نشریه فرآوری و نگهداری مواد غذایی
جلد هشتم، شماره دوم، ۹۵
۹۰-۶۹
http://ejfpp.gau.ac.ir

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی *استویا ربایودیانا* برتونی و بررسی این خاصیت در دسر لبنی

مونا فلاح شجاعی*[۱]، علیرضا صادقی ماهونک[۲]، مرتضی خمیری[۲] و محمد قربانی[۲]
[۱]دانش آموخته کارشناسی‌ارشد دانشکده علوم وصنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
[۲]دانشیار دانشکده علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی ومنابع طبیعی گرگان
تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۹/۰۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۹/۱۶

چکیده

سابقه و هدف: *گیاه استویا ربایودیانا برتونی* (*Stevia rebaudiana* Bertoni) گیاه بومی آمریکای جنوبی با پتانسیل زیاد به عنوان یک محصول کشاورزی برای تولید نوعی شیرین‌کننده طبیعی با قدرت بالا است. با توجه به ترکیبات شیمیایی و محتوای ترکیبات فیتوشیمیایی آن، به عنوان یک ماده خام مناسب برای استخراج و تولید غذاهای فراسودمند استفاده می‌شود. استویوزید دارای قدرت شیرین‌کنندگی قابل مقایسه با شیرین‌کننده‌های مصنوعی مورد استفاده در غذاها و نوشیدنی‌های مختلف عرضه شده در بازار می‌باشد. این ترکیب در حدود ۳۰۰ برابر شیرین‌تر از ساکاروز است. در این پژوهش جهت بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی-متانولی *استویا ربایودیانا* برتونی و اثر آنتی‌اکسیدانی آن در دسر لبنی، ترکیبات فنولی برگ گیاه *استویا ربادیونا برتونی* با استفاده از متانول به روش غرقابی استخراج گردید.

مواد و روش‌ها: 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. اثرات آنتی اکسیدانی عصاره *استویا ربایودیانا برتونی* در دسر لبنی، با آزمون‌های قدرت احیاءکنندگی یون‌های آهن ۳ ظرفیتی و مهار رادیکال‌های DPPH در روزهای اول، سوم، ششم، نهم، دوازدهم و پانزدهم مورد بررسی قرار گرفت.

*مسئول مکاتبه: mona_falahshojaee@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

یافته‌ها: میانگین کل ترکیبات فنولی گیاه استویا ربایودیانا ۱۰/۶۴ گرم تانیک اسید در ۱۰۰ گرم 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. در تمامی روش‌ها فعالیت آنتی‌اکسیدانی وابسته به غلظت عصاره بود. در آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH عصاره متانولی فعالیت بیشتری نسبت به BHT نشان داد. قدرت احیاءکنندگی و ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل BHT به‌طور معنی‌داری بیشتر از عصاره اتانولی بود. بررسی‌ها نشان داد که نمونه‌های دسر حاوی عصاره استویا در مقایسه با نمونه‌های کنترل فعالیت مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH و قدرت احیاءکنندگی بالاتری دارند. با انجام آنالیز حسی انجام شده در دسرهای حاوی درصدهای مختلف عصاره *استویا ربایودیانا* برتونی، به ترتیب دسرهای حاوی درصدهای ۰/۷۵، ۱، ۰/۲۵ (به دلیل بالا بودن پذیرش کلی) و همچنین نمونه‌های صفر درصد (نمونه شاهد) و ۱۰۰ درصد (جایگزینی کامل شکر) انتخاب گردید. اندازه‌گیری مهار رادیکال آزاد DPPH و قدرت احیاءکنندگی نشان داد که نمونه‌های حاوی مقادیر بیشتر عصاره استویا ربایودیانا برتونی فعالیت بیشتری دارند. علاوه براین دسر لبنی حاوی *استویا ربایودیانا* برتونی در طول مدت ۲ هفته نگهداری سطح بالایی از مهار رادیکال آزاد و قدرت احیاءکنندگی نشان داد که این ویژگی می‌تواند منجر به تاخیر در اتواکسیداسیون چربی و افزایش زمان انبارداری محصولات غذایی حاوی *استویا ربایودیانا برتونی* می‌شود.

نتیجه‌گیری: نتایج بدست آمده نشان داد که عصاره استویا ربادیانا از قابلیت آنتی اکسیدانی مناسبی برخوردار است، بطوری که می‌توان از این ماده، به‌عنوان یک منبع آنتی اکسیدان طبیعی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: *استویا ربایودیانا برتونی*، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، دسر لبنی.

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

استویا ربایودیانا برتونی (*Stevia rebaudiana Bertoni*) یک گیاه بوته‌ای پربرگ می‌باشد، که نخستین بار در دره ریوماندی[1] در شمال شرقی کشور پاراگوئه شناخته شده است. استویا اصطلاح عمومی است که برای گیاه *استویا ربایودیانا برتونی* که در مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد، به کار برده می‌شود. گلیکوزیدهای استویول آن ترکیباتی به شدت شیرین‌اند. استویوزید[2] و ربایودیوزاید A[3]، دو گلیکوزید استویول معروف و مهم‌اند که در گیاه استویا یافت می‌شوند.

غذاهای فراسودمند، به محصولات حاوی برخی از ترکیبات سلامتی بخش، فراتر از موادغذایی سنتی گفته می‌شود که نقش مهم آنها افزایش سلامت انسان می‌باشد. در سال‌های اخیر اثرات سودمند بسیاری از مواد غذایی و نوشیدنی‌ها روی سلامت انسان شناخته شده‌اند که از فعالیت آنتی‌اکسیدانی ماده اولیه طبیعی موجود در آنها سرچشمه می‌گیرد. گونه‌های اکسیژن فعال اشکال مختلف اکسیژن فعال شده هستند که شامل رادیکال‌های آزاد مانند هیدروکسیل و سوپرهیدروکسیل‌ها می‌باشند. این ترکیبات به‌عنوان عوامل ایجاد انواعی از بیماری‌ها مانند پیری، سرطان، اختلالات قلبی وعروقی و دیابت شناخته شده است و نیز باعث تخریب کیفیت موادغذایی در طول ذخیره سازی می‌گردند. پیشنهاد شده است که مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی ممکن است اثرات مضر فرآیندهای اکسیداتیو را در موجودات زنده بهبود بخشد (۱۳). نشان داده شده که مصرف غذاهای عملگرا (فراسودند) به عنوان یک عادت غذایی مناسب با اثراتی مانند مهار رادیکال‌های آزاد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی موجب بهبود سلامت افراد می‌شود (۲۲). بنابراین، افزودن اجزای آنتی‌اکسیدانی به غذاهای مختلف درسال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است. بندیوپادهیای[4] و همکاران (۲۰۰۸) به بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی منابع گیاهی طبیعی در دسر لبنی (ساندش[5]) تحت فرآیند حرارتی پرداختند. سان و همکاران (۲۰۰۵) به بررسی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی دسر کاستارد حاوی، D- پسیکوز[6] پرداختند. حمزه‌لویی و همکاران (۱۳۸۷) به بررسی اثرجایگزینی شیرین‌کننده‌های استویا به جای شکر براندیس پراکسید چربی بیسکویت پرداختند. جایگزینی شیرین‌کننده‌های استخراج شده از استویا به جای شکر در

1. Riomonday
2. Stevioside
3. Rebaudioside A
4. Bandyopadhyay
5. Sandash
6. Psicose

Archive of SID

www.SID.ir

فرمولاسیون بیسکویت، علاوه بر این که موجب ایجاد طعم شیرین و خوشایندی در این محصول شد، از طریق کاهش اندیس پراکسید چربی استخراجی نیز موجب بهبود کیفیت و افزایش عمر ماندگاری محصول گردید.

