مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی تأثیر سطوح مختلف عصاره هیدروالکلی *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، حسی، ضدمیکروبی نوشیدنی فراسودمند شیرین‌بیان

ابراهیم سادین[۱]، مژگان امتیازجو[۲]، سحر جلیلی[۳*]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران.ایران

۲- گروه بیولوژی دریا ، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

*۳- گروه شیلات واحد بین الملل اروند، دانشگاه آزاد اسلامی ،آبادان ،ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۱/۱۲

تاریخ داوری: ۱۴۰۴/۱۲/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۱/۲۴

کلمات کلیدی:

***اسپیرولینا پلاتنسیس*،**

شیرین بیان،

نوشیدنی فراسودمند،

ویژگی های آنتی اکسیدانی،

ویژگی های میکروبی

DOI: 10.48311/fsct.2026.119074.83045

* مسئول مکاتبات:

Sahar.jalili2024@iau.ac.ir

چکیده

ترکیبات زیست‌فعال بیولوژیکی و محتوای مناسب پروتئینی در ریز جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس*، می تواند راهکاری نوین در توسعه و حفظ سلامتی مصرف کنندگان در حوزه غذا و دارو ایجاد کند. شیرین بیان نیز به عنوان یک داروی طبیعی خوراکی موثرو همچنین به عنوان افزودنی غذا معرفی شده است. پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر سطوح مختلف عصاره هیدروالکلی *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، حسی، ضدمیکروبی و پایداری نوشیدنی فراسودمند شیرین‌بیان انجام شد.نوشیدنی های فراسودمند شیرین بیان به همراه این ترکیبات : اینولین(۰/۵ درصد) ،زانتان(۰/۱۵ درصد)، آب (۲۰۰۰سی سی) و پودر شیرین بیان ۱۰۰۰ گرم تهیه گردید. سپس سطوح مختلف عصاره هیدروالکلی *اسپیرولینا پلاتنسیس*(۰/۵-۱/۱-۵ درصد) به آن اضافه شد، تیمارها در ٤ گروه تیمار (شاهد)، تیمار۱ (حاوی ۰/۵ درصد عصاره *هیدروالکلی اسپیرولینا پلاتنسیس*)، تیمار۲ (حاوی ۱درصد عصاره هیدروالکلی *اسپیرولینا پلاتنسیس*) و تیمار ۳ (حاوی ۱/۵ درصد عصاره هیدروالکلی *اسپیرولینا پلاتنسیس*) آماده گردید. در نهایت خصوصیات فیزیکوشیمیایی، فعالیت آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی و خصوصیات حسی آن ها مورد بررسی قرار گرفت. تیمار ۳ بیشترین میزان pH را دارا بوده است، با گذشت زمان میزان pH تمامی نمونه ها به طور معنی داری کاهش یافت ($P\leq$۰/۰۵) ومیزان اسیدیته تمامی نمونه ها به طور معنی داری افزایش یافت($P\leq$۰/۰۵). تیمار ۳ بیشترین میزان ویسکوزیته را با میزان ۱۸۷ سانتی پواز نسبت به سایر نمونه ها در زمان صفر نشان داد، با افزایش میزان عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا، ویسکوزیته نمونه ها به طور معنی داری افزایش یافت($P\leq$۰/۰۵). میزان دوفازی شدن(آب اندازی) ، نوشیدنی فراسودمند حاوی عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا، با افزایش میزان درصد عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا، به طور معنی داری کاهش یافت ($P\leq$۰/۰۵) و از طرفی با گذشت زمان میزان دو فاز شدن نمونه ها در روزهای ١٤ ام و ٢١ ام به طور معنی داری افزایش یافت ($P\leq$۰/۰۵). در ارزیابی رنگ کمترین میزان پارامتر روشنایی(L*) در تیمار ۳ ثبت شده است.در تمامی بازه های زمانی، با افزایش میزان عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا، مولفه های رنگی روشنایی (L*)، قرمزی-سبزی(a*)،زرد-آبی(b*) نمونه ها به طور معنی داری کاهش یافت ($P\leq$۰/۰۵) و از طرفی با گذشت زمان میزان شاخص های رنگی مذکور در تیمار ۳ و ۲ به طور معنی داری کاهش یافت ($P\leq$۰/۰۵) ارزیابی ویژگی‌های ضدمیکروبی نشان داد که بالاترین حداقل غلظت بازدارندگی مربوط به باکتری *Escherichia coli* و پایین‌ترین حداقل غلظت کشندگی مربوط به *Lactobacillus plantarum* بود ($P\leq$۰/۰۵). نتایج ارزیابی حسی بیانگر آن بود که نمونه حاوی ۰/۵ درصد عصاره اسپیرولینا تیمار۱ در شاخص‌های بو، طعم و پذیرش کلی، بالاترین امتیاز را به خود اختصاص داد و به‌عنوان مناسب‌ترین فرمولاسیون معرفی شد. بر اساس یافته‌ها، استفاده از غلظت پایین عصاره اسپیرولینا پلاتنسیس (۰/۵ درصد) می‌تواند ضمن بهبود ویژگی‌های تغذیه‌ای و عملکردی، کیفیت حسی مطلوب نوشیدنی شیرین‌بیان را حفظ نماید و به‌عنوان گزینه‌ای مناسب در تولید نوشیدنی‌های فراسودمند پیشنهاد می‌شود.

