



## بررسی اثر عصاره چای سبز بر زنده‌مانی پروبیوتیک در نوشیدنی پیناکولادا بر پایه آب پنیر تحت شرایط شبیه‌سازی شده معده و روده

بهاره دهقان<sup>۱</sup>، رضا اسماعیل‌زاده کناری<sup>۲</sup>، زینب رفتنی امیری<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.

۲- استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.

۳- استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.

### اطلاعات مقاله

### چکیده

تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۲۱

کلمات کلیدی:

نوشیدنی بر پایه آب پنیر،  
آب‌میوه آناناس و نارگیل،  
عصاره چای سبز،  
باکتری‌های پروبیوتیک.

DOI: 10.52547/fsct.19.122.115

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.122.17.0

\* مسئول مکاتبات:

reza\_kenari@yahoo.com

در این پژوهش اثر افزودن عصاره چای سبز (به مقدار ۱۰٪) بر روی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، حسی، میکروبی و زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در نوشیدنی پیناکولادا بر پایه آب‌پنیر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در نتیجه افزودن عصاره چای سبز، خواص فیزیکوشیمیایی از جمله pH، بریکس، ماده خشک و مقدار پروتئین نوشیدنی تغییر معنی‌داری نداشت ولی میزان کدورت نوشیدنی در مقایسه با نمونه کنترل (بدون چای سبز) افزایش یافت. نتایج ارزیابی میکروبی نشان داد که نمونه حاوی عصاره چای سبز نسبت به نمونه کنترل، فاقد آلودگی میکروبی بود که نشان از خاصیت ضد میکروبی عصاره چای سبز می‌باشد. اگرچه  $2 \text{ CFU/ml}$  کپک در نمونه کنترل مشاهده گردید ولی این مقدار کمتر از حد استاندارد بوده و قابلیت مصرف دارد. باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس برخلاف بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در نوشیدنی رشد نکرد. همچنین زنده‌مانی باکتری بیفیدوباکتریوم در طی نگهداری ۲۸ روزه در یخچال و طی عبور از شرایط معده و روده روند کاهشی داشت که این کاهش در نوشیدنی حاوی عصاره چای سبز بیشتر از نمونه کنترل بود. با این حال تا روز ۲۱ ام قابلیت زنده‌مانی میکروارگانیسم‌ها در نوشیدنی حاوی عصاره چای سبز در حد توصیه شده مطابق استاندارد ملی ایران ( $10^6 \text{ CFU/ml}$ ) حفظ شده بود. می‌توان از غلظت مناسبی از عصاره چای سبز در تولید نوشیدنی پروبیوتیک پیناکولادا بر پایه آب‌پنیر به عنوان یک نوشیدنی فراسودمند جدید استفاده کرد.

## ۱- مقدمه

مصرف کنندگان آگاه، بدن‌بال نوشیدنی‌هایی با مقادیر بالاتر مواد مغذی (به عنوان مثال، پروتئین‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی) و ترکیبات فعال زیستی (به عنوان مثال، فنولیک‌ها و کاروتنوئیدها) هستند. در این راستا، نوشیدنی‌های لبنی تولید شده با آب پنیر و آب‌میوه به ترتیب منبع پروتئین‌هایی با ارزش بیولوژیکی بالا و ترکیبات فعال زیستی هستند [۱]. پروتئین‌های آب‌پنیر به دلیل ارزش بیولوژیکی بسیار بالا و همچنین دارا بودن توالی‌های پپتیدی با ویژگی‌های کاهندگی کلسترول خون، ضد فشار خون، ضد دیابت، ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی، تسکین‌دهندگی، القای احساس سیری (در ارتباط با افراد دارای اضافه وزن و چاق) و ... از پتانسیل بالایی برای استفاده در فرمولاسیون‌های غذایی فراسودمند برخوردار می‌باشند [۲]. با این حال، ویژگی‌های حسی ضعیف نوشیدنی‌های پروتئینی آب پنیر به ویژه عطر و طعم نامناسب آن، هنوز یک چالش برای پذیرش مصرف کنندگان است. ساده‌ترین راه پوشانیدن این عیب، مخلوط کردن آب‌پنیر با آن گروه از آب‌میوه‌جات است که می‌توانند عطر نامطلوب آن را به خوبی بپوشانند. آب‌میوه ماتریس مناسبی برای انتقال و رساندن پروتئین‌های آب‌پنیر به رژیم غذایی انسان محسوب می‌شود [۳]. تحقیقات متعددی در مورد ایجاد مخلوط آب میوه آب پنیر با فرمولاسیون‌های مختلف برای انتخاب ترکیب مطلوب بر اساس درک حسی انجام شده است. در این راستا، Chevalier و همکاران (۲۰۱۹)، در پژوهشی به بررسی توسعه نوشیدنی پروتئینه حاوی پروتئین آب‌پنیر با ترکیبی از پوره بلوبری پرداختند [۴]. نوشیدنی میوه‌ای پیناکولادا مخلوطی از آب‌میوه آناناس و نارگیل می‌باشد [۵].

چای (*Camellia sinensis*) بعد از آب پرمصرف‌ترین نوشیدنی است. انواع کاتچین‌های اصلی چای شامل اپی‌کاتچین (EC)، اپی‌گالوکاتچین (EGC)، اپی‌کاتچین گالات (ECG)، اپی‌گالوکاتچین گالات (EGCG) است [۶]. چای سبز ترکیب فنولی (کاتچین) بیشتری نسبت به چای سیاه دارد. اپی‌گالوکاتچین گالات از جمله مهم‌ترین پلی‌فنول‌های آنتی‌اکسیدانی موجود در چای سبز است. چای سبز یکی از رایج‌ترین گیاهان دارویی پرمصرف در جهان است که در انواع محصولات دارویی

و غذایی از جمله نوشیدنی‌ها کاربرد دارد. اثرات سلامتی‌بخش چای سبز عبارتند از: کاهش خطرات بیماری‌های قلبی عروقی، کاهش بروز بعضی از سرطان‌ها، ضدفشارخون، خاصیت ضدباکتریایی و ضدویروسی و تاثیر مثبت بر عملکرد سیستم عصبی می‌باشد [۷]. افزایش تمایل مردم به فواید سلامتی‌بخش چای سبز باعث شده است که چای سبز در انواع مختلف غذاها گنجانده شود. همه اثرات مفید چای به فعالیت ترکیبات پلی‌فنلی (مانند کاتچین و گالیک اسید) با خواص آنتی‌اکسیدانی قوی نسبت داده شده است، به طوری‌که، آن‌ها بدن ما را از آسیب رادیکال‌های آزاد که ناشی از استرس اکسیداتیو است محافظت می‌کنند [۸].

