



## اثر شیر خشک و شیرین کننده استویا بر میزان آکریل آمید و خصوصیات شیمیایی فرآورده دونات

\*مصطفی شهیدی نوقابی<sup>۱</sup>، راضیه نیازمند<sup>۱</sup> و زهره قایینی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>استادیار گروه شیمی مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران  
<sup>۲</sup>دانش آموخته کارشناسی ارشد صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران  
تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۱۳؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۷/۰۷

### چکیده

**سابقه و هدف:** دونات یکی از فرآورده‌های نانوبی سرخ‌شده محبوب در بین مصرف‌کنندگان می‌باشد. این فرآورده ارزان قیمت، مستعد تشکیل آکریل آمید در حین تولید می‌باشد. آکریل آمید، ترکیبی است که در مواد غذایی نشاسته‌ای که در دماهای بالاتر از ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد فراوری می‌شوند تولید می‌شود. این ترکیب به عنوان یک ترکیب سرطان‌زا شناخته شده است و لذا شناخت عوامل موثر در میزان تولید آن در حین فراوری مواد غذایی و کنترل تولید آن بسیار حائز اهمیت است. هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر مقدار شیرخشک (صفر، ۱/۵ و ۲/۵ درصد) و نوع شیرین‌کننده (استویا و شکر) در چهار سطح مختلف (استویا: شکر بترتیب ۰:۱۰۰، ۳۰:۷۰، ۵۰:۵۰ و ۱۰۰:۰) بر مقدار آکیل‌آمید تشکیل شده در دونات می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این پژوهش از طرح کاملاً تصادفی بر پایه آزمایشات فاکتوریل برای بررسی اثر مقدار شیر خشک و نوع شیرین‌کننده بر ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و میزان تشکیل آکریل آمید در محصول (دونات) استفاده شد. نمونه‌های تهیه شده با تیمارهای مختلف از لحاظ خصوصیات شیمیایی (رطوبت، pH، اسیدیته، پروتئین و قندکل و هم‌چنین اندازه‌گیری رنگ) مورد بررسی و آنالیز قرار گرفتند. جهت بررسی اثر تیمارها بر میزان تشکیل آکریل آمید در محصول نهایی، از روش گاز کروماتوگرافی (GC-MS) استفاده شد. مقایسه میانگین صفات مورد بررسی، با استفاده از آنالیز چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد و به کمک نرم‌افزار مینی‌تب نسخه ۱۶ انجام شد و نمودارها توسط نرم‌افزار اکسل رسم گردید.

\*مسئول مکاتبه: [m.shahidi@rifst.ac.ir](mailto:m.shahidi@rifst.ac.ir)

**یافته‌ها:** نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش شیر خشک به فرمولاسیون دونات، درصد رطوبت، درصد پروتئین، قند کل، قند احیاء و آکریل آمید افزایش و درصد قند غیر احیا و تیرگی در محصول کاهش یافت. مقدار شیر خشک بر pH و اسیدیته محصول اثر معنی‌داری نداشت. جایگزین کردن ساکارز با شیرین‌کننده استویا در فرمولاسیون دونات، درصد رطوبت، اسیدیته، رنگ ظاهری و میزان آکریل آمید کاهش و مقدار پروتئین، قند کل و قند احیاء در محصول افزایش می‌یابد. هم‌چنین، نتایج نشان داد که نوع شیرین‌کننده از عوامل بسیار مهم در تشکیل آکریل آمید می‌باشد و با جایگزین کردن شکر با استویا، مقدار آکریل آمید در محصول نهایی کاهش یافت. هم‌چنین، نتایج نشان داد که با افزایش مقدار شیر خشک در فرمولاسیون، مقدار آکریل آمید در محصول نهایی افزایش یافت. لذا می‌توان با بهینه‌سازی فرمولاسیون، تولید آکریل آمید و خواص شیمیایی را در محصول نهایی کنترل نمود. با داشتن این اطلاعات می‌توان شرایط را به گونه‌ای بهینه کرد که آکریل آمید در کمترین مقدار ممکن تولید شود و بدین ترتیب می‌توان سلامت جامعه را بهبود بخشید.

**نتیجه‌گیری:** با بهینه‌سازی فرمولاسیون (مثلاً جایگزین کردن شکر با استویا)، می‌توان تولید آکریل آمید و خواص شیمیایی را در محصول نهایی کنترل نمود. با داشتن این اطلاعات می‌توان شرایط را به گونه‌ای بهینه کرد که آکریل آمید در کمترین مقدار ممکن تولید شود و بدین ترتیب می‌توان سلامت جامعه را بهبود بخشید.

**واژه‌های کلیدی:** آکریل آمید، استویا، دونات، کروموتوگرافی گازی، مایلارد.

## مقدمه

آکریل آمید ( $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CONH}_2$ ) مولکولی واکنش‌گر با ساختار دی‌ان‌مززوج<sup>۱</sup> می‌باشد که به دلیل وزن مولکولی پایین، در صورت ورود به بدن موجود زنده، به راحتی در اعضای مختلف جذب و ذخیره می‌گردد و پس از تجزیه، ماده‌ای به نام گلاسید آمید<sup>۲</sup> تولید می‌کند که می‌تواند DNA را تحت تاثیر قرار دهد و با ایجاد جهش در ژن‌ها، باعث بروز سرطان و آسیب به سیستم عصبی شود (۷). آکریل آمید از سال ۱۹۹۴ بر اساس طبقه‌بندی آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان (IARC)<sup>۳</sup> به‌عنوان عامل محتمل سرطان‌زا در انسان شناخته شد (۱۲).

محققان فاکتورهای متعدد و اثرگذار بر تشکیل آکریل آمید در مواد غذایی را شناسایی کردند. حضور ترکیبات پروتئینی با وزن مولکولی پایین (مانند آمینواسیدها به خصوص اسپاراژین) و قندهای احیاء کننده (فروکتوز و گلوکز)، دمای بالای فرآیند حرارتی و دسترسی پایین به آب در داخل مواد غذایی، شاخص‌های لازم برای تشکیل آکریل آمید می‌باشند (۲۱). تحقیقات، حاکی از این است که آکریل آمید محصول فرعی فرآیندهای حرارتی بالای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد بوده و در مواد غذایی پخته نشده و یا فرآورده‌هایی که تحت دمای پایین فرآوری می‌شوند (مانند جوشاندن) تشکیل نمی‌شود (۲۱). یکی از مهم‌ترین واکنش‌هایی که منجر به تشکیل آکریل آمید در مواد غذایی می‌شود، واکنش مایلارد است (۱۰).

دونات از جمله فرآورده‌های سرخ شده نانواپی است که در بسیاری از کشورها مانند شمال آمریکا به‌عنوان صبحانه و یا حتی یک میان وعده مصرف گسترده‌ای دارد (۲۴). دونات دارای پوسته‌ای ترد بوده و در قسمت‌های داخلی بافتی شبیه به یک محصول پخته شده دارد. با این حال این محصول جزء محصولات سرخ شده محسوب می‌گردد و به علت اعمال فرایند سرخ کردن در تولید محصول، پوسته آن به رنگ قهوه‌ای طلایی است (۲۰). با توجه به ترکیبات موجود در فرآورده دونات و شرایط تولید آن، تشکیل آکریل آمید در این محصول اجتناب ناپذیر خواهد بود. راه‌های مختلفی برای کاهش میزان آکریل آمید در مواد غذایی پیشنهاد شده است. برای مثال تغییر در دما و زمان پخت، تغییر در زمان تخمیر، جایگزینی شربت اینورت و افزودنی‌هایی مثل کربنات هیدروژن آمونیوم، بسیار موثر بوده است

1. Conjugated diene
2. Glycidamide
3. International Agency for Research on Cancer

(۲۱). همچنین، در فرآورده‌های غلات استفاده از اسید آمینه سیستئین، کاتیون‌های دوظرفیتی یا پلی‌فنل‌ها، در کاهش آکریل‌آمید نقش مؤثری داشته است (۲۱).

البته بدیهی است که راهکارهایی که جهت کاهش آکریل‌آمید در فرآورده‌های مختلف کاربرد دارد به دلیل اختلاف در مواد متشکله و فناوری تولید، کاملاً قابل تعمیم به فرآورده‌های دیگر نیستند و مهم‌تر اینکه تولیدکنندگان باید به این مسأله توجه کنند که فرآورده‌هایی که میزان آکریل‌آمید آن‌ها کاهش داده شده، باید مشتری پسند بوده و همچنین طعم و رنگ و دیگر ویژگی‌های حسی آن‌ها نیز قابل قبول باشد (۲۱).

