

## بهینه‌سازی تولید نکتار پرتقال کم کالری با استفاده از استویوزید و ارزیابی خواص فیزیکوشیمیایی آن در طی انبارداری

سمانه حسینی<sup>۱</sup>، سید امیرحسین گلی<sup>۲\*</sup> و جواد کرامت<sup>۳</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۱/۲۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۱۰)

### چکیده

در حال حاضر محصولات کم کالری از محبوبیت زیادی برخوردار هستند. یکی از راه‌های تولید غذاهای کم کالری، جایگزین کردن شکر (ساکارز) با شیرین کننده‌های کم کالری است که یکی از آنها استویوزید می‌باشد. این ترکیب از برگ‌های استویا ربادیانا برتونی، گیاه بومی پاراگوئه جداسازی می‌شود. از آنجایی که آب پرتقال از نوشیدنی‌های محبوب و دارای نقش مهم در تغذیه بشر است، هدف از این مطالعه تولید نکتار کم کالری پرتقال و بهینه‌سازی پارامترهای فرمولاسیون به کمک روش سطح پاسخ بود. سه سطح مختلف از متغیرهای مستقل شکر، استویوزید و پکتین به منظور بهینه‌سازی فرمولاسیون استفاده شد و دو پاسخ بریکس و ویسکوزیته اندازه‌گیری گردید. پس از تعیین بهترین فرمول، محصولات تولید و در دو دمای یخچال ( $4^{\circ}\text{C}$ ) و محیط ( $25^{\circ}\text{C}$ ) به مدت ۶۰ روز انبار شدند و خصوصیات مختلف آنها هر ۲۰ روز یکبار اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که پس از ۶۰ روز انبارداری استویوزید ۵٪ کاهش یافت. میزان ساکارز، کدورت و ویسکوزیته نیز در طول انبارداری کاهش داشت اما بریکس نمونه‌ها در کل دوره مطالعه تغییری نکرد. در اکثر پارامترهای مورد بررسی دما اثر تشدیدکنندگی داشت. در روز آخر انبارداری تیمار بهینه دارای کدورت و ترکیبات فنولیک بیشتری نسبت به نمونه شاهد (فاقد استویوزید) بود. در نهایت مشخص شد که با استفاده از استویوزید و پکتین به ترتیب به میزان حداکثر ۰/۰۶ و ۰/۰۳ می‌توان میزان شکر مصرفی در محصول را تا ۷۰٪ کاهش داد، بدون آنکه در خواص فیزیکوشیمیایی و ارگانولپتیکی آن تغییر قابل ملاحظه‌ای مشاهده شود.

واژه‌های کلیدی: استویوزید، نکتار پرتقال، روش آماری سطح پاسخ، پکتین

۱ و ۲ و ۳. به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار و دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

\*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: amirgoli@cc.iut.ac.ir

## مقدمه

به موازات بالا رفتن آگاهی‌های عمومی و اهمیت یافتن مسئله‌ی حفظ سلامت، مصرف سرانه‌ی آبمیوه‌ها در حال افزایش بوده که این امر به دلیل حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از قبیل ویتامین ث و ترکیبات فنولیک و تأثیر آنها در کاهش فرآیندهای تخریبی بافت‌های بدن و جلوگیری از بروز سرطان می‌باشد. آب پرتقال یکی از پرمصرف‌ترین آبمیوه‌ها در بسیاری از نقاط دنیاست. یک پرتقال به‌طور متوسط ۹۰ گرم آبمیوه تولید می‌کند که مزه‌ی میوه‌ای و اسیدی خوش آیندی دارد و دارای مزایای بسیاری است؛ زیرا شامل آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند اسید آسکوربیک، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها و فنیل پروپانوئیدها می‌باشد و هم‌چنین دارای پتاسیم و اسید فولیک است. مطالعات اخیر نشان داده که مصرف زیاد آب پرتقال از خطر حمله رادیکال‌های آزاد به بافت‌های بدن کاسته و بیماری‌هایی چون سرطان، بیماری‌های قلبی و بیماری‌های اعصاب را کاهش می‌دهد (۴ و ۲۵).

از طرف دیگر کاهش میزان فعالیت‌های بدنی و افزایش کالری دریافتی حاصل از مواد غذایی منجر به افزایش چاقی شده است به طوری که چاقی به یک بیماری شایع در دنیای کنونی مبدل گشته است. الگوی غذایی نادرست شامل مصرف بیش از حد غذاهای چرب و شیرین با کالری بسیار بالا و هم‌چنین کاهش مصرف موادی چون فیبرهای غذایی و...، از جمله دلایل اصلی بروز چاقی محسوب می‌گردند (۱۱). در دهه‌های اخیر، بالا رفتن آگاهی مصرف‌کنندگان از ارتباط میان رژیم غذایی و سلامتی موجب شده که بشر به دنبال مصرف غذاهای کم کالری باشد. یکی از راه‌های کاهش کالری مواد غذایی، جایگزین کردن ساکارز با شیرین‌کننده‌های غیر مغذی بوده که این امر به منظور کاهش انرژی دریافتی، کنترل وزن بدن و پیش‌گیری از بروز بیماری‌هایی چون چاقی، دیابت، فشار خون بالا و... انجام می‌گیرد (۱۱ و ۲۰). شیرین‌کننده‌های غیر مغذی به دو گروه تقسیم می‌شوند، شیرین‌کننده‌های غیر مغذی سنتزی و شیرین‌کننده‌های غیر مغذی با منشأ طبیعی (گیاهی).

شیرین‌کننده‌های غیر مغذی وابسته به گروه شیمیایی خاصی نبوده و معمولاً به‌عنوان شیرین‌کننده‌های مصنوعی (سنتزی) شناخته می‌شوند. فراوان‌ترین شیرین‌کننده‌های مصنوعی ساخارین، سیکلامات، آسپارتام و سوکرالوز می‌باشند که به دلیل ترس از چاقی، دیابت و فساد دندانی استفاده از آنها رونق گرفت (۱۰). علاوه بر احتمال سرطان زایی برای برخی از این شیرین‌کننده‌ها، مصرف این ترکیبات مشکلات دیگری را نیز به همراه دارند برای مثال آسپارتام به دلیل حضور فنیل آلانین در ساختار خود توسط افراد مبتلا به فنیل کتونوریا قابلیت مصرف ندارد و یا سیکلامات در بدن به ترکیب سمی سیکلوهگزیل آمین تجزیه شده که در غلظت‌های بالا موجب بروز مشکلات قلبی می‌شود. به‌خاطر چنین دلایلی امروزه توجه به سمت مصرف شیرین‌کننده‌هایی با منشأ گیاهی جلب شده است. با اینکه ترکیبات شیرین زیادی از گیاهان گرفته شده اما تنها تعداد اندکی از آنها تجاری شده‌اند که از این میان می‌توان به استویوزید (Stevioside) اشاره نمود (۱۶). گیاه استویا (ربادیانا برتوننی) (*Stevia rebaudiana Bertoni*) در سال ۱۸۹۹ توسط فردی به نام مویسس برتوننی شناسایی شد. این بوته از جنوب غربی ایالت متحده تا شمال آرژانتین به صورت طبیعی قابلیت رشد داشته و بومی دره‌های ریو موندایی (Rio Monday) (دره‌ها و دامنه‌های مرز پاراگوئه و برزیل) است که برای قرن‌ها توسط بومیان مورد استفاده قرار می‌گرفت (۱۴ و ۱۷). این گیاه یک عضو از ۱۵۰ تا ۳۰۰ گونه‌ی استویا و متعلق به خانواده‌ی آستراسه (Asteraceae) می‌باشد (۱۶). استویا از خویشاوندان گل آفتابگردان، گل همیشه بهار و گل داوودی است و دارای برگ‌هایی باریک، کشیده، نوک تیز و نیزه‌ای بوده، که این برگ‌ها با آرایش متناوب به ساقه چسبیده‌اند و ۳ تا ۴ سانتی‌متر طول دارند. گل‌های این گیاه سفید و کوچک می‌باشد که بخش تحتانی آن ارغوانی کم‌رنگ بوده و دارای گرده افشانی بسیار حساسیت‌زا است (۱۷). گلیکوزیدهای دی‌ترپن مسئول شیرینی استویا بوده که از یک بخش قندی و یک بخش غیر قندی به نام استویول (*Steviol (ent-13-hydroxykaur-16-en-19-oic acid)*) تشکیل

هلو و احساس دهانی بودند. نمونه‌های حاوی استویوزید و آسولفام پتاسیم درجه بالاتری از تلخی را نشان دادند (۲۰). هدف از این تحقیق تولید نکتار پرتقال کم کالری با جایگزینی استویوزید به جای ساکارز و با کمک روش آماری سطح پاسخ Response Surface Methodology (RSM) بود. پس از تولید محصولات، برخی خواص آن از جمله بریکس و ویسکوزیته برای بهینه‌سازی و میزان ترکیبات فنولیک، قندها، کدورت و... در طی دو ماه انبارداری در دمای یخچال و محیط اندازه‌گیری شد.

