



مقاله علمی-پژوهشی

کاربرد صنعتی رنگدانه طبیعی خوراکی فیکوسیانیین مستخرج از سیانوباکتری *Spirulina platensis* در

تهیه بستنی با تاکید بر ویژگی های میکروبی و آنتی اکسیدانی

مهدیه سادات کاشی^۱، شکوفه غازی^۲، بهاره نوروزی^{۳*}

۱-دانش آموخته کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری های نوین، واحد علوم پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲-گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری های نوین، واحد علوم پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳-گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم و فناوری های همگرا، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله : تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۵/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۲	رنگدانه فیکوسیانیین مستخرج از سیانوباکتری <i>اسپیرولینا پلاتنسیس</i> به دلیل خواص منحصر به فرد، می تواند نقش مهمی در غنی سازی بستنی داشته باشد. در این مطالعه میزان پروتئین، چربی، قند کل، هوادهی، نقطه ذوب بستنی غنی شده با غلظت های متفاوت رنگدانه فیکوسیانیین تعیین شد. علاوه بر آن شمارش باکتری ها به همراه ارزیابی خاصیت آنتی اکسیدانی انجام گردید. همچنین آزمایش GC/MS جهت شناسایی ترکیبات فرار انجام گردید. نتایج حاصل از آزمایشات نشان داد که میزان چربی و قند کل، نقطه ذوب، ABTS و DPPH بستنی های غنی شده کاهش معناداری نسبت به کنترل داشته است. همچنین میزان پروتئین، هوادهی، FRAP و به افزایش معناداری نسبت به کنترل داشته است. ارزیابی حسی نیز تفاوت معناداری در طعم، مزه، رنگ و قوام بستنی نسبت به کنترل نداشته است جز حس بویایی که نسبت به کنترل کاهش داشته است. علاوه بر آن، هیچ نشانی از حضور <i>اشرشیا کلی</i>، <i>استافیلوکوکوس ارئوس</i> و <i>سالمونلا</i> در طی روزهای مختلف یافت نگردید. با این حال، حضور باکتری <i>کلی فرم</i> از روزهای ۴۲ تا ۵۶ در بستنی های غنی شده و کنترل مشهود بود. همچنین حضور باکترهای <i>کپک</i> و <i>مخمر</i> در طی روز های ۲۸ تا ۵۶ فقط در بستنی کنترل مشاهده گردید. میزان باکتری های <i>سرمادوست</i> از هفته ی ۲ تا هفته ۸ کاهش پیدا کرد. نتایج ترکیبات فرار حاصل از آزمایش GC/MS در بستنی شاهد و بستنی غنی شده با ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین نشان از حضور ترکیباتی با خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی دارد که نقش مهمی در ماندگاری و کیفیت بستنی دارد. امید است نتایج حاصل از این مطالعه، زمینه ساز توانمندسازی صنایع غذایی در استفاده از رنگدانه های حاصل از سیانوباکتری ها باشد.
کلمات کلیدی: رنگدانه فیکوسیانیین بستنی فعالیت آنتی اکسیدانی بار میکروبی ویژگی های آنتی اکسیدانی	
DOI: 10.22034/FSCT.21.149.54. * مسئول مکاتبات: Bahareh.nowruzi@srbiau.ac.ir	

۱- مقدمه

در سال های اخیر مسمومیت ها و عفونت های قابل انتقال از طریق مواد غذایی مهمترین موضوع برای محققین و دانشمندان بوده است و افراد جامعه نیز با توجه بیشتر به این بیماری ها خواستار دانش کافی و اطلاعات جدیدتری در زمینه برخورد با این بیماری ها هستند. محصولات بر پایه شیر نقش مهمی در حفظ رژیم روزانه بشر دارند چرا که منبع اصلی کلسیم، ویتامین D، فسفر، پتاسیم، منگنز، ریبوفلاوین و نایسین هستند [۱].

در بین فراورده های شیر می توان از بستنی نام برد. بستنی بنا به تعریف نیلس فراورده منجمد شیر که از سامانه پیچیده کف مانندی تشکیل شده که در آن حباب های کوچک هوا در فاز پیوسته ای که به طور جزئی منجمد شده است، پراکنده می باشند. در این فاز چربی به صورت امولسیون و قوام دهنده ها و مواد جامد بدون چربی به صورت کلونیدی وجود دارند. قندها و نمک ها یک محلول حقیقی را تشکیل می دهند. بستنی در بین گروه های سنی مختلف به ویژه کودکان از محبوبیت زیادی برخوردار است [۲].

این محصول منجمد بر طرفدار در سراسر جهان انواع زیادی دارد که از نظر مواد افزودنی و نحوه ساخت با هم تفاوت دارند [۳].

باکتری های متعددی به عنوان عامل بیماری زا مسئول اسهال، استفراغ، عفونت و مسمومیت های غذایی شناخته شده است [۴]. بستنی محصولی بر پایه شیر است که به دلیل محتوای مواد مغذی، pH مطلوب و نگهداری طولانی مدت حتی در حالت یخ زدگی نیز می تواند منبع خوبی برای رشد میکروبی باشد. کیفیت بستنی به عوامل مختلفی بستگی دارد که شامل مراحل و روش تولید و مواد مصرفی می شود. منابع اولیه آلودگی میکروبی بستنی می تواند عواملی چون آب و شیر خام باشد در حالی که منابع ثانویه شامل عوامل طعم دهنده، ظروف و جابجایی است [۵]. باکتری های پاتوژن در طول مدت تولید بستنی باعث آلودگی آن می شوند. از جمله باکتری های پاتوژن

که باعث آلودگی احتمالی محصولات غذایی از جمله شیر می شوند شامل استافیلوکوکوس ارئوس، کلی فرم، اشرشیاکلی، سالمونلا، باکتری سرما دوست و ... می باشند [۶]. سیانوباکتری ها که به عنوان جلبک سبز آبی نیز شناخته می شوند، شاخه ای از میکروارگانیسم ها هستند که با باکتری ها مرتبط هستند اما قادر به انجام فتوسنتز می باشند. به همین دلیل، سیانوباکتری ها عموماً در گروه ریزجلبک ها قرار می گیرند اگرچه اولی ها پروکاریوت ها هستند و اصطلاح جلبک باید به یوکاریوت ها محدود شود [۷].

در حال حاضر سیانوباکتری ها در مقیاس وسیعی کشت می شوند، که این نشان دهنده ارزش اقتصادی بالای این میکروارگانیسم ها به عنوان منبع پروتئین است که قادر به پاسخگویی به نیازهای رژیم غذایی انسان و همچنین به دست آوردن سایر محصولات مصرفی انسان است. امروزه استفاده صنعتی و تجاری از میکرو جلبک ها به عنوان مکمل های غذایی و آنتی اکسیدان ها، داروهای ضد التهاب، آنتی بیوتیک ها و سموم بسیار در حال توسعه است [۸].

اسپیرولینا جلبک سبز آبی، یکی از جنس های شاخه سیانوباکتری ها است که به دلیل غنی بودن از پروتئین (۵۰-۶۰٪)، آنتی اکسیدان ها، اسیدهای چرب ضروری و غیره به عنوان یک مکمل غذایی در سراسر جهان استفاده می شود [۹]. پتانسیل کاربرد فیکوسیانیین، که به طور کلی به عنوان ایمن شناخته می شود (GRAS)، نه تنها در فرمولاسیون صنایع آرایشی و بهداشتی بلکه در محصولات غذایی نیز مورد توجه قرار گرفته است [۱۰]. فیکوسیانیین های (رنگدانه غالب در اسپیریولینا) اسپیریولینا پلاتنسیس (*Spirulina platensis*) دارای خواص مهار انواع رادیکال های آزاد مضر از قبیل آلکوکسی، هیدروکسی و پراکسید بوده و با گذر زمان خاصیت مهار در آنها کاهش می یابد [۱۱]. فیکوسیانیین با داشتن سه خاصیت رنگ دهی، آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی قابلیت استفاده در

فرمولاسیون های مختلف غذایی مانند ماست، پنیر، بستنی و ... را دارد که استفاده و اثرات آن در تحقیقات مختلف به اثبات رسیده است [۱۲]. کاربردهای بالقوه اسپیرولینا پلاتنسیس به عنوان اجزا تشکیل دهنده غذایی برای بهبود خواص سلامتی بخش محصولاتمانند مکمل های غذایی، نوشیدنی ها و شیرینی های تخمیر شده، غلات و محصولات نانوائی، دسر ها، کیک ها و محصولات قنادی، بیسکویت ها، اسنک ها، سوپ ها، سس های سالاد و محصولات لبنی مانند بستنی، ماست، نوشیدنی های بر پایه لبنی و مانند این ها به کاررفته است [۱۳]. رنگدانه های مشتق شده از اسپیرولینا علیرغم پایدار نبودن رنگدانه های مصنوعی خود، مزایای بالقوه ای برای سلامتی در هنگام مصرف دارند [۱۴]. اسپیرولینا همچنین به دلیل وجود چندین ماده معدنی و ویتامین ها ارزشمند است. رایج ترین مواد معدنی گزارش شده شامل پتاسیم، کلسیم، منیزیم، سلنیوم، آهن، روی و غیره است. علاوه بر این، اسپیرولینا منبع غنی از ویتامین ها، به ویژه ویتامین های گروه B است. ویتامین های B هشت کوآنزیم منحصر به فرد محلول در آب هستند که نقش کلیدی در ترمیم DNA، انتقال الکترون، سنتز اسیدهای چرب و متابولیسم تک کربن ایفا می کنند.

فعالیت های آنتی اکسیدانی و ضد التهابی ریزجلبک ها می تواند نقش مهمی در سلامت انسان ایفا کند. اسپیرولینا آنزیم های آنتی اکسیدانی سلولی را فعال می کند، پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب DNA را مهار می کند، رادیکال های آزاد را از بین می برد و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز را افزایش می دهد [۱۶]. در راستای روند رو به افزایش رژیم غذایی و سبک زندگی سالم، مصرف کنندگان ترجیح خود را از افزودنی های مصنوعی به مواد طبیعی تغییر داده اند. رنگ های طبیعی از گیاهان، میوه ها یا حیوانات به دست می آیند و سپس استخراج و خالص می شوند. رنگدانه های طبیعی فعالیت های بیولوژیکی مفیدی را به عنوان آنتی اکسیدان ها و عوامل ضد سرطان نشان می دهد [۱۴].

طبق نظر محققان، بستنی با اینکه محصولی با خواص تغذیه ای و ارزش کالری زایی بالاست، اما مقادیر ترکیبات آنتی اکسیدانی و یا میزان فیبرهای تغذیه ای آن بسیار ناچیز می باشد که میتوان آن را با افزودن گیاهان و یا سبزیجات جبران نمود [۱۷]. ارزش اسپیرولینا به علت هضم آسان ناشی از فقدان سلولز در دیواره سلولی است. به علت قابلیت جذب بالای مواد مغذی به ویژه مواد معدنی، استفاده از این ریز جلبک در رژیم غذایی زنان باردار و افراد مبتلا به سوءتغذیه توصیه شده است. سازمان جهانی بهداشت از اسپیرولینا به عنوان برترین ماده غذایی بر روی زمین یاد کرده است و سازمان فضایی آمریکا از اسپیرولینا به عنوان غذای فشرده در سفره های فضایی استفاده می کند [۱۸]. تولید محصولی غنی از مواد غذایی می تواند زمینه ساز کاربردی شدن استفاده از رنگدانه خوراکی فیکوسیانیین برای افزایش کیفیت مواد غذایی باشد که نه تنها نوآورانه است، بلکه از لحاظ اقتصادی نیز بسیار مقرون به صرفه است. از طرف دیگر، از آنجایی که تا کنون تحقیقی در مورد استخراج، جداسازی و خالص سازی و همچنین ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی و خواص ضد میکروبی رنگدانه فیکوسیانیین و تاثیر آن بر روی بستنی در ایران انجام نگرفته است، هدف از مطالعه حاضر استفاده از رنگدانه طبیعی فیکوسیانیین جهت غنی سازی بستنی و افزایش فاکتورهای مغذی بستنی و مقایسه فاکتور های مغذی بستنی غنی شده با بستنی کنترل می باشد. نتایج حاصل از این تحقیق می تواند زمینه ساز معرفی رنگدانه های طبیعی خوراکی از سیانوباکتری ها با قابلیت استفاده در صنایع غذایی و افزایش ماندگاری محصولات لبنی از ایران تلقی گردد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد مصرفی

مواد بکار رفته در این مطالعه، محیط کشت مایع زاروک، بافر فسفات (pH 7/2)، بافر سدیم فسفات، اسید استیک، قرص رنت، معرف TPTZ (2,4,6-Tripyridyls-triazin)

محتوای فیکوسیانیین جمع آوری و سپس فریز درای شد [۲۰].

۲-۳- تهیه بستنی

برای تهیه بستنی، (۳ درصد) زرده تخم مرغ و (۱۶ درصد) قند نیشکر کاملاً مخلوط شد تا کف ایجاد شود. (۵/۵ درصد، ۴۴/۹ درصد و ۴۴/۳ درصد) شیر، ده درصد شیر بدون چربی و (۵/۰ درصد) ژلاتین در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد گرم شد. سپس مخلوط در زرده تخم مرغ و نیشکر ریخته شده و مخلوط به اسانس (۱۰ درصد) اضافه شد و در دمای ۸۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه پاستوریزه شد. مخلوط در حالیکه خمیر کرمی حاصله هنوز داغ باشد به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۱۵۰۰ rpm هموزن شد. سپس پودر رنگدانه در غلظت‌های مختلف (۰/۵، ۱ درصد و ۲ درصد) اضافه شد. مخلوط نهایی بستنی سپس در یخچال قرار گرفت و اجازه داده شد تا چربی شیر تا حدی متبلور شود و به پروتئین‌ها زمان هیدراته شدن داده شد. برای تولید بستنی تنها ۱۵ دقیقه زمان لازم است تا محصول نهایی به دست آید. بسته‌بندی بستنی بلافاصله پس از خارج کردن از یخچال و فریزر / بستنی‌ساز انجام شد. ذخیره سازی محصول در فریزر در دمای منفی هجده درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انجام شد.

، معرف گریس ۱ و ۲، معرف DPPH (۱۰۱ دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل) ، کاتالیزور(سولفات مس ، سولفات سدیم) ، اسید سولفوریک ، استن ۸۵٪ ، متانول، اسید کلریک ، معرف مونووانادات ، معرف پریودات سدیم ، معرف آمین هیدروکلراید ، معرف فنانترولین ، استاندارد سولفات منگنز ، استاندارد فرو آمونیوم سولفات ، کلروپتاسیم و محلول نیتروپروپوساید ۱۰ میلی مولار و... می باشد.

