

## بررسی اثر افزودن پودر ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس بر برخی از ویژگی‌های فیزیکیوشیمیایی و حسی دوغ پروبیوتیک حاوی پودر نعنای

عاطفه اسلامی مشکنانی<sup>۱\*</sup>، وجیهه فدائی نوغانی<sup>۲</sup>، کیانوش خسروی دارانی<sup>۳</sup>، صدیقه مزینانی<sup>۱</sup>

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه مهندسی کشاورزی-علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهر قدس
۲. استادیار، گروه مهندسی کشاورزی-علوم و صنایع غذایی، گرایش تکنولوژی مواد غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهر قدس
۳. 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

(تاریخ دریافت: 93/3/25، تاریخ پذیرش: 93/5/29)

### چکیده

تغییر در عادات غذایی و افزایش آگاهی عموم افراد جامعه، سبب شده غذاهای فراسودمند مورد توجه قرار گیرند. اگر محصولات غذایی با ویتامین‌ها، پروتئین‌ها، اسیدهای چرب ضروری و عناصر کمیاب با منشاء طبیعی غنی شوند، نیاز به دریافت دارو و مکمل کاهش می‌یابد. فراوانی ترکیبات زیستی مهم در جلبک‌ها، فرصت‌های جدیدی را در تولید محصولات لبنی فراسودمند فراهم می‌کند و در این میان دوغ به عنوان یک نوشیدنی مغذی سنتی ایران حائز اهمیت است. در این پژوهش، اثرات افزودن پودر سیانوباکتر اسپیرولینا پلاتنسیس (0، 0/3، 0/5، 0/8 درصد وزنی/وزنی) بر برخی از ویژگی‌های فیزیکیوشیمیایی مانند pH، اسیدیته قابل تیتراژ، میزان آهن، پروتئین، ویسکوزیته و دوفاز شدن و خواص حسی نظیر رنگ، طعم، بو، قوام و پذیرش کلی دوغ گرمادیده حاوی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس (La5) و 0/5 و 1 درصد پودر نعنای بررسی گردید. تیمارها به مدت بیست و یک روز در دمای 4 °C نگهداری شده و متغیرهای مذکور در روزهای یک، هفت، چهارده و بیست و یک ارزیابی شدند. میزان آهن در روزهای یک، چهارده و بیست و یک با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد. میزان پروتئین نیز در روز چهاردهم اندازه‌گیری گردید. داده‌ها به وسیله نرم‌افزار SAS 9.1 با سطح اطمینان 95٪ آنالیز شدند. نتایج نشان دادند که غلظت‌های مختلف جلبک ضمن جلوگیری از تغییر سریع در pH، اسیدیته دوغ را افزایش می‌دهند ( $P < 0/0001$ ). افزودن جلبک تأثیر مثبت بر محتوای پروتئین و آهن تیمارها داشت؛ اما نتوانست دوفاز شدن را کاهش دهد. هم‌چنین ویسکوزیته در طی مدت ماندگاری کاهش یافت. اثر نعنای بر شاخص‌های مورد بررسی، معنی‌دار نبود ( $P < 0/05$ ). بنابراین با توجه به نتایج و از نظر جنبه‌های اقتصادی تیمارهای حاوی 0/3 درصد پودر ریزجلبک، به عنوان تیمار برتر انتخاب شدند.

واژه‌های کلیدی: اسپیرولینا پلاتنسیس، لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس، دوغ، پروبیوتیک.

## 1- مقدمه

به دلیل داشتن ترکیبات سلولی خاص تأثیر مثبتی بر قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها دارند. افزودن توده زیستی جلبک به فرآورده‌های غذایی سبب فراسودمند شدن آن‌ها می‌شود. علت اصلی تحریک و تقویت رشد باکتری‌ها پس از افزودن زیست توده‌ی سیانوباکتر، غنی‌سازی تغذیه‌ای محیط پایه‌ی فرآورده با اسیدهای آمینه ضروری و ویتامین‌ها گزارش شده است [7-9].

تاکنون پژوهش‌هایی نظیر بررسی اثر *اسپیروولینا پلاتنسیس* بر رشد و تولید اسید لاکتوکوکوس و لوکونوستوک در شیر [10]، فلور میکروبی ماست و شیر حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* [11]، آغازگر ماست و بیفیدوباکتریوم *انیمالیس* [12]، سه باکتری *لاکتوباسیلوس کازنی*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* در محیط کشت [13]، قابلیت زیستی آغازگر در محیط کشت [14]، رشد باکتری‌های لاکتیک در شیر [7]، پودر کلرلا *وولگاریس* و *اسپیروولینا پلاتنسیس* بر قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها و ویژگی‌های بیوشیمیایی ماست پروبیوتیک [15] انجام گرفته است.

به تازگی جنبه‌های سلامتی بخش درمانی و تغذیه‌ای *اسپیروولینا* در مقالات مرور شده است [15]. این جلبک به عنوان مکمل پروتئینی، منبع غنی از آهن و با داشتن رنگی مطلوب در بسیاری از محصولات غذایی از قبیل کلوچه [16]، ماست [17-18]، پنیر [19]، نوشابه، مواد گوشتی و پاستا [20] و بستنی [21] به کار برده شده است. اما کاربرد آن در دوغ برای اولین بار در این پژوهش بررسی گردیده است.

نعناع با اسم علمی *Mentha piperita* به خانواده *Leguminosae* تعلق دارد. خواص این گیاه از روزگاران قدیم شناخته شده و امروزه نیز برگ و اسانس روغنی آن در طب سنتی، صنایع غذایی و در ساخت مواد آرایشی به کار می‌رود. بیشترین ماده موثره در اسانس نعناع منتول است. از جمله خواص درمانی نعناع می‌توان به مواردی چون کمک به هضم غذا، ضدسرفه، ضدتهوع، کمک به کاهش علائم سندروم روده تحریک پذیر و... اشاره کرد [22]. *اسپیروولینا* در فهرست مواد ایمن انگاشته (GRAS<sup>1</sup>) قرار داشته و در سطوح 0/5 تا 3 گرم در هر وعده غذایی توصیه شده است [23].

