(مقاله پژوهشی)

بررسی ویژگی‌های شکلات تلخ حاوی عصاره و میکروکپسول‌های گیاه چای سفید

سمیه شهبازی[۱]، زهره دیدار[۲*]، محسن وظیفه دوست[۲]، مصطفی شهیدی نوقابی[۳]، عیسی جاهد[۴]

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم وصنایع غذایی ، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران.

۲- استادیار،گروه علوم و صنایع غذایی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران.

۳- عضو هیئت علمی پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران.

۴- دانش آموخته دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۰۴

چکیده

در این مطالعه اثر عصاره آزاد و میکروکپسوله شده چای سفید بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی، اندازه ذرات، FTIR و SEM و همچنین ترکیبات فنلی کل، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ویژگی‌های حسی شکلات تلخ بررسی شد. عصاره چای سفید در غلظت‌های ۱، ۳، ۵ و۷ درصد (بر اساس پیش تیمارهای انجام شده) به صورت آزاد و میکروکپسول به فرمولاسیون شکلات تلخ افزوده شد. نتایج حاصل نشان داد، محدوده اندازه ذرات میکروکپسول µm ۱۵۷/۲۳-۲/۳ بود. بررسی تصویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی حاکی از آن بود که ذرات شکلات تلخ حاوی عصاره میکروکپسول چای‌سفید دارای اندازه کوچکتر و یکنواختی بیشتری نسبت به نمونه شاهد و نمونه حاوی عصاره آزاد چای سفید بودند. افزایش غلظت عصاره از ۱ تا ۷ درصد در هر دو حالت آزاد و میکروکپسوله سبب افزایش معنی دار ($p<0.05$) میزان ترکیبات فنلی کل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی شکلات تلخ شد. در بررسی ویژگی‌های حسی، نمونه های حاوی ۳٪ عصاره آزاد چای سفید و ۱٪ عصاره میکروکپسوله چای سفید بیشترین پذیرش را توسط ارزیاب ها کسب نمودند. از جهت بررسی ویژگی های رنگی، نمونه های حاوی عصاره کپسوله شده بیشترین درجه روشنایی (L^*)، درجه قرمزی (a^*) و درجه زردی (b^*) را داشتند. با افزایش میزان عصاره آزاد و میکروکپسول چای سفید، رطوبت روند افزایشی داشته اما سفتی و pH روند معکوسی را نشان دادند.

واژه های کلیدی: شکلات تلخ، عصاره چای سفید، میکروکپسول، خاصیت آنتی اکسیدانی.

*مسئول مکاتبات: Z_didar57@yahoo.com

۱- مقدمه

در سال های اخیر مصرف کنندگان تمایل به استفاده از مواد غذایی با ارزش تغذیه‌ای و کیفیت ارگانولپتیکی بالا دارند (۱۴). منابع طبیعی گیاهی شامل مجموعه‌ای متنوع از ترکیبات مانند اسیدهای فنولی، فلاونوئید، تانن‌ها، ویتامین‌ها و ترپنوئیدها هستند که دارای خصوصیات بیولوژیکی می‌باشند. خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی و خواص سلامتی آن‌ها عمدتاً به ترکیبات فنلی نسبت داده می‌شود. پلی فنل‌های موجود در عصاره گیاهان نقش مهمی در مقابل پاتوژن‌های گیاهی و دیگر شرایط نامطلوب دارند (۲۶). با این حال، ترکیبات فنلی به شرایط اکسایش از قبیل نور، اکسیژن، رطوبت حساس هستند، بنابراین لازم است برای افزایش پایداری و اجزا غذایی ایمن و فراهم کردن مزیت برای مصرف‌کننده، ریزپوشانی شوند (۱۰). ریزپوشانی برای محافظت ترکیبات بیواکتیو حساس و همچنین برای کنترل رهاسازی ترکیب ریزپوشانی‌شده به کار می‌رود (۲۷). چای سفید از برگ و جوانه چای به‌دست می آید. چای سفید فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به چای‌سبز و سیاه دارد که به دلیل حضور کاتچین می باشد. اپی گالوکاتچین[1]، اپی کاتچین گالات[2]، اپی کاتچین[3] و اپی گالوکاتچین گالات[4] موجود در چای‌سفید به فعالیت بیواکتیوی آن کمک می‌کند (۲۹). شکلات به دلیل طعم و مزه شیرین، یک غذا رایج جهانی می باشد. شکلات یک محصول منحصر به فرد است، اگرچه به دلیل ارزش کالری بالا، اغلب از مصرف آن اجتناب می‌شود، اما به دلیل مزیت‌های سلامتی‌بخش، به دلیل حضور ترکیبات بیواکتیو در آن، می‌تواند به عنوان یک محصول فراسودمند ترویج یابد. کاکائو دارای بالاترین میزان از فلاوانول است. پلی‌فنل‌ها در لوبیا کاکائو یافت می‌شوند و ساختار پلی فنولی کاکائو به فاکتورهای بسیاری از قبیل نوع، شرایط رشد گیاه و میزان رسیدگی میوه کاکائو، همچنین تخمیر و پروسه غذا بستگی دارد. میزان غلظت‌نهایی فلاوانول به تیمار به کار رفته برای کاهش میزان تلخی بستگی دارد (۱۸). از آن جایی که قشر وسیعی از مردم از جمله کودکان و جوانان از مصرف‌کنندگان اصلی انواع مختلف شکلات ها به شمار می‌روند، بنابراین تبدیل این محصول به مواد غذایی عملگرا می‌تواند نقش بسزایی در بهبود سطح سلامت جامعه داشته باشد (۵). مطالعات مختلفی در ارتباط با غنی‌سازی شکلات انجام شده است از قبیل غنی‌سازی با عصاره استویا و تخم کتان (۲۰) عصاره توت سفید (۱۹)، عصاره پوست بادام زمینی (۱۵)، نانوذرات دارچین (۷). با توجه به اینکه تاکنون مطالعه‌ای در خصوص استفاده از چای‌سفید در شکلات انجام نشده است، هدف ازمطالعه حاضر بررسی خصوصیات شکلات فراسودمند حاوی عصاره و میکروکپسول‌های گیاه چای سفید می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- استخراج عصاره از چای سفید

چای سفید (*Camellia Sinensis*) از شرکت تیمن (چای رفاه لاهیجان) خریداری شد. عصاره آبی چای‌سفید با مخلوط‌کردن برگ های چای‌سفید در آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۰ در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد تهیه شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۰دقیقه همراه با همزدن به جوش آمده و به وسیله قیف بوخنر وکاغذ صافی واتمن ذرات جامد آن جدا شد. عصاره حاصله در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک و برای آزمایشات بعدی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۳۰).

۲-۲- تولید میکروکپسول

میکروکپسول‌ها از تعلیق پلیمرهای پکتین (از شرکت سیگما آلدریچ) و کازئین (شرکت مرک) در آب مقطر(ماده جامد ۱۰٪ وزنی- حجمی) تحت لرزش‌های ثابت مکانیکی (هات پلیت مگنت دار، شرکت FALC، ایتالیا) تهیه شدند. پس از تعلیق‌کامل، عصاره چای سفید به نسبت یک به یک (پلیمر به عصاره) افزوده شد. میکروکپسول‌ها با کاهش تدریجی pH به ۳±۰/۱ توسط دستگاه pH متر (Gp EDT،

1- Epigallocatechin
2- Epicatechin Gallate
3- Epicatechin
4- Epigallocatechin Gallate

انگلیس) با اسیدسیتریک ۱ مولار به دست آمدند. سپس نمونه‌ها توسط خشک‌کن انجمادی (Opern، کره) در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ساعت خشک شدند (۱۱).

