



بهینه سازی فرایند استخراج عصاره چای ترش به روش سطح پاسخ و ارزیابی فرمولاسیون نوشیدنی حاصل از آن

نرگس نعمتی^{۱*}، امیرحسین الهامی راد^۲، اکرم شریفی^۳

۱- کارشناس ارشد مهندسی صنایع غذایی، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

۲- دانشیار، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

۳- دانشیار، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، واحد قزوین، دانشگاه آزاد اسلامی، قزوین، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	توجه به بهینه سازی مصرف گیاهان دارویی از طریق تولید نوشابه های گازدار می تواند راهکار مناسبی در جهت ترغیب مصرف کنندگان به استفاده از مواد غذایی با منشا طبیعی باشد که دارای اثرات سلامت بخش نیز می باشد. هدف از این تحقیق بهینه سازی فرایند عصاره گیری چای ترش و ارائه ی بهترین روش جهت حفظ مواد ارزشمند تغذیه ای این گیاه حین عصاره گیری و به کارگیری این عصاره در فرمولاسیون نوشابه گازدار رژیمی با استفاده از شیرین کننده طبیعی استویا و ارزیابی تغییرات فیزیکی شیمیایی آن طی دوره نگهداری بود. بدین ترتیب که عصاره گیری از چای ترش در سه دمای ۶۰، ۷۵ و ۹۰ درجه سانتی گراد در رنج زمانی ۱۰ تا ۲۰ دقیقه انجام شد و جهت انتخاب بهترین دما و زمان عصاره گیری نمونه های چای ترش از لحاظ میزان فعالیت آنتی اکسیدانی، آنتوسیانین و ترکیبات فنولی مورد بررسی قرار گرفتند سپس با استفاده از عصاره چای ترش چهار فرمولاسیون مختلف نوشابه گازدار تهیه شد. برای بررسی ماندگاری نوشابه در مدت ۹۰ روز نگهداری هر ۳۰ روز یکبار نمونه های نوشابه از لحاظ میزان pH، فعالیت آنتی اکسیدانی، آنتوسیانین و ترکیبات فنولی مورد ارزیابی قرار گرفتند. در نهایت مشخص گردید دمای ۷۱/۴۱ درجه سانتی گراد به مدت ۱۸/۸۱ دقیقه بهترین دما و زمان جهت عصاره گیری از چای ترش می باشد؛ که در این شرایط بهینه میزان فعالیت آنتی اکسیدانی ۶۲/۴۰ درصد، میزان آنتوسیانین ۷۲/۴۹ میلی گرم در لیتر و میزان ترکیبات فنولی کل ۶۵/۲۵ میلی گرم اسید گالیک در ۱۰۰ میلی لیتر تعیین شد. همچنین مشخص شد که میزان pH، فعالیت آنتی اکسیدانی، آنتوسیانین و ترکیبات فنولی در انتهای دوره نگهداری نسبت به روز اول تولید نوشابه کاهش داشتند.
کلمات کلیدی: عصاره گیری، چای ترش، نوشابه گازدار، فعالیت آنتی اکسیدانی، آنتوسیانین، ترکیبات فنولی.	
DOI: 10.22034/FSCT.20.142. 137 DOR:20.1001.1.20088787.1402.20.142.9.9	
* مسئول مکاتبات:	

۱- مقدمه

گیاه دارویی چای ترش گونه ای گیاهی یک ساله با نام علمی هیبیسکوس سابداریفاف^۱ از خانواده مالواسه^۲ می باشد که در ایران بیشتر با عنوان چای ترش شناخته شده است. قسمت های مختلف این گیاه از جمله گل ها، برگ ها و دانه های آن در صنایع غذایی و صنعت داروسازی قابل استفاده می باشد. موطن اصلی این گیاه غرب آفریقا می باشد و امروزه در سطح وسیعی در غرب آسیا، آمریکا و استرالیا و بسیاری از کشورها کشت می شود. این گیاه در استان سیستان و بلوچستان، فارس و گلستان کشت داده می شود. این گیاه سرشار از آنتوسیانین ها، فلاونوئید ها، اسید اسکوربیک و بسیاری مواد ارزشمند دیگری می باشد و به طور شگفت انگیزی دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بالا و آنتی باکتریایی است. در طب سنتی جایگاهی ویژه داشته و از منظر داروسازان عصاره ی این گیاه برای فشار خون توصیه می شود. از اینرو دارای اثرات ضد فشار خون، ضد سرطان زایی، ضد تکثیر و ازدیاد سلول های سرطانی (به خصوص در سرطان های سینه، رحم و تخمدان)، آنتی اسپاسمودیک و ضد انگلی می باشد [1,2,3]

بی تردید بیشترین مصرف نوشابه در دنیا متعلق به کشورهای پیشرفته و کشورهایی است که درآمد سرانه ملی در آن بالا باشد. بیشترین مصرف نوشابه های صنعتی طی سالهای ۱۹۷۰ تا ۱۹۸۵ گزارش شده است. از اوایل دهه ۹۰ ترکیبات این نوشابه ها به تدریج تغییر کرد به طوری که مواد ملین، آرام بخش، گروهی از ویتامین ها و بعضی از مواد اعتیاد آور به این ترکیبات اضافه گشت زیرا با افزایش سطح آگاهی مردم در کشورهای اروپایی و ایالات متحده مصرف نوشابه های گاز دار کاهش یافته بود و مصرف کنندگان عموماً به سوی نوشابه های طبیعی مانند آبمیوه و شربتهای طبیعی تهیه شده از میوه ها و گیاهان دارویی گرایش پیدا کردند. با توجه به

مشکلات تولید نوشابه های صنعتی در ایران نظیر مشکلات فنی تولید و مدیریت، مشکلات ماده اولیه، بازار مصرف و صادرات و نیز مضراتی که از دیدگاه سلامتی مصرف کننده به نوشابه های صنعتی نسبت داده می شود، بسیاری از محققین بدنبال یافتن راهکار هایی جهت بهینه سازی مصرف نوشیدنی های سنتی و طبیعی می باشند چرا که بسیاری از ترکیبات مورد استفاده در نوشابه نوع کولا از مواد سنتزی تشکیل می شود. به همین دلیل در سالهای اخیر تحقیقات زیادی جهت تولید نوشابه های میوه ای گاز دار با طعم میوه، نوشابه های تخمیری گاز دار نظیر ماءالشعیر و نیز نوشیدنی هایی که از پس آب فرآورده های لبنی نظیر پس آب پنیر و کره تولید می شوند انجام گردیده. گیاهان دارویی نیز از جمله مواردی هستند که سابقه مصرف برخی از آنها به طور سنتی به بیش از چند هزار سال می رسد بنابر این تولید نوشابه گازدار از گیاهان دارویی می تواند به عنوان یک جایگزین مناسب جهت نوشابه های صنعتی مد نظر قرار گیرد. [4,5,6,7,8,9,10,11,12,13]

استویا نیز شیرین کننده ای طبیعی است که تا حدود ۳۰۰ برابر شیرین تر از ساکارز می باشد که عنوان ترکیبی کم کالری و غیر سمی منجر شده تا یک جایگزین مناسب برای ساکارز و برخی شیرین کننده ها مانند آسپارتام در بیماران دیابتی، قلبی، فنل کتنوریک و مبتلا به چاقی و فشار خون باشد. نوشیدنی ها از جمله محصولات هستند که می توان از استویا با هدف جایگزینی شکر استفاده نمود. استویا هم اکنون در کشور های مختلف آسیا و اروپا کشت می شود. برگ آن حاوی بسیاری اجزای مختلف مانند فلاونوئیدها، اسیدهای آلی، کلروفیل، لابدنس-استرول، مونو-دی ساکارید، تریپتیرینوئید و نمک های معدنی است. [14,15,16,17,18,19]

با توجه به گرایش جامعه به استفاده از نوشیدنی های گازدار نوع کولا و اثرات سوء آنها بر سلامت جامعه به دلیل داشتن ترکیبات سنتزی و همچنین استفاده از شیرین کننده های نا سالم که باعث افزایش بیماری هایی نظیر سرطان، دیابت و... می شوند لزوم

1- *Hibiscus Sabdariffa*
2- Malvaceae

پژوهش در زمینه استفاده از گیاهان دارویی در صنایع غذایی برای کاهش معضلات مذکور و تحقق بخشیدن به اهداف فوق، احساس و تحقیق حاضر ارائه شده است که در آن فرمولاسیون تولید نوشابه گازدار بر پایه ی چای ترش با استفاده از شیرین کننده ی طبیعی استویا مورد بررسی قرار می گیرد. در این پژوهش به بهبود سازی فرایند استخراج عصاره چای ترش با روش سطح پاسخ، تولید نوشابه رژیمی از چای ترش با استفاده از شیرین کننده طبیعی استویا، و ارزیابی تغییرات فیزیکوشیمیایی نوشابه طی دوره نگهداری پرداخته شد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- آماده سازی نمونه

مقدار ۵۰۰ گرم گلبرگ خشک چای ترش از شهر زاهدان واقع در استان سیستان و بلوچستان که یکی از عمده ترین مراکز تولید چای ترش در ایران است خریداری شد. سپس کلیه زواید و ناخالصی های آن تا حد امکان جدا شد و پس از آن شستشو با آب مقطر انجام شد و پس از خشک شدن مجدد گلبرگ های چای ترش توسط آسیاب خرد شد.

۲-۲- استخراج عصاره چای ترش

عصاره گیری از چای ترش به روش حمام داغ (*Hot water bath*) در سه دمای ۶۰، ۷۵ و ۹۰ درجه سانتی گراد در رنج زمانی ۱۰ تا ۲۰ دقیقه با ۱۳ تیمار و ۵ تکرار در نقطه مرکزی انجام شد. بدین صورت که مقدار ۲۰ گرم از گلبرگ های خرد شده چای ترش توزین شد (توسط ترازوی دیجیتال AND-FX300GD) و به همراه ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر به ارلن منتقل گردید و درب آن به وسیله فویل پوشیده شد. برای هر یک از دما ها (۶۰، ۷۵، ۹۰ درجه سانتی گراد) سه نمونه بدین شکل تهیه گشت و بر روی هر یک از نمونه ها با دمای یکسان یکی از زمان های (۱۰، ۱۵، ۲۰ دقیقه) اعمال گردید. سپس هر یک از نمونه ها داخل بن ماری (مدل LAUDA E200) قرار گرفت تا دما و زمان مورد نظر بر

روی آن اعمال گردد. با توجه به اینکه دمای ۷۵ درجه سانتی گراد و زمان ۱۵ دقیقه به عنوان دما و زمان مرکزی در نظر گرفته شد، عصاره گیری در این دما و زمان با پنج تکرار انجام گرفت. پس از خروج نمونه ها از بن ماری به مدت یک ساعت تاریک گذاری انجام شد، طوری که نمونه ها به مدت یک ساعت در مکانی تاریک به حالت ساکن قرار گرفتند. سپس هر یک از نمونه ها توسط پمپ خلاء از روی کاغذ صافی عبور داده شد. و بدین شکل عصاره ها صاف گردیدند بلا فاصله پس از صاف شدن، عصاره ها به شیشه های تیره منتقل گردیدند و داخل فریزر با دمای ۱۸- درجه سانتی گراد جهت انجام آزمون های فیزیکی و شیمیایی قرار گرفتند. بدین صورت در مجموع ۱۳ نمونه عصاره چای ترش بدست آمد [20].