در پژوهش حاضر اثر پودر ریز جلبک *اسپیروولینا پلاتنسیس*

مقبولیت دوغ به عنوان فرآورده‌ای با ویژگی‌های حسی مطلوب و نوشیدنی تخمیری سالم و سلامت بخش، سبب گردیده این محصول به عنوان نوشیدنی ملی ایران پذیرفته شود. تولید دوغ در ایران و برخی از کشورهای دیگر از جمله ترکیه با نام ایران، هندوستان با نام لاسی، آذربایجان، ارمنستان، افغانستان و... به عنوان یک نوشیدنی مغذی و مقوی در مقایسه با انواع نوشیدنی‌های دیگر، قابل توجه می‌باشد [1]. محصولات غذایی پروبیوتیک که یکی از مباحث جذاب غذایی، تغذیه‌ای و درمانی را به خود اختصاص داده‌اند، جزء غذاهای فراسودمند طبقه‌بندی می‌شوند. غذاهای فراسودمند به محصولاتی اطلاق می‌شود که علاوه بر داشتن ارزش تغذیه‌ای، دارای اثرات درمانی و سلامت بخش برای مصرف کننده نیز باشند. طی دهه 1960، جهت مقابله با مصرف وسیع آنتی‌بیوتیک‌ها و اثرات جانبی آن‌ها بر دام‌ها، توجه به استفاده از مکمل‌های حاوی باکتری‌های زنده، رو به افزایش گذاشت [2]. مصرف باکتری‌های پروبیوتیک می‌تواند تعادل فلور میکروبی سیستم گوارش را به سمت باکتری‌های مفید متمایل سازد و به این ترتیب با غلبه بر انواع مضر، علاوه بر خنثی کردن اثرات نامطلوب این گروه، اثرات درمانی منحصر به فرد خود را ایفا نماید [3]. *اسپیروولینا* یکی از انواع جلبک‌های میکروسکوپی سبز-آبی است که متعلق به سیانوباکتری‌ها می‌باشد. *اسپیروولینا* دو زیر گونه پلاتنسیس و ماکسیما دارد. سیانوباکترها با نام علمی *اسپیروولینا پلاتنسیس*<sup>1</sup> به جلبک‌های پروکاریوتی تعلق دارند [4]. *اسپیروولینا پلاتنسیس* غنی از مواد مغذی است. حاوی 18 نوع اسیدآمینه بوده و پروتئین‌های آن کیفیت بالایی دارند؛ هم‌چنین، شامل انواع ویتامین‌های B<sub>6</sub>، B<sub>8</sub>، B<sub>12</sub>، B<sub>2</sub>، (بیشتر از جگر گاو) E، K، A و عناصری مانند کلسیم و آهن است [5]. کاربردهای بالقوه *اسپیروولینا* به عنوان اجزاء تشکیل دهنده‌ی غذایی برای بهبود خواص سلامتی بخش محصولات مانند مکمل‌های غذایی، نوشیدنی‌ها و شیرهای تخمیر شده، غلات و محصولات نانوائی، دسرها، کیک‌ها و محصولات قنادی، بیسکویت‌ها، اسنک‌ها، سوپ‌ها، سس‌های سالاد و محصولات لبنی مانند بستنی، ماست، نوشیدنی‌های بر پایه لبنی و... به کار رفته است [6]. جلبک‌های میکروسکوپی

1. generally recognized as safe

شرایط اسپتیک به تیمارهای دوغ اضافه گردید. 8 نمونه به دو گروه با 0/5 و 1٪ (به ترتیب M1 و M2 نام‌گذاری شدند) پودر نعنای تقسیم شدند. غلظت‌های 0، 0/3، 0/5 و 0/8 درصد (به ترتیب A1، A2، A3، A4 نام‌گذاری شدند) از ریزجلبک/اسپیروولینا پلاتنسیس به آن‌ها اضافه شد. سپس دوغ‌های تهیه شده در بطری‌های پلی‌اتیلن ترفتالات (PET) بسته‌بندی و در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و فاکتورهای مورد نظر در زمان‌های تعیین شده اندازه‌گیری گردید.

### 2-3-3-2-3-2 روش انجام آزمون‌ها

pH شیر با استفاده از دستگاه pH متر (Metrohm، آلمان) اندازه‌گیری شد. نمونه را داخل بشر 30 یا 50 میلی‌لیتری ریخته و الکتروود pH متر پس از تنظیم به‌طور کامل در داخل نمونه قرار گرفت. دمای نمونه باید در حدود 20 °C باشد. پس از ثابت شدن عدد pH متر، میزان pH تعیین گردید [11].

### 2-3-3-2-2 اندازه‌گیری اسیددینه قابل تیتر

مقدار 10 میلی‌لیتر از نمونه را در یک بشر مناسب ریخته و مقدار 0/5 میلی‌لیتر معرف فنل‌فتالین به آن افزوده و با هیدروکسید سدیم 0/1 نرمال تا ظهور رنگ صورتی کم‌رنگ که حداقل به مدت 5 ثانیه پایدار بماند تیتر گردید. اسیددینه بر حسب اسید لاکتیک به شرح زیر گزارش شد. 0/009 گرم اسید لاکتیک معادل یک میلی‌لیتر سود 0/1 نرمال مصرف شده می‌باشد [11].

$$\text{درصد اسیددینه} = \frac{N \times 0.009 \times 100}{V} \quad (1)$$

N = مقدار میلی‌لیتر سود 0/1 نرمال مصرف شده  
V = حجم نمونه

### 2-3-3-2-3-2 اندازه‌گیری ویسکوزیته

اندازه‌گیری ویسکوزیته با استفاده از دستگاه ویسکومتر بروکفیلد DVII (ساخت کشور آمریکا) در روزهای 0، 7، 14 و 21 پس از تولید انجام پذیرفت. تیمارها به‌طور جداگانه مطابق در مخزن

بر برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی دوغ حاوی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و پودر نعنای به‌منظور تعیین غلظت مناسب زیست توده سیانوباکتر طی نگهداری محصول در یخچال بررسی گردید.

## 2- مواد و روش‌ها

### 2-1-1-2 مواد

شیر خام مورد مصرف در این پژوهش با ترکیب متوسط 1/2٪ چربی، 2/9٪ پروتئین، 9/36٪ ماده خشک و 8/21٪ ماده خشک بدون چربی، اسیددینه 14/5 درجه‌ی دورنیک و pH حدود 6/63 از شرکت لبنیات پاکبان تهیه گردید. ریزجلبک/اسپیروولینا پلاتنسیس از شرکت سینا ریزجلبک قشم و باکتری‌های استراتر (لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس) و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس (La5) از شرکت کریستین هنسن (Chr-Hansen) تهیه گردیدند.

### 2-2-2 روش تولید

ابتدا شیر تهیه شده به مدت 30 دقیقه در دمای 85 درجه سانتی‌گراد تحت فرایند حرارتی قرار گرفت. پس از سرد کردن تا دمای تخمیر (حدود 42 درجه سانتی‌گراد)، تلقیح آغازگرها (لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس) به میزان 2 درصد وزنی انجام شد. در ادامه، نمونه‌ها در 40 درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به pH 4/5 ± 0/02 گرم‌خانه‌گذاری و طی تخمیر در گرم‌خانه هر نیم ساعت شاخص‌های pH و اسیددینه اندازه‌گیری شدند.

نمونه‌های ماست پس از اتمام زمان تخمیر به یخچال (دمای 4 °C) منتقل شدند. پس از طی زمان 12 ساعت به نسبت 50:50 آب به ماست اضافه گردید. در این مرحله نمک نیز به میزان 0/01 ± 0/7 به این ترکیب اضافه شد. نمونه دوغ تهیه شده به 8 قسمت مساوی تقسیم گردید و برای غیر فعال کردن باکتری‌های آغازگر، فرایند حرارتی در شرایط استریل در دمای 80 درجه سانتی‌گراد به مدت 15 دقیقه اعمال شد. پس از سرد شدن دوغ تا دمای 42 درجه سانتی‌گراد، میکروارگانسیم پروبیوتیک لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس (La5) (خشک شده انجمادی نوع DVS، بسته 25 گرمی) به صورت درصد وزنی در

### 2-3-6- اندازه گیری میزان پروتئین

از روش کج‌لداال جهت تعیین میزان پروتئین استفاده گردید. در این روش، دو گرم از نمونه با ده گرم سولفات مس، ده گرم سولفات پتاسیم و 20 میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ مخلوط شد. سپس برای کامل شدن مرحله هضم، از حرارت استفاده گردید. در اثر حرارت دادن، محلول سیاه می‌شود و بعد از هضم به رنگ سبز در می‌آید که رنگ سبز باید نیم ساعت پایدار باشد. سپس به آن آب اضافه شد. در هنگام هضم، اسیدسولفوریک با عامل آمین موجود در پروتئین تبدیل به سولفات آمونیوم می‌شود و با افزودن محلول قلیا، آمونیاک ایجاد می‌گردد. با حرارت دادن محلول (داخل بالن)، آمونیاک موجود در نمونه تبخیر شده و در محیط اسیدی (در ازلن حاوی حجم معینی اسید) وارد می‌شود و مقداری از اسید را خنثی می‌سازد. اضافی اسید را با محلول هم غلظت یا هم نرمالیت خنثی نموده، میزان اسید مصرفی توسط آمونیاک مشخص می‌شود. هر میلی لیتر اسید یک دهم نرمال معادل 1/4 میلی گرم نیتروژن است [11].

