



اثر عصاره چای سبز بر زنده مانی لاکتوباسیلوس کازئی و ویژگی های کیفی نوشیدنی پروبیوتیک بر

پایه مخلوط آب کرفس، هویج و سیب

مریم حیدری^۱، رضوان پور احمد^{۲*}، مهناز هاشمی روان^۳

۱. دانشجوی دکتری، گروه صنایع غذایی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

۲. استاد، گروه صنایع غذایی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

۳. استادیار، گروه صنایع غذایی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله : تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۲/۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۳/۱۲	در این تحقیق اثر غلظت های مختلف عصاره چای سبز (۰، ۱/۵ و ۲/۵ درصد)، بر زنده مانی لاکتوباسیلوس کازئی، فعالیت آنتی اکسیدانی، وحسی نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه مخلوط غلظت های مختلف آب کرفس (۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد)، آب سیب (۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد) و آب هویج (۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد) بررسی شد. ۱۰ تیمار با سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. ویژگی های کیفی نمونه های نوشیدنی پروبیوتیک طی دوره نگهداری (روزهای اول، یازدهم و بیست و یکم) بررسی شد. بر اساس نتایج به دست آمده افزایش درصد چای سبز و همینطور غلظت آب کرفس، هویج و سیب باعث کاهش میزان pH و فعالیت آنتی اکسیدانی (درصد مهار رادیکال DPPH)، همچنین افزایش زنده مانی لاکتوباسیلوس کازئی و خواص ارگانولپتیکی در نوشیدنی پروبیوتیک شد ($p<0/05$). از طرفی مدت زمان نگهداری باعث کاهش میزان pH و خاصیت آنتی اکسیدانی شد ($p<0/05$). همچنین زنده مانی لاکتوباسیلوس کازئی طی مدت زمان نگهداری کاهش یافت ($p<0/05$). تیمار حاوی بیشترین میزان چای سبز (۲/۵٪) و بالاترین غلظت آب کرفس (۲۰٪)، هویج (۱۰٪) و سیب (۱۰٪) بالاترین کیفیت حسی (مزه، بو، بافت، رنگ، پذیرش کلی) را داشت و جمعیت باکتری پروبیوتیک در این تیمار در روز بیست و یکم بیش از $7 \log \text{ cfu/g}$ بود.
کلمات کلیدی: نوشیدنی پروبیوتیک، چای سبز، کرفس، سیب، هویج، لاکتوباسیلوس کازئی	
DOI:10.22034/FSCT.21.156.125. *مسئول مکاتبات: rjpourahmad@yahoo.com , rezvan.pourahmad@iau.ac.ir	

۱- مقدمه

در دهه اخیر، تمایل بشر به مصرف غذاهای کاربردی و عملگرا افزایش یافته است. در واقع یک راه امیدوارکننده برای پیشگیری و یا حذف بیماری‌ها مصرف غذاهای فراسودمند است. به همین منظور اخیراً تلاش‌هایی در این زمینه صورت گرفته است که یکی از مهمترین این فعالیت‌ها تولید محصولات تخمیرشده بوسیله باکتری‌های اسید لاکتیک بر پایه میوه و سبزیجات می‌باشد که این محصولات با فرآورده‌هایی از جمله پروبیوتیک^۱، پری بیوتیک^۲ و سین بیوتیک^۳ غنی شده و به عنوان غذاهای فراسودمند^۴ یا فراویژه معرف هستند [۱]. غذاهای عملگرا، فراویژه و سلامتی بخش غذاهایی می‌باشند که علاوه بر ویژگی‌های تغذیه‌ای، دارای خواص سلامتی بخش برای مصرف‌کنندگان می‌باشد [۲]. محصولات غذایی فراسودمند علاوه بر تامین نیازهای اولیه بدن، سبب حفظ سلامت مصرف‌کنندگان و کاهش خطر ابتلا به انواع بیماری‌ها می‌گردد [۳]. فرآورده های غذایی پروبیوتیک بخش قابل توجهی از محصولات غذایی فراسودمند را تشکیل می‌دهند. اثرات سلامت بخشی محصولات پروبیوتیک، به جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک در محصولات غذایی و همچنین توانایی زنده مانی باکتری‌های مذکور در شرایط نامساعد دستگاه گوارش و پارامترهایی نظیر سویه‌های پروبیوتیک، سرعت و نسبت تلقیح بر جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک بستگی دارد [۴].

میوه‌ها و سبزیها به علت داشتن ترکیبات فراسودمند بسیار مورد توجه قرار گرفته اند. کرفس یکی از مهمترین سبزیجات است که دارای اولئورزین، قندهای مختلف مانند مانیت و اینوزیت و همچنین اسیدهای آمینه‌ای همچون آسپاراژین، تیروزین، کولین و گلوکوزیدی به نام آپینین می‌باشد که اثر درمانی دارد. برگ‌های کرفس دارای اسانسی به نام آپول می‌باشد که به کرفس طعم بسیار تندی می‌دهد. برگ کرفس

