

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه صنعتی شاهرود

دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد علوم مواد غذایی

ارزیابی خواص فیزیکی، رئولوژیکی و شیمیایی کرم کاکائو غنی شده با عصاره گانودرما لوسیدیوم

نگارنده: فروز نصیری فتیده

اساتید راهنما

دکتر احمد رجائی نجف آبادی

دکتر حمیدرضا صمدلوئی

مهر ۱۴۰۰

شماره: ۱۹۹۶
تاریخ: ۹۰۰/۹۱-۹
ویرایش:

باسمه تعالی
فرمهای ارزشیابی پایان نامه کارشناسی ارشد
مربوط به ورودی های ۹۴ به بعد

مدیریت تحصیلات تکمیلی

فرم شماره (۳) صورتجلسه نهایی دفاع از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد
با نام و یاد خداوند متعال، ارزیابی جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد خانم فروز نصیری فتیده با شماره دانشجویی ۹۷۱۶۵۲۴ رشته علوم و مهندسی صنایع غذایی گرایش فناوری مواد غذایی تحت عنوان **ارزیابی خواص فیزیکی، رئولوژیکی و شیمیایی کرم کاکائو غنی شده با عصاره گانودرما لوسیدایوم** که در تاریخ ۱۴۰۰/۰۷/۲۰ با حضور هیأت محترم داوران در دانشگاه صنعتی شاهرود برگزار شد به شرح ذیل اعلام می گردد:

الف) درجه عالی: نمره ۱۹-۲۰ ☐ (ب) درجه خیلی خوب: نمره ۱۸/۹۹ - ۱۸ ☒
ج) درجه خوب: نمره ۱۶-۱۷/۹۹ ☐ (د) درجه متوسط: نمره ۱۴-۱۵/۹۹ ☐
ه) کمتر از ۱۴ غیر قابل قبول و نیاز به دفاع مجدد دارد ☐
نوع تحقیق: نظری ☐ عملی ☒

عضو هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی	امضاء
۱- استاد راهنمای اول	دکتر احمد رجائی نجف آبادی	دانشیار	
۲- استاد راهنمای دوم	دکتر حمیدرضا صمدلوئی	استادیار	
۳- استاد مشاور	-	-	-
۴- استاد داور اول	دکتر کامبیز جهان بین	دانشیار	
۵- استاد داور دوم	دکتر حجت اله بدایق	استادیار	-
۶- نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر مسعود حکیمی تبار	دانشیار	

نام و نام خانوادگی رئیس دانشکده:

تاریخ و امضاء و مهر دانشکده



تقدیم اثر

این پایان نامه را ضمن تشکر و سپاس بیکران و در کمال افتخار و امتنان تقدیم می نمایم به
پدر و مادر عزیز و مهربانم
که در سختی‌ها و دشواری‌های زندگی همواره یآوری دلسوز و فداکار و پشتیبانی محکم و
مطمئن برایم بوده‌اند.

به همسرم
به پاس قدر دانی از قلبی آکنده از عشق و معرفت که محیطی سرشار از سلامت و امنیت و
آرامش و آسایش برای من فراهم آورده است.

تشکر و قدردانی

انجام این پروژه را مدیون همکاری عزیزان بسیاری می دانم، که بی شک بدون کمک ایشان، امکان میسر شدن این امر وجود نداشت و در اینجا لازم می دانم که صمیمانه از همه آنها تشکر کنم.

از استادان فرهیخته و گرامی جناب آقای دکتر صمدلوئی و به ویژه آقای دکتر رجایی بسیار سپاسگزارم چرا که بدون راهنمایی های ایشان تامین این پایان نامه بسیار مشکل می نمود. از اساتید گرانقدر آقایان دکتر کامبیز جهان بین و آقای دکتر حجت اله بداغی به عنوان هیات داوران، که قبول زحمت کنترل مطابقت این تحقیق را به عهده گرفتند و با ارائه راهنمایی های ارزشمند خود، مرا یاری نمودند بسیار سپاسگزارم.

از جناب آقای مهندس کاشفی، آقای مهندس نجفی، سرکار خانم مهندس یآوری و خانم مهندس قره داغی به دلیل یاری ها و راهنمایی های بی دریغ شان که بسیاری از سختی ها را برایم آسانتر نمودند، تشکر و قدردانی می کنم.

از آقای دکتر رئوفی و آقای کریمی، مدیران ارشد شرکت تولید و بازرگانی لپ لپ، به خاطر تمام همکاری های صمیمانه ای که جهت پیاده سازی این پروژه داشته اند نیز، بسیار سپاسگزارم.

تهدنام

اینجانب فروز نصیری فتیده دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته مهندسی کشاورزی گرایش فناوری مواد غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه ارزیابی خواص فیزیکی، رئولوژیکی و شیمیایی کرم کاکائو غنی شده با عصاره گانودرما لوسیدیوم تحت راهنمایی استادان ارجمند جناب آقای دکتر احمد رجائی نجف آبادی و آقای دکتر حمیدرضا صمدلوئی متعهد می شوم.

- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است .
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است .
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است .
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « **Shahrood University of Technology** » به چاپ خواهد رسید .
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه ، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است .
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری ، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است .

تاریخ

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج ، کتاب ، برنامه های رایانه ای ، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد . این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود . استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.

چکیده

کاکائو و فرآورده های کاکائو از محصولات پرطرفدار هستند که به دلیل ترکیبات ارزشمند غذایی همواره مورد استقبال مصرف کنندگان بوده است. هدف از این پژوهش، غنی سازی کرم کاکائو شیری با پودر عصاره قارچ گانودرما لوسیدیوم و تاثیر آن بر خواص فیزیکی، شیمیایی، ترکیبات فنلی، خواص رئولوژیکی، حسی و شاخص های رنگ کرم کاکائو بود. همچنین تغییرات اسیدیته و پراکسید نمونه های غنی شده طی بازه زمانی ۳۰ روزه و در مقایسه با نمونه کنترل (بدون عصاره) مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش انواع عصاره ها شامل: عصاره با استفاده از حلال آب (عصاره آبی)، عصاره با استفاده از حلال الکل (عصاره هیدروالکلی) و عصاره با استفاده از الکل و آب (عصاره پلی ساکاریدی) از قارچ گانودرما بدست آمد و از آنجائیکه مقادیر IC_{50} عصاره هیدروالکلی پائین تر و میزان محتوای فنل کل آن، بالاتر از دیگر تیمارها بود، از این عصاره، به منظور غنی سازی کرم کاکائو شیری، در سطوح ۱، ۲، ۳ و ۵٪ استفاده شد. نتایج حاصل از بررسی خواص رئولوژیکی نمونه های غنی شده، نشان دهنده رفتار روان شوندگی با برش در تمام نمونه ها بود. افزایش غلظت عصاره منجر به افزایش ویسکوزیته تمام شکلات های غنی سازی شده نسبت به نمونه کنترل شد. نتایج بررسی تاثیر عصاره بر شاخص های رنگ کرم کاکائو غنی شده نیز نشان داد که با افزایش درصد عصاره، مولفه های رنگی L^* و a^* و b^* و فاکتور کروما در نمونه های کرم کاکائو به طور معنی داری کاهش و مولفه هیو به طور معنی داری افزایش یافت. با افزایش درصد عصاره قارچ گانودرما، میزان رطوبت، قند و ترکیبات فنلی نمونه های کرم کاکائو به طور معنی داری افزایش یافت. مزه تلخ ناشی از حضور گانودریک اسید، با افزایش میزان غنی سازی، مطلوبیت از نظر طعم و پذیرش کلی نمونه ها را از دید ارزیابها کاهش داد و در آزمون ارزیابی حسی، در بین نمونه های غنی شده، بیش ترین میزان پذیرش (بیش از ۷۰٪) به نمونه های دارای سطوح پایین غنی سازی، ۱٪ و ۲٪ اختصاص یافت. میزان اسیدیته و پراکسید نمونه ها با افزایش میزان قارچ گانودرما به ترتیب، افزایش و کاهش یافت. همچنین با افزایش زمان نگهداری، میزان اسیدیته و پراکسید نمونه ها افزایش یافت. به طور کلی با توجه به نتایج بدست آمده از بررسی های رئولوژیک، حسی و سایر ویژگی های فیزیکی و شیمیایی، غنی سازی کرم کاکائو شیری با عصاره قارچ گانودرما تا سطح ۲٪، نسبت به سایر سطوح غنی سازی، باعث تولید شکلات فراسودمند با ترکیبات فنلی بالا، ویژگی های رئولوژیکی و حسی قابل قبول، در مقایسه با نمونه کرم کاکائو شاهد ارزیابی شد که می تواند مقدار مناسب جهت غنی سازی این محصول محسوب گردد.

کلمات کلیدی: غنی سازی، کرم کاکائو، گانودرما لوسیدیوم، خواص رئولوژیکی

فهرست مطالب

فصل اول کلیات	۱
۱-۱ غذاهای فراسودمند	۲
۱-۱-۱ پروبیوتیک و پری بیوتیک	۳
۱-۱-۲ رنگدانه‌ها	۴
۱-۱-۳ اسیدهای چرب غیر اشباع	۴
۱-۱-۴ فیبرهای گیاهی	۵
۱-۱-۵ مواد معدنی و ویتامین‌ها	۵
۱-۱-۶ آنتی اکسیدان‌ها	۵
۱-۱-۷ فیتو کمیکال‌ها	۶
۲-۱ کاکائو	۶
۲-۱-۱ نام علمی و ویژگی‌های جغرافیایی	۶
۲-۲-۱ فرآوری دانه‌های کاکائو	۷
۲-۲-۳ پلی فنل‌های کاکائو	۸
۲-۲-۴ تئوبرومین	۱۰
۲-۲-۵ مواد معدنی کاکائو	۱۰
۳-۱ کرم کاکائو	۱۱
۴-۱ مواد موثره گیاهان دارویی	۱۲
۴-۱-۱ آلکالوئیدها	۱۲
۴-۱-۲ گلیکوزیدها	۱۳
۴-۱-۳ اسانسها	۱۳
۴-۱-۴ مواد تلخ	۱۳
۴-۱-۵ فلاونها و فلاونوئیدها	۱۴
۴-۱-۶ موسیلاژها	۱۴
۴-۱-۷ ساپونینها	۱۴
۴-۱-۸ اسید سالیسیلیک (Salicylic Acid)	۱۴
۴-۱-۹ تاننها	۱۵

۱۵	۱-۴-۱۰ ویتامینها
۱۵	۱-۵-۵ گانودرما لوسیدیوم
۱۶	۱-۵-۱ انواع گانودرما لوسیدیوم
۱۷	۱-۵-۲ رده بندی علمی
۱۸	۱-۵-۳ اندام شناسی و پراکندگی جغرافیایی در جهان و ایران
۱۹	۱-۵-۴ ترکیبات شیمیایی قارچ گانودرما
۲۰	۱-۴-۵-۱ پلی ساکاریدها
۲۰	۱-۴-۵-۲ تری ترپنوئیدها
۲۱	۱-۴-۵-۳ پروتئینهای ایزوله شده از قارچ گانودرما
۲۱	۱-۵-۵-۵ خواص دارویی گانودرما لوسیدیوم
۲۲	۱-۵-۵-۱ محافظت از سلول و DNA
۲۲	۱-۵-۵-۲ محافظت از کلیه ها، قلب و ریه
۲۲	۱-۵-۵-۳ تقویت سیستم ایمنی و فعالیت ضد سرطانی
۲۲	۱-۵-۵-۴ سهولت گردش خون
۲۳	۱-۵-۵-۵ اثرات آنتی اکسیدانی
۲۳	۱-۵-۵-۶ اختلالات گوارشی
۲۳	۱-۵-۵-۷ عفونت های باکتریایی و ویروسی
۲۳	۱-۵-۵-۸ دیابت
۲۴	۱-۵-۵-۹ خواص ضد چاقی
۲۴	۱-۵-۵-۱۰ محافظت از سیستم عصبی
۲۵	۱-۵-۵-۱۱ محافظت از کبد
۲۵	۱-۵-۶ هشدارهای مصرف قارچ گانودرما
۲۶	۱-۵-۷ مقدار مصرف قارچ گانودرما
۲۷	فصل دوم مروری بر منابع پیشین
۴۳	فصل سوم مواد و روش ها
۴۴	۳-۱ محل انجام آزمایش
۴۴	۳-۲ مواد مورد استفاده
۴۵	۳-۳ تجهیزات مورد استفاده
۴۶	۳-۴ روش تهیه عصاره قارچ گانودرما لوسیدیوم
۵۰	۳-۵ آزمونهای عصاره قارچ گانودرما لوسیدیوم

۵۰	۱-۵-۳ اندازه‌گیری میزان کل ترکیبات فنلی
۵۱	۲-۵-۳ آزمون مهار رادیکال (DPPH) (2,2-diphenyl-picrylhydrazyl)
۵۲	۶-۳ انتخاب بهترین نوع عصاره
۵۲	۷-۳ روش تهیه نمونه های شکلات صبحانه
۵۴	۸-۳ آزمونهای کیفی و شیمیایی کرم کاکائو
۵۴	۱-۸-۳ اندازه گیری رطوبت
۵۴	۲-۸-۳ اندازه گیری خاکستر
۵۵	۳-۸-۳ اندازه‌گیری چربی
۵۵	۴-۸-۳ اندازه گیری اسیدیت
۵۶	۵-۸-۳ اندازه گیری پراکسید
۵۶	۶-۸-۳ اندازه گیری قند
۵۷	۷-۸-۳ اندازه گیری شاخص های رنگ
۵۸	۹-۳ اندازه گیری ویژگیهای رئولوژیکی
۵۸	۱-۹-۳ اندازه گیری ویسکوزیته
۵۹	۲-۹-۳ آزمون نوسانی
۵۹	۱۰-۳ ارزیابی ویژگیهای حسی
۶۱	۱۱-۳ روشهای تجزیه و تحلیل آماری
۶۳	فصل چهارم نتایج و بحث
۶۴	۱-۴ بررسی ویژگیهای شیمیایی عصاره‌های استخراجی
۶۶	۲-۴ بررسی ویژگیهای رئولوژیکی عصاره انتخابی
۷۱	۳-۴ بررسی خصوصیات کرم کاکائو تولید شده
۷۱	۱-۳-۴ رنگ سنجی
۷۲	۱-۱-۳-۴ مولفه رنگی L^*
۷۲	۲-۱-۳-۴ مولفه رنگی a^*
۷۳	۳-۱-۳-۴ مولفه رنگی b^*
۷۴	۴-۱-۳-۴ فاکتور کروما (شدت رنگ)
۷۵	۵-۱-۳-۴ فاکتور زاویه هیو
۷۶	۲-۳-۴ ترکیبات فنلی
۷۹	۳-۳-۴ رطوبت
۸۱	۴-۳-۴ خاکستر

۸۱	 چربی ۵-۳-۴
۸۳	 قند ۶-۳-۴
۸۴	 ارزیابی حسی ۷-۳-۴
۸۴	 شیرینی ۱-۷-۳-۴
۸۵	 بافت ۲-۷-۳-۴
۸۶	 ذوب شدن ۳-۷-۳-۴
۸۷	 رنگ ۴-۷-۳-۴
۸۸	 طعم ۵-۷-۳-۴
۸۸	 پذیرش کلی ۶-۷-۳-۴
۹۲	 خواص رئولوژیکی ۸-۳-۴
۹۷	 اسیدیت و پراکسید طی زمان نگهداری ۳۰ روز ۹-۳-۴
۱۰۲	 نتیجه گیری ۴-۴
۱۰۴	 مراجع:

فهرست جداول

- (جدول ۱-۳) مواد مورد استفاده در پژوهش ۴۴
- (جدول ۲-۳) وسایل و تجهیزات مورد استفاده در پژوهش ۴۵
- (جدول ۳-۳) فرمولاسیون کرم کاکائو (شکلات صبحانه) ۵۳
- (جدول ۴-۳) امتیاز بندی توصیف ویژگی های حسی شکلات ۶۰
- (جدول ۵-۳) فرم ارزشیابی حسی کرم کاکائو (شکلات صبحانه) ۶۱
- (جدول ۱-۴) نتایج محتوای فنل کل، فعالیت آنتی اکسیدانی، بازده استخراج انواع عصاره قارچ گانودرما ۶۴
- (جدول ۲-۴) آنالیز واریانس رنگ سنجی نمونه های کرم کاکائو غنی شده ۷۱
- (جدول ۳-۴) آنالیز واریانس ترکیبات فنلی، رطوبت، چربی، خاکستر و قند نمونه های کرم کاکائو غنی شده ۷۷
- (جدول ۴-۴) آنالیز واریانس ارزیابی حسی نمونه های کرم کاکائو غنی شده ۸۴
- (جدول ۵-۴) آنالیز واریانس ارزیابی اسیدیت و پراکسید طی مدت نگهداری نمونه های کرم کاکائو غنی شده ۹۷

فهرست اشکال

- (شکل ۱-۱) قارچ گانودرما لوسیدیوم ۱۶
- (شکل ۲-۱) قسمت‌های مختلف قارچ گانودرما ۱۸
- (شکل ۳-۱) قارچ گانودرما مورد استفاده در آزمایش ۴۶
- (شکل ۳-۲) پودر عصاره آبی قارچ گانودرما ۴۷
- (شکل ۳-۳) پودر عصاره هیدروالکلی قارچ گانودرما ۴۸
- (شکل ۳-۴) پودر عصاره پلی ساکاریدی قارچ گانودرما ۵۰
- (شکل ۳-۵) دستگاه بالمیل (آسیاب ساچمه ای) ۵۴
- (شکل ۳-۶) مخزن داخلی دستگاه بالمیل ۵۴
- (شکل ۳-۷) دستگاه رئومتر ۵۹
- (شکل ۴-۱) نسبت سرعت برشی به ویسکوزیته ۶۷
- (شکل ۴-۲) نسبت سرعت برشی به ویسکوزیته ۶۷
- (شکل ۴-۳) نسبت سرعت برشی به ویسکوزیته ۶۸
- (شکل ۴-۴) تأثیر نسبت‌های مختلف عصاره قارچ گانودرما روی (الف) ضریب ذخیره و (ب) ضریب افت به صورت تابعی از بسامد زاویه‌ای ۷۰
- (شکل ۴-۵) تأثیر نسبت‌های مختلف عصاره قارچ گانودرما روی رنگ نمونه های کرم کاکائو (الف): کرم کاکائو شاهد، (ب): کرم کاکائو با ۱٪ عصاره قارچ گانودرما، (ج): کرم کاکائو با ۲٪ عصاره قارچ گانودرما، (د): کرم کاکائو با ۵/۲٪ عصاره قارچ گانودرما، (و): کرم کاکائو با ۳٪ عصاره قارچ گانودرما .. ۷۱
- (شکل ۴-۷) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر فاکتور قرمزی کرم کاکائو ۷۳
- (شکل ۴-۸) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر فاکتور زردی کرم کاکائو ۷۴
- (شکل ۴-۹) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر فاکتور کروما کرم کاکائو ۷۴
- (شکل ۴-۱۰) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر فاکتور هیو کرم کاکائو ۷۵
- (شکل ۴-۱۱) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر ترکیبات فنلی کرم کاکائو ۷۷
- (شکل ۴-۱۲) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر رطوبت کرم کاکائو ۷۹
- (شکل ۴-۱۳) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر چربی کرم کاکائو غنی شده ۸۲
- (شکل ۴-۱۴) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر قند کرم کاکائو غنی شده ۸۴
- (شکل ۴-۱۵) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر شیرینی کرم کاکائو غنی شده ۸۵

- (شکل ۴-۱۶) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر بافت کرم کاکائو غنی شده ۸۶
- (شکل ۴-۱۷) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر ذوب شوندگی کرم کاکائو غنی شده ۸۷
- (شکل ۴-۱۸) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر رنگ کرم کاکائو غنی شده ۸۷
- (شکل ۴-۱۹) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر طعم کرم کاکائو غنی شده ۸۸
- (شکل ۴-۲۰) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر پذیرش کلی کرم کاکائو غنی شده ۸۹
- (شکل ۴-۲۱) تغییرات ویسکوزیته در برابر سرعت برشی تیمارهای مورد بررسی در تحقیق ۹۳
- (شکل ۴-۲۲) تأثیر نسبت‌های مختلف عصاره قارچ گانودرما روی ضریب ذخیره کرم کاکائو به صورت
تابعی از بسامد زاویه‌ای ۹۶
- (شکل ۴-۲۳) تأثیر نسبت‌های مختلف عصاره قارچ گانودرما روی ضریب افت کرم کاکائو به صورت
تابعی از بسامد زاویه‌ای ۹۶
- (شکل ۴-۲۴) مقایسه اسیدیته نمونه‌های کرم کاکائو غنی شده طی زمان نگهداری ۹۸
- (شکل ۴-۲۵) مقایسه پراکسید نمونه‌های کرم کاکائو غنی شده طی زمان نگهداری ۱۰۰

مقدمه

کاکائو از لوبیای کاکائو، قسمت مرکزی میوه درخت تئوبروما^۱ کاکائو بدست می آید که در مناطق جنگلی جنوب آمریکا و به طور عمده در برزیل و غرب آفریقا رشد می کند. غرب آفریقا در حال حاضر بیش از ۷۰٪ از کاکائو جهان را تولید می کند (ICCO^۲, 2008). کاکائو و مشتقات کاکائو، منبع غنی از ترکیبات پلی فنلی مانند: آنتوسیانین ها، فلاوان تری اول ها^۳، فلاون ها، فلاوانون ها و فلاونول ها است. تلخی شکلات نیز، که در ویژگی های ارگانولپتیک و ایجاد طعم خوش شکلات بسیار موثر است در درجه اول به دلیل وجود این ترکیبات است (Scapagnini and et al., 2014). کاکائو حاوی ترکیباتی شامل: متیل گزانتین، تئوبرومین و مقدار کمی کافئین بوده و منبع بسیار غنی از مواد معدنی مانند: پتاسیم، منیزیم، مس و آهن است. کاکائو حاوی ماده شیمیایی معروف فنیل اتیل آمین نیز می باشد (Crozier and et al., 2011).

برخی از مزایای رژیم غذایی مکمل با محصولات غنی از فلاوونوئید به ویژه شکلات تلخ یا تیره شامل مواردی از جمله: افزایش کلسترول HDL، افزایش حساسیت به انسولین، کاهش فشار خون، افزایش خصوصیات آنتی اکسیدانی و کاهش خطر ابتلا به بیماری قلبی و عروقی گزارش شده است (Katz and et al., 2011).

¹ . Theobroma

² . International Cocoa Organisation

³ . flavan-3 ols

انواع محصولات کاکائو شامل: انواع شکلات تیره، شیری و سفید، انواع پودر کاکائو، لیکور شکلات و انواع فرآورده‌های کاکائویی است.

کرم کاکائو (شکلات صبحانه)، یکی از فرآورده‌های کاکائویی است که متشکل از ذرات شکر یا سایر شیرین کننده‌های مجاز خوراکی، پودر کاکائو همراه با پودر شیر خشک یا بدون پودر شیر خشک و سایر مواد افزودنی مجاز قابل استفاده شامل: انواع خلال یا مغز آجیل‌های خوراکی، میوه خشک یا پودر میوه، پودر آب پنیر، امولسیفایرها، آنتی اکسیدان‌ها و براق کننده‌های مجاز خوراکی است که در یک فاز مداوم چربی شامل: روغن‌های گیاهی معادل کره کاکائو پراکنده شده‌اند که به دلیل وجود ذرات جامد پس از ذوب شدن، مانند یک مایع واقعی رفتار نمی‌کند و خصوصیات جریان غیر نیوتنی را نشان می‌دهد (Afoakwa and et al., 2007). تمام شکلات‌ها، حاوی مقدار برابری از فلاونوئیدها نبوده و شکلات‌های تلخ، سهم عمده‌ای از این ترکیبات را دارند (Vinson and et al., 1999).

مطالعات نشان داده است، اگر چه وجود قند و روغن در این محصول به طور کلی قابلیت دسترسی به پلی‌فنل‌های کاکائو را افزایش می‌دهد، ولی از طرف دیگر، کاربرد پروتئین شیر (شیرخشک)، احتمالاً آن را کاهش می‌دهد (Gallo and et al., 2013 ; Tomas-Barberan, 2013; Keogh and et al., 2007). لذا محققان همواره درصدد غنی سازی محصولاتی چون شکلات شیری یا شکلات سفید (شکلات بدون مواد جامد کاکائو) با ریزمغذی‌ها، جهت افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی و بهبود اثرات سلامت بخشی آنها در مقایسه با شکلات‌های تلخ هستند. بسیاری از محققان منابع عمده فلاونوئیدها را در میوه جات و سبزیجات و همچنین برخی از قارچ‌ها شناسایی کرده‌اند (Engler and et al., 2006).

قارچ گانودرما لوسیدیوم^۱، بدلیل دارا بودن خواص دارویی در کنار ارزش خوراکی مورد توجه اغلب کشورهای جهان قرار گرفته است و مردم بدلیل دارا بودن خواص تغذیه‌ای و فیزیولوژیک بالا، استقبال بی نظیری در استفاده از محصولات تهیه شده با قارچ گانودرما نشان داده اند. لذا با توجه به افزایش تقاضای بازار، کشت و پرورش مصنوعی این قارچ اکثراً بطور سنتی بر بسترهای جامد مانند چوب یا خاک اره با موفقیت توسعه یافته است. امروزه محصولات گانودرما به اشکال مختلف از جمله پودرها، چای، قهوه، نوشیدنی، شربت، خمیر دندان، صابون و لوسیون به عنوان مکمل‌های غذایی و دارویی موثر برای فواید سلامتی تجاری شده اند (Ahmad and et al., 2013 ; Shamaki and et al., 2012).

لذا با توجه به جایگاه مهم قارچ گانودرما و مصرف عمده ای که محصول کرم کاکائو در تمام گروه های سنی دارد و در راستای بهبود ویژگی‌های فیزیکی، رئولوژیکی، آنتی اکسیدانی و اینکه تاکنون هیچ مطالعه‌ای مبنی بر استفاده و بهره مندی از ترکیبات عصاره قارچ گانودرما در محصولات کاکائویی صورت نگرفته است، در این تحقیق، استفاده از عصاره قارچ گانودرما جهت غنی سازی محصول کرم کاکائو انتخاب شده است. از آنجایی که پذیرش مطلوب کرم کاکائو در درجه اول به طعم، شکل ظاهری و احساس دهانی بستگی دارد. لذا اثر عملیات غنی سازی بر روی ویژگی‌های رئولوژیکی در کنار سایر اثرات غنی سازی مانند: اندازه‌گیری میزان فعالیت مهار رادیکال آزاد (۲و۲دی فنیل، ۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH)) و ویژگی‌های حسی و همچنین فعالیت آنتی اکسیدان از طریق اندازه‌گیری اندیس اسیدی، عدد پراکسید در تواتر زمانی منظم مورد بررسی قرار گرفت.

¹ . Ganoderma lucidum

اهداف تحقیق

اهداف اصلی

- بررسی امکان غنی سازی کرم کاکائو توسط عصاره قارچ گانودرما لوسیدیوم و تولید کرم کاکائو شیری با ویژگی های فراسودمند.

اهداف فرعی

- دستیابی به نسبت مناسب افزودن عصاره قارچ گانودرما.
- تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر روی برخی ویژگی های رئولوژیکی، فیزیکی، شیمیایی و حسی کرم کاکائو تولیدی.
- مقایسه کرم کاکائو تولید شده با عصاره قارچ گانودرما با کرم کاکائو کنترل (شاهد) بدون عصاره.

فصل اول

کلیات

۱-۱ غذاهای فراسودمند

امروزه با پیشرفت روزافزون جهان و آگاهی بیشتر مردم، اکثر تولیدات مواد غذایی به سمت و سویی می رود که علاوه بر ارزش تغذیه ای، در سلامت شخص نیز نقش داشته باشد. غذاهای فراسودمند ازجمله پیشرفت های اخیر جامعه بشری است که در سلامت انسان نقش ویژه ای دارد. غذاهای فراسودمند یا عملگرا، شبیه غذاهای معمول روزانه است که هنگامی که مصرف می شود علاوه بر خواص تغذیه ای، مزایای سلامت بخشی شامل کاهش خطر ابتلا به بیماری های سخت و مزمن را از خود نشان می دهد. در سال ۱۹۸۰، برای اولین بار واژه غذاهای فراسودمند توسط محققان ژاپنی مطرح شد (Hardy., 2000).

در سال های اخیر با افزایش آگاهی مصرف کنندگان در خصوص ارتباط بین مصرف مواد غذایی و سلامتی، تقاضا برای غذاهایی که در کنار خصوصیات تغذیه ای، دارای اثرات سلامت بخش می باشند، رو به افزایش است. در سال ۲۰۰۰ میلادی چالتر و همکارانش، بازار جهانی غذاهای فراسودمند را حدود ۴۰-۱۰ میلیارد دلار در سال تخمین زدند. اولین غذای فراسودمند در سال ۲۰۰۰ میلادی تولید شده که شامل غنی سازی مواد غذایی با مواد معدنی مانند اسیدفولیک، کلسیم، روی و ویتامین هایی مانند C, E بود. السون و همکاران (۲۰۰۲)، برای پیشگیری از بیماری هایی مثل سرطان و جهت افزایش سلامتی، غنی سازی مواد غذایی توسط ریزمغذی هایی مانند: فیبرهای محلول، فیتواسترول ها و اسیدهای چرب امگا ۳ را مورد مطالعه قرار دادند.

مفید بودن غذاهای فراسودمند مربوط به اثرات سلامت بخش ترکیبات فعال زیستی آنها است

(Koletzko and et al., 1998).

غذاهای عملگرا یا فراسودمند، شامل انواع غذاها مانند: غذاهای تخمیری (ماست، کفیر)، میوه‌ها و سبزیجات تازه، پروبیوتیک‌ها به دلیل بهبود عملکرد سیستم ایمنی و پری بیوتیک‌ها، غذاهای حاوی چربی‌های گیاهی به دلیل کاهش میزان کلسترول خون و غذاهای خشک (فیبرها، چای، گیاهان و...) می‌شود (Devcich and et al., 2007). غذاهای عملگرا دسته بندی‌های مختلفی دارند که تفاوت در مزایای سلامت بخشی آنها می‌تواند یکی از اساس طبقه بندی آنها باشد. پرمصرف ترین ترکیبات موجود در این غذاها عبارتند از:

۱-۱-۱ پروبیوتیک و پری بیوتیک

پروبیوتیک‌ها در واقع یکسری ترکیبات میکروبی زنده هستند که به کار بستن آنها در غذا آثار مفیدی برای سلامت انسان در بردارد. این ترکیبات توانسته‌اند علایم عدم تحمل لاکتوز شیر را کاهش دهند. همچنین با تقویت سطح ایمنی بدن، مقاومت آن در برابر بیماری‌ها را بالا برده، سمیت و قدرت جهش زایی ترکیبات دفعی در لوله گوارشی و دستگاه ادراری را بکاهند. یکی از مهمترین آثار استفاده از این ترکیبات، کاهش قابل توجه کلسترول خون است به طوری که ۲ تا ۴ هفته مصرف روزانه محصولات تخمیری لبنی مثل ماست، اثر قابل توجهی خواهد داشت (FAO/WHO, 2001). پروبیوتیک‌ها و پری بیوتیک‌ها با اینکه از نظر واژه با هم شباهت دارند، ولی از نظر عملکردی با یکدیگر متفاوتند. پروبیوتیک‌ها باکتری‌های مفید هستند، در حالی که پری بیوتیک‌ها مواد غذایی هستند که پروبیوتیک‌ها از آنها تغذیه می‌کنند. پری بیوتیک‌ها از نوع کربوهیدرات (بیشتر فیبر) هستند که باکتری‌های مفید روده، عمدتاً لاکتوباسیل‌ها و بیفیدوباکترها این فیبرها را مصرف می‌کنند و با تقویت رشد و فعالیت خود، باعث افزایش سلامتی میزبان می‌شوند. آنها به طور مشخص میزان و راندمان جذب مواد معدنی به ویژه کلسیم و منیزیم از لوله گوارش را افزایش داده و خطر چاقی و نیز دیابت نوع ۲ را کم می‌کنند (Holscher., 2017). کفیر (چیزی شبیه دوغ خودمان) نوعی نوشیدنی

پروبیوتیکی بر پایه شیر تخمیر شده است و احتمالاً از لبنیات سنتی ساکنین کوه‌های قفقاز نشأت گرفته است. این نوشیدنی ماندگاری بالا، طعم و خواص منحصر به فردی دارد به طوری که اثرات متقابلی آن با جهش زایی، سرطان زایی و عفونت‌های ویروسی و قارچی به اثبات رسیده است. در کشور سوئد، نوعی آدامس ساخته شده است که در آن از نوعی پروبیوتیک استفاده می‌شود. این محصول با دارا بودن یک جمعیت سودمند باکتریایی در ترکیب خود در التهابات لثه و مشکلات معده مفید بوده و تنها پس از دو هفته مصرف این آدامس به میزان قابل توجهی از خونریزی‌های لثه کاسته می‌شود (Satine., 2008).

۱-۱-۲ رنگدانه‌ها

ترکیباتی هستند که میوه‌جات، سبزیجات و حتی گوشت رنگ خود را مدیون آنها هستند. بتاکاروتن و لیکوپن دو رنگدانه بسیار مهم بوده که اولی در هویج و ترب و دومی در گوجه فرنگی به وفور وجود دارد. از آنها در تولید برخی نوشیدنی‌ها و حتی شیر استفاده می‌شود حتی به منظور غنی سازی برخی تنقلات کودکان مثل: اسنک و چیپس نیز مصرف می‌شوند. این رنگدانه‌ها، آنتی اکسیدان‌های قوی هستند به طوری که اثر حفاظتی لیکوپن (رنگدانه قرمز گوجه فرنگی) بر سلامت پروستات به اثبات رسیده است (Devcich and et al., 2007).

۱-۱-۳ اسیدهای چرب غیر اشباع

این چربی‌ها عمدتاً ساختار چربی‌های گیاهی و جانوران آبی را تشکیل می‌دهند. دمای ذوب این نوع چربی‌ها پایین‌تر از نوع اشباع بوده و بیشتر با سلامت عروق و به خصوص عروق کرونری همراهی می‌کنند. مشهورترین این چربی‌ها از نوع امگا ۳ و امگا ۶ است. برخی چربی‌ها مثل روغن زیتون، روغن هسته انگور و روغن موجود در ماهی آزاد و تُن سرشار از این اسیدهای چرب‌اند. این ترکیبات در کل خطر بروز بیماری‌های قلبی عروقی را کاسته و مصرف همیشگی‌شان در سلامت عروق کرونری

نقش به سزایی داشته و در حفظ طراوت و قدرت ذهنی و بینایی نیز حائز اهمیت هستند (Hardy, 2000).

۱-۱-۴ فیبرهای گیاهی

در واقع کربوهیدراتهای دیواره سلولی گیاهان هستند. برخی فیبرها محلول و برخی دیگر نامحلولند. از فیبرهای محلول می‌توان به سبوس گندم و ذرت و پوست میوه‌جات اشاره کرد. این ترکیبات با تقویت سلامت دستگاه گوارش، از خطر رخداد برخی بدخیمی‌های این دستگاه از جمله سرطان‌های کولورکتال می‌کاهند. نوع نامحلول در حبوبات و مرکبات یافت می‌شوند که می‌توانند در کاهش بروز بیماری‌های قلبی عروقی و برخی سرطانها مؤثر باشند. امروزه از این مواد برای غنی سازی انواع نان، بیسکوئیت و ماکارونی استفاده می‌شود. در اروپا در ترکیب یک نوع ماست مخصوص، فیبرهای محلول جو به کار می‌رود، این دسته از فیبرهای گیاهی، بتاگلوکان نامیده می‌شوند. با مصرف این نوع ماست، سطح قندخون و میزان پاسخ بافت‌ها به انسولین تنظیم می‌شود (Menrad., 2003).

۱-۱-۵ مواد معدنی و ویتامین‌ها

کمبود مواد معدنی و ویتامین‌ها باعث ایجاد ناراحتی‌ها و بیماری‌های مختلفی در بدن می‌شوند. از مهمترین مواد معدنی افزودنی در صنایع غذایی می‌توان به کلسیم، منیزیم و پتاسیم و از ویتامین‌ها نیز، به ویتامین‌های گروه B و ویتامین C اشاره کرد. امروزه محصولات غذایی مانند: نوشیدنی‌ها، تخم مرغ، لبنیات کم‌چرب و غذاهای آماده به عنوان زمینه‌ای جهت کاربرد این املاح مورد استفاده قرار گرفته اند. این عوامل در حفظ عملکرد طبیعی سیستم عضلانی اسکلتی و پیشگیری از پوکی استخوان نقش موثری ایفا می‌کنند. (Menrad., 2003).

۱-۱-۶ آنتی اکسیدان‌ها

یکی از مهم‌ترین اثرات آنتی اکسیدان‌ها، کنترل رادیکال‌های آزاد موجود در بدن است که برای بافت‌ها و سلول‌های بدن بسیار مضر هستند. رادیکال‌های آزاد در واقع الکترون‌هایی هستند که جفت

خود را از دست داده‌اند، لذا با هر چیزی که برخورد کنند واکنش نشان می‌دهند و با سلول‌ها ترکیب می‌شوند تا الکترون از دست‌رفته خود را بازیابی کنند. این امر باعث می‌شود سلول‌های ترکیب‌شده قادر به عملکرد صحیح نباشند و به جویندگان الکترون تبدیل شوند. این سلول‌ها زنجیره‌ای از واکنش‌ها را در بدن ایجاد می‌کنند و موجب افزایش رادیکال‌های آزاد می‌شوند. این رادیکال‌های آزاد موجب آسیب به DNA، غشای سلولی و آنزیم‌ها می‌شوند. رادیکال‌های آزاد عامل بسیاری از مشکلات جسمانی، جهش‌های ژنتیکی، سرطان‌ها و دیابت هستند (Menrad., 2003).

۱-۱-۷ فیتو کمیکال‌ها^۱

عملکرد اصلی فیتو کمیکال‌ها ایجاد رنگ، بو و مزه خوش گیاهان است. محققان هزاران فیتو کمیکال مختلف را در غذاهای گیاهی مشخص کرده‌اند. خیلی از این مواد به نظر می‌رسد که در حفاظت از بدن در برابر بیماری‌ها نقش دارند. در حقیقت، خوردن مقدار زیادی از گیاهان حاوی فیتو کمیکال (شامل: سبزیجات، میوه‌ها، حبوبات، غلات کامل، مغزها و دانه‌ها) ممکن است به جلوگیری از سرطان و همچنین بیماری‌های دیگر مثل بیماری‌های قلبی کمک کند. از مهمترین فیتو کمیکال‌ها می‌توان بتاکاروتن، لیکوپن، آلیسین، آنتوسیانین، ایزوتیوسیانات، لوتئین را نام برد. (Siro and et al., 2008).

۱-۲-۲ کاکائو

۱-۲-۱ نام علمی و ویژگی‌های جغرافیایی

درخت کاکائو از گونه‌ی تئوبروما (Theobroma) و خاستگاه آن جنگل‌های مرطوب و استوایی است. سرزمین بومی آن مکزیک، آمریکای مرکزی و مناطق شمالی آمریکای جنوبی (جنگل‌های-آمازون) است. گیاه کاکائو بیشتر در زیر سایه رشد می‌کند و در برابر وزش باد باید آن را حفظ نمود. (Hoskin., 1994; Morgan., 1994; Wood., 1979)

^۱ . Phytochemicals

چهارگونه از درخت کاکائو، بیش از دیگر گونه ها کشت می شوند.

- سریول (*Criollo*): که در اصل متعلق به مکزیک و آمریکای مرکزی است. طعم ملایمی دارد و گونه‌ی مرغوب کاکائو محسوب می گردد.
- فوراسترو (*Forastero*): جهت تولید انبوه (۹۵٪) و بیشتر در آفریقا کشت می شود اما در آمریکای مرکزی و جنوبی نیز یافت می شود.
- ترینیتی تارو (*Trinitario*): از لحاظ جایگاه تقریباً بین دو گونه *Forastero* و *Criollo* قرار دارد.
- درخت *Nacional* در غرب سلسله جبال آند در آمریکای جنوبی کشت می شود (Hoskin.,1994)

هر غلاف کاکائو دارای پوسته زیر و چرم مانندی است که ۳ سانتی‌متر کلفتی دارد. داخل غلاف، گوشت صورتی و شیرین مزه‌ای وجود دارد که قابل خوردن نیست. داخل این گوشت، ۳۰ تا ۵۰ دانه، مانند دانه بادام وجود دارند. این دانه‌ها نرم و به رنگ سرخابی یا بنفش هستند. به محض رسیدن دانه‌ها، غلاف‌ها را با چاقو جدا می‌کنند. لوبیای کاکائو (دانه‌ی کاکائو)، ماده اولیه مورد استفاده در صنعت غذا در داخل این غلاف‌ها قرار دارد. دانه‌ها را جدا و در هوای آزاد خشک می‌کنند (Wood., 1979).

