



بررسی زنده‌مانی لاکتوباسیلوس پاراکازئی در ماست پروبیوتیک حاوی پودر چای سبز و قهوه سبز

هادی صابری بدر^۱، محمد حسین موثق^{۲*}

^۱ فارغ‌التحصیل دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران.

^۲ دانشیار بخش بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۰۹

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثر پودرهای چای سبز و قهوه سبز در سطوح ۰، ۱ و ۲ درصد، در ماست پروبیوتیک بر روی زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس پاراکازئی بود. شمارش باکتری لاکتوباسیلوس پاراکازئی، تعیین pH و ارزیابی حسی نمونه‌های ماست در سه تکرار در روزهای ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ انجام شد. نتایج نشان داد، افزودن پودرهای چای سبز و قهوه سبز به ماست پروبیوتیک، زنده‌مانی لاکتوباسیلوس پاراکازئی را در تمامی نمونه‌ها نسبت به ماست شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش داد ($p < 0.05$). بیشترین تعداد باکتری در نمونه‌های ماست حاوی ۱٪ چای سبز و ۲٪ درصد قهوه سبز به ترتیب حاوی $13.78 \pm 0.17 \log \text{CFU/g}$ و 11.54 ± 0.02 بود. کمترین و بیشترین میزان pH به ترتیب متعلق به نمونه ماست حاوی ۲٪ چای سبز و ۲٪ قهوه سبز بود. بهترین طعم مربوط به نمونه ماست حاوی ۱٪ قهوه سبز و مطلوب‌ترین بافت و رنگ مربوط به نمونه ماست شاهد بود. بیش‌ترین امتیاز از نظر مقبولیت کلی به ترتیب در نمونه ماست شاهد، ماست حاوی ۱٪ چای سبز و ماست حاوی ۱٪ قهوه سبز بود. در کل نتایج نشان داد افزودن ۱٪ پودر چای سبز تأثیر مؤثری بر زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس پاراکازئی دارد و می‌تواند جهت تولید در سطح تجاری مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: لاکتوباسیلوس پاراکازئی، ماست، چای سبز، قهوه سبز

* drmhmg@gmail.com

مقدمه

مواد غذایی فراسودمند تعاریف متفاوتی دارند یکی از تعاریف رایج این است که آن‌ها حاوی موادی فراتر از مواد اولیه هستند. طبق تعریف سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (فائو) مواد غذایی فراسودمند به عنوان غذاهایی تعریف می‌شوند که علاوه بر مواد مغذی، حاوی اجزای دیگری هستند که ممکن است برای سلامتی انسان مفید باشند (۱). در بین غذاهای فراسودمند، پروبیوتیک‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند. پروبیوتیک‌ها به عنوان میکروارگانیسم‌های زنده غیر بیماری‌زایی هستند که اگر به مقدار کافی مورد استفاده قرار گیرند، با ایجاد تعادل میکروبی در روده برای سلامتی میزبان مفید خواهند بود (۲).

لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکتریوم‌ها از شناخته‌شده‌ترین باکتری‌های پروبیوتیک به شمار می‌روند که در محصولات لبنی یافت می‌شوند (۳). لاکتوباسیلوس پاراکازنی^۱، باکتری گرم مثبت، میکروآئروفیل، مزوفیل و هوموفرمنتاتیو از باکتری‌های اسیدلاکتیک است که معمولاً در تخمیر فرآورده‌های لبنی و به عنوان کشت پروبیوتیک استفاده می‌شود (۴). ماست یکی از قدیمی‌ترین فرآورده لبنی مورد استفاده بشر است که به دلیل ارزش غذایی و اثرات مثبت بر سلامتی که عمدتاً مربوط به پروتئین‌ها، پروبیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌ها است، بسیار مورد توجه است (۵).

در حال حاضر نیز ماست پروبیوتیک جزء پرمصرف‌ترین فرآورده‌های پروبیوتیک است که مقدار کم بودن اسید در آن در افزایش مقبولیت این نوع ماست حائز اهمیت است. فاکتورهایی مثل بافت، طعم و تولید اسید توسط باکتری‌های پروبیوتیک در ماست چه در زمان تخمیر و چه در زمان نگهداری می‌توانند با تغییر شرایط و افزودن مکمل‌ها به ماست تغییر کنند. پروتئین‌های شیر، پروبیوتیک‌ها و گیاهان از جمله عناصر و مکمل‌هایی هستند که ارزش تغذیه‌ای و ویژگی‌های ماست را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۶، ۷). علاوه بر این افزودنی‌های مشتق شده از گیاهان و کاربرد آن‌ها در صنایع

مختلف غذایی و لبنیات افزایش یافته است. تکمیل محصولات تخمیری مانند ماست با افزودنی‌های تغذیه‌ای نظیر گیاهان و عصاره‌های گیاهی راه خوبی برای بهبود دریافت مواد مغذی در مصرف غذای روزانه انسان خواهد بود.

