www.rifst.ac.ir/jrifst.aspx
نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی
سال ۱۳۹۳، جلد ۳، شماره ۳، صفحات ۲۱۰-۱۹۷

JRIFST

بررسی اثرات ریزجلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* و صمغ زدو در ماست پروبیوتیک

رسول زرین[۱]، زهرا قاسم پور[۲*]، محمود رضازاد باری[۳]، محمد علیزاده[۳]، احسان مقدس کیا[۲]

۱. استادیار گروه تغذیه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه
۲. دانشجوی دکترای تکنولوژی مواد غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه
*نویسنده مسئول (ghasempourz@yahoo.com)
۳. دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۲۶
تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۷/۲۰

واژه‌های کلیدی
اسپیرولینا پلاتنسیس
پروتئولیز
خواص آنتی‌اکسیدانی
صمغ زدو
ماست پروبیوتیک

چکیده

اثرات کاربرد همزمان *اسپیرولینا پلاتنسیس* (۰/۵-۰ درصد) و صمغ زدو (۰/۵-۰ درصد) در طی زمان نگهداری (۲۱-۱ روز) در انواع ماست (ساده/پروبیوتیک) توسط طرح آماری مرکب مرکزی در ۲۰ تیمار بررسی گردید. شاخص‌های کیفی مورد مطالعه شامل pH، اسیدیته، ارزیابی زنده‌مانی پروبیوتیک در محیط کشت MRS agar حاوی ونکومایسین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی با آزمون ممانعت ۱ و ۱ دی‌فنیل ۲ پیکریل‌هیدرازیل، روند پروتئولیز با آزمون ارتوفتالدئید و مقبولیت حسی، به روش مقیاس خطی بود. آنالیز آماری و مدل‌سازی، آشکار ساخت که میزان اسپیرولینا و زمان نگهداری بر روی pH و اسیدیته تاثیر معنی‌داری داشت ($P<0/05$). با توجه به زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس پاراکازئی*، میزان ریزجلبک، زمان نگهداری و برهمکنش صمغ- اسپیرولینا عواملی هستند که بطور معنی‌دار موثر بودند. همچنین اثر تمامی متغیرهای مورد مطالعه، بر روی میزان پروتئولیز معنی‌دار بود ($P<0/05$) که این امر احتمالا مربوط به تحریک رشد فلور ماست و *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* توسط اسپیرولینا می‌شود. بررسی‌های آماری نشانگر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی *اسپیرولینا پلاتنسیس* و صمغ زدو در نمونه‌های ماست بود. بیشینه مقبولیت حسی نیز در ۰/۱ درصد اسپیرولینا و ۰/۲۵ درصد صمغ زدو حاصل شد که نشانگر تاثیر مثبت برهمکنش صمغ در کاربرد اسپیرولینا از لحاظ حسی بود.

مقدمه

در سال‌های اخیر، تمایل مصرف‌کنندگان به غذاهای عملگرا از قبیل فراورده‌های لبنی پروبیوتیک، بدلیل خواص درمانی آن‌ها، افزایش یافته است. غذاهای عملگرا، غذاهایی هستند که علاوه بر ترکیبات تغذیه‌ای، دارای ترکیبات سلامت بخش می‌باشند. یکی از روش‌های تولید غذاهای عملگرا، کاربرد پروبیوتیک‌ها در غذا است. غذای حاوی باکتری‌های پروبیوتیک، باعث افزایش سلامتی، با مکانیسم بهبود تعادل میکروفلور روده می‌گردد (Shah, 2007). از سایر خواص سلامت بخشی سویه‌های پروبیوتیک می‌توان به خواص ضدمیکروبی، ضدجهش‌زایی، ضدسرطانی، مهار فشار خون بالا، کاهش کلسترول و تسکین عدم تحمل لاکتوز اشاره کرد (Donkor *et al*., 2006)؛ اما برای مؤثر بودن پروبیوتیک‌ها در سلامتی، میزان آن‌ها در یک محصول بایستی حداقل 10^6 کلنی در میلی‌لیتر یا گرم باشد (Donkor *et al*., 2007) تا مصرف روزانه ۱۰۰ گرم فراورده‌ی پروبیوتیک بتواند منجر به ایجاد خواص سلامت بخشی مذکور گردد (Beheshtipour *et al*., 2013).

محصولات لبنی بخش عمده‌ای از رژیم غذایی افراد را تشکیل می‌دهند. ماست بدلیل دارا بودن ترکیبات سلامت بخش، بویژه کلسیم بالا، ویتامین و فلور سودمند میکروبی، به تنهایی یک غذای سالم است. اما کشت آغازگر ماست، *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*، اغلب در مسیر معده زنده‌مانی بالایی ندارند (Ghasempour *et al*., 2011)، از این رو، افزودن سویه‌های پروبیوتیک که توانایی عبور و زنده‌مانی در دستگاه گوارش را دارا هستند، یک رویکرد مؤثر در تولید ماست عملگرا می‌باشد (Shah, 2007). همچنین فلور میکروبی ماست همراه باکتری‌های پروبیوتیک که دارای فعالیت پروتئولیتیکی پایینی می‌باشند، به منظور کاهش زمان تخمیر در این محصولات بکار برده می‌شود. رایج‌ترین باکتری‌های پروبیوتیک مورد استفاده در محصولات لبنی عموماً از جنس‌های *لاکتوباسیلوس* و *بیفیدوباکتریوم* می‌باشند (Shah, 2000). *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* بدلیل زنده‌مانی بهتر در محیط اسیدی و صفراوی دستگاه گوارش و خاصیت ضد میکروبی آن، برای این مطالعه انتخاب گردید (Madureira *et al*., 2008; Paturi *et al*., 2007).

ریزجلبک‌ها نیز منابع غنی از ترکیبات طبیعی هستند که می‌توانند به عنوان مواد عملگرا در غذا مورد استفاده قرار گیرند. این میکروارگانیسم‌ها، مواد غیرآلی از قبیل کربن، نیتروژن، فسفر، گوگرد، آهن و عناصر کمیاب را به مواد آلی از قبیل بیومس‌های سبز، سبز-آبی، قرمز، قهوه‌ای و سایر بیومس‌های رنگی تبدیل می‌کنند. ریزجلبک *اسپیرولینا* یک سیانوباکتر سبز-آبی رشته‌ای و مارپیچی است که امروزه به وفور در غنی‌سازی غذای انسان و حیوان استفاده می‌شود (Batista *et al*., 2013). *اسپیرولینا* دارای مقدار زیادی پروتئین با کیفیت بالا، شامل اسیدهای آمینه ضروری با ضریب هضم بالا، رنگدانه‌هایی از قبیل کاروتنوئیدها و فیکوسیانین، ویتامین‌ها و مواد معدنی از قبیل کلسیم و آهن می‌باشد. از خواص سلامت‌بخشی آن، خواص ضدسرطانی، ضدباکتریایی و مؤثر در آلرژی‌ها، زخم معده، آنمی، مسمومیت فلزات سنگین و مسمومیت ناشی از تشعشعات رادیواکتیو را می‌توان نام برد (Gupta *et al*., 2011). خاصیت آنتی‌اکسیدانی *اسپیرولینا* عمدتاً به C-فیکوسیانین، بتاکاروتن و ترکیبات فنولی نسبت داده می‌شود (Gupta *et al*., 2011). *اسپیرولینا* نام تجاری آرتروسپیرا است که *اسپیرولینا پلاتنسیس* و *اسپیرولینا ماکسیما* مهم‌ترین گونه‌های آن می‌باشند (Romano *et al*., 2000). در سال‌های اخیر مطالعاتی در زمینه تاثیر *اسپیرولینا* بر پروبیوتیک‌ها در ماست توسط Akalin و همکاران (۲۰۰۹)، Guldas و همکاران (۲۰۱۰)، Beheshtipour و همکاران (۲۰۱۲) و Fadaei و همکاران (۲۰۱۳) انجام گرفته و تأثیر مثبت *اسپیرولینا* بر *لاکتوباسیلوس‌ها* و *بیفیدوباکترها* گزارش شده است. از *اسپیرولینا*، همچنین برای غنی‌سازی محصولات غذایی دیگری از قبیل ماکارونی (Fradique *et al*., 2010) و کلوچه (صالحی فر و همکاران، ۱۳۹۱) نیز استفاده شده است.

