مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هفتم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۱، صفحات ۵۶-۴۷

تأثیر تیمار فراصوت روی افزایش پایداری شیر کاکائو

محبوبه استادزاده[۱]، سلیمان عباسی[۲]، محمدرضا احسانی[۳]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذائی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات
۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، پست الکترونیکی: sabbasifood@modares.ac.ir
۳- استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات

تاریخ دریافت: ۹۰/۶/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۰/۹/۸

چکیده

سابقه و هدف: جلوگیری از ناپایداری فیزیکی شیر کاکائو یکی از چالش‌های بزرگ صنایع شیر است. در پژوهش حاضر، تأثیر تیمار فراصوت به عنوان یک روش فیزیکی جدید بر افزایش پایداری شیر کاکائو در حضور و عدم حضور پایدارکننده مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: تأثیر امواج فراصوت در توان‌های ۲۴، ۷۲ و ۱۲۰ وات، زمان‌های ۲، ۶ و ۱۰ دقیقه و دماهای ۲۵، ۴۵ و ۶۵ درجه سانتی‌گراد طی ۳۰ روز ارزیابی شد. کاپا-کاراگینان در غلظت‌های صفر، ۰/۰۱۰، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۲۰ درصد، در حضور شکر (۷ درصد) و عدم حضور آن به نمونه‌ها اضافه شد.

یافته‌ها: با افزایش شدت و زمان تیمار فراصوت، حجم فاز شیری کاهش و فاز کاکائویی افزایش یافت. کاپا-کاراگینان در بیشترین غلظت (۰/۰۲۰ درصد) به مدت ۳۰ روز از ایجاد رسوب و دوفاز شدن جلوگیری کرد، در حالی‌که نمونه شاهد با ۰/۰۴۰ درصد کاراگینان بعد از ۳۰ روز رسوب کرد. شکر نیز سبب بهبود پایداری شیر کاکائو شد. حجم فاز شیری در حضور ۰/۰۲۰ درصد کاپا-کاراگینان بعد از ۳۰ روز در دمای $45^{o}C$ کمتر از دماهای دیگر بود.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که امواج فراصوت سبب شکستن شبکه کاپا-کاراگینان می‌شود. این تأثیر با افزایش دما بیشتر شد. کاویتاسیون (حفره‌زایی) با به دام انداختن ملکول‌های هوا در شبکه کاپا-کاراگینان به تضعیف قدرت شبکه منجر شد.

واژگان کلیدی: شیر کاکائو، فراصوت، پایدارسازی، هیدروکلوئید، کاراگینان

• مقدمه

شیر در بین غذاهای متعدد با منشأ حیوانی و گیاهی از جایگاه خاصی برخوردار است. امروزه، تولید شیر و محصولات تهیه شده از آن به عنوان ترکیبات غنی از پروتئین و مواد ضروری بدن، یکی از مهم‌ترین فعالیت‌ها در زمینه صنایع غذایی محسوب می‌شود؛ به‌گونه‌ای که در مواردی مصرف سرانه آن در کشورهای جهان به عنوان شاخصی از پیشرفت و توسعه تلقی می‌شود. با وجود این ، طعم شیر با ذائقه برخی مصرف‌کنندگان، به ویژه کودکان سازگاری ندارد. این حالت باعث عدم تمایل به خوردن شیر در بین کودکان می‌شود، در حالی‌که بیشترین نیاز را به آن دارند. بنابراین، برای ایجاد علاقه‌مندی به مصرف شیر و رفع این مشکل، بخش بزرگی از تولید شیرهای آشامیدنی به تولید شیرهای طعم‌دار اختصاص یافته است (۲، ۱). در این میان، شیر کاکائو شناخته شده‌ترین و مورد قبول‌ترین نوشیدنی در بین شیرهای طعم‌دار است (۱). ویژگی‌های کیفی شیر کاکائو فقط به مزه، طعم و رنگ محدود نمی‌شود و معمولاً مصرف‌کننده در نگاه اول به میزان رسوب ذرات کاکائو در انتهای بطری توجه می‌کند. وجود یک لایه کاکائو در انتهای بطری از نظر مصرف‌کننده ناخوشایند است.

با توجه به گزارش‌های موجود به نظر می‌رسد که با کمک دو عامل می‌توان پایداری شیر کاکائو را بهبود داد: ۱. انجام عملیات فیزیکی، ۲. افزودن برخی مواد هیدروکلوئیدی. بیشترین مواد پایدارکننده‌ای که تاکنون در شیر کاکائو استفاده شده‌اند، کاپا-کاراگینان و سدیم آلژینات هستند که اثر کاپا-کاراگینان در افزایش گرانروی و ویژگی‌های حسی بهتر از سدیم آلژینات گزارش شده است (۳). در مورد استفاده از عوامل مکانیکی در پایدارسازی شیر کاکائو مستندات کمتری وجود دارد و بیشتر محققان، همگن‌سازی

(هموژنیزاسیون) را توصیه کرده‌اند. هرچند با این روش میزان رسوب کاکائو به طور چشم‌گیری کاهش می‌یابد، اما با گذشت زمان ذرات کاکائو به دریچه هموژنایزر آسیب می‌رسانند و این امر سبب کاهش کارایی دستگاه هموژنایزر می‌شود (۴).

امروزه، هر چند با استفاده از هیدروکلوئید و هموژنیزاسیون شیر کاکائو با دستگاه‌های هموژنایزر مرسوم میزان رسوب ذرات کاکائو کاهش یافته، اما این مشکل به طور کامل حل نشده است. در سال‌های اخیر با توجه به پیشرفت تکنولوژی، روش‌های جدیدی برای بهبود کیفیت و کاهش زمان فرایندهای مواد غذایی مورد توجه قرار گرفته‌اند. یکی از روش‌های نوین، استفاده از فرایند فراصوت است.

امواج فراصوت از طریق پدیده حفره‌زایی (کاویتاسیون) سبب کوچک‌ترشدن اندازه ذرات می‌شوند. در سامانه‌های ناهمگنی مثل شیر، تأثیرات امواج فراصوت به کاویتاسیون منظم و نامنظم نسبت داده می‌شود. از هم پاشیدن حباب‌های کاویتاسیون گرمای موضعی شدید و فشار بالایی تولید می‌کند. این تنش‌ها و از هم پاشیدن مکرر حباب‌ها به دیواره مواد آسیب می‌رساند. این آسیب‌های شدید، تنش‌های مکانی و زودگذری را بر سطح ذرات تحمیل می‌کنند و در نهایت به قطعه قطعه شدن ذرات می‌انجامند (۵).