۲-۳- تهیه نمونه‌های شکلات

برای تهیه شکلات، ابتدا شکر توسط آسیاب خانگی خرد شد و از الک آزمایشگاهی ۳۸-۲۰ میکرون عبور داده شد. برای تهیه‌شکلات تلخ ۱۰۰ گرمی، ابتدا ۲۰ گرم کره کاکائو (شرکت فرمند، ایران) در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد ذوب شد و سپس پودرکاکائو (شرکت فرمند، ایران) به میزان گرم و شکر به کره کاکائوی ذوب شده اضافه شدند. مخلوط حاصله در داخل مخلوط کن با دور ۵۰ دور در دقیقه به مدت ۴ ساعت و بعد در حمام پارافین با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرارگرفت. نمونه‌های تهیه شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس دمای آن‌ها به ۵۵ درجه سانتی‌گراد رسانیده شد و پس از حفظ نمونه‌ها در این دما به مدت ۳۰ دقیقه، در دمای ۲۸ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند. بلافاصله نمونه ها به قالب‌های پلاستیکی منتقل و در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شدند و در نهایت در ورق‌های آلومینیومی بسته بندی و به یخچال منتقل گردیدند (۲۴). مشابه همین فرآیند به منظور تولید شکلات غنی‌شده با عصاره آزاد و میکروکپسوله چای‌سفید انجام شد با این تفاوت که عصاره چای‌سفید در ۴ سطح (۱، ۳، ۵ و ۷ درصد) و به دو شکل‌آزاد و میکروکپسوله شده به فرمولاسیون شکلات افزوده شد.

۲-٤- توزیع اندازه ذرات میکرو کپسول

اندازه ذرات با استفاده از دستگاه پراکندگی نور دینامیک[1] (FRITSCH ANALYS ETTE22, Nano tech, Germany) اندازه گیری شد. در حدود ۵ گرم از نمونه در ۵۰ میلی‌لیتر هگزان با گرید (استاندارد) High Performance Liquid Chromatography (HPLC) و در دمای محیط (۲۵/۲ درجه سانتی‌گراد) به تعلیق در آمده و سپس برای اطمینان از به تعلیق در آمدن به طور جداگانه، نمونه به مدت ۲دقیقه تحت پراکنش التراسونیک قرار گرفت. توزیع اندازه ذرات همه نمونه‌ها در سه تکرار انجام شد. پارامترهای توزیع اندازه ذرات (µm) بدست آمده شامل بزرگترین اندازه ذره d (۰/۹)، میانگین اندازه ذره d (۰/۵) و کوچکترین اندازه ذره d (۰/۱) می باشد (۳۱).

۲-۵- آزمون FTIR[2]

در روش FTIR از تابش فروسرخ برای تعیین ویژگی‌های شیمیایی نمونه استفاده شد (۳). در این آزمون نمونه توسط دستگاه FTIR (Spectroma2 Perkin-Elmer) در محدوده موج cm^{-1} ۴۰۰۰-۵۰۰ اندازه گیری و پیک های لازم به دست آمد (۶). این آزمون در آزمایشگاه دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد نیشابور انجام گردید.

۲-٦-آماده‌سازی نمونه برای آزمون فنل‌کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی

آماده‌سازی نمونه جهت تعیین میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی مطابق روش تودورویک و همکاران (۲۰۱۵) آماده شد. نمونه‌های شکلات در یخچال نگهداری شدند. در ابتدا شکلات‌ها به صورت دستی در آسیاب خرد شدند. برای حذف چربی، ۰/۲گرم از هر محصول سه بار با ۱۰ میلی‌لیتر ان-هگزان استخراج شد. نمونه‌های چربی‌گیری شده برای تبخیر حلال باقی مانده، طی ۲۴ ساعت با هوا خشک شدند. ترکیبات مورد نظر و پلی فنل ها از کاکائو چربی‌گیری شده، دو بار با ۵ میلی لیتر حلال استخراجی: استون + آب مقطر + استیک اسید (۷۰+۲۹/۸+۰/۲ حجمی/حجمی/حجمی) به مدت ۳۰ دقیقه در اولترا سوند استخراج شدند. ترکیب حاصل بعد از استخراج، به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. بعد از فیلتراسیون، سوپرناتانت برای اندازه گیری استفاده شد (۳۲).

۲-۷-اندازه گیری محتوای فنلی کل

محتوای فنولی کل به روش فولین سیوکالتو تعیین شد. نمونه های عصاره در حجم ۱۰۰ µl با ۱۰۰ µl از معرف فولین

1- Dynamic Light Scattering (DLS)

2- Scanning electron microscopy (SEM)

سیوکالتو ترکیب شد، ۱۰۰۰ µl از سدیم کربنات ۲۰ درصد و ۸/۸ میلی‌لیتر آب مقطر نیز اضافه شد. بعد از ۳۰ دقیقه استراحت در تاریکی جذب در ۷۰۰nm با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت شد. از رقت‌های مختلف اسید گالیک $mg.L^{-1}$ ۲۵۰-۲۵ به عنوان استاندارد استفاده شد و نتایج بصورت معادل میلی گرم اسید گالیک در گرم شکلات محاسبه گردید (۱۸).

۲-۸-فعالیت آنتی اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها از طریق توانایی مهار رادیکال های آزاد با استفاده از ۲ و ۲ دی‌فنیل-۱- پیکریل هیدروزیل (DPPH) اندازه گیری شد. برای این منظور یک‌گرم از فراورده در ۱۰ ml آب مقطر حل شد. سپس ۱۰۰ µl از این محلول با ۴ میلی‌لیتر محلول اتانولی DPPH (۲۵ mg/g) مخلوط شد، سپس نمونه‌ها به مدت ۴۰ دقیقه در محل تاریک قرار گرفتند. در نهایت جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید و با استفاده از رابطه ۱ درصد مهارکنندگی رادیکالهای آزاد DPPH بر حسب درصد محاسبه گردید (۲۹). رابطه (۱)

$$I\ (\%) = (A_{blank} - A_{sample} / A_{blank}) \times 100$$

A_{Blank} جذب نوری نمونه شاهد که فاقد عصاره می باشد را نشان می دهد، A_{Sample} میزان جذب نوری عصاره و I% درصد مهارکنندگی را بیان می کند. در این آزمایش از آنتی‌اکسیدان سنتزی هیدروکسی آنیزول بوتیل[1] به میزان ۱۰۰ ppm برای مقایسه استفاده شد.

۲-۹-ویژگی های حسی

ارزیابی حسی هدونیک توسط۳۰ ارزیاب انجام شد که شکلات تلخ را دوست داشته و سابقه مصرف آن را داشته‌اند. حدود ۱۰ گرم شکلات تلخ که با اعداد ۳ رقمی کدگذاری شده‌اند در بشقاب کوچکی قرار داده و هر ارزیاب سه تکرار از هر نمونه را دریافت خواهد کرد. ارزیاب‌ها می‌بایست بین ارزیابی نمونه ها دهان خود را با آب شستشو دهند. آنالیز پذیرش با استفاده از مقیاس ۹ نقطه ای هدونیک، ۹ پذیرش کامل و ۱ عدم پذیرش انجام شده است (۱۳).

۲-۱۰-ویژگی های رنگی

اندازه‌گیری رنگ بر طبق روش حیدری و همکاران (۱۳۹۲) توسط دستگاه رنگ‌سنج (Chroma Meter CR-410 با reflectance ۱۶۰درصد تا y=۰/۰۱، ΔE=۰/۶ و illuminant=C) استاندارد شده با کاشی سفید (L*=۹۸/۱۴، a*= -۰/۲۳ و b*=۱/۸۹) اندازه‌گیری شد. ارزیابی رنگ در فضای L*، a* و b* انجام شد و ۳ تکرار در ارزیابی رنگ هر نمونه وجود داشت (۴).