بیشترین کشورهای تولید کننده ی لوبیای کاکائو مالزی، ساحل عاج، نیجریه، غنا و اندونزی هستند. (Morgan., 1994 ; Othman et al., 2007).

۱-۲-۲ فرآوری دانه‌های کاکائو

دانه‌های کاکائو پس از برداشت روی هم انباشته می‌شوند. به دلیل بالا بودن دما و رطوبت، ابتدا مخمرها و سپس دیگر ریزسازواره ها شروع به فعالیت کرده و قند موجود در دانه، به اسید استیک و سایر اسیدهای آلی تبدیل میشود که این فرایند همراه با تولید گرما (بیش از ۵۰ درجه سانتی گراد)

می باشد. طی پروسه تخمیر، آنزیم پروتئاز و آنورتاز به ترتیب اسیدهای آمینه، پپتیدها و گلوکز، فروکتوز را تولید می کنند و آنزیم پلی فنل اکسیداز سبب تغییر رنگ و کاهش طعم تلخ می شود. ۶ - ۴ روز پس از تخمیر، دانه ها خشک شده و رطوبت آنها به کمتر از ۸ درصد می رسد. برای آنکه مغز دانه از پوستش جدا شود آن را در دمای بالای ۱۲۰ درجه سانتی گراد بو می دهند. برای این کار، دانه ها را روی یک سطح داغ می گذارند و پوست بیرونی دانه ها بر اثر حرارت از مغز آن جدا می شود. بعد از بو دادن دانه ها، آنها را درون الک میریزند تا دانه و پوست از هم جدا شود. رطوبت دانه های کاکائو طی این فرایند به کمتر از ۲ درصد کاهش می یابد. سپس دانه ها را آسیاب می کنند و آنها را به شکل خمیر در می آورند. بدین ترتیب، چربی موجود در کاکائو خارج شده که به آن، در اصطلاح "کره کاکائو" گفته می شود و به باقی مانده آن نیز "کیک کاکائو" می گویند.

کیک کاکائو کمی اسیدی است و برای اینکه خاصیت اسیدی آن را از بین ببرند و رنگ و عطر آن بهتر شود، لازم است که آن را طی فرایند قلیایی کردن، خنثی کنند. به کاکائویی که در طی این فرایند به دست می آید پودر کاکائوی آلكالایز می گویند. رنگ و بوی این پودر کاکائو به میزان قلیایی شدن آن بستگی دارد. در نهایت آن را از میان غلتک هایی عبور می دهند تا ریز شود. برای اینکه آنها کاملاً به صورت پودر در آیند می توان از آسیاب های چکشی استفاده کرد (Morgan., 1994; Venter et al., 2007).

۱-۲-۳ پلی فنل های کاکائو

کاکائو منبع غنی از ترکیبات پلی فنلی است (Scapagnini and et al., 2014). پلی فنل ها متابولیت های ثانویه گیاه هستند که در دفاع گیاهان در مقابل گیاه خواران پاتوژن ها و آسیب ماوراء بنفش نقش دارند، تاکنون بیش از ۴۰۰۰ فلاونوئید شناسایی شده اند. فلاونوئیدها به طور عمده توسط گیاهان سنتز می شوند. ساختار کلی فلاونوئیدها یک اسکلت ۱۵ کربنی است که شامل ۲ حلقه بنزن است که توسط یک زنجیره اتصال ۳ کربنه به هم متصل شده اند. بسته به ساختار شیمیایی، درجه اکسیداسیون و اشباع نشده زنجیره پیوند دهنده (C3)، فلاونوئیدها را می توان در گروه های

مختلف طبقه بندی کرد، مانند: آنتوسیانیدین ها، کالکون ها، فلاونول ها، فلاوانون ها، فلاوان-۳-ال ها، فلاوانونول ها، فلاون ها و ایزوفلاونوئیدها (Ellam, 2013).

فلاوانوئیدها، ترکیبات پلی فنلی طبیعی موجود دانه های کاکائو و حاوی حداکثر ۲۰٪ از آن هستند Flavanols، و به ویژه epicatechin رایج ترین فلاونوئیدها کاکائو هستند (Sokolov and et al., 2013). تلخی در درجه اول به دلیل وجود فلاوانول بالا است و آنها نمایانگر جنبه اساسی ویژگی های ارگانولپتیک طعم خوش شکلات هستند (Jalil and Ismail., 2008). سه گروه اصلی پلی فنل ها در لوبیا کاکائو، فلاوان تری اول یا کاتچین^۱، آنتوسیانین ها و پروآنتوسیانیدین ها با متوسط محتوای ۱۲۰-۱۸۰ گرم در کیلوگرم هستند (Misnawi and et al., 2004).

این فرضیه وجود دارد که ترکیبات فلاوانوئیدی از جمله اپیکاتچین موجود در مواد جامد فرآورده های کاکائو خطر مرگ ناشی از انسداد قلب، سرطان و سکنه مغزی را کاهش می دهد (Keli., 1996). از طرفی پودر کاکائو محتوای پلی فنل و فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی در مقایسه با انار و زغال اخته است (Crozier and et al., 2011). گزارش شده است که شکلات تیره از فنل بالاتری و خاصیت آنتی اکسیدان بالاتری در مقایسه با شراب قرمز و چای سیاه برخوردار است (Vinson and et al., 1999).

علاوه بر این در کاکائو، کاتچین و در مقادیر کمتری، گالوکاتچین و اپی گالوکاتچین نیز اندازه گیری شده اند. پروسیانیدین ها گروه اصلی مسئول فعالیت آنتی اکسیدانی کاکائو هستند (Ortega and et al., 2008).

بسیاری از محققان منابع فلاونوئیدها از جمله فلاوانول کوئرستین، کامپفرول و میریستین را در پیاز، سیب، چای و شراب قرمز، ایزوفلاون daidzein و genistein را در سویا، کاتچین و اپیکاتچین در چای، شکلات و شراب قرمز، فلاوانون نارنجین و هیسپریدین را در مرکبات، فلاون آپیزنین

^۱. catechins

در کرفس، لوتئین در فلفل قرمز و آنتوسیانین‌ها را در رنگدانه میوه‌های قرمز، مانند انواع توت‌ها و انگورهای قرمز شناسایی کرده‌اند (Engler., 2006).

۴-۲-۱ تثوبرومین

علاوه بر پلی‌فنل‌ها، کاکائو حاوی ترکیبات متیل اکسانتین، به طور عمده تثوبرومین و کافئین (در مقادیر کمتری نسبت به مقادیر تثو برومین) می‌باشد (Katz and et al., 2011). تثوبرومین فعالیت آنتی اکسیدانی دارد و ممکن است برای درمان اختلالات افسردگی مؤثر باشد (Scapagnini and et al., 2012).

۵-۲-۱ مواد معدنی کاکائو

لوبیای کاکائو منبع بسیار غنی از بسیاری از مواد معدنی اساسی از جمله منیزیم، مس، پتاسیم و آهن است. همانطور که توسط اشتاینبرگ و همکاران بررسی شده است، ماده معدنی غالب موجود در کاکائو منیزیم است که بسیاری از واکنش‌های بیولوژیکی، از جمله سنتز پروتئین و تولید انرژی را کاتالیز می‌کند. کاکائو و محصولات کاکائو سرشار از آهن هستند، اما از نظر پتاسیم غنی نیستند (Steinberg and et al., 2003).

اخیراً محصولات کاکائو و شکلات به دلیل خواص بالقوه غذایی، دارویی مورد توجه بسیاری از محققان و عموم مصرف کننده قرار گرفته است (Mellor and et al., 2010).

مطالعات متعدد نشان داد که مکمل رژیم غذایی با کاکائو و شکلات غنی از فلاونوئید ممکن است.

مزایایی شامل:

- اثر محافظتی بر لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL)
- کاهش خطر ابتلا به آترواسکلروز
- خواص آنتی‌اکسیدانی
- کاهش فشار خون از طریق القاء گشاد شدن عروق وابسته به نیتریک اکسید (NO) در مردان

➤ بهبود عملکرد اندوتلیال

➤ افزایش حساسیت به انسولین

➤ کاهش فعال شدن و عملکرد پلاکت‌ها

را به همراه داشته باشد. علاوه بر این، گزارش شده است که شکلات حاوی فنیل اتیل آمین و سروتونین است. (Ohene Afoakwa., 2008).

مصرف شکلات تیره (غنی از فلاوانول) باعث کاهش فشار خون و کاهش خطر ابتلا به بیماری قلبی و عروقی، افزایش کلسترول HDL بعد از ۳ هفته و همچنین باعث افزایش جریان خون، افزایش اکسیژن رسانی به مغز می‌شود (Mursu and et Grassi and et al., 2005; Buijsse and et al., 2006; Hamed and Gambert., 2008; al., 2004;).

۱-۳ کرم کاکائو

کرم کاکائو شیری بر پایه روغن‌های نباتی خوراکی، از انواع فرآورده‌های کاکائویی است. این محصول، متشکل از ذرات شکر و کاکائو همراه با پودر شیر خشک در یک فاز پیوسته چربی (روغن‌های گیاهی جایگزین کره کاکائو) است که به علت وجود ذرات جامد در حالت ذوب شده، مانند یک مایع واقعی رفتار نمی‌کند و خواص جریان غیر نیوتنی را نشان می‌دهد. لذا تعیین ویژگی‌های رئولوژیکی به ویژه گرانیروی محصول تولید شده جهت رسیدن به بافت مناسب بسیار مهم است (Afoakwa and et al., 2007; Chevalley., 1999).

مصرف شکلات، احتمالاً به دلیل پیچیدگی طبیعی طعم شیرین غنی آن، کربوهیدرات، چربی زیاد و خصوصیات حسی خوش طعم که از ترکیبات خاص آن حاصل می‌شود معمولاً با لذت همراه است و ممکن است به جذابیت آن به عنوان یک غذای "راحت" کمک کند (Wilson., 2010).

مصرف زیاد کربوهیدرات‌هایی مانند ساکارز با کنترل گلیسمی یا افزایش چاقی و پرکاری گلیسیریدی همراه است. این نگرانی مصرف، با کار روی شاخص گلیسمی، بیش از اثر قند بر قند

خون تغییر یافته است (Laville and et al., 2009). مفهوم شاخص گلیسمی منجر به این واقعیت شده است که غذاهایی مانند شکلات، هرچند که کربوهیدرات و به ویژه قندشان زیاد است، ولی ممکن است تأثیر کمتری بر قند خون نسبت به غذاهایی که قند کم دارند از جمله سیب زمینی و نان داشته باشد (Foster and et al., 2002).

وان و همکاران دریافتند که پس از مصرف روزانه ۲۲ گرم پودر کاکائو و ۱۶ گرم شکلات تیره به مدت چهار هفته، غلظت کلسترول HDL در مقایسه با رژیم غذایی کنترل (یک رژیم غذایی متوسط آمریکایی)، ۴٪ بیشتر بود (Wan and et al., 2001).

شکلات در هر ۱۰۰ گرم حاوی ۶۶۰ میلی گرم ماده شیمیایی معروف فنیل اتیل آمین است. فنیل اتیل آمین برای تحریک هیپوتالاموس، ایجاد احساسات لذت بخش و همچنین بر سطح دو انتقال دهنده عصبی ۵-هیدروکسی تری آمین (سروتونین) و اندورفین‌ها در مغز موثر است، از این رو باعث بهبود خلق و خوی می‌شود (Kenneth and Odyssey., 1996).

۴-۱ مواد موثره گیاهان دارویی

در گیاهان موادی وجود دارند که به مواد طبیعی معروف هستند و به دو گروه تقسیم می‌شوند: متابولیت‌های اولیه شامل: کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، اسید آمینه‌های مختلف، نوکلئوپروتئین‌ها، آنزیم‌ها که حیات موجودات زنده بستگی به حضور آنها دارد و متابولیت‌های ثانویه که به مواد موثره گیاهان دارویی معروف هستند و شامل: گلیکوزیدها، آلکالوئیدها، اسانس‌ها و سایر مواد (مواد تلخ، فلاون‌ها، موسیلاژها، ویتامین‌ها، فلاونوئیدها، تانن‌ها و اسید سالیسیلیک، لیپیدها) که عامل شیمیایی جریان‌های دفاعی حیاتی هستند (امید بیگی، ۱۳۷۶).

۱-۴-۱ آلکالوئیدها

اولین بار آلکالوئیدها بین سال‌های ۱۷۱۶ تا ۱۸۰۳ از پیکر گیاهان جدا شدند. آلکالوئیدها ترکیبات پیچیده ازت دار با اثرات فیزیولوژیک قوی بر سیستم عصبی هستند. به طور کلی آلکالوئیدها

را به سه دسته آکالوئیدهای حقیقی، پروتوآکالوئیدها، آکالوئیدهای کاذب تقسیم می کنند (صمصام شریعت، ۱۳۸۲ و فلوگ، ۱۳۷۹).

۱-۴-۲ گلیکوزیدها

گلیکوزیدها ترکیبات حاوی باقیمانده های کربوهیدرات و بدون کربوهیدرات در مولکول های مشابه هستند. ترکیبات بدون قند بعنوان آگلیکون و ترکیبات قندی گلیکون نامیده می شوند. اگر قسمت کربوهیدرات گلوکز باشد، ترکیب گلوکوزید را نتیجه می دهد (قاسمی دهکردی و طالب، ۱۳۸۰ و صمصام شریعت، ۱۳۸۲).

۱-۴-۳ اسانس ها

اسانس ها به روغن های فرار نیز معروف هستند و در سلول ها و قسمت های درونی و سطحی اندام های مختلف گیاهان مانند برگ ها، گل ها، میوه ها، جوانه ها و شاخه گیاهان وجود دارند. اسانس ها منشاء ترپنی دارند. وزن مخصوص اسانس ها غالباً از آب کمتر است و معمولاً از بو و مزه تندی برخوردارند (میر سعید قاضی و امام جمعه، ۱۳۹۱ و میرجلیلی، ۱۳۸۲).

۱-۴-۴ مواد تلخ

این مواد غالباً به لحاظ داشتن مزه تلخ معروف می باشند. مواد تلخ به طور قابل ملاحظه ای قابلیت تحریک غدد گوارشی در ترشح عصاره های گوارشی را دارند و بیشتر سبب ترشح شیریه های گوارشی موجود در معده می گردند. همچنین این مواد بر سیستم اعصاب چشایی موجود در دهان تاثیر می گذارند. مواد تلخ حرکات کیسه صفرا و حرکات دودی دستگاه گوارش (در معده و روده) را نیز تشدید می کنند. از مواد تلخ نه تنها به عنوان موادی اشتها آور می توان استفاده نمود بلکه سبب تسریع در هضم غذا و تسریع در فعالیتهای متابولیکی می گردند (میرجلیلی، ۱۳۸۲).

۱-۴-۵ فلاون‌ها و فلاونوئیدها

فلاون‌ها و فلاونوئیدها در بسیاری از گیاهان به صورت آزاد یا ترکیب با گلیکوزیدها وجود دارند. این ترکیبات از نظر شیمیایی متعلق به فنل‌ها هستند (دوازده امامی، ۱۳۸۲).

۱-۴-۶ موسیلاژها

موسیلاژها کربوهیدرات‌هایی با وزن مولکولی زیاد می‌باشند که در آب حل شده و پس از جذب آب، متورم و ضخیم می‌گردند و در گیاهانی مانند ریشه ختمی، گل ختمی، بارهنگ و ... وجود دارند. مهمترین خاصیت دارویی موسیلاژها، خاصیت ضد سوزش آنهاست (دوازده امامی، ۱۳۸۲).

۱-۴-۷ ساپونین‌ها

ساپونین‌ها یک گروه از گلیکوزیدهای گیاهی هستند که ویژگی عمومیشان شامل: ایجاد کف در محلول‌های آبی و شکستگی سلول‌های قرمز خون است. ساپونین‌ها مخاط را تحریک کرده و همراه با مصرف گیاهانی نظیر ریشه شیرین بیان و چوبک باعث افزایش ترشحات شش‌ها (خلط آور) می‌شوند (دوازده امامی، ۱۳۸۲).

۱-۴-۸ اسید سالیسیلیک (Salicylic Acid)

اسید سالیسیلیک یک بتاهیدروکسی اسید است که به عنوان یک ترکیب طبیعی در گیاهان تولید می‌شود. نمک و استرهای این ماده به عنوان سالیسیلات شناخته می‌شوند که در صنعت دارو کاربرد دارند.

برگ و پوست درخت بید حاوی مقادیر زیادی از این ماده است. این ماده کاربرد وسیعی در صنایع داروسازی دارد و برای درمان آکنه و پسوریازیس استفاده می‌شود (Bell and Charlwood., 1980).

۱-۴-۹ تانن‌ها

تانن‌ها ترکیباتی هستند که به صورت بیولوژیکی در گیاهان وجود دارند تا با طعم تلخ و گسی که ایجاد می‌کنند از آنها در مقابل آفات محافظت کنند و شامل: تانن‌های هیدرولیز شونده، تانن‌های متراکم و تانن‌های کاذب می‌باشند. تانن‌ها در برگ و چوب بلوط و بیشتر گیاهان تیره گل سرخ وجود دارند (Tripathi., 2003).

۱-۴-۱۰ ویتامین‌ها

در عادت‌های غذایی روزانه باید همواره مقادیر متناسبی از ویتامین‌ها وجود داشته باشد زیرا فعالیت‌های متابولیکی بدن انسان، بدون وجود آنها امکان‌پذیر نیست (Rechinger., 1982).

۱-۵ گانودرما لوسیدوم

قارچ گانودرما با نام علمی *Ganoderma Lucidum* یکی از کامل‌ترین مواد غذایی در جهان است که ارزش تغذیه‌ای و درمانی بسیاری دارد. *Ganoderma Lucidum* از شاخه قارچ‌های چتری است که در طبیعت در مناطق گرم و مرطوب و بر روی چوب‌های پوسیده و تنه درختان بویژه افرا، شاه بلوط و راش رشد می‌کند.

گانودرما با حدود ۸۰ گونه مختلف، گیاهی وحشی و خودرو در طبیعت است. گانودرما بافتی چوبی، براق و صیقلی دارد و کلمه لاتین *Lucidum* به معنی براق یا درخشان، در واقع اشاره به ظاهر قارچ دارد. قسمت هاگدان گیاه شبیه به کلیه انسان و به رنگ قهوه‌ای-قرمز است که در لبه‌های قارچ، کمرنگ‌تر می‌شود (شکل ۱-۱).



(شکل ۱-۱) قارچ گانودرما لوسیدیوم

در بازار جهانی، گانودرما در اشکال مختلف، مانند پودر، مکمل‌های غذایی و چای موجود است که از نقاط مختلف قارچ، از جمله میسلیم، اسپور، و اندام بارده تولید شده است (Ferreira et al., 2015).

۱-۵-۱ انواع گانودرما لوسیدیوم

تاکنون بیش از ۲۰۰۰ گونه گانودرما شناسایی شده است که تنها شش نوع از آنها جهت تعیین خواص دارویی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند و شامل ریشی قرمز، سیاه، آبی، سفید، زرد و بنفش می‌باشد از این بین، گانودرمای سیاه، سفید و قرمز مهمترین اثرات دارویی را از خود نشان داده‌اند. گانودرمای قرمز موثرترین گونه در بهبود سلامت با تاثیر بر سیستم ایمنی بدن و بسیاری از اعضای حیاتی است (Woo et al., 1999; Opton., 2000).

گانودرمای سیاه نسبت به گانودرمای قرمز به دلیل کمبود پلی ساکاریدها دارای ارزشی متوسط می‌باشد. گانودرمای سیاه دارای شکل ناهموار است که قطر آن از ده سانتیمتر تا ۱۵ سانتیمتر در نمونه‌های بالغ گزارش شده است.

ریشی سیاه و سفید به گانودرمای چای معروف هستند. گانودرمای بنفش بسیار نادر است. به صورت وحشی در چین رشد می‌کند و دارای رنگ بنفش قابل توجه در کلاه قارچ است.

گانودرمای قرمز دارای مقدار بسیار بالایی از پلی ساکاریدها می باشد. به علت شرایط سخت زیست محیطی و آسیب پذیری آن به واسطه حشرات و آلودگی به بیماری ها، تعداد نمونه های ریشی قرمز با کیفیت بالا در طبیعت بسیار نادر است. در نتیجه، دانشمندان و کشاورزان از حدود ۳۰ سال پیش، روش های مختلف کشت برای تولید انبوه گانودرما را مورد آزمایش قرار داده اند (Akihisa and et al., 2007).

۱-۵-۲ رده بندی علمی

گونه *Ganoderma lucidum* متعلق به شاخه قارچ های چتری (Basidiomycota) رده کلاه قارچان (garicommycetes) راسته تاقچه ای قارچ سانان (Polyporaceae) و تیره تابان پوستان (Ganodermataceae) می باشد. اسپروفور این قارچ ها حالت چرمی و یا حتی چوبی دارد و اکثراً بر روی شاخه ها و تنه درختان زنده یا مرده به صورت تاقچه ای رشد می کنند. اسپروفور این قارچ ها می تواند به صورت فعال تا چندین ماه باقی بماند (Ingold., 1996).

این قارچ اسامی مختلفی دارد و در مناطق مختلف جهان با نام خاصی شناخته می شود. گانودرما در طب سنتی ژاپن به ریشی (Reishi) یا مانتاکه (Mannentake) قارچ "۱۰۰۰۰ ساله"؛ در چین به لینگ زی (lingzhi) و در کره، به یونگ زهی معروف می باشد (Baby and et al., 2015). نام های دیگر این قارچ عبارتند از:

- ✓ *Boletus lucidus* Curtis, Fl. Lond. 2: Pl. 216, 1781
- ✓ *Polyporus lucidus* (Curtis) Fr., Syst. Mycol. 1: 353, 1821
- ✓ *Placodes lucidus* (Curtis) Quél., Enchir. Fung. P. 170, 1886

ویژگی های مورفولوژیکی، شامل: شکل اسپور و اندازه آن، رنگ زمینه و میکرو آناتومی پوسته بیشتر مبنای طبقه بندی گانودرما قرار گرفته اند. از روش های جدید برای شناسایی گونه ها نیز، می توان روش های بیوشیمیایی، ژنتیکی و مولکولی را نام برد.

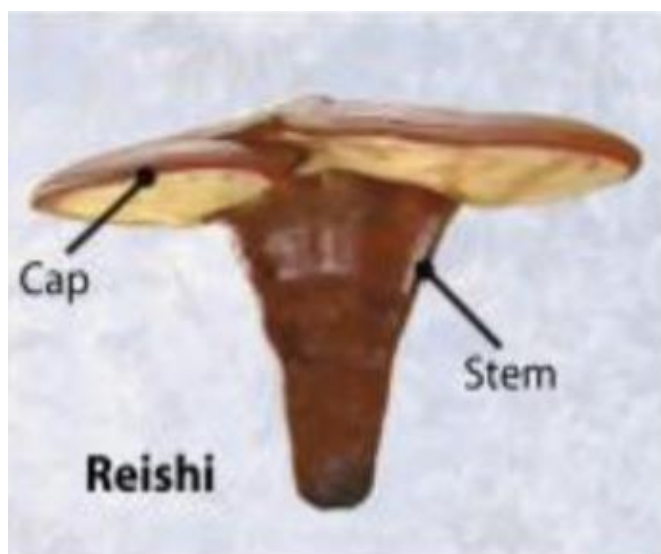
(Gottlieb., 1998 ; Moncalvo., 2005; Saltarelli et al., 2009; Ryvarden.,1994)

۱-۵-۳ اندام شناسی و پراکندگی جغرافیایی در جهان و ایران

در شکل ۲-۲ بدنه یک قارچ گانودرما که متشکل از دو بخش اصلی است نشان داده شده است:

➤ کلاهک به شکل کلیه یا لوبیایی شکل و نیم دایره

➤ پایه



(شکل ۱-۲) قسمت‌های مختلف قارچ گانودرما

قطر کلاهک می تواند از ۲ تا ۲۰ سانتی متر متغیر بوده و گاهی اوقات به ۰/۵ متر هم می رسد (Ingold.,1996). سطح کلاهک با خطوط موازی پوشیده شده است که در دوره های مختلف رشد می تواند به رنگ های زرد، آبی، بنفش، قرمز، نارنجی باشد. در لبه های بیرونی این قارچ نواری با رنگ سفید، زرد تا قهوه ای دیده می شود. بافت و گوشت قارچ به رنگ قرمز است و در مراحل ابتدایی رشد نرم و پس از بلوغ، سفت می شود.

گانودرما (ریشی قرمز) نزدیک به بلوغ، اسپور تولید می کند که در هوا منتشر می شود. از آنجا که پوسته بیرونی این اسپور سخت است، لذا جوانه زنی آن نیز مشکل بوده و این امر یکی از دلایل کم بودن پراکنش طبیعی گانودرما در طبیعت است (Hong and Jung, 2004).

قارچ دارویی گانودرما لوسیدیوم رویشگاه‌های بسیار وسیعی دارد و در مناطق مختلف دنیا مانند آمریکای شمالی، کانادا، فرانسه، تایوان، انگلیس، چین، کره و ژاپن گزارش شده است (2000 Stamets, al). با توجه به شرایط اقلیمی و وجود اقلیم‌های مختلف (معتدل مرطوب تا گرم و خشک)، پراکندگی گونه‌های قارچ گانودرما در ایران متفاوت است. بیشترین میزان گونه‌های گانودرما در نواحی معتدل و مرطوب حاشیه دریای خزر مانند: گرگان، تنکابن، گیلان، جنگل‌های مازندران و رامسر روی درختانی مانند خرما، بلوط، شمشاد جنگلی، ممرز و نارون گزارش شده است (Ershad, 1996).

۱-۵-۴ ترکیبات شیمیایی قارچ گانودرما

حدود ۹۰٪ وزن قارچ‌ها عمدتاً شامل آب بوده و ۱۰٪ وزن باقیمانده، حاوی ماده خشک هستند. ماده خشک شامل: ۶/۷۲٪ پروتئین، ۲/۵٪ چربی، ۸۸٪ کربوهیدرات کل، ۲/۴٪ خاکستر و برخی از ویتامین‌ها و مواد معدنی مانند پتاسیم، کلسیم، فسفر، منیزیم، سلنیوم، آهن، روی و مس می‌باشد (Mau et al, 2001; Borchers et al, 1999; Sanodiya et al, 2009; Pecić, 2015). همچنین میسلیم، اندام بارده و اسپور قارچ حاوی حدود ۴۰۰ ترکیب مختلف زیست فعال مانند تری ترپنوئیدها، پلی‌ساکاریدها، نوکلئوتیدها، استرول‌ها، گلیکوپروتئین، استروئیدها، پروتئین، پپتیدها، اسیدهای چرب و عناصر کمیاب می‌باشد (Coates et al, 2005). پروتئین قارچ غنی از اسیدهای آمینه ضروری لیزین و لوسین می‌باشد. مقدار کم چربی کل و نسبت بالای اسیدهای چرب اشباع نشده نسبت به کل اسیدهای چرب ارزش قابل توجه دارویی این قارچ را نشان می‌دهد (et al, 2009). (Buswell, 1996; Borchers et al, 1999; Sanodiya and

تری ترپن‌ها، پلی‌ساکاریدها و پپتیدوگلیکان سه ترکیب فعال فیزیولوژیکی گانودرما هستند (Ho et al, 2007; Zhu et al, 2007). مقدار و درصد این ترکیبات بدلیل تفاوت در روش‌های تولید و ژنوتیپ گیاه می‌تواند در محصولات طبیعی و تجاری بسیار متنوع باشد (and Buswell, 1996). (Chang

۱-۵-۴ پلی ساکاریدها

پلی ساکاریدهای موجود در قارچ گانودرما، هتروپلیمرهای متنوعی هستند که نقش مهمی در ایجاد ویژگی های دارویی منحصر به فرد آن، بویژه خواص ضد توموری، فعالیت های ضد التهابی، بهبود زخم معده، کاهش فشار خون، توانایی در تقویت سیستم ایمنی بدن و جلوگیری از تشکیل غیر طبیعی عروق خونی دارند. (Miyazaki and Nishijima, 1981; Hikino and et al, 1985; Tomoda and et al, 1986; Bao and et al, 2001; Wachtel and et al, 2011; Zhang and et al, 2004; Sun et al, 1999; Kim et al, 2012; Cheng et al, 2007; Boh et al, 2007).

تاکنون مقادیر قابل توجهی از انواع مختلف این ترکیبات (بیش از ۲۰۰ نوع) در میسلیم، اندام تولید مثلی و اسپور (هاگ) قارچ گانودرما شناسایی شده است. از جمله این ترکیبات می توان به بتا-دی گلوکانها (β -D Glucan)، آلفا-دی گلوکانها، (α -D Glucan)، آلفا-دی مانان، (α -D Manan)، و گلیکو پروتئین ها اشاره کرد (Huie and Di ., 2004). طی مطالعه انجام شده در سال ۲۰۱۷ هتروپلی ساکاریدهای گانودرما با وزن مولکولی $10^4 \times 3/7$ ، متشکل از مونوساکاریدهایی چون دی زایلوز، دی مانوز، دی گالاکتوز، دی گلوکز و اورنیک اسید و ال رامنوز و ال فروکتوز گزارش شده است که مونوساکاریدها با پیوندهای گلیکوزیدی (β - (1 $\rightarrow$ 3) و β - (1 $\rightarrow$ 4) در زنجیره اصلی و شاخه ها با پیوندهای گلیکوزیدی (β - (1 $\rightarrow$ 6) وصل می شوند گزارش داد (Wang and et al., 2017).

۱-۵-۴ تری ترپنوئیدها

گانودرما لوسیدیوم، غنی از تری ترپن ها می باشد که باعث طعم تلخ این گونه قارچ می گردند (Kim and et al., 1999). ترپن ها اسکلت هیدروکربنی داشته و متشکل از یک یا چند واحد ایزوپرن C_5 می باشند. تری ترپنوئیدها متعلق به گروه ترپنها بوده و اسکلت C_{30} دارند و وزن مولکولی آنها از ۴۰۰ تا ۶۰۰ کیلو دالتون متغیر می باشد (Mahato and Sen. , 1997 ; Zhu and et al., 2007).

گانودریک اسیدها گروهی از متابولیت های ثانویه و متعلق به گروه تری ترپنوئیدها می باشند (Zhu and et al, 2009). مطالعات نشان داده است که مقدار و ترکیب تری ترپن های موجود در قارچ،

با توجه به منطقه‌ای که قارچ در آن رشد می‌کند، متفاوت است (Min and et al., 1999). گانودریک اسیدها دارای ایزوفرم‌های مختلفی می‌باشند که تاکنون بیش از ۱۳۰ ایزوفرم گانودریک اسید از اندام بارده گانودرما، اسپورها و میسلیوم آن جداسازی و شناسایی شده است (Gil and et al., 2016). اکثر تری ترپنوئیدهای جداسازی شده از گانودرما دارای مشتقات گانودریک اسید C_{30} و لوسیدینیک اسید C_{27} هستند (Nishitoba et al., 1984; Budavari et al., 1989; Ma et al., 2002; Akihisa et al., 2007; Jiang et al., 2008; Chen et al., 2010).

۱-۵-۴ پروتئین‌های ایزوله شده از قارچ گانودرما

LingZhi-8 با وزن ۱۲ کیلو دالتون، با توانایی تقویت سیستم ایمنی، اولین و مهم‌ترین پروتئینی است که از میسلیوم قارچ گانودرما لوسیدیوم جدا شده است (Kino and et al., 1989). گانودرمین با وزن ۱۵ کیلو دالتون، پروتئین دیگری است که از اندام بارده گانودرما لوسیدیوم جدا شده و دارای خاصیت ضد قارچی در برابر قارچ‌هایی چون *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* می‌باشد (Wang and Ng., 2006).

۱-۵-۵ خواص دارویی گانودرما لوسیدیوم

در قرن حاضر بشر رویکردی دوباره به طبیعت داشته و در سراسر دنیا کمپین‌های حمایتی برای مصرف فرآورده‌های طبیعی و ارگانیک گیاهی دایر شده است. در این میان، انواع قارچ به عنوان ارزشمندترین ماده غذایی در طبیعت شناخته شده و تحقیقات گسترده‌ای بر روی خواص قارچ صورت گرفته است.

تأثیر مصرف اشکال مختلف قارچ گانودرما در مطالعات مختلف انسانی و جانوری مورد بررسی قرار گرفته است که نشان دهنده خواص دارویی قارچ گانودرما می‌باشد. برخی از خواص این قارچ در این مطالعات مشخص شده‌اند که شامل:

۱-۵-۵-۱ محافظت از سلول و DNA

گانودرما از DNA سلولی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو (رادیکال آزاد) که منجر به سرطان، پیری و بسیاری از بیماری‌های دیگر می‌شود محافظت می‌کند و با تولید آنزیم‌های خاص که وظیفه ترمیم DNA را دارند، به بازسازی DNA در بدن کمک می‌کند (Li et al., 2005; al., 2005; Wachtel et al., 2016; Kumari et al., 2016). گانودرما با افزایش سطح و فعالیت آنتی اکسیدان‌های طبیعی باعث کاهش میزان آسیب اکسیداسیون به غشاهای سلولی می‌شود (WachtelGalor et al., 2011).

۱-۵-۵-۲ محافظت از کلیه ها، قلب و ریه

مصرف گانودرما از آسیب رسیدن به قلب، ریه‌ها و سلول‌های کلیه توسط رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کند (Li et al., 2006; JianHo et al., 2016; Lasukova et al., 2015).

۱-۵-۵-۳ تقویت سیستم ایمنی و فعالیت ضد سرطانی

یکی از مهم ترین خواص قارچ گانودرما که استفاده از آن را به شدت برای افراد مهم کرده، تقویت دستگاه ایمنی بدن است. گلبول‌های سفید خون نقش مهمی در دستگاه ایمنی برعهده دارند. مطالعات نشان داده است که قارچ گانودرما به دلیل مقادیر بالای بتاگلوکان و آنتی اکسیدان ها (پلی ساکارید ها و تری ترپنوئید ها)، می تواند باعث تقویت سیستم ایمنی بدن شده و با افزایش تعداد گلبول های سفید خون، برای پیشگیری و درمان انواع سرطان مفید باشد. قارچ گانودرما با اثر بر روی ترشح هورمون تستوسترون باعث کاهش خطر ابتلا به سرطان پروستات می شود (Gill and et 2016, al.,).

۱-۵-۵-۴ سهولت گردش خون

محققان دریافته اند که اسید گانودریک موجود در عصاره قارچ گانودرما می تواند جریان خون را بهبود ببخشد و مصرف اکسیژن در عضلات قلب را کاهش دهد و همچنین باعث کاهش فشارخون

گردد. این اسید همچنین می تواند سطح کلسترول را پایین بیاورد و مانع از تجمع پلاکت ها شده و با کاهش احتمال گرفتگی رگ ها، ازسکته مغزی و حملات قلبی جلوگیری نماید (Wong and et al., 2003).

۱-۵-۵-۵ اثرات آنتی اکسیدانی

مصرف گیاهان غنی از آنتی اکسیدان در پیشگیری از سرطان و سایر بیماری های مزمن موثر است (Wachtel - Galor and et al., 2005). گانودرما حاوی مقدار زیادی آنتی اکسیدان شامل پلی ساکارید و ترکیبات فنلی است. آنتی اکسیدان ها مولکول هایی هستند که می توانند از آسیب سلول ها در برابر رادیکال های آزاد جلوگیری کنند که این امر به احتمال زیاد در کاهش خطر ابتلا به سرطان موثر است (Lee and et al., 2001; MauLin and Chen., 2002; Shi and et al., 2002; WachtelGalor and et al., 2005; Yuen and Gohel., 2005; Saltarelli and et al., 2009; Wu and Wang., 2009).

۱-۵-۵-۶ اختلالات گوارشی

مصرف گانودرما با کاهش اسید معده از بروز زخم های گوارشی جلوگیری می کند. مطالعات نشان داده است که مصرف گانودرما جهت تسکین علائم یبوست، اسهال و تنظیم حرکات روده در سندرم روده تحریک پذیر مناسب است (Wong and et al., 2003).

۱-۵-۵-۷ عفونت های باکتریایی و ویروسی

سیستم ایمنی بدن تحت شرایط عادی، قادر به شناسایی و نابود سازی عوامل بیماری زا مانند: باکتری ها، ویروس ها و میکروب های دیگر است، وقتی سیستم ایمنی بدن ضعیف شود، عوامل بیماریزا تکثیر شده و موجب بیماری می شوند. استفاده از گانودرما اثرات مهار کنندگی روی ویروس های مختلف را بدون بروز هیچ سمیت سلولی نشان داده است (Oh and et al., 1999; Eo and et al., 2000).

۱-۵-۵-۸ دیابت

دو نوع از دیابت، بدلیل عدم تولید انسولین و یا در صورت مقاومت به انسولین وجود دارد. درمان اصلی دیابت، تزریق انسولین یا تجویز داروهای خوراکی است که هر دو دارای عوارض جانبی می باشد. استفاده از گانودرما اثر کاهنده بر قند خون در حیوانات را نشان داده است (Seto and et al., 2009; Thyagarajan-Sahu and et al., 2011). سینگ و همکاران (۲۰۱۷)، در مطالعه ای فعالیت ضد دیابتی عصاره قارچ دارویی گانودرما را نشان دادند. گو و همکاران (۲۰۰۴) نیز، در یک مطالعه بالینی اثر ضد دیابتی پلی ساکاریدهای استخراج شده از گانودرما لوسیدیوم را در ۷۱ بیمار مبتلا به دیابت نوع ۱ تایید کردند. تحقیقات نشان داده است که گانودرما با مهار آنزیمی به نام آلفا گلوکوزیداز که باعث تبدیل نشاسته به قند می شود از افزایش سطح گلوکز خون پس از غذا جلوگیری می کند (Chen and et al., 2011).

۱-۵-۵-۹ خواص ضد چاقی

مطالعات نشان داده است که تری ترپن ها و پلی ساکاریدهای قارچ گانودرما با مهار تولید سلول های چربی جدید، مانع از ذخیره سازی بیش از حد چربی شده و در پیشگیری از افزایش چاقی موثر می باشند (Thyagarajan - Sahu et al., 2011). همچنین قارچ گانودرما با تعدیل بار میکروبی روده، به عنوان یک عامل پری بیوتیک در مقابله با چاقی موثر شناخته شده است (Wong and et al., 2003).

۱-۵-۵-۱۰ محافظت از سیستم عصبی

قارچ گانودرما قرن هاست که برای درمان استرس، اضطراب، بیماری های روحی و افسردگی ناشی از آن، مورد استفاده قرار گرفته است. مطالعات نشان داده است که قارچ گانودرما باعث تحریک تولید فاکتور رشد عصبی (Nerve Growth Factor) شده و در رشد نورون های سالم جدید در بدن

نقش دارد (Chen and et al., 2012). نتایج نشان داده است که ترکیبات آنتی اکسیدانی و ضد التهابی قوی گانودرما با تامین انرژی لازم برای کارکرد بهتر مغز و سلول‌های عصبی، جهت تقویت حافظه، یادگیری و همچنین پیشگیری از بیماری‌های عصبی مانند: آلزایمر، پارکینسون و سایر بیماری‌های عصبی از جمله سکته مغزی، صرع، آسیب نخاعی موثرند (Zhao and et al., 2018). هورنگ هوی و همکاران (۲۰۰۸) خواص ضد التهابی تری ترپنوئیدها و استروئیدهای جداسازی شده از گانودرما لوسیدیوم را نشان داده‌اند.

