

## قابلیت زیستی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در پنیر سفید فراپالایش سین بیوتیک حاوی پودر پونه کوهی و اسپیرولینا پلاتنسیس

صدیقه مزینانی<sup>1</sup>، وحیبه فدائی نوغانی<sup>2</sup>، کیانوش خسروی دارانی<sup>3</sup>

1- دانش آموخته کارشناسی ارشد، مهندسی کشاورزی - علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهر قدس، تهران، ایران  
2- نویسنده مسئول: استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهر قدس، تهران، ایران. پست الکترونیک: vn.fadaei@gmail.com  
3- دانشیار گروه تحقیقات علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: 93/3/2

تاریخ پذیرش: 93/6/16

### چکیده

**سابقه و هدف:** غنی‌سازی مواد غذایی منجر به افزایش سطح سلامت فرد و جامعه می‌شوند. در این تحقیق ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس به دلیل محتوای کامل غذایی در غنی‌سازی پنیر سفید فراپالایش با هدف بررسی اثر آن بر زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس استفاده شد. پونه کوهی با توجه به خواص درمانی، ضد میکروبی و ضد اکسایشی و به عنوان طعم دهنده در تولید این پنیر مورد استفاده قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها:** ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس در مراحل اولیه تولید و در غلظت‌های 0/3، 0/5، 0/8 درصد وزنی به پنیر اضافه شد. افزودن اسپیرولینا بر قابلیت‌زیستی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در پنیر فراپالایش پروبیوتیک حاوی 0/5 و 1% پونه کوهی مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌برداری در روزهای یکم، پانزدهم، سی‌ام و چهل و پنجم از نمونه‌های نگهداری شده در دمای 4°C انجام شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد با افزودن پودر توده زیستی اسپیرولینا پلاتنسیس در نمونه‌های پنیر حاوی پودر پونه کوهی، قابلیت زیستی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در طول مدت نگهداری به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). اثر افزودن 0/8% پودر اسپیرولینا بر قابلیت زیستی باکتری پروبیوتیک در مقایسه با مقدار 0/3 و 0/5% بالاتر بود. بعد از روز چهل و پنج روز نگهداری در دمای 4°C تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در تمام نمونه‌های پنیر در محدوده توصیه شده برای ایجاد اثرات مفید در سلامتی انسان بود. ارزیابی حسی برای تمامی نمونه‌های پنیر انجام گرفت، امتیاز حسی افزودن 0/3% پودر اسپیرولینا به نمونه‌های پنیر در هر دو سطح پونه کوهی (0/5 و 1%) بهتر از دو سطح دیگر 0/5 و 0/8% بود.

**نتیجه‌گیری:** این مطالعه با در نظر گرفتن خواص سلامت بخش و تغذیه‌ای ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس و اثرات مطلوب آن بر قابلیت زیستی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در غنی‌سازی پنیر فراپالایش مورد استفاده قرار گرفت و با افزودن پودر پونه کوهی در هر دو سطح 0/5 و 1% در نمونه‌های پنیر حاوی پودر ریز جلبک، نگرانی کاهش پذیرش حسی این محصول برطرف گردید.

**واژگان کلیدی:** اسپیرولینا پلاتنسیس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، پونه کوهی، پنیر فراپالایش، پروبیوتیک

### • مقدمه

بی‌شماری را باعث می‌گردند (2). غذای حاوی پروبیوتیک‌ها باید در مقادیر بیشتر از 100 گرم در روز به طور مستمر مصرف شوند تا اثرات مثبتی (3) نظیر اثرات گوارشی (تسکین، کمک به بازتوانی پس از ابتلا به اسهال روتاویروس، اسهال مسافرتی و اسهال‌های پس از مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها)، درمان سندروم روده تحریک‌پذیر، ورم مخاط روده بزرگ و

امروزه اکثر مصرف‌کنندگان علاوه بر توجه به ایمنی و ارزش تغذیه‌ای غذا به تأثیر سلامت‌بخشی آن نیز علاقه‌مند هستند. این خصوصیات در غذاهای فراسودمند که شامل پروبیوتیک‌ها نیز هستند یافت می‌شود (1). پروبیوتیک‌ها، ریزسازواره‌های زنده‌ای هستند که در پی مصرف تعداد مشخص و قرار گرفتن آن‌ها در کلون فواید سلامت بخشی

اسپیروولینا پلاننسیس و پذیرش آن در بین مصرف کنندگان وجود داشت از پودر پونه کوهی به منظور بهبود و ایجاد طعم مطلوب مورد استفاده قرار گرفت.