۲-۱۱-رطوبت و pH

رطوبت باروش‌کارل فیشر[2] (AOAC,2005) و pH نمونه ها طبق روش (AOAC,2005) اندازه‌گیری شد (۸).

۲-۱۲-ویژگی بافتی

سختی فرآورده توسط دستگاه آنالیز بافت مدل (TA PLUS TEXTURE ANALYSER, AMRICA) و طبق روش فرزان‌مهر و همکاران (۲۰۰۸) مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌های شکلات دو ساعت قبل از انجام آزمایش در انکوباتور یخچال دار با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس سختی نمونه‌ها توسط دستگاه بافت سنج مجهز به سمبه ته صاف با قطر ۱/۶ ml، سرعت ۹۰ میلی متر در دقیقه و لود سل[3] ۵۰۰ نیوتن مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان نیروی بیشینه در عمق ۴ میلی متر به عنوان سختی گزارش شد (۱۷).

۲-۱۳-آزمون پایش میکروسکوپ الکترونی (SEM)[4]

به منظور مشاهده ریز ساختار نمونه‌های شکلات از تکنیک SEMو دستگاه SEM (phenom prox scanning electron microscope) با ولتاژ ۲۶kv و بزرگنمایی

1- Butylated hydroxyanisole (BHA)

2- Karl-Fisher titration

3- Load cell

4- Fourier transform infrared spectroscopy

۱۲۰۰۰-۴۰۰۰ استفاده شد که در آزمایشگاه دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد نیشابور انجام گردید (۱۹).

۲-۱٤-آنالیز آماری

آزمون ها بر اساس طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شدند. متغیرهای این بررسی نوع عصاره (آزاد و میکروکپسوله) و غلظت عصاره (در سطوح ۱، ۳، ۵ و ۷ درصد) می باشند. آنالیز واریانس یک‌طرفه برای تجزیه و تحلیل داده های بدست آمده، آزمون مقایسه میانگین دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ برای مشخص کردن معنی داری بین میانگین ها و نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ مورد استفاده قرار گرفتند.

۳- بحث و نتایج

۳-۱-توزیع اندازه ذرات میکرو کپسول

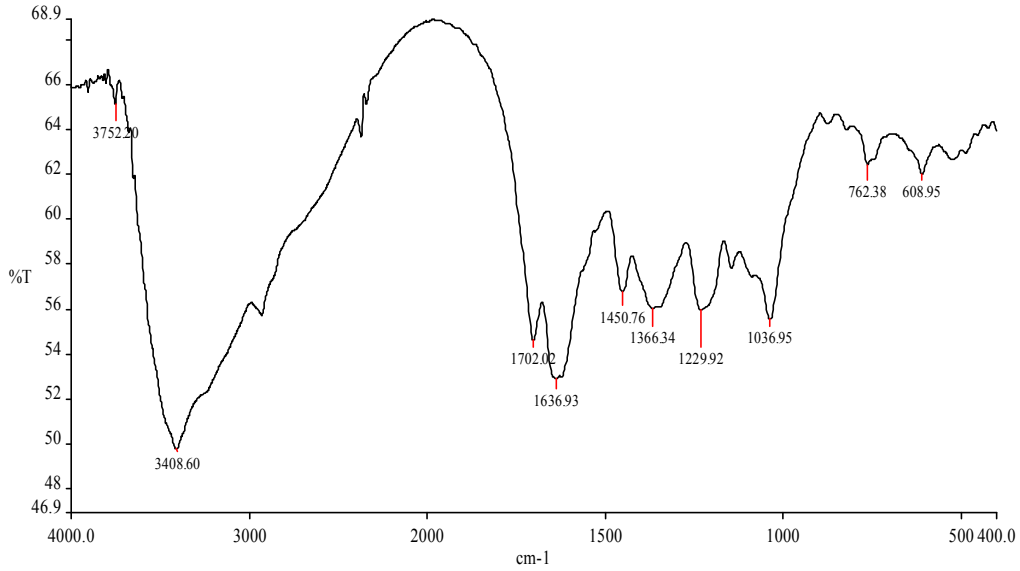
محدوده توزیع اندازه ذرات در جدول (۱) نشان داده شده است. توزیع اندازه ذرات روند صعودی داشت و محدوده اندازه ذرات ۱۵۷/۲۳-۲/۳ µm بود. همچنین نتایج نشان داد راندمان ریزپوشانی عصاره چای سفید در این تحقیق برابر ۸۴/۱۰ درصد بود. قطر میکروکپسول ها به خصوصیات مواد، غلظت، ویسکوزیته مواد ریزپوشانی و شرایط عملیات خشک‌کن بستگی دارد (۲۳). بر اساس مطالعه جامز و همکاران (۲۱) راندمان ریزپوشانی چای سبز با مواد مختلف دیواره در محدوده ۷۱/۴۱-۸۸/۰۴ درصد بود. راندمان ریزپوشانی می تواند توسط طبیعت مواد دیواره تحت تاثیر قرارگیرد و این بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز تاثیر می گذارد.

جدول ۱- توزیع اندازه ذرات میکروکپسول عصاره چای سفید

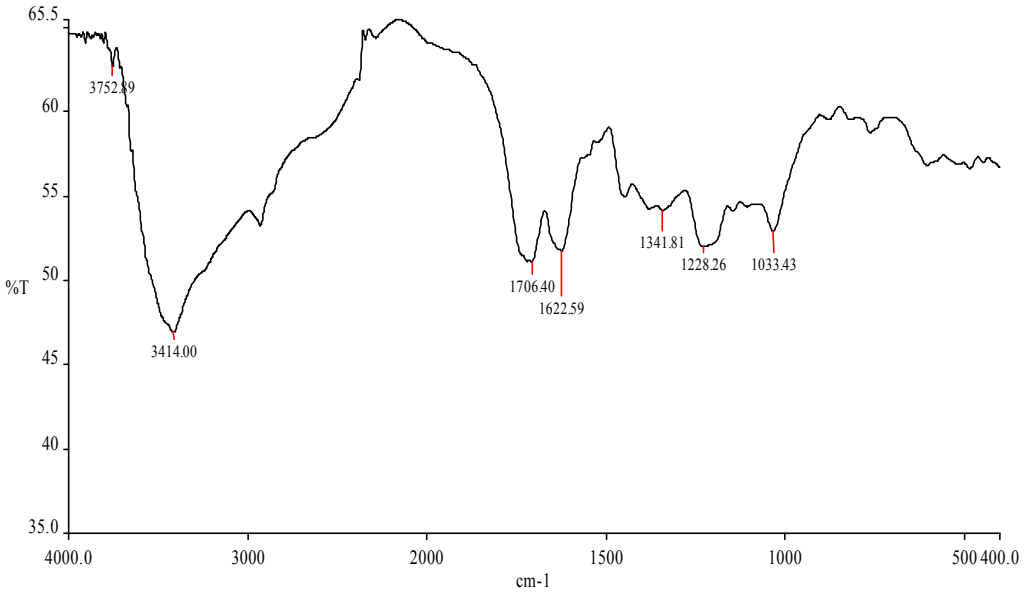
توزیع ذره	متوسط قطر ذره (µm)
D10	۲/۳
D50	۲۱/۸٤
D90	۱۵۷/۲۳

۳-۲-طیف سنجی مادون قرمز (FTIR)