مطالعات مقدماتی پژوهشگران، نشانگر آن بود که پودر *اسپیرولینا* به راحتی در شیر حل نمی‌شود، به همین دلیل در این مطالعه، کاربرد صمغ کربوهیدراتی زدو، به عنوان یک صمغ بومی ایرانی (برزگری و همکاران، ۱۳۹۲)، جهت پایدارسازی *اسپیرولینا* مورد بررسی قرار گرفت. زدو (صمغ فارسی) صمغی است شفاف که در رنگ‌های قرمز، زرد و نارنجی مشاهده می‌شود. صمغ زدو، صمغ درخت بادام کوهی (*Amygdalus scoparia*) می‌باشد و خواص آن شبیه صمغ عربی است که علی‌رغم صمغ عربی، این صمغ در غلظت‌های پایین هم تولید محلول‌هایی چسبنده و گرانرو می‌کند. قوام حاصل از این صمغ از کتیرا بیشتر است (برزگری و همکاران، ۱۳۹۲). صمغ زدو مصارف دارویی، صنعتی و غذایی زیادی دارد. اما در مقیاس تجاری، در تولید مواد غذایی مورد استفاده قرار نگرفته و فقط در تعدادی از مطالعات آزمایشگاهی مانند تولید مخلوط شیر-آب‌پرتقال (محمدی و همکاران، ۱۳۸۹)، سس مایونز (برزگری و همکاران، ۱۳۹۲) و ماست (Ghasempour *et al*., 2011) تاکنون استفاده شده است. این صمغ به‌عنوان عامل امولسیون‌کننده و سوسپانسیون‌کننده به همراه کتیرا و صمغ عربی در داروسازی کاربرد داشته و دارای خواص درمانی مانند تحریک اشتها می‌باشد.

هدف از مطالعه حاضر، بررسی تاثیر ریزجلبک *اسپیرولینا* و صمغ زدو بر افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی، روند پروتئولیز، زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* و سایر ویژگی‌های کیفی ماست از قبیل pH، اسیدیته و ویژگی حسی بود.

مواد و روش‌ها

پودر اسپیرولینا از شرکت ریزجلبک قشم تهیه گردید. کشت آغازگر DVS ماست تولید کریستین هانسن از شرکت پیشگامان پخش صدیق و *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* LAFTI L26 تولید شرکت DSM، از شرکت آنزیم‌های صنعتی ایران خریداری شدند. مواد شیمیایی مورد استفاده از قبیل ۱و ۱ دی‌فنیل ۲ پیکریل‌هیدرازیل (DPPH)، ارتوفتالدئید (OPA)، اتانول و ونکومایسین تولید شرکت سیگما بودند. صمغ زدو از عطاری‌های شیراز خریداری شد. پس از تخلیص صمغ (گزینش صمغ‌های روشن‌تر و در نهایت جداسازی ناخالصی‌های متصل)، توسط آسیاب پودر شده و با استفاده از الک ۱۰۰ میکرومتر، پودر صمغ بدست آمد. سایر مواد شیمیایی از قبیل مرکاپتانول، سدیم‌دودسیل‌سولفات (SDS)، سدیم بورات، سود و اسید کلریدریک ساخت شرکت مرک بودند. برای انجام آزمایش‌های خواص آنتی‌اکسیدانی و روند پروتئولیز، از اسپکتروفوتومتر(Pharmacia UV-Visible (NovaspecII, UK استفاده شد.

تهیه نمونه‌های ماست قالبی

ابتدا پودر *اسپیرولینا* همراه با صمغ زدو به مدت یک شب در ۱۰۰ لیتر شیر استریل هیدراته شدند. درصد ماده خشک بدون چربی شیر (شیر استاندارد شده ۱ درصد چربی، تهیه شده از شرکت اروم بنیان ارومیه) با استفاده از پودر شیر خشک بدون چربی در ۱۰ درصد تنظیم گردید. تیمار حرارتی شیر ماست‌سازی در ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم صورت پذیرفت. سپس شیر تا ۴۵ درجه سانتی‌گراد سرد و در ظروف پلاستیکی ریخته شده، *اسپیرولینا* به همراه زدو اضافه و سپس مطابق طرح آزمایشی، باکتری‌های مناسب تلقیح گردید. پودر *اسپیرولینا* و صمغ زدو در غلظت‌های ۰، ۰/۱۳، ۰/۲۵، ۰/۳۸ و ۰/۵ درصد استفاده گردید. مقدار کشت آغازگر ماست در همه نمونه‌ها ثابت و مطابق دستورالعمل شرکت تولید کننده باکتری بود. *لاکتوباسیلوس پاراکازئی*، مطابق طرح آماری و طبق دستورالعمل شرکت تولید کننده، در نیمی از نمونه‌های ماست اضافه گردید و سایر نمونه‌ها بدون سویه پروبیوتیک تولید شدند. بعد از تلقیح، ظروف، درب بندی و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. نگهداری نمونه‌ها در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت.

pH

pH نمونه‌های ماست در دمای اتاق با استفاده از pH متر دیجیتالی کالیبره شده با بافر تجاری pH=۴ و pH=۷ اندازه‌گیری شد. قبل از اندازه‌گیری نمونه‌ها با کمی آب مقطر همزده شدند.