در مطالعات مختلف خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی مواد گیاهی نشان داده شده است اما مطالعات کمی بر روی پیدا کردن ترکیبات پری‌بیوتیک انجام شده است. قلعه موسیانی و همکاران^۳ (۲۰۱۷) نشان دادند که عصاره‌های آبی دو گیاه ریحان و مرزه تأثیر مثبتی بر زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس پاراکازنی در ماست پروبیوتیک داشت (۸). نتایج حسنی و همکاران^۴ (۲۰۱۳) نشان داد که افزودن عصاره زرشک تأثیر معنی‌داری بر زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس / سیدوفیلوس در ماست پروبیوتیک داشت. همچنین مطالعات نشان دادند که ماست‌های غنی شده با عصاره‌های گیاهی در طول زمان نگهداری pH کمتری را نسبت به ماست شاهد نشان دادند (۹).

مصرف چای و قهوه در دنیا بسیار متداول است و چای سبز و قهوه سبز نیز از جمله گیاهانی هستند که خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در مطالعات مختلف گزارش شده است. چای سبز نوعی چای غیر تخمیری است که آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز موجود در برگ‌های تازه چای به وسیله خشک کردن و بخار آب دادن غیر فعال شده و بنابراین مانع اکسیداسیون کاتچین‌های چای سبز می‌شود. پلی‌فنل‌های چای سبز دارای خصوصیات مفید زیادی هستند که از جمله آن‌ها می‌توان به فعالیت‌های پیشگیری دارویی، ضد سرطانی، ضد تصلب شرایین و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی اشاره نمود (۱۰). بلانکو و همکاران^۵ (۲۰۰۳) نشان دادند که ترکیب اصلی پلی‌فنلی در چای سبز، اپی‌گالوکاتچین-۳-گالات (EGCG) است که دارای خصوصیات آنتی‌اکسیداتیو، ضد توموری و ضد باکتریایی است (۱۱).

³ Hassani et al.

⁴ Blanco et al.

¹ *Lactobacillus paracasei*

² GaleMousiani et al.

قهوه سبز یک نوشیدنی پر مصرف در سال‌های اخیر است که حاوی مخلوط شیمیایی پیچیده‌ای از پلی‌ساکاریدها، منوساکاریدها، لیپیدها، استرول‌ها، اسیدهای فنولیک، پلی-فنل‌ها، پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه آزاد، ویتامین‌ها و مواد معدنی است. قهوه سبز دانه خام، کال و بو نداده گیاه قهوه است که نسبت به قهوه معمولی کافئین کمتری در آن تشکیل شده است و دارای مقادیر فراوانی کلروژنیک اسید است. در مطالعات زیادی ویژگی‌های سلامت بخشی؛ مانند اثر آنتی‌اکسیدانی، ضد سرطانی قهوه، قهوه سبز و فیر آن‌ها به اثبات رسیده است. دانه‌های قهوه سبز سرشار از ترکیباتی مانند گاما - آمینو بوتیریک اسید ($GABA^6$)، اپی گالوکاتچین گالات^۷ و تئوفیلین^۸ است (۱۲-۱۴).

هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر پودر چای سبز و قهوه سبز بر زنده‌مانی لاکتوباسیلوس پاراکازئی در ماست پروبیوتیک بود. با توجه به جستجو در منابع در دسترس مطالعه کنونی اولین مطالعه بر روی اثر پودر چای و قهوه سبز در زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس پاراکازئی در ماست است.

مواد و روش‌ها

مواد مصرفی

مواد مصرفی شامل شیر کم چرب شرکت میهن (۱/۵ درصد چربی)، قهوه سبز (BSK، ایران)، چای سبز (کام گرین، ایران)، استارتر لاکتوباسیلوس پاراکازئی و استارتر ماست (Express 1.0) به صورت DVS (شرکت هانسن دانمارک)، باکتری لاکتوباسیلوس پاراکازئی (هانسن، دانمارک) و محیط کشت De Man-Rogosa-Sharpe agar (MRS آگار -مرک، آلمان) بود.

تهیه ماست پروبیوتیک

ابتدا شیر کم چرب به مدت ۲۰ دقیقه جوشانده شد تا ۱۰ درصد از حجم آن کاسته شود، سپس اجازه داده شد تا دمای

۴۲ درجه سلسیوس خنک شود. در این دما، استارتر ماست به شیر اضافه شد. نمونه‌های ماست در ۱۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری شد. پس از آماده‌سازی اولیه در ظروف شیشه‌ای استریل ۱۰۰ میلی‌لیتری پودرهای چای سبز و قهوه سبز در درصدهای صفر (شاهد)، ۱٪ چای سبز، ۱٪ قهوه سبز، ۲٪ چای سبز، ۲٪ قهوه سبز به آن اضافه شد. ظروف شیشه‌ای در داخل بن ماری ۸۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند تا سایر باکتری‌های فعال درون ماست غیرفعال گردند. مقدار ۰/۱۵ گرم از نمونه باکتری لاکتوباسیلوس پاراکازئی لیوفلیزه شده با ۱۰۰ میلی‌لیتر شیر مخلوط و سپس در شرایط آسپتیک از مایع حاوی لاکتوباسیلوس پاراکازئی به ازای هر ۲۰۰ میلی‌لیتر ماست ۲ میلی‌لیتر اضافه گردید. پس از آن مخلوط هم زده شد. نمونه‌های ماست در یخچال ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. آزمون‌های شمارش میکروبی، تعیین میزان pH و ارزیابی حسی در فواصل زمانی ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز با سه تکرار انجام شدند.