تاکنون بررسی‌های مختلفی از اثر پودر اسپیرولینا پلاننسیس بر فلور میکروبی فراورده‌های مختلف مواد غذایی صورت گرفته است از نمونه‌های این تحقیقات صورت گرفته می‌توان به: 1- اثر اسپیرولینا پلاننسیس بر رشد و تولید اسید در باکتری لاکتوکوکوس و لاکونوستوک در شیر (14)، 2- اثر اسپیرولینا بر فلور میکروبی ماست و شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (15)، تأثیر توده زیستی اسپیرولینا بر آغازگر ماست و بیفیدوباکتریوم انیمالیس (16)، 3- اثر تحریک‌کنندگی ریز جلبک اسپیرولینا بر سه باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و استریپتوکوکوس ترموفیلوس در محیط کشت (17)، 4- قابلیت زیستی آغازگر در محیط کشت (18)، 5- رشد باکتری‌های لاکتیک در شیر حاوی اسپیرولینا پلاننسیس (5)، 6- اثر پودر کلرلا وولگاریس و اسپیرولینا پلاننسیس بر قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها و ویژگی‌های بیوشیمیایی ماست پروبیوتیک (19) اشاره کرد. اخیراً جنبه‌های سلامتی بخش درمانی و تغذیه‌ای اسپیرولینا در مقالات مرور شده است (20، 21)، این جلبک به عنوان مکمل پروتئینی، منبع غنی از آهن و با داشتن رنگی مطلوب در بسیاری از فراورده‌های غذایی از قبیل کلوچه (22)، ماست (23)، پنیر (24) نوشابه، مواد گوشتی و پاستا به کار برده می‌شود (25).

در این مطالعه اثر افزودن ریز جلبک اسپیرولینا پلاننسیس بر قابلیت زیستی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در پنیر سفید فراپالایش حاوی پودر پونه کوهی در دوره نگهداری مورد بررسی قرار گرفت.

#### • مواد و روش‌ها

**مواد:** شیر گاو تهیه شده از دامداری‌های نظر آباد (که ویژگی‌های آن در قسمت یافته‌ها آورده شده است). استارتر پنیر R-704 (لاکتوکوکوس لاکتیس تحت گونه لاکتیس و لکتوکوکوس لاکتیس تحت گونه کرمورس تهیه شده از شرکت کریستین هانسن دانمارک) استفاده گردید. باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس  $La-5$  از شرکت کریستین هانسن دانمارک تهیه شد. اسپیرولینا پلاننسیس به صورت پودر از شرکت سینا ریز جلبک قشم، پودر پونه کوهی از شهرستان گوار استان مرکزی و مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک آلمان تهیه گردید.

بیماری‌های کبدی مرتبط با مصرف الکل (4، 3)، تحریک پاسخ ایمنی (با فعال کردن ماکروفاژها و افزایش مقادیر ایمنوگلوبولین‌ها، کاهش مشهود سطح کلسترول پلاسما) (5)، بهبود جذب املاح  $Ca$ ،  $Cu$ ،  $P$ ، کمک به سبب سنتز اسید توسط پروبیوتیک‌ها، کاهش pH (6) و بهبود قابلیت هضم بسیاری از مواد مغذی نظیر پروتئین و چربی داشته باشد. از سوی دیگر تخمیر غذا به کمک باکتری‌های اسید لاکتیک مقادیر نیاسین و ریپوفلاوین را در ماست، ویتامین  $B_{12}$  را در پنیر کاتیج و ویتامین  $B_6$  را در پنیر چدار افزایش می‌دهند (8).

پنیر از جمله مواد غذایی است که پروتئین آن مرغوب بوده و غنی از اسیدهای آمینه ضروری می‌باشد. پنیر در مقایسه با سایر فراورده‌های لبنی تخمیری از قبیل ماست و شیرهای تخمیری به دلیل دارا بودن برخی ویژگی‌ها از قبیل چربی بالا، بافت متراکم و منسجم به عنوان غذای حامل پروبیوتیک‌ها جهت ماندگاری و حفظ فعالیت زیستی آن‌ها در تمام مراحل عبور از دستگاه گوارش و هضم بسیار مناسب می‌باشد (9). جلبک‌های میکروسکوپی به دلیل داشتن ترکیبات سلولی خاص تأثیر مثبتی بر قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها دارند. افزودن توده زیستی جلبک به فراورده‌های غذایی سبب فراسودمند شدن آن‌ها می‌شود. افزودن این توده زیستی پس از اتمام تخمیر (pH=4/5) سبب افزایش قابل توجه قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها در دماهای نگهداری  $4^{\circ}C$  و  $15^{\circ}C$  می‌شود. علت اصلی تحریک و تقویت رشد باکتری‌ها پس از افزودن توده زیستی سیانوباکتر، غنی‌سازی تغذیه‌ای محیط پایه فراورده با اسیدهای آمینه ضروری و ویتامین‌ها گزارش شده است. علاوه بر این، توده زیستی جلبک محرک تولید اسید در باکتری‌های لاکتیک بوده (10) و منجر به افزایش بهره‌وری تولید می‌شود و از مهار رشد ریزسازواره‌های ناخواسته جلوگیری می‌کند (11).

پونه کوهی گیاهی چند ساله است که طبیعت آن طبق طب سنتی گرم و خشک است. اسانس آن معطر، محرک، مقوی و برای قطع اسهال و تسکین دردهای حاد پشت سرهم شکم مفید است (12). خصوصیات درمانی این گیاه در بر طرف کردن اختلالات گوارشی، استفراغ، بی‌اشتهایی، اختلالات کبدی به اثبات رسیده است. همچنین خصوصیات ضد-میکروبی و ضداکسایشی گونه‌های متعدد این گیاه به خوبی شناخته شده است و از قسمت‌های مختلف این گیاه در ترکیب ادویه تجاری به عنوان طعم دهنده در غذا استفاده می‌شود (13). با توجه به نگرانی که در ارتباط با طعم ریز جلبک