### 2-3-4- آزمون‌های حسی

ویژگی‌های حسی نظیر رنگ، طعم، بو، قوام و در نهایت پذیرش کلی، با استفاده از روش هدونیک پنج نقطه‌ای توسط 5 نفر ارزیاب آموزش دیده از کارشناسان بخش تحقیق و توسعه شرکت پاکبان با تکمیل پرسش‌نامه، ارزیابی شد.

### 2-3-5- روش آماری

پس از انجام آزمایش‌ها در قالب روش تحقیق و استخراج نتایج، تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایشگاهی در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی وسیله طرح فاکتوریل، به وسیله نرم افزار 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.

دستگاه ریخته شدند و از اسپیندل شماره 60 که مناسب سیالاتی مانند دوغ است، استفاده گردید. با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده، اسپیندل مناسب جهت اندازه‌گیری ویسکوزیته، اسپیندلی است که در سرعت مورد نظر گشتاوری بالاتر از 10٪ را نشان دهد. در دمای اندازه‌گیری حدود  $22/7 \pm 0/1$  °C اسپیندل 60 متصل به دستگاه در داخل مخزن قرار داده شد و در 42 rpm با رسیدن نرخ برش دستگاه به 50 (یک بر ثانیه) عدد مربوط به ویسکوزیته قرائت شد [14].

### 2-3-4- اندازه گیری میزان دو فاز شدن

برای تعیین میزان جداسازی فازی، از استوانه‌های مدرج 100 میلی لیتری هم‌شکل استفاده شد. پس از ریختن نمونه‌ها در استوانه مدرج، دربندی توسط پارافیلیم انجام شد. نمونه‌ها به یخچال منتقل شده و در  $4$  °C به مدت 21 روز نگهداری شدند. برای ثبت میزان جدایی فازها، در زمان‌های معین، در روزهای 0، 7، 14 و 21 پس از تولید، حجم فرآورده از انتهای استوانه مدرج تا خط فاصل جدایی فاز بعدی بر حسب درصد گزارش شد [24-25].

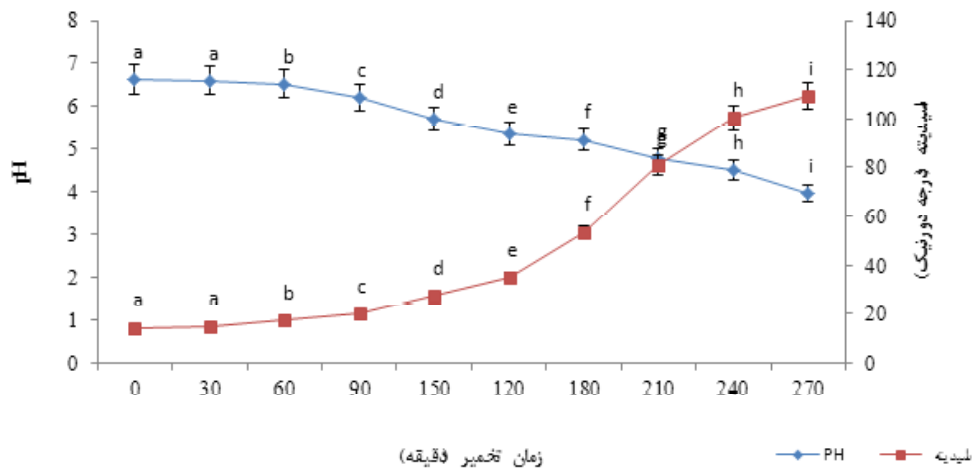
### 2-3-5- اندازه گیری آهن

اندازه‌گیری میزان آهن توسط دستگاه اسپکتروسکوپی جذب اتمی، مدل Yangline 8020 ساخت کره جنوبی، طی مدت زمان ماندگاری، در روزهای 1، 7، 14 و 21 انجام گرفت. 5 تا 10 گرم از نمونه وزن و به یک بالن ژوژه 50 سی سی منتقل شد. نمونه با اسید کلریدریک 2 درصد هضم گردید و با این محلول به حجم رسانده شد. پس از روشن کردن دستگاه جذب اتمی و اتو سمپلر آن، برنامه مربوط به عنصر آهن انتخاب گردید. طول موج نوری اندازه‌گیری آهن 248/3 نانومتر می‌باشد. غلظت استانداردها و تعداد دفعات خوانده شدن آن‌ها را وارد کرده، نمونه همراه با بلانک و استانداردهای کاری به دستگاه جذب اتمی داده می‌شود تا میزان جذب آن‌ها اندازه‌گیری شود. با استفاده از منحنی کالیبراسیون، مقادیر جذب به غلظت تبدیل شده و پس از تاثیر دادن ضریب رقت، غلظت نهایی آهن در نمونه به دست می‌آید [26].

(2)

حجم نهایی نمونه × غلظت حاصل از دستگاه  
= غلظت آهن در نمونه

وزن اولیه نمونه



شکل (1) تغییرات pH و اسیدیته طی دوره تخمیر

### 3- نتایج و بحث

و pH تیمارهای شاهد کم‌تر از تیمارهای حاوی جلبک بود. در پایان زمان ماندگاری تفاوت معناری بین تیمارهای حاوی 0/5 و 0/8 درصد اسپیروولینا پلاتنسیس وجود نداشت.

کاهش کند pH در تیمارهای حاوی جلبک احتمالاً به دلیل خاصیت بافری اسپیروولینا پلاتنسیس به خاطر حضور پروتئین، پپتیدها و اسیدهای آمینه موجود در ترکیب آن می‌باشد [10]. این ظرفیت بافری، سبب افت آهسته‌تر pH همراه با افزایش میزان اسیدیته توسط باکتری لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس بوده و همچنین این نتایج در تضاد با نتایج یافته‌های Akalin و همکاران در سال 2009، در بررسی اثر پودر توده زیستی اسپیروولینا پلاتنسیس در ماست ساده و پروبیوتیک است [12]. با توجه به بررسی نتایج، میزان اسیدیته تیمارها در طی مدت ماندگاری در سرما با سرعت بیش‌تری از تیمارهای شاهد افزایش یافت (جدول 2). افزایش اسیدیته با میزان جلبک مصرفی رابطه مستقیم دارد. به طوری که بیش‌ترین افزایش اسیدیته مربوط به تیمارهای حاوی 0/8 درصد اسپیروولینا پلاتنسیس می‌باشد. این بدان معنا است که افزودن جلبک سبب تحریک رشد باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس گردیده است. این یافته در مطالعه انجام شده توسط Caire و همکاران در سال 2000 [7] تأیید شده است. این تأثیر را می‌توان به حضور اسیدهای آمینه، پپتون، آدنین و هیپوگزانتین در توده زیستی جلبک نسبت داد. این ترکیبات قادرند به طور معنی‌داری رشد و تولید اسید را در باکتری لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس افزایش دهند [9, 11, 12].