۱-۵-۵-۱۱ محافظت از کبد

مطالعات نشان داده است که ترکیبات گانودرما، بویژه تری ترپن‌های موجود در آن، در پاکسازی کبد و حذف آثار داروهای شیمیایی بر کبد بسیار موثر است و کبد را از آسیب فیزیکی و بیولوژیکی محافظت می‌کند. از طرفی آنتی اکسیدان‌های قارچ گانودرما باعث سم زدایی و پاک سازی کبد شده و خطر ابتلا به بیماری‌های کبد مانند هپاتیت B، کبد چرب را کاهش می‌دهد (Hirotsani et al., 1986; Liu and et al., 2017).

۱-۵-۶ هشدارهای مصرف قارچ گانودرما

اثرات مصرف طولانی مدت قارچ گانودرما لوسیدیوم بر بدن سمی نیست اما در برخی افراد استفاده خوراکی از عصاره آن به میزان ۹-۱/۵ گرم در روز، می‌تواند باعث افزایش حساسیت ارگانسیم به طور موقت شود و علائم خواب آلودگی، عطش، تکرر ادرار، تعریق غیر طبیعی و بثورات جلدی را به همراه داشته باشد (Soo., 1996).

بیمارانی که داروهای ضد انعقاد یا ضد پلاکت مصرف می‌کنند باید با احتیاط از *G. lucidum* که دارای خاصیت ضد انعقادی است استفاده کنند. همچنین بیماران زخم معده نیز به دلیل حساس بودن باید محتاط باشند (Bishop and et al., 2000).

هیچ گونه شواهد قابل اطمینانی مبنی بر بی خطر بودن مصرف این قارچ در بارداری و شیردهی وجود ندارد. بنابراین توصیه می شود از مصرف این قارچ اجتناب شود. مصرف مقدار زیاد این قارچ خطر خونریزی را در افراد با اختلالات خونریزی دهنده افزایش می دهد (Wasser., 2005).

دوزهای بالا از قارچ گانودرما ممکن است در بعضی افراد خطر خونریزی را در صورت استفاده قبل یا بعد از جراحی افزایش دهد. مصرف قارچ گانودرما همراه با داروهای ضد فشار خون می تواند فشار خون فرد را خیلی کاهش دهد (Zhuang and et al., 1993).

۱-۵-۷ مقدار مصرف قارچ گانودرما

میزان مصرف قارچ گانودرما با توجه به سن، جنس و سلامتی بدن مشخص می شود؛ مصرف قرص ۱ گرمی، ۳ بار در روز و شربت گانودرما ۴-۶ میلی لیتر به صورت روزانه توصیه شده است. در صورت استفاده از پودر خشک شده قارچ گانودرما، روزانه (۲۰۰-۳۰۰ گرم) از آنرا در آب داغ جوشانده و سه تا پنج بار به عنوان نوشیدنی مصرف شود (Zhuang and Li., 1993).

فصل دوم

مروری بر منابع پیشین

یگیت و همکاران (۲۰۲۱)، در پژوهشی، تأثیر مخمر غیرفعال را بر پایداری اکسیداتیو، رنگ و خواص حسی کرم کاکائو فندقی طی ۱۵۰ روز بررسی کردند. طبق نتایج بدست آمده، مقدار فعالیت مهار رادیکال آزاد (DPPH) کرم کاکائو فندقی، با افزودن مخمر تغییر نکرد. نمونه های حاوی مخمر به طور قابل توجهی از محتوای فنل کل بالاتری نسبت به نمونه شاهد برخوردار بودند. نتایج ارزیابی حسی نمونه های حاوی مخمر نیز در مقایسه با نمونه های کنترل قابل قبول بود.

تاراکسی و همکاران (۲۰۲۱)، کاربرد روغن زیتون در کرم کاکائو فندقی و اثرات آن بر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی و همچنین ارزیابی حسی نمونه ها را طی ذخیره سازی ۱۸۰ روزه مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهش نشان داد، نوع روغن مصرفی و زمان نگهداری کرم کاکائو فندقی، به طور معنی داری بر میزان رطوبت، pH، اسیدیته قابل تیتراسیون، اسید چرب آزاد، مقدار پراکسید و بافت تأثیر گذاشت. این جایگزینی بر اندازه گیری شاخص های رنگ و قابلیت پخش پذیری کرم کاکائو فندقی تأثیر معنی داری نداشت. در حالی که در طول زمان نگهداری، تأثیر معنی داری در ارزیابی حسی نمونه ها مشاهده شد. نوع روغن مصرفی کرم کاکائو فندقی به طور قابل توجهی بر غلظت اسید کاپریک، اسید میریستیک، اسید پالمیتیک، اسید پالمیتولئیک، اسید لینولئیک تأثیر گذاشت.

ارمیس و همکاران (۲۰۲۱)، تأثیر افزودن پودر چغندر قند که با روش های مختلف خشک کردن بدست آمده بود را، بر ویژگی های حسی محصول کرم کاکائو فندقی مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد، پودر خشک شده به روش خشک کن پاششی، دارای ذرات کروی با سطوح صاف بود در حالی که، شکل ذرات پودرهای به دست آمده از روش های دیگر، ویژگی سطحی نامنظم را نشان دادند. پودر خشک شده چغندر قند به روش انجمادی، منجر به تخلخل بالاتر، افزایش ترکیبات فنلی و قابلیت جریان پذیری بهتر کرم کاکائو شد. پودر خشک شده به روش پاششی و خشک شده توسط فر، تیره ترین رنگ و کمترین امتیاز را در پذیرش کلی محصول نشان داد. پودرهای خشک شده انجمادی بدلیل وجود فیبر غذایی بالاتر ($2/42 \pm 12/45$ گرم در ۱۰۰ گرم پودر) و ترکیبات فنلی بیشتر و

همچنین، شاخص های رنگی بهتر، از نظر ویژگی های عملکردی می توانند انتخاب بهتری جهت غنی سازی محصول کرم کاکائو فندقی باشند.

محمد و همکاران (۲۰۲۱)، ترکیب شیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره دارچین را بررسی و کاربرد آن در تولید شکلات سفید را مورد ارزیابی قرار دادند. عصاره دارچین قبل از افزودن به شکلات، در نانوذرات بارگیری شد. نتایج آنالیز ترکیبات شیمیایی عصاره دارچین نشان داد که در هر گرم عصاره خشک، میزان فنل کل تا ۳۱۰ میلی گرم EE و فعالیت آنتی اکسیدانی تا ۲۶۰ میلی گرم TAE بود. عصاره دارچین حاوی کاتچین، اپیکاتچین، پروسیانیدین B2، کوئرسیتین، ۳،۴-دی هیدروکسی بنزالدهید، اسید سینامیک بود. عصاره دارچین محصور شده، محتوای فنلی شکلات سفید را از ۴۷/۶ به ۱۰۶۰/۶ میکروگرم g / EE افزایش داد.

راد و همکاران در سال (۲۰۲۱)، کرم کاکائوی سین بیوتیک را از طریق میکروکپسولاسیون بیفیدوباکتریوم لاکتیس، به عنوان یک باکتری پروبیوتیک (برای افزایش بقای پروبیوتیک)، به همراه ۲ و ۳٪ اینولین (به عنوان یک عامل پری بیوتیک) تولید کردند و خصوصیات فیزیکوشیمیایی، رئولوژیکی و حسی محصول تولید شده را به مدت ۶ هفته مورد بررسی قرار دادند. در نمونه های کرم کاکائو در طی نگهداری، اسیدیته و گرانروی به ترتیب افزایش و کاهش یافت. کاهش باکتری پروبیوتیک طی دوره نگهداری در نمونه های دارای ۲ و ۳ درصد اینولین، معنی دار نبود. بعد از ۴۲ روز ذخیره سازی در ۴ درجه سانتی گراد، تفاوت معنی داری بین خواص حسی نمونه ها از جمله طعم، بافت و پذیرش کلی وجود نداشت. نتایج نشان داد که تولید کرم کاکائو پروبیوتیک از طریق میکروکپسولاسیون بیفیدوباکتریوم لاکتیس و اینولین امکان پذیر است.

برسیک و همکاران (۲۰۲۱)، در یک مقاله مروری، تحقیقات انجام شده جهت تأثیر افزودن انواع فیبر و پلی فنل بر خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و حسی شکلات را بررسی کردند. نتایج نشان داد، فیبرهایی که بیشترین استفاده را در تولید شکلات داشتند شامل: اینولین، پلی دکستروز و

مالتودکسترین بودند. پلی فنل ها عمدتاً از طریق عصاره های مختلف مواد گیاهی بدست آمده و به شکلات اضافه شدند. افزودن فیبر و پلی فنل ها به شکلات، باعث افزایش میزان ویسکوزیته شد. سختی شکلات های تولید شده در هر دو این موارد غنی سازی، به رطوبت ماده افزوده شده بستگی داشت، در حالیکه توزیع اندازه ذرات در اکثر موارد، در نمونه های غنی شده با فیبر و پلی فنل افزایش یافته بود، شکلات هایی با فیبر افزوده، دارای رنگ تیره تر و فعالیت آبی کمتری بودند. پذیرش حسی این نوع شکلات ها در اکثر مطالعات انجام شده، خوب بود.

آکدنیز و همکاران در سال (۲۰۲۱)، استفاده از پودر خرنوب را به عنوان جایگزین پودر کاکائو، در مقادیر (۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰٪) در فرمولاسیون شکلات شیری و شکلات تیره مورد بررسی قرار دادند. تجزیه و تحلیل فیزیکی-شیمیایی و پذیرش حسی نمونه های شکلات انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد که فرمولاسیون شکلات با مقادیر کمتری از پودر خرنوب، از نظر پارامترهای رنگ، اندازه ذرات و سختی، کیفیت بالاتری را ارائه می دهد. افزودن پودر خرنوب، باعث کاهش تنش عملکرد در شکلات های تیره شد. همچنین فرمولاسیون شکلات تلخ حاوی مقادیر بالای پودر خرنوب، مقادیر ویسکوزیته کاسون مشابهی با نمونه شاهد داشت. شکلات شیری حاوی ۴۰٪ پودر خرنوب، تفاوت معنی داری از نظر خصوصیات حسی نسبت به نمونه شاهد نشان نداد. با این حال، پذیرش حسی نمونه های شکلات تلخ در تمام ویژگیها، مشابه نمونه شاهد بود. استفاده از پودر خرنوب برای جایگزینی پودر کاکائو در تولید شکلات به منظور بهبود ارزش غذایی (فیبر بالاتر و کالری کمتر) با ویژگی های حسی قابل قبول امکان پذیر ارزیابی شد.

رجا و همکاران (۲۰۲۱)، تأثیر غنی سازی شکلات با سنتلا آسیاتیکا با نام علمی Centella asiatica و گواوا یا امروود با نام علمی Psidium guajava و بامیه با نام علمی Abelmoschus esculentus، را در محتوای ترکیبات فعال بیولوژیکی، خصوصیات حسی، آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی و ماندگاری محصول مورد بررسی قرار دادند. نتایج تجزیه و تحلیل حاصل از غنی سازی، افزایش عناصر حیاتی مانند: کلسیم، سدیم و آهن را در محصول در پی داشت. این محصول دارای فعالیت ضد

میکروبی علیه باکتری های عامل پوسیدگی دندان (استرپتوکوک موتانس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس) بود. ماندگاری محصول، حدود سی روز تعیین شد.

سیک و همکاران (۲۰۲۱)، امکان غنی سازی شکلات تلخ با عصاره بادرنبویه خشک شده با روش انجمادی و همچنین کاربرد روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا- فاز معکوس (RP-HPLC)، جهت تعیین میزان رزمارینیک اسید RA، در شکلات غنی شده را مورد بررسی قرار دادند.

توسط مویگرادیان و همکاران (۲۰۲۱)، خواص آنتی اکسیدانی شکلات شیری خانگی غنی شده با میوه خشک مانند: آلو خشک، زردآلو و انجیر مورد بررسی قرار گرفت. قطعات میوه خشک در سطوح (۱۰٪ و ۱۵٪ وزن کل) به شکلات اضافه شد. ترکیبات پلی فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدانی کل اندازه گیری شد. آلو خشک، دارای بالاترین میزان ترکیبات فنل و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل و بعد از آن زردآلو و انجیر بود.

آکان و همکاران (۲۰۲۱)، از تفاله خشک انگور، به جای مقادیر مختلف قند، پودر شیر بدون چربی و پودر آب پنیر، در فرمولاسیون شکلات پخش پذیر استفاده کردند و تأثیر آن بر خصوصیات بافتی، ویژگی های رئولوژیکی و حسی محصول را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این مطالعه، امکان استفاده از تفاله خشک انگور، به عنوان یک ماده سالم، کم هزینه و جایگزین بخشی از شکر، پودر شیر و یا پودر آب پنیر، در فرمولاسیون شکلات را تایید کرد.

بایکار و همکاران (۲۰۲۱)، اثرات افزودن پودر چغندر به عنوان رنگ دهنده، در محدوده غلظتی ۰ تا ۰/۰۱ گرم در ۱۰۰ گرم را، بر پایداری رنگ و کیفیت محصول شکلات، شامل شکلات مرکب سفید و شکلات پخش پذیر، در طی یک دوره ۱۲ هفته بررسی و امکان استفاده از این محصولات را به عنوان عوامل رساننده بتالین، ترکیبات فعال و مواد رنگی ارزیابی کردند. نتایج نشان داد با افزایش مقدار پودر چغندر، اندازه ذرات، مقادیر سختی و ویسکوزیته پلاستیک شکلات مرکب سفید به طور قابل توجهی افزایش یافت. خصوصیات بافتی شکلات پخش پذیر با افزودن پودر چغندر به طور قابل توجهی تحت تأثیر قرار گرفت، اما تفاوت معنی داری در محتوای رطوبت، فعالیت آب و برخی ویژگی

های حسی مشاهده نشد. استفاده از پودر چغندر در هر دو محصول، باعث کاهش قابل توجهی در مقدار رنگ نمونه ها شد و قرمزی مربوط به رنگدانه نیز، به طور قابل توجهی افزایش یافت.

اوزگون و همکاران در سال ۲۰۲۰، مطالعه ای با طراحی یک شکلات تلخ غنی شده با چای سبز ماتچا (۲٪، ۳٪، ۴٪) با هدف بهبود فعالیت آنتی اکسیدان انجام دادند. ترکیبات فنلی، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه ها اندازه گیری شد. افزایش درصد ماتچا در فرمولاسیون شکلات، باعث افزایش ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی شد. با این حال، افزودن بیش از ۳٪ ماتچا به فرمولاسیون شکلات، مقبولیت محصول از نظر مصرف کننده را کاهش داد.

سورنتی و همکاران (۲۰۲۰)، تعامل بین پلی فنل های کاکائو و فلور میکروبی روده، فعالیت های آنتی اکسیدانی و ضد التهابی آنها و اثرات پری بیوتیکی کاکائو را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که پلی فنل های کاکائو پس از رسیدن به روده، با فلور میکروبی روده تعامل دو طرفه دارند. این ترکیبات توانستند ترکیب فلور میکروبی روده را تعدیل کنند و با کاهش باکتری های بیمارزا مانند: کلستریدیوم پرفری جنس، رشد باکتریهای مفید روده مانند: لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم را افزایش دهند.

ساپوترو و همکاران (۲۰۲۰)، تأثیر نسبت مواد تشکیل دهنده و روش فرآوری را بر ویژگی های کیفیت شکلات شیری پروبیوتیک مورد بررسی قرار دادند. تمام شکلات ها دارای اندازه ذرات در محدوده ۱۹-۳۲ میکرومتر بودند. مقادیر سختی و فاکتور روشنایی L^* شکلات های شیری غنی شده، کمتر از نمونه شکلات شاهد بود. در مورد سطح رطوبت و پارامترهای جریان، شکلات های شیری غنی شده مقادیر بالاتری را نشان دادند.

دیدار (۲۰۲۰)، در پژوهشی غنی سازی شکلات تلخ با ویتامین D3 (فرم آزاد یا لیپوزومی) و تاثیر آن بر شاخص های رنگ، ویسکوزیته کاسون و خواص حسی را مورد بررسی قرار داد. با توجه به نتایج بدست آمده، هیچ تفاوت معنی داری در شاخص های رنگ، خصوصیات رئولوژیکی، پارامترهای

اندازه ذرات و همچنین خصوصیات حسی در شکلات غنی شده در مقایسه با نمونه شاهد مشاهده نشد.

حسین و همکاران (۲۰۲۰)، از شکلات به عنوان منبع پری بیوتیک در تولید شکلات غنی شده با پروبیوتیک‌ها استفاده کردند.

گونزالیز باریو و همکاران (۲۰۲۰)، طی مطالعه ای، اثرات استفاده از ۱۵٪ پودر کاکائو با مشخصات فلاوانول بهبود یافته را، در تولید شکلات تلخ مورد بررسی قرار دادند. تجزیه و تحلیل شکلات غنی شده نشان داد که، محتوای کل فلاوان تری اول flavan-3-ols (مونومرها) ۴ میلی گرم در گرم بود که نشان دهنده افزایش ۳ برابری نسبت به نمونه معمولی بوده است. سطح کل دیمرها (پروسیانیدین) در شکلات غنی شده ۲/۴ برابر بیشتر از شکلات معمولی (با مقدار کل ۶ میلی گرم در گرم) بود. در نتیجه، با افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی شکلات تلخ غنی شده با فلاوانول بالاتر، انتظار می‌رود مقدار بیشتری از اثرات مفید آن برای مصرف کنندگان حاصل گردد.

دلبن و همکاران (۲۰۲۰)، تاثیر استفاده از شکلات غنی شده با اولئوروپئین (جزئی از روغن زیتون فوق بکر) را بر میزان قند خون و ترشح انسولین، در افراد سالم و بیماران دیابتی نوع ۲ مورد بررسی قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد، پس از مصرف شکلات غنی شده با اولئوروپین، غلظت گلوکز خون و فعالیت دی پپتیدیل - پپتیداز-۴ (DPP4) تغییر نکرد؛ برعکس، افزایش قابل توجهی برای انسولین و GLP₁ (پپتید شبیه گلوکاگون) مشاهده شد. همچنین پس از مصرف شکلات معمولی، افزایش قابل توجهی برای گلوکز خون، سطوح انسولین و فعالیت DPP4 مشاهده شد در حالی که GLP₁ تغییری را نشان نداد.

در پژوهش انجام شده توسط زهره (۲۰۲۰)، برای افزایش خصوصیات عملکردی شکلات تلخ، از اسیدهای کلروژنیک استخراج شده از قهوه سبز (در اشکال آزاد یا کپسوله شده) و در غلظت‌های مختلف استفاده شد و خصوصیات شکلات تلخ غنی شده، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد، ویسکوزیته کاسون با افزودن اسیدهای کلروژنیک افزایش یافت. شاخص های رنگی نمونه های

شکلات، با افزودن اسیدهای کلروژنیک تحت تأثیر قرار گرفت. توزیع اندازه ذرات، با افزودن فرم آزاد، کاهش یافته درحالی که با اضافه شدن فرم کپسوله شده، افزایش یافت. پذیرش حسی نیز تحت تأثیر فرمولاسیون شکلات قرار گرفت و نمونه‌های غنی شده با اسیدهای کلروژنیک کپسوله شده نسبت به نمونه‌های غنی شده به فرم آزاد، دارای خواص حسی بهتری بود.

لون کاروویک و همکاران (۲۰۱۹)، ویژگی‌های فیزیکی، محتوای پلی فنل و خصوصیات حسی شکلات سفید غنی شده با عصاره چای سیاه را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد، افزودن عصاره چای سیاه کپسوله شده به شکلات سفید، باعث افزایش ویسکوزیته شکلات غنی شده در حد قابل قبول برای تولید این محصول گردید. مقدار پلی فنل کل موجود در شکلات غنی شده، در مقایسه با شکلات سفید، بیش از ۶ برابر افزایش یافت. با این حال، عصاره چای سیاه کپسوله شده باعث ایجاد طعم خارجی در شکلات شده و مصرف آن را غیر قابل قبول کرد.

ایسپرت و همکاران (۲۰۱۹)، کاربرد هیدروکلوئید (صمغ زانتان) در فرمولاسیون کرم کاکائو و تأثیر آن را بر خصوصیات حسی و میزان مقبولیت کرم تولیدی توسط مصرف کننده مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد، کرم کاکائو تهیه شده با صمغ زانتان، ویژگی‌های بافت، طعم و مزه مشابهی با نمونه شاهد داشت..

ایدمیر (۲۰۱۹)، امکان استفاده از روغن‌ها یا چربیهای مختلف در فرمولاسیون کرم کاکائو فندقی و تأثیر آن را بر ویژگی‌های بافت، خصوصیات رئولوژی، توزیع اندازه ذرات و خواص حسی محصول، مورد بررسی قرار داد. در میان نمونه‌های تولید شده، کرم کاکائو فندقی حاوی مارگارین و روغن دانه آفتابگردان، بیشترین امتیاز عطر و طعم را کسب کرد. با افزایش میزان چربی جامد، شاخص رفتار جریان کاهش یافت. با این حال چسبندگی، گرانروی ظاهری، ضرایب ذخیره و افت و پارامترهای توزیع اندازه ذرات، همگی افزایش یافت.

توسلان فرانچی و همکاران (۲۰۱۹)، میزان استقبال مصرف کننده از کاربرد پودر خرنوب، به عنوان یک ماده جایگزین در تولید شکلات را ارزیابی کردند.

ساعديا و همكاران (۲۰۱۹)، استفاده از روغن نارگيل را به دليل خصوصيات فيزيكي مشابه، به عنوان جاگزين كره كاكائو، در توليد شكلات مورد بررسي قرار دادند.

لون كاروويك و همكاران (۲۰۱۹) ويژگي هاي فيزيكي، حسي شكلات سفيد غني شده با عصاره چاي سبز محصور شده را، با هدف افزايش محتوای پلی فنل و ظرفيت آنتی اكسيدانی شكلات، مورد بررسي قرار دادند. عصاره چاي سبز انكپسوله شده، باعث افزايش پارامترهاي اندازه ذرات و ويسكوزيته شكلات غني شده شد. رنگ سطح شكلات هاي غني شده، متناسب با مقدار كپسول تغيير يافت. محتوای پلی فنل كل (ميلي گرم معادل اسيد گاليك (GAE) بر كيلوگرم) از ۰/۴۱ در شكلات سفيد به ۲/۷۳ در شكلات غني شده افزايش يافت. عصاره چاي سبز محصور شده ظرفيت آنتی اكسيدان را از ۱/۲۲ در شكلات سفيد به ۱۶/۱۲ افزايش داد.

محمد و همكاران (۲۰۱۹)، تركيب فيتوشيميائي اسانس دارچين و همچنين کاربرد آن جهت بهبود فعاليت آنتی اكسيدانی شكلات سفيد را مورد بررسي قرار دادند. كابر اسانس روغنی دارچين در سطح ۰/۱٪ (وزنی)، فعاليت آنتی اكسيدانی شكلات سفيد را بيش از دو برابر افزايش داد، بدون اينكه تأثير قابل توجهی بر سختی، خواص ذوب و رنگ آن داشته باشد. با اين حال، تغيير جزئی در رفتار جريان شكلات سفيد مشاهده شد. اين مطالعه به وضوح نشان داد كه روغن ضروري دارچين می تواند جاگزين مواد افزودنی مصنوعي جهت فعاليت آنتی اكسيدانی در غذاها باشد.

يو و همكاران (۲۰۱۹)، از رزماری (به دليل رايحه و خاصيت آنتی اكسيدانی) و از پوست پرتقال (جهت افزايش فيبر) در توليد شكلات تلخ استفاده كردند. افزودن پودر رزماری و پوست پرتقال به ميزان قابل توجهی ميزان پروتئين و فيبر خام در شكلات تلخ را افزايش داد. فعاليت مهار راديكال آزاد DPPH شكلات تلخ حاوی رزماری و پوست پرتقال $(3/17 \pm 82/54\%)$ به طور قابل توجهی نسبت به نمونه بدون رزماری و پوست پرتقال $(0/92 \pm 66/14\%)$ بالاتر بود. شكلات تلخ رزماری با پوست پرتقال، حاوی محتوای فنلی كل (۶/۵۱ ميلي گرم GAE در گرم) و مقدار فلاونويد كل (۱/۲۷ ميلي

گرم CAE در گرم) بود. میانگین نمره پذیرش کلی شکلات تلخ رزماری با پوست پرتقال، ۷۷/۱۳ درصد بود.

تسخیری و همکاران (۲۰۱۹)، اثر افزودن پودر سنجد بر خواص آنتی اکسیدانی، تانن و خواص حسی شکلات نعنایی را مورد بررسی قرار دادند که نتایج مطالعات، حاکی از افزایش سطح ترکیبات فنلی و همچنین افزایش درصد مهار رادیکال آزاد DPPH بود.

ولجوویک و همکاران (۲۰۱۹)، قارچ گانودرما لوسیدیوم را به خاطر طعم تلخ، به عنوان جایگزینی برای مخمر ساکارومیسس سرویزیه، در روند تخمیر در تولید نوشیدنی کم الکل مورد استفاده قرار دادند. نتایج نشان داد که این قارچ خواص عملکردی مانند آنتی اکسیدان را در نوشیدنی‌های الکلی بهبود بخشیده و همچنین باعث بهبود رنگ نوشیدنی‌های الکلی شده است و از طرفی باعث کاهش زمان فرایند گردید. نتایج کلی نشان داد، عصاره الکلی گانودرما با طعم کم و بیش تلخ خود، می تواند ماده اولیه بسیار جالبی در صنعت تولید آب میوه برای توسعه انواع مختلف محصولات با فعالیت فیزیولوژیکی خاص باشد.

جهانگیر و همکاران (۲۰۱۸)، کاربرد سینامالدئید به دست آمده از پودر پوست دارچین را در تقویت فعالیت آنتی اکسیدانی شکلات های تیره مورد بررسی قرار دادند. نتایج، نشان دهنده افزایش قابل توجهی در محتوای فنل کل شکلاتهای سینامالدئیدین طی ۶۰ روزذخیره سازی بود. از نظر بافت (سختی)، شکلات حاوی عصاره در مقایسه با شاهد، بافت نرمتری داشت. نتایج رنگ سنجی، نشان دهنده افزایش تدریجی فاکتورهای L^* و b^* و کاهش فاکتور a^* بود. علاوه بر این، نتایج ارزیابی حسی، پذیرش کلی خوبی را برای محصولات غنی شده نشان داد.

محمد و همکاران (۲۰۱۸)، خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و فعالیت های آنتی اکسیدانی شکلات های غنی شده، با استفاده از نانو ذرات کلوئیدی لیوفیلیزه ساخته شده از ترکیبی از صمغ زانتان و عصاره دارچین را جهت افزایش خصوصیات تغذیه ای شکلات بررسی کردند. عصاره دارچین، جهت حذف رایحه و عدم ایجاد تغییر در ویژگی‌های حسی، درون نانوذرات قرار گرفت. نتایج نشان داد که

غنی سازی، باعث تغییرات جزئی در سختی، رفتار جریان و رنگ، همچنین باعث بهبود محتوای ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی اکسیدانی شکلات (بدون تغییر قابل توجه در ویژگی‌های ذوب شکلات) شد. انکپسوله کردن، تأثیر مثبتی در جلوگیری از تغییر طعم در شکلات های غنی شده دارچین داشت.

کونار و همکاران (۲۰۱۸)، غنی سازی شکلات شیری با اشکال مختلف اسیده‌های چرب امگا ۳، ایکوساپنتائونوئیک اسید (EPA) و دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) و تأثیرات آن بر کیفیت محصول را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که پارامترهای رئولوژیکی، با افزودن اشکال مختلف منابع EPA / DHA در سطوح مختلف، تحت تأثیر قرار گرفتند. با توجه به نتایج تجزیه و تحلیل حسی، شکلات با شکل میکروکپسوله شده منبع EPA / DHA، بیشترین میزان پذیرش کلی را در بین نمونه های شکلات غنی شده داشت. در این پژوهش، پتانسیل استفاده از شکلات شیری به عنوان عامل تحویل EPA و DHA تأیید شد.

مارتینی و همکاران (۲۰۱۸)، ترکیبات فنلی در شکلات تلخ و شکلات تلخ غنی شده با برگ چای سبز ساکورا و پودر زردچوبه را ارزیابی کردند. شکلات تلخ غنی شده، پروفایل فنلی محصول را تحت تأثیر قرار داده و منجر به افزایش غلظت ترکیبات فنلی شد. ترکیب زردچوبه و چای سبز با کاهش مقدار قند و کالری شکلات، باعث اثرات مثبت سلامتی شکلات جهت مصرف گردید.

اسمیت و همکاران (۲۰۱۸)، فرمولاسیون شکلات غنی شده با پودر گاوآه را، همراه با شیر و پودر کاکائو با محتوای ویتامین C بالا، بررسی کردند. شکلات غنی شده، با افزودن پودر گاوآه در محدوده ۱۰ تا ۲۰ گرم فرموله شده بودند. این مطالعه نشان داد که محصول شکلات تولید شده با ۱۶٪ پودر گاوآه، نسبت به شکلات معمولی (۱۰۰٪ شیر و کاکائو) دارای سطح پذیرش خوبی بود. پودر گاوآه در مقایسه با شاهد، به طور معنی داری، میزان پلی فنل کل را (۲/۱ برابر) و میزان اسید اسکوربیک محصول را تا (۲/۵ برابر) افزایش داد.

سینق و همکاران (۲۰۱۸)، تأثیر ذخیره سازی بر ویژگی‌های کیفیتی شکلات شیری غنی شده با پروتئین آب پنیر را طی یک ماه مورد ارزیابی قرار دادند.

توسط لونکارویک و همکاران (۲۰۱۸)، غنی‌سازی شکلات سفید با آب توت سیاه انکپسوله شده، در سطوح ۶، ۸ و ۱۰٪ انجام شد و تأثیر این غنی‌سازی بر ویژگی‌های فیزیکی، حسی و محتوای پلی فنل شکلات سفید مورد بررسی قرار گرفت. این غنی‌سازی، منجر به ایجاد نوع جدیدی از شکلات با رنگ جذاب و طعم توت سیاه شد. افزایش میزان غنی‌سازی، باعث افزایش جزئی در توزیع اندازه ذرات شد. گرانروی و سختی شکلات به دلیل افزایش سطوح خاص ذرات جامد در شکلات و کاهش میزان فاز چربی آزاد، افزایش یافت. براقیت سطحی در شکلات، با افزایش غنی‌سازی تحت‌تأثیر قرار گرفت و عدم وجود فاز چربی آزاد، باعث ایجاد رنگ مات بر روی سطح شکلات در مقایسه با شکلات سفید شد. افزودن ۶-۱۰٪ آب توت سیاه به شکلات سفید، شیرینی شکلات سفید را کاهش داد و به ظهور عطر و طعم میوه ای دلپذیر آن کمک کرد. همچنین این غنی‌سازی، محتوای پلی فنل کل را از ۱/۸ تا ۳/۸ برابر افزایش داد.

مرکوویک و همکاران (۲۰۱۸)، کیفیت حسی شکلات تلخ غنی شده با پروبیوتیک (باکتری‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم) را مورد بررسی قرار دادند. نتایج مطالعه انجام شده، نشان دهنده زنده ماندن خوب باکتری‌های پروبیوتیک، پس از ۶۰ و ۱۸۰ روز بود. همچنین باکتری‌های پروبیوتیک بر خصوصیات بافت و حسی شکلات تیره تأثیر معنی داری نداشت.

راد و همکاران (۲۰۱۸)، تأثیر تاگاتوز و گالاتوالیگوساکارید (دو ترکیب اصلی پروبیوتیک) را به همراه استویا و لاکتوباسیلوس پاراکازئی و بیفیدو باکتریوم بر روی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی شکلات شیری سین بیوتیک، در طول ۶ ماه نگهداری در دمای ۲۲ درجه سانتیگراد مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهش نشان داد، شکلات شیری حامل خوبی برای باکتری‌های مفید (لاکتوباسیلوس پاراکازئی) و مواد اولیه پری بیوتیک است. به طور کلی، فرمولاسیون های شکلات با مقادیر بالای گالاتوالیگوساکارید، بالاترین ویسکوزیته پلاستیک و تنش عملکرد را نشان داد. کمترین ویسکوزیته و

تنش عملکرد برای نمونه‌های حاوی غلظت بالای تاگاتوز و در نمونه کنترل مشاهده شد. نتایج نشان داد، گالاکتوالیگوساکارید و تاگاتوز در زنده مانی باکتری پروبیوتیک تاثیری نداشت. گالاکتوالیگوساکارید در نسبت‌های بالا، باعث کاهش پذیرش کلی نمونه‌ها شد، در حالی که تاگاتوز پذیرش کلی نمونه‌ها را بهبود بخشید.

تولیا (۲۰۱۸)، تأثیر افزودن تفاله میوه گیلاس هندی خشک (*Cordia dichotoma*) بر رنگ، بافت و خصوصیات حسی شکلات مرکب را مورد ارزیابی قرار داد. نتایج این پژوهش نشان داد، افزودن تفاله خشک شده میوه گیلاس هندی (تا ۴۰٪)، باعث ایجاد طعم تازه‌ای از شکلات با ویژگی‌های حسی مطلوب گردید. طی غنی سازی، سختی محصولات تولید شده افزایش یافت. از سوی دیگر، نتایج اندازه گیری فاکتورهای L^* ، a^* و b^* نشان دهنده ایجاد رنگ خوب برای شکلات حاصل بود. علاوه بر این، هیچ تفاوت معنی داری ($p < 0.05$) در ویژگی‌های بو، طعم، شیرینی، بافت، کیفیت ذوب نمونه‌ها در مقایسه با نمونه شاهد مشاهده نشد. فقط بین گسی نمونه‌ها تفاوت معنی داری وجود داشت.

ونگاس و همکاران در سال ۲۰۱۸، بتاگلوگان استخراجی قارچ گانودرما را به همراه دانه ساچا اینچی (منبع غنی از اسیدهای چرب چند غیر اشباعی، توکوفرول‌ها، فیتواسترول‌ها، ترکیبات فنلی و آنتی اکسیدانی) جهت غنی سازی ماست استفاده کردند. در این پژوهش، خصوصیات فیزیکوشیمیایی و پذیرش حسی ماست غنی شده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این غنی سازی نشان داد که بطور قابل ملاحظه پروتئین، چربی، کربوهیدرات‌ها، خاکستر، مواد جامد، اسید آسپاریک، سرین، آرژنین، گلیسین، ترئونین، تیروزین و آلانین افزایش یافت. مقدار اسید α -لینولنیک (۴۹/۳٪) و اسید لینولئیک (۳۲/۲٪) گزارش گردید که به ترتیب ۲۵ و ۵۰ برابر بالاتر از ماست کنترل بود. همه ماست های غنی شده پذیرش حسی بالاتر از ۷۰٪ را توسط پانلیست های آموزش نیافته نشان دادند و سرعت تخمیر تحت تاثیر این غنی سازی قرار نگرفت.

عزیزی و همکاران (۲۰۱۸)، تاثیر افزودن اسید چرب امگا ۳ استخراج شده از روغن بزرک را، بر خواص فیزیکی و شیمیایی شکلات شیری مورد بررسی قراردادند. نتایج این مطالعات، حاکی از افزایش مقدار اسیدهای چرب چند غیراشباعی در نمونه ها بود.

هانیه نژاد و همکاران (۲۰۱۷)، افزودن پودر بزرک در تولید شکلات را بررسی کردند و نتایج مطالعه نشان دهنده افزایش میزان اسیدهای چرب چند غیر اشباعی در شکلات بود.

علمی و همکاران (۲۰۱۷)، تأثیر افزودن روغن اسانس دارچین در ۳ سطح غلظتی معادل ۰/۱٪، ۰/۳٪ و ۰/۵٪ را بر روی ویژگی‌های حسی، خواص فیزیکی و شیمیایی شکلات شیری مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اسانس دارچین، سطح پذیرش کلی نمونه ها کاهش یافت. نتایج تجزیه و تحلیل رنگ و رطوبت نمونه ها تفاوت معنی داری را نشان نداد.

بوآزیز و همکاران (۲۰۱۷)، اثر افزودن فیبر هسته خرما بر کیفیت شکلات با قابلیت پخش پذیری را بررسی کردند. نتایج این پژوهش، تفاوت معنی داری را بین استحکام، جویدگی و چسبندگی اسپریدهای شکلات تهیه شده، در مقایسه با شکلات شاهد نشان نداد. ارزیابی حسی نمونه ها نشان داد که تمام شکلات های غنی شده دارای پذیرش حسی خوبی بودند. این نتایج حاکی از ارزش هسته خرما به عنوان منبع جدیدی از فیبر غذایی، برای تنوع محصول شکلات همراه با بهبود مزایای سلامتی و خواص عملکردی شکلات بود.

پیغمبردوست و همکاران (۲۰۱۶)، مخلوط پودر هسته خرما و دانه کنجد را به شکلات شیری اضافه کردند. نتایج بدست آمده حاکی از بهبود خواص حسی و تغذیه‌ای شکلات شیری بوده و محصولی غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و اسیدهای چرب ضروری تولید شد.

کریت و همکاران (۲۰۱۶)، تأثیر افزودن پودرهای گیلاس، اسفناج و گرده زنبور عسل را بر میزان فنل کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی شکلات سفید مورد بررسی قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که غنی سازی شکلات با این ترکیبات، باعث افزایش ترکیبات فنلی کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی محصولات تولیدی شد.

شوریده و همکاران (۲۰۱۲)، D تاگاتوز و اینولین را در شکلات تیره و به عنوان جایگزین ساکارز اضافه کردند. نتایج به دست آمده باعث تولید محصولی با خصوصیات تغذیه‌ای ویژه و فراسودمند شد. یانگ و همکاران (۲۰۰۹)، چگونگی تغییرات در برخی از اجزای شیر سویا، طی تخمیر با قارچ گانودرما لوسیدیوم را بررسی کردند. نتایج نشان داد که تولید پلی ساکارید، پروتئین و ویتامین‌های گروه B با افزایش گانودرما، افزایش و ترکیبات نفاخ از قبیل استاکیوز و رافینوز کاهش یافت. نتایج نشان داد که تخمیر با استفاده از گانودرما لوسیدیوم میتواند باعث بهبود قابلیت پذیرش و سلامت شیر سویا شود.

بولنز و همکاران (۲۰۰۶) در پژوهشی، از فیبر گندم، سلولز، فیبر جو، فیبر نخود و اینولین در فرمولاسیون نمونه‌های شکلات استفاده کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که آرد لوپین شیرین، می‌تواند به عنوان جایگزین پودر شیر، پس از تنظیم فرمولاسیون در شکلات مورد استفاده قرار گیرد.

زاکی (۲۰۰۵)، از پودر سویای کامل، برای تولید نوعی فراورده شکلاتی حاوی سویا استفاده و آن را جایگزین پودر شیر کرد. فراورده‌های شکلاتی تولیدی، حاوی ۱۵ تا ۳۰ درصد لیکور کاکائو، ۱۲ تا ۲۰ درصد پودر سویای کامل، ۲۵ تا ۳۵ درصد کره کاکائو، ۳۰ تا ۴۰ درصد شکر، ۰/۰۳ درصد وانیلین و ۰/۰۴-۰/۰۵ درصد لستین بود. محصول شکلاتی پس از تولید تحت آزمون‌های شیمیایی، فیزیکی و حسی قرار گرفتند که نتایج آزمون‌های حسی آن‌ها مطلوب ارزیابی شد.

ولی سابقه‌ای از کاربرد قارچ گانودرما لوسیدیوم جهت غنی سازی محصولات کاکائویی از جمله کرم کاکائو مشاهده نشد.

فصل سوم

مواد و روش ها

۳-۱ محل انجام آزمایش

تولید شکلات فراسومند در کارخانه لپ لپ، واقع در کرج-کمالشهر شهرک صنعتی بهارستان، سال ۹۸-۹۹ انجام گرفت. تمامی آزمون‌های فیزیکی در آزمایشگاه کنترل کیفیت شرکت لپ لپ و آزمون‌های شیمیایی در جهاد دانشگاهی (پژوهشکده گیاهان دارویی)، پژوهشکده مواد - انرژی البرز و آزمایشات رئولوژیکی نیز، توسط آزمایشگاه سیالات پیچیده دانشگاه صنعتی شاهرود انجام گرفت.