در سال ۲۰۰۴، واس و همکاران ثابت کردند که جایگزینی شربت اینورت با ساکارز در کراکرهای تولید شده با آرد گندم، میزان آکریل‌آمید را تا ۶۰ درصد کاهش می‌دهد (۲۵) مشابه همین بررسی توسط امرین و همکاران در سال ۲۰۰۴ روی نان زنجبیلی انجام شد. در واقع این اثر به فقدان گروه کربونیل (برای مثال گلوکز و فروکتوز)، نسبت داده می‌شود که موجب کاهش واکنش میلارد شده و در نتیجه رنگ فرآورده حاصله به اندازه کافی قهوه‌ای نخواهد بود (۱). با این حال نوع قند و منبع پروتئینی می‌تواند در مستعد بودن ماده غذایی در تشکیل آکریل‌آمید در طی فرآوری موثر باشد (۱۰). گیاه دارویی استویا مخصوص نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری و نیز مرطوب است. این گیاه در دمای ۱۱ تا ۴۱ درجه سانتی‌گراد به رشد می‌نماید. استویوزید<sup>۱</sup> یا قند تهیه شده از گیاه استویا ۳۰۰ مرتبه شیرین‌تر از قند ساکارز است. اساس ساختمانی این ماده شیرین که از برگ‌های گیاه استویا ریباودیانا<sup>۲</sup> تهیه می‌شود، بر پایه مولکول‌های پیچیده الکلی، در ترکیب با واحدهای ساختمانی گلوکز است. که منجر به شیرینی بیش از حد گیاه مزبور می‌گردد و به این سبب برگ این گیاه از زیان آفات نباتی در امان خواهد بود. وجود سه ترکیب گلیکوزیدی (استویوزید، آ-ربادیوزید<sup>۳</sup> و بی-ربادیوزید<sup>۴</sup>) و غالب بودن میزان استویوزید بر دو ترکیب دیگر نیز به اثبات رسیده است (۱۱).

1. Stevioside
2. *Stevia Rebaudiana*
3. A-rebaudioside
4. B-rebaudioside

بررسی‌های کنلی و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان داد که عصاره‌های متانولی گونه‌های مختلف استویا، به دلیل حضور فلاونوئیدها<sup>۱</sup>، آلکالوئیدها<sup>۲</sup>، گزانتوفیل‌ها<sup>۳</sup> و هیدروکسی‌سینامیک‌اسیدها<sup>۴</sup> خاصیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی بروز داد. با توجه به این که ترکیبات قندی استویا، بر خلاف قندهای الکلی در درجه حرارت بالا به‌ویژه دمای پخت پایدار هستند و خاصیت شیرین‌کنندگی خود را از دست نمی‌دهند، می‌توان به‌عنوان جایگزین مناسب شکر در فرمول فرآورده‌های قنادی، معرفی نمود. هم‌چنین سایر خواص فیزیولوژیکی ترکیبات شیرین‌کننده استویا، نظیر خاصیت آنتی‌اکسیدانی، موجب افزایش عمر ماندگاری محصول به‌دلیل به تأخیر انداختن واکنش‌های نامطلوب شیمیایی می‌گردد که این امر نیز مورد توجه صاحبان صنایع قرار گرفته است (۱۱).

با توجه به این‌که تاکنون تحقیق معتبر علمی در ارتباط با عوامل موثر در تشکیل آکریل‌آمید و نحوه کنترل و یا کاهش آن در محصول دونات انجام نگرفته است، از این رو پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر درصدهای مختلف جایگزینی قند استویا با ساکارز در فرمول دونات و هم‌چنین اثر حضور شیرخشک در فرمول آن بر میزان آکریل‌آمید محصول نهایی انجام شد.

#### مواد و روش‌ها

مواد اولیه برای تهیه دونات (شامل آرد گندم، شیر خشک، مخمر، بکینگ پودر، شکر، کره، نمک، وانیل، تخم مرغ و روغن مایع کلزا) از بازار محلی گرگان خریداری گردیدند و شیرین‌کننده استویا با درجه خلوص بیش از ۹۰ درصد با نام تجاری استویوزید (SE320) از شرکت کوفو‌هایگن چین خریداری شد. مواد و حلال‌های شیمیایی مورد نیاز از شرکت مرک خریداری شدند.

**مراحل تهیه شیرینی دونات:** مواد مورد نیاز برای تهیه خمیر شیرینی دونات شامل آرد گندم (۲۰۰ گرم)، شیرخشک (۸ گرم)، مخمر (۴ گرم)، بکینگ پودر، شکر، کره (۳۲ گرم)، نمک (۱ گرم)، وانیل (۱ گرم) و تخم مرغ (۴۰ گرم) وزن و آماده‌سازی شد. مواد پودری (شامل آرد گندم، بکینگ پودر، نمک، وانیل و شیرخشک) به‌طور کامل مخلوط و دو بار الک (۰/۴۲۵ میلی‌متر) گردید. این کار سبب هوادهی و افزایش راندمان کیفی محصول نهایی، در فرآورده‌های آردی و شیرینی می‌گردد (۱۷). پس

1. Flavonoid
2. Alkaloid
3. Xanthophyll
4. Hydroxyl cinnamic acid

از آماده‌سازی مواد پودری، مقدار کره تعیین شده در فرمول به آن‌ها اضافه و با مخلوط‌کن استاندارد الکتریکی (مدل Kenwood KM-010 Chef، ساخت انگلستان) به مدت ۵ دقیقه با سرعت ثابت ۳ همزده شد. سپس محلول مخمر (شامل مقدار معینی از مخمر، آرد، شکر و آب)، به‌درون مخلوط‌کن اضافه گردید و به‌مدت ۲ دقیقه عمل هم‌زدن با سرعت ثابت انجام شد. سپس تخم‌مرغ به سایر مواد داخل مخلوط‌کن اضافه شد و عمل هم‌زدن به‌مدت ۲ دقیقه و با سرعت ثابت انجام گرفت. در انتها، با افزودن آب و عمل هم‌زدن با سرعت ثابت به‌مدت ۶ دقیقه، خمیر فرآورده دونات، آماده گردید. خمیر آماده شده داخل ظرف مناسب ریخته شد و برای تخمیر اولیه داخل گرم‌خانه در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد (ساخت شرکت ایران خودساز) به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت. پس از مدت زمان سپری شده، با پهن کردن خمیر روی یک سطح صاف، عملیات ورزدهی و قالب‌زدن انجام پذیرفت. خمیر با ضخامت ۱ سانتی‌متر و قطر داخلی قالب ۲/۹۵ سانتی‌متر و قطر خارجی ۷/۶۰ سانتی‌متر برش‌دهی شد. پس از قالب‌زنی و شکل‌دهی خمیر دونات، تمامی قطعات برش‌دهی شده، داخل ظرف مخصوص قرار داده شد و برای تخمیر ثانویه به‌مدت ۱۵ دقیقه و در داخل آون (ممرت، ساخت آلمان) در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت.

قبل از شروع سرخ کردن، مخزن سرخ‌کن (دلونگی ۱۸۲۳۳، ساخت ایتالیا) با ۱/۵ لیتر روغن کلزا (محصول کارخانه لادن) پر شد و به‌منظور تثبیت و پایدار شدن دمای روغن، یک ساعت قبل از شروع سرخ کردن، دستگاه روشن گردید. دمای سرخ‌کن در ۱۷۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. قطعات خمیر شکل‌دهی شده به‌آرامی داخل محفظه سرخ‌کن قرار گرفت.

دونات‌ها پس از گذشت دو دقیقه (این زمان از قبل و با استفاده از پیش‌آزمون‌های انجام شده، تعیین شد) از سبد سرخ‌کن خارج و توسط کاغذ جاذب، روغن اضافی موجود روی سطح فرآورده نهایی، جذب و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق خنک گردیدند. تعویض روغن نیز پس از هر مرحله سرخ کردن برای تیمار تعریف شده انجام گرفت. فرآورده‌های دونات با پوشش‌دهی توسط کاغذ آلومینیوم داخل کیسه‌های پی‌اتیلن قرار گرفت و تا زمان انجام آزمون‌ها در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد، در سردخانه نگهداری شد. شیرینی دونات شاهد مطابق با روش توضیح داده شده تهیه و آماده شد. سایر فرمول‌ها نیز به روشی مشابه و تنها با تغییر لازم با توجه به نوع تیمار تهیه شدند.