استفاده از امواج فراصوت در صنایع لبنی در مقالات زیادی بحث شده است، ولی تاکنون مطالعه‌ای روی تأثیر امواج فراصوت بر ذرات کاکائو در شیر انجام نشده است و عمده تحقیقات روی ساختار و ترکیبات شیر بوده است. اولین کاربرد فراصوت در هموژنیزاسیون توسط *Chambers* (۱۹۳۷) مطرح شد. وی این روش را برای کاهش اندازه گویچه‌های چربی مؤثر بیان کرد (۶). طبق نظر *Tornberg* و *Lundh* (۱۹۷۸) نیز دلیل اصلی شکستن گویچه‌های چربی به وسیله امواج فراصوت پدیده کاویتاسیون است (۷). *Schmidt* (۱۹۸۵) هم اثر هموژنیزاسیون امواج فراصوت بر شیر را در دمای ۶۰°C بررسی و مشاهده کرد که اندازه گویچه‌های چربی کمتر از ۱ µm شد (۸). *Ertugay* و *Sengul* (۲۰۰۴) نیز تأثیر هموژنیزاسیون با امواج فراصوت در ۲۰kHz را مطالعه و نتایج را با هموژنایزرهای مرسوم مقایسه کردند. اندازه ذرات چربی بعد از هموژنایزر مرسوم ۵-۲ µm بود. آن‌ها نتیجه گرفتند که فراصوت در مقایسه با هموژنایزرهای مرسوم نتیجه بهتری در هموژنیزاسیون شیر دارند و با افزایش زمان، تأثیر آن افزایش می‌یابد (۹).

Bermudez-Aguirre و همکاران (۲۰۰۸) هم ساختار گویچه‌های چربی در شیر را پس از تیمار حرارت- فراصوت بررسی کردند تا رخدادهای طی این فرایند را با استفاده از میکروسکپ الکترونی در سطح میکروسکپی مشاهده کنند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که اندازه گویچه‌های چربی تحت تأثیر امواج فرا صوت به کمتر از ۱µm کاهش می‌یابد و سطح گویچه ناهموار می‌شود که باعث برهم‌کنش بین غشای گویچه‌های چربی و برخی از میسل‌های کازئین می‌شود. این مسئله راندمان پنیرسازی را افزایش می‌دهد (۱۰).

با توجه به مطالب گفته شده و با توجه به نبود هرگونه سندی در ارتباط با تأثیر امواج فراصوت روی شیر کاکائو، در تحقیق حاضر سعی شد که تأثیر ترکیبی شدت، دما و زمان‌های مختلف اعمال امواج فراصوت روی پایداری شیر کاکائو و امکان کاهش میزان پایدارکننده مورد استفاده بررسی شود.

• مواد و روش‌ها

مواد: هیدروکلوئید مورد استفاده در این پژوهش کاپا-کاراگینان بود که از شرکت مواد شیمیایی *Fluka* خریداری شد. پودر کاکائو محصول شرکت *Klüger*، شیر پاستوریزه به دو صورت کم‌چرب (۱/۵٪ چربی، ماده خشک با چربی ۹/۵±۰/۲) و پرچرب (۳٪ چربی، ماده خشک با چربی ۱۱±۰/۲) و شکر (صنایع قند و شکر ایران) از فروشگاه محلی تهیه شدند. سدیم آزاید از شرکت Merck (Merck Chemical Co. Darmstadt, Germany) تهیه شد.

روش‌ها

انتخاب نوع شیر: برای انتخاب شیر (کم‌چرب یا پرچرب) با انجام یک‌سری آزمایش‌های اولیه میزان دوفاز شدن شیر کاکائو اندازه‌گیری شد. در این آزمایش‌ها از کاپا-کاراگینان و شکر استفاده نشد. برای این منظور به ۱۵۰ml شیر (۱۵٪ از حجم شیر) در دمای ۲۰°C، ۲۲/۵ گرم پودر کاکائو (۱/۵ درصد) اضافه شد. سپس مخلوط تا دمای ۵۰ °C به مدت ۲۰ دقیقه حرارت داده شد. سپس آن را به بقیه حجم کل شیر (۱۳۵۰ml) افزوده و به مدت ۲۰ دقیقه با همزن مغناطیسی (مدل RTC basis ، شرکت IKA آلمان) با دور ۹۰۰ rpm همزده شد. شیر کاکائوهای تهیه شده تحت تأثیر امواج فراصوت با شدت ۱۰۰ درصد به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴۵ °C قرار گرفتند و جهت بررسی میزان دوفاز شدن به لوله‌های آزمایش استریل منتقل و "در" آن‌ها با پارافیلم و

فویل آلومینیومی بسته شد و به مدت یک ماه در دمای یخچال نگهداری شدند. هر آزمایش سه بار تکرار شد.

تهیه شیر کاکائو: ابتدا ۱۵٪ حجم شیر در حمام آبگرم تا دمای ۲۰ ºC گرم شد، سپس مخلوط پودر کاکائو (۱/۵ درصد)، شکر (غلظت ۰ و ۷ درصد) و کاپا-کاراگینان (غلظت‌های صفر، ۰/۰۰۱، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۲۰ درصد وزنی/وزنی) به آرامی به شیر اضافه و توسط همزن مغناطیسی هم‌زده شد. آنگاه مخلوط حاصل تا دمای ۵۰ºC به مدت ۲۰ دقیقه حرارت داده شد. سپس آن را به حجم کل شیر اضافه کرده و به‌مدت ۲۰ دقیقه با همزن مغناطیسی هم زده شد. در ضمن، سدیم آزید (۰/۰۴ درصد) جهت جلوگیری از رشد میکروبی به نمونه‌ها اضافه شد (۱۲، ۱۱).

برای بررسی تأثیر امواج فراصوت در کاهش میزان پایدارکننده، نمونه‌های شیر کاکائو با افزودن مقادیر مختلفی از کاپا-کاراگینان (صفر تا ۰/۰۵۰ درصد وزنی/وزنی) تهیه شدند. نمونه‌های شیر کاکائو جهت بررسی میزان دوفاز شدن به لوله‌های آزمایش استریل منتقل و "در" آن‌ها با پارافیلم و فویل آلومینیومی بسته شد و به مدت یک ماه در دمای یخچال نگهداری شدند. هر آزمایش در سه تکرار انجام شد.

بررسی تأثیر تیمار فراصوت: به منظور بررسی تأثیر تیمار فراصوت از دستگاه Misonix Sonicator با توان اسمی ۶۰۰ وات و بسامد ۲۰ کیلوهرتز (مدل ۴۰۰۰ ، ساخت آمریکا) با پروب از نوع High gain horns و قطر ۱۹mm استفاده شد. برای اعمال فراصوت مقدار ۱۵۰ml شیرکاکائو به بشر شیشه‌ای ۲۵۰ میلی‌لیتری منتقل و پروب در عمق ۲ سانتی‌متری از سطح شیر کاکائو قرار داشت. نمونه‌ها در معرض توان‌های مختلف ۲۰، ۶۰ و ۱۰۰ درصد (به ترتیب معادل ۲۴، ۷۲ و ۱۲۰ وات) در زمان‌های ۲، ۶ و ۱۰ دقیقه قرار گرفتند. در ضمن، جهت بررسی تأثیر حرارت بر پایداری شیر کاکائو از دماهای مختلف ۲۵، ۴۵ و ۶۵ درجه سانتی‌گراد هنگام اعمال امواج فراصوت استفاده شد. هم‌زمان با اعمال امواج فراصوت، دمای نمونه‌ها با حس‌گر حرارتی کنترل و جهت تنظیم دما از حمام آب سرد و یخ استفاده شد. پس از اتمام تیمار، نمونه‌ها تا ۸ ºC سرد شدند. در پایان، نمونه‌ها به داخل لوله‌های آزمایش استریل ریخته شده و "در" آن‌ها با پارافیلم و فویل آلومینیومی بسته شد و به مدت یک ماه در دمای یخچال نگهداری شدند. هر یک از آزمایش‌ها ۳ بار تکرار شد.

