

تصویر سلامت

دوره ۵ شماره ۴ سال ۱۳۹۳ صفحه ۴۰ - ۳۲

**استویا ربودیانا برتونی، منبع غنی از شیرین‌کننده طبیعی:
مروری جامع بر جنبه‌های بیوشیمیایی، تغذیه‌ای و عملکردی**جعفر صادق تبریزی^۱، لیلا نیک‌نیاز*^۲، محمود صوتی خیابانی^۳**چکیده**

استویا ربودیانا برتونی درختچه‌ای چند ساله بومی جنوب آمریکا است که از دوران باستان برای مقاصد مختلف در سراسر جهان مورد استفاده قرار می‌گرفته است. عصاره استویا، حاوی سطوح بالایی از ترکیبات شیرین‌کننده با عنوان گلیکوزیدهای استویول می‌باشد که علاوه بر شیرین‌کنندگی (در حدود ۳۰۰ بار شیرین تر از ساکاروز) دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد قارچی نیز هستند. استویوزید و ربودیوزید A ترکیبات اصلی این گیاه با قدرت شیرین‌کنندگی هستند که حتی تا دمای ۲۰۰ C مقاوم به حرارتند که این خاصیت استفاده از این گلیکوزیدها را در غذاهایی که نیاز به پخت دارند مناسب می‌کند. گلیکوزیدهای استویول به عنوان شیرین‌کننده کم کالری در نوشیدنی‌های میوه‌ای و شیری، دسر، ماست، شیرینی‌جات و ترشی‌جات مورد استفاده قرار می‌گیرند. همچنین از عصاره این گیاه به عنوان شیرین‌کننده سرسره استفاده می‌شود. برگ استویا دارای خواص برتر عملکردی و حسی نسبت به بسیاری دیگر از شیرین‌کننده‌ها است و به احتمال زیاد در آینده می‌تواند به عنوان منبع اصلی شیرین‌کنندگی با قدرت بالا و ایمن برای استفاده در بازار مواد غذایی تبدیل شود.

کلید واژه‌ها: استویا ربودیانا برتونی، شیرین‌کننده طبیعی، مواد غذایی، اثرات سلامت‌زایی

۱. مرکز تحقیقات مدیریت خدمات بهداشتی درمانی تبریز، دانشکده مدیریت و اطلاع‌رسانی پزشکی تبریز، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

۲. مرکز تحقیقات مدیریت خدمات بهداشتی درمانی تبریز، دانشگاه علوم پزشکی تبریز (Email: nikniazleila@gmail.com)

۳. دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تبریز

مقدمه

استویا ربودیانا برتونی (*Stevia rebaudiana Bertoni*) درختچه انبوه شاخه از خانواده کاسنی و بومی منطقه Amambay در شمال شرق پاراگوئه می‌باشد و در بخش‌هایی از برزیل و آرژانتین هم می‌روید (۱). امروزه کشت آن به دیگر مناطق جهان، از جمله کانادا و برخی از بخش‌های آسیا و اروپا نیز گسترش یافته است (۲). در حال حاضر، استویا به خاطر محتوای بالای دی‌ترین‌های شیرین (حدود ۲۰/۴ درصد) در برگ‌های خشک آن به خوبی شناخته شده است (۳). این گیاه منبعی از گلیکوزیدهای دی‌ترینی شیرین است که عامل مزه شیرین این گیاه هستند. در میان ۲۳۰ گونه در جنس استویا، تنها گونه ربودیانا و فیلبوفیلا گلیکوزیدهای استویول را تولید می‌کنند (۴).

استویا (شکل ۱) از لحاظ گیاه‌شناسی در سال ۱۸۹۹ توسط Moisés Santiago Bertoni شناخته شد. جزء شیرین آن برای اولین بار در سال ۱۹۰۹ جداسازی شد و در سال ۱۹۳۱ عصاره آن برای تولید استویوزید استخراج شد و ساختار شیمیایی استویوزید نیز به عنوان یک گلیکوزید دی‌ترینی در سال ۱۹۵۱ شناسایی گردید. استویوزید یک گلیکوزید شامل سه مولکول گلوکز متصل به آگلیکون است. در طی سال‌های ۱۹۷۰ به بعد دیگر ترکیبات، از جمله ربودیوزید A شناسایی شدند که حتی شیرین‌تر از استویوزید بودند (۵). استویول، آگلیکون معمول متصل به گلیکوزیدهای استویا می‌باشد (۶). استویوزید یکی از گلیکوزیدهای استویا است که تقریباً ۳۰۰ برابر شیرین‌تر از ساکاروز می‌باشد (۳). مطالعات نشان داده‌اند که استویا از دوران باستان برای مقاصد مختلف در سراسر جهان مورد استفاده قرار می‌گرفته است. برای قرن‌ها، قبایل گوارانی پاراگوئه و برزیل از این گیاه و به خصوص گونه ربودیانا که به نام e'êka'a (گیاه شیرین) شناخته می‌شد به عنوان شیرین کننده در انواع دم‌کرده‌های دارویی برای درمان سوزش سردل و دیگر بیماری‌ها استفاده می‌کردند (۴).

ژاپن اولین کشور در آسیا بود که استویوزید را به عنوان شیرین کننده وارد صنعت غذا و دارو نمود. از آن زمان به بعد کشت این گیاه به سایر کشورهای آسیایی از جمله چین، مالزی، سنگاپور، کره جنوبی، تایوان و تایلند گسترش یافت (۷).

استویا و استویوزید به عنوان جایگزینی برای ساکاروز برای درمان چاقی، دیابت، فشار خون و پیشگیری از پوسیدگی‌های دندان استفاده می‌شوند (۸). تعدادی از مطالعات نشان داده‌اند که استویوزید علاوه بر شیرینی می‌تواند در درمان برخی از بیماری‌ها نیز استفاده شود؛ چرا که ربودیوزید A، استویول و ایزواستویول اثرات ضد افزایش قند خون، ضد پر فشاری خون، ضد التهاب، ضد تومور، ضد اسهال، ادرار آور و تنظیم کننده ایمنی را دارند (۷). برگ استویا دارای خواص برتر عملکردی و حسی نسبت به بسیاری دیگر از شیرین کننده‌ها است و به احتمال زیاد در آینده می‌تواند به عنوان منبع اصلی شیرین کننده با قدرت بالا برای استفاده در بازار مواد غذایی تبدیل شود (۹).