۲-۳- فرمولاسیون نوشابه گازدار با استفاده از عصاره

چای ترش

جهت انجام فرمولاسیون نوشابه، عصاره گیری مجدد از چای ترش در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه انجام گرفت. آب گازدار از کارخانه نوشابه سازی تهیه گردید. به عنوان شیرین کننده نیز از استویا و شکر استفاده شد. چهار فرمول جهت تهیه نوشابه مورد استفاده قرار گرفت:

فرمول A: ۰/۱ گرم استویا + ۳۰ میلی لیتر عصاره چای ترش + ۵۰ میلی لیتر آب گازدار

فرمول B: ۰/۰۲ گرم استویا + ۱/۵ گرم شکر + ۳۰ میلی لیتر عصاره چای ترش + ۵۰ میلی لیتر آب گازدار

فرمول C: ۵ گرم شکر + ۳۰ میلی لیتر عصاره چای ترش + ۵۰ میلی لیتر آب گازدار

فرمول D: ۰/۰۲ گرم استویا + ۳ گرم شکر + ۳۰ میلی لیتر عصاره + ۵۰ میلی لیتر آب گازدار

نوشابه های تهیه شده در بطری های تیره ریخته شد و درب بندی گردید. سپس بطری ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۷۰

جهت انجام این دو آزمایش تهیه شد که به صورت زیر انجام گرفت. جهت تهیه عصاره اتانولی از عصاره ابتدا ۱۰ میلی لیتر عصاره چای ترش با ۴۰ میلی لیتر اتانول ۹۶٪ دو ساعت با مگنت روی شیکر قرار داده شد سپس محلول حاصل توسط کاغذ صافی صاف شد. پس از آن باقیمانده های روی صافی با ۴۰ میلی لیتر اتانول به اضافه ۱۰ میلی لیتر آب شسته شد و محلول زیر صافی مجددا یکساعت روی شیکر قرار داده شد و سپس صاف شد. محلولی که از صاف کردن مجدد بدست آمد جهت آزمایش اندازه گیری میزان آنتی اکسیدان مورد استفاده قرار گرفت. جهت تهیه عصاره اتانولی از نوشابه نیز مراحل فوق عینا انجام گرفته شد با این تفاوت که بعد از اولین صاف شدن، محلول جهت انجام آزمایش آنتی اکسیدان مورد استفاده قرار گرفت. محلول DPPH با غلظت ۰/۰۰۸ تهیه گردید (۰/۰۲ گرم DPPH در ۲۵۰ میلی لیتر اتانول ۸۰٪ حل شد).

اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی

مقدار ۰/۲۵ میلی لیتر از عصاره اتانولی که از عصاره چای ترش جهت آزمایش اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی در مرحله ی قبل تهیه شده بود با ۳/۵ میلی لیتر محلول DPPH مخلوط شد و به مدت ۳۰ ثانیه توسط دستگاه ورتکس، شیک گشت و پس از ۳۰ دقیقه تریک گذاری این نمونه ها داخل سل دستگاه اسپکترو فوتومتر (UV-VIS مدل Shimadzu) ریخته شد و در طول موج ۵۱۷ نانومتر میزان جذب اندازه گیری گشت. جذب نمونه ی شاهد نیز به همین شیوه مشخص شد با این تفاوت که به جای ۰/۲۵ میلی لیتر عصاره اتانولی تولید شده جهت آزمایش اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی ۰/۲۵ میلی لیتر اتانول ۸۰٪ استفاده گشت. سپس با استفاده از فرمول (۱) میزان آنتی اکسیدان موجود در عصاره چای ترش محاسبه گشت [25,24,23].

فرمول (۱): $100 \times (A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{blank}}$ درصد آنتی اکسیدان

A_{blank} : میزان جذب نمونه ی شاهد (متانول، آب، DPPH).

درجه سانتی گراد توسط آب داغ پاستوریزه شدند و بعد از آن سریعا تا دمای ۳۰ درجه سانتی گراد خنک گردیدند.

با انجام آزمون حسی اولیه فرمول D (۰/۰۲ گرم استویا + ۳ گرم شکر + ۳۰ میلی لیتر عصاره + ۵۰ میلی لیتر آب گازدار) به عنوان بهترین فرمول شناخته شد. سپس نوشابه های تولید شده به یخچال با دمای ۴ درجه سانتی گراد جهت آزمایشات بعدی، طی سه ماه نگهداری منتقل شد.

۲-۴- پارامتر های مورد بررسی بر روی عصاره و نوشابه

چای ترش

جهت بررسی عصاره های تولید شده از چای ترش با دما ها و زمان های متفاوت آزمایشات اندازه گیری آنتوسیانین، اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی و اندازه گیری ترکیبات فنولی بر روی هر یک از نمونه ها با سه تکرار انجام گرفت. همچنین جهت بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی نوشابه تولیدی از چای ترش طی ۹۰ روز نگهداری، آزمایشات ذکر شده به اضافه آزمایش اندازه گیری میزان pH بر روی هر چهار فرمول نوشابه هر ۳۰ روز یکبار با سه تکرار انجام شد.

۲-۴-۱- آزمایشات فیزیکی و شیمیایی مورد استفاده

اندازه گیری pH

برای تعیین pH از دستگاه pH متر مدل SUNTEX Sp - 701 استفاده گردید. بدین صورت که پس از تنظیم دقیق دستگاه توسط بافر ۴ و ۷، pH آن در ۲۰ درجه سانتی گراد اندازه گیری شد. جهت دقت آزمایش و کاهش مقدار خطا آزمایش در سه تکرار انجام شد [21].

اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی

اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH (Burits) و همکاران در سال ۲۰۰۰ انجام گرفت [23]. جهت انجام آزمایش اندازه گیری میزان فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنولی عصاره و نوشابه چای ترش، ابتدا از عصاره ی چای ترش و چهار فرمول نوشابه، عصاره های اتانولی مخصوصی

A_{sample} : میزان جذب نمونه ی حاوی عصاره اتانولی (عصاره، DPPH).

جهت اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی نوشابه کلیه مراحل، همانند اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره انجام گرفت با این تفاوت که در ماه صفر و اول نگهداری نوشابه، از ۰/۵ میلی لیتر و در ماه دوم و سوم از ۲ میلی لیتر عصاره اتانولی نوشابه استفاده گردید.

اندازه گیری ترکیبات فنولی

جهت انجام این آزمایش از روش فولین سیوکالتو (ordonez و همکاران در سال ۲۰۰۶) استفاده شد. [26]. به طور خلاصه، ابتدا معرف فولین ده بار رقیق شده تهیه شد (۱ میلی لیتر فولینسیوکالتو به حجم ۱۰ میلی لیتر آب مقطر رسید) سپس محلول کربنات سدیم تهیه گشت. ۲/۵ میلی لیتر از محلول فولین را به ۰/۲۵ میلی لیتر از عصاره اتانولی که از عصاره چای ترش تهیه شده بود اضافه کردیم. مدت ۳ دقیقه به حالت ساکن قرار گرفت و پس از آن ۲ میلی لیتر معرف کربنات سدیم به این نمونه اضافه گردید و مدت ۳۰ ثانیه شیک شد و پس از ۳۰ دقیقه تاریک گذاری جذب این نمونه توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. نمونه ی شاهد نیز مطابق مراحل فوق تهیه گشت با این تفاوت که به جای ۰/۲۵ میلی لیتر عصاره اتانولی از آب مقطر استفاده شد. این آزمایش با سه تکرار جهت هر یک از نمونه های عصاره انجام گرفت. در نهایت میزان ترکیبات فنولی هر یک از نمونه های عصاره ی چای ترش با استفاده از قرار دادن اعداد به دست آمده از خواندن جذب نمونه ها در معادله خط بدست آمده از رسم نمودار اسید گالیک محاسبه گردید [26].

$$Y=0.0103X-0.2712$$

Y =جذب خوانده شده توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر

X =غلظت ترکیبات فنولی تام بر حسب mgGAL/100ml

جهت انجام این آزمایش کلیه مراحل ذکر شده در اندازه گیری ترکیبات فنولی عصاره انجام گرفت با این تفاوت که از ۰/۵ میلی لیتر عصاره اتانولی نوشابه استفاده گشت.

$$Y=0.003X-0.434$$

اندازه گیری آنتوسیانین به روش pH افتراقی

برای اندازه گیری و ارزیابی کمی آنتوسیانین ها در مواد غذایی روش های متعدد گزارش شده است. شیوه ای که فرانسس و فولکی^۱ در سال (۱۹۶۸) بکار بردند، هنوز هم مناسبترین شیوه است. در این روش جذب نمونه های تهیه شده توسط بافر ۱ $pH = 4/5$ و $pH = 4/5$ بوسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه گیری شد. رنگدانه اصلی چای ترش سیانیدین -۳- گلایکوزید می باشد که بیشترین جذب را در طول موج ۵۱۷ نانومتر نشان می دهد. [20].

ابتدا بافر $pH = 1$ ، شامل ۱۲۵ میلی لیتر کلرید پتاسیم ۰/۲ مولار و ۳۳۵ میلی لیتر اسید کلریدریک ۰/۲ مولار، و بافر $pH = 4/5$ ، شامل ۴۰۰ میلی لیتر استات سدیم ۱ مولار، ۲۴۰ میلی لیتر اسید کلریدریک ۱ مولار و ۳۶۰ میلی لیتر آب مقطر تهیه شد. سپس ۵ میلی لیتر بافر $pH = 1$ را به ۰/۷ میلی لیتر عصاره چای ترش اضافه کرده و پس از گذشت ۱۵ دقیقه در دستگاه اسپکتروفوتومتر قرار داده شد و میزان جذب آن بدست آمد. همچنین ۵ میلی لیتر بافر $pH = 4/5$ نیز به ۰/۷ میلی لیتر عصاره اضافه شد و بعد از ۵ دقیقه جذب اندازه گیری شد. [20]. با استفاده از فرمول زیر میزان آنتوسیانین هر یک از نمونه ها بدست آمد:

$$A = \epsilon CL \text{ فرمول (۲)}$$

$$C \text{ mg}/100\text{ml} = \Delta A / \epsilon L \times M \times D$$

A : جذب که دستگاه نشان می دهد

L : طول سل که بر حسب سانتی متر است

D : فاکتور رقیق کردن است. (حجم نمونه / حجم بافر = D)

و میزان آنتوسیانین برای بهینه سازی فرآیند عصاره گیری از گیاه دارویی چای ترش پرداخته شده است. همچنین اثر مدت زمان نگهداری بر پارامترهای pH فعالیت آنتی اکسیدانی، ترکیبات فنولی و میزان آنتوسیانین در نوشابه ی تولیدی از عصاره چای ترش نیز مورد ارزیابی قرار گرفته است. در این تحقیق داده های تجربی با کمک مدل خطی زیر برازش داده شدند:

$$Y = b_0 + b_1 A + b_2 B$$

مقادیر پاسخ ها در فرآیند استخراج عصاره چای ترش در جدول (۱) و مقادیر پیش بینی شده توسط مدل در جدول (۲) آورده شده است. با توجه به نتایج فوق، می توان دریافت که بین مقادیر حاصل از آزمایشات و مقادیر پیش بینی شده توسط مدل، نزدیکی زیادی وجود دارد.

ΔA : اختلاف بین دو جذب در $pH = 1$ و $pH = 4/5$
 M : جرم مولکولی آنتوسیانین اصلی چای ترش که g/mol می باشد.

ϵ : جذب مولی، شاخص جذب مولی برای رنگدانه های خالص. جذب مولی سیانیدین ۳- گلایکوزید، آنتوسیانین اصلی در چای ترش $29/600 l/mol.cm$ می باشد. آماده سازی نمونه ها جهت اندازه گیری آنتوسیانین نوشابه همانند اندازه گیری آنتوسیانین عصاره انجام گرفت با این تفاوت که مقدار ۵ میلی لیتر نوشابه و ۵ میلی لیتر از هر یک از بافر های ۱ و ۴/۵ استفاده گردید. در نهایت نیز اعداد جذب در فرمول (۲) قرار گرفت و میزان آنتوسیانین محاسبه گشت.