اندازه‌گیری میزان دوفاز شدن شیر کاکائو: برای بررسی میزان دو فاز شدن، شیر کاکائو به داخل لوله‌های آزمایش استریل ریخته شده و "در" آن‌ها با پارافیلم و فویل آلومینیومی بسته شد. سپس در دمای ۵ºC به مدت ۳۰ روز نگهداری شدند. طی این دوره میزان دوفاز شدن نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفت و پس از گذشت ۳۰ روز به صورت درصد گزارش شد. برای محاسبه میزان دوفاز شدن نمونه‌ها، میزان فاز سرمی (فاز بالایی) توسط خط‌کش اندازه‌گیری و بر مقدار مخلوط محتوی لوله آزمایش تقسیم و در ۱۰۰ ضرب شد (۱۵-۱۳).

تأثیر تیمار حرارتی بر حجم فاز شیری نمونه پایدار شده: برای بررسی تأثیر تیمار حرارتی بر حجم فازهای شیری و کاکائویی نمونه پایدار شده توسط هیدروکلوئید و امواج فراصوت از دو دمای ۷۲ و ۹۲ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. ۵۰ml از نمونه پایدار شده به بشر شیشه‌ای ۱۰۰ میلی‌لیتری منتقل شد. سپس در حالی‌که سیم ترموکوپل در داخل نمونه قرار داشت، در بن‌ماری (مدل Kottermann ، ساخت آلمان) که به دمای مورد نظر رسیده بود، قرار گرفت. برای رسیدن به هر یک از دماهای فوق، دمای بن‌ماری ۷ درجه بالاتر تنظیم شد. تنظیم دمایی طوری صورت گرفت که پس از رسیدن دمای مرکز نمونه به دمای مورد نظر حداقل ۹۰ ثانیه در آن دما ثابت باشد. سپس بلافاصله در مخلوط آب و یخ خنک شده و در پایان، نمونه‌ها به داخل لوله‌های آزمایش استریل ریخته شده و "در" آن‌ها با پارافیلم و فویل آلومینیومی بسته شد و برای بررسی‌های بعدی در دمای ۵ ºC نگهداری شدند. هر یک از آزمایش‌ها ۳ بار تکرار شد (۱۵).

تجزیه و تحلیل آماری: با توجه به طراحی پژوهش (فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی) برای ارزیابی آماری داده‌ها از نرم افزار SPSS 16.0 استفاده شد. به منظور بررسی معنی‌دار بودن اختلاف موجود بین میانگین‌ها از روش ANOVA و جهت تعیین اختلافات از آزمون دانکن استفاده شد. به علاوه، رسم نمودارها با نرم افزار EXCEL انجام گرفت. یادآوری می‌شود که هر آزمایش سه بار تکرار شد.

• یافته‌ها

تأثیر میزان چربی بر دو فاز شدن شیر کاکائو: برای بررسی تأثیر میزان چربی بر دو فاز شدن، از شیر کم‌چرب و پرچرب در تهیه شیر کاکائو استفاده شد. میانگین حجم فازهای شیری و کاکائویی پس از یک ماه برای شیر کم‌چرب (به ترتیب ۷۱/۶۰ و ۲۸/۴۰ درصد) و پرچرب (به ترتیب ۷۱

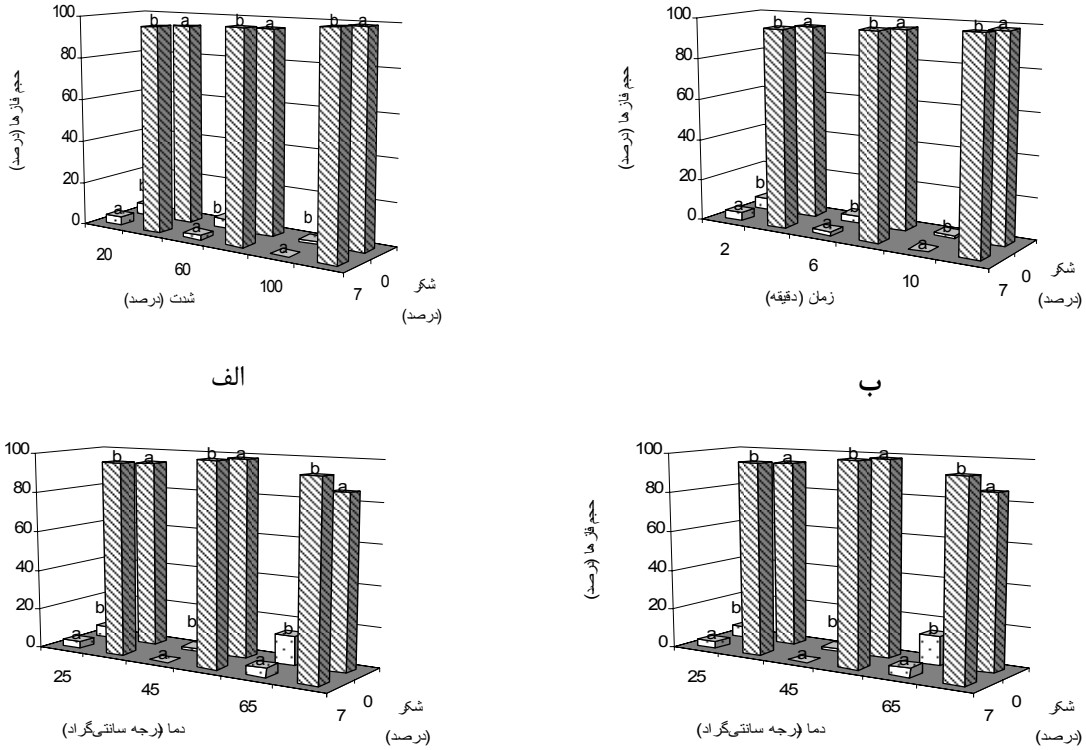
و ۲۹ درصد) تعیین شد. بررسی‌های آماری با استفاده از روش ANOVA اختلاف معنی‌داری بین این دو میانگین نشان ندادند ($p<0/05$). بنابراین، در ادامه بررسی از شیر کم‌چرب برای انجام تیمارها استفاده شد.

تأثیر شکر بر حجم فاز شیری و فاز کاکائویی: ابتدا با انجام آزمایش‌های اولیه اثر شکر بر حجم فازهای شیری و کاکائویی مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، میانگین حجم فازهای شیری و کاکائویی در حضور شکر و عدم حضور آن (۰ و ۷ درصد) در شدت، زمان، دما و غلظت‌های مختلف کاراگینان بررسی شد. با توجه به نتایج این آزمایش‌ها حضور شکر نتیجه بهتری نسبت به عدم حضور آن داشت (شکل ۱). از این رو، آزمایش‌های بعدی در حضور شکر انجام شد.

تأثیر متغیرهای اعمال شده روی حجم فازهای شیری و کاکائویی: اثر متغیرهای شدت، زمان، دما و غلظت کاپا-کاراگینان بر حجم فازهای شیری و کاکائویی شیر کاکائو مورد تجزیه و تحلیل آماری شد. مطابق نتایج تجزیه واریانس، چون اثرات متقابل چهارگانه شدت، زمان، دما و غلظت کاپا-کاراگینان در سطح ۹۹٪ معنی‌دار شدند، لذا اثرات اصلی مورد بررسی قرار نگرفتند.