لاکتو کوکوس لاکتیس و لاکتو کوکوس کرموریس تهیه شده از شرکت کریستین هانسن و سپس باکتری پروبیوتیک لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس به شیری که از آن نمونه‌های پنیر دارای استارتر تهیه می‌گردید اضافه شد و جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس (0/3، 0/5، 0/8%) و پونه کوهی در مقادیر 0/5 و 1% به هر نمونه شیر اضافه گردید و در نهایت رنت به میزان 30 میلی گرم در کیلوگرم اضافه شد و بلافاصله در بسته‌های 300 گرمی پر گردید. پس از تشکیل لخته مقدار 3 درصد نمک بر روی نمونه‌ها ریخته شد و در بندی گردید. پنیرهای تولیدی به مدت 24 ساعت در گرمخانه با دمای 30°C و 48 ساعت در سردخانه 4°C قرار گرفت. تیمارها در 3 تکرار تهیه شدند. پنیر خروجی از سردخانه نمونه‌های روز اول بودند. در طول نگهداری در فواصل زمانی 1، 15، 30، 45 روز از نمونه‌های پنیر به طور تصادفی نمونه برداری شد و آزمایشات میکروبی انجام گرفت. تیمارهای مورد استفاده در تحقیق در جدول 1 معرفی شده‌اند.

**تجهیزات:** دستگاه میکرو اسکن scop electric ساخت آلمان، ترازو حساس AND با دقت 0/0001 گرم ساخت کشور انگلیس، انکوباتور Tuttlingen ساخت آلمان، استومکر Seward ساخت انگلیس.

**روش تولید نمونه‌ها:** نمونه‌های پنیر در کارخانه طرحان نظر آباد به روش معمول آن کارخانه تهیه شد. شیر خام پس از انجام آزمایشات اولیه (اندازه گیری pH، اسیدیته، چربی، ماده خشک، پروتئین) که توسط دستگاه میکرو اسکن انجام گرفت با عبور از پیش‌سرد کن، کلاریفایر، دستگاه باکتوفیوژ، وارد پاستوریزاتور شد و در دمای 72°C به مدت 15 ثانیه پاستوریزه گردید. در دستگاه اولترافیتراسیون (UF) با استفاده از صافی‌های غشایی لوله‌ای، بخشی از آب، املاح و لاکتوز شیر پاستوریزه گرفته شد و ماده خشک افزایش یافت. در این مرحله محصول به دست آمده ناتراویده (Retentate) است که در دمای 55 درجه سانتی گراد هموژنیزه شد و سپس در دمای 77°C به مدت 1 دقیقه پاستوریزه گردید. تا دمای 35°C سرد و به مقدار 1% استارتر مزوفیل (R-704) شامل

**جدول 1.** معرفی تیمارهای مورد استفاده جهت بررسی اثر متغیرهای عملیاتی بر قابلیت زیستی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در پنیر سفید

مواد تیمارها	جلبک (اسپیرولینا)	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	استارتر R-704	کلور کلسیم	مایه پنیر	پونه کوهی
M <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	0	طبق دستور العمل شرکت سازنده	طبق دستور العمل شرکت سازنده	20g 100 kg <sup>-1</sup>	1-3g 100kg <sup>-1</sup>	0/5 g/L
M <sub>1</sub> A <sub>2</sub>	0/3%	طبق دستور العمل شرکت سازنده	طبق دستور العمل شرکت سازنده	20g 100 kg <sup>-1</sup>	1-3g 100kg <sup>-1</sup>	0/5g/L
M <sub>1</sub> A <sub>3</sub>	0/5%	طبق دستور العمل شرکت سازنده	طبق دستور العمل شرکت سازنده	20g 100 kg <sup>-1</sup>	1-3g 100kg <sup>-1</sup>	0/5g/L
M <sub>1</sub> A <sub>4</sub>	0/8%	طبق دستور العمل شرکت سازنده	طبق دستور العمل شرکت سازنده	20g 100 kg <sup>-1</sup>	1-3g 100kg <sup>-1</sup>	0/5g/L
M <sub>2</sub> A <sub>1</sub>	0	طبق دستور العمل شرکت سازنده	طبق دستور العمل شرکت سازنده	20g 100 kg <sup>-1</sup>	1-3g 100kg <sup>-1</sup>	1g/L
M <sub>2</sub> A <sub>2</sub>	0/3%	طبق دستور العمل شرکت سازنده	طبق دستور العمل شرکت سازنده	20g 100 kg <sup>-1</sup>	1-3g 100kg <sup>-1</sup>	1g/L
M <sub>2</sub> A <sub>3</sub>	0/5%	طبق دستور العمل شرکت سازنده	طبق دستور العمل شرکت سازنده	20g 100 kg <sup>-1</sup>	1-3g 100kg <sup>-1</sup>	1g/L
M <sub>2</sub> A <sub>4</sub>	0/8%	طبق دستور العمل شرکت سازنده	طبق دستور العمل شرکت سازنده	20g 100 kg <sup>-1</sup>	1-3g 100kg <sup>-1</sup>	1g/L

اثر غلظت‌های متفاوت ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس بر قابلیت زیستی باکتری پروبیوتیک پنیر فرآپالایش حاوی 0/5 و 1% پونه کوهی مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه‌ها به مدت 45 روز در دمای 4°C نگهداری شدند. 8 تیمار با 4 غلظت متفاوت جلبک (3، 0/0، 0/5، 0/8% وزنی/وزنی) و 2 سطح متفاوت پونه کوهی (0/5، 1% وزنی/وزنی) تهیه شد. جهت انجام آزمایشات در روزهای یکم، پانزدهم، سی‌ام و چهل و پنجم نمونه‌برداری انجام گرفت (جدول 2).

