دانشکده علوم و صنایع غذایی

پایان‌نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته
صنایع غذایی

بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره برگ *استویا ربایودیانا برتونی* (*Stevia rebaudiana Bertoni*) و تاثیرات آن در دسر لبنی

پژوهش و نگارش:
مونا فلاح شجاعی

استاد راهنما:
دکتر علیرضا صادقی ماهونک

اساتید مشاور:
دکتر مرتضی خمیری
دکتر محمد قربانی

تابستان ۱۳۹۲

تعهدنامه پژوهشی

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه‌های تحصیلی دانشجویان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مبین بخشی از فعالیت‌های علمی- پژوهشی بوده و همچنین با استفاده از اعتبارات دانشگاه انجام می‌شود؛ بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

۱- قبل از چاپ پایان نامه خود، مراتب را قبلا به طور کتبی به مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اطلاع داده و کسب اجازه نمایند.
۲- قبل از چاپ پایان نامه در قالب مقاله، همایش، اختراع و اکتشاف و سایر موارد، ذکر نام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان الزامی است.
۳- انتشار نتایج پایان نامه باید با اطلاع و کسب اجازه از استاد راهنما صورت گیرد.

اینجانب **مونا فلاح شجاعی** دانشجوی رشته **صنایع غذایی** مقطع **کارشناسی‌ارشد** تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی و امضاء

باسپاس از سه وجود مقدس:

آنان که ناتوان شدند تا ما به توانایی برسیم...

موهایشان سپید شد تا ما روسفید شویم...

و عاشقانه سوختند تا گرمابخش وجود ما و روشنگر راهمان باشند...

پدر

مادر

استادانم

و تقدیم به خواهرانم

هدی

ویدا

و مینای عزیزم.

تشکر و قدردانی

پروردگار را تورا سپاس که نعمت آموختن به من ارزانی داشتی و چه بی دریغ یاریم کردی هرگاه و هرگاه و هردم کهتورا خواندم.

گذراندن مراحل اجرایی و تدوین این پایان نامه پس از الطاف الهی، مدیون بزرگوارانی است که بدون همراهی آنان طی این طریق ممکن نبود.

نخست سزاوار است نهایت سپاس قلبی خود را تقدیم حضور استاد راهنمای ارجمند خود **جناب آقای دکتر علیرضا صادقی ماهونک** نمایم که مرا از کمک های ارزنده و راهنمایی های بی دریغش بهرمند ساختند.

از اساتید مشاور **محترم جناب آقای دکتر خمیری و دکتر قربانی** که از نظرات ارزشمندشان بهره مند شدم سپاس گزارم.

از داور محترم جناب **آقای دکتر میرزایی** بخاطر تقبل زحمت باز خوانی این پایان نامه متشکرم.

از دوستان عزیزم خانم ها **مظلوم، رحمانی، قورچی بیگی، شیروانی و رنجبر** که در طول انجام این تحقیق حامی و پشتیبان من بودند کمال تشکر را دارم.