۳- نتایج و بحث

در این پژوهش به بررسی اثرات شرایط متفاوت دمایی و زمانی بر پارامترهای فعالیت آنتی اکسیدانی، ترکیبات فنولی

جدول ۱- مقادیر پاسخ ها در فرآیند استخراج عصاره چای ترش

Time	Temp	Anthocyanins (mg/l)	Phenolic content(mgGAL/100ml)	DPPH%
10.00	60.00	57.2	60.89	58.53
15.00	75.00	79.96	67.49	65.37
15.00	75.00	83.61	66.23	59.06
15.00	75.00	63.75	65.62	59.82
15.00	90.00	78.94	70.42	66.31
20.00	90.00	77.91	71.47	69.33
20.00	75.00	83.6	68.56	65.48
10.00	75.00	62.47	61.57	64.46
15.00	75.00	63.76	65.94	60.09
10.00	90.00	79.18	69.72	67.24
15.00	60.00	51.76	59.04	59.72
20.00	60.00	64.4	59.18	60.88
15.00	75.00	83.62	67.42	58.27

جدول ۲- مقادیر پیش بینی شده توسط مدل در فرآیند استخراج عصاره چای ترش

Time	Temp	Anthocyanins (mg/l)	Phenolic content(mgGAL/100ml)	DPPH%
10.00	60.00	56.60	59.07	57.79
15.00	75.00	77.49	69.90	65.71
15.00	75.00	65.62	61.41	59.61
15.00	75.00	86.51	72.25	67.53
15.00	90.00	61.11	60.24	58.70
20.00	90.00	82.00	71.07	66.62
20.00	75.00	67.04	64.49	61.75
10.00	75.00	76.06	66.83	63.57
15.00	75.00	71.55	65.66	62.66
10.00	90.00	71.55	65.66	62.66
15.00	60.00	71.55	65.66	62.66
20.00	60.00	71.55	65.66	62.66
15.00	75.00	71.55	65.66	62.66

آنتوسیانین از زمان ۲۰ تا ۴۰ افزایش پیدا می کند و از زمان ۴۰ تا ۱۰۰ دقیقه تقریباً ثابت می باشد که به دلیل تثبیت تعادل بین حلال و مواد استخراج شده بود و بیشترین مقدار استخراج آنتوسیانین در زمان ۴۰ و برابر با ۵۶/۱۴ میلی گرم بر گرم بود. همچنین اثر استخراج را در دماهای ۶۰-۲۰ درجه سانتی گراد بررسی کردند که با افزایش دما از ۲۰ تا ۴۰ درجه سانتی گراد مقدار آنتوسیانین افزایش پیدا کرد و از ۵۴/۰۹ به ۶۲/۵۸ میلی گرم بر گرم رسید و بعد از آن با افزایش دما از ۴۰ تا ۶۰ درجه به دلیل تجزیه آنتوسیانین ها مقدار آن کاهش پیدا کرد و بهترین دما را ۴۰ درجه سانتی گراد گزارش کردند.[28].

هوانگ و همکاران در سال (۲۰۱۰)، بورگز و همکاران در سال (۲۰۱۱)، یانگ و همکاران در سال (۲۰۱۰)، فان و همکاران در سال (۲۰۰۷)، در تحقیقات مختلف نتیجه گیری کردند با افزایش دما و زمان عصاره گیری مقدار آنتوسیانین افزایش می یابد[29,30,31,32].

بنابراین با توجه به پارامتر دارای اثر معنی دار، معادله برازش داده شده در مورد این پاسخ بصورت زیر می باشد: $Y=71.55+10.44A$

۳-۱- بررسی مقدار آنتوسیانین استخراج شده از چای ترش

همان طور که در جدول (۳) مشاهده می شود مدل خطی برای مقدار آنتوسیانین استخراج شده از نظر آماری معنی دار بود ($p < 0.05$)، ولی آزمون ضعیف برازش آن معنی دار نبود ($p > 0.05$) که نشانگر تناسب مدل برازش یافته می باشد. عبارت معنی دار مدل شامل دما ($p < 0.05$) بود. زمان اثر معنی دار روی افزایش آنتوسیانین نداشت. شکل (۱-الف) نشان می دهد با افزایش دمای استخراج مقدار آنتوسیانین به صورت معنی دار افزایش یافته است. تاثیر دما در افزایش بازده استخراج آنتوسیانین با توجه به شکل (۱-ب) بارز تر بوده است. اثر مشاهده شده در افزایش مقدار آنتوسیانین را می توان به افزایش مدت زمان انتقال جرم نسبت داد[27].

تانگ و همکاران در سال (۲۰۱۱) اثر استخراج آنتوسیانین های شاه توت با کمک اولتراسوند را در زمان های ۲۰ تا ۱۰۰ دقیقه بررسی کردند که مشخص شد مقدار استخراج

جدول ۳- آنالیز واریانس مدل خطی پارامتر انتوسیانین

منابع تغییر	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F مقدار	Prob > F
Model	776.63	2	388.31	5.27	0273*/0
A	654.59	1	654.59	8.89	0138/0
B	122.04	1	122.04	1.66	2270/0
Residual	736.37	10	73.64	-	-
Lack of Fit	310.45	6	51.74	0.49	7950ns/0
R-Squared	0.6133	-	-	-	-
Adj R-Squared	0.5160	-	-	-	-
C.V.	11.99	-	-	-	-
Std. Dev.	8.58	-	-	-	-

۳-۲- بررسی مقدار ترکیبات فنلی

همان طور که در جدول (۴) مشاهده می شود مدل خطی میزان ترکیبات فنولی کل از نظر آماری معنی دار بوده ($p < 0/01$)، ولی آزمون ضعف برازش آن معنی دار نمی باشد ($p > 0/05$) که نشانگر تناسب مدل برازش یافته می باشد. عبارت های معنی دار مدل شامل دما ($p < 0/01$) بود. نتایج بدست آمده از جدول (۴) برای $R-Squared=0.8633$ و $Adj R-Squared=0.8360$ بیانگر تطبیق بسیار خوب مدل محاسباتی با نقاط آزمایش شده و دقت بالا مدل می باشد. شکل های (۱-پ) و (۱-ت) نشان می دهند با افزایش دما مقدار استخراج ترکیبات فنلی افزایش داشته است و تاثیر دما در این افزایش بارز تر است. دماهای بالاتر استخراج می تواند منجر به نرم شدن بافت گیاهی، تخریب اتصالات ترکیبات فنولی با پروتئین ها و پلی ساکاریدها و افزایش قابلیت انحلال ترکیبات فنولی شده که این اثرات، می تواند انتقال جرم را بهبود دهد. این امر نیز افزایش میزان استخراج ترکیبات فوق در دماهای بالاتر استخراج را بدنبال دارد [27]. شاددل و همکاران (۱۳۹۰) در استخراج ترکیبات فنولیک از بنه به روش مادون بحرانی نشان دادند تاثیر زمان بر میزان ترکیبات فنولیک به صورت تقریباً خطی است و افزایش زمان

استخراج، موجب افزایش میزان ترکیبات فنولی عصاره شد. همچنین با افزایش دما نیز، ترکیبات فنولیک تا حدی زیاد می شود اما بین دماهای مختلف تفاوت معنی داری مشاهده نشد [22].

راجائی و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند استخراج ترکیبات فنولیک از پوست سبز پسته تا زمان ۲۰ دقیقه با سرعت زیاد و از ۲۰ تا ۴۵ با سرعت کم و از ۴۵ تا ۶۰ دقیقه تقریباً ثابت بود. همچنین استخراج ترکیبات فنولیک از پوست سبز پسته نشان داد که روند استخراج تا دمای ۶۵ درجه سانتی گراد زیاد می شود و از ۶۵ تا ۸۵ درجه سانتی گراد ثابت است و تغییر معنی داری ندارد [33].

زمان و همکاران (۲۰۱۲) روند افزایش دما را روی *jackfruit* بررسی کردند که مشخص شد ابتدا با افزایش دما افزایش ترکیبات فنولیک را داریم اما بعد مدتی که دما زیاد بالا رود بدلیل تجزیه، کاهش ترکیبات فنولیک را خواهیم داشت [34]. بنابراین با توجه به پارامتر دارای اثر معنی دار، معادله برازش داده شده در مورد این پاسخ به این صورت می باشد: $Y=65.66+5.42A$

جدول ۴- آنالیز واریانس مدل خطی پارامتر ترکیبات فنلی

منابع تغییر	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F مقدار	Prob > F
<i>Model</i>	184.28	2	92.14	31.58	< 0.0001*
<i>A</i>	176.0	1	176.04	60.34	< 0.0001
<i>B</i>	8.2	1	8.24	2.82	0.1238
<i>Residual</i>	29.18	10	2.92	-	-
<i>Lack of Fit</i>	26.20	6	4.37	5.86	0.0544 ^{ns}
<i>R-Squared</i>	0.8633	-	-	-	-
<i>Adj R-Squared</i>	0.8360	-	-	-	-
<i>C.V.</i>	2.60	-	-	-	-
<i>Std. Dev.</i>	1.71	-	-	-	-

براحتی توجیه نمود. شاددل و همکاران (۱۳۹۰)، بیان کردند تاثیر دما بر روی قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH بسیار معنی دار می باشد و میزان قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH با افزایش دما تا حد خاصی افزایش نشان می دهد. [22]. دونگ روئی و همکاران (۲۰۱۱)، تاثیر زمان های ۵ الی ۴۰ دقیقه را روی دانه ی گیلاس بررسی کردند که از زمان ۵ تا ۳۰ دقیقه افزایش قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH و بعد آن کاهش نشان داد که بهترین زمان ۳۰ دقیقه بود. همچنین تاثیر دماهای (۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰ درجه سانتی گراد) روی دانه گیلاس بررسی کردند که تا دمای ۶۰ درجه قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH زیاد می شود و بعد آن بدلیل تجزیه شدن ترکیبات آنتی اکسیدانی، کاهش را در قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH خواهیم داشت که بهترین دما ۶۰ درجه بود [36].

کیشک و همکاران (۲۰۱۰) بیان کردند قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH در زنجبیل تا زمان ۳۰ دقیقه زیاد شد و بعد آن ثابت ماند. همچنین قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH زنجبیل از دمای ۲۰ الی ۵۴ درجه سانتی گراد زیاد شد و بعد آن بدلیل تجزیه شدن ترکیبات آنتی اکسیدانی کاهش پیدا کرد [37]. بنابر این با توجه به پارامتر دارای اثر معنی دار، معادله برازش داده

۳-۳- بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی

نتایج تجزیه واریانس جدول (۵) نشان می دهد مدل خطی برای مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی از نظر آماری معنی دار بود ($p < 0.05$)، ولی آزمون ضعف برازش آن معنی دار نبود ($p > 0.05$) که نشانگر تناسب مدل برازش یافته می باشد. عبارت معنی دار مدل دما ($p < 0.05$) بود. شکل (۱-ج) نمایش سه بعدی از اثر دما و زمان استخراج را نشان می دهد. با افزایش دمای استخراج مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی به صورت معنی دار افزایش یافته است. شکل (۱-چ) نشان می دهد که افزایش دما در فرایند استخراج تاثیر بیشتری روی افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی داشته است. محققین بسیاری گزارش کرده اند که میزان ترکیبات فنولی تاثیر بسزایی بر فعالیت آنتی اکسیدانی دارد که این امر بدلیل قابلیت احیا کنندگی بالای این ترکیبات و نیز توانایی دادن هیدروژن به رادیکال های فعالی نظیر DPPH می باشد [35].