۲-۲- کشت سیانوباکتری اسپیرولینا و استخراج رنگدانه فیکوسیانیین

سیانوباکتری اسپیرولینا در محیط کشت مایع زاروک در اتاقک رشد با دمای $28 \pm 2^\circ\text{C}$ و روشنایی ممتد فلورسنت با شدت ۳۰۰ میکروانشتین در متر مربع در ثانیه برای سی روز کشت شد [۱۹] به منظور عصاره گیری ۵۰۰ میلی لیتر از محیط کشت ۱۴ روزه در ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ و رسوب حاصله با بافر فسفات (pH ۷/۲) شسته شد و لیوفیلیزه شد. دوگرم از بیومس فریز درای شده در ۵۰۰ میلی لیتر بافر سدیم فسفات (pH ۷/۲، ۰/۱ M) معلق شد. رنگدانه فیکوسیانیین با تکرار روش فریز کردن در منهای بیست درجه سانتیگراد و دوباره ذوب کردن در دمای اتاق و تاریکی استخراج شد. مخلوط حاصله در ۱۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد و در $5 \pm 0^\circ\text{C}$ سانتریفیوژ شد و

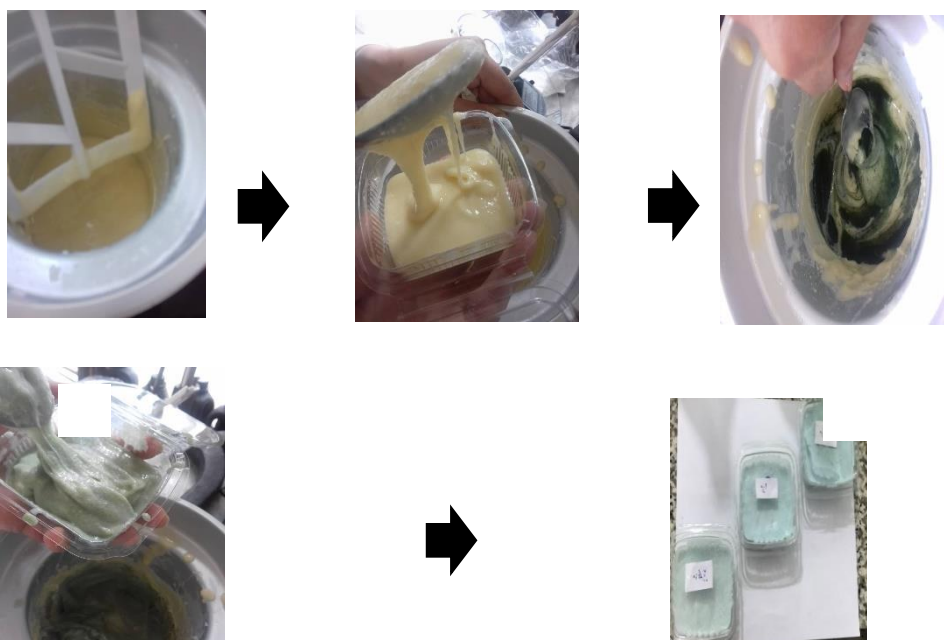


Fig.1 Putting ice cream ingredients in the ice cream maker (A), Shahid ice cream preparation (B), add concentrations of 0/5, 1% and 2% phycocyanin pigment to ice cream (C), Preparation ice creams and placing them in containers (D, E)

بستنی به دو روش حجمی و وزنی از طریق فرمول های زیر تعیین شد [۲۲].

(فرمول ۴)

$$\text{درصد هوای بستنی (براساس وزن)} = \frac{\text{وزن مخلوط بستنی} - \text{وزن بستنی آماده منجمد}}{\text{وزن بستنی آماده منجمد}} \times 100$$

(فرمول ۵)

اندازه گیری نقطه ذوب

برای اندازه گیری نقطه ذوب به روش میکرو، از لوله موئین و لوله تیل استفاده می شود. و با فرمول زیر به صورت درصد اندازه گیری گردید.

(فرمول ۶)

$$100 \times \frac{(\text{وزن ارن خالی} - \text{وزن بستنی شده}) - 30}{30} = \text{درصد مقاومت به ذوب}$$

۲-۵- تکنیک GC/MS و کاربرد آن در شناسایی ترکیبات

فرار بستنی

این آزمایش براساس روش Purge-Trap در دستگاه (GC/MS) انجام شد. با توجه اینکه نمونه های بستنی بافت متراکمی دارد و نمی توان در دستگاه GC بطور مستقیم تزریق کرد، ابتدا برای عصاره گیری نمونه ها را در داخل هاون با آب مقطر و حلال (۳ متیل هپتانول) کوبیده تا محلول همگن بدست آید و پس از سانتریفیوژ کردن سوپر ناتانت برداشته شد و عصاره شفافی بدست می آید به میزان ۲۰ برابر رقیق کرده به قسمت concentrator وارد شد و این قسمت با سیستم گاز کروماتوگرافی (GC) و طیف سنج جرمی (MS) مرتبط است. تفکیک ترکیبات فرار نمونه ها با استفاده از ستون HP INNOWax (60m× 0.25mm) با پوشش پلی اتیلن گلیکول انجام شد. سپس گاز حامل

۲-۴- ویژگی های شیمیایی نمونه بستنی تولید شده

۲-۴-۱- تعیین محتوای پروتئینی

تعیین محتوای پروتئینی طبق استاندارد ۱۳۴۸۳ ایران به روش کجگلدال در سه مرحله هضم، تقطیر و تیتراسیون انجام شد و با فرمول زیر به صورت درصد اندازه گیری گردید [۲۱].

$$\text{درصد هوای بستنی (براساس حجم)} = \frac{\text{درصد نیتروژن} \times 6.25}{\text{حجم مخلوط بستنی}} = \frac{\text{درصد پروتئین}}{\text{حجم بستنی آماده منجمد - حجم مخلوط بستنی}} \quad (\text{فرمول ۱})$$

محتوای چربی

محتوای چربی بستنی طبق استاندارد ۲۴۵۰ ایران به روش ژربر انجام شد. با استفاده از دستگاه چربی سنج ژربر یا بوتیرومتر انجام شد و با فرمول زیر به صورت درصد اندازه گیری گردید [۲۲].

(فرمول ۲)

$$100 \times \frac{\text{وزن بالن خالی} - \text{وزن بالن با چربی}}{\text{وزن نمونه خشک}} = \text{درصد چربی}$$

محتوای قند کل

اندازه گیری قند کل به روش فهلینگ بر اساس استاندارد ۲۶۸۵ ملی ایران (۱۳۸۵) انجام می شود. برای اینکار با بکارگیری محلولی از مراحل قبل، محلول اسید کلریدریک، محلول هیدروکسید سدیم غلیظ و محلول های فهلینگ و با فرمول زیر به صورت درصد اندازه گیری گردید [۲۳].

(فرمول ۳)

$$= \frac{100 \times 100 \times 100 \times \text{فاکتور فهلینگ}}{25 \times 25 \times \text{حجم مصرفی محلول}} \quad \text{قند کل}$$

میزان هوادهی

اندازه گیری میزان هوادهی یا افزایش حجم بستنی طبق استاندارد ۲۴۵۰ انجام شد. مقدار درصد افزایش حجم

شناسایی *سالمونلا* با استفاده از محیط کشت سالمونلا شیگلا آگار، بریلیانت آگار و بیسموت سولفیت آگار انجام گرفت [۲۷].

شناسایی باکتری های استافیلوس کوکوس اورئوس
جدا سازی و شمارش باکتری استافیلوس کوکوس اورئوس به روش کشت سطحی و با استفاده از محیط کشت برپارکر آگار انجام گردید. جهت تأیید کلنی های استافیلوس کوکوس اورئوس که بر روی محیط کشت برد پارکر رشد کرده بودند تست کواگولاز انجام شد [۲۸].

شناسایی باکتری های سرمادوست
تعداد باکتری های سرمادوست PTC^۱ که با واحد CFU بیان می شود و روش اندازه گیری آن بر اساس روش استاندارد APC با تکنیک کشت سطحی مطابق روش استاندارد شماره ۲۶۲۹ است [۲۹].

شناسایی مخمر و کپک
میزان آلودگی نمونه ها به کپک و مخمر با استفاده از روش کشت مخلوط و با استفاده از محیط کشت عصاره مخمر و دکستروز کلرا مغنیل آگار و گرمخانه در دمای ۲۵°C به مدت ۵ روز انجام گرفت [۳۰].

۲-۷- سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی
ارزیابی پتانسیل آنتی اکسیدانی به روش **آقدرت سنجش کاهش آهن (FRAP)**

برای اندازه گیری پتانسیل آنتی اکسیدانی از طریق **FRAP** از روش بنزی و استرین استفاده شد. در این روش از طریق کاهش آهن (Fe^{3+}) به آهن (Fe^{2+}) توسط آنتی اکسیدان های موجود در نمونه ها انجام شد. در این روش، غلظت های مختلف از محلول استاندارد یون آهن (Fe^{2+}) با استفاده از محلول ذخیره آهن ۱۰۰۰ میکرومولار تهیه شد. سپس، ۱/۵ میلیلیتر از محلول **FRAP** (محلول **TPTZ** و محلول $FeCl_3$) در یک لوله آزمایش ریخته شده و ۵۰ میکرولیتر از هر غلظت به لوله های مربوطه اضافه و ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری گردید و

هلیوم در شرایط ثابت یک میلی لیتر در دقیقه و به نسبت ۳۰:۱ در ۲۰۰°C تزریق شد. برنامه ریزی دمایی به این صورت که ابتدا دما به مدت ۷ دقیقه در ۳۲°C نگهداری و سپس افزایش دما از ۶°C تا ۲۲۰°C در دقیقه و سرانجام به مدت ۵ دقیقه در ۲۲۰°C نگهداری شد. مسیر انتقال (از گاز کروماتوگرافی به طیف سنج جرمی) در ۲۲۰°C انجام شد. عملیات آشکارسازی در حالت (3 scan/s) از ۱۹ تا ۲۵۰ amu (واحد جرم اتمی) و یونیزه شدن توسط یونیزاسیون الکترونیکی در ۷۰ eV انجام شد. داده ها پس از ثبت و تجزیه تحلیل توسط دستگاه بر روی رایانه Vectra XM 5.166PC نمایان شد [۲۴].

۲-۶- آنالیزهای میکروبیولوژی

شمارش تعداد کل باکتری ها
جهت شناسایی تعداد کل باکتری ها طبق استاندارد ۵۲۷۲-۱ ایران از روش کشت پورپلیت در محیط کشت پلیت کانت آگار و انکوباسیون به مدت ۷۲ ساعت و در دمای ۳۰°C انجام شد. بار میکروبی به صورت تعداد واحد های تشکیل دهنده کلنی cfu در هر گرم بیان شد.

شناسایی باکتری های اشرشیاکلی
جهت شناسایی اشرشیاکلی از روش MPN بر روی محیط کشت EC Broth استفاده شد. مقدار معینی از سوسپانسیون اولیه در محیط تلقیح شده در دمای ۳۳ درجه سانتی گراد تا مدت زمان ۴۱ ساعت گرمخانه گذاری شده و از نظر تولید گاز پس از ۹۴ و ۴۱ ساعت بررسی شد در صورت مشاهده- ی کدورت یا گاز در لوله حاوی محیط کشت مایع EC Broth تلقیح شد. سپس از نظر تست تولید اندول بررسی گردید [۲۵].

شناسایی باکتری های کلی فرم
شناسایی کلی فرم با استفاده از محیط کشت ویولت رد آگار (VRBA) به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C انجام شد. بار میکروبی به صورت تعداد واحد های تشکیل دهنده کلنی MPN در هر گرم بیان شد [۲۶].

شناسایی باکتری سالمونلا

3-[2,2-azinobis-(3-ethylbenzthiazolin-6sulfonate)]

1-psychrophili total count
2-1,1_diphenyl_2_picrylhydrazyl

سپس شدت رنگ حاصل در طول موج ۵۹۳ نانومتر در مقابل بلانک (۵۰ میکرولیتر حلال عصاره (آب یا متانول) + ۱/۵ میلی لیتر FRAP) خوانده شد و میزان FRAP در نمونه های مجهول بر اساس منحنی استاندارد محاسبه شد [۳۱].

سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی به روش به دام اندازی رادیکال آزاد ۱۰۱- دی فنیل ۲-پیکریل هیدرازیل (DPPH)

در این روش که بر اساس به دام اندازی رادیکال های آزاد ماده ای به نام ۲ و ۲-دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) استوار است، تغییر میزان رنگ محلول از بنفش به بی رنگ و در نتیجه تغییر جذب آن در اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر اساس اندازه گیری قرار گرفت. برای انجام این روش ابتدا یک میلی لیتر رنگدانه فیکوسیاینین با یک میلی لیتر DPPH ۰/۰۰۲ درصد متانول مخلوط گردید. بعد از انکوباسیون برای سی دقیقه در تاریکی در دمای اتاق، جذب در ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. آسکوربیک اسید به عنوان کنترل مثبت استفاده شد و از فرمول زیر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی ارزیابی شد. [۳۲]

(فرمول ۷)

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

ارزیابی خاصیت آنتی اکسیدانی به روش ABTS

رادیکال ABTS یک رادیکال پایدار صناعی بوده که با حساسیت بالا برای ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات مختلف به کار می رود. این روش بر مبنای احیاء رادیکال ABTS بوده که جذب بالایی در ۷۳۴ نانومتر دارد. این روش مستلزم تولید کروموفور ABTS در حضور یک اکسید کننده (معمولاً پتاسیم پر سولفات) است. برای این کار ابتدا کاتیون رادیکال با ترکیب محلول استوک ABTS ۷ میلی مولار با ۲/۴۵ میلی مولار پتاسیم پرسولفات ساخته

شد، سپس مخلوط حاصله برای ۴ تا ۱۶ ساعت باقی ماند تا واکنش کامل شود و جذب پایدار شد. محلول ABTS با اتانول رقیق شد و جذب در ۷۳۴ نانومتر خوانده شد. آزمون فوتومتریک در ۰/۹ میلی لیتر محلول ABTS و ۰/۱ میلی لیتر نمونه های تست انجام شد، ۴۵ ثانیه مخلوط شد و در ۷۳۴ نانومتر بعد از یک دقیقه خوانده شد. فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه ها با کاهش میزان جذب و معادلات مربوطه سنجیده شد. فعالیت آنتی اکسیدانی بر اساس روش زیر محاسبه شد [۳۳].

(فرمول ۸)

$$100 \times \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب نمونه شاهد}}{\text{جذب نمونه شاهد}} = \text{فعالیت حذف رادیکال های ABTS}$$

۲-۸- ارزیابی حسی

ارزیابی حسی بستنی براساس استاندارد ۴۹۳۷ ایران انجام گرفت. آزمون ارزیابی حسی به وسیله یک گروه ارزیاب نیمه ماهر آموزش دیده ۵ نفره انجام گرفت. فاکتورهای مورد بررسی در این آزمون شامل وضع ظاهری، بافت و شکل، عطر و طعم، رنگ و ظاهر، بافت و پذیرش کلی مخلوط های بستنی هستند و بر اساس یک طرح ارزیابی حسی ۵ نمره ای صورت گرفت [۳۴].