آنچه از نتایج این مطالعه بر می‌آید نمونه‌های حاوی جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس توانستند تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را به طور مطلوبی نسبت به نمونه‌های شاهد افزایش دهند. غلظت‌های متفاوت اسپیرولینا تا روز چهل و پنجم توانستند تعداد باکتری‌ها را در محدوده قابل قبول IDF حفظ کنند.

در روز اول میزان شمارش لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در نمونه‌های حاوی 1% پونه کوهی بیشتر از نمونه‌های حاوی 0/5% بود، اما در روز پانزدهم میزان کاهش در نمونه‌های حاوی 1% پونه کوهی بیشتر از نمونه‌های حاوی 0/5% بود، این احتمال وجود دارد که پودر پونه کوهی که به دلیل افزایش پذیرش حسی استفاده شده است با افزایش مقدار این پودر از 0/5 به 1% قابلیت زیستی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در روز پانزدهم کاهش یافته است و این ممکن است به دلیل خواص ضد میکروبی پودر پونه کوهی باشد. در روزهای سی‌ام و چهل و پنجم تفاوت معنی‌داری در قابلیت زیستی باکتری پروبیوتیک در نمونه‌های دو گروه وجود نداشت. بر اساس نتایج آماری به دست آمده از جدول 2 قابلیت زیستی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در همه نمونه‌های حاوی جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشته است ( $p < 0/05$ ). اثر پودر پونه کوهی بر قابلیت زیستی نمونه‌ها به طور معنی‌دار شناخته شد ( $p < 0/05$ ). اگرچه در اواخر دوره نگهداری قابلیت زیستی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در مقایسه با روزهای اول کاهش یافت اما تا روز چهل و پنجم مجموع شمارش این باکتری در مقایسه با نمونه شاهد در هر دو سطح پونه کوهی معنی‌دار بود. در روزهای آخر نگهداری همواره مجموع نهایی شمارش این باکتری در محدوده قابل قبول برای سلامت بخشی باکتری‌های پروبیوتیک قرار داشت. نتایج این مطالعه نشان داد که با افزایش میزان جلبک قابلیت زیستی باکتری در نمونه‌ها افزایش یافت بنابراین می‌توان گفت افزایش میزان غلظت جلبک رابطه مستقیم با قابلیت زیستی داشت. بیشترین قابلیت

آزمون‌های میکروبی: برای تهیه رقت، مقدار 10 گرم پنیر تولیدی همگن شده در کیسه‌های زیپ دار استریل حاوی 90 میلی لیتر تری سدیم سترات (2 گرم در 100 گرم) استریل توزین شد و مدت 2 دقیقه توسط استومر همگن گردید. سری رقت‌ها با افزایش 1 میلی لیتر از هر رقت به 9 میلی لیتر آب پیتون استریل تهیه شد. سپس به صورت پور پلیت در محیط MRS آگار کشت، و به مدت 72 ساعت در دمای 37°C گرمخانه‌گذاری شد. سپس تعداد کلنی‌ها شمارش گردید. جهت شمارش باکتری‌های کلی فرم از محیط violet red bile agar استفاده شد و به صورت غیرهوازی به مدت 48 ساعت در دمای 37°C گرمخانه‌گذاری شد. لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و کلی فرم‌ها در نمونه‌های پنیر پس از روزهای 1، 15، 30 و 45 شمارش شدند (26).

ارزیابی حسی: ارزیابی حسی با استفاده از آزمون چشایی به روش هدونیک پنج نقطه ای (از خیلی ضعیف: 1، ضعیف: 2، متوسط: 3، خوب: 4، خیلی خوب: 5) انجام شد (27). ارزیاب‌ها 5 نفر بودند که از بین متخصصان صنایع غذایی انتخاب شدند و به طور کامل با ویژگی‌های پنیر آشنا بودند. نمونه‌ها (بسته‌های 100 گرمی) مدتی قبل از آزمون از سردخانه خارج شده و پس از رسیدن به دمای محیط، در قطعات 50 گرمی در اختیار داوران قرار گرفت. ارزیاب‌ها نمونه‌ها را از نظر مقبولیت نهایی مورد ارزیابی قرار دادند.

روش آماری: پس از انجام آزمایش‌ها در قالب روش تحقیق و استخراج نتایج، تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایشگاهی در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی به وسیله طرح فاکتوریل توسط نرم‌افزار SAS 9.1 با سطح اطمینان 95% آنالیز شدند. آزمایش‌ها با 3 تکرار بر روی هر نمونه انجام گرفت. اثر زمان به عنوان بلوک در نظر گرفته شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده از نرم افزار و رویه GLM استفاده شد. اطلاعات کیفی به کمک آزمون کای دو (با استفاده از Lsmean) مقایسه شده و p-value کمتر از 0/05 معنی‌دار تفسیر گردید. در آزمایش‌های مستقل از زمان از آزمون دانکن جهت مقایسه داده‌ها استفاده شد.