دارای مواد معدنی نظیر کلسیم، فسفر، آهن، سدیم و پتاسیم و ویتامین‌های A, C, B است. ترین ماده معطر کرفس مانع ماندن سنگ کلیه در مجاری ادرار و آلودگی میکروبی می‌شود. طی زمان آگیری، مواد مغذی خاصی در فیبر این گیاه آزاد می‌شود که به اجابت مزاج کمک می‌کند و از آب کرفس به عنوان یک ملین طبیعی و ضد یبوست استفاده می‌کنند [۵]. هویج نیز در بین سبزیجات اهمیت خاصی دارد. هویج سرشار از اجزای عملگری مانند ویتامین‌های A, C, E, D و K و مواد معدنی (کلسیم، پتاسیم، فسفر، سدیم و آهن) بوده و گزارش شده که ۱۰۰ گرم هویج حاوی حدود ۶ تا ۱۵ میلی گرم کاروتنوئید است. بنابراین، افزایش مصرف هویج ممکن است منجر به سنتز گسترده ویتامین A شود. علاوه بر این، کاروتنوئیدها و سایر آنتی اکسیدان‌های موجود در هویج می‌توانند نقش مهمی در کاهش یا توقف فرآیندهای اکسیداسیون و موازنه فعالیت رادیکال‌های آزاد بازی کنند. [۶]. در بین میوه‌ها، سیب اهمیت خاصی دارد. این میوه دارای فیبرهای غذایی محلول و غیر محلول در آب (من جمله پکتین‌ها)، تانن‌ها، فلاونوئیدها، اسیدهای میوه، مواد معطر، پتاسیم، ویتامین‌های A و C است. در انواع سیب غلظت فروکتوز خیلی بیشتر از گلوکز است و سوربیتول هم وجود دارد. اسید I-مالیک که ۹۰ درصد اسیدهای آلی موجود در سیب را تشکیل می‌دهد غالب ترین اسید آلی موجود در سیب بوده و فرم ایزومر D-مالیک در سیب وجود ندارد. آبمیوه‌ها طبق تعریف، مایع استخراج شده از میوه‌ها هستند که مورد تخمیر قرار نگرفته‌اند و شامل فراوری‌های اصلی مانند پیش تیمار، استخراج عصاره‌ها و تیمارهای پس از فشرده‌سازی می‌باشند. پیش تیمارها عمدتاً شامل جداسازی، تمیز کردن و بازرسی هستند. پیش تیمارهایی با آنزیم‌های تجزیه کننده پکتین نیز به جهت کمک به استخراج آب میوه‌ها در برخی از میوه‌ها مانند توت فرنگی و زغال اخته ضروری است. عملیات پس از استخراج شامل شفاف‌سازی، تنظیم و استاندارد کردن

3. Synbiotics
4. Functional Food

1. Probiotics
2. Prebiotics

۱-۲- تهیه عصاره آبی چای سبز

ابتدا برگ‌های چای سبز از کارخانه گلستان تهیه شد، سپس تا مش ۲۰ آسیاب شد و از نظر اندازه ذرات مناسب گشت. در مرحله بعد، نمونه‌های پودر شده چای سبز جهت استخراج با آب داغ به مدت ۲۰ دقیقه در یک اتوکلاو در دمای ۸۰ تا ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد با آب مقطر استخراج شد. در انتها نمونه‌ها خنک و بعد از خنک کردن و صاف کردن در دمای اتاق، تحت شرایط خلأ در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد [۷].

۲-۲- تهیه مایه تلقیح

لاکتوباسیلوس کازئی، به صورت آمپول لیوفلیزه از مرکز کلکسیون باکتری‌ها و قارچ‌های سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. جهت تعیین تعداد باکتری‌های تلقیح شده، از استاندارد ۰/۵ مک فارلند استفاده شد. برای تهیه ۰/۵ مک فارلند، ۰/۵cc کلرید باریم ۱/۱۷۵٪ با ۹/۹۵ cc اسید سولفوریک ۱٪ مخلوط شد. کدورت ایجاد شده تقریباً معادل با 1×10^8 cfu/ml سلول باکتری بود. برای سنجش جذب نوری (OD) از اسپکتروفتومتر مرئی - فرابنفش با طول موج ۶۲۵nm استفاده شد که میزان جذب در این طول موج در محدوده ۰/۱۳ - ۰/۰۸ بود [۹].

۲-۳- آماده سازی آب میوه و آب سبزی‌ها

(کرفس، سیب و هویج)

کرفس، سیب و هویج از فروشگاه محلی خریداری شد و بعد از شستشو، پوست‌گیری و قطعه قطعه شدن آبکشی مجدد شد، سپس توسط آبمیوه‌گیری آب آنها استخراج شد. مخلوط بدست آمده با پارچه کتان ۴ لایه، جهت جداسازی مواد جامد معلق فیلتر شد. در نهایت جهت غیر فعال کردن آنزیم‌ها و فلور میکروبی طبیعی، پاستوریزاسیون ملایمی در ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه روی آب میوه‌ها انجام شد سپس تا دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد سرد شده تا آماده تلقیح با باکتری لاکتوباسیلوس کازئی گردد.