الف) اثر ساده شدت در سطوح مختلف زمان، دما و غلظت کاراگینان: در تمام سطوح زمان، کاراگینان و دما با افزایش شدت تیمار فراصوت حجم فاز شیری کاهش و حجم فاز کاکائویی افزایش یافت. به‌عبارت دیگر، افزایش شدت با افزایش حجم فاز شیری، رابطه عکس و با فاز کاکائویی رابطه مستقیم داشت (جدول ۱).

ب) اثر ساده زمان در سطوح مختلف شدت، دما و غلظت کاراگینان: مقایسه میانگین‌ها حاکی از آن است که زمان ۱۰ دقیقه تأثیر بیشتری نسبت به زمان‌های ۲ و ۶ دقیقه داشت. در این زمان، کمترین حجم فاز شیری، اندازه ذرات کاکائو و بیشترین حجم فاز کاکائویی مشاهده شد. در تمام سطوح شدت، دما و غلظت کاپا-کاراگینان، با افزایش زمان حجم فاز شیری کاهش و فاز کاکائویی افزایش یافت (جدول ۱).



شکل ۱. مقایسه تأثیر میانگین شکر در شدت‌های مختلف بر حجم فازهای کاکائویی (▨) و شیری (□)

الف) زمان ۱۰ دقیقه، دمای ۴۵°C و ۰/۰۲۰ درصد کاراگینان
ب) شدت ۱۰۰ درصد، دمای ۴۵°C و ۰/۰۲۰ درصد کاراگینان
ج) شدت ۱۰۰ درصد، زمان ۱۰ دقیقه و ۰/۰۲۰ درصد کاراگینان
د) شدت ۱۰۰ درصد، زمان ۱۰ دقیقه و دمای ۴۵°C

جدول ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت کاپا-کاراگینان، دما، شدت و دما بر حجم فازهای شیری و کاکائویی در شیر کاکائو کم‌چرب

غلظت کاپا-کاراگینان (درصد)	دما (°C)	شدت (درصد)	زمان (دقیقه)					
			۲		۶		۱۰	
			حجم فازها (درصد)		حجم فازها (درصد)		حجم فازها (درصد)	
			شیری	کاکائویی	شیری	کاکائویی	شیری	کاکائویی
۰/۰۰۰	۲۵	۲۰	---	---	---	---	---	---
		۶۰	---	---	---	---	۸۴/۳۲±۰/۵۸^{b}	۱۵/۶۸±۰/۵۸^{a}
		۱۰۰	---	---	۷۹ ± ۱/۰۰^{a}	۲۱ ± ۱/۰۰^{a}	۷۴/۰۰±۰/۰۰^{a}	۲۶/۰۰±۰/۰۰^{b}
	۴۵	۲۰	---	---	---	---	---	---
		۶۰	---	---	---	---	۸۲/۰۰±۰/۰۰^{b}	۱۸/۰۰±۰/۰۰^{a}
		۱۰۰	۸۳/۰۰±۰/۰۰^{a}	۱۷/۰۰±۰/۰۰^{a}	۷۷ ± ۱/۰۰^{a}	۲۳ ± ۱/۰۰^{a}	۶۹/۶۷±۰/۵۸^{a}	۳۱/۳۳±۰/۵۸^{b}
	۶۵	۲۰	---	---	---	---	---	---
		۶۰	---	---	۸۲/۰۰±۰/۰۰^{b}	۱۸/۰۰±۰/۰۰^{a}	۸۰/۰۰±۰/۰۰^{b}	۲۰/۰۰±۰/۰۰^{a}
		۱۰۰	۸۰/۰۰±۰/۰۰^{a}	۲۰/۰۰±۰/۰۰^{a}	۷۵/۳۳±۰/۵۸^{a}	۲۴/۶۶±۰/۵۸^{b}	۶۷/۰۰±۰/۰۰^{a}	۳۳/۰۰±۰/۰۰^{b}
۰/۰۱۰	۲۵	۲۰	---	---	---	---	---	---
		۶۰	---	---	---	---	۲۳/۳۲±۰/۵۸^{b}	۷۶/۶۸±۰/۵۸^{a}
		۱۰۰	۶۰/۰۰±۰/۰۰^{a}	۴۰/۰۰±۰/۰۰^{a}	۴۶/۰۰±۰/۰۰^{a}	۵۴/۰۰±۰/۰۰^{a}	۷/۰۰±۰/۰۰^{a}	۹۳/۰۰±۰/۰۰^{b}
	۴۵	۲۰	---	---	---	---	---	---
		۶۰	---	---	---	---	۴/۶۷±۰/۵۸^{a}	۹۵/۳۳±۰/۵۸^{a}
		۱۰۰	۴۸/۰۰±۰/۰۰^{a}	۵۲/۰۰±۰/۰۰^{a}	۳۶/۰۰±۰/۰۰^{a}	۶۴/۰۰±۰/۰۰^{a}	۴/۰۰±۰/۵۸^{a}	۹۶/۰۰±۰/۵۸^{a}
	۶۵	۲۰	---	---	---	---	---	---
		۶۰	---	---	۵۸/۰۰±۱/۰۰^{b}	۴۲/۰۰±۱/۰۰^{a}	۳۸/۳۳±۰/۵۸^{b}	۶۱/۶۷±۰/۵۸^{a}
		۱۰۰	۷۰/۰۰±۰/۰۰^{a}	۳۰/۰۰±۰/۰۰^{a}	۵۶/۰۰±۰/۰۰^{a}	۴۴/۰۰±۰/۰۰^{b}	۳۴/۳۳±۰/۵۸^{a}	۶۵/۶۷±۰/۵۸^{b}
۰/۰۱۵	۲۵	۲۰	---	---	---	---	---	---
		۶۰	---	---	۱۵/۰۰±۰/۰۰^{b}	۸۵/۰۰±۰/۰۰^{a}	۹/۳۳±۰/۵۸^{b}	۹۰/۶۷±۰/۵۸^{a}
		۱۰۰	۷/۳۳±۰/۵۸^{a}	۹۲/۶۷±۰/۵۸^{a}	۴/۳۲±۰/۵۸^{a}	۹۵/۶۶±۰/۵۸^{b}	۳/۶۷±۰/۵۸^{a}	۹۶/۳۳±۰/۵۸^{b}
	۴۵	۲۰	---	---	---	---	---	---
		۶۰	---	---	۷/۳۲±۰/۵۸^{b}	۹۲/۶۸±۰/۵۸^{a}	۶/۰۰±۰/۰۰^{b}	۹۴/۰۰±۰/۰۰^{a}
		۱۰۰	۵/۳۲±۰/۵۸^{a}	۹۴/۶۶±۰/۵۸^{a}	۳/۰۰±۰/۰۰^{a}	۹۷/۰۰±۰/۰۰^{b}	۱/۶۷±۰/۵۸^{a}	۹۸/۳۳±۰/۵۸^{b}
	۶۵	۲۰	۵۳/۰۰±۰/۰۰^{c}	۴۷/۰۰±۰/۰۰^{a}	۵۲/۰۰±۰/۰۰^{c}	۴۸/۰۰±۰/۰۰^{a}	۵۱/۰۰±۰/۰۰^{c}	۴۹/۰۰±۰/۰۰^{a}
		۶۰	۴۹/۳۲±۱/۱۵^{b}	۵۰/۳۳±۱/۱۵^{b}	۲۱/۶۷±۰/۵۸^{b}	۷۸/۶۷±۰/۵۸^{b}	۱۸/۳۳±۱/۵۳^{b}	۸۱/۶۷±۱/۵۳^{b}
		۱۰۰	۱۶/۰۰±۰/۰۰^{a}	۸۴/۰۰±۰/۰۰^{c}	۱۵/۳۲±۰/۵۸^{a}	۸۴/۶۸±۰/۵۸^{c}	۷/۳۳±۰/۵۸^{a}	۹۲/۶۷±۰/۵۸^{c}
۰/۰۲۰	۲۵	۲۰	---	---	---	---	---	---
		۶۰	---	---	۵/۶۷±۰/۵۸^{b}	۹۴/۳۳±۰/۵۸^{a}	۴/۰۰±۰/۰۰^{b}	۹۶/۰۰±۰/۰۰^{a}
		۱۰۰	۶/۰۰±۰/۰۰^{a}	۹۴/۰۰±۰/۰۰^{a}	۳/۳۲±۰/۵۸^{a}	۹۶/۶۸±۰/۵۸^{b}	۲/۶۷±۰/۵۸^{a}	۹۷/۳۳±۰/۵۸^{b}
	۴۵	۲۰	---	---	---	---	---	---
		۶۰	---	---	۲/۶۶±۰/۵۸^{a}	۹۷/۳۳±۰/۵۸^{a}	۲/۳۲±۰/۵۸^{b}	۹۷/۶۶±۰/۵۸^{a}
		۱۰۰	۴/۳۳±۰/۵۸^{a}	۹۵/۶۷±۰/۵۸^{a}	۲/۰۰±۰/۰۰^{a}	۹۸/۰۰±۰/۰۰^{a}	۰/۰۰±۰/۰۰^{a}	۱۰۰/۰۰±۰/۰۰^{b}
	۶۵	۲۰	۵۰/۰۰±۰/۰۰^{c}	۵۰/۰۰±۰/۰۰^{a}	۴۹/۳۲±۰/۵۸^{c}	۵۰/۶۶±۰/۵۸^{a}	۴۵/۰۰±۰/۰۰^{c}	۵۵/۰۰±۰/۰۰^{a}
		۶۰	۲۹/۶۶±۱/۱۵^{b}	۷۰/۳۳±۱/۱۵^{b}	۱۶/۶۷±۰/۵۸^{b}	۸۳/۳۳±۰/۵۸^{b}	۱۶/۳۴±۰/۵۸^{b}	۸۳/۶۶±۰/۵۸^{b}
		۱۰۰	۸/۰۰±۰/۰۰^{a}	۹۲/۰۰±۰/۰۰^{c}	۶/۳۳±۰/۵۸^{a}	۹۳/۶۶±۰/۵۸^{c}	۴/۶۷±۰/۵۸^{a}	۹۵/۳۳±۰/۵۸^{c}