#### • یافته‌ها

شیر مصرفی از نظر ویژگی‌های شیمیایی بررسی شد. اسیدیته آن 14 درجه دورنیک و pH=6/6 بوده و در 100 گرم پنیر: ماده خشک بدون چربی 8/12 گرم، چربی 3/42 گرم و پروتئین 3/01 گرم بود.

قابلیت زیستی باکتری پروبیوتیک نمونه‌های پنیر پروبیوتیک حاوی جلبک و پونه کوهی: در این پژوهش،

**ارزیابی حسی (مقبولیت نهایی) نمونه‌ها:** با توجه به نتایج آماری بدست آمده از ارزیابی حسی (نمودار 1)، مقبولیت نهایی توسط ارزیاب‌ها با افزایش جلبک کاهش یافت. بالاترین میزان پذیرش در بین نمونه‌های جلبکی مربوط به نمونه حاوی 0/3% جلبک و 1% پونه کوهی است. بطور کلی، میزان 0/3% جلبک پذیرش بالاتری در میان همه ارزیابی‌ها (رنگ، طعم، بو، بافت، مقبولیت نهایی) به خود اختصاص داد. با گذشت زمان، تفاوتی در مقبولیت نهایی نمونه‌ها بوجود نیامد.

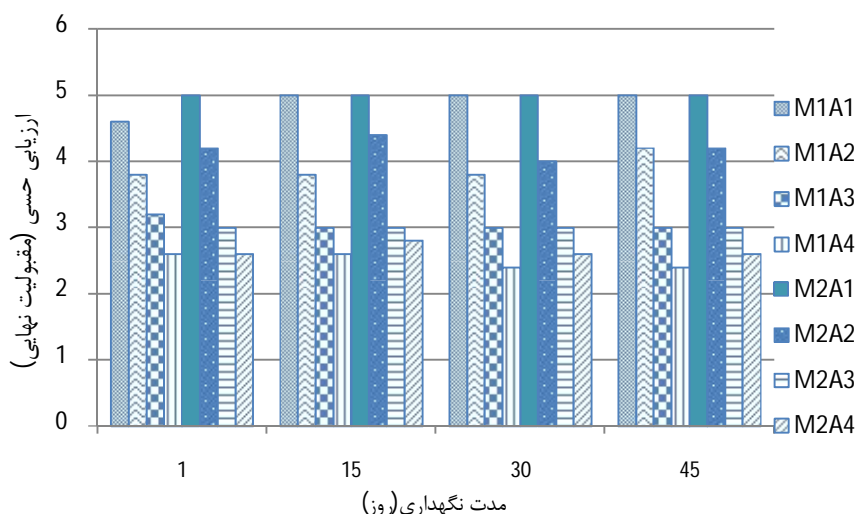
زیستی باکتری لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس مربوط به غلظت 0/8% جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس بود. کمترین قابلیت زیستی در دو گروه متفاوت پونه کوهی مربوط به گروه شاهد در تمام مدت نگهداری بود.

**کلی فرم‌ها:** هیچ گونه رشد باکتری کلی فرمی در پنیرهای جلبکی یا در نمونه کنترلی در تمام مدت زمان نگهداری مشاهده نشد که آن را می‌توان به خاصیت ضد میکروبی اسپیرولینا پلاتنسیس و شرایط مطلوب بهداشتی در طی تولید و نگهداری پنیر نسبت داد.

**جدول 2.** قابلیت زیستی پروبیوتیک نمونه‌های پنیر پروبیوتیک حاوی جلبک ونیم درصد پونه کوهی (0% : M<sub>1</sub>A<sub>1</sub>، 0/3% : M<sub>1</sub>A<sub>2</sub>، 0/5% : M<sub>1</sub>A<sub>3</sub>، 0/8% : M<sub>1</sub>A<sub>4</sub>)، حاوی جلبک و یک درصد پونه کوهی (0% : M<sub>2</sub>A<sub>1</sub>، 0/3% : M<sub>2</sub>A<sub>2</sub>، 0/5% : M<sub>2</sub>A<sub>3</sub>، 0/8% : M<sub>2</sub>A<sub>4</sub>)

تیمار	روز اول	روز پانزدهم	روز سی ام	روز چهل و پنجم
M <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	8/00± 0/14 <sup>d</sup>	7/53±0/06 <sup>gh</sup>	7/73± 0/07 <sup>h</sup>	7/14 ± 0/005 <sup>i</sup>
M <sub>1</sub> A <sub>2</sub>	8/71± 0/05 <sup>ab</sup>	8/50±0/04 <sup>e</sup>	7/84± 0/05 <sup>de</sup>	7/43 ± 0/08 <sup>h</sup>
M <sub>1</sub> A <sub>3</sub>	8/79± 0/02 <sup>ab</sup>	8/86± 0/02 <sup>bc</sup>	8/01± 0/09 <sup>d</sup>	7/56 ± 0/04 <sup>fi</sup>
M <sub>1</sub> A <sub>4</sub>	8/88± ./.۰۲ <sup>a</sup>	8/73 ± 0/04 <sup>ab</sup>	8/00± 0/09 <sup>d</sup>	7/67 ± ./.۰۳ <sup>ef</sup>
M <sub>2</sub> A <sub>1</sub>	8/24± 0/01 <sup>ef</sup>	8/06± 0/01 <sup>fg</sup>	7/31± 0/04 <sup>k</sup>	6/95 ± 0/05 <sup>l</sup>
M <sub>2</sub> A <sub>2</sub>	8/71± 0/03 <sup>bc</sup>	8/36± 0/09 <sup>de</sup>	7/74± 0/02 <sup>hi</sup>	7/35 ± 0/03 <sup>k</sup>
M <sub>2</sub> A <sub>3</sub>	8/76± 0/06 <sup>ab</sup>	8/52± 0/04 <sup>cd</sup>	7/85 ± 0/02 <sup>h</sup>	7/54 ± 0/08 <sup>j</sup>
M <sub>2</sub> A <sub>4</sub>	8/94± 0/11 <sup>a</sup>	8/55± 0/03 <sup>cd</sup>	7/92± 0/02 <sup>gh</sup>	7/67 ± 0/03 <sup>ji</sup>