۲-۹- روش ها و ابزارهای تجزیه و تحلیل داده ها

آنالیزهای آماری داده های حاصل از هر آزمایش با نرم افزار SPSS (نسخه ۱۶) و Excel انجام شد. تمام داده ها حاصل از نتایج سه تکرار خواهد بود تفاوت معنی دار بین عوامل اندازه گیری شده با آنالیز واریانس یک طرفه با حدود اطمینان ۹۵ درصد و مقایسه میانگین ها با آزمون توکی انجام گردید و نتایج مربوط به مقایسه ها به صورت نمودار با برنامه Excel نشان داده می شود.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- نتایج حاصل از آنالیزهای فیزیکوشیمیایی بستنی غنی شده

رنگدانه فیکوسیانیین نسبت به کنترل با سطح اطمینان $P < 0/05$ کاهش داشته است، به طوری که میزان قند کل در غلظت ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین نسبت به کنترل ۱/۰۵ برابر کاهش یافته است. (شکل دو C)

میزان هوادهی بستنی غنی شده

نتایج حاصل از ارزیابی میزان هوادهی نشان داد، به طور معناداری میزان هوادهی در غلظت های ۰/۵٪، ۱٪ و ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین نسبت به کنترل با سطح اطمینان $P < 0/05$ افزایش داشته است، به طوریکه میزان هوادهی در غلظت ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین نسبت به کنترل ۰/۸۶ برابر افزایش یافته است. (شکل دو D)

میزان سرعت ذوب بستنی غنی شده

نتایج حاصل از ارزیابی میزان سرعت ذوب نشان داد که به طور معناداری میزان سرعت ذوب در غلظت های ۰/۵٪، ۱٪ و ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین نسبت به کنترل با سطح اطمینان $P < 0/05$ کاهش داشته است، به طوریکه میزان چربی در غلظت ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین نسبت به کنترل ۱/۰۲ برابر کاهش یافته است. (شکل دو E)

۳-۱-۱- محتوای چربی بستنی غنی شده

نتایج حاصل از ارزیابی محتوای چربی نشان داد، به طور معناداری میزان چربی در غلظت های ۰/۵٪، ۱٪ و ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین نسبت به کنترل با سطح اطمینان $P < 0/05$ کاهش داشته است، به طوریکه میزان چربی در غلظت ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین نسبت به کنترل ۱/۱۳ برابر کاهش یافته است. (شکل دو A)

محتوای پروتئینی بستنی غنی شده

نتایج حاصل از ارزیابی محتوای پروتئینی نشان داد، به طور معناداری میزان پروتئین در غلظت های ۰/۵٪، ۱٪ و ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین نسبت به کنترل با سطح اطمینان $P < 0/05$ افزایش داشته است، به طوریکه میزان پروتئین در غلظت ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین نسبت به کنترل ۰/۸۵ برابر افزایش یافته است. (شکل دو B)

محتوای قند کل بستنی غنی شده

نتایج حاصل از ارزیابی محتوای قند کل نشان داد، به طور معناداری میزان قند کل در غلظت های ۰/۵٪، ۱٪ و ۲٪

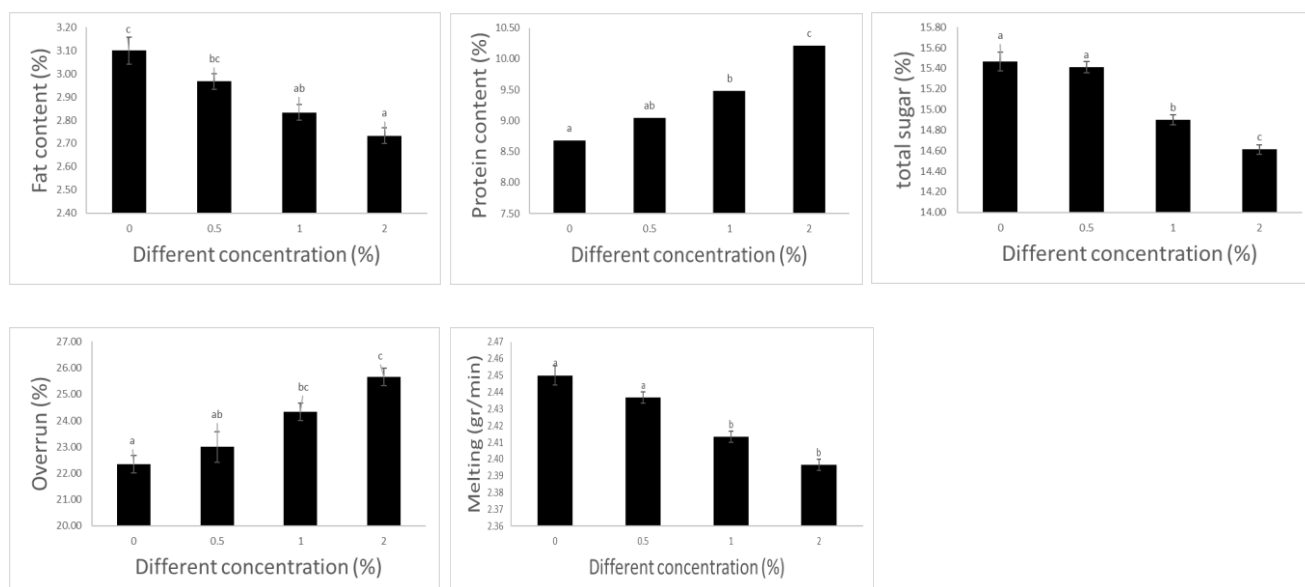


Fig.2. investigation of fat content (A), protein (B), total shugar (C) , overrun (D) and melting (E) fortified ice cream with phycocyanin pigment

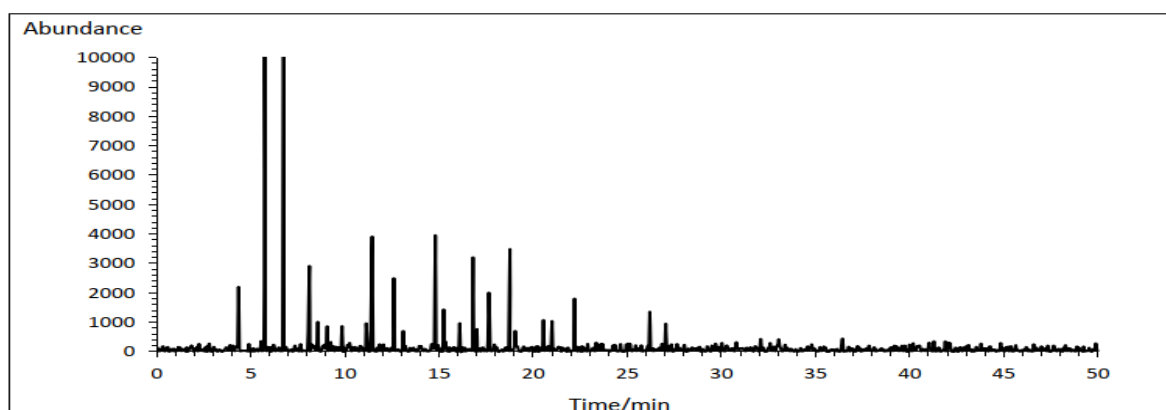
۳-۲- نتایج ارزیابی ترکیبات فرار بستنی توسط تکنیک

GC/MS

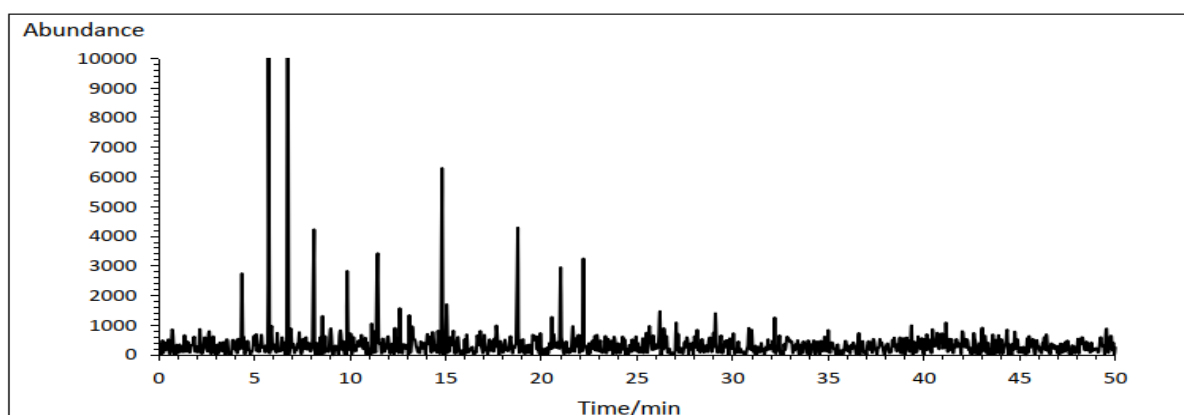
در این مطالعه طبقه بندی ترکیبات فرار مشترک در بستنی شاهد و بستنی غنی شده با ۲٪ غلظت رنگدانه فیکوسیانین شامل ۷ آلدهید، ۴ الکل، ۶ کتون، ۳ استر، ۲ آلکان، ۱ بنزن، ۱ هگزان، ۱ اسید می باشد. اسید آلدهید، هگزانال، ۳ متیل بوتانال، ۲ متیل بوتانال از گروه آلدهید، اتانول، ۳ متیل بوتانول، ۱ پنتانول از گروه الکل، اتیل استات، اتیل پروپیونات از گروه استر، تولوئن از گروه بنزن، دی متیل سولفون از گروه اسید، ۱ هگزان از گروه آلکان، استون، ۲ بوتانول از گروه کتون فراوانی بیشتری در بستنی شاهد دارند.

۳ متیل بوتانول، هگزانال از گروه آلدهید استون، ۲ بوتانول از گروه کتون، a- پینن از گروه ترپن، اتانول، ۳ متیل ۱ بوتانول، از گروه الکل، بیس متیل تیومتان از گروه هگزانال، اتیل استات از گروه استر، ۱ هگزان از گروه آلکان، تولوئن از گروه بنزن فراوانی بیشتری در بستنی غنی شده با ۲٪ غلظت رنگدانه فیکوسیانین دارند.

نونانال، ۶- متیل ۵- هپتن ۲- ۱-، a- پینن، n بوتانول ترکیبات فراری هستند که فقط در بستنی غنی شده با ۲٪ غلظت رنگدانه فیکوسیانین یافت شده و در بستنی شاهد وجود ندارند و همچنین n بوتانول از گروه الکل و a- پینن از گروه ترپن فراوانی بیشتری دارند. (جدول ۳)



Graph 1_ Frequency of volatile compounds in control ice cream in time (min)



Graph 2_ Frequency of volatile compounds of ice cream enriched with 2% phycocyanin pigment in time (min)

Tabel 1_ Volatile compounds of control ice cream extracted from gas chromatography mass spectrometry

Name of Compounds	Molecular Formula	Molecular Weight	RT(min)	Nature of Compounds	Abundance(%)
Acetaldehyde	CH ₃ CHO	44.05	4.35	Aldehyde	3.315076
Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	100.15888	22.2	Aldehyde	2.714409
3_Methylbutanal	C ₅ H ₁₀ O	86.13	14.81	Aldehyde	5.955264
3_methyl_1_butanole	C ₅ H ₁₂ O	88.148	18.77	Alcohol	5.247783
2_Butanone	C ₄ H ₈ O	72.11	11.45	Ketone	5.891043
2_Pentanone	C ₅ H ₁₀ O	86.13	16.1	Ketone	1.454777
Ethanol	C ₂ H ₅ OH	46.07	5.74	Alcohol	15.47327
Acetone	C ₃ H ₆ O	58.08	6.74	Ketone	23.55803
Bis(methylthio)methane	C ₃ H ₈ S ₂	108.23	8.12	Hexanal	4.38388
Methyl acetate	C ₃ H ₆ O ₂	74.08	8.56	Ester	1.523138
dimethyl sulfone	C ₂ H ₆ O ₂ S	94.14	9.06	Acid	1.30112
Isobutyraldehyde	C ₄ H ₈ O	11.72	9.85	Aldehyde	1.3067492
2 3-butanedione	C ₄ H ₆ O ₂	86.09	11,13	Ketone	1,448706
1-hexene	C ₆ H ₁₂	84,16	11,4	Alkan	2,726569
Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	88,11	12,6	Ester	3,760377
Isobutanol	C ₄ H ₁₀ O	74,12	13,1	Alcohol	1,059414
2-methylbutanal	C ₅ H ₁₀ O	86,13	15,25	Aldehyde	2,1599
1-hexene	C ₆ H ₁₂	84,16	16,81	Alkan	4,825948
Pentanal	C ₅ H ₁₀ O	86,13	17,02	Aldehyde	1,15374
Ethyl propionate	C ₆ H ₁₂	84,16	17,65	Ester	3,021329
2-hexanone	C ₆ H ₁₂ O	100,16	19,05	Ketone	1,618284
1-pentanol	C ₅ H ₁₂ O	88,15	20,55	Alcohol	1,618284
Toluene	C ₇ H ₈	92,14	21,01	Benzen	1,564111
2-heptanone	C ₇ H ₁₄ O	114,19	26,2	Ketone	2,043201
Heptanal	C ₇ H ₁₄ O	114,19	27,05	Aldehyde	1,431417

Table 2_ Volatile compounds of ice cream enriched with 2% concentration of phycocyanin pigment extracted from gas chromatography mass spectrometry

Name of Compounds	Molecular Formula	Molecular Weight	RT(min)	Nature of Compounds	Abundance(%)
Acetaldehyde	CH ₃ CHO	44.05	4.35	Aldehyde	3,669985
Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	100.15888	22,2	Aldehyde	4,340712
2_Butanone	C ₄ H ₈ O	72.11	11,45	Ketone	4,57819
alpha-Pinene	C ₁₀ H ₁₆	136,23	29,1	Terpene	1,872935
Ethanol	C ₂ H ₅ OH	46.07	5.74	Alcohol	14,05928
3_Methylbutanal	C ₅ H ₁₀ O	86,13	14,81	Aldehyde	8,417297
3_methyl_1_butanole	C ₅ H ₁₂ O	88.148	18,77	Alcohol	5,732798
n-butanol	C ₄ H ₁₀ O	74,12	15,05	Alcohol	2,277339
Acetone	C ₃ H ₆ O	58.08	6,74	Ketone	18,83208
Bis(methylthio)methane	C ₃ H ₈ S ₂	108.23	8,12	Hexanal	5,652246
Methyl acetate	C ₃ H ₆ O ₂	74,08	8,56	Ester	1,750601
dimethyl sulfone	C ₂ H ₆ O ₂ S	94.14	9,06	Acid	0,424906
Isobutyraldehyde	C ₄ H ₈ O	۱۱,۷۲	9,85	Aldehyde	3,78157
2 3-butanedione	C ₄ H ₆ O ₂	86.09	11,13	Ketone	1,408533
1-hexene	C ₆ H ₁₂	84,16	16,81	Alkan	1,073748
Ethyl propionate	C ₅ H ₁₀ O	102,13	17,65	Ester	1,322523
1-hexene	C ₆ H ₁₂	84,16	11,4	Alkan	3,338512
2-pentanone	C ₅ H ₁₀ O	86,13	16,1	Ketone	0,918915
Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	88,11	12,6	Ester	2,101259
Isobutanol	C ₄ H ₁₀ O	74,12	13,1	Alcohol	1,789126
2-methylbutanal	C ₅ H ₁₀ O	86,13	15,25	Aldehyde	0,800746
1-pentanol	C ₅ H ₁₂ O	88,15	20,55	Alcohol	1,705805
Pentanal	C ₅ H ₁₀ O	86,13	17,02	Aldehyde	0,902051
2-hexanone	C ₆ H ₁₂ O	100,16	19,05	Ketone	0,702598

Toluene	C7H8	92,14	21,01	Benzen	3,946342
2-heptanone	C7H14O	114,19	26,2	Ketone	1,962821
Heptanal	C7H14O	114,19	27,05	Aldehyde	1,457009
6-methyl-5-hepten-2-one	C8H14O	126,20	30,04	Keton	0,97138
Nonanal	C9H18O	142,24	35,35	Aldehyde	0,208693

Table 3_Volatile compounds enriched only in ice cream with 2% concentration of phycocyanin pigment extracted gas chromatography mass spectrometry

Name of Compounds	Molecular Formula	Molecular Weight	RT(min)	Nature of Compounds	Abundance(%)
Nonanal	C9H18O	142,24	35,35	Aldehyde	0,208693
6-methyl-5-hepten-2-one	C8H14O	126,20	30,04	Keton	0,97138
alpha-Pinene	C10H16	136,23	29,1	Terpene	1,872935
n-butanol	C4H10O	74,12	15,05	Alcohol	2,277339

های ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیل نسبت به کنترل به ترتیب ۱/۰۴ ، ۰/۱۳ ، ۱/۱۷ و ۱/۱۷ برابر کاهش یافت. (شکل چهار A). نتایج حاصل از شمارش باکتری های کلی فرم در بستنی غنی شده

هیچ نشانی از کلی فرم در روزهای یکم ، چهاردهم و بیست و هشتم مشاهده نشد. میزان کلی فرم در روز چهل و دوم در غلظت ۰/۵٪ نسبت به کنترل ۳/۶ برابر کاهش یافت. میزان کلی فرم در روز پنجاه و ششم در غلظت ۱٪ نسبت به کنترل ۵/۱۳ برابر کاهش یافته است. (شکل چهار B).