نتایج آزمون FTIR برای عصاره آزاد و میکروکپسوله چای‌سفید در شکل(۱) نشان داده شده است. همانطور که در شکل۱(a) مشاهده می‌شود عصاره چای‌سفید دارای پیک های جذب در نواحی مختلف می‌باشد. در این نمودار در محدوده ۱۳۶۶/۳۴، ۱۲۲۹/۹۲ و ۷۶۲/۳۸ سه پیک قوی مشاهده می شود که مربوط به گروه های C–H و C–O می‌باشد. پیک‌های مشاهده شده در ۳۴۰۸/۶۰ و ۱۷۰۲/۰۲ به ترتیب مربوط به الکل‌های با پیوند هیدروژنی، فنل‌ها و مربوط به C=O در آلدهید، کتون، کربوکسیلیک اسید، اتر می‌باشد. پیک مشاهده شده در ۹۳/۱۶۳۶ مربوط به C=C در آلکن می‌باشد. در نمودار(B) شکل ۱ پیک‌های مشخصه عصاره میکروکپسوله شده چای سفید شامل سه پیک قوی در طول موج ۱۷۰۶/۴۰مربوط به گروه C=O در اتر، کربوکسیلیک اسید، آلدهید و کتون، طول موج ۱۳۴۱/۸۱ مربوط به گروه C–H در آلکان ها و طول موج ۱۲۲۸/۲۶ مربوط به گروه C–O در الکل، اتر و کربوکسیلیک اسید می باشد. طول موج ۱۶۲۲/۵۹ مربوط به گروه C=C در آلکن و طول موج ۳۴۱۴/۰ متغیر تا حدی پهن در الکل با پیوند هیدروژنی و فنول‌ها می‌باشد (۶).



A



B

شکل ۱- منحنی FTIR عصاره آزاد چای سفید (a) و عصاره میکروکپسوله (b)

۳-۳- میزان فنل کل

نتایج حاصل از میزان فنل کل در شکلات تلخ در جدول (۲) نشان داده شده است. نتایج حاکی از آن بود که، افزایش غلظت عصاره در هر دو حالت آزاد و میکروکپسوله شده سبب افزایش میزان ترکیبات فنلی کل در شکلات تلخ شد. شکلات حاوی ۷ درصد عصاره ریزپوشانی شده با ۱۱۲/۳۲ میلی‌گرم بر گرم، بیشترین میزان از فنل کل را دارا بود. لونکاریویک و همکاران (۲۵) با بررسی اثر ریزپوشانی چای سبز در شکلات سفید، گزارش نمودند، میزان فنل کل از

۰/۱۴ در شکلات سفید به ۲/۷۳ در شکلات غنی‌شده با بیشترین میزان چای سبز افزایش یافت. رشیدی‌نژاده و همکاران (۲۸) گزارش نمودند میزان فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در پنیر حاوی عصاره نانوکپسول چای سبز به طور معنی‌داری افزایش یافت. بر اساس مطالعه گادوکیوا و همکاران (۱۸) میزان فنل کل در نمونه های شکلات تلخ حاوی عصاره توت سیاه و سنجد بیشتر از نمونه شاهد بود.

جدول ۲- نتایج مقایسه میانگین اثر عصاره آزاد و میکروکپسوله چای سفید بر محتوای فنلی (mg/g) کل نمونه های شکلات تلخ

نمونه شکلات	محتوای فنلی کل (mg/g)
شکلات شاهد	۳۳/۵۷±۲/۳^{j}
شکلات حاوی ۱٪ عصاره چای سفید	۵۷/۸۵±۱/۰^{e}
شکلات حاوی ۳٪ عصاره چای سفید	۷۰/۰۷ ± ۱/۵^{d}
شکلات حاوی ۵٪ عصاره چای سفید	۸۳/۵۸±۲/۰^{c}
شکلات حاوی ۷٪ عصاره چای سفید	۹۸/٤۵ ±۲/۵^{b}
شکلات حاوی ۱٪ میکروکپسول	٦۳/٦۵±۱/۸^{e}
شکلات حاوی ۳٪ میکروکپسول	٦۹/۸۵ ±۱/۰^{d}
شکلات حاوی ۵٪ میکروکپسول	۹۵/٤۷±۳/۰ ^{b}
شکلات حاوی ۷٪ میکروکپسول	۱۱۲/۳۲ ±۲/۸ ^{a}

۳-٤-فعالیت مهارکنندگی رادیکالهای آزاد

نتایج مربوط به فعالیت آنتی‌اکسیدانی در جدول (۳) نشان داده شده است. با افزایش میزان غلظت عصاره در هر دو حالت آزاد و میکروکپسول، فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافته است و بین آن‌ها اختلاف معنی داری وجود داشت. نمونه های حاوی عصاره میکروکپسوله‌شده به دلیل حفظ بهترترکیبات زیست فعال، قدرت آنتی‌اکسیدانی بالایی نشان دادند. بین غلظت پلی فنل‌ها و فعالیت آنتی اکسیدانی ارتباط مستقیم وجود دارد چرا که در غلظت‌های بالا با افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیلی با ترکیبات فنلی مواجه هستیم که احتمال دادن هیدروژن به رادیکال‌های آزاد افزایش یافته و در نتیجه قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد (۱). نتایج حاضر مطابق با نتایج جامز و همکاران (۲۱) بود، که گزارش نمودند، عصاره آزاد چای سبز فعالیت آنتی‌اکسیدانی‌کم‌تری نسبت به عصاره میکروکپسول‌شده در دمای نگهداری نشان داد. بر اساس مطالعه تودورویک و همکاران (۳۲) شکلات تلخ حاوی تمشک فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به شکلات عاری از تمشک نشان داد. لونکاریویک و همکاران (۲۵) با بررسی اثر ریزپوشانی چای سبز در شکلات سفید، گزارش نمودند، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از ۱/۲۲ در شکلات‌سفید تا ۱۶/۱۲ در شکلات غنی‌شده افزایش یافت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی غذا در ارتباط با حضور ترکیبات منتخب در مواد غذایی است (۲۱).

جدول ۳- نتایج مقایسه میانگین اثر عصاره آزاد و میکروکپسوله چای سفید بر خاصیت آنتی اکسیدانی (درصد) نمونه های شکلات تلخ

نمونه شکلات	خاصیت آنتی اکسیدانی (٪)
شکلات شاهد	٦٢/٤٥±٢/٠ ed
شکلات حاوی ۱٪ عصاره چای سفید	٦٦/٨٣±١/٠ d
شکلات حاوی ۳٪ عصاره چای سفید	٧٥/٨٥ ± ١/٢ c
شکلات حاوی ۵٪ عصاره چای سفید	٧٧/٧٢±٢/٢ bc
شکلات حاوی ۷٪ عصاره چای سفید	٨٣/٥٨±١/٠ ab
شکلات حاوی ۱٪ میکروکپسول	٧٤/٢٩±٣/١ c
شکلات حاوی ۳٪ میکروکپسول	٧٨/٩٥ ±١/٨ bc
شکلات حاوی ۵٪ میکروکپسول	٨١/٩٠±٢/٢ ab
شکلات حاوی ۷٪ میکروکپسول	٨٥/٨٩ ±٣/٠١ a