\* حروف لاتین متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن میانگین تیمارها می باشد (p<0/05)



**نمودار 1.** ارزیابی حسی (مقبولیت نهایی) نمونه‌های پنیر پروبیوتیک حاوی جلبک و نیم درصد پونه کوهی

(M<sub>1</sub>A<sub>1</sub>:0%, M<sub>1</sub>A<sub>2</sub>:0.3%, M<sub>1</sub>A<sub>3</sub>:0.5%, M<sub>1</sub>A<sub>4</sub>:0.8%)

حاوی جلبک و یک درصد پونه کوهی در طی دوره نگهداری (M<sub>2</sub>A<sub>1</sub>: 0%, M<sub>2</sub>A<sub>2</sub>:0.3%, M<sub>2</sub>A<sub>3</sub>:0.5%, M<sub>2</sub>A<sub>4</sub>: 0/8%)

## • بحث

ترموفیلوس، لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، بیفیدو باکتریوم بیفیدوم) به اثر محرک اسپیرولینا پلاتنسیس به واسطه داشتن اسیدهای آمینه آزاد و هیپوگزانتین نسبت داده شده است (28).

باکتری‌های پروبیوتیک نسبت به سایر باکتری‌ها به عوامل محیطی حساس تر و مواد مغذی بالاتری نیاز دارند. بنابراین، اسپیرولینا منبع غنی از مواد معدنی، ویتامین‌ها و ضدکسایش‌هاست که می‌تواند به عنوان منبع تغذیه در اختیار باکتری‌های اسید لاکتیک قرار گیرد و باعث افزایش قابلیت زیستی آنها در طول مدت نگهداری گردد (5).

پودر پونه کوهی دارای خواص درمانی، ضدکسایشی می‌باشد و به عنوان طعم دهنده در مواد غذایی کاربرد فراوان دارد. در این تحقیق پودر پونه کوهی جهت بهبود طعم و کاهش طعم ریز جلبک استفاده شد در ارزیابی حسی صورت گرفته در این تحقیق 1% پونه کوهی تفاوت معنی‌داری با سطح 0/5 درصد در نمونه‌ها ایجاد نکرد و 0/3% پودر اسپیرولینا در هر دو سطح 0/5 و 1% پونه کوهی بالاترین پذیرش را داشت.

نتایج این مطالعه نشان داد که پنیر سفید ایرانی تهیه شده به روش فراپالایش می‌تواند حامل خوبی برای ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس باشد. غنی سازی این محصول با ریز جلبک فوق منجر به افزایش قابلیت زیستی بالای باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس گردید و قابلیت زیستی باکتری پروبیوتیک در آنها بالاتر از میزان توصیه شده است. کلی‌فرم در طول مدت نگهداری در هیچ یک از نمونه‌ها باکتری مشاهده نشد. مطالعه اثر ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس بر سایر سویه‌های باکتریایی پروبیوتیک در انواع پنیر حاوی جلبک مانند پنیر خامه‌ای، پنیر آب نمکی، بررسی خاصیت ضد میکروبی اسپیرولینا پلاتنسیس در پنیر فراپالایش برای ادامه تحقیق پیشنهاد می‌شود.

آنچه از نتایج این مطالعه بر می‌آید نمونه‌های حاوی جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس توانستند تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را به طور مطلوبی نسبت به نمونه‌های شاهد افزایش دهند. غلظت‌های متفاوت اسپیرولینا تا روز چهل و پنجم توانستند تعداد باکتری‌ها را در محدوده قابل قبول IDF حفظ کنند.