### مواد و روش‌ها

#### مواد مورد استفاده

کنسانتره پرتقال از شرکت شهدآب ارومیه، پودر تجاری استویوزید با خلوص ۸۵ تا ۹۵ درصد از شرکت اصفهان شکلات و پکتین با درجه متوکسیل بالا از شرکت مجید تهیه شدند. معرف فولین سیوکالتو (Folin-Ciocalteu)، متانول، سدیم کربنات، استاندارد اسید گالیک و مابقی مواد شیمیایی همگی از شرکت مرک آلمان خریداری شدند.

#### بهینه‌سازی فرمولاسیون محصولات

برای بهینه‌سازی از روش آماری سطح پاسخ استفاده شد زیرا به کمک RSM می‌توان تعداد آزمایش‌های مورد نیاز را کاهش داد که منجر به صرفه‌جویی در وقت و هزینه می‌گردد. در این روش هر متغیر کد گذاری شده و در دامنه‌ی ۱- تا +۱ قرار می‌گیرد که هدف از این کار ساده‌تر شدن آنالیز رگرسیون می‌باشد.

نکتار پرتقال شامل ۶۰٪ آبمیوه طبیعی بوده که از رقیق سازی کنسانتره با آب تا رسیدن به بریکس ۱۳ حاصل گردید. ۴۰٪ مابقی فرمولاسیون را مخلوط آب و شکر به خود اختصاص داد. این نمونه حاوی ۶ گرم شکر در ۱۰۰ میلی‌لیتر نکتار پرتقال بود. برای تولید محصول کم کالری از سهم شکر نمونه‌ها کاسته شد و استویوزید به منظور تأمین شیرینی و پکتین برای تأمین ویسکوزیته از دست رفته به نمونه‌ها اضافه گردید.

شده‌اند. گلیکوزیدهای دی‌ترپن موجود در برگ‌های استویا شامل استویوزید، ربادیوزید A و B، استویول بیوزید (Steviolbioside)، ربادیوزید C (دلکوزید B Dulcoside)، ربادیوزید D و E و دلکوزید A هستند. تفاوت در ساختار این گلیکوزیدها به دلیل منو، دی و تری ساکاریدهای استری شده به کربن‌های ۱۳ و ۱۹ در مولکول استویول است. استویوزید حدود ۳۰۰ برابر ساکارز شیرینی دارد و چنان‌چه شیرینی ساکارز معادل ۱ در نظر گرفته شود شیرینی سایر آنالوگ‌های آن برابر است با، ربادیوزید A ۲۵۰ تا ۴۵۰، ربادیوزید B ۳۰۰ تا ۳۵۰، ربادیوزید C ۵۰ تا ۱۲۰، ربادیوزید D ۲۵۰ تا ۴۰۰، ربادیوزید E ۱۵۰ تا ۳۰۰، دلکوزید A ۵۰ تا ۱۲۰ و استویول بیوزید ۱۰۰ تا ۱۲۵. استویوزید و ربادیوزید A از مهم‌ترین گلیکوزیدهای موجود در برگ‌های استویا هستند. استویوزید شامل سه مولکول گلوکز پیرانوز است که دو مولکول از آن به یکدیگر پیوسته و به گروه آگلیکون متصل شده‌اند و گلوکز سوم با پیوند استری به طرف دیگر آگلیکون اتصال دارد (۱۲ و ۱۶).

در مورد استفاده از استویول گلیکوزید در محصولات غذایی می‌توان به مطالعه گارسیا-نوگوئرا و همکاران در سال ۲۰۱۰ اشاره نمود. آنها برای خشک کردن برش‌های توت فرنگی از تیمار اولتراسونیک به منظور حذف قندهای کالری زا (ساکارز، فروکتوز و گلوکز) استفاده کردند و سپس نمونه‌ها را در مایعی با فشار اسمزی بالا حاوی استویول گلیکوزید و مالتودکسترین قرار دادند تا با جذب گلیکوزیدها مقدار شیرینی از دست رفته‌ی میوه جبران شود (۱۱). پورتوکاردوسو و همکاران (۲۰۰۸) خواصی چون میزان رنگ، حالت ابری، درخشانی، ویسکوزیته‌ی ظاهری، عطر هلو، آرومای علفی، ترشی، تلخی و ... را در نمونه‌های نکتار هلو، حاوی ساکارز و شیرین کننده‌های آسپارتام، مخلوط سیکلامات و ساخارین به نسبت ۲ به ۱، استویوزید، سوکرالوز و آسولفام پتاسیم بررسی کردند. نتایج نشان داد که بین نمونه‌ها در سطح آماری ۵٪ اختلاف معناداری از نظر رنگ، حالت ابری و درخشانی وجود نداشت اما نمونه‌های شیرین شده با ساکارز دارای درجه بالاتری از ویسکوزیته، عطر

جدول ۱. فاکتورها و سطوح مورد استفاده برای تولید نکتار پرتقال

فاکتورها		سطوح
کد	-۱	۰
شکر (% از کل شکر مصرفی)	۳۰	۵۵
استویوزید (%)	۰/۰۲	۰/۰۴
پکتین (%)	۰/۰۲	۰/۰۳

گرم) از آنها به حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد، در ادامه جداسازی ذرات نمونه‌ها با فیلتر سر سرنگی PES یا پلی اتر سولفون (۰/۴۵ میکرون) انجام گرفت. برای جداسازی قندها از آب بدون یون هواگیری شده به‌عنوان فاز متحرک استفاده شد. جریان فاز متحرک ایزوکراتیک (Isocratic) با ستون SCR-101N با ابعاد  $300 \times 7/9$  میلی‌متر دارای محافظ ستون SCR (N) با ابعاد  $50 \times 4$  میلی‌متر و سرعت آن  $0/7$  میلی‌لیتر در دقیقه بود. درجه حرارت ستون روی  $60$  درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید و در نهایت دتکتور ضریب شکست به‌منظور تشخیص قندها مورد استفاده قرار گرفت (۲۸). به‌منظور شناسایی قندها، استانداردهای ساکارز، گلوکز و فروکتوز با غلظت‌های ۵۰۰، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ پی‌پی‌ام تهیه و هر کدام به میزان ۵ میکرولیتر به دستگاه HPLC تزریق شد. با توجه به زمان خروج هر قند در نمونه استاندارد، ماهیت هر پیک شناسایی گردید و پس از آن با استفاده از حجم تزریقی و سطح زیر پیک، منحنی استاندارد برای هر قند تعیین شد (معادلات استفاده شده برای ساکارز، گلوکز و فروکتوز به ترتیب  $Y=244/2X$ ،  $Y=204/5X$  و  $Y=197/5X$  بود که  $X$  غلظت قند برحسب پی‌پی‌ام و  $Y$  سطح زیر پیک می‌باشد).