۱-مقدمه

امنیت غذایی یکی از چالش های مهم جهانی در قرن حاضر است. غذاهای فراسودمند یا عملگرا[1] از سال ۱۹۹۳ برای حفظ و ارتقا سلامتی در سطح جهان گسترش یافته اند [۱]. افزایش توجه مصرف کنندگان به نقش تغذیه در سلامتی و تندرستی اولین محرک برای تولید غذاهای فراسودمند است [۲]. مصرف غذاهای فراسودمند، سلامت و تندرستی را بدون اثرات سمی و جهش زایی به مصرف کننده ارائه می دهند[۳]. نوشیدنی های فراسودمند، نوشیدنی های تقویت کننده سلامتی اند، که انواع مواد مغذی مختلف مثل: اسید آسکوربیک، توکوفرول، بتاکاروتن و فیتوکمیکال ها را در رژیم های غذایی دارا می باشد. گروه نوشیدنی های فراسودمند یکی از مهمترین فرآورده هایی هستند که در سال های اخیر به عنوان محصولات جدید توسعه یافته اند[٤،٥]. بازار نوشیدنی های عملگرا در آینده، به علت شیوع بیماری های مرتبط با سبک زندگی مانند: دیابت و فشار خون بالا و... روبه گسترش خواهد بود، استفاده از ترکیبات طبیعی، در نوشیدنی ها باعث افزایش میزان مقبولیت و پذیرش در بین مصرف کنندگان خواهد شد[٦،٧،٨]. *اسپیرولینا پلاتنسیس(S. platensis)* ، یک ریزجلبک سبز آبی ، رشته ای خوراکی چند سلولی و هم زیست است که به گروه سیانو باکترها تعلق دارد [۹]. این جلبک سرشار از درشت‌مغذی‌ها و ریزمغذی‌های ضروری است، که دارای خواص درمانی بوده و به‌طور مؤثر نیازهای تغذیه‌ای متنوع را برآورده می‌سازد [۱۰]. فواید بالقوه اسپیرولینا برای سلامتی به طور عمده به دلیل ترکیب شیمیایی آن شامل: پروتئین ۵۸/۱٦ درصد ،کربوهیدرات ۲٤/۷۵ درصد، چربی ٤/٦۱ درصد ، آمینو اسیدهای ضروری (لایسین ،لوسین،ایزو لوسین و والین) ویتامین ها : پنتاتونیک اسید و ریبو فلاوین ، ویتامین E ، اسیدهای چرب ضروری : لینولئیک اسید، اولئیک اسید، گاما-لینولنیک اسید، فیتوکمیکال ها و رنگدانه فیکوسیانین ، مورد توجه قرار گرفته است [۱۱] .اسپیرولینا یک گزینه غذایی با ارزش است که در پیشگیری و درمان هایپرکلسترولمی، آلرژی، سرطان، مسمومیت، بیماری‌های قلبی‌عروقی و دیابت اثرات مثبتی را نشان داده است. خواص درمانی آن، نیز باعث شده است که اسپیرولینا را به گزینه‌ای امیدبخش برای افرادی که به دنبال درمان‌های طبیعی هستند، تبدیل کند [۱۲،۱۳،۱٤]. عصاره اسپیرولینا (استخراج شده با سیال فوق بحرانی) به عنوان آنتی اکسیدانی قابل دسترس و ایمن، می تواند جایگزینی برای آنتی اکسیدان ها و ضد میکروب های سنتزشده باشد[۱۵،۱٦] .کاربردهای بالقوه اسپیرولینا به عنوان اجزاء تشکیل دهنده غذا، برای بهبود خواص سلامتی بخش محصولاتی مانند :مکمل های غذایی، نوشیدنی ها ، شیرهای تخمیر شده، غلات ، محصولات نانوایی، دسرها، کیک ها ، محصولات قنادی، بیسکویت ها، اسنک ها، سوپ ها، سس های سالاد و محصولات لبنی مانند: بستنی، ماست، نوشیدنی های بر پایه لبنی و... به کار رفته است[۱۷،۱۸،۱۹]. به تازگی جنبه های سلامتی بخش، درمانی و تغذیه ای اسپیرولینا در مقالات مرور شده است [۱۱]. این جلبک به عنوان مکمل پروتئینی، منبع غنی از آهن و با داشتن رنگی مطلوب در بسیاری از محصولات غذایی از قبیل نوشیدنی های ورزشی تخمیری برپایه آب پنیر[۲۰]، دسرمیوه ای فراسودمند و ماست[۲۲،۲۱]، پنیر[۲۳]، پاستیل پوره میوه[۲٤] ، بستنی[۲۵] ونوشیدنی های فراسودمند [۲٦] استفاده شده است. شیرین‌بیان دارای مجموعه‌ای متنوع از ترکیبات شیمیایی مرتبط با سلامت انسان است. به همین دلیل، در سراسر جهان به‌عنوان منبع اصلی برای تأمین نیازهای تغذیه‌ای و دارویی مصرف می‌شود[۲۷،۲۸] .شیرین‌بیان *(Glycyrrhiza glabra)* از خانواده پروانه‌داران (Fabaceae) می‌باشد و ریشه‌های این گیاه حاوی ترکیبات فعال زیستی متعددی از جمله: کومارین‌ها، فلاونوئیدها، ایزولیکویریتگنین، گلابریدین، گلیسیریک اسید، روغن‌های فرار و استرول‌های گیاهی است. گلیسیریزین به عنوان مهم‌ترین ماده فعال ریشه شیرین‌بیان شناخته