تأثیر افزودن 0/8% پودر اسپیرولینا در روز اول بر قابلیت زیستی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس تقریباً مشابه 0/3 و 0/5% بود و اختلاف آماری معنی‌داری بین آنها وجود نداشت، که این مطلب با مشاهدات Irkin و Guldaz در مورد افزودن 0/5% و 1% پودر اسپیرولینا به ماست و شیر اسیدوفیلوس مطابقت داشت (15). Akalin و همکاران در سال 2009 با افزودن اسپیرولینا به میزان 0/3 درصد در ماست، به طور معنی‌داری افزایش زنده مانی لاکتوباسیلوس دلبروکی و استرپتوکوکوس ترموفیلوس در طول نگهداری مشاهده نمودند (16). بهشتی پور در سال 1389 پژوهشی به منظور بررسی اثرات افزودن اسپیرولینا پلاتنسیس در مقادیر 0/25، 0/5 و 1% بر قابلیت زیستی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در طی نگهداری ماست انجام داد و افزایش قابلیت زیستی این پروبیوتیک را در مدت زمان نگهداری یخچالی مشاهده نمود، طبق نتایج به دست آمده از این مطالعه جلبک با غلظت 0/5% بهترین ترکیبی است که می‌تواند باعث افزایش قابلیت زیستی باکتری پروبیوتیک مورد مطالعه شود (29). اسلامی در سال 1391 اثر اسپیرولینا پلاتنسیس بر قابلیت زیستی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را در دوغ مورد بررسی قرار داد و بطور معنی‌داری افزایش زنده‌مانی این پروبیوتیک را در طول نگهداری مشاهده نمود (30).

دلایلی برای افزایش قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک در نمونه‌های حاوی اسپیرولینا ذکر شده است: بر طبق یافته‌های Varga و همکاران، تولید اسید و افزایش سرعت رشد استارترهای لبنی (استرپتوکوکوس

## • References

- Zomorodi SH, Rohani M, Khosrowshahi Asl A, Ehsani A. Surviving of probiotic bacteria *Lactobacillus casei* and its effect on the quality and sensory evaluation and sensory evaluation of the Iranian white cheese produced by Ultrafiltration technique. J food Sci Re 1388;19(2):81. [in persian]
- Gourner F, Schaafsma GJ. Probiotics. In J Food Microbiol 1998;39:237-238.
- Nanji AA, Khettry U, Sadrzadeh SM H. *Lactobacillus* feeding reduces endotoxemia and severity of experimental a cohlic liver(disease). Pro Soc Exp Med 1994; 205, 243.

4. Gade J, Thorn P. Paragurt for patients with irritable bowel syndrome. *Scan J Prim Health Care* 1989; 7:23-26.
5. Sanders M E. Probiotics. A novel approach in the management of food allergy. *Food Technol* 1999;53,67.
6. Bomba A., Nemcova R., Gancarcikova S. Prebiotics and probiotics. *Bri J Nut* 2002; 88,suppl1.s.95.
7. Alm L. Effect of fermentation on B-vitamin content of milk in Sweden. *J Dairy Science* 1982; 65: 353-9.
8. Shahani K M, Chandan RC. Nutritional and health aspects of cultured and culture-containing dairy foods. *J Dairy Sci* 1979;62:1685-94.
9. Ehsani A, Mahmoudi R, Tokmeh chi A, Pazhoohi M. Iranian white cheese as an dairy product containing probiotic bacteria. *J Food Sci* 1390;31: 78.
10. Caire G Z D, Parada J L, Zaccaro M C, Cano M M. Effect of *Spirulina platensis* biomass on the growth of lactic acid bacteria in milk. *World J Microb Biot* 2000; 6: 563-5.
11. Gyenis B, Szigeti J, Molnar N, Varga L. Use of dried microalgal biomasses to stimulate acid production and growth of *Lactobacillus plantarum* and *Enterococcus faecium* in milk. *Acta Agr Kap* 2005; 9: 53-59.
12. Moaveni P. Medicine plants. Islamic azad university publication, Qods city branch. 2010;1:2238. [in Persian]
13. Mahmoudi R, Ehsani A, Tajik H, Akhond zadeh A, Khosrowshahi Asl A. Anti microbial effect of *Menthe longifolia L.* and *Lactobacillus casei* on *Staphylococcus aureus* of Iranian white cheese. *J Food Sci Re* 1389. [in Persian]
14. Varga L, Monlar N, Szigeti J. Manufacturing technology for a *Spirulina* -enriched mesophilic fermented milk. International scientific conference on sustainable Development & Ecological footprint 2012 March 1-6; Sopron, Hungary.
15. Guldas M, Irkin R. Influence of *Spirulina platensis* powder on the microflora of yoghurt and acidophilus milk, *Ori Sci paper* 2010;60(4), 273-43.
16. Akalin AS, Ünal G, Dalay MC. Influence of *spirulina platensis* biomass on microbiological viability in traditional and probiotic yoghurts during refrigerated storage. *Ital.j. food sci.n* 2009; 3:357-59.
17. Bhowmik D, Dubey J, Mehra S. Probiotic efficiency of *Spirulina platensis* – stimulating Growth of lactic acid bacteria. *World J Dairy food Sci* 2009; 4 (2):160-63.
18. Preze kj, Guarienti C, Bertolin TE, Costa jAV, Colla AM. Effect of adding dry biomass of the *Spirulina platensis* to yoghurt on the survival of lactic acid bacteria during refrigerated storage. *Alim Nut* 2007; 77-82.
19. Beheshtipour H, Mortazavian AM, Mohammadi R, Sohrabvandi S, and Khosravi-Darani K, Supplementation of *Spirulina platensis* and *Chorella vulgaris* Algae into probiotic fermented milks. *Comp Rev Food Sci Food Safety* 2013; 12(2): 144-54.
20. Hoseini S M, Khosravi-Darani K, Mozafari M R. Nutritional and medical applications of *Spirulina* microalgae. *Mini-Rev Med Chem* 2013; 13: 1231-37.
21. Soheili M, Khosravi-Darani K. The potential health benefits of algae and microalgae in medicine. *A Rev on Spirulina platensis*, *current Nut Food Sci* 2011; 7(4): 279-85.
22. Shahbazizadeh S, Khosravi-Darani K. Healthy cookies with *Spirulina platensis* microalgae. *Food bioprocess Technol* 2013; 3(3): 389-93.
23. Fadaei (b) V, Mohammadi-Alasti F, Khosravi-Darani K. Influence of *Spirulina platensis* powder on the starter culture viability in probiotic yoghurt containing spinach during cold storage. *Eur J Exp biology* 2013; 3(3): 389-93.
24. Fadaei (a) V, Mazinani S, Khosravi-Darani K. Influence of *Spirulina platensis* powder on viability of *Lactococcus* strains in probiotic UF feta cheese containing *Menthe longifolia L.* *Int J biology biotechnol* 2013;10(3): 475-78.
25. Liang Sh, x.Liu, Chen F and Chen Z. Current microalgal health food R&D activities in china. *Hydrobiologia* 2004;512:45-48.
26. Kasımoğlu A, Göncüoğlu M, Akgün S. Probiotic white cheese with *Lactobacillus acidophilus*. *Int Dairy J* 2004;14:1068-1069.
27. Ghazi Zadeh M, Razaghi A. A textbook of Sensory evaluation of foods. 11th ed. Tehran: Shahid Beheshti University, Faculty of Nutrition Sciences and food technology. Press ; 1999. P.149-157 [in Persian].
28. Varga L, Szigeti J, Ördög V. Effect of a *Spirulina platensis* biomass and that of its active components on single strains of dairy starter cultures. *Milchwissenschaft* 1999;54:187-190.
29. Beheshtipour H, Mortazavian A M, Haratian P, Khosravi Darani K. Effect of *Chlorella vulgaris* and *Arthrospira platensis* addition on viability of probiotic bacteria in yogurt and its biochemical properties. Tehran: Shahid Beheshti University, M.C. Faculty of Nutrition Sciences and food technology. 2010 [in Persian].
30. Eslami Moshkanani A, Fadaei V, Khosravi-Darani K. The effect of *Spirulina platensis* biomass on viability of *Lactobacillus acidophilus* La-5 and some physicochemical and sensory properties of Iranian Dough containing powdered mint. Tehran: Islamic Azad University, M.C. Faculty of agriculture engineering-food science; 2013 [in Persian].