حروف متفاوت در هر بخش و در هر ستون به معنی تفاوت معنی‌دار در سطح ۱٪ است.

ج) اثر ساده دما در سطوح مختلف شدت، زمان و غلظت کاراگینان: در دمای ۶۵°C در تمام شدت‌ها و زمان‌های مختلف و غلظت ثابت ۰/۰۲ درصد کاراگینان، هیچ رسوبی مشاهده نشد، ولی در دمای‌های ۲۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد، شدت ۲۰ درصد در زمان‌های مختلف و شدت ۶۰ درصد در زمان ۲ دقیقه، شیر کاکائو بعد از ۳۰ روز رسوب کرد. در شدت‌های ۶۰ و ۱۰۰ درصد و دمای ۴۵°C حجم فاز شیری کمتر از دماهای ۲۵ و ۶۵ درجه سانتی‌گراد بود. هم‌چنین، در این دما حجم فاز کاکائویی بیشتر از دماهای ۲۵ و ۶۵ درجه سانتی‌گراد بود. این روند در غلظت‌های دیگر کاراگینان نیز مشاهده شد (جدول ۱).

د) اثر ساده غلظت کاپا-کاراگینان در سطوح مختلف شدت، زمان و دما: با توجه به مقایسه میانگین غلظت کاپا-کاراگینان در دماهای مختلف در شدت ۱۰۰ درصد و زمان ثابت ۱۰ دقیقه، معلوم شد که ۰/۰۲۰ درصد کاپا-کاراگینان در دمای ۴۵°C کمترین میزان فاز شیری و بیشترین میزان فاز کاکائویی را به خود اختصاص داده است. همین نتیجه در شدت و دماهای دیگر نیز مشاهده شد و با افزایش غلظت کاپا-کاراگینان حجم فاز شیری کاهش و حجم فاز کاکائویی افزایش یافت. هیچ‌کدام از غلظت‌های کاپا-کاراگینان در دمای‌های ۲۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد در شدت ۲۰ درصد نتوانستند از ایجاد رسوب در نمونه‌ها جلوگیری کنند. اصولاً در سطوح مختلف شدت فراصوت، زمان و دمای تیمار با فراصوت با افزایش غلظت کاپا-کاراگینان از صفر تا ۰/۰۲۰ درصد حجم فاز کاکائویی افزایش ولی حجم فاز شیری به طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۱).

نمونه‌های شیر کاکائوی تیمار شده در دمای ۲۵°C بدون حضور کاراگینان در شدت و زمان‌های مختلف اعمال امواج فراصوت در شکل ۱ نشان داده شده است. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود، با افزایش شدت و زمان، حجم فاز شیری کاهش یافته است، به طوری‌که در شدت ۱۰۰ درصد به مدت ۱۰ دقیقه، هیچ رسوبی در انتهای لوله آزمایش مشاهده نشد و فقط حالت دو فاز شدن رخ داد. در حالی‌که در نمونه شاهد، کاکائو به میزان زیادی در انتهای لوله رسوب کرد.

در ضمن، در بین همه نمونه‌ها، نمونه حاوی ۰/۰۲ درصد کاپا-کاراگینان و تیمار شده در دمای ۴۵°C ، بعد از ۳۰ روز نگهداری پایداری قابل توجهی از خود نشان داد و ذرات کاکائوی موجود در آن رسوب نکردند (تصاویر نشان داده نشده ا ست).

یکی از اهداف این تحقیق، کاهش مقدار پایدارکننده مورد استفاده برای پایدارسازی شیر کاکائو بود. نتایج نشان داد که با اعمال فراصوت با شدت ۱۰۰ درصد به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴۵°C می‌توان مقدار کاپا-کاراگینان مورد نیاز را به ۰/۰۲۰ درصد کاهش داد و نمونه حتی بعد از ۳۰ روز پایدار بود. در حالی‌که نمونه‌های تهیه شده با غلظت ۰/۰۳۰ و ۰/۰۴۰ درصد کاراگینان بدون اعمال امواج فراصوت، بعد از ۳۰ روز رسوب کردند و نمونه تهیه شده با ۰/۰۵۰ درصد کاراگینان حالت غیر یکنواخت و قوام بالایی داشت، به گونه‌ای که حالت فیزیکی شیر را نداشت.