اسیدیته

تقریبا ۱۰ گرم نمونه با حجم یکسان از آب، قبل از تیتراسیون رقیق شد. مقدار اسیدیته به طریق تیتر کردن با سود ۰/۱ نرمال تا pH=۸/۳±۰/۰۱ با استفاده از pH متر بدست آمد. مقدار اسیدیته قابل تیتراسیون بر اساس اسید لاکتیک، به‌عنوان اسید غالب، بر حسب گرم اسید لاکتیک بر ۱۰۰ میلی‌لیتر محصول از رابطه ۱ بدست آمد (استاندارد ملی ایران، شماره ۵۲۲۲):

رابطه (۱)

=درصد اسید لاکتیک

۱۰۰×{گرم نمونه/(۰/۰۰۹ × میلی‌لیتر سود ۰/۱ نرمال)}

شمارش *لاکتوباسیلوس پاراکازئی*

به منظور شمارش *لاکتوباسیلوس پاراکازئی*، محیط کشت MRS-agar، شرایط بی‌هوازی، دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت به‌کار برده شد. جهت افتراقی کردن محیط کشت پروبیوتیک‌ها از محلول ونکومایسین با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر استفاده شده و ۲ میلی‌لیتر از محلول فوق توسط فیلتر سر سرنگی ۰/۲۲ میکرونی به درون محیط کشت مذاب MRS-Agar استریل افزوده شد (Tharmaraj & Shah, 2003; Ashraf & Shah, 2011). برای آنالیز، ۱

میلی‌لیتر از نمونه به پپتون واتر استریل ۰/۱ درصد افزوده شد و به‌طور متوالی تا رقت‌های $۱۰^{۶}$، $۱۰^{۷}$ و $۱۰^{۸}$ رقیق و ۱ میلی‌لیتر از هر یک از این رقت‌ها به پلیت‌ها انتقال داده و به روش پورپلیت کشت داده شدند. پلیت‌های حاوی ۲۰۰-۲۰ کلنی شمارش شدند.

تهیه عصاره آبی ماست

۱۰ گرم ماست با ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر هموژنیزه گردید، pH ماست، اندازه‌گیری و توسط اسیدکلریدریک ۰/۱ نرمال در ۴ تنظیم شد. ماست اسیدی شده در حمام آب گرم ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت و سپس در ۵۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. در ادامه pH مایع رویی توسط سود ۰/۱ نرمال به ۷ رسانیده شد. مایع رویی خنثی شده، مجددا در g ۵۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد (Amirdivani & Baba, 2011).

آزمون پروتئولیز

از واکنش ارتوفتالدئید با آمین‌های اولیه (گروه عاملی پپتیدها) در حضور مرکاپتانول برای اندازه‌گیری محصولات پروتئولیز در عصاره ماست استفاده گردید. تترابورات سدیم (بوراکس؛ ۲۵ میلی‌لیتر، ۱۰۰ میلی‌مولار)، ۲/۵ میلی‌لیتر ۲۰ درصد (وزنی/وزنی) سدیم‌دودسیل‌سولفات و ۱/۱ میلی‌لیتر ارتوفتالدئید (۴۰ میلی‌گرم ارتوفتالدئید حل شده در ۱ میلی‌لیتر متانول+۱۰۰ میکرولیتر بتامرکاپتانول) با ۲۱/۴ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید. محلول تهیه شده در مقابل نور محافظت شد و در طی ۲ ساعت مورد استفاده قرار گرفت. ۵۰ میکرولیتر عصاره ماست به ۳ میلی‌لیتر افزوده شده، هم زده شد و پس از ۲ دقیقه میزان جذب در ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Amirdivani & Baba, 2011).

فعالیت آنتی‌کسیدانی

مطابق روش Amirdivani و Baba (۲۰۱۱) با کمی تغییرات انجام گرفت. ۲۵۰ میکرولیتر از عصاره آبی هر یک از نمونه‌ها به ۳ میلی‌لیتر محلول ۶۰ میکرومولار ۱ و ۱-دی‌فنیل ۲پیکریل‌هیدرازیل بر لیتر اتانول اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد و نهایتاً کاهش در میزان جذب در ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری و درصد بازداری اکسیداسیون رادیکال ۱ و ۱-دی‌فنیل ۲-پیکریل‌هیدرازیل از رابطه ۲ محاسبه گردید:

رابطه (۲)

=درصد بازداری

۱۰۰×{جذب کنترل/(جذب نمونه- جذب کنترل)}

مقبولیت حسی

در این پژوهش از ۱۲ ارزیاب حسی آشنا به طعم، بو، بافت محصولات لبنی تخمیری استفاده شد. آزمون مقبولیت حسی به روش مقیاس خطی انجام گردید. در این روش از یک پاره خط ۱۵ سانتی‌متری که طول آن برای ارزیابان مجهول بود، با توجه به طعم دهانی، بو و بافت محصول جهت پذیرش کلی مطلوبیت محصول استفاده گردید که در طرفین خط مقیاس بسیار عالی و بسیار ضعیف مشخص شده بود (Moskowitz *et al*., 2012).

طرح و آنالیز آماری

۲۰ تیمار ماست طبق طرح مرکب مرکزی (CCD[1]) با چهار متغیر ارزیابی شد. متغیرهای مستقل شامل غلظت‌های مختلف *اسپیرولینا* و زدو، وجود یا عدم وجود پروبیوتیک و زمان نگهداری بود. مقادیر حقیقی فاکتورها به‌ترتیب برای *اسپیرولینا* و زدو ۰، ۰/۱۳ و ۰/۲۵، ۰/۳۸ و ۰/۵ درصد، نمونه‌های بدون پروبیوتیک و نمونه‌های حاوی پروبیوتیک (با مقدار مطابق دستوالعمل شرکت سازنده) و روزهای نگهداری ۱، ۶، ۱۱ و ۲۱ است. محدوده کاربرد *اسپیرولینا* بر اساس سابقه تحقیق و آزمایش‌های اولیه (توام با میزان صمغ) بدست آمد و مقادیر صمغ زدو در پیش‌تیمارها در محدوده ۱-۰ درصد بود و بر اساس نتایج مقادیر ۰/۵-۰ درصد انتخاب گردید. آنالیز رگرسیون با مدل درجه دوم مطابق رابطه ۳ انجام گرفت:

رابطه (۳)

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i x_i + \sum \beta_{ii} x_i^2 + \sum \beta_{ij} x_i x_j$$

1- Central Composite Design

Y= پاسخ پیش‌بینی شده، β_0= ثابت، β_i= ضریب خطی، β_{ii}= ضریب توان دوم و β_{ij}= ضریب برهمکنش می‌باشند. داده‌های تجربی با معادلات سطح پاسخ تطبیق داده شدند و آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار آماری SAS 9.2 انجام گرفت.

نتایج و بحث

اسیدیته و pH

زمان نگهداری و مقدار *اسپیرولینا* عوامل تاثیرگذار بر مقدار اسیدیته ماست بودند. کشت آغازگر ماست در دمای یخچالی نیز فعال می‌باشد و بنابراین باعث تولید اسید لاکتیک در مدت زمان نگهداری ماست می‌شود (Ghasempour *et al*., 2011).