مواد و روش‌ها

گیاه *استویا ربایودیانا برتونی* مورد استفاده از شرکت گلساران شمال تهیه گردید. برگ‌های خشک تهیه شده در بسته‌های غیرقابل نفوذ به اکسیژن در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگه‌داری شد. صمغ کاراگینان از شرکت دانش صنعت پژوهش خزر و نشاسته تاپیوکا از شرکت تهران ترگل پارس خریداری شد.

استخراج عصاره: استخراج نمونه به روش غرقابی انجام شد. در این روش ۶ گرم نمونه را در ۲۰۰ میلی‌لیتر از محلول متانول: آب (۲۰:۸۰) ریخته و به مدت ۱۳ ساعت در آون شیکردار با دمای ۲۶-۳۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. بعد از ۱۳ ساعت عصاره با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ جدا شد و حلال به وسیله تبخیرکننده چرخان (مدل لابوراتا ۴۰۰۰، ساخت کمپانی‌هایدولف) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و در نهایت عصاره توسط خشک‌کن انجمادی (اوپران- اف.دی.بی ۵۵۰ ساخت کره جنوبی) در دمای ۵۰- درجه سانتیگراد به پودر تبدیل شد و تا زمان استفاده در ظروف غیر قابل نفوذ به هوا در فریزر ۱۸- درجه سانتیگراد قرار گرفت. تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش با درجه خلوص بالا و از شرکت‌های مرک و سیگما تهیه شدند (۹).

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره

اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنولی: میزان ترکیبات فنولی موجود در عصاره به روش فولین- سیوکالتو اندازه‌گیری شد (۲۶). این روش رنگ سنجی بر اساس احیاء کمپلکس فسفوتنگستات-فسفومولیبدات در شرایط قلیایی توسط ترکیبات فنولی به محصولات آبی رنگ است. بر طبق این روش، به‌طور خلاصه ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره (۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با ۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو (رقیق شده با آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۰) و ۴ میلی‌لیتر کربنات سدیم (۷/۵ درصد) مخلوط شد و به مدت ۱۵ ثانیه هم زده شد. بعد از ۳۰ دقیقه نگه‌داری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد (جهت توسعه رنگ)، جذب نوری آن توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. مقادیر فنل تام در

Archive of SID

www.SID.ir

نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره بیان گردید.

ارزیابی مهار رادیکال‌های آزاد: میزان مهار رادیکال‌های دی پی پی اچ (DPPH)، با روش گوپتا و همکاران (۲۰۰۳) مورد ارزیابی قرار گرفت (۵). برای این منظور، محلول‌های عصاره متانولی استویا با غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و نیز آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHT در حلال متانول (غلظت‌های ۱۲/۵–۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تهیه شد. روش آزمایش به این صورت بود که ۱ میلی‌لیتر از محلول متانولی DPPH (با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار) به ۳ میلی‌لیتر از عصاره افزوده و مخلوط حاصله به شدت هم‌زده شد. لوله‌های آزمایش به‌مدت ۳۰ دقیقه در محل تاریک قرار گرفتند. بعد از این مدت میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. نمونه کنترل همان محلول متانولی DPPH استفاده شد. در نهایت مهار رادیکال‌های DPPH توسط عصاره با فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{مهار رادیکال‌های آزاد DPPH} = \frac{(\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل})}{\text{جذب کنترل}} \times 100 \qquad \text{معادله ۱}$$

آزمون قدرت احیا کنندگی: آزمون قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها بر طبق روش اویازو (۱۹۸۶) انجام شد (۱۸). برای این منظور، محلول‌هایی با غلظت ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۵۰۰ میکروگرم به میلی‌لیتر از عصاره مربوطه و نیز BHT تهیه گردید. ۱ میلی‌لیتر از نمونه‌های با غلظت‌های متفاوت با ۲/۵ ملی‌لیتر محلول بافر فسفات و ۲/۵ میلی‌لیتر از پتاسیم فری سیانید ۱٪ مخلوط شد. مخلوط حاصل به‌مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس به آن ۲/۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (۱۰ درصد) اضافه و مخلوط گردید و سپس نمونه‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند. سپس به ۲/۵ میلی‌لیتر از سوپرناتانت ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر کلرید آهن (III) اضافه کرده و جذب نمونه در ۷۰۰ نانومتر قرائت گردید.

ظرفیت آنتی اکسیدانی کل[1]: برای اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌ها از روش پرایتو و همکاران (۱۹۹۹) استفاده شد (۲۰). ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول عصاره و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHT با غلظت‌های مختلف (۵۰–۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) با ۱ میلی‌لیتر از معرف (اسید سولفوریک

1. Total antioxidant capacity

Archive of SID

www.SID.ir

۰/۶ مولار، فسفات سدیم ۲۸ میلی‌مولار و آمونیوم مولبیدات ۴ میلی‌مولار) در لوله آزمایش مخلوط شد و مدت ۱/۵ ساعت در حمام آب با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از سرد کردن، جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۹۵ نانومتر قرائت گردید. در نمونه شاهد به‌جای عصاره از ۰/۱ میلی‌لیتر متانول استفاده شد. نحوه آماده‌سازی معرف به این صورت بود که پس از آماده‌سازی محلول اسید سولفوریک ۰/۶ مولار، مقادیر محاسبه شده از فسفات سدیم و آمونیوم مولبیدات برای رسیدن به غلظت مورد نظر در ۱ لیتر معرف به صورت جداگانه در اسید سولفوریک حل شدند. سپس دو محلول با هم ادغام و مخلوط حاصله با باقی‌مانده اسید سولفوریک به حجم ۱ لیتر رسانده شد.

تهیه دسر لبنی

مراحل آماده سازی دسر لبنی: برای تهیه دسر لبنی از شیر (با درصد چربی ۳٪)، خامه (درصد چربی ۲۵٪)، شکر تجاری، کاپا- کاراگینان، نشاسته تاپیوکا و عصاره استویا استفاده شد. جهت تهیه ۹۰۰ گرم دسر میزان ۷۵۶ گرم شیر ۳ درصد چربی را همراه با ۴۵ گرم خامه مخلوط کرده و در یک حمام آب گرم قرار داده تا دمای آن به ۴۰ درجه سانتی‌گراد رسید. مخلوط مواد خشک شامل ۲۷ گرم صمغ، ۳۶ گرم نشاسته، مقادیر تعیین شده از شکر و استویا (تیمار T_1 فاقد استویا، T_2 ۰/۱۳۵ گرم استویا و معادل ۰/۲۵ درصد، T_3 ۰/۴۰۵ گرم استویا معادل ۰/۷۵ درصد، T_4 ۰/۵۴ گرم معادل ۱ درصد و T_5 ۰/۷۲ گرم معادل جایگزینی کامل استویا با شکر) به آرامی به آن افزوده شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد جهت آبگیری ذرات جامد قرار داده شد. در این مدت مخلوط به‌طور مستمر و به آرامی هم زده شد. سپس دمای حمام آب تا ۹۵ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت تا دمای دسر به ۹۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یابد و سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه در این دما باقی ماند. در طول حرارت‌دهی عمل هم زدن به طور مستمر انجام شد. بعد از این بازه‌ی زمانی دسر در یک فلاسک سرد کننده قرار داده شد تا به دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برسد در این مدت عمل هم زدن ادامه یافت. سپس محصول در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت پانزده روز نگه‌داری شد (۲۴).