در اندازه‌گیری استویوزید، آماده‌سازی نمونه‌ها مشابه روش آنالیز قندها صورت گرفت. در اینجا نیز از سیستم ایزوکراتیک با ستون C18-ODS با ابعاد  $250 \times 6/4 \times 5$  میلی‌متر و دتکتور فرابنفش (SPD - 6AV) استفاده شد. فاز متحرک متانول  $68/$  (هواگیری شده) با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود.  $210$  جداسازی استویوزید در درجه حرارت محیط و تشخیص آن در نانومتر انجام گرفت. برای شناسایی پیک مورد نظر از نمونه پودر

در روش RSM به‌منظور بررسی و بهینه‌سازی فرمولاسیون این محصول سه فاکتور میزان شکر، استویوزید و پکتین در سه سطح مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس آزمایشات اولیه سطوح حداقل و حداکثر برای ۳ فاکتور به‌دست آمد. سطوح مختلف شکر، استویوزید و پکتین در جدول ۱ ذکر شده است. با استفاده از طرح دی اپتیمال (Di-Optimal)، ۱۸ تیمار برای محصول پیشنهاد شد. پس از تولید این تیمارها، محصولات از لحاظ پاسخ‌های ویسکوزیته و بریکس مورد ارزیابی قرار گرفتند. در ادامه با تعیین مدل مناسب برای ویسکوزیته و بریکس بین فرمول‌های حاوی استویوزید، ارزیابی طعم صورت گرفت.

#### آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

پس انتخاب فرمول بهینه و تهیه‌ی آن، نمونه به همراه نمونه شاهد در دمای  $80$  درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲ دقیقه پاستوریزه و در ظروف PET بسته‌بندی و در دماهای یخچال و محیط انبارداری شد. برخی خواص فیزیکوشیمیایی از جمله میزان ترکیبات فنولیک، بریکس، ویسکوزیته، و کدورت هر ۲۰ روز یک‌بار به‌مدت ۲ ماه اندازه‌گیری شد اما اندازه‌گیری قندها و استویوزید فقط در زمان تولید و پس از  $60$  روز نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفت. لازم به ذکر است که در کنار تیمار بهینه یک نمونه تحت عنوان نمونه شاهد که فاقد استویوزید و پکتین بود هم مورد ارزیابی قرار گرفت.

در اندازه‌گیری قندها، از روش کروماتوگرافی (دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا ساخت کمپانی شیمادزو ژاپن) استفاده گردید. به‌منظور آماده‌سازی نمونه‌ها وزن مشخصی (۵

۴۰ سال به‌عنوان ارزیاب آموزش دیده انتخاب شدند. این آزمون بر اساس امتیازدهی از ۱ تا ۱۰ ارزیاب‌ها به نمونه‌های دارای کدهای سه رقمی با توجه به میزان مطلوبیت طعم (میزان شیرینی و پس طعم تلخ) انجام گرفت (امتیاز ۱، بهترین طعم و امتیاز ۱۰، بدترین طعم).

### آنالیز آماری نتایج انبارداری

از نرم افزار آماری دیزاین اکسپرت (Design Expert version 7) به‌منظور تجزیه واریانس، مدل‌سازی، رسم نمودارها و تعیین شرایط بهینه برای تولید نکتار کم کالری استفاده گردید. هم‌چنین تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از آزمون‌های فیزیکوشیمیایی نمونه‌ها، در قالب طرح کاملاً تصادفی خرد شده در زمان (Split plot) انجام گرفت. به‌منظور مقایسه میانگین تیمارها از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۱ استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با کمک نرم افزار SAS و رسم نمودارها با نرم افزار اکسل انجام گرفت.

### نتایج و بحث

جدول ۲ تیمارها و پاسخ‌های واقعی و پیشنهادی ویسکوزیته و بریکس را در روش سطح پاسخ نشان می‌دهد. با توجه به این جدول می‌توان دریافت که بین ویسکوزیته واقعی و پیش‌بینی شده و بریکس واقعی و پیش‌بینی شده تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. به‌منظور بهینه‌سازی تولید نکتار پرتقال کم کالری مدلی برای ویسکوزیته و بریکس تعیین و سپس داده‌ها بر اساس آن آنالیز شد (جدول ۳).

مدلی توسط نرم افزار پیشنهاد می‌شود که دارای SD و PRESS کم و  $R^2$  زیاد است. با توجه به نتایج آنالیز آماری مدل‌های مربوط به ویسکوزیته و بریکس مناسب‌ترین مدل برای این دو پاسخ، مدل خطی بود. با استفاده از معادله و ضرایب به‌دست آمده از تجزیه واریانس نتایج که در جدول ۴ آورده شده، می‌توان تأثیر متغیرهای مورد بررسی (شکر، استویوزید و پکتین) را بر روی پاسخ‌های ویسکوزیته و بریکس به‌دست آورد.

استویوزید به‌عنوان استاندارد در غلظت‌های ۱۰، ۵۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام استفاده گردید که حجم تزریقی استانداردها ۵ میکرولیتر بود. با استفاده از سطح زیر پیک به‌دست آمده برای هر استاندارد منحنی استاندارد غلظت برای استویوزید رسم شد (۶ و ۲۲).

جهت اندازه‌گیری ترکیبات فنولیک، ۵/۵ سی‌سی از نمونه هموژن شده با ۵ سی‌سی معرف فولین که ۱ به ۱۰ با آب مقطر رقیق شده بود، مخلوط گردید و به‌مدت ۵ دقیقه تکان داده شد. سپس ۴ سی‌سی سدیم کربنات ۱ مولار به محلول اضافه گردید و پس از ۱۵ دقیقه جذب در ۷۶۵ نانومتر (با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل UV-2100، یونیکو، ژاپن) قرائت شد. برای رسم منحنی استاندارد محلول‌هایی با غلظت‌های ۰/۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر سی‌سی از اسید گالیک در آب تهیه شدند و ۵/۵ سی‌سی از این محلول‌ها به جای نمونه با معرف فولین و محلول سدیم کربنات طبق روش بالا مخلوط شد و جذب در ۷۶۵ نانومتر قرائت گردید. با توجه به غلظت محلول‌های استاندارد و جذب‌های به‌دست آمده منحنی استاندارد رسم شد (۲۱).

برای اندازه‌گیری کدورت، ۱۰ سی‌سی نمونه به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۱۵۰۰ rpm سانتریفوژ شد (با استفاده از سانتریفیوژ مدل 2-16 سیگما ساخت کشور آلمان) سپس جذب بخش بالایی در آن ۶۶۰ نانومتر خوانده شد (۲۳). اندازه‌گیری مواد جامد محلول در آب، از دستگاه رفرکتومتر دیجیتالی DR201-95 مدل کروس ساخت کشور آلمان استفاده شد (۲۴).

برای اندازه‌گیری ویسکوزیته، نمونه‌ها داخل ویسکومتر آبلود شماره‌ی OB ساخت فیشر آمریکا ریخته شد و زمان عبور آن از حد فاصل دو خط ویسکومتر اندازه‌گیری گردید (۱۵). ویسکوزیته با استفاده از معادله  $V=k(t-v)$  محاسبه شد که  $V$  ویسکوزیته بر اساس سانتی پویز،  $k$  ضریب ثابت ویسکومتر،  $t$  زمان بر حسب ثانیه و  $v$  ضریب تصحیح بر اساس زمان بود.