اثر متقابل زمان نگهداری-پروبیوتیک نیز تأثیر معنی‌داری بر مقدار اسیدیته داشت. اسیدیته، در انتهای زمان انکوباسیون و در اوایل دوره نگهداری در نمونه‌های حاوی پروبیوتیک بیشتر بود. چون پروبیوتیک‌ها نیز تولیدکننده‌های کند اسید می‌باشند (Donkor *et al*., 2006) اما افزایش اسیدیته در نمونه‌های پروبیوتیکی در طی دوره نگهداری کمتر بود (شکل ۱). این یافته با گزارش Kailasapathy (۲۰۰۶) و Ghasempour و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت دارد. طبق نتایج آن‌ها، تولید اسید در طی نگهداری در نمونه‌های حاوی پروبیوتیک کمتر از نمونه‌های بدون پروبیوتیک بود. دلیل این امر را به زنده‌مانی و مکانیسم رقابتی بین پروبیوتیک و کشت آغازگر و در نتیجه کاهش رشد *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* نسبت داده‌اند.

با افزایش مقدار *اسپیرولینا* تا مقدار ۰/۳ درصد، میزان اسیدیته افزایش و بعد از آن کاهش یافت (شکل ۲). با افزایش مقدار *اسپیرولینا*، کاهش مقدار تولید اسید و pH بالاتر را می‌توان به رشد زیاد پروبیوتیک در غلظت‌های بالای *اسپیرولینا* نسبت به غلظت‌های پایین‌تر و تاثیر رقابتی پروبیوتیک‌ها بر رشد *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس*، تولید کننده اصلی اسید در ماست نسبت داد (Guler-Akin &Akin, 2007).

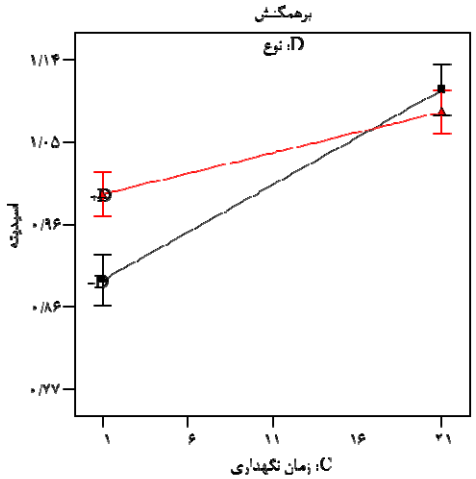
زنده‌مانی پروبیوتیک

بررسی آماری نشان داد که *اسپیرولینا*، مدت زمان نگهداری، برهمکنش عوامل مطالعه شده و همچنین برهمکنش *اسپیرولینا*-زدو (شکل ۳) و زمان نگهداری زدو بر روی زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* مؤثر بودند (P<۰/۰۵). پودر خشک *اسپیرولینا پلاتنسیس* با داشتن ترکیباتی نظیر ۶۵ درصد پروتئین، ویتامین‌های ب، آ، کا و گامالینولنیک اسید و ریزمغذی‌هایی نظیر اسیدهای آمینه آزاد، باعث تحریک رشد و تولید اسید توسط لاکتیک اسید باکتری‌ها می‌شود (Varga *et al*., 1999; Gyenis *et al*., 2005; Molnár *et al*., 2009) از این‌رو، بیومس خشک جلبک در فراورده‌های لبنی یک پری‌بیوتیک به شمار می‌رود (Parada *et al*., 1998).

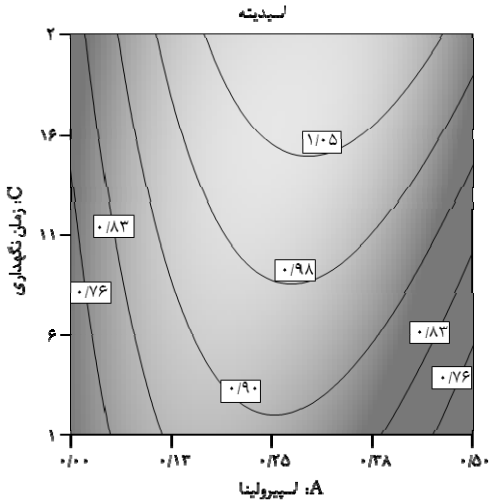
این میزان افزایش رشد لاکتیک اسید باکتری‌ها احتمالاً مربوط به آدنین، هیپوگزانتین و سایر اسیدهای آمینه آزاد می‌باشد (Webb, 1982; Beheshtipour *et al*., 2013). *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* از اعضای خانواده لاکتیک‌اسید باکتری‌ها است که نسبت به سایر اعضا، خواص پروتئولیتیکی بیشتری داشته (Donkor *et al*., 2007) و نمک‌های صفراوی و اسید معده را به خوبی تحمل می‌کند (Madureira *et al*., 2008; Paturi *et al*., 2007). Bhowmik و همکاران (۲۰۰۹) گزارش نمودند که با افزودن ۱۰-۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر *اسپیرولینا پلاتنسیس*، ماندگاری *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* به 10^{7}-10^{9} کلنی در میلی‌لیتر یا گرم رسیده است.

تاکنون مطالعه‌ای در زمینه پایش رشد *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* در ماست‌های حاوی ریزجلبک/ هیدروکلوئیدها صورت نگرفته است. صمغ زدو به تنهایی تاثیری بر رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* ندارد (Ghasempour *et al*., 2011).

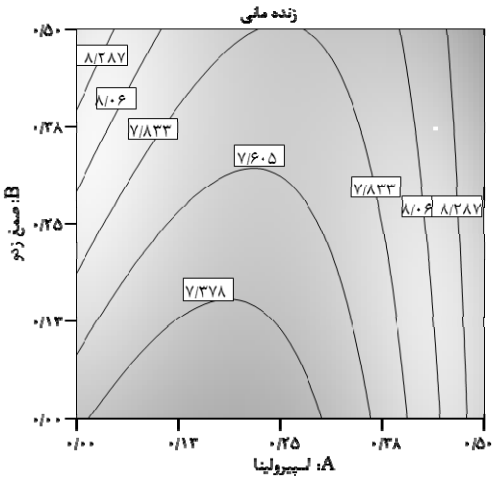
با توجه به رویه پاسخ (شکل ۳) بیشینه ماندگاری پروبیوتیک (10^{8} کلنی در میلی‌لیتر یا گرم) در ۰/۵-۰/۳۵ درصد *اسپیرولینا* و صمغ زدو ۰/۲۵ درصد مشاهده شد که از نتایج مطالعه Bhowmik و همکاران (۲۰۰۹) بیشتر است و این امر مؤید تاثیر سینرژیستی احتمالی ترکیبات الیگوساکاریدی صمغ زدو و ریزجلبک بر روی زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* است.