۳-۲ مواد مورد استفاده

(جدول ۳-۱) مواد مورد استفاده در پژوهش

کشور سازنده	شرکت تولیدی	مواد
ترکیه	Altinmarka	پودر کاکائو با ۱۰-۱۲٪ چربی
ایران	زرینشاد	شیر خشک پرچرب
ایران	زرینشاد	شیرخشک بدون چربی
ایران	نثارآرشه	شکر
مالزی	پریمیوم	روغن
آلمان	پریمیوم	لسیتین سویا
آلمان	Bell	وانیلین
هلند	Cargill	امولسیفایر پلی گلیسرول پلی رسینولات (Pgpr)
ایران	شرکت پژوهشگران قارچ آراین	قارچ گانودرما لوسیدیوم
آلمان	مرک	کربنات سدیم
آلمان	مرک	معرف فولین - سیوکالتو
آلمان	مرک	اسید سولفوریک ۹۸٪
آلمان	مرک	تری کلرو استیک اسید

آلمان	مرک	الکل اتیلیک ۹۶ درجه
آلمان	مرک	کلروفرم
آلمان	مرک	نرمال بوتانل
آلمان	مرک	متانول
آلمان	مرک	اسیدگالیک
آلمان	مرک	اسیداسکوربیک
آلمان	مرک	آلفا-D-گلوکز
آلمان	مرک	فنل
آلمان	مرک	پترولیوم بنزن
آلمان	مرک	اسیدکلریدریک ۳۷٪
آلمان	مرک	نیترا نقره ۰/۱ نرمال تیترازول
آلمان	مرک	اسیداستیک
آلمان	مرک	تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تیترازول
آلمان	مرک	یدید پتاسیم
آلمان	مرک	اسید استیک گلاسیال
آلمان	مرک	نشاسته

۳-۳ تجهیزات مورد استفاده

(جدول ۳-۲) وسایل و تجهیزات مورد استفاده در پژوهش

کشور سازنده	شرکت تولیدی و مدل دستگاه	دستگاه‌ها
فرانسه	مولینکس	آسیاب برقی
ایران	سپهر ماشین	آسیاب ساچمه‌ای
اتریش	Modular Compact Rheometer (MCR), 301	رئومتر
آلمان	UV-visible,Xma-2000	اسپکتروفتومتر
آلمان	Memmert	آون تحت خلأ
انگلستان	Gallenkamp	کوره الکتریکی
آلمان	Ultra-Turrax T25	اولتراتوراکس

انگلیس	Jenwey	همزن مغناطیسی
آلمان	Heidolph	هموژنیزاتور
سوئیس	R210/215 Rotavapor	روتاری
آلمان	Sartorius, AS220	ترازوی دیجیتال

۳-۴ روش تهیه عصاره قارچ گانودرما لوسیدیوم

قارچ گانودرما لوسیدیوم (ریشی)^۱ ایرانی، با رنگ قهوه ای-زرد که در بستر کشت اتوکلاو شده ای با پایه اصلی خاک اره راش حاوی درصدی سبوس برنج و درصد کمی هم کربنات کلسیم با رطوبت ۶۲ درصد کشت داده شده بود، پس از رشد، جمع‌آوری گردید و پس از شستشو با آب در محیط سایه در هوای آزاد خشک شد و جهت استخراج استفاده شد (شکل ۳-۱).



(شکل ۳-۱) قارچ گانودرما مورد استفاده در آزمایش

جهت استخراج عصاره، ابتدا قارچ گانودرما لوسیدیوم به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه توسط دستگاه آسیاب شد. برای تهیه عصاره قارچ گانودرما لوسیدیوم، ۳ نوع عصاره با استفاده از حلال آب (عصاره آبی)، عصاره با استفاده از حلال الکل (عصاره هیدروالکلی) و عصاره با استفاده از الکل و آب (عصاره پلی ساکاریدی) به روش زیر تهیه شد:

^۱ . Ganoderma Lucidum Bulk Spore Powder

استخراج عصاره با استفاده از حلال آب (عصاره آبی): مقدار ۲۰ گرم از قارچ

گانودرما خشک، آسیاب گردید و به نسبت ۱ به ۲۰ (وزنی/حجمی) با آب مخلوط و با دستگاه اولتراتوراکس (Ultra-Turrax T۲۵، آلمان) در دمای محیط به مدت سه دقیقه هموژنیزه شد. سپس در بن ماری ۹۰-۱۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳ ساعت استخراج شد. این عمل ۳ بار تکرار شد. مخلوط حاصل توسط صافی صاف شد و برای جداسازی مواد محلول و نامحلول به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار گرفت. سپس محلول حاصل در دمای ۴ درجه به مدت ۱۵ دقیقه با دور $5000 \times g$ سانتریفیوژ شد. محلول روشناور سانتریفیوژ، جدا شده و توسط روتاری تغلیظ و نهایتاً در دمای آون ۴۰ درجه سانتیگراد خشک شد (شکل ۲-۳) (Zhang et al., 2007; Nie et al., 2013; Naz et al., 2009).



(شکل ۲-۳) پودر عصاره آبی قارچ گانودرما

استخراج عصاره با استفاده از حلال الکل (عصاره هیدروالکلی): ابتدا ۲۰ گرم

از قارچ خشک آسیاب شد و با نسبت ۱ به ۲۰ (وزنی/حجمی) با الکل اتانول ۶۰٪ مخلوط گردید. سپس در حمام آب (بن ماری) با دمای ۸۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳ ساعت استخراج گشت، این عمل ۳ بار تکرار شد. تصفیه اولیه به کمک یک توری انجام شد. مخلوط حاصل از کاغذ صافی عبور داده شد (یک مرتبه کاغذ معمولی و دو مرتبه کاغذ صافی واتمن). سپس توسط دستگاه سانتریفیوژ با

نیروی ۳۰۰۰ g به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط سانتیفریوژ گردید (دو بار تکرار شد). سپس تغلیظ با استفاده از دستگاه تبخیر در خلا انجام شد. دمای شروع کار جهت حذف الکل، ۶۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد سپس دما روی ۸۰-۸۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. فرآیند تغلیظ تا جایی ادامه یافت که محصولی کمتر از ۱۰۰ سی سی حاصل شد. در نهایت عصاره در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید (شکل ۳-۳). (پزشکی و همکاران، ۲۰۱۱).



(شکل ۳-۳) پودر عصاره هیدروالکلی قارچ گانودرما

استخراج عصاره با استفاده از حلال آب و الکل (عصاره پلی ساکاریدی):

برای تهیه این عصاره از روشی که توسط سان^۱ و همکاران ۲۰۱۰ بکار برده شده با کمی اصلاحات استفاده شد. ابتدا ۲۰ گرم از قارچ خشک و آسیاب شده با نسبت ۱ گرم به ۲۰ سی سی با اتانول ۹۵٪ (برای غیرفعال کردن آنزیم ها و حذف برخی مواد محلول، از جمله: قندهای آزاد، لیپیدها، اسیدهای آمینه و برخی فنل ها و رنگ) مخلوط شد و با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت استخراج شد. مخلوط از یک توری و سپس از کاغذ صافی عبور داده شد (یک بار از کاغذ صافی معمولی و دو بار از کاغذ صافی واتمن). محلول صاف شده سانتیفریوژ شد (۳۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۰ دقیقه). رسوب حاصل از استخراج اتانول به رسوب قبلی اضافه شد و جهت خشک کردن، در

¹. Sun

آون با دمای ۴۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. رسوب مرحله اول استخراج الکلی پس از خشک شدن در آب پراکنده شده و جهت استخراج با آب داغ (حمام آب ۹۰-۱۰۰ درجه با رعایت نسبت ۱ گرم نمونه به ۲۰ میلی لیتر طی ۴ ساعت) مورد استفاده قرار گرفت. مخلوط ابتدا از یک توری و سپس از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شد. برای حذف ترکیبات نامحلول معلق از سانتریفیوژ ۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه و دمای ۲۵ درجه سانتیگراد استفاده شد. محلول رویی نهایی توسط دستگاه روتاری (تبخیرکننده تحت خلاء) (R210/215 Rotavapor، ساخت کشور سوئیس) در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد تا رسیدن به ۱۰٪ حجم اولیه تغلیظ شد (Li and et al., 2007 ; Samavati and et al., 2013). عصاره حاصل جهت حذف پروتئین استفاده شد.

حذف پروتئین: اگرچه بیشتر اجزای پروتئینی، احتمالاً در حین جوش از بین رفته است. ولی با این حال فرآیند حذف پروتئین نیز با افزودن معرف ساواگ (کلروفرم به نرمال بوتانل با نسبت ۵ به ۱ (V / V) انجام شد. نسبت حجم نمونه به معرف ساواگ (۱:۲) بود. پس از افزودن معرف، نمونه به مدت ۲۰-۳۰ دقیقه روی شیکر هم زده و سپس سانتریفیوژ شد. نمونه به صورت سه فاز جدا شد که محلول بالایی نمونه بدون پروتئین بود. در نهایت ۴ برابر حجم عصاره تغلیظ شده، اتانول ۹۵٪ اضافه شد و یک شب در ۴ درجه سانتیگراد برای جداسازی پلی ساکاریدها نگهداری شد پس از آن با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۲۰ دقیقه، سانتریفیوژ شد و ترکیب رسوب کرده بطور متوالی با اتانول ۸۰٪ سرد، اتانول ۹۵٪ و ۱۰۰٪ شسته شد. در نهایت عصاره پلی ساکاریدی بسیار غلیظ قارچ گانودرما بدست آمد که در داخل یک پلیت شیشه‌ای ریخته و به مدت حداقل ۴ ساعت در آون با دمای ۴۰ درجه سانتیگراد خشک شد. (شکل ۳-۴) (Sevag and et al., 1938 ; Jalili and et al., 2016).



(شکل ۳-۴) پودر عصاره پلی ساکارییدی قارچ گانودرما

۳-۵ آزمون‌های عصاره قارچ گانودرما لوسیدیوم

۳-۵-۱ اندازه‌گیری میزان کل ترکیبات فنلی

اساس کار در این روش، احیاء معرف فولین در محیط قلیایی با ایجاد کمپلکس آبی، توسط ترکیبات فنلی عصاره های قارچ گانودرما بود که حداکثر جذب را در طول موج ۷۶۰ نانومتر نشان داد. ابتدا غلظت‌هایی از محلول استاندارد گالیک اسید (میکرو گرم بر میلی لیتر) در آب تهیه شد. سپس غلظت‌هایی از عصاره آماده گردید. مقدار ۵ میلی لیتر آب مقطر، ۱ میلی لیتر از نمونه یا محلول‌های استاندارد که قبلاً تهیه شده و ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین - سیوکالتو به هر بالن ۱۰ میلی لیتری اضافه شد و محلول‌ها خوب بهم زده شد. بعد از گذشت ۳ دقیقه، ۱ میلی لیتر از محلول ۲۰ درصد کربنات سدیم به بالن‌ها اضافه شد و با آب مقطر، بالن‌ها به حجم رسانده شد. در انتها پس از یک ساعت، توسط دستگاه UV، در طول موج ۷۶۰ نانومتر، جذب تمامی محلول‌ها خوانده شد. هر آزمایش با سه تکرار انجام شد.

محلول بلانک: شامل ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین - سیوکالتو، ۱ میلی لیتر محلول اشباع سدیم

کربنات ۲۰ درصد و ۵ میلی لیتر آب بود که به حجم ۱۰ میلی لیتر رسید. مقدار فنل تام موجود در

عصاره، پس از رسم منحنی کالیبراسیون اسید گالیک، با قرار دادن مقدار جذب عصاره در معادله خطی مربوط به منحنی استاندارد محاسبه شد و داده‌ها بر اساس معادل میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره بیان گردید. (Belwal and et al., 2016 ; Singleton and et al., 1965)

۳-۵-۲ آزمون مهار رادیکال (2,2-diphenyl-picrylhydrazyl) (DPPH)

استفاده از رادیکال آزاد DPPH برای بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی، یکی از پرکاربردترین روش‌های سنجش قدرت آنتی‌اکسیدان است. (DPPH)، رادیکال چربی دوست با جذب بیشینه در طول موج ۵۱۷ نانومتر است. در آزمون DPPH، گروه‌های هیدروکسیل ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، با دادن H به رادیکال‌های آزاد DPPH، منجر به کاهش مولکول‌های DPPH می‌شوند و جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر کاهش می‌یابد که با تغییر رنگ محلول واکنش از رنگ بنفش تیره به زرد روشن همراه است. این جذب بیانگر مقدار DPPH باقیمانده است. در این آزمون، اسید آسکوربیک به عنوان استاندارد استفاده شد و نتایج بر حسب IC50 گزارش شد.

ابتدا محلول ۰/۱ میلی مولار از DPPH در متانول (۰/۰۰۵۳ گرم در ۱۰۰ سی سی) تهیه شد. به ۱/۵ میلی لیتر از محول DPPH در لوله آزمایش، ۱/۵ میلی لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره (۱/۹۵، ۳/۹۰، ۷/۸۱، ۱۵/۶۲، ۳۱/۲۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۵۰۰، ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر در متانول) اضافه شد. از ماده استاندارد، غلظت‌های (۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر در آب) تهیه و به روش فوق به محلول DPPH اضافه گردید. سه تکرار برای هر غلظت، در نظر گرفته شد. از عصاره به عنوان شاهد، برای حذف رنگ عصاره‌ها استفاده گردید. جذب محلول‌ها پس از ۳۰ دقیقه قرار گرفتن در محیط تاریک، در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر UV قرائت شد. از ۱/۵ میلی متانول به جای عصاره، جهت محلول کنترل استفاده شد. درصد ظرفیت روبش رادیکالی (RSA) به وسیله فرمول زیر محاسبه گردید.

$$RSA(\%) = [1 - (S - SB) / C] \times 100 \quad (3-1)$$

در این فرمول S و SB به ترتیب میزان جذب نمونه (عصاره + DPPH) و جذب شاهد (متانول + عصاره) و C میزان جذب کنترل (متانول + DPPH) بود. مقدار IC50 عصاره و اسید اسکوربیک، پس از بدست آوردن درصد ظرفیت روبش رادیکالی (RSA) تعیین شد. IC50 بیانگر غلظتی از نمونه است که موجب ۵۰ درصد بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی شود و مقدار آن از طریق رسم مقادیر RSA بر حسب غلظت‌های مختلف نمونه و محاسبه معادله خط رگرسیون بدست می‌آید (آفولیان^۱، ۲۰۰۷).

۳-۵-۳ بررسی ویژگی‌های رئولوژیکی عصاره انتخابی

در این پژوهش به منظور بررسی تعیین میزان غنی سازی، رفتار رئولوژیکی عصاره استخراجی انتخابی قارچ گانودرما در غلظت‌های مختلف، توسط دستگاه رئومتر MCR 301 در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد مورد بررسی قرار گرفت (عباسی و همکاران، ۲۰۰۹).

۳-۶ انتخاب بهترین نوع عصاره

با توجه به بررسی آزمایشات انجام شده روی سه نوع عصاره استخراجی و بررسی میزان ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی هر سه عصاره و همچنین با توجه به جنبه اقتصادی و کم هزینه بودن آن بهترین نوع عصاره انتخاب شده و در ترکیب کرم کاکائو اضافه شد.

۳-۷ روش تهیه نمونه‌های شکلات صبحانه

نمونه‌های کرم کاکائو با فرمولاسیون ذکر شده در جدول ۳-۳ توسط آسیاب ساچمه ای پایلوت تولید شدند.

¹ . Afolayan

(جدول ۳-۳) فرمولاسیون کرم کاکائو (شکلات صبحانه)

ردیف	فرمول ترکیبی	درصد
۱	شکر سفید	۴۴/۵
۲	روغن گیاهی مایع	۲۷/۵
۳	خمیر فندق	۸
۴	شیرخشک بدون چربی	۷/۴
۵	پودر کاکائو آلكالايز	۷
۶	شیرخشک پرچرب	۲/۳
۷	پودر آب پنیر	۲/۳
۸	لسیتین سویا	۰/۵
۹	پلی گلیسرول پلی ریسینولات (Pgpr)	۰/۲
۱۰	وانیلین	۰/۳

ابتدا پودر شکر (ساکارز) به اندازه ۳۰-۲۵ میکرون آسیاب شد. سپس روغن در آون در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد ذوب شد و همه مواد به جز لسیتین، Pgpr، وانیلین و گانودرما که در مرحله آخر اضافه شدند، در داخل بالمیل آزمایشگاهی (آسیاب ساچمه ای که عمل ورز دادن (کونچ کردن) و کاهش اندازه ذرات را تواما انجام می دهد) ریخته شدند (شکل ۳-۵). مخزن دستگاه، دو جداره و مجهز به همزن با سرعت ۸۵ rpm بود. داخل مخزن با ساچمه هایی به قطر ۸ میلی متر از جنس فولاد ضد زنگ و ضد سایش به میزان ۲۲ کیلوگرم پر شده بود (شکل ۳-۶).

کرم کاکائو شیری در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد و به مدت ۳-۴ ساعت در بالمیل با دور همزن ۸۵ دور در دقیقه تهیه شد. برای اینکه عمل آسیاب نمونه یکنواخت و همگن صورت گیرد، هر نیم ساعت یکبار به مدت ۲ دقیقه مقداری از نمونه از قسمت پایین دستگاه تخلیه و مجدداً به بالمیل برگردانده شد و در ۳۰ دقیقه نهایی کونچ کردن نیز، لسیتین و وانیلین اضافه شدند. جهت غنی سازی شکلات صبحانه با پودر عصاره قارچ گانودرما، دمای بالمیل قبل از اتمام عمل ورز دادن شکلات، تا ۴۰°C کاهش داده شد و در این مرحله، عصاره در درصدهای مختلف اضافه شد. پس از توزیع مناسب، نمونه

شکلات ها تخلیه شد و درظروفي در بسته از جنس پلی اتیلن ریخته و در دمای محیط ۱۸ تا ۲۵ درجه سانتی گراد، به دور از نور و حرارت نگهداری شد (Chevalley and et al., 1994).



(شکل ۳-۶) مخزن داخلی دستگاه بالمیل



(شکل ۳-۵) دستگاه بالمیل (آسیاب ساچمه ای)

۳-۸ آزمون های کیفی و شیمیایی کرم کاکائو

۳-۸-۱ اندازه گیری رطوبت

ابتدا ظرف رطوبت در آون ۱۰۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه به وزن ثابت رسانده شد. پس از سرد شدن در دسیکاتور، وزن آن یادداشت شد. حدود ۵ گرم نمونه در ظرف رطوبت توزین شد و در آون با حرارت ۱۰۵-۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۳ الی ۵ ساعت قرارداده شد. عملیات خشک، سرد و وزن کردن را تا زمانی که اختلاف دو توزین متوالی، به کمتر از ۰/۰۰۱ گرم برسد ادامه یافت. مقدار درصد وزنی رطوبت مطابق با فرمول زیر محاسبه شد (AOAC., 2005).

$$\text{درصد رطوبت} = \frac{100 \times (\text{وزن ظرف خالی} - \text{وزن ظرف و نمونه بعد از آون})}{\text{وزن نمونه}} \quad (3-2)$$

۳-۸-۲ اندازه گیری خاکستر

خاکستر نمونه ها طبق روش AACC 1984 تعیین شد. ابتدا ظرف خاکستر تمیز، یک ساعت در آون ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد و در دسیکاتور تا رسیدن به وزن ثابت خنک شد. مقدار ۲ تا

۳ گرم نمونه در ظرف خاکستر، وزن و روی شعله آزمایشگاهی زیر هود به آرامی و تا زمانی که دود آن از بین برود سوزانده شد. سپس به مدت ۶ ساعت در کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰ تا ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا خاکستر سفید تشکیل شود. سپس ظرف از کوره خارج و با قرارگیری در دسیکاتور خنک شد و نهایتاً توسط ترازو وزن گردید. میزان خاکستر با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$(۳-۳) \quad \frac{۱۰۰ \times (\text{وزن بوته خالی} - \text{وزن بوته حاوی خاکستر})}{\text{وزن نمونه}} = \text{درصد خاکستر}$$

۳-۸-۳ اندازه‌گیری چربی

جهت اندازه‌گیری چربی، ابتدا ۹-۱۰ گرم از نمونه وزن شد. چربی نمونه، به کمک حلال و با استفاده از دستگاه سوکسله، استخراج شد. عمل استخراج چربی، حداقل ۶ ساعت طول کشید. در پایان، بالن دستگاه جدا و جهت حذف باقیمانده حلال بر روی حمام آب گرم قرار داده شد. پس از آن در آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۲ ساعت قرار داده شد. پس از رسیدن به وزن ثابت، وزن آن یادداشت شد (بند ۱۱-۳ استاندارد ملی ایران شماره ۳۸۳).

۳-۸-۴ اندازه‌گیری اسیدیته

اسیدیته، عبارت است از درصد وزنی اسیدهای چرب آزاد که بر اساس روش آزمون استاندارد ۴۱۷۸ اندازه‌گیری شود. اصول آزمون، حل کردن نمونه در یک حلال مناسب و عیار سنجی آن با یک محلول اتانولی یا متانولی هیدروکسید سدیم یا پتاسیم است. (استاندارد ملی ایران شماره ۴۱۷۸)

در ارلن مایر ۵۰۰ میلی لیتری، ۱۰ گرم از نمونه کرم کاکائو وزن شد و به آن ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. ظرف محتوی مخلوط روی حرارت هیتر به مدت چند دقیقه قرار گرفت تا محلول یکنواخت گردد. با استفاده از کاغذ صافی، محلول حاصل صاف شد. به آن چند قطره معرف فنل فتالئین اضافه شد و با سود ۰/۱ نرمال تا ایجاد رنگ صورتی پایدار تیتراژ شد. بر اساس فرمول زیر میزان اسیدیته محصول بدست آمد.

$$\text{وزن نمونه} / (100 \times \text{مولاریته بیش ترین اسید} \times \text{میلی لیتر سود } 0/1 \text{ نرمال}) = \text{اسیدیته} \quad (3-4)$$

۳-۸-۵ اندازه گیری پراکسید

۲-۵ گرم از روغن استخراجی هر نمونه وزن شد و به آن ۳۰ میلی لیتر حلال پراکسید شامل مخلوط کلروفرم به اسیداستیک با نسبت ۲ به ۳ اضافه شد. ۰/۵ میلی لیتر محلول اشباع یدیدپتاسیم به محلول اضافه شد و یک دقیقه در تاریکی قرار گرفت سپس تیتراسیون محلول با استفاده از تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) و در حضور معرف چسب نشاسته انجام شد. مقدار عدد پراکسید با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (استاندارد ملی ایران شماره ۴۱۷۹).

$$P_V = V \times N \times 1000 / W \quad (3-5)$$

P_V : عدد پراکسید بر حسب میلی اکی والان بر کیلو گرم،

N : نرمالیه تیوسولفات سدیم

V : حجم تیوسولفات سدیم مصرفی

W : وزن نمونه.

۳-۸-۶ اندازه گیری قند

میزان قند نمونه های کرم کاکائو به روش لین - اینون و مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۲۴۶۲ اندازه گیری شد. در یک بالن حجمی ۱۰۰ سی سی ، مقدار ۵ گرم نمونه با ۲۵ سی سی آب مقطر گرم با دمای ۵۰ درجه سانتی گراد و ۲ سی سی از هریک از محلول های شفاف کننده شامل: استات روی و فروسیانید پتاسیم مخلوط شد و سپس با آب مقطر به حجم رسانده شد. مخلوط بدست آمده صاف شد و از محلول صاف شده جهت اندازه گیری استفاده شد. در یک بالن حجمی ۱۰۰ سی سی ، مقدار ۲۵ سی سی از محلول صاف شده منتقل شد و به آن ۲ سی سی اسید هیدروکلرید غلیظ

اضافه شد. سپس در بن ماری با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد، به مدت ۱۰ دقیقه حرارت داده شد. پس از سرد کردن، در حضور معرف فنل فتالئین، با سود غلیظ و سود ۰/۱ نرمال خنثی شد و با آب مقطر به حجم ۱۰۰ سی سی رسانده شد. با استفاده از این محلول خنثی شده و در مجاورت حرارت، تیتراسیون محلول های فهلینگ در حضور معرف متیلن بلو تا ظهور رنگ آجری ادامه یافت. درصد قندکل در ۱۰۰ گرم نمونه، بر حسب دکستروز (گلوکز)، از رابطه زیر بدست آمد.

$$\frac{100 \times 100 \times 100 \times (\text{عیار فهلینگ بر حسب دکستروز به میلی گرم})}{\text{درصد}}$$

قندکل

(۶-۳)

$$W \times V \times 1000 \times 25$$

۷-۸-۳ اندازه گیری شاخص های رنگ

در این مطالعه، روش پردازش تصویر برای اندازه گیری شاخص های رنگی مورد استفاده قرار گرفت. از آنجا که دید کامپیوتری، رنگ و تعداد نقصها در کل سطح ماده غذایی را ارزیابی کرده و می تواند کل سطح غذا را پوشش دهد، لذا بعنوان روش مناسبی، جهت اندازه گیری رنگ غذاها مورد توجه قرار گرفته است (Brimelow and et al., 2001).

در این روش، نمونه ها در سطح ثابتی و در فاصله ۲ سانتیمتری از لنز دوربین عکاسی قرار گرفت. منابع نور موجود در اتاق روشن شد. دوربین عکاسی جهت گرفتن عکس تنظیم شد. پس از گرفتن عکس، فایل آن با فرمت jpg در کامپیوتر ذخیره گردید. برای استخراج اندیس های رنگی از ابزار پردازش تصویر نرم افزار matlab با ورژن ۷/۸ استفاده شد و رنگها از فرمت استاندارد قرمز-سبز-آبی به فرمت Lab تبدیل شده و میانگین آنها محاسبه شد. فاکتورهای L^* (درخشندگی) در محدوده صفر (سیاه) تا ۱۰۰ (سفید)، a^* (از سبز تا قرمز) و b^* (از آبی تا زرد) با مقادیر از ۱۲۰- تا ۱۲۰+ سنجیده شد. مقادیر hue^0 (میزان درخشندگی) و C^* (درجه اشباع شدگی) با توجه به مقادیر b^* و a^* و از طریق روابط زیر محاسبه گردید:

$$c^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (7-3)$$

$$\text{hue}^0 = \arctan(b^*/a^*) \quad (8-3)$$

۳-۹ اندازه گیری ویژگیهای رئولوژیکی

۳-۹-۱ اندازه گیری ویسکوزیته

برای اندازه گیری گرانیوی نمونه‌ها و ویژگی‌های جریانی، از دستگاه رئومتر (Modular Compact Rheometer) مدل MCR, 301 کارخانه سازنده: anton-paar کشور اتریش، استفاده گردید (شکل ۷-۳). این رئومتر متشکل از یک شاقول با سطح مقطع دایره‌ای است که به صورت هم محور، داخل یک فنجانک حاوی سیال مورد آزمایش قرار گرفته و با دوران دادن شاقول یا فنجانک، میزان کشیده شدن سیال روی گلوله توسط حسگرهای گشتاور پیچشی اندازه گیری می‌شود. اندازه‌گیری‌ها مطابق روش فرزانه مهر و همکاران (۱۳۸۷) انجام گرفت.

ابتدا نمونه‌های کرم کاکائو در ظرفی در بسته در آون ۵۰ درجه سانتیگراد، به مدت ۷۵ دقیقه قرار گرفت. سپس نمونه‌های ذوب شده درون فنجانک ژئومتری استوانه‌های هم مرکز ریخته شدند. قبل از شروع اندازه گیری، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد با سرعت برشی ۱۵S همزده شدند. شاخص‌های رئولوژیکی برای هر یک از نمونه‌ها گزارش شد (Afoakwa et al., 2007; Bourne, MC., 2007; Barnes HA., 2008).



(شکل ۳-۷) دستگاه رئومتر

۳-۹-۲ آزمون نوسانی

از آزمون نوسانی، به منظور بررسی ویژگی‌های ویسکوالاستیک نمونه‌ها استفاده شد و روند تغییرات ضریب ذخیره (G' Storage modulus) و ضریب افت (G'' loss modulus) به صورت تابعی از بسامد زاویه ای، در محدوده 0.1 تا 100 رادیان بر ثانیه در دمای 25 درجه ی سانتی گراد اندازه گیری شد. جهت انجام آزمایش، در ناحیه ی خطی ویسکوالاستیک، میزان کرنش اعمال شده (Strain) 0.1% درصد بود.

۳-۱۰ ارزیابی ویژگی‌های حسی

ویژگی‌های حسی نمونه‌های تولیدی شامل: شیرینی، بافت، ذوب در دهان، رنگ، طعم و مزه و پذیرش کلی با استفاده از آزمون هدونیک ۵ سطحی (۵=خیلی خوب، ۴=خوب، ۳=متوسط، ۲=بد، ۱=خیلی بد) مطابق با (جدول ۳-۴) توسط ۱۵ ارزیاب آموزش دیده در محدوده سنی ۲۲ تا ۴۵ سال، ارزیابی گردید. نمونه‌های کرم کاکائو با وزن ۴-۵ گرم، که به طور تصادفی با کدهای ۳ رقمی شماره گذاری شده بودند همراه با پرسشنامه، در اختیار ارزیاب‌ها قرار داده شد (جدول ۳-۵). ارزیاب‌ها در فواصل بین ارزیابی هر نمونه از آب ولرم استفاده کردند (Popov-Raljic and Petronijivic., 2009).

طرح مورد استفاده در این ارزیابی طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار بعلاوه ۱ تیمار کنترل و ۱۵ تکرار بود.

(جدول ۳-۴) امتیاز بندی توصیف ویژگی های حسی شکلات

ویژگیهای حسی اصلی	امتیاز توصیف ویژگی مورد ارزیابی
شیرینی	۵ شیرینی کاملاً مطلوب و مناسب ۴ شیرینی قابل قبول ۳ شیرینی متوسط ۲ شیرینی ضعیف ۱ شیرینی بسیار زننده و نامناسب یا بسیار کم شیرین
بافت	۵ یکدست، بافت همگن، بافت کاملاً نرم ۴ ساختار یکدست و مناسب بافت نرمی قابل قبول ۳ حبابهای هوا، بافت کمی دان دان نامناسب، ظاهر متوسط ۲ بافت شنی ۱ ساختار از هم پاشیده، بافت شنی جدا شدن چربی
ذوب شدگی در دهان	۵ ذوب شدن خوب در دهان ۴ ذوب شدن آهسته، مالش پذیری خوب در دهان ۳ احساس شنی اندک، ذوب شدگی کم ۲ دارای حالت چسبناکی، احساس شنی، ذوب شدگی جزئی ۱ احساس شنی شدید، دارای حالت چسبناکی زیاد
ظاهر (رنگ، روشنایی، سطح)	۵ شکل مناسب، مقبولیت رنگ، یکدست و همگن ۴ تغییر اندک در شکل و ظاهر، مقبولیت رنگ، یکدست و همگن ۳ شکل و ظاهر تغییر یافته، عدم مقبولیت رنگ وجود حباب های هوا ۲ تغییر شدید در شکل و ظاهر، عدم مقبولیت رنگ ۱ ظاهر دفرمه (کاملاً از بین رفته)
طعم و مزه	۵ مناسب، طعم و آرومای فول ۴ مناسب، آرومای فول و طعم ضعیف ۳ آرومای ضعیف، طعم ضعیف نسبتاً تلخ ۲ طعم نامناسب تلخ ۱ طعم خارجی بسیار تلخ
پذیرش کلی	۵ خیلی دوست داشتم ۴ دوست داشتم ۳ کمی دوست داشتم ۲ دوست نداشتم ۱ اصلاً دوست نداشتم

(جدول ۳-۵) فرم ارزشیابی حسی کرم کاکائو (شکلات صبحانه)

نام ارزیاب:		تاریخ ارزیابی:				کد نمونه :	
پارامتر ارزیابی	درجه بندی کیفی بر مبنای صفر تا ۵ امتیاز						
	خیلی بد	بد	متوسط	خوب	خیلی خوب	ضریب امتیاز	
	۱	۲	۳	۴	۵	امتیاز کسب شده	
شیرینی	۱	۲	۳	۴	۵	۴	
بافت	۱	۲	۳	۴	۵	۳	
نحوه ذوب در دهان	۱	۲	۳	۴	۵	۲	
رنگ	۱	۲	۳	۴	۵	۱	
طعم	۱	۲	۳	۴	۵	۵	
پذیرش کلی	۱	۲	۳	۴	۵	۵	
مجموع ضرایب ۲۰=						مجموع امتیاز=	
...../۲۰=.....=مجموع ضرایب/مجموع امتیاز ها=امتیاز ارزیابی حسی نمونه با کد							

۳-۱۱ روش‌های تجزیه و تحلیل آماری

تیمارهای مورد استفاده در آزمایش با سطوح مختلف عصاره قارچ گانودرما، طی مدت نگهداری، از نظر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، رئولوژیکی، بافت و حسی بررسی و با نمونه شاهد مورد مقایسه قرار گرفتند. بخشی از نتایج براساس طرح آزمایش فاکتوریل و بخشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با کمک برنامه آماری SAS نسخه ۹/۴ و در سطح ۵ درصد مقایسه میانگین گزارش گردید. از نرم افزار اکسل ۲۰۱۳ برای ترسیم نمودارها استفاده شد.

فصل چہارم

نتائج و بحث

۱-۴ بررسی ویژگی‌های شیمیایی عصاره‌های استخراجی

نتایج مقایسه مقادیر بازده استخراج انواع عصاره قارچ گانودرما، بر حسب درصد، در جدول ۱-۴ ارائه شده است. نتایج نشان داد که میزان بازده عصاره آبی به طور معنی داری، بالاتر و بازده استخراج عصاره پلی ساکاریدی، به طور معنی داری پائین تر از دیگر تیمارها بود ($P < 0.05$). که احتمالاً به دلیل حذف یک سری از ترکیبات رنگی، قندهای آزاد، لیپیدها، برخی فنل ها و همچنین حذف پروتئین در مراحل استخراج، جهت افزایش درصد خلوص عصاره پلی ساکاریدی استخراجی بوده است.

(جدول ۱-۴) نتایج محتوای فنل کل، فعالیت آنتی اکسیدانی، بازده استخراج انواع عصاره قارچ گانودرما

نوع عصاره	ترکیبات فنلی	خاصیت آنتی اکسیدانی IC50	بازده استخراج
	(میلی گرم گالیک اسید / میلی لیتر)	(میکرو گرم/میلی لیتر)	(درصد)
آبی	0.29 ± 0.02^B	42750.62 ± 19.30^A	9.44 ± 0.12^A
هیدروالکلی	0.81 ± 0.02^A	14423.92 ± 3.30^C	5.8 ± 0.10^B
پلی ساکاریدی	0.11 ± 0.02^C	39830.56 ± 3.30^B	4.40 ± 0.09^C

نتایج مقایسه مقادیر IC₅₀ نمونه‌های عصاره قارچ گانودرما بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر، در جدول ۱-۴ ارائه شده است. نتایج نشان داد که میزان IC₅₀ عصاره آبی، به طور معنی داری بالاتر و مقادیر IC₅₀ عصاره هیدروالکلی، به طور معنی داری پائین تر از دیگر تیمارها بود ($P < 0.05$).

نتایج مقایسه مقادیر محتوای فنل کل نمونه‌های عصاره قارچ گانودرما، بر حسب میلی گرم بر گرم، در جدول ۴-۱ ارائه شده است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان محتوای فنل کل عصاره پلی ساکارییدی، به طور معنی داری پائین تر و فنل کل عصاره هیدروالکلی، به طور معنی داری بالاتر از دیگر تیمارها بود ($P < 0.05$).

آزمون DPPH به طور وسیعی، به منظور تعیین فعالیت مهار رادیکال آزاد انواع گیاهان و ترکیبات خالص استفاده می گردد. نمونه هایی با مقادیر فنل کل بیشتر، قوی ترین تاثیر مهار کنندگی رادیکال آزاد (مقادیر IC_{50} کمتر) را نشان دادند که این نتایج، با نتایج Ghasemi و همکاران (۲۰۰۹)، Josuttis و همکاران (۲۰۱۲)، Klimczak و همکاران (۲۰۰۷)، Kiselova و همکاران (۲۰۰۶)، Jayaprakasha و همکاران (۲۰۰۸) و Kedage و همکاران (۲۰۰۷)، مطابقت داشت.

در این بررسی، تمامی عصاره ها، فعالیت های مهار رادیکال DPPH را به شیوه وابسته به غلظت نشان دادند که این نتایج، با نتایج Van Acker و همکاران (۱۹۹۶)، مطابقت داشت. مقدار کمتر IC_{50} ، مربوط به فعالیت بالاتر مهار کنندگی رادیکال می باشد (Yang et al., 2010).

مطالعات گذشته، نشان داد که بازده استخراج ترکیبات فنلی از بافت‌های گیاهی، با افزایش دمای استخراج، به طور مطلوبی افزایش می یابد که علت آن، ضعیف شدن برهمکنش ترکیبات فنلی با پروتئین و پلی ساکاریدها، نرم شدن بافت‌های گیاهی و در نتیجه خروج بیشتر این ترکیبات از بافت- گیاهی به حلال بیان شده است (Shi et al., 2003; Ruenroengklin et al., 2008). لذا در این تحقیق نیز، جهت خروج بیشتر ترکیبات فنلی از قارچ گانودرما، از دمای بالا استفاده شد.

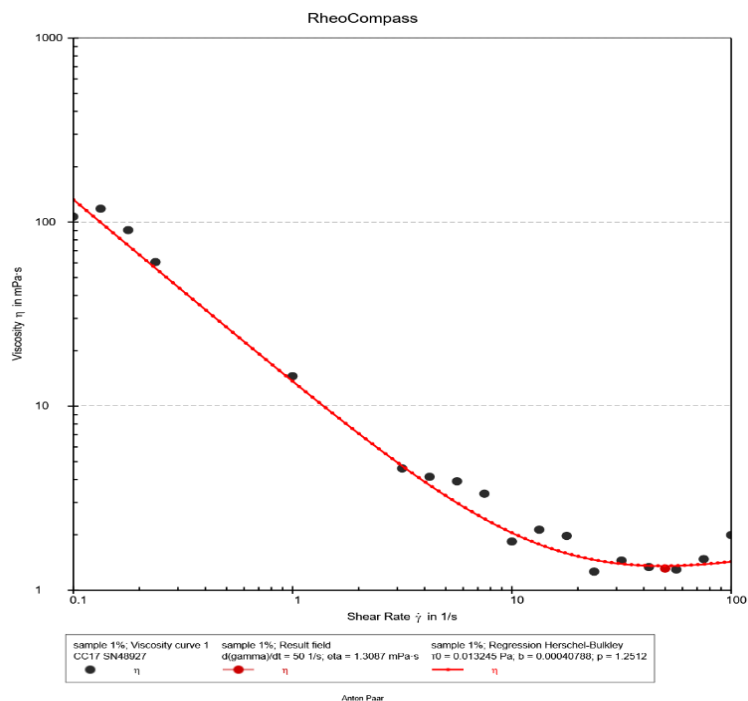
مطالعات قبلی، نشان داده است که میزان پلی فنل ها در پودر کاکائو، طی فرایند قلیایی شدن، کاهش یافته و این امر، باعث کاهش قابل توجهی در فعالیت آنتی اکسیدانی آن شده است. همچنین مطالعات نشان داده است در فرآورده های کاکائو، عمدتاً به دلیل دمای نسبتاً زیاد و وجود اکسیژن طی فرآیند تولید، ترکیب و محتوای پلی فنل های پودر کاکائو، بیشتر دچار تغییر می گردد (Wollgast and Anklam., 2000).

به طور کلی، وجود قند و چربی، قابلیت دسترسی به پلی فنل های کاکائو را افزایش و از طرف دیگر، استفاده از پروتئین شیر آن را کاهش می دهد (Tomas-Barberan., 2012; Serafini et al., 2003; Gallo et al., 2013; Keogh et al., 2007).

از آنجا که کرم کاکائو، حاوی قند و چربی بالایی است و از طرفی، در فرمولاسیون آن، از ۷ درصد پودر کاکائو بجای ۵۰-۳۵ درصدی که در شکلات تیره بکار می رود، استفاده شده است، همچنین بدلیل وجود حداقل ۹ درصد پودر شیر (حاوی پروتئین شیر (نسبتاً غنی از پرولین)) که ممکن است جذب پلی فنل های کاکائو را مختل کند (Wollgast and Anklam., 2000; Neilson et al., 2010). به نظر می رسد شکلات تیره، با میزان پلی فنل و خاصیت آنتی اکسیدانی بالاتر، پتانسیل بالاتری به عنوان اثرات سودمند سلامتی برای مصرف کننده داشته باشد (Cooper et al., 2008; Awe et al., 2013; Han et al., 2007). لذا در این پژوهش، با توجه به نتایج مقایسه مقادیر فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر عصاره هیدروالکلی، نسبت به سایر عصاره های استخراجی، عصاره هیدروالکلی گانودرما لوسیدیوم جهت غنی سازی این محصول، در مراحل بعدی انتخاب شد.