۳-۴- نتایج حاصل از آنالیزهای میکروبی بستنی غنی شده
۳-۴-۱- نتایج حاصل از شمارش تعداد کل باکتری ها در بستنی غنی شده

نتایج حاصل از شمارش تعداد کل باکتری ها نشان داد که میزان کل باکتری ها در روز یکم در غلظت ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیل نسبت به کنترل تفاوت معناداری ندارد، اما به طور معناداری میزان کل باکتری ها در روزهای چهاردهم ، بیست و هشتم ، چهل و دوم و پنجاه و ششم غلظت

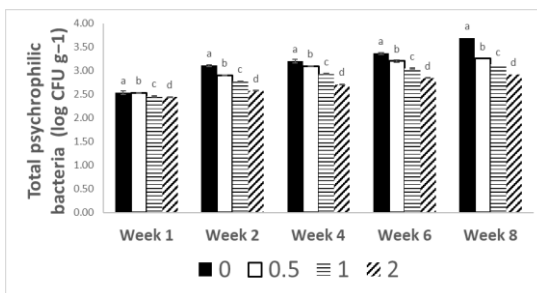
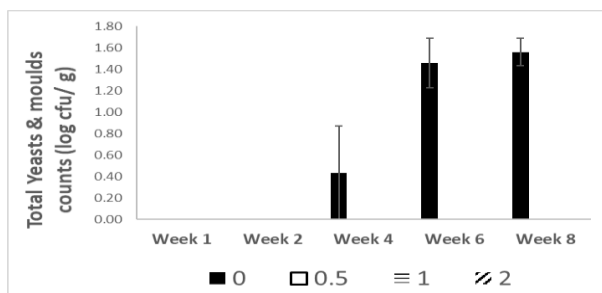
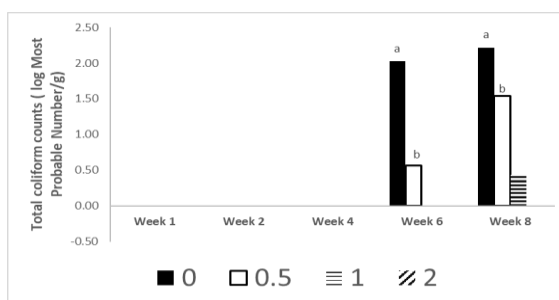
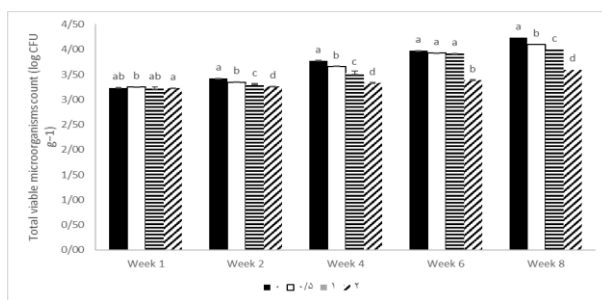


Fig.4. the effect of different concentrations of the phycocyanin pigment reducing the total number of bacteria (A) , coliforms(B), yeasts & moulds (C) and psychrophilic (D) in ice cream on the 1,3,7,14,21 days

طور معنا داری افزایش یافته است ، به طوری که میزان پتانسیل آنتی اکسیدانی در غلظت ۲٪ در روزهای یکم ، چهاردهم ، بیست و هشتم ، چهل و دوم و پنجاه و ششم به ترتیب ۰/۷۱ ، ۰/۷۵ ، ۰/۶۶ ، ۰/۶۳ و ۰/۵۴ برابر نسبت به کنترل افزایش یافته است . (شکل پنج A)

نتایج سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH
نتایج حاصل از ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH نشان داد ، که میزان فعالیت آنتی اکسیدانی به طور معنا داری در روزهای یکم ، چهاردهم ، بیست و هشتم ، چهل و دوم و پنجاه و ششم در غلظت های ۰/۵٪ ، ۱٪ ، ۲٪ و ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین نسبت به کنترل با سطح اطمینان $P<0/05$ کاهش یافته است ، به طوریکه میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در روزهای یکم ، چهاردهم ، بیست و هشتم ، چهل و دوم و پنجاه و ششم در غلظت ۲٪ به ترتیب ۱/۴۳ ، ۱/۵۲ ، ۱/۵۲ ، ۱/۷ و ۲/۰۷ برابر نسبت به کنترل کاهش یافته است . (شکل پنج B)

نتایج اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی به روش ABTS
نتایج حاصل از ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی به روش ABTS نشان داد ، که میزان فعالیت آنتی اکسیدانی به طور معنا داری در روزهای یکم ، چهاردهم ، بیست و هشتم ، چهل و دوم و پنجاه و ششم در غلظت های ۰/۵٪ ، ۱٪ ، ۲٪ و ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین نسبت به کنترل با سطح اطمینان $P<0/05$ کاهش یافته است ، به طوریکه میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در روزهای یکم ، چهاردهم ، بیست و هشتم ، چهل و دوم و پنجاه و ششم در غلظت ۲٪ به ترتیب ۱/۳۱ ، ۱/۴۸ ، ۱/۶۷ ، ۱/۸۴ و ۲ برابر نسبت به کنترل کاهش یافته است . (شکل پنج C)

نتایج حاصل از شمارش اشرشیا کلی ، استافیلوکوکوس ارئوس و سالمونلا در بستنی غنی شده
هیچ نشانی از باکتری های اشرشیا کلی و استافیلوکوکوس ارئوس و سالمونلا در روزهای یکم ، چهاردهم ، بیست و هشتم ، چهل و دوم و پنجاه و ششم در غلظت های ۰/۵٪ ، ۱٪ و ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین یافت نگردید .

نتایج حاصل از شمارش باکتری های سرما دوست
نتایج حاصل از شمارش تعداد باکتری های سرما دوست نشان داد که میزان باکتری های سرما دوست در روز یکم تفاوت معناداری ندارد . میزان باکتری های سرما دوست به طور معناداری در روز های ، چهاردهم ، بیست و هشتم ، چهل و دوم و پنجاه و ششم نسبت به کنترل به ترتیب ۱/۲۱ ، ۱/۱۸ ، ۱/۱۸ و ۱/۲۶ برابر کاهش یافت . (شکل چهار D).

نتایج حاصل از شمارش مخمر و کپک
هیچ نشانی از کپک و مخمر در روز های یکم و چهاردهم یافت نگردید ، میزان کپک و مخمر در روز چهل و دوم و پنجاه و ششم به ترتیب در کنترل به ترتیب برابر ۰/۴۳ و ۱/۵۶ می باشد . (شکل چهار C).
۳-۵ - نتایج حاصل از آنالیز های آنتی اکسیدانی بستنی غنی شده

۳-۵-۱ - نتایج اندازه گیری پتانسیل آنتی اکسیدانی به روش FRAP

نتایج حاصل از ارزیابی میزان پتانسیل آنتی اکسیدانی به روش FRAP نشان داد ، که در یکم ، چهاردهم ، بیست و هشتم ، چهل و دوم و پنجاه و ششم میزان پتانسیل آنتی اکسیدانی در غلظت های ۰/۵٪ ، ۱٪ ، ۲٪ و ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین نسبت به کنترل با سطح اطمینان $P<0/05$ به

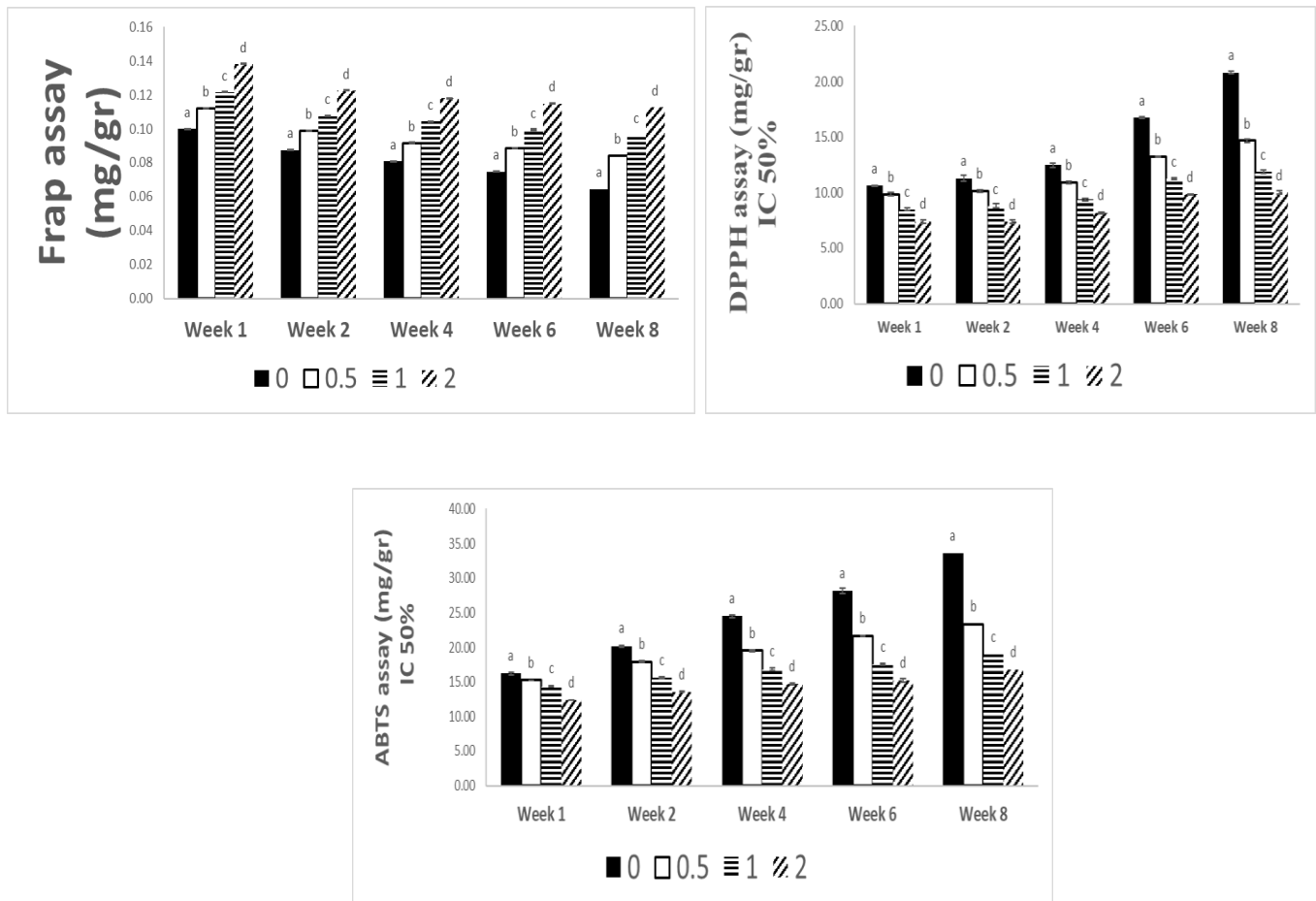


Fig.5. assessment of FRAP(A),DPPH(B) and ABTS (C) in fortified ice cream with phycocyanin pigment .

٪ و کنترل با سطح اطمینان $P < 0/05$ کاهش یافته است ، تفاوت معنا داری در پذیرش کلی غلظت های ۰/۵ ، ٪ ، ۱ و ٪ ۲ رنگدانه فیکوسیانیل نسبت به کنترل با سطح اطمینان $P < 0/05$ نداشته است. در واقع میزان رضایت با افزایش غلظت فیکوسیانیل منجر به کاهش رضایت از بو و پذیرش کلی شد. (شکل شش)

۳-۶- نتایج حاصل از ارزیابی حسی بستنی غنی شده
نتایج حاصل از ارزیابی حسی در بستنی غنی شده با رنگدانه فیکوسیانیل نشان داد تفاوت معنا داری در ارزیابی طعم و مزه ، رنگ ، بو ، بافت و قوام بستنی در غلظت های ۰/۵ ، ٪ ، ۱ و ٪ ۲ رنگدانه فیکوسیانیل نسبت به کنترل با سطح اطمینان $P < 0/05$ نداشته است. به طور معنا داری ارزیابی بو در غلظت ۲٪ نسبت به غلظت ۰/۵

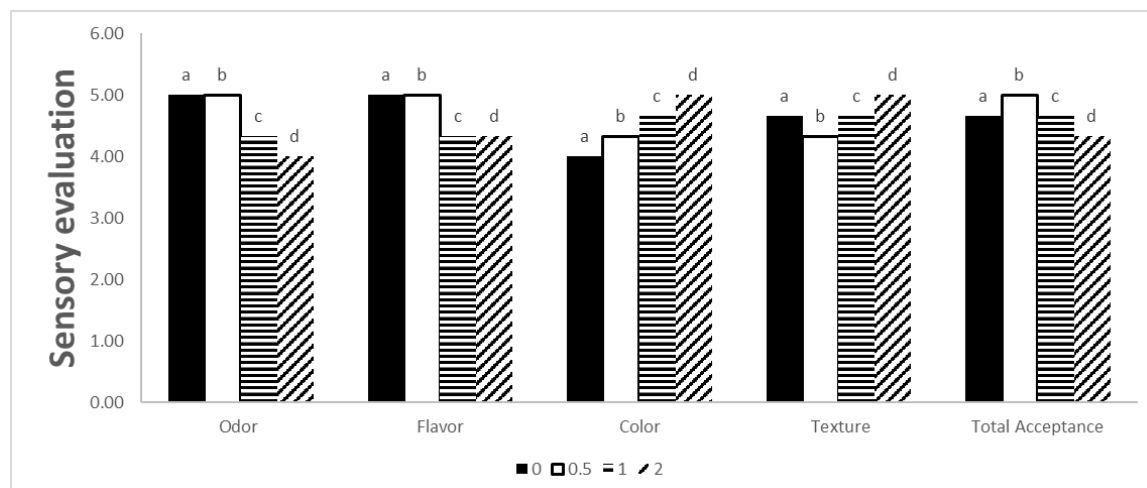


Fig.6. sensory evaluation of phycocyanin pigment enriched ice cream.

طبق مطالعات انجام گرفته بر روی ۱۴۴ نمونه بستنی سستی در شهرستان ارومیه مشخص گردید میزان آلودگی بستنی بسیار بالا بوده و تولیدات ۷۸٪ مراکز تهیه و توزیع بستنی سستی ارومیه آلودگی باکتریایی بیش از حد مجاز 10^7 cfu/g $\times 10^4$ داشتند [۴۰]. در مجموع تعداد $37/08$ ٪ از بستنی های مورد آزمایش در شهرهای اطراف شیراز از نظر شمارش کلی باکتری بیش از حد مجاز (استاندارد ملی ایران) گزارش شده است [۴۱]. استافیلوکوکوس اورئوس یکی از شایع ترین عوامل اتیولوژیک بیماری های باکتریایی محسوب می شود. مسمومیت غذایی توسط این باکتری به عنوان سومین علت مسمومیت غذایی سراسر جهان ذکر شده است [۴۲]. استافیلوکوکوس اورئوس یکی از شایع ترین علل بیماری های ناشی از غذا در ایالات متحده است [۴۳]. در لیبی ۱۹٪ بستنی های مورد بررسی به استافیلوکوکوس اورئوس آلوده بودند که این آلودگی در بستنی های غیرپاستوریزه و بسته بندی شده با هم تفاوت معنی داری نداشت [۴۴].