شکل ۱- تاثیر متقابل زمان نگهداری و وجود پروبیوتیک بر میزان تولید اسید در ماست (علامت+ نشانه وجود پروبیوتیک و علامت – نشانه عدم وجود پروبیوتیک در نمونه‌ها می‌باشد)



شکل ۲- تاثیر متقابل زمان نگهداری و مقادیر مختلف *اسپیرولینا* بر میزان تولید اسید در ماست



شکل ۳- تاثیر همزمان صمغ زدو و اسپیرولینا بر روی زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس پاراکازئی*

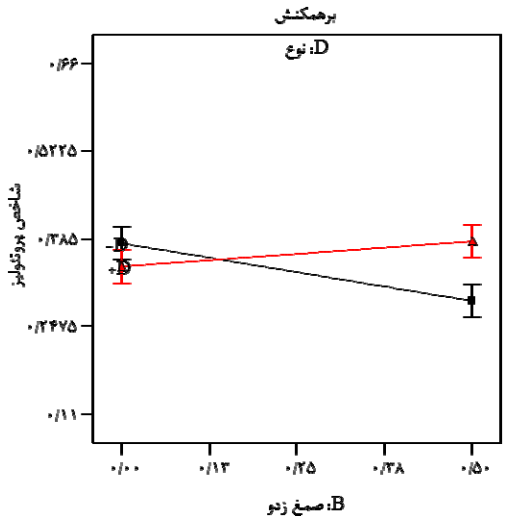
پروتئولیز

در تخمیر شیر و در طی واکنش پروتئولیز توسط آنزیم‌های پروتئیناز و آمینوپپتیداز لاکتیک اسید باکتری‌ها، پپتیدهای زیست فعال تولید می‌شوند. این پپتیدها دارای عملکردهای متنوعی نظیر خواص آنتی‌اکسیدانی، تنظیم ایمنی بدن، خواص ضدمیکروبی و مهار فشار خون (مهار آنزیم ACE) می‌باشند. عمدتاً توالی حاوی پروتئین در N ترمینال در این میان نقش عمده‌تری دارند. Pan و همکاران (۲۰۰۵) دریافتند که استفاده توأمان از لاکتیک اسید باکتری‌ها و پروبیوتیک‌ها باعث پروتئولیز گسترده و تولید پپتیدهای متنوع با طیف عمل وسیع می‌شود (Gobbetti *et al*., 2002). مشخص شده است که سنجش میزان گروه‌های آمین آزاد شده توسط معرف ارتوفتالدئید، مبین میزان پروتئولیز و الگوی عمل پپتیدازی در ماست است (Church *et al*., 1983).

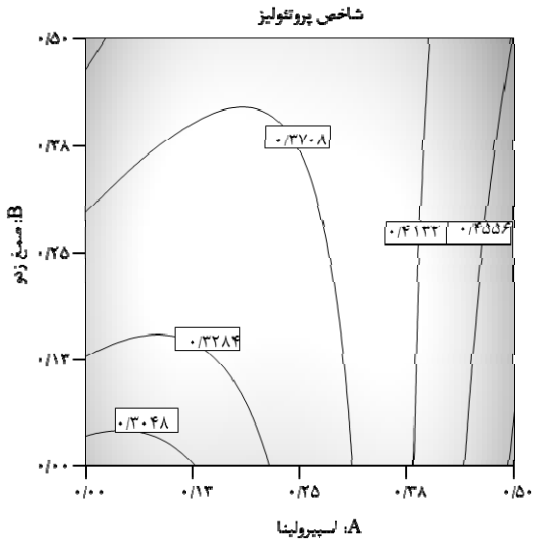
بررسی تمام عوامل مورد مطالعه و برهمکنش زدو زمان نگهداری، زدو-*اسپیرولینا* و زدو-پروبیوتیک بر روی شاخص میزان پروتئولیز در ماست مؤثر بوده‌اند ($P<۰/۰۵$). همچنین در تمامی تیمارها با گذشت زمان، میزان پروتئولیز افزایش می‌یابد که این نتایج مشابه نتایج Donkor و همکاران (۲۰۰۷) در ماست پروبیوتیک حاوی سویا می‌باشد. مطابق شکل ۴، زدو روی پروتئولیز تأثیر فزاینده دارد. این امر احتمالاً به‌علت دارا بودن توالی‌های محرک رشد *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* در این صمغ می‌باشد. همچنین میزان پروتئولیز ماندگاری پروبیوتیک‌ها را افزایش می‌دهد (Donkor *et al*., 2007).

Donkor و همکاران (۲۰۰۶ و ۲۰۰۷) فعالیت پروتئازی پروبیوتیک (L 26) را بیشتر از کشت آغازگر ماست گزارش نمودند، ولی نتایج Shihata و Shah (۲۰۰۰) نشان داد که فعالیت پروتئولیتیکی کشت آغازگر ماست از سویه‌های پروبیوتیک نظیر (زیرگونه‌های *بیفیدوباکترها* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*) بیشتر بود که مطابق شکل ۵، نتایج این پژوهش در نمونه‌های حاوی پروبیوتیک با نتایج Donkor و همکاران (۲۰۰۶ و ۲۰۰۷) سازگار است. علت این امر را به مصرف بهتر ریزمغذی‌های *اسپیرولینا پلاتنسیس* توسط *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* و زنده‌مانی بالا در مقادیر زیاد *اسپیرولینا* و قدرت پروتئولیتیک این سویه می‌توان نسبت داد. Parada و همکاران (۱۹۹۸) گزارش کردند که مصرف *اسپیرولینا پلاتنسیس* در فراورده‌های تخمیری، دارای اثر پری‌بیوتیکی است و باعث تحریک رشد لاکتیک اسید باکتری‌ها می‌شود. نتایج پژوهش حاضر و نتایج Akalin و همکاران (۲۰۰۹) (در مقدار ۰/۳ درصد *اسپیرولینا*) نیز نشانگر افزایش جمعیت پروبیوتیک‌ها در ماست‌های حاوی *اسپیرولینا پلاتنسیس* است.

بنابراین می‌توان چنین استنباط نمود که مصرف فراورده‌های پروبیوتیک که حاوی *اسپیرولینا* بوده، احتمالاً باعث افزایش تولید پپتیدهای عملگرا و اسیدهای آمینه آزاد شده و متعاقبا خواص سلامت بخشی ماست را بهبود می‌بخشند.



شکل ۴- تاثیر صمغ زدو در انواع ماست (پروبیوتیک/ساده) بر روند پروتئولیز



شکل ۵- تاثیر همزمان صمغ زدو و اسپیرولینا بر روند پروتئولیز در نمونه‌های حاوی پروبیوتیک

خواص آنتی‌اکسیدانی

امروزه از روش‌های مهار آنزیمی (SOD peroxidase) یا مهار رادیکال‌های آزاد (DPPH یا FRAP یا ABTS) برای تخمین خواص آنتی‌اکسیدانی در محلول‌های زیستی استفاده می‌شود. استفاده از محلول‌های ۱و ۱-دی‌فنیل ۲-پیکریل‌هیدرازیل از رایج‌ترین روش‌های ارزیابی محتوای آنتی‌اکسیدانی است که به علت سهولت و تطابق بالا کاربرد روزافزونی یافته است (Mishra *et al*., 2012).