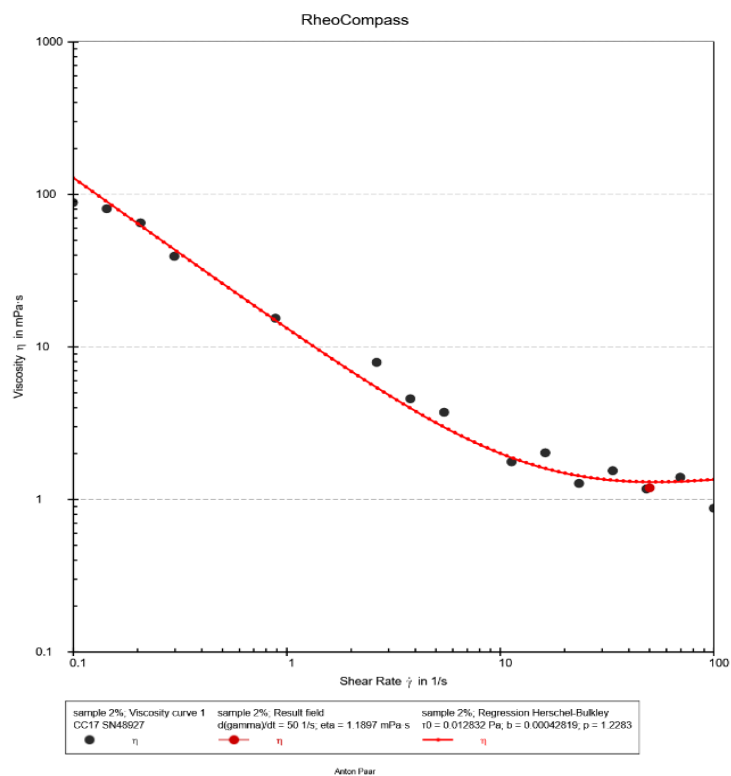
۴-۲ بررسی ویژگی های رئولوژیکی عصاره انتخابی

با توجه به شکل ۴-۱، ۴-۲ و ۴-۳ که نمودار ویسکوزیته به سرعت برشی عصاره های انتخابی، در ۳ سطح را نشان می دهد، مشخص گردید که در همه نمونه ها، با افزایش مقدار سرعت برشی، ویسکوزیته به طور معنی داری کاهش یافت.



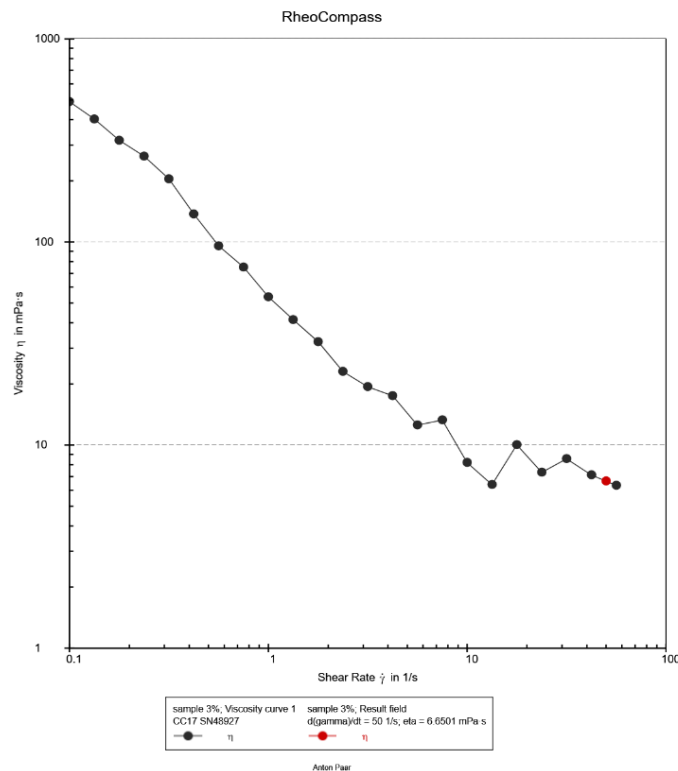
(شکل ۴-۱) نسبت سرعت برشی به ویسکوزیته

در عصاره ۱ درصد



(شکل ۴-۲) نسبت سرعت برشی به ویسکوزیته

در عصاره ۲ درصد



(شکل ۴-۳) نسبت سرعت برشی به ویسکوزیته

در عصاره ۳ درصد

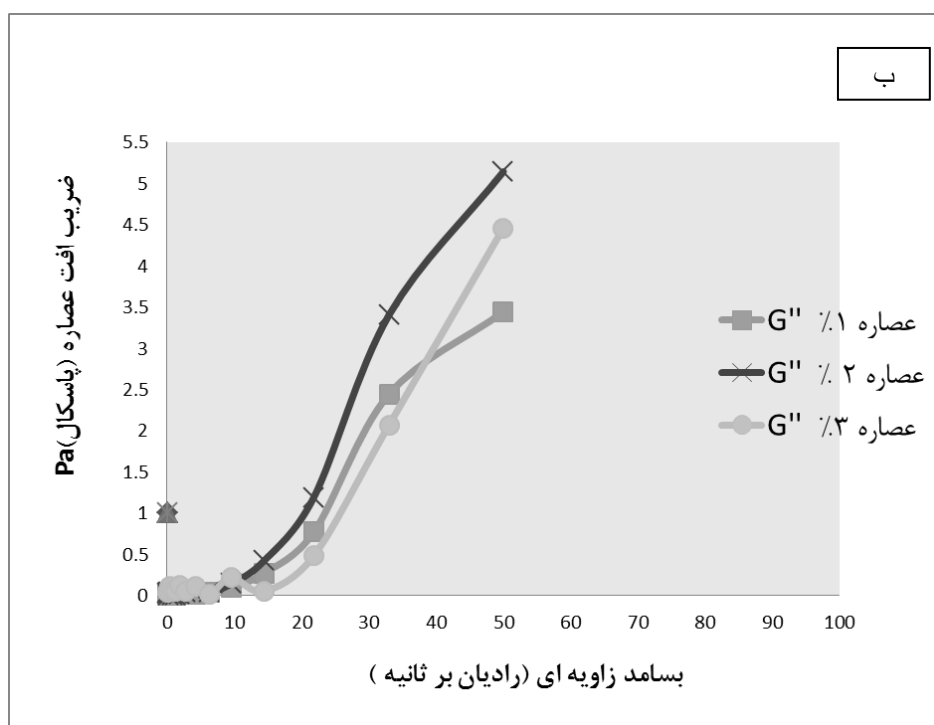
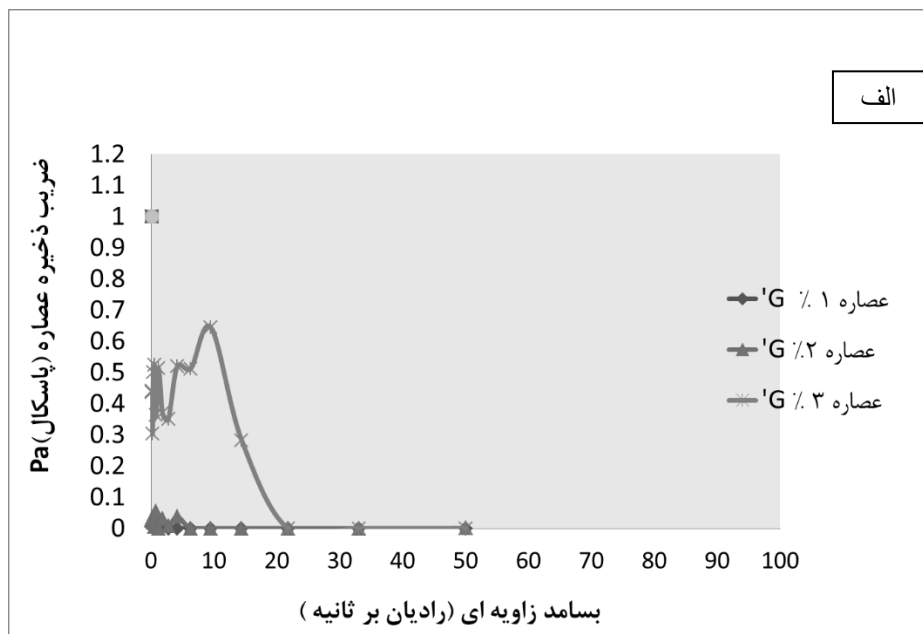
براساس داده‌های به دست آمده، ویسکوزیته عصاره ۱٪ در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد ۱۰۶/۹۵ m Pa.s بوده که با افزایش سرعت برشی به کمترین مقدار، یعنی ۱/۹۹ m Pa.s رسید. در عصاره ۲٪، این مقادیر از ۸۸/۳۳۶ m Pa.s شروع شده و به ۰/۸۷ m Pa.s رسید. همچنین در عصاره ۳٪، از ۴۹۰/۸۱ m Pa.s شروع شده و به کمترین مقدار در حد ۶/۳۳۳ m Pa.s رسید. این نتایج نشان داد که عصاره هیدروالکلی گانودرما، رفتار غیرنیوتنی از نوع رقیق شونده برشی داشته است. همچنین نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصاره تا ۳ درصد، ویسکوزیته نیز افزایش یافت. رفتار رئولوژیکی عصاره های ذکر شده به میزان ۹۹٪ با مدل قانون توان، مطابقت داشتند.

در یک پژوهش، رفتار رئولوژیکی عصاره قهوه با درصد رطوبت ۴۹-۹۰ درصد در محدوده دمایی ۱۰-۹۰ درجه، مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که رفتار نیوتنی در درصدهای بالای رطوبت و دما وجود داشت (Telis-Romero and Cabral., 2001).

رفتار رئولوژیکی عصاره تصفیه شده انبه، فاقد پالپ و پکتین در محدوده دمایی ۸۵-۱۵ درجه و غلظت ۶۵-۱۵ درصد، رفتار نیونتی نشان داد (Singh and Eipeson., 2007).

دلیل تفاوت رفتار رئولوژیکی عصاره هیدروالکلی حاضر نسبت به عصاره های مورد استفاده در پژوهش های قبلی انجام شده، احتمالاً بدلیل وجود ترکیبات پلی ساکاریدی موجود در عصاره هیدروالکلی بوده است.

جهت بررسی ویژگی های ویسکوالاستیک عصاره در غلظت های متفاوت، از آزمون نوسانی استفاده شد. و روند تغییرات ضریب افت (G'' loss modulus) و ضریب ذخیره (G' Storage modulus) در دمای ۲۵ درجه ی سانتی گراد به صورت تابعی از بسامد زاویه ای در محدوده ۰/۰۱ تا ۵۰ رادیان بر ثانیه اندازه گیری شد (شکل ۴-۴). در مایعی که فاقد هرگونه ویژگی الاستیک است، تمام انرژی به صورت گرما تلف می شود و G' برابر صفر خواهد بود در حالیکه برای یک ماده الاستیک کامل که تمام انرژی اعمال شده را ذخیره می کند، مقدار G'' صفر است. اغلب مواد غذایی بین این دو حالت بوده و ویسکوالاستیک هستند (Barnes, 2008). بررسی داده های بدست آمده نشان داد که با افزایش غلظت عصاره، ضریب ذخیره در عصاره افزایش یافت و در هر نمونه عصاره، ضریب افت بیشتر از ضریب ذخیره بود که نشان دهنده رفتار ویسکوز عصاره بود.



(شکل ۴-۴) تأثیر نسبت‌های مختلف عصاره قارچ گانودرما روی (الف) ضریب ذخیره و (ب) ضریب

افت به صورت تابعی از بسامد زاویه‌ای

۳-۴ بررسی خصوصیات کرم کاکائو تولید شده

۱-۳-۴ رنگ سنجی

نتایج آنالیز واریانس رنگ سنجی و تغییرات رنگ نمونه های کرم کاکائو غنی شده حاصل تصاویر دوربین عکاسی، به ترتیب در جدول ۲-۴ و شکل ۵-۴ نشان داده شده است.

(جدول ۲-۴) آنالیز واریانس رنگ سنجی نمونه های کرم کاکائو غنی شده

میانگین مربعات						
منابع تغییرات	درجه آزادی	L*	a*	b*	کروما	زاویه هیو
اثر افزودن عصاره	۴	۶۱/۴۱***	۱۳/۱۰***	۳۳/۹۸***	۵۶/۰۲***	۰/۰۹***
خطا	۵	۰/۴۸	۰/۰۷	۰/۱۷	۰/۲۵	۰/۰۰۱
کل	۱۰	-	-	-	-	-
P>0.05 ^{ns}		P≤0.05*		P<0.01***		P=0.01**



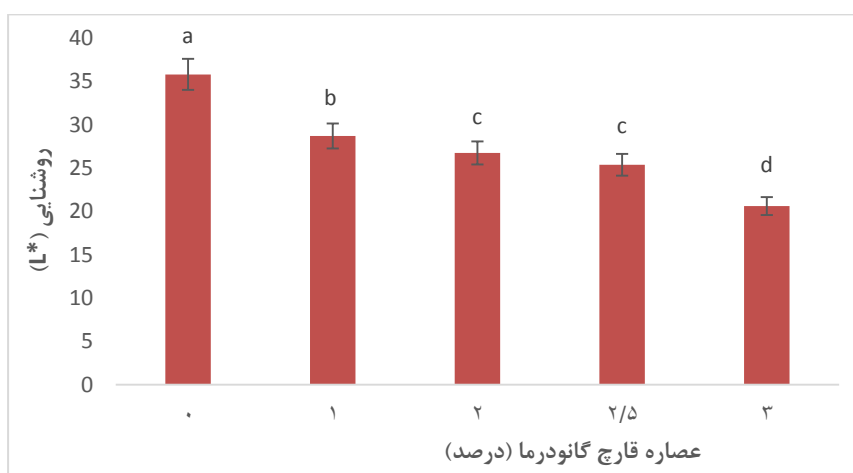
(شکل ۵-۴) تأثیر نسبت های مختلف عصاره قارچ گانودرما روی رنگ نمونه های کرم کاکائو (الف):

کرم کاکائو شاهد، (ب): کرم کاکائو با ۱٪ عصاره قارچ گانودرما، (ج): کرم کاکائو با ۲٪ عصاره قارچ گانودرما،

(د): کرم کاکائو با ۲/۵٪ عصاره قارچ گانودرما، (و): کرم کاکائو با ۳٪ عصاره قارچ گانودرما

۴-۳-۱-۱ مولفه رنگی L*

نتایج آنالیز واریانس مقادیر مولفه رنگی L* نمونه های کرم کاکائو در جدول ۴-۲ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می شود، عصاره قارچ گانودرما، تأثیر معنی داری بر روی فاکتور روشنایی نمونه های کرم کاکائو داشت ($p < 0.05$). نتایج مقایسه میانگین نمونه ها نشان داد، با افزایش درصد عصاره ها، مولفه رنگی L* نمونه های کرم کاکائو به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$). به طوری که پائین ترین میزان مولفه رنگی L*، در نمونه حاوی ۳٪ عصاره قارچ گانودرما و بالاترین میزان آن، در نمونه های شاهد مشاهده شد ($p < 0.05$) (شکل ۴-۶). همانطور که مشاهده می شود، بین نمونه ۲ و ۲/۵ درصد، از لحاظ آماری، اختلاف معنی داری دیده نشد ($p > 0.05$).

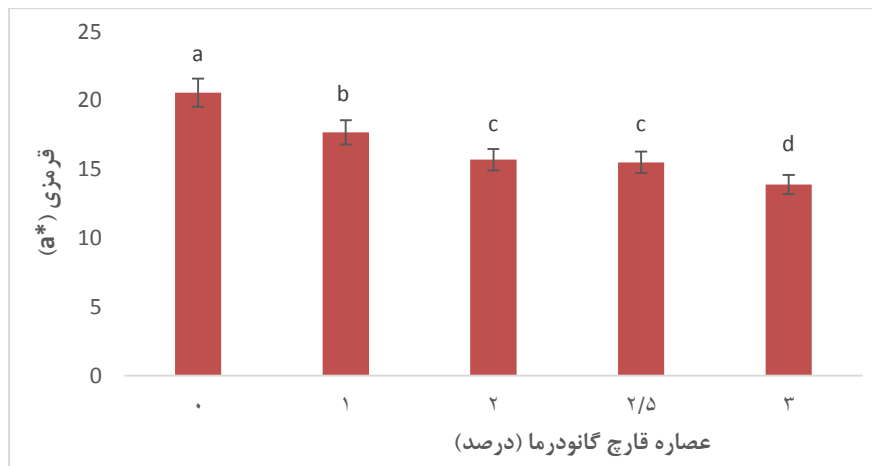


(شکل ۴-۶) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر فاکتور روشنایی کرم کاکائو

۴-۳-۱-۲ مولفه رنگی a*

نتایج آنالیز واریانس مقادیر مولفه رنگی a* نمونه های کرم کاکائو در جدول ۴-۲ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می شود، عصاره قارچ گانودرما تأثیر معنی داری بر روی فاکتور a* نمونه های کرم کاکائو داشت ($p < 0.05$). نتایج مقایسه مقادیر نمونه ها نشان داد، با افزایش درصد عصاره ها، مولفه رنگی a* نمونه های کرم کاکائو به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$) (شکل ۴-۷). به طوری که پائین ترین میزان مولفه رنگی a*، در نمونه حاوی ۳٪ عصاره قارچ گانودرما و

بالاترین میزان آن در نمونه های شاهد مشاهده شد ($p < 0.05$). همانطور که مشاهده می شود بین نمونه ۲ و ۲/۵ درصد، از لحاظ آماری، اختلاف معنی داری دیده نشد ($p > 0.05$).



(شکل ۴-۷) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر فاکتور قرمزی کرم کاکائو

۳-۱-۳-۴ مولفه رنگی b*

نتایج آنالیز واریانس مقادیر مولفه رنگی b* نمونه های کرم کاکائو در جدول ۴-۲ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می شود عصاره قارچ گانودرما، تأثیر معنی داری بر روی فاکتور زردی نمونه های کرم کاکائو داشت ($p < 0.05$). نتایج مقایسه میانگین مولفه رنگی b* نمونه های کرم کاکائو تولیدی نشان داد، که با افزایش درصد عصاره، مولفه رنگی b* نمونه های کرم کاکائو، به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$) (شکل ۴-۸). همانطور که در نمودار نیز مشاهده می شود، بین نمونه های ۱، ۲ و ۲/۵ درصد عصاره قارچ گانودرما، اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$).



(شکل ۴-۸) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر فاکتور زردی کرم کاکائو

۴-۳-۱-۴ کروما (شدت رنگ)

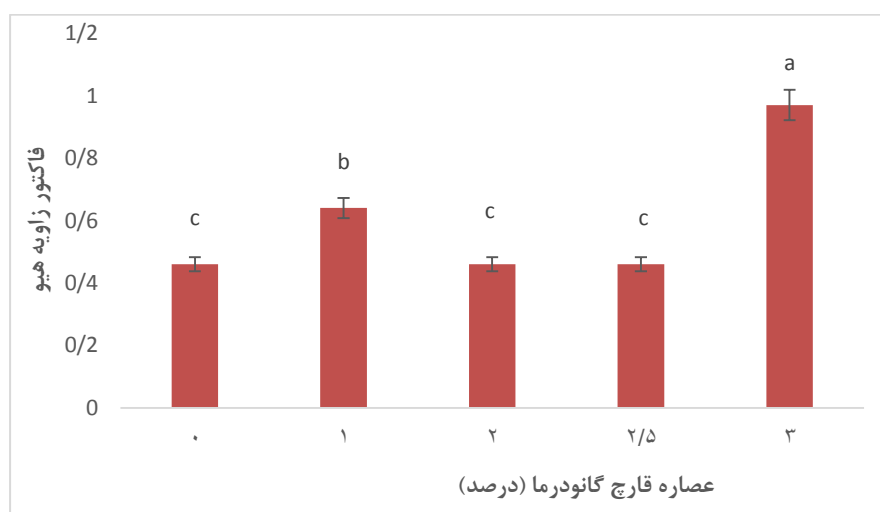
نتایج آنالیز واریانس مقادیر مولفه رنگی کروما نمونه های کرم کاکائو در جدول ۴-۲ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می شود، عصاره قارچ گانودرما، تأثیر معنی داری بر روی فاکتور کروما نمونه های کرم کاکائو داشت ($p < 0.05$). نتایج مقایسه میانگین مولفه رنگی کروما نمونه های کرم کاکائو تولیدی نشان داد، که با افزایش درصد عصاره، مولفه کروما نمونه های کرم کاکائو، به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$) (شکل ۴-۹). همانطور که در نمودار نیز مشاهده می شود بین نمونه های ۱، ۲ و ۲/۵ درصد عصاره قارچ گانودرما، اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$).



(شکل ۴-۹) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر فاکتور کروما کرم کاکائو

۴-۳-۱-۵ فاکتور زاویه هیو

نتایج آنالیز واریانس مقادیر مولفه رنگی هیو نمونه‌های کرم کاکائو در جدول ۴-۲ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، عصاره قارچ گانودرما، تأثیر معنی‌داری، بر روی فاکتور هیو نمونه‌های کرم کاکائو داشت ($p < 0.05$). نتایج مقایسه میانگین مولفه رنگی هیو نمونه‌های کرم کاکائو تولیدی نشان داد که، با افزایش درصد عصاره، مولفه هیو نمونه‌های کرم کاکائو به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$) (شکل ۴-۱۰). البته همانطور که در نمودار نیز مشاهده می‌شود، بین نمونه‌های ۱، ۲ و ۲/۵ درصد عصاره قارچ گانودرما، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$).



(شکل ۴-۱۰) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر فاکتور هیو کرم کاکائو

رنگ ماده غذایی یکی از ویژگی‌های اصلی و پایه جهت پذیرش مصرف کننده است و به عنوان یکی از ویژگی‌های بصری جهت توصیف ظاهر شکلات نظیر شکل، براقیت و سطح استفاده می‌گردد. رنگ شکلات علاوه بر روش تولید، توسط زبری سطح شکلات و ترکیبات تشکیل دهنده آن تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Briones et al., 2006).

احتمالا تغییرات در ویژگی‌های سطحی و پخش نور، باعث ایجاد تفاوت در میزان روشنایی کرم کاکائو شده است. با افزایش درصد غنی سازی در نمونه‌های کرم کاکائو، جذب آب افزایش یافته و در

نتیجه باعث کاهش پراکنش نور شده که در اثر آن درجه درخشندگی شکلات نیز کاهش یافته و شکلات تیره تر به نظر می‌رسد (Bolnez et al., 2006).

به نظر می‌رسد که وجود مقادیر بالای مونوساکارید (گلوکز و فروکتوز) و فیبرهای رژیمی در گانودرما، سبب افزایش شدت واکنش‌های قهوه‌ای شدن مایلارد شده است. زیرا فیبرهای رژیمی مانند بتاگلوکان، به عنوان بافر عمل کرده و از کاهش pH محیط در پی انجام واکنش‌های مایلارد جلوگیری کرده و رطوبت در حد مناسب، جهت انجام این واکنش، در حد بالایی باقی مانده و در نتیجه باعث تیره شدن رنگ محصول می‌گردد. شاید بتوان، دلیل کاهش a^* و b^* در نمونه‌ها را، برهمکنش میان گانودرما با سایر اجزا موجود در فرمولاسیون و ترکیبات رنگی موجود در گانودرما دانست (Jairo and Felipe., 2019).

فواکوا و همکاران (۲۰۰۸) نیز، طی پژوهشی میزان روشنایی شکلات را به میزان لسیترین، چربی شکلات و اندازه ی ذرات تشکیل دهنده آن مرتبط دانستند، ولی از آنجایی که در تحقیق حاضر، میزان لسیترین و چربی استفاده شده در فرمولاسیون نمونه های کرم کاکائو ثابت و برابر بود، احتمالاً تفاوت در اندازه ی ذرات، دلیل اختلاف رنگ در نمونه ها شده است.

شوریده و همکاران ۲۰۱۲، بیان کردند که با کاهش اندازه ذرات، میزان پخش نور در شکلات بیشتر شده و روشنایی محصول افزایش خواهد یافت. از آنجایی که تحقیق حاضر، احساس دهانی اندازه ذرات در نمونه های کنترل، کمتر از سایر فرمولاسیون‌ها بود، لذا این نمونه‌ها در مقایسه با نمونه های غنی شده، دارای مقدار L^* بیشتری بودند.

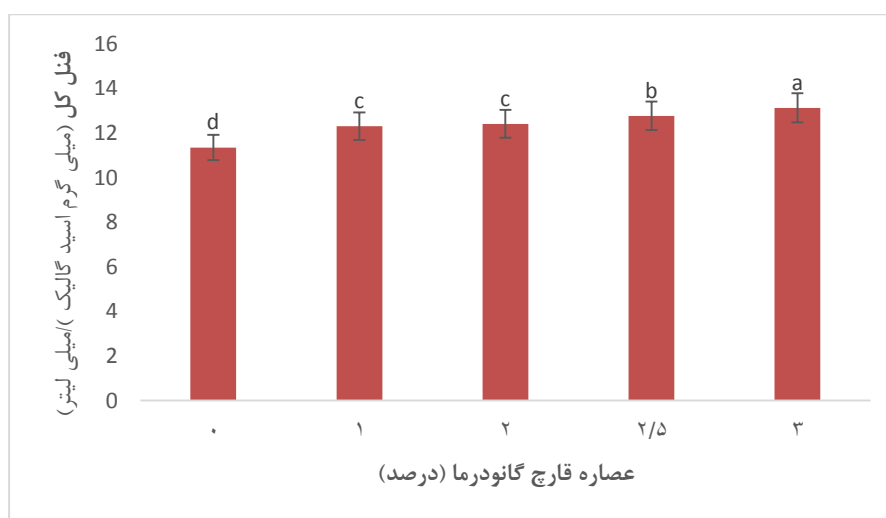
۴-۳-۲ ترکیبات فنلی

ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدان‌ها، دارای قابلیت ارتقای سلامتی از طریق جلوگیری از بیماری‌هایی همانند بیماری‌های قلبی، سرطان و دیابت می‌باشند (Guevara et al., 2012). بنابراین افزایش میزان این ترکیبات، یکی از اهداف مهم در صنعت غذا محسوب می‌شود.

نتایج آنالیز واریانس مقادیر ترکیبات فنلی نمونه‌های کرم کاکائو در جدول ۳-۴ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، عصاره قارچ گانودرما تأثیر معنی‌داری بر روی ترکیبات فنلی نمونه‌های کرم کاکائو داشت ($p < 0.05$). نتایج مقایسه مقادیر ترکیبات فنلی نمونه‌های کرم کاکائو تولیدی نشان داد که، با افزایش درصد عصاره قارچ گانودرما، ترکیبات فنلی نمونه‌های کرم کاکائو به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$) (شکل ۴-۱۱). همانطور که در نمودار نیز مشاهده می‌شود، بین نمونه‌های ۱ و ۲ درصد عصاره قارچ گانودرما، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$).

(جدول ۳-۴) آنالیز واریانس ترکیبات فنلی، رطوبت، چربی، خاکستر و قند نمونه‌های کرم کاکائو غنی شده

میانگین مربعات						
منابع تغییرات	درجه آزادی	ترکیبات فنلی	رطوبت	خاکستر	چربی	قند
اثر افزودن عصاره	۴	۰/۸۸***	۰/۱۳***	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۴**	۳/۳۷***
خطا	۵	۰/۰۰۴	۰/۰۰۶	۰/۰۲	۰/۰۰	۰/۰۰
کل	۱۰	-	-	-	-	-
$P=0.01^{**}$ $P<0.01^{***}$ $P\leq 0.05^{*}$ $P>0.05^{ns}$						



(شکل ۴-۱۱) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر ترکیبات فنلی کرم کاکائو

قارچ گانودرما لوسیدیوم، حاوی مقدار زیادی از تری ترپن‌ها می باشد. گانودریک اسیدها، گروهی از متابولیت های ثانویه و بخش بزرگی از تری ترپنوئیدها را تشکیل می دهند که تلخ مزه هستند. تاکنون بیش از ۱۵۰ نوع گانودریک اسید از گانودرما لوسیدیوم و گونه های دیگر به دست آمده است (Kim et al., 1999., Zhu et al., 2009). مطالعات نشان داده که اسپور قارچ، دارای مقدار بیشتری گانودریک اسید نسبت به سایر قسمت های قارچ است. از طرفی مقدار و ترکیب تری ترپن های موجود در قارچ، تحت تاثیر منطقه ای است که قارچ در آن رشد می کند (Min et al., 1999). گانودریک اسیدها، دارای ایزوفرم های متفاوتی هستند. تاکنون بیش از ۱۳۰ ایزوفرم مختلف گانودریک اسید از اسپورها، اندام بارده گانودرما و میسلیوم آن جداسازی و شناسایی شده است (Gill et al., 2016).

کریت و همکاران در سال ۲۰۱۶، تأثیر افزودن پودرهای گیلان، اسفناج و گرده زنبور عسل را بر میزان فنل کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی شکلات سفید مورد بررسی قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که غنی سازی شکلات با این ترکیبات، باعث افزایش ترکیبات فنلی کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی محصولات تولیدی شد.

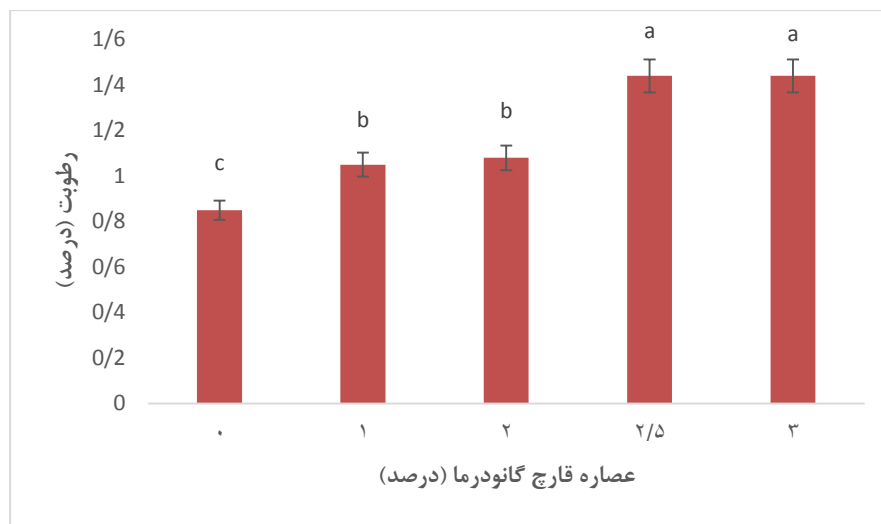
طی مطالعه انجام شده توسط ونگاس و همکاران در سال ۲۰۱۸، بتاگلوگان استخراجی قارچ گانودرما به همراه دانه ساچا اینچی (منبع غنی از اسیدهای چرب چند غیر اشباعی، توکوفرول ها، فیتواسترول ها، ترکیبات فنلی و آنتی اکسیدانی) جهت غنی سازی ماست، استفاده شد.

Belščak و همکاران در سال ۲۰۱۲ در تحقیقی، اثر مصرف ۱٪، ۳٪ عصاره از برگ تمشک قرمز و همچنین پودر فریزد رایر شده در سطح ۱٪ را در فرمول شکلات، مورد بررسی قرار دادند. اضافه کردن ۳٪ عصاره استخراج شده، شکلات سخت تر، با ویسکوزیته بیشتر تولید کرد و از لحاظ خواص حسی غیرقابل تغییر بود. ولی موجب افزایش ترکیبات پلی فنلی و فلاوان تری آل و پروآنتوسیانیدین شد. اضافه کردن پودر خشک شده به فرمولاسیون شکلات، تغییر قابل توجهی در بافت آن ایجاد نکرده و شکلات، بافت، عطر و طعم مناسبی داشت. اضافه کردن در سطح ۱٪ عصاره و ۱٪ پودر فریزد رایر شده عصاره، تفاوت معنی داری در محتوای ترکیبات پلی فنلی ایجاد نکرد که با نتایج این

پژوهش مغایرت داشت. چراکه غنی سازی توسط عصاره قارچ گانودرما حتی در سطح ۱٪ نیز، باعث افزایش میزان ترکیبات فنلی کل نمونه، نسبت به نمونه شاهد گردید.

۴-۳-۳ رطوبت

نتایج آنالیز واریانس مقادیر رطوبت نمونه‌های کرم کاکائو در جدول ۴-۳ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، عصاره قارچ گانودرما، تأثیر معنی‌داری بر روی رطوبت نمونه‌های کرم کاکائو داشت ($p < 0.05$). نتایج مقایسه مقادیر رطوبت نمونه‌های کرم کاکائو تولیدی نشان داد که، با افزایش درصد عصاره قارچ گانودرما، رطوبت نمونه‌های کرم کاکائو به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$) (شکل ۴-۱۲). همانطور که در نمودار نیز مشاهده می‌شود، بین نمونه‌های ۱ و ۲ و نمونه ۲/۵ و ۳ درصد عصاره قارچ گانودرما، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). همانطور که مشاهده می‌شود، بیشترین میزان رطوبت، مربوط به نمونه ۲/۵ و ۳ درصد عصاره و کمترین، مربوط به نمونه شاهد می‌باشد.



(شکل ۴-۱۲) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر رطوبت کرم کاکائو

احتمالاً علت افزایش رطوبت با افزایش درصد غنی سازی، ناشی از وجود گروه‌های هیدروفیل با ویژگی جذب رطوبت بالا در عصاره است، بطوریکه عصاره در مرحله تولید شکلات، رطوبت را جذب کرده، در نتیجه فرمولاسیون‌های حاوی غلظت‌های بالای عصاره، دارای رطوبت بیشتری بودند.

فرزان مهر و عباسی (۲۰۰۹)، در شکلات هایی با درصد بالای جایگزین قند شامل: مالتودکسترین، اینولین و پلی دکستروز، رطوبت بیشتری را گزارش کردند. بیشترین مقدار رطوبت به ترتیب در نمونه- های دارای نسبت های بالای مالتودکسترین، پلی دکستروز و اینولین گزارش گردید که نشان دهنده افزایش توان نگهداری رطوبت، در صورت استفاده از نسبت های بالای این جایگزین های قند بوده است.

در تولید شکلات تیره توسط عصاره قند پالم، رطوبت نمونه ها نسبت به نمونه کنترل افزایش یافت که علت آن، به رطوبت بالای شیرین کننده و توانایی جذب رطوبت آن، نسبت داده شده بود (Saputro et al., 2016).

شوریده و همکاران (۱۳۸۹)، D- تاگاتوز و اینولین را به عنوان جایگزین ساکارز در شکلات تیره، استفاده کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که با افزایش درصد اینولین، رطوبت نمونه ها افزایش یافت که علت این موضوع را به وجود گروه های آبدوست و ویژگی جذب رطوبت بالای آنها نسبت دادند. از طرفی، پودر مصرفی نسبت به شکر، دارای رطوبت بیشتری بوده و به دلیل حفظ رطوبت در طی ورز دادن، مقدار کمتری رطوبت را از دست داد.

در پژوهش گومس و همکاران (۲۰۰۷)، نتایج مطالعات نشان داده است که هر چقدر نسبت رطوبت در محصول بیشتر گردد، شدت جذب آب محصول افزایش می یابد. در نتیجه با افزایش مقدار آن، شدت ذوب نمونه ها در دهان کاهش می یابد که با نتایج مطالعه حاضر نیز مطابقت داشت.

نتایج حاصل در خصوص افزایش رطوبت، با پژوهش بیطرف و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت دارد. آنها شکلات تلخ کم کالری پری بیوتیک را با استفاده از پلی دکستروز، اینولین و مالتو دکسترین تولید کردند. نتایج نشان داد که تمام نمونه ها، رطوبت بیشتری نسبت به نمونه شاهد داشتند.

۴-۳-۴ خاکستر

نتایج آنالیز واریانس مقادیر خاکستر نمونه‌های کرم کاکائو در جدول ۴-۳ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، عصاره قارچ گانودرما، تأثیر معنی‌داری بر روی خاکستر نمونه‌های کرم کاکائو نداشت ($p > 0.05$).

آرتوندوگوجی و همکاران (۲۰۱۹)، اثر جایگزینی گانودرما لوسیدیوم با چربی، به منظور تولید یک کم کالری، در غلظت‌های ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ درصد وزنی را مورد بررسی قرار داده و ویژگی‌های کیفی تغذیه‌ای و تکنولوژیکی را نسبت به نمونه شاهد ارزیابی نمودند. نتایج نشان داد که با افزایش درصد جایگزینی، حجم مخصوص کاهش و سفتی بافت افزایش یافت. محتوی رطوبت، فعالیت آبی، پروتئین و خاکستر در یک‌های کم کالری، در مقایسه با نمونه کنترل تغییر محسوسی نکرد، و در عین حال میزان فیبر و چربی به ترتیب، افزایش و کاهش پیدا نمود (Jairo and Felipe, 2019).

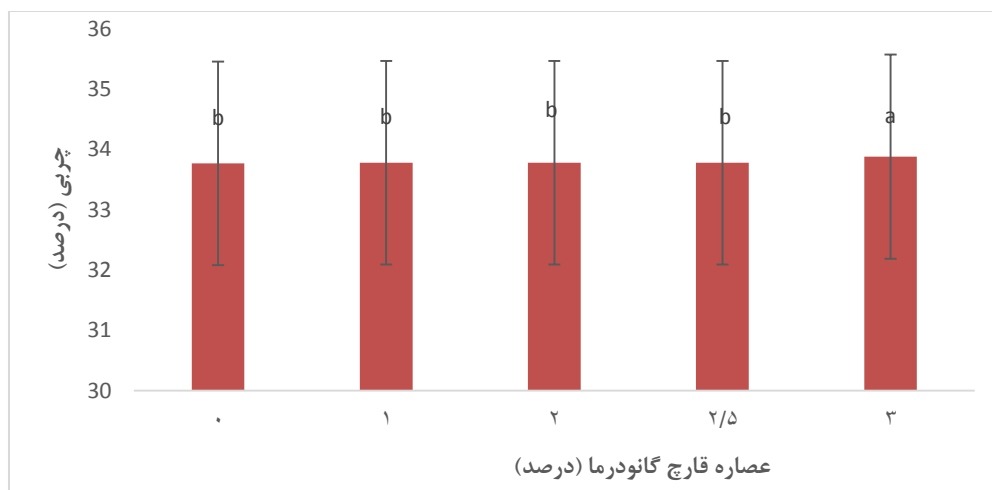
۴-۳-۵ چربی

نتایج آنالیز واریانس مقادیر چربی نمونه‌های کرم کاکائو در جدول ۴-۳ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، عصاره قارچ گانودرما، تأثیر معنی‌داری بر روی چربی نمونه‌های کرم کاکائو داشت ($p < 0.05$). همانطور که در شکل (۴-۱۳) مشاهده می‌شود، بین نمونه شاهد تا نمونه ۲/۵ درصد عصاره قارچ گانودرما، اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ($p > 0.05$). اما در نمونه حاوی ۳ درصد قارچ گانودرما، به طور معنی‌داری، میزان چربی افزایش یافت. علت افزایش میزان چربی با افزایش عصاره قارچ گانودرما، احتمالاً به دلیل حضور مقادیر پروتئین و چربی بالا در گانودرما می‌باشد (Keypour et al., 2013).

Borchers و همکاران (۱۹۹۹) نیز گزارش کردند؛ قارچ گانودرما حاوی ۲/۸ درصد چربی است که نسبت بالای اسیدهای چرب اشباع نشده به کل اسیدهای چرب و مقدار کم چربی کل، نشان دهنده ارزش قابل توجه دارویی این قارچ بوده است.