شمارش باکتری لاکتوباسیلوس پاراکازئی

جهت شمارش لاکتوباسیلوس پاراکازئی مقدار ۱۰ گرم از نمونه‌های ماست تهیه شده در ۹۰ میلی‌لیتر محلول آب پپتون بافری (مرک، آلمان) هموژن گردید و رقت‌های سریال تهیه گردید. پس از آن از هر لوله به مقدار ۱ میلی‌لیتر در پلیت‌های محتوی محیط کشت MRS آگار به صورت پور پلیت کشت داده شد. برای شمارش، پلیت‌های حاوی ۳۰ تا ۳۰۰ پرگنه انتخاب شدند (۱۵).

اندازه‌گیری pH

جهت اندازه‌گیری pH، از دستگاه pH متر استفاده شد بدین صورت که نمونه‌های ماست داخل یک بشر ۳۰ یا ۵۰ میلی‌لیتری ریخته شده و الکتروود pH متر پس از تنظیم، کاملاً

⁸ Theophylline

¹ Gamma-aminobutyric acid

² Epigallocatechin gallate

داخل نمونه قرارداد شده. سپس pH هر کدام از نمونه‌ها قرائت و مقادیر آن‌ها ثبت گردید (۱۵).

ارزیابی حسی

در این مطالعه از روش هدونیک ۵ نقطه‌ای و ۱۰ ارزیاب حسی (دانشجویان رشته دامپزشکی شامل ۵ نفر زن و ۵ نفر آقا) برای امتیازدهی به ماست‌های تولیدشده استفاده شد. نمونه‌های ماست بر اساس ویژگی‌های طعم، بافت، رنگ و مقبولیت کلی در پنج سطح (خیلی خوب، خوب، قابل قبول، ضعیف و غیرقابل قبول) ارزیابی شدند. امتیاز معادل برای خیلی خوب (۵)، خوب (۴)، قابل قبول (۳)، ضعیف (۲) و غیرقابل قبول (۱) در نظر گرفته شد. ارزیابان امتیازات خود را بر روی پرسش‌نامه‌های طراحی شده وارد کرده و این داده‌ها برای آنالیزهای آماری مورد استفاده قرار گرفتند.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۳) تجزیه و تحلیل شد. داده‌های حاصله بعد از تست نرمال بودن با استفاده از آزمون گروه‌بندی یک‌طرفه (One-way ANOVA) تجزیه واریانس گردید. همچنین برای مقایسه میانگین داده‌ها

از آزمون توکی استفاده شد. $p < 0.05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. این مطالعه طبق کد شناسه اخلاق IR.IAU.TABRIZ.REC.1401.079 مجوز کمیته اخلاق را برای انجام مطالعه دریافت کرده است.

یافته‌ها

زنده‌مانی لاکتوباسیلوس پاراکازئی

در جدول ۱، میانگین جمعیت باکتری لاکتوباسیلوس پاراکازئی در طول زمان نگهداری در نمونه‌های ماست مشخص شده است. بر اساس جدول ۱ در روز اول نگهداری بین میانگین تیمارها اختلاف معنی‌داری در زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس پاراکازئی وجود ندارد. در روز هفتم بیشترین تعداد باکتری به ترتیب مربوط به قهوه سبز ۱٪، قهوه سبز ۲٪ و جای سبز ۱٪ و کمترین تعداد باکتری مربوط به گروه شاهد است. در روز چهاردهم و بیست و یکم بیشترین تعداد باکتری متعلق به جای سبز ۱٪ و کمترین آن متعلق به گروه شاهد است.

جدول ۱. مقایسه میانگین تعداد باکتری لاکتوباسیلوس پاراکازئی (log CFU/g) در نمونه‌های مورد بررسی در طول زمان نگهداری

بازه زمانی	روز اول	روز هفتم	روز چهاردهم	روز بیست و یکم
تیمار				
شاهد	۸۰±۵۰/۱۶	۸۰±۵۶/۲۶ ^c	۸۰±۵۸/۳۳ ^d	۸۰±۳۸/۳۰ ^e
جای سبز ۱٪	۸۰±۴۹/۲۵	۱۰۰±۴۰/۲۲ ^a	۱۱۰±۴۷/۴۰ ^a	۱۳۰±۷۸/۱۷ ^a
جای سبز ۲٪	۸۰±۵۱/۳۳	۹۰±۶۵/۱۵ ^b	۹۰±۷۸/۰۸ ^c	۹۰±۷۵/۱۶ ^d
قهوه سبز ۱٪	۸۰±۳۷/۱۱	۱۰۰±۴۵/۳۶ ^a	۹۰±۶۲/۲۷ ^c	۱۰۰±۷۹/۱۰ ^c
قهوه سبز ۲٪	۸۰±۴۹/۱۷	۱۰۰±۴۴/۱۲ ^a	۱۰۰±۶۳/۲۲ ^b	۱۱۰±۵۴/۲۰ ^b
SEM	۰/۰۹	۰/۲۰	۰/۲۶	۰/۴۸
ارزش P	۰/۹۳۲	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱

میانگین‌هایی که کد مشترک دارند اختلاف معنی‌داری باهم ندارند.