ترکیبات فنلی نیز با افزایش دما افزایش داشته اند پس می توان اثر افزایش دما را در افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی

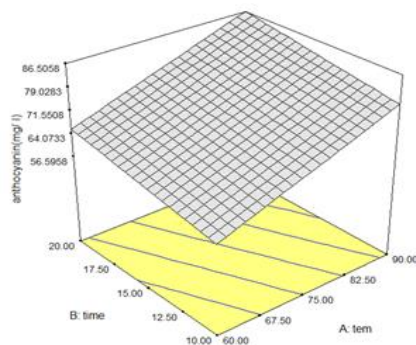
شده در مورد این پاسخ به این صورت می باشد :

$$Y=62.66+3.96A$$

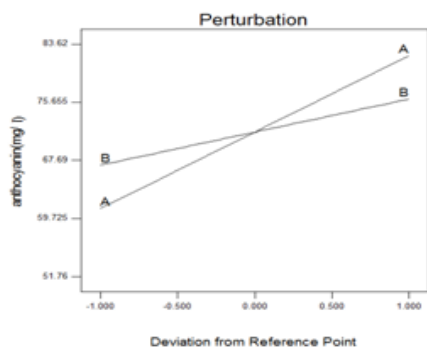
جدول ۵- آنالیز واریانس مدل خطی پارامتر فعالیت انتی اکسیدانی

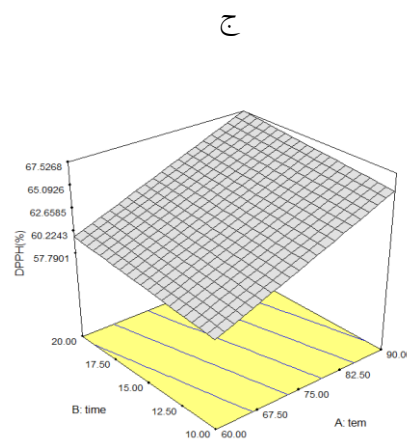
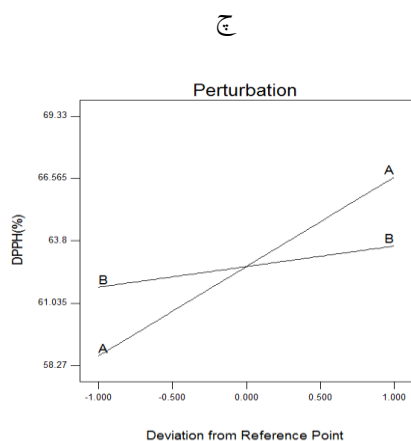
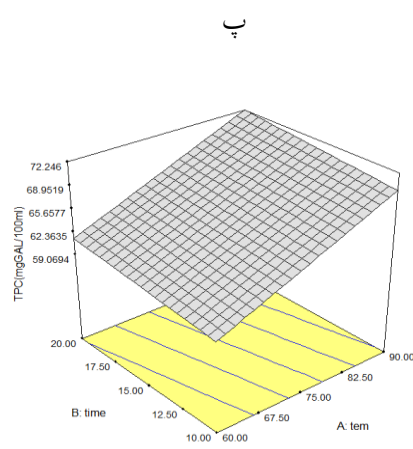
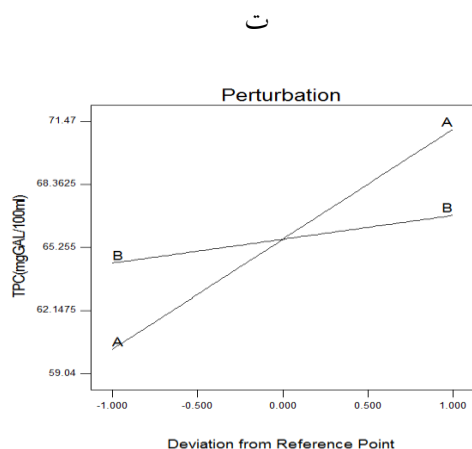
منابع تغییر	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F مقدار	Prob > F
<i>Model</i>	98.98	2	49.49	6.68	0.0144*
<i>A</i>	94.01	1	94.01	12.68	0.0052
<i>B</i>	4.97	1	4.97	0.67	0.4320
<i>Residual</i>	74.12	10	7.41	-	-
<i>Lack of Fit</i>	42.73	6	7.85	0.91	0.5650ns
<i>R-Squared</i>	0.6718	-	-	-	-
<i>Adj R-Squared</i>	0.5862	-	-	-	-
<i>C.V.</i>	4.34	-	-	-	-
<i>Std. Dev.</i>	2.72	-	-	-	-

الف



ب





شکل ۱- اثر متغیرهای مستقل روی میزان استخراج آنتوسیانین (الف و ب)، ترکیبات فنلی (پ و ت)، میزان فعالیت آنتی اکسیدانی (ج و ح)

گردید. با استفاده از تکنیک تابع مطلوبیت^۱ بهترین پاسخ ها بدست آمد. نتایج مربوط به دو نقطه بهینه در جدول (۷) نشان داده شده است.

۳-۴- بهینه سازی فرایند استخراج

در فرایند استخراج عصاره چای ترش، دستیابی به بیشترین میزان ترکیبات فنولی، آنتوسیانین و نیز حداکثر فعالیت آنتی اکسیدانی به عنوان اهداف مورد نظر آزمایشات در تجزیه و تحلیل های آماری مورد نظر قرار گرفت. شرایط عملیات بهینه، با استفاده از تکنیک بهینه سازی عددی انجام شد. بدین منظور، در ابتدا اهداف بهینه سازی، سطوح پاسخ و متغیرهای مستقل تنظیم

^۱- Desirability function method

جدول ۶- نتایج بهینه سازی فرایند استخراج عصاره چای ترش

Number	temperature	time	anthocyanin(mg/ml)	DPPH(%)	TPC(mgGAL/100ml)	Desirability
1	71.41	18.81	72.493	62.4062	65.2564	0.823
2	77.13	10.00	68.5267	62.3116	65.2566	0.809

شده تنها در فرمول C (۵ گرم شکر +۳۰ میلی لیتر عصاره چای ترش +۵۰ میلی لیتر آب گازدار) که دارای بیشترین میزان شکر بود از ماه دوم به بعد افزایش در میزان فعالیت آنتی اکسیدانی دیده شد. همچنین مشخص شد که کمترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به فرمول C در ماه اول و بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی نیز مربوط به همین فرمولاسیون اما در ماه سوم بوده است. با توجه به شکل می توان دریافت در ماه صفر اختلاف معنی داری از لحاظ میزان فعالیت آنتی اکسیدانی بین فرمولاسیون های A (۰/۱) گرم استویا +۳۰ میلی لیتر عصاره چای ترش +۵۰ میلی لیتر آب گازدار) و B (۰/۰۲) گرم استویا +۱/۵ گرم شکر +۳۰ میلی لیتر عصاره چای ترش +۵۰ میلی لیتر آب گازدار) و D (۰/۰۲) گرم استویا +۳ گرم شکر +۳۰ میلی لیتر عصاره چای ترش +۵۰ میلی لیتر آب گازدار) وجود نداشته اما فرمولاسیون C با کمترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی اختلاف معنی داری با سه فرمولاسیون دیگر داشت. در ماه اول بین فرمولاسیون B و D اختلاف معنی داری از لحاظ میزان آنتی اکسیدان وجود نداشت اما سایر فرمول ها اختلاف معنی داری با یکدیگر داشتند. در ماه دوم بین فرمولاسیون A و C اختلاف معنی دار آماری از لحاظ میزان آنتی اکسیدان مشاهده نشد همچنین فرمولاسیون های B و D نیز اختلاف معنی دار آماری با یکدیگر نداشتند. در ماه سوم بین فرمولاسیون های A و B اختلاف معنی دار آماری از نظر میزان آنتی اکسیدان مشاهده نشد اما سایر فرمولاسیون ها دارای اختلاف معنی دار آماری

۳-۵- بررسی ویژگی های فیزیکی شیمیایی نوشابه تولیدی

در طی ۳ ماه نگهداری

۳-۵-۱- بررسی تغییرات فعالیت آنتی اکسیدانی نوشابه در

مدت زمان نگهداری

جدول تجزیه واریانس (V) و همچنین شکل (۲-الف)، نشان داد از نظر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی بین ۴ فرمولاسیون نوشابه چای ترش اختلاف معنی دار آماری وجود نداشت ($P > 0.05$). با توجه به شکل (V) بیشترین مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به فرمولاسیون A (۰/۱) گرم استویا +۳۰ میلی لیتر عصاره چای ترش +۵۰ میلی لیتر آب گازدار) بود که نسبت به سایر فرمول ها دارای بیشترین میزان استویا بود. شکل (۳-الف)، نشان می دهد روند کاهشی در میزان فعالیت آنتی اکسیدانی، طی مدت نگهداری وجود داشته است. بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در ماه صفر مشاهده شد و بعد از آن در ماه های اول و دوم و سوم اختلاف معنی داری از لحاظ میزان فعالیت آنتی اکسیدانی مشاهده نشد ($P > 0.05$). کمترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی نیز مربوط به ماه سوم بود.

شکل (۴-الف)، تاثیر متقابل مدت زمان نگهداری و فرمولاسیون های مختلف نوشابه را بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی نوشابه چای ترش نشان می دهد. با توجه به شکل (۴-الف) مشخص شده اثر متقابل زمان و فرمولاسیون های مختلف نوشابه چای ترش باعث کاهش میزان فعالیت آنتی اکسیدانی گردیده و تمام فرمولاسیون های نوشابه چای ترش با گذشت زمان از میزان فعالیت آنتی اکسیدانی شان کاسته

اکسیدانی ($TEAC^{10}$) بدست آمده از روش *DPPH* برای آب پرتقال نگهداری شده در شرایط یکسان اندکی کاهش داشته. حال اگر کاهش در فعالیت آنتی اکسیدانی مشاهده شد ممکن است مربوط به کاهش ترکیبات فنلی و ویتامین C نسبت به آبمیوه تازه باشد و اگر افزایش در میزان فعالیت آنتی اکسیدانی مشاهده شد معمولاً به محصولات واکنش مایلارد نسبت داده می شود. پاینل^{۱۱} و همکاران در سال (۲۰۰۴) نشان دادند که چندین ترکیب غذایی مانند کارتنوئید، ویتامین C، ویتامین E، ترکیبات فنولی و اثرات متقابل شان منجر به فعالیت آنتی اکسیدانی کلی غذاها می شود و اندازه گیری آنتی اکسیدان کل بر اساس ترکیبات فعال اختصاصی دشوار است [41,42,43]. جاکبک^{۱۲} و همکارانش در سال (2007) (مطالعه ای را در مورد فعالیت آنتی اکسیدانی و آنتوسیانین از عصاره میوه جات قرمز انجام دادند که نتایج کلی نشان داد که بین محتوای آنتوسیانین و فعالیت آنتیاکسیدانی آنها ارتباط مستقیم وجود دارد و عصاره ی میوه های قرمز می توانند به عنوان یک منبع خوب از ترکیبات آنتیاکسیدانی در رژیم غذایی انسان باشند [44]

از این نظر بودند ($P < 0.05$). در نهایت با توجه به شکل (۴- الف) مشخص می شود که کمترین مقدار آنتی اکسیدان مربوط به فرمولاسیون C در ماه اول و بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی نیز مربوط به همین فرمولاسیون اما در ماه سوم بوده است. در این راستا کارینو^۱ و همکاران در سال (۲۰۰۶) تحقیقاتی انجام دادند که ثابت کرد عصاره های متانولی گونه های مختلف استویا به دلیل دارا بودن فلاونوئیدها^۲، آلکالوئیدها^۳، گزانتوفیلها^۴ و هیدروکسی سینامیک اسیدها^۵ خاصیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی را نشان می دهند [38]. همچنین تحقیقاتی دیگر نشان دادند حضور ترکیبات فلاونوئیدی در عصاره های استویا موجب می شود تا این عصاره ها از قدرت آنتی اکسیدانی بی نظیری برخوردار باشند [38,39]. همچنین ویلر و همکاران در سال (۲۰۰۸) نشان دادند استویزید به عنوان یکی از سه ترکیب غالب در عصاره های استویا ربادیانا دارای بیشترین قدرت آنتی اکسیدانی می باشد [40]. آرناء^۶ و همکاران در سال (۱۹۹۹) نشان دادند که فعالیت آنتی اکسیدانی آبمیوه پرتقال تهیه شده از کنسانتره پرتقال بعد از ۲ ماه نگهداری افزایش می یابد. پیگا^۷ و همکاران در سال (۲۰۰۲) نیز آب پرتقال مانداری^۸ را در ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ روز نگهداری کردند و نشان دادند که فعالیت آنتی اکسیدانی آن افزایش یافته اما در مقابل دل کارو^۹ و همکاران در سال (۲۰۰۴) نشان دادند ظرفیت آنتی