پروبیوتیک‌ها میکروبی‌های زنده‌ای هستند که مصرف منظم و کافی آن‌ها با بهبود خواص میکروبی روده، واجد آثار سودمندی بر سلامت مصرف کننده است. مصرف گونه‌های پروبیوتیک دارای اثرات سلامتی‌بخشی نظیر کمک به هضم لاکتوز، کنترل کلسترول سرم خون، کنترل سرطان و یا بیماری‌های عفونی دستگاه گوارش است. برای تحقق این آثار سلامتی‌بخش مصرف منظم ۱۰<sup>۶</sup> الی ۱۰<sup>۹</sup> سلول زنده این باکتری توصیه می‌شود. مصرف محصولات لبنی حاوی کشت‌های بیفیدوباکتر و لاکتوباسیلوس در استقرار دوباره این ارگانیسم‌ها در روده کمک می‌کند و در نتیجه از رشد باکتری‌های مضر جلوگیری کرده و باعث افزایش ویژگی‌های درمانی محصول می‌شود [۹].

باکتری‌های پروبیوتیک نه تنها بایستی در طول مدت زمان ماندگاری غذا زنده بمانند بلکه باید در طول عبور از اسید معده، آنزیم‌ها و نمک‌های قلیایی صفرا زنده مانده و به محل فعالیت خود (روده) برسند. چون pH خیلی پایین معده و همچنین حضور نمک‌های صفراوی در روده، دلیل اصلی کاهش ناگهانی در قابلیت زیستی سلول‌های انتقال یافته است، زیرا باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با گرم‌منفی‌ها حساسیت بیشتری به نمک‌های صفراوی روده دارند، از این رو بررسی زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در مسیر دستگاه گوارش از اهمیت زیادی برخوردار است [۱۰].

در این تحقیق تلاش بر آن بوده است که تا برای اولین بار از مخلوط آب‌میوه آناناس و نارگیل (پیناکولادا) که دارای پروفایل طعمی جذاب است، به همراه عصاره چای سبز برای تولید

## ۲-۳- آماده سازی نوشیدنی

نوشیدنی میوه‌ای بر پایه لبنی مطابق استاندارد ملی ایران (به شماره ۱۶۸۸۱) دارای حداقل ۲۰ درصد پایه لبنی (۰/۶ درصد پروتئین) و حداقل ۲۰ درصد آب میوه می‌باشد. در نتیجه در فرمول نوشیدنی از ۴ درصد پودر آب پنیر، ۴/۵ درصد شکر، ۲۰ درصد مخلوط آب میوه آناناس و نارگیل (با نسبت ۱:۱)، ۱۰ درصد عصاره چای سبز استفاده شد. ۰/۴۸۵ درصد از صمغ‌های بومی ایران (شامل ترکیبی از ۰/۱۳ گرم کتیرا + ۰/۳۵ گرم صمغ فارسی + ۰/۰۰۵ گرم مرو) به عنوان استابیلایزر استفاده شد که این میزان براساس بهینه‌سازی در مطالعات اولیه تعیین گردید. آب تا وزن نهایی ۱۰۰ گرم اضافه شد. ترکیب نهایی در ارنل شیشه‌ای با درپوش آلومینیومی در حمام آب با دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه پاستور شد [۱۴]. در نهایت بعد از سالم‌سازی و سرد شدن تا دمای محیط، باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم به صورت جداگانه، مطابق دوز پیشنهادی کارخانه سازنده در نوشیدنی تلقیح گردید (۱۰<sup>۸</sup>-۱۰<sup>۷</sup> cfu/ml). نمونه‌ها تا انجام آزمایشات در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

## ۲-۴- آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

مواد جامد محلول با استفاده از رفراکتومتر دستی ATAGO ژاپن، pH توسط pH متر دیجیتال Metrohm سوئیس، ماده خشک به روش تبخیر در آون [۱۵] و پروتئین به روش کلدال (ضریب تبدیل: ۶/۳۸) [۱۶] انجام شد. برای اندازه‌گیری میزان کدورت نوشیدنی بعد از عمل سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه)، جذب با اسپکتروفتومتر (PG Instruments Ltd., UK) در محدوده ۶۶۰ نانومتر در مقابل آب مقطر قرائت گردید [۱۴].

## ۲-۵- آماده سازی شرایط شبیه‌سازی شده معده و

### روده

نمونه‌های نوشیدنی (۱۰ میلی‌لیتر) با ۱۰ میلی‌لیتر شیره شبیه‌سازی شده معده مخلوط شد (۷/۳ گرم در لیتر NaCl، ۰/۵۲ گرم در لیتر KCl، ۳/۷۸ گرم در لیتر NaHCO<sub>3</sub>، ۳ گرم در لیتر پپسین، در pH نهایی تنظیم شده ۲/۵).

نوشیدنی پروبیوتیک فراسودمند بر پایه آب پنیر تهیه گردد. زنده ماندن پروبیوتیک‌ها به هنگام رسیدن به روده شرط لازم برای بروز اثرات سلامتی‌بخش این باکتری‌ها می‌باشد، در نتیجه هدف از این تحقیق بررسی اثر عصاره چای سبز بر بقای باکتری‌های پروبیوتیک در نوشیدنی بر پایه آب پنیر طی شرایط معده و روده و همچنین در طی نگهداری به مدت ۲۸ روز در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد بود.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد مورد استفاده

صمغ دانه مرو از بازار محلی آمل خریداری گردید و به روش بستان و همکاران (۲۰۱۰) استخراج شد [۱۱]. صمغ کتیرا و صمغ فارسی از بازار محلی آمل خریداری و آسیاب شد. در این مطالعه، بخش محلول صمغ‌های کتیرا و فارسی استفاده گردید و جداسازی بخش‌های محلول و نامحلول با روش بیرامی و همکاران (۲۰۲۱) انجام گردید [۱۲]. پودر آب پنیر (۷۰٪ لاکتوز، ۱۵٪ پروتئین و ۲/۷٪ رطوبت) توسط شرکت لبنی دوشه آمل (لبنیات هراز) فراهم گردید. کشت‌های پروبیوتیک لیوفیلیزه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم از نوع DVS از شرکت کریستین هانسن دریافت گردید. آنزیم پپسین و پانکراتین، نمک صفراوی و همچنین تمام محیط‌های کشت میکروبی و سایر مواد آزمایشگاهی از شرکت سیگما آلدریچ خریداری شد.

### ۲-۲- عصاره چای سبز

استخراج عصاره چای سبز به روش Binds و همکاران (۲۰۱۹) با اندکی تغییرات انجام گرفت [۱۳]. شرایط مطلوب استخراج شامل، اندازه ذرات پودر چای ۰/۹ میلی‌متر، نسبت پودر چای به آب برابر با ۱ گرم به ۱۰۰ میلی‌لیتر در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه بود. برای جداسازی ذرات درشت، مخلوط چای از کاغذ فیلتر ۱۱ میکرومتر عبور داده شد. مقدار عصاره چای سبز در نوشیدنی با در نظر گرفتن پذیرش حسی محصول حاصله تعیین شد.

## ۲-۹- آنالیز آماری

در این مطالعه، نتایج داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ مورد بررسی قرار گرفت. به منظور تحلیل داده‌ها و بررسی معنی‌دار بودن اختلاف موجود بین میانگین‌ها آزمون  $t$ -test در سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده شد. نتایج براساس میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد سه تکرار گزارش شد.