۲-۴- تولید نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه مخلوط

آب کرفس، هویج و سیب

محتوای مواد جامد و اسیدیته و شیرینی، غنی‌سازی با ویتامین‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها، پاستوریزاسیون و بسته‌بندی است. معمولاً آبمیوه‌ها به کنسانتره تبدیل شده تا هزینه‌های حمل و نقل کاهش و پایداری محصول افزایش یابد [۱]. در خصوص افزودن عصاره‌های گیاهی به نوشیدنی‌ها تحقیقاتی انجام شده است از جمله دهقان و همکاران (۱۴۰۱)، اثر افزودن عصاره چای سبز (به مقدار ۱۰٪) را بر روی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، حسی، میکروبی و زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در نوشیدنی پیناکولادا بر پایه آب‌پنیر مورد بررسی قرار دادند. بر اساس نتایج به دست آمده افزودن عصاره چای سبز، اثر معنی‌داری بر خواص فیزیکوشیمیایی از جمله pH، بریکس، ماده خشک و مقدار پروتئین نوشیدنی نداشت ولی میزان کدورت نوشیدنی در مقایسه با نمونه کنترل (بدون چای سبز) افزایش یافت. نمونه حاوی عصاره چای سبز نسبت به نمونه کنترل، فاقد آلودگی میکروبی بود. همچنین زنده‌مانی باکتری بیفیدوباکتریوم در طی نگهداری ۲۸ روزه در یخچال و طی عبور از شرایط معده و روده روند کاهشی داشت [۷]. در یک پژوهش دیگر، رهایی و همکاران (۱۳۹۹)، اثر افزودن عصاره مارچوبه و عصاره چای سبز را بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ویژگی‌های حسی کفیر مورد بررسی قرار دادند. بر اساس نتایج حاصله افزودن عصاره‌های گیاهی منجر به کاهش pH همچنین افزایش اسیدیته و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه‌ها ($p \leq 0.05$) شد. در تمام نمونه‌ها جمعیت این باکتری‌ها تا پایان دوره نگهداری بیش از 10^8 CFU/ml بود [۸].

تا کنون بررسی در خصوص استفاده از عصاره چای سبز در مخلوط آب کرفس، هویج و سیب انجام نشده است لذا هدف از تحقیق حاضر بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره چای سبز بر زنده‌مانی لاکتوباسیلوس کازئی و ویژگی‌های کیفی نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه مخلوط آب کرفس، هویج و سیب بود.

۲- مواد و روش‌ها

و زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی و فعالیت آنتی-اکسیدانی، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی نمونه‌ها در روزهای ۱، ۱۱ و ۲۱ بررسی شدند.

غلظت‌های مختلف مخلوط آب کرفس، هویج و سیب مطابق با جدول ۱ استفاده شد. مقادیر مختلف عصاره چای سبز (۰، ۱/۵ و ۲/۵ درصد) اضافه شدند. سپس جمعیت 10^8 cfu/ml باکتری لاکتوباسیلوس کازئی تلقیح شد. در مرحله بعد نمونه‌ها در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری

Table 1. Treatments used in the research

treatment	Green tea extract concentration (%)	Carrot juice concentration (%)	Apple juice concentration (%)	Celery juice concentration (%)	Juice and water concentration (%)	Bacterial concentration (CFU/ml)
Control	0	7.5	7.5	15	30	0
A ₁ B ₁	0	5	5	10	20	10 ⁸
A ₂ B ₁	0	7.5	7.5	15	30	10 ⁸
A ₃ B ₁	0	10	10	20	40	10 ⁸
A ₁ B ₂	1.5	5	5	10	20	10 ⁸
A ₂ B ₂	1.5	7.5	7.5	15	30	10 ⁸
A ₃ B ₂	1.5	10	10	20	40	10 ⁸
A ₁ B ₃	1.5	5	5	10	20	10 ⁸
A ₂ B ₃	2.5	7.5	7.5	15	30	10 ⁸
A ₃ B ₃	2.5	10	10	20	40	10 ⁸

برای تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی بر اساس مهار رادیکال DPPH، ۲۰۰ میکرولیتر از هر نمونه (۱۰ میلی‌گرم در میلی لیتر) با ۱۸۰۰ میکرولیتر محلول ۰.۰۰۲٪ DPPH در اتانول ۹۹/۵ درصد مخلوط شد. سپس مخلوط واکنش در دمای اتاق به مدت ۶۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد سپس کاهش جذب نمونه در ۵۱۷ نانومتر اندازه گیری شد. درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH بر اساس فرمول ۱ گزارش شد [۱۰].

۳- آزمونهای فیزیکوشیمیایی و حسی محصول

۳-۱- اندازه گیری pH

pH نوشیدنی در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد توسط دستگاه pH متر (C863, Consort ساخت دانمارک) اندازه‌گیری شد.

۳-۲- ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی با استفاده از

روش مهار رادیکال DPPH

(۱)

فعالیت مهارکنندگی رادیکال

$$= \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل}}{\text{جذب کنترل}} \times 100$$

۳-۳- ارزیابی حسی

ارزیابی حسی توسط ۱۰ ارزیاب آموزش دیده به روش امتیازدهی انجام پذیرفت. امتیازها از ۱ تا ۵ (خیلی خوب تا خیلی بد) بود و صفات مزه، بافت، رنگ، بو و پذیرش کلی توسط ارزیاب‌ها مورد بررسی قرار گرفت [۹].

۴- بررسی زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک (شمارش سلولهای زنده)

به منظور شمارش باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، روش پورپلیت با استفاده از محیط کشت MRS-agar در شرایط بی هوازی (استفاده از جار بی هوازی) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت، به کار گرفته شد [۱۱].