به‌منظور ارزیابی طعم از آزمون مقایسه با نمونه شاهد استفاده شد که بدین‌منظور ۱۰ نفر از کارکنان و دانشجویان دانشگاه صنعتی اصفهان (مرد و زن) در محدوده‌ی سنی ۱۸ تا

جدول ۲. فرمولاسیون‌های مختلف نکتار پرتقال و مقادیر ویسکوزیته و بریکس واقعی و پیش‌بینی شده

تیما	شکر (% از کل شکر مصرفی)	استویوزید (%)	پکتین (%)	ویسکوزیته واقعی (cp)	ویسکوزیته پیش‌بینی شده (cp)	بریکس واقعی (%)	بریکس پیش‌بینی شده (cp)
۱	۸۰	۰/۰۲	۰/۰۲	۱/۷۹	۱/۸	۱۲	۱۱/۹
۲	۳۰	۰/۰۶	۰/۰۴	۱/۸۲	۱/۸۴	۹/۴	۹/۳
۳	۳۰	۰/۰۴	۰/۰۳	۱/۷۰	۱/۷۳	۹/۳	۹/۳
۴	۸۰	۰/۰۲	۰/۰۴	۲/۰۰	۲/۰۲	۱۱/۸	۱۱/۹
۵	۸۰	۰/۰۴	۰/۰۳	۱/۹۵	۱/۹۱	۱۲/۱	۱۱/۹
۶	۸۰	۰/۰۶	۰/۰۴	۲/۰۲	۲/۰۲	۱۲	۱۱/۹
۷	۳۰	۰/۰۶	۰/۰۲	۱/۶۰	۱/۶۳	۹/۴	۹/۳
۸	۳۰	۰/۰۶	۰/۰۲	۱/۶۱	۱/۶۳	۹/۴	۹/۳
۹	۵۵	۰/۰۳	۰/۰۳	۱/۷۴	۱/۸۲	۱۰/۶	۱۰/۶
۱۰	۳۰	۰/۰۲	۰/۰۴	۱/۸۳	۱/۸۴	۹/۳	۹/۳
۱۱	۳۰	۰/۰۲	۰/۰۴	۱/۸۲	۱/۸۴	۹/۴	۹/۳
۱۲	۵۵	۰/۰۴	۰/۰۴	۱/۹۲	۱/۹۳	۱۰/۷	۱۰/۶
۱۳	۵۵	۰/۰۴	۰/۰۴	۱/۹۰	۱/۹۳	۱۰/۷	۱۰/۶
۱۴	۸۰	۰/۰۲	۰/۰۴	۲/۰۱	۲/۰۲	۱۱/۸	۱۱/۹
۱۵	۸۰	۰/۰۶	۰/۰۲	۱/۷۵	۱/۸۱	۱۱/۹	۱۱/۹
۱۶	۳۰	۰/۰۲	۰/۰۲	۱/۶۳	۱/۶۳	۹/۵	۹/۳
۱۷	۵۵	۰/۰۶	۰/۰۳	۱/۷۶	۱/۸۲	۱۰/۸	۱۰/۶
۱۸	۵۵	۰/۰۲	۰/۰۲	۱/۷۳	۱/۷۲	۱۰/۵	۱۰/۶

در این جدول  $X_1$  تا  $X_3$  به ترتیب ضرایب فاکتورهای شکر، استویوزید و پکتین می‌باشند. با بررسی  $p$  مربوط به هریک از پاسخ‌ها در جداول فوق می‌توان مدل مناسب را تعیین کرد. فاکتورهایی که  $P < 0/05$  است، در پاسخ‌های ویسکوزیته و بریکس اثر معنی‌داری داشته‌اند.

تأثیر معنی‌داری ندارد.

#### مدل مربوط به بریکس

بر اساس جدول ۴ و ضرایب معنی‌دار موجود در قسمت بریکس می‌توان به معادله زیر دست یافت.

$$Y = 7/79478 + 0/051124 X_1$$

این معادله نشان می‌دهد که فقط متغیر شکر ( $X_1$ ) به صورت درجه اول اثر معنی‌داری بر بریکس این محصول دارد.

#### انتخاب فرمول‌های بهینه

پس از تعیین مدل‌ها، بهینه‌سازی به منظور رسیدن به بهترین فرمولاسیون از لحاظ ویسکوزیته و بریکس انجام شد. در ابتدا

#### مدل مربوط به ویسکوزیته

$$Y = 1/304158 + 0/00367 X_1 + 10/54998 X_3$$

با توجه به نتایج تجزیه واریانس ضرایب به دست آمده مربوط به ویسکوزیته‌ی نکتار پرتقال در جدول ۴ می‌توان دریافت که متغیرهای شکر ( $X_1$ ) و پکتین ( $X_3$ ) به صورت درجه اول بر روی ویسکوزیته مؤثر است اما استویوزید ( $X_2$ ) در ویسکوزیته

جدول ۳. آنالیز آماری مدل مربوط به ویسکوزیته و بریکس در نکتار پرتقال

PRESS	R <sup>2</sup> <sub>predicted</sub>	R <sup>2</sup> <sub>adjusted</sub>	R <sup>2</sup>	SD	مدل
ویسکوزیته					
۰/۰۱۷	۰/۹۴۲۸	۰/۹۵۱۹	۰/۹۶۰۳	۰/۰۲۹	خطی
۰/۰۱۸	۰/۹۴۱۳	۰/۹۴۵۶	۰/۹۶۴۸	۰/۰۳۱	فاکتور متقابل دوگانه
۰/۰۳۸	۰/۸۷۴۵	۰/۹۴۸۲	۰/۹۷۵۶	۰/۰۳۰	درجه دوم
		۰/۹۹۳۱	۰/۹۹۸۴	۰/۰۱۱	درجه سوم
بریکس					
۰/۲۲	۰/۹۸۹۷	۰/۹۹۲۶	۰/۹۹۳۹	۰/۰۹۶	خطی
۰/۴۱	۰/۹۸۰۷	۰/۹۹۲۲	۰/۹۹۵۰	۰/۰۹۸	فاکتور متقابل دوگانه
۰/۷۵	۰/۹۶۴۶	۰/۹۹۰۱	۰/۹۹۵۳	۰/۱۱	درجه دوم
		۰/۹۹۹۰	۰/۹۹۹۸	۰/۰۳۵	درجه سوم

جدول ۴. نتایج تجزیه واریانس ضرایب به دست آمده از مدل پیشنهادی مربوط به ویسکوزیته و بریکس در نکتار پرتقال

prob>F	F <sub>value</sub>	MS	Df	SS	ضرایب
ویسکوزیته					
< ۰/۰۰۰۱	۱۱۳/۰۲	۰/۰۹۷	۳	۰/۲۹	مدل
-	-	-	-	-	X <sub>0</sub> +۱/۳۰۴۱۵۸
< ۰/۰۰۰۱	۱۲۵/۹۱	۰/۱۱	۱	۰/۱۱	شکر +۰/۰۰۳۶۷
۰/۳۰۹۶	۱/۱۱	۹/۵ E-۰۴	۱	۹/۵ E-۰۴	استویوزید -۰/۴۳۰۵۹
< ۰/۰۰۰۱	۱۷۵/۱۴	۰/۱۵	۱	۰/۱۵	پکتین +۱۰/۵۴۹۹۸
۰/۰۲۲۵	۹/۳۷	۱/۱۴۸ E-۰۰۳	۱۰	۰/۰۱۱	عدم برازش
بریکس					
< ۰/۰۰۰۱	۷۶۳/۵۵	۷/۰۱	۳	۲۱/۰۳	مدل
-	-	-	-	-	X <sub>0</sub> +۷/۷۹۴۷۸
< ۰/۰۰۰۱	۲۲۷۵/۲۱	۲۰/۸۹	۱	۲۰/۸۹	شکر +۰/۰۵۱۱۲۴
۰/۱۳۸۶	۲/۴۷	۰/۰۲۳	۱	۰/۰۲۳	استویوزید +۲/۱۰۲۳۱۹
۰/۷۴۲۲	۰/۱۱	۱/۰۳۴ E-۰۳	۱	۱/۰۳۴ E-۰۳	پکتین -۰/۸۷۶۷۳
۰/۰۲۰۴	۹/۸۸	۰/۱۲	۱۰	۰/۱۲	عدم برازش

مطلوب و حداکثر بریکس بودند و با نمونه شاهد از نظر این ویژگی‌ها تفاوت کمی داشتند. از میان این نقاط ۳ فرمول برای محصول انتخاب شد و سپس این فرمول‌ها تهیه گردید و از لحاظ ویسکوزیته و بریکس مورد آزمایش قرار گرفت. جدول ۵ فرمول‌های انتخاب شده را نشان می‌دهد.