## ۳- نتایج و بحث

### ۳-۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی نوشیدنی

#### پیناکولادا بر پایه آب پنیر

همانطور که نتایج جدول ۱ نشان می‌دهد، در نتیجه افزودن عصاره چای سبز به نوشیدنی، تغییرات پارامترهایی همچون pH، بریکس، ماده خشک و پروتئین معنی‌دار نبود ( $P > 0/05$ ). این نتایج مشابه با نتایج بدست آمده در یک مطالعه بر روی ماست طعم‌دار کارامل بود [۲۱]. مطابق با نتایج حاضر، Da Silva و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که افزودن عصاره انگور به ماست پروبیوتیک باعث تغییر معنی‌داری بر پارامترهایی همچون pH، اسیدیته، پروتئین، خاکستر، چربی و رطوبت نشده است [۲۲]. هم‌چنین در تحقیق دیگر توسط Moreira و همکاران (۲۰۲۱)، گزارش کردند که در نتیجه افزودن عصاره گیاهی به آب هویج مقدار pH تغییری نکرد [۲۳]. برخلاف نتایج حاضر، سوری و همکاران (۲۰۱۹)، در بررسی اثر عصاره چای سبز در نوشیدنی پروبیوتیک آب‌هندوانه گزارش کردند که با افزایش غلظت عصاره چای سبز، بریکس افزایش ولی pH به طور معنی‌داری کاهش یافت که علت آن را پایین بودن pH عصاره چای سبز نسبت دادند [۲۴]. در نتیجه افزودن عصاره چای سبز به نوشیدنی پیناکولادا، کدورت نوشیدنی به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $P < 0/05$ )، علت آن می‌تواند در نتیجه وجود کدورت پودر چای سبز در نوشیدنی باشد. مطابق با نتایج حاضر، رئیس و همکاران (۲۰۱۳)، گزارش کردند که افزودن عصاره سبوس برنج به نوشیدنی پرتقال، سبب افزایش کدورت نوشیدنی می‌شود که یک فاکتور مطلوب در آب پرتقال است. علت کدورت نمونه‌ها را به وجود عوامل کدورت‌زا در عصاره‌ی سبوس نسبت دادند

نمونه‌ها به مدت ۱/۵ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تحت لرزش مداوم (۱۰۰ دور دقیقه) انکوبه شدند. پس از آن، ۱۰ میلی‌لیتر مایع شبیه سازی‌شده روده (۱/۲۷ گرم در لیتر NaCl، ۰/۲۳ گرم در لیتر KCl، ۰/۶۴ گرم در لیتر  $\text{NaHCO}_3$ ، ۱ گرم در لیتر پانکراتین، ۱/۵ گرم در لیتر نمک‌های صفاوی) اضافه شد و pH به ۸ تنظیم شد. محلول حاصل به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، تحت لرزش مداوم (۱۰۰ دور در دقیقه) شیک شد [۱۷].

### ۲-۶- بررسی زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها

ارزیابی جمعیت پروبیوتیکی در مورد یک محصول پروبیوتیک از ضرورت همیشگی محسوب می‌شود تا مشخص گردد جمعیت پروبیوتیکی کل چه تغییری می‌کند و در پایان دوره نگهداری در حد استاندارد ( $10^7$ - $10^6$ ) باقی مانده است یا خیر. بررسی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۵۲۷۲ و با روش شمارش جمعیت میکروبی کل اندازه‌گیری شد [۱۸].

### ۲-۷- آزمون‌های میکروبی

به منظور تایید کیفیت میکروبی نوشیدنی‌ها، تعداد کل میکروارگانیزم‌ها، اشرشیاکلی، کلی‌فرم، باکتری‌های مقاوم به اسید، کپک و مخمر بلافاصله پس از تولید و پس از ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز بررسی گردید. شمارش کلی بار میکروبی با استفاده از محیط پلیت کانت آگار و کپک و مخمر با محیط کشت سطحی روی محیط کشت YGC در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ روز انکوباسیون انجام گردید. تشخیص باکتری‌های کلی‌فرم در محیط کشت لوریل سولفات تریپتوز برات ابتدا با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در صورت مشاهده گاز و شناسایی اشرشیاکلی در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید [۱۹].

### ۲-۸- ارزیابی حسی

برای ارزیابی حسی نمونه‌های نوشیدنی از افراد آموزش دیده و آزمون هدونیک پنج نقطه‌ای با مشخصات امتیازی ۱ تا ۵ به نحوی که امتیاز ۱ برای بدترین نمونه و امتیاز ۵ برای مطلوب‌ترین نمونه استفاده می‌گردد، به ترتیب امتیاز شامل غیرقابل قبول، نسبتاً رضایت‌بخش، خوب، عالی و بسیار عالی می‌باشد [۲۰].

صورت استفاده از این عصاره در فرمولاسیون نوشیدنی‌های شفاف، شفاف سازی و کاهش کدورت باید مورد توجه قرار بگیرد.

[۲۵]. با توجه به کدورت عصاره چای سبز، استفاده از آن در فرمولاسیون نوشیدنی‌های کدر از جمله نوشیدنی پیناکولادا بر پایه آب‌پنیر می‌تواند بر میزان مقبولیت مصرف کنندگان بیفزاید؛ اما در

**Table 1** Mean values of physicochemical parameters in whey-based pina colada beverages

| Parameters     | Control                   | GTE                       |
|----------------|---------------------------|---------------------------|
| pH             | 3.95 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 3.98 ± 0.02 <sup>a</sup>  |
| °Brix          | 11 ± 0.01 <sup>a</sup>    | 11 ± 0.02 <sup>a</sup>    |
| Dry matter (%) | 11.52 ± 0.05 <sup>a</sup> | 11.61 ± 0.03 <sup>a</sup> |
| Protein (%)    | 0.61 ± 0.03 <sup>a</sup>  | 0.64 ± 0.04 <sup>a</sup>  |
| Cloudy value   | 0.37 ± 0.02 <sup>b</sup>  | 0.48 ± 0.01 <sup>a</sup>  |

Values with different letters in rows are significantly different processing technique ( $P \leq 0.05$ )

Control: Drink without green tea extract; GTE: Drink containing green tea extract