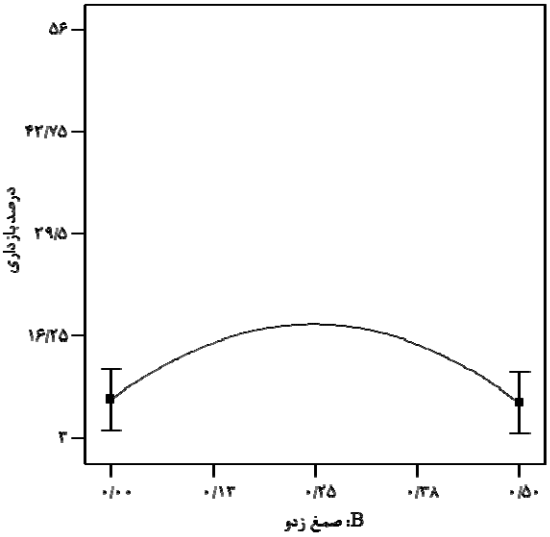
طبق نتایج پژوهش حاضر، بیشینه خواص آنتی‌اکسیدانی در ۰/۵ درصد اسپیرولینا و در ابتدای دوره نگهداری یخچالی بود و در طی دوران نگهداری، میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های ماست کاهش یافت (شکل ۷). تحقیقات Romay و همکاران (۱۹۹۸) نشان داد که C– فیکوسیانین‌های (رنگدانه غالب در *اسپیرولینا*) *اسپیرولینا پلاتنسیس* دارای خواص مهار انواع رادیکال‌های آزاد مضر از قبیل آلکوکسی، هیدروکسی و پراکسید بوده و با گذر زمان خاصیت مهار در آن‌ها کاهش می‌یابد. همچنین مشخص شد که صمغ زدو تا ۰/۲۵ درصد دارای اثر آنتی‌اکسیدانی بوده، ولی در مصارف بالاتر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن کاهش می‌یابد (شکل ۶)، علت این امر را می‌توان به اثر تحریک‌کنندگی صمغ زدو روی رشد پروبیوتیک‌ها نسبت داد. از سویی نتایج رویه پاسخ ۷ آشکار ساخت که خواص آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های ماست بدون پروبیوتیک بیشتر از ماست‌های پروبیوتیک است که احتمالاً این امر به‌دلیل خاصیت پروتئولیتیکی سویه *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* و در نتیجه تخریب رنگدانه پروتئینی فیکوسیانین می‌باشد.

مقبولیت حسی

تجزیه واریانس نتایج نشان داد که میزان *اسپیرولینا*، زمان نگهداری و برهمکنش *اسپیرولینا*-زدو روی ارزیابی حسی ماست‌های تولیدی مؤثر بوده‌اند (P<۰/۰۵) ولی هیچ تفاوتی در میان نمونه‌های پروبیوتیک و غیرپروبیوتیک مشاهده نگردید (P>۰/۰۵).

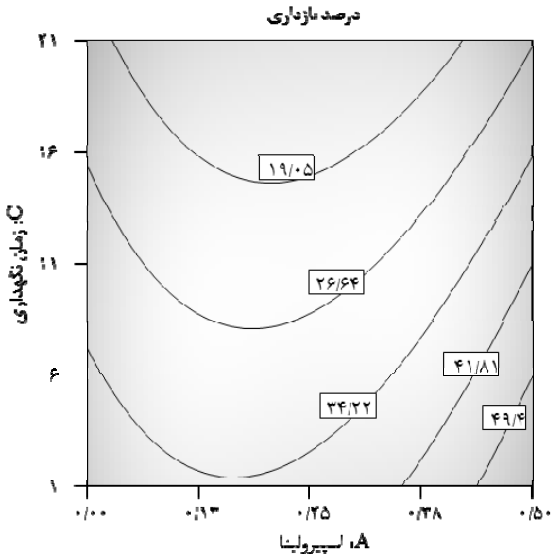
یکی از معایب کاربردهای ریزجلبک‌ها (*کلرلا ولگاریس* و *اسپیرولینا پلاتنسیس*) در فراورده‌های غذایی ایجاد ظاهر نامطلوب (تغییر رنگ در طیف‌های سبز و آبی) می‌باشد (Beheshtipour *et al*., 2013)، از این رو بهینه‌سازی کاربرد ریزجلبک‌ها با توجه به مزایا و نقیصه فوق یک ضرورت به شمار می‌رود.

بررسی آنالیزها هم‌چنین آشکار ساخت که تأثیر برهمکنش *اسپیرولینا* با زدو بر روی مقبولیت کلی، مثبت می‌باشد که مطابق رویه پاسخ ۸ بیشینه نمره حسی در میزان ۰/۲۵ درصد زدو و ۰/۱ درصد *اسپیرولینا* بود. میزان مقبولیت حسی ماست‌ها نیز با گذر زمان تنها ۲ واحدکاهش یافت که احتمالا مربوط به تجمع متابولیت تخمیری پروبیوتیک‌ها نظیر اسید استیک و پراکسید هیدروژن می‌باشد (Beheshtipour *et al*., 2013).

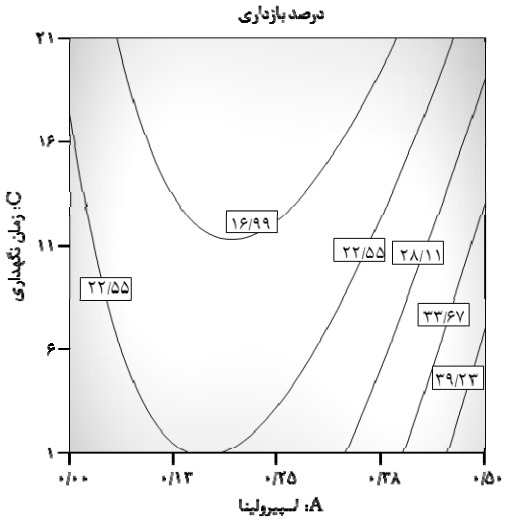


شکل ۶- بررسی اثر صمغ زدو بر روی خواص آنتی‌اکسیدانی

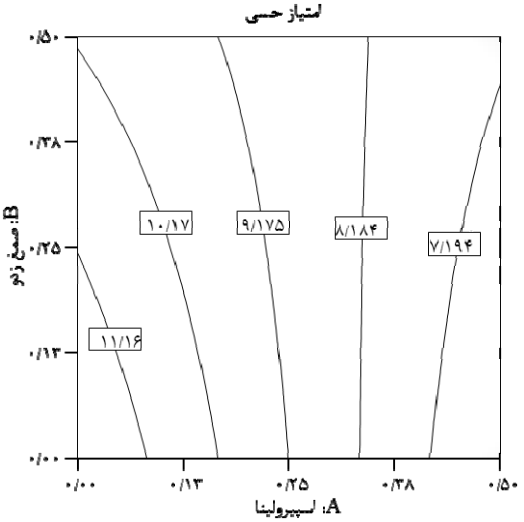
الف



ب



شکل ۷-بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی در انواع ماست (الف)ساده (ب) پروبیوتیک در گذر زمان