بر اساس نتایج آماری بین میزان pH و اسیدیته تیمارها در طی زمان تخمیر اختلاف آماری بسیار معنی‌دار در سطح 99٪ وجود دارد ( $P < 0/0001$ ).

### 3-1- بررسی اثرات متغیرهای پژوهش بر میزان pH و اسیدیته تیمارها در طی نگهداری در سرما

بر اساس نتایج آماری، تیمارها با میزان جلبک متفاوت در زمان‌های متفاوت در طی 21 روز نگهداری با فواصل 7 روز در میزان pH و اسیدیته اختلاف آماری بسیار معنی‌داری دارند ( $P < 0/0001$ ). تیمارها با میزان نعنای متفاوت در میزان pH دارای اختلاف آماری معنی‌دار نمی‌باشند. اثر متقابل متغیرها از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشد.

مطابق با جدول 1 هم‌زمان با افزایش جلبک در روز اول، pH تیمارها به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت ( $P < 0/05$ ). این افزایش به دلیل pH قلیایی اسپیروولینا پلاتنسیس است که با یافته‌های Varga و همکاران در سال 2012 [10] در کاربرد اسپیروولینا در شیرهای تخمیری و Irikh و Galdas در سال 2010 [11] در رابطه با کاربرد اسپیروولینا پلاتنسیس در ماست و شیرهای اسیدوفیلوس مطابقت دارد. مطابق یافته‌های Varga و همکاران در سال 2012 [10] محلول آبی حاوی 3 gr/dm<sup>3</sup> اسپیروولینا پلاتنسیس pH حدود 9/9 دارد. pH در طی مدت نگهداری در سرما به کندی کاهش یافت و

**جدول (1)** مقادیر pH تیمارهای دوغ پروبیوتیک حاوی جلبک و نعنای در طی دوره نگهداری\* (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

روز	1	7	14	21	تیمار
M 1A1	3/81 $\pm$ 0/006 <sup>aC</sup>	3/73 $\pm$ 0/01 <sup>aB</sup>	3/66 $\pm$ 0/010 <sup>aA</sup>	3/60 $\pm$ 0/020 <sup>aA</sup>	
M 1A2	3/87 $\pm$ 0/010 <sup>bC</sup>	3/80 $\pm$ 0/015 <sup>bB</sup>	3/73 $\pm$ 0/021 <sup>bAB</sup>	3/69 $\pm$ 0/010 <sup>bcA</sup>	
M 1A3	3/90 $\pm$ 0/010 <sup>cC</sup>	3/82 $\pm$ 0/064 <sup>bBC</sup>	3/77 $\pm$ 0/21 <sup>bAB</sup>	3/72 $\pm$ 0/027 <sup>cdA</sup>	
M1A4	3/95 $\pm$ 0/010 <sup>dC</sup>	3/85 $\pm$ 0/060 <sup>bABC</sup>	3/81 $\pm$ 0/027 <sup>cAB</sup>	3/76 $\pm$ 0/045 <sup>dA</sup>	
M2A1	3/81 $\pm$ 0/030 <sup>aB</sup>	3/72 $\pm$ 0/017 <sup>aB</sup>	3/66 $\pm$ 0/012 <sup>aA</sup>	3/60 $\pm$ 0/015 <sup>aA</sup>	
M2A2	3/87 $\pm$ 0/010 <sup>bC</sup>	3/80 $\pm$ 0/020 <sup>bB</sup>	3/74 $\pm$ 0/015 <sup>bA</sup>	3/67 $\pm$ 0/027 <sup>bA</sup>	
M2A3	3/91 $\pm$ 0/010 <sup>cC</sup>	3/82 $\pm$ 0/027 <sup>bB</sup>	3/76 $\pm$ 0/025 <sup>bAB</sup>	3/71 $\pm$ 0/015 <sup>bcdA</sup>	
M2A4	3/94 $\pm$ 0/010 <sup>dC</sup>	3/86 $\pm$ 0/035 <sup>bB</sup>	3/81 $\pm$ 0/027 <sup>cAB</sup>	3/75 $\pm$ 0/031 <sup>dA</sup>	

**جدول (2)** مقادیر اسیدیته (درجه دورنیک) تیمارهای دوغ پروبیوتیک حاوی جلبک و نعنای در طی دوره نگهداری\* (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

روز	1	7	14	21	تیمار
M 1A1	71/33 $\pm$ 0/6 <sup>aA</sup>	73/33 $\pm$ 1/5 <sup>aAB</sup>	74/67 $\pm$ 1/ab <sup>B</sup>	75 $\pm$ 1 <sup>aAB</sup>	
M 1A2	71/67 $\pm$ 0/6 <sup>aA</sup>	74 $\pm$ 1 <sup>aAB</sup>	75/67 $\pm$ 1/5 <sup>abBC</sup>	75/67 $\pm$ 0/6 <sup>aC</sup>	
M 1A3	71/67 $\pm$ 1/2 <sup>aA</sup>	75 $\pm$ 1/7 <sup>aAB</sup>	76/67 $\pm$ 1/5 <sup>abB</sup>	78 $\pm$ 1 <sup>bB</sup>	
M1A4	72/33 $\pm$ 1/5 <sup>aA</sup>	75/67 $\pm$ 1/5 <sup>aB</sup>	78 $\pm$ 1 <sup>bAB</sup>	78/67 $\pm$ 0/6 <sup>bB</sup>	
M2A1	71/33 $\pm$ 0/6 <sup>aA</sup>	73/67 $\pm$ 0/6 <sup>aB</sup>	74/33 $\pm$ 2/5 <sup>aAB</sup>	75/33 $\pm$ 1/5 <sup>aAB</sup>	
M2A2	71/67 $\pm$ 0/6 <sup>aA</sup>	74/33 $\pm$ 1/5 <sup>aAB</sup>	75/33 $\pm$ 1/5 <sup>abAB</sup>	75/67 $\pm$ 0/6 <sup>aB</sup>	
M2A3	71/67 $\pm$ 0/6 <sup>aA</sup>	75 $\pm$ 1 <sup>aAB</sup>	76/67 $\pm$ 1/5 <sup>abBC</sup>	78/33 $\pm$ 0/6 <sup>bC</sup>	
M2A4	72 $\pm$ 1 <sup>aA</sup>	75/67 $\pm$ 1/2 <sup>aAB</sup>	78/33 $\pm$ 1 <sup>bC</sup>	78/67 $\pm$ 0/6 <sup>bBC</sup>	

\*حروف متفاوت کوچک و بزرگ در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح 5٪ است (P < 0/05).

کنار هم قرار دادن این دو مطلب یعنی بیش‌تر بودن روند افزایش اسیدیته و کم‌تر بودن روند افت pH، خاصیت بافری/اسپیروولینا پلاتنسیس را تأیید می‌نماید. این یافته‌ها با یافته‌های Varga و همکاران در سال 2002 [27] مطابقت دارد. آنان نیز به نقش بافری/اسپیروولینا پلاتنسیس نسبت به گروه شاهد اشاره کرده‌اند. هم‌چنین، نتایج حاصل از مطالعه‌ای که توسط Molnar در سال 2005 [28] و بهشتی‌پور و همکاران در سال 2012 [17] انجام شد نشان داد که اسپیروولینا قادر است با اجرای نقش بافری، pH را ثابت نگه دارد که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد.