طی مطالعه انجام شده توسط ونگاس و همکاران در سال ۲۰۱۸، بتاگلوگان استخراجی قارچ گانودرما به همراه دانه ساچا اینچی (منبع غنی از اسیدهای چرب چند غیر اشباعی، توکوفرول‌ها، فیتواسترول‌ها، ترکیبات فنلی و آنتی اکسیدانی) جهت غنی سازی ماست، استفاده شد. نتایج نشان داد سرعت تخمیر، تحت تاثیر این غنی سازی قرار نگرفت. غنی سازی به طور قابل ملاحظه ای، میزان پروتئین، چربی، کربوهیدرات، خاکستر، مواد جامد، اسید آسپاریک، سرین، آرژنین، گلیسین، ترئونین، تیروزین و آلانین را افزایش داد. اسیدهای چرب آلفا-لینولنیک (۰/۴۹/۳) و لینولئیک (۰/۳۲/۲)، که به ترتیب در نمونه های غنی شده ۵۰ و ۲۵ برابر نسبت به نمونه شاهد، بالاتر بود. پذیرش حسی ماست های غنی شده، توسط ارزیاب ها، بالاتر از ۷۰٪ گزارش گردید.

پیغمبردوست و همکاران در سال ۲۰۱۶، از دانه کنجد و پودر هسته خرما جهت غنی سازی شکلات شیری استفاده کردند. نتایج بدست آمده، حاکی از بهبود خواص حسی و تغذیه ای شکلات شیری بوده و در نتیجه محصولی سرشار از ترکیبات آنتی اکسیدانی و اسیدهای چرب ضروری تولید شد.



(شکل ۴-۱۳) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر چربی کرم کاکائو غنی شده

۴-۳-۶ قند

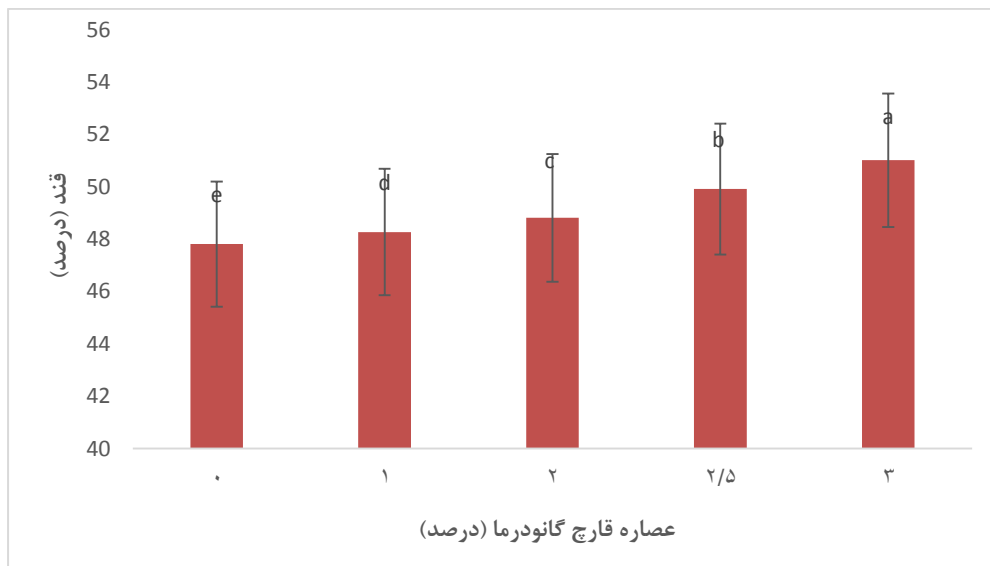
نتایج آنالیز واریانس مقادیر قند نمونه‌های کرم کاکائو در جدول ۴-۳ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، عصاره قارچ گانودرما، تأثیر معنی‌داری بر قند نمونه‌های کرم کاکائو داشت ($p < 0.05$). نتایج مقایسه مقادیر قند نمونه‌های کرم کاکائو تولیدی نشان داد که، با افزایش درصد عصاره قارچ گانودرما، قند نمونه‌های کرم کاکائو، به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$) (شکل ۴-۱۴) و همانطور که مشاهده می‌شود، این افزایش، در تمامی نمونه‌ها، معنی‌دار بود و همه نمونه‌ها با هم اختلاف معنی‌دار داشتند.

گانودرما، دارای میزان قابل توجهی از انواع پلی‌گلیکان‌های زیست فعال و پلی‌ساکاریدها در تمام اجزای خود می‌باشد که احتمالاً علت افزایش میزان قند در نمونه‌های کرم کاکائو تیمار شده با گانودرما، نسبت به نمونه شاهد بوده است.

محققین، فیبر رژیمی اینولین را که دارای خواص تغذیه‌ای مطلوب است، بعنوان جایگزین قند در تولید شکلات تیره به صورت یک ماده غذایی عملگرا به کار بردند. در این تحقیق، فیبر اینولین و D تاگاتوز که یک ستوهگروز طبیعی با شیرین‌کنندگی معادل ساکارز است، به تنهایی و همچنین با درصدهای اختلاط مختلف، بعنوان جایگزین ساکارز در تولید شکلات تیره استفاده شد و سپس تأثیر آن بر ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی، رئولوژیکی و حسی شکلات تولید شده، مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه تحقیق، کاهش میزان کالری، سختی، فعالیت آبی و تنش تسلیم نمونه‌ها بود. به نظر می‌رسد استفاده از اینولین به همراه سایر شیرین‌کننده‌ها در شکلات، علاوه بر تأمین فیبر مورد نیاز روزانه، عاملی در جهت بهبود خصوصیات مختلف محصول باشد (شوریده و همکاران، ۱۳۸۹).

در مطالعه انجام شده توسط یانگ و همکاران در سال ۲۰۰۹ نیز، چگونگی تغییرات در برخی از اجزای شیر سویا، طی تخمیر با قارچ گانودرما لوسیدیوم بررسی شد. نتایج نشان داد که تولید پلی‌ساکارید، پروتئین و ویتامین‌های گروه B با افزایش گانودرما، افزایش یافت و ترکیبات نفاخ از قبیل

استاکیوز و رافینوز کاهش یافت. نتایج نشان داد که تخمیر با استفاده از گانودرما لوسیدیوم، می تواند باعث بهبود قابلیت پذیرش و سلامت شیر سويا شود.



(شکل ۴-۱۴) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر قند کرم کاکائو غنی شده

۷-۳-۴ ارزیابی حسی

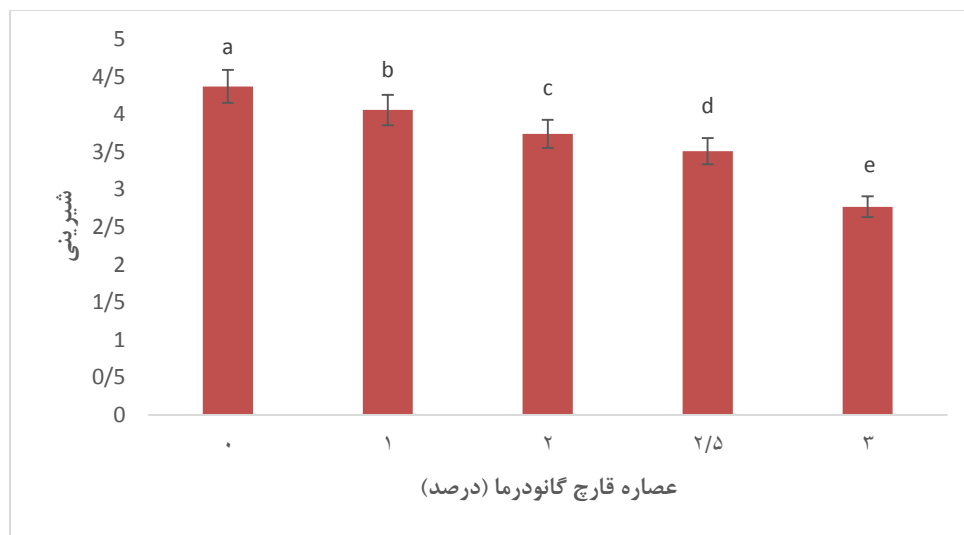
(جدول ۴-۴) آنالیز واریانس ارزیابی حسی نمونه‌های کرم کاکائو غنی شده

میانگین مربعات							
منابع تغییرات	درجه آزادی	شیرینی	بافت	ذوب شدن	رنگ	طعم	پذیرش کلی
اثر افزودن عصاره	۴	۰/۷۳۵***	۱/۳۰**	۰/۰۶۷**	۰/۲۹۹**	۱/۳۰***	۰/۷۵۸**
خطا	۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰۴	۰/۰۰۱	۰/۰۰
کل	۱۰	-	-	-	-	-	-
$P=0.01^{**}$ $P<0.01^{***}$ $P\leq 0.05^*$ $P>0.05^{ns}$							

۱-۷-۳-۴ شیرینی

نتایج آنالیز واریانس مقادیر ارزیابی حسی فاکتور شیرینی نمونه‌های کرم کاکائو در جدول ۴-۴ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، عصاره قارچ گانودرما، تأثیر معنی‌داری بر روی

شیرینی نمونه‌های کرم کاکائو داشت ($p < 0.05$). همانطور که در شکل ۴-۱۵ نمایش داده شده است، با افزایش میزان عصاره قارچ گانودرما، میزان شیرینی کاهش یافت. به طور کلی بیشترین میزان شیرینی، مربوط به نمونه شاهد و کمترین میزان آن، مربوط به نمونه حاوی ۳ درصد قارچ گانودرما می‌باشد. نتایج این قسمت با نتایج قسمت اندازه‌گیری قند نمونه‌ها، مطابق نمی‌باشد. علت این امر، احتمالاً بدلیل افزایش همزمان میزان ترکیبات تری ترپنوئیدها و عمدتاً گانودریک اسید تلخ مزه با افزایش غنی‌سازی، در این محصولات باشد.



(شکل ۴-۱۵) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر شیرینی کرم کاکائو غنی شده

۴-۳-۷-۲ بافت

نتایج آنالیز واریانس مقادیر ارزیابی حسی فاکتور بافت نمونه‌های کرم کاکائو در جدول ۴-۴ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، عصاره قارچ گانودرما، تأثیر معنی‌داری بر روی بافت نمونه‌های کرم کاکائو داشت ($p < 0.05$). همانطور که در شکل ۴-۱۶ نشان داده شده است، با افزایش میزان قارچ گانودرما، امتیاز دهی به بافت کرم کاکائوها کاهش یافت. همانطور که نشان داده شده است، در بین نمونه ۲، ۲/۵ و ۳ درصد، اختلاف معنی‌داری دیده نشد ($P > 0.05$). به طور کلی،

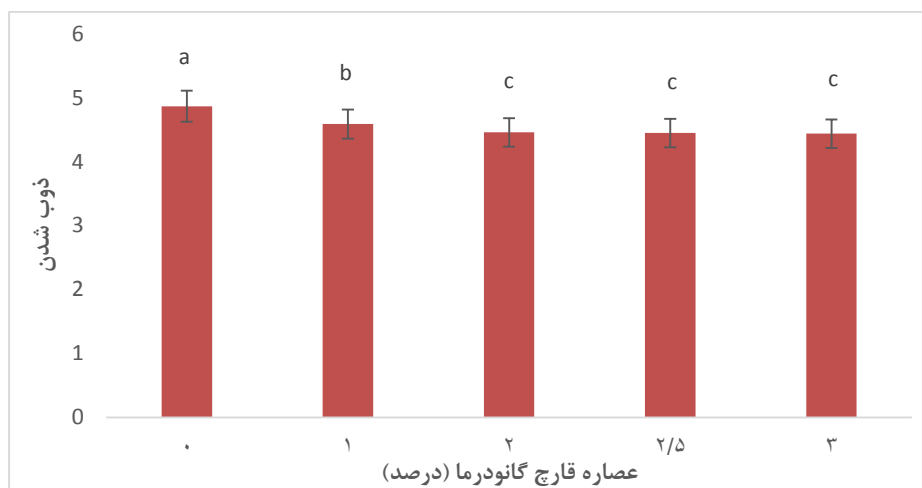
بیشترین میزان امتیاز بافت، مربوط به نمونه شاهد و کمترین میزان آن، مربوط به نمونه ۳ درصد عصاره قارچ گانودرما می‌باشد.



(شکل ۴-۱۶) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر بافت کرم کاکائو غنی شده

۴-۳-۷-۳ ذوب شدن

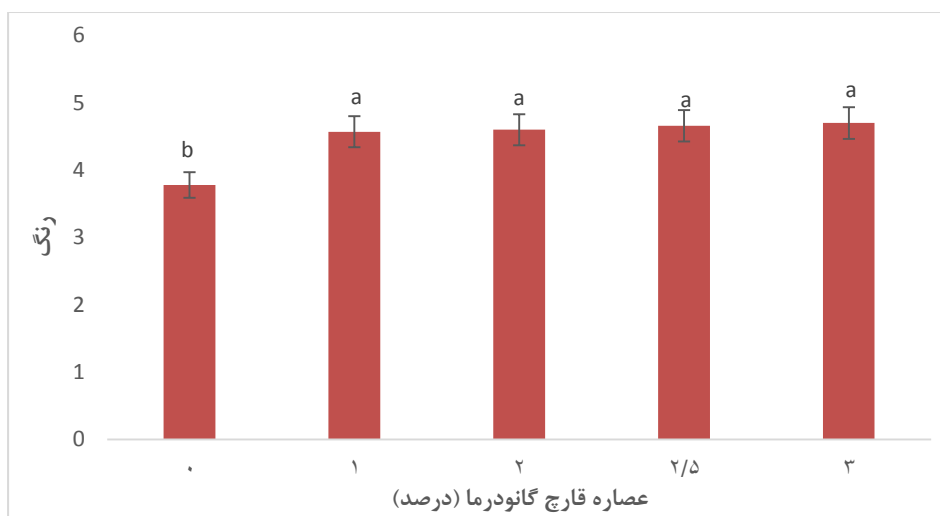
نتایج آنالیز واریانس مقادیر ارزیابی حسی فاکتور ذوب شوندگی نمونه‌های کرم کاکائو در جدول ۴-۴ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، عصاره قارچ گانودرما، تأثیر معنی‌داری بر روی خاصیت ذوب شوندگی نمونه‌های کرم کاکائو داشت ($p < 0.05$). همانطور که در شکل ۴-۱۷ نشان داده شده است، با افزایش میزان قارچ گانودرما، امتیازدهی به خاصیت ذوب شوندگی کرم کاکائوها کاهش یافت. همانطور که نشان داده شده است، بین نمونه‌های ۲، ۲/۵ و ۳ درصد، اختلاف معنی‌داری دیده نشد ($P > 0.05$). به طور کلی، بیشترین میزان امتیاز ذوب شدن، مربوط به نمونه شاهد و کمترین میزان آن، مربوط به نمونه ۳ درصد عصاره قارچ گانودرما می‌باشد.



(شکل ۴-۱۷) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر ذوب شوندگی کرم کاکائو غنی شده

۴-۷-۳-۴ رنگ

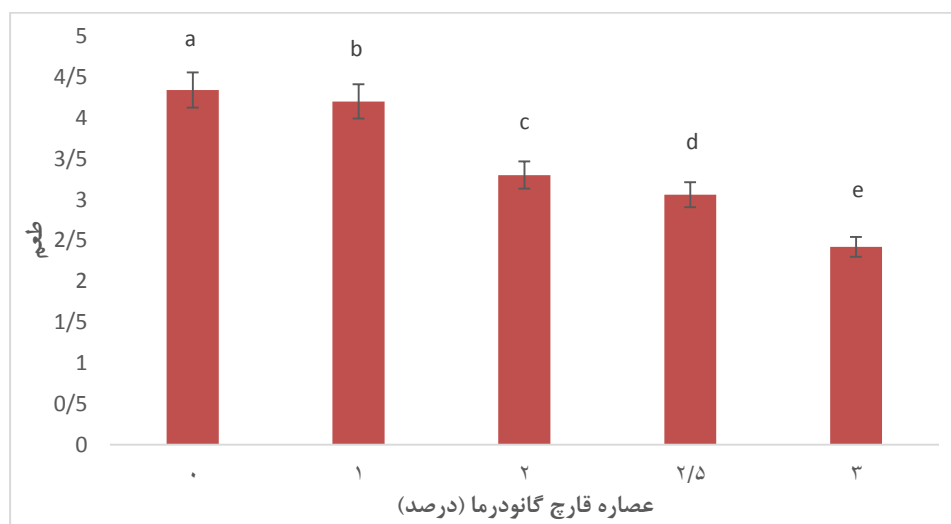
نتایج آنالیز واریانس مقادیر ارزیابی حسی فاکتور رنگ نمونه‌های کرم کاکائو در جدول ۴-۴ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، عصاره قارچ گانودرما، تأثیر معنی‌داری بر روی امتیاز رنگ نمونه‌های کرم کاکائو داشت ($p < 0.05$). همانطور که در شکل ۴-۱۸ نشان داده شده است، با افزایش میزان قارچ گانودرما، امتیاز دهی به رنگ کرم کاکائوها افزایش یافت. همانطور که نشان داده شده است، در بین نمونه‌های تیمار شده با عصاره قارچ گانودرما، از نظر ارزیابی‌ها، اختلاف معنی‌داری دیده نشد ($P > 0.05$). اما تمامی نمونه‌ها با نمونه شاهد، دارای اختلاف معنی‌داری بودند.



(شکل ۴-۱۸) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر رنگ کرم کاکائو غنی شده

۴-۳-۷-۵ طعم

نتایج آنالیز واریانس مقادیر ارزیابی حسی فاکتور طعم نمونه‌های کرم کاکائو در جدول ۴-۴ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، عصاره قارچ گانودرما، تأثیر معنی‌داری بر روی امتیاز طعم نمونه‌های کرم کاکائو داشت ($p < 0.05$). همانطور که در شکل ۴-۱۹ نشان داده شده است، با افزایش میزان قارچ گانودرما، امتیاز دهی به طعم کرم کاکائوها کاهش یافت. همانطور که نشان داده شده است، بیشترین میزان امتیاز، در نمونه شاهد و کمترین امتیاز، مربوط به نمونه حاوی ۳ درصد قارچ گانودرما بود.

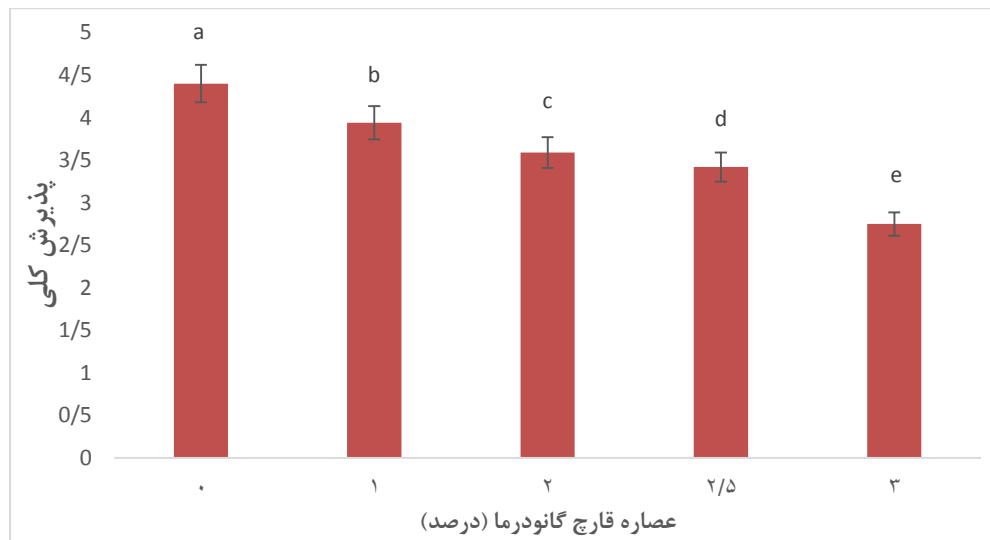


(شکل ۴-۱۹) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر طعم کرم کاکائو غنی شده

۴-۳-۷-۶ پذیرش کلی

نتایج آنالیز واریانس مقادیر ارزیابی حسی فاکتور پذیرش کلی نمونه‌های کرم کاکائو در جدول ۴-۴ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، عصاره قارچ گانودرما، تأثیر معنی‌داری بر روی امتیاز پذیرش کلی نمونه‌های کرم کاکائو داشت ($p < 0.05$). همانطور که در شکل ۴-۲۰ نشان داده شده است، با افزایش میزان قارچ گانودرما، امتیاز دهی به پذیرش کلی کرم کاکائو کاهش یافت.

همانطور که نشان داده شده است، بیشترین میزان امتیاز، در نمونه شاهد و کمترین امتیاز، مربوط به نمونه حاوی ۳ درصد قارچ گانودرما بود.



(شکل ۴-۲۰) نتایج بررسی تأثیر عصاره قارچ گانودرما بر پذیرش کلی کرم کاکائو غنی شده

Aidoo و همکاران (۲۰۱۴)، بیان کردند که شکلات‌های دارای سطح نرم، روشنایی بیشتری دارند. هر چه اندازه ذرات کوچکتر باشد، شکلات دارای سطح نرم تری خواهد بود و پخش نور بیشتر شده و شکلات از روشنایی بیشتری برخوردار خواهد بود. نمونه های حاوی درصد بالای عصاره به علت جذب آب، باعث کاهش پراکنش نور و تفاوت در میزان روشنایی شده و شکلات تیره تر به نظر می رسد (شوریده و همکاران، ۲۰۱۲).

شکلات صبحانه خوب، بایستی بافت نرم و صافی داشته باشد. در حالی که شکلات نامرغوب، دانه ای و کمی مومی است (Aidoo et al., 2011). در پژوهش حاضر، در نمونه های کنترل و سطوح پایین غنی سازی (۱٪ غنی سازی) احتمالاً به دلیل وجود متوسط اندازه ذرات کمتر، نسبت به فرمولاسیون های حاوی درصد های بالای عصاره، برهمکنش ذره -ذره افزایش یافته و شکلات، دارای بافت مناسبی بود.

فرایند کانچینگ (ورز دادن)، در تهیه شکلات، جهت رسیدن به اندازه ذرات مناسب که در تعیین ویسکوزیته و بافت نهایی شکلات نقش دارد، بسیار مهم می‌باشد (Minifie.,1989).

Afoakwa و همکاران (۲۰۰۸)، طی پژوهشی به این نتیجه رسیدند که زبان انسان بسیار حساس بوده و قادر به شناسایی ذرات بزرگتر از ۲۰ میکرون می‌باشد. شکلات هایی با اندازه ذرات بزرگتر از ۳۵ میکرون، در احساس دهانی بسیار مؤثر بوده و حالت شنی ایجاد می کنند و باعث ایجاد بافت ضعیف، مشکل در بلع و ذوب می گردد در حالیکه ذرات ریز از نظر تاثیر بر ویژگی های رئولوژیکی شکلات، حائز اهمیت است (Afoakwa.,2010 ; Do et al.,2007; Servais et al.,2004).

از بین ترکیبات تشکیل دهنده شکلات صبحانه، ترکیبات لیپیدی موجود در فاز پیوسته، بیشتر از سایر ترکیبات، بر ویژگی های ذوب شکلات و احساس دهانی مؤثر هستند (Afoakwa et al.,2007). با توجه به یکسان بودن ترکیبات و فرمولاسیون کلیه نمونه های تولیدی، همچنین احساس دهانی بیشتر ذرات توسط زبان در نمونه های با سطوح بالاتر عصاره، احتمالاً بتوان، تفاوت در این ویژگی را، به تفاوت در متوسط اندازه ذرات و افزایش رطوبت نمونه ها، طی افزایش درصد غنی سازی نسبت داد. در شکلات، آب باعث ایجاد لایه ی شربت، روی ذرات شکر شده که سبب افزایش اصطکاک بین این ذرات می شود. مطالعات قبلی نشان داده است که، به ازای هر ۰/۳ درصد افزایش رطوبت در انتهای عملیات کونچ، باید ۱ درصد چربی بیشتر استفاده شود تا خواص بافتی محصول حفظ گردد (Afoakwa et al.,2007).

نتایج حاصل از ارزیابی حسی بافت نمونه های شکلات، توسط ارزیاب ها، نشان داده است که غنی سازی، روی بافت نمونه ها از نظر ارزیاب ها تأثیر داشت و از آنجائی که در نمونه های شکلات صبحانه غنی شده، پودر عصاره در انتهای کنج اضافه شده و از ابتدا به همراه سایر مواد نبوده است، کمی احساس شنی، هنگام مصرف گزارش گردید که با افزایش درصد غنی سازی، این احساس شنی بودن نیز افزایش یافت.

در فرمولاسیون های حاوی ۱ درصد به بالا، پذیرش کلی و سرعت ذوب شدن، نسبت به نمونه های حاوی کنترل و شکلات صبحانه غنی سازی شده در سطح ۱٪ کاهش یافت که این امر احتمالاً به دلیل دارا بودن بیشترین مقدار غنی سازی و اندازه ذرات و وجود اندکی احساس حالت شنی در این نمونه ها بوده است. نتایج نشان داد، با کاهش محتوای عصاره، احساس دهانی و نحوه ذوب بهبود یافت.

زمانی که شکلات در دهان گذاشته می شود، فاز پیوسته چربی با بزاق دهان ترکیب شده و منجر به حل شدن ذرات شکر و تبدیل آن به فاز محلول آبی می شود. انحلال ذرات دهانی، بر میزان رهاسازی ترکیبات فرار جوییدن، ایجاد طعم اولیه، فشار زبان و بلیعدن تاثیر می گذارد (Beckett, 2000). در نمونه های حاوی سطوح بالاتر غنی سازی، احتمالاً ویسکوزیته بالاتر نمونه ها، هنگام مصرف به دلیل احساس دهانی خمیری پایداری که ایجاد می کنند، سایر ویژگی های حسی شکلات نظیر: عطر و طعم و همچنین شدت طعم را تحت تاثیر قرار داده اند (Denker et al., 2006; Beckett, 2000). از طرفی، پودر عصاره قارچ گانودرما، به دلیل ایجاد مزه تلخی که ایجاد می کند، مطلوبیت از نظر طعم را از دید ارزیاب ها کاهش داده است.

از بین شکلات های تولید شده در این تحقیق، شکلات کنترل، دارای بالاترین پذیرش حسی بود. پذیرش کلی با افزایش محتوای عصاره، کاهش یافت و نمونه حاوی ۳٪ عصاره، کمترین امتیاز را کسب کردند که دلیل آن، احتمالاً ویژگی های حسی ضعیف (پوشش دهانی و سرعت ذوب شدن) نمونه های کرم کاکائو تولید شده با درصد بالای عصاره بود. عصاره در نسبت های بالا، سبب افزایش سفتی نمونه های شکلات شد که احتمالاً دلیل این موضوع باشد. دلیل احتمالی دیگر برای امتیاز کم ویژگی سرعت ذوب شدن این نمونه ها در دهان، آن است که عصاره، به دلیل داشتن ترکیبات جاذبه الرطوبه، ویسکوز و مواد قندی مختلف، دارای قدرت جذب آب بالایی بود که این امر سبب شد که با افزایش نسبت آن در فرمولاسیون شکلات، شدت جذب آب محصول نیز افزایش و در نتیجه شدت ذوب نمونه ها در دهان

کاهش یابد. همچنین تلخی ناشی از حضور ترکیبات گانودریک در این محصولات، یکی از دلایل پایین بودن پذیرش کلی این محصولات، توسط ارزیاب ها می باشد.

۴-۳-۸ خواص رئولوژیکی

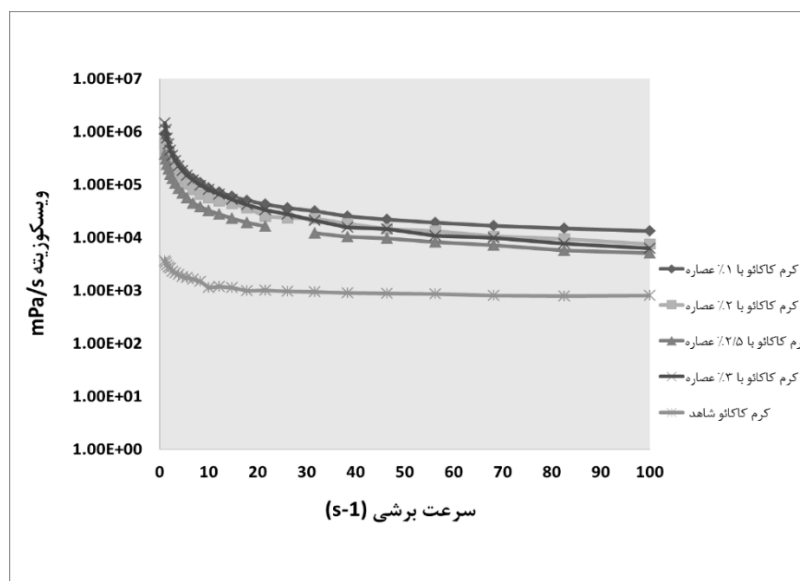
از آنجائی که شکلات صبحانه، تعلیقی متشکل از ذرات شکر، کاکائو و شیر است که در روغن جایگزین کره کاکائو به عنوان فاز پیوسته، پراکنده شده اند. لذا تعیین ویژگی‌های رئولوژیکی به ویژه گرانروی در تولید محصول با کیفیت مطلوب، بسیار مهم است (Afoakwa et al., 2007). عوامل موثر بر ویژگی‌های رئولوژیکی، شامل: میزان رطوبت، چربی، امولسیون کننده ها، اندازه ذرات دما و زمان کنج کردن است (Awua, 2002).

در آزمون رئولوژیکی، رفتار رئولوژیکی ۴ فرمولاسیون کرم کاکائو، حاوی عصاره قارچ گانودرما لوسیدیوم در غلظت‌های متفاوت و نمونه کنترل، مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور و جهت تعیین نوع رفتار رئولوژیکی نمونه ها، ارتباط ویسکوزیته به صورت تابعی از سرعت برشی، در سرعت برش S^{-1} ۱-۱۰۰ اندازه گیری شد.

نتایج بررسی ویژگی‌های رئولوژی شکلات، طی مطالعات گذشته، نشان داده است که ویسکوزیته شکلات با افزایش سرعت برشی، کاهش یافته و پس از طی چند چرخه لگاریتمی، افزایش بیشتر سرعت برشی، تأثیری بر ویسکوزیته ظاهری نداشته و مقدار آن تقریباً ثابت شد. بین دو نمودار کاهش و افزایش سرعت برشی، حلقه‌های پس ماند وجود داشت و هنگامی که سرعت برشی از ۱۰۰ به ۱ عکس ثانیه کاهش یافت، مقادیر تنش برشی و گرانروی نیز در سرعت برشی یکسان نسبت به حالت افزایشی (از ۱ تا ۱۰۰ عکس ثانیه) کاهش یافت. این رفتار به طبیعت و ویژگی تیکسوتروپیک در سیالات وابسته به زمان می باشد (Sokmen and Gunes, 2006; Abbasi and Farzanmehr, 2009; Becu et al., 2010).

شکل ۴-۲۱ اثر کاربرد غلظت های مختلف را بر ویسکوزیته کرم کاکائو، در سرعت های برشی متفاوت نشان می دهد. در این پژوهش، کرم کاکائو رفتار سودوپلاستیک (شبه پلاستیک) نشان داد. در تمامی نمونه ها، ویسکوزیته وابسته به سرعت برشی بوده و با افزایش سرعت برشی، ویسکوزیته کرم کاکائو کاهش یافت و نشان دهنده رفتار روان شوندگی با برش می باشد که یکی از خصوصیات مهم در فرمولاسیون کرم کاکائو یا همان شکلات صبحانه است.

کاهش ویسکوزیته ظاهری در فرآیندهایی با تنش برشی بالا، مانند پمپ کردن و پر کردن، منجر به سهولت فرآیند تولید می گردد و در هنگام مصرف، با افزایش ویسکوزیته ظاهری محصول، احساس دهانی مطلوبی ایجاد می کند. که این رفتار منجر به بهبود پراکندگی ذرات روغن در فاز مایع شده و از به هم چسبیدن ذرات روغن و دو فاز شدن آنها طی نگهداری، جلوگیری می کند (Kovacevic et al., 2011).



(شکل ۴-۲۱) تغییرات ویسکوزیته در برابر سرعت برشی تیمارهای مورد بررسی در تحقیق

شکلات ذوب شده یک سیال غیرنیوتنی است که سیالیت شکلات هم برای مصرف کننده و هم برای تولیدکننده از اهمیت بالایی برخوردار است (Afoakwa et al., 2008). مدل کاسون، اغلب برای

تجزیه و تحلیل ویژگی‌های رئولوژیکی شکلات استفاده شده است (Briggs and Wang.,2004; Afoakwa.,2010).

فرزان مهر و عباسی (۲۰۰۹)، بیان کرده‌اند که مدل کاسون، بهترین مدل برای پیش بینی ویژگی‌های رئولوژیکی شکلات شیری است.

با توجه به شکل ۴-۲۱، بین نمونه های شکلات با فرمولاسیون مختلف، اختلاف ویسکوزیته وجود داشت. در کل، افزایش غلظت عصاره، منجر به افزایش ویسکوزیته گردید. بیشترین ویسکوزیته توسط بالاترین سطح غنی سازی ۳٪ حاصل شد. دلیل این اختلاف، احتمالاً بدلیل وجود پلی ساکارید های موجود در عصاره مورد استفاده بوده است. ویسکوزیته تمام شکلات‌های غنی سازی شده، نسبت به نمونه کنترل افزایش یافته بود.

ویسکوزیته بالای کرم کاکائو غنی شده با ۳٪ عصاره قارچ گانودرما، احتمالاً می تواند به ویژگی های فیزیکی آن نظیر جاذب الرطوبه بودن، کریستالیزاسیون و مساحت سطحی آن ارتباط داشته باشد. افزایش رطوبت، باعث توده‌ای شدن ذرات شکر در اثر بهم چسبیدن آنها همچنین باعث افزایش اصطکاک و ویسکوزیته می‌شود، بنابراین احتمالاً یکی از دلایل مقادیر کمتر ویسکوزیته پلاستیک کاسون نمونه شاهد و همچنین نمونه با درصد پایین تر غنی سازی، به دلیل خاصیت جذب رطوبت کمتر آنها بوده است، زیرا توانایی کمتری در باند کردن رطوبت داشتند (Beckett .,2000).

Afoakwa و همکاران (۲۰۰۷)، گزارش کردند که به ازای هر ۳٪ رطوبت مازادی که در انتهای کانچینگ در شکلات باقی می‌ماند، باید ۱٪ چربی بیشتری، در فرمولاسیون استفاده شود که از نظر اقتصادی مقرون به صرفه نمی‌باشد. اگر رطوبت شکلات به ۴-۳٪ برسد، تغییرات چشمگیری در ویسکوزیته مشاهده خواهد شد بنابراین، تولیدکننده باید تا جایی که امکان دارد، رطوبت بیشتری از شکلات خارج کند (Chevalley.,1999) اگر رطوبت شکلات به ۲۰٪ برسد، فاز آبی تشکیل می‌شود (Beckett .,2000).

Ziegler و همکاران (۲۰۰۱)، نشان دادند که، افزایش رطوبت شکلات، باعث افزایش ویسکوزیته

می‌گردد.

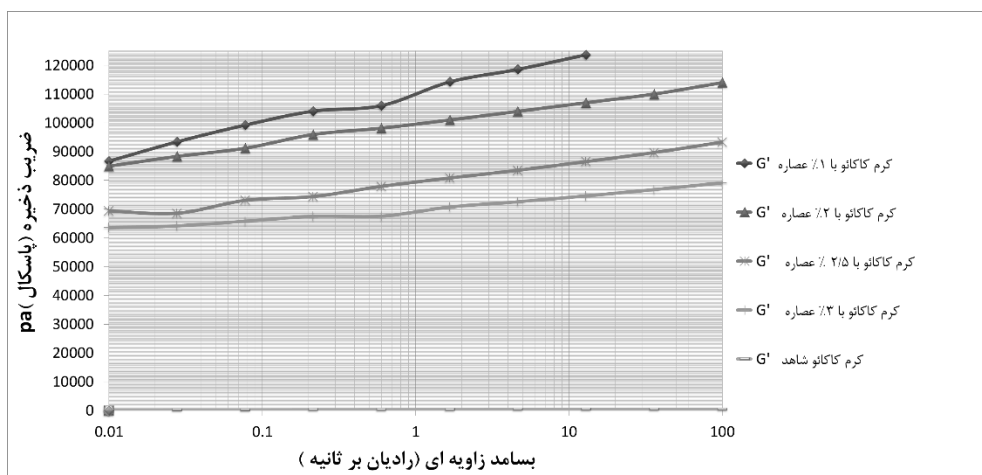
Minifie (۱۹۸۹) گزارش کرده است، با افزایش پراکندگی اندازه ذرات شکلات، تعداد ذرات با سایز بزرگ و زبرتر افزایش و نسبت سطح به حجم کاهش می‌یابد که در اثر آن برهمکنش ذره-ذره کمتر شده و بایستی ویسکوزیته شکلات کاهش یابد، ولی از آنجا که سطوح در تماس با چربی نیز کاهش و چربی کمتری برای پوشش دادن ذرات استفاد شده است، در نتیجه اصطکاک بیشتر و ویسکوزیته افزایش می‌یابد. برای به دست آوردن اندازه بهینه ذرات، کنترل پروسه ریفاینینگ در تهیه شکلات نقش بسیار مهمی دارد. از آنجا که غنی سازی دراین پروژه، در انتهای فرایند کنج به کرم کاکائو انجام شده و ریفاینینگ نمونه ها به طور کامل صورت نگرفته بود، در نتیجه نمونه های غنی شده، نسبت به نمونه شاهد، متوسط اندازه ذرات بیشتری داشتند و نمونه غنی سازی تا سطح ۳ درصد، احتمالاً بیشترین متوسط اندازه ذرات را داشت.

Saputro و همکاران (۲۰۱۶)، عصاره قندی پالم را در فرمولاسیون شکلات تیره بررسی کردند که نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد، شکلات‌های حاوی عصاره پالم به طور چشمگیری دارای رطوبت بیشتری نسبت به نمونه کنترل بودند. شکلات کنترل حاوی ساکارز، کمترین محتوای رطوبت و بیشترین دانسیته ذرات را داشتند.

بررسی نتایج آزمون نوسانی

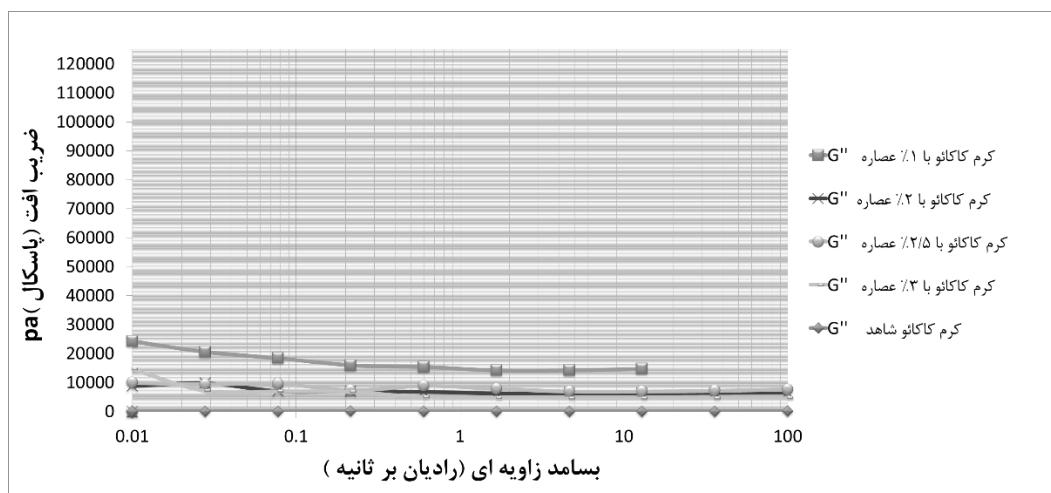
آزمون نوسانی متداول ترین روش مطالعه‌ی رفتار ویسکوالاستیک ماده غذایی است. برای این منظور، روند تغییرات ضریب ذخیره (G' Storage modulus) و ضریب افت (G'' loss modulus) به صورت تابعی از بسامد زاویه ای در محدوده ۰/۰۱ تا ۱۰۰ رادیان بر ثانیه در دمای ۲۵ درجه ی سانتی گراد اندازه گیری شد (بارنس، ۲۰۰۸). شکل ۴-۲۲ و ۴-۲۳، نتایج آزمون نوسانی نمونه ها را نشان می دهد. همان طور که مشاهده می گردد در هر نمونه، ضریب ذخیره بیش تر از ضریب افت بود که نشان

می دهد در این نمونه ها رفتار الاستیک مانند حاکم است. در نمونه شاهد، در بسیاری از نواحی، ضریب افت و ذخیره بر هم منطبق بودند که نشان می دهد رفتار جامد مانند آن، از نمونه های غنی شده کمتر بود.