در تحقیقات بعضی از محققین درصد های بالاتری از آلودگی به این باکتری به ترتیب ۵۷٪ (۲) و ۳۶/۶٪ [۴۵] گزارش گردیده است. در سایر کشور ها نیز بررسی هایی

بستنی یکی از محصولات لبنی منجمد پرفشار در سرتاسر جهان است که نوعی امولسیون غذایی پیچیده با کریستال های یخ، چربی پراکنده و سلول های هوا، ساختارهای پروتئینی-هیدروکلوئیدی و یک فاز آبی منجمد نشده است. انواع زیادی از بستنی ها وجود دارد که از نظر مواد افزودنی و نحوه ساخت با هم تفاوت دارند [۳۵]. محصولات لبنی از جمله بستنی یکی از محصولات غذایی است که می تواند به عنوان ماده ای برای انتقال باکتری های پاتوژن عمل کند [۳۶]. از جمله باکتری های پاتوژن که باعث آلودگی احتمالی محصولات غذایی از جمله شیر می شوند شامل استافیلوکوکوس اورئوس، کلی فرم، اشرشیاکلی، سالمونلا، باکتری سرما دوست و ... می باشند. این باکتری ها باعث بسیاری از مسمومیت های غذایی و بیماری های انسانی می شوند [۳۷].

آلودگی بستنی با استافیلوکوکوس اورئوس از طریق آلودگی شیر خام و یا نگهداری غیر صحیح آن صورت می گیرد. این باکتری قادر است انتروتوکسین تولید کند که باعث مسمومیت غذایی می شود [۳۸]. توزیع و شیوع استافیلوکوکوس اورئوس در انواع مواد غذایی یک تهدید بسیار مهم برای مواد غذایی است [۳۹].

بررسی که بهبانی و همکاران بر روی میزان آلودگی میکروبی بستنی های تهران داشتند آلودگی با کپک را در ۷۳٪ بستنی های سستی تهران گزارش کردند [۵۴]. بررسی هایی که بر روی بستنی های شهر بعقوبه عراق انجام گرفت نشان داد این بستنی ها عاری از کپک و مخمر بودند [۵۵]. گزارش بارمن و همکاران بر روی بستنی های شهر کلکته مشخص کرد تعداد زیادی از قارچ و مخمر را از $10^2 \times 75$ ۱/ به $10^4 \times 1/95$ cfu/g نشان دادند [۵۶]. در مطالعه ای که در نیجریه انجام گرفت، آلودگی به انواع کپک در نمونه های بستنی مورد مطالعه مشاهده شد [۵۷].

باکتری های سرمادوست در فساد مواد غذایی مثل گوشت، مرغ، ماهی و محصولات لبنی نقش داشته و در دمای نزدیک به صفر نیز تکثیر و رشد می کنند [۵۸]. در تحقیقات فلاح راد و همکاران مشخص گردید باکتری های آلوده کننده شیرخام در مشهد بیشتر از نوع باکتری های سرما دوست بوده است [۵۹]. مطالعه انجام شده روی بستنی در کشور نیجریه نشان داد که بستنی های مورد بررسی به باکتری های سرمادوست از جنس سودوموناس، آلوده بودند [۶۰]. مطالعه ای در سوئد برای مشخص کردن عوامل فساد شیر خام و پاستوریزه، انجام گرفت مشخص شد باکتری های اصلی ایجاد فساد در شیرخام از گونه های باکتری های سرما دوست هستند [۶۱]. چنانچه در تهیه و توزیع این فرآورده، شرایط پاستوریزاسیون و بهداشت فردی بطور کامل رعایت نگردد، بستنی تولید شده توسط باکتری های مختلف آلوده خواهد شد و به دنبال آن مشکلات متعدد اقتصادی و بهداشتی را در سطح جامعه ایجاد می نماید [۶۲]. در سال های اخیر، افزایش بی سابقه ای در تقاضا برای محصولات لبنی تخمیر شده به دلیل توصیه های پزشکی و تغییر سبک زندگی وجود داشته است [۶۳]. فیکوسیانیل با داشتن سه خاصیت رنگ دهی، آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی قابلیت استفاده در

صورت گرفته است به طور مثال در ترکیه ۵۵٪ نمونه های بستنی به استافیلوکوکوس ارئوس آلوده بودند [۴۶]. و یا در مطالعه ای که در شهر سنگال انجام گرفت ۴۵٪ نمونه های بستنی به استافیلوکوکوس ارئوس آلوده بودند [۴۷]. شیر و فراوره های آن در بعضی شرایط موجب رشد عوامل بیماری زا از جمله اشرشیا کلی که مهمترین آلوده کننده مواد غذایی است می گردند [۴۸]. بر اساس تحقیقات انجام شده عفونت های مربوط به اشرشیا کلی متداولترین نوع عفونت های غذایی را تشکیل می دهد. (۲) اشرشیا کلی تولید کننده سم شیکا STEC به عنوان یک پاتوژن توسط مواد غذایی منتقل می شود که باعث علائمی چون اسهال و یا اسهال خونی همراه است [۴۹]. طبق گزارش صالحیان و همکاران در شهر ساری میزان آلودگی بستنی سستی به این باکتری را ۵۲٪ گزارش کردند [۵۰]. این مطالعه نشان می دهد فراوانی گونه های باکتریایی جدا شده از بستنی ها مربوط به اشرشیاکلی ۵۰ درصد است که نشان دهنده ی اقدامات بهداشتی ضعیف در طول تولید و پس از فرآیند تولیدات است.

سالمونلا یکی از عمده ترین دلایل مسمومیت های غذایی است. عفونت سالمونلا باعث عوارض و مرگ و میر در سراسر جهان می شود. باکتری این بیماری می تواند به صورت فعال در بدن دام و همچنین در بدن انسان زندگی کند [۵۱]. همچنین در بررسی بستنی های سستی شهر ارومیه مشخص شد ۴۰٪ از نمونه های مورد بررسی به سالمونلا آلوده بودند [۵۲]. رشد کپک در محصولات لبنی باعث خسارت اقتصادی از طریق تضعیف بافت تغییر رنگ عطر و طعم می شود. نگرانی جدی تر این است که برخی کپک ها قادر به تولید مایکوتوکسین (mycotoxin) نظیر آفاتوکسین (Alfatoxin) پاتولین (patulin) و سیتترین (citrinin) می باشند که برخی از این سموم مانند آفاتوکسین سرطان زا شناخته شده اند [۵۳]. در

فرمولاسیون های مختلف غذایی مانند ماست، پنیر، بستنی و ... را دارد که استفاده و اثرات آن در تحقیقات مختلف به اثبات رسیده است [۱۲].

در مطالعه حاضر با اضافه نمودن غلظت های ۰/۵٪، ۱٪، ۲٪، رنگدانه فیکوسیانیین اسپیرولینا به بستنی میزان استافیلوکوکوس ارئوس و اشرشیا کلی و سالمونلا و کپک و مخمر منفی و مشاهده نشد. میزان شمارش کلی فرم ها، باکتری سرما دوست و و شمارش کلی باکتری ها نسبت به کنترل کاهش یافته است. در مطالعه ای در سال ۲۰۲۱ خاصیت ضد باکتریایی بالایی را برای رنگدانه فیکوسیانیین اسپیرولینا در مورد استافیلوکوکوس ارئوس گزارش کردند [۶۴].

در این مطالعه در روز یکم (۱) میزان شمارش تعداد کل باکتری ها در نمونه شاهد و غلظت های ۰/۵٪، ۱٪، ۲٪، رنگدانه فیکوسیانیین اسپیرولینا تفاوت معناداری ندارد. در روز چهاردهم (۱۴) میزان شمارش تعداد کل باکتری ها در نمونه شاهد ۳/۴۲ می باشد با اضافه نمودن رنگدانه فیکوسیانیین اسپیرولینا میزان شمارش تعداد کل کاهش یافته است. به ترتیب میزان شمارش تعداد کل باکتری ها در غلظت های ۰/۵٪، ۱٪، ۲٪ برابر با ۳/۳۵ و ۳/۳۱ و ۳/۲۶ می باشد. در روز بیست و هشتم (۲۸) میزان شمارش تعداد کل باکتری ها در نمونه شاهد ۳/۷۷ می باشد با اضافه نمودن رنگدانه فیکوسیانیین اسپیرولینا میزان شمارش تعداد کل باکتری ها کاهش یافته است. به ترتیب میزان شمارش تعداد کل باکتری ها در غلظت های ۰/۵٪، ۱٪، ۲٪ برابر با ۳/۶۶ و ۳/۵۳ و ۳/۳۳ می باشد. در روز چهل و دوم (۴۲) میزان شمارش تعداد کل باکتری ها در نمونه شاهد ۳/۹۷ می باشد با اضافه نمودن رنگدانه فیکوسیانیین اسپیرولینا میزان شمارش تعداد کل باکتری ها کاهش یافته است. میزان شمارش تعداد کل باکتری ها در غلظت ۲٪ برابر با ۳/۳۹ می باشد. در روز پنجاه و ششم

(۵۶) میزان شمارش تعداد کل باکتری ها در نمونه شاهد ۴/۲۳ می باشد با اضافه نمودن رنگدانه فیکوسیانیین اسپیرولینا میزان شمارش تعداد کل باکتری ها کاهش یافته است. به ترتیب میزان شمارش تعداد کل باکتری ها در غلظت های ۰/۵٪، ۱٪، ۲٪ برابر با ۴/۱۰ و ۳/۹۹ و ۳/۵۹ می باشد. مشابه مطالعات تکیار و همکاران [۶۵] افزودن رنگدانه فیکوسیانیین اسپیرولینا اثر مهاری بر تعداد کلی میکروبی داشته است.

در این مطالعه در روز های یکم (۱) و چهاردهم (۱۴) و بیست و هشتم (۲۸) و تعداد کلی فرم ها در نمونه شاهد و غلظت های ۰/۵٪، ۱٪، ۲٪، رنگدانه فیکوسیانیین اسپیرولینا منفی و مشاهده نشد. در روز چهل و دوم (۴۲) تعداد کلی فرم در نمونه شاهد ۲/۰۲ می باشد و با اضافه نمودن رنگدانه فیکوسیانیین اسپیرولینا میزان شمارش تعداد کلی فرم ها کاهش یافته است و در نمونه هایی با غلظت ۱٪ و ۲٪ منفی و مشاهده نشد و فقط در نمونه ۰/۵٪ برابر ۰/۵۶ می باشد. در روز پنجاه و ششم (۵۶) میزان شمارش تعداد کلی فرم ها در نمونه شاهد ۲/۲۱ می باشد که با اضافه نمودن رنگدانه فیکوسیانیین اسپیرولینا میزان شمارش تعداد کلی فرم ها کاهش یافته است. به ترتیب میزان شمارش تعداد کلی فرم ها در غلظت های ۰/۵٪ و ۱٪ برابر با ۱/۵۳ و ۰/۴۳ می باشد و در غلظت ۲٪ منفی و مشاهده نشد. مشابه نتایج تحقیقات خردمند و خندقی (۲۰۲۱) اثر مهاری بر کلی فرم ها داشته است [۶۶].

در مطالعه حاضر تعداد اشرشیا کلی در تمام غلظت های ۰/۵٪، ۱٪، ۲٪، رنگدانه فیکوسیانیین اسپیرولینا منفی و مشاهده نشد. زنگنه و همکاران در سال ۲۰۲۲ تاثیر مهاری غلظت های مختلف اسپیرولینا بر رشد باکتری اشرشیا کلی را گزارش دادند [۶۷]. در مطالعه حاضر تعداد سالمونلا در تمام غلظت های ۰/۵٪، ۱٪، ۲٪، رنگدانه فیکوسیانیین اسپیرولینا منفی و مشاهده نشد. مشابه نتایج تحقیقات

و همکاران اثر مهارى بر باکترى هاى سرما دوست داشته است [۶۹].

در مطالعه حاضر تعداد کپک و مخمر در روز هاى یکم (۱) و چهاردهم (۱۴) در تمام غلظت هاى ۰/۵٪، ۱٪، ۲٪ رنگدانه فیکوسیانین اسپیرولینا منفى و مشاهده نشد. در روز هاى بیست و هشتم (۲۸) و چهل و دوم (۴۲) و پنجاه و ششم (۵۶) شمارش کپک و مخمر فقط در نمونه شاهد و به ترتیب ۰/۴۳٪ و ۱/۴۵ و ۱/۵۶ مشاهده شد. مشابه مطالعات سوزا و همکاران (۲۰۱۱) با افزودن رنگدانه فیکوسیانین اسپیرولینا اثر مهارى بر کپک و مخمر داشته است [۷۰].

اسپیرولینا غنى از پروتئين بوده و به عنوان غذای کامل و فراسودمند قابل استفاده مى باشد [۷۱]. تاهامى و همکاران (۲۰۱۹) به بررسى تأثیر تغذیه اى اسپیرولینا بر خصوصيات پئیر فرایند شده پرداختند که نتایج نشان داد با افزایش تا ۶ درصدى اسپیرولینا خواصى مانند پروتئين افزایش مى یابد [۷۲]. در مطالعه حاضر پروتئين در بستنى شاهد ۸/۸۶٪ مى باشد، با افزودن غلظت هاى ۰/۵٪، ۱٪، ۲٪ رنگدانه فیکوسیانین اسپیرولینا میزان پروتئين به ترتیب ۹/۰۴٪ و ۹/۴۸٪ و ۱۰/۲۱٪ افزایش یافت. در نتیجه مى توان از آن در جهت افزایش پروتئين مواد غذایى (حاوى مقدار کم پروتئين مى باشند) استفاده لازم را برد. دى مارکو و همکاران (۲۰۱۴) در فرمولاسیون پاستا از جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس استفاده نمودند و میزان پروتئين در نمونه هاى غنى سازی شده افزایش معنی دار یافت [۷۳]. اسپیرولینا شامل اسیدهاى چرب ضرورى لینولئیک (LA)، گامالینولئیک (GLA) و اسید پالمیتیک مى باشد [۷۴]. GLA نقش مهمی در بهبود عملکرد بدن انسان دارد که یکی از غنى ترین منابع GLA ریزجلبک اسپیرولینا است [۷۵]. در مطالعه حاضر چربى در بستنى شاهد ۳/۱۰٪ مى باشد، با افزودن غلظت هاى ۰/۵٪، ۱٪، ۲٪

رسولى و همکاران (۲۰۱۷) اثر مهارى بر سالمونلا داشته است [۶۸]. در این مطالعه در روز یکم (۱) میزان شمارش تعداد باکترى هاى سرما دوست در نمونه شاهد و نمونه با غلظت ۰/۵٪ برابر ۲/۵۳ مى باشد با اضافه نمودن رنگدانه فیکوسیانین اسپیرولینا میزان شمارش تعداد باکترى هاى سرما دوست کاهش یافته است. به ترتیب میزان شمارش تعداد باکترى هاى سرما دوست در غلظت هاى ۱٪ و ۲٪ برابر با ۲/۴۶ و ۲/۴۴ مى باشد. در روز چهاردهم (۱۴) میزان شمارش تعداد باکترى هاى سرما دوست در نمونه شاهد ۳/۱۱ مى باشد. با اضافه نمودن رنگدانه فیکوسیانین اسپیرولینا میزان شمارش تعداد باکترى هاى سرما دوست کاهش یافته است. به ترتیب میزان شمارش تعداد باکترى هاى سرما دوست در غلظت هاى ۰/۵٪، ۱٪، ۲٪ برابر با ۲/۹۰ و ۲/۷۸ و ۲/۵۷ مى باشد. در بیست و هشتم (۲۸) میزان شمارش تعداد باکترى هاى سرما دوست در نمونه شاهد ۳/۲۰ مى باشد با اضافه نمودن رنگدانه فیکوسیانین اسپیرولینا میزان شمارش تعداد باکترى هاى سرما دوست کاهش یافته است. به ترتیب میزان شمارش تعداد باکترى هاى سرما دوست در غلظت هاى ۰/۵٪، ۱٪، ۲٪ برابر با ۳/۰۹ و ۲/۹۳ و ۲/۸۴ مى باشد. در روز چهل و دوم (۴۲) میزان شمارش تعداد باکترى هاى سرما دوست در نمونه شاهد ۳/۳۶ مى باشد با اضافه نمودن رنگدانه فیکوسیانین اسپیرولینا میزان شمارش تعداد باکترى هاى سرما دوست کاهش یافته است. به ترتیب میزان شمارش تعداد باکترى هاى سرما دوست در غلظت هاى ۰/۵٪، ۱٪، ۲٪ برابر با ۳/۲۰ و ۳/۰۵ و ۲/۸۴ مى باشد. در روز پنجاه و ششم (۵۶) میزان شمارش تعداد باکترى هاى سرما دوست در نمونه شاهد ۳/۶۸ مى باشد با اضافه نمودن رنگدانه فیکوسیانین اسپیرولینا میزان شمارش تعداد باکترى هاى سرما دوست کاهش یافته است. به ترتیب میزان شمارش تعداد باکترى هاى سرما دوست در غلظت هاى ۰/۵٪، ۱٪، ۲٪ برابر با ۳/۲۵ و ۳/۱۳ و ۳/۹۱ مى باشد. مشابه نتایج الشون جابر

۲/۴۵٪ می باشد، با افزودن غلظت های ۰/۵٪، ۱٪، ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین اسپیرولینا میزان سرعت ذوب به ترتیب ۲/۴۴٪ و ۲/۴۱٪ و ۲/۴۰٪ کاهش یافته است. صفری و همکاران گزارش کردند با اضافه نمودن فیکوسیانیین و پوشش های مالتودکسترین و کازئینات سدیم، درصد ذوب بستنی به طور معنی داری کاهش داشته است [۱۲].