تصاویر میکروسکپی مربوط به شیر کاکائوی تیمار شده در شدت ۱۰۰ درصد و مدت زمان ۱۰ دقیقه در غلظت‌های ۰ ، ۰/۰۱ و ۰/۰۲ درصد کاپا-کاراگینان نیز نشان داد که در غلظت‌های پایین کاپا-کاراگینان، ذرات کاکائو به هم متصل شده‌اند، ولی با افزایش غلظت کاراگینان، ذرات کاکائو به صورت همگن در فاز پیوسته مستقر شده‌اند.

تأثیر تیمار حرارتی بر حجم فاز شیری نمونه پایدار شده: برای بررسی تأثیر تیمار حرارتی (به دلیل اعمال فرایند سالم‌سازی) بر حجم فاز شیری نمونه پایدار شده توسط امواج فراصوت، شدت ۱۰۰ درصد به مدت ۱۰ دقیقه دمای ۴۵°C و ۰/۰۲۰ درصد کاراگینان و حضور شکر، بعد از گذشت ۳۰ روز (نگهداری در دمای یخچال)، از دو دمای ۷۲ و ۹۲ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. نتایج نشان می‌دهد که میزان حجم فاز شیری در شیر کاکائو با شدت تیمار حرارتی رابطه مستقیم داشت؛ به طوری‌که در نمونه پایدار شده (حجم فاز شیری صفر درصد)، بعد از اعمال تیمارهای حرارتی در دماهای ۷۲°C و ۹۲°C حجم فاز شیری به ترتیب از صفر درصد به ۱۵ و ۲۵ درصد افزایش یافت.

• بحث

تأثیر میزان چربی بر دوفاز شدن شیر کاکائو: با توجه به نتایج این تحقیق، میزان چربی شیر در حضور ذرات کاکائو، نقش قابل توجهی در پایداری شیر کاکائو نداشت. هر چند میزان دو فاز شدن با استفاده از شیر پرچرب کاهش یافت، اما این تغییر از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. در همین ارتباط پژوهشگران عنوان کردند که حضور چربی در تشکیل و بهبود شبکه کاپا-کاراگینان در شیر نقش دارد (۱۶). طبق نظر *Van Vliet* و *Dentener-Kikkert* (۱۹۸۲) چربی به دو دلیل در بهبود شبکه کاراگینان تأثیر می‌گذارد، یکی به علت برهم‌کنش غشای گویچه چرب با پروتئین و دیگری نقش آن به عنوان پرکننده در ساختار شبکه. البته، عامل مهم در این ارتباط اندازه ذرات چربی است (۱۷). هم‌چنین، گزارش شده که امواج فراصوت تأثیر خوبی بر همگن‌سازی ذرات چربی دارند و اثر آن نسبت به همگن‌سازهای مرسوم خیلی بهتر بوده است. در همگن‌سازی شیر با امواج فراصوت در شدت ۱۰۰ درصد فراصوت (۴۵۰ وات) به مدت ۱۰ دقیقه، میانگین اندازه ذرات چربی به ۰/۷۲۵ میکرون کاهش یافت (۹). هم‌چنین، به علت آزاد شدن تری‌گلیسرول‌ها، سطح غشای چربی به‌صورت زبر و غیریکنواخت درمی‌آید که این تغییر موجب برهم‌کنش بهتری بین چربی و کازئین می‌شود (۱۰).

احتمالاً با کوچک شدن ذرات چربی و ایجاد سطح زبر و غیریکنواخت توسط امواج فراصوت، این ذرات برهم‌کنش بهتر با شبکه کاراگینان و میسل‌های کازئین ایجاد کرده و در منافذ شبکه کاراگینان قرار گرفته و سبب افزایش پایداری نمونه‌های شیر کاکائو شده است.

اما امروزه مصرف فراورده‌های لبنی از محصولات پرچرب (با متوسط چربی ۳/۲۵ درصد حدود ۳۵٪) به سمت مصرف محصولات کم‌چرب (با متوسط چربی۱/۲۸ درصد حدود ۶۵٪) گرایش پیدا کرده‌است (۱۸). در عین حال، یکی از دلایل عدم مصرف شیر کاکائو از نظر متخصصان تغذیه مقدار بالای کالری آن است و چربی لبنیات مانند سایر چربی‌ها می‌تواند عوارض زیادی داشته باشد که مهم‌ترین آن گرفتگی عروق است (۱۹)، بنابراین، در ادامه این بررسی با توجه به عدم وجود تفاوت معنی‌دار و دلایل تغذیه‌ای از شیر کم‌چرب استفاده شد.

تأثیر شکر بر میزان فازهای شیری و کاکائویی: به طور کلی در نمونه‌های صنعتی، شکر در حدود ۵ تا ۱۰درصد حجم نمونه به شیر کاکائو اضافه می‌شود (۱). در تحقیقاتی که تاکنون انجام شده، بهترین غلظت شکر در شیرکاکائو ۷ درصد گزارش شده است (۲۰). از این رو، در این پژوهش از غلظت ۷ درصد شکر استفاده شد. در ضمن با توجه به یافته‌های این بررسی، با افزودن شکر به نمونه‌ها احتمالا به دلیل افزایش گرانروی، میزان فاز شیری کاهش و پایداری افزایش یافت که با نتایج سایر محققان هماهنگ بود (۲۰).

تأثیر شدت، زمان، دما و غلظت کاپا-کاراگینان بر حجم فازهای شیری و کاکائویی: در بررسی اثر ساده شدت در سطوح مختلف ملاحظه شد که با افزایش شدت فراصوت، حجم فاز شیری کاهش و فاز کاکائویی افزایش یافت و رابطه مستقیمی بین شدت فراصوت و حجم فاز کاکائویی مشاهده شد. هم‌چنین، نتایج این بررسی نشان داد که اعمال تیمار فراصوت باعث افزایش پایداری و یا به عبارت دیگر، کاهش میزان رسوب و دو فاز شدن در شیر کاکائو می‌شود. دلیل این امر احتمالا شکستن ذرات کاکائو و کوچک‌تر شدن آن‌ها توسط امواج فراصوت است. زیرا تأثیرات مکانیکی امواج فراصوت از طریق پدیده کاویتاسیون سبب کوچک‌تر شدن ذرات کاکائو می‌شود. از آن‌جا که مخلوط شیر کاکائو سیستم ناهمگنی را تشکیل می‌دهد، تأثیرات عمده امواج فراصوت برای چنین سیستم‌هایی به کاویتاسیون منظم و نامنظم نسبت داده می‌شود. از هم پاشیدن حباب‌های کاویتاسیون گرمای موضعی شدید و فشار بالایی تولید می‌کند. این تنش‌ها و از هم پاشیدن مکرر حباب‌ها موجب حرکت سریع جریان مایع به سمت ذرات جامد می‌شود. در ضمن، مقاومت این ذرات در برابر جریان مایع، به دیوار ذرات آسیب می‌زند. این آسیب‌های شدید، تنش‌های مکانی و زودگذری را بر سطح ذرات جامد کاکائو تولید می‌کند و به قطعه قطعه شدن ذرات می‌انجامد (۲۲، ۲۱، ۵). از این رو، به نظر می‌رسد که اعمال فراصوت موجب کاهش اندازه ذرات کاکائو می‌شود. طبق قانون Stokes نیز ذرات کوچک‌تر مدت زمان طولانی‌تری می‌توانند در شیر معلق بمانند. احتمالاً به این دلایل، فرایند اعمال فراصوت سبب افزایش پایداری شیر کاکائو شد. نتایج این تحقیق، مطالعات قبلی در رابطه با بررسی اثر هموژنیزاسیون شیر گاو و شیر سویا با امواج فراصوت و اثر آن روی اندازه گویچه‌های چربی را تأیید می‌کند (۲۳، ۹).