[1] Functional Foods

می‌شود[۲۹]. ریشه شیرین‌بیان همچنین شامل قندهای متنوع (تا ۱۸ درصد)، فلاونوئیدها، استرول‌ها، اسیدهای آمینه، صمغ، نشاسته، اسانس‌های روغنی و ساپونین‌ها می‌باشد. عمده‌ترین ساپونین آن، اسید گلیسیریزیک یا گلیسیریزین ($C_{42}H_{62}O_{16}$) است که از دو واحد اسید گلوکورونیک و یک مولکول اسید گلیسرنتیک (آگلیکون) تشکیل شده است [۳۰]. نمک گلیسیریزین، به دلیل شیرینی بسیار بالاتر نسبت به شکر (حدود ۵۰ برابر)، در صنایع غذایی و دارویی کاربرد گسترده دارد و ریشه شیرین‌بیان به صورت پودر، عصاره خشک و عصاره مایع در تجارت عرضه می‌شود[۳۱]. عصاره ریشه شیرین‌بیان حاوی مقادیر قابل توجهی گلوکز، ساکارز، آسپاراژین، مواد آلبومینی، رزین و اسانس است. ترکیبات موثر این گیاه در صنایع داروسازی، نوشیدنی‌سازی، شیرینی‌سازی و دخانیات کاربردهای متعددی دارند [۳۲،۳۳]. همچنین، مصرف شیرین‌بیان می‌تواند بر سیستم غدد درون‌ریز بدن اثرگذار باشد و در برخی مطالعات کاهش سطح تستوسترون خون گزارش شده است[۳٤]. مطالعات دیگر نشان داده‌اند که ریشه خشک شیرین‌بیان می‌تواند ترشح سرتونین و پروستاگلاندین در معده را افزایش دهد و از این طریق اثرات ضدالتهاب و محافظت‌کننده از مخاط معده را اعمال نماید[۳۵]. با توجه به این ویژگی‌ها و ظرفیت بالای ریشه شیرین‌بیان، در این پژوهش تلاش شده است تا با غنی‌سازی عصاره گیاهی شیرین‌بیان با عصاره هیدروالکلی جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* ،یک نوشیدنی فراسودمند و عملگرا تولید شود که علاوه بر ترکیبات مغذی، دارای اثرات زیستی مفید بر سلامت انسان باشد.