اگرچه توده زیستی/اسپیروولینا پلاتنسیس قادر است تولید اسید و رشد باکتری‌های اسید لاکتیک را افزایش دهد، اما به لحاظ نقش

بافری pH محیط را حفظ می‌کند [8, 27] هم‌چنین، درصدهای متفاوت نعنای، تأثیری بر میزان pH و اسیدیته نداشت.

**3-2- بررسی اثرات متغیرهای پژوهش بر میزان ویسکوزیته تیمارها در طی نگهداری در سرما**

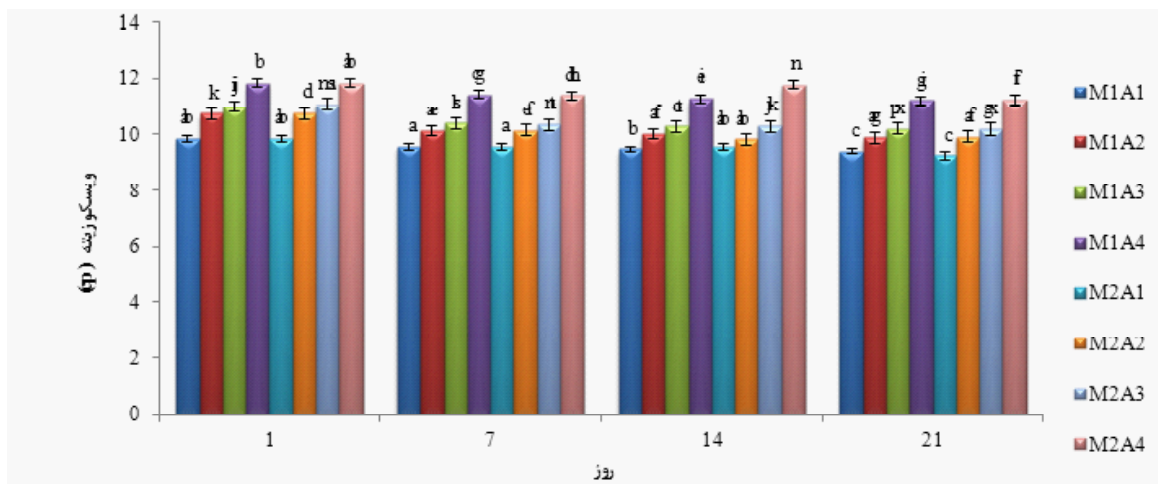
بر اساس نتایج آماری، تیمارها با میزان جلبک متفاوت، در میزان ویسکوزیته اختلاف آماری بسیار معنی‌داری دارند (p < 0/0001). تیمارها در زمان‌های مختلف، در طی 21 روز نگهداری با فواصل 7 روز، از نظر ویسکوزیته، اختلاف آماری بسیار معنی‌داری دارند (p < 0/0001). تیمارها با میزان نعنای متفاوت از نظر میزان ویسکوزیته دارای اختلاف آماری معنی‌دار نمی‌باشند. مطابق با شکل 2 با افزودن میزان/اسپیروولینا پلاتنسیس به تیمارها،

ویسکوزیته افزایش یافت. این یافته می‌تواند به دلیل ساختار پروتئینی/اسپیروولینا پلاتنسیس و ایجاد تعاملات بین سلولی باشد. اسپروولینا پلاتنسیس با جذب آب سبب کاهش جریان پذیری و افزایش ویسکوزیته می‌گردد.

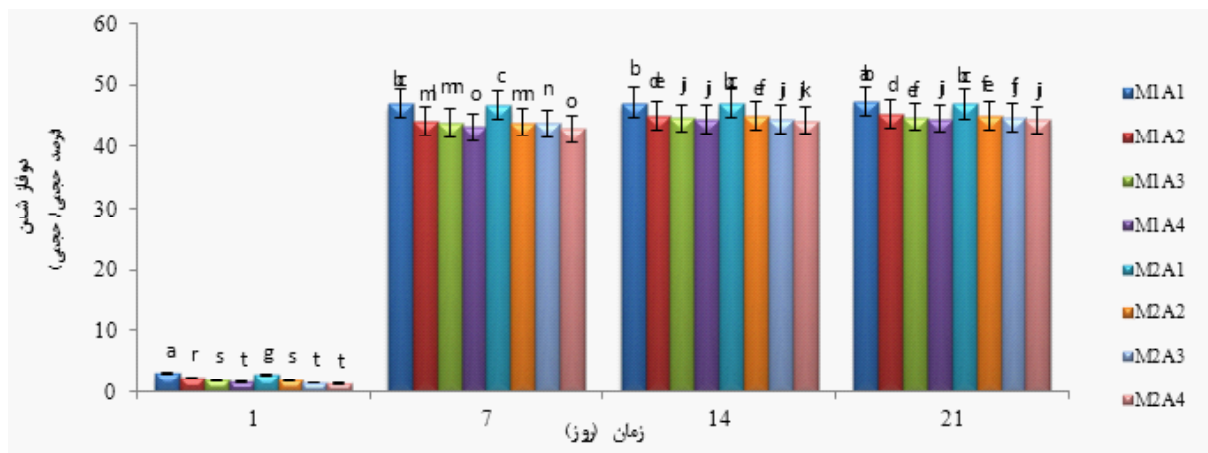
### 3-3- بررسی اثرات متغیرهای پژوهش بر میزان دوفاز شدن تیمارها در طی نگهداری در سرما

در زمینه بافت نوشیدنی‌های تخمیری، شاخص دو فاز شدن از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد. در دوغ به دلیل pH پایین و اسیدیته بالا، پروتئین‌ها به نقطه ایزوالکتریک خود نزدیک می‌شوند و در نتیجه، شروع به تجمع و رسوب می‌کنند که این امر، سبب ناپایداری و ایجاد حالت دو فازی بعد از تولید و در حین نگهداری (حدود 40-50 درصد جداسازی فازی در طی یک ماه) می‌شود [25]. مطابق با نمودار شکل 3 میزان دو فاز شدن در تیمارها طی مدت ماندگاری افزایش یافت. این افزایش دوفاز شدن در روز اول بسیار کم است و تا روز هفتم به علت کاهش

هم‌چنین، ویسکوزیته در طی ماندگاری کاهش یافت. این کاهش ویسکوزیته با افزایش جلبک در روز هفتم محسوس‌تر می‌باشد. در طی فعالیت پروبیوتیک‌ها، اسیدیته افزایش یافته و ساختار پروتئینی تضعیف می‌شود و در نتیجه آن، ویسکوزیته کاهش می‌یابد. این کاهش ویسکوزیته با نتایج Sung و همکاران در سال 2004 [29] در خصوص بررسی ویسکوزیته ماست حاوی کلمرا مطابقت دارد. محققین دیگر از جمله فروغی‌نیا و همکاران در سال 2007 [25] و آذری‌کیا و همکاران در سال 2010 [30] با توجه به بررسی



شکل (2) تغییرات میزان ویسکوزیته دوغ پروبیوتیک حاوی جلبک (0، 0/3، 0/5، 0/8 و 1/0) و نعنای (0/5 و 1/0) در طی نگهداری در سرما



شکل (3) تغییرات میزان دوفاز شدن دوغ پروبیوتیک حاوی جلبک (0، 0/3، 0/5، 0/8 و 1/0) و نعنای (0/5 و 1/0) در طی نگهداری در سرما

آمینه و پروتئین بالایی دارد. این نتیجه در مطالعات دیگر از جمله مطالعه کایر و همکاران در سال 2000 [7] و مطالعه مولنار و همکاران در سال 2005 [28] نیز به چشم می‌خورد. هم‌چنین گومز و همکاران در سال 1999 [3] اعلام نمودند پروبیوتیک‌ها فعالیت پروتئولیز ضعیفی دارند.