آگوستینی و همکاران گزارش کردند حداقل میزان قند (ساکاروز) در بستنی باید ۸ درصد باشد، که قبل از افزودن اسپیرولینا پلاتنسیس این مقدار کاملاً بالا بود و پس از افزودن اسپیرولینا پلاتنسیس به بستنی تفاوت قابل توجهی در کاهش قند کل وجود داشت. نتایج نشان داد که افزودن ۱٪ و ۱.۲٪ اسپیرولینا پلاتنسیس اثر زیادی بر میزان قند کل داشته است و آن را به طور قابل توجهی کاهش داده است [۸۳]. در مطالعه حاضر قند کل در بستنی شاهد ۱۵/۴۷٪ می باشد، با افزودن غلظت های ۰/۵٪، ۱٪، ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین اسپیرولینا میزان قند کل به ترتیب ۱۵/۴۱٪ و ۱۴/۹۰٪ و ۱۴/۶۱٪ کاهش یافته است.

با توجه به این که آنتی اکسیدان های سنتزی اثرات نامطلوبی نظیر جهش زایی و سرطان زایی در بدن انسان دارند، به تدریج برخی از آنها از فهرست آنتی اکسیدان های مصرفی حذف شدند. بنابراین تهیه و تولید آنتی اکسیدان های طبیعی به عنوان جانشینی مناسب ضروری بوده که این امر سبب افزایش ارزش تغذیه ای آنها نیز می گردد [۸۴]. امروزه استفاده از گروه وسیعی از گیاهان دارویی و ترکیب های آروماتیک آن ها به عنوان منابع طبیعی که دارای خاصیت ضد اکسایشی هستند، مورد توجه محققین قرار گرفته است [۸۵]. بنابراین امروزه تحقیقات بر روی اسانس گیاهان به عنوان یک جایگزین مطمئن رو به پیشرفت است. در ایران و جهان نیز برای

رنگدانه فیکوسیانیین اسپیرولینا میزان چربی به ترتیب ۲/۹۷٪ و ۲/۸۳٪ و ۲/۷۳٪ کاهش یافته است. فارسی و همکاران گزارش کردند با افزودن اینولین (۲ درصد) و اسپیرولینا (۱ درصد) چربی در بستنی تا ۵۰ درصد کاهش یافت [۷۶].

هوا جزء مهمی در بستنی است. هوای موجود در بستنی بافت سبکی را در آن ایجاد می کند و بر خواص فیزیکی، ذوب و سختی آن تأثیر می گذارد [۷۷]. عوامل متعددی وجود دارد که بر رشد سلول های هوا در بستنی تأثیر می گذارد [۷۸]. آکسون (۲۰۰۹) اذعان داشت که افزودن ریز جلبک اسپیرولینا به بستنی موجب میشود تا در طول فرایند هموژنیزاسیون، حجم کف مخلوط بستنی افزایش یابد [۷۹]. [در مطالعه حاضر هوادهی در بستنی شاهد ۲۲/۳۳٪ می باشد، با افزودن غلظت های ۰/۵٪، ۱٪، ۲٪

رنگدانه فیکوسیانیین اسپیرولینا میزان هوادهی به ترتیب ۲۳٪ و ۲۴/۳۳٪ و ۲۵/۶۷٪ افزایش یافته است. نتایج حاصل از آنالیزهای فیزیکی مانند میزان هوادهی در بستنی که منجر به افزایش حجم خمیر بستنی به دلیل هوای گرفتار شده هنگام مخلوط کردن و یخ زدن در داخل بستنی ساز می شود، نشان داد که هوادهی بستنی با وجود پودر اسپیرولینا در مقایسه با هوادهی بدون افزودن پودر بیشتر است [۸۰]. [با توجه به نتایج ارزیابی ها، افزودن فیکوسیانیین سبب کاهش معنی دار ($p>0/05$) سرعت ذوب در غلظت های ۱/۵ و ۰/۲ درصد فیکوسیانیین، نسبت به بستنی شاهد شد [۸۱]. در همین راستا، مالیک و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که با جایگزینی پایدارکننده ها با اسپیرولینا در بستنی مقاومت به ذوب بستنی بهبود می یابد و مقاومت ذوب بستنی را از ۱۳ دقیقه در نمونه ی شاهد تا ۱۷/۸ دقیقه افزایش داده است. این امر به دلیل محتوی بالای پروتئین اسپیرولینا می باشد که با کمک کردن به پایدار شدن مولکول های هوا موجب افزایش مقاومت به ذوب بستنی می گردد [۸۲]. در مطالعه حاضر سرعت ذوب در بستنی شاهد

acetaldehyde butyl pentyl acetal, acetaldehyde dipentyl acetal, cycloheptasiloxane, tetradecamethyl, cyclooctasiloxane, hexadecamethyl, cyclononasiloxane, octadecamethyl, n-hexadecanoic acid tetracosamethyl-cyclododecasiloxane, بررسی ها نشان داد که cyclooctasiloxane, hexadecamethyl, cyclononasiloxane, octadecamethyl, behenic alcohol, n-butanol, butyl-cyclooctasiloxane دارای خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی و ضد ویروسی است [۸۸]. در مطالعه حاضر n-Butanol در بستنی غنی شده با ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین یافت شد.

Qureshi و همکاران در سال (۲۰۱۹) بر روی موضوع ترکیبات پلی فنلی کل، فلاونوئیدهای کل، تجزیه و تحلیل GC-MS ترکیبات فرار از زردآلودگی، فعالیت انتی اکسیدانی و ضد میکروبی اجیل *Prunus dulcis* تحقیق کردند. ترکیبات فرار در بخش های هگزان و کلروفرم اتانول عصاره کامل پوست بادام به ترتیب 1,1,3,3-Tetramethyl, cyclopentane, 6-Octadecenoic می باشند. نتایج نشان داد که فقط عصاره n-butanol فعالیت خفیفی در برابر باکتری گرم منفی *E. coli* از خود نشان داد و همچنین در تمام عصاره ها فعالیت انتی اکسیدانی بسیار کم نشان داده شد [۸۹]. در مطالعه حاضر n-Butanol در بستنی غنی شده با ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین یافت شد.

Fausto و همکاران در سال (۲۰۲۰) بر روی موضوع ترکیبات فیتوشیمیایی، آنتی اکسیدان، سیتوتوکسیک، و فعالیت های ضد میکروبی از عصاره اتانولی Brown Propolis از مکزیك تحقیق کردند. ترکیبات فرار اصلی شامل neryl alcohol, α -pinene, nonanal می باشند. مطالعه حاضر وجود آنتی اکسیدان و ضد میکروبی در Brown Propolis نشان داد [۹۰]. در مطالعه حاضر

بهبود عملکرد و پایداری محصولات مختلفی همچون بستنی این مواد مورد استفاده قرار می گیرد.

Li و همکاران در سال ۲۰۲۲ بر روی موضوع ترکیب و فعالیت ضد باکتریایی از اسانس Amomum tsao-ko بر اساس مناطق مختلف در GC-MS و GC-IMS تحقیق کردند. ترکیبات فرار شامل که ترپن ها و آلدئیدها گروه های اصلی بودند و ۱- α -سینول، -dec-(E) enal-۲، سیترال، α -Pinene و α -ترپینول می باشند. اسانس Amomum tsao-ko خاصیت ضد میکروبی قوی نشان دادند. در ضمن فعالیت علیه *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) و حداقل غلظت مهاری و حداقل غلظت باکتری کشی را نشان داد. در مطالعه حاضر α -pinen در بستنی غنی شده با ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین یافت شد [۸۶].

Qadiry و همکاران در سال (۲۰۱۴) بر روی موضوع تجزیه و تحلیل GC-MS و فعالیت ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی از اسانس روغن Pinus roxburghii از کشمیر هند تحقیق کردند. آلفا پینن و بتا پینن عمده ترکیبات موجود در این روغن بود. این اسانس فعالیت ضد باکتریایی و ضد سرطانی قابل توجهی از خود نشان داد و فعالیت انتی اکسیدانی این اسانس ناچیز بود. در مطالعه حاضر α -pinen در بستنی غنی شده با ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین یافت شد [۸۷].

Ferdosi و همکاران در سال (۲۰۲۱) بر روی موضوع آنالیز n-utanol از عصاره گل CASSIA FISTULA از طریق GC-MS و شناسایی ترکیبات ضد میکروبی تحقیق کردند. ترکیبات فرار شامل 1-cyclohexene, butyl, 9-heptadecanol, behenic alcohol, decane, 3-methyl, 1-methyl-3(1-methylethenyl), cis-, 3-hexanol, 5-methyl, acetaldehyde isopentyl propyl acetal, undecane, 1,3-dioxane, 2-ethyl-5-methyl,

Nonanal در بستنی غنی شده با ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین یافت شد.

Esmaili و همکاران در سال (۲۰۱۸) بر روی موضوع ترکیب اسانس، کل فنول و محتویات فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی *Oliveria decumbens* Vent. (Apiaceae) در مراحل مختلف فنولوژیکی تحقیق کردند. ترکیبات فرار اصلی در مرحله رویشی شامل γ -terpinene, thymol, carvacrol و n-Nonanal اجزای اصلی بودند. نتایج نشان داد اسانس دارای ظرفیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی در عصاره است [۹۱]. در مطالعه حاضر Nonanal در بستنی غنی شده با ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین یافت شد.

Ould Bellahcen و همکاران در سال (۲۰۱۹) بر روی موضوع ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد باکتریایی از اسانس *Spirulina platensis* از مراکش تحقیق کردند. ترکیبات فرار شامل heptadecane و tetradecane و ethyl benzene و 6-methyl-5-hepten-2-one و geosmin می باشند. اسانس *S. platensis* دارای خواص ضد میکروبی موثر است. فعالیت ضد باکتریایی اسانس مورد بررسی قرار گرفت یک مهار کامل برای *Staphylococcus aureus* نشان داده شد [۹۲]. در مطالعه حاضر 6-methyl-5-hepten-2-one در بستنی غنی شده با ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین یافت شد.

Alavi و همکاران در سال (۲۰۱۱) بر روی موضوع اثر عملیات حرارتی بر ترکیب شیمیایی و خواص آنتی اکسیدانی اسانس *Lippia citriodora* تحقیق کردند. ترکیبات فرار شامل R-curcumenone و caryophyllene oxide و 6-methyl-5-hepten-2-one و spathulenol می باشند. اسانس به طور قابل توجهی خاصیت آنتی اکسیدانی از خود نشان داد [۹۳]. در مطالعه حاضر 6-methyl-5-hepten-

one-2 در بستنی غنی شده با ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین یافت شد.

طبق مطالعات و پژوهش های اخیر، سلول های اسپیرولینا در ترکیب با سایر محصولات می تواند حتی به عنوان آنتی اکسیدان موثر باشد [۱۶]. عصاره اسپیرولینا دارای عملکرد موثر و قوی در حذف رادیکال های هیدروکسیل (قویترین رادیکال اکسیژن) می باشد [۹۴]. در مطالعه ای اثرات مثبت آنتی اکسیدانی ترکیبات عمل گر موجود در اسپیرولینا، از جمله فیکوسیانیین، سلنیوم و کاروتنوئیدها را با روش FRAP (قدرت احیاءکنندگی یون فریک، Ferric reducing antioxidant power) گزارش گردید. به نحوی که این ترکیبات قابلیت حذف رادیکالی درخور توجهی از خود نشان داده اند [۹۵]. بررسی های سیستماتیک نشان می دهد که این جلبک توانسته است علائم متعددی را بهبود بخشد و حتی ممکن است اثرات ضد سرطانی، ضد ویروسی و ضد حساسیت داشته باشد و نقش مهمی در درمان بیماری های ناشی از آلرژی ها، التهابات، تنش های اکسیداسیونی و ویروس از خود نشان داده است [۹۶]. نتایج حاصل از ارزیابی میزان پتانسیل آنتی اکسیدانی به روش FRAP نشان داد، که در یکم، چهاردهم، بیست و هشتم، چهل و دوم و پنجاه و ششم میزان پتانسیل آنتی اکسیدانی در غلظت های ۰/۵٪، ۱٪ و ۲٪ رنگدانه فیکوسیانیین نسبت به کنترل با سطح اطمینان $P < 0/05$ به طور معنی داری افزایش یافته است، به طوری که میزان پتانسیل آنتی اکسیدانی در غلظت ۲٪ در روزهای یکم، چهاردهم، بیست و هشتم، چهل و دوم و پنجاه و ششم به ترتیب ۰/۷۱، ۰/۷۵، ۰/۶۶، ۰/۶۳ و ۰/۵۴ برابر نسبت به کنترل افزایش یافته است.

اسپیرولینا آنزیم های آنتی اکسیدانی سلولی را فعال می کند، پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب DNA را مهار می کند،

رادیکال های آزاد را از بین می برد و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز را افزایش می دهد [۱۶]. در مطالعه ای در سال ۲۰۱۷ محققان پتانسیل آنتی اکسیدانی بالای بستنی را با افزودن اسپیرولینا گزارش کردند که این فعالیت آنتی اکسیدانی را نتیجه ی محتوای فیکوسیانین (رنگدانه ی غالب اسپیرولینا) موجود در آن می دانند. مطابق نتایج مطالعه ای بر روی اثر اسپیرولینا بر روی پارامترهای کیفی بستنی به روش DPPH نشان داد با گذشت زمان از قدرت آنتی اکسیدانی کاسته می شود [۹۸].

نتایج حاصل از ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH نشان داد، که میزان فعالیت آنتی اکسیدانی به طور معنا داری در روزهای یکم، چهاردهم، بیست و هشتم، چهل و دوم و پنجاه و ششم در غلظت های ۰/۵٪، ۱٪ و ۲٪ رنگدانه فیکوسیانین نسبت به کنترل با سطح اطمینان $P < 0/05$ کاهش یافته است، به طوریکه میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در روزهای یکم، چهاردهم، بیست و هشتم، چهل و دوم و پنجاه و ششم در غلظت ۲٪ به ترتیب ۱/۴۳، ۱/۵۲، ۱/۵۲، ۱/۷ و ۲/۰۷ برابر نسبت به کنترل کاهش یافته است. تکیار و همکاران (۲۰۱۹) با بررسی خواص آنتی اکسیدانی اسپیرولینا گزارش کردند نتایج آماری در آزمون DPPH به طور واضح افزایش معنی دار فعالیت آنتی اکسیدانی اسپیرولینا را در غلظت های بالاتر تایید نمود [۶۵].