(شکل ۴-۲۲) تأثیر نسبت های مختلف عصاره قارچ گانودرما روی ضریب ذخیره کرم کاکائو به صورت

تابعی از بسامد زاویه ای



(شکل ۴-۲۳) تأثیر نسبت های مختلف عصاره قارچ گانودرما روی ضریب افت کرم کاکائو به صورت

تابعی از بسامد زاویه ای

۴-۳-۹ اسیدیت و پراکسید طی زمان نگهداری ۳۰ روز

کرم کاکائو یکی از انواع فرآورده های کاکائویی است که، عمدتاً طی مدت زمان نسبتاً طولانی قبل از مصرف، نگهداری می شود و اکسیداسیون چربی طی این مدت، میتواند منجر به ایجاد عطر و طعم فساد و کاهش عمر ماندگاری این محصول شود. رادیکال های آزاد ایجاد شده در فرآیند اکسیداسیون، زمانی که در بدن شکل می گیرند، به دنبال اتم ها یا مولکول های دیگر برای پیوستن می گردند. اگر این روند ادامه پیدا کند، فرایندی به نام «استرس اکسیداتیو» رخ خواهد داد که می تواند منجر به تخریب سلول ها و باعث بروز برخی امراض و پیری شود (Li and et al., 2005).

نتایج آنالیز واریانس مقادیر اسیدیت نمونه های کرم کاکائو در جدول ۴-۵ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می شود، هر دو متغیر مورد بررسی (عصاره قارچ گانودرما و زمان ماندگاری) و همچنین اثر متقابل آنها، تأثیر معنی داری بر اسیدیت نمونه های کرم کاکائو غنی شده داشت ($p < 0.05$).

(جدول ۴-۵) آنالیز واریانس ارزیابی اسیدیت و پراکسید طی مدت نگهداری نمونه های کرم کاکائو غنی شده

میانگین مربعات			
منابع تغییرات	درجه آزادی	اسیدیت	پراکسید
عصاره قارچ گانودرما	۴	۰/۰۰۱**	۰/۰۵۳***
زمان نگهداری	۲	۰/۰۱۶***	۰/۱۸۵***
اثر متقابل	۸	۰/۰۰۱*	۰/۰۱۸***
خطا	۱۵	۰/۰۰	۰/۰۰
کل	۳۰	-	-
$P < 0.01^{**}$ $P < 0.05^*$ $P > 0.05^{ns}$			

همانطور که در شکل ۴-۲۴ نشان داده شده است، با افزایش میزان قارچ گانودرما، میزان اسیدیت نمونه ها افزایش یافت که در این میان بین نمونه ۱ و ۲ درصد اختلاف معنی داری مشاهده نشد

($p > 0.05$). همچنین با افزایش زمان نگهداری نیز، میزان اسیدیته نمونه‌ها افزایش یافت. به طور کلی می‌توان گفت، بیشترین اسیدیته، مربوط به نمونه حاوی ۳ درصد عصاره قارچ گانودرما در روز ۳۰ نگهداری بود و کمترین میزان اسیدیته، مربوط به نمونه شاهد روز اول بود.



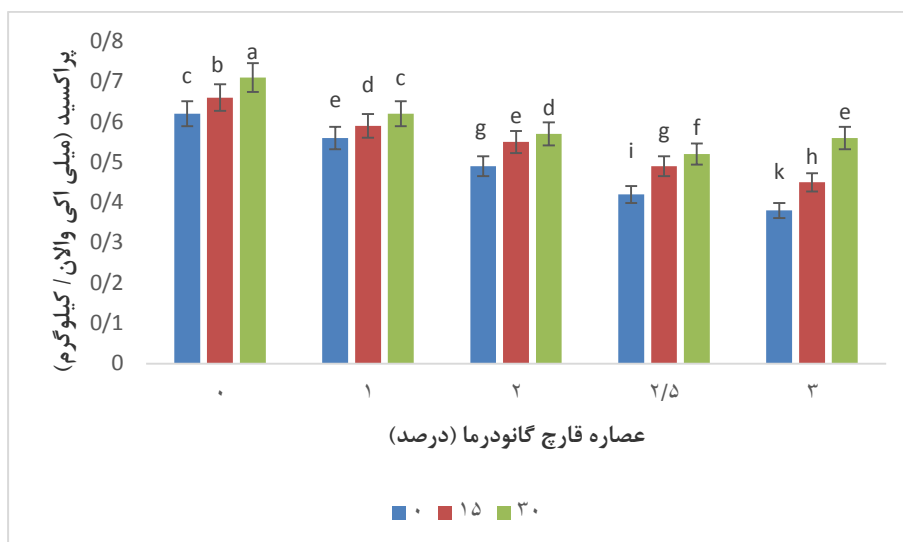
(شکل ۴-۲۴) مقایسه اسیدیته نمونه‌های کرم کاکائو غنی شده طی زمان نگهداری

در کار حاضر، علت افزایش اندیس اسیدی طی زمان نگهداری، با توجه به مقدار بالای آنزیم‌های لیپاز و محتوای بالای چربی قارچ گانودرما (اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع)، احتمالاً به لیپولیز و هیدرولیز چربی مرتبط می‌باشد (Smith et al., 2000) همچنین در نمونه شاهد به دلیل وجود روغن جایگزین و اسیدهای چرب، تغییرات اندیس اسیدی، در طول زمان، معنی‌دار بود.

یاغچی و همکاران (۲۰۱۴)، در پژوهشی با افزودن پودر بزرک به دوشاب در سطوح صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد مشاهده کردند، با افزایش درصد بزرک، اندیس اسیدی محصول به طور معنی‌داری افزایش یافت که این افزایش، به غلظت بزرک مورد استفاده بستگی داشت. در پژوهش پیغمبردوست و همکاران (۲۰۱۳)، در اثر افزودن پودر دانه‌های بزرک در مقادیر ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد به نان، نتایج اندازه‌گیری اندیس اسیدی تیمارها، تفاوت معنی‌داری با هم نداشت و اندیس اسیدی نمونه شاهد، کمتر از سایر نمونه‌ها بود.

عدد پراکسید، عبارت از میلی اکی والان گرم پراکسید یا اکسیژن فعال موجود در یک کیلوگرم از نمونه روغن و یا چربی است و شاخصی جهت تعیین میزان پیشرفت فساد اکسیداتیو در روغن ها و چربی ها محسوب می گردد که نشان دهنده محصولات اولیه (هیدروپراکسیدها) اکسیداسیون لیپید (به ویژه اسیدهای چرب غیر اشباع) می باشد (Taheri et al., 2010). پراکسیدها، ترکیبات بدون عطر و طعمی هستند که به وسیله مصرف کنندگان قابل تشخیص نمی باشند ولی این ترکیبات، سبب به وجود آمدن ترکیبات ثانویه ای مثل: آلدئیدها، کتون ها و الکل ها می شوند که در طی فرایند حرارتی پایدارتر می باشند و سبب ایجاد بد بویی و بد طعمی (ویژگی های حسی نامطلوب) و افت کیفیت تغذیه ای می شوند (Ozyurtr et al., 2000; Taheri et al., 2010).

نتایج آنالیز واریانس مقادیر پراکسید نمونه های کرم کاکائو در جدول ۴-۵ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می شود، هر دو متغیر مورد بررسی (عصاره قارچ گانودرما و زمان ماندگاری) و همچنین اثر متقابل آنها، تأثیر معنی داری بر روی پراکسید نمونه های کرم کاکائو غنی شده داشت ($p < 0.05$). همانطور که در شکل ۴-۲۵ نشان داده شده است، با افزایش میزان قارچ گانودرما، میزان پراکسید نمونه ها کاهش یافت که در این میان بین نمونه ۱ و ۲ درصد و ۲/۵ و ۳ درصد اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). همچنین با افزایش زمان نگهداری نیز، میزان پراکسید نمونه ها افزایش یافت. به طور کلی می توان گفت، کمترین میزان پراکسید، مربوط به نمونه حاوی ۳ درصد و بیشترین میزان پراکسید، مربوط به نمونه شاهد بود.



(شکل ۴-۲۵) مقایسه پراکسید نمونه‌های کرم کاکائو غنی شده طی زمان نگهداری

Saltari و همکاران (۲۰۰۹)، خواص آنتی اکسیدانی قارچ گانودرما را بررسی و نتایج تحقیق انجام شده نشان داد که پلی فنل‌ها در گانودرما لوسیدیوم، می‌تواند علت این فعالیت باشد و خاصیت آنتی اکسیدانی این مواد به علت جذب رادیکال‌های اکسیژن و فعالیت احیاکنندگی آنها می‌باشد. بررسی‌های بیشتر در خصوص عصاره اتانولی این قارچ نشان داد که این عصاره، حاوی مولکول‌های کم وزن دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی هستند، نتایج نشان داد که گانودرما لوسیدیوم، می‌تواند به عنوان منابع آنتی اکسیدان‌های طبیعی و نگهدارنده در صنایع غذایی مورد توجه قرار گیرد.

در پژوهش یاغچی و همکاران (۲۰۱۴)، غنی‌سازی شکلات توسط پودر بزرک در سطوح صفر (نمونه کنترل)، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد جهت تبدیل آن به محصول بالقوه فراسودمند انجام شد و ویژگی‌های کیفی شکلات غنی شده نظیر درصد چربی، رطوبت، مقدار اسیدهای چرب ضروری، فیبر، عدد پراکسید و اندیس اسیدی در مدت ۳ ماه نگهداری با فاصله زمانی هر ۱۵ روز یک بار، اندازه‌گیری گردید. نتایج نشان داد؛ با افزایش درصد غنی‌سازی، درصد چربی، محتوای رطوبت، اسیدهای چرب ضروری (اسید آلفا لینولنیک و اسید لینولئیک) و محتوای فیبر نسبت به نمونه کنترل افزایش یافت. اسیدهای چرب آزاد، بسیار مستعد به اکسیداسیون هستند و مقدار پراکسید، با مقدار آنها ارتباط مستقیم دارد، در نتیجه، در زمینه پایداری و زمان ماندگاری محصول، مقدار اسیدهای چرب

بسیار حائز اهمیت می باشند. در این پژوهش مقدار پراکسید با افزایش درصد غنی سازی، به طور معنی داری افزایش یافت. کمترین مقدار پراکسید، مربوط به نمونه با ۵ درصد بزرک و در ابتدای تولید بود و بیشترین مقدار، مربوط به نمونه شکلات با ۱۵ درصد بزرک و در ماه سوم نگهداری گزارش گردید.. بالا بودن عدد پراکسید در نمونه های حاوی پودر بزرک با درصد بالاتر، احتمالاً به دلیل مقدار اسیدهای چرب آزاد و وجود مقادیر بالای اسیدهای چرب غیراشباع در پودر بزرک بوده است. در تحقیق انجام شده توسط پیغمبردوست و همکاران (۲۰۱۳)، پودر بزرک در مقادیر صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد به آرد گندم اضافه و اثرات این غنی سازی بررسی شد. نتایج نشان داد که، عدد پراکسید نمونه های مختلف با یکدیگر، تفاوت معنی داری نداشتند و طی فرآیند پخت، پراکسید به طور معنی دار افزایش یافت که علت احتمالی آن، تأثیر مستقیم حرارت پخت اعلام شد.

۴-۴ نتیجه گیری

اثرات غنی سازی کرم کاکائو با عصاره قارچ گانودرما در ویژگیهای رئولوژیکی، بافت و حسی محصول تولید شده، به غلظت (درصد) عصاره استفاده شده بستگی داشت. بطوریکه ویسکوزیته تمام نمونه ها با افزایش غلظت عصاره، نسبت به نمونه کنترل افزایش یافت همچنین در تمامی نمونه ها، ویسکوزیته وابسته به سرعت برشی بود و با افزایش سرعت برشی، ویسکوزیته کرم کاکائو کاهش یافت که نشان دهنده رفتار روان شوندگی با برش بوده است. افزایش بیشتر سرعت برشی، تأثیری بر ویسکوزیته ظاهری نداشت. نتایج نشان داد نمونه های غنی شده، دارای ترکیبات فنلی بالاتر نسبت به شکلات فاقد عصاره بود. با افزایش مقدار درصد وزنی عصاره، شاخص های رنگی L^* , a^* , b^* و فاکتور کروما نمونه های کرم کاکائو تغییر یافت. افزایش میزان قارچ گانودرما، باعث افزایش رطوبت، چربی و قند نمونه ها شد درحالیکه تأثیر معنی داری بر روی خاکستر نمونه های کرم کاکائو نداشت. در ارزیابی حسی نمونه ها نیز، افزایش مقدار جایگزینی، باعث کاهش میزان شیرینی نمونه ها شد. کمترین میزان شیرینی مربوط به نمونه حاوی ۳ درصد و بیشترین میزان آن، مربوط به نمونه شاهد گزارش گردید. پودر عصاره قارچ گانودرما، به دلیل ایجاد مزه تلخی ناشی از حضور گانودریک اسید، مطلوبیت از نظر طعم و پذیرش کلی نمونه ها را از دید ارزیاب ها کاهش داد. در آزمون ارزیابی حسی هدونیک ۵ سطحی، بیش ترین میزان پذیرش در نمونه های غنی شده، به نمونه ۱٪ و ۲٪ اختصاص یافت. بررسی نتایج اسیدیت و پراکسید، طی زمان ۳۰ روز نگهداری، نشان داد که با افزایش میزان قارچ گانودرما، میزان اسیدیت نمونه ها، افزایش و میزان پراکسید نمونه ها، کاهش یافت. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، می توان عنوان کرد که کاربرد پودر عصاره قارچ گانودرما در فرمولاسیون کرم کاکائو، می تواند محصولی جدید و غنی از ترکیبات فنلی تولید نماید؛ اما از آنجا که افزودن مقادیر بالای ۲درصد بر ویژگی های کیفی محصول تاثیر گذاشته و پذیرش کلی محصول را از دید

ارزیاب ها کاهش داده است، لذا تیمار تا سطح ۲ درصد نسبت به سایر تیمارها، به نمونه شاهد نزدیک تر بوده و به عنوان تیمار برتر، شناخته شد.

پیشنهادهات:

با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعه انجام شده و به منظور تکمیل پژوهش، موارد زیر پیشنهاد می گردد:

- بررسی اثر غنی سازی بر فاکتور اندازه ذرات محصول تولید شده در مقایسه با نمونه شاهد
- مطالعه اثر غنی سازی بر ویژگی های میکروبی محصول بویژه تاثیر بر باکتریهای گرم منفی و مثبت طی مدت ذخیره سازی
- استفاده از عصاره مورد استفاده در پژوهش، در تهیه سایر شکلات ها، بویژه شکلات تلخ با توجه به هم پوشانی احتمالی تلخی گانودریک اسید موجود در عصاره در محصول نهایی و پذیرش کلی بالاتر محصول توسط مصرف کننده
- درون پوشانی عصاره جهت کاهش تلخی و بررسی اثرات کاربرد عصاره درون پوشانی شده در محصول
- استفاده از عصاره این قارچ، در صنعت غذا، به جای نگهدارنده های شیمیایی و آنتی اکسیدانهای سنتزی، جهت به تأخیر انداختن پراکسیداسیون لیپید

مراجع:

۱. امید بیگی، ر. (۱۳۷۹). "رهیافتهای تولید و فرآورده های گیاهان دارویی" جلد ۱، چاپ دوم، انتشارات طراحان نشر، استان قدس رضوی. ص ۷۴-۶۹
۲. صمصام شریعت، ه (۱۳۸۲). "پرورش و تکثیر گیاهان دارویی". چاپ دوم. انتشارات مانی. اصفهان. ص ۲۰۱-۱۹۵.
۳. فلوگ، ه. (۱۳۷۹). "گیاهان دارویی". مترجم: محمد رضا توکلی صابری و محمد رضا صداقت چاپ ششم، انتشارات روزبهان. تهران. ص ۱۵۸-۱۵۴
۴. قاسمی دهکردی، ن.، امیر مهدی، ط. (۱۳۸۰). "استخراج، شناسایی و تعیین مقدار ترکیبات موجود در گیاهان دارویی شاخص". چاپ یکم. انتشارات چوگان. اصفهان. ص ۱۴۰-۱۳۴
۵. میرسعیدقاضی، حسین. امام جمعه، زهرا. (۱۳۹۱). "بررسی میزان تغییرات ضریب فعالیت لیمونن در سیستمهای مدلی نوشابه های پرتقالی با استفاده از مدل ترمودینامیکی Dortmund - UNIFAC". پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران. شماره ۱، دوره ۸
۶. میر جلیلی، محمد حسین (۱۳۸۲). "جایگاه اقتصادی گیاهان اسانس دار در جهان"، بی تا، شماره ۱۵۶، ص ۳۴-۲۶.
۷. دوازده امامی، سعید. (۱۳۸۲). "کاربرد گیاهان دارویی". دانشگاه اصفهان، انتشارات نصح اصفهان. ص ۲۹-۲۵.
۸. تسخیری، زهرا. مهربان سنگ آتش، معصومه. نظری، زهرا. (۱۳۹۸). "بررسی اثر افزودن پودر سنجد بر خواص آنتی اکسیدانی، تانن و خواص حسی شکلات نعنائی". علوم و صنایع غذایی / ایران. شماره ۹۰، دوره ۱۶: ص ۱۱۲-۱۰۱
۹. گمارونی پور، آیدا. عزیزی، محمد حسین (۱۳۹۷). "مطالعه اثر افزودن اسید چرب امگا 3 استخراج شده از روغن بزرک بر خواص فیزیکی و شیمیایی شکلات شیری فرا سودمند". علوم و صنایع غذایی ایران-شماره ۷۹، دوره ۱۵: ص ۱۹۰-۱۸۳
۱۰. حسن نژاد، زهرا. آزاد مرد دمیرچی، صدیف. صوتی خیاباتی، محمود. پیغمبردوست، هادی. رسولی پیروزیان، هانیه. (۱۳۹۶). "تولید شکلات حاوی پودر بزرک و ارزیابی برخی از ویژگی های کیفی آن". نشریه فرآوری و نگهداری مواد غذایی. شماره ۱، دوره ۹: ص ۳۶-۲۳

۱۱. پیغمبر دوست، سیدهادی نیایی، سعید. آزادمرد دمیچی، صدیف. رسولی پیروزیان، هانیه (۱۳۹۵). "اثر افزودن مخلوط پودر هسته خرما و دانه کنجد بر ویژگی‌های کیفی شکلات

شیری فراسودمند"، *مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران*. شماره ۴، دوره ۱۱: ص ۱۱۷-۱۲۸

۱۲. شوریده و همکاران، (۲۰۱۲)، "افزودن D تاگاتوز، اینولین به عنوان جایگزین ساکارز و تأثیر کاربرد آن بر بعضی ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی، رئولوژیکی و حسی شکلات تیره"

۱۳. شوریده، مهری. تسلیمی، اقدس. عزیزی فر، مشایخ. (۱۳۸۸)، "تأثیر کاربرد D-تاگاتوز، اینولین

و استویا به عنوان جایگزین ساکارز بر بعضی ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی، رئولوژیکی و

حسی شکلات تیره"، *مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران*، شماره ۵، دوره ۳: ص ۲۹-۳۸

14. International Cocoa Organisation (ICCO). International Cocoa Organisation report of cocoa statistics. The Manufacturing Confectioner 2008; 88(3): 39-40.
15. Scapagnini, G., Davinelli, S., Di Renzo, L., De Lorenzo, A., Olarte, H. H., Micali, G. Gonzalez, S. (2014). Cocoa bioactive compounds: significance and potential for the maintenance of skin health. *Nutrients*, 6(8), 3202-3213.
16. Crozier, S. J., Preston, A. G., Hurst, J. W., Payne, M. J., Mann, J., Hainly, L., & Miller, D. L. (2011). Cacao seeds are a "Super Fruit": A comparative analysis of various fruit powders and products. *Chemistry central journal*, 5(1), 5.
17. Katz, D. L., Doughty, K., & Ali, A. (2011). Cocoa and chocolate in human health and disease. *Antioxidants & redox signaling*, 15(10), 2779-2811.
18. Afoakwa, E. O., Paterson, A., & Fowler, M. (2007). Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate—a review. *Trends in Food Science & Technology*, 18(6), 290-298.
19. Vinson, J. A., Proch, J., & Zubik, L. (1999). Phenol antioxidant quantity and quality in foods: cocoa, dark chocolate, and milk chocolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(12), 4821-4824.
20. Gallo, M., Vinci, G., Graziani, G., De Simone, C., & Ferranti, P. (2013). The interaction of cocoa polyphenols with milk proteins studied by proteomic techniques. *Food research international*, 54(1), 406-415.
21. Tomas-Barberan, F. (2012). Types, food sources, consumption and bioavailability of dietary polyphenols nutrinsight. *Proceedings of the Symposium 11th Nutrition Conference: Kraft Foods*.
22. Keogh, J., McInerney, J., & Clifton, P. (2007). The effect of milk protein on the bioavailability of cocoa polyphenols. *Journal of food science*, 72(3), S230-S233
23. Engler, M. B., & Engler, M. M. (2006). The emerging role of flavonoid-rich cocoa and chocolate in cardiovascular health and disease. *Nutrition reviews*, 64(3), 109-118
24. Shamaki, B. U., Sandabe, U. K., Fanna, I. A., Adamu, O. O., Geidam, Y. A., Umar, I. I., & Adamu, M. S. (2012). Proximate composition, phytochemical and elemental analysis of some organic solvent extract of the wild mushroom *Ganoderma lucidum*. *Journal of Natural Sciences Research*, 2(4), 24-35.
25. Ahmad, M. F., Ahmad, F. A., Azad, Z., Alam, M. S., & Ashraf, S. A. (2013). Nutraceutical is the need of the hour. *World J Pharm Pharm Sci*, 2, 2516-2525.

26. Hardy, G. (2000). Nutraceuticals and functional foods: Introduction and meaning. *Nutrition*, 16, 688–697.
27. Chandler Jr, A. D., & Cortada, J. W. (2000). *A nation transformed by information: How information has shaped the United States from colonial times to the present*: Oxford University Press.
28. Olson, J., Clay, P. M. and Pinto Da Silva, P. (2002). Putting the seafood in sustainable food systems. *Marine Policy*, 43, 104–111. Koletzko B, Aggett PJ, Bindels JG. 1998. Growth, development and differentiation: a functional food science approach. *Braz J Nutr* 80:35–45.
29. Koletzko B, Aggett PJ, Bindels JG. (1998). Growth, development and differentiation: a functional food science approach. *Braz J Nutr* 80:35–45.
30. Devcich, D. A., Pedersen, I. K., & Petrie, K. J. (2007). You eat what you are: Modern health worries and the acceptance of natural and synthetic additives in functional foods. *Appetite*, 48, 333–337.
31. FAO/WHO. (2001). Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a joint FAO/WHO expert consultation, Córdoba, Argentina. Available from http://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport_en.pdf
32. FAO/WHO] Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization. (2001). Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Córdoba. 34 p. Sanders ME. 2003. Probiotics: considerations for human health. *Nutr Rev* 61:91–9.
33. Holscher, H. D. (2017). Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota. *Gut Microbes*, 8(2), 172–184. <http://dx.doi.org/10.1080/19490976.2017.1290756>
34. Satine L A, (2008). Is My Yogurt Lying - Developing and Applying a Framework for Determining whether Wellness Claims on Probiotic Yogurts Mislead. *food drug* 537.
35. Menrad, K. (2003). Market and marketing of functional food in Europe. *Journal of Food Engineering*, 56, 181–188
36. Siro, I., Kápolna, E., Kápolna, B., & Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—A review. *Appetite*, 51(3), 456–467.
37. Wood, G. A. R. (1979). *Cocoa*. Third edition. New York: Longman Inc, U.S.A, pp. 292.
38. Hoskin, J. C. (1994). Sensory properties of chocolate and their development. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 60: 1068–1070
39. Morgan, J. (1994). Chocolate: a flavour and texture unlike any other. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 60: 1065–1067.
40. Othman, A., Ismail A., Ghani, N. A. and Adenan, I. (2007). Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. *Food Chemistry*, 100: 1523–1530.
41. Venter, M. J., Schouten, N., Hink, R., Kuipers, N. J. M. and de Haan, A. B. (2007). Expression of cocoa butter from cocoa nibs. *Separation and Purification Technology*, 55: 256–264.
42. Scapagnini, G., Davinelli, S., Di Renzo, L., De Lorenzo, A., Olarte, H. H., Micali, G., Gonzalez, S. (2014). Cocoa bioactive compounds: significance and potential for the maintenance of skin health. *Nutrients*, 6(8), 3202–3213.

43. Ellam, S.; Williamson, G. Cocoa and human health. *Annu. Rev. Nutr.* (2013), 33, 105–128.
44. Sokolov, A. N., Pavlova, M. A., Klosterhalfen, S., & Enck, P. (2013). Chocolate and the brain: neurobiological impact of cocoa flavanols on cognition and behavior. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 37, 2445e2453.
45. S.J.Misnawi,B.Jamilah,andS.Nazamid.(2004).“Effect of polyphenol concentration on pyrazine formation during cocoa liquor roasting,” *Food Chemistry*,vol.85,no.1,pp.73–80.
46. S.J.Misnawi,B.Jamilah,andS.Nazamid.(2004).,“Sensory propertie of cocoa liquor as affected by polyphenol concentration and duration of roasting,” *Food Quality and Preference*,vol.15,no 5, pp. 403–409.
47. Jalil, A.M.; Ismail, A.(2008). Polyphenols in cocoa and cocoa products: Is there a link between antioxidant properties and health? *Molecules*, 13, 2190–2219
48. Keli SO, Hertog MG, Feskens E.J, Kromhout D.(1996). Dietary flavonoids, antioxidant vitamins, and incidence of stroke: the Zutphen study. *Arch Intern Med*; 156: 637–642
49. S. J. Crozier, A. G. Preston, J. W. Hurst et al.(2011). “Cacao seeds are a “Super Fruit”: a comparative analysis of various fruit powders and products,” *Chemistry Central Journal*,vol.5,no.1,article5.
50. J. A. Vinson, J. Proch, and L. Zubik.(1999). “Phenol antioxidant quantity and quality in foods: cocoa, dark chocolate, and milk chocolate,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,vol.47, no.12,pp.4821–4824.
51. Ortega, N.; Romero, M.P.; Macià, A.; Reguant, J.; Anglès, N.; Morelló, J.R.; Motilva, M.J.(2008). Obtention and characterization of phenolic extracts from different cocoa sources. *J. Agric. FoodChem.* 56, 9621–9627.
52. Katz, D.L.; Doughty, K.; Ali, A.(2011). Cocoa and chocolate in human health and disease. *Antioxid.Redox Signal.* 15, 2779–2811.
53. Scapagnini, G.; Davinelli, S.; Drago, F.; de Lorenzo, A.; Oriani, G.(2012). Antioxidants as antidepressants: Fact or fiction? *CNS Drugs.* 26, 477–490.
54. Steinberg, F.M.; Bearden, M.M.; Keen, C.L.(2003). Cocoa and chocolate flavonoids: implications forcardiovascular health. *J. Am. Diet. Assoc.* 103, 215–223.
55. Mellor, D., Sathyapalan, T., Kilpatrick, E., Beckett, S., & Atkin, S. (2010). High-cocoa polyphenol-rich chocolate improves HDL cholesterol in Type 2 diabetes patients. *Diabetic Medicine*, 27(11), 1318-1321.
56. Ohene Afoakwa, E. (2008). Cocoa and chocolate consumption–Are there aphrodisiac and other benefits for human health?
57. B. Buijsse, E. J. M. Feskens, F. J. Kok, and D. Kromhout.(2006).“Cocoa intake, blood pressure, and cardiovascular mortality:the Zutphen Elderly Study,” *Archives of Internal Medicine*,vol.166, no. 4, pp. 411–417.
58. D.Grassi,C.Lippi,S.Necozone,G.Desideri,andC.Ferri.(2005).“Short-term administration of dark chocolate is followed bya significant increase in insulin sensitivity and a decrease in blood pressure in healthy persons,” *American Journal of Clinical Nutrition*,vol.81,no.3,pp.611–614.
59. J. Mursu, S. Voutilainen, T. Nurmi et al.(2004). “Dark chocolate consumption increases HDL cholesterol concentration and chocolate fatty acids may inhibit lipid peroxidation in healthy humans,” *FreeRadicalBiologyandMedicine*,vol.37,no.9,pp. 1351–1359.

60. M. S. Hamed, S. Gambert, K. P. Bliden et al.(2008).“Dark chocolate effect on platelet activity, C-reactive protein and lipid profile: a pilot study,” *Southern Medical Journal*,vol.101,pp.1203–1208.
61. Chevalley. J.(1999). The Chocolate FlowProperties. In: Industrial Chocolate Manufacture and Use . Beckett, S.T. 3rd ed.Oxford: Blackwell Science.pp:182-199.
62. Afoakwa, E.O., Paterson, A. and Fowler,M. (2007). Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate. *Trends in Food Science and Technology*, 18: 290–298.
63. Wilson, P. K. (2010). Centuries of seeking chocolate's medicinal benefits. *Lancet*, 376,158e159
64. Laville M, Nazare J-A.(2009). Diabetes, insulin resistance and sugars. *Obes Rev*; 10: S24–33.
65. Foster-Powell K, Holt SH, Brand-Miller JC.(2002). International table of glycemic index and glycemic load values: 2002. *Am J Clin Nutr*; 76: 5–56.
66. Wan Y, Vinson JA, Etherton TD, Proch J, Lazarus SA, Kris-Etherton PM.(2001). Effects of cocoa powder and dark chocolate on LDL oxidative susceptibility and prostaglandin concentrations in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*; 74: 596–602.
67. Kenneth M. A Sexual Odyssey: From Forbidden Fruit to Cybersex. New York: Plenum,(1996): 38–40.
68. Bell , E. A. and B. V. Charlwood (1980). Secondary plant product. Berlin, Springer.
69. Tripathi L, Tripathi JN (2003) Role of biotechnology in medicinal plants. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 2: 243-253.
70. Rechinger K.H, Hedge I.C,Ietswaart J.H, Jalas J, Mennema J, Seybold S.(1982). Labiatae, In: *Flora Iranica*, Austria: Akademische Druck-u. Verlagsanstalt, Graz.; pp. 62-63
71. Ferreira, I. C., Heleno, S. A., Reis, F. S., Stojkovic, D., Queiroz, M. J. R., Vasconcelos, M. H., & Sokovic, M. (2015). Chemical features of *Ganoderma* polysaccharides with antioxidant, antitumor and antimicrobial activities. *Phytochemistry*, 114, 38-55.
72. Woo, Y.A., Kim, H.J., Cho, J.H. (1999). Chung H. Discrimination of herbal medicines according to geographical origin with near infrared reflectance spectroscopy and pattern recognition techniques. *Journal of Pharmaceutical Sciences*,21:407–413.
73. Akihisa T, Nakamura Y, Tagata M, editors. et al.(2007). Anti-inflammatory and anti-tumor-promoting effects of triterpene acids and sterols from the fungus *Ganoderma lucidum*. *Chem Biodivers*;4:224–31.
74. Ingold, C.T.,Hudson, H.J.(1996).The biology of fungi.Sixth Edition.London:Chapman & Hall Publications.228P.
75. Baby, S., Johnson, A.J., Govindan, B. (2015). Secondary metabolites from *ganoderma*. *Phytochemistry* 114, 66e101. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.03.010>.
76. Ryvarden, L.P.K., Hseu, R.S., Moncalvo, J.M.(1994). Can we trust morphology in *Ganoderma* and *Ganoderma*: Systematics, phytopathology and pharmacology. *Proceedings of Contributed Symposium*:19–24.
77. Moncalvo, J.M.(2005).Molecular Systematics of *Ganoderma*: What Is *Reishi*?. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 7: 353-354.
78. Gottlieb, A.M., Saidman, B.O., Wright, J.E. (1998). Isoenzymes of *Ganoderma* species from southern South America. *Mycological Research*,102:415–426.

79. Saltarelli, R., Ceccaroli, P., Iotti, M. (2009). Biochemical characterisation and antioxidant activity of mycelium of *Ganoderma lucidum* from Central Italy. *Food chemistry*, 116: 143–151.
80. Hong, G.S., Jung, S.H. (2004). Phylogenetic analysis of *Ganoderma* based on nearly complete mitochondrial small subunit ribosomal DNA sequences. *Mycologia*, 96: 742–755.
81. Stamets, P. (2000). *Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms*. Third Edition. California: Ten Speed Press Publications. 614P.
82. Moradali, M.F., Hedjaroude, G.A., Mostafavi, H., Abbasi, M., Ghods, Sh., Sharifi-Tehrani, A. (2007). The genus *Ganoderma* (Basidiomycota) in Iran. *Mycotaxon*, 99: 251–269.
83. Ershad J. (1996). *Fungi of Iran*. Institute of research, education & Promotion of agriculture. 2nd ed; 179 p.
84. Borchers, A.T., Stern, J.S., Hackman, R.M., Keen, C.L., Gershwin, M.E. (1999). Mushrooms, tumors and immunity. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 221: 281–293.
85. Sanodiya, B., Thakur, G., Baghel, R., Prasad, G., Bisen, P. (2009). *Ganoderma lucidum*: A Potent Pharmacological Macrofungus. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 10: 717–742.
86. Mau, J.-L., Lin, H.-C., Chen, C.-C. (2001). Non-volatile components of several medicinal mushrooms. *Food Res. Int.* 34, 521–526.
87. Pecić, S. 2015. The effect of fruit body of *Ganoderma lucidum* on chemical composition and sensory properties of special brandy. (PhD thesis), University of Belgrade.
88. Coates, P.M., Blackman, M., White, J.D., Moss, J., Levine, M., Cragg, G.M. (2005). *Encyclopedia of Dietary Supplements*. One Edition. London: Marcel Dekker Publications. 801P.
89. Ho, Y.W., Yeung, J.S., Chiu, P.K., Tang, W.M., Lin, Z.B., Man, R.Y., Lau, C.S. (2007). *Ganoderma lucidum* polysaccharide peptide reduced the production of proinflammatory cytokines in activated rheumatoid synovial fibroblast. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 301: 173–179.
90. Zhu, X.L., Chen, A.F., Lin, Z.B. (2007). *Ganoderma lucidum* polysaccharides enhance the function of immunological effector cells in immunosuppressed mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 111: 219–226.
91. Chang ST and Buswell JA. (1996). *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst. (Aphyllphoromycetideae) – a mushrooming medicinal mushroom. *Int. J. Med. Mushr.* 1 (2): 139 - 46.
92. Kim, D.H., Shim, S.B., Kim, N.J., Jang, I.S. (1999). Beta-glucuronidase-inhibitory activity and hepatoprotective effect of *Ganoderma lucidum*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 22: 162–164.
93. Sun, L.X., Lin, Z.B., Duan, X.S. (2012). Enhanced MHC class I and costimulatory molecules on B16F10 cells by polysaccharides. *Journal of Drug Targeting*, 20: 582–592.
94. Boh, B., Berovic, M., Zhang, J., Zhi-Bin, L. (2007). *Ganoderma lucidum* and its pharmaceutically active compounds. *Biotechnology Annual Review*, 13: 265–301.

95. Wang Y, Liu Y, Yu H, et al.(2017). Structural characterization and immuno-enhancing activity of a highlybranched water-soluble beta-glucan from the spores of *Ganoderma lucidum*. *CarbohydrPolym.*;167:337–344
96. Cheng, KC., Huang, HC., Chen, JH.(2007).*Ganoderma lucidum*polysaccharides in human monocytic leukemia cells: from gene expression to network construction, *BioMed Central Genomics*.8:411.
97. Huie, CW., Di, X.(2004). Chromatographic and electrophoretic methods for Lingzhi pharmacologically active components. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 812: 241–257.
98. Zhang HN and Lin ZB.(2004). Hypoglycemic effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides. *Acta.Pharmacol. Sin*; 25: 191 - 5.
99. Tomoda, M., Gonda, R., Kasahara, Y., Hikino, H.(1986). Glycan structures of ganoderans B and C, hypoglycemic glycans of *Ganoderma lucidum*fruit bodies. *Phytochemistry*,25:2817–2820.
100. Miyazaki, T., Nishijima, M.(1981). Studies on fungal polysaccharides. XXVII. Structural examination of a water-soluble, antitumor polysaccharide of *Ganoderma lucidum*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*,29:3611–3616.
101. Hikino, H.,Ishiyama, M., Suzuki, Y., Konno, C. (1989). Mechanisms of hypoglycemic activity of ganoderan B: A glycan of *Ganoderma lucidum*fruit body. *Planta Medica*,55:423–428.
102. Bao, X., Liu, C., Fang, J., Li, X.(2001). Structural and immunological studies of a major polysaccharide from spores of *Ganoderma lucidum*(Fr.) Karst. *Carbohydrate Research*,332:67–74.
103. Wachtel-Galor, S & Iris, FFB. (2011). *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects*, Second Edition.London:Taylor & Francis Group Publications.465P.
104. Mahato,SB., Sen,S.(1997). Advances in triterpenoid research-1990-1994. *Phytochemistry*.44:1185-236.
105. Zhou, XW., Gong, ZH., Su,Y., Lin, J., Tang, KX. (2009). *Cordyceps* fungi: natural products, pharmacological functions and developmental products. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*,61: 279–291.
106. Min, BS., Gao, JJ., Nakanura, N., Hattori, M. (2000). Triterpenes from the spores of *Ganoderma lucidum* and their cytotoxicity against Meth-A and LLC tumor cells. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 48:1026–1033.
107. Gill, BS., Sharma, P., Kumar, R., Kumar, S. (2016). Misconstrued versatility of *Ganoderma lucidum*: a key player in multi-targeted cellular signaling. *Tumor Biology*, 37: 2789–2804.
108. Nishitoba, T., Sato, H., Kasai, T., Kawagishi, H., Sakamura, S.(1984). New bitter C27 and C30 terpenoids from fungus *Ganoderma lucidum*(Reishi). *Agricultural and Biological Chemistry*,48:2905–2907
109. Akihisa, T., Nakamura, Y., Tagata,M. (2007).Anti-inflammatory and anti-tumor-promoting effects of triterpene acids and sterols from the fungus *Ganoderma lucidum*. *ChemistryBiodivers*, 4:224-231.
110. Mau, JL., Lin, HC., Chen, CC. (2002). Antioxidant properties of several medicinal mushrooms. *Food Reviews International*, 50:6072–6077.