۵- تجزیه و تحلیل آماری

این تحقیق در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. ۱۰ تیمار با سه تکرار بررسی گردید. به منظور بررسی ویژگی‌های کمی داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه و همچنین جهت مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون دانکن در سطح معنی داری ٪ استفاده شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری توسط نرم افزار SPSS version 22 انجام پذیرفت و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

۶- نتایج و بحث

۶-۱ میزان pH

با توجه به نتایج در جدول ۲، تاثیر تیمار و زمان نگهداری بر میزان pH و اسیدیته نمونه‌های نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه مخلوط آب کرفس، هویج و سیب معنی‌دار بود ($p \leq 0.05$).

افزایش غلظت چای سبز همچنین افزایش غلظت آب کرفس، هویج و سیب منجر به کاهش معنی دار pH و افزایش اسیدیته در نمونه های نوشیدنی پروبیوتیک شد ($P < 0.05$). به طوری که تیمار شماره ۱۰ که حاوی بیشترین میزان چای سبز (۲/۵٪) و بالاترین غلظت آب کرفس (۲۰٪)، آب هویج (۱۰٪) و آب سیب (۱۰٪) بود کمترین مقدار pH و بیشترین میزان اسیدیته را داشت. همچنین مدت زمان نگهداری باعث کاهش میزان pH و افزایش اسیدیته در نمونه های نوشیدنی پروبیوتیک شد. کاهش میزان pH و همچنین افزایش میزان اسیدیته در اثر افزودن عصاره چای سبز، احتمالاً در ارتباط با حضور ترکیبات اسیدی مختلف (نظیر ۲،۳-دی هیدروکسی سوکسینیک اسید، ۲-بروموتترادکانوئیک اسید، پلی ساکاریدهای اسیدی مانند گلوکورونیک اسید و گالاتورونیک اسید) در این عصاره می باشد [۱۲]. میزان pH و اسیدیته از مهم ترین مسائل در تولید فرآورده های پروبیوتیکی است؛ زیرا کاهش pH و افزایش اسیدیته در طول دوره نگهداری همراه با تولید اسید توسط باکتری‌ها است که نشان دهنده رشد باکتری‌های پروبیوتیک است. علت کاهش pH و افزایش اسیدیته به دلیل مصرف قند موجود در آبمیوه‌ها توسط باکتری‌های پروبیوتیک می‌باشد و هرچه از مدت زمان افزودن باکتری می‌گذرد از سرعت کاهش pH و افزایش اسیدیته کاسته می‌شود زیرا از میزان قند آبمیوه کاسته می‌شود. Shah و همکاران در سال ۲۰۱۰، نشان دادند که در آبمیوه‌های پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس پاراکازئی، لاکتوباسیلوس رامنوسوس و لاکتوباسیلوس لاکتیس در طول ۶ هفته نگهداری pH از ۳/۸ به ۳/۳ کاهش می یابد که با نتایج حاصل از این تحقیق هم راستا است [۱۳].

Table 2. The pH level of probiotic drink samples containing different concentrations of celery, carrot and apple juice

treatment	Day 1	Day 11	Day 21
1	5.28±0.1 ^{A,bc}	5.2±0.1 ^{B,a}	5.21±0.1 ^{C,a}
2	5.27±0.1 ^{A,cd}	5.15±0.1 ^{B,a}	4.99±0.1 ^{C,b}

6-2-Bromotetradecanoic acid

5-2,3-Dihydroxysuccinic acid

3	5.25±0.1 ^{A,ef}	5.11±0.1 ^{B,c}	4.90±0.1 ^{C,d}
4	5.23±0.1 ^{A,g}	5.08±0.1 ^{B,d}	4.88±0.1 ^{C,e}
5	2.29±0.1 ^{A,b}	5.09±0.1 ^{B,e}	4.92±0.1 ^{C,c}
6	5.25±0.1 ^{A,ef}	5.04±0.1 ^{B,e}	4.84±0.1 ^{C,f}
7	5.24±0.1 ^{A,fg}	4.99±0.1 ^{B,f}	4.74±0.1 ^{C,h}
8	5.31±0.1 ^{A,a}	4.97±0.1 ^{B,g}	4.88±0.1 ^{C,e}
9	5.28±0.1 ^{A,bc}	4.88±0.1 ^{B,h}	4.76±0.1 ^{C,g}
10	5.26±0.1 ^{A,de}	4.75±0.1 ^{B,i}	4.67±0.1 ^{C,i}

*Different capital letters indicate significant differences between different days ($p<0/05$)

*Different lowercase letters indicate significant differences between different treatments ($p<0.05$).

فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره چای سبز در نوشیدنی

رابطه مستقیمی وجود داشت. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره

چای سبز، به دلیل حضور ترکیبات فنولی مختلف در این عصاره ها می باشد. آنتی اکسیدان های موجود در چای سبز دارای فعالیت های بیولوژیکی مختلف نظیر ممانعت از فعالیت آنزیم های اکسیداتیو، بدام اندازی گونه فعال اکسیژن و شلات کردن فلزات هستند [۱۴]. Salem و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که با افزایش سطح عصاره انگور قرمز در فرمولاسیون بستنی، از طریق افزایش محتوای ترکیبات فنولی و آنتوسیانین ها، میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH نمونه های بستنی به طور معنی داری افزایش یافت، که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت [۱۵]. Lim (۲۰۱۷) در راستای نتایج پژوهش حاضر نشان دادند که با افزایش سطح عصاره چای سبز در فرمولاسیون ماست، میزان فعالیت مهارکنندگی نمونه های مورد بررسی به طور معنی داری افزایش یافت [۱۶].