مطالعات سم شناسی نشان داده‌اند که استویوزید اثرات جهش‌زایی یا سرطان‌زایی و آلرژیک ندارد (۸). اخیراً نتایج مطالعات تکمیلی در مورد سمیت ربودیوزید A نشان دادند که دریافت مقادیر بالای آن ایمن است (۱۰). هدف از این مطالعه مروری جمع‌آوری اطلاعات مهم مطالعه شده در بررسی‌های مختلف بر روی گیاه استویا به عنوان یک شیرین کننده طبیعی است. تمرکز اصلی در این مطالعه بر اثرات شیرین کننده‌گی و سلامت زایی آن می‌باشد. افزایش تقاضای مصرف کنندگان برای غذاهای گیاهی ممکن است کشت و تولید استویا را افزایش دهد و برای کسانی که به دنبال محدود کردن کربوهیدرات و یا کاهش شاخص گلیسمیک در رژیم غذایی و لذت بردن از طعم شیرین با حداقل کالری هستند، کمک کننده باشد. همچنین هدف این بررسی درک بهتر و پذیرش استویا به عنوان یک شیرین کننده طبیعی خام برای استفاده در صنایع غذایی می‌باشد.

گیاه‌شناسی

گیاه استویا شامل ۲۰۰ گونه است که می‌توانند تا طول یک متر رشد کنند. این گیاه، یک گیاه چند ساله با ریشه‌های گسترده و برگ‌های بدون دم‌برگ به طول ۳-۴ سانتی‌متر است و سطح فوقانی برگ کمی دانه دانه است. گل‌ها، پنج تایی، کوچک و سفید با گلوی بنفش کم‌رنگ هستند (۱۱). استویا به خوبی در طیف گسترده‌ای از خاک با تأمین رطوبت و زهکشی مناسب رشد می‌کند. به عنوان یک درختچه چند ساله در مناطق نیمه گرمسیری ایالات متحده کشت می‌شود. این



شکل ۱. برگ‌های گیاه استویا

سولفام K (بدون کالری)، اسپارتام (۴ کیلوکالری در هر گرم)، ساخارین (بدون کالری) و سوکرالوز (بدن کالری). از آنجایی که مصرف ساکاروز در مقادیر بالا باعث چاقی می‌گردد، استفاده از استویا به عنوان شیرین‌کننده کم کالری می‌تواند کمک بسیار زیادی در محدود کردن یا کنترل کالری در رژیم غذایی نماید (۱۶).

خواص عملکردی پودر برگ استویا

بر اساس مطالعه میشر (Mishra) و همکاران (۲۰۱۰) پودر برگ استویا دارای دانسیته توده‌ای ۰/۴۴۳ گرم بر میلی‌لیتر، ظرفیت نگهداری آب به میزان ۴/۷ میلی‌لیتر در گرم، ظرفیت جذب چربی به میزان ۴/۵ میلی‌لیتر در گرم، میزان امولسیون‌کنندگی ۵ میلی‌لیتر در گرم، شاخص تورم به میزان ۵/۰۱ گرم در هر گرم، حلالیت به میزان ۰/۳۶۵ گرم در هر گرم و دارای pH ۵/۹۵ است (۱۵). دانسیته‌ی توده‌ای استویا کم است. دانسیته توده‌ای بالاتر برای کاهش ضخامت خمیر مخصوصاً در تهیه غذای کودکان (که حجم نقش مهمی را دارد) مناسب‌تر است؛ ولی پودر برگ استویا این خاصیت را ندارد. از طرف دیگر ظرفیت بالای نگهداری آب در پودر استویا یک مزیت محسوب شده و می‌تواند مربوط به محتوای پروتئینی بالای آن باشد. پروتئین می‌تواند باعث افزایش ظرفیت نگهداری آب و افزایش توانایی تورم شود که در تهیه غذاهای چسبناک مانند خمیر و محصولات نانوائی مناسب است (۱۶). توانایی پروتئین در تشکیل و پایداری امولسیون برای تهیه بسیاری از غذاها مانند کیک، سفیدکننده‌های قهوه، شیر، دسر یخ زده و دیگر موارد مهم است. ظرفیت جذب چربی مربوط به دام افتادن فیزیکی روغن است و به نظر می‌رسد پودر برگ استویا دارای ظرفیت جذب چربی کافی است که اجازه می‌دهد نقش مهمی را در فرایند مواد غذایی داشته باشد؛ زیرا که چربی در نگهداری طعم و ایجاد احساس دهانی تأثیر زیادی دارد (۱۵). با توجه به اینکه استویوزیدها مقاوم به درجه حرارت ۹۵ درجه سانتیگراد هستند، یک افزودنی شیرین مناسب برای غذاهای پخته و محصولات نانوائی محسوب می‌شوند. برگ‌های استویا نیز مانند عصاره استویوزید خالص می‌توانند به صورت خام یا پخته مورد استفاده قرار گیرند؛ زیرا که تا دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد توانایی مقاومت در مقابل حرارت را دارند (۱۷). استویوزید جامد به مدت یک ساعت تا دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد مقاوم است؛ ولی در دماهای بیشتر از ۱۴۰ درجه سانتی‌گراد شروع به تجزیه شدن کرده و در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد کاملاً تجزیه می‌گردد. محققان نشان دادند که استویا مقاومت بالایی در حرارت ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت داشته و استویوزید در فرایند تهیه غذا، قهوه‌ای و کاراملیزه نمی‌گردد (۱۸).

گیاه همچنین در چین، تایوان، تایلند، کره جنوبی، برزیل، مالزی، اوکراین، انگلستان، فیلیپین، کانادا، هاوایی، کالیفرنیا و تمام جنوب آمریکا کشت می‌شود (۱۲). استویا باید به عنوان یک گیاه سالانه در مناطق با عرض جغرافیایی متوسط و بالا که دارای روزهای طولانی است، کشت شود تا استویوزید بیشتری در برگ‌ها تولید گردد. جوانه زنی ضعیف دانه‌ها یکی از عوامل محدود کننده در کشت وسیع این گیاه است. مطالعات گزارش کرده‌اند که درصد زنده‌مانی دانه‌ها کم بوده و این امر موجب ایجاد نگرانی برای تولید کنندگان این گیاه است. همچنین انتشار توسط بذر اجازه تولید جمعیت همگن را نمی‌دهد و در نتیجه تنوع بسیاری در ویژگی‌های مهمی مانند میزان شیرینی و سایر ترکیبات گیاه به وجود می‌آید (۱۳). کشت بافت بهترین جایگزین برای انتشار سریع توده استویا است (۱۲). استویا قابلیت تحمل سرما را ندارد و معمولاً دمای زیر ۹ درجه سانتیگراد را تحمل نمی‌کند. با این حال، گاهی دمای نزدیک صفر درجه را تحمل می‌کند ولی برای رشد سریع، دمای ۲۰-۲۴ درجه سانتی‌گراد ضروری است. از سوی دیگر، استویا به طور قابل توجهی نیاز به آب دارد و برگ‌ها و ساقه آن می‌توانند به سرعت پژمرده شوند. لذا منطقه مناسبی برای کشت آن مورد نیاز است که امکان رشد سریع این گیاه را در اواخر بهار و تابستان فراهم کند. بنابراین استویا گزینه‌ای مناسب برای کشت در مناطق گرمسیری با بارندگی‌های تابستانی می‌باشد (۱۴). استویا می‌تواند در خاک نسبتاً فقیر رشد کند و برای تولید تجاری به مدت ۸ سال کشت داده شود و کشت و برداشت برگ‌های آن می‌تواند شش بار در سال صورت گیرد. ریشه در زمین باقی می‌ماند و گیاه دوباره به سرعت رشد می‌کند. از هر بوته گیاه ۱۵-۳۵ گرم برگ خشک برداشت می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهند که از هر هکتار می‌توان بین ۱۰۰۰ تا ۱۲۰۰۰ کیلوگرم برگ خشک شده حاوی ۶۰-۷۰ کیلوگرم استویوزید جمع‌آوری کرد که عملکرد پایینی نسبت به نیشکر و یا چغندر قند دارد. با این حال، ۷۰ کیلوگرم استویوزید، ۳۰۰ برابر شیرین‌تر از ساکاروز است که معادل عملکرد ۲۱۰۰۰ کیلوگرم قند در هر هکتار است. در حدود ۹۰ گونه از استویا ربودیانا در سراسر جهان بسته به شرایط آب و هوایی مختلف وجود دارد. استویا در فواصل ۵۳ تا ۶۱ سانتیمتری کاشته می‌شود و به طور کلی در هر هکتار ۱۰۰۰۰۰ گیاه قابل کشت است (۱۵).

جنبه‌های بیوشیمیایی و تغذیه‌ای استویا

آنالیز برگ‌های استویا نشان داد که میزان انرژی آن ۲/۷ کیلوکالری در هر گرم برگ خشک است. این بدان معنی است که استویا یک شیرین‌کننده کم کالری با قدرت شیرین‌کنندگی بالا و قابل مقایسه با دیگر شیرین‌کننده‌های تجاری است. شیرین‌کننده‌های مصنوعی قوی عبارتند از: آسه

می‌دهند. مهم‌ترین ترکیبات فعال زیستی در گیاهان، آلکالوئیدها، تانن‌ها و پلی‌فنل‌ها هستند. استویا معمولاً به عنوان برگ عسل، برگ آب نبات و برگ شیرین نیز نامیده شده و سرشار از ترپن‌ها و فلاونوئیدها است. فیتوکمیکال‌های موجود در برگ استویا عبارتند از آستروائینولین، بتاکاروتن، دولکوزاید، نیلاسنین، اکسیدهای ربودی، ربوفلاوین، استویول، استویوزید و تیمین (۲۵).

گلیکوزیدهای دی‌ترپن

گلیکوزیدها ترکیبات حاوی یک مولکول کربوهیدرات (قند) متصل به یک بخش غیر کربوهیدرات هستند. این ترکیبات به طور عمده در گیاهان یافت می‌شوند و می‌توانند با هیدرولیز تبدیل به یک قند و یک جزء غیر قندی (aglycone) شوند (۲۶). شیرین‌کننده‌های طبیعی برگ استویا، به نام گلیکوزیدهای استویول، دی‌ترپن‌هایی هستند که با عنوان استویوزید، استویولیبوزید، ربودیوزید A, B, C, D, E, F و دولکوزید شناخته می‌شوند. استویوزید بیشترین گلیکوزید استویا است و پس از آن ربودیوزید C و دولکوزید A در مکان‌های بعدی قرار دارند. علاوه بر این ترکیبات، عصاره استویا حاوی فلاونوئیدها، استرین‌های A تا H، ترکیبات فرار روغن، رنگدانه‌ها، صمغ و ترکیبات غیر آلی است (۲۷). گلیکوزیدهای برگ استویا تقریباً ۱۵ درصد محتوای برگ را تشکیل می‌دهند (۲۸). مقدار آن بستگی به شرایط رشد و همچنین تکنیک‌های زراعی مدرن دارد. میزان ربودیوزید B نسبت به استویوزید بسیار کم است. عصاره برگ استویا که در صنعت استفاده می‌شود، حاوی ۸۰٪ استویوزید یا ربودیوزید A (بیشتر از ۹۰٪) می‌باشد (۲۹). استویوزیدها تا دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت در pH=۳-۹ مقاومت؛ ولی در pH های بالاتر از ۹ تجزیه می‌گردند (۱۸). تمامی گلیکوزیدهای دی‌ترپنی استویا ساختار استویول یکسان دارند و شیرینی ربودیوزیدها با افزایش واحدهای قندی متصل به آگلیکون استویول افزایش می‌یابد (۳۰). استویوزید خالص معمولاً پس طعم تلخی در دهان تولید می‌کند. شیرینی هر یک از ترکیبات استویا بیشتر از ساکاروز است: ربودیوزید A (۲۵۰ تا ۴۵۰ برابر)، ربودیوزید B (۳۰۰ تا ۳۵۰ برابر)، ربودیوزید C (۵۰ تا ۱۲۰ برابر)، ربودیوزید D (۲۵۰ تا ۴۵۰ برابر)، ربودیوزید E (۱۵۰ تا ۳۰۰ برابر)، دولکوزید A (۵۰ تا ۱۲۰ برابر)، و استویولیبوزید (۱۰۰ تا ۱۲۵ برابر). به طور میانگین شیرینی گلیکوزیدهای استویول ۲۵۰ تا ۳۰۰ برابر بیشتر از ساکاروز است، حلالیت کمتری در آب داشته و دمای ذوب بالاتری دارند. استویوزید بیشترین گلیکوزید استویول در برگ گیاه است که بسیار شیرین بوده (۲۵۰ تا ۳۰۰ برابر شیرین تر از محلول های ۴٪ ساکاروز) و به عنوان شیرین‌کننده کم کالری در بسیاری از کشورها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۹).

کربوهیدرات

برگ استویا منبع خوبی از کربوهیدرات، پروتئین و فیبر است که در کاهش خطر ابتلا به بیماری‌ها نقش مهمی دارد. ریشه و برگ‌های استویا ربودیانا دارای فروکتوالیگوساکاریدهای اینولینی است که نقش پری‌بیوتیکی داشته و در متابولیسم چربی و کنترل دیابت مؤثر است. ریشه‌ها و برگ‌های این گیاه به ترتیب حاوی ۴/۶٪ و ۰/۴۶٪ فروکتوالیگوساکارید است. بنابراین عصاره این گیاه می‌تواند به عنوان مکمل غذایی نیز در نظر گرفته شود (۱۹).

پروتئین

محققان در برگ‌های استویا ۹ اسیدآمینو را شناسایی کرده‌اند که شامل اسیدگلوتامیک، اسید آسپارتیک، لیزین، سرین، ایزولوسین، آلانین، پرولین، تیروزین، و متیونین است (۱۸). اخیراً نیز تعدادی از اسید آمینوهای دیگر ضروری و غیرضروری در برگ‌های استویا یافت شده است (۲۰). برگ‌های استویا تقریباً حاوی تمامی اسید آمینوهای ضروری است و بنابراین پس از جداسازی استویوزید از برگ‌ها بقیه مواد می‌توانند منبع مهمی از اسیدآمینوهای ضروری باشند (۲۱).

چربی‌ها

برگ‌های استویا حاوی ۶ اسید چرب پالمیتیک، پالمیتولئیک، استئاریک، اولئیک، لینولئیک و لینولنیک اسید است و اسید پالمیتیک بیشترین و اسید استئاریک کمترین اسید چرب موجود در برگ‌ها است. برگ استویا منبع غنی از اسید لینولنیک می‌باشد که مقدار بالای این اسید چرب در رژیم غذایی انسان ایده‌آل است (۲۲).

مواد معدنی

استویا حاوی مواد معدنی پتاسیم، کلسیم، منیزیم، سدیم، آهن و روی است که در مقادیر مناسبی در برگ‌های این گیاه وجود دارد. (۲۳).

ویتامین‌ها

ویتامین‌های محلول در آب موجود در عصاره برگ استویا و عصاره قسمت کالوس این گیاه عبارتند از: ویتامین C و ویتامین‌های B1, B2, B3, B6, B9. میزان اسیدفولیک، ویتامین C و ویتامین B2 در عصاره برگ استویا بیشتر است (۲۴).

فیتوکمیکال‌ها (Phytochemicals)

گیاهان دارویی از اهمیت زیادی برای سلامت افراد و جوامع برخوردارند. ارزش دارویی این گیاهان مربوط به مواد شیمیایی است که عملکرد فیزیولوژیکی خاصی را در بدن انسان انجام

استخراج و شناسایی گلیکوزیدهای استویول

تکنیک‌های متفاوتی برای استخراج گلیکوزیدهای استویول استفاده می‌شوند که عبارتند از استخراج با حلال، جذب کروماتوگرافیک، تبادل یونی، رسوب اختصاصی، فرایندهای غشایی و استخراج فوق بحرانی سیال.

به نظر می‌رسد آب داغ روش ارجح برای استخراج است؛ چراکه ربودیوزید A که طعم بهتری دارد، محلولیت در آب بیشتری نسبت به استویوزید دارد. اگرچه برخی از مطالعات استفاده از حلال‌ها مانند اتانول، متانول/کلروفرم، گلیسرین، سوربیتول یا پروپیلن گلیکون را روش بهتری ذکر کرده‌اند (۱۸و).

فعالیت ضد میکروبی

استویا می‌تواند رشد باکتری‌های خاص و برخی از ارگانسیم‌های عفونت‌زا را مهار کند. حتی به نظر می‌رسد که استفاده از استویا از ابتلا به سرماخوردگی و آنفولانزا پیشگیری می‌نماید (۱۲). توانایی استویا در مهار رشد باکتری‌های خاص، توجه‌کننده استفاده سنتی از آن در درمان زخم‌ها و بیماری‌های لثه است (۳۱). در برخی از مطالعات، فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های مختلف استویا (آب، استون، کلروفرم، متانول، اتیل استاتیا هگزان به عنوان حلال) بررسی شده است و تأثیر آن بر برخی از میکروارگانسیم‌ها مانند سالمونلا تیفی، ائروموناس هیدروفیلا، ویبریوکلرا، باسیلوس سابتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس بررسی شده است. اثر ضد باکتریایی عصاره آبی و تخمیر شده استویا بر انتروهمورائیک اشرشیاکلی و دیگر باکتری‌های مؤثر در مسمومیت‌های غذایی نشان داده شده است. همچنین شواهد نشان می‌دهد که برخی از ارگانسیم‌ها مانند سالمونلا تیفی‌موریوم، باسیلوس سابتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس توسط عصاره تخمیر شده برگ استویا مهار شده‌اند (۲۵ و ۳۱).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی استویا بر اساس درصد مهار رادیکال‌های DPPH و IC₅₀ (غلظت لازم برای مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های DPPH) بررسی شده است. در مطالعه‌ای، فعالیت آنتی‌اکسیدانی چندین گیاه دارویی مورد مقایسه قرار گرفت و نتایج نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی استویا بیشتر از گیاهان دارویی دیگر (پوراریا میریفیکا، زردچوبه، آندروگرافیس پانیکولاتا، کاسیا آلتا) می‌باشد. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی استویا مربوط به عصاره استونی و متانولی بود (۳۲). عصاره برگ استویا فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارد و حتی تولید هیدروپراکسیدها در روغن ساردین را بیشتر از آلفا توکوفرول و عصاره چای مهار می‌کند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ استویا مربوط به سوپراکسیدها و

مهار رادیکال‌های آزاد است. مطالعه Shukla و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که عصاره برگ استویا یک آنتی‌اکسیدان قوی و طبیعی است (۳۳).

اثرات سلامت‌زایی

بسیاری از گلیکوزیدهای گیاهی اثرات پیشگیری‌کننده از سرطان، دیابت و اثرات ضدباکتریایی دارند. برگ‌های استویا حاوی شیرین‌کننده‌ای کم کالری و غیر سرطان‌زا است که اثرات سلامت‌زایی دارد. گلیکوزیدهای استویا دارای ارزش بیولوژیکی بوده و مصرف مرتب این ترکیبات باعث کاهش قند خون و کلسترول خون شده، بازسازی سلول‌ها و انعقاد خون را بهبود می‌بخشد و باعث سرکوب رشد سلول‌های بدخیم و تقویت رگ‌های خونی می‌گردد (۳۴). این گیاه همچنین دارای اثرات افزایش بازده صفرا، ضد التهابی، دیورتیکی، پیشگیری از ایجاد زخم‌های گوارشی، ضد پرفشاری خون، ضد افزایش قند خون، ضد فعالیت روتاویروس انسانی، بهبود متابولیسم گلوکز، بهبود فعالیت کلیوی و درمان اسهال است. علاوه بر این، این گیاه استویوزید آن در درمان سرطان و به عنوان جایگزینی برای ساکاروز در درمان دیابت، چاقی، پرفشاری خون و تورم لثه مورد استفاده قرار می‌گیرد (۵، ۸، ۹، ۳۴ - ۳۸).

تنظیم گلوکز

عصاره برگ استویا به طور سنتی در درمان دیابت مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳۹). مصرف آن باعث کاهش آهسته گلوکز پلاسما شده و تحمل گلوکز را در افراد سالم افزایش می‌دهد (۴۰). گلیکوزیدهای استویول با تأثیر مستقیم بر روی سلول‌های بتا و بدون تغییر فعالیت کانال ATP-K⁺ و میزان cAMP اثر تحریکی در ترشح انسولین دارند که حاکی از این است که استویوزید یک عامل ضد افزایش قند خون قوی است (۴۱). استویوزید گلوکز خون را نه تنها از طریق افزایش ترشح انسولین بلکه از طریق کاهش گلوکونئوزن در موش‌های دچار کمبود انسولین تنظیم می‌کند (۴۲). مطالعه‌ای در افراد دیابتی نشان داد که تک دوز استویوزید (۱۰۰۰ میلی‌گرم) باعث کاهش سطح زیر منحنی پاسخ قند خون پس از صرف غذا تا ۱۸٪ در مقایسه با گروه کنترل می‌گردد (۴۳). همچنین در موش‌های دیابتیک، عصاره برگ استویا باعث کاهش سطح گلوکز خون بدون ایجاد شرایط هیپوگلاسمیک شده است (۴۳). استویا همچنین باعث افزایش ترشح انسولین بدون اثر بر انسولین ناشتا می‌شود (۳۵). به طور کلی، این گیاه باعث افزایش اثر انسولین بر غشای سلول‌ها، افزایش تولید انسولین، تثبیت ترشح گلوکاگون و سطح قند خون و بهبود تحمل گلوکز در مطالعات حیوانی و انسانی می‌گردد (۴۴). به عبارت دیگر،

عملکرد کلیوی

استویوزید برگ های گیاه استویا گشادکننده عروق سیستمیک است که باعث کاهش فشار خون، افزایش دفع ادرار و سدیم در افراد با فشار خون طبیعی و فشار خون بالا می گردد (۵۱). تجویز مداوم استویوزید در رت های نرمال و دچار پرفشاری خون باعث افزایش میزان فیلتراسیون گلومرولی (GFR) و جریان پلاسمایی کلیوی (RPF) می گردد (۵۱). همچنین مطالعات نشان داده اند که دریافت نرمال استویوزید اثر مضر بر عملکرد توبول های کلیوی ندارد (۵۲). علاوه بر این استویول و آنالوگ های آن یک داروی گیاهی طبیعی برای درمان بیماری کلیه پلی کیستیک به شمار می روند (۵۳).

چاقی

افزایش مصرف شکر باعث ایجاد بیماری های تغذیه ای و مشکلات جسمی مانند چاقی می گردد. بنابراین جایگزین کردن شکر با شیرین کننده های کم کالری می تواند استراتژی مناسبی برای مدیریت وزن باشد (۵۴). شیرین کننده استویا در محصولات غذایی و نوشیدنی ها جایگزینی کم کالری برای شکر است که منجر به کنترل و کاهش وزن با محدود کردن دریافت کالری می گردد (۵۵). همچنین برگ های استویا به عنوان غذای عملگرا (Functional food) اثرات مفیدی در رژیم درمانی دارد. در حقیقت جایگزین استویا به جای شکر افزودنی به غذاها (روزانه ۹۵ گرم) باعث کاهش انرژی دریافتی به میزان ۳۸۰ کیلوکالری در روز و یا تقریباً نیم کیلوگرم کاهش وزن در ۹ تا ۱۰ روز می گردد. علاوه بر این، مصرف برگ استویا و یا عصاره آن باعث کاهش ولع برای مصرف غذاها و شیرین و چرب می گردد که در برنامه کاهش وزن مفید است (۵۶).

پوسیدگی های دندانی

باکتری ها قسمت اصلی فرایند پوسیدگی دندانی محسوب می شوند. بسیاری از میکروارگانیسم ها مانند استرپتوکوکوس موتانس، لاکتوباسیلوس کازئی و استرپتوکوکوس سانگیس کربوهیدرات های رژیمی را تخمیر می کنند. استویا به عنوان یک شیرین کننده طبیعی محتوی ترکیبات باکتری کش است که باعث حفظ سلامت دهان و پیشگیری از اثر استرپتوکوکوس موتانس در پوسیدگی های دندانی و بیماری های لثه می گردد (۵۷). مطالعات نشان داده اند که رشد ارگانیسم های ایجادکننده پوسیدگی های دندانی مانند استرپتوکوکوس موتانس در محیط حاوی استویوزید مهار می شود و ترشح اسید توسط باکتری ها کاهش می یابد (۵۸).

استویا مجموعه ای از مکانیسم های کاملی را برای مقابله با دیابت نوع II و عوارض احتمالی آن فراهم می کند. بنابراین می توان برای تنظیم گلوکز از استویوزید و گلیکوزیدهای استویول به جای قند بهره برد. افزودن برگ استویا به صورت خشک و یا پودر شده در محصولات غذایی افراد دیابتیک به عنوان شیرین کننده در بهبود عملکرد پانکراس نقش مؤثری دارد.

تنظیم فشار خون

استویا می تواند به عنوان عامل مؤثری برای عادی سازی سطح فشار خون، تنظیم ضربان قلب و دیگر شاخص های قلبی مورد استفاده قرار گیرد (۲۹). در انسان، عصاره آبی برگ استویا باعث کاهش فشار خون سیستمیک و دیاستولیک می شود. مطالعات در مورد عصاره استویا و گلیکوزیدهای آن نشان داده است که استویا کاهش دهنده فشار خون است بوده و می تواند اثرات مدری داشته باشد (۲۹، ۳۴). استویا همانند مسدود کننده های کانال های کلسیمی بر سطح غشای سلول ها اثر می کند. مصرف مداوم گلیکوزیدهای استویا باعث کاهش کلسترول خون، بهبود بازسازی سلولی و انعقاد خون، سرکوب رشد سلول های بدخیم و تقویت رگ های خونی می گردد (۴۵و۵۵). استویوزید اثرات شل کنندگی بر عروق را دارد و این اثر در افراد دچار پرفشاری خون در مطالعه بلند مدت تصادفی، دوسوکور و کنترل شده که از کپسول های حاوی استویوزید (حاوی ۷۵۰ میلی گرم) استفاده شده بود، نشان داده شده است (۴۶). مطالعات همچنین نشان داده اند که استویا از طریق کاهش رسوب کلسیم در جدار عروق و شل کردن عروق باعث کاهش فشار خون می گردد (۴۷). همچنین نتایج مطالعه ای نشان داد که مصرف عصاره استویا (۲۰ میلی لیتر در ۲۰۰ میلی لیتر آب) در زنان با سطح کلسترول خون بالا باعث کاهش تری گلیسیرید، LDL و افزایش HDL می شود (۴۷).

سرطان

اسکلارنول لابدان ترکیبی است که در عصاره برگ استویا وجود داشته و اثرات ضد توموری و ضد سمی دارد (۴۸). مطالعات، اثرات مهاری عصاره برگ استویا را در شروع و پیشرفت تومور نشان داده اند (۴۹ و ۵۰). استویوزید و متابولیت های آن با مهار القای Epstein-Barr virus early antigen (EBV-EA) و کاهش تشکیل تومور در موش های دچار سرطان پوست از پیشرفت تومور پیش گیری نمودند. علاوه بر این، محصول هیدرولیز استویوزید که با نام ایزواستویول شناخته می شود، توانایی مهار همانندسازی DNA سلول های سرطانی و رشد سلول های سرطانی انسان را دارد (۴۹ و ۵۰).

امنیت مصرف

سمیت استویوزید به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است و نتایج این مطالعات نشان می‌دهد که این گیاه غیر سمی، غیر جهش‌زا و غیر سرطان‌زا است. مطالعه Gardana و همکاران (۲۰۱۰) نشان داده است که تجویز مقادیر بالایی از این ربودیوزید به موش‌ها به مدت بیش از ۹۰ روز اثرات سمی و آلرژیک نداشته است (۲۹). نتایج مطالعات مختلف نشان داده است که دریافت غذایی استویوزید اثری بر باروری موش، رت و همستر نداشته (۶۰ و ۵۹) و تا جایی که بررسی‌های ما نشان می‌دهد تاکنون هیچگونه عوارض جانبی از استویا گزارش نشده است. اگرچه استویا می‌تواند در کسانی که حساس به گیاهان تیره کاسنی هستند حساسیت ایجاد کند (۱۷).

استفاده صنعتی

عصاره برگ‌های استویا به صورت تجاری چندین دهه است که در کشورهای ژاپن، کره، چین، جنوب شرق آسیا و جنوب آمریکا به عنوان شیرین‌کننده استفاده می‌شود. در این کشورها استویوزید برای شیرین کردن غذاها و نوشیدنی‌ها استفاده می‌شود (۶۲). در آمریکا پودر برگ استویا و عصاره آن به عنوان مکمل رژیمی و برای زیبایی پوست و نه به عنوان شیرین‌کننده مورد استفاده قرار می‌گیرد. از دسامبر ۲۰۰۸ که FDA اعلام کرد ربودیوزید استخراج شده از استویا ایمن است (GRAS) [Generally Recognised As Safe]، استویا به عنوان شیرین‌کننده در برخی از مواد غذایی و نوشیدنی‌ها استفاده می‌گردد (۶۳).

اخیراً کمیته مشترک FAO/WHO با توجه به داده‌های علمی، استویا را شیرین‌کننده‌ای ایمن برای استفاده در غذاها

و نوشیدنی‌ها معرفی کردند و مصرف روزانه گلیکوزید استویول را تا ۴ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن توصیه نمودند (۶۴). گلیکوزیدهای استویول امروزه در صنعت آب میوه، نوشابه، دسر، شیرینی‌جات، سس، نان، بیسکویت و شیرین‌کننده سرفره استفاده می‌شوند و استفاده از آن تقریباً ۳۰٪ کمتر از شکر هزینه بر سیستم تحمیل می‌کند (۶۳).

نتیجه‌گیری

استویا یک گیاه سنتی مربوط به آمریکای جنوبی است که به عنوان شیرین‌کننده طبیعی می‌تواند در تمام نقاط جهان کشت شود. به خاطر دارا بودن فیتوکمیکال‌های مفید در تولید غذاها، عملگر کاربرد دارد. استویا منبع خوبی از کربوهیدرات، پروتئین، فیبر و مواد معدنی است که در تغذیه انسان بسیار ارزشمند هستند. جزء شیرین آن گلیکوزیدهای استویول هستند که در برگ‌های این گیاه موجودند. استویوزید قدرت شیرین‌کنندگی بالایی داشته و قابل مقایسه با شیرین‌کننده‌های مصنوعی است. برگ‌های استویا همانند استویوزید خالص می‌تواند به صورت طبیعی و یا پخته شده مورد استفاده قرار گیرد. این شیرین‌کننده طبیعی غیر سمی، غیر جهش‌زا و غیر سرطان‌زا است و قرن‌ها است که توسط انسان بدون هیچ عارضه جانبی مصرف گردیده و می‌تواند به جای ساکاروز در محصولات مختلف مورد استفاده قرار گیرد. به غیر از خواص شیرین‌کنندگی، استویا به علت دارا بودن ترکیبات مفید دیگر می‌تواند اثرات درمانی، ضد پرفشاری خون، ضد افزایش قند خون، ضد التهابی، ضد توموری، ضد اسهالی و تنظیم‌کنندگی سیستم ایمنی داشته باشد.

References

1. Soejarto D. Botany of Stevia and Stevia rebaudiana. In: Stevia: The genus Stevia. Kinghorn A, ed). London, New York; Taylor and Francis, 2002: 18-39.
2. Amzad-Hossain M, Siddique A, Mizanur-Rahman S & Amzad-Hossain M. Chemical composition of the essential oils of Stevia rebaudiana Bertoni leaves. Asian Journal of Traditional Medicines 2010; 5: 56-61.
3. Ghanta S, Banerjee A, Poddar A & Chattopadhyay S. Oxidative DNA damage preventive activity and antioxidant potential of Stevia rebaudiana (Bertoni) Bertoni, a natural sweetener. Journal of Agricultural Food Chemistry 2007; 55: 10962-10967.
4. Brandle J & Telmer P. Steviol glycoside biosynthesis. Phytochemistry 2007; 68: 1855-1863.
5. Barriocanal L, Palacios M, Benitez G, Benitez S, Jimenez J, Jimenez N, et al. Apparent lack of pharmacological effect of steviol glycosides used as sweeteners in humans, a pilot study of repeated exposures in some normotensive and hypotensive individuals and in type 1 and type 2 diabetics. Regulatory Toxicology and Pharmacology 2008; 51: 37-41.
6. Cacciola F, Delmontea P, Jaworska K, Dugo P, Mondello L & Rader J. Employing ultra high pressure liquid chromatography as the second dimension in a comprehensive two-dimensional system for analysis of Stevia rebaudiana extracts. Journal of Chromatography 2011; 1218: 2012-2018.
7. Chatsudhipong V & Muanprasat C. Stevioside and related compounds: Therapeutic benefits beyond sweetness. Pharmacology & Therapeutics 2009; 121: 41-54.

8. Pól J, Hohnová B & Hyötyläinen T. Characterization of *Stevia rebaudiana* by comprehensive two-dimensional liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography* 2007; 1150: 85-92.
9. Goyal S & Goyal R. *Stevia* (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: A review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 2010; 61: 1-10.
10. Carakostas M, Curry L, Boileau A & Brusick D. Overview: The history, technical function and safety of rebaudioside A, a naturally occurring steviol glycoside, for use in food and beverages. *Food and Chemical Toxicology* 2008; 46: S1-S10.
11. Katayama O, Sumida T, Hayashi H & Mitsuhashi H. The practical application of *Stevia* and research and development data 1976; Japan: I.S.U. Company: 747.
12. Sivaram L & Mukundam U. In vitro culture studies on *Stevia rebaudiana*. *In Vitro Cellular and Developmental Biology –Plant* 2003; 39: 520-523.
13. Carneiro J, Muniz A & Guedes T. Greenhouse bedding plant production of *Stevia rebaudiana* (Bert) bertonii. *Canadian Journal of Plant Science* 1997; 77: 473-474.
14. Singh S & Rao G. *Stevia*: The herbal sugar of 21st Century. *Sugar Tech* 2005; 71: 17-24.
15. Mishra P, Singh R, Kumar U & Prakash V. *Stevia rebaudiana* – A magical sweetener. *Global Journal of Biotechnology & Biochemistry* 2010; 5: 62-74.
16. Savita S, Sheela K, Sunanda S, Shankar A & Ramakrishna P. *Stevia rebaudiana* – A functional component for food industry. *Journal of Human Ecology* 2004; 15: 261-264.
17. Serio, L. *La Stevia rebaudiana*, une alternative au sucre. *Phytothérapie*, 2010; 8: 26–32.
18. Abou-Arab A, Abou-Arab A & Abu-Salem M F. Physico-chemical assessment of natural sweeteners steviol glycosides produced from *Stevia rebaudiana* Bertoni plant. *African Journal of Food Science* 2010; 4: 269-281.
19. Braz de Oliveira AJ, Correia Gonçalves R A, Cantuaria Chierrito T P, Müller dos Santos M, Mera de Souza L, Gorin P A J, et al. Structure and degree of polymerisation of fructooligosaccharides present in roots and leaves of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. *Food Chemistry* 2011; 129: 305-311.
20. Mohammad M, Mohammad U, Sher M, Habib A & Iqbal A. In vitro clonal propagation and biochemical analysis of field established *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Pakistan Journal of Botany* 2007; 39: 2467-2474.
21. WHO. Report of a Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation on Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition (2002: Geneva, Switzerland). WHO Technical Report Series; 2007: No. 935.
22. Tadhani M & Subhash R. Preliminary studies on *Stevia rebaudiana* leaves: Proximal composition, mineral analysis and phytochemical screening. *Journal of Medical Sciences* 2006; 6: 321-326.
23. Adotey D, Serfor-Armah Y, Fianko J & Yeboah P. Essential elements content in core vegetables grown and consumed in Ghana by instrumental neutron activation analysis. *African Journal of Food Science* 2009; 3: 243-249.
24. Kim I, Yang M, Lee O & Kang S. The antioxidant activity and the bioactive compound content of *Stevia rebaudiana* water extracts. *LWT – Food Science and Technology* 2011; 44: 1328-1332.
25. Jayaraman S, Manoharan M & Illanchezian S. In-vitro antimicrobial and antitumor activities of *Stevia rebaudiana* (Asteraceae) leaf extracts. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 2008; 7: 1143-1149.
26. Bernal J, Mendiola J, Ibáñez E & Cifuentes A. Advanced analysis of nutraceuticals. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2011; 55: 758-774.
27. Geuns J. Steviol glycosides. *Phytochemistry* 2003; 64: 913-921.
28. Giraldo C, Marín L & Habeych D. Obtención de Edulcorantes de *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Revista CENIC Ciencias Biológicas* 2005; 36: 3-10.
29. Gardana C, Scaglianti M & Simonetti P. Evaluation of steviol and its glycosides in *Stevia rebaudiana* leaves and commercial sweetener by ultra-highperformance liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography* 2010; 1217: 1463-1470.
30. Kovylyayeva G, Bakaleinik G, Strobykina I, Gubskaya V, Sharipova R, Al'fonsov V, et al. Glycosides from *Stevia rebaudiana*. *Chemistry of Natural Compounds* 2007; 43: 81-85.
31. Debnath M. Clonal propagation and antimicrobial activity of an endemic medicinal plant *Stevia rebaudiana*. *Journal of Medicinal Plants Research* 2008; 2: 45-51.
32. Phansawan B & Pongbangpho S. Antioxidant capacities of *Pueraria mirifica*, *Stevia rebaudiana* Bertoni, *Curcuma longa* Linn., *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees and *Cassia alata* Linn for the development of dietary supplement. *Kasetsart Journal: Natural Science* 2007; 41: 548-554.
33. Shukla S, Mehta A, Bajpai V & Shukla S. In vitro antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bert. *Food and Chemical Toxicology* 2009; 47: 2338-2343.
34. Atteh J, Onagbesan O, Tona K, Decuypere E, Geuns J & Buyse J. Evaluation of supplementary *Stevia* (*Stevia rebaudiana* Bertoni) leaves and steviol glycoside in broiler diets: Effects on feed intake, nutrient metabolism, blood parameters and growth performance. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 2008; 92: 640-649.
35. Chen J, Jeppesen P, Abudula R, Dyrskog S, Colombo M & Hermansen K. Steviol glycosides does not cause increased basal insulin secretion or b-cell desensitization as does the sulphonylurea, glibenclamide: Studies in vitro. *Life Science* 2006; 78: 1748-1753.

36. Kochikyan V, Markosyan A, Abelyan L, Balayan A & Abelyan V. Combined enzymatic modification of stevioside and rebaudioside A. *Applied Biochemistry and Microbiology* 2006; 42: 31-37.
37. Lee CN, Wong K, Liu J, Chen Y & Chan P. Inhibitory effect of stevioside on calcium influx to produce antihypertension. *Planta Medica* 2001; 67: 796-799.
38. Takahashi K, Matsuda M, Oashi K, Yaniguchi K, Nakagomi O, Abe Y, et al. Analysis of anti-rotavirus activity of extract from *Stevia rebaudiana*. *Antiviral Research* 2001; 49: 15-24.
39. Megeji NW, Kumar JK, Singh V, Kaul VK, Ahuja PS. Introducing *Stevia rebaudiana*, a natural zero-calorie sweetener. *Curr. Sci* 2005; 88: 801-804.
40. Curi R, Alvarez M, Bazotte RB, Botion LM, Godoy JI, Bracht A. Effect of *Stevia rebaudiana* on glucose tolerance in normal adult human. *Braz. J. Med. Biol. Res* 1986; 19:771-774.
41. Jeppesen PB, Gregersen S, Poulsen CR, Hermansen K. Stevioside acts directly on pancreatic β -cells to secrete insulin; Actions independent of cyclic adenosine monophosphate and adenosine triphosphate-sensitive K^+ channel activity. *Metabolism* 2000; 49:208-214.
42. Chen TH, Chen SC, Chan P, Chu YL, Yang HY, Cheng JT. Mechanism of the hypoglycemic effect of stevioside, a glycoside of *Stevia rebaudiana*. *Planta Med* 2005; 71:108-113.
43. Gregersen S, Jeppesen PB, Holst JJ, Hermansen K. Antihyperglycemic effects of stevioside in type 2 diabetic subjects. *Metabolism* 2004; 53:73-76.
44. Shivanna N, Naika M, Khanum F, Kaul VK. Antioxidant, anti-diabetic and renal protective properties of *Stevia rebaudiana*. *J. Diabetes Complicat* 2013; 27:103-113.
45. Jeppesen PB, Gregersen S, Rolfsen SE, Jepsen M, Colombo M, Agger A, Xiao J, Kruhøffer M, Orntoft T, Hermansen K. Antihyperglycemic and blood pressure-reducing effects of stevioside in the diabetic Goto-Kakizaki rat. *Metabolism* 2003; 52:372-378.
46. Chan P, Tomlinson B, Chen Y, Liu J, Hsieh M, Cheng J. A double-blind placebo-controlled study of the effectiveness and tolerability of oral stevioside in human hypertension. *Br. J. Clin. Pharmacol* 2000; 50:215-220.
47. Sharma N, Mogre R. Effect of *Stevia* intervention on lipid profile. In: *On serving farmers and saving farming—India imperative and global perspective*, GBPUA & T, Pantnagar, 10–12 January 2007 : 85.
48. Kaushik R, Narayanan P, Vasudevan V, Muthukumaran G, Antony U. Nutrient composition of cultivated *Stevia* leaves and the influence of polyphenols and plant pigments on sensory and antioxidant properties of leaf extracts. *J. Food Sci Tech* 2010; 47:27-33.
49. Akihisa T, Hamasaki Y, Tokuda H, Ukiya M, Kimura Y, Nishino H. Microbial transformation of isosteviol and inhibitory effects on Epstein-Barr virus activation of the transformation products. *J. Nat. Prod.* 2004; 67:407-410.
50. Takasaki M, Konoshima T, Kozuka M, Tokuda H, Takayasu. Effects of stevioside and related compounds. *Bioorg. Med. Chem.* 2009; 17:600-605.
51. Melis MS. Stevioside effect on renal function of normal and hypertensive rats. *J Ethnopharmacol.* 1992; 36:213–217.
52. Jutabha P, Toskulkao C, Chatsudthipong V. Effect of stevioside on PAH transport by isolated perfused rabbit renal proximal tubule. *Can. J. Physiol. Pharm* 2000; 78:737-744.
53. Yuajit C, Homvisasevongsa S, Chatsudthipong L, Soodvilai S, Muanprasat C, Chatsudthipong V. Steviol Reduces MDCK Cyst Formation and Growth by Inhibiting CFTR Channel Activity and Promoting Proteasome-Mediated CFTR Degradation. 2013doi:10.1371/journal.pone.0058871. *PLoS ONE.* 2013; 8: e58871.
54. Stephen DA, Corby KM, Hongmei H, Sandra C, William TC, Paula G, Donald AW. Effects of *Stevia*, aspartame, and sucrose on food intake, satiety, and postprandial glucose and insulin levels. *Appetite* 2010; 55:37-43.
55. Curry LL, Roberts A. Subchronic toxicity of rebaudioside A. *Food Chem. Toxicol* 2008; 46: S11-S20.
56. Jain JL, Jain S, Jain N. *Fundamentals of biochemistry* New Delhi: S. Chand & Co. Pub. Ltd. 2007; 104-107.
57. Matsukubo T, Takazoe I. Sucrose substitutes and their role in caries prevention. 2010; 56:119-130.
58. Grenby TH. Update on low-calorie sweeteners to benefit dental health. *Int. J. Dent* 1991; 41:217-24.
59. Akashi H & Yokoyama Y. Security of dried-leaf extracts of *Stevia*: Toxicological tests. *Food Industry* 1975; 18: 34-43.
60. Mori N, Sakanoue M, Takuchi M, Shimpo K & Tanabe T. Effect of stevioside on fertility in rats. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan* 1981; 22: 409-414.
61. Koyama E, Kitazawa K, Ohori Y, Izawa O, Kakegawa K, Fujino A, et al. In vitro metabolism of the glycosidic sweeteners, *Stevia* mixture and enzymatically modified *Stevia* in human intestinal microflora. *Food and Chemical Toxicology* 2003; 41: 359-374.
62. Lemus-Mondaca R, Vega-Gálvez A, Zura-Bravo L, Ah-Hen K. *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chemistry* 2012; 132: 1121-1132.
63. Benford DJ, DiNovi M, Schlatter J. "Safety Evaluation of Certain Food Additives: Steviol Glycosides"(PDF). WHO Food Additives Series (World Health Organization Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) 2006; 54:140.