۳-۵-ویژگی‌های حسی

آنالیز حسی فرایندی برای شناسایی، اندازه گیری علمی، تجزیه و تحلیل و تفسیر ویژگی‌های محصول از طریق حواس پنجگانه انسان می‌باشد. تجزیه و تحلیل حسی همچنین یک روش اندازه گیری است که می تواند کمی یا کیفی باشد. کیفیت حسی محصولات غذایی نقش مهمی در انتخاب موادغذایی دارد، بنابراین آزمون هدونیک با هدف مشخص کردن سطح ترجیح و پذیرش یک محصول بکار می رود (۲۱). نتایج حاصل از ویژگی‌های حسی شکلات تلخ حاوی عصاره‌آزاد و میکروکپسوله چای‌سفید در جدول (۴) آورده شده است. با توجه به نتایج، عصاره چای‌سفید در دو حالت آزاد و میکروکپسوله شده، تاثیر معنی داری بر ویژگی های حسی ($P<۰/۰۵$) داشت. در ویژگی طعم و مزه نمونه شاهد امتیاز بالاتری نسبت به تیمارها نشان داد، اما در سایر ویژگی‌ها، نمونه حاوی یک درصد عصاره میکروکپسول امتیاز بالاتری داشت. پلی فنل‌ها دارای مزه گس و تلخی هستند که استفاده از آن ها را، به عنوان مکمل غذایی و یا در ترکیب با مواد غذایی با مشکل همراه می‌سازد (۱). ایلمی و همکاران (۲۰۱۷) با بررسی ویژگی‌های حسی شکلات شیری غنی‌شده با اسانس دارچین (درسطوح ۰/۵-۰/۱ درصد) گزراش دادند که امتیاز حسی تیمارها شامل رنگ، طعم و مزه، آروما و پذیرش کلی با افزایش غلظت اسانس دارچین کاهش یافت، در حالی که میزان رطوبت و نتایج آنالیز رنگ هیچ اختلاف معنی داری را برای فرمولاسیون‌ها نشان نداد ($p>۰/۰۵$)، بنابراین طبق نتایج آن ها شکلات شیری حاوی ۰/۱ درصد روغن اسانس دارچین بالاترین پذیرش‌کلی را از نظر خواص ارزیابی شده داشت (۲۱). در پژوهشی‌دیگر دویجاتموکو و همکاران (۲۰۱۶) اثر اسانس گیاه دارچین را بر ویژگی‌های حسی شکلات تلخ بررسی کرد و نشان داد که شکلات‌تیره با افزودن ۰/۲۵ درصد اسانس بیشترین پذیرش‌کلی را از نظر ارزیابان به خود اختصاص داد، در حالی که افزودن مقادیر بالاتر آن (۰/۷۵ درصد) آن منجر به کم‌ترین میزان پذیرش پانلیست ها شد (۱۶). همان‌طورکه از نتایج این تحقیقات پیداست افزودن اسانس گیاهان به شکلات در غلظت های پایین نتیجه مطلوب دارد ولی افزودن مقدار بیشتر آن منجر به کاهش بازارپسندی محصول می‌شود که با نتایج این تحقیق تقریبا سازگاری دارد. بنابراین برای کاهش اثر اسانس و عصاره گیاهان در غلظت‌های بالاتر بر طعم محصول و افزایش اثر آن بر ویژگی‌هایی مانند بافت، ذوب‌شدگی در دهان و رنگ ظاهری می‌توان از روش ریزپوشانی استفاده نمود. پارامتر پذیرش‌کلی به شدت تحت تأثیر پارامتر طعم قرار می گیرد و تحقیقات انجام شده نشان می دهد که بیشتر مصرف کنندگان به احتمال زیاد شکلات را با کمی مزه عصاره گیاهان انتخاب می کنند.

جدول ٤-نتایج مقایسه میانگین اثر عصاره آزاد و میکروکپسوله چای سفید بر ویژگی های حسی شکلات تلخ

ویژگی حسی	نوع عصاره	غلظت (درصد)				
		نمونه شاهد	۱	۳	۵	۷
بافت	عصاره آزاد	۳/۸^{bc}	۲/۵^{e}	٤^{b}	۳/۵^{c}	۳^{d}
	عصاره میکرو کپسوله	–	٤/٤^{a}	۳/۷^{bc}	۳/۵^{c}	۳/٤^{c}
طعم و مزه	عصاره آزاد	٤^{a}	۳/۳^{bc}	۳/۸^{ab}	۳/۵^{b}	۳^{c}
	عصاره میکرو کپسوله	–	۳/۷^{ab}	۳/۸^{ab}	۳/۲^{bc}	۳/۵^{b}
ذوب شدن در دهان	عصاره آزاد	٤^{b}	۳^{d}	٤^{b}	۳/۵^{c}	۳/۵^{c}
	عصاره میکرو کپسوله	–	٤/۵^{a}	٤^{b}	۳/۸^{bc}	۳/۷^{bc}
رنگ ظاهری	عصاره آزاد	٤^{b}	۳/۵^{c}	٤^{b}	٤^{b}	٤/۵^{a}
	عصاره میکرو کپسوله	–	٤/۵^{a}	۳/۹^{b}	٤^{b}	٤^{b}
پذیرش کلی	عصاره آزاد	٤^{b}	۳/۱^{d}	٤^{b}	۳/٦^{c}	۳/۵^{c}
	عصاره میکرو کپسوله	–	٤/۳^{a}	۳/۹^{b}	۳/٦۵^{c}	۳/٦۵^{c}

۳-٦-ویژگی های رنگی

نتایج حاصل از فاکتورهای رنگی نمونه‌های شکلات در جدول (۵) آورده شده است. کمترین میزان از شاخص L* مربوط به نمونه شاهد بود و مقدار روشنایی در نمونه حاوی ۳ و ۵ درصد عصاره میکروکپسول چای‌سفید از میزان بیشتری برخوردار بود. شاخص a* در نمونه حاوی ۵ درصد عصاره آزاد چای‌سفید کمترین میزان و در شکلات‌های حاوی ۱ و ۳ درصد عصاره میکروکپسول بیشترین میزان را نشان داد. شکلات حاوی ۵ و۷ درصد عصاره آزاد دارای کم‌ترین میزان از شاخص b* و شکلات حاوی ۷ درصد میکروکپسول دارای بیشترین میزان از این شاخص بود. نتایج این پژوهش با نتایج لونکاریویک و همکاران (۲۵) مطابقت داشت، به طوری‌که مشاهده شد، رنگ سطح شکلات های غنی شده با کپسول های چای سبز همزمان با مقدار انکپسول تغییر نمود، همه شکلات های غنی‌شده، کمی رنگ روشن تر بعد از ۱۲ ماه نگهداری نشان دادند.

جدول ۵- نتایج مقایسه میانگین اثر عصاره آزاد و میکروکپسوله چای سفید بر ویژگی های رنگی شکلات تلخ

نمونه شکلات	L*	a*	b*
شکلات شاهد	۵۲/۲۰±۰/٤۸^{ef}	۷٤/۱±۰۵/۰^{c}	۰۰/۱±۰/۰٤^{e}
شکلات حاوی ۱٪ عصاره چای سفید	۲۰/۸۷±۰/۲۳^{ed}	۱/٦۳±۰/۰۸^{cd}	۰/۸۹±۰/۰۳^{ef}
شکلات حاوی ۳٪ عصاره چای سفید	۲۲/۰٦± ۰/۲۵^{c}	٦۸/۱±۰/۱^{cd}	۷٤/۰±۰/۰۸ ^{ef}
شکلات حاوی ۵٪ عصاره چای سفید	۲۱/۷۸±۰/۱۸^{cd}	۱/٤۳±۰/۰۲^{d}	۰/۵۷±۰/۰۱^{f}
شکلات حاوی ۷٪ عصاره چای سفید	۱۹/٦۵±۰/۳۸^{f}	۱/۸۷±۰/۱۲^{bc}	۰/٦٤±۰/۱۱^{f}
شکلات حاوی ۱٪ میکروکپسول	۳۵/۲٤±۰/۳۱^{b}	۸۲/۲±۰/۱^{a}	۱۱/۳±۰/۱۸^{a}
شکلات حاوی ۳٪ میکروکپسول	۲٦/۰۸± ۰/۵٤^{a}	۲/۹۷±۰/۰۷^{a}	۳/۵٦±۰/۱٤^{b}
شکلات حاوی ۵٪ میکروکپسول	۲۵/٦۷±۰/۲۵^{a}	۲/۰۹±۰/۱۵^{b}	۳/۹۲±۰/۲۱^{c}
شکلات حاوی ۷٪ میکروکپسول	۲۵/۰۸±۰/٤۱^{ab}	۱/۸۵±۰/۱۱^{bc}	٤/۳۳±۰/۱۵^{d}