سطح پایین و بالا و سطح مطلوب برای هر یک از پاسخ‌ها تعیین گردید و در ادامه بر اساس مدل‌های توصیف شده و هم‌چنین سطوح مشخص شده، ترکیبی مناسب از متغیرها (X<sub>1</sub>، X<sub>2</sub> و X<sub>3</sub>) توسط نرم افزار معرفی شد. نرم افزار چندین نقطه (فرمول) را معرفی کرد که این فرمولاسیون‌ها دارای ویسکوزیته‌ی

جدول ۵. سطوح بهینه متغیرها و مقادیر واقعی و پیش‌بینی شده ویسکوزیته و بریکس در نکتار پرتقال

تیمار	شکر (% از کل شکر مصرفی)	استویوزید (%)	پکتین (%)	ویسکوزیته واقعی (cp)	ویسکوزیته پیش‌بینی شده (cp)	بریکس واقعی (%)	بریکس پیش‌بینی شده (%)
۱	۵۳/۷	۰/۰۶	۰/۰۲	۱/۷۶	۱/۷۱	۱۰/۷	۱۰/۵
۲	۵۳/۵۸	۰/۰۳	۰/۰۲	۱/۷۴	۱/۷۱	۱۰/۶	۱۰/۵
۳	۳۰	۰/۰۶	۰/۰۳	۱/۷۳	۱/۷۳	۹/۲	۹/۳

با توجه به پاسخ‌های به‌دست آمده و پیش‌بینی شده می‌توان فهمید که مدل‌های تعیین شده می‌توانند برای تولید این محصول کم‌کالری مورد استفاده قرار گیرند. در ادامه بین تیمارهای تولید شده و نمونه‌ی شاهد (فاقد استویوزید) آزمون ارزیابی طعم انجام گرفت. براساس نتایج به‌دست آمده بین نمونه شاهد و تیمارهای حاوی استویوزید تفاوت معنی‌داری از نظر طعم وجود نداشت، در نتیجه تیماری که حاوی کمترین میزان شکر بود (فرمول شماره ۳) به‌عنوان تیمار بهینه انتخاب شد. این تیمار حاوی ۰/۰۶٪ استویوزید و ۰/۰۳٪ پکتین بود که میزان شکر آن تا ۷۰٪ کاهش یافت.

#### نتایج آزمون‌های فیزیکوشیمیایی محصولات در طی انبارداری

در زمان صفر میانگین میزان ساکارز، گلوکز و فروکتوز برای نمونه شاهد (فاقد استویوزید) در نکتار پرتقال ۹/۳۳، ۲/۷ و ۲/۷ گرم در صد گرم نمونه بود. با توجه به این اعداد می‌توان دریافت که در آب پرتقال ساکارز قند اصلی بوده و گلوکز و فروکتوز به میزان کمتر و به نسبت مساوی در این آبمیوه یافت می‌شوند. هر دو عامل زمان و دما دارای اثر معنی‌داری بر میزان قند نمونه‌ها بود. نگهداری ۶۰ روزه نمونه‌ها موجب کاهش میزان ساکارز و افزایش گلوکز و فروکتوز شد که این پدیده با نگهداری نمونه‌ها در دمای بالاتر (محیط) تشدید گشت. به‌علت این‌که آبمیوه یک فرآورده‌ی اسیدی است، ساکارز آن به منوساکاریدهای خود هیدرولیز می‌گردد. میزان کاهش ساکارز در نمونه‌ی شاهد (نگهداری شده در یخچال) کمتر از ۲٪ و در تیمار بهینه حدود ۷٪ بود بدین معنی که اضافه کردن استویوزید به آبمیوه می‌تواند موجب افزایش تجزیه ساکارز به قندهای

انورت گردد، به همین علت میزان افزایش گلوکز و فروکتوز در تیمار بهینه بیشتر از نمونه‌ی شاهد بود (جدول ۶). در روز آخر انبارداری میزان گلوکز و فروکتوز افزایش یافته است که این تغییر برای فروکتوز به مراتب شدیدتر بود. در این خصوص می‌توان گفت که ممکن است در طی نگهداری طولانی مدت مخصوصاً برای تیمار بهینه که حاوی استویوزید و پکتین هم بوده است، اتصالات و باندهایی بین منوساکاریدها (به‌خصوص گلوکز) و سایر ترکیبات آب‌میوه ایجاد و موجب اندازه‌گیری کمتر گلوکز نسبت به فروکتوز شده است. البته این نکته نیز قابل ذکر است که دلیل کاهش بیشتر گلوکز می‌تواند مصرف این ترکیب توسط میکروارگانیسم‌ها و بروز تخمیر در محصول باشد. یوساف و همکاران (۲۰۰۹) با نگهداری آبمیوه موز غنی شده با اینولین و الیگوفروکتوز به مدت ۸ هفته در دماهای ۴، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد دریافتند میزان ساکارز در نمونه‌هایی که در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند، به‌طور معنی‌داری کاهش یافت اما برای نمونه‌هایی که در ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد بودند این مقدار روند افزایشی نشان داد. کاهش ساکارز را می‌توان به‌دلیل تجزیه آن به قندهای احیای گلوکز و فروکتوز دانست ولی افزایش میزان ساکارز به‌علت هیدرولیز اینولین و الیگوفروکتوز در نمونه‌ها بود. از طرف دیگر میزان قندهای احیا کننده در این آبمیوه با گذشت زمان افزایش یافت که نگهداری در دمای بالاتر موجب تشدید این پدیده شد (۲۸).

با اندازه‌گیری میزان استویوزید مشخص شد که تیمار بهینه‌ی حاوی این شیرین کننده، داری ۰/۰۶٪ استویوزید می‌باشد که این میزان پس از ۲ ماه انبارداری در یخچال و محیط



جدول ۶. نتایج مقایسه میانگین میزان قند (g/100g) در نمونه‌های شاهد و بهینه تحت تأثیر زمان و دما

آزمون	تیمار	دما	زمان (روز)	
			۰	۶۰
ساکارز	شاهد	یخچال	۹/۳۳۳ <sup>a</sup> (A)	۹/۱۹۵ <sup>b</sup> (A)
	شاهد	محیط	۹/۳۳۳ <sup>a</sup> (A)	۷/۷۵۴ <sup>b</sup> (B)
	بهینه	یخچال	۵/۸۳۲ <sup>a</sup> (B)	۵/۴۵۷ <sup>b</sup> (C)
	بهینه	محیط	۵/۸۳۴ <sup>a</sup> (B)	۳/۹۹۰ <sup>b</sup> (D)
گلوکز	شاهد	یخچال	۲/۷۰۲ <sup>a</sup> (A)	۲/۸۰۴ <sup>b</sup> (D)
	شاهد	محیط	۲/۷۰۲ <sup>a</sup> (A)	۳/۲۰۵ <sup>b</sup> (B)
	بهینه	یخچال	۲/۴۶۰ <sup>a</sup> (B)	۲/۹۵۲ <sup>b</sup> (C)
	بهینه	محیط	۲/۴۶۰ <sup>a</sup> (B)	۳/۷۱۷ <sup>b</sup> (A)
فروکتوز	شاهد	یخچال	۲/۷۰۳ <sup>a</sup> (A)	۲/۸۲۲ <sup>b</sup> (D)
	شاهد	محیط	۲/۷۰۳ <sup>a</sup> (A)	۴/۷۴۰ <sup>b</sup> (B)
	بهینه	یخچال	۲/۴۴۰ <sup>a</sup> (B)	۲/۹۴۸ <sup>b</sup> (C)
	بهینه	محیط	۲/۴۴۱ <sup>a</sup> (B)	۴/۸۷۴ <sup>b</sup> (A)

حروف بزرگ و کوچک غیر مشترک در هر ستون و ردیف به ترتیب بیانگر اختلاف معنی دار داده‌ها در سطح احتمال ۱٪ است.