- 1- Carino
- 2- Flavonoids
- 3- Alchalooids
- 4- Xanthophils
- 5- Hydroxy Cinnamic Acids
- 6- Arena
- 7-Piga
- 8- mandarin
- 9-Del Caro

10-trolox equivalent antioxidant capacity
11- Pinelo
12 -Jakobek

جدول ۷- تجزیه واریانس تغییرات صفات مورد بررسی در طی دوره نگهداری نوشابه

منبع تغییر	درجه آزادی	pH	آنتوسیانین	فعالیت آنتی اکسیدانی	ترکیبات فنلی
سطوح تکرارها	۳	۰/۰۷۷ **	۰/۶۱۳ **	۵۸/۳۳ ns	۶۵/۴۷ ns
سطوح تیمارها	۳	۰/۲۳۵ **	۰/۰۹۰ **	۱۴۸۵/۷۶ **	۸۵/۱۴ ns
خطا	۴۱	۰/۰۰۲	۰/۲۷۸	۱۴۲/۰۶	۴۰/۰۸
ضریب تغییرات (CV)		۱/۸۵	۵/۸۹	۲۱/۹۷	۴۶/۸۲

n.s: فاقد اختلاف معنی دار آماری

*: معنی داری

**: کاملاً معنی دار

میزان آنتوسیانین در ماه اول را نیز دارا بود اختلاف معنی دار آماری از لحاظ میزان آنتوسیانین وجود داشت ($P < 0.05$). در ماه دوم و سوم بین تمام فرمول های نوشابه چای ترش اختلاف معنی دار آماری از نظر میزان آنتوسیانین وجود داشت. بیشترین میزان آنتوسیانین مربوط به فرمول A در ماه صفر و کمترین میزان نیز مربوط به فرمول C در ماه سوم بود.

در این راستا داراوینگاس^۱ و همکاران در سال (۱۹۶۸) طی تحقیقاتی نشان دادند تمام قندهای آزمایش شده (مثل ساکاروز، فروکتوز، گلوکز و گزیلوز)، همگی به یک روش تخریب آنتوسیانین را افزایش دادند [45]. طی تحقیقاتی که توسط تینسلی و بوکیان (۱۹۶۰) در مورد آنتوسیانین پلارگونیدین ۳- مونوگلوکوزید موجود در توت فرنگی انجام گرفت، مشخص گردید که تجزیه آنتوسیانین در حضور واکنش های قهوه ای شدن و ترکیباتی از قبیل گلوکورونیک، فروکتوز، هیدروکسی متیل فورفورال و آمینواسیدها بیشتر می شود. مواد حاصل از تجزیه، ترکیبات قرمز متمایل به قهوه ای غیر محلول هستند که تدریجاً رسوب می کنند. میزان انهدام آنتوسیانینها در شرایطی که اکسیداسیون ویتامین C زیاد شود به حداکثر می رسد. روسو^۲ و همکاران در سال (۲۰۰۷) نشان دادند که اضافه کردن قندها و نمکها اثر منفی روی پایداری

۳-۵-۲- بررسی تغییرات آنتوسیانین کل

جدول تجزیه واریانس (۷)، نشان داد از نظر مقدار آنتوسیانین بین فرمول C و D اختلاف معنی دار آماری وجود نداشت اما بین سایر فرمول ها اختلاف معنی دار آماری در سطح (۰/۰۵) $P <$ وجود داشت. همچنین با توجه به شکل (۲-ب) مشخص گردید بیشترین و کمترین میزان آنتوسیانین به ترتیب مربوط به فرمولاسیون های B و C بوده است. شکل (۳-ب) نشان می دهد بیشترین و کمترین میزان آنتوسیانین به ترتیب مربوط به ماه صفر و سوم بوده است و مشخص گردیده با گذشت زمان از میزان آنتوسیانین ها کاسته شده. با توجه به جدول (۷) تفاوت کاملاً معنی داری بین تمام ماه های نگهداری از لحاظ میزان آنتوسیانین مشاهده گردید. شکل (۴-ب) اثر متقابل مدت زمان نگهداری و فرمولاسیون های مختلف نوشابه چای ترش را بر میزان آنتوسیانین نشان می دهد. که مشخص کرده با گذشت زمان میزان آنتوسیانین فرمول های نوشابه چای ترش کاهش یافته بود. در این شکل مشخص گردیده که در روز صفر بین سه فرمول B و C و D اختلاف معنی داری از لحاظ میزان آنتوسیانین وجود نداشت اما بین این سه فرمول و فرمول A که بیشترین میزان آنتوسیانین را نیز در ماه صفر داشته، اختلاف معنی دار آماری وجود داشت. در ماه اول نیز بین سه فرمول A و B و C اختلاف معنی داری وجود نداشت اما بین این سه فرمول و فرمول D که کمترین

1- Daravingas

2- rosso

بیشترین میزان ترکیبات فنولی نوشابه در ماه اول مشاهده شد و تنها بین ماه های دوم و سوم اختلاف معنی داری از لحاظ میزان ترکیبات فنولی بین فرمولاسیون های نوشابه مشاهده نشد. شکل (۴-ج) تاثیر مدت زمان نگهداری و فرمولاسیون های مختلف نوشابه را بر میزان ترکیبات فنولی نوشابه چای ترش نشان می دهد. با توجه به شکل می توان دریافت در ماه صفر بین فرمولاسیون های A و B و C اختلاف معنی دار آماری از لحاظ میزان ترکیبات فنولی وجود نداشته اما بین این سه فرمول و فرمول D اختلاف معنی دار آماری وجود داشته است. در ماه اول تنها بین فرمول A و C اختلاف معنی داری از لحاظ میزان ترکیبات فنولی وجود نداشت. در ماه دوم نیز بین فرمول های B و C و D اختلاف معنی داری از لحاظ میزان ترکیبات فنولی وجود نداشت ولی بین این سه فرمول و فرمول A که بیشترین میزان ترکیبات فنولی در ماه دوم را دارا بود، اختلاف معنی دار آماری مشاهده گردید. در ماه سوم تنها بین فرمول A و C اختلاف معنی دار از لحاظ میزان ترکیبات فنولی مشاهده نشد. ($P > 0.05$). با توجه به شکل (۴-ج) بیشترین ترکیبات فنولی در فرمول D در ماه اول مشاهده شد. همانطور که در شکل (۳-ج) مشخص است در ماه اول افزایش قابل توجه ترکیبات فنولی نسبت به ماه صفر مشاهده شده و بعد از آن از میزان ترکیبات فنولی کاسته شده است.

دل کارو^۲ و همکاران در سال (۲۰۰۴) نشان دادند ظرفیت آنتی اکسیدانی ($TEAC^3$) بدست آمده از روش DPPH برای آب پرتقال نگهداری شده در شرایط یکسان اندکی کاهش داشته. حال اگر کاهش در فعالیت آنتی اکسیدانی مشاهده شد ممکن است مربوط به کاهش ترکیبات فنولی و ویتامین C نسبت به آبمیوه تازه باشد و اگر افزایش در میزان فعالیت آنتی اکسیدانی مشاهده شد معمولاً به محصولات واکنش مایلارد نسبت داده می شود. کلیمزا^۴ و همکاران در سال (۲۰۰۶) نشان

آنتوسیانین دارد. بنابراین می توان بیشتر بودن میزان آنتوسیانین فرمول B را به کمتر بودن میزان ساکارز آن نسبت به فرمول C و D نسبت داد [46,47].

بخشایشی در سال (۱۳۸۴) نشان داد که با افزایش pH تخریب آنتوسیانین های تمام واریته های سیب مورد بررسی افزایش یافت و در pH های اسیدی آنتوسیانین ها مقاومت بیشتری نشان می دهند. بنابراین کمتر بودن میزان آنتوسیانین فرمول A نسبت به فرمول B با توجه به نبود ساکارز در این فرمول را می توان با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق توجیه کرد. چرا که فرمول A نسبت به سایر فرمول ها دارای pH بیشتری است [48]. بین^۱ و همکارانش در سال (۱۹۴۳) و همچنین پدرسون و همکارانش در سال (۱۹۷۴) کاهش همزمان آنتوسیانین و اسید آسکوربیک را در حین نگهداری عصاره های میوه تایید می کنند. از طرف آنها انجام واکنش بین این دو ماده پیشنهاد گردید [6]. Marti و همکاران در سال (۲۰۰۲) نشان دادند آنتوسیانین های آب انار (که شامل سیانیدین ۳-گلوکوزید نیز می باشد) پایداری کمی در طی نگهداری دارند و با گذشت زمان میزان آنها کاهش می یابد [49]. همتی کاخکی و همکاران در سال (۱۳۶۶) در بررسی ماندگاری کنستانتره در طول نگهداری کنستانتره زرشک در ۴ درجه سانتی گراد مشاهده کردند شدت رنگ در طول زمان ۶ ماه نگهداری کاهش یافت [10].

۳-۵-۳- بررسی تغییرات ترکیبات فنولی

جدول تجزیه واریانس (V)، نشان داد از نظر مقدار ترکیبات فنولی بین فرمول A و C اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد اما سایر فرمول ها اختلاف معنی دار آماری در سطح ($p < 0.05$) با یکدیگر داشتند.

شکل (۲-ج) نشان می دهد بیشترین میزان ترکیبات فنولی مربوط به فرمولاسیون D و کمترین مقدار مربوط به فرمولاسیون B بوده است. شکل (۳-ج)، نشان می دهد

2-Del Caro

3-trolox equivalent antioxidant capacity

4-Klimeza

1-Binen

مخمرها توجیه شود به طوریکه با مصرف قند موجود در نوشابه ها و تولید اسید، باعث کاهش pH نمونه ها می شوند. [4,49,50].

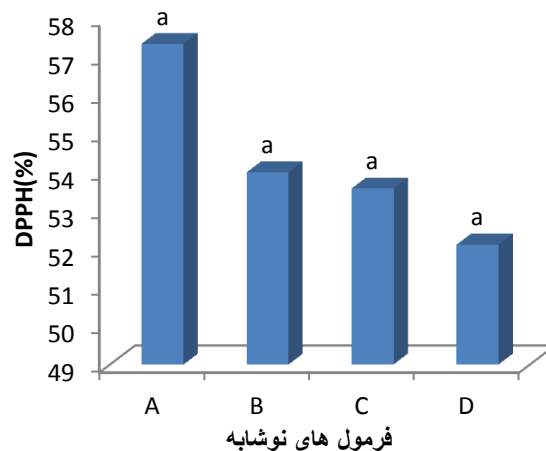
تحقیقات نشان داده است هرچند که انواع میکروارگانیسم ها می توانند در نوشابه ها یافت شوند ولی فقط تعداد کمی از آن ها که اسید دوست هستند دارای حضور موثر می باشند. عواملی مانند pH ، اسیدیته، میزان قند و وجود ترکیبات نگهدارنده معمولا از رشد مخمرها جلوگیری می کند ولی مخمرهای مولد فسادمانند *lipolytica S. cerevisiae* و *Candida Zygosaccharomyces bailii* گاهی می توانند براین شرایط غلبه کنند و بنابراین مهمترین گروه میکروارگانیسم های موجود در نوشابه ها هستند که شرایط اسیدی را می توانند تحمل کنند [51]. بتی^۱ و همکاران در سال (۲۰۰۲) نیز به نتایج مشابهی دست یافتند و ادگک^۲ و همکاران در سال (۱۹۹۵) نیز نشان دادند که در نوشیدنی های تخمیری بعد از 48 ساعت نگهداری pH از ۵/۱ به ۴/۳ کاهش نشان داده است. [52,53]. همچنین میرزایی و همکاران در سال (۱۳۸۸) طی بررسی هایی که بر روی پایداری نوشابه های غیر الکلی گازدار حاوی سوکروز و شربت ذرت غنی از فروکتوز در طول دوران نگهداری انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که در طول دوران نگهداری و بر اثر دو عامل دما و زمان، pH نمونه های نوشابه ی حاوی شربت ذرت غنی از فروکتوز و نمونه های شاهد، به طور معنی داری کاهش یافته است که این اثر می تواند با رشد مخمرها در این شرایط توجیه شود [49]. الهامی و همکاران در سال (۱۳۸۴)، حسنی در سال (۱۳۸۴)، همتی کاخکی و همکارانش در سال (۱۳۶۶) طی تحقیقات مختلف مشخص کردند با گذشت زمان تغییرات قابل توجهی در میزان pH نمونه ها ایجاد نشده بود. [4,6,10].