آماده سازی عصاره اتانولی دسر: به ۱۰ گرم از نمونه دسر لبنی ۲۰ میلی‌لیتر اتانول اضافه کرده به کاملا مخلوط گردید. نمونه‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند و در نهایت عصاره اتانولی دسر از سوپرناتانت بدست آمد. آزمون‌های فعالیت آنتی‌اکسیدانی در روزهای اول، سوم، ششم، نهم، دوازدهم و پانزدهم مورد بررسی قرار گرفت (۲۹).

Archive of SID

www.SID.ir

ارزیابی حسی: ارزیابی برخی ویژگی‌های حسی نمونه‌ها (شامل رنگ، عطر و طعم، شیرینی و پذیرش کلی) در چهار چوب آزمون هدونیک پنج طبقه‌ای (۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ معادل خیلی بد، بد، متوسط، خوب و خیلی خوب) توسط ۲۰ ارزیاب (۱۰ ارزیاب مرد و ۱۰ ارزیاب زن در محدوده سنی ۲۴-۳۳) ارزیابی شد. نمونه‌ها یک روز پس از آماده‌سازی و نگه‌داری در دمای ۱± ۴ درجه سانتی‌گراد و در ظروف در بسته با کدهای T_1، T_2، T_3، T_4، T_5، T_6، T_7 و T_8 در اختیار ارزیاب‌ها قرار گرفتند (۲و۱۹).

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی دسر

اندازه‌گیری میزان مهار رادیکال آزاد DPPH: روش آزمایش به این صورت بود که ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول متانولی DPPH (با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار) به ۲ میلی‌لیتر از عصاره اتانولی دسر لبنی افزوده و سپس آزمون مطابق روش شیمادا و همکاران (۱۹۹۲) که قبلا ذکر گردید، انجام گرفت.

قدرت احیاء کنندگی: ۱ میلی‌لیتر از عصاره اتانولی دسر لبنی با ۲/۵ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات و ۲/۵ میلی‌لیتر از پتاسیم فری سیانید ۱ درصد مخلوط شد. سپس آزمون مطابق روش یلدریم و همکاران (۲۰۰۱) که قبلا ذکر گردید، انجام گرفت.

آنالیز آماری: تجزیه تحلیل نتایج بدست آمده در آزمون‌های مربوط به ترکیبات فنولی کل، مهار رادیکال‌های آزاد، قدرت احیاءکنندگی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در عصاره متانولی و بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها در دسر لبنی مقایسه‌ی بین تیمارهای مختلف در طی زمان و اثر متقابل آنها با استفاده از روش اندازه گیری‌های تکرار شده در زمان در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و رسم گراف‌ها با نرم افزار اکسل انجام گرفت. کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد.

بحث و نتایج

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها

مقدار کل ترکیبات فنولی: معادله خط رگرسیونی که رابطه غلظت محلول‌های تانیک اسید با میزان جذب نمونه در طول موج ۷۶۰ نانومتر را نشان می‌دهد، به صورت زیر می‌باشد:

Archive of SID

www.SID.ir

$Y= ۰/۲۲۷۸X + ۰/۰۶۸۷$ $R^2=۰/ ۹۹۱۴$

میانگین کل ترکیبات فنولی گیاه استویا ۱۰/۶۴ گرم تانیک اسید در ۱۰۰ گرم استویا به‌دست آمد. شوکلا و همکاران (۲۰۰۹) مقدار فنول در عصاره اتانولی برگ استویا را، ۶/۱۵ گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم عصاره اتانولی برگ استویا گزارش کردند. مقدار ترکیبات فنولی گیاهانی مانند بارهنگ، زنیان، خاکشیر، شنبلیله، گشنیز به‌ترتیب ۱۵/۴۳۳، ۹/۷۶، ۹/۴، ۷/۴، ۴/۷۳ (۱۴) و میزان ترکیبات فنولی عصاره متانولی برگ‌های زیتون معادل ۱/۱۷–۴/۰۱ گرم اسید تانیک در ۱۰۰ گرم برگ خشک گزارش شده است (۲۷). نبوی و همکاران (۱۳۸۷) محتوای تام فنلی برای عصاره متانولی برگ و پوست شاخه درخت لرگ[1] را به‌ترتیب ۸/۵۹۳ و ۱/۷۷۸ میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم پودر عصاره گزارش نمودند.

ترکیبات فنلی ممکن است به طور مستقیم دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی باشند (۳). مشخص شده است که مصرف روزانه ۱ گرم از یک رژیم غذایی غنی از میوه‌ها و سبزیجات که حاوی ترکیبات پلی فنلی است دارای اثرات بازدارنده بر جهش‌زایی و سرطان‌زایی در انسان می‌باشد (۳۰). ترکیبات فنلی گیاهان به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی خوب شناخته شده‌اند. با این حال، مشاهده شده است که فعالیت آنتی‌اکسیدان مصنوعی اغلب بالاتر از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی است (۱۷). ترکیبات فنلی، در غلظت‌های خاص، به‌طور قابل توجهی میزان تشکیل دی انهای کونژوگه را کاهش می‌دهد. اهمیت ترکیبات فنولی در صنعت موادغذایی در حال افزایش است زیرا ترکیبات فنلی موجب تأخیر تخریب اکسیداتیو چربی و در نتیجه بهبود کیفیت و ارزش تغذیه‌ای مواد غذایی می‌گردند (۱).

معرف فولین سیوکالتو به‌صورت غیراختصاصی با ترکیبات فنولی واکنش می‌دهد. علاوه براین به جز ترکیبات فنولی، سایر ترکیبات موجود در عصاره نظیر قندها، آمینواسیدها، ویتامین‌ها، اسیدهای آلی، آمین‌های آروماتیک و ویتامین‌ها نیز قادر به احیاء این معرف می‌باشند (۱۵). از آنجایی که ماهیت شیمیایی عصاره‌های گیاهی بسیاری پیچیده بوده و از ترکیبات مختلف با قطبیت و عملکردهای متفاوت تشکیل شده است، ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی تنها با یک روش نتایج پراکنده‌ای را ارائه می‌دهد. بنابراین استفاده از چند روش مختلف به صورت همزمان می‌تواند اطلاعات بیشتر و دقیق‌تری را در این زمینه فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی فراهم نماید.

ارزیابی مهار رادیکال‌های آزاد: اندازه‌گیری میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH یکی از روش‌های معتبر، دقیق، آسان و مقرون به صرفه با قابلیت تکرارپذیری بالا می‌باشد که در بررسی فعالیت

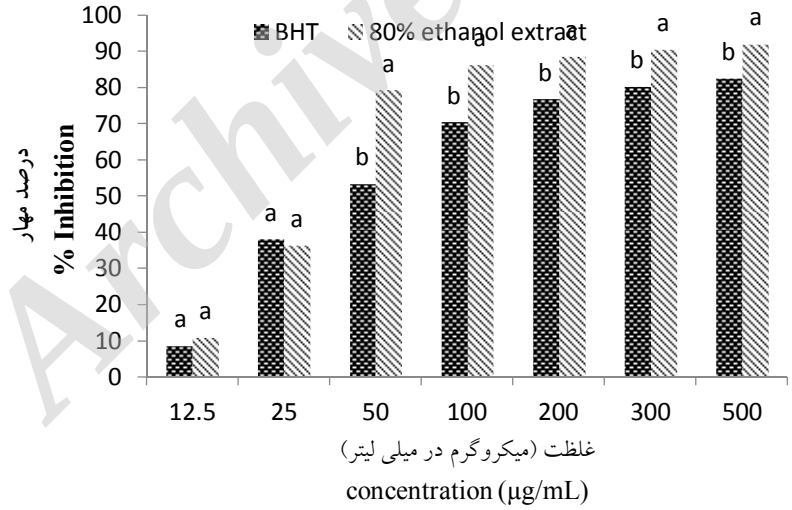
1. *Pterocarya fraxinifolia* (Lam.) Spach