چکیده

استویا،گیاهی از تیره مرکبان[1]، علفی و حساس به سرماست. گیاه دارای برگ‌های کوچک است که به صورت متناوب روی ساقه قرار گرفته‌اند.در این پژوهش به منظور بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی، ترکیبات فنولی آن توسط متانول استخراج گردید. میانگین کل ترکیبات فنولی گیاه استویا ۱۰/۶۴ گرم تانیک اسید در ۱۰۰ گرم برگ خشک استویا تعیین گردید. ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره نشان داد، مهار رادیکال آزاد، قدرت احیاءکنندگی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل با مقدار ترکیبات فنولی عصاره‌ها رابطه مستقیم دارد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با آزمون‌های قدرت احیاءکنندگی یون‌های آهن ۳ ظرفیتی، مهار رادیکال‌های DPPH و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بررسی و با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مقایسه گردید. در تمامی روش‌های فوق فعالیت آنتی‌اکسیدانی وابسته به غلظت بود. در آزمون مهار رادیکال آزاد عصاره متانولی دارای فعالیت بیشتری نسبت به BHT نشان داد. بیشترین قدرت احیاءکنندگی هم مربوط به BHT بود و از این نظر اختلاف معنی‌داری با عصاره متانولی داشت. از نظر ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل نیز میزان آن در BHT بسیار بیشتر و دارای اختلاف معنی‌داری با عصاره اتانولی بود. اندازه گیری مهار رادیکال آزاد DPPH و قدرت احیاءکنندگی نشان داد که نمونه‌های حاوی عصاره استویا دارای مقادیر بالاتری از مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH و قدرت احیاءکنندگی می‌باشند. علاوه براین دسر حاوی استویا در طول مدت نگه‌داری سطح بالایی از مهار رادیکال آزاد و قدرت احیاءکنندگی را نشان داد که منجر به تاخیر در اتواکسیداسیون چربی و افزایش زمان ذخیره‌سازی مواد غذایی می‌شود. ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی عصاره استویا نشان داد که بیشترین اثر بازداندگی رشد از نظر قطرهاله به‌ترتیب مربوط به *سالمونلا تایفی*، *باسیلوس سابتلیس* و *سالمونلا انتریکا* و کمترین آن مربوط به لیستریا مونوسیتوژنز بود. کمترین میزان MBC مربوط به *سالمونلا تایفی* و *سالمونلا انتریکا* و بیشترین میزان MBC مربوط به *لیستریا مونوسیتوژنز* و *باسیلوس سرئوس* بود. در بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره در دسر لبنی به دلیل آنکه میزان مصرفی عصاره در دسر کمتر از میزان دوز موثر بر ارگانیسم‌ها بود اثری ضدمیکروبی قابل توجهی مشاهده نشد، بنابراین نمی‌توان از استویا به‌عنوان یک ترکیب ضد میکروبی در دسر لبنی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: گیاه استویا ربایودیانا، ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی اکسیدانی، فعالیت ضدباکتریایی، دسر لبنی.