۳-۷-رطوبت و pH

مقادیر میانگین رطوبت و pH در جدول (۶) نشان داده شده است. همان‌طورکه مشاهده می‌شود، نمونه‌های شکلات حاوی عصاره آزاد و میکروکپسول چای سفید میزان رطوبت بیشتری از نمونه شاهد نشان دادند. بیشترین میزان رطوبت در نمونه شکلات حاوی ۵ و ۷ درصد عصاره میکروکپسول چای‌سفید و کمترین میزان رطوبت در نمونه شاهد مشاهده شد. در مورد ویژگی pH، اختلاف معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بین نمونه‌ها مشاهده شد، برخلاف رطوبت، میزان pH در نمونه های حاوی عصاره‌آزاد و میکروکپسول چای‌سفید روند نزولی داشت. بر اساس مطالعه جامز و همکاران (۲۱)، با افزایش میزان کاتچین میکروکپسول شده از ۰/۵ به ۲ درصد، میزان pH نوشیدنی انبه از ۵/۱۵ به ۵/۱۷ افزایش یافت اما در مورد عصاره آزاد چای سبز pH به طور معنی داری تا ۵/۰۹ کاهش یافت.

جدول ٦- نتایج مقایسه میانگین اثر عصاره آزاد و میکروکپسوله چای سفید بر ویژگی های فیزیکوشیمیایی شکلات تلخ

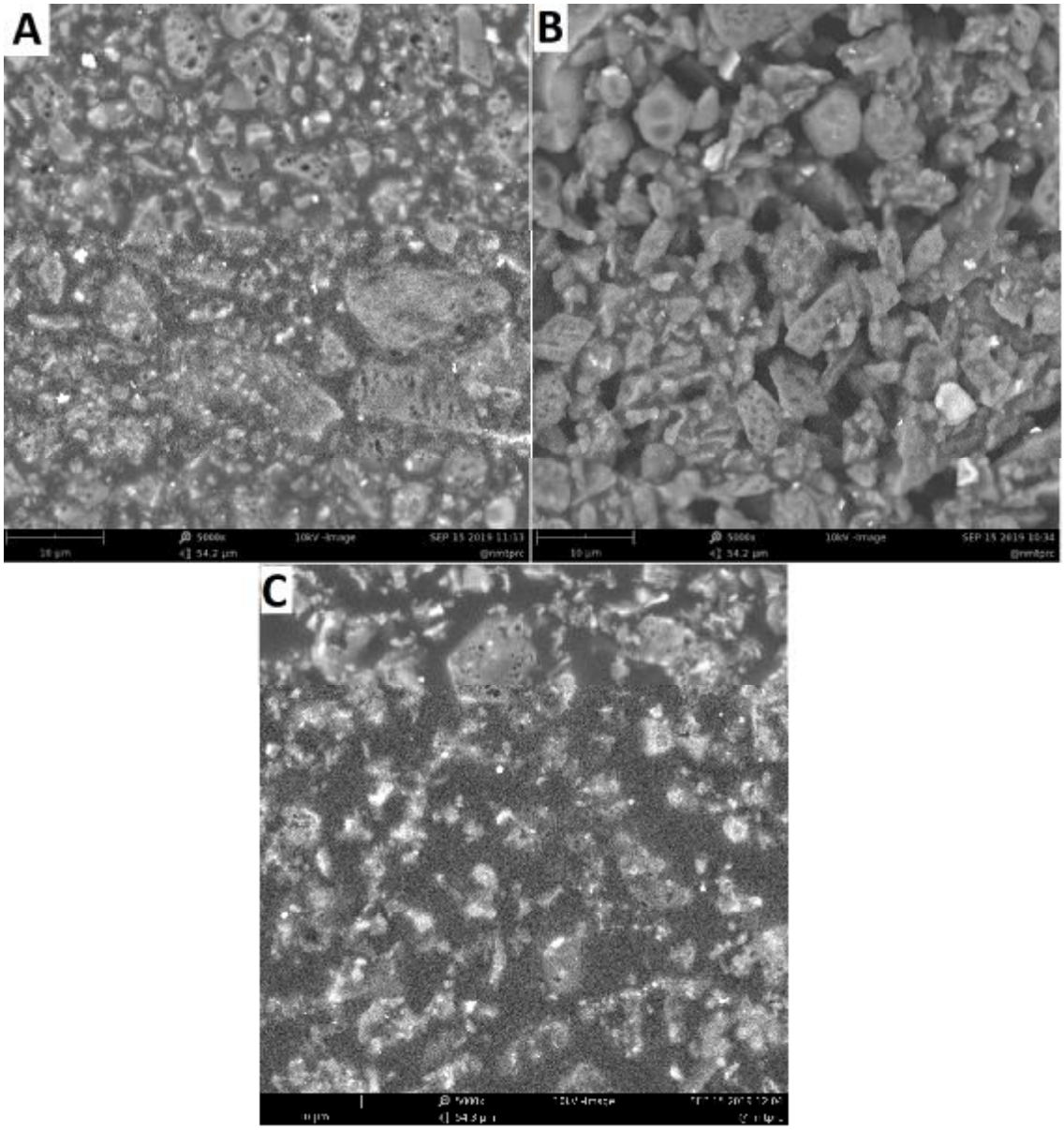
نمونه شکلات	رطوبت (٪)	pH	میزان سختی(N)
شکلات شاهد	۰/۰٦۷±۰/۰۰٦^{d}	۷/۵±۰/۰۸^{ab}	٦٤۱۰٤/۱±۵۸۰^{a}
شکلات حاوی ۱٪ عصاره چای سفید	۰/۲۱۱±۰/۰۵^{c}	۷/٤۱±۰/۰۵ ^{bc}	٤۹۳۸۷/۵±٤۲۳^{b}
شکلات حاوی ۳٪ عصاره چای سفید	۰/۲۳۵±۰/۰۳ ^{bc}	۷/۳۸±۰/۰۳^{bc}	٤۷۵۵۳/٤±۳۱۱^{c}
شکلات حاوی ۵٪ عصاره چای سفید	۰/۲٤۳±۰/۰۵^{bc}	۷/۳۳±۰/۰۱^{cd}	٤۵۸۹۲/۲±۸٤۲^{d}
شکلات حاوی ۷٪ عصاره چای سفید	۰/۲۵٤±۰/۰۸^{bc}	۷/۱۸±۰/۰٤^{d}	٤٤۹٦۸/۸±٦۹۰^{d}
شکلات حاوی ۱٪ میکروکپسول	۰/۲۸۳±۰/۰۱^{bc}	۷/٤٦±۰/۰٦^{abc}	۳۵۵۸٦/٦±۱۸۸^{e}
شکلات حاوی ۳٪ میکروکپسول	۰/۳۵٦±۰/۰٤^{ab}	۷/٤۹±۰/۰۷^{ab}	۳۱٤۵٦/۳±۳۲۲^{f}
شکلات حاوی ۵٪ میکروکپسول	۰/٤۱۸±۰/۰۲^{a}	۷/٤۱±۰/۰۲^{bc}	۲۵۸۷۹/۵±۷٤۵^{g}
شکلات حاوی ۷٪ میکروکپسول	۰/٤۳۷±۰/۰۵^{a}	۷/۵۸±۰/۰۸^{a}	۲۵۰٤۸/۱±٤۲۲^{g}

۳-۸-ویژگی بافتی

با توجه به جدول(۶) میزان سختی نمونه ها با افزایش میزان عصاره‌آزاد و میکروکپسول چای سفید کاهش یافت، بطوریکه نمونه شاهد بیشترین میزان سختی و نمونه حاوی ۵ و ۷ درصد عصاره میکروکپسول چای سفید کمترین میزان سختی را نشان داد. بر اساس مطالعه بلسکاک-کویتانویک و همکاران (۱۲)کمترین میزان سفتی در شکلات‌های تلخ حاوی عصاره برگ تمشک خشک شده به روش انجمادی مشاهده شد.