Archive of SID

www.SID.ir

آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی در شرایط آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد. مدل به دام‌اندازی رادیکال پایدار DPPH به‌طور گسترده برای ارزیابی توانایی به دام‌اندازی رادیکال آزاد در نمونه‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. DPPH یکی از رادیکال‌های هیدروفیل آزاد و پایدار با رنگ بنفش تیره بوده که حداکثر جذب آن در محدوده ۵۱۵ تا ۵۱۷ نانومتر است. هنگام دریافت الکترون از ترکیبات احیاءکننده نظیر فنول‌ها، این رادیکال به فرم هیدرازین بی‌رنگ تبدیل می‌شود که این تغییر ساختاری با کاهش میزان جذب همراه است (۳۳). ترکیب‌هایی که قابلیت انجام این عمل را دارند به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان مطرح می‌شوند. مهار رادیکال‌های آزاد یکی از شناخته شده‌ترین مکانیسم‌هایی است که به واسطه آن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌توانند اکسیداسیون چربی‌ها را مهار نمایند. در این روش نتایج بر حسب درصد کاهش در میزان جذب محلول‌های DPPH در حضور عصاره نسبت به محلول DPPH فاقد عصاره بیان می‌گردد (۴).

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که غلظت عصاره‌ها و آنتی‌اکسیدان سنتزی تاثیر معنی‌داری بر میزان مهار رادیکال‌های آزاد دارد. همچنین نتایج حاکی از آن بود که توانایی عصاره‌ها در مهار رادیکال‌های آزاد وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت فعالیت ضد رادیکالی افزایش می‌یابد.



شکل ۱- درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط غلظت‌های مختلف عصاره آبی-الکلی گیاه *استویا* و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT.

Figure 1. DPPH free radical scavenging activities of different concentrations of hydro-alcoholic extract of stevia and synthetic antioxidant BHT.

Archive of SID

www.SID.ir

توانایی عصاره متانولی در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در شکل ۱ نشان داده شده است. در محدوده غلظت‌های ۵۰-۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، عصاره قدرت مهارکنندگی بیشتری نسبت به BHT داشت. به استثنای غلظت‌های ۱۲/۵ و ۲۵ اختلاف معنی‌داری بین فعالیت ضدرادیکالی BHT و عصاره آبی-الکلی گیاه استویا وجود نداشت. این نتایج نشان می‌دهد یک غلظت بحرانی از ترکیبات فنولی برای مهار رادیکال‌های آزاد کافی است. احتمالاً در غلظت‌های بالاتر به‌دلیل پیدایش نوعی حالت اشباع‌شدگی، افزایش غلظت تاثیر معنی‌داری روی میزان مهار رادیکال آزاد ندارد.

در کل افزایش غلظت ترکیبات فنولی به‌طور مستقیم میزان توانایی عصاره‌های مختلف را در مهار رادیکال‌های آزاد افزایش می‌دهد. در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنولی به‌دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به‌دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد (۲۳). قدرت مهار عصاره‌های مختلف به میزان زیادی به تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل و وزن مولکولی ترکیبات فنلی بستگی دارد. در ترکیبات فنولی با وزن مولکولی پایین‌تر گروه‌های هیدروکسیل راحت‌تر در دسترس قرار می‌گیرند. علاوه براین ترکیبات فنولی پس از اهداء هیدروژن خود به رادیکال‌های آزاد فنوکسیل تبدیل می‌شوند. میزان ثبات این رادیکال‌ها می‌تواند ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی را تحت تاثیر قرار دهد چرا که رادیکال‌های فنوکسیل با ثبات کمتر با رادیکال‌های DPPH در جذب اتم‌های هیدروژن وارد رقابت می‌شوند و بنابراین درصد به دام اندازی رادیکال‌های DPPH کاهش می‌یابد (۱۰).

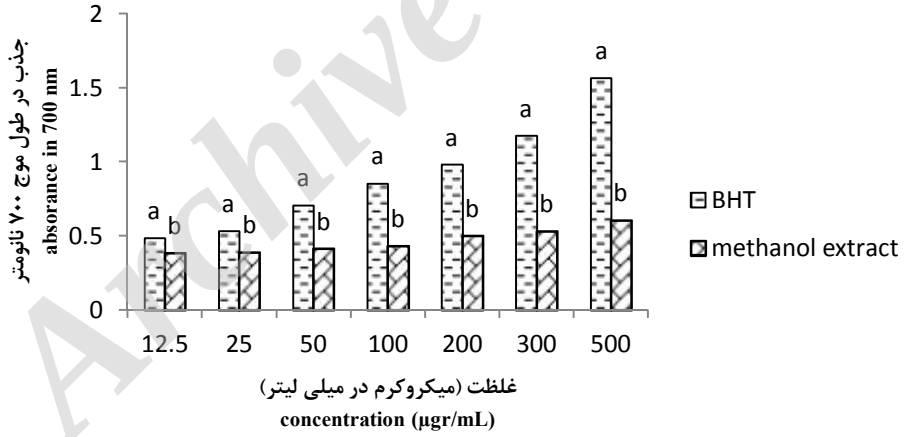
شوکلا و همکاران (۲۰۰۹) اثر مهارکنندگی رادیکال DPPH عصاره اتانولی برگ استویا (ELES) و اسید اسکوربیک را باهم مقایسه کردند. ELES اثر مهارکنندگی رادیکال DPPH قابل توجهی را با افزایش غلظت در محدوده ۲۰-۲۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر در مقایسه با اسید اسکوربیک نشان داد، اما این اثر مهارکنندگی در ELES کمتر بود. مهار کنندگی در غلظت ۲۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر از ELES و اسید اسکوربیک به‌ترتیب ۶۸/۷۶ و ۸۲/۵۸ درصد و مقدار IC_{50} به‌ترتیب ۹۳/۴۶ و ۲۶/۷۵ میکروگرم/ میلی‌لیتر برای ELES و اسید اسکوربیک بود. فعالیت بالاتر رادیکال DPPH با IC_{50} کمتر در ارتباط است. شوکلا و همکاران (۲۰۱۱) اثر مهارکنندگی رادیکال DPPH عصاره آبی برگ استویا و اسید اسکوربیک را مقایسه کردند. عصاره آبی برگ اثر مهار رادیکال‌های آزاد DPPH قابل توجهی را با افزایش غلظت در محدوده ۲۰-۲۰۰ میکروگرم / میلی‌لیتر در مقایسه با اسید اسکوربیک نشان دادند.

Archive of SID

www.SID.ir

معمولاً برای مقایسه فعالیت ضدرادیکالی عصاره‌های مختلف از فاکتوری تحت عنوان EC_{50} استفاده می‌گردد. طبق تعریف EC_{50} به غلظتی از عصاره اطلاق می‌گردد که در آن ۵۰٪ از رادیکال‌های آزاد DPPH موجود در محیط واکنش مهار شوند. بنابراین هرچه این غلظت کمتر باشد نشان‌دهنده فعالیت آنتی‌رادیکالی بالاتر است (۲۱). در این بررسی EC_{50} برای عصاره و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT به‌ترتیب ۴۰/۵۴۹۵ و ۳۶/۹۵۶۵ بدست آمد. عصاره حاصل دارای EC_{50} بیشتری نسبت به BHT می‌باشد که نشان از فعالیت ضدرادیکالی بیشتر BHT نسبت به عصاره است.