نوشیدنی حاوی عصاره چای سبز در هفته آخر، تعداد پروبیوتیک  $10^6$  CFU/ml بود که کمتر از حد استاندارد ایران در یک محصول پروبیوتیک است. بنابراین برای تامین این تعداد از میکروب در نوشیدنی پروبیوتیکی پیناکولادا حاوی عصاره چای سبز پیشنهاد می‌شود در لحظه تلقیح، از تعداد بیش‌تری از پروبیوتیک در نوشیدنی اضافه گردد. در مطالعه حاضر تعداد پروبیوتیک نوشیدنی با افزودن عصاره چای سبز کاهش یافت که علت را می‌توان به غلظت عصاره به کار برده شده نسبت داد. یک توصیه کلی وجود دارد که غذاهای پروبیوتیک باید در دمای ۴ و ۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شوند. آب‌میوه‌ها یک ماتریکس چالش‌برانگیز برای پروبیوتیک‌ها هستند، زیرا عواملی مانند pH و اسیدیته بر زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها تاثیر می‌گذارد [۱۹]. محتوای فنولیک در نوشیدنی‌ها همچنین ممکن است بر زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها تاثیر بگذارد و فعالیت محافظتی یا ضد میکروبی از خود نشان دهد [۲۶]. برای مثال، ترکیبات فنولی اسید الاژیک موجود در آب انار، زنده‌مانی پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم لاکتیس را مهار کرد [۲۷]. مطابق با نتایج حاضر، اکبری و همکاران (۲۰۱۷) در بررسی عصاره گیاه درمنه بر باکتری لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم در ماست گزارش کردند که تعداد هر دو باکتری در تمامی نمونه‌های ماست در طی دوره نگهداری در یخچال (از روز اول تا روز بیست و یکم) روند کاهشی داشت و کاهش پروبیوتیک‌ها با افزایش غلظت عصاره مشهودتر بود [۲۸]. همچنین وظیفه دوست و همکاران در بررسی اثر عصاره نعنای بر بقای پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم در ماست همزده نشان دادند که با گذشت زمان ۲۱ روز، تعداد باکتری پروبیوتیک کاهش یافت و از

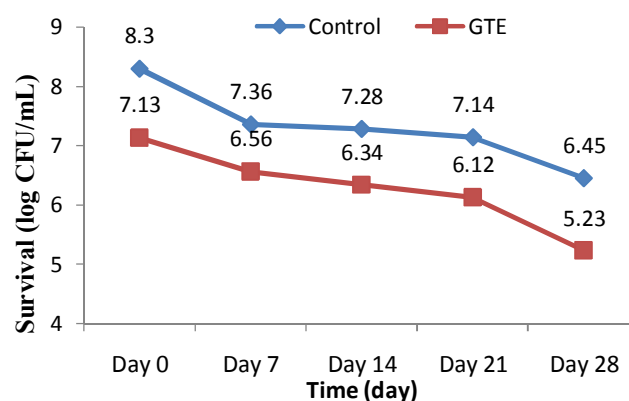
### ۲-۳- بررسی زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها طی نگهداری

طبق نتایج حاصل شده، قابلیت زنده‌مانی و رشد باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم بالاتر از لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بود. به طوری که با سه تکرار انجام شده و حتی در غلظت‌های مختلف تلقیح، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در نمونه‌های نوشیدنی هیچ رشدی نداشت. یکی از مهم‌ترین مسائلی که در تولید فرآورده‌های پروبیوتیکی مطرح می‌باشد، عدم تغییر جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک در مدت نگهداری محصول می‌باشد، به طوری که ثابت شده اگر میزان این باکتری‌ها در طول زمان نگهداری فرآورده کاهش یابد، اثرات پروبیوتیکی این باکتری‌ها در میزان اعمال نمی‌شود. به منظور اثر بخشی پروبیوتیک‌ها برای انسان، تعداد میکروارگانیسم‌های زنده باید بیش از  $10^6$  CFU/ml باشد تا میزان دوز مناسب روزانه  $10^9$ - $10^6$  باکتری زنده را فراهم کند [۲۴].

شکل ۱ روند تغییرات شمارش باکتری بیفیدوباکتریوم را در نوشیدنی پیناکولادا بر پایه آب‌پنیر در طول نگهداری در یخچال نشان می‌دهد. تعداد اولیه این باکتری در روز اول نگهداری در نمونه کنترل (بدون چای سبز)  $8/3 \log$  CFU/ml تعیین گردید اما بعد از نگهداری ۲۸ روزه با وجود کاهش بیش از دو واحد لگاریتمی مناسب ارزیابی شد چراکه در پایان دوره (۲۸ روز) نگهداری در یخچال، زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک در یخچال بیش‌تر از  $10^6$  CFU/ml بود که این تعداد مطابق با حد توصیه شده توسط استاندارد ایران ( $10^6$  CFU/ml) بود. ولی برای

بالتری از عصاره چای سبز، تاثیر بیشتری بر زنده‌مانی پروبیوتیک داشته‌اند که علت آن را ترکیبات فنولی و خاصیت بالای آنتی‌اکسیدانی عصاره چای سبز دانستند. هم‌چنین در تحقیقی دیگر، شاه و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در آب‌میوه مدل‌سازی شده با افزودن عصاره چای سبز، عصاره دانه انگور سفید و ویتامین‌ها به عنوان منابع آنتی‌اکسیدانی بیان نمودند که زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در آب‌میوه حاوی عصاره چای سبز و انگور افزایش یافت [۳۱].

طرفی عصاره نعنای در غلظت بالا، تاثیر منفی بر رشد و بقای باکتری دارد که دلیل آن وجود ترکیبات ضد میکروبی مثل منتول است [۲۹]. گزارش‌های متعددی حاکی از آن است که با افزایش میزان عصاره نعنای، رشد لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتر کاهش و با کاهش میزان عصاره، زنده‌مانی پروبیوتیک افزایش می‌یابد [۳۰]. نتایج حاضر با نتایج تحقیق سوری و همکاران، در بررسی اثر افزودن عصاره چای سبز بر زنده‌مانی پروبیوتیک در نوشیدنی آب‌هندوانه هم‌راستا نبود که بیان نمودند نوشیدنی محتوی درصد



**Fig 1** The number of *Bifidobacterium* ( $\log_{10}$  CFU/mL) in whey-based pina colada beverages during 28 days of storage at 4 °C.

Control: Drink without green tea extract; GTE: Drink containing green tea extract

کاهش حدود سه سیکل لگاریتمی پس از عبور از شرایط شبیه‌سازی شده معده و روده مشاهده گردید. قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها در روده پایین‌تر از شرایط شبیه‌سازی شده معده است که عواملی مانند pH روده، حضور سورفاکتانت‌ها و املاح صفراوی باعث این کاهش می‌گردد. فاکتورهای اساسی موثر بر زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در دستگاه گوارش، pH در شرایط اسیدی معده و نمک صفرا در روده است [۳۳]. هم‌چنین مادوریرا و همکاران (۲۰۰۵)، بیان کردند که درجه اسیدیته معده و زمان قرار گرفتن باکتری‌ها در برابر نمک صفرا در روده، زنده‌مانی گونه‌های پروبیوتیکی را در دستگاه گوارش تعیین می‌کند و پروبیوتیک‌ها در فاز معده نسبت به فاز روده پایدارترند [۳۴]. در تحقیقی دیگر مشخص گردید که با افزایش زمان حضور باکتری در معده، قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک حدود ۷ سیکل لگاریتمی کاهش یافت [۳۵]. مطابق با نتایج حاضر، Costa و همکاران