در بررسی اثر ساده زمان در سطوح مختلف نیز مشاهده شد که با افزایش زمان، حجم فاز شیری کاهش و فاز کاکائویی افزایش یافت. دلیل این امر، مشابه اثر شدت است. به عبارت دیگر، با افزایش زمان به علت افزایش پدیده کاویتاسیون و کاهش بیشتر اندازه ذرات کاکائو، سبب افزایش پایداری و کاهش میزان دو فاز شدن می‌شود.

در بررسی اثر ساده دما در سطوح مختلف هم مشاهده شد که در حالت عدم وجود کاپا-کاراگینان، با افزایش دما حجم فاز شیری کاهش و فاز کاکائویی افزایش یافت، اما در حضور کاپا-کاراگینان (۰/۰۱۰، ۰/۰۱۵ و۰/۰۲۰ درصد)، با افزایش دما از ۲۵ به ۴۵ درجه سانتی‌گراد، حجم فاز شیری کاهش و با افزایش دما به ۶۵ درجه سانتی‌گراد حجم فاز شیری افزایش یافت. دلیل این امر را احتمالاً می‌توان به شکسته شدن شبکه کاراگینان توسط امواج فراصوت نسبت داد؛ یعنی دماهای بالا (۶۵ °C) سبب شکسته شدن آسان‌تر شبکه کاراگینان می‌شوند و استفاده از دماهای پائین‌تر (مثلاً ۴۵ °C) مطلوب‌تر است. احتمالا امواج فراصوت در دمای بالا سبب شکستن زنجیره پلی‌ساکاریدی کاراگینان و ایجاد پلی‌ساکاریدهای جدید با طول و وزن ملکولی کمتر و گرانروی پایین‌تری شده‌اند. دلیل دیگر، احتمالاً ورود هوا به شبکه کاراگینان و تضعیف ساختار آن است. زیرا امواج فراصوت با ایجاد پدیده کاویتاسیون سبب ورود هوا به فاز پیوسته می‌شوند (۲۴). هم‌چنین، احتمالا در اثر شدت و مدت زمان بالای فرایند، ذرات ریزتر و در نتیجه سطح آن‌ها بیشتر شده و مقدار پایدارکننده بیشتری برای پوشش دادن و

پایداری لازم است (۲۵). از این رو، احتمالاً در دمای ۶۵ºC در شدت و مدت زمان بالا اندازه ذرات کاکائو کوچک‌تر از اندازه ذرات در دماهای ۴۵ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد است و به میزان پایدارکننده بیشتری برای پایداری ذرات کاکائو در شیر کاکائو احتیاج است. بنابراین، در غلظت ثابتی از کاراگینان با وجود کوچک‌تر بودن ذرات کاکائو، بعد از ۳۰ روز نگهداری در دمای یخچال، حجم فاز شیری در دمای ۶۵ºC بیشتر از دمای ۴۵ºC بود.

در رابطه با تأثیر غلظت کاپا-کاراگینان نیز با افزایش غلظت، حجم فاز شیری کاهش و فاز کاکائویی افزایش یافت. اصولا کاراگینان در غلظت‌های پایین قادر به پایدارسازی شیر کاکائو نیست. همان‌طور که مشاهده شد، طبق یافته‌های این تحقیق، در غلظت‌های ۰/۰۱ و ۰/۰۱۵ درصد با وجود این که ذرات کاکائو رسوب نکرده بودند، اما شیر کاکائو دوفاز شده بود و مقدار این دوفاز شدن در ۰/۰۱۵ درصد کاراگینان از ۰/۰۱ درصد کمتر بود؛ در حالی‌که در غلظت ۰/۰۲ درصد کاراگینان در شدت ۱۰۰ درصد فراصوت، زمان ۱۰ دقیقه و دمای ۴۵ºC نمونه کاملاً پایداری ایجاد شد. اصولاً کاراگینان به عنوان یک هیدروکلوئید جاذب عمل می‌کند. لذا اگر مقدار کاراگینان تا حدی کم باشد که این ملکول‌ها برای پوشش دادن کامل ذرات کازئین کافی نباشند (معمولاً یک ملکول از این هیدروکلوئید جذب سطح دو یا تعداد بیشتری از ذرات کازئین می‌شود) در نتیجه از طریق تشکیل پل موجب اتصال ذرات به یکدیگر می‌شود که ناپایداری سامانه را به دنبال دارد. درحالی‌که استفاده از کاراگینان در غلظت مناسب سبب پایداری شیر کاکائو می‌شود (۲۶).

همان‌طور که اشاره شد، حجم فاز شیری نمونه با شدت تیمار حرارتی رابطه مستقیم دارد. احتمالاً افزایش دما، به دلیل افزایش انرژی جنبشی و انتقال این انرژی به پیوندهای الکترواستاتیکی بین کاراگینان و کازئین و سایر پیوندهای موجود در میسل کازئین مثل پیوندهای ایجاد شده با ملکول‌های آب باعث سست و شکسته شدن این پیوندها شده است. هرچه میزان انرژی اعمال شده بیشتر باشد، میزان شکسته شدن پیوندها بیشتر و در نتیجه، میزان دوفاز شدن بیشتر می‌شود. هم‌چنین *Raikos* و همکاران (۲۰۰۹) بیان کردند که با افزایش دما (۵۰-۱۱۰°C) اندازه ذرات شیر کاکائو، به علت دناتوره شدن و برهم‌کنش بخش‌های آب‌گریز پروتئین‌ها، حدود ۱۲/۵۳٪ افزایش می‌یابد (۲۷). از طرف دیگر با بزرگ‌تر شدن اندازه ذرات، توانایی شبکه کاراگینان در پایداری و کاهش رسوب ذرات کاکائو کاهش می‌یابد.

نتیجه‌گیری: یافته‌های بررسی حاضر نشان داد که میزان چربی شیر تأثیر چندانی در پایداری فیزیکی شیر کاکائو ندارد، در حالی که تأثیر شکر در افزایش پایداری بسیار چشم‌گیر است. در ضمن، شدت تیمار فراصوت، مدت زمان، دما و غلظت کاپا-کاراگینان روی پایداری شیر کاکائو بسیار مؤثر بودند، به طوری که مناسب‌ترین نمونه، شیر کاکائوی تیمار شده با امواج فراصوت در شدت ۱۰۰ درصد، مدت زمان ۱۰ دقیقه، دمای ۴۵ºC و غلظت ۰/۰۲ درصد کاپا-کاراگینان بود که بعد از ۳۰ روز نگهداری در دمای یخچال کاملاً پایدار بود، در حالی‌که نمونه شاهد با ۰/۰۴۰ درصد کاپا-کاراگینان رسوب کرده بود. به این ترتیب، فرایند فراصوت به دلیل توانایی در کاهش اندازه ذرات کاکائو، افزایش پایداری فیزیکی و کاهش میزان هیدروکلوئید مصرفی به عنوان یک روش جدید، سریع، غیرحرارتی و بالقوه برای تهیه شیرکاکائو معرفی می‌شود.