بنا به نتایج حاصل، ریز جلبک / اسپیرولینا پلاتنسیس را به عنوان منبع پروتئینی به صورت مستقیم یا از طریق غنی‌سازی با سایر مواد غذایی می‌توان مصرف نمود.

### 3-5- نتایج به دست آمده از میزان آهن تیمارهای دوغ پروبیوتیک حاوی جلبک و نعنای

با توجه به بررسی نتایج آماری، میان میزان آهن تیمارها با افزایش میزان جلبک اختلاف آماری بسیار معنی‌دار وجود دارد ( $p < 0/0001$ ). میزان آهن تیمارها با افزایش پودر نعنای نیز اختلاف آماری بسیار معنی‌داری دارند ( $p < 0/0001$ ). متغیر زمان بر میزان آهن تیمارها بی‌تأثیر می‌باشد. اثر متقابل متغیرها از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشد.

آهن یکی از ریزمغذی‌های حیاتی در تغذیه انسان است که کمبود آن باعث کم‌خونی فقر آهن می‌شود [31]. اصلی‌ترین دلایل بروز این نوع کم‌خونی را به دریافت ناکافی، جذب ناکافی یا ترکیبی از هر دو نسبت می‌دهند [32]. مطابق با جدول 3 میزان آهن در تیمارها با افزودن ریزجلبک / اسپیرولینا پلاتنسیس به طور معنی‌داری افزایش یافت. این یافته با نتایج گولداس و همکاران در سال 2010 [11] که عنوان کردند / اسپیرولینا بسیار غنی از آهن است، مطابقت دارد.

pH و افزایش اسیدیته با سرعت بیش‌تر انجام گرفت. در چنین شرایطی کازیین و نیز پروتئین‌های سرمی، که pH ایزوالکتریک حدود 5/1 دارند، دارای بار مثبت بوده‌اند. این میزان بار سطحی مثبت با گذشت زمان و کاهش pH افزایش پیدا کرده و به این ترتیب رانش الکتروستاتیک بیش‌تر می‌شود.

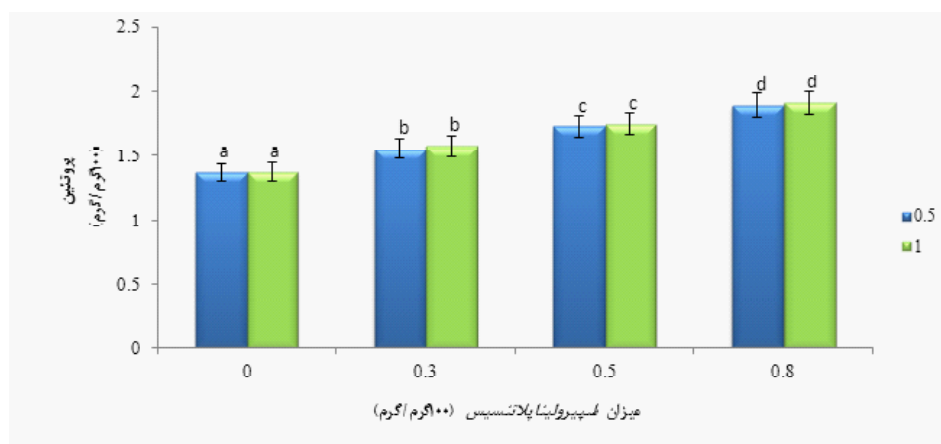
این نتایج با بررسی‌های انجام شده توسط فروغی نیا و همکاران در سال 2007 [25] و طاهری و همکاران در سال 2009 [24] در خصوص میزان دوفاز شدن دوغ و عوامل مؤثر بر آن مطابقت دارد. به طور کلی، اگرچه افزایش جلبک سبب کاهش دوفاز شدن به میزان مطلوب نگردید و هم‌چنین نعنای تأثیر معنی‌داری بر میزان دوفاز شدن دوغ نداشت.

### 3-4- بررسی اثرات متغیرهای پژوهش بر میزان پروتئین تیمارها

مطابق با نمودار شکل 4 با افزایش میزان جلبک، پروتئین در تیمارها به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $p < 0/0001$ ). به طوری که تیمارهای حاوی 0/8 درصد / اسپیرولینا پلاتنسیس میزان پروتئین بالاتری دارند. نعنای و میزان مصرفی آن، تأثیری بر محتوای پروتئین تیمارها نداشت.

توده زیستی خشک شده ریزجلبک / اسپیرولینا پلاتنسیس دارای 46 تا 63 درصد پروتئین می‌باشد [8]. میزان پروتئین اکثر جلبک‌ها در مقایسه با غذاهای پروتئینی دیگر هم از نظر مقدار اسیدهای آمینه و هم از نظر تأمین اسیدهای آمینه ضروری مورد نیاز بدن مطلوب‌تر است [6].

وارگا و همکاران در سال 2002 [27]، طی مطالعه‌ای بیان کردند که توده زیستی / اسپیرولینا پلاتنسیس محتوای اسیدهای



شکل (4) تغییرات میزان پروتئین با افزایش میزان جلبک در دوغ پروبیوتیک حاوی جلبک و 0/5 و 1 درصد نعنای



هم‌چنین، بررسی میزان آهن در طی مدت ماندگاری (روزهای 1، 14، 21) هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. میان محتوی آهن تیمارهای حاوی 0/5 و 1 درصد نعناع نیز تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. این تفاوت ممکن است به دلیل وجود آهن در ترکیب نعناع باشد. زیرا سبزیجات دارای برگ سبز به دلیل حضور کلروفیل (با توجه به این که کلروفیل حاوی آهن است) دارای آهن می‌باشند. مدت زمان دوره نگهداری تأثیری بر میزان آهن تیمارها ندارد.

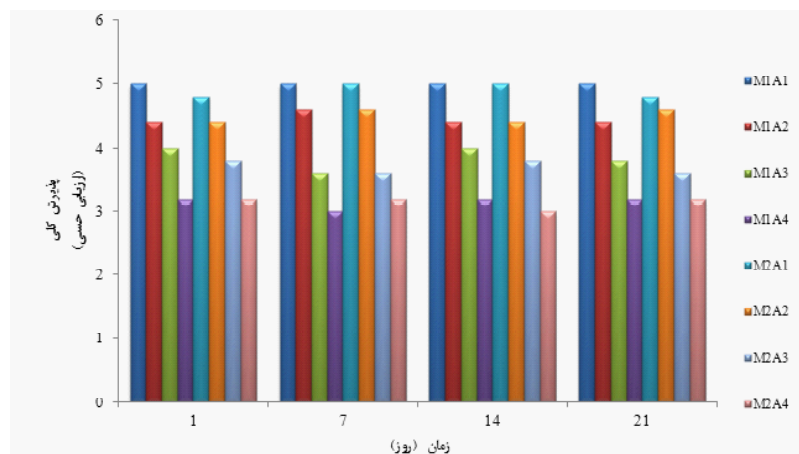
### 3-6- بررسی اثرات متغیرهای پژوهش بر ارزیابی حسی تیمارهای دوغ پروبیوتیک حاوی جلبک و نعناع