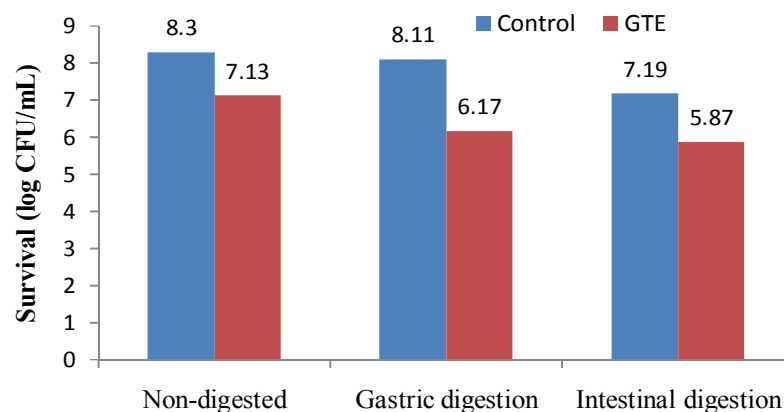
### ۳-۳- بررسی زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها طی شرایط

#### شبیه‌سازی شده معده و روده

قبل از رسیدن به دستگاه گوارش، باکتری‌های پروبیوتیک ابتدا باید از اثرات زیان‌بار شیر معده در حین عبور از معده زنده بمانند. بنابراین کاهش تدریجی pH و قرار گرفتن در معرض آنزیم پپسین در مدل هضم ایجاد شد، تا جایی که ممکن است از آنچه در بدن انسان هنگام هضم اتفاق می‌افتد تقلید کند [۳۲]. نتایج حاصل از آزمون شبیه‌سازی شده معده و روده در شکل ۲ نشان داده شده است. تعداد اولیه سلول‌های بیفیدوباکتریوم در در نمونه کنترل (بدون چای سبز)  $8/3 \log$  CFU/ml بوده در حالی که پس از عبور از شرایط شبیه‌سازی شده معده به  $8/11 \log$  CFU/ml و بعد از شرایط شبیه‌سازی شده روده این تعداد به  $7/19 \log$  CFU/ml رسید. تعداد پروبیوتیک در نمونه حاوی عصاره چای سبز نیز به صورت کاهش یافته، به طوری که

حاوی عصاره چای سبز بیش‌تر از نمونه کنترل (بدون چای سبز) بود. به عبارتی در شرایط شبیه‌سازی شده معده و روده نیز همانند شرایط نگهداری در یخچال، عصاره چای سبز سبب کاهش زنده‌مانی پروبیوتیک گردید که می‌تواند به خاطر خاصیت ضد میکروبی عصاره چای سبز باشد. مشابه با نتایج ما، Da Silva و همکاران (۲۰۱۷)، در بررسی اثر عصاره انگور در ماست پروبیوتیک نشان دادند که با گذشت زمان ۱۲ روزه در یخچال، تعداد باکتری پروبیوتیک کاهش یافت و از طرفی افزودن عصاره انگور به ماست، تعداد باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را کاهش داد که علت آن را خاصیت ضد میکروبی عصاره انگور دانستند [۲۲]. هم‌چنین در پژوهشی توسط Abdollahzadeh و همکاران، در مقایسه با ماست‌های غنی شده با عصاره خرما، نمونه‌های ماست شاهد (بدون عصاره خرما) ماندگاری بهتری از پروبیوتیک را در طول دوره ذخیره ۱۴ روزه نشان دادند. در مقابل، کاهش مداوم در تعداد زنده لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ماست‌های حاوی بیش از ۴ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر عصاره خرما در طول دوره آزمایش مشاهده شد [۳۷].

(۲۰۱۹)، در بررسی ماست حاوی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی گزارش کردند که باکتری‌های پروبیوتیک موجود در همه نمونه‌ها پس از عبور از شرایط شبیه‌سازی شده معده و روده زنده ماند و تعداد آن‌ها بیشتر از  $4 \log \text{CFU/ml}$  بود ولی یک کاهش ۲ الی ۳ سیکل لگاریتمی از تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در طول عبور از شرایط شبیه‌سازی شده معده و روده مشاهده گردید [۳۶]. هم‌چنین de Oliveira Ribeiro و همکاران در تولید یک نوشیدنی غیر تخمیری پروبیوتیک با میوه *juçara* گزارش کردند که تعداد باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی در نمونه نوشیدنی‌های نگهداری شده در دمای  $37/8$  درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ روز، پس از عبور از شرایط شبیه‌سازی شده معده کاهش حداقلی  $3/3$  سیکل لگاریتمی داشته است در حالی که در طی عبور از فاز روده کاهش حداقلی  $3/6$  سیکل لگاریتمی مشاهده گردید. همین الگو در نوشیدنی‌های نگهداری شده به مدت ۶۰ و ۹۰ روز مشاهده گردید که تعداد پروبیوتیک‌ها در روده کمتر از معده بود که منطبق با نتایج حاضر بود [۱۹]. کاهش باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم در نوشیدنی پیناکولادا



**Fig 2** The number of *Bifidobacterium* ( $\log_{10}$  CFU/mL) in whey-based pina colada beverages during the simulated digestion process

Control: Drink without green tea extract; GTE: Drink containing green tea extract

کیک و مخمر در نمونه‌های نگهداری شده در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا پایان هفته سوم (روز ۲۱) بود که دلیل این امر را می‌توان با اعمال فرایند حرارتی نوشیدنی‌ها مرتبط دانست. مطابق با نتایج حاضر، de Oliveira Ribeiro و همکاران (۲۰۲۰)، در تولید یک نوشیدنی غیر تخمیری پروبیوتیک با میوه

### ۳-۴- خصوصیات میکروبیولوژی نوشیدنی

#### پیناکولادا بر پایه آب پنیر

نتایج آزمون شمارش میکروبی نمونه کنترل و نمونه حاوی عصاره برگ چای سبز در جدول ۲ آورده شده است. نتایج آزمون‌های میکروبی نشان‌دهنده عدم وجود کلنی در کشت کلی، کلی‌فرم و

(۲۰۰۸)، نشان دادند که قدرت ضد میکروبی پلی فنول‌ها به گونه های باکتریایی وابسته است، به طوری که عصاره چای سبز بر دو باکتری بیماریزای گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس پیورنس اثر ضد میکروبی داشت. ولی بر رشد سه گونه پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و کازئی و بیفیدوباکتریوم و باکتری بیماریزای اشیرشیاکلی تاثیر منفی نداشت. فعالیت ضد میکروبی و پری بیوتیکی عصاره‌ها به مشخصات فنولی آن‌ها مربوط می‌شود [۳۸]. مطالعات متعددی وجود دارد که ثابت کرده است چای سبز به دلیل وجود ترکیب فنولی از جمله اپی گالوکاتچین گالات خاصیت آنتی میکروبی دارد [۴۲-۳۹].