دادند که بعد از ۴ ماه نگهداری نوشیدنی پرتقال تحت شرایط تجربی استفاده شده میزان ترکیبات فنولی کاهش یافت و در انتهای نگهداری میزان ترکیبات فنولی افزایش پیدا کرد. که علت آن می تواند تشکیل شدن موادی در طول نگهداری باشد که با معرف فولین سلیکاتیو واکنش نشان داده و باعث افزایش ترکیبات فنولی کل شده است. [42,48].

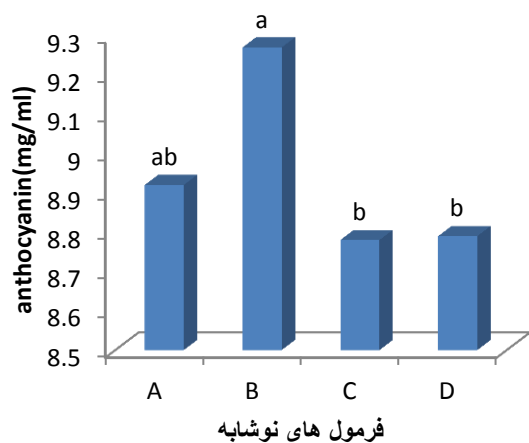
۳-۵-۴- بررسی تغییرات pH

جدول تجزیه واریانس (۷)، نشان داد از نظر میزان pH بین سه فرمول B و C و D اختلاف معنی دار آماری وجود نداشته است اما فرمول A با داشتن بیشترین میزان pH اختلاف معنی دار آماری در سطح ($P < 0/05$) با سه فرمول دیگر داشت. شکل (۳-د)، نشان می دهد که یک روند کاهشی در میزان pH از ماه اول نگهداری به بعد با گذشت زمان وجود داشته است. همچنین مشخص شده که بیشترین میزان pH در ماه صفر مشاهده شده و بین ماه صفر و اول از لحاظ میزان pH اختلاف معنی داری وجود نداشته ($P > 0/05$) اما سایر ماه های نگهداری دارای اختلاف معنی دار آماری از لحاظ میزان pH بوده اند ($P < 0/05$). شکل (۴-د) اثر متقابل مدت زمان نگهداری و فرمولاسیون های مختلف نوشابه را بر میزان pH نوشابه چای ترش نشان می دهد. در این شکل مشخص گردیده که در ماه صفر، دو فرمول C و D از لحاظ میزان pH اختلاف معنی داری با هم نداشتند اما سایر فرمول ها از این نظر دارای اختلاف معنی دار بودند ($P < 0/05$). همچنین مشخص شد که در ماه های اول و دوم و سوم هر چهار فرمول نوشابه چای ترش از لحاظ میزان pH اختلاف معنی دار آماری با یکدیگر داشتند. بیشترین میزان pH نیز مربوط به فرمول A در ماه اول بوده است و همانطور که از شکل (۳-د) پیداست میزان pH از ماه اول به بعد با گذشت زمان کاهش پیدا کرده است. عنوان شده تغییرات pH و اسیدیته در اغلب موارد ناشی از واکنش های شیمیایی و بیولوژیکی می باشد. بنابر این کاهش pH میتواند با رشد

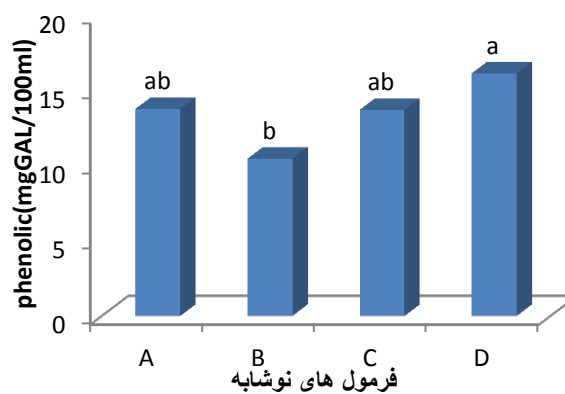
الف



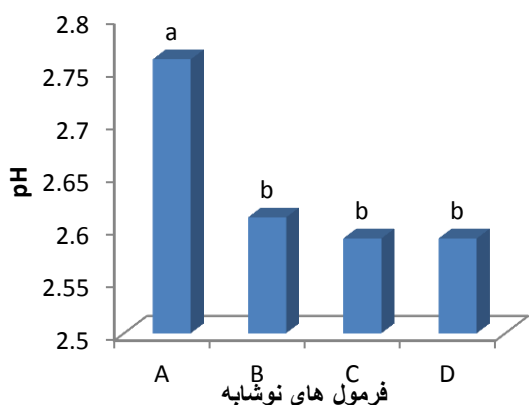
ب



ج



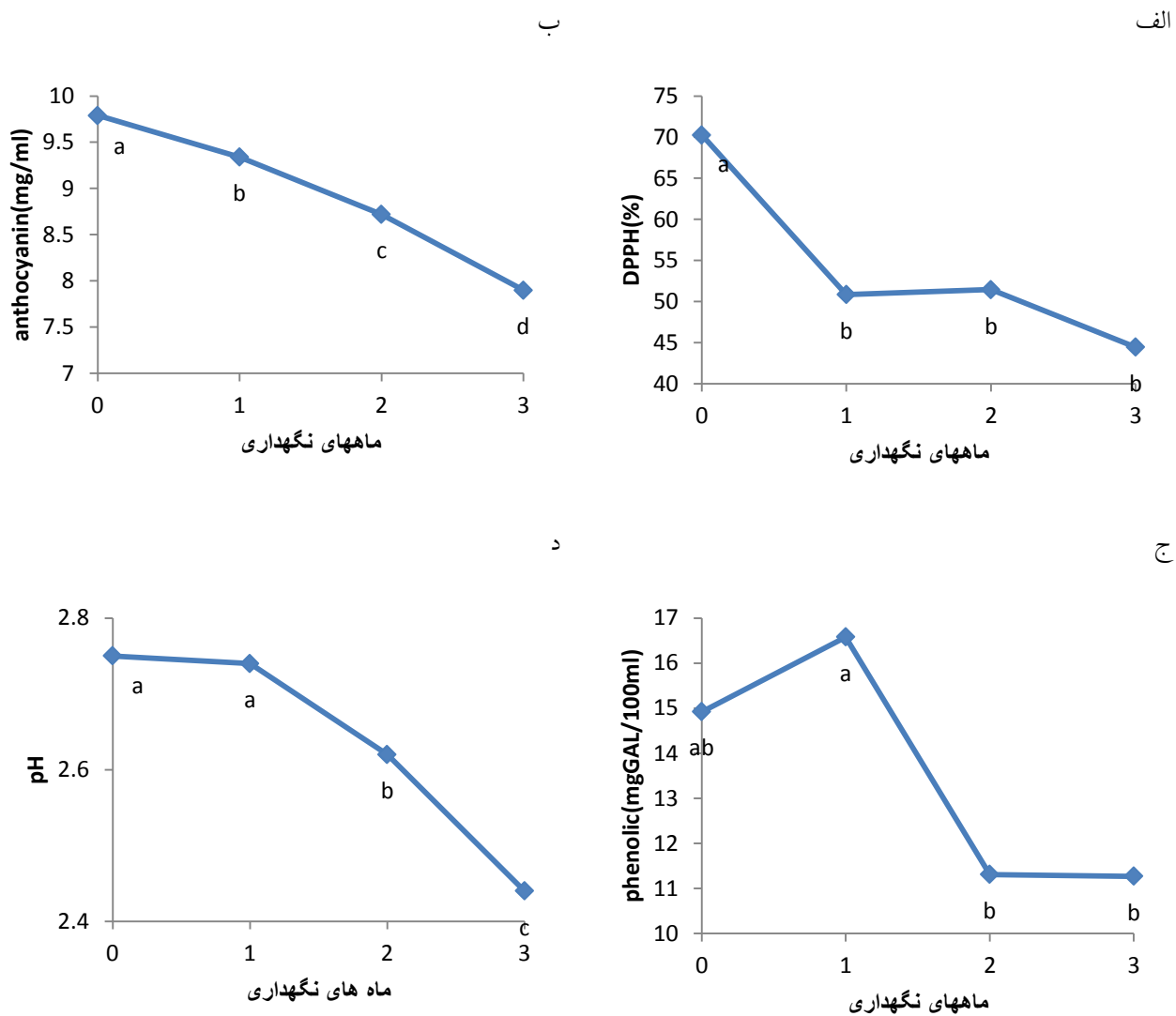
د



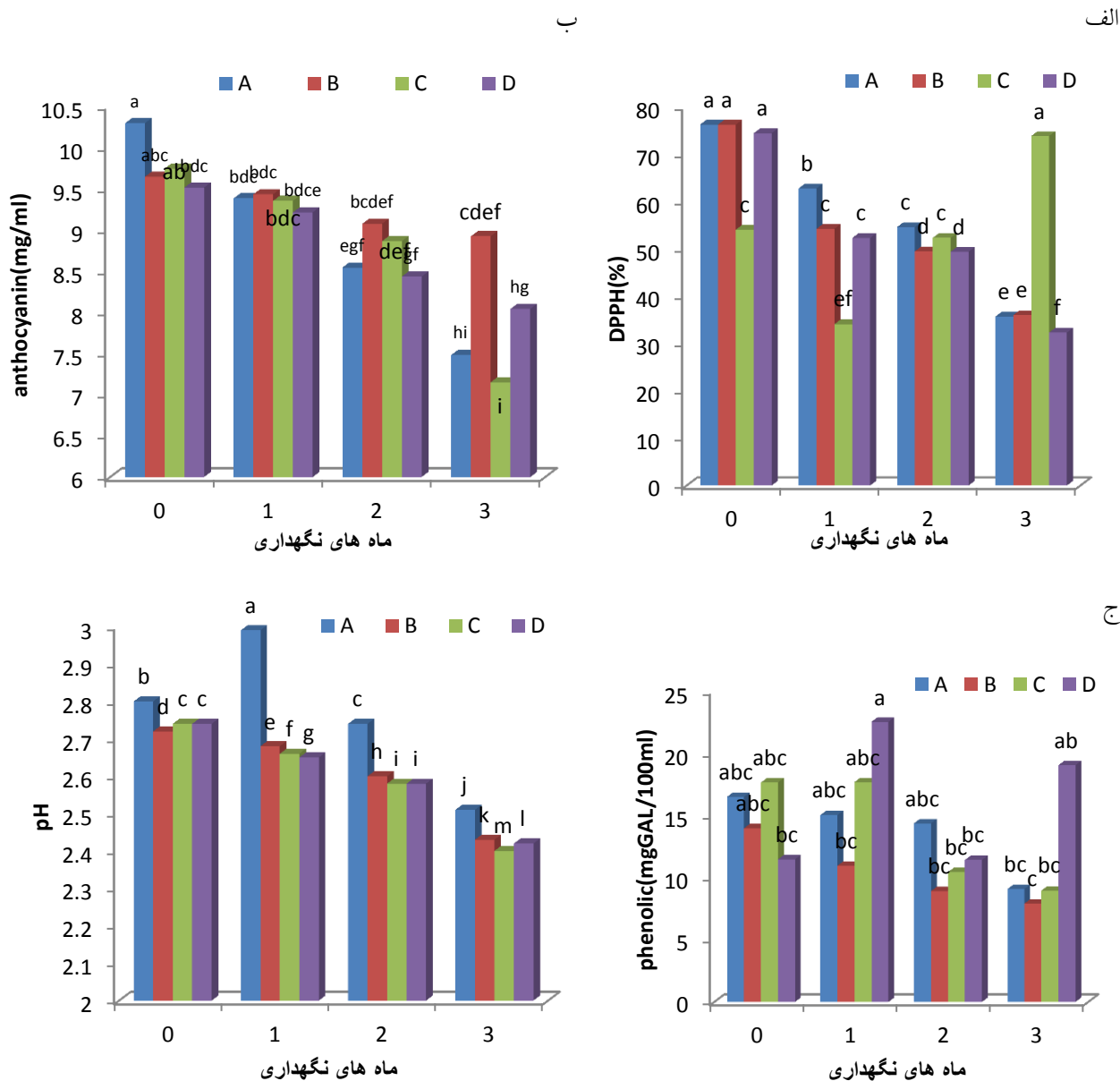
شکل ۲- تاثیر فرمولاسیون های مختلف نوشابه روی فعالیت آنتی اکسیدانی (الف)، مقدار آنتوسیانین کل (ب)، مقدار ترکیبات فنولی (ج)، pH (د)