## Viability of *Lactobacillus acidophilus* in Sinbiotic Ultrafiltration White Cheese Containing Powdered *Menthe longifolia L.* and *Spirulina platensis*

Mazinani S<sup>1</sup>, Fadaie V<sup>\*2</sup>, Khosravi-Darani K<sup>3</sup>

1. Graduated MSc Student of Agricultural Engineering – Food Sciences and Technologies, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Ghods City Branch, Tehran, Iran.
2. \*Corresponding author: Associate Prof., Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Ghods City Branch, Tehran, Iran. Email: fadaee\_yn\_8@yahoo.com
3. Associate Prof. (in Research), Dept. of Food Technology Research, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received 23 May, 2014

Accepted 7 Sept, 2014

**Background and Objectives:** Enrichment of foods leads to improve the health of both individuals and society. In this research, *Spirulina platensis* was used in the enrichment of ultrafiltration white cheese in order to study its effect on the viability of *Lactobacillus acidophilus*. For havin medical, anti-microbial, and anti-oxidant properties, *Menthe longifolia* was used in the production of this cheese as a flavorable.

**Materials and Methods:** *Spirulina platensis* was used in the early stages of the production process, and was added to cheese at the concentrations of 0, 0.3, 0.5, 0.8%w/w. *Spirulina's* incorporation on the viability of *Lactobacillus acidophilu* in ultrafiltration cheese containing 0.5, 1% *Menthe longifolia* was also investigated. The cheese samples were stored at 4°C, and taken for experiments at 1, 15, 30 and 45 days of the refrigerated storage.

**Results:** The results showed that by adding the microalga biomass of *Spirulina platensis* in cheese samples containing powdered *Menthe longifolia L.*, the viability of *Lactobacillus acidophilus* increased significantly during the storage time (P<0.05). The effect of 0.8% *S.platensis* powder's addition on the viability of probiotic bacteria was greater than that of the 0.3 and 0.5% additions. After 45 days of storage at 4°C, the numbers of probiotic bacteria in all of the cheese samples were in the range of the numbers of the recommended therapeutic products. The sensory analysis was also performed for the cheese samples. The sensory scores of the 0.3% *Spirulina* powder added cheese samples at both concentrations of *Mentha longifolia L.* (0.5&1%) were better than those of the 0.5 and 0.8% *Spirulina* powder additions.

**Conclusion:** This study according to the good health and nutritional properties of microalgae *Spirulina platensis* and the possitive effects on viability of *Lactobacillus acidophilus* was applied for the enrichment of ultrafiltration cheese. addition of *Menthe longifoli L.* powder into the cheese samples containing of powdered microalgae at two concentrations (0.5&1%) led to overcome this concern about decreasing of sensory acceptability .

**Keywords:** *Spirulina platensis*, *Lactobacilus acidophilus*, *Menthe longifolia L.*, Ultrafiltration cheese, Probiotics