**مراحل آزمون:** این پژوهش جهت بررسی اثر مقدار شیرخشک و قند استویا بر میزان تشکیل آکريل آميد و برخی خصوصيات فیزیکیوشیمیایی محصول تولید شده در دو مرحله انجام پذیرفت:  
**مرحله اول:** بررسی اثر مقدار شیرخشک

در این مرحله اثر مقادیر مختلف شیرخشک که از قبل به صورت پیش آزمون تعیین شده بود، در سه سطح صفر، ۱/۵ و ۲/۵ درصد، بر میزان تشکیل آکريل آميد، در نمونه های دونات بررسی شد. سایر مقادیر مواد اولیه مطابق با نمونه شاهد بود.

**مرحله دوم:** بررسی اثر جایگزینی قند استویا با شکر

در این مرحله اثر مقادیر مختلف جایگزینی قند استویا با شکر در چهار سطح (استویا: شکر به- ترتیب ۰:۱۰۰، ۳۰:۷۰، ۵۰:۵۰ و ۱۰۰:۰) بر میزان تشکیل آکريل آميد در محصول نهایی بررسی شد. با توجه به پیش آزمون ها و در نظر گرفتن شیرین کنندگی ۳۰۰ برابر استویا نسبت به شکر، مقدار آن ها به صورت ۱۲ درصد شکر بدون استویا، مخلوط ۰/۰۸ درصد استویا و ۶ درصد شکر، مخلوط ۰/۱۱ درصد استویا و ۳/۶ درصد شکر و حضور ۰/۱۶ درصد استویا به تنهایی در فرمول دونات می باشد. لازم به ذکر است که با انجام پیش تست و آزمون های حسی، بهینه شیرینی با افزودن شکر ۱۲ درصد و افزودن استویا ۰/۱۶ درصد تعیین شد.

### آزمون ها

**رطوبت:** مقدار  $5 \pm 1$  گرم از فرآورده نهایی دونات توسط ترازوی دیجیتال، با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن شد. وزن نمونه خشک نشده و ظرف حاوی آن با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین و ثبت گردید. نمونه به مدت ۲۴ ساعت تا رسیدن به وزن ثابت در آن با دمای ۱۰۲ درجه سانتی گراد قرار داده شد. نمونه های خشک شده به مدت ۴۵ دقیقه در داخل دسیکاتور گذاشته شد. نمونه ها پس از سرد شدن توزین و رطوبت آن ها از فرمول ۱ محاسبه شد.

$$\text{درصد رطوبت} = \frac{A-B}{C-B} \times 100 \quad (1)$$

که **A** وزن ظرف حاوی نمونه خشک نشده، **B** وزن ظرف خالی و **C** وزن نمونه خشک شده به همراه ظرف نمونه پس از سرد شدن، می باشند (۲۳).

**pH:** ۱۰ گرم از فرآورده دونات آسیاب شده با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر با pH خنثی، مخلوط و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای محیط به صورت ثابت و ساکن نگه داشته شد. pH متر با استفاده از محلول‌های بافر ۴ و ۷ کالیبره شد. پس از سپری شدن مدت زمان مذکور، pH محلول با دقت ۰/۰۱ اندازه‌گیری شد (۱۳).

اسیدیته: ۲۰ گرم نمونه خمیر دونات قبل از عملیات سرخ‌کردن به دقت وزن گردید و با ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر فاقد گاز کربنیک، در ارلن مایر درب‌دار، ریخته شد و ضمن به هم زدن، به مدت یک ساعت در حمام بن ماری ۴۰ درجه سانتی‌گراد، قرار داده شد. سپس ارلن حاوی نمونه توسط کاغذ صافی، صاف گردید. ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول صاف شده در مقابل چند قطره فنل‌فتالین با سود ۰/۰۵ نرمال تا ایجاد رنگ صورتی کم رنگ، تیترو و اسیدیته آن طبق فرمول ۲، برحسب اسید لاکتیک، گزارش گردید (۹).

$$(۲) \quad \text{اسیدیته برحسب درصد اسید لاکتیک} = \frac{0.0045 \times 100 \times \text{میلی لیتر هیدروکسید سدیم}}{\text{گرم وزن نمونه}}$$

**آزمون قند:** میزان قند نمونه‌ها به روش لین اینون<sup>۱</sup> و با استفاده از محلول فهلینگ انجام شد (۱۳) و قند کل از طریق فرمول ۳ محاسبه شد.

$$(۳) \quad N = \frac{F \times 100 \times 100 \times 100}{V \times 25 \times 25}$$

که **F**، فاکتور فهلینگ، **V**، حجم مصرفی محلول بر حسب میلی‌لیتر و **N**، قند کل (قند پس از هیدرولیز) برحسب گرم درصد گرم می‌باشند.

پس از انجام تمامی مراحل آزمون لین اینون، قند غیر احیا در نمونه مورد نظر، از طریق فرمول ۴ محاسبه شد.

$$(۴) \quad S = (N - n) \times 0.95$$

که **N** قند کل (قند پس از هیدرولیز)، **n** مقدار قندهای احیاء‌کننده (قند قبل از هیدرولیز)، **S** درصد ساکارز در ۱۰۰ گرم نمونه و ۰/۹۵ نسبت وزن مولکولی ساکارز به وزن مولکولی گلوکز و فروکتوز می‌باشد (۱۳).



رنگ: ابتدا قطعات دونات به صورت برش طولی با حفظ پوسته رویی و بدون آسیب به نمونه، برش دهی شد. این کار پس از سرد شدن کامل نمونه‌ها در دمای آزمایشگاه و جذب کامل روغن آن‌ها توسط کاغذهای جاذب انجام پذیرفت. سپس نمونه‌های برش‌دهی شده به زیر اسکنر (مدل N65 Canon) برده شد و پس از اطمینان از به‌وجود آمدن شرایط یک اسکن مناسب، بدون عبور نور به داخل اسکنر و ایجاد شرایط کاملا ثابت برای تمامی نمونه‌ها، قطعات دونات به طور کامل اسکن و توسط کامپیوتر مدل Pentium III، با مشخصات ۱۲۰ گیگابایت حافظه جانبی و نرم افزار فتوشاپ (CS 8)، تصویری با کیفیت بالا از آن‌ها ارائه شد. تمامی تصاویر اسکن شده فرآورده دونات به محیط فتوشاپ وارد شد و پس از ناحیه بندی کردن آن‌ها تمامی قسمت‌های اضافی از بین برده شد، به عبارت دیگر بعد از این مرحله تصاویر دونات بدون پس‌زمینه ذخیره شد. سپس تمامی عکس‌ها در محیط نرم افزاری ایمج جی، فرآیند شده و پس از حذف اختلال‌های تصویر (نویز) از تصاویر، میزان شاخص‌های  $a^*$ ،  $b^*$  و  $L^*$  برای هر تصویر به‌دست آمد، اختلاف کلی رنگ ( $\Delta E$ ) از فرمول ۵ تعیین شد (۲۲).

$$\Delta E = \sqrt{((a - a^*)^2) + (b - b^*)^2 + (L - L^*)^2} \quad (5)$$

شاخص‌های  $a^*$ ،  $b^*$  و  $L^*$  رنگ نمونه خمیر دونات را قبل از سرخ کردن نشان می‌دهند. **آکریل آمید:** ابتدا نمونه‌های دونات آسیاب شده و ۱۰ گرم از نمونه هموژن شده، توزین گردید. عملیات آماده‌سازی، شامل حل کردن نمونه در آب و یک مرحله چربی‌گیری با حلال هگزان نرمال بود. عملیات مشتق‌سازی عصاره فرآورده دونات با استفاده از پتاسیم پروماید<sup>۱</sup>، اسید هیدرو برومیک<sup>۲</sup> و محلول برم اشباع، به‌مدت یک ساعت در تاریکی انجام شد. مرحله نهایی استخراج مشتق ۲-بروموآکریل آمید<sup>۳</sup>، با استفاده از حلال اتیل استات انجام گرفت. در نهایت فاز آلی جداسازی شده از میکروفیلتر سرنگی (۰/۴۵ میکرون) عبور داده شد. برای تبدیل ۲ و ۳-بروموپروپیونامید<sup>۴</sup> به ۲-بروموپروپیونامید<sup>۵</sup>، تری‌اتیل آمین<sup>۶</sup> به نمونه نهایی

1. Potassium bromide
2. Hydrobromic acid
3. 2-bromo acrylamide
4. 2, 3-dibromo propionamide
5. 2-bromo propionamide
6. Three ethylamine