• References

1. Spreer E, Mixa A. Milk and dairy product technology. Marcel Dekker; 1998. p. 182–89.
2. Annonomus, Flavored milk in perspective, National Dairy Council. Available from: URL: http://www.nationaldairycouncil.org/SiteCollectionDocuments/child_nutrition/general_nutrition/Flavored%20Milk%20in%20Perspective.pdf . Accessed 15, May, 2012.
3. Yanes M, Duran L, Costell E. Effect of hydrocolloid type and concentration on flow behaviour and sensory properties of milk beverages model systems. Food Hydrocoll 2002; 16: 605–11.
4. Walstra P, Wouters JT, Geurts TJ. Dairy science and technology. Boca Raton-USA: CRC; Press LLC 2006. p. 279–95.
5. Piyasena P, Mohareb E, McKellar RC. Inactivation of microbes using ultrasound: a review. Int J Food Microbiol 2003; 87:207–16.
6. Chambers LA. Sonic homogenization of milk and ice cream. J Dairy Sci 1937; 20: 450–51.

7. Tornberg E, Lundh G. Functional characterization of protein stabilized emulsions: standardized emulsifying procedure. J Food Sci 1978; 43: 1553–8.

8. Schmidt RH, Packard VS, Morris HA. Effect of processing on whey protein functionality. J Dairy Sci 1984; 67: 2723-33.

9. Ertugay MF, Sengul M, Sengul M. Effect of ultrasound treatment on milk homogenisation and particle size distribution of fat. Turk J Vet Anim Sci 2004; 28: 303–308.

10. Bermudez-Aguirre D, Mawson R, Barbosa GV. Microstructure of fat globules in whole milk after thermosonication treatment. J Food Sci 2008; 73: 325–32.

11. Abbasi S, Dickinson E. Influence of high-pressure treatment on gelation of skim milk powder + low methoxyl pectin dispersions. High Pressure Research 2002; 22: 643–7.

12. Abbasi S, Dickinson E. Gelation of i-carrageenan and micellar casein mixtures under high hydrostatic pressure. J Agric Food Chem 2004; 52: 1705–14.

13. Foroughinia S, Abbasi S, Hamidi Esfahani Z. Investigation of the efficiency of some mechanical factors and hydrocolloids on the stabilization of Iranian Doogh. Iranian J Nutr Sci Food Technol 2007; 2 (2): 15–25 [in Persian].

14. Azarikia F, Abbasi S. Investigation of the efficiency and mechanisms of some hydrocolloids on the stabilization of Doogh. Food Hydrocoll 2010; 24: 358-63.

15. Mohamadi S, Abbasi S, Hamidi Z. Effects of hydrocolloids on physical stability, rheological and sensory properties of milk–orange juice mixture. Iranian J Nutr Sci Food Technol 2010; 5 (4): 1-12 [in Persian].

16. Xu SY, Stanley DW, Goff HD, Davidson VJ, Lemaguer M. Hydrocolloid/milk gel formation and properties. J Food Sci 1992; 57: 96–102.

17. Van Den Boomgaard TH, Van Vliet T, Van Hooydonk A. Physical stability of chocolate milk. Int J Food Sci Technol 1987; 22: 279–91.

18. Ramírez-Sucre MO, Vélez-Ruiz JF. Formulation and characterization of a flavored dairy beverage. ASABE Annual International Meeting 2010, Pittsburgh, USA, Paper Number: 1009940. Available from: URL: http://www.asabe.org/media/44073/10aim-program-1-2011.pdf . Accessed 15, May, 2012.

19. Sheikholeslam R. High-fat dairy products, bans. Jamejamonline. 1389 Available from: URL: http://www.jamejamonline.ir/newstext.aspx?newsnum=100876734982. Accessed 15, May, 2012.

20. Prakash S, Huppertena Karvchuk T, Deeth H. Ultrahightemperature processing of chocolate flavoured milk. J Food Eng 2010; 96: 179–84.

21. Zeuthen P, Bùgh-Sùrensen L. Food preservation techniques.Boca Raton : CRC Press; 2003. p. 303–33.

22. Sun DW. Emerging technologies for food processing, Food science and technology. Boca Raton-USA: CRC Press; 2005. p. 323–44.

23. Bosiljkov T, Brnčić M, Tripalo B, Karlović S, Ukrainczyk M, Ježek D, et al. Impact of ultrasound-enhanced homogenization on physical properties of soy bean milk. Chem Eng Transaction 2009; 17: 1–6.

24. Mohos F. Confectionery and chocolate engineering: principles and applications. Oxford: Wiley and Blackwell; 2009. p. 402–7

25. Phillips GO, Williams PA. Handbook of hydrocolloids. London :Woodhead Publishing; 2000. p. 305.

26. Syrbe A, Bauer WJ, Klostermeyer H. Polymer science concepts in dairy systems: an overview of milk protein and food hydrocolloid interaction. Int Dairy J 1998; 8: 179–93.

27. Raikos V, Kapolos J, Farmakis L, Koliadima A, Karaiskakis G. The use of sedimentation field-flow fractionation in the size characterization of bovine milk fat globules as affected by heat treatment. Food Res Int 2009; 42: 659–65.

Effects of ultrasound treatment on stability of cocoa-flavored milk

Ostadzadeh M[1], Abbasi S[2], Ehsani MR[3]*

1- M.Sc in Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

*2- *Corresponding author: Associate Prof, Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University. E-mail: sabbasifood@modares.ac.ir*

3- Prof, Dept. of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received 17 Sept, 2011 **Accepted 4 Dec, 2011**

Background and Objective: Prevention of physical instability of chocolate milk is an important challenge in the field of food science, particularly dairy technolohy. In this study, the effects of high-intensity ultrasound treatment on stability of cocoa particles in chocolate milk, with or without the presence of stabilizers, was investigated.

Materials and Methods: Chocolate milk was exposed to ultrasound (maximal nominal power 600 W at 20 kHz) at various levels of power intensity (24, 72 and 120 W), exposure times (2, 6 and 10 minutes) and temperatures (25, 45 and 65ºC) for 30 days. κ-carrageenan at concentrations of 0.000, 0.010, 0.015 and 0.020 %, with or without sugar (7.0% and 0.0%), was added to the samples.

Results: Increasing power intensity and exposure time led to a significant increase in physical stability of the milk samples − the milk phase volume decreased and the cacao phase increased. Moreover, the phase separation and cacao particle sedimentation were effectively prevented in the treated samples (ultrasonic power 120W, exposure time 2 min, temperature 45ºC, κ-carrageenan 0.02%, and sugar 7%) after 30 days of storage at 4ºC, while phase separation and cacao particle sedimentation occurred in the control sample (containing 0.040% κ-carrageenan). The findings also showed that sugar improved cacao milk stability. The milk phase volume in the presence of 0.02% κ-carrageenan, kept at a temperature of 45 ºC for 30 days, was less than that of samples kept at other temperatures.

Conclusion: Based on the findings of the present study, it seems that ultrasound can increase the stability of cacao particles in milk. In addition, ultrasound treatment possibly degrades the κ-carrageenan network, particularly at higher temperatures. Furthermore, cavitation, probably due to entrapment of air in the κ-carrageenan network, may weaken the gel network.

Keywords: Cacao, Chocolate milk**,** Ultrasound**,** Stabilization, Hydrocolloids, Carrageenan