جدول ۷. نتایج مقایسه میانگین میزان استویوزید (g/100g) در نمونه‌های شاهد و بهینه تحت تأثیر زمان

آزمون	تیمار	دما	زمان (روز)	
			۰	۶۰
استویوزید	بهینه	یخچال	۰/۰۶۱ <sup>a</sup> (A)	۰/۰۵۸ <sup>b</sup> (A)
	بهینه	محیط	۰/۰۶۱ <sup>a</sup> (A)	۰/۰۵۰ <sup>b</sup> (B)

حروف بزرگ و کوچک غیر مشترک در هر ستون و ردیف به ترتیب بیانگر اختلاف معنی دار داده‌ها در سطح احتمال ۱٪ است.

نوشیدنی لیمویی ۱۸٪ کاهش یافت اما نور اثری روی میزان استویوزید نداشت (۹). ولور-ریک و همکاران (۲۰۱۰) پایداری دو استویول گلیکوزید استویوزید و ربادیوزید A را در نوشابه‌های غیر الکلی بررسی کردند. بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت نگهداری نمونه‌ها در ۸۰ درجه سانتی‌گراد حداکثر ۷۰٪ تجزیه در میزان استویول گلیکوزیدها مشاهده شد. آنها دریافتند که استویوزید پایداری کمتری نسبت به ربادیوزید A دارد (۲۷). در هر دو نمونه میزان ترکیبات فنولیک تا روز چهارم روند صعودی داشت و پس از آن روند نزولی پیدا کرد (جدول ۸). دلیل این افزایش را می‌توان شکل‌گیری برخی از ترکیبات در

به ترتیب حدود ۵ و ۱۸٪ کاهش یافت (جدول ۷). دلیل این کاهش را می‌توان pH اسیدی محصول دانست که البته نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نیز موجب کاهش بیشتر استویوزید شد. کلوس و همکاران (۲۰۰۸) پایداری استویوزید و ربادیوزید A را در نوشیدنی‌های کولا و لیمویی بررسی کردند. آنها مشاهده نمودند که این دو ترکیب دارای پایداری خوبی در برابر نور بودند و تفاوت معنی‌داری از نظر پایداری با یکدیگر نداشتند. چانگ با مطالعه روی نوشیدنی‌های کولا و لیمویی حاوی استویوزید و ربادیوزید A که در معرض نور قرار داشتند، دریافت میزان ربادیوزید A در نوشیدنی کولا ۲۲٪ و در

جدول ۸. نتایج مقایسه میانگین میزان کل فنولیک (ppm) در نمونه‌های شاهد و بهینه تحت تأثیر زمان و دما

آزمون	تیمار	دما	زمان (روز)			
			۰	۲۰	۴۰	۶۰
فنولیک	شاهد	یخچال	۵۴۵/۵۰ <sup>a(A)</sup>	۵۸۰/۸۸ <sup>b(B)</sup>	۶۳۱/۰۰ <sup>c(B)</sup>	۵۶۴/۵۵ <sup>d(C)</sup>
	شاهد	محیط	۵۴۶/۲۵ <sup>a(A)</sup>	۵۸۴/۸۱ <sup>b(A)</sup>	۶۴۰/۶۵ <sup>c(A)</sup>	۵۸۰/۸۵ <sup>d(B)</sup>
	بهینه	یخچال	۵۴۰/۷۵ <sup>a(B)</sup>	۵۴۸/۵۲ <sup>b(C)</sup>	۵۸۸/۲۲ <sup>c(D)</sup>	۵۸۱/۶۶ <sup>d(B)</sup>
	بهینه	محیط	۵۴۰/۹۰ <sup>a(B)</sup>	۵۷۹/۷۵ <sup>b(B)</sup>	۶۱۰/۵۰ <sup>c(C)</sup>	۵۹۴/۱۸ <sup>d(A)</sup>

حروف بزرگ و کوچک غیر مشترک در هر ستون و ردیف به ترتیب بیانگر اختلاف معنی دار داده‌ها در سطح احتمال ۱٪ است.

شده و به اسید گالیک تبدیل می‌گردد (۵).

در زمان صفر بین نمونه‌ی شاهد و تیمار بهینه اختلاف معنی‌داری وجود دارد به طوری که نمونه شاهد از کدورت کمتری برخوردار بوده در حالی که در تیمار بهینه به دلیل افزودن پکتین به منظور تأمین ویسکوزیته از دست رفته، کدورت بیشتری مشاهده شد. نگهداری نمونه‌ها موجب کاهش میزان کدورت در محصولات شد که افزایش دمای انبارداری اثر تشدید کننده بر این پدیده داشت (جدول ۹). در آب مرکبات به طور طبیعی آنزیم پکتین متیل استراز موجود می‌باشد که منشأ آن دیواره‌های سلولی میوه است. این آنزیم از پایداری حرارتی بالایی برخوردار بوده و در دمای بالاتری از دمای نابودی میکروب‌ها غیرفعال می‌گردد و در نتیجه در پاستوریزاسیون حدود ۱۰٪، این آنزیم فعال می‌ماند. این آنزیم به مرور زمان موجب جداسازی گروه‌های متوکسی از زنجیره پکتین شده و منجر به تولید رادیکال‌های آزاد کربوکسیلیک می‌گردد. کاتیون‌های دو ظرفیتی از جمله کلسیم قادرند از طریق این گروه‌ها بین زنجیره‌های پکتین اتصالات عرضی برقرار کرده و موجب تولید ماکروپلیمرها گردند. این درشت مولکول‌ها به مرور زمان رسوب کرده و موجب کاهش کدورت محصول می‌شوند (۱۳ و ۲۶). گمز و همکاران (۲۰۰۹) کنسانتره آب پرتقال را به مدت ۶ ماه در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد نگهداری کردند. نتایج نشان داد با گذشت زمان کدورت نمونه‌ها کاهش یافت (۱۳).

نتایج به دست آمده (جدول ۹) نشان داد که در زمان صفر

طی نگهداری دانست که با معرف فولین واکنش داده و منجر به افزایش جذب و در نتیجه افزایش میزان کل فنولیک در نمونه‌ها می‌گردد (۱۹). در ادامه افزایش میزان تجزیه ترکیبات فنولیک موجب بروز روند نزولی در نمونه‌ها گشته است. مقایسه‌ی تیمارهای بهینه و شاهد در روز آخر انبارداری (در هر دو دما) نشان داد که تیمار بهینه دارای میزان ترکیبات فنولیک بیشتری نسبت به نمونه‌ی شاهد بود. این امکان وجود دارد که استویوزید موجود و یا میزان پکتین بیشتر در نمونه‌های بهینه دارای اثرات حفاظتی بر روی ترکیبات فنولیک باشد. پیلجک-زگاراک و همکاران (۲۰۰۹) میزان ترکیبات فنولیک را در آبمیوه‌های تیره (توت فرنگی، گیلاس، انار و...) طی ۲۹ روز نگهداری در دمای یخچال اندازه‌گیری کردند. میزان ترکیبات فنولیک در آبمیوه گیلاس ۱۱۰۶/۲ میلی‌گرم بر لیتر بود که در ۴۸ ساعت اول نگهداری این میزان افزایش یافت. در ۱۳ روز بعدی ترکیبات فنولیک روند نزولی پیدا کردند و در ادامه انبارداری آبمیوه‌ها تا روز ۲۹ این میزان دوباره افزایش یافت به طوری که در روز آخر ترکیبات فنولیک به حداکثر مقدار خود یعنی ۱۳۰۲/۱ میلی‌گرم بر لیتر رسید (۱۹). باتاچرجی و همکاران (۲۰۱۱) با انبارداری آبمیوه اونلا (Aonla) به مدت ۶ ماه، مشاهده کردند که میزان اسید گالیک به صورت معنی‌داری در حال افزایش بود. علت این امر را می‌توان تبدیل اسید کافئیک به اسید گالیک از طریق یک مسیر بیوشیمیایی دانست. رخ دادن بتا اکسیداسیون در اسیدکافئیک منجر به تولید اسید پروتوکاتچوئیک می‌گردد که در ادامه این اسید هیدروکسیله