juçara گزارش کردند که جمعیت کپک‌ها و مخمرها کمتر از  $1 \log \text{CFU/ml}$  بود و نمونه‌ها فاقد سالمونلا بوده و غلظت کلی فرم کمتر از  $3 \text{NMP/mL}$  بود که بیان کردند شرایط بهداشتی خوبی در فرآوری و در حین نگهداری نوشیدنی مطابق استانداردهای قوانین برزیل وجود دارد [۱۹]. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در هفته آخر نگهداری (روز ۲۸)،  $2 \text{CFU/ml}$  کپک در نمونه کنترل مشاهده گردید (هر چند کمتر از حد استاندارد ایران می‌باشد که بیشینه تعداد کپک را  $10 \text{CFU/ml}$  برای نوشیدنی شیرمیوه در نظر گرفتند)، در حالی که نمونه حاوی عصاره چای سبز کل دوره نگهداری بدون هیچ گونه آلودگی بود که نشان‌دهنده اثر ضد میکروبی عصاره چای سبز در جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها در نوشیدنی می‌باشد. سو و همکاران

**Table 2** Microbiological quality in untreated and treated whey-based pina colada beverages during 28 days of storage at 4 °C (CFU/mL)

| Analysis      | Escherichia coli | Coliforms | Fungi and yeasts | Acid-resistant bacteria | Total Count |
|---------------|------------------|-----------|------------------|-------------------------|-------------|
| Time 0 (day)  |                  |           |                  |                         |             |
| Control       | -                | -         | -                | -                       | -           |
| GTE           | -                | -         | -                | -                       | -           |
| Time 7 (day)  |                  |           |                  |                         |             |
| Control       | -                | -         | -                | < 1                     | -           |
| GTE           | -                | -         | -                | -                       | -           |
| Time 14 (day) |                  |           |                  |                         |             |
| Control       | -                | -         | -                | < 1                     | -           |
| GTE           | -                | -         | -                | -                       | -           |
| Time 21 (day) |                  |           |                  |                         |             |
| Control       | -                | -         | -                | < 1                     | < 1         |
| GTE           | -                | -         | -                | -                       | -           |
| Time 28 (day) |                  |           |                  |                         |             |
| Control       | -                | -         | 2 Fungi          | < 1                     | < 1         |
| GTE           | -                | -         | -                | -                       | -           |

نمونه شاهد را می‌توان به غالب بودن آروما ناشی از ترکیبات آلکالوئیدی موجود در عصاره چای نسبت داد. همچنین Yüksel و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند با افزودن پودر چای سبز به علت بوی علفی، امتیاز بو کاهش یافت [۴۳]. شکل ۳ نشان می‌دهد که با افزودن عصاره چای سبز به نوشیدنی امتیاز مزه افزایش یافت. نتایج حاصل از تحقیق حاضر با یافته‌های مرحمتی زاده و همکاران (۲۰۱۳)، همخوانی داشت که در بررسی تاثیر مکمل-سازی شیر و ماست پروبیوتیک با عصاره چای سبز بیان نمودند که افزایش غلظت عصاره چای سبز طعم مطلوبی را در شیر و ماست مذکور ایجاد نمود و نتایج حاصل از آزمون‌های

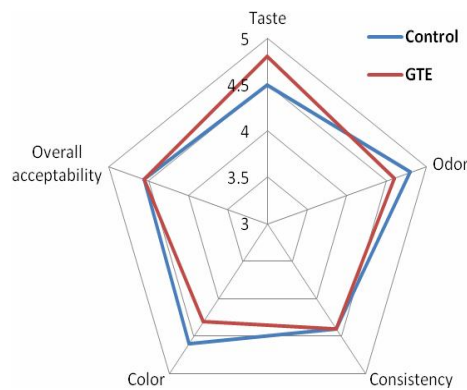
### ۳-۵- ویژگی حسی نوشیدنی پیناکولادا بر پایه آب پینر

نتایج بررسی ارزیابی حسی نمونه نوشیدنی کنترل و نمونه حاوی عصاره چای سبز در روز اول تولید در شکل ۳ نشان داده شده است. بالاترین امتیاز بو متعلق به نمونه شاهد بود. پیرامون کاربرد عصاره چای سبز در بستنی سین‌بیوتیک، ناطقی گزارش کرد که استفاده از عصاره چای سبز در مقادیر بالا ایجاد آرومای نامطلوب در بستنی و کاهش امتیاز بو در مقایسه با نمونه شاهد گردیده است. امتیاز پایین نوشیدنی حاوی عصاره چای سبز در مقایسه با



نوشیدنی پیناکولادا باعث کمی تغییر رنگ و تیرگی آن می‌شود. در نهایت هر دو نمونه به عنوان نوشیدنی‌های دارای پذیرش کلی مطلوب انتخاب شدند.

ارگانولپتیک نیز بیانگر این مطلب بود که تمامی نمونه‌های حاوی عصاره چای سبز امتیاز بالاتری نسبت به نمونه شاهد داشتند [۴۴]. بیشترین امتیاز رنگ به نمونه کنترل تعلق گرفت، چرا که عصاره چای سبز به رنگ سبز تیره می‌باشد و افزودن آن به



**Fig 3** Sensory evaluation of different formulations of whey-based pina colada beverage  
Control: Drink without green tea extract; GTE: Drink containing green tea extract

عنوان یک نوشیدنی فراسودمند استفاده کرد. ضمن آن که از لحاظ خواص حسی، نمونه حاوی عصاره چای سبز به عنوان نوشیدنی دارای پذیرش کلی مطلوب انتخاب شد.

#### ۴- نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که استفاده از عصاره چای سبز در نوشیدنی باعث افزایش ماندگاری نوشیدنی گردید. باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس برخلاف بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در نوشیدنی پیناکولادا بر پایه آب‌پنیر رشد نکرد. هم‌چنین جمعیت اولیه‌ی بالای میکروارگانیسم‌های به کار رفته در محصولات پروبیوتیک (حداقل  $10^9$  باکتری زنده در هر میلی‌لیتر) مورد نیاز می‌باشد، چرا که باکتری‌ها به شرایط اسیدی معده و نمک‌های صفرای روده حساس بوده و با عبور از دستگاه گوارش قابلیت زیستی آن‌ها کم می‌شود. البته بعد از هضم معده، تعداد باکتری بیشتر از حداقل توصیه شده برای یک فرآورده پروبیوتیک بوده ( $10^6$  CFU/ml)، در حالی بعد از عبور روده این مقدار برای نوشیدنی حاوی عصاره چای سبز کاهش یافت. هم‌چنین تعداد پروبیوتیک نوشیدنی با افزودن عصاره چای سبز در طول زمان نگهداری در یخچال نیز کاهش یافت اما با این حال تا روز ۲۱ ام قابلیت زنده‌مانی میکروارگانیسم‌ها در نوشیدنی حاوی عصاره چای سبز در حد استاندارد ملی ایران حفظ شده بود. نتایج این تحقیق نشان داد که می‌توان از عصاره چای سبز برای تولید نوشیدنی پروبیوتیک حاوی باکتری بیفیدوباکتریوم به

#### ۵- سپاس‌گزاری

از جناب آقای مهندس بزرگمهر دادگر، ریس شرکت لبنی دوشه آمل (لبنیات هراز) به جهت فراهم آوردن امکانات جهت انجام این پژوهش صمیمانه قدردانی می‌شود.

#### ۶- منابع

- [1] Ferreira, M. V. S., Cappato, L. P., Silva, R., Rocha, R. S., Guimarães, J. T., Balthazar, C. F., ... & Cruz, A. G. (2019). Ohmic heating for processing of whey-raspberry flavored beverage. *Food Chemistry*, 297, 125018.
- [2] Afshani, E., Beigmohammadi, Z., & Mirmajidi Hashtjin, A. (2019). Optimization of Functional Peach Beverage Formulation and Study of Its Sensorial and Physicochemical Properties. *Food Science and Technology*, 16(91), 129-144. [In Persian].

- [12] Beirami-Serizkani, F., Hojjati, M., & Jooyandeh, H. (2021). The effect of microbial transglutaminase enzyme and Persian gum on the characteristics of traditional kefir drink. *International Dairy Journal*, 112, 104843.
- [13] Bindes, M. M. M., Cardoso, V. L., Reis, M. H. M., & Boffito, D. C. (2019). Maximisation of the polyphenols extraction yield from green tea leaves and sequential clarification. *Journal of Food engineering*, 241, 97-104.
- [14] Sattar, S., Imran, M., Mushtaq, Z., Ahmad, M. H., Arshad, M. S., Holmes, M., Maycock, J., Nisar, M. F., & Khan, M. K. (2020). Retention and stability of bioactive compounds in functional peach beverage using pasteurization, microwave and ultrasound technologies. *Food Science and Biotechnology*, 29(10), 1381-1388.
- [15] Mannozi, C., Cecchini, J. P., Tylewicz, U., Siroli, L., Patrignani, F., Lanciotti, R., Rocculi, P., Dalla Rosa, M., & Romani, S. (2017). Study on the efficacy of edible coatings on quality of blueberry fruits during shelf-life. *LWT-Food Science and Technology*, 85, 440-444.
- [16] Balthazar, C., Santillo, A., Guimarães, J., Capozzi, V., Russo, P., Caroprese, M., Marino, R., Esmerino, E., Raices, R. S., & Silva, M. (2019). Novel milk–juice beverage with fermented sheep milk and strawberry (*Fragaria* × *ananassa*): Nutritional and functional characterization. *Journal of dairy science*, 102(12), 10724-10736.
- [17] Cassani, L., Gerbino, E., del Rosario Moreira, M., & Gómez-Zavaglia, A. (2018). Influence of non-thermal processing and storage conditions on the release of health-related compounds after in vitro gastrointestinal digestion of fiber-enriched strawberry juices. *Journal of Functional Foods*, 40, 128-136.
- [18] Anonymous., 2007 Institute of Standards and Industrial Research of Iran-Comprehensive method for counting microorganisms - Part 1: Colony count at 30 °C using mixed culture method. National Standard No. 5272, First Edition. [In Persian].
- [19] de Oliveira Ribeiro, A. P., dos Santos Gomes, F., dos Santos, K. M. O., da Matta, V. M., de Araujo Santiago, M. C. P., Conte, C., ...
- [3] Goudarzi, M., Madadlou, A., Mousavi, M. E., & Emam-Djomeh, Z. (2015). Formulation of apple juice beverages containing whey protein isolate or whey protein hydrolysate based on sensory and physicochemical analysis. *International Journal of Dairy Technology*, 68(1), 70-78.
- [4] Chevalier, L. M., Rioux, L. E., Angers, P., & Turgeon, S. L. (2019). Study of the interactions between pectin in a blueberry puree and whey proteins: Functionality and application. *Food Hydrocolloids*, 87, 61-70.
- [5] Yingst, J. M., Veldheer, S., Hammett, E., Hrabovsky, S., & Foulds, J. (2017). A method for classifying user-reported electronic cigarette liquid flavors. *Nicotine & Tobacco Research*, 19(11), 1381-1385.
- [6] Bindes, M. M. M., Cardoso, V. L., Reis, M. H. M., & Boffito, D. C. (2019). Maximisation of the polyphenols extraction yield from green tea leaves and sequential clarification. *Journal of Food engineering*, 241, 97-104.
- [7] Donsi, F., Annunziata, M., Sessa, M., & Ferrari, G. (2011). Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *LWT-Food Science and Technology*, 44(9), 1908-1914.
- [8] Moumita, S., Das, B., Sundaray, A., Satpathi, S., Thangaraj, P., Marimuthu, S., & Jayabalan, R. (2018). Study of soy-fortified green tea curd formulated using potential hypocholesterolemic and hypotensive probiotics isolated from locally made curd. *Food chemistry*, 268, 558-566.
- [9] Khamirian, R. A., Jooyandeh, H., Hesari, J., & Barzegar, H. (2017). Optimization and investigation on physicochemical, sensory and microbial quality of permeate-based probiotic lemon beverage. *Iranian Journal Food Science and Technology Research*, 13(5), 830-843.
- [10] Begley, M., Gahan, C.G.M., & Hill, C. 2005, The interaction between bacteria and bile, *FEMS Microbiology Reviews*, 29 (4): 625-651.
- [11] Bostan, A., Razavi, S. M., & Farhoosh, R. (2010). Optimization of hydrocolloid extraction from wild sage seed (*Salvia macrosiphon*) using response surface. *International Journal of Food Properties*, 13(6), 1380-1392.