ارزیابی قدرت احیاءکنندگی: در این روش توانائی عصاره‌ها برای احیاء آهن سه ظرفیتی و تبدیل آن به آهن دو ظرفیتی سنجیده می‌شود. حضور عوامل احیاءکننده (آنتی‌اکسیدان‌ها) منجر به احیاء کمپلکس‌های فری سیانید و تبدیل آن‌ها به فرم فروس می‌گردد که بسته به ظرفیت احیاءکنندگی عصاره‌های مورد بررسی با تغییر رنگ محلول از زرد به درجات مختلفی از رنگ‌های سبز و آبی همراه است (۲۸) . نتایج آنالیز واریانس حاکی از آن بود که غلظت‌های مختلف عصاره از نظر قدرت احیاءکنندگی اختلاف معنی‌داری ($P>0/05$) با یکدیگر و با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی دارند. همچنین با افزایش غلظت میزان جذب محلول‌های حاوی عصاره به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت.



شکل ۲- قدرت احیاءکنندگی غلظت‌های مختلف عصاره متانولی استویا و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT.

Figure 2. Reducing power of various concentrations of methanolic extract of stevia and synthetic antioxidant BHT.

Archive of SID

www.SID.ir

شکل ۲ مقایسه میانگین میزان جذب غلظت‌های مختلف عصاره متانولی استویا و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد در تمامی غلظت‌های مورد بررسی (۵۰۰-۱۲/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر) آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT دارای قدرت احیاءکنندگی بیشتری می‌باشد و اختلاف معنی‌داری نیز بین قدرت احیاءکنندگی عصاره و BHT در غلظت‌های مختلف وجود دارد.

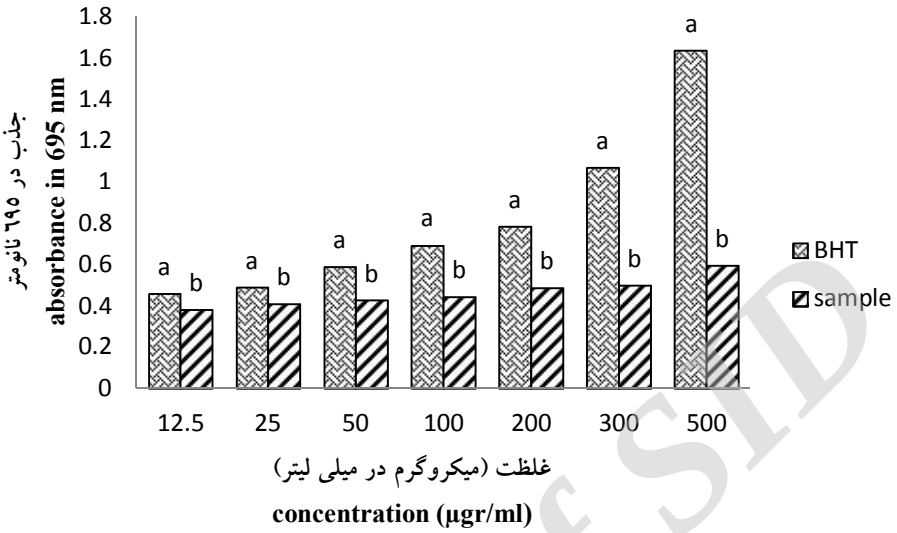
به‌منظور مقایسه بهتر قدرت احیاءکنندگی مقادیر EC_{50} برای عصاره و BHT تعیین و با یکدیگر مقایسه شد. در این روش، غلظتی از عصاره که در طول موج ۷۰۰ نانومتر جذبی معادل ۰/۵ دارد، تحت عنوان EC_{50} نامیده می‌شود. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین مقادیر EC_{50} عصاره‌ها در سطح احتمال ۵ درصد وجود دارد. میزان EC_{50} عصاره و BHT به‌ترتیب ۲۴۱/۶۱ و ۵۸/۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر می‌باشد، که در نتیجه می‌توان بیان کرد که عصاره قادر به رقابت با BHT نمی‌باشد.

ویژگی احیاءکنندگی با حضور ترکیبات اهداءکننده‌ی الکترون همراه است. به عبارتی با افزایش میزان ترکیبات فنولی موجود در عصاره، قدرت احیاءکنندگی آن افزایش می‌یابد در نتیجه عصاره قادر خواهد بود با اهداء الکترون یا اتم‌های هیدروژن واکنش‌های زنجیری تشکیل رادیکال‌های آزاد را شکسته و اکسیداسیون چربی را به تاخیر بیاندازد. واکنش ترکیبات احیاءکننده با پیش‌سازهای پراکسید نیز یکی دیگر از مکانیسم‌هایی که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و احیاءکننده از تشکیل پراکسید در روغن‌ها و چربی‌ها جلوگیری می‌کنند (۱۱).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل: اساس این کار در این روش احیاء مولیبدن ۶ ظرفیتی به مولیبدن ۵ ظرفیتی در محیط اسیدی و دمای بالا است. این واکنش با تشکیل کمپلکس‌های سبز رنگ فسفو مولیبدن همراه بوده که در طول موج ۶۹۵ نانومتر دارای حداکثر میزان جذب می باشد. این کمپلکس‌ها بسیار پایدار بوده و با حلال مورد استفاده جهت استخراج ترکیبات فنولی تحت تاثیر قرار نمی‌گیرد. عصاره‌هایی که شدت جذب بالاتری در این طول موج دارند، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری از خود نشان می‌دهند (۲۰). نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره متانولی و BHT در سطح احتمال ۵ درصد وجود دارد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره متانولی استویا و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT (شکل ۳) نشان داده که با افزایش غلظت عصاره ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۳- ظرفیت آنتی اکسیدانی غلظت‌های مختلف عصاره متانولی و آنتی اکسیدان سنتزی BHT.

Figure 3. The antioxidant capacity of different concentrations of methanolic extract and synthetic antioxidant BHT.

همانطور که در شکل مشاهده می‌شود اختلاف معنی‌داری در ظرفیت آنتی اکسیدانی کل عصاره متانولی با BHT وجود دارد. بین غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر عصاره اختلاف معنی داری مشاهده نشد. در غلظت‌های پایین اختلاف بین عصاره و BHT کم و با افزایش غلظت اختلاف بین آنها افزایش یافت.

در این روش نیز مقادیر EC_{50} برای عصاره و BHT محاسبه و با یکدیگر مقایسه گردید. منظور از EC_{50} در این روش غلظتی (بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر) از عصاره است که در طول موج ۶۹۵ نانومتر جذبی معادل ۰/۵ دارد. در این روش نیز عصاره‌ای که کمترین میزان EC_{50} را داشت بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را دارا بود. مقادیر EC_{50} عصاره و BHT به‌ترتیب ۲۶۸ و ۳۳/۴۳۵ میکروگرم در میلی‌لیتر بود که دارای اختلاف معنی‌داری با هم بودند.