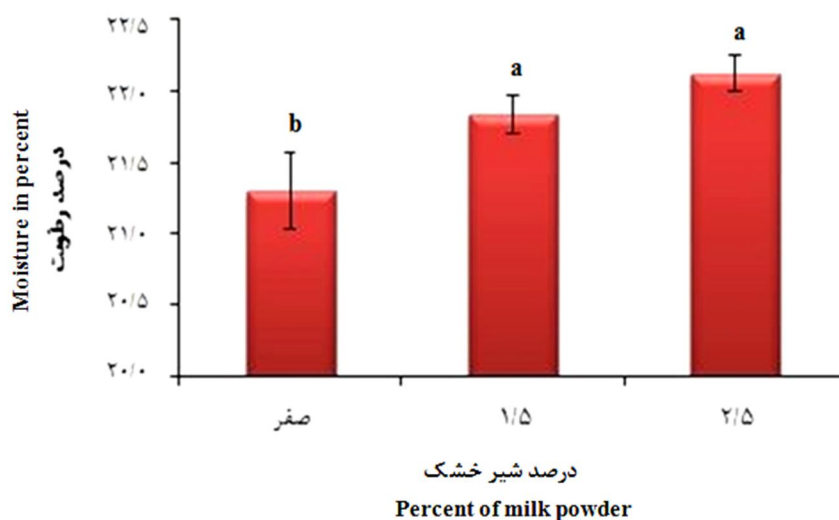
افزوده شد. تعیین غلظت آکریل‌آمید در نمونه‌های دونات، با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی شیماتسو مدل اولترا ۲۰۱۰ مجهز به دتکتور Ms با ولتاژ ۷۰ ولت و دمای ۲۵۰ الی ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد انجام پذیرفت. برای این منظور از ستون موئینه نیمه‌قطبی به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت ۰/۵۰ میکرومتر استفاده شد. دمای محفظه تزریق، ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و دمای ستون، بین ۷۰ الی ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. تعیین کمی غلظت آکریل‌آمید از طریق مقایسه با منحنی کالیبراسیون استاندارد آکریل‌آمید، صورت گرفت (۱۹).

### تجزیه و تحلیل آماری

آزمایشات در سه تکرار و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده طرح کاملاً تصادفی با آزمایشات فاکتوریل و با استفاده از نرم‌افزار آماری اس‌پی‌اس‌اس<sup>۱</sup> انجام شد. مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح آماری ۹۵ درصد انجام پذیرفت. تمامی نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل ترسیم گردیدند.

### نتایج و بحث

اثر مقدار شیرخشک بر رطوبت: افزودن شیرخشک در فرآورده‌های نانوائی سبب اصلاح شبکه گلوتن و قوام خمیر می‌گردد، از این رو قدرت تحمل آرد طی تخمیر افزایش و منجر به ازدیاد و یکنواخت شدن حباب‌های هوا و حالت اسفنجی ریز در مغز نان می‌گردد، در این شرایط تاثیر مثبتی بر حالت فیزیکی نان خواهد داشت (۱۷). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین نمونه‌های دونات حاوی شیرخشک و نمونه فاقد آن (شکل ۱) تفاوت معناداری از لحاظ محتوای رطوبت وجود داشت ( $P < 0/05$ ). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که افزودن شیرخشک در فرمول دونات منجر به افزایش معناداری ( $P < 0/05$ ) در محتوای رطوبت آن نسبت به نمونه شاهد (فاقد شیرخشک) گردید. قایل ذکر است که تاثیر سطوح مختلف شیر خشک بر میزان رطوبت نمونه‌ها معناداری نبود ( $P > 0/05$ ). ظرفیت اتصال آب در خمیر نقش مهمی در بافت فرآورده‌های نانوائی ایفا می‌کند.



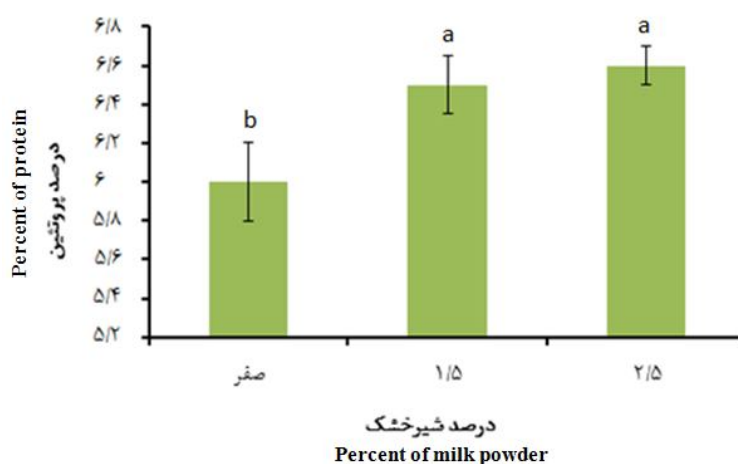
شکل ۱- اثر مقدار شیرخشک بر مقدار رطوبت نمونه‌های دونات  
Figure 1. Effect of milk powder on moisture content of donut samples

افزایش میزان رطوبت در نمونه‌های حاوی شیرخشک را می‌توان به تاثیر پروتئین موجود در شیرخشک نسبت داد که با ایجاد شبکه ژل مانند باعث پایداری ساختار در مقابل حرارت و حفظ آب در شبکه سه بعدی ژل و به دنبال آن افزایش میزان رطوبت محصول نهایی می‌گردد.

**اثر مقدار شیرخشک بر اسیدیته و pH.** نتایج تجزیه واریانس نشان داد که افزایش مقدار شیرخشک، تاثیر معناداری بر مقدار اسیدیته و pH نمونه‌های دونات نداشت ( $P > 0.05$ ). فرآیند تخمیر عبارت است از سلسله تغییرات فیزیکی، شیمیایی و بیوشیمیایی که در خمیر پس از مخلوط نمودن آرد، آب و مخمر و قبل از فرآیند پخت رخ می‌دهد و سبب اختلاف در مقادیر اسیدیته و pH محصول نهایی می‌شود (۵). شیرخشک حاوی یک قند غیرقابل تخمیر توسط مخمر به نام لاکتوز است، از این رو فعالیت مخمر و در نتیجه اسیدیته و pH محصول با افزودن شیر خشک تحت تاثیر قرار نگرفت. کنیوس و همکاران (۲۰۰۵) علت عدم تخمیر لاکتوز توسط مخمر در فرآورده‌های لبنی را به ناتوانی مخمر در تولید آنزیم بتاگالاکتوزیداز برای شکستن پیوند بین گلوکز و گالاکتوز در قند لاکتوز گزارش کردند (۱۵). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که مقدار pH، در نمونه‌های مورد بررسی برابر با ۶/۷ و

بدون تغییر بود. هم‌چنین، مقدار اسیددیده بر حسب اسیدلاکتیک، در نمونه فاقد شیرخشک ۰/۲۴ درصد و در نمونه‌های حاوی شیرخشک برابر با ۰/۲۵ درصد بود.

اثر مقدار شیرخشک بر مقدار پروتئین: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین مقدار پروتئین نمونه‌های دونات حاوی شیرخشک و فاقد آن، اختلاف معناداری وجود داشت ( $P < 0/05$ ). نتایج مقایسه میانگین بیانگر این مطلب بود که افزودن شیرخشک به فرمول نمونه‌های دونات با افزایش معنادر مقدار پروتئین (حدود ۶/۳ درصد) در آن‌ها نسبت به نمونه شاهد همراه بود ( $P < 0/05$ ). شایان ذکر است که تغییر پروتئین نمونه‌های دونات با افزایش درصد شیرخشک در فرمول از ۱/۵ به ۲/۵ درصد، معناداری نبود (شکل ۲) علت این امر را که می‌توان به کم بودن مقدار شیرخشک نسبت به کل مواد موجود در فرمول دونات نسبت داد.



شکل ۲- اثر مقدار شیرخشک بر درصد پروتئین نمونه‌های دونات

Figure 2. Effect of amount milk powder on protein content of donut samples

اثر مقدار شیرخشک بر مقدار قند: نتایج حاصل از تجزیه واریانس حاکی از تاثیر معنادار حضور شیرخشک بر مقادیر قند کل و قند احیاء در نمونه‌های دونات بود ( $P < 0/05$ ). همان‌طوری که در جدول ۱ نشان داده شده است که با افزایش مقدار شیرخشک، مقدار قندکل و قند احیاء در نمونه‌های دونات افزایش و مقدار قند غیراحیاء کاهش یافت ( $P < 0/05$ ). علت این امر وجود قند لاکتوز موجود در شیرخشک به‌عنوان یک قند احیاء و غیرقابل هیدرولیز در محیط بود. قند لاکتوز یک دی‌ساکارید

است که در حضور آنزیم بتاگالاکتوزیداز هیدرولیز می‌شود. با توجه به ناتوانی مخمر در توانایی تولید این آنزیم بر لاکتوز نیز بی‌تاثیر خواهد بود. این ویژگی سبب پایداری لاکتوز در برابر تخمیر ناشی از مخمر می‌شود (۱۵). بنابراین، با حضور شیرخشک در فرمول فرآورده‌های نانوائی، مقادیر قند احیاء و قند کل افزایش و به همان نسبت مقادیر قند غیراحیاء کاهش یافت (جدول ۱).