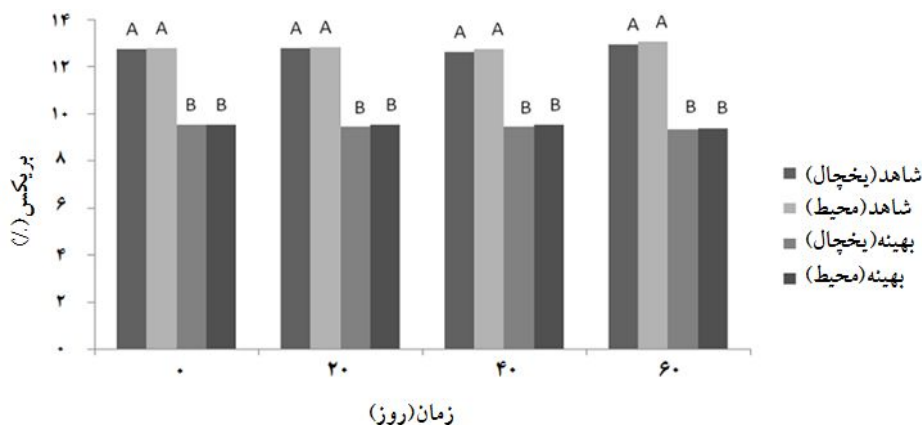
جدول ۹. نتایج مقایسه میانگین میزان کدورت و ویسکوزیته (cp) در نمونه‌های شاهد و بهینه تحت تأثیر زمان و دما

آزمون	تیمار	دما	زمان (روز)			
			۰	۲۰	۴۰	۶۰
کدورت	شاهد	یخچال	۰/۳۸۱ <sup>a</sup> (B)	۰/۳۶۰ <sup>b</sup> (C)	۰/۳۱۶ <sup>c</sup> (C)	۰/۲۹۰ <sup>d</sup> (C)
	شاهد	محیط	۰/۳۸۰ <sup>a</sup> (B)	۰/۳۲۹ <sup>b</sup> (D)	۰/۲۹۹ <sup>c</sup> (D)	۰/۲۵۱ <sup>d</sup> (D)
	بهینه	یخچال	۰/۵۹۰ <sup>a</sup> (A)	۰/۵۷۱ <sup>b</sup> (A)	۰/۵۳۹ <sup>c</sup> (A)	۰/۵۰۵ <sup>d</sup> (A)
	بهینه	محیط	۰/۵۹۰ <sup>a</sup> (A)	۰/۵۱۱ <sup>b</sup> (B)	۰/۴۸۰ <sup>c</sup> (B)	۰/۴۵۰ <sup>d</sup> (B)
ویسکوزیته	شاهد	یخچال	۱/۷۶۴ <sup>a</sup> (B)	۱/۷۲۹ <sup>b</sup> (B)	۱/۶۰۵ <sup>c</sup> (C)	۱/۵۹۰ <sup>d</sup> (A)
	شاهد	محیط	۱/۷۶۵ <sup>a</sup> (B)	۱/۷۲۰ <sup>b</sup> (C)	۱/۵۹۴ <sup>c</sup> (D)	۱/۵۷۴ <sup>d</sup> (B)
	بهینه	یخچال	۱/۷۷۴ <sup>a</sup> (A)	۱/۷۴۹ <sup>b</sup> (A)	۱/۶۹۰ <sup>c</sup> (A)	۱/۵۸۹ <sup>d</sup> (A)
	بهینه	محیط	۱/۷۷۲ <sup>a</sup> (A)	۱/۶۹۲ <sup>b</sup> (D)	۱/۶۲۲ <sup>c</sup> (B)	۱/۵۰۲ <sup>d</sup> (C)

حروف بزرگ و کوچک غیر مشترک در هر ستون و ردیف به ترتیب بیانگر اختلاف معنی دار داده‌ها در سطح احتمال ۱٪ است.

ویسکوزیته این آبمیوه کاهش یافت (۲). کوآ و همکاران (۲۰۱۲) با مطالعه روی آب توت‌فرنگی کدر دریافتند میزان ویسکوزیته این نمونه پس از ۶ ماه انبارداری در دماهای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۶۶/۹۳ و ۷۰/۷۵٪ کاهش یافت (۷). مقایسه بین میزان مواد جامد محلول در نمونه‌ها نشان داد که بریکس نمونه شاهد به‌علت دارا بودن میزان شکر بیشتر، بالاتر از تیمار بهینه بود اما هیچ کدام از فاکتورهای زمان و دما بر میزان مواد جامد محلول در نمونه‌ها تأثیر معنی‌داری نداشت (شکل ۱). تجزیه ساکارز موجب تولید منوساکاریدهای گلوکز و فروکتوز شده است اما این احتمال مطرح است که بخشی از منوساکاریدها توسط میکروارگانیسم‌ها مورد استفاده قرار گیرند و در نهایت برآیند این تغییرات در جهت ثابت ماندن بریکس باشد. پاریش (۱۹۹۸) آب پرتقال والنسیا را در دماهای ۴ و ۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ هفته نگهداری کرد. او دریافت که میزان مواد جامد محلول تغییری در دوره نگهداری نداشت (۱۸). آلاکا و همکاران (۲۰۰۳) با نگهداری آب انبه در دمای ۳۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ هفته مشاهده کردند که بریکس نمونه‌ها ثابت ماند (۳). چیا و همکاران (۲۰۱۲) اثر انبارداری ۱۳ هفته‌ای در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد را بر روی آب آناناس که در ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه پاستوریزه شده بود، بررسی

ویسکوزیته تیمار بهینه تا حدی بیشتر از نمونه شاهد بود و گذشت زمان موجب گردید حدود ۱۰٪ از ویسکوزیته محصولات کاسته شود (نگهداری محصولات در دمای بالاتر موجب تشدید این پدیده شد). دلیل این امر را می‌توان وجود آنزیم پکتین متیل استراز (آنزیم موجود در دیواره سلولی مرکبات) دانست. از آنجایی که آنزیم مقاومت حرارتی بالایی دارد، حتی پس از پاستوریزاسیون نمونه‌ها بخشی از آن به‌صورت فعال باقی می‌ماند و موجب تجزیه پکتین در طی نگهداری نمونه‌ها می‌گردد. مقایسه‌ی بین ویسکوزیته‌ی نمونه‌ها در روز آخر انبارداری (در دمای یخچال) نشان داد که ویسکوزیته‌ی تیمار بهینه بدون اختلاف معنی‌دار با نمونه‌ی شاهد بود اما در نمونه‌هایی که در دمای بالاتر نگهداری شده بودند، ویسکوزیته تیمار بهینه به دلیل تشدید فعالیت آنزیم پکتین متیل استراز در دمای محیط، کمتر از نمونه شاهد بود. آگوئی‌لو-آگوئی‌لو و همکاران (۲۰۰۸) با نگهداری آب گوجه‌فرنگی در دمای یخچال به مدت ۷۷ روز مشاهده کردند که ویسکوزیته این محصول با گذشت زمان به دلیل تجزیه مواد پکتینی به‌وسیله‌ی آنزیم‌هایی از جمله پکتین متیل استراز و پکتین گالاکتوروناز کاهش یافت (۱). آگوئی‌لو-آگوئی‌لو و همکاران (۲۰۱۰) با مطالعه روی آب هندوانه دریافتند که در طی ۵۶ روز نگهداری،



شکل ۱. مقایسه میانگین میزان بریکس (%) در نمونه‌های شاهد و بهینه تحت تأثیر زمان و دما حروف غیرمشترک بیانگر اختلاف معنی‌دار داده‌ها در سطح احتمال ۱٪ است.