بررسی مقادیر pH

شاهد نداشته؛ ولی تفاوت معنی‌داری با گروه قهوه سبز داشتند. در روز چهاردهم بالاترین pH متعلق به چای سبز ۱٪ و پایین‌ترین pH متعلق به قهوه سبز ۱٪ و ۲٪ است که تفاوت معنی‌داری با گروه چای سبز و شاهد دارد. در روز بیست و یکم بالاترین pH متعلق به قهوه سبز ۲٪ و پایین‌ترین pH متعلق به چای سبز ۲٪ است. در جدول ۳ نیز مقایسه اثرات متقابل درصد چای سبز و قهوه سبز در روزهای مختلف نمونه‌برداری بر روی تعداد باکتری لاکتوباسیلوس پاراکازئی و میزان pH آورده شده است.

نتایج به‌دست‌آمده از pH نمونه‌های ماست موردبررسی در طول زمان نگهداری در جدول ۲ نشان داده‌شده است. بر اساس جدول ۲ در روز اول بالاترین pH متعلق به قهوه سبز ۲٪ و پایین‌ترین pH متعلق به چای سبز ۲٪ است. گروه‌های دیگر تفاوت معنی‌داری با این دو گروه ندارند. در روز هفتم بالاترین pH متعلق به قهوه سبز ۲٪ است که تفاوت معنی‌داری با قهوه سبز ۱٪ ندارد. پایین‌ترین pH متعلق به چای سبز ۱٪ و چای سبز ۲٪ بوده که تفاوت معنی‌داری با گروه

جدول ۲. مقایسه pH نمونه‌های موردبررسی در طول زمان نگهداری

بازه زمانی	روز اول	روز هفتم	روز چهاردهم	روز بیست و یکم
تیمار				
شاهد	۴/۰±۴۵/۲۲ ^{a,b}	۴/۰±۷۹/۲۵ ^{b,c}	۴/۰±۳۲/۰۵ ^b	۳/۰±۹۲/۰۵ ^b
چای سبز ۱٪	۴/۰±۷۹/۰۷ ^{a,b}	۴/۰±۶۲/۲۰ ^c	۴/۰±۵۵/۰۴ ^a	۳/۰±۷/۰۳ ^c
چای سبز ۲٪	۴/۰±۱۵/۰۹ ^b	۴/۰±۶۵/۰۴ ^c	۴/۰±۳۷/۰۵ ^b	۳/۰±۶۱/۰۱ ^d
قهوه سبز ۱٪	۴/۰±۶۳/۴۹ ^{a,b}	۵/۰±۳۱/۲۱ ^{a,b}	۴/۰±۱۴/۰۲ ^c	۳/۰±۹۳/۰۲ ^b
قهوه سبز ۲٪	۴/۰±۸۲/۰۱ ^a	۵/۰±۴/۲۷ ^a	۴/۰±۱۳/۰۵ ^c	۴/۰±۰۲/۰۱ ^a
SEM	۰/۰۸	۰/۱۱	۰/۰۴	۰/۰۴
ارزش P	۰/۰۴۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱

میانگین‌هایی که کد مشترک دارند اختلاف معنی‌داری باهم ندارند.

جدول ۳. مقایسه اثرات متقابل درصد چای سبز و قهوه سبز در روزهای مختلف نمونه‌برداری بر روی تعداد باکتری لاکتوباسیلوس- پاراکازئی و میزان pH

pH	تعداد باکتری (log CFU/g)	ترکیب تیمارها (روز*تیمار)	
		تیمار	روز
۴/۴۵ ^{f,g,h}	۸/۵۰ ^a	شاهد	۱
۴/۷۹ ⁱ	۸/۴۹ ^a	چای سبز ۱٪	
۴/۱۵ ^{c,d,e,f}	۸/۵۱ ^a	چای سبز ۲٪	
۴/۶۳ ^{h,i}	۸/۳۷ ^a	قهوه سبز ۱٪	

قهوه سبز ۲٪	۸/۴۹ ^a	۴/۸۲ ⁱ
شاهد	۸/۵۶ ^a	۴/۷۹ ⁱ
چای سبز ۱٪	۱۰/۴۰ ^c	۴/۶۲ ^{g,h,i}
چای سبز ۲٪	۹/۶۵ ^b	۴/۶۵ ^{h,i}
قهوه سبز ۱٪	۱۰/۴۵ ^c	۵/۳۱ ^j
قهوه سبز ۲٪	۱۰/۴۴ ^c	۵/۴۰ ^j
شاهد	۸/۵۸ ^a	۴/۳۲ ^{d,e,f,g}
چای سبز ۱٪	۱۱/۴۷ ^d	۴/۵۵ ^{g,h,i}
چای سبز ۲٪	۹/۷۸ ^b	۴/۳۷ ^{e,f,g,h}
قهوه سبز ۱٪	۹/۶۲ ^b	۴/۱۴ ^{c,d,e,f}
قهوه سبز ۲٪	۱۰/۶۳ ^c	۴/۱۳ ^{c,d,e}
شاهد	۸/۳۸ ^a	۳/۹۲ ^{b,c}
چای سبز ۱٪	۱۳/۷۸ ^e	۳/۷۰ ^{a,b}
چای سبز ۲٪	۹/۷۵ ^b	۳/۶۱ ^a
قهوه سبز ۱٪	۱۰/۷۹ ^c	۳/۹۳ ^{b,c}
قهوه سبز ۲٪	۱۱/۵۴ ^d	۴/۰۲ ^{c,d}
SEM	۰/۱۸	۰/۰۶
ارزش P	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱

میانگین‌هایی که کد مشترک دارند اختلاف معنی‌داری باهم ندارند.