فرمول C: (۵ گرم شکر + ۳۰ میلی لیتر عصاره چای ترش + ۵۰ میلی لیتر آب گازدار)
 فرمول D: (۰/۰۲ گرم استویا + ۳ گرم شکر + ۳۰ میلی لیتر عصاره چای ترش + ۵۰ میلی لیتر آب گازدار)

فرمول A: (۰/۱ گرم استویا + ۳۰ میلی لیتر عصاره + ۵۰ میلی لیتر آب گازدار)
 فرمول B: (۰/۰۲ گرم استویا + ۱/۵ گرم شکر + ۳۰ میلی لیتر عصاره چای ترش + ۵۰ میلی لیتر آب گازدار)



شکل ۳- تغییرات فعالیت آنتی اکسیدانی (الف)، آنتوسیانین کل (ب)، مقدار ترکیبات فنلی (ج)، pH (د) در طی سه ماه نگهداری نوشابه



شکل ۴- اثر متقابل زمان نگهداری و نوع فرمولاسیون نوشابه روی فعالیت آنتی اکسیدانی (الف)، مقدار آنتوسیانین (ب)، مقدار ترکیبات فنلی (ج)، pH (د).

باشد که در این شرایط بهینه میزان آنتوسیانین ۷۲/۴۹۳ میلی گرم در لیتر، میزان فعالیت آنتی اکسیدانی ۶۲/۴۰۶۲ درصد و میزان ترکیبات فنولی کل ۶۵/۲۵۶۴ میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر گزارش گردید. همچنین با انجام آزمایشات فیزیکوشیمیایی روی چهار فرمولاسیون نوشابه چای ترش طی سه ماه نگهداری در ۴ درجه سانتی گراد مشخص گردید

۴- نتیجه گیری

با انجام آزمایشات فیزیکوشیمیایی بر روی عصاره های چای ترش با شرایط متفاوت از لحاظ دما و زمان عصاره گیری مشخص گردید که شرایط بهینه عصاره گیری از چای ترش دمای ۷۱/۴۱ درجه سانتی گراد در زمان ۱۸/۸۱ دقیقه می

بود. گذشت زمان باعث کاهش معنی داری در میزان pH نوشابه از ماه اول نگهداری به بعد بود. ترکیبات فنولی نوشابه چای ترش نیز در ماه سوم نسبت به نوشابه تازه کاهش جزئی را نشان داد. به طور کلی می توان چنین نتیجه گیری کرد که تولید نوشابه گازدار از گیاهان دارویی می تواند به عنوان یک جایگزین مناسب جهت نوشابه های صنعتی مد نظر قرار گیرد. چرا که از پایداری فیزیکی و شیمیایی خوبی برخوردارند و حتی با وجود کاهش جزئی کیفیت خصوصیات شیمیایی طی مدت زمان نگهداری، باز هم کیفیت مطلوب تری نسبت به نوشابه های صنعتی گازدار دارند. همچنین استفاده از شیرین کننده طبیعی استویا می تواند با افزایش میزان فعالیت آنتی اکسیدانی و همچنین حفظ آنتوسیانین های نوشابه چای ترش جایگزین مناسبی برای شکر در فرمولاسیون این نوشابه باشد.

۶- منابع

- [1] Omid-mirzaei, M., Hojjati, M., Alizadeh behbahani, B., Noshad M. (2021). Effect of adding coriander seed essential oil on some characteristics of ground lamb inoculated with *Listeria innocua* during storage. *FSCT*, 18 (116), pp. 161-170.
- [2] Zanganeh, H., Mortazavi, S. A., Shahidi, F., Alizadeh Behbahani, B. (2021). Evaluation of the chemical and antibacterial properties of Citrus paradisi essential oil and its application in Lallelantia iberica seed mucilage edible coating to improve the physicochemical, microbiological and sensory properties of lamb during refrigerated storage. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(6), pp. 5556-5571.
- [3] Fallah, A. A., Sarmast, E., Dehkordi, S. H., Isvand, A., Dini, H., Jafari, T., Soleimani, M., Khaneghah, A. M. (2022). Low-dose gamma irradiation and pectin biodegradable nanocomposite coating containing curcumin nanoparticles and ajowan (*Carum copticum*) essential oil nanoemulsion for storage of chilled lamb loins. *Meat Science*, 184, 108700.
- [4] Pirnia, M., Shirani, K., Yazdi, F. T., Moratazavi, S. A., Mohebbi, M. (2022). Characterization of antioxidant active biopolymer bilayer film based on gelatin-frankincense incorporated with ascorbic acid

که استفاده از شیرین کننده طبیعی استویا به دلیل داشتن ترکیبات فعال آنتی اکسیدانی باعث بالارفتن میزان فعالیت آنتی اکسیدانی نوشابه چای ترش نسبت به نوشابه چای ترش فاقد استویا گشته است. همچنین مشخص گشت تنها در ماه اول نگهداری کاهش معنی داری از لحاظ میزان فعالیت آنتی اکسیدانی دیده شده و نوشابه چای ترش پس از سه ماه نگهداری با دارا بودن فعالیت آنتی اکسیدانی بالا (حدود ۵۰٪) همچنان از وضعیت خوبی از لحاظ میزان فعالیت آنتی اکسیدانی برخوردار بوده است. همچنین مشخص شد که کاهش استفاده از شکر باعث کاهش تخریب ترکیبات آنتوسیانین موجود در نوشابه چای ترش گشت اما با گذشت زمان کاهش معنی داری در میزان ترکیبات آنتوسیانین نوشابه چای ترش بوجود آمد. اما پس از سه ماه نگهداری، نوشابه چای ترش همچنان وضعیت خوبی را از لحاظ میزان آنتوسیانین، نسبت به سایر نوشابه های صنعتی گازدار دارا

and *Hyssopus officinalis* essential oil. *Food Chemistry*: X, 14, 100300.

- [5] Keykhosravy, K., Khanzadi, S., Hashemi, M., Azizzadeh, M. (2020). Chitosan-loaded nanoemulsion containing *Zataria Multiflora* Boiss and *Bunium persicum* Boiss essential oils as edible coatings: Its impact on microbial quality of turkey meat and fate of inoculated pathogens. *International journal of biological macromolecules*, 150, pp. 904-913.

- [6] Alizadeh Behbahani, B., Shahidi, F. (2019). Evaluation of microbial, chemical and sensory characteristics of coated lamb with *Scutellaria lateriflora* seed mucilage in combination with *Carum copticum* essential oil to shelf life extension at refrigerated storage. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 16 (4), pp. 383-394.

- [7] Ghorbani, A., Maghsoudlou, Y., Alami, M., Ghorbani, M., Sadeghi, A. (2016). Effect of cress seeds mucilage on shelf life of Button Mushroom. *Journal of Innovative Food Technologies*, 3 (4), pp. 89-96.

- [8] Sheykhi Sanandaji, D., Pirzad, A. (2019). Evaluation of zinc and silicon micronutrients spraying on the agronomic, physiological and biochemical characteristic of *Lallelantia iberica*

- under rainfed and supplemental irrigation. *Iranian Dryland Agronomy Journal*, 8(1), pp. 2-42.
- [9] Shafagh-Kolvanagh, J., Alami-Milani, M., Azadmard-TaleshMakaeel, A. (2015). Critical Period of Weed Control in Dragon's head (*Lallemantia iberica* Fisch. et Mey). *Journal of Agriculture Science and Sustainable Production*, 25(2.1), pp. 15-25.
- [10] Ghasemian, V., Shafagh Kalvanagh, J., Pirzad, A. (2017). Ecophysiological Response of Mycorrhizal Dragon's Head plants to Irrigation Levels. *Journal of Agriculture Science and Sustainable Production*, 2 (2), pp. 247-262.
- [11] Barzegar, H., Behbahani, B. A., Mehrnia, M. A. (2020). Quality retention and shelf life extension of fresh beef using *Lepidium sativum* seed mucilage-based edible coating containing *Heracleum lasiopetalum* essential oil: an experimental and modeling study. *Food Science and Biotechnology*, 29(5), 717-728.
- [12] Pabast, M., Shariatifar, N., Beikzadeh, S., Jahed, G. (2018). Effects of chitosan coatings incorporating with free or nano-encapsulated *Satureja* plant essential oil on quality characteristics of lamb meat. *Food Control*, 91, 185-192.
- [13] Yekrang, A., Javanmard, M. (2012). Evaluation of Antioxidant Activity of Grapefruit Seed Extract on the Stability of Anchovy Oil. *Journal of Food Technology and Nutrition*, 9 (1).
- [14] Abed, O. H., AlAubaidee, M. H., Azzawi, A. L., Alabbasy, H. N. (2022). The Antimicrobial and Antioxidant Effects of Grapefruit (*Citrus paradisi*) Peel Extract. *Eurasian Medical Research Periodical*, 15, 146-151.
- [15] Mahmoud, E. A. (2017). Essential oils of Citrus fruit peels antioxidant, antibacterial and additive value as food preservative. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 8(2), 111-116.
- [16] Razavi, E., Rastegae, M., ebrahimi, P., Rezaee S. (2019). Investigation of the Physical and Chemical Properties of *Zataria multiflora* Essential oil Nano Emulsions on the Preservation of *Agaricus Bispporus* Button Mushroom. *FSCT*, 16 (87), pp. 79-86.
- [17] Firoozi, M., Rezapour-Jahani, S., Shahvegharasl, Z., Anarjan, N. (2020). Ginger essential oil nanoemulsions: Preparation and physicochemical characterization and antibacterial activities evaluation. *Journal of Food Process Engineering*, 43(8), e13434.
- [18] Farshbaf-Sadigh, A., Jafarizadeh-Malmiri, H., Anarjan, N., Najian, Y. (2019). Preparation of Ginger Oil in Water Nanoemulsion Using Phase Inversion Composition Technique: Effects of Stirring and Water Addition Rates on their Physico-Chemical Properties and Stability. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, 235(3), 295-314.
- [19] Jafarinia, S., Fallah, A. A., Dehkordi, S. H. (2022). Effect of virgin olive oil nanoemulsion combined with ajowan (*Carum copticum*) essential oil on the quality of lamb loins stored under chilled condition. *Food Science and Human Wellness*, 11(4), pp. 904-913.
- [20] Lou, Z., Chen, J., Yu, F., Wang, H., Kou, X., Ma, C., Zhu, S. (2017). The antioxidant, antibacterial, antibiofilm activity of essential oil from *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* and its nanoemulsion. *LWT*, 80, pp. 371-377.
- [21] Özogul, Y., Özogul, F., Kulawik, P. (2021). The antimicrobial effect of grapefruit peel essential oil and its nanoemulsion on fish spoilage bacteria and food-borne pathogens. *LWT*, 136, 110362.
- [22] Behbahani, B. A., Noshad, M., Jooyandeh, H. (2020). Improving oxidative and microbial stability of beef using *Shahri Balangu* seed mucilage loaded with Cumin essential oil as a bioactive edible coating. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 24, 101563.
- [23] Tanavar, H., Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B., & Mehrnia, M. A. (2021). Investigation of the chemical properties of *Mentha pulegium* essential oil and its application in *Ocimum basilicum* seed mucilage edible coating for extending the quality and shelf life of veal stored in refrigerator (4° C). *Food Science & Nutrition*, 9(10), 5600-5615.
- [24] Alizadeh Behbahani, B., Imani Fooladi, A. A. (2018). Development of a novel edible coating made by *Balangu* seed mucilage and *Feverfew* essential oil and investigation of its effect on the shelf life of beef slices during refrigerated storage through intelligent modeling. *Journal of Food Safety*, 38(3), e12443.
- [25] AOAC. (1995). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists (16 ed.): Association of official analytical chemists, Arlington, VA.
- [26] Heydari, S., Jooyandeh, H., Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M. (2020). The impact of *Qodume Shirazi* seed mucilage-based edible coating containing lavender essential oil on the quality enhancement and shelf life improvement of fresh