111. Jiang, J., Grieb, B., Thyagarajan, A., Suarez, D.(2008). Ganoderic acids suppress growth and invasive behavior of breast cancer cells by modulating AP-1 and NF- κ B signaling. *International Journal of Molecular Medicine*, 21: 577–584.
112. Chen, Y., Qiao, J., Luo, J.(2011). Effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on advanced glycation end products and receptor of aorta pectoralis in T2DM rats. *China journal of Chinese materia medica*, 36:624-627.
113. Budavari S.(1989). *The Merck Index*. eleven. New Jersey: Merck & Co., INC; p. 845.
114. Kino K, Yamashita A, Yamaoka K, Watanabe J, Tanaka S, Ko K, Shimizu K and Tsunoo H.(1989). Isolation and characterization of a new immunomodulatory protein, ling zhi-8 (LZ-8), from *Ganoderma lucidum*. *J. Biol. Chem*; 264: 472 - 8.
115. Wang HX and Ng TB.(2006). Ganodermin, an antifungal protein from fruiting bodies of the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. *Peptides*; 27: 27 – 30.
116. Wachtel-Galor, S., Choi, SW., Benzie, IFF.(2005). Effect of *Ganoderma lucidum* on human DNA is dose dependent and mediated by hydrogen peroxide. *Redox Report*, 10:145–149.
117. Kumari, B., Das, P., Kumari, R.(2016). Accelerated processing of solitary and clustered abasic site DNA damage lesions by APE1 in the presence of aqueous extract of *Ganoderma lucidum*. *Journal of Biosciences*, 41:265-275.
118. Li C, Yin J, Guo F, Zhang D and Sun HH.(2005). Ganoderic acid Sz, a new lanostanoid from the mushroom *Ganoderma lucidum*. *Natr. Prod. Res*; 19 (5): 461 – 5.
119. Wachtel-Galor, S & Iris, FFB. (2011). *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects*, Second Edition. London: Taylor & Francis Group Publications. 465P.
120. Li, YQ., Wang, SF.(2006). Anti hepatitis B activities of Ganoderic acid from *Ganoderma lucidum*. *Biotechnology Letters*, 28:837–841.
121. Lasukova, TV., Maslov, LN., Arbuzov, AG., Burkova, VN., Inisheva, LI.(2015). Cardioprotective activity of *Ganoderma lucidum* extract during total ischemia and reperfusion of isolated heart. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 158:739-741.
122. Wong WF, Shuhui L, Mok YK.,(2003). Role of mammalian chitinases in asthma. *International Archives of Allergy and Immunology*; 149(4): 369-377.
123. Shi, YL., James, AE., Benzie, IF., Buswell, JA.(2002). Mushroom derived preparations in the prevention of H₂O₂ induced oxidative damage to cellular DNA. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 22:103–111.
124. Wu, Y., Wang, D.(2009). A new class of natural glycopeptides with sugar moiety dependent antioxidant activities derived from *Ganoderma lucidum* fruiting bodies. *Journal of Proteome Research*, 8:436–442.
125. Lee J. M, Kwon H, Jeong H, editors.(2001). et al. Inhibition of lipid peroxidation and oxidative DNA damage by *Ganoderma lucidum*. *Phytother Res*; 15:245–9 .
126. Yuen, J. W., & Gohel, M. D. I. (2005). Anticancer effects of *Ganoderma lucidum*: a review of scientific evidence. *Nutrition and cancer*, 53(1), 11-17.
127. Saltarelli R, Ceccaroli P, Lotti M, Zambonelli A, Buffalini M, Casadei L, Vallorani L and Stocchi V.(2009). Biochemical characterisation and antioxidant activity of mycelium of *Ganoderma lucidum* from Central Italy. *Food Chem*; 116: 143 – 51.
128. Oh K. W, Lee C. K, Kim Y. S, Eo S. K, Han S. S.(2000). Antiherpetic activities of acidic protein bound polysacchride isolated from *Ganoderma lucidum* alone and in combination with Acyclovir and Vidarabine. *J Ethnopharmacol*; 72:221–7.

129. Eo, SK., Kim, YS., Lee, CK., Han, SS.(1999).Antiviral activities of various water and methanol soluble substances isolated from *Ganoderma lucidum*. *Journal of Ethnopharmacology*,68:129–136.
130. Seto, SW., Lam, TY., Tam, HL.(2009). Novel hypoglycemic effects of *Ganoderma lucidum* water extract in obese/diabetic (+db/+db) mice. *Phytomedicine*,16:426–436.
131. Thyagarajan-Sahu, A., Lane, B., Sliva, D.(2011). ReishiMax, mushroom based dietary supplement, inhibits adipocyte differentiation, stimulates glucose uptake and activates AMPK. *BMC Complementary and Alternative Medicine*:11:74.
132. P. Zeng, Z. Guo, X. Zeng, C. Hao, Y. Zhang, M. Zhang, Y. Liu, H. Li, J. Li, L. Zhang.(2018). Chemical, biochemical, preclinical and clinical studies of *Ganoderma lucidum* polysaccharide as an approved drug for treating myopathy and other diseases in China, *J. Cell. Mol. Med*.
133. Singh, v., Bedi, GK., Shri, R.(2017). In vitro and in vivo antidiabetic evaluation of selected culinary-medicinal mushrooms (*Agaricomycetes*). *International Journal of Medicinal Mushrooms*,19:17-25.
134. Gao. Y., Lan J., Dai X., Ye J., Zhou S.(2004). A phase I/II study of Ling Zhi mushroom *Ganoderma lucidum* (W. Curt.: Fr.) Lloyd (*Aphyllophoromycetidae*) extract in patients with type II diabetes mellitus. *Int. J. Med. Mushrooms*;6:3–9.
135. Chen, Y., Qiao, J., Luo, J.(2011). Effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on advanced glycation end products and receptor of aorta pectoralis in T2DM rats. *China journal of Chinese materia medica*,36:624-627.
136. Chen H, Ju Y, Li J, Yu M.(2012). Antioxidant activities of polysaccharides from *Lentinus edodes* and their significance for disease prevention. *Int J Biol Macromol*. Jan 1;50(1):214-8.
137. Zhao, C., Zhang, C., Xing, Z., Ahmad, Z., Li, J.-S., & Chang, M.-W. (2018). Pharmacological effects of natural *Ganoderma* and its extracts on neurological diseases: A comprehensive review. *International Journal of Biological Macromolecules*
138. Horng-Huey, K., Chi-Feng, H., Jih-Pyang, W., Chun-Nan, L.(2008). Antiinflammatory triterpenoids and steroids from *Ganoderma lucidum* and *Ganoderma tsugae*. *Phytochemistry*, 239-69.234.
139. Hirotsu M, Ino C, Furuya T and Shiro M.(1986). Ganoderic acids T, S and R, new triterpenoids from the cultured media of *Ganoderma lucidum*. *Chem. Pharm. Bull*; 34: 2282–5.
140. Y. Liu, C. Zhang, J. Du, R. Jia, L. Cao, G. Jeney, H. Teraoka, P. Xu, G. Yin.(2017). Protective effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharide against carbon tetrachloride-induced hepatic damage in precision cut carp liver slices, *Fish Physiology and Biochemistry* 43(5),1209-1221.
141. Soo, T.S. (1996). Effective dosage of the extract of *Ganoderma lucidum* in the treatment various ailments. In: Royse, D.J. (Ed.), *Mushroom Biology and Mushroom Products*. The Pennsylvania State University, PA, pp. 177–185.
142. K.S. Bishop, C.H. Kao, Y. Xu, M.P. Glucina, R.R.M. Paterson, L.R. Ferguson.(2015). From 2000 years of *Ganoderma lucidum* to recent developments in nutraceuticals, *Phytochemistry* 114 ,56–65.
143. Wasser, S.P.(2005). Reishi or Ling Zhi (*Ganoderma lucidum*). In: Coates, P.M., Betz, J.M., Blackman, M.R., Grass, G.M., Levine, M., Moss, J., White, J. (Eds.), *Encyclopedia of Dietary Supplements*. Marcel Dekker, New York, pp. 603–622.

144. Zhuang, C., Mizuno, T., Shimada, A., Ito, H., Suzuki, C., Mayuzumi, Y., Okomoto, H., Ma, Y., Li, J. (1993). Antitumor protein-containing polysaccharides from a Chinese mushroom *Fengweiguor Houbitake, Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Sing. *Biosci. Biotechnol. Biochem* 57, 901–906.
145. Yiğit, G. G., Cerit, İ., & Demirkol, O. (2021). Oxidative stability of cocoa hazelnut cream enriched with inactive yeast cells. *Journal of Food Processing and Preservation*, e15567.
146. Tarakçı, Z., & Yildirim, M. (2021). Effects of ghee and olive oil usage on cocoa hazelnut spreads during storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(3), e15246.
147. Ermis, E., & Özkan, M. (2021). Sugar beet powder production using different drying methods, characterization and influence on sensory quality of cocoa-hazelnut cream. *Journal of Food Science and Technology*, 58(6), 2068-2077.
148. Muhammad, D. R. A., Tuentner, E., Patria, G. D., Foubert, K., Pieters, L., & Dewettinck, K. (2021). Phytochemical composition and antioxidant activity of *Cinnamomum burmannii* Blume extracts and their potential application in white chocolate. *Food Chemistry*, 340, 127983
149. Rad, F. H., Khanjari, N., & Sharifan, A. (2021). Synbiotic Cocoa Cream Produced via Incorporation of Microencapsulated *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* and Inulin: Physicochemical, Rheological, and Sensory Properties. *Journal of Agricultural Science & Technology* (1008-0864), 23(1).
150. Barišić, V., Jozinović, A., Flanjak, I., Šubarić, D., Babić, J., Miličević, B., . . . Ačkar, Đ. (2021). Effect of Addition of Fibres and Polyphenols on Properties of Chocolate—A Review. *Food Reviews International*, 37(3), 225-243.
151. Akdeniz, E., Yakışık, E., Pirouzian, H. R., Akkın, S., Turan, B., Tipigil, E., . . . Özcan, O. (2021). Carob powder as cocoa substitute in milk and dark compound chocolate formulation. *Journal of Food Science and Technology*, 1-9.
152. Raja, K., Gokula Narayanan, S. N., Thiruvengadam, S., & Romauld, I. (2021). The influence of chocolate fortification with *Centella asiatica*, *Abelmoschus esculentus*, and *Psidium guajava* on the content of biologically active substances. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(4), e15271.
153. Sik, B., Lakatos, E. H., Kapcsándi, V., Székelyhidi, R., & Ajtony, Z. (2021). Exploring the rosmarinic acid profile of dark chocolate fortified with freeze-dried lemon balm extract using conventional and non-conventional extraction techniques. *LWT*, 147, 111520.
154. Moigradean, D., Poiana, M.-A., Dogaru, D.-V., & Ciurica, I. Antioxidant properties of milk chocolate assortments enriched with dried fruit.
155. Acan, B. G., Kilicli, M., Bursa, K., Toker, O. S., Palabiyik, I., Gulcu, M., . . . Konar, N. (2021). Effect of grape pomace usage in chocolate spread formulation on textural, rheological and digestibility properties. *LWT*, 138, 110451.
156. BAYCAR, A., KONAR, N., GOKTAS, H., SAGDIC, O., & POLAT, D. G. (2021). The effects of beetroot powder as a colorant on the color stability and product quality of white compound chocolate and chocolate spread. *Food Science and Technology*.
157. Özgüven, m., berктаş, i., gönül, ö., & özçelik, b. (2020). Development of dark chocolate enriched with matcha green tea (*camellia sinensis*). *Gıda*, 45(5), 850-860.

158. Sorrenti, V., Ali, S., Mancin, L., Davinelli, S., Paoli, A., & Scapagnini, G. (2020). Cocoa Polyphenols and Gut Microbiota Interplay: Bioavailability, Prebiotic Effect, and Impact on Human Health. *Nutrients*, 12(7), 1908.
159. Saputro, A., Hati, F., Yuda, W., Yanti, R., Marwati, T., Djaafar, T., . . . Rahayu, E. (2020). Quality attributes of probiotic-enriched chocolate: A preliminary study. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 980, p. 012035): IOP Publishing.
160. Didar, Z. (2020). Enrichment of dark chocolate with vitamin D 3 (free or liposome) and assessment quality parameters. *Journal of Food Science and Technology*, 1-8.
161. HOSSAIN, M. N., RANADHEERA, C. S., FANG, Z., & AJLOUNI, S. (2020). Healthy chocolate enriched with probiotics: a review. *Food Science and Technology(AHEAD)*.
162. González-Barrio, R., Nuñez-Gomez, V., Cienfuegos-Jovellanos, E., García-Alonso, F. J., & Periago-Castón, M. (2020). Improvement of the flavanol profile and the antioxidant capacity of chocolate using a phenolic rich cocoa powder. *Foods*, 9(2), 189.
163. Del Ben, M., Nocella, C., Loffredo, L., Bartimoccia, S., Cammisotto, V., Mancinella, M., . . . Carnevale, R. (2020). Oleuropein-enriched chocolate by extra virgin olive oil blunts hyperglycaemia in diabetic patients: Results from a one-time 2-hour post-prandial cross over study. *Clinical Nutrition*, 39(7), 2187-2191.
164. Zohreh, D. (2020). Properties of dark chocolate enriched with free and encapsulated chlorogenic acids extracted from green coffee. *Brazilian Journal of Food Technology*, 23.
165. Lončarević, I., Pajin, B., Petrović, J., Zarić, D., Tumbas Šaponjac, V., Fišteš, A., & Jovanović, P. (2019). The physical properties, polyphenol content and sensory characteristics of white chocolate enriched with black tea extract. *Hrana u zdravlju i bolesti: znanstveno-stručni časopis za nutricionizam i dijetetiku*, 8(2), 83-88.
166. Espert, M., Bresciani, A., Sanz, T., & Salvador, A. (2019). Functionality of low digestibility emulsions in cocoa creams. Structural changes during in vitro digestion and sensory perception. *Journal of Functional Foods*, 54, 146-153.
167. Aydemir, O. (2019). Utilization of different oils and fats in cocoa hazelnut cream production. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(5), e13930.
168. Lanfranchi, M., Zirilli, A., Alfano, S., Spiridione, F. S., Alibrandi, A., & Giannetto, C. (2019). The Carob as a Substitute for Cocoa in the Production of Chocolate: Sensory Analysis with Bivariate Association. *Calitatea*, 20(168), 148-153.
169. Sa'adiah, A. H., Jinap, S., & Norhayati, H. (2019). Fractionation of coconut oil via supercritical fluid extraction for production of cocoa butter substitute. *International Food Research Journal*, 26(3), 783-790.
170. Lončarević, I., Pajin, B., Tumbas Šaponjac, V., Petrović, J., Vulić, J., Fišteš, A., & Jovanović, P. (2019). Physical, sensorial and bioactive characteristics of white chocolate with encapsulated green tea extract. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(13), 5834-5841.
171. Muhammad, D. R. A., Lemarcq, V., Alderweireldt, E., Vanoverberghe, P., Praseptianga, D., Juvinal, J. G., & Dewettinck, K. (2019). Antioxidant activity and quality attributes of white chocolate incorporated with *Cinnamomum burmannii* Blume essential oil. *Journal of Food Science and Technology*, 1-9.

172. Yeo, X. E. (2019). Development of Rosemary Dark Chocolate Enriched with Orange Peel Powder. Tunku Abdul Rahman University College.
173. Veljović, S., Nikićević, N., & Nikšić, M. (2019). Medicinal Fungus *Ganoderma lucidum* as Raw Material for Alcohol Beverage Production. In *Alcoholic Beverages* (pp. 161-197): Elsevier.
174. Jahangir, M. A., Shehzad, A., Butt, M. S., & Bashir, S. (2018). Influence of supercritical fluid extract of *Cinnamomum zeylanicum* bark on physical, bioactive and sensory properties of innovative cinnamaldehyde-enriched chocolates. *Czech Journal of Food Sciences*, 36(1), 28-36.
175. Muhammad, D. R. A., Saputro, A. D., Rottiers, H., Van de Walle, D., & Dewettinck, K. (2018). Physicochemical properties and antioxidant activities of chocolates enriched with engineered cinnamon nanoparticles. *European Food Research and Technology*, 244(7), 1185-1202.
176. Konar, N., Toker, O. S., Pirouzian, H. R., Oba, S., Polat, D. G., Palabiyik, I., . . . Sagdic, O. (2018). Enrichment of milk chocolate by using EPA and DHA originated from various origins: effects on product quality. *Sugar Tech*, 20(6), 745-755.
177. Martini, S., Conte, A., & Tagliazucchi, D. (2018). Comprehensive evaluation of phenolic profile in dark chocolate and dark chocolate enriched with Sakura green tea leaves or turmeric powder. *Food Research International*, 112, 1-16.
178. Smita, S., Mishra, D., & Chauhan, A. K. (2018). Optimization and functional analysis of guava enriched chocolate formulation. *Indian Journal of Dairy Science*, 71(6), 571-578.
179. Singh, S., Khatkar, S. K., & Panwar, H. (2018). Effect of storage on the quality attributes of whey protein enriched milk chocolate.
180. Lončarević, I., Pajin, B., Fišteš, A., Šaponjac, V. T., Petrović, J., Jovanović, P., . . . Zarić, D. (2018). Enrichment of white chocolate with blackberry juice encapsulate: Impact on physical properties, sensory characteristics and polyphenol content. *LWT*, 92, 458-464.
181. Mirković, M., Seratlić, S., Kilcawley, K., Mannion, D., Mirković, N., & Radulović, Z. (2018). The sensory quality and volatile profile of dark chocolate enriched with encapsulated probiotic *Lactobacillus plantarum* bacteria. *Sensors*, 18(8), 2570.
182. Rad, A. H., Azizi, A., Dargahi, R., Bakhtiari, O., Javadi, M., Moghaddam, M. J., . . . Tayebali, M. (2018). Development of synbiotic milk chocolate enriched with *Lactobacillus paracasei*, D-tagatose and galactooligosaccharide. *Applied Food Biotechnology*, 5(2), 59-68.
183. Toliba, A. O. (2018). Quality Characteristics of Compound Chocolate Enriched with Dried Indian Cherry Fruit Pulp. *Suez Canal University Journal of Food Sciences*, 5(1), 91-97.
184. Vanegas-Azuero, A.-M., & Gutiérrez, L.-F. (2018). Physicochemical and sensory properties of yogurts containing sachu inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds and β -glucans from *Ganoderma lucidum*. *Journal of Dairy Science*, 101(2), 1020-1033.
185. Ilmi, A., Praseptiangga, D., & Muhammad, D. (2017). Sensory attributes and preliminary characterization of milk chocolate bar enriched with cinnamon essential oil. *IOP conference series: Materials science and engineering* (Vol. 193, p. 012031): IOP Publishing.

186. Bouaziz, M. A., Abbes, F., Mokni, A., Blecker, C., Attia, H., & Besbes, S. (2017). The addition effect of Tunisian date seed fibers on the quality of chocolate spreads. *Journal of texture studies*, 48(2), 143-150.
187. Yang, H., & Zhang, L. (2009). Changes in some components of soymilk during fermentation with the basidiomycete *Ganoderma lucidum*. *Food Chemistry*, 112(1), 1-5.
188. Bolenz S, Amsberg K, Schape R.(2006). The broader usage of sugars and fillers in milk chocolate made possible by the new EC cocoa directive. *Int J Food Sci and Technol*; 41: 45–5.
189. Zaki, H.(2005). Soy-containing chocolate products. *Journal of Medical Virology* 43:50-63.
190. Naz, S., Masud, T. and Nawaz, M. A. (2009). Characterization of milk coagulating properties from the extract of *Withania coagulans*. *International journal of dairy technology*, 62(3): 315-320.
191. Zhang, M., Cui, S.W., Cheung, P.C.K., Wang, Q.(2007). Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity. *Trend Food Sci. Technol.* 18, 4-19.
192. Nie, S., Zhang, H., Li, W., Xie, M.(2013). Current development of polysaccharides from *Ganoderma*: isolation, structure and bioactivities. *Bioactive carbohydrates and dietary fibre* 1, 10-20.
193. Pezeshki, A., Hesari, J., Ahmadi Zonoz, A., & Ghambarzadeh, B.(2011). Influence of *Withania coagulans* Protease as a Vegetable Rennet on Proteolysis of Iranian UF White Cheese. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13: 567-576.
194. Sun, LX., Lin, ZB., Duan, XS.(2010). Enhanced MHC class I and costimulatory molecules on B16F10 cells by polysaccharides. *Journal of Drug Targeting*, 20: 582-592.
195. Samavati, V. and Manoochehrzade, A. (2013). Polysaccharide extraction from *Malva sylvestris* and its anti-oxidant activity. *International Journal of Biological Macromolecules* 60:427–436.
196. Jalili Safaryan, M., Ganjloo, A., Bimakr, M. and Zarringhalami, S. (2016). Optimization of ultrasound-assisted extraction, preliminary characterization and in vitro antioxidant Activity of polysaccharides from green pea pods, *Foods*, 5: 78; doi: 10.3390/foods5040078.
197. Sevag, M.G., Lackman, D.B. and Smolens, J. (1938). The isolation of the components of streptococcal nucleoproteins in serologically active form. *Journal of Biological Chemistry*, 124:425-436.
198. Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158.
199. T. Belwal, P. Dhyani, I.D. Bhatt, R.S. Rawal, V. Pande.(2016). Optimization extraction conditions for improving phenolic content and antioxidant activity in *Berberis asiatica* fruits using response surface methodology (RSM), *Food Chem.* 207 , 115-12.
200. Afolayan AJ, Jimoh FO, Sofidiya MO, Koduru S, Lewu FB.(2007). Medicinal potential of the root of *Arctotis arctotoides*. *Pharm Biol*;45:486–493.
201. Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. t., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3), 350-356.

202. Abbasi, S. and Farzanmehr, H. (2009). Rheological properties of prebiotic milk chocolate. *Food Technology and Biotechnology*, 47: 396–403.
203. Chevalley, J. (1994). Traditional chocolate making, In: *Industrial Chocolate Manufacture and Use*, ed. Beckett, S. T., PP.1–7. London: Blackie Academic and Professional.
204. AOAC Official Method of Analysis. (2005). chapters 31,33,44.
205. AOAC. (1990). Moisture in cacao products: Gravimetric Method. Method 931.04. Helrich ed. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (p.763). Arlington: Association of Official Analytical Chemists. Inc
206. American Association of Cereal Chemists. (1984). *Approved Methods of AACC*. Methods: 22-10, 30-10, 34-01, 38- 10, 38-11, 44-10, 44-40, 46-10, 54-10, 54-11, 54-21, 54-29, 56-20, 56-60.
207. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. No 383 Cocoa powder - Specifications and test methods. [In Persian].
208. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. No 4178 Vegetable and animal oils and fats - Measurement of acid number and acidity - Test method. [In Persian].
209. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. No 4179 Vegetable and animal fats and fats - Measurement of peroxide by iodometric method - Determination of end point by ocular method. [In Persian].
210. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. No 2462 Halva ardeh - Specifications and test methods. [In Persian].
211. Brimelow CJB, Nestle R, Centre D. (2001). Lausanne, Colour measurement of foods by colour reflectance. Research Centre, CRC Press LLC.
212. Abbasi, S. and Farzanmehr, H. (2009). Rheological properties of prebiotic milk chocolate. *Food Technology and Biotechnology*, 47: 396–403.
213. Bourne, MC. (2007). *Food texture and viscosity: Concept and measurement*. 2nd ed. Translated by Abbasi S. Tehran: Marzedanesh Publications, [In Persian].
214. Barnes HA. (2008). *Handbook of elementary rheology*. Translated by Abbasi S. Tehran: Marzedanesh Publications [In Persian].
215. Afoakwa, E.O., Paterson, A. and Fowler, M. (2007). Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate. *Trends in Food Science and Technology*, 18: 290–298.
216. Popov-Raljić, J.V., and Lalić-Petronijević, J.G. (2009). Sensory properties and colour measurements of dietary chocolates with different compositions during storage for up to 360 days. *Sensors*, 9(3): 1996-2016.
217. Josuttis, M., Carlen, C., Crespo, P., Nestby, R., Toldam-Andersen, T., Dietrich, H., & Krüger, E. (2012). A comparison of bioactive compounds of strawberry fruit from Europe affected by genotype and latitude. *Journal of Berry Research*, 2(2), 73-95.
218. Klimczak I, Malecka M, Szlachta M and Gliszczyńska-Swigło A .(2007). Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity .
219. Kiselova Y, Ivanova D, Chervenkov T, Geroва D, Galunska B and Yankova T (2006). Correlation between the in vitro antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from bulgarian herbs. *Phytother. Res.*, 20(11): 961- 965.
220. Jayaprakasha GK, Girennavar B, Patil BS (2008). Radical scavenging activities of Rio Red grapefruits and Sour orange fruit extracts in different in vitro model systems. *Bioresour. Technol.*, 99(10): 4484-4494.

221. Kedage VV, Tilak JC, Dixit GB, Devasagayam TPA and Mhatre MA .(2007). Study of antioxidant properties of some varieties of grapes (*Vitis vinifera* L.). *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 47: 175-185.
222. Van Acker SA, van Den Berg DJ, Tromp MN, Griffioen DH, Van Bennekom WP, van der Vijgh WJ and Bast A .(1996). Structural aspects of antioxidant activity of flavanoids. *Free Radic. Biol. Med.*, 20(3): 331-342.
223. Yang, H., & Zhang, L. (2010). Changes in some components of soymilk during fermentation with the basidiomycete *Ganoderma lucidum*. *Food Chemistry*, 112(1), 1-5.
224. Shi, J., Yu, J., Pohorly, J., Young, J. C., Bryan, M., & Wu, Y. (2003). Optimization of the extraction of polyphenols from grape seed meal by aqueous ethanol solution. *J. Food Agric. Environ*, 1(2), 42-47.
225. Ruenroengklin N, Zhong J, Duan X, Yang B, Li J, Jiang Y.(2008). Effects of various temperatures and pH values on the extraction yield of Phenolics from Litchi fruit pericarp tissue and the antioxidant of the extracted anthocyanins. *Int J Molecule Sci*; 9: 1333-41.
226. J. Wollgast and E. Anklam.(2000). "Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health?" *Food Research International*, vol.33,no.6,pp.449–459.
227. F. A. Tomas-Barberan.(2012). "Types, food sources, consumption and bioavailability of dietary polyphenols nutrinsight," in *Proceedings of the Symposium 11th Nutrition Conference*, Kraft Foods.
228. M. Gallo, G. Vinci, G. Graziani, C. de Simone, and P. Ferranti.(2013). "The interaction of cocoa polyphenols with milk proteins studied by protomic techniques," *Food Research International*, vol. 54, pp. 406–415.
229. J. B. Keogh, J. McInerney, and P. M. Clifton.(2007). "The effect of milk protein on the bioavailability of cocoa polyphenols," *Journal of Food Science*, vol.72, no.3, pp.S230–S233.
230. M.Serafini,R.Bugianesi,G.Maiani,S.Valtuna,S.deSantis,and A. Crozier.(2003). "Plasma antioxidants from chocolate," *Nature*, vol.424,no.6952,p.1013.
231. Wollgast J, Anklam E.(2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*; 33: 423–447.
232. A. P. Neilson, T. N. Sapper, E. M. Janle, R. Rudolph, N. V.Matusheski, and M. G. Ferruzzi.(2010). "Chocolate matrix factors modulate the pharmacokinetic behavior of cocoa flavan-3-ol phase II metabolites following oral consumption by SpragueDawley Rats," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol.58,no.11,pp.6685–6691.
233. X.Han,T.Shen,andH.Lou.(2007). "Dietary polyphenols and their biological significance," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 8, no. 9, pp. 950–988.
234. K.A.Cooper,J.L.Donovan,A.I.Waterhouse, and G.Williamson.(2008). "Cocoa and health: a decade of research," *British Journal of Nutrition*, vol.99,no.1,pp.1–11.
235. F. B. Awe, T. N. Fagmebi, B. Olawunmi, T. Ifesan, and A. A.Badejo.(2013). "Antioxidant properties of cold and hot water extract of cocoa, Hibiscus flower extract, ginger beverage blend," *Food Research International*, vol.52,no.2,pp.490–495.
236. Telis-Romero, j., Ferreira Cabral, P.A.(2001). Rheological properties and fluid dynamics of coffee extract. *Journal of Food Process Engineering*, 24 (4), 217-230.

237. Astolfi-Filho, Z., Nicoletti Telis, V.R., de Oliveira, E.B., Reis Coimbra, J.S., Telis-Romero, J., (2011). Rheology and fluid dynamics properties of sugarcane juice. *Biochemical Engineering Journal*, 53 (3), 260-265.
238. J. Food Eng., 30, 147-154. Gliksman, M.(1982). *Food hydrocolloids*.Vol.1-3, CRC press, Florida.
239. Singh, N., Eipeson,W.E.(2007). Rheological behavior of clarified mango juice concentrates. *Journal of Texture studies*, 31 (3), 287-295.
240. Barnes HA. (2008). *Handbook of elementary rheology*. Translated by Abbasi S. Tehran: Marzedanesh Publications [In Persian].
241. Briones, V., Aguilera, J.M., and Brown, C.(2006). Effect of surface topography on color and gloss of chocolate samples. *Journal of Food Engineering*, 77: 776-783.
242. Jairo Lindarte Artunduaga and Luis-Felipe Gutiérrez.(2019). Effects of replacing fat by betaglucans from *Ganoderma lucidum* on batter and cake properties. *J Food Sci Technol*. Jan; 56(1): 451–461.
243. foakwa.E.O,Paterson.A,Fowler.M,Vieira.J.(2008).Particle Size Distribution and Compositional Effects on Textural Properties and Appearance of Dark Chocolates. *Journal of Food Engineering* ,87,p 181-190.
244. Shourideh, M., Taslimi, A., Azizi, M.H. and Mohammadifar, M.A.(2012). Effects of D-Tagatose and Inulin on Some Physicochemical, Rheological and Sensory Properties of Dark Chocolate. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, 2(5), p.314.
245. Guevara-Figueroa, T., Jiménez-Islas, H., Reyes-Escogido, M., Mortensen, A. G., Laursen, B. B., Lin, L.-W., León-Rodríguez, A., & Fomsgaard, I. S., & Barba de la Rosa, A. P. (2012). Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(6), 525-532.
246. Kim, B. K., Chung, H. S., Chung, K. S., and Yang, M. S.(1980):Studies on the antineoplastic components of Korean basidiomycetes.*KoreanJ.Mycol.*,8,107–113 .
247. Zhu, LW., Zhong, JJ., Tang, YJ.(2008). Significant of fungal elicitors on the production of ganoderic acid and Ganodermapolysaccharides by the submerged culture of medicin almushroom *Ganoderma lucidum*. *Process Biochemistry*, 43:1359–1370
248. Min, BS., Gao, JJ., Nakanura, N., Hattori, M. (2000). Triterpenes from the spores of *Ganoderma lucidum* and their cytotoxicity against Meth-A and LLC tumor cells. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 48:1026–1033.
249. Gill, BS., Sharma, P., Kumar, R., Kumar, S.(2016). Misconstrued versatility of *Ganoderma lucidum*: a key player in multi-targeted cellular signaling. *Tumor Biology*, 37: 2789–2804.
250. Cerit, İ., Şenkaya, S., Tulukoğlu, B., Kurtuluş, M., Seçilmişoğlu, Ü. R., Demirkol O. (2016). Enrichment of functional properties of white chocolates with cornelian cherry, spinach and pollen powders, *GIDA/The Journal of FOOD*, 41 (5), 311-316.
251. Belščak-Cvitanović, A., Komes, D., Benković, M., Karlović, S., Hečimović, D. J., & 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, 820-830, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.06.023>.

252. Abbasi, S. and Farzanmehr, H. (2009). Rheological properties of prebiotic milk chocolate. *Food Technology and Biotechnology*, 47: 396–403
253. Saputro, A.D., Walle, D.V., Aidoo, R.P., Mensah, M.A., Delbaere, C., Clercq, N.D., Durme, J.V., and Dewettinck, K.(2016). Quality attributes of dark chocolates formulated with palm sap-based sugar as nutritious and natural alternative sweetener. *European Food Research and Technology*, DOI 10.1007/s00217-016-2734-9.
254. Shourideh, M., Taslimi, A., Azizi, M.H., and Mohammadifar, M.A.(2012). Effects of D-Tagatose and inulin on some physicochemical, rheological and sensory properties of dark chocolate.
255. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, 2(5): 314-319.
256. Gomes, C.R., Vissotto, F.Z., Fadini, A.L., Faria, E.V., and Luiz, A.M.(2007). Influence of different bulk agents in the rheological and sensory characteristics of diet and light chocolate. *Food Science and Technology (Campinas)*, 27(3): 614-623.
257. Bitaraf Sh, Abbasi S, Hamidi Z.(2013). Production of low -energy prebiotic dark chocolate using inulin, polydextrose, and maltodextrin. *Iranian J. Nutr Sci Food Techn*; 8(1): 49 -62 [in Persian].
258. Borchers A. T, Stern J. S, Hackman R. M, Keen C. L, Gershwin M. E.(1999). Minireview: Mushrooms, tumors and immunity. *Proc Soc Exp Biol Med*;221:281–93.
259. Keypour, S., H. Rafati, H. Riahi, F. Mirzajani and M. F. Moradali.(2010). 'Qualitative analysis of ganoderic acids in *Ganoderma lucidum* from Iran and China by RP-HPLC and electrospray ionisation-mass spectrometry (ESI-MS)'. *Food Chemistry*, 119(4): 1704-1708.
260. Peighambardoust S.H., Niyaei S , Azadmard-Damirchi S , Rasouli Pirouzyan H.(2016). Effect of Incorporating Date Pit and Sesame Seed Powder Mixture on the Quality Parameters of Functional Milk Chocolate. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*. Vol. 11, No. 4, Winter 2017.
261. Aidoo, R.P., Afoakwa, E.O., and Dewettinck, K. (2014). Optimization of inulin and polydextrose mixtures as sucrose replacers during sugar-free chocolate manufacture: rheological, microstructure and physical quality characteristics. *Journal of Food Engineering*, 126: 35-42.
262. Aidoo, H., Sakyi-Dawson, E., Abbey, L., Tano-Debrah, K., and Saalia, F.K. (2011). Optimisation of chocolate formulation using dehydrated peanut–cowpea milk to replace dairy milk. *Journal of the Science and Agriculture*, 92(2): 224-231.
263. Minifie, B.W.(1989). *Chocolate, cocoa and confectionery- Science and technology*. Chapman and Hall, London. Mitchell, H. 2006. *Sweeteners and Sugar Alternatives In Food Technology*. Blackwell Publishing Ltd. pp. 150-320.
264. Afoakwa, E., Paterson, A., and Fowler, M.(2008). Effects of particle size distribution and composition on rheological properties of dark chocolate. *European Food Research and Technology*, 226(6): 1259-1268.
265. Afoakwa EO, Paterson A, Fowler M, Vieira J.(2008). Particle size distribution and compositional effects on textural properties and appearance of dark chocolates. *J Food Eng*; 87: 181-90.
266. Servais, C., Ranc, H., and Roberts, I.D. (2004). Determination of chocolate viscosity. *Journal of Texture Studies*, 34(5-6): 467-497.

267. Afoakwa, E.O., Paterson, A. and Fowler, M. (2007). Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate. *Trends in Food Science and Technology*, 18: 290–298.
268. Afolayan AJ, Jimoh FO, Sofidiya MO, Koduru S, Lewu FB.(2007). Medicinal potential of the root of *Arctotis arctotoides*. *Pharm Biol*;45:486–493.
269. Beckett, S.T.(2000). *The Science of Chocolate*. Royal Society of Chemistry Paperbacks, UK, pp.240.
270. Afoakwa, E.O.(2010). *Chocolate Science and Technology*. Wiley- Blackwell Press, United Kingdom., pp. 275.
271. Do, T.A.L., Hargreaves, J.M., Wolf, B., Hort, J., Mitchell, J.R. (2007). Impact of particle size distribution on rheological and textural properties of chocolate models with reduced fat content. *Journal of Food Science*, 72(9): E541-E552.
272. Denker, M., Parat-Wilhelms, M., Drichelt, G., Paucke, J., Luger, A., Borcherdig, K., Hoffmann, W., and Steinhart, H.(2006). Investigations of the retronasal flavour release during the consumption of coffee with additions of milk constituents by ‘Oral Breath Sampling’. *Food Chemistry*, 98: 201- 208.
273. Sokmen, A., and Gunes, G. (2006). Influence of some bulk sweeteners on the rheological properties of chocolate. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 39: 1053–1058.
274. Becu, M., Fonoll, J. R., Hospied, E., Liegeois, S., Haut, B. and Debaste, F.(2010). Study of the rheological behavior of chocolate and margarine. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 14(S2):537-540.
275. Kovacevic, A., Savic, S., Vuleta, G., Müller, R.H., and Keck, C.M.(2011). Polyhydroxy surfactants for the formulation of lipid nanoparticles (SLN and NLC): Effects on size, physical stability and particle matrix structure. *International Journal of Pharmaceutics*, 406: 163-172.
276. Taylor, T.P., Fasina, O., and Bell, L.N.(2008). Physical properties and consumer liking of cookies prepared by replacing sucrose with tagatose. *Journal of Food Science*, 73(3): S1145-151.
277. Briggs, J.L., and Wang, T.(2004). Influence of shearing and time on the rheological properties of milk chocolate during tempering. *Journal of the American Oil Chemist Society*, 81: 117-121.
278. Chevalley, J.(1999). The Chocolate flow properties. In. Beckett ST, editor. *Industrial chocolate manufacture and use*. 3rd ed. Oxford: Blackwell Science. pp.182-99.
279. Ziegler, G.R., Mongia, G., and Hollender, R.(2001). The Role of particle size distribution of suspended solids in defining the sensory properties of milk chocolate. *International Journal of Food Properties*, 4(2): 353-370.
280. Aidoo, R.P., Depypere, F., Afoakwa, E.O., and Dewettinck, K.(2013). Industrial manufacture of sugar-free chocolates -applicability of alternative sweeteners and carbohydrate polymers as raw materials in product development. *Trends in Food Science and Technology*, 32(2): 84-96.
281. Awua, P.K.(2002). *Cocoa Processing and Chocolate Manufacture in Ghana*. David Jamieson and Associates Press Inc: United Kingdom.
282. Barnes HA. (2008). *Handbook of elementary rheology*. Translated by Abbasi S. Tehran: Marzedanesh Publications [In Persian].

283. B. Smith, K. Sivasithamparam, (2000) . Internal transcribed spacer ribosomal DNA sequence of five species of *Ganoderma* from Australia, *Mycol. Res.* 104 (8) 943–951
284. Yaghchi, F., Peighambaroust, S.H., Hesari, J., Mohammadi, R. and Alizadeh, A.A.(2014). Production of Pekmez fortified with flaxseed and evaluation of some chemical properties. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 10: 1.55-61. (In Persian).
285. Peighambaroust, S.H., Azadmard-Damirchi, S., Fathnejhad Kazemi, R., Nemati, M. and Rafat, S.A.(2013). Application of flaxseed in breadmaking: Effect on chemical characteristics, fat composition of flour and bread, and sensory quality of enriched semi-flat bread. *Journal of Food Research*. 23: 2.281-292.(In Persian).
286. Taheri, A., Jalali nejad, S. & Anvar, S. A. A. (2010). ACE-inhibitory activity and antioxidative properties of five protein hydrolysates prepared from by-products of white shrimp (*Penaeus indicus*). *Journal of Comparative Pathology*, 1, 599-608.
287. Ozyurt G., Polat A. and Tokur B.(2000): Chemical and sensory changes in frozen (-18 ° C) wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*) captured at different fishing seasons. *International journal of food science and Technology*

Abstract

Cocoa and cocoa products are popular products that have always been welcomed by consumers because of their valuable food ingredients. The aim of this study was to enrich milk cocoa cream with *Ganoderma lucidum* extract powder and its effects on physical, chemical, phenolic compounds, rheological and sensory properties and color indicators of cocoa cream. Also, changes in acidity and peroxide of enriched samples were measured over a period of 30 days and the results were compared with control samples (without extract). In this study, various extracts of *Ganoderma* were obtained: extracts using water solvent (aqueous extract), extracts using alcohol solvent (hydroalcoholic extract) and extracts using alcohol and water (polysaccharide extract). Since the IC₅₀ values of hydroalcoholic extract were lower than other treatments and its phenolic content was higher than other treatments, hydroalcoholic extract was used to enrich milk cocoa cream at levels of 1, 2, 2.5 and 3%. The results of the study of the rheological properties of the enriched samples showed the lubrication behavior with shear in all samples. Increasing the concentration of the extract increased the viscosity of all fortified chocolates compared to the control sample. The results of the study of the effects of the extract on the color indices of fortified cocoa cream also showed that, with increasing the percentage of extract, the color components L*, b* and a* and chroma factor in cocoa cream samples significantly decreased and the Hue component increased significantly. With increasing the percentage of *Ganoderma* extract, the moisture content, total sugar and phenolic compounds of cocoa cream samples increased significantly. With increasing enrichment, the bitter taste due to the presence of ganoderic acid also increased, which reduced the desirability in terms of taste and overall acceptance of the samples from the point of view of panelists. As a result, among the enriched samples, the highest acceptance rate (more than 70%) was allocated to the samples with low levels of enrichment, 1% and 2%. The acidity and peroxide content of the samples increased and decreased, respectively, with increasing levels of *Ganoderma*. Also, with increasing storage time, the acidity and peroxide content of the samples increased. In general, according to the results obtained from rheological, sensory and other physical and chemical properties, compared to other levels of enrichment, enrichment of milk cocoa cream with *Ganoderma* mushroom extract up to 2% compared to the sample of control cocoa cream, Produced beneficial chocolate with high phenolic compounds, acceptable rheological and sensory properties, which can be considered the right amount to enrich this product.

Keywords: Enrichment, Cocoa cream, *Ganoderma lucidum*, Rheological properties



shahrood University of Technology

Faculty of Agriculture

M.Sc. Thesis in Food Sciences

Evaluation of physical, rheological and chemical properties of cocoa cream enriched with Ganoderma lucidium extract

By: Forouz Nasiri Fatideh

Supervisor:

Dr Ahmad Rajaei Najafabadi

Dr. Hamidreza Samadlou

September 2021