رادیکال ABTS یک رادیکال پایدار صناعی بوده که با حساسیت بالا برای ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات مختلف به کار می رود. این روش بر مبنای احیاء رادیکال ABTS بوده که جذب بالایی در ۷۳۴ نانومتر دارد. این روش مستلزم تولید کروموفور ABTS در حضور یک اکسید کننده (معمولاً پتاسیم پر سولفات) است. در مطالعه ای در سال ۲۰۱۵ فعالیت آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبی بالای عصاره بوتانولی اسپیرولینا پلاتنسیس را توسط روش

ABTS گزارش نمودند [۹۷]. نتایج حاصل از ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی به روش ABTS نشان داد، که میزان فعالیت آنتی اکسیدانی به طور معنا داری در روزهای یکم، چهاردهم، بیست و هشتم، چهل و دوم و پنجاه و ششم در غلظت های ۰/۵٪، ۱٪ و ۲٪ رنگدانه فیکوسیانین نسبت به کنترل با سطح اطمینان $P < 0/05$ کاهش یافته است، به طوریکه میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در روزهای یکم، چهاردهم، بیست و هشتم، چهل و دوم و پنجاه و ششم در غلظت ۲٪ به ترتیب ۱/۳۱، ۱/۴۸، ۱/۶۷، ۱/۸۴ و ۲ برابر نسبت به کنترل کاهش یافته است. شالابی و شاناب نیز در بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های آبی و متانولی اسپیرولینا پلاتنسیس به روش ABTS به این نتیجه رسیدند که بودن فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی این جلبک در مقایسه با عصاره های آبی آن حدود ۵۰ درصد فعالیت آنتی رادیکالی بالاتری می باشد [۹۹].

ویژگی های حسی نقش مهمی در مقبولیت محصولات غذایی دارد. خردمند و خندقی در سال ۲۰۲۱ تاثیر جلبک اسپیرولینا را بر خواص حسی دسرهای لبنی بررسی کردند در این مطالعه از جلبک اسپیرولینا در غلظت های ۰/۵، ۱، ۱/۵ درصد استفاده شد. نتایج آنالیز حسی نشان داد بالاترین امتیازات به نمونه های شاهد و دسرهای دارای مقادیر کمتر اسپیرولینا اختصاص داشته است [۶۶]. آنالیزهای آماری با استفاده از واریانس یک طرفه و آزمون گروه بندی Tukey، تفاوت معناداری در ارزیابی طعم و مزه، بو، رنگ، بافت و قوام بستنی در غلظت های ۰/۵٪، ۱٪، ۲٪ رنگدانه فیکوسیانین نسبت به کنترل با سطح اطمینان $P < 0/05$ نداشته است. به طور معناداری ارزیابی بو در غلظت ۲٪ نسبت به غلظت ۰/۵٪ و کنترل با سطح اطمینان $P < 0/05$ کاهش داشته است. تفاوت معنا داری در پذیرش کلی غلظت های ۰/۵٪، ۱٪، ۲٪ رنگدانه فیکوسیانین نسبت به کنترل با سطح اطمینان $P < 0/05$ نداشته است.

۴- نتیجه گیری

نتایج حاصل از مطالعه نشان داد که افزودن غلظت های ۰/۵، ۱، ۲ درصد رنگدانه فیکوسیانینه بستنی طی روزهای ۱، ۱۴، ۲۸، ۴۲ و ۵۶ و صرف زمان بیشتر موجب کاهش آلودگی بستنی به باکتری های /شرشیا کلی، /استافیلوکوکوس /اورئوس، /سالمونلا و کلی فرم گردیده و همچنین میزان کپک و مخمر، در روزهای ۲۸، ۴۲ و ۵۶ فقط در نمونه شاهد یافت شد و میزان تعداد کل باکتری ها را تقلیل داده است. افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی، پروتئین و میزان هوادهی و همچنین کاهش چربی، سرعت ذوب و قند کل از یافته های این مطالعه است. همچنین نتایج ترکیبات فرار حاصل از آزمایش GC_MS در نمونه شاهد و بستنی غنی شده با ۲ درصد رنگدانه فیکوسیانین شامل ۷ آلدهید، ۴ الکل، ۶ کتون، ۳ استر، ۲ آلکان، ۱ بنزن، ۱ هگزان و ۱ اسید می باشد که بعضی

از این ترکیبات شامل نونانال، آلفا - پینن، ان بوتانول و ۶ - متیل ۵ - هپتن ۲- ۱ و غیره خاصیت ضد میکروبی دارند. با توجه به نتایج حاصله در ارزیابی بو با افزایش رنگدانه فیکوسیانین از مقبولیت آن کاسته شد اما میزان مقبولیت سایر پارامتر ها امکان پاسخگویی به سطح تقاضای جامعه درباره ی محصولات غنی شده فراهم خواهد گردید، لذا عملکرد بهینه، تحقق و توسعه در زمینه به کارگیری رنگدانه فیکوسیانین در صنایع غذایی ایران را می طلبد.

۵ - تقدیر و تشکر :

این مقاله هیچ گونه حمایت مالی و معنوی ندارد.

۶ - منابع

[1] GHIASI F., MAJZOBI M., FARAHNAKY A.. EFFECT OF PROCESSED WHEAT GERM ON PHYSICOCHEMICAL AND SENSORY CHARACTERISTICS OF MILK DESSERT. IRANIAN JOURNAL OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY[Internet]. 2016;13(57):169-183. Available from: <https://sid.ir/paper/72046/en>

[2] SHAKERIAN ATA, KARIM G., TAJBAKSH ELAHEH, SHAFEI M.. INVESTIGATING THE MICROBIAL CONTAMINATION OF TRADITIONAL ICE CREAMS IN SHAHR-E- KORD. IRANIAN JOURNAL OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY[Internet]. 2005;2(4):20-27. Available from: <https://sid.ir/paper/72032/en>

[3] Hasan GM, Saadi AM, Jassim MA. Study the effect of replacing the skim milk used in making ice cream with some dried fruit. Food Science and Technology. 2020 Oct 26;41:1033-40.

[4] Ekhtelat M, Zaheripour Z, Shekar Riz B. The survey on contamination value of Staphylococcus aureus, coliform and E. coli in traditional ice cream offered in Ahvaz market. Food Hygiene. 2011 Nov 22;1(3):15-23.

[5] Ahmed K, Hussain A, Imran QM, Hussain W. Microbiological quality of ice cream sold in Gilgit town. Pakistan Journal of Nutrition. 2009;8(9):1397-400.

[6] Mokhtarian H, Mohsenzadeh M, Khezri M. The survey on the bacterial contamination of traditional ice cream produced in Mashhad city. Internal Medicine Today. 2004 Apr 10;10(1):42-6.

[7] Lafarga T, Fernández-Sevilla JM, González-López C, Acién-Fernández FG. Spirulina for the food and functional food industries. Food Research International. 2020 Nov 1;137:109356.

[8] Plaza M, Cifuentes A, Ibáñez E. In the search of new functional food ingredients from algae. Trends in food science & technology. 2008 Jan 1;19(1):31-9.

[9] Priyanka S, Varsha R, Verma R, Ayenampudi SB. Spirulina: A Spotlight on Its Nutraceutical Properties and Food Processing Applications. Journal of microbiology, biotechnology and food sciences. 2023 Mar 7;12(6):e4785-.

[10] Mohammadi-Gouraji E, Soleimani-Zad S, Ghiaci M. Phycocyanin-enriched yogurt and its antibacterial and physicochemical properties during 21 days of storage. Lwt. 2019 Mar 1;102:230-6.

[11] Romano I, Bellitti MR, Nicolaus B, Lama L, Manca MC, Pagnotta E, Gambacorta A. Lipid profile: a useful chemotaxonomic marker for classification of a new cyanobacterium in Spirulina genus. Phytochemistry. 2000 Jun 1;54(3):289-94.

[12] Safari R, Raftani Amiri Z, Reyhani Poul S, Ghaffari H. Nanoencapsulation of phycocyanin extracted from the alga Spirulina (Spirulina platensis) and use of nanoparticles in ice cream formulation.

- Journal of food science and technology (Iran). 2022 May 10;19(123):145-59.
- [13] Asadi SZ, Beigmohammadi Z, Mirmajidi Hashtjin A. The Effect of Edible Coating Containing *Spirulina platensis*, Chitosan and Gelatin on Physicochemical, Sensory and Nutritional Properties of Dried Kiwifruit. Journal of food science and technology (Iran). 2020 Jul 10;17(102):53-67.
- [14] Costa JA, Freitas BC, Rosa GM, Moraes L, Morais MG, Mitchell BG. Operational and economic aspects of *Spirulina*-based biorefinery. Bioresource technology. 2019 Nov 1;292:121946.
- [15] Monteverde DR, Gómez-Consarnau L, Suffridge C, Sañudo-Wilhelmy SA. Life's utilization of B vitamins on early Earth. Geobiology. 2017 Jan;15(1):3-18.
- [16] Wu Q, Liu L, Miron A, Klímová B, Wan D, Kuča K. The antioxidant, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of *Spirulina*: an overview. Archives of toxicology. 2016 Aug;90:1817-40.
- [17] kheirkhahan M, eshaghi M. Investigation of physicochemical, antioxidant activity and organoleptic characteristic of Investigation of physicochemical, antioxidant activity and organoleptic characteristic of traditional ice cream contains chamomile, echium amoenum and valerian extracts. FSCT 2018; 15 (78) :217-232.
- [18] Toliaty G, BeigMohammadi Z, Labbeiki G. Feasibility Study on Dairy Dessert production with *Spirulina Platensis* and Stevioside and Investigation of Its Sensory and Physicochemical Properties. Journal of food science and technology (Iran). 2022 Sep 10;19(127):47-60.
- [19] Andrade MR, Costa JA. Mixotrophic cultivation of microalga *Spirulina platensis* using molasses as organic substrate. Aquaculture. 2007 Apr 6;264(1-4):130-4.
- [20] Mishra SK, Shrivastav A, Pancha I, Jain D, Mishra S. Effect of preservatives for food grade C-Phycocerythrin, isolated from marine cyanobacteria *Pseudanabaena* sp. International journal of biological macromolecules. 2010 Dec 1;47(5):597-602.
- [21] AOAC.(1990),The total nitrogen (N) content was measured by the kjeldahl method.954.01.
- [22] Iran Standard and Industrial Research Institute. Milk ice creams. National Standard of Iran No. 2450, second edition of 1364, pp. 1-16
- [23] Iranian National Standard No. 2685 (1385) Beverages, juice and its products - characteristics and test methods, Iran Institute of Standards and Industrial Research
- [24] Izco JM, Torre P. Characterisation of volatile flavour compounds in Roncal cheese extracted by the 'purge and trap'method and analysed by GC-MS. Food Chemistry. 2000 Aug 15;70(3):409-17.
- [25] Iran Institute of Standards and Industrial Research: Milk and products It's a search method for counting possible numbers *Escherichia coli* National Standard of Iran, 1379 Sh.523
- [26] National Standard Organization of Iran. (2008). Microbiology of food and animal feed - a comprehensive method to identify and count the total forms - the maximum possible number method. Standard number 11166.
- [27] Iran Institute of Standards and Industrial Research (1388). Milk and its products - *Salmonella* search and identification, No. 4413
- [28] Iranian National Standard No. 6806-1, Microbiology of food and animal feed - Counting of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) - Test method, part one: method of using Brad's culture medium - Parker Agar
- [29] National standard of Iran. Number 2629. The method of counting microorganisms (cold-oriented and cold-loving).
- [30] National standard of Iran. 1386. Milk and its products - Counting of mold and/or yeast colony forming units - Colony counting in a plate at 35 degrees Celsius. Iran Institute of Standards and Industrial Research, No. 10154, first edition.
- [31] Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Analytical biochemistry. 1996 Jul 15;239(1):70-6.
- [32] Rahman MM, Habib MR, Hasan MA, Al Amin M, Saha A, Mannan A. Comparative assessment on in vitro antioxidant activities of ethanol extracts of *Averrhoa bilimbi*, *Gymnema sylvestre* and *Capsicum frutescens*. Pharmacognosy Research. gh Jan;6(1):36.
- [33] Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free radical biology and medicine. 1999 May 1;26(9-
- [34] Iran Standard and Industrial Research Institute. 1377 ice cream and its sensory evaluation. National Standard of Iran, No. 4937 First
- [35] Chen W, Liang G, Li X, He Z, Zeng M, Gao D, Qin F, Goff HD, Chen J. Effects of soy proteins and hydrolysates on fat globule coalescence and meltdown properties of ice cream. Food Hydrocolloids. 2019 Sep 1;94:279-86.
- [36] Jabuk SI, Al-Sultany DA, Hashim KK. Bacterial Contamination of the Local Available Ice Cream in Hila City. Indian Journal of Public Health. 2019 Oct;10(10):2977.
- [37] Mokhtarian H, Mohsenzadeh M, Khezri M. The survey on the bacterial contamination of traditional ice cream produced in Mashhad city. Intern Med Today 2004; 10 (1) :42-46