آنالیز حسی: نتیجه ارزیابی حسی نمونه‌های حاوی استویا در جدول ۱ نشان داده شده است. آنالیز آماری داده‌های حاصل از پرسش نامه‌های تکمیل شده توسط ارزیاب‌ها، نشان داد که نمونه‌ها از نظر رنگ اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. نمونه‌های T_2، T_3 و T_4 از نظر عطر و طعم دارای اختلاف

Archive of SID

www.SID.ir

معنی‌داری با نمونه‌های شاهد (T_1) ، T_5، T_6، T_7 و T_8 بودند. نمونه‌های T_3 و T_4 دارای اختلاف معنی‌داری از نظر شیرینی با نمونه شاهد بودند. نمونه‌های حاوی استویا (T_2، T_3، T_4، T_5، T_6، T_7 و T_8) از نظر سفتی بافت نسبت به نمونه شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بوده و دارای بافت سفت تری بودند. ارزیابی معیار پذیرش کلی نمونه‌ها نشان می‌دهد که نمونه حاوی ۰/۲۵ درصد استویا (T_2)، نمونه حاوی ۰/۷۵ درصد استویا (T_3)، نمونه حاوی ۱ درصد استویا (T_4) نسبت به سایر نمونه‌ها ترجیح داده شد، بنابراین از سطوح ۰/۲۵، ۰/۷۵، ۱ درصد و نیز جایگزین کامل در آزمون‌های آنتی اکسیدانی استفاده شد. یوپ و همکاران (۱۹۹۹) به بررسی فرمولاسیون و ارزیابی دسر لبنی حاوی ترکیبات شیرین‌کننده با استفاده از روش پاسخ پرداختند و نتیجه گرفتند که محصولات با بالاترین پذیرش، نمونه‌های حاوی مخلوط شیرین‌کننده‌هایی با پروفیل شیرینی شبیه به شیرینی ساکارز هستند که ویژگی‌های دیگر مانند عطر و طعم و ویژگی‌های منحصر بفرد این شیرین‌کننده‌ها زمانی که به صورت مخلوط استفاده شدند، کاهش یافت (۸).

جدول ۱: مقایسه امتیازهای مربوط به قابلیت پذیرش نمونه‌های دسر

Table 1. Comparison among the scores for acceptance of dessert samples

پذیرش کلی general acceptance	بافت texture	شیرینی sweetness	عطر و طعم Flavor	رنگ colour	تیمار treatment
3.9±0.994 ^{ab}	2.6±1.173 ^{c}	2.6±0.51 ^{c}	3.9±0.994^{b}	4.7±0.483^{a}	T_1 (blank)
4.1±0.875^{a}	2.9±0.875 ^{b}	3.4±0.699 ^{b}	4.1±0.738^{a}	4.5±0.527^{a}	T_2 (% 0.25)
4.2±0.875 ^{ab}	3.7±0.875 ^{b}	4±0.666 ^{ab}	4.4±0.788^{a}	4.6±0.516^{a}	T_3 (% 0.75)
4.2±0.788 ^{ab}	3.7±0.948 ^{b}	4.7±0.483 ^{a}	4.2±0.632^{ab}	4.5±0.516^{a}	T_4 (% 1)
3.6±0.516 ^{bc}	3.5±0.527 ^{bc}	4.6±0.516 ^{a}	3.2±0.632^{c}	3.8±0.516^{b}	T_5 (% 2)
2.6±0.516 ^{c}	3.5±0.527 ^{b}	4.8±0.421 ^{a}	3.3±0.483 ^{b}	3.7±0.483^{b}	T_6 (% 3)
1.8±0.632 ^{c}	3.4±0.516 ^{b}	4.8±0.421 ^{a}	2.4±0.516 ^{c}	3.7±0.483^{b}	T_7 (% 4)
3.2±0.816 ^{b}	3.5±0.972 ^{b}	1.9±0.738 ^{c}	3±0.919 ^{b}	4.5±0.527 ^{a}	T_8 (% 100)

پذیرش یا مقیاس هدونیک: ۱= خیلی بد، ۲= بد، ۳= متوسط، ۴= خوب، ۵= خیلی خوب (۲ و ۱۹)

Acceptance or hedonic scale: 1 = very poor, 2 = poor, 3 = moderate, 4 = good, 5 = very good (2 & 19)

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دسر لبنی: در تمامی ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دسر لبنی، جهت رسم بهتر نمودارها و جداول و نیز بررسی بهتر نتایج از علایم اختصاری زیر استفاده شده است:

T1: دسر لبنی شاهد و فاقد عصاره استویا

T2: دسر لبنی حاوی ۰/۲۵ درصد عصاره استویا

Archive of SID

www.SID.ir

T3: دسر لبنی حاوی ۰/۷۵ درصد عصاره استویا

T4: دسر لبنی حاوی ۱ درصد عصاره استویا

T5: دسر لبنی حاوی عصاره استویا به عنوان جایگزین کامل شکر

T6: دسر لبنی حاوی ۱۰۰ پی پی ام BHT

T7: دسر لبنی حاوی ۲۰۰ پی پی ام BHT

اندازه‌گیری درصد مهار رادیکال آزاد DPPH: رادیکال‌های آزاد به عنوان عوامل مهم در توسعه سرطان و بیماری‌های قلبی و عروقی در نظرگرفته می‌شوند (۱۲). استرس اکسایشی ممکن است منجر به واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد و ایجاد تغییرات زیان‌بار در غشاءها، پروتئین‌ها و DNA - شود. بیماری‌های وابسته به سن با استرس اکسایشی در ارتباط است، اگرچه مکانیسم دقیق آن هنوز نامشخص است. همچنین، رابطه مهمی بین پیشگیری از سرطان و خواص آنتی‌اکسیدانی مواد غذایی وجود دارد (۳۱). این رابطه منجر به علاقه محققین در ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بسیاری از مکمل‌های غذایی و محصولات غذایی شده است. نتایج و آنالیز واریانس نشان داد اثر تیمار، زمان و اثر متقابل تیمار در زمان بر درصد مهار رادیکال آزاد DPPH نمونه‌ها در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار است. مقایسه میانگین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH تیمارهای مختلف در روزهای اول، سوم، ششم، نهم، دوازدهم و پانزدهم در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲: مهار رادیکال آزاد DPPH تیمارهای مختلف طی ۱۵ روز نگه‌داری در دمای ۵°C

Table 2. DPPH radical scavenging of different treatments within 15 days of storage at 5°C

روز day						تیمار treatment
15	12	9	6	3	1	
62.7^{g}	53.51^{g}	47.27^{g}	22.7^{g}	23.37^{e}	20.7^{f}	T_1
65.96^{f}	63.07^{f}	56.53^{f}	43.8^{f}	24.77^{d}	22.3^{e}	T_2
74.9^{e}	65.85^{e}	69.13^{e}	50.1^{e}	29.6^{c}	23.4^{c}	T_3
79^{d}	66.13^{d}	72.43^{d}	61.4^{d}	33.8^{b}	24.07^{b}	T_4
79.43^{c}	78.3^{c}	73.03^{c}	63.33^{c}	34.4^{a}	26.37^{a}	T_5
82^{b}	78.83^{b}	78.6^{b}	67.5^{b}	18.73^{g}	16.57^{g}	T_6
86.35^{a}	83^{a}	81^{a}	79^{a}	19.57^{f}	22.53^{d}	T_7

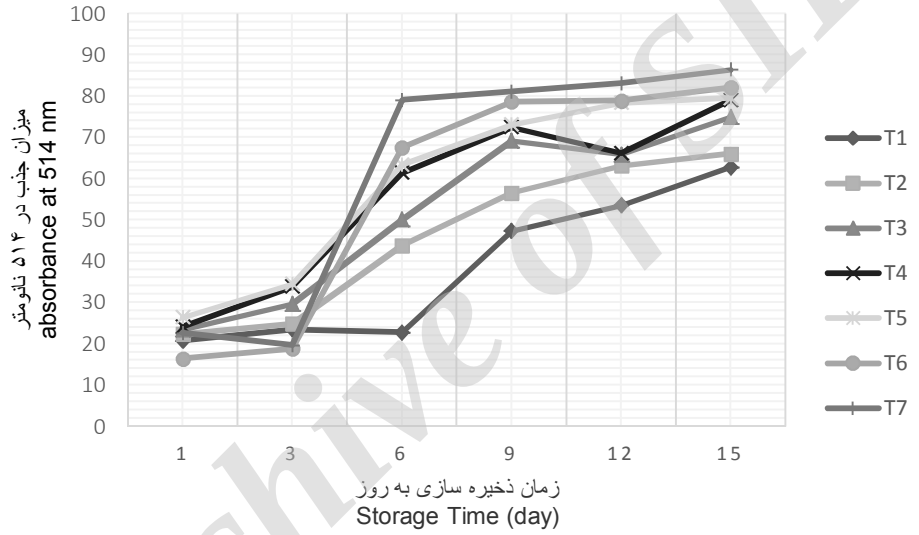
حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد است.