- ostrich meat: An experimental and modeling study. *Food Science & Nutrition*, 8(12), 6497-6512.
- [27] Jouki, M., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., Koocheki, A., Khazaei, N. (2014). Effect of quince seed mucilage edible films incorporated with oregano or thyme essential oil on shelf life extension of refrigerated rainbow trout fillets. *International Journal of Food Microbiology*, 174, 88-97.
- [28] Noori, S., Zeynali, F., Almasi, H. (2018). Antimicrobial and antioxidant efficiency of nanoemulsion-based edible coating containing ginger (*Zingiber officinale*) essential oil and its effect on safety and quality attributes of chicken breast fillets. *Food control*, 84, 312-320.
- [29] Moghimi, R., Ghaderi, L., Rafati, H., Aliahmadi, A., McClements, D. J. (2016). Superior antibacterial activity of nanoemulsion of *Thymus daenensis* essential oil against *E. coli*. *Food chemistry*, 194, 410-415.
- [30] Abbasi, Z., Aminzare, M., Hassanzad Azar, H., Rostamizadeh, K. (2021). Effect of corn starch coating incorporated with nanoemulsion of *Zataria multiflora* essential oil fortified with cinnamaldehyde on microbial quality of fresh chicken meat and fate of inoculated *Listeria monocytogenes*. *Journal of food science and technology*, 58, 2677-2687.
- [31] Wickramasinghe, N. N., Ravensdale, J., Coorey, R., Chandry, S. P., Dykes, G. A. (2019). The Predominance of Psychrotrophic *Pseudomonads* on Aerobically Stored Chilled Red Meat. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(5), 1622-1635.
- [32] Sun, Y., Zhang, M., Bhandari, B., Bai, B. (2021). Nanoemulsion-based edible coatings loaded with fennel essential oil/cinnamaldehyde: Characterization, antimicrobial property and advantages in pork meat patties application. *Food Control*, 127, 108151.
- [33] Zhang, H., Liang, Y., Li, X., Kang, H. (2020). Effect of chitosan-gelatin coating containing nano-encapsulated tarragon essential oil on the preservation of pork slices. *Meat Science*, 166, 108137.
- [34] Vital, A. C. P., Guerrero, A., Monteschio, J. d. O., Valero, M. V., Carvalho, C. B., de Abreu Filho, B. A., do Prado, I. N. (2016). Effect of Edible and Active Coating (with Rosemary and Oregano Essential Oils) on Beef Characteristics and Consumer Acceptability. *Plos One*, 11(8), e0160535.
- [35] Paul, S., Dubey, R. C., Maheswari, D. K., Kang, S. C. (2011). *Trachyspermum ammi* (L.) fruit essential oil influencing on membrane permeability and surface characteristics in inhibiting food-borne pathogens. *Food Control*, 22(5), 725-731.
- [36] Kazemeini, H., Azizian, A., Adib, H. (2021). Inhibition of *Listeria monocytogenes* growth in turkey fillets by alginate edible coating with *Trachyspermum ammi* essential oil nano-emulsion. *International journal of food microbiology*, 344, 109104.
- [37] Hamed, H., Kargozari, M., Shotorbani, P. M., Mogadam, N. B., Fahimdanesh, M. (2017). A novel bioactive edible coating based on sodium alginate and galbanum gum incorporated with essential oil of *Ziziphora persica*: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food model. *Food Hydrocolloids*, 72, 35-46.
- [38] Dini, H., Fallah, A. A., Bonyadian, M., Abbasvali, M., Soleimani, M. (2020). Effect of edible composite film based on chitosan and cumin essential oil-loaded nanoemulsion combined with low-dose gamma irradiation on microbiological safety and quality of beef loins during refrigerated storage. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 1501-1509.
- [39] Snoussi, A., Chouaibi, M., Koubaier, H. B. H., Bouzouita, N. (2022). Encapsulation of Tunisian thyme essential oil in O/W nanoemulsions: Application for meat preservation. *Meat Science*, 188, 108785.
- [40] Wu, C., Wang, L., Hu, Y., Chen, S., Liu, D., Ye, X. (2016). Edible coating from citrus essential oil-loaded nanoemulsions: physicochemical characterization and preservation performance. *RSC advances*, 6(25), 20892-20900.
- [41] Xiong, Y., Li, S., Warner, R. D., Fang, Z. (2020). Effect of oregano essential oil and resveratrol nanoemulsion loaded pectin edible coating on the preservation of pork loin in modified atmosphere packaging. *Food Control*, 114, 107226.
- [42] Tabatabaei Yazdi, F., Alizadeh Behbahani, B., Vasiee, A., Roshanak, S., Mortazavi, A. (2017). Production of an antimicrobial edible coating based on *Plantago major* seed mucilage in combination with *Heracleum persicum* essential oil: its properties and application in beef. *Microbiology in Food Industries*, 3, 1-21.

- [43] Ansarian, E., Aminzare, M., Azar, H. H., Mehrasbi, M. R., Bimakr, M. (2022). Nanoemulsion-based basil seed gum edible film containing resveratrol and clove essential oil: In vitro antioxidant properties and its effect on oxidative stability and sensory characteristic of camel meat during refrigeration storage. *Meat science*, 185, 108716.
- [44] Khezrian, A., Shahbazi, Y. (2018). Application of nanocomposite chitosan and carboxymethyl cellulose films containing natural preservative compounds in minced camel's meat. *International Journal of Biological Macromolecules*, 106, 1146-1158.
- [45] Kim, Y.-M., Paik, H.-D., Lee, D.-S. (2002). Shelf-life characteristics of fresh oysters and ground beef as affected by bacteriocin-coated plastic packaging film. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(9), 998-1002.
- [46] Huang, M., Wang, H., Xu, X., Lu, X., Song, X., Zhou, G. (2020). Effects of nanoemulsion-based edible coatings with composite mixture of rosemary extract and ϵ -poly-L-lysine on the shelf life of ready-to-eat carbonado chicken. *Food Hydrocolloids*, 102, 105576.
- [47] Amiri, E., Aminzare, M., Azar, H. H., Mehrasbi, M. R. (2019). Combined antioxidant and sensory effects of corn starch films with nanoemulsion of *Zataria multiflora* essential oil fortified with cinnamaldehyde on fresh ground beef patties. *Meat Science*, 153, 66-74.
- [48] do Nascimento Alves, R., Lorraine Santos Lima, T., da Silva Chaves, K., de Albuquerque Meireles, B. R. L. (2021). Biodegradable films with Brassica Oleracea Capitata extract as a quality indicator in sheep meat. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(1), e14997.
- [49] Liu, Q., Zhang, M., Bhandari, B., Xu, J., Yang, C. (2020). Effects of nanoemulsion-based active coatings with composite mixture of star anise essential oil, polylysine, and nisin on the quality and shelf life of ready-to-eat Yao meat products. *Food Control*, 107, 106771.
- [50] Varnam, A.H., Sutherland, J.P., 1997, Beverages (Technology, chemistry, Microbiology), Chapman & Hall
- [51] Islam, M.N., Begum, J.A., Shams, U.D., 1990, Studies on carbonated beverage based on mango pulp, Bangladesh journal of Agricultural Science. 17(2):169-172(Abs).
- [52] Battey, A. S., S. Duffy and D. W. Schaffner , 2002 ,Modeling yeast spoilage in cold filled ready to drink beverages with *Saccharomyces cerevisiae* *Zygosaccharomyces bailii* and *Lipolytica candida*, Applied and Environmental Microbiology, 68 (4) : 1901-1906
- [53] Adegoke, G.O., R. N. Nwaigwe, and G. B. Oguntimein. 1995. Microbiological and biochemical changes during the production of sekete – a fermented beverage made from maize, Journal of Food Science and Technology – India , 32(6) : 516-518 (Abs).

Journal of Food Science and Technology (Iran)Homepage: www.fsct.modares.ir**Scientific Research****Optimizing the process of extracting sour tea extract using the response surface method and evaluating the resulting beverage formulation**Narges Nemati^{1*}, Amirhossein Elhami Rad², Akram Sharifi³

1- Master of Science in Food Engineering, Department of Food Science and Engineering, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran

2- Associate Professor, Department of Food Science and Engineering, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran

3- Associate Professor, Department of Food Science and Engineering, Qazvin Branch, Islamic Azad University, Qazvin, Iran

ABSTRACT

Notice to optimizing the use of medicinal plants by producing soft drinks can be a suitable solution in order to encourage consumers to use food with natural source that have beneficial effects on the health. The purpose of this research is optimizing the extraction process of Hibiscus Tea and providing the best way to preserve the nutritional value of this plant during extraction and applying this extract in diet soft drinks formulation by using the natural sweetener Stevia and evaluation of physico-chemical changes during storage. Thus, extracts of Hibiscus Tea was done in three temperatures of 60, 75 and 90 ° C in the range of 10 to 20 minutes and to select the best extraction temperature and time in Hibiscus Tea samples, terms of PH, antioxidant activity, anthocyanins and phenolic compounds were studied. Then by using extraction of Hibiscus Tea, soda with four different formulations were prepared. To consider the durability of soda, in 90 days, every 30 days lasting soft drink samples in terms of antioxidant activity, anthocyanins and phenolic compounds were evaluated. Finally it was determined that temperature 41/71 ° C for 18/81 minutes is the best temperature and time for extracting Hibiscus Tea, that In this optimal conditions, the antioxidant activity 62/4062%, the amount of anthocyanins 72/394 mg/l and total phenolic compounds 65/2564 mg / 100 ml was determined. Also it was determined that antioxidant activity, anthocyanins and phenolic compounds at the end of storage time than the first day of manufacturing soft drinks decreased.

ARTICLE INFO**Article History:**

Received: 2023/6/26

Accepted: 2023/8/1

Keywords:**Extraction,****sour tea****Carbonated Drinks,****antioxidant activity,****anthocyanin,****Phenolic compounds****DOI: 10.22034/FSCT.20.142.137****DOR:20.1001.1.20088787.1402.20.142.9.9**

*Corresponding Author E-Mail: