود در نمونه کنترل و نمونه‌های دسر شیری شکلاتی کم‌کالری حاوی اینولین و استویا در جدول ۵ آورده شده است.

$$(pH) = ۰/۰۳۰ - ۶/۶۲۴ X_1 ۰/۰۱۵ + X_3 - ۵/۰۳۸ X_3^2$$



شکل ۲- نمودار سطح پاسخ برای اثر همزمان میزان اینولین و مدت زمان نگهداری بر pH دسر شیری شکلاتی

جدول ۵- مقایسه ترکیبات شیمیایی موجود در نمونه کنترل و نمونه‌های دسر کم‌کالری

نمونه	پروتئین	چربی	کربوهیدرات	رطوبت

	(% w.b)	(% w.b)	(% w.b)	(% w.b)
کنترل	۷/۰±۰۱۸/۰۱۰^{ef}	۱۱/۰±۱۷۶/۰۲۲^{a}	۲۱/۰±۳۴۰/۱۴^{a}	۵۷/۰±۶۱/۱^{a}
۱	۶/۰±۹۹۳/۰۲۰^{f}	۵/۰±۸۷۱/۰۱۲^{f}	۱۶/۰±۶۴۸/۲۴۳^{a}	۶۷/۰±۶۰/۱^{a}
۲	۷/۰±۰۴۹/۰۲۸^{de}	۶/۰±۱۸۴/۰۱۵^{d}	۱۶/۰±۷۳۹/۱۱۹^{c}	۶۷/۰±۱۴/۱^{a}
۳	۶/۰±۸۰۱/۰۲۶^{i}	۵/۰±۲۱۰/۰۲۳^{k}	۱۸/۰±۸۵۱/۳۵۲^{b}	۶۰/۰±۲۶/۱^{a}
۴	۷/۰±۰۴۹/۰۳۴^{de}	۶/۰±۱۸۴/۰۱۰^{d}	۱۶/۰±۷۳۹/۲۶۸^{c}	۶۳/۰±۱۴/۱^{a}
۵	۷/۰±۰۹۶/۰۱۸^{bc}	۵/۰±۶۳۱/۰۱۱^{h}	۱۱/۰±۷۸۳/۱۴۱^{e}	۶۸/۰±۵۷/۱^{a}
۶	۶/۰±۷۷۸/۰۱۱^{i}	۵/۰±۴۸۶/۰۱۵^{j}	۲۱/۰±۳۲۹/۱۲۶^{a}	۵۹/۰±۵۵/۲^{a}
۷	۶/۰±۹۱۴/۰۰۸^{g}	۵/۰±۸۳۵/۰۰۵^{g}	۱۹/۰±۰۳۴/۲۵۰^{b}	۶۳/۰±۳۴/۱^{a}
۸	۷/۰±۰۷۳/۰۲۳^{cd}	۵/۰±۹۰۷/۰۲۲^{e}	۱۴/۰±۲۶۱/۱۷۲^{d}	۶۳/۰±۸۵/۱^{a}
۹	۶/۰±۹۱۴/۰۱۶^{g}	۵/۰±۸۳۵/۰۲۴^{g}	۱۹/۰±۰۳۴/۲۰۴^{b}	۵۹/۰±۳۴/۱^{a}
۱۰	۷/۰±۰۷۳/۰۳۱^{cd}	۵/۰±۹۰۷/۰۳۰^{e}	۱۴/۰±۲۶۱/۱۷۲^{d}	۶۷/۰±۸۵/۱^{a}
۱۱	۷/۰±۰۵۰/۰۲۳^{de}	۶/۰±۱۸۴/۰۱۶^{d}	۱۶/۰±۷۳۹/۱۵۶^{c}	۵۹/۰±۱۴/۱^{a}
۱۲	۶/۰±۸۵۸/۰۳۴^{h}	۵/۰±۵۲۳/۰۲۳^{i}	۱۸/۰±۹۴۳/۱۰۵^{b}	۶۳/۰±۸۰/۲^{a}
۱۳	۶/۰±۹۹۳/۰۱۳^{f}	۵/۰±۸۷۱/۰۱۹^{f}	۱۶/۰±۶۴۸/۲۱۰^{c}	۶۳/۰±۶۰/۲^{a}
۱۴	۶/۰±۹۹۳/۰۲۶^{f}	۵/۰±۸۷۳/۰۲۱^{f}	۱۶/۰±۶۵۰/۲۲۵^{c}	۶۳/۰±۶۰/۱^{a}
۱۵	۶/۰±۹۹۳/۰۱۷^{f}	۵/۰±۸۷۱/۰۱۳^{f}	۱۶/۰±۶۴۸/۱۶۳^{c}	۶۳/۰±۶۰/۱^{a}
۱۶	۷/۰±۰۰۳/۰۱۷^{f}	۵/۰±۸۷۱/۰۱۸^{f}	۱۶/۰±۶۴۹/۱۵۸^{c}	۶۳/۰±۶۰/۱^{a}
۱۷	۷/۰±۱۲۹/۰۰۹^{b}	۶/۰±۲۲۰/۰۲۵^{c}	۱۴/۰±۳۵۲/۱۷۲^{d}	۶۷/۰±۳۹/۱^{a}
۱۸	۷/۰±۱۸۵/۰۱۲^{a}	۶/۰±۵۳۲/۰۱۷^{b}	۱۴/۰±۴۴۴/۰۹۷^{d}	۶۲/۰±۹۳/۲^{a}

*حروف لاتین غیریکسان نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵) براساس آزمون دانکن می‌باشد.

بررسی میزان پروتئین

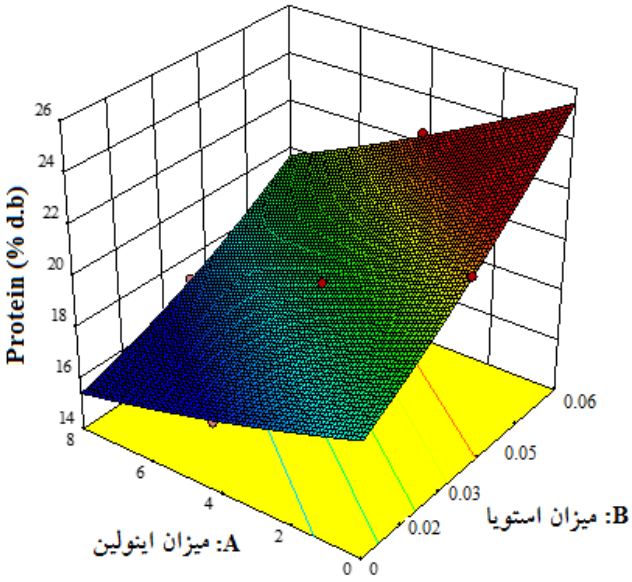
شکل ۳ نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل واریانسِ برازش مدل رگرسیونی درجه دو برای میزان پروتئین (براساس وزن خشک) را نشان می‌دهد.

$$(Protein) = ۱/۰۸-۱۹/۲۱\ X_1\ ۱/۴۱+\ X_2 - ۰/۰۱۹\ X_{12} + ۰/۰۵۱\ X_1^2$$

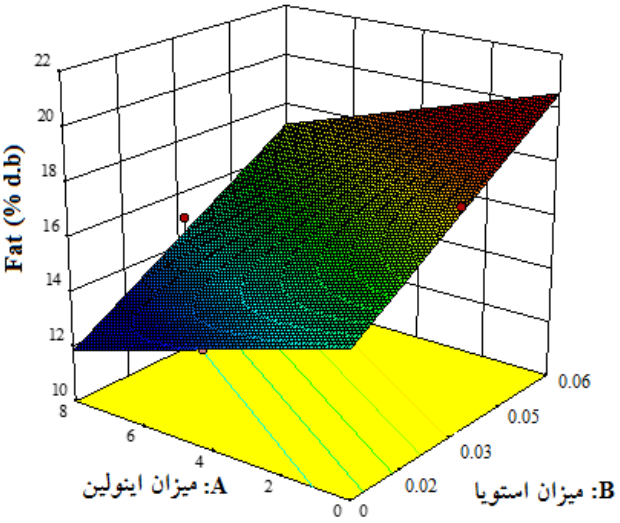
بررسی میزان چربی

شکل ۴ روند تغییرات میزان چربی (براساس وزن خشک) را نشان می‌دهد.

$$(Fat) = ۰/۸۲-۱۶/۲۷\ X_1 1/۳۴+\ X_2$$



شکل ۳- نمودار سطح پاسخ برای اثر همزمان میزان اینولین و میزان استویا بر میزان پروتئین دسر شیری شکلاتی.



شکل ۴- نمودار سطح پاسخ برای اثر همزمان میزان اینولین و میزان استویا بر میزان چربی دسر شیری شکلاتی.

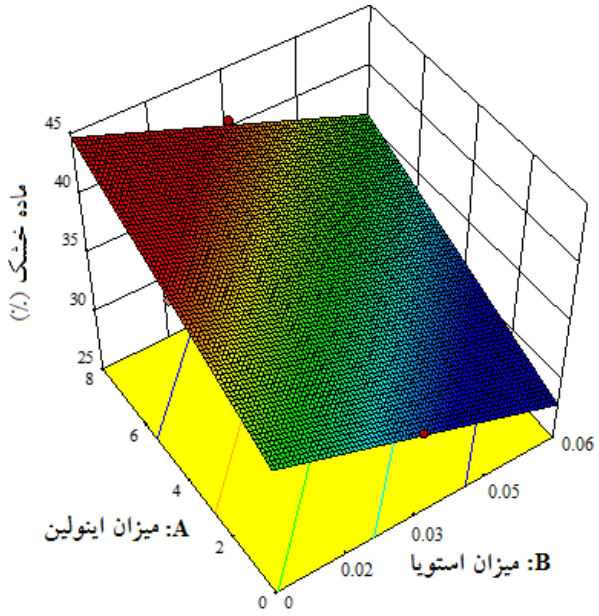
بررسی میزان ماده خشک دسر شیری شکلاتی کم‌کالری

شکل ۵ روند تغییرات میزان ماده حشک را نشان می‌دهد.

(Dry matter) = ۲/۰۶+۳۶/۴۰ $X_1$۲/۰۸-- X_2

ترکیب اسیدهای چرب در دسر شیری شکلاتی

میزان چربی و گروه‌های اسیدهای چرب در نمونه کنترل و نمونه دسر شیری شکلاتی که بالاترین امتیاز حسی را داشته است در جدول ۶ نشان داده شده است.



شکل ۵- نمودار سطح پاسخ برای اثر همزمان میزان اینولین و میزان استویا بر میزان ماده خشک دسر شیری شکلاتی.

جدول ۶- ترکیب اسیدهای چرب موجود در نمونه‌های مورد مطالعه

نمونه	میزان چربی (٪)	مجموع اسیدهای چرب فرار (C4-C10)	مجموع اسیدهای چرب اشباع (C12-C18)	مجموع اسیدهای مونوانوئیک	مجموع اسیدهای پلی انوئیک
کنترل	۱۱/۱۷	۶/۵۷	۶۳/۱۹	۲۵/۷۴	۳/۲۷
نمونه بهینه	۵/۸۷	۹/۴۵	۵۹/۲۳	۲۷/۹۸	۴/۰۲

*مونوانوئیک اسیدها مانند اولئیک اسید ۱۸ کربن با یک پیوند دوگانه در کربن ۱۰-۹ (Δ^9)

**پلی انوئیک اسیدها مانند لینولئیک اسید ۱۸ کربن و پیوند دوگانه در موقعیت‌های ($\Delta^{2,9,12}$).

جدول ۷- درصد اسیدهای چرب فرار (C4-C10) موجود در نمونه‌های مورد مطالعه (میانگین ± انحراف معیار)

اسید چرب	بوتیریک اسید C4	کاپروئیک اسید C6	کاپریلیک اسید C8	کاپریک اسید C10
کنترل	۰/۹۸±۰/۶۴	۱/۷۴±۰/۵۷	۱/۳۵±۰/۲۵	۲/۵۰±۰/۴۷
نمونه بهینه	۲/۲۰±۰/۰۱	۲/۶۶±۱/۲۱	۱/۸۵±۰/۵۸	۲/۷۴±۱/۱۱

جدول ۸- درصد اسیدهای چرب اشباع (C12-C18) موجود در نمونه‌های مورد مطالعه (میانگین ± انحراف معیار)

اسید چرب	لوریک اسید C12	میریستیک اسید C14	پالمیتیک اسید C16	استئاریک اسید C18
کنترل	۳/۲۲±۱/۱۵	۱۱/۴۶±۱/۸۹	۴۱/۹۸±۳/۹۴	۶/۵۴±۱/۲۱
نمونه بهینه	۳/۲۴±۰/۵۵	۱۰/۹۴±۲/۰۳	۳۸/۳۳±۲/۱۳	۶/۷۲ ±۱/۱۱

جدول ۹- درصد اسیدهای چرب غیراشباع موجود در نمونه‌های مورد مطالعه (میانگین ± انحراف معیار)

اسید چرب	الایدیک اسید C18:1t	اولئیک اسید C18:1c	لینولئیک اسید C18:2
کنترل	۲/۱۸ ±۰/۵۵	۲۲/۸۳ ±۲/۰۳	۰/۷۷ ±۰/۲۷

نمونه بهینه	۲/۵۴ ±۰/۹۱	۲۴/۱۲ ±۱/۹۵	۰/۸۱ ±۰/۲۴

غلظت قندهای موجود در نمونه دسر شیری شکلاتی: جدول ۱۰ درصد قند نمونه‌های مختلف را نشان می‌دهد.

جدول ۱۰- درصد قندهای موجود در نمونه‌های مورد مطالعه (میانگین ± انحراف معیار)

نوع قند	ساکارز	لاکتوز	گلوکز
کنترل	۹/۷۸±۰/۲۵	۸/۵۵±۰/۸۳	۰/۲۳±۰/۰۷
نمونه بهینه	۵/۶۴±۰/۳۱	۸/۹۴±۰/۹۷	۰/۱۹±۰/۰۴

بررسی بار میکروبی دسر شیری شکلاتی کم‌کالری

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل واریانسِ برازش مدل رگرسیونی درجه دو مربوط به شمارش باکتری‌های مزوفیل در جدول ۱۶ ارائه شده‌اند. با توجه به جدول، مدل، اثرات خطی، اثرات درجه دوم میزان اینولین و اثر متقابل اینولین-مدت زمان نگهداری معنی‌دار هستند. مقدار عددی ضریب تبیین (R^2) و ضریب تبیین تنظیم‌شده (R^2_{ajust}) برای شمارش کلی باکتری‌ها نشان دهندهٔ کارایی مدل برای پیش‌بینی اثر متغیرهای مستقل بر متغیر وابسته است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مدل رگرسیونی توانسته رابطهٔ بین متغیرهای مستقل (میزان اینولین، میزان استویا و مدت زمان نگهداری) و متغیر وابسته (شمارش کلی باکتری‌ها) را پیش‌بینی کند.

جدول ۱۱- نتایج تجزیه و تحلیل واریانس برای شمارش کلی باکتری‌ها دسر شیری شکلاتی کم‌کالری.

منبع تغییرات	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	ارزش F	ارزش p
مدل	۳	۱۱۶۴۳/۶۴	۲۹۱۰/۹۱	۵۲/۴۳	۰/۰۰۰۵*
X_1 (میزان اینولین)	۱	۷۳۳۵/۰۷	۷۳۳۵/۰۷	۸۳/۲۵	<۰/۰۰۰۱*
X_{13}	۱	۷۳۹/۹۷	۷۳۹/۹۷	۸/۴۰	۰/۰۲۰۰*
X_1^2	۱	۲۹۵۴/۸۷	۲۹۵۴/۸۷	۳۳/۵۴	۰/۰۰۰۴*
Lack of fit	۱۰	۰/۷۲×10^{-3}	۰/۷۲×10^{-5}	۱/۴۷	۰/۱۱۷
R^2	۰/۹۴۳				
$R^2_{adjusted}$	۰/۸۷۹				
C. V. %	۶/۸۸				

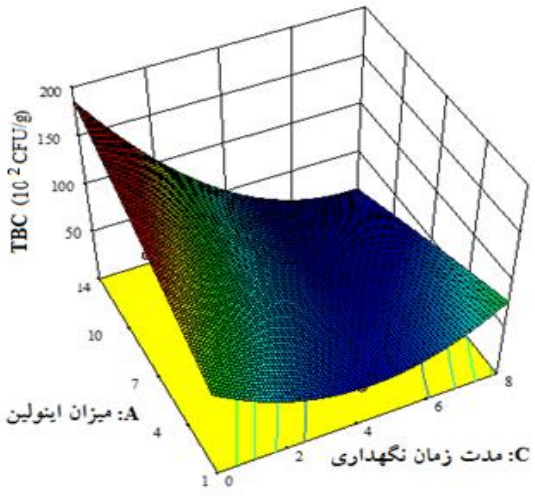
(TBC)= ۲۱/۴۱- ۹۷/۵۸ X_1 – ۹/۶۲ X_{13}11/۶۴+ X_1^2

معادله بالا بهترین معادله برای تعیین شمارش کلی باکتری‌ها با در نظر گرفتن متغیرهای فرآیند است.

همان‌گونه که در جدول ۱۷ مشهود است، مدل خطی با R^2 مدل مناسبی برای پیش‌بینی تعداد کپک و مخمر در دسر شیری شکلاتی کم‌کالری در مدت نگهداری در یخچال بوده است. در بین اثرات خطی برای هر سه متغییر مستقل، تأثیر خطی میزان اینولین و مدت زمان نگهداری روی شمارش کلی کپک و مخمر معنی‌دار بودند.

می‌توان معادله رگرسیونی خطی را برای شمارش کپک و مخمر به صورت زیر بیان نمود:

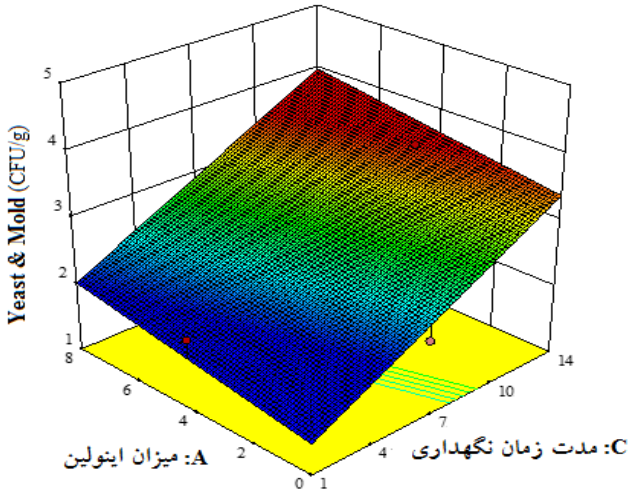
$X_3$۰/۴۵+ $X_1$۰/۱۵ + ۲/۶۷(Yeast & Mold) =



شکل ۶- نمودار سطح پاسخ برای اثر همزمان مدت زمان نگهداری و میزان اینولین بر شمارش کلی باکتری‌ها دسر شیری شکلاتی.

جدول ۱۲- نتایج تجزیه و تحلیل واریانس برای تغییرات شمارش کلی کپک و مخمر در دسر شیری شکلاتی کم‌کالری.

منبع تغییرات	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	ارزش F	ارزش p
مدل	۲	۳/۶۲	۱/۸۱	۱۰۵/۷۵	<۰/۰۰۰۱*
X_1 (میزان اینولین)	۱	۰/۳۵	۰/۳۵	۱۹/۸۱	۰/۰۰۰۵*
X_3 (مدت زمان نگهداری)	۱	۳/۲۷	۳/۲۷	۱۸۴/۴۰	<۰/۰۰۰۱*
Lack of fit	۱۲	۰/۲۶	۰/۰۲۱	۸/۵۵	۰/۱۱۲
R^2	۰/۹۳۶				
$R^2_{adjusted}$	۰/۹۲۲				
C. V. %	۴/۹۰				



شکل ۷- نمودار سطح پاسخ برای اثر همزمان مدت زمان نگهداری و میزان اینولین بر شمارش کلی کپک و مخمر دسر شیری شکلاتی.

بهینه‌یابی فرمولاسیون با استفاده از تکنیک بهینه‌سازی عددی جستجو شد. بدین منظور در ابتدا اهداف بهینه‌سازی را مشخص‌کرده و سپس سطوح پاسخ و متغیرهای مستقل را تنظیم کرده و با استفاده از تکنیک فاین تیونینگ بهترین جواب‌ها به دست آمد (آتکینسون و دنو، ۱۹۹۲). تنظیمات اعمال‌شده برای فرایند بهینه‌یابی شامل بیشترین میزان پذیرش کلی محصول، کمترین شمارش کلی باکتری و کپک و مخمر، میزان pH در محدوده ۶/۸-۶/۳ (براساس استاندارد ملی ایران) بود.

بحث

با توجه به تحلیل واریانس انجام گرفته، مدل درجه دوم میزان اسیدیته با متغیرهای مورد بررسی معنی‌دار است. نتایج نشان داد که تأثیر خطی میزان اینولین و مدت زمان نگهداری بر میزان اسیدیته معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$). در بین اثرات درجه دوم اثر درجه دوم مدت زمان نگهداری معنی‌دار بوده است و در میان اثرات متقابل تنها هیچ‌کدام از اثرات متقابل بین متغییرهای مستقل از نظرآماری معنی‌دار نبوده است. بزرگی ضرایب متغیرها در این چندجمله‌ای صرف‌نظر از مثبت یا منفی‌بودنشان بیانگر اهمیت ضرایب مربوطه در تغییرات پاسخ می‌باشند.

در نمودار سطح پاسخ سه‌بعدی مشاهده می‌گردد که با افزایش میزان اینولین، اسیدیته محصول افزایش می‌یابد، افزایش میزان شیرین‌کننده استویا تأثیری بر اسیدیته دسر شیری شکلاتی ندارد. از سوی دیگر با افزایش مدت نگهداری افزایش قابل توجهی در میزان اسیدیته محصول نهایی مشاهده می‌گردد. باتوجه به معنی‌داری اثر خطی و درجه دوم مدت زمان نگهداری می‌توان وجود انحناء در شکل رویه و کنتور در شکل ۱ را انتظار داشت. تغییرات اسیدیته در طول نگهداری روند افزایشی را نشان می‌دهد. اسیدیته فرآورده‌های شیری تحت تاثیر تعادل میان ترکیبات نیتروژنی محصولات ناشی از واکنش‌های پروتئولتیک و اسید لاکتیک ناشی از فعالیت تخمیری باکتری‌های اسید لاکتیک قرار می‌گیرد (Fox, 1993). در طول ۱۴ روز نگهداری دسر شیری، فعالیت میکروارگانیزم‌های پروتئولتیک که از مواد اولیه و شیر وارد دسر شده‌اند بر فعالیت باکتری‌های اسیدلاکتیک غالب است، ولی با گذشت زمان و افزایش جمعیت باکتری‌های لاکتیکی، تولید اسیدلاکتیک غالب شده و اسیدیته افزایش می‌یابد. وجود اینولین به‌عنوان ترکیبی پربیوتیک در دسر شیری شکلاتی کم‌کالری، افزایش رشد باکتری‌های اسید لاکتیک را شدت می‌دهند. به‌همین علت، میزان اسیدیته در تیمارهای حاوی مقادیر بالاتر اینولین بیشتر می‌باشد. نتایج مشابهی توسط Lisak و همکاران (۲۰۱۲) با افزودن اینولین و ایزومالت به ماست منجمد کم‌چرب بدست آمده است. براساس یافته‌های این پژوهش، رشد بیشتر باکتری‌های اسید لاکتیک در مدت نگهداری و افزایش اسیدیته در ماست منجمد مشاهده شده است. همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، با افزایش میزان اینولین و مدت زمان نگهداری دسر شیری شکلاتی کم‌کالری در یخچال، pH محصول نهایی کاهش می‌یابد. باتوجه به معنی‌داری اثر خطی و درجه دوم مدت زمان نگهداری، وجود انحناء در شکل رویه و کنتور نمودار سطح پاسخ سه‌بعدی pH قابل پیش‌بینی است. pH و اسیدیته از مهم‌ترین پارامترهای شیمیایی در موادغذایی می‌باشد. مطابق استاندارد ملی ایران، میزان pH دسرهای شیری شکلاتی می‌بایست در محدوده ۶/۸-۶/۳ باشد (استاندارد ملی ایران، شماره ۱۴۶۸۱، ۱۳۹۱). افزایش میزان استویا تأثیری بر اسیدیته نمونه‌های دسر شیری شکلاتی نداشته است. ولی افزایش میزان اینولین و مدت نگهداری باعث افزایش اسیدیته و کاهش pH محصول نهایی می‌گردد (شکل ۲). شیرین‌کننده استویا منبع تغذیه مناسبی برای میکروارگانیسم‌های موجود در دسر لبنی قلمداد نمی‌شود و تأثیری بر افزایش اسیدیته محصول نیز نداشت. علت کاهش pH با افزایش میزان اینولین pH، خاصیت

پری‌بیوتیکی اینولین می‌باشد که شرایط را برای رشد و نمو بهتر باکتری‌های اسید لاکتیک فراهم می‌آورد و در نتیجه، طی نگهداری با روند کاهش بیشتر pH مواجه خواهیم بود (Glenn, 2008).

نصیری و همکاران (۱۳۹۲) که به بررسی اثر جایگزینی استویا و صمغ CMC به جای ساکارز بر ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی و حسی نوشیدنی مالت پرداختند، به این نتیجه رسیدند که جایگزین نمودن ساکارز با استویا تأثیری بر میزان pH در نمونه‌ها نداشته است. Lisak و همکاران (۲۰۱۲) با افزودن اینولین و ایزومالت به ماست منجمد کم‌چرب، رشد بیشتر باکتری‌های اسید لاکتیک در مدت نگهداری و کاهش pH را گزارش کردند. به صورت مشابهی، Milani و همکاران (۲۰۱۱) گزارش دادند که با جایگزینی گوار در دسر بستنی ماستی پرتقالی و افزایش ماده جامد بدون چربی، pH فرآورده کاهش یافت. Akalın و Erişir (۲۰۰۸) نیز کاهش نامحسوس pH در بستنی ماستی با افزایش اینولین را گزارش کردند. Supavititpatana و همکاران (۲۰۰۸) نیز نشان دادند که افزایش غلظت ژلاتین به طور معنی‌داری باعث افزایش اسیدیته محصول می‌شود. نتایج این پژوهش با نتایج Akın و همکاران در سال ۲۰۰۷ مطابقت دارد. آن ها در پژوهش خود با افزایش غلظت اینولین، کاهش pH را در بستنی گزارش کردند. میزان چربی، کربوهیدرات و انرژی در نمونه شاهد بیشتر از نمونه‌های دسر کم‌کالری بوده و از نظر آماری نیز دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشد ($p<۰/۰۵$). معنی‌دار بودن اثر خطی فاکتور میزان اینولین و میزان استویا نشان می‌دهد که تغییرات این دو متغیر تأثیر عمده‌ای در میزان پروتئین دسر شیری شکلاتی کم-کالری دارند. در میان اثرات درجه دو برای فاکتورهای مورد بررسی، ضرایب رگرسیون درجه دو مربوط به فاکتور میزان اینولین و مقدار استویا در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار بوده و اثر فاکتور مدت زمان نگهداری غیرمعنی‌دار به دست آمد. اثر متقابل فاکتورهای میزان اینولین- میزان استویا برای درصد پروتئین معنی‌داربوده است که نشان‌دهنده وجود رابطه خطی توأم بین فاکتورهای میزان استویا و میزان اینولین بر میزان پروتئین در دسر شیری شکلاتی کم‌کالری می‌باشد. براساس ضرایب متغیرها در معادله، افزایش اینولین موجب کاهش درصد پروتئین در دسر شیری می‌گردد. جایگزین نمودن اینولین با قسمتی از خامه موجب حذف بخشی از منبع پروتئینی در دسر شیری شده و درصد پروتئین کاهش می‌یابد. با توجه به شکل ۳ با افزایش مقدار استویا درصد پروتئین افزایش می‌یابد. با توجه به اینکه پس از جایگزینی استویا با شکر و به منظور جبران وزن شکر حذف شده، شیر استریلیزه کم‌چرب به فرمولاسیون افزوده شد و بدین ترتیب با افزایش میزان جایگزینی درصد پروتئین افزایش می‌یابد. پروتئین حاصله در فرمول‌ها با میزان پروتئین موجود در شیر و پودر شیر خشک موجود در فرمولاسیون‌های مختلف دسر شیری شکلاتی کم‌کالری مطابقت دارد. از آنجا که مقدار پودر شیر خشک استفاده شده در فرمولاسیون نمونه‌های دسر یکسان بوده است، اصلی‌ترین عامل تفاوت در مقدار پروتئین، شیر استریلیزه کم‌چرب می‌باشد. براساس ضرایب متغیرها در معادله و مطابق با شکل ۴ با افزایش میزان اینولین، مقدار چربی در نمونه‌های دسر شیری شکلاتی کم‌کالری کاهش می‌یابد که علت آن جایگزین‌شدن اینولین با بخشی از چربی در دسر بوده است. از سوی دیگر با افزایش میزان جایگزینی استویا و جبران وزن کاسته شده با اضافه کردن شیر استریلیزه کم‌چرب، مقدار چربی افزایش می‌یابد.

مقدار چربی موجود در نمونه‌های دسر کم‌کالری با درصد چربی حاصل از پودر شیرخشک کم‌چرب، چربی خامه سبک، چربی کاکائو و چربی شیر استریلیزه کم‌چرب مطابقت دارد. با این وجود بیشترین مقدار چربی مربوط به نمونه کنترل (حاوی خامه پرچرب، شیر خشک کامل و شیر استریلیزه کامل) و در حدود ۱۱/۱۷۴ (گرم در صد گرم نمونه) می‌باشد. ضرایب موجود در معادله ماده خشک نشان می‌دهد که متغیرهای دارای ضریب مثبت اثر افزایشی و متغیرهای دارای ضریب منفی اثر کاهش بر

متغیر مستقل دارند. بدین‌ترتیب می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش میزان اینولین مقدار ماده خشک محصول نهایی افزایش و با افزایش استویا مقدار ماده خشک کاهش می‌یابد. در شکل ۵ اثر همزمان اینولین و استویا بر میزان ماده خشک دسر شیری شکلاتی کم کالری دیده می‌شود. این شکل نشان می‌دهدکه بین ماده خشک و میزان اینولین، ارتباط مستقیم وجود دارد و با افزایش میزان اینولین، ماده خشک افزایش می‌یابد. با افزایش میزان استویا میزان ماده خشک در دسر شیری شکلاتی کاهش می‌یابد، ولی همان‌طورکه مشاهده می‌شود، میزان استویا با شیب کمتری بر روی ماده خشک اثر می‌گذارد. بر همین-اساس می‌توان نتیجه‌گیری کرد که میزان حساسیت پاسخ ماده خشک به میزان استویا کمتر است. جایگزینی استویا با شکر براساس میزان شیرینی انجام گرفته است. کاهش ماده خشک به‌علت جایگزینی مقدار زیادی از ساکارز با مقدار کمی از استویا می‌باشد و نیز میزان ماده خشک کاهش یافته متناسب با مقدار ساکارز جایگزین شده با استویا می‌باشد (Giri, et al., 2012). با افزایش میزان اینولین، رطوبت کاهش و یا به عبارتی ماده خشک افزایش یافت. Kumar و Mishra (۲۰۰۴) در ماست قالبی تهیه شده با شیر سویا و انبه به نتیجه مشابهی دست یافتند و نشان دادند که افزایش پایدارکننده‌ها منجر به کاهش رطوبت و افزایش ماده خشک می‌شود. کاهش ماده خشک با افزایش جایگزینی استویا و کاهش مقدار ساکارز به این علت است که افزودن قند باعث افزایش درصد ماده جامد محلول می‌گردد. Giri و همکاران (۲۰۱۲)، اثر استویا را در محصول لبنی با نام محلی Kulfi بررسی کردند و اعلام کردند که جایگزینی استویا با شکر موجب کاهش ماده خشک در محصول نهایی می‌گردد. اثر منفی قند استویا بر میزان ماده خشک به وسیله محققین دیگر نیز گزارش شده است (Homayouni Rad, et al., 2012; Raiesi Ardali, et al., 2014; Saniah and Samsiah, 2012; Alizadeh, et al., 2012).

مواد اولیه مورد استفاده در فرمولاسیون دسرهای لبنی موجب ایجاد تغییراتی در میزان چربی و نوع اسیدهای چرب در نمونه‌ها شده است. بیشترین مقدار چربی در نمونه کنترل حاوی ۲۵ درصد وزنی خامه و کمترین مقدار چربی در نمونه دسر شیری شکلاتی کم کالری حاوی ۲۱ درصد وزنی خامه کم‌چرب می‌باشد. نتایج بدست آمده از آنالیز اسیدهای چرب نشان می‌دهد که در هر دو نمونه از دسر شیری شکلاتی اسید چرب غالب شامل اسیدهای چرب اشباع می‌باشد (C12-C18). در میان اسیدهای چرب اشباع، پالمتیک اسید بیشترین فراوانی را در هر دو نمونه داشته است. نتایج مشابهی توسط پاسیزیسکی و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی ترکیب اسیدهای چرب در دسرهای شیری تهیه‌شده با منابع متفاوتی از چربی بدست آمد. براساس یافته‌های این محققان دسرهای شیری با ترکیبات اولیه متفاوت مانند چربی‌های اشباع، خامه و یا آجیل‌ها که حاوی مقادیر مختلف چربی بودند، بیشترین مقدار اسیدهای چرب شامل اسیدهای چرب اشباع به ویژه اسید پالمتیک و اسید استئاریک بودند. مجموعه اسیدهای چرب فرار در نمونه دسر شیری شکلاتی کم‌کالری حاوی اینولین بیشتر از نمونه کنترل بوده است. تولید اسیدهای چرب فرار در محصولات لبنی پروبیوتیک نشان‌دهنده فعالیت متابولیکی میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. در نتیجه افزایش مدت نگهداری و نیز فراهم‌شدن شرایط مناسب رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها در این محصولات میزان اسیدهای چرب فرار نیز افزایش می‌یابد (Reguła, 2007; Güler and Gürsoy-Balc, 2011; Balthazar, et al., 2016). به همین دلیل، بالاتر بودن میزان اسیدهای چرب فرار در دسر شیری شکلاتی کم‌کالری را می‌توان به وجود خاصیت پری‌بیوتیکی اینولین، که شرایط را برای رشد و نمو بهتر باکتری‌های اسید لاکتیک فراهم می‌آورند، نسبت داد. همان‌گونه که در جدول ۱۴ مشاهده می‌شود، میزان اسیدهای چرب غیر اشباع در نمونه دسر شیری شکلاتی حاوی استویا بیشتر بوده است که می‌توان علت آن را خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره استویا و جلوگیری از

اکسیداسیون اسیدهای چرب دارای چند پیوند دوگانه (حساس به اکسیداسیون) دانست. مصرف محصولات لبنی پرچرب به علت دارا بودن نسبت بالاتر اسیدهای چرب اشباع به اسیدهای چرب غیراشباع و اثرات نامطلوب احتمالی بر سلامت انسان خصوصاً در زمینه بیماری‌های قلبی- عروقی توصیه نشده و استفاده از لبنیات کم‌چرب در رژیم غذایی افراد پیشنهاد می‌شود.

میزان ساکارز در دسر شیری شکلاتی وابسته به میزان شکر و مقدار قند لاکتوز وابسته به میزان مواد اولیه بر پایه شیر (شیر کم‌چرب، شیرخشک و خامه سبک) در محصول می‌باشند. از سوی دیگر مقدار ساکارز در نمونه کنترل بیشترین مقدار قند را تشکیل داده است در حالی که در نمونه دسر کم‌کالری بهینه، لاکتوز بیشترین مقدار قند را تشکیل داده است. در هر دو نمونه مقدار قند گلوکز ناچیز بوده است. در پژوهش حاضر، گونه *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت در انتهای مدت نگهداری در هیچ یک از نمونه‌های دسر شیری شکلاتی کم‌کالری مشاهده نشد. این نتایج منطبق با استاندار ملی ایران به شماره ۷۱۱۰ می‌باشد. منفی بودن ضریب رگرسیون خطی اثر میزان اینولین بیانگر این موضوع است که با افزایش این عامل میزان کلی باکتری‌ها کاهش می‌یابد و منفی بودن ضریب رگرسیون اثر متقابل میزان اینولین- مدت نگهداری نشان می‌دهد که با افزایش توأم این دو متغیر تعداد کلی باکتری‌ها کاهش می‌یابد. همانگونه که در شکل ۶ مشاهده می‌شود، شمارش کلی باکتری‌ها در غلظت‌های پایین اینولین (۰ و ۲ درصد) تا پایان دوره نگهداری در دمای یخچال دارای روند افزایشی بوده است. ولی با افزایش میزان اینولین، پس از گذشت ۱۴ روز از تولید و نگهداری دسر شیری شکلاتی در دمای یخچال با کاهش تدریجی تعداد میکروارگانیسم‌ها مواجه شدیم. در طی مدت نگهداری دسر شیری شکلاتی حاوی اینولین و استویا شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها از حد مجاز آن (۲×۱۰^{۴} در گرم) که توسط استاندارد ملی ایران به شماره ۷۱۱۰ تعیین شده است، فراتر نرفته است. کاهش میزان باکتری‌ها در طول دوره نگهداری در نمونه‌های حاوی مقادیر بالای اینولین احتمالاً به دلیل کاهش pH، ایجاد شرایط مطلوب برای باکتری‌های اسید لاکتیک و افزایش میزان اسید لاکتیک، قابل توجیه است که می‌تواند مانع از رشد میکروارگانیسم‌ها شود. حضورترکیبات پری‌بیوتیکی مانند اینولین به دلیل تحریک رشد و فعالیت پروبیوتیک‌ها، از مهم‌ترین دلایل افزایش تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک می‌باشد. پری‌بیوتیک‌ها ممکن است برخی از مواد مغذی مورد نیاز میکروارگانیسم‌ها را تأمین کند یا شرایط نامطلوب و منفی محیطی، از جمله آسیب‌های اسیدی را تعدیل نماید (Lourens-Hattingh and Donkor.(Viljoen, 2011; Makras, et al., 2005 و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که افزودن اینولین به ماست موجب افزایش رشد *کازئی* در طول ۲۸ روز نگهداری دردمای ۴ درجه سلسیوس گردید. با توجه به شکل ۷، با افزایش میزان اینولین و مدت زمان نگهداری در دمای یخچال تعداد کلی کپک و مخمر افزایش می‌یابد. ولی تعداد کلی کپک و مخمر در دسر شیری شکلاتی تا پایان دوره نگهداری همچنان کمتر از حد مجاز تعیین شده (۱۰۰ عدد در گرم نمونه) توسط استاندارد ملی ایران به شماره ۷۱۱۰ می‌باشد. شمارش کپک و مخمر با کاهش محتوی لاکتوز ناشی از مصرف لاکتیک اسید باکتری‌ها، ارتباط نزدیکی دارد، زیرا با تولید اسید لاکتیک و اسیدی شدن محیط شرایط برای رشد کپک و مخمر افزایش می‌یابد (Macedo, et al., 1995). بر اساس نتایج فرایند بهینه‌یابی، بهترین فرمولاسیون برای تولید دسر شیری شکلاتی کم‌کالری ۵/۶۲۸ درصد اینولین، ۰/۰۳۲ درصد استویا، ۵/۸۳ درصد شکر، ۱۹/۳۷ درصد خامه سبک، ۱۲ درصد پودر شیر خشک کم‌چرب، ۴/۵ درصد پودر کاکائو، ۲ درصد پودر ژلاتین و ۵۰/۶۴ درصد شیر استریلیزه کم چرب بدست آمد.

نتیجه‌گیری کلی

در این تحقیق از اینولین و استویا به عنوان جایگزین چربی و شکر استفاده شده و اثر آنها بر کیفیت شیمیایی و

میکروبی دسر لبنی تولید شده بررسی و مشاهده شد با افزایش اینولین به علت افزایش رشد باکتری‌های اسید لاکتیک، اسیدیته محصول افزایش و pH کاهش می‌یابد. با افزایش توأم میزان اینولین و مدت زمان نگهداری میزان کلی باکتری‌ها کاهش می‌یابد و با افزایش میزان اینولین و مدت زمان نگهداری در دمای یخچال تعداد کلی کپک و مخمر افزایش می‌یابد. ولی تعداد کلی باکتری‌ها و کپک و مخمر در دسر شیری شکلاتی تا پایان دوره نگهداری همچنان کمتر از حد مجاز تعیین شده توسط استاندارد ملی ایران می‌باشد. نمونه بهینه دسر شیری شکلاتی کم-کالری تولید شده دارای کمترین مقدار اسیدهای چرب اشباع و بیشترین مقدار اسیدهای چرب غیراشباع بوده است. مقدار ساکارز در نمونه کنترل بیشترین مقدار قند را تشکیل داده است، در حالیکه در نمونه دسر کم‌کالری بهینه، لاکتوز بیشترین مقدار قند را تشکیل داده است. بهترین فرمولاسیون برای تولید دسر شیری شکلاتی کم-کالری ۵/۶۲۸ درصد اینولین، ۰/۰۳۲ درصد استویا، ۵/۸۳ درصد شکر می‌باشد.

فهرست منابع

1. Akalın A.S. and Erişir D. 2008. Effects of Inulin and Oligofructose on the Rheological Characteristics and Probiotic Culture Survival in Low-Fat Probiotic Ice Cream. J Food Sci. 73(4).
2. Akın M.B., Akın M.S. and Kırmac Z. 2007. Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream. Food Chem. 104(1):93-99.
3. Alizadeh M., Azizi-Lalabadi M., Ansari H. and Kheirouri S. 2014. Effect of stevia as a substitute for sugar on physicochemical and sensory properties of fruit based milk shake. J Res Rep. 3(11):1421-1429.
4. Arci P. L., Navarro S., Costell, E. and Tárrega A. 2011. Effect of inulin seeding on rheology and microstructure of prebiotic dairy desserts. Food Biophys. 6(4):440-449.
5. Balthazar C.F., Junior C.C., Moraes J., Costa M.P., Raices R.S.L, Franco R.M. and Silva A.C.O. 2016. Physicochemical evaluation of sheep milk yogurts containing different levels of inulin. J dairy Sci, 99(6), 4160-4168.
6. Batabi R., Naqipour M., Andalib P. and Nasirpour B. 2013. Optimization of dairy dessert using stevia and carboxymethyl cellulose. J Food Process & Prod. 3(2):65-57.
7. Chugh B., Singh G. and Kumbhar B.K. 2013. Development of low-fat soft dough biscuits using carbohydrate-based fat replacers. Int J Food Sci.
8. Donkor O.N., Nilmini S.L.I., Stolic P., Vasiljevic T. and Shah N.P. 2007. Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. Int Dairy J. 17(6):657-665.
9. De Wijk R.A., van Gemert L.J., Terpstra M.E. and Wilkinson C.L. 2003. Texture of semi-solids; sensory and instrumental measurements on vanilla custard desserts. Food Qual Prefer. 14(4):305-317.
10. Dokhani, Sh. and Rabiei Zasin, L. 2000. Investigating the amount of changes in sugars and organic acids of potato cultivars (Moren, Marfona and Agria) of Isfahan province during storage, using high efficiency chromatography method. J Agri Sci & Natural Res. 5(1):173-161.
11. Fallah Shojaei M., Sadeghi Mahonek A., Ghorbani M. and Khamari M. 2015. Investigating the antioxidant activity of the methanolic extract of Stevia Rabiodiana Bertoni and investigating this property in dairy dessert. Food Process & Storage. 8(2):69-90.
12. Folch J., Lees M. and Sloane-Stanley G.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J Biol Chem. 226(1):497-509.
13. Fox D. (1993). Exogenous enzymes in dairy technology- A review. J food Biochem. 17(3):173-199.

Giri A., Rao H.R. and Ramesh V. 2014. Effect of partial replacement of sugar with

14. Glenn R. 2008. Handbook of prebiotic. Taylor.U S. chapter 22.
15. Güler Z. and Gürsoy-Balc A.C. 2011. Evaluation of volatile compounds and free fatty acids in set types yogurts made of ewes', goats' milk and their mixture using two different commercial starter cultures during refrigerated storage. Food Chem. 127(3);1065-1071.
16. Homayouni Rad A., Delshadian Z., Arefhosseini S.R., Alipour B. and AsghariJafarabadi M. 2012. Effect of inulin and stevia on some physical properties of chocolate milk. Health Prom Perspect. 2(1):42-47.
17. ISIRI. 2018. Milk and its products - milk desserts - characteristics and test methods - No 14681.
18. ISIRI. 2013. Indirect detection of mycoplasma in cell culture by staining with 4,6-diamidino-2-2-phenylindole (DAPI). No 7110.
19. ISIRI.2016. Milk and its products - Counting of mold or yeast colony forming units - Colony count in a plate at 25OC temperature. No. 10154.
20. ISIRI.2014. Microbiology of food and animal feed - Counting of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) - Test method - Part I: Method of using Brad-Parkergar culture medium. No.6806.
21. ISIRI.2014. Coliform identification. No.5486.
22. ISIRI.2014. Milk and its products - *Escherichia coli* counting - Most Probable Number (MPN) method. No.5234.
23. Lisak K., Lenc M., Jeličić I. and Božanić R. 2012. Sensory evaluation of the strawberry flavored yoghurt with stevia and sucrose addition. Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju. biotehnologiju i nutricionizam,7 (SPECIAL ISSUE-7th):39-43.
24. Lourens-Hattingh A. and Viljoen B.C. 2001. Growth and survival of a probiotic yeast in dairy products. Food Res Int. 34(9):791-796.
25. Kumar P. and Mishra H.N. 2004. Mango soy fortified set yoghurt: effect of stabilizer addition on physicochemical, sensory and stevia on the quality of kulfi. J food Science Technol. 51(8):1612-1616.
textural properties. Food Chem. 87(4):501-507.
26. Makras L., Van Acker G. and De Vuyst L. 2005. Lactobacillus paracasei subsp. paracasei 8700: 2 degrades inulin-type fructans exhibiting different degrees of polymerization. Appl Environ Microbiol. 71(11):6531-6537.
27. Macedo A.C., Malcata F.X. and Hogg T.A. 1995. Microbiological profile in Serra ewes' cheese during ripening. J Appl Microbiol. 79(1):1-11.
28. Milani E. and Koocheki A. 2011. The effects of date syrup and guar gum on physical, rheological and sensory properties of low fat frozen yoghurt dessert. Int J dairy technol. 64(1):121-129.
29. Morais E.C., Pinheiro A.C.M., Nunes C.A. and Bolini H.M.A. 2014. Multiple Time-Intensity Analysis and Temporal Dominance of Sensations of Chocolate Dairy Dessert Using Prebiotic and Different High-Intensity Sweeteners. J Sensory Studies. 29(5):339-350.
30. Morais E.C., Esmerino E.A., Monteiro R.A., Pinheiro C.M., Nunes C.A., Cruz A.G. and Bolini H. 2016. Prebiotic low sugar chocolate dairy desserts: physical and optical characteristics and performance of PARAFAC and PCA preference map. J Food Sci. 81(1).
31. Myers R.H., Khuri A.I. and Carter W.H. 1988. Response surface methodology: Technometrics. England. 31(2):137-57.
32. Nasiri, Sh., Razavi, H., Hojat-ul-Islami, M. 2013. Investigating the effect of the substitution of Evia and CMC gum instead of sucrose on the physical-chemical, rheological and sensory properties of drinking plain malt. 21st National Sci & Food Industry Congress.
33. Raiesi Ardali F., Alipour M., shariatic M.A., Taheri S. and Amiri S. 2014. Replacing sugar by Rebaudioside A in orange drink and produce a new drink. Indian J Res Pharm Biotechnol. 2(2):1131-1135.

34. Rapaille A. and Vanhemelrijck J. 1998. 9 Milk based desserts. Technology of Dairy Products. 327.
35. Reguła A. 2007. Free fatty acid profiles of fermented beverages made from ewe's milk. Le Lait, 87(1), 71-77.
36. Rodríguez-García J., Puig A., Salvador A. and Hernando I. 2012. Optimization of a sponge cake formulation with inulin as fat replacer: structure, physicochemical, and sensory properties. J Food Sci. 77(2).
37. Romanchik-Cerpovicz J.E., Costantino A.C. and Gunn L.H. 2006. Sensory evaluation ratings and melting characteristics show that okra gum is an acceptable milk-fat ingredient substitute in chocolate frozen dairy dessert. J American Dietetic Association. 106(4):594-597.
38. Saniah K. and Samsiah M.S. 2012. The application of Stevia as sugar substitute in carbonated drinks using Response Surface Methodology. J Trop Agric Fd Sc. 40(1):23-34.
39. Seyed Mohammadzadeh A, Ahmadi Dastgardi A. 2019. The effect of stevia and inulin on the physicochemical, antioxidant and sensory properties of low-calorie chocolate dairy dessert. J Process & Preserv. 12, 2:13-24.
40. Shurideh, M., Taslimi, A., Azizi, M. H., Mohammadi Far, M. A., Mashaikh, M. 2019. The effect of using D-tagatose, inulin, and stevia as sucrose substitutes on some physical, chemical, rheological, and sensory properties. Iranian J Food Sci. 5(3):38-29.
41. Supavititpatana P., Wirjantoro T.I., Apichartsrangkoon A. and Raviyan P. 2008. Addition of gelatin enhanced gelation of corn–milk yogurt. Food Chem. 106(1):211-216.
42. Tárrega A., Durán L. and Costell E. 2004. Flow behaviour of semi-solid dairy desserts. Effect of temperature. Int Dairy J. 14(4):345-353.
43. Yousefi Asli, M., Gali, A.H., Kadior, M. 2013. Optimizing the production of low-calorie jam using stevia artificial sweetener. J Food Res. 22(1):164-155.

Investigation of the effects of Stevia (Rebaudioside) and Inulin on the Chemical and Microbial Properties of Low-Calorie Chocolate Dairy Dessert

Seyed Mahmoodzade A[1], Ahmadi Dastgerdi A[2*], Kiani Aliabadi F[2]

1. Graduated of Master, Department of Food Science and Technology, Khorasgan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.
2. Department of Food Science and Technology, Ardestan Branch, Islamic Azad University, Ardestan, Iran.

***Corresponding author:** *as.ahmadi17@gmail.com*

Received: 23 January 2022 Accepted: 07 May 2022

Abstract

Carbohydrates and lipids are known as the most important sources of calorie intake in food products, much attention has been paid to low-calorie and non-caloric alternatives. In this research, stevia and inulin was used as sugar and fat replacer in chocolate dairy dessert formulation, respectively. Inorder to optimize the formula and low-calorie chocolate dairy dessert production, three factors of inulin concentration (0to 8 g/100 g), stevia concentration (0 to 0.06 g/100 g), and storage day (1 to 14 day) were evaluated using response surface methodology (RSM) with Face-Centered Central Composite. Then, the chemical characteristics including pH, acidity, fat and protein content, and microbial properties were analyzed in the chocolate dairy dessert after 1, 4, 7, 10 and 14 days' storage. Folch method applied for fatty acids extraction and Gas Chromatography used for determination of fatty acids. The results showed that the pH value decreased with increase in inulin content. An increase in unsaturated fatty acids was observed in low calorie chocolate dairy dessert. The Highest percentage of fatty acids in chocolate dairy dessets were palmitic acid followed by oleic acid. The evaluation of Sucrose, Lactose and Glucose content with HPLC Technique showed that sucrose was the dominate sugar in the control sample but lactose had more content in low calorie desserts. Both total bacterial count and mold and yeast count, were lower than the standard range. According to the model obtained, the formulation with 5.628 g/100 g inulin, 0.032 g/100 g stevia and 5.83 g/100 g of sucrose was selected.

Keywords: Fat replacer, Inulin, Sugar replacer, Stevia, chocolate dairy dessert.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited Copyright © 2023 Shahrekord Branch, Islamic Azad University.