شکل ۸- رویه پاسخ اثر توامان صمغ زدو و *اسپیرولینا* بر مقبولیت حسی نمونه‌های ماست

مطالعات Molnar و همکاران (۲۰۰۹) در ماست کم‌چرب، نشان داد که بیشینه امتیاز حسی در افزودن ۰/۳ درصد پودر جلبک *اسپیرولینا* به‌همراه ۱/۵ درصد مخلوط کیوی-توت فرنگی و ۱۰ درصد قند حاصل می‌شود؛ Beheshtipour و همکاران (۲۰۱۳) افزودن پوره‌های میوه و الیگوساکاریدها را برای پوشاندن طعم *اسپیرولینا پلاتنسیس* پیشنهاد کرده‌اند. آنها با استفاده از ۹ ارزیاب حسی آموزش دیده، معیار حسی را در ماست‌های پروبیوتیک غنی شده با *کلرلا ولگاریس* و *اسپیرولینا پلاتنسیس* سنجیده و نهایتا کم‌ترین امتیاز حسی را در کاربرد ۱ درصد *اسپیرولینا پلاتنسیس* گزارش نمودند. ولی در نتایج پژوهش حاضر مطابق رویه پاسخ ۸ کمترین نمرات حسی در محدوده کاربرد ۰/۵- ۰/۴ درصد پودر *اسپیرولینا* مشاهده گردید. مطابق تجزیه واریانس، تأثیر پروبیوتیک بر خواص حسی معنی‌دار نبود.

همچنین Beheshtipour و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که افزایش میزان ریزجلبک از ۰/۵ درصد باعث ایجاد حالت شنی و کلوخه‌ای می‌گردد. آنها تفاوت معنی‌داری در میزان ارزش حسی تیمارهای ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد مشاهده نکردند. در ماست‌های تولیدی در این پژوهش، هیچ‌گونه کلوخه شدگی ذرات *اسپیرولینا پلاتنسیس* به‌علت کاربرد صمغ زدو مشاهده نگردید و میانگین نمرات حسی تیمارها ۹/۰۴ از ۱۵ بود. بررسی نهایی مقبولیت حسی ماست‌های سین‌بیوتیک حاصل نشان داد که کاربرد هیدروکلوئیدها نظیر صمغ زدو باعث افزایش میزان امتیاز حسی می‌گردد. همچنین سیمبیوزیس سویه‌های پروبیوتیک و کشت آغازگر نیز هیچ‌گونه تأثیر منفی بر مقبولیت حسی ماست‌ها نداشته است.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج بدست آمده در این مطالعه، ریزجلبک *اسپیرولینا* باعث ایجاد خواص آنتی‌اکسیدانی و بهبود رشد باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* گردید. *اسپیرولینا* با داشتن مقادیر زیادی پروتئین با کیفیت بالا نظیر اسیدهای آمینه ضروری با ضریب هضم بالا، رنگدانه‌هایی از قبیل کاروتنوئیدها و فیکوسیانین، ویتامین‌ها و مواد معدنی از قبیل کلسیم و آهن باعث تحریک رشد و تولید اسید توسط لاکتیک‌اسیدباکتری‌ها می‌شود. خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسپیرولینا عمدتا به فیکوسیانین، بتاکاروتن و ترکیبات فنولی نسبت داده می‌شود. بنابراین می‌توان چنین استنباط نمود که بیومس خشک جلبک در فراورده‌های لبنی حاوی *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* یک پری‌بیوتیک به‌شمار می‌رود و مصرف فراورده‌های پروبیوتیک که حاوی *اسپیرولینا* بوده می‌تواند خواص سلامت بخشی ماست را بهبود ببخشد.

منابع

۱. برزگری، م. رفتنی امیری، ز. محمدزاده میلانی، ج. و معتمدزادگان، ع. ۱۳۹۲. بررسی تأثیر جایگزینی کربوکسی‌متیل‌سلولز با صمغ فارسی بر خواص کیفی سس مایونز. نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، ۴: ۳۹۲-۳۸۱.

۲. صالحی فر، م. شهبازی زاده، س. خسروی دارانی، ک. بهمدی، ه. و فردوسی، ر. ۱۳۹۱. بررسی امکان استفاده از پودر ریزجلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* در تولید کلوچه صنعتی. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۴: ۷۲-۶۳.

۳. محمدی، س. عباسی، س. و حمیدی، ز. ۱۳۸۹. تاثیر برخی هیدروکلوئیدها بر پایداری فیزیکی، ویژگی‌های رئولوژیکی و حسی مخلوط شیر- آب‌پرتقال. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۴: ۱۲-۱.

۴. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. ۱۳۷۸. ماست- آزمون اندازه‌گیری اسیدیته کل قابل عیارسنجی به روش پتانسیومتری، شماره ۵۲۲۲.

5. Akalin, A. S., ÜnaL, G. & Dalay, M. C. 2009. Influence of *Spirulina platensis* biomass on microbiological viability in traditional and probiotic yogurts during refrigerated storage. Italian Journal of Food Science, 21: 357-364.

6. 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: 1458-1464.

7. Ashraf, R. & Shah, N. P. 2011. Selective and differential enumerations of *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium*, spp. in yoghurt—a review. International Journal of Food Microbiology, 149: 194-208.

8. Batista, A. P., Gouveia, L.,Bandarra, N. M., Franco, J. M. & Raymundo, A. 2013. Comparison of microalgal biomass profiles as novel functional ingredient for food products. Algal Research, 2: 164–173.

9. Beheshtipour, H., Haratian, P., Mortazavian, A. M. & Khosravi-Darani, K. 2012. Effects of *Chlorella vulgaris* and *Arthrospira platensis* addition on viability of probiotic bacteria in yogurt and its biochemical properties. European Food Research and Technology, 235: 1-10.

10. Beheshtipour, H., Mortazavian, A. M., Mohammadi, R., Sohrabvandi, S. & Khosravi-Darani, K. 2013. Supplementation of *Spirulina platensis* and *Chlorella vulgaris* algae into probiotic fermented milks. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 12: 144-154.

11. Bhowmik, D., Dubey, J. & Mehra, S. 2009. Probiotic efficiency of *Spirulina platensis*–stimulating growth of lactic acid bacteria. World Journal of Dairy and Food Sciences, 4: 160-163.

12. Church, F. C., Swaisgood, H. E., Porter, D. H. & Catignani, G. L. 1983. Spectrophotometric assay using o-phthaldialdehyde for determination of proteolysis in milk and isolated milk proteins. Journal of Dairy Science, 66: 1219-1227.

13. Donkor, O. N., Henriksson, A.,Vasiljevic, T. & Shah, N. P. 2006. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. International Dairy Journal, 16: 1181–1189.

14. Donkor, O. N., Henriksson, A., Vasiljevic, T. & Shah, N. P. 2007. Proteolytic activity of dairy Lactic Acid Bacteria and probiotics as determinant of viability and in vitro angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in fermented milk. Le Lait, 87: 21-38.

15. Fadaei, V., Mohamadi-Alasti, F. & Khosravi-Darani, K. 2013. Influence of *Spirulina platensis* powder on the starter culture viability in probiotic yoghurt containing spinach during cold storage. European Journal of Experimental Biology, 3: 389-393.