محصولات میزان ترکیبات فنولیک نمونه‌ها در ابتدا روند صعودی داشت و سپس از میزان این ترکیبات کاسته شد. میزان ساکارز، استویوزید، کدورت و ویسکوزیته در نمونه‌ها با گذشت زمان به‌طور معنی‌داری کاهش یافت درحالی‌که میزان گلوکز و فروکتوز در نمونه‌ها روند صعودی نشان دادند. دما در پارامترهای فوق اثر تشدید کننده داشت اما بریکس در طی انبارداری در دو دمای مختلف در تمامی نمونه‌ها ثابت ماند. نمونه‌های شاهد دارای کدورت کمتری نسبت به تیمار بهینه بودند و مقدار کل فنولیک در تیمارهای حاوی استویوزید بیشتر از نمونه‌های شاهد بود. با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان دریافت که تولید نکتار پرتقال کم‌کالری با استفاده از شیرین‌کننده‌ی طبیعی استویوزید امکان‌پذیر است. با توجه به نتایج، فرمول بهینه‌ی پیشنهادی برای نکتار پرتقال حاوی ۰/۰۶٪ استویوزید و ۰/۰۳٪ پکتین بود که میزان شکر در این محصول به ۳۰٪ میزان شکر مصرفی در نمونه‌ی شاهد تقلیل یافت.

کردند. نتایج حاکی از این بود که میزان مواد جامد محلول در طی انبارداری هیچ تغییر معنی‌داری را در سطح ۵٪ نشان نداد (۸).

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که روش آماری سطح پاسخ، روشی مناسب در انتخاب سطوح بهینه‌ی فاکتورهای شکر، استویوزید و پکتین به‌منظور تولید آبمیوه‌ی کم‌کالری بود. همان‌طور که انتظار می‌رفت نتایج حاکی از این بود که ویسکوزیته محصولات تابع مقدار شکر و پکتین موجود در فرمولاسیون می‌باشد و میزان شکر تنها فاکتور مؤثر بر بریکس محصولات است اما مقدار استویوزید هیچ اثر معنی‌داری بر این دو پاسخ نداشت. ارزیابی حسی انجام گرفته بر روی محصولات نشان داد که از نظر ارزیاب‌ها بین نمونه‌های شاهد (فاقد استویوزید و پکتین) و تیمارهای پیشنهادی توسط RSM، تفاوت معنی‌داری از نظر طعم وجود نداشت. در طی انبارداری

### منابع مورد استفاده

1. Aguilo-Aguayo, I., R. Soliva-Fortuny and O. Martin-Belloso. 2008. Comparative study on color, viscosity and related enzymes of tomato juice treated by high-intensity pulsed electric fields or heat. *European Food Research and Technology* 227: 599-606.
2. Aguilo-Aguayo, I., R. Soliva-Fortuny and O. Martin-Belloso. 2010. Color and viscosity of watermelon juice treated by high-intensity pulsed electric fields or heat. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 11: 299-305.
3. Alaka, O. O., J. O. Aina and K. O. Falade. 2003. Effect of storage conditions on the chemical attributes of Ogbomoso mango juice. *European Food Research and Technology* 218: 79-82.

4. Ashurst, P. R. 1995. Production and Packaging of Non-Carbonated Fruit Juice and Fruit Beverages. 2<sup>th</sup> ed. Blackie Academic and Professional, INC., London.
5. Bhattacharjee, A. K., D. K. Tandon, A. Dikshit and S. Kumar. 2011. Effect of pasteurization temperature on quality of aonla juice during storage. *Journal of Food Science and Technology* 48: 269–273.
6. Bovanova, L., E. Brandsteterova and S. Baxa. 1998. HPLC determination of stevioside in plant material and food samples. *Z Lebensm Unters Forsch A* 207: 352–355.
7. Cao, X., X. Bi, W. Huang, J. Wu, X. Hu and X. Liao. 2012. Changes of quality of high hydrostatic pressure processed cloudy and clear strawberry juices during storage. *Innovative Food Science & Emerging*. In Press, DOI: 10.1016.
8. Chia, S. L., S. Rosnah, M. A. Noranizan and W.D. Wan Ramli. 2012. The effect of storage on the quality attributes of ultraviolet-irradiated and thermally pasteurised pineapple juices. *International Food Research Journal*. 19: 1001-1010.
9. Clos, J. F., G. E. Dubois and I. Prakash. 2008. Photostability of rebaudioside A and stevioside in beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 8507–8513.
10. Ferrer, I. and E. M. Thurman. 2010. Analysis of sucralose and other sweeteners in water and beverage samples by liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography* 1217: 4127–4134.
11. Garcia-Noguera, J., C. L. Weller, F. I. P. Oliveira, S. Rodrigues and F. A. N. Fernandes. 2010. Dual-stage sugar substitution in strawberries with a Stevia – based sweetener. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 11: 225-230.
12. Geuns, J. M. C. 2003. Molecules of interest stevioside. *Phytochemistry* 64: 913-921.
13. Gomez, J. A., A. Tarrega, S. Bayarri and J. V. Carbonell. 2011. Clarification and gelation of animally heated orange juice concentrate during its refrigerated storage. *Journal of Food Process Engineering* 34: 1187–1198.
14. Ibrahim, A. I., M. I. Nasr, B. R. Mohammed and M. M. El-Zefzafi. 2008. Plant growth regulators affecting in vitro cultivation of Stevia rebaudiana. *Sugar Technology* 10: 254-259.
15. Karangwa, E., H. Khizar, L. Rao, D. S. Nshimiyimana, M. B. K. Foh, L. Li, S. Q. Xia and X. M. Zhang. 2010. Optimization of Processing Parameters for Clarification of Blended Carrot-orange Juice and Improvement of its Carotene Content. *Advance Journal of Food Science and Technology* 2: 268-278.
16. Kim, N. and A. D. Kinghorn. 2002. Highly sweet compounds of plant origin. *Archives of Pharmacal Research* 25: 725-746.
17. Madan, S., S. Ahmad, G. N. Singh, K. Kohli, Y. Kumar, R. Singh and M. Garg. 2010. Stevia Rebaudiani (Bert.) Bertoni- a review. *Indian Journal of Natural Products* 1: 267-286.
18. Parish, M. E. 1998. Orange juice quality after treatment by thermal pasteurization or isostatic high pressure. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie* 31: 439–442.
19. Piljac-Zegarac, J., L. Valek, S. Martinez and A. Belscak. 2009. Fluctuations in the phenolic content and antioxidant capacity of dark fruit juices in refrigerated storage. *Food Chemistry* 113: 394–400.
20. Porto Cardoso, J. M. and H. M. Andre Bolini. 2008. Descriptive profile of peach nectar sweetened with sucrose and different sweeteners. *Journal of Sensory Studies* 23: 804-816.
21. Pourmorad, F., S. J. Hosseinimehr and N. Shahabimajid. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology* 5: 1142-1145.
22. Rajasekaran, T., P. Giridhar and G. A. Ravishankar. 2007. Production of steviosides in ex vitro and in vitro grown Stevia rebaudiana Bertoni. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87: 420–424.
23. Rivas, A., D. Rodrigo, A. Martineza, G. V. Barbosa-Canovasb and M. Rodrigo. 2005. Effect of PEF and heat pasteurization on the physical–chemical characteristics of blended orange and carrot juice. *LWT - Food Science and Technology* 39: 1163–1170.
24. Sanchez-Moreno, C., L. Plaza, B. de Ancos and M. P. Cano. 2003. Quantitative bioactive compound assessment and their relative contribution to the antioxidant capacity of commercial orange juices. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83: 430–439.
25. Vieira, S. M., T. M. Silva and M. B. A. Gloria. 2010. Influence of processing on the levels of amines and proline and on the physico-chemical characteristics of concentrated orange juice. *Food Chemistry* 119: 7–11.
26. Webster, A. D. and N. E. Looney. 1996. Cherries Crop Physiology, Production and Uses. CAB International, INC., Wallingford, UK.
27. Wolwer-Rieck, U., W. Tomberg and A. Wawrzun. 2010. Investigations on the stability of stevioside and rebaudioside A in soft drinks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 12216–12220.
28. Yousaf, M. S., S. Yusof, M. Y. B. A. Manap and S. Abd-Aziz. 2009. Storage stability of clarified banana juice fortified with Inulin and Oligofructose. *Journal of Food Processing and Preservation* 34: 599–610.