۳-۹-آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

از آزمون SEM برای مشاهده و ارزیابی مورفولوژی و ریزساختار امولسیون‌ها و پلیمرها استفاده می شود. تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی برای نمونه‌های شکلات در شکل(۲) آورده شده است. همان‌طورکه مشاهده می‌شود ذرات شکلات تلخ حاوی عصاره میکروکپسول چای‌سفید دارای اندازه کوچک‌تر و یکنواختی بیشتری نسبت به نمونه شاهد و نمونه حاوی عصاره‌آزاد چای‌سفید بوده است. کاهش اندازه ذرات باعث افزایش نسبت سطح به حجم می‌شود و بنابراین بر خصوصیات فیزیکی، بیولوژیکی و حسی سیستم تأثیر می‌گذارد، بنابراین اندازه کوچک‌تر ذرات یک مزیت محسوب می‌شود (۹). ترکیب دیواره و سرعت خشک شدن به ویژه در مراحل اولیه می‌توانند بر ویژگی‌های سطحی ریز ساختار مواد ریزپوشانی‌شده تاثیر گذارد (۲). زو و همکاران (۲۰۱۲) اظهار داشتند افزایش نسبت پکتین در مخلوط باعث افزایش‌اندازه ذرات امولسیون می‌شود که این امر به وجود پکتین غیر قابل جذب بر روی سطح ذرات روغن نسبت داده می شود، در نتیجه باعث تجمع و افزایش اندازه ذرات می شود (۳۳).



شکل ۲- تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی نمونه نمونه حاوی عصاره میکروکپسوله شده (A)، نمونه حاوی عصاره آزاد چای سفید (B) و شاهد (C)

٤-نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد افزودن عصاره چای‌سفید به شکلات سبب افزایش رطوبت و کاهش سفتی و pH در شکلات شد. بررسی پایداری ترکیبات زیست فعال عصاره در شکلات نشان داد خاصیت آنتی‌اکسیدانی و فنل‌کل عصاره چای سفید در حالت کپسوله شده بیشتر از حالت آزاد بود و نمونه حاوی ۷درصد عصاره میکروکپسوله شده ترکیب فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نشان داد. در بررسی ویژگی‌های حسی، نمونه حاوی یک درصد عصاره میکروکپسول امتیاز بالاتری نشان داد. مشاهدات تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی حاکی از آن بود که ذرات شکلات تلخ حاوی عصاره میکروکپسول چای‌سفید دارای اندازه کوچکتر و یکنواختی بیشتری بودند. بنابراین به طوکلی بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش و به‌ویژه

ارزیابی حسی صورت گرفته، نمونه شکلات حاوی ۱ درصد میکروکپسول عصاره بعنوان بهترین نمونه پیشنهاد می گردد.

۵-منابع

۱. اکبری، م.، صادقی ماهونک، ع.، سرابندی، خ.، قربانی، آ. ۱۳۹۷. ارزیابی ویژگی های فیزیکوشیمیایی و آنتی اکسیدانی عصاره چای سبز ریز پوشانی شده به روش هم تبلوری. *علوم و صنایع غذایی*، جلد ۱۵، شماره ۸۵، ۱۹۳-۱۷۹.

۲. بادفرسا، ح.، احمد زاده قویدل، ر.، شرایعی، پ. ۱۳۹۷. تاثیر فرایند ریزپوشانی با استفاده از خشک کن انجمادی بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و آنتی اکسیدانی اسانس گلپر. *نشریه نوآوری در علوم و فناوری غذایی*، دوره ۱۰، شماره ۲، ۱۳۶-۱۲۳.

۳. توکلی پور، ح.، مختاریان، م. نانوریزپوشانی روغن دانه انار با روش تعلیق مایع در مایع و رهایش روغن در محیط شبیه سازی شده معده. *مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران*، ۱۳۹۵. جلد ۱۱، شماره ۲، ۸۴-۷۵.

٤. حیدری، ف، وریدی، م.، وریدی، م. ۱۳۹۳. اثر درجه چرخ کردن بر ویژگی‌های رنگی گوشت گاو، شتر و شترمرغ. *مجله پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران*. جلد ۱۰، شماره ٤، ۲۹۸-۲۹۱.

۵. خیرخواهان، ن.، اهری، ح.، اسدی، غ. ۱۳۹٦. امکان سنجی تولید شکلات پروبیوتیک حاوی باکتری بیفیدوباکتریوم ریزپوشانی شده با آلژینات کلسیم و نشاسته مقاوم ذرت به روش امولسیون و بررسی میزان زنده مانی آن. *نشریه میکروبیولوژی دامپزشکی دامپزشکی*. دوره ۱۳، شماره ۲، ۷۳-۵۷.

٦. هاشمی‌زاده، ص.، قنبرزاده، ب.، همیشه کار، ح. ۱۳۹۵. بررسی اثرات آنتی اکسیدانی و ویژگی های فیزیکی حامل های لیپیدی نانو ساختار (NLC) حاوی عصاره آویشن شیرازی. *نشریه علمی فناوری های نوین غذایی*، دوره ٤، شماره ۲، ۱٤۹-۱٤۱.

7. Aji Muhammadm, D., Saputro, A., Rottiers, H. and Walle, D. 2018. Physicochemical properties and antioxidant activities of chocolates enriched with engineered cinnamon nanoparticles. *European Food Research and Technology*, 244 (7): 1185-1202.
8. AOAC. 2005. Official methods of analysis of AOAC international (18th ed.). Gaithersburg, MD: AOAC International.
9. Azizanbari, Ch., Ghanbarzadeh, B., Hamishehkar, H., Hosseini, M. 2013. Gellancaseinate nanocomplexes as a carrier of omega-3 fatty acids: study of particle size, rheological properties and encapsulation efficiency, *Electronic Journal of Food Processing and Preservation* 5(2); 19-42.
10. Ballesteros, L., Ramirez, M., Orrego, C., Teixeira, J and Mussatto, S. 2017. Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. *Food Chemistry*, 1-34.
11. Baracat, M.M., Nakagawa, A.M., Casagrande, R., Georgetti, S.R., Verri, W.A. and de Freitas, O. 2012. Preparation and characterization of microcapsules based on biodegradable polymers: Pectin/casein complex for controlled drug release systems. *AAPS PharmSciTech*, 13(2): 364-372.
12. Belščak-Cvitanović, A., Komes, D., Benković, M., Karlović, S., Hečimović, I., Ježek, D and Bauman, I. 2012. Innovative formulations of chocolates enriched with plant polyphenols from Rubus idaeus L. leaves and characterization of their physical, bioactive and sensory properties. *Food research international*, 48(2): 820-830.
13. Botelho, P.B., Galasso, M., Dias, V., Mandrioli, M., Lobato, L.P., Rodriguez-Estrada, M.T. and Castro,