جدول ۱- اثر درصد شیرخشک بر میزان قند نمونه‌های دونات (گرم در صد گرم نمونه)

Table 1. Effect of milk powder percentage on the sugar content of donut samples (gr/100 gr sample)

قند احیاء کننده Non-reducing sugar	قند احیاء کننده Reducing sugar	قند کل Total sugar	درصد شیرخشک milk powder (%)
0.28±0.00a	9.01±0.02c	9.29±0.03b	0
0.23±0.04b	9.10±0.02b	9.35±0.05b	1.5
0.19±0.00c	9.20±0.02a	9.40±0.01a	2.5

حروف غیر یکسان در هر ستون نشانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0.05$ )

Different letters in the same column indicate significant difference ( $P < 0.05$ ).

جدول ۲: اثر مقدار شیرخشک بر شاخص‌های رنگ و اختلاف کلی رنگ در نمونه‌های دونات

Table 2. Effect of milk powder content on color indices and overall color difference in donut samples.

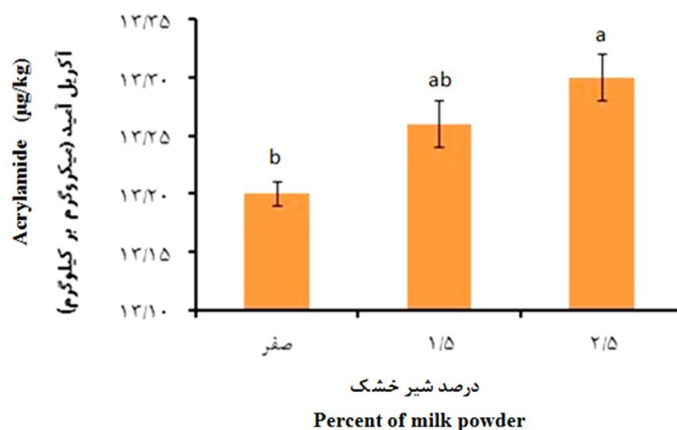
$\Delta E$	$b^*$	$L^*$	$a^*$	درصد شیرخشک Milke powder percentage
29.83±0.15a	44.31±0.11b	55.39±0.38b	23.51±0.36a	0
29.78±0.18ab	45.42±0.14a	56/63±0.14a	22.80±0.23b	1.5
29.27±0.33b	45.76±0.28a	56.86±.26a	21.47±0.12c	2.5

حروف غیر یکسان در هر ستون نشانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

Different letters in the same column indicate significant difference ( $P < 0.05$ ).

رنگ: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که حضور شیرخشک، تاثیر معناداری بر میزان شاخص‌های رنگی نمونه‌های دونات داشت ( $P < 0.05$ ). همان‌طوری که در جدول ۲ نشان داده شده است که افزایش مقدار شیرخشک در فرمول نمونه‌های دونات، با کاهش معنادار شاخص قرمزی ( $a^*$ ) و افزایش معنادار شاخص زردی ( $b^*$ ) و شاخص روشنایی ( $L^*$ ) نسبت به نمونه شاهد همراه بود ( $P < 0.05$ ). در مجموع، تغییرات شاخص‌های رنگی منجر به کاهش اختلاف کلی رنگ نمونه‌های دونات هم‌گام با افزایش مقدار شیرخشک شد ( $P < 0.05$ ). علت افزایش زردی و روشنایی و کاهش تیرگی را می‌توان

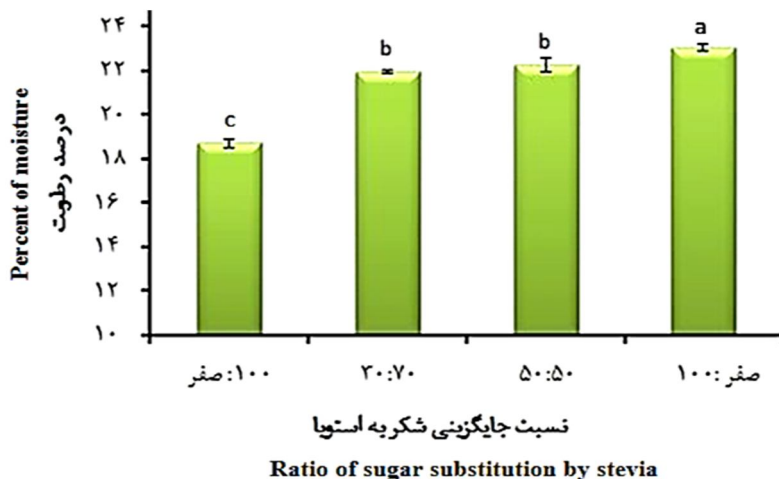
به وجود قند لاکتوز و پروتئین در شیرخشک نسبت داد که افزایش امکان بروز واکنش میلارد سبب ایجاد رنگ طلایی مطلوب در نمونه‌ها گردید (۱۶).



شکل ۳- اثر مقدار شیرخشک بر غلظت آکریل‌آمید در نمونه‌های دونات

Figure 3. Effect of milk powder content on the concentration of acrylamide in donut samples

اثر مقدار شیرخشک بر مقدار آکریل‌آمید: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که با افزودن شیرخشک در فرمول دونات، مقدار آکریل‌آمید شده تغییرات معناداری یافت ( $P < 0.05$ ). نتایج به‌دست آمده از این تحقیق با نتایج فیسلر و همکاران (۲۰۰۴) مطابقت داشت. این محققان گزارش کردند که میزان آکریل‌آمید در نمونه‌های سیب‌زمینی پوشش‌دهی شده با شیرخشک و سرخ‌شده در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت که علت آن به افزایش شدت واکنش میلارد ناشی از تماس مستقیم قند لاکتوز موجود در شیرخشک، با مقادیر بالای آسپارژین در سیب‌زمینی نسبت داده شد (۸). نتایج حاصل از اندازه‌گیری رنگ و قند احیاء در این تحقیق نیز تاییدی بر مقدار آکریل‌آمید اندازه‌گیری شده بود (شکل ۳) بدین مفهوم که در حضور شیرخشک در محیط و افزایش مقدار قند احیاء، آکریل‌آمید تشکیل شده قایل اندازه‌گیری در فرآورده دونات نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت. افزایش شدت رنگ قهوه‌ای نمونه‌های دونات نیز می‌تواند حاکی از تسریع شدت واکنش میلارد و در نتیجه تشکیل آکریل‌آمید قلمداد گردد ( $P < 0.05$ ).



شکل ۴- اثر نسبت جایگزینی شکر به استویا بر درصد رطوبت نمونه‌های دونات

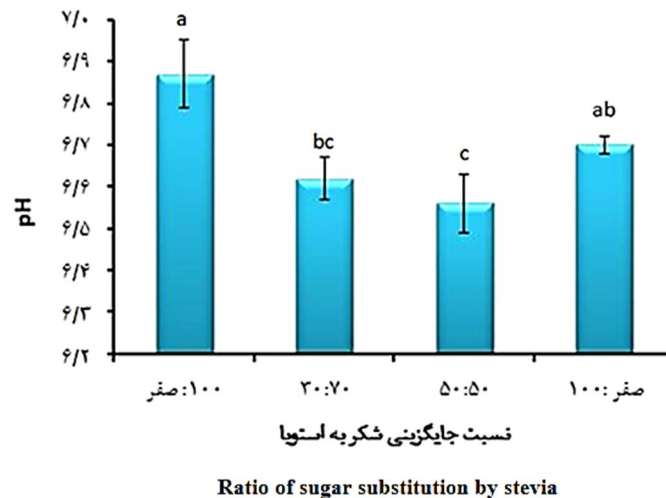
(اعداد نوشته شده در زیر ستون‌ها از چپ به راست به ترتیب مربوط به شکر و استویا است).

Figure 4. Effect of ratio of sugar replaced by stevia on the moisture content of donut samples (the numbers written at the bottom of the columns from left to right, correspond to sugar and stevia, respectively).