۶-۲- درصد مهار رادیکال DPPH

باتوجه به جدول ۳، افزودن میزان چای سبز و همچنین افزایش غلظت آب کرفس، هویج و سیب منجر به افزایش معنی دار درصد مهار رادیکال DPPH در نمونه های نوشیدنی پروبیوتیک شد ($P<0/05$). به طوری که تیمار شماره ۱۰ که حاوی بیشترین میزان چای سبز (۲/۵٪) و بالاترین غلظت آب کرفس (۲۰٪)، آب هویج (۱۰٪) و آب سیب (۱۰٪) بود بالاترین درصد مهار رادیکال DPPH و تیمار شاهد کمترین میزان آن را داشت. همچنین مدت زمان نگهداری باعث کاهش درصد مهار رادیکال DPPH در نمونه های نوشیدنی پروبیوتیک شد. مهار رادیکال های آزاد، یکی از شناخته شده ترین مکانیسم هایی است که به واسطه آن ترکیبات آنتی اکسیدانی می توانند اکسیداسیون چربی ها را مهار کنند. در این روش، نتایج بر حسب درصد کاهش در میزان جذب محلول های DPPH در حضور عصاره نسبت به محلول DPPH فاقد عصاره بیان می شود [۱۴]. بین محتوای ترکیبات

Table 3. DPPH radical inhibition percentage of probiotic drink samples containing different concentrations of celery, carrot and apple juice

treatment	Day 1	Day 11	Day 21
1	15.934±0.596 ^{C,b}	29.216±1.907 ^{B,a}	62.388±6.787 ^{A,a}
2	22.834±0.389 ^{C,a}	24.951±0.929 ^{B,b}	33.032±2.806 ^{A,b}
3	15.926±0.190 ^{C,b}	19.967±0.892 ^{B,c}	27.338±0.655 ^{A,c}
4	11.019±0.182 ^{C,c}	15.184±0.895 ^{B,d}	20.169±0.713 ^{A,d}
5	4.058±0.12 ^{C,d}	4.524±0.047 ^{B,e}	5.168±0.047 ^{A,e}
6	3.616±0.020 ^{C,de}	4.058±0.012 ^{B,ef}	4.277±0.016 ^{A,e}
7	3.360±0.001 ^{C,e}	3.665±0.010 ^{B,ef}	3.876±0.026 ^{A,e}
8	2.272±0.062 ^{C,f}	2.547±0.009 ^{B,f}	2.719±0.006 ^{A,e}

9	2.194±0.001 ^{C,f}	2.414±0.013 ^{B,f}	2.523±0.006 ^{A,e}
10	2.084±0.002 ^{C,f}	2.275±0.004 ^{B,f}	2.375±0.035 ^{A,e}

*Different capital letters indicate significant differences between different days ($p<0/05$)

*Different lowercase letters indicate significant differences between different treatments ($p<0/05$).

مخلوط آب کرفس، هویج و سیب و چای سبز کمترین تعداد

این باکتری را داشت. همچنین مدت زمان نگهداری باعث کاهش تعداد لاکتوباسیلوس کازئی در نمونه های نوشیدنی پروبیوتیک شد. در یک بررسی مشابه، آذرفام و همکاران (۱۴۰۰) حاضر نشان دادند که غلظت آبمیوه های گیلاس، انگور قرمز و زرشک، غلظت باکتری و زمان نگهداری تأثیر کاملاً معنی داری بر شمارش باکتری نوشیدنی داشتند. با افزایش زمان نگهداری از روز اول تا هفته چهارم نگهداری، شمارش باکتری نوشیدنی به طور معنی داری کاهش یافت ($p\leq 0/05$) [۱۷].

۳-۶ شمارش باکتری لاکتوباسیلوس کازئی

مطابق با جدول ۴، افزودن میزان چای سبز و همچنین افزایش غلظت آب کرفس، هویج و سیب منجر به افزایش معنی دار لاکتوباسیلوس کازئی در نمونه های نوشیدنی پروبیوتیک شد ($P<0/05$). به طوری که تیماری که حاوی بیشترین میزان چای سبز (۲/۵٪) و بالاترین غلظت آب کرفس (۲۰٪)، آب هویج (۱۰٪) و آب سیب (۱۰٪) بود بالاترین تعداد لاکتوباسیلوس کازئی و تیمار حاوی کمترین میزان از غلظت

Table 4. *Lactobacillus casei* count (log CFU/g) of probiotic drink samples containing different concentrations of celery, carrot and apple juice

treatment	Day 1	Day 11	Day 21
1	3.724± ^{A,g} 0.11	3.47± ^{B,h} 0.021	3.370±0.039 ^{C,h}
2	8.577± ^{A,f} 0.065	8.242± ^{B,g} 0.005	5.447 ±0.022 ^{C,g}
3	8.630± ^{A,ef} 0.004	8.320± ^{B,f} 0.003	5.914 ±0.008 ^{C,f}
4	8.759± ^{A,cd} 0.016	8.386± ^{B,e} 0.005	6.230±0.014 ^{C,e}
5	8.653± ^{A,e} 0.013	8.447± ^{B,d} 0.001	6.378 ±0.006 ^{C,d}
6	8.707± ^{A,d} 0.013	8.537± ^{B,c} 0.045	6.648 ± 0.035 ^{C,c}
7	8.799± ^{A,bc} 0.019	8.638± ^{B,b} 0.007	6.812 ±0.028 ^{C,b}
8	8.712± ^{A,d} 0.006	8.607± ^{B,b} 0.023	6.693±0.017 ^{C,c}
9	8.848± ^{A,b} 0.022	8.730± ^{B,a} 0.004	6.819 ±0.018 ^{C,b}
10	8.916± ^{A,a} 0.004	8.751± ^{B,a} 0.038	7.107±0.009 ^{C,a}

*Different capital letters indicate significant differences between different days ($p<0/05$)

*Different lowercase letters indicate significant differences between different treatments ($p<0/05$).