I.A. 2014. Oxidative stability of functional phytosterol-enriched dark chocolate. *LWT-Food Science and Technology*, 55(2): 444-451.
14. Cantini, C., Salusti, P., Romi, M., Francini, A and Sebastini, L. 2017. Sensory profiling and consumer acceptability of new dark cocoa bars containing Tuscan autochthonous food products. *Food Science Nutrition*, 1-8.
15. Dean, L., Klevorn, C.M and Hess, B.J. 2016. Minimizing the Negative Flavor Attributes and Evaluating Consumer Acceptance of Chocolate Fortified with Peanut Skin Extracts. *Journal of Food Science*, 81 (11): 2824-2830.
16. Dwijatmoko, M. I, Praseptiangga, D., Muhammad, D. R. A. 2016. Effect of cinnamon essential oils addition in the sensory attributes of dark chocolate. *Nusantara bioscience*, 8 (2); 301-305.
17. Farzanmehr, H., Abbasi, S and Sahari, MA. 2008. Effect of sugar replacer on some physicochemical, rheological and sensory properties of milk chocolate. *Iranian Journal of Nutrition Science and Food Technology*, 3(3):65–82.
18. Godocikova, L., Ivanisova, E and Kacaniova, M. 2017. The Influence of Fortification of Dark Chocolate with Sea Buckthorn and Mulberry on the Content of Biologically Active Substances. *Advanced Research in Life Science*, 1 (1): 26-31.
19. Gultekin-Ozguven, M., Karadag, A., Duman, S., Ozkal, B and Ozçelik, B. 2016. Fortification of dark chocolate with spray dried black mulberry (Morus nigra) waste extract encapsulated in chitosan-coated liposomes and bioaccessability studies. *Food Chemistry*, 201: 205–212.
20. Hajlea, S., Srivastava, R. and Kumari, N. 2017. Development and nutritional analysis of stevia chocolates fortified with flaxseeds (*Linum usitatissimum*). *International Journal of Food Science and Nutrition*, 2 (6): 139-141.
21. Ilmi A., Praseptiangga D., Muhammad D.R.A. 2017. Sensory Attributes and Preliminary Characterization of Milk Chocolate Bar Enriched with Cinnamon Essential Oil. *Material. Science. Engineering*. 193 012031.
22. James, Z., Baharin, S., Badlishah, A and Abas, F. 2019. Microencapsulation of Green tea Extracts and its Effects on the Physico-Chemical and Functional Properties of Mango Drinks. *International Journal of Basic & Applied Sciences*, 16(2): 15-13.
23. Junior, T., Kuhn, F., Padilha, P.J.M and Vicente, L.R.M. 2018. Microencapsulation of essential thyme oil by spray drying and its antimicrobial evaluation against Vibrio alginolyticus and Vibrio parahaemolyticus. *Brazilian Journal of Biology*, 78 (2): 311-317.
24. Keogh, MK., Murray, CA. and O'Kennedy, BT. 2003. Effect of selected properties of ultrafiltered spray-dried milk powders on some properties of chocolate. *International Dairy Journal*, 13: 719–726.
25. Loncarevic, L., Pajin, B., Saponjac, V. and Perrovic, J. 2019. Physical, sensorial and bioactive characteristics of white chocolate with encapsulated green tea extract: Quality and shelf life of white chocolate with green tea encapsulate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99 (13): 5834-5841.
26. Matouskova, P., Marovam, I., Bokroua, J. and Benesova, P. 2016. Effect of Encapsulation on Antimicrobial Activity of Herbal Extracts with Lysozyme. *Food Technology and Biotechnology*, 54(3): 304-316.
27. Papoutsis, K., Golding, J., Vuong, Q., Pristijono, P., Stathopoulos, C., Scarlett, C and Bowyer, M. 2018. Encapsulation of Citrus By-Product Extracts by Spray-Drying and Freeze-Drying Using Combinations of Maltodextrin with Soybean Protein and Carrageenan. *Foods*, 7 (115): 1-12.
28. Rashidinejad, A., Brich, EJ and Everett, DW. 2016. A novel functional full-fat hard cheese containing liposomal nanoencapsulated green tea catechins: manufacture and recovery

following simulated digestion. *Food Function, 7*, 3283-3294.

29. Ruiz-Navajas, Y., Viuda-Martos, M., Sendra, E., Perez-Alvarez, J. A. and Fernández-López, J. 2013. In vitro antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with Thymus moroderi or Thymus piperella essential oils. *Journal of Food Control*, 30: 386–392.
30. Saral, S., Dokumacioglu, E., Mercantep, T., Atak, M., Cinar, S., Saral, O., Yildiz, L., Iskender, H and Tumkaya, L. 2019. The effect of white tea on serum TNF-α/NF-κB and immunehistochemical parameters in cisplatin-related renal dysfunction in female rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 112: 1-8.
31. Sim, S.Y., Ng, J.W., Ng, W.K., Forde, C.G. and Henry, C.J. 2016. Plant polyphenols to enhance the nutritional and sensory properties of chocolates. *Food chemistry*, 200: 46-54.
32. Todorovic, V., Redovnikovic, I., Todorovic, Z., Jankovic, G., Dodevska, M and Sobajic, S. 2015. Polyphenols, methylxanthines and antioxidant capacity of chocolates produced in Serbia. *Journal of Food Composition and Analysis*, 41: 137-143.
33. Zu, D., Wang, X., Jiang, J., Yuan, F., Gao Y. 2012. Impact of whey protein-beet pectin conjugation on the physicochemical stability of β-carotene emulsions, Food Hydrocolloids 28(2); 258-266.

(Original Research Paper)

Investigation the Characteristics of Dark Chocolate Containing White Tea Plant Extracts and Microcapsules

Somayeh Shahbazi[1], Zohreh Didar[2*], Mohsen Vazifeh Doost[2], Mostafa Shahidi Noghabi[3], Eisa Jahed[4]

1. Ph.D Student of Food Science and Technology, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, Iran.
3. Faculty Member, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran.
4. PhD Graduated of Food Science and Technology, Urmia University, Urmia, Iran.

Received: 10/04/2020 Accepted:25/07/2020

Abstract

In this study, the effects of free and microcapsules extract of white tea on physicochemical properties, particle size, Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy, Scanning Electron Microscopy (SEM), total phenolic compounds, antioxidant properties and sensory properties of dark chocolate were investigated. The white tea extract at 1, 3, 5, and 7% concentrations (based on pretreatment) was added as free and microcapsules form to the dark chocolate formulation. All experiments were measured in three replications using a factorial experiment in a completely randomized design and the results were analyzed using SPSS software. The findings indicated that the size of the microcapsules particles were in the range of 2.3-157.23 μm. The SEM examination revealed that the dark chocolate particles containing the white tea microencapsulated extract were smaller in size and more uniform compared to the control sample and sample containing free extract of white tea. Increasing the extract concentration from 1 to 7% in both free and microcapsules forms significantly increased the total phenolic compounds and antioxidant properties of the dark chocolate ($p< 0.05$). Regarding the results of evaluating the sensory characteristics, the samples containing 3% white tea extract and 1% white tea microencapsulated extract received the highest acceptance by the panelists. In terms of the color features, the samples containing microencapsulated extract had the highest brightness level (L*), redness level (a*), and yellowness level (b*). Increasing the amount of the free extract and white tea microcapsule increased the moisture content, however stiffness and pH showed a reverse trend.

Keywords: Dark Chocolate, White Tea Extract, Microencapsulation, Antioxidant Properties.

*Corresponding Author: Z_didar57@yahoo.com