تأثیر نوع و مقدار شیرین‌کننده بر رطوبت: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که مقدار و نوع شیرین‌کننده اثر معناداری بر محتوای رطوبت نمونه‌های دونات داشت ( $P < 0.05$ ). نتایج مقایسه میانگین حاکی از این مطلب بود که با افزایش نسبت شکر به استویا در فرمول تهیه دونات، میزان رطوبت محصول نهایی نیز افزایش یافت (شکل ۴). همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، نمونه‌های دونات حاوی شکر یا استویا به تنهایی با یکدیگر و همچنین با سایر نمونه‌ها از لحاظ میزان رطوبت اختلاف معنادار وجود داشت ( $P < 0.05$ ). دما و فعالیت مخمرها از عوامل مهم ایجاد اختلاف مقدار رطوبت در فرآورده‌های نانوازی است که در ایجاد بافت مناسب و در نهایت حفظ رطوبت محصول مؤثر می‌باشند (۲). با توجه به این‌که در تحقیق حاضر دما (۱۷۰ درجه سانتی‌گراد) ثابت در نظر گرفته شده بود، از این رو فعالیت مخمر مهم‌ترین عامل تأثیرگذار بر مقدار رطوبت محصول معرفی شد. فعالیت مخمر در این مرحله با توجه به ثابت بودن مقدار مخمر و زمان تخمیر تابع مواد مغذی موجود در محیط جهت تخمیر و تولید اسیدلاکتیک خواهد بود. مخمرها با فعالیت در محیط حاوی شکر و تبدیل آن به گاز دی‌اکسیدکربن سبب ایجاد بافت متراکم و حفظ محتوای رطوبت محصول نهایی می‌گردند (۶).

استویا یک شیرین کننده بر پایه مولکول‌های پیچیده الکلی است. شیرین کننده استویا منبع تغذیه مناسبی برای مخمرها قلمداد نمی‌شود و تاثیری بر کاهش pH و افزایش اسیدیته محصول نیز نداشت. میزان رطوبت نمونه دونات حاوی استویا ۴/۳۳ درصد کمتر از نمونه حاوی شکر بود. با توجه به عدم تخمیر بافت قابل انتظار بود که نمونه‌های حاوی استویا خشک‌تر باشند.

تاثیر نوع و مقدار شیرین کننده بر اسیدیته و pH: مقدار مخمر و زمان تخمیر از عوامل مهم در تغییر اسیدیته و pH محیط در فرآورده دونات محسوب می‌گردند. در این مرحله از تحقیق درصد مخمر (۱/۵ درصد) و زمان تخمیر (۳۰ دقیقه) ثابت در نظر گرفته شد. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که حضور شکر در فرمول نمونه‌های دونات، سبب کاهش معنادار pH (شکل ۵) و افزایش معنادار اسیدیته محصول (شکل ۶) شد ( $P < 0.05$ ). با توجه به نیاز مخمر به محیطی مغذی از لحاظ مواد قندی برای رشد می‌توان نتیجه گرفت فرآیند تخمیر و تولید اسید لاکتیک در محیط حاوی استویا به دلیل عدم توانایی استفاده مخمر مصرفی از این ترکیب قندی متوقف می‌گردد. در نتیجه بیشترین مقدار pH و کمترین مقدار اسیدیته در نمونه‌های دونات حاوی استویا به تنهایی مشاهده شد.

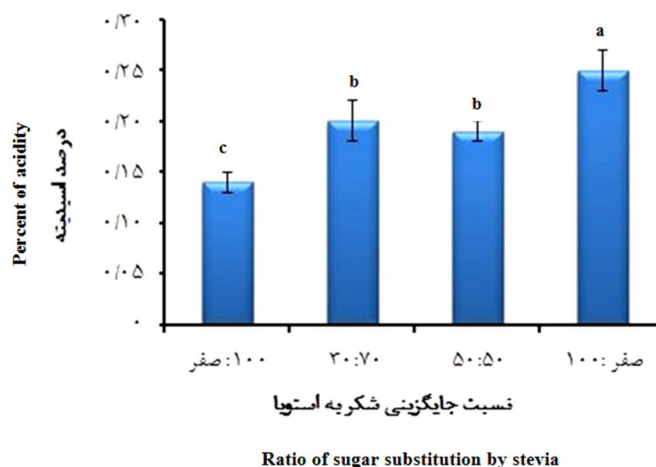


شکل ۵- اثر نسبت جایگزینی شکر به استویا بر pH نمونه‌های دونات

(اعداد نوشته شده در زیر ستون‌ها از چپ به راست به ترتیب مربوط به شکر و استویا است).

Figure 6. Effect of ratio of sugar replaced by stevia on acidity of donut samples (the numbers written at the bottom of the columns from left to right, correspond to sugar and stevia, respectively).





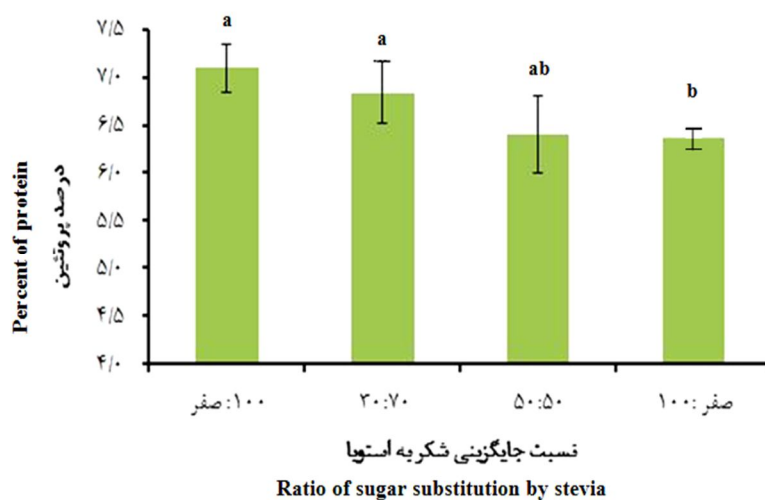
شکل ۶- اثر نسبت جایگزینی شکر به استویا بر درصد اسیدیته نمونه‌های دونات (اعداد نوشته شده در زیر ستون‌ها از چپ به راست به ترتیب مربوط به شکر و استویا است).

Figure 6. Effect of substitution ratio of sugar by stevia on acidity of donut samples (Written numbers on the bottom of the columns from left to right, related to sugar and stevia, respectively).

تغییرات شگرفی در اسیدیته و pH نمونه‌های دونات با تغییر نسبت شکر و استویا در محیط مشاهده نگردید. با توجه به این که مخمرها به‌طور معمول با مصرف قندها و تولید اسید منجر به افزایش اسیدیته و کاهش pH می‌گردند، لذا عدم مشاهده تغییرات معنی‌دار در این پارامترها با افزایش مقدار قند در فرمولاسیون دونات را می‌توان به ثابت بودن مقدار مخمر و کم بودن زمان تخمیر (۳۰ دقیقه) نسبت داد. به نظر می‌رسد مخمر زمان کافی برای استفاده از حداکثر ظرفیت خود در مصرف شکر موجود در محیط را در اختیار نداشت تا بتواند با مصرف قند بیشتر، اسیدیته بیشتری ایجاد نماید (۶).

**تأثیر نوع و مقدار شیرین‌کننده بر پروتئین:** نتایج تجزیه واریانس حاکی از اثر معنادار جایگزین کردن استویا با شکر، بر میزان پروتئین در فرآورده دونات بود ( $P < 0/05$ ). هم‌چنین، نتایج مقایسه میانگین نشان داد که افزایش میزان شکر در نمونه دونات سبب کاهش معناداری بر میزان پروتئین (شکل ۷) در محصول نهایی شد ( $P < 0/05$ ) که علت آن را می‌توان به حضور استویا، به‌عنوان یک قند غیر احیاء کننده و غیرقابل هیدرولیز توسط مخمر نسبت داد که قادر به کنترل واکنش میلارد در نمونه حاوی استویا بود. در نتیجه این امر اسیدهای آمینه (ازت آزاد) در محیط افزایش و بالطبع مقدار پروتئین اندازه‌گیری شده در نمونه‌های نهایی بیشتر بود (پاپتیل و پولاسا، ۲۰۰۸). نتایج حاصل از این تحقیق با

نتایج کنلی (۲۰۰۲) مبنی بر افزایش مقدار شکر در فرآورده‌های نانوائی شیرین و افزایش شدت واکنش میلارد و کاهش میزان اسیدهای آمینه آزاد و مقدار درصد پروتئین مطابقت داشت.



شکل ۷- اثر نسبت جایگزینی شکر به استویا بر درصد پروتئین نمونه‌های دونات (اعداد نوشته شده در زیر ستون‌ها از چپ به راست به ترتیب مربوط به شکر و استویا است).

Figure 7. Effect of ratio of sucrose replaced by stevia on the protein content of donut (the numbers written at the bottom of the columns from left to right, correspond to sucrose and stevia, respectively).