ویژگی‌های حسی

به منظور بررسی ویژگی‌های حسی باتوجه به وجود ۵ تیمار و ۱۰ نفر ارزیاب از آنالیز واریانس یک طرفه و همچنین برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. مطابق جدول ۴ اختلاف معنی‌داری بین تیمارها در امتیاز هر سه ویژگی (طعم، بافت و رنگ) وجود دارد ($p < 0.05$). بالاترین امتیاز طعم مربوط به تیمار قهوه سبز ۱٪ با میانگین ۴/۵ است که اختلاف معنی‌داری با شاهد ندارد. پایین‌ترین امتیاز متعلق

به چای سبز ۲٪ با میانگین ۲/۸ است. این اختلاف از لحاظ آماری با امتیاز قهوه سبز ۲٪ و چای سبز ۱٪ معنی‌دار نیست.

بالاترین امتیاز بافت احساس دهانی مربوط به تیمار شاهد با میانگین ۴/۶ و پایین‌ترین امتیاز مربوط به چای سبز ۲٪ با میانگین ۲/۹ است. بالاترین امتیاز رنگ نیز مربوط به تیمار شاهد با میانگین ۴/۷ و پایین‌ترین امتیاز مربوط به چای سبز ۲٪ با میانگین ۳/۵ است. همچنین بالاترین امتیاز مقبولیت کلی مربوط به گروه شاهد با میانگین ۱۳/۷ و پس از آن قهوه سبز

دارند ایجاد می‌شود، در نتیجه می‌توان به تغییر شرایط فرایندها یا با افزودن مواد مکمل نسبت به اصلاح یا بهبود ماست اقدام کرد (۱۷).

با توجه به نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر، بالاترین میزان زنده‌مانی جمعیت باکتری لاکتوباسیلوس پاراکازئی پس از ۲۱ روز دوره نگهداری در نمونه‌های ماست، مربوط به گروه حاوی ۱۲٪ چای سبز بود که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت و کمترین تعداد این باکتری مربوط به تیمار شاهد بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت. درواقع می‌توان نتیجه گرفت که افزودن پودرهای گیاهی چای سبز و قهوه سبز به ماست پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس پاراکازئی موجب افزایش معنی‌دار زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک نسبت به ماست شاهد می‌شود (۰/۰۵ < p). یکی از عللی که برای این نتیجه در مطالعات ذکر شده است وجود ترکیبات فنلی در پودرهای گیاهی است که با فعالیت مهارکنندگی اکسیژن و کاهش پتانسیل اکسیداسیون-احیا در محیط رشد باکتری باعث بهبود رشد باکتری‌های آغازگر ماست و باکتری پروبیوتیک می‌گردند (۱۸، ۱۹). این نتیجه در توافق با نتایج مطالعات دیگر است که نشان دادند افزودن مواد گیاهی به ماست باعث افزایش زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک می‌گردد. نوری و همکاران^۹ (۲۰۱۷) در مطالعه خود بر روی زنده‌مانی لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم لاکتیس در بستنی سیمبوتیک بیان داشتند که افزودن چای سبز به مقدار ۱٪ رشد لاکتوباسیل و بیفیدوباکتریوم را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد (۲۰). ناجاور لئکو^{۱۱} (۲۰۱۴) تأثیر مکمل چای سبز بر خواص میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و حسی شیرهای پروبیوتیک را موردبررسی قرارداد و بیان کرد که مکمل چای سبز باعث افزایش زنده‌مانی باکتری‌هایی نظیر لاکتوباسیل/اسیدوفیلوس شده است (۲۱). امیر دیوانی و بابا^{۱۱} (۲۰۱۱) نیز افزایش مقادیر باکتری‌های پروبیوتیک نظیر استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس‌ها در ماست حاوی چای سبز

۱٪ با میانگین امتیاز ۱۳/۲ بود. چای سبز ۱٪ نیز باوجود عملکرد مناسب در مقادیر باکتری و pH میانگین امتیاز ۱۱/۵ را به دست آورد.

جدول ۴. نتایج ارزیابی حسی در نمونه‌های ماست بین تیمارها

تیمار	میانگین			
	طعم	بافت (احساس دهانی)	رنگ	مقبولیت کلی
شاهد	۴/۴ ^a	۴/۶ ^a	۴/۷ ^a	۱۳/۷ ^a
چای سبز ۱٪	۳/۳ ^b	۴ ^{a,b}	a,b,c ۴/۲	۱۱/۵ ^{a,b}
چای سبز ۲٪	۲/۸ ^b	۲/۹ ^c	۳/۵ ^c	۹/۲ ^b
قهوه سبز ۱٪	۴/۵ ^a	۴/۲ ^{a,b}	۴/۵ ^{a,b}	۱۳/۲ ^a
قهوه سبز ۲٪	۳/۱ ^b	۳/۶ ^{b,c}	۳/۷ ^{b,c}	۱۰/۴ ^b
SEM	۰/۱۸	۰/۱۵	۰/۱۴	۰/۴۳
ارزش P	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۳۳	۰/۰۰۲

میانگین‌هایی که کد مشترک دارند اختلاف معنی‌داری باهم ندارند.