بر اساس نتایج آماری، تیمارها با میزان جلبک متفاوت، در

جدول (3) میزان آهن (ppm) تیمارهای دوغ پروبیوتیک حاوی مفادیر مختلف اسپیرولینا پلاتنسیس و نعناع در طی دوره نگهداری\* (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

روز	1	14	21
M1A1	3/507 $\pm$ 0/07 <sup>a</sup>	3/517 $\pm$ 0/09 <sup>a</sup>	3/503 $\pm$ 0/1 <sup>a</sup>
M1A2	4/22 $\pm$ 0/04 <sup>b</sup>	4/217 $\pm$ 0/09 <sup>b</sup>	4/237 $\pm$ 0/09 <sup>b</sup>
M1A3	5/827 $\pm$ 0/24 <sup>c</sup>	5/820 $\pm$ 0/2 <sup>c</sup>	5/837 $\pm$ 0/24 <sup>c</sup>
M1A4	8/07 $\pm$ 0/16 <sup>d</sup>	8/073 $\pm$ 0/12 <sup>d</sup>	8/09 $\pm$ 0/17 <sup>d</sup>
M2A1	3/61 $\pm$ 0/1 <sup>a</sup>	3/623 $\pm$ 0/1 <sup>a</sup>	3/633 $\pm$ 0/04 <sup>a</sup>
M2A2	4/367 $\pm$ 0/04 <sup>b</sup>	4/35 $\pm$ 0/1 <sup>b</sup>	4/34 $\pm$ 0/15 <sup>b</sup>
M2A3	6 $\pm$ 0/24 <sup>c</sup>	6/023 $\pm$ 0/31 <sup>c</sup>	5/987 $\pm$ 0/34 <sup>c</sup>
M2A4	8/177 $\pm$ 0/16 <sup>d</sup>	8/16 $\pm$ 0/27 <sup>d</sup>	8/187 $\pm$ 0/23 <sup>d</sup>

\*حروف متفاوت کوچک در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح 5٪ است ( $p < 0/05$ ).



شکل (5) تغییرات میزان پذیرش کلی ارزیابی حسی دوغ پروبیوتیک حاوی جلبک (0، 0/3، 0/5 و 0/8٪) و نعناع (0/5 و 1٪) در طی نگهداری در سرما

هفت، چهارده و بیست و یک ارزیابی شدند. میزان آهن در روزهای یک، چهارده و بیست و یک با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد. پروتئین نیز در روز چهاردهم اندازه‌گیری گردید. نتایج نشان داد غلظت‌های مختلف جلبک ضمن جلوگیری از تغییرات مشخص در pH، اسیدیته دوغ را افزایش می‌دهد ( $p < 0/0001$ ). افزودن جلبک نتوانست دوفاز شدن دوغ را به میزان مطلوب کاهش دهد. افزودن اسپیرولینا پلاتنسیس، تأثیر مثبت بر محتوای آهن و پروتئین تیمارها داشت ( $p < 0/0001$ ). ویسکوزیته در روز اول افزایش و در طی نگهداری تیمارها در سرما کاهش یافت. در ارزیابی حسی تمامی تیمارها مورد پذیرش (با امتیازات متفاوت) قرار گرفتند. امتیاز دوغ پروبیوتیک حاوی 0/3 درصد جلبک در ارزیابی حسی مشابه تیمار شاهد بود. اگرچه تیمارهای حاوی 0/5 و 0/8 درصد نیز اثرات مثبتی از خود نشان دادند، تیمارهای حاوی 0/3 درصد اسپیرولینا پلاتنسیس با توجه به بررسی خواص فیزیکوشیمیایی، ارزیابی حسی و از نظر اقتصادی به‌عنوان تیمار برتر انتخاب شد.

بنابراین، اسپیرولینا پلاتنسیس به دلیل دارا بودن ویتامین‌ها، پروتئین‌ها، اسیدهای چرب ضروری و عناصر کمیاب با منشأ طبیعی فرصت‌های جدیدی را در تولید محصولات فراسودمند فراهم می‌کند. فراوانی ترکیبات زیستی مهم در جلبک‌ها عامل اهمیت و نقطه قوت آن‌ها است. به‌همین دلیل، توده‌های سیانوباکتریایی فرصت‌های جدیدی را در تولید محصولات لبنی فراسودمند فراهم می‌کنند. هم‌چنین با توجه به بررسی‌های انجام شده مبنی بر کمبود آهن در کشور و محبوبیت مصرف دوغ در ایران و هم‌چنین نتایج حاصل از این پژوهش، افزودن ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس به آن می‌تواند به ارتقای سطح سلامت جامعه کمک شایانی نماید.

#### 5- سپاس‌گزاری

بدین وسیله از همکاری و زحمات بی‌دریغ آقای مهندس افشین افشار مدیر نظارت بر غذا و محصولات آرایشی و بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی البرز، هم‌چنین مدیریت و کارشناسان واحد تولیدی پاکبان و سینا ریزجلبک قشم جهت همکاری در درانجام این پژوهش سپاس‌گزاری می‌شود.

دادند. بین تیمار شاهد و تیمار حاوی 0/3 درصد جلبک تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. میزان نعنای متفاوت (0/5 یا 1 درصد) تأثیری در ارزیابی حسی رنگ، طعم، بو، قوام و پذیرش کلی نداشت. این نتیجه به‌دلیل غالب بودن تأثیر جلبک در تیمارها می‌تواند باشد. گذشت زمان تأثیر معنی‌داری بر ارزیابی حسی رنگ، طعم، بو، قوام و پذیرش کلی تیمارها در طی نگهداری در سرما نداشت و بیش‌ترین امتیاز به‌ترتیب مربوط به تیمارهای شاهد (رضایت بخش یا خوب)، تیمارهای حاوی 0/3 درصد جلبک (رضایت بخش یا خوب)، تیمارهای حاوی 0/5 درصد جلبک (رضایت بخش یا خوب) و تیمارهای حاوی 0/8 درصد جلبک (قابل قبول یا متوسط) می‌باشد. بنابراین با بررسی نتایج مشاهده می‌گردد هیچ‌کدام از تیمارها غیرقابل قبول نبودند و تمامی تیمارها مورد پذیرش (با امتیازات متفاوت) قرار گرفتند.

امتیاز حسی دوغ حاوی 0/3 درصد اسپیرولینا پلاتنسیس، در ارزیابی حسی رنگ، طعم، بو، قوام و پذیرش کلی مشابه با دوغ شاهد بود. سانگ و همکارانش در سال 2005 [29] با ارزیابی حسی ماست حاوی درصد‌های متفاوت کلرلا بیان کردند درصد پایین‌تر جلبک پذیرش حسی بهتری دارد که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد. هم‌چنین گلداس و ایرکین در ارزیابی حسی ماست پروبیوتیک و شیر اسیدوفیلوس در سال 2010 [11] و وارگا و همکاران در سال 2012 [10] بر روی شیرهای تخمیری و آکالین و همکاران در سال 2009 [12]، در بررسی قابلیت زیستی باکتری‌ها در ماست ساده و پروبیوتیک گزارش کردند، درصد پایین‌تر جلبک پذیرش بهتری دارد.