[1] Compositae

فهرست مطالب

عنوان | صفحه

فصل اول/ مقدمه

۱-۱- تاریخچه ۲

۱-۲- روش تولید و برداشت محصول ۴

۱-۳- فرآوری پس از برداشت و اشکال مورد استفاده‌ی استویا ۵

۱-۳-۱- برگ‌های تازه‌ی استویا ۵

۱-۳-۲- برگ‌های خشک شده ۶

۱-۳-۳- عصاره‌ی مایع تیره رنگ ۶

۱-۳-۴- عصاره‌ی شفاف ۶

۱-۳-۵- پودر استویا با ۴۰ تا ۵۰ درصد گلیکوزیدهای شیرین ۶

۱-۳-۶- پودر استویا با ۸۵ تا ۹۵ درصد گلیکوزید شیرین ۶

۱-۴- ساختار شیمیائی و شیرینی استویا ۷

۱-۵- استخراج و خالص‌سازی ۸

۱-۶- متوسط مصرف روزانه ۹

۱-۷- پایداری استویا ۱۰

۱-۸- دسرشیری ۱۱

۱-۸-۱- انواع دسرهای شیری از نظر بافت ۱۲

۱-۸-۲- انواع دسرهای شیری از نظر طعم ۱۳

۱-۸-۳- ویژگی‌های دسرهای شیری ۱۳

۱-۹- فرضیات ۱۵

۱-۱۰- اهداف ۱۵

فصل دوم/ بررسی منابع

۲-۱- ترکیبات شیمیایی برگ گیاه استویا ۱۸

۲-۱-۱- کربوهیدرات‌ها ۱۸

۲-۱-۲- پروتئین‌ها ۱۹

۲-۱-۳- مواد معدنی ۱۹

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۲-۱-۴- لیپیدها ۲۰
۲-۱-۵- ترکیبات فنولی ۲۱
۲-۱-۵-۱- فلاونوئید ۲۲
۲-۱-۵-۲- تانن‌ها ۲۲
۲-۲- روش‌های اندازه‌گیری ترکیبات فنولی ۲۳
۲-۲-۱- روش‌های اسپکتوفتومتری ۲۳
۲-۲-۲- کروماتوگرافی گازی ۲۳
۲-۲-۳- کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا ۲۴
۲-۳- آنتی‌اکسیدان‌ها ۲۴
۲-۳-۱- آنتی‌اکسیدان‌های مورد استفاده در مواد غذایی ۲۴
۲-۳-۱-۱- آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی ۲۴
۲-۳-۱-۲- آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی ۲۵
۲-۴- اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی ۲۵
۲-۴-۱- بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی ۲۵
۲-۴-۲- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دسر لبنی ۲۸
۲-۵- ویژگی‌های ضدمیکروبی ترکیبات فنولی ۳۰
۲-۵-۱- بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهی ۳۰
۲-۵-۲- ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های مختلف در مواد غذایی ۳۲
۲-۶- سایر محصولات تهیه شده از استویا ۳۵

فصل سوم/ مواد و روش‌ها

۳-۱- مواد و دستگاه‌ها ۳۸
۳-۱-۱- مواد اولیه و تجهیزات مورد نیاز ۳۸
۳-۲- جمع آوری نمونه ۳۹
۳-۳- استخراج عصاره ۳۹
۳-۴- بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره ۳۹

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۳-۴-۱- اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنولی..... ۳۹
۳-۴-۲- ارزیابی مهار رادیکال‌های آزاد..... ۴۰
۳-۴-۳- آزمون قدرت احیاءکنندگی..... ۴۰
۳-۴-۴- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل..... ۴۱
۳-۵- بررسی خاصیت ضدباکتریایی عصاره در محیط کشت..... ۴۱
۳-۵-۱- روش دیسک دیفیوژن..... ۴۱
۳-۵-۲- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)..... ۴۲
۳-۵-۳- تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)..... ۴۳
۳-۶- آماده سازی دسر لبنی..... ۴۴
۳-۷- بررسی خاصیت ضدباکتریایی در فرمولاسیون دسر لبنی..... ۴۴
۳-۸- بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ استویا در دسر لبنی..... ۴۵
۳-۸-۱- اندازه‌گیری رادیکال آزاد DPPH..... ۴۵
۳-۸-۲- قدرت احیاءکنندگی..... ۴۵
۳-۹- بررسی پایداری فیزیکی دسر لبنی..... ۴۵
۳-۹-۱- ظرفیت نگه‌داری آب..... ۴۵
۳-۱۰- اندازه‌گیری خواص رئولوژیکی..... ۴۶
۳-۱۱- آزمون‌های فیزیکوشیمیایی..... ۴۶
۳-۱۱-۱- اندازه‌گیری رطوبت..... ۴۶
۳-۱۱-۲- اندازه‌گیری پروتئین..... ۴۷
۳-۱۱-۳- اندازه‌گیری چربی..... ۴۷
۳-۱۱-۴- اندازه‌گیری خاکستر..... ۴۸
۳-۱۱-۵- اندازه‌گیری pH..... ۴۸
۳-۱۱-۶- اندازه‌گیری اسیدیته..... ۴۸
۳-۱۲- ارزیابی حسی..... ۴۸
۳-۱۳- آنالیز آماری..... ۴۹

فهرست مطالب

عنوان | صفحه

فصل چهارم/ نتایج و بحث

۴-۱- بررسی ترکیبات شیمیایی ۵۲

۴-۲- آنالیز ترکیبات دسر ۵۲

۴-۳- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها ۵۳

۴-۳-۱- مقدار کل ترکیبات فنولی ۵۳

۴-۳-۲- ارزیابی مهار رادیکال‌های آزاد ۵۴

۴-۳-۳- ارزیابی قدرت احیاءکنندگی ۵۸

۴-۳-۴- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل ۶۱

۴-۴-ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها در به تاخیر انداختن اکسیداسیون در دسر لبنی ۶۳

۴-۴-۱- اندازه‌گیری درصد مهار رادیکال آزاد DPPH ۶۴

۴-۴-۲- قدرت احیاءکنندگی ۶۶

۴-۵- ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌ها ۶۸

۴-۵-۱- ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌ها در محیط کشت ۶۸

۴-۵-۲- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) ۷۱

۴-۶- بررسی خاصیت ضدباکتریایی در فرمولاسیون دسر لبنی ۷۳

۴-۷- بررسی پایداری فیزیکی دسر لبنی ۷۷

۴-۸- اندازه‌گیری خواص رئولوژیکی ۷۷

۴-۹- اندازه‌گیری pH و اسیدیته ۷۹

۴-۱۰-آنالیز حسی ۸۰

۴-۱۱- نتیجه‌گیری کلی ۸۰

۴-۱۲- پیشنهادات پژوهشی و اجرایی ۸۲

منابع ۸۴

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول ۱-۱ ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی انواع دسرهای شیری ۱۵
جدول ۲-۱- آنالیز تقریبی برگ‌های خشک شده استویا (هر گرم در ۱۰۰ گرم برگ خشک) ۱۸
جدول ۴-۱- آنالیز تقریبی ترکیبات پودر برگ استویا ۵۲
جدول ۴-۲- آنالیز تقریبی ترکیبات دسر لبنی ۵۲
جدول ۴-۳- آنالیز واریانس درصد مهار رادیکال آزاد DPPH تیمارهای مختلف ۶۵
جدول ۴-۴- مقایسه میانگین مهار رادیکال آزاد DPPH تیمارهای مختلف طی ۱۵ روزنگه‌داری در دمای ۵ درجه سانتی گراد ۶۵
جدول ۴-۵- آنالیز واریانس قدرت احیاءکنندگی ۶۶
جدول ۴-۶- مقایسه میانگین قدرت احیاءکنندگی تیمارهای مختلف طی ۱۵ روزنگه‌داری در دمای ۵ درجه سانتی گراد ۶۷
جدول ۴-۷- غلظت MIC و MBC عصاره متانولی (برحسب پی پی ام) در برابر باکتری‌ها ۷۲
جدول ۴-۸- WHC نمونه‌ها بعد از ۷۲ نگه‌داری ۷۷
جدول ۴-۹- پارامترهای مدل قانون توان، کاسون و هرشل بالکی هر تیمار ۷۸
جدول ۴-۱۰- مقایسه میانگین pH و اسیدیته دسر لبنی ۷۹
جدول ۴-۱۱- مقایسه میانگین قابلیت پذیرش نمونه‌های دسر ۸۰

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱- گیاه *استویا ربایودیانا*..... ۳
شکل ۱-۲- ساختار شیمیایی چند گلیکوزید استویا..... ۸
شکل ۳-۱- میکروپلیت الایزا..... ۴۳
شکل ۴-۱- مقایسه میانگین درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH غلظت‌های مختلف عصاره آبی- الکلی گیاه *استویا ربایودیانا برتونی* و آنتی‌اکسیدان سنتزی..... ۵۵
شکل ۴-۲- مقایسه میانگین قدرت احیاءکنندگی غلظت‌های مختلف عصاره متانولی و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT..... ۵۹
شکل ۴-۳- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف عصاره متانولی و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT..... ۶۲
شکل ۴-۴- مقایسه میانگین قدرت ضدباکتریایی غلظت‌های مختلف عصاره در برابر سویه‌های مختلف..... ۶۹
شکل ۴-۵- نمودار تغییرات تعداد باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* در طول ۱۵ روز نگه‌داری در دمای ۴ درجه سانتی گراد..... ۷۴
شکل ۴-۶- نمودار تغییرات تعداد باکتری *لویکونوستوک مزنترئیدیس* در طول ۱۵ روز نگه‌داری در دمای ۴ درجه سانتی گراد..... ۷۴
شکل ۴-۷- نمودار تغییرات تعداد باکتری *سالمونلا تایفی* در طول ۱۵ روز نگه‌داری در دمای ۴ درجه سانتی گراد..... ۷۵
شکل ۴-۸- نمودار تغییرات تعداد باکتری *باسیلوس سرئوس* در طول ۱۵ روز نگه‌داری در دمای ۴ درجه سانتی گراد..... ۷۵
شکل ۴-۹- نمودار تغییرات تعداد باکتری *سالمونلا انتریکا* در طول ۱۵ روز نگه‌داری در دمای ۴ درجه سانتی گراد..... ۷۶
شکل ۴-۱۰- نمودار تغییرات تعداد باکتری لاکتوباسیلوس پلانتریوم در طول ۱۵ روز نگه‌داری در دمای ۴ درجه سانتی گراد..... ۷۶
شکل ۴-۱۱- نمودار سرعت برشی- تنش برشی در نمونه‌های حاوی استویا..... ۷۸
شکل ۴-۱۲- نمودار تاثیر سرعت برشی بر ویسکوزیته..... ۷۹

فصل اول

مقدمه

۱-۱- مقدمه

تاریخچه

استویا یک گیاه بوته‌ای پر برگ می‌باشد (شکل ۱-۱)، که نخستین بار در دره ریوماندی[1] در شمال شرقی کشور پاراگوئه شناخته شده است. جایی که به نام کا آ هی[2] (ka'a-he'e) معروف است و مورد استفاده مردم گورانی[3] به‌عنوان شیرین‌کننده قرار می‌گرفت. در سال ۱۸۸۷ در حالی که برتونی[4]، بوته‌هایی را که بوسیله‌ی بومی‌های پاراگوئه مورد استفاده قرار می‌گرفت، مطالعه می‌کرد با گیاه استویا آشنا شد و استویا را کشف کرد و در احترام به شیمیدان پاراگوئه‌ای، دکتر ریبادی[5]، گیاه استویا بطور علمی *ریبادی*[6]، نامگذاری شد. مهمترین کشورهای تولیدکننده استویا ژاپن، چین، تایوان، کره، برزیل، مالزی و پاراگوئه هستند. از دیگر کشورهای اصلی تولیدکننده استویا، تایلند، روسیه، اندونزی، استرالیا، اسپانیا، کانادا، کاستاریکا، کلمبیا، بولیوی و پرو می‌باشند. چین با تولید ۲۰۰۰ تن استویا در سال، بزرگترین کشور تولیدکننده‌ی استویا می‌باشد. استویا در سال ۱۹۷۰ در چین مطرح و بطور تجاری در سال ۱۹۸۰ تولید شد. اصلی‌ترین کشور تأمین کننده‌ی استویا، ژاپن می‌باشد. دومین کشور تولید کننده پاراگوئه می‌باشد و بیشتر از ۵۰۰ تن در سال استویا تولید می‌کند.

مهمترین اهمیت اقتصادی استویا کاربرد آن به‌عنوان یک ماده شیرین‌کننده طبیعی در جایگزینی شیرین‌کننده‌های مصنوعی (آسپارتام و سدیم ساخارین) است.

امروزه ژاپن، بزرگترین مصرف‌کننده‌ی استویا می‌باشد. در سال ۱۹۵۴، ژاپن کشت این گیاه را شروع کرد. در سال ۱۹۶۰ ژاپن، شیرین‌کننده‌های مصنوعی را ممنوع کرد و قوانین محدودکننده‌ای نسبت به محصولاتی که سلامتی را به خطر می‌انداخت، وضع کرد. برای اینکه ایمنی استویا را به‌عنوان شیرین‌کننده تأئید کنند، تست‌های مختلفی را انجام دادند و به این نتیجه رسیدند، که استویا ایمن است. در سال ۱۹۷۰ تولیدکنندگان مواد غذایی شروع به تبلیغ و بازاریابی استویا در ژاپن کردند (چانگ و کوک، ۱۹۸۳).

---

[1] Riomonday
[2] ka'a-he'e
[3] Guarani
[4] Rebaudi
[5] *Rebaudi*

شکل ۱-۱ گیاه استویا ربایودیانا

در آمریکا تحرک کمی در مورد استویا در بازار این کشور در طی سال‌های ۱۹۲۱ تا ۱۹۹۱ رخ داد، اما در سال ۱۹۹۱ اداره غذا و داروی آمریکا واردات استویا را به کشور آمریکا تحریم کرد، و در سال ۱۹۹۵ این محدودیت را اصلاح کرد و اجازه داد استویا به‌عنوان یک مکمل رژیمی و نه به‌عنوان یک ماده‌ی افزودنی وارد شود. این تصمیم براساس مطالعه‌ای که در سال ۱۹۶۸ صورت گرفته بود و قبایل بومی برای جلوگیری از بارداری از استویا استفاده می‌کردند، بیان شد.

در ۲۸ جولای سال ۲۰۰۴، در ژنو جلسه‌ای توسط کمیته‌های مشترک نظارت غذایی و دارویی آمریکا با سازمان بهداشت جهانی[1] روی افزودنی‌های غذایی برگزار شد. پاراگوئه مدارکی مبنی بر ایمنی استویا ارائه کرد. همچنین کشورهای دیگر شامل ژاپن و چین مدارک مشابه‌ای ارائه کردند و خواهان تغییر موضع نسبت به استویا شدند. در شصت و سومین جلسه کمیته‌های مشترک نظارت غذایی و دارویی آمریکا با سازمان بهداشت جهانی، این کمیته اعلام کرد استویا بدون ضرر می‌باشد و به نظر می‌رسد که مصرف آن به مقدار ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن ضرری نداشته باشد (JECFA، ۲۰۰۵).

1- JECFA (FAO/WHO joint Expert Committee on Food Additives)

پنج نوع گیاه استویا وجود دارد که قند یک نوع آن استویا ریبادیانا برتونی[1] درکشورهای ژاپن، کره، چین و پاراگوئه و بسیاری کشورهای دیگر در محصولات غذایی و در آمریکا و کانادا درتهیه مواد خوراکی رژیمی مجاز است. پیش بینی می‌شود در آینده به‌طورکلی به‌منظور حفظ سلامت انسان از مخلوط چند نوع قند از جمله قندهای غیرکالری‌زا در تهیه محصولات غذایی استفاده خواهد شد و شیرین‌کننده‌های جدید بازار خوبی خواهند داشت (جنوس، ۲۰۰۳).

برخی از میکروارگانیسم‌ها در حضور اجزای تشکیل‌دهنده استویا نمی‌توانند رشد کنند و این ترکیبات می‌تواند به‌عنوان جزئی از خمیر دندان و دهان شویه مورد استفاده قرار گیرد. در هند خمیر دندان‌هایی که با استفاده از استویا و آلوئه ورا تولید شده‌اند، تجاری شده است (سینگ و رائو، ۲۰۰۷).

۱-۲- روش تولید و برداشت محصول

استویا یک گیاه روز کوتاه است و معمولاً مانند یک زراعت یک ساله کشت می‌شود. بذر گیاه در شرایط گلخانه‌ای کشت و نشاها پس از ۶ تا ۷ هفته، به مزرعه انتقال داده می‌شوند. ارتفاع آن در شرایط مطلوب رشد به ۱۰۰ سانتی‌متر می‌رسد. زمان گلدهی بستگی به رقم، پس از ۱۰۴-۵۴ روز از تاریخ کشت است. در موطن اصلی استویا دمای روز و شب بین ۴۳-۲۱ درجه سانتی‌گراد و بارندگی تا ۱۳۷۵ میلی‌متر در سال است. بذر استویا به دلیل عدم تلقیح در صد پوکی زیاد دارد. اما بذر مرغوب استویا جوانه‌زنی خوبی دارد. بهترین کیفیت قند از برگ استویا تولید می‌شود. اصلاح این گیاه می‌تواند میزان تولید قند را به دو برابر برساند (سینگ ورائو، ۲۰۰۷).

تراکم گیاهی حدود ۴۰۰۰۰ گیاه در هر جریب برای بیشترین تولید مناسب می‌باشد. با افزایش تراکم تا ۸۳۰۰۰ و یا ۱۱۱۰۰۰ گیاه در هر هکتار برای سال اول تولید، بازده برگ‌ها افزایش می‌یابد. در کانادا تراکم ۱۰۰۰۰۰ در هر هکتار توصیه شده است. زمانی که گیاه تحت روزهای بلند رشد کند، غلظت گلیکوزیدها در برگ‌های گیاه افزایش می‌یابد. هنگامی که سنتز گلیکوزید در طی و یا قبل از گلدهی کاهش می‌یابد، روزهای بلند گلدهی را به تأخیر می‌اندازد و اجازه زمان بیشتری را برای سنتز و تجمع گلیکوزید می‌دهد. در یک گیاه کامل گلیکوزیدهای استویا تمایل دارند که در بافت‌های مسن ذخیره شوند، بنابراین برگ‌های قدیمی‌تر یا مسن پائینی گیاه شیرین‌تر از برگ‌های جوان بالای گیاه می‌باشد. از آنجایی که کلروپلاست نقش مهمی در سنتز قند ایفا می‌کند، بافت‌های که فاقد کلروفیل هستند، مثل ریشه

[1] Stevia rebaudiana bertoni

و یا ساقه‌های پائینی گیاه، حاوی مقدار کمی و یا اصلاً فاقد گلیکوزید می‌باشند. وقتی‌که گلدهی شروع می‌شود، غلظت گلیکوزیدها در برگ‌ها کم می‌شود، بنابراین برداشت باید قبل از زمان گلدهی که محتوای گلیکوزیدی در برگ‌ها بالا می‌باشد، انجام گیرد (سینگ و رائو، ۲۰۰۷).

استویا می‌تواند تا ارتفاع ۶۵ تا ۷۵ سانتی‌متر رشد کند. ارتفاع بالاتر از یک متر هم ثبت شده است. در بخش‌های گرم کشور هند، برگ‌های استویا ۴ تا ۵ بار در سال برداشت می‌شوند. در پاراگوئه و برزیل ۳ بار برداشت در سال متداول می‌باشد. در اندونزی ۶ تا ۷ بار برداشت در سال امکان‌پذیر است. در روزهای زمستان فقط یکبار برداشت انجام می‌گیرد (جئونس، ۲۰۰۳).

۱-۳- فرآوری پس از برداشت و اشکال مورد استفاده‌ی استویا

هنگامی که برگ‌های استویا برداشت می‌شوند، بلافاصله خشک می‌گردند. اگر این فرآیند توسط خورشید انجام شود ۶ تا ۸ ساعت طول می‌کشد. افزایش زمان خشک کردن محتوای استویوزید را در پودر نهایی کاهش می‌دهد. برگ‌های خشک شده با رنگ سبز مطلوب می‌باشند و نماینده‌ی یک محصول خوب هستند. در ادامه برگ‌های خشک شده، خرد می‌شوند که می‌تواند دستی و یا با استفاده از مخلوط کن صورت گیرد. ساقه‌ی گیاه استویا حاوی مقادیر خیلی کمی از شیرین‌کننده است و حاوی موادی می‌باشد که می‌تواند به‌عنوان تشدید کننده طعم در مواد غذایی و نوشیدنی‌های الکلی مورد استفاده قرار گیرد (سینگ و رائو، ۲۰۰۷).

هر کیلو کریستال استویای برزیل و پاراگوئه ۱۴۰ تا ۱۵۰ دلار به فروش می‌رسد، در حالی که چینی‌ها هر کیلو کریستال استویا را ۱۴ تا ۳۳ دلار به فروش می‌رسانند. این اختلاف قیمت شاید به خاطر تفاوت در کیفیت و خلوص باشد. البته نباید فراموش کرد که کاهش در قیمت، می‌تواند به دلیل تولید انبوه و تکنولوژی پیشرفته در فرآوری محصول نیز باشد.

۱-۳-۱- برگ‌های تازه‌ی استویا

این فرم، طبیعی‌ترین و ساده‌ترین حالت استویا و بصورت تصفیه نشده می‌باشد. برگ‌های تازه طعم ملایم شیرین بیان دارند و به‌طور مستقیم در دم نوش‌های گیاهی استفاده می‌شوند. این برگ‌ها ۱۰ تا ۱۵ برابر شکر شیرین می‌باشند.

۱-۳-۲- برگ‌های خشک شده

برای اینکه اجزای شیرین‌کننده‌ی بیشتری از برگ آزاد شود، خشک کردن و خرد کردن آن لازم است. یک برگ خشک شده شیرین‌تر از تازه می‌باشد. برگ‌های خشک شده‌ی استویا ممکن است مانند چای بسته‌بندی شوند. همچنین می‌توانند کاملا پودر شوند، که در این حالت ۱۵ تا ۳۰ برابر شیرین‌تر از شکر می‌باشند. این برگ‌ها رنگ متمایل به سبز دارند و می‌توانند در انواع مواد غذایی و نوشیدنی‌ها که شامل قهوه، شیرینی‌جات، محصولات قنادی مورد استفاده قرار گیرد. با افزودن مقدار کمی از پودر برگ استویا به داخل لیوان چای دیگر نیازی به قند معمولی نمی‌باشد و طعم مخصوص آن که شبیه طعم شیرین بیان است، می‌تواند بوسیله‌ی زنجبیل و یا دارچین پوشش داده شود (بونویس و همکاران، ۱۹۹۷).