بحث

ماست‌های پروبیوتیک دارای اثرات مفید بسیاری مانند تقویت سیستم ایمنی، کمک به هضم لاکتوز و سیستم روده، کاهش بیماری‌های التهابی روده و آلرژی هستند (۱۶). علاوه بر فواید سلامتی، خواص فیزیکی، بافت، ظاهر و طعم ماست نیز از عوامل مهم برای مقبولیت مصرف‌کننده است. بافت، طعم و مقدار اسیدیته ماست توسط کشت‌های آغازگر ماست و باکتری‌هایی که در طول تخمیر و ذخیره‌سازی آن حضور

¹¹ Amirdivani and Baba

⁹ Noori et al.

¹⁰ Najgebauer-Lejko et al.

نتایج به دست آمده از اندازه گیری pH نمونه های ماست مورد بررسی در طول زمان نگهداری نشان داد که با گذشت ۲۱ روز از زمان نگهداری، بالاترین pH متعلق به قهوه سبز ۲٪ و پایین ترین pH متعلق به چای سبز ۲٪ بود که تفاوت معنی داری با سایر تیمارها داشتند ($p < 0.05$). با توجه به نتایج در کل مقدار pH در طول زمان نگهداری ماست ها از روز اول تا روز ۲۱ کاهش داشت و علت آن می تواند افزایش زنده مانی و به دنبال آن افزایش فعالیت متابولیکی باکتری ها و تولید اسیدهای آلی توسط باکتری های اسیدلاکتیک پس از افزودن پودرهای چای سبز و قهوه سبز به ماست باشد. این نتایج نیز در توافق با نتایج به دست آمده در مطالعات دیگر است. ژئونگ و همکاران^{۱۸} (۲۰۱۸) به بررسی اثرات پودر چای سبز بر تخمیر و خواص زیستی فعال ماست پرداختند و نتایج آن ها نشان داد که پودر چای سبز میزان اسیدی شدن و رشد باکتری های تولید کننده اسیدلاکتیک را در طول تخمیر ماست به طور قابل توجهی افزایش می دهد (۲۶). در مطالعه ای که به بررسی تأثیر عصاره های گیاهی بر روی زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس دلبروکی تحت گونه بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس در ماست بدون چربی انجام شد، میکائیل و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که در طی ۵۰ روز نگهداری، pH نمونه های مورد بررسی کاهش یافت (۲۷). امیر دیوانی و بابا (۲۰۱۱) نیز نشان دادند که سرعت کاهش pH در نمونه های ماست حاوی عصاره گیاهان نعنای، شوید و ریحان بالاتر از ماست شاهد بوده و نیز pH ماست های حاوی عصاره های گیاهی پایین تر از ماست شاهد بود (۲۲). مطالعه آذرجم و همکاران^{۱۹} (۲۰۲۲) نیز نتایج نشان داد که pH نمونه های ماست قالبی پس از افزودن عصاره چای در طی یک دوره ۱۴ روزه نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس، کاهش یافت (۲۳).

با ارزیابی ویژگی های حسی توسط ده نفر ارزیاب، نتایج نشان داد که بهترین طعم مربوط به نمونه ماست حاوی ۱٪ قهوه سبز

مالزی و پس از آن چای سبز ژاپنی در طول دوره ۲۱ روزه را نشان دادند (۲۲). آذرجم و همکاران^{۱۲} (۲۰۲۲) در مطالعه ای به بررسی تغییرات فیزیکوشیمیایی و حسی ماست قالبی پروبیوتیک در پاسخ به افزودن عصاره چای پرداختند و نتایج آن ها نیز نشان داد که بیشترین میزان زنده مانی سویه لاکتوباسیلوس کازنی پس از یک دوره ۱۴ روزه نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس در تیمار حاوی ۶ درصد عصاره چای سبز بود (۲۳). احسان دوست و همکاران^{۱۳} (۲۰۱۳) نیز در بررسی تأثیر عصاره قهوه بر رشد باکتری های پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و بیفیدو باکتریوم بیفیدوم در شیر و ماست بیان داشتند که افزودن عصاره قهوه باعث افزایش تعداد باکتری های پروبیوتیک در نمونه های شیر و ماست نگهداری شده در ۴ درجه سلسیوس در طی دوره ۲۱ روزه می گردد (۲۴). حسنی و همکاران^{۱۴} (۲۰۱۳) در مطالعه ای نشان دادند که افزودن عصاره زرشک تأثیر معنی داری در افزایش تعداد باکتری های لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس در ماست پروبیوتیک طعم دار قالبی و هم زده در طی مدت زمان نگهداری داشت (۹). مرحمتی و همکاران^{۱۵} (۲۰۱۳) نیز نشان دادند عصاره برگ گیاه زیتون نیز باعث افزایش زنده مانی باکتری های لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و بیفیدو باکتریوم بیفیدوم در شیر و ماست پروبیوتیک در طی دوره ۲۱ روزه نگهداری در یخچال می گردد (۱۸). نتایج مطالعه میکائیل و همکاران^{۱۶} (۲۰۱۵) نیز نشان داد که تعداد باکتری های لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس در ماست های غنی شده با عصاره های گیاهی در طی زمان نگهداری بالاتر از ماست شاهد بود (۲۵). قلعه موسیانی و همکاران^{۱۷} (۲۰۱۷) نشان دادند که عصاره های آبی دو گیاه ریحان و مرزه تأثیر مثبتی بر زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس پاراکازنی در ماست پروبیوتیک داشت و با افزایش زمان نگهداری در طی ۲۱ روز، میزان زنده مانی جمعیت باکتری به طور معنی داری نسبت به ماست شاهد افزایش داشت (۸).