Dissimilar letters in each column show significant differences in the confidence level of 95% ($p<0.05$).

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف بر توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH دسر در روزهای مختلف در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بوده است. در روزهای اول و سوم بیشترین قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد مربوط به نمونه T_5 بود. در روزهای نهم، دوازدهم و پانزدهم نمونه‌های T_7، T_6 و T_5 بیشترین میزان مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH دارا بودند. کمترین میزان مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH در روزهای اول و سوم مربوط به تیمار T_6 و در روزهای نهم، دوازدهم و پانزدهم کمترین میزان مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH مربوط به نمونه شاهد بود.



شکل ٤ – میانگین درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در دسر لبنی در طول دوره نگهداری.

Figure 4. The mean of DPPH free radical inhibition in dairy desserts during storage.

قدرت احیاء کنندگی: تاناکا و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌طورکلی به موازات قدرت احیاءکنندگی می‌باشد (۳۰). در این پژوهش پتانسیل آنتی‌اکسیدانی دسر لبنی، از طریق قدرت احیاءکنندگی مورد بررسی قرارگرفت. قدرت احیاءکنندگی عصاره و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT طی ۱۵ روز نگه‌داری دسر در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری و با یکدیگر مقایسه گردید. نتایج وآنالیز واریانس نشان داد اثر تیمار، زمان و اثر متقابل تیمار در زمان بر میزان قدرت احیاءکنندگی

Archive of SID

www.SID.ir

نمونه‌ها در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار است. مقایسه میانگین قدرت احیاءکنندگی تیمارهای مختلف در روزهای اول، سوم، ششم، نهم، دوازدهم و پانزدهم در جدول ۳ آورده شده است.

جدول ۳- قدرت احیاءکنندگی تیمارهای مختلف طی ۱۵ روز نگهداری در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد

Table 3. Reducing power of differnt treatments during 15 days of storage at 5℃

روز day						تیمار Treatment
15	12	9	6	3	1	
0.647^{g}	0.602^{g}	0.6^{g}	0.541^{g}	0.526^{g}	0.515^{g}	T1
0.711^{f}	0.69^{f}	0.679^{e}	0.609^{e}	0.588^{f}	0.58^{e}	T2
0.835^{d}	0.774^{d}	0.803^{c}	0.698^{d}	0.688^{d}	0.607^{d}	T3
0.843^{c}	0.852^{b}	0.848^{b}	0.75^{c}	0.736^{c}	0.675^{b}	T4
0.957^{a}	0.88^{a}	0.948^{a}	0.84^{a}	0.823^{a}	0.749^{a}	T5
0.792^{e}	0.705^{e}	0.670^{f}	0.587^{f}	0.593^{e}	0.577^{f}	T6
0.879^{b}	0.782^{c}	0.769^{d}	0.757^{b}	0.738^{b}	0.629^{c}	T7

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف عصاره استویا بر قدرت احیاءکنندگی دسر در روزهای مختلف در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بوده است. در تمامی روزهای نگه‌داری بالاترین قدرت احیاءکنندگی به‌ترتیب مربوط به تیمار T_5، T_4 و T_7 بود. کمترین میزان قدرت احیاءکنندگی مربوط به نمونه شاهد بود. از روز نهم تا روز پانزدهم میزان قدرت احیاءکنندگی تیمار T_4 از نمونه حاوی ۲۰۰ پی پی ام BHT بالاتر بود و اختلاف معنی‌داری بین قدرت احیاءکنندگی آنها دیده شد.

شکل ۵: قدرت احیاءکنندگی دسرهای لبنی.

Figure 5. Reducing power in dairy desserts.

Archive of SID

www.SID.ir

نتیجه‌گیری

نتایج بدست آمده نشان داد که عصاره *استویا ربادیانا* از قابلیت آنتی اکسیدانی مناسبی برخوردار است، بطوری که می‌توان از این ماده، به‌عنوان یک منبع آنتی اکسیدان طبیعی استفاده نمود. قابلیت آنتی اکسیدانی عصاره استویا با افزایش غلظت عصاره افزایش یافت. علاوه بر این با توجه به نتایج می‌توان از عصاره استویا به‌عنوان جایگزین شکر در دسر لبنی استفاده نمود به‌طوری که دسرهای لبنی حاوی جایگزینی کامل شکر با استویا در طول مدت نگه‌داری سطح بالایی از مهار رادیکال آزاد و قدرت احیاءکنندگی را نشان دادند که این ویژگی می‌تواند منجر به تاخیر در اتواکسیداسیون چربی و افزایش زمان ذخیره سازی در محصولات غذایی حاوی آن شود.

منابع

1. Aneta, W., Jan, O. and Renata, C. 2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. Food Chemistry;105 :940–949.
2. Bandyopadhyay, M., RunuChakraborty, R., and Raychaudhuri, U. 2008. Antioxidant activity of natural plant sources in dairy dessert (Sandesh) under thermal treatment. LWT Food Science and Technology. 41: 816–825.
3. Duh, P.D., Tu, Y.Y. and Yen, G.C. 1999. Antioxidative activity of water extracts of Hamg jyur (Chrysanthemum morifolium). Lebensm.-Wiss. Technology. 32: 269–277.
4. Ferreres, F., Sousa, C., Valento, P., Seabara, R.M., Pereira, J.A. and Andrade, P.B. 2007. Tronchuda cabbage (Brassica oleracea L. var. costata DC) seeds: phytochemical characterization and antioxidant potential. Food Chemistry. 101: 549-558.
5. Gupta, M., Mazumder, U.K., Sivahkumar, T., Vamis, M.l.M., Karki, S., Sambathkumar, R. and Manikadan, I. 2003. Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Acalypha fruticosa*. Nigerian Journal of Natural Products and Medicine. **7**: 25-29.
6. Hamzeluie, 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. J. Agric. Sci. Natur. Resour., 16 (Special issue 1-a). (In Persian)
7. Hatano, T., Edamatsu, R. and Mori, A. 1989. Effects of interaction of tannins with coexisting substances. Chem. Pharm. Bull. 37: 2016–2021.
8. Iop, S.C.F., Silva, R.S.F., and Beleia, A.P. 1999. Formulation and evaluation of dry dessert mix containing sweetener combinations using mixture response methodology. Food Chemistry, 66: 167-171.