۱-۳-۳- عصاره‌ی مایع تیره رنگ

شربت تغلیظ شده‌ای است که از حل کردن برگ‌های خشک شده در آب و الکل بدست می‌آید و برای شیرین کردن نوشابه‌ها استفاده می‌شود.

۱-۳-٤- عصاره‌ی شفاف

محلولی است که از حل کردن پودر استویوزید در آب، الکل و گلیسیرین بدست می‌آید و همانند عصاره‌ی مایع تیره رنگ برای شیرین کردن نوشابه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرید.

۱-۳-۵- پودر استویا با ٤۰ تا ۵۰ درصد گلیکوزیدهای شیرین

زمانی که برگ‌های استویا تحت فرآیند استخراج با آب و یا اتیل الکل قرار می‌گیرد و عصاره‌ی حاصل خشک می‌شود، پودر نهایی معمولا زرد کم رنگ یا کرم رنگ می‌باشد و حاوی ۴۰ تا ۵۰ درصد گلیکوزید شیرین می‌باشد و بیش از صد برابر از شکر شیرین‌تر می‌باشد و برای شیرین کردن نوشیدنی‌ها و موادغذایی استفاده می‌شود.

۱-۳-٦- پودر استویا با ۸۵ تا ۹۵ درصد گلیکوزید شیرین

فرآیند تولید همانند مورد ۵ است، اما غلظتش بیشتر بوده و شیرینی آن ۲۰۰ تا ۳۰۰ برابر شکر می‌باشد. استویا به‌طور معمول در این فرم برای شیرین کردن استفاده می‌شود. همه‌ی پودرهای استویا شبیه هم نیستند،

و طعم، شیرینی و قیمت پودرهای متفاوت استویا کاملاً به درجه‌ی پالایش، تصفیه و کیفیت گیاه استویا بستگی دارد.

۱-٤- ساختار شیمیائی و شیرینی استویا

استویا اصطلاح عمومی است که برای گیاه استویا که در مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد، به کار برده می‌شود. گلیکوزید استویول ترکیباتی هستند که به شدت شیرین‌اند و از گیاه استویا استخراج می‌شوند. استویوزید[1] و ربایودیوزاید A[2]، دو تا گلیکوزید استویول معروف و مهم‌اند که در گیاه استویا یافت می‌شوند.

استویوزید یک گلیکوزید دی‌ترپن است، که شامل یک آگلیکون (استویول)[3] و سه مولکول گلوکز می‌باشد. علاوه بر استویوزید چندین ترکیب شیرین مثل استویوبیوزید[4]، ربایودیوزایدA، ربایودیوزایدB، ربایودیوزایدC، ربایودیوزایدD ، ربایودیوزایدE، و دوالکوزیدA [5] از استویا استخراج و جداسازی شده‌اند. همه‌ی این ترکیبات، اسکلت شیمیائی (استویول) یکسانی دارند، اما در قسمت کربوهیدراتی در محل کربن‌های شماره ۱۳ و ۱۹ با یکدیگر تفاوت دارند. شکل(۱-۱) ساختار شیمیایی ربایودیوزایدA، استویوزید و استویول را نشان می‌دهد (شیباتا و همکاران، ۱۹۹۵؛ موناپراسات و چاتوسدسیپونگ[6]، ۲۰۰۹).

ترکیبات اصلی برگ استویا براساس ماده‌ی خشک، استویوزید ۱۰- ۵ درصد، ربایودیوزاید A ۲ تا ۴ درصد، ربایودیوزاید C تا ۲ درصد و دوالکوزاید A ۰/۴ تا ۰/۷ درصد گزارش شده‌است (موناپراسات و چاتوسدسیپونگ، ۲۰۰۹).

---

[1] Stevioside
[2] Rebaudioside A
[3] Steviol
[4] Steviolbioside
[5] Dulcoside A
[6] Chatusdthipong