- [38] D'Amico DJ, Donnelly CW. Growth and survival of microbial pathogens in cheese. In: *Cheese* 2017 Jan 1 (pp. 573-594). Academic Press.
- [39] Liang T, Liang Z, Wu S, Ding Y, Wu Q, Gu B. Global prevalence of *Staphylococcus aureus* in food products and its relationship with the occurrence and development of diabetes mellitus. *Medicine Advances*. 2023 Mar;1(1):53-78.
- [40] Hassanzadazar H, Abdollahi R, Haj Gholizadeh GH, Dalir Rad M, Mehdizadeh T. Investigating of the bacteriological contamination in traditionally manufactured ice creams in Urmia city. *Food Hygiene*. 2012 May 21;2(1 (5)):1-9.
- [41] GHORBANI RANJBARY A., YARYAR M.R., KARGAR JAHROMI H., KALANI N.. MICROBIOLOGICAL CONTAMINATION OF THE TRADITIONAL ICE CREAM SOLD IN SHIRAZ SUBURB. *PARS JOURNAL OF MEDICAL SCIENCES (JAHROM MEDICAL JOURNAL)*[Internet]. 2016;13(4):33-38. Available from: <https://sid.ir/paper/130886/en>
- [42] Meshref A, HASSAN G, RIAD E, ASHOUR W. Studies on enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in milk and some dairy products. *Assiut Veterinary Medical Journal*. 2019 Oct 17;65(163):87-97.
- [43] Kadariya J, Smith TC, Thapaliya D. *Staphylococcus aureus* and staphylococcal food-borne disease: an ongoing challenge in public health. *BioMed research international*. 2014 Oct;2014.
- [44] El-Sharef N, Ghenghesh KS, Abognah YS, Gnan SO, Rahouma A. Bacteriological quality of ice cream in Tripoli—Libya. *Food control*. 2006 Aug 1;17(8):637-41.
- [45] SHEKARFOROUSH SEYED SHAHRAM, JAFARPOUR BEHSHAD. COMPARISON OF THE BACTERIAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF TRADITIONAL IRANIAN ICE CREAM PRODUCED IN SHIRAZ WITH IRAN NATINAL STANDARD. *IRANIAN JOURNAL OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY*[Internet]. 2006;3(2):11-17. Available from: <https://sid.ir/paper/71880/en>
- [46] Kanbakan U, Çon AH, Ayar A. Determination of microbiological contamination sources during ice cream production in Denizli, Turkey. *Food Control*. 2004 Sep 1;15(6):463-70.
- [47] Aidara-Kane A, Ranaivo A, Spiegel A, Catteau M, Rocourt J. Microbiological quality of street-vendor ice cream in Dakar. *Dakar medical*. 2000 Jan 1;45(1):20-4.
- [48] Ranjbar M, Nedaeinia R, Goli M, Shahi S. Evaluation of the Thermal Processes on Changing the Phenotypic Characteristics of *Escherichia coli* Strains from Ice Cream Compared to Non-Pasteurized Milk. *Fermentation*. 2022; 8(12):730. <https://doi.org/10.3390/fermentation8120730>
- [49] Carbonari CC, Miliwebsky ES, Zolezzi G, Deza NL, Fittipaldi N, Manfredi E, Baschkier A, D'Astek BA, Melano RG, Schesi C, Rivas M. The importance of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O145: NM [H28]/H28 infections in Argentina, 1998–2020. *Microorganisms*. 2022 Mar 7;10(3):582.
- [50] Salehian M, Salehifar E, Esfahanizadeh M, Karimzadeh L, Rezaei R, Molanejad M. Microbial contamination in traditional ice cream and effective factors. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*. 2013 Mar 10;23(99):18-33.
- [51] Kurtz JR, Goggins JA, McLachlan JB. *Salmonella* infection: Interplay between the bacteria and host immune system. *Immunology letters*. 2017 Oct 1;190:42-50.
- [52] Navidjoy N, KarimzadehSadegh S, Dehghani A, BahramiAsl F. Study of microbial contamination in traditional ice cream (Case study: City of Urmia). *Journal of Food Microbiology*. 2015 Feb 1;1(3):27-32.
- [53] Keshavarzpour ZI, Sami MA, Falahati HA, Mohammadi RA. Bacterial and mold contamination of milk and dairy products distributed by traditional or commercial producers in Isfahan, Iran, in 2014. *Journal of Isfahan Medical School*. 2016;34(387):712-7.
- [54] Haeri Behbahani S. B, Shahbakhti E, Moradi V, Haghani Haghighi H, Shariat S. S, Salamzadeh J. study of the microbial contamination rate of traditional ice cream products in Tehran, March 2008- March 2011 *FSCT* 2014; 11 (44) :59-69 . URL: <http://fsct.modares.ac.ir/article-7-2313-fa.html>
- [55] Fadhl SJ, Mohammad SQ, Al-qrtani YM. Microbiological evaluation of locally produced ice cream in Baquba city. Iraq. In: *Journal of Physics: Conference Series* 2019 Sep 1 (Vol. 1294, No. 6, p. 062057). IOP Publishing.
- [56] Barman AK, Roy PK, Ray S, Kumar R, Rani B, Singh BK. Evaluation of microbiological quality of Ice-cream available in Kolkata and its Suburbs. *The Pharma Innovation*. 2017 Aug 1;6(8, Part F):377.
- [57] Atanda O, Oguntubo A, Adejumo O, Ikeorah J, Akpan I. Aflatoxin M1 contamination of milk and ice cream in Abeokuta and Odeda local governments of Ogun State, Nigeria. *Chemosphere*. 2007 Jul 1;68(8):1455-8.
- [58] Pazoki H, Pourali P. Isolation and assessment of the pigments from the psychrotrophic bacteria with the aim of application in the food industries . *MEDICAL SCIENCES* 2017; 27 (2) :126-132

- [59] Fallah Rad AH, Mohsenzadeh M, Qaemi Bafghi M. A study about psychrotrophic bacterial content of the bulk tank milk delivered to the mashhad pasteurization plant of effects of these bacteria on the specifications of produced pasteurized milk. *Agricultural Sciences and Industries* - 2006 ; 20 (6) : 201-208
- [60] Nwinyi ,OC., Obehi, E., Tomilola, A., Oniha, MI., Olopade. BK., (2017) .Antibiotic susceptibility patterns of bacteria species isolated from ice-cream vended in Ota and Lagos Metropolis. *Res J Microbiol*. 2017;12(1):50-7. 2007
- [61] S. Rajmohan and others, Enzymes from isolates of *Pseudomonas fluorescens* involved in food spoilage, *Journal of Applied Microbiology*, Volume 93, Issue 2, 1 August 2002, Pages 205–213, <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01674.x>
- [62] Sharifi Soltani M, Bozorgi A. Evaluation of infection of traditional ice creams with *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* and coliforms and determination of their antibiotic resistance. *Zanko J Med Sci* 2021; 22 (73) :36-46
- [63] Rose H, Bakshi S, Kanetkar P, Lukose SJ, Felix J, Yadav SP, Gupta PK, Paswan VK. Development and Characterization of Cultured Buttermilk Fortified with *Spirulina platensis* and Its Physico-Chemical and Functional Characteristics. *Dairy*. 2023 Mar 28;4(2):271-84.
- [64] Mishra, B., Tiwari, A. Cultivation of *Anabena variabilis*, *Synechococcus elongatus*, *Spirulina platensis* for the production of C-Phycocyanin, C-Phycocerythrin and *Thalassiosira*, *Skeletonema*, *Chaetoceros* for fucoxanthin. *Syst Microbiol and Biomanuf* 1, 356–361 (2021). <https://doi.org/10.1007/s43393-020-00020-w>
- [65] Takyar MB, Khajavi SH, Safari R. Evaluation of antioxidant properties of *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis* and their application in order to extend the shelf life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during refrigerated storage. *Lwt*. 2019 Feb 1;100:244-9.
- [66] kheradmand ,F., Khandagh ,J.,(2021). The effects of different levels of *Spirulina platensis* extract on qualitative and microbiological properties and viability of probiotic bacteria in probiotic dairy dessert Volume:6 Issue: 4, 2021
- [67] Zanganeh E, Mirzaei H, Jafari S, Afshar Mogaddam M R, Javadi A. Evaluation of antimicrobial effects of aqueous and alcoholic extracts of *Spirulina platensis* in UF white cheese. 2022 December 12; 3(47): 41-52.
- [68] Rasouli, F., Berenji, S., Shahab Lavasani, A. Optimization of Traditional Iranian Ice Cream Formulation Enriched with *Spirulina* Using Response Surface Methodology. *Journal of Food Technology and Nutrition*, 2017; 14(3): 15-28.
- [69] Alshuniaber MA, Krishnamoorthy R, AlQhtani WH. Antimicrobial activity of polyphenolic compounds from *Spirulina* against food-borne bacterial pathogens. *Saudi J Biol Sci*. 2021 Jan;28(1):459-464. doi: 10.1016/j.sjbs.2020.10.029. Epub 2020 Oct 27. PMID: 33424328; PMCID: PMC7783674.
- [70] Souza MM de, Prietto L, Ribeiro AC, Souza TD de, Badiale-Furlong E. Assessment of the antifungal activity of *Spirulina platensis* phenolic extract against *Aspergillus flavus*. *Ciênc agrotec* [Internet]. 2011Nov;35(6):1050–8. Available from: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600003>
- [71] Hosseini SM, Shahbazizadeh S, Khosravi-Darani K, Reza Mozafari M. *Spirulina platensis*: Food and function. *Current Nutrition & Food Science*. 2013 Aug 1;9(3):189-93.
- [72] Tohamy MM, Shaaban HA, Ali MA, Hasanain AM. Effect of *Spirulina platensis* as nutrition source on the chemical, rheological and sensory properties of spreadable processed cheese. *Journal of Biological Sciences*. 2019;19(1):84-91.
- [73] De Marco ER, Steffolani ME, Martínez CS, León AE. Effects of spirulina biomass on the technological and nutritional quality of bread wheat pasta. *LWT-food science and technology*. 2014 Sep 1;58(1):102-8.
- [74] Diraman H, Koru E, Dibeklioglu H. Fatty acid profile of *Spirulina platensis* used as a food supplement. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*. 2009 Jan 1;61.
- [75] Choopani A, Poorsoltan M, Fazilati M, Latifi AM, Salavati H. *Spirulina*: a source of gamma-linoleic acid and its applications. *Journal of Applied Biotechnology Reports*. 2016 Dec 1;3(4):483-8.
- [76] Da Silva Faresin L, Devos RJ, Reinehr CO, Colla LM. Development of ice cream with reduction of sugar and fat by the addition of inulin, *Spirulina platensis* or phycocyanin. *International Journal of Gastronomy and Food Science*. 2022 Mar 1;27:100445.
- [77] Sofjan RP, Hartel RW. Effects of overrun on structural and physical characteristics of ice cream. *International dairy journal*. 2004 Mar 1;14(3):255-62.
- [78] Salem SA, Hamad EM, Ashoush IS. Effect of partial fat replacement by whey protein, oat, wheat germ and modified starch on sensory properties, viscosity and antioxidant activity of reduced fat ice cream. *Food and Nutrition Sciences*. 2016 May 9;7(6):397-404.
- [79] Akesowan A. Influence of soy protein isolate on physical and sensory properties of ice

- cream. Thai Journal of Agricultural Science. 2009;42(1):1-6.
- [80] Nowruzi B, Jafari M, Babaie S, Motamedi A, Anvar A. Spirulina: A healthy green sun with bioactive properties. Journal of Microbial World. 2020 Dec 21;13(4):322-48.
- [81] Gholi Barfi H, Soleimanzad S, Nasirpour A. Production of useful ice cream containing blueberry flavored phycocyanin. 2016. 37, 581
- [82] Malik P, Kempanna C, Paul A. Quality characteristics of ice cream enriched with Spirulina powder. International Journal of Food and Nutrition Science. 2013 Jan 1;2(1):44-50.
- [83] Winarni Agustini T, Farid Ma'ruf W, Widayat W, Suzery M, Hadiyanto H, Benjakul S. Application Of Spirulina Platensis On Ice Cream And Soft Cheese With Respect To Their Nutritional And Sensory Perspectives. Jurnal Teknologi. 2016;78(4-2):245-51.
- [84] Keshvari Fard F, Mokhtarian M, Tavakolipour H. Evaluation of the effects of peppermint essential oil (*Mentha piperita*) on oxidative stability of soybean oil. Journal of Food Processing and Preservation. 2020 Jul 22;12(1):81-94.
- [85] Kulisic T, Radonic A, Katalinic V, Milos M. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. Food chemistry. 2004 May 1;85(4):633-40.
- [86] Li W, Li J, Qin Z, Wang Y, Zhao P, Gao H. Insights into the composition and antibacterial activity of amomum tsao-ko essential oils from different regions based on GC-MS and GC-IMS. Foods. 2022 May 12;11(10):1402.
- [87] Qadir M, Shah WA, Banday JA. GC-MS analysis, antibacterial, antioxidant and anticancer activity of essential oil of *Pinus roxburghii* from Kashmir, India. Int J Res Pharm Chem. 2014;4(1):228-32.
- [88] Ferdosi MF, Javaid A, Khan IH, Khan S, Shad N. Analysis of n-butanol flower extract of *Cassia fistula* through GC-MS and identification of antimicrobial compounds. Pakistan Journal of Phytopathology. 2021 Jun 30;33(1):103-7.
- [89] Qureshi MN, Numonov S, Aisa HA. Total polyphenolic compounds, total flavonoids, GC-MS analysis of volatile constituents, evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of *Prunus dulcis* nuts. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. 2019 Jul 1;32(4):1461-6.
- [90] Rivero-Cruz JF, Granados-Pineda J, Pedraza-Chaverri J, Pérez-Rojas JM, Kumar-Passari A, Diaz-Ruiz G, Rivero-Cruz BE. Phytochemical constituents, antioxidant, cytotoxic, and antimicrobial activities of the ethanolic extract of Mexican brown propolis. Antioxidants. 2020 Jan 13;9(1):70.
- [91] Esmaeili H, Karami A, Maggi F. Essential oil composition, total phenolic and flavonoids contents, and antioxidant activity of *Olivaria decumbens* Vent.(Apiaceae) at different phenological stages. Journal of cleaner production. 2018 Oct 10;198:91-5.
- [92] Ould Bellahcen T, Cherki M, Sánchez JA, Cherif A, El Amrani A. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Spirulina platensis* from Morocco. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 2019 Sep 3;22(5):1265-76.
- [93] Alavi L, Barzegar M, Jabbari A, NAGHDI BH. The effect of heat treatment on chemical composition and antioxidant property of *Lippia citriodora* essential oil.
- [94] Gireesh T, Nair P, Sudharakaran P. Study on the bioavailability of the provitamin. A. Carotenoid, betacarotene, using human exfoliated colonic epithelial cells. Br J Nutri. 2004; 92(2):241-245.
- [95] Khademi S, Oraghi Ardebili N. Changes in antioxidant systems and biomass in response to selenate in blue-green microalgae *Spirulina platensis*, Cyanophyta. Journal of Plant Process and Function. 2017 Sep 10;6(20):9-16.
- [96] Karkos PD, Leong SC, Karkos CD, Sivaji N, Assimakopoulos DA. Spirulina in clinical practice: evidence-based human applications. Evidence-based complementary and alternative medicine. 2011 Aug;2011.
- [97] Szmajda K, Duliński R, Byczyński Ł, Karbowski A, Florczak T, Żyła K. Analysis of the selected antioxidant compounds in ice cream supplemented with *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) extract. Biotechnology and Food Science. 2018;82(1):41-8.
- [98] Mallikarjun Gouda KG, Kavitha MD, Sarada R. Antihyperglycemic, Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Butanol Extract from *S. Pirulina Platensis*. Journal of Food Biochemistry. 2015 Oct;39(5):594-602.
- [99] Shalaby EA, Shanab SM. Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis* .2013; 42(5): 556-56480:8076:9972:9968:9964:99A3584:9960:9956:9 9A40:99



Scientific Research

Industrial application of Natural Phycocyanin Edible Pigment isolated from *Spirulina platensis* in Preparation of fortified ice cream with emphasize on microbial and antioxidant properties

Mahdieh Sadat Kashi¹, Shokoofeh Ghazi², Bahareh Nowruzi^{3,*}

1-Master student of Microbiology, Faculty of New Sciences and Technologies, Medical Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Department of Microbiology, Faculty of New Sciences and Technologies, Medical Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

3- Department of Biotechnology, Faculty of Converging Sciences and Technologies, Medical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received:2023/8/5

Accepted:2023/12/23

Keywords:

Antioxidative properties,

Antioxidative activity,

Microbial mass,

phycocyanin pigment,

Ice cream

DOI: 10.22034/FSCT.21.149.54.

*Corresponding Author E-Mail:
Bahareh.nowruzi@srbiau.ac.ir

Due to its unique role, phycocyanin pigment extracted from the cyanobacterium *Spirulina platensis* can play an important role in enriching traditional cheese. In this study, the amount of protein, fat, total sugar, aeration, melting speed of fortified ice cream with different concentrations of phycocyanin pigment were determined. In addition, the counting of bacteria was done along with the assessment of antioxidant properties. Also, GC/MS test was performed to identify volatile compounds. The results of tests showed that the amount of fat, total sugar, melting speed, DPPH of fortified ice cream has decreased significantly compared to the control. Also, the amount of protein, aeration, FRAP and ABTS significantly compared to the control. sensory evaluation, the acceptability of the smell decreased with increasing concentration, but there was no significant difference in other parameters compared to the control. In addition no signs of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *salmonella* were found during different days. However, the presence of *coliform bacteria* 42 to 56 days in enriched and control ice cream. The presence of mold and yeast on days 28 to 56 was evident only in the control sample. The presence of *psychrophilic bacteria* on days 14 to 56 of fortified ice cream has decreased significantly compared to the control. Also, the results of the volatile compounds obtained from GC/MS test in control ice cream and enriched ice cream with 2% phycocyanin pigment show the presence of antioxidant and antimicrobial properties that played an important role in the shelf life and quality of ice cream. It is hoped that the results of this study will be the basis for empowering the food industry in using of pigments obtained from cyanobacteria