Archive of SID

www.SID.ir

9. Jaitak V., Bandna, Singh. B. and Kaul. V.K. 2009. An efficient microwave-assisted extraction process of stevioside and rebaudioside-A from *Stevia rebaudiana* (Bertoni). Phytochem Analasys. 20: 240–245.
10. Jung, C.H., Sego, H.M., Choi, I.W., Park, M.W. and Cho, H.Y. 2006. Antioxidant properties of various solvent extracts form wild ginseng leaves. LWT- Food Science and Technology. 39: 266-274.
11. Kumaran, A. and Karunakaran, R.J. 2007. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. LWT-Food Science and Technology. 40: 344–352.
12. Lindquist, C.H., Gower, B.A. and Goran, M.I. 2000. Role of dietaryfactors in ethnic differences in early risk of cardiovascular disease and type 2 diabetes. American Journal of Clinical Nutrition. 71: 725–732.
13. Logani, M.K., and Davies, R.E. 1980. Lipid oxidation: Biologic effect sand antioxidants a review. Lipids, 15: 485–495.
14. Mirzaei, A., Mohammadi, J., Mirzaei. N. and Mirzaei, M. 2011. The Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents of Some Medicinal Plants in Iran. Journal of Fasa University of Medical Sciences, 3: 1. 104-111. (In Persian)
15. Mohsen, S.M. and Ammar, A.S.M. 2009. Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. Food Chemistry. 112: 595–598.
16. Nabavi, S.M., Ebrahimzadeh, M.A. and Nabavi, S.F. 2008. Antioxidant and free radical scavenging activity of methanolic extract of Pterocarya fraxinifolia (Lam.) Spach leaves and bark. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 24: 3. (In Persian)
17. Ningappa, M.B., Dinesha, R. and Srinivas, L. 2007. Antioxidant and free radical scavenging activities of polyphenol-enriched curry leaf extract (*Murraya koenigii* L.). Food Chemistry, 6: 57-65.
18. Oyaizu, M. 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucoseamine. Japanese Journal of Nutrition. 44: 307–315.
19. Piggott, J.R. 1984. Sensory analysis of foods. New York, USA: Elsevier Applied Science Publishers, 250: 157–161.
20. Prieto, P., Pineda, M. and Aguilar, M., 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Analytical Biochemistry. 269, 2. 337-341.
21. Rezai Erami, S., Jafari, S.M., Khomeiri, M. and Bayat, H. 2011. Antioxidant activity of toyserkani variety of walnut husk and comparison of its antiradical activity with synthetic antioxidants. Research Journal of Food Industry, 22, 1: 41-50. (In Persian)
22. Roberfroid, M.B. 2000. Concepts and strategy of functional food science: The European perspective. American Journal of Clinical Nutrition, 71: 1660–1664.

Archive of SID

www.SID.ir

23. Sanchez-Moreno, A.K., Chadha, M., and Saura-Calixto, F. 1999. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. Food Research International. 32: 407-412.
24. Seuvre, A. M., Turci, C. and Voilley, A. 2008. Effect of the temperature on the release of aroma compounds and on the rheological behaviour of model dairy custard. Food Chemistry. 108: 1176–1182.
25. Shimada K., Fujikawa K., Yahara K. and Nakamura T. 1992. Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 40: 945-948.
26. Shukla, S., Mehta, A., Bajpai, V.K. and Shukla, S. 2009. *In vitro* antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bert. Food and Chemical Toxicology. 47, 9. 2338-2343.
27. Silva, S., Gomes, L., Leitão, F., Coelho, A.V. and Boas, L.V. 2006. Phenolic compounds and antioxidant activity of *olea europaea* L. fruits and leaves. Food Science and Technology International. 12: 385–396.
28. Soares, A.A., Souza, C.G.M., Daniel, F.M., Ferrari, G.P., Costa, S.M.G., and Peralta, R.M. 2009. Antioxidant activity and total phenolic content of *Agaricus brasiliensis* (*Agaricus blazei* Murril) in two stages of maturity. Food Chemistry. 112: 775-781.
29. Sun, Y., Hayakawa, S., Ogawa, M. and Izumori, L. 2005. Antioxidant properties of custard pudding dessert containing rare hexose, D-psicose. Food Control. 18: 220–227.
30. Tanaka, M., Kuei, C.W. and Nagashima, Y. 1998. Application of antioxidative maillrad reaction products from histidine and glucose to sardine products. Nippon Suisan Gakkaishi. 47: 1409–1414.
31. Yen, G.C., and Hseih, C.L. 1998. Antioxidant activity of extracts fromDu-Zhong (Eucomaulmoides) toward various lipid peroxidationmodels in vitro. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 46: 3952–3957.
32. Yildirim, A., Mavi, A. and Kara A.A. 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of Rumex crispus L. extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49: 4083-4089.
33. Zhou, K. and Yu, L. 2004. Effects of extraction solvent on the wheat barn antioxidant activity estimation. LWT – Food Science and Technology. 37:717-721.

Archive of SID

www.SID.ir

EJFPP, Vol. 8 (2): 69-90
http://ejfpp.gau.ac.ir

Evaluation of antioxidant activity of methanol extract of *Stevia rebaudiana* Bertoni and investigation of this properties in dairy dessert

M. Falah Shojaee[*1], A.R. Sadeghi Mahoonak[2], M. Khomeiri[2] and M. ghorbani[2]

[1]MSc. Graduate, Dept. of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
[2]Associate Prof., Dept. of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Iran

Received: 2014/11/27; Accepted: 2015/12/07

Abstract

Background and objectives: *Stevia rebaudiana* Bertoni, is an ancient perennial shrub of South America, with a great potential as a crop for the production of potent natural sweetener. it is suitable as a raw material for the production of functional foods due to its chemical composition and phytochemical compounds content. Stevioside has enormous sweetening power comparable to artificial sweeteners which are presented in various foods and beverages available in the market. This compound is about 300 times sweeter than sucrose. In this study, phenolic compounds were extracted from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves by maceration in methanol to evaluate antioxidant activity of its water-methanol extract and its antioxidant effect in dairy desserts.

Materials and methods: Antioxidant activity of the extract was evaluated using reducing power test, DPPH radical scavenging activity and total antioxidant capacity and compared with synthetic antioxidant BHT. Antioxidant effects of *Stevia rebaudiana* Bertoni extract in dairy desserts was investigated using reducing power test and DPPH radical scavenging activity after 1, 3, 6, 9, 12 and 15 days storage.

Results: Average total phenolic compounds in the *Stevia rebaudiana* Bertoni extract was 10.64 (Tannic acid equivalent) g/100g dry matter.

[*] Corresponding author; mona_falahshojaee@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

Evaluation of antioxidant activity of the extract showed that DPPH free radical scavenging, reducing power and total antioxidant activity of the extract were directly correlated with the amount of phenolic compounds. Antioxidant activity was found to be concentration-dependent in all antioxidant assays. DPPH scavenging activity of methanolic extract of stevia was greater than BHT. Reducing power and total antioxidant capacity of BHT were significantly higher than those of ethanolic extracts. Dessert samples containing stevia showed higher DPPH free radical scavenging activity and reducing power compared with control sample. By conducting sensory analysis on desserts containing different percentages of *Stevia rebaudiana* Bertoni extract, samples with 0.75, 1 and 0.25% extract (due to high total acceptance) and also samples with 0% (as control sample) and 100% (complete sugar replacement) were selected. DPPH free radical scavenging and reducing power assays in dairy desserts showed that samples with higher amounts of *Stevia rebaudiana* Bertoni extract had higher activities. In addition, dairy desserts containing *Stevia rebaudiana* Bertoni extract showed high levels of free radical scavenging activities during two weeks storage that may result in delay in fat oxidation and extended shelf life of the product.

Conclusion: The obtained results showed that antioxidant capacity of *Stevia rebaudiana* Bertoni extract is considerable; therefore it can be used as a good source of natural antioxidants.

***Keywords*:** *Stevia rebaudiana* Bertoni, Antioxidant activity, Dairy desserts, stevioside.

Archive of SID

www.SID.ir