- [28] Akbari, S., Azhdari, A., & Sharifzadeh, G. R. (2017). Study on effect of *Artemisia sieberi* hydro-alcoholic extract on the survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* in probiotic yoghurt. *Journal of Birjand University of Medical Sciences*, 24(1), 50-61.
- [29] Vazifedoost, M., Elhami, R. A., Shafafi, Z. M., Haddad, K. M., & Armin, M. (2016). The effect of extract and fiber of mint stalk on viability of *Bifidobacterium Lactis* Bacteria in Stirred Yogurt Using the Response Surface Method, *Journal of Food Microbiology*, 3(1), 43-53
- [30] Amirdivani, S., & Baba, A. S. (2011). Changes in yogurt fermentation characteristics, and antioxidant potential and in vitro inhibition of angiotensin-1 converting enzyme upon the inclusion of peppermint, dill and basil. *LWT-Food Science and Technology*, 44(6), 1458-1464.
- [31] Shah, N. P., Ding, W. K., Fallourd, M. J., & Leyer, G. (2010). Improving the stability of probiotic bacteria in model fruit juices using vitamins and antioxidants. *Journal of food science*, 75(5), M278-M282.
- [32] Madureira, A. R., Amorim, M., Gomes, A. M., Pintado, M. E., & Malcata, F. X. (2011). Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 44(1), 465-470.
- [33] Pacheco, K. C., del Toro, G. V., Martínez, F. R., & Durán-Páramo, E. (2010). Viability of *Lactobacillus delbrueckii* under human gastrointestinal conditions simulated in vitro. *Am J Agric Biol Sci*, 5, 37-42.
- [34] Madureira, A. R., Pereira, C. I., Truszkowska, K., Gomes, A. M., Pintado, M. E., & Malcata, F. X. (2005). Survival of probiotic bacteria in a whey cheese vector submitted to environmental conditions prevailing in the gastrointestinal tract. *International Dairy Journal*, 15(6-9), 921-927.
- [35] Jayalalitha, V., Balasundaram, B., & Palanidorai, R. (2012). In vitro assessment of microencapsulated probiotic beads. *International Journal of Agriculture: Research and Review*, 2(1), 1-6.
- [36] Costa, G. M., Paula, M. M., Barão, C. E., Klososki, S. J., Bonafé, E. G., Visentainer, J. V., ... & Pimentel, T. C. (2019). Yoghurt & Walter, E. H. M. (2020). Development of a probiotic non-fermented blend beverage with juçara fruit: Effect of the matrix on probiotic viability and survival to the gastrointestinal tract. *LWT*, 118, 108756
- [20] Souza, F. P., Balthazar, C. F., Guimarães, J. T., Pimentel, T. C., Esmerino, E. A., Freitas, M. Q., ... & Cruz, A. G. (2019). The addition of xyloligosaccharide in strawberry-flavored whey beverage. *LWT*, 109, 118-122.
- [21] Ramírez-Sucre, M. O., & Vélez-Ruiz, J. F. (2013). Physicochemical, rheological and stability characterization of a caramel flavored yogurt. *LWT-Food Science and Technology*, 51(1), 233-241.
- [22] Da Silva, D. F., Junior, N. N. T., Gomes, R. G., dos Santos Pozza, M. S., Britten, M., & Matumoto-Pintro, P. T. (2017). Physical, microbiological and rheological properties of probiotic yogurt supplemented with grape extract. *Journal of food science and technology*, 54(6), 1608-1615.
- [23] Moreira, S. A., Pintado, M. E., & Saraiva, J. A. (2021). Effect of a winter savory leaf extract obtained using high hydrostatic pressure on the quality of carrot juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(1), 74-81.
- [24] Souri, A., Mirzaei, M., Mirdamadi, S. (2019). The effect of green leaf tea extract on probiotic bacterial viability in watermelon juice, *Journal of food science and technology*, 15(85), 73-86. [In Persian].
- [25] Raiesi, F., Razavi, H., Hojjatoleslami, M., & Keramat, J. (2013). Production of a functional orange drink using rice-bran extract. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 7(4), 45-53.
- [26] Succi, M., Tremonte, P., Pannella, G., Tipaldi, L., Cozzolino, A., Coppola, R., & Sorrentino, E. (2017). Survival of commercial probiotic strains in dark chocolate with high cocoa and phenols content during the storage and in a static in vitro digestion model. *Journal of Functional Foods*, 35, 60-67.
- [27] Bialonska, D., Kasimsetty, S. G., Schrader, K. K., & Ferreira, D. (2009). The effect of pomegranate (*Punica granatum* L.) byproducts and ellagitannins on the growth of human gut bacteria. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(18), 8344-8349.

- Escherichia coli*. *Industrial Crops and Products*, 152, 112464.
- [41] Cardoso, R. R., Neto, R. O., dos Santos D'Almeida, C. T., do Nascimento, T. P., Presete, C. G., Azevedo, L., ... & de Barros, F. A. R. (2020). Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food Research International*, 128, 108782.
- [42] Renzetti, A., Betts, J. W., Fukumoto, K., & Rutherford, R. N. (2020). Antibacterial green tea catechins from a molecular perspective: Mechanisms of action and structure–activity relationships. *Food & Function*, 11(11), 9370-9396.
- [43] Yüksel, A. K., Yüksel, M., & Şat, İ. G. (2017). Determination of certain physicochemical characteristics and sensory properties of green tea powder (matcha) added ice creams and detection of their organic acid and mineral contents. *Gıda*, 42(2), 116-126.
- [44] Marhamatizadeh, M. H., Ehsandoost, E., & Gholami, P. (2013). The influence of green tea (*Camellia sinensis* L.) extract on characteristic of probiotic bacteria in milk and yoghurt during fermentation and refrigerated storage. *International Journal of Farming and Allied Sciences*, 2(17), 599-606.
- added with *Lactobacillus casei* and sweetened with natural sweeteners and/or prebiotics: Implications on quality parameters and probiotic survival. *International Dairy Journal*, 97, 139-148.
- [37] Abdollahzadeh, S. M., Zahedani, M. R., Rahmdel, S., Hemmati, F., & Mazloomi, S. M. (2018). Development of *Lactobacillus acidophilus*-fermented milk fortified with date extract. *LWT*, 98, 577-582.
- [38] Su, P., Henriksson, A., Nilsson, C., & Mitchell, H. (2008). Synergistic effect of green tea extract and probiotics on the pathogenic bacteria, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(9), 1837-1842.
- [39] Parvez, M. A. K., Saha, K., Rahman, J., Munmun, R. A., Rahman, M. A., Dey, S. K., ... & Shariare, M. H. (2019). Antibacterial activities of green tea crude extracts and synergistic effects of epigallocatechingallate (EGCG) with gentamicin against MDR pathogens. *Heliyon*, 5(7), e02126.
- [40] Zhou, Y., Yao, Q., Zhang, T., Chen, X., Wu, Z., Zhang, N., ... & Cheng, Y. (2020). Antibacterial activity and mechanism of green tea polysaccharide conjugates against



## Evaluation of the effect of green tea extract on probiotic survival in whey-based pina colada beverage under simulated gastrointestinal digestion

Dehghan, B. <sup>1</sup>, Esmailzadeh Kenari, R. <sup>2\*</sup>, Raftani Amiri, Z. <sup>3</sup>

1. PhD student of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
2. Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
3. Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received 2021/09/23

Accepted 2021/12/12

#### Keywords:

Whey based beverage,  
Pineapple and coconut juice,  
Green tea extract,  
Probiotic bacteria.

**DOI:** 10.52547/fsct.19.122.115

**DOR:** 20.1001.1.20088787.1401.19.122.17.0

\*Corresponding Author E-Mail:  
[reza\\_kenari@yahoo.com](mailto:reza_kenari@yahoo.com)

### ABSTRACT

In this study, the effect of green tea extract (10%) was investigated on physicochemical, sensory, microbial properties and viability of probiotic in whey-based pina colada beverage. The results of adding green tea extract showed that the physicochemical properties such as pH, brix, dry matter and protein content of the beverage did not change significantly, but the turbidity of the beverages were increased compared to the control sample (without green tea). The results of microbial evaluation showed that the beverage containing green tea extract was free of microbial contamination compared to the control sample, which indicates the antimicrobial properties of green tea extract. Although 2 CFU/ml molds were observed in the control sample, but this amount is less than the standard and can be consumed. Unlike *Bifidobacterium bifidum*, the probiotic bacterium *Lactobacillus acidophilus* did not grow in beverages. Also, the survival of *Bifidobacterium* bacteria during 28 days of refrigeration under simulated gastrointestinal digestion had a decreasing trend, which was more in the beverage containing green tea extract than the control sample. However, until the 21st day, the viability of probiotic bacterium in beverages containing green tea extract was maintained at the recommended level according to the Iranian National Standard (10<sup>6</sup> CFU/ml). An appropriate concentration of green tea extract can be used in the production of probiotic whey-based pina colada beverage as a new useful beverage.