پذیرش کلی) در نمونه های نوشیدنی پروبیوتیک شد

($P>0/05$) به طوری که تیمار حاوی بیشترین میزان چای

سبز (۲/۵٪) و بالاترین غلظت آب کرفس (۲۰٪)، آب هویج (۱۰٪) و آب سیب (۱۰٪) بود بالاترین امتیازحسی (مزه، بو، بافت، رنگ، پذیرش کلی) و تیمار شاهد حاوی کمترین میزان غلظت مخلوط آب کرفس، هویج و سیب و چای سبز کمترین امتیاز را دریافت کرد. همچنین مدت زمان نگهداری

۴-۶ ارزیابی حسی

نتایج ویژگی های حسی نمونه های نوشیدنی پروبیوتیک حاوی مقادیر مختلف آب کرفس، هویج و سیب در جداول ۵ الی ۹ ارائه شده است. باتوجه به نتایج جدول افزودن میزان چای سبز و همچنین افزودن غلظت آب کرفس، هویج و سیب منجر به افزایش امتیاز حسی (مزه، بو، بافت، رنگ،

باعث کاهش امتیازحسی (مزه، بو، بافت، رنگ، پذیرش کلی) در نمونه های نوشیدنی پروبیوتیک شد. در یک بررسی مشابه، آذرفام و همکاران (۱۴۰۰) نشان دادند با افزایش زمان نگهداری امتیاز ارزیابی حسی روند کاهشی داشته است که دلیل کاهش امتیاز ارزیابی حسی در همه تیمارها می تواند وجود باکتریها، متابولیت و تولید اسیدهای آلی توسط باکتریها باشد [۱۷].

Table 5. Taste score of probiotic drink samples containing different concentrations of celery, carrot and apple juice

treatment	Day 1	Day 11	Day 21
1	5±0 ^{A, a}	4±0 ^{B, b}	3±0 ^{C, c}
2	5±0 ^{A, a}	5±1 ^{B, a}	4±1 ^{C, bc}
3	5±0 ^{A, a}	5±1 ^{B, a}	5±1 ^{C, a}
4	5±0 ^{A, a}	4±0 ^{B, b}	4±0 ^{C, ab}
5	5±0 ^{A, a}	5±1 ^{B, a}	4±0 ^{C, ab}
6	5±0 ^{A, a}	5±1 ^{B, a}	4±1 ^{C, bc}
7	5±0 ^{A, a}	4±0 ^{B, b}	4±1 ^{C, bc}
8	5±0 ^{A, a}	5±1 ^{B, a}	5±1 ^{C, a}
9	4±0 ^{A, b}	5±1 ^{B, a}	4±0 ^{C, ab}
10	5±0 ^{A, a}	5±1 ^{B, a}	5±1 ^{C, a}

*Different capital letters indicate significant differences between different days ($p < 0/05$)

*Different lowercase letters indicate significant differences between different treatments ($p < 0.05$).

Table 6. Odor score of probiotic drink samples containing different concentrations of celery, carrot and apple juice

treatment	Day 1	Day 11	Day 21
1	4±0 ^{A, b}	3±0 ^{B, b}	3±1 ^{B, c}
2	5±0 ^{A, a}	4±0 ^{B, ab}	4±1 ^{B, b}
3	5±1 ^{A, ab}	5±1 ^{B, ab}	4±0 ^{B, ab}
4	4±0 ^{A, b}	4±0 ^{B, ab}	4±0 ^{B, ab}
5	5±1 ^{A, ab}	4±0 ^{B, ab}	4±0 ^{B, ab}
6	5±0 ^{A, a}	4±0 ^{B, ab}	4±0 ^{B, ab}
7	4±0 ^{A, b}	4±0 ^{B, ab}	4±0 ^{B, ab}
8	4±0 ^{A, b}	4±0 ^{B, ab}	5±1 ^{B, a}
9	5±1 ^{A, ab}	5±1 ^{B, a}	4±1 ^{B, b}
10	5±1 ^{A, ab}	5±1 ^{B, a}	4±0 ^{B, ab}

*Different capital letters indicate significant differences between different days ($p < 0/05$)

*Different lowercase letters indicate significant differences between different treatments ($p < 0.05$).

Table 7. Texture score of probiotic drink samples containing different concentrations of celery, carrot and apple juice

treatment	Day 1	Day 11	Day 21
1	4±0 ^{A,ab}	4±1 ^{A,b}	3±0 ^{B,b}
2	4±0 ^{A,ab}	4±0 ^{A,ab}	4±0 ^{B,a}
3	4±0 ^{A,ab}	5±1 ^{A,a}	4±0 ^{B,a}
4	5±1 ^{A,a}	5±1 ^{A,a}	4±0 ^{B,a}
5	5±1 ^{A,a}	4±1 ^{A,a}	4±1 ^{B,ab}
6	4±0 ^{A,ab}	4±0 ^{A,ab}	4±0 ^{B,a}
7	4±0 ^{A,ab}	4±0 ^{A,ab}	4±0 ^{B,a}
8	4±0 ^{A,ab}	4±0 ^{A,ab}	4±1 ^{B,ab}
9	5±1 ^{A,a}	5±1 ^{A,a}	3±0 ^{B,b}
10	4±0 ^{A,ab}	4±0 ^{A,ab}	4±0 ^{B,a}

*Different capital letters indicate significant differences between different days ($p < 0/05$)

*Different lowercase letters indicate significant differences between different treatments ($p < 0.05$).

Table 8. Color score of probiotic drink samples containing different concentrations of celery, carrot and apple juice

treatment	Day 1	Day 11	Day 21
1	4±0 ^{A,ab}	4±0 ^{A,ab}	4±1 ^{B,ab}
2	4±0 ^{A,ab}	4±0 ^{A,ab}	4±0 ^{B,a}
3	4±0 ^{A,ab}	4±0 ^{A,ab}	4±1 ^{B,ab}
4	5±1 ^{A,a}	4±0 ^{A,ab}	4±0 ^{B,a}
5	5±1 ^{A,a}	4±0 ^{A,ab}	4±0 ^{B,ab}
6	4±0 ^{A,ab}	4±0 ^{A,ab}	4±1 ^{B,ab}
7	4±0 ^{A,ab}	4±0 ^{A,ab}	4±1 ^{B,ab}
8	4±0 ^{A,ab}	4±0 ^{A,ab}	4±0 ^{B,a}
9	5±0 ^{A,a}	5±1 ^{A,a}	4±1 ^{B,ab}
10	4±1 ^{A,ab}	4±0 ^{A,ab}	4±0 ^{B,a}

*Different capital letters indicate significant differences between different days ($p < 0/05$)

*Different lowercase letters indicate significant differences between different treatments ($p < 0.05$).

Table 9. Overall acceptance score of probiotic drink samples containing different concentrations of celery, carrot and apple juice

treatment	Day 1	Day 11	Day 21
1	4±0 ^{A,ab}	4±1 ^{A,b}	3±0 ^{B,b}
2	4±0 ^{A,ab}	4±0 ^{A,ab}	4±0 ^{B,a}
3	4±0 ^{A,ab}	5±1 ^{A,a}	4±0 ^{B,a}
4	5±1 ^{A,a}	5±1 ^{A,a}	4±0 ^{B,a}
5	5±1 ^{A,a}	4±1 ^{A,a}	4±1 ^{B,ab}

6	4±0 A,ab	4±0 A,ab	4±0 B,a
7	4±0 A,ab	4±0 A,ab	4±0 B,a
8	4±0 A,ab	4±0 A,ab	4±1 B,ab
9	5±1 A,a	5±1 A,a	3±0 B,b
10	4±0 A,ab	4±0 A,ab	4±0 B,a

*Different capital letters indicate significant differences between different days ($p < 0/05$)

*Different lowercase letters indicate significant differences between different treatments ($p < 0.05$).

میزان pH و خواص آنتی اکسیدانی، همچنین افزایش زنده مانی لاکتوباسیلوس کازئی و خواص ارگانولپتیکی در نوشیدنی پروبیوتیک شد. از طرفی مدت زمان نگهداری باعث کاهش میزان pH، خاصیت آنتی اکسیدانی، ترکیبات فنلی شد. همچنین زنده مانی لاکتوباسیلوس کازئی طی مدت زمان نگهداری کاهش یافت. امتیازات خواص ارگانولپتیکی نیز در طی مدت زمان نگهداری کاهش یافتند. تیمار حاوی ۲/۵ درصد چای سبز، ۲۰ درصد کرفس، ۱۰ درصد هویج و ۱۰ درصد سیب به عنوان تیمار برتر انتخاب شد و بیشترین زنده مانی باکتری های پروبیوتیک با تعداد $\log cfu/g$ در این تیمار مشاهده شد.

۷- نتیجه گیری

در این تحقیق اثر افزودن عصاره چای سبز در سطوح (۰، ۱/۵ و ۲/۵٪) در نوشیدنی حاوی غلظت های مختلف آب کرفس؛ هویج و سیب بر زنده مانی لاکتوباسیلوس کازئی و ویژگی های کیفی (pH، درصد مهار رادیکال DPPH، ترکیبات فنلی) و خواص حسی (مزه، بو، رنگ، بافت و پذیرش کلی) در روزهای ۱، ۱۱ و ۲۱ نوشیدنی پروبیوتیک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج ارزیابی خصوصیات مختلف نوشیدنی پروبیوتیک نشان داد که افزایش درصد چای سبز و همینطور غلظت آب کرفس، هویج و سیب باعث کاهش

drink by lactic acid bacteria. Iranian Journal of food science and technology, 13 (51): 103-111. (In Persian)

[6] Demir, N., BAHÇECİ, K. S., & Acar, J. (2006). The effects of different initial Lactobacillus plantarum concentrations on some properties of fermented carrot juice. Journal of Food Processing and Preservation, 30(3), 352-363.

[7] Dehghan, B. Esmaeilzadeh Kenari, R. Raftani Amiri, Z. (2022). Evaluation of the effect of green tea extract on probiotic survival in Pinacolada drink based on whey under simulated gastric and intestinal conditions, Food Science and Technology, 19(1), 115-127. (In Persian).

[8] Rahaei, M., Pourahmad, R., & Khorshidpour, B. (2021). Effect of asparagus extract and green tea extract on viability of probiotic bacteria, antioxidant activity and sensory properties of kefir. IRANIAN

۸- منابع

- [1] Javan mard E, Labafi M, Khodaian F, Salehi E. (2016). Feasibility study of Production of red beet juice by fermentation Lactic acid bacteria.. Iranian Journal of food science and technology, 13(56), 1-9. (In Persian)
- [2] Ziemer, C. J., & Gibson, G. R. (1998). An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. International Dairy Journal, 8(5-6), 473-479.
- [3] Prado, F. C., Parada, J. L., Pandey, A., & Socol, C. R. (2008). Trends in non-dairy probiotic beverages. Food Research International, 41(2), 111-123..
- [4] Tripathi, M. K., & Giri, S. K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. Journal of functional foods, 9, 225-241.
- [5] Amini niya H, Razavi S H. (2015). Producing celery juice as functional

JOURNAL OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY, 17(109), 43-54.

[9] Mousavi, Z. E., Mousavi, S. M., Razavi, S. H., Emam-Djomeh, Z., & Kiani, H. (2011). Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27, 123-128.

[10] Farhosh R, Glymvhad Gha, Haddad Qadastar, MD.(2019). Evaluation of antioxidant activity and thermal stability of green tea extract in sunflower oil, *Agricultural Sciences and Technology Journal*, Vol. 2 No. 3, pp. 99-91. (In Persian)

[11] E. Moghaddas Kia, E. Dorosti, Z. Ghasempour, A. Ehsani , (2018). The effects of addition of sodium caseinate and microencapsulation process on the viability of *Lactobacillus acidophilus* and qualitative properties of probiotic yoghurt during storage, *Food Science and Technology*, 15(5), 55-69. magiran.com/p1859412

[12] Shokery, E.S., El-Ziney, M.G., Yossef, A.H. and Mashaly, R.I. (2017). Effect of green tea and moringa leave extracts fortification on the physicochemical, rheological, sensory and antioxidant properties of set-type yoghurt. *Journal of Advanced Dairy Research*, 5(2): 1-10.

[13] 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.

[14] Ferreres, F., Sousa, C., Valentão, P., Seabra, R. M., Pereira, J. A., & Andrade, P. B. (2007). Tronchuda cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *costata* DC) seeds: Phytochemical characterization and antioxidant potential. *Food Chemistry*, 101(2), 549-558.

[15] Salem, S. A., Ashoush, I. S., & Al-Hassan, A. A. (2014). Enrichment of functional properties of ice cream with red grape pomace extract. *Egypt Journal of Food Science*, 42, 45-54.

[16] Lim, E.S. (2017). Effect of green tea supplementation on probiotic potential, physicochemical, and functional

properties of yogurt. *Korean Journal of Microbiology*, 53(2): 103-117.

[17] Azarfam, M. S., Hashemiravan, M., & Asadollahi, S. (2021). Production of Probiotic Fermented Beverage Based on Mixture of Sweet Cherry, Red. *Journal of Food Safety and Processing*, 1(1), 1-16.



Scientific Research

The effect of green tea extract on the viability of *Lactobacillus casei* and the qualitative characteristics of a probiotic drink based on a mixture of celery, carrot and apple juice

Maryam Heydari¹, Rezvan Pourahmad^{2*}, Mahnaz Hashemiravani³

1. PhD Student, Department of Food Science and Technology, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.
2. Professor, Department of Food Science and Technology, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received: 2024/4/20 Accepted: 2024/6/1 Keywords: Probiotic drink, green tea, celery, apple, carrot, <i>Lactobacillus casei</i> DOI: 10.22034/FSCT.21.156.125. *Corresponding Author E- rjpourahmad@yahoo.com, rezvan.pourahmad@iau.ac.ir	In this research, the effects of different concentrations of green tea extract (0, 1.5, and 2.5 percent) on <i>Lactobacillus casei</i> survival, antioxidant activity, and drinking sensation of probiotics based on a mixture of different concentrations of celery juice (10, 15, and 20 percent), apple juice (5, 7.5 and 10%) and carrot juice (5, 7.5 and 10%) were investigated. 10 treatments were investigated with three replications. The qualitative characteristics of the probiotic drink samples were investigated during the storage period (first, eleventh and twenty-first days). Based on the obtained results, increasing the percentage of green tea as well as the concentration of celery, carrot and apple juice decreased the pH and antioxidant activity (DPPH radical inhibition percentage), phenolic compounds, as well as increased the viability of <i>Lactobacillus casei</i> and organoleptic properties in the probiotic drink ($p < 0.05$). On the other hand, the duration of storage decreased the pH and antioxidant properties ($p < 0.05$). Also, the survival of <i>Lactobacillus casei</i> decreased during the storage period ($p < 0.05$). The treatment had the highest amount of green tea (2.5%) and the highest concentration of celery juice (20%), carrot (10%) and apple (10%) and the highest sensory quality (taste, smell, texture, color, overall acceptance) and The population of probiotic bacteria in this treatment was more than 7 log cfu/g on the 21st day.