¹⁶ Michael et al.

¹⁷ GaleMousiani et al.

¹⁸ Jeong et al.

¹⁹ Azarjam et al.

¹² Azarjam et al.

¹³ Ehsan Dost et al.

¹⁴ Hassani et al.

¹⁵ Marhamati et al.

ماست از پودر چای سبز و قهوه سبز استفاده نمود. در مطالعه کنونی افزودن ۱٪ پودر چای سبز تأثیر مؤثری بر زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس پاراکازئی داشت و می‌تواند جهت تولید در سطح تجاری مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه نویسنده اول در مقطع دکترای حرفه‌ای رشته دامپزشکی می‌باشد. نویسندگان مقاله برخورد واجب می‌دانند که از مساعدت‌های آقای دکتر علی‌رضا احمدزاده جهت انجام آنالیزهای آماری و مسئولین آزمایشگاه کنترل کیفی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر برای انجام آزمون‌های مربوطه تشکر و قدردانی نمایند.

و مطلوب‌ترین بافت و رنگ مربوط به نمونه ماست شاهد بود. بیش‌ترین امتیاز از نظر مقبولیت کلی به ترتیب در نمونه ماست شاهد، ماست حاوی ۱٪ چای سبز و ماست حاوی ۱٪ قهوه سبز بود. باین حال در ارزیابی حسی صورت گرفته در مطالعه احسان‌دوست و همکاران (۲۰۱۳) نتایج نشان داد که ماست حاوی ۰/۴٪ عصاره قهوه مطبوع‌ترین ماست نسبت به ماست شاهد است (۲۴). همچنین شالابی و الحسین^{۲۰} (۲۰۲۱) در بررسی خواص عملکردی و سلامتی ماست مکمل با عصاره چای سبز بیان داشتند که امتیاز حسی ماست حاوی عصاره چای سبز و عصاره قهوه سبز بالاتر از گروه شاهد بود (۲۸).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصله به نظر می‌رسد که می‌توان برای افزایش زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در محصولات غذایی نظیر

²⁰ Shalaby et al.

1. FAO. FAO term portal. Available online at: <https://www.fao.org/faoterm/viewentry/en/?entryId=170967> (accessed May 15, 2022) (2022).
2. Reid G, Gadir AA, Dhir R. Probiotics: reiterating what they are and what they are not. *Frontiers in microbiology*. 2019; 10:424-430.
3. Farahmand N, Ouoba LI, Naghizadeh Raeisi S, Sutherland J, Ghoddusi HB. Probiotic lactobacilli in fermented dairy products: Selective detection, enumeration and identification scheme. *Microorganisms*. 2021;9(8):1-16.
4. Widyastuti Y, Febrisiantosa A, Tidona F. Health-promoting properties of lactobacilli in fermented dairy products. *Frontiers in Microbiology*. 2021; 12:1-8.
5. Abdi-Moghadam Z, Darroudi M, Mahmoudzadeh M, Mohtashami M, Jamal AM, Shamloo E, Rezaei Z. Functional Yogurt, Enriched and Probiotic: A Focus on Human Health. *Clinical Nutrition ESPEN*. 2023; 57: 575-586.
6. Nyanzi R, Jooste PJ, Buys EM. Invited review: Probiotic yogurt quality criteria, regulatory framework, clinical evidence, and analytical aspects. *Journal of Dairy Science*. 2021;104(1):1-9.
7. Maleki M, Ariaei P, Sharifi Soltani M. Fortifying of probiotic yogurt with free and microencapsulated extract of *Tragopogon Collinus* and its effect on the viability of *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*. *Food Science & Nutrition*. 2021; 9(7): 3436-3448.
8. GaleMousiani Z, Pourahmad R, Ishaghi M. The effect of basil and marzeh aqueous extracts on the viability of *Lactobacillus paracasei* and the physicochemical characteristics of probiotic yogurt. *Innovation in food science and technology*. 2017;10(4):55-64. [In Persian]
9. Hassani M, Mohammadisani A, Sharifi A, Hosni B. The effect of barberry extract on the survival of *Lactobacillus acidphyllos* bacteria in molded flavored and stirred probiotic yogurt enriched with barberry extract and investigating its physico-chemical characteristics. Third national conference of food science and industry; 2013; Gochan, Iran. [In Persian]
10. Vishnoi H, Bodla RB, Kant R, Bodla RB. Green tea (*Camellia sinensis*) and its antioxidant property: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2018; 9(5):1723-1736.
11. Blanco AR, Mulè SL, Babini G, Garbisa S, Enea V, Rusciano D. (–) Epigallocatechin-3-gallate inhibits gelatinase activity of some bacterial isolates from ocular infection and limits their invasion through gelatine. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 2003; 1620(1-3): 273-281.
12. Navarra G, Moschetti M, Guarrasi V, Mangione MR, Militello V, Leone M. Simultaneous determination of caffeine and chlorogenic acids in green coffee by UV/Vis spectroscopy. *Journal of Chemistry*. 2017;2017: 1-8.
13. Ramalakshmi K, Kubra IR, Rao LJ. Physicochemical characteristics of green coffee: Comparison of graded and defective beans. *Journal of food science*. 2007;72(5):333-337.
14. Shemekite F, Gómez-Brandón M, Franke-Whittle IH, Praehauser B, Insam H, Assefa F. Coffee husk composting: an investigation of the process using molecular and non-molecular tools. *Waste management*. 2014;34(3):642-652.
15. Movassagh, MH. Practical manual of food safety, 1st publication, Islamic Azad University Press; 2017. P. 36-51 [In Persian].
16. Ibrahim SA, Yeboah PJ, Ayivi RD, Eddin AS, Wijemanna ND, Paidari S, Bakhshayesh RV. A review and comparative perspective on health benefits of probiotic and fermented foods. *International Journal of Food Science & Technology*. 2023;58(10):4948-4964.
17. Kang SS, Kim MK, Kim YJ. Comprehensive evaluation of microbiological and physicochemical properties of commercial drinking yogurts in Korea. *Food science of animal resources*. 2019;39(5):820-830.
18. Marhamatizadeh MH, Ehsandoost E, Gholami P, Mohaghegh MD. Effect of olive leaf extract on growth and viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* for production of probiotic milk and yogurt. *International Journal of Farming and Allied Sciences*. 2013;2(17):572-578.
19. Oh NS, Lee JY, Joung JY, Kim KS, Shin YK, Lee KW, Kim SH, Oh S, Kim Y. Microbiological characterization and functionality of set-type yogurt fermented with potential prebiotic substrates *Cudrania tricuspidata* and *Morus alba* L. leaf extracts. *Journal of dairy science*. 2016;99(8):6014-6025.
20. Noori N, Noudoost B, Nasrabadi HG, Basti AA. Effects of green tea extract nanoencapsulation on the survival of *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium*

lactis in symbiotic ice cream. Journal of Veterinary Research. 2017;72(2): 195-205.

21. Najgebauer-Lejko D. Effect of green tea supplementation on the microbiological, antioxidant, and sensory properties of probiotic milk. Dairy science & technology. 2014; 94:327-339.

22. Amirdivani S, Baba AS. Changes in yogurt fermentation characteristics, antioxidant potential, and in vitro inhibition of angiotensin-1 converting enzyme upon the inclusion of peppermint, dill, and basil. LWT-Food Science and Technology. 2011;44(6):1458-1464.

23. Azarjam N, Shahab Lavasani AR, Sharifan A. The study of the addition of green tea extract on some physicochemical and sensory properties of probiotic set yogurt. Journal of Food Microbiology. 2022;9(1):35-54.

24. Ehsan Dost E, Mehmatizadeh MH, Gholami P. Investigating the effect of coffee extract on the growth of probiotic bacteria *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in milk

and yogurt. National conference of probiotics and beneficial foods; 2013. Tehran, Iran [In Persian].

25. Michael M, Phebus RK, Schmidt KA. Plant extract enhances the viability of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus* in probiotic nonfat yogurt. Food science & nutrition. 2015;3(1):48-55.

26. Jeong CH, Ryu H, Zhang T, Lee CH, Seo HG, Han SG. Green tea powder supplementation enhances fermentation and antioxidant activity of set-type yogurt. Food Science and Biotechnology. 2018; 27:1419-1427.

27. Michael M, Phebus RK, Schmidt KA. Impact of a plant extract on the viability of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in nonfat yogurt. International Dairy Journal. 2010;20(10):665-672.

28. Shalaby HS, Elhassaneen YA. Functional and Health Properties of Yogurt Supplemented with Green Tea or Green Coffee Extracts and its Effect on Reducing Obesity Complications in Rats. Alexandria Science Exchange Journal. 2021;42(2):559-571.

Viability of *Lactobacillus paracasei* in Probiotic Yogurt Containing Green Tea and Green Coffee Powders

Hadi Saberi Badr ¹, Mohammad Hosein Movassagh ^{2*}

¹ Graduate of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Shabestar Branch, Islamic Azad University, Shabestar, Iran

² Associate professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shabestar Branch, Islamic Azad University, Shabestar, Iran

Abstract

This study aimed to investigate the effect of green tea and green coffee powders at 0, 1, and 2% levels, each separately on the viability of *Lactobacillus paracasei* in probiotic yogurt. The viability of *Lactobacillus paracasei* was evaluated in terms of microbial count, pH, and sensory evaluation of yogurt samples in three replicates on days 1, 7, 14, and 21. The results showed that the addition of green tea and green coffee powders to probiotic yogurt significantly increased the viability of *Lactobacillus paracasei* in all samples compared to the control yogurt ($p < 0.05$). The highest number of bacteria in yogurt samples containing 1% green tea and 2% green coffee contained 13.78 ± 0.17 and 11.54 ± 0.2 log CFU/g, respectively. The lowest and the highest pH values belonged to the yogurt sample containing 2% green tea and 2% green coffee, respectively. The best taste was related to the yogurt sample containing 1% green coffee and the most favorable texture and color was related to the control yogurt sample. The highest scores in terms of overall acceptance were in the control yogurt sample, yogurt containing 1% green tea and yogurt containing 1% green coffee, respectively. In conclusion, the results showed that the addition of 1% green tea, had a good effect on the viability of *Lactobacillus paracasei* and can be used for commercial production.

Keywords: *Lactobacillus paracasei*, Yogurt, Green tea, Green coffee

* drmhmg@gmail.com