تأثیر نوع و مقدار شیرین‌کننده بر مقدار قند: نتایج تجزیه واریانس حاکی از تأثیر معنادار جایگزینی استویا با شکر بر مقادیر قند کل، قند احیاء و قند غیراحیاء در نمونه‌های دونات بود ( $P < 0/05$ ). نتایج به‌طور کلی بیانگر عدم وجود قند در نمونه‌های دونات حاوی استویا به تنهایی بود (جدول ۳). با توجه به این که قند در این پژوهش به روش لین اینون اندازه‌گیری شد که قادر به اندازه‌گیری قند استویا به‌عنوان یک قند الکلی نمی‌باشد، این نتیجه قابل انتظار بود. نتایج هم‌چنین نشان داد که نمونه دونات حاوی شکر به‌تنهایی از لحاظ میزان قند کل، قند احیاء و قند غیراحیاء اختلاف معناداری با نمونه‌های حاوی درصدی از شکر به‌عنوان شیرین‌کننده داشت ( $P < 0/05$ ).

جدول ۳- اثر نسبت جایگزینی شکر به استویا بر درصد قند کل، قند احیا و قند غیر احیا در نمونه‌های دونات

Table 3. Effect of ratio of sucrose replaced with stevia on the amounts of total sugar, reducing sugar and non-reducing sugars of donut (the numbers written at the bottom of the columns from left to right, correspond to sucrose and stevia, respectively).

نسبت شکر به استویا (استویا: شکر)				نوع قند (درصد)
Ratio of sucrose to stevia (sucrose : stevia)				
۱۰۰:۰	۳۰:۷۰	۵۰:۵۰	۰:۱۰۰	
9.50±0.20 <sup>c</sup>	3.00±0.10 <sup>b</sup>	3.00±0.10 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	قند کل Total sugar
9.20±0.20 <sup>c</sup>	2.70±0.10 <sup>b</sup>	2.73±0.11 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>	قند احیا Reducing sugars
0.28±0.00 <sup>b</sup>	0.28±0.00 <sup>b</sup>	0.25±0.051 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>	قند غیر احیا Non-reducing sugar

حروف غیر یکسان در هر ستون نشانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0.05$ )

Different letters in the same column indicate significant difference ( $P < 0.05$ ).

رنگ: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که جایگزین نمودن استویا در فرمول نمونه‌های دونات اثر معناداری بر شاخص‌های رنگی آن‌ها داشت ( $P < 0.05$ ). نتایج مقایسه میانگین حاکی از افزایش معنادار شاخص‌های  $L^*$  و  $b^*$  و کاهش معنادار شاخص  $a^*$  (جدول ۴) هم‌گام با افزایش میزان استویا در فرمول نمونه‌های دونات بود ( $P < 0.05$ ). به عبارت دیگر با افزایش میزان استویا در فرمول نمونه‌های دونات از قرمزی نمونه‌ها کاسته و رنگ نمونه‌ها به سمت زردی و روشن‌تر شدن متمایل شد (شکل ۸). این امر با افزایش معنادار اختلاف کلی رنگ ( $\Delta E$ ) در نمونه‌های دونات همراه بود ( $P < 0.05$ ).



شکل ۸: رنگ ظاهری نمونه‌های دونات (الف): حاوی شیرین‌کننده استویا و (ب): حاوی شیرین‌کننده شکر.

Figure 9. The apparent color of donut samples containing (a) stevia and sugar (b)

کاهش میزان شکر و حضور استویا به عنوان یک قند غیراحیاء در فرمول به کاهش شدت واکنش میلارد و در نتیجه کاهش شدت رنگ در نمونه‌ها منجر شد. نتایج این پژوهش با نتایج براتن و همکاران (۲۰۰۵) همخوانی داشت (۴). آن‌ها بیان کردند که بین شاخص روشنایی ( $L^*$ ) و شدت واکنش میلارد همبستگی خطی منفی وجود دارد به طوری که با افزایش شدت واکنش میلارد در نمونه، شاخص روشنایی کاهش می‌یابد.

جدول ۴- اثر نسبت جایگزینی شکر به استویا بر شاخص‌های رنگی و اختلاف کلی رنگ در نمونه‌های دونات

Table 4. Effect of ratio of sucrose replaced with stevia on color indices and overall color difference in donut samples

نسبت شکر به استویا (استویا : شکر)				شاخص‌های رنگی
Ratio of sugar to stevia (sugar : stevia)				Color index
۱۰۰:۰	۵۰:۵۰	۳۰:۷۰	۱۰۰:۰	
$24/53 \pm 0/45^d$	$14/25 \pm 0/33^b$	$17/38 \pm 0/03^c$	$1/43 \pm 0/05^a$	a*
$56/91 \pm 0/09^a$	$59/13 \pm 0/23^b$	$68/96 \pm 0/22^c$	$81/30 \pm 0/45^d$	L*
$51/30 \pm 0/19^d$	$43/23 \pm 0/25^c$	$42/14 \pm 0/44^b$	$41/14 \pm 0/48^a$	b*
$32/98 \pm 0/38^d$	$22/48 \pm 0/22^c$	$16/61 \pm 0/07^b$	$23/51 \pm 0/36^c$	$\Delta E$

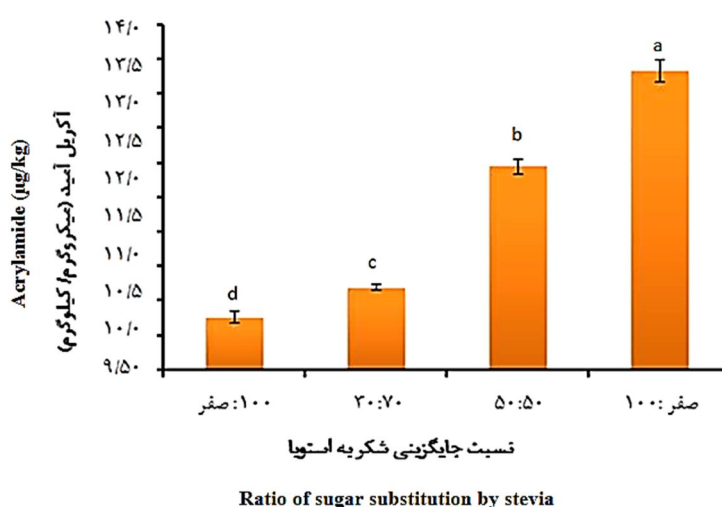
حروف غیر یکسان در هر ستون نشانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0/05$ )

Different letters in the same column indicate significant difference ( $P < 0.05$ ).

تاثیر نوع و مقدار شیرین‌کننده بر مقدار آکریل‌آمید: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که جایگزین کردن استویا با شکر، اثر معناداری بر مقدار آکریل‌آمید تشکیل شده نمونه‌های دونات داشت ( $P < 0/05$ ). نتایج مقایسه میانگین نیز نشان داد که با افزایش مقدار استویا و کاهش مقدار شکر در فرمول نمونه‌های دونات، میزان تشکیل آکریل‌آمید (شکل ۹) به طور قابل توجه و معناداری کاهش یافت ( $P < 0/05$ ). به طور کلی وجود یک قند احیاء‌کننده با یک گروه کربونیل فعال برای تشکیل آکریل‌آمید از آسپارژین، در مسیر واکنش میلارد ضروری است (فریدمن، ۲۰۰۳) اما چون آسپارژین یک فاکتور محدود کننده در فرآورده‌های نانوائی می‌باشد، نوع شیرین‌کننده مصرفی، نقش تعیین کننده-تری را ایفاء می‌کند (۲۵).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که جایگزینی کامل استویا با شکر در فرمول دونات با ۲۶/۸ درصد سبب کاهش میزان آکریل‌آمید شد. ژانگ و همکاران (۲۰۰۷) طی مطالعه روی اثر قند اینورت بر

میزان تشکیل آکریل آمید در فرآورده بیسکویت بیان کردند که با افزایش میزان قند احیاء در محیط، شدت واکنش میلارد افزایش یافت و با افزایش میزان قند احیاء نسبت به قند کل در محصول، مقدار آکریل آمید نیز به طور صعودی افزایش یافت (۲۶). افزایش مقدار شکر در فرمول با افزایش فعالیت مخمرها و در نتیجه افزایش اسیدیته همراه بود که این امر امکان تبدیل قند کل به قند احیاء را افزایش و در نهایت شرایط مساعد برای تشکیل آکریل آمید ایجاد گردید.



شکل ۹: اثر نسبت جایگزینی شکر به استویا بر غلظت آکریل آمید در نمونه‌های دونات (اعداد نوشته شده در زیر ستون‌ها از چپ به راست به ترتیب مربوط به شکر و استویا است).