#### 4- نتیجه‌گیری

در این پژوهش، اثرات افزودن پودر سیانوباکتر اسپیرولینا پلاتنسیس بر برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی (نظیر pH، اسیدیته قابل تیتر، میزان آهن، پروتئین، ویسکوزیته و دوفاز شدن) و خواص حسی (رنگ، طعم، بو، قوام، پذیرش کلی) دوغ گرمادیده پروبیوتیک حاوی پودر نعنای بررسی گردید. بدین ترتیب 8 تیمار با 4 میزان متفاوت پودر سیانوباکتر اسپیرولینا پلاتنسیس (0، 0/3، 0/5، 0/8 درصد وزنی/وزنی) و 2 میزان متفاوت پودر نعنای (0/5 و 1 درصد وزنی/وزنی) تهیه شد. تیمارها به مدت بیست و یک روز در دمای 4°C نگهداری شده و متغیرهای مذکور در روزهای یک،

[10] Varga, L., Monlar, N., Szigeti, J. (2012). Manufacturing technology for a *spirulina* enriched mesophilic fermented milk. In: *International scientific conference on sustainable Development & Ecological footprint*.

[11] Guldas, M., Irkin, R. (2010). Influence of *Spirulina plantensis* powder on the microflora of yoghurt and acidophilus milk. *Original Scientific Paper*, 237-243.

[12] Akalin, A.S., Unal, G., Dalay, M.C. (2009). Influence of *spirulina platensis* biomass on microbiological viability in traditional and probiotic yogurts during refrigerated storage. *Ital. J. Food Sci.*, 21(3)

[13] Bhowmik, D., Dubey, J., Mehra, S. (2009). Probiotic efficiency of *Spirulina platensis* stimulating growth of lactic acid bacteria. *J. Agr. Environ. Sci*, 6(5), 546-549.

[14] Preze, K. J., Guarienti, C., Betolin, T. E., Costa, J. A. V., Colla, A. M. (2007). Effect of adding dry biomass of the *spirulina platensis* to yoghurt on the survival of lactic acid bacteria during refrigerated storage, 18(1), 77-82.

[15] Soheili, M., Khosravi-Darani, K. (2011). The potential health benefits of algae and micro algae in medicine: A review on *Spirulina platensis*. *Current Nutr. Food Sci.*, 7(4), 279-285.

[16] Shahbazizadeh, S., Khosravi Darani, K., Sohrabvandi, S. (2013). Healthy cookies with *Spirulina platensis* microalgae. *Food and Bioprocess Technology*, (revised).

[17] Beheshtipour, H., Mortazavian, A. M., Haratian, P., Khosravi Darani, K. (2012). Effect of *Chlorella vulgaris* and *Arthrospira platensis* addition on viability of probiotic bacteria in yogurt and its biochemical properties. *Eur. Food Technol.*, 235, 719-728.

## منابع

[1] Codex alimentarius commission. (2010). Project document for a regional standard for Doogh. Prepared by the Islamic Republic of Iran., CX/NEA 11/6/7.

[2] Nakano, S. (2005). Maternal-fetal distribution and transfer of dioxins in pregnant women in Japan and attempts to reduce maternal transfer with *Chlorella (Chlorella pyrenoidosa)* supplements. *Chemosphere*, 61, 1244-55.

[3] Gomes, A. M. P., Malcata, F. X. (1999). A study of the growth of *Lactobacillus acidophilus* in bovine, Ovine and caprine milk. *Trends Food Sci. Tech.*, 10, 139.

[4] Varga, L., Szigeti, J., Ördög V. (1999). Effect of a *Spirulina platensis* biomass and that of its active components on single strains of dairy starter cultures. *Milchwissenschaft*, 54, 187-190.

[5] Falquet, J. (2005). The nutritional aspects of *spirulina*. *Antenna Tech.*, 1-5.

[6] Spolaore, P., Joannis, C., Duran, E., Isambert, A. (2006). Commercial applications of microalgae. *The Society for Biotechnology, Japan*, 101(2), 87-96.

[7] Caire, G. Z. D., Parada, J. L., Zaccaro, M. C., Cano, M. M. (2000). Effect of *Spirulina platensis* biomass on the growth of lactic acid bacteria in milk. *World J. Microbiol. Biotech.*, 6, 563-5.

[8] 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 Agr. Kaposváriensis*, 9, 53-59.

[9] Parada, J. L., Ceire, G. Z. D., Mule, M. C. Z., Cano, M. M. S. (1998). Lactic acid bacteria growth-promoters from *Spirulina platensis*. *Int. J. Food Microbiol.*, 45, 225-228.

- of salep, tragacantin and guar gums on the stabilisation of Iranian Doogh. *Iranian J. Nutrition Sci. Food Tech.*, 2 (2), 15-25.
- [26] AOAC, Association of official analytical chemists. (2005). Official methods of analysis. 18th ed. Arlington, VA, USA: AOAC 3RD rev.
- [27] Varga, L. J., Szigeti, R., Kovacs, T., Foldes, S., Buti (2002). Influence of a *Spirulina platensis* biomass on the microflora of fermented ABT milks during storage. *J. Dairy Sci.*, 85, 1031-1038.
- [28] Molnar, N., B. Gyenis and L. Varga (2005). Influence of a powdered *Spirulina platensis* biomass on acid production of lactococci in milk. *Milchwissenschaft*, 60, 380-382.
- [29] Sung, Y. I., Cho, J. R., Soon, Oh. N., Kim, Ch. K., Jin, In. m. (2004). Preparation and quality characteristics of curd yogurt added with *Chlorella*. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, 48(1), 60-64.
- [30] Azarikia, F., Abbasi, S. (2010). On the stabilization mechanism of Doogh (Iranian yoghurt drink) by gum tragacanth. *Food Hydrocolloid.*, 24, 358-363.
- [31] Gaucheron, F. (2000). Iron fortification in dairy industry. *Trends Food Sci. Technol.*, 11, 403-409.
- [32] Xia, S.H., Xu, S.H. (2005). Ferrous sulfate liposomes: preparation, stability and application in fluid milk. *Food Res. Int.*, 38, 289-296.
- [18] 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. *Eur. J. Experimental Bio.*, 3(3), 389-393.
- [19] Fadaei, V., Mazinani, S., Khosravi-Darani, K. (2013). Influence of *Spirulina platensis* powder on viability of *Lactococcus* strains in probiotic UF feta cheese containing *Mentha longifolia L.* *Int. J. Biol. Biotech.*, 10 (3), 475-478.
- [20] Liang, Sh., Liu, X., Chen, F., Chen, Z. (2004). Current microalgal health food R&D activities in china. *Hydrobiologia*, 512, 45-48.
- [21] Mahjor, N. (2012). Physical and sensory properties of traditional icecream fortified with *Spirulina platensis*. MSc Thesis, College of Agriculture, Tehran University of Engineering and Technology, Department of Food Engineering [in Persian].
- [22] Vosough, A. S., Khomeyri, M., Kashaninezhad, M., Seyed, M. J. (2009). Remove from marked Records Effects of mint extract on the viability of probiotic bacteria in a native Iranian dairy drink (Doogh). *J. Agr. Sci. Natural Res.*, 16(1), 156-164.
- [23] FAO, Fisheries and Aquaculture Circular. (2008). A review on culture, production and production and use *Spirulina* as food for humans and feeds for domestic animals and fish. No. 1034, FIMA/C1034, ISSN, 2070-6065.
- [24] Taheri, P., Ehsani, M. R., Khosravi-Darani K. (2009). Effects of *Lactobacillus acidophilus* La-5 on microbiological characteristics, sensory attributes and phase separation of Iranian Doogh drink during refrigerated storage. *Iranian J. Nutrition Sci. and Food Technol.*; 4 (3), 15-24.
- [25] Foroughinaia S, Abbasi S, Hamidi Esfahani Z. (2007). Effect of individual and combined addition