16. Fradique, M., Batista, A. P., Nunes, M. C., Gouveia, L., Bandarra, N. M. & Raymundo, A. 2010. Incorporation of *Chlorella vulgaris* and *Spirulina maxima* biomass in pasta products. Part 1: Preparation and evaluation. Journal of the Science of Food and Agriculture, 90: 1656–1664.

17. Ghasempour, Z., Alizadeh, M. & Rezazad Bari, M. 2011. Optimisation of probiotic yoghurt production containing Zedo gum. International Journal of Dairy Technology, 64: 1-8.

18. Gobbetti, M., Stepaniak, L., De Angelis, M., Corsetti, A. & Di Cagno, R. 2002. Latent bioactive peptides in milk proteins: proteolytic activation and significance in dairy processing. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 42: 223-239.

19. Guldas, M., & Irkin, R. 2010. Microflora of yoghurt and acidophilus milk. Mljekarstvo, 60: 237-243.

20. Guler-Akin, M. B. & Akin, M. S. 2007. Effects of cysteine and different incubation temperatures on the microflora, chemical composition and sensory characteristics of bio yogurt made from goats milk. Food Chemistry, 100: 788–793.

21. Gupta, M., Dwivedi, U. N. & Khandelwal, S. 2011. C-Phycocyanin: An effective protective agent against thymic atrophy by tributyltin. Toxicology Letters, 204: 2–11.

22. Gyenis, B., Szigeti, J., Molnar, N. & Varga, L. 2005. Use of dried microalgal biomasses to stimulate acid production and growth of *Lactobacillus plantarum* and *Enterococcus faecium* in milk. Acta Agraria Kaposváriensis, 9: 53-9.

23. Kailasapathy, K. 2006. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. LWT-Food Science and Technology, 39: 1221–1227.

24. Madureira, A. R., Soares, J. C., Pintado, M. E., Gomes, A. M. P., Freitas, A. C. & Malcata, F.X. 2008. Sweet whey cheese matrices inoculated with the probiotic strain *Lactobacillus paracasei* LAFTI L26. Dairy Science and Technology, 88: 649–665.

25. Mishra, K., Ojha, H. & Chaudhury, N. K. 2012. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: a critical review and results. Food Chemistry, 130: 1036-1043.

26. Molnár, N., Sipos-Kozma, Z., Tóth, Á., Ásványi, B. & Varga, L. 2009. Development of functional dairy food enriched in spirulina (*Arthrospiraplatensis*). Tejgazdaság, 69: 15-22.

27. Moskowitz, H. R., Beckley, J. H. & Resurreccion, A. V. 2012. Sensory and consumer research in food product design and development. John Wiley & Sons, New York.

28. Pan, D., Luo, Y. & Tanokura, M. 2005. Antihypertensive peptides from skimmed milk hydrolysate digested by cell-free extract of *Lactobacillus helveticus* JCM1004. Food Chemistry, 91: 123-129.

29. Parada, J. L., Zulpa de Caire, G., Zaccaro de Mulé, M. C. & Storni de Cano, M. M. 1998. Lactic acid bacteria growth promoters from *Spirulina platensis*. International Journal of Food Microbiology, 45: 225-228.

30. Paturi, G., Phillips, M., Jones, M. & Kailasapathy, K. 2007. Immune enhancing effects of *Lactobacillus acidophilus* LAFTI L10 and *Lactobacillus paracasei* LAFTI L26 in mice. International Journal of Food Microbiology, 115: 115–118.

31. Romano, I., Bellitti, M. R., Nicolaus, B., Lama, L., Manca, M. C., Pagnotta, E. & Gambacorta, A. 2000. Lipid profile: a useful chemotaxonomic marker for classification of a new cyanobacterium in *Spirulina* genus. Phytochemistry, 54: 289-294.

32. Romay, C. H., Armesto, J., Remirez, D., González, R., Ledon, N. & García, I. 1998. Antioxidant and anti-inflammatory properties of C-phycocyanin from blue-green algae. Inflammation Research, 47: 36-41.

33. Shah, N. P. 2000. Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. Journal of Dairy Science, 83:894–907.

34. Shah, N. P. 2007. Functional cultures and health benefits; a review. International Dairy Journal, 17: 1262–1277.

35. Shihata, A. & Shah, N. P. 2000. Proteolytic profile of yoghurt and probiotic bacteria. International Dairy Journal, 10: 401-408.

36. Tharmaraj, N. & Shah, N. P., 2003. Selective enumeration of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, Bifidobacteria, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus* and Propionibacteria. Journal of Dairy Science, 86: 2288–2296.

37. Varga, L., Szigeti, J. & Ordog, V. 1999. Effect of a *Spirulina platensis* biomass enriched with trace elements on combinations of starter culture strains employed in the dairy industry. Milchwissenschaft, 54: 247-248.

38. Varga, L., Szigeti, J. Kovacs, R., Földes, T., & Buti, S. 2002. Influence of *Spirulina platens*is biomass on the microflora of fermented abt milks during storage (R1). Journal of Dairy Science, 85: 1031-1038.

39. Webb, L. E. 1982. Detection by Warburg manometry of compounds stimulatory to lactic acid bacteria. Journal of Dairy Research, 49:479-486.

.

Investigating the effects of microalgae *Spirulina platensis* and Zedo gum on probiotic yogurt

Rasoul Zarrin[1], Zahra Ghasempour[2], Mahmoud Rezazad Bari[3], Mohammad Alizadeh[3], Ehsan Moghaddas Kia[2]

1. Assistant Professor, Department of Nutrition, Medical Faculty, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran
2. PhD Student, Food Process Engineering, Department of Food science & Technology, Agricultural Faculty, Urmia University, Urmia , Iran

* Corresponding author (ghasempourz@yahoo.com)

3. Associate Professor, Department of Food science & Technology, Agricultural Faculty, Urmia University, Urmia, Iran

Abstract

The effects of incorporated Spirulina platensis (0-0.5 %) and Zedo gum (0-0.5 %) during storage time (1-21 days) on different manufactured yogurt types (plain/probiotic) through 20 treatments using Central Composite Design were investigated. Qualitative indices like pH, titrable acidity, probiotic viability evaluation by MRS agar medium including vancomycin, antioxidative capacity by 1, 1diphenyl 2 picryl hydrazyl radical inhibition assay, proteolysis pattern by o-Phthalaldehyde assay and overall sensory acceptance by linear scale method were evaluated. Statistical analysis and modeling revealed that incorporated Spirulina amount and storage time had significant effect on the pH and acidity ($P<0.05$). Regarding Lactobacillus paracasei viability, it was affected significantly by microalgae amount, storage time and interaction of gum-Spirulina amount. Also all studied variables had significant effect on proteolysis index ($P<0.05$) which might be related to Spirulina's stimulant effect on the proliferation of yogurt starters and probiotic strain. Statistical analysis showed antioxidative properties of Spirulina platensis and Zedo gum in yogurt samples. The highest sensory score was obtained at 0.1 % Spirulina and 0.25 % Zedo gum which indicated a positive role of Zedo gum in the application of microalgae from sensory aspects.

Keywords: Antioxidant properties, Probiotic yogurt, Proteolysis, *Spirulina platensis*, Zedo gum