Figure 10. Effect of ratio of sugar replaced with stevia on acrylamide concentration of donut samples (the numbers written at the bottom of the columns from left to right, correspond to sucrose and stevia, respectively).

### نتیجه‌گیری کلی

با افزایش شیر خشک در فرمول تهیه دونات، درصد رطوبت، درصد پروتئین، قند کل، قند احیاء و آکریل آمید افزایش و درصد قند غیر احیاء و تیرگی در محصول کاهش یافت. مقدار شیر خشک بر pH و اسیدیته محصول اثر معنی‌داری نداشت. جایگزین کردن ساکارز با شیرین‌کننده استویا در فرمولاسیون دونات سبب کاهش درصد رطوبت، اسیدیته، رنگ ظاهری و میزان آکریل آمید و افزایش مقدار پروتئین، قند کل و قند احیاء در محصول گردید. بر این اساس می‌توان بیان داشت که بهینه‌سازی فرمول تولید می‌تواند، تشکیل آکریل آمید و خواص شیمیایی در محصول نهایی را کنترل نماید.

منابع

1. Amrein, T.M., Schonbachler, Escher, B., and Amado, F. 2004. Acrylamide in gingerbread: critical factors for formation and possible ways for reduction. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 52: 4282–4288.
2. Ardent, A., Fink, M., Eldin, A.K., Rosen, J., Andersson, R. and Aman, P. 2006. Interaction effects of fermentation time and added asparagines and glycine on acrylamide content in yeast-leavened bread. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 112(2): 767-774.
3. Brandle, D.J., Stevia Natures Natural Low Calorie Sweetener. 1998. *Journal of Food and Chemical Toxicology*. 35(1): 123-135
4. Brathen, E., Kita, A., Knutsen, S.H., and Wicklund, T. 2005. Mitigation strategies to reduce acrylamide formation in fried potato products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(2): 3259–3264.
5. Caballero PA, Gomez M., and Rosell CM. 2007. Improvement of dough rheology bread quality and bread shelf-life by enzymes combination. *Journal of Food Engineering*, 81: 42-53.
6. Cauvin, S. and Young, L. 2006. Baked products: science technology and practices, Bake Tran, High Wycombe, Bucks, UK, Blackwell publishing, pp: 156.
7. Exona, J.H. 2006. A Review of the Toxicology of Acrylamide. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 9(5): 397– 412.
8. Fiselier, K., Grob, K. and Pfefferle, A. 2004. Brown potato croquettes low in acrylamide by coating with egg/bread crumbs. *European Food Research Technology*, 219: 111-115.
9. Fredriksson, H., Tallving, J., Rose'n, J., and Ar man, P. 2004. Fermentation reduces free asparagine in dough and acrylamide content in bread. *Journal of Cereal Chemistry*, 81(2): 650–653.
10. Friedman, M. 2003. Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(2): 4504-4526.
11. Hamzaluie, M., Mirzayi, H. and Ghorbani, M. 2009. Evaluation effects of evaluation of sugar replace by glycosidic sweeteners of stevia on the peroxide index in biscuit. *Journal of agricultural sciences and natural resources*, Vol. 16 (Special issue 1-a).
12. International Agency on Research on Cancer. 1994. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks of some industrial chemicals to humans: Acrylamide. Lyon, France.
13. Iranian national standards .1378. Cakes - Specifications and test methods. No. 2553, revised second.
14. Kennelly, E.J. 2002. Sweet and non-sweet constituents of *Stevia rebaudiana* (Bertoni). In: *Stevia, the genus Stevia*. *Journal of Medicinal and Aromatic Plants- Industrial Profiles*, 19(2):68-85.

15. Konyves, L., Brydl, E., and Jurkovich, V. 2005. Effect of different *saccharomyces cerevisiae* yeast cultures on ruminal fermentation, metabolic status and milk production in dairy cows. *American-Eurasian Journal of Scientific Research*. 31(2): 163-166
16. Morttam, D.S. Wedzicha, B.L. and Dodson, A.T. 2002. Acrylamide is formed in the maillard reaction, *The Journal of Food Chemistry*, 419(1): 448-449.
17. Owens, G. 2001. *Cereals Processing Technology*, Woodhead Food Science and Technology, CRC.
18. Panpatil, V.V. and Polasa, K. 2008. Assessment of stevia (*stevia rebaudiana*) natural sweetener: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 45: 467-473.
19. Robarge, T., Phillips, E. and Conoley, M. 2003. Optimizing the analysis of acrylamide in food by Quadrupole GC/MS. *Chromatography and Mass Spectrometry GC/MS. Application Note number 9195*. Thermo Electron Corporation, Austin. TX.
20. Shih, F.F., Daigle, K.W. and Clawson, E.L. 2001. Development of low oil-uptake donuts. *Institute of Food Technologists*. 66(1): 141-144.
21. Skog, K. 2006. *Acrylamide and Other Hazardous Compounds in Heat-treated Foods*, Woodhead Publishing.
22. Sun, D.W. and Brosnan, T. 2002. Inspection and grading of agricultural and food products by computer vision systems-a review. *Computers and Electronics in Agriculture*, 36: 193-211.
23. Tan K.J., and Mittal, G.S. 2006. Physicochemical properties changes of donuts during vacuum frying. *International Journal of Food Properties* 9(2): 85-98.
24. Tan, K.J., and Mittal, G.S. 2006. Physicochemical properties changes of donuts during vacuum frying. *International Journal of Food Properties*. 9 (1): 85-97.
25. Vass, M., Amrein, T.M., Schonbachler, B., Escher, F. and Amado, R. 2004. Ways to reduce the acrylamide formation in cracker products. *Journal of Food Science*, 5(1): 19-21.
26. Zhang, Y., Ren, Y. and Zhao, H. 2007. Determination of acrylamide in Chinese traditional carbohydrate-rich foods using gas chromatography with micro-electron capture detector and isotope dilution liquid chromatography combined with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(4): 322-332.

## Effect of dry milk and Stevia sweetener contents on the amount of acrylamide and chemical properties of Donuts products

\*M. Shahidi Noghabi<sup>1</sup>, R. Niazmand<sup>1</sup> and Z. Ghaeni<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Assistant Prof., Dept of Food Chemistry, Research Institute of Food Science and Technology (RIFST), Mashhad, Iran

<sup>2</sup> Department of Food Science and Technology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran

Received: 2015/03/4; Accepted: 2016/01/17

### Abstract

**Background:** Donut, a popular fried bakery product, is susceptible to acrylamide formation during processing. Acrylamide is a compound produced in starchy foods which are processed at temperatures higher than 120 °C. Acrylamide is known as a carcinogenic compound and therefore controlling the factors affecting its formation during food processing is of great importance. The aim of this study was to investigate the effect of dried milk powder (at the levels of 0, 1.5 and 2.5 % w/w) and sweeteners type (stevia and sucrose at different ratios 0:100, 30:70, 50:50 and 100:0) on the amount of acrylamide produced in donuts.

**Materials and Methods:** A completely randomized design based on factorial experiments was used to evaluate the effect of milk powder and sweetener on physic-chemical properties and the amount of acrylamide in the product (donut). Samples from different treatments were analyzed in terms of chemical properties (moisture, pH, acidity, total sugar and protein) and the product color. A gas chromatography with mass spectrometry detector (GC-MS) was used to investigate the effect of treatments on the formation of acrylamide in the end product. The mean values were compared using Duncan test ( $p \leq 0.05$ ) by Minitab software (version 16) and the graphs were drawn in Microsoft Excel.

**Results:** The results showed that by incorporating milk powder into donut formulation, the levels of moisture, protein, total sugar, reducing sugar and acrylamide increased and non-reducing sugar and darkness decreased in the product. The concentration of milk powder had no significant effect on pH and acidity. The results showed that by replacing sugar with stevia in the formulation of

---

\*Corresponding author; [m.shahidi@rifst.ac.ir](mailto:m.shahidi@rifst.ac.ir)



donut, moisture content, acidity, color appearance and concentration of acrylamide decreased and the levels of protein, total sugar and reducing sugar increased. The results also showed that the type of sweetener was an important factor in acrylamide formation and by replacing sugar with stevia, the final content of acrylamide decreased. It was also found that by increasing the amount of milk powder in the formulation, the amount of acrylamide in the final product increased. Therefore, acrylamide formation in and chemical properties of the final product can be controlled by optimizing the formulation.

**Conclusion:** By using this information, we can optimize the conditions so that acrylamide is formed at the least concentration and therefore improve the public health.

**Keywords:** Acrylamide, Stevia, donut, Gas Chromatography, Millard reaction.