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱-آماده سازی عصاره هیدروالکلی جلبک

جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* از شرکت نادیان کاوشگران پارس (ایران) تهیه شد. برای استخراج عصاره هیدروالکلی، ۲۰۰ گرم جلبک خشک با نسبت ۱:٦ در اتانول ۸۰ درصد خیسانده شد و به مدت ۷۲ ساعت در شرایط آرام و محافظت‌شده نگهداری گردید.پس از پایان دوره استخراج، محلول با استفاده از کاغذ صافی (Extra Rapida)شماره ۱ صاف گردید تا ذرات جامد حذف شوند. سپس جداسازی حلال از عصاره با استفاده از دستگاه روتاری اواپوریتوربه همراه پمپ خلا انجام شد. عصاره به‌دست‌آمده تا دمای ۵۰–۵۵ درجه سلسیوس قرار داده شد تا تغلیظ و خشک شود. این روش منجر به تولید عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا با غلظت بالا و کیفیت یکنواخت شد که برای استفاده در فرمولاسیون نوشیدنی‌ها مناسب بود.

۲-۲-آماده سازی عصاره شیرین بیان

ریشه شیرین‌بیان تهیه شده از کشت و صنعت آریا فارمد، ابتدا از نظر ظاهری بررسی و پوست آن جدا گردید. سپس چوب میانی ریشه آسیاب و به صورت پودر یکنواخت درآمد. به این پودر، ۲۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و مخلوط به مدت ۲٤ ساعت در یخچال نگهداری گردید تا استخراج مواد محلول صورت گیرد.پس از دوره استخراج، محلول به صورت غیرمستقیم حرارت داده شد تا حدود ۳۰ درصد از آب آن تبخیر شود. سپس محلول تا دمای ۵۰ درجه سلسیوس خنک گردید و زانتان به میزان ۰/۱۵ درصد به آن افزوده شد. پس از کاهش نسبی دما، اینولین به میزان ۰/۵ درصد اضافه گردید و محلول به خوبی هم زده شد تا یکنواخت شود.در نهایت، عصاره آماده در بطری‌های استریل تقسیم و نگهداری شد [۳٦]. این روش منجر به تولید عصاره‌ای با غلظت مناسب و با ویسکوزیته یکنواخت برای استفاده در فرمولاسیون نوشیدنی‌ها شد.

۲-۳-تهیه نوشیدنی فراسودمند شیرین بیان غنی شده با *اسپیرولینا پلاتنسیس*

تیمارها با غلظت های ۰/۵ ، ۱ و ۱/۵ درصد (عصاره اسپیرولینا) اضافه شده به عصاره شیرین بیان طبق (جدول شماره ۱) تهیه گردید. در نهایت، نوشیدنی ها درون بطری شیشه ای ۲۰۰ میلی لیتری پر و درب آنها بسته شد. نوشیدنی ها با استفاده از بن ماری (Memmert، آلمان) دمای ۸۰

درجه سلسیوس پاستوریزه و سپس تا دمای ۱۰ درجه سلسیوس خنک و در یخچال در دمای ٤ درجه سلسیوس تا زمان انجام آزمون ها نگهداری شد.

Table 1. Formulations of licorice-based functional beverages enriched with *Spirulina platensis*

Sample	*Spirulina platensis* (%)	Licorice powder (g)	Inulin (%)	Xanthan gum (%)	Water (mL)
Control (T0)	–	1000	0.5	0.15	2000
Treatment 1 (T1)	0.5	1000	0.5	0.15	2000
Treatment 2 (T2)	1.0	1000	0.5	0.15	2000
Treatment 3 (T3)	1.5	1000	0.5	0.15	2000

۲-٤-آزمون های فیزیکوشیمیایی نوشیدنی

pH نمونه‌ها با استفاده از pH متر مدل Martini (ایتالیا) تعیین شد. اسیدیته نمونه‌ها بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۵۲ و به صورت درصد اسید سیتریک گزارش گردید[۳۷]. ویسکوزیته نمونه‌ها با استفاده از ویسکومتر چرخشی (DV-Iprime-آمریکا)، و اسپندل شماره ٦٤ اندازه‌گیری شد. سرعت چرخشی دستگاه ۱۰۰ دور در دقیقه و دمای آزمایش ۲۵ درجه سلسیوس تنظیم گردید. نتایج به صورت سانتی‌پواز گزارش شد[۳۸]. رنگ نمونه‌ها با استفاده از رنگ‌سنج مدل(هانترلب مدل Parma, 25 marzo 2005) تعیین شد و پارامترهای L* (روشنایی: سیاه تا سفید)، a*(قرمز تا سبز) و b* (زرد تا آبی) ثبت گردید. تغییرات کلی رنگ بر اساس رابطه شماره ۲ محاسبه شد[۳۹،٤۰] .برای اندازه‌گیری میزان جداسازی فازی، از استوانه‌های مدرج ۱۰۰ میلی‌لیتری هم‌شکل استفاده شد. نمونه‌ها درون استوانه‌ها ریخته و با پارافیلم دربندی شدند. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۱ روز در دمای ٤ درجه سلسیوس نگهداری شدند. میزان جداسازی فاز در روزهای ۰، ۷، ١٤ و ۲۱ با اندازه‌گیری حجم فاز ته‌نشین شده نسبت به حجم کل نمونه به صورت درصد گزارش گردید[٤۱،٤۲].برای اندازه گیری قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد آنتی اکسیدان ها از رادیکال های آزاد مختلفی مثل: رادیکال های DPPH پراکسی، هیدروکسیل و سوپراکسی استفاده شد.

رابطه ۱:

$$\text{اسیدیته} = \frac{V \times 100 \times 0/0067}{12/312}$$

رابطه۲:

$$\Delta E = [(L^*-L)^2+(a^*-a)^2+(b^*-b)^2]^{0/5}$$

۲-۵-تهیه سوسپانسون باکتریایی

میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در این مطالعه شامل *استفیلوکوکوس اورئوس*[1] (PTCC 1112) ، *اشریاشیاکلی*[2] (PTCC 1270) و *لاکتو باسیلوس پلانتروم*[3] (ATCC 1058) بودند . این باکتری‌ها از انستیتو پاستور ایران و مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. هر کدام از سویه‌ها بر اساس دستورالعمل‌های استاندارد کشت و نگهداری گردیدند و قبل از انجام آزمایش، در محیط‌های کشت مناسب رشد داده شدند تا به فاز لگاریتم رشد برسند. برای تهیه سوسپانسیون میکروبی، هر سویه ابتدا از محیط کشت جامد جدا و در محیط مایع مناسب (مثلاً براث مغذی

1- *Staphylococcus aureus*

2- *Escherichia coli*

3- *Lactobacillus plantarum*

برای باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و MRS برای لاکتوباسیل‌ها) کشت داده شد. سپس سلول‌ها به‌طور یکنواخت معلق شده و غلظت نهایی سوسپانسیون با استفاده از روش سنجش چگالی نوری[4] (٦٠٠ نانومتر) یا شمارش کلنی[5] تنظیم گردید تا برای آزمایش‌های بعدی استاندارد باشد.تمامی مراحل تهیه سوسپانسیون میکروبی تحت شرایط اسپتیک و در دمای مناسب انجام شد تا از آلودگی و تغییر غیرمنتظره در جمعیت میکروبی جلوگیری گردد.

٢-٦-آزمون میکرودایلوشن براث برای تعیین کمترین غلظت بازدارندگی

تعیین حداقل غلظت بازدارنده[6] عصاره هیدروالکلی *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر روی باکتری‌های مورد مطالعه با استفاده از روش میکرودایلوشن در میکروپلیت ٩٦ چاهکی استریل انجام شد [٤٤]. میکروپلیت‌ها شامل ٨ ردیف و ١٢ چاهک با حجم هر چاهک برابر با ٢٥ میکرولیتر بودند. ابتدا، ١٠٠ میکرولیتر از محیط کشت نوترینت براث در هر چاهک ریخته شد. سپس ١٠٠ میکرولیتر عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا به اولین چاهک هر ردیف اضافه شد و رقیق‌سازی سریالی دوبرابر از چاهک اول تا چاهک یازدهم انجام گردید. به این ترتیب، ١٠٠ میکرولیتر از چاهک اول برداشته و به چاهک دوم منتقل شد، و این فرآیند تا چاهک شماره ١١ ادامه یافت. پس از آماده‌سازی رقیق‌سازی، ١٠ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری (معادل نیم مک‌فارلند) به تمامی چاهک‌ها اضافه شد، به استثنای چاهک شماره ١١ که به عنوان کنترل منفی (فقط حاوی محیط کشت و عصاره) در نظر گرفته شد. چاهک شماره ١٢ هر ردیف به عنوان کنترل مثبت (حاوی باکتری و حلال دی‌متیل سولفوکسید) برای بررسی رشد باکتری مورد استفاده قرار گرفت. پس از تلقیح باکتری‌ها، میکروپلیت به مدت ٣٠ ثانیه روی شیکر قرار گرفت تا محتویات چاهک‌ها کاملاً یکنواخت شود. جذب نوری در طول موج ٦٢٠ نانومتر با استفاده از الایزا ریدر در ساعت صفر اندازه‌گیری گردید. سپس میکروپلیت در انکوباتور با دمای ٣٧ درجه سلسیوس به مدت ٢٤ ساعت قرار گرفت. پس از پایان انکوباسیون، رشد باکتری‌ها به صورت چشمی و همچنین با خوانش جذب نوری توسط الایزا ریدر ارزیابی شد. حداقل غلظت بازدارندگی به عنوان کمترین غلظتی از عصاره که هیچ رشد باکتریایی (عدم کدورت) مشاهده نشد، در نظر گرفته شد[٤٤].

٢-٧- تعیین حداقل غلظت کشندگی

برای تعیین حداقل غلظت کشندگی[7]، از چاهک‌های فاقد کدورت در آزمون حداقل غلظت بازدارندگی (غلظت MIC و بالاتر) مقدار ١٠ میکرولیتر از سوسپانسیون در شرایط کاملاً استریل و در نزدیکی شعله برداشته و بر روی محیط کشت بلاد آگار تلقیح شد. میکروبی‌ها پس از تلقیح، به مدت ٢٤ ساعت در دمای ٣٧ درجه سلسیوس انکوبه گردیدند. پس از پایان دوره انکوباسیون، کمترین غلظتی که باعث کشته شدن ٩٩/٩ درصد باکتری‌ها شد، به عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شد. کلیه مراحل آزمایش در سه تکرار مستقل انجام شد.این روش امکان تمایز بین اثر بازدارنده[8] و اثر کشنده[9] عصاره را فراهم می‌کند و به تعیین دقیق توانایی ضدباکتریایی نمونه کمک می‌کند.

٢-٨-ارزیابی حسی

4 -*Optical Density (OD)*

5-*Colony Forming Units per milliliter(CFU/mL*

6 -Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

7- Minimum Bactericidal Concentration

8 -Bacteriostatic

9- Bactericidal

خصوصیات حسی نمونه‌ها توسط ۱۳ ارزیاب آموزش‌دیده شامل ۹ زن و ٤ مرد در محدوده سنی ۳۰ تا ٤۰ سال ارزیابی شد. ارزیابی‌ها شامل پارامترهای رنگ، احساس دهانی، مزه، بو، شیرینی، قوام و پذیرش کلی بود و از مقیاس پنج‌نقطه‌ای هدونیک برای نمره‌دهی استفاده شد. در این مقیاس، نمره ۵ به نمونه «خیلی خوب»، ٤ به «خوب»، ۳ به «متوسط»، ۲ به «بد» و ۱ به «خیلی بد» اختصاص داده شد [٤۵]. ارزیابان پیش از انجام آزمون، آموزش لازم جهت استانداردسازی معیارهای قضاوت حسی دریافت کرده بودند تا کاهش خطای شخصی و افزایش دقت ارزیابی‌ها تضمین شود.

۲-۹-تجزیه تحلیل داده ها

تمامی آزمون‌ها در سه تکرار مستقل انجام شد و داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار محاسبه گردید. برای بررسی اختلافات معنی‌دار بین نمونه‌ها، آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan's Multiple Range Test) انجام گرفت. تمامی محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام شد و سطح معناداری آماری برای تمامی آزمون‌ها برابر با ۰/۰۵ (۹۵٪ سطح اطمینان) در نظر گرفته شد ($P \leq$ ۰/۰۵).

۳-نتایج و بحث

۳-۱-میزان pH و اسیدیته

نتایج نشان داد، اسیدیته به طور معنی دار تحت تاثیر نوع تیمار و زمان نگهداری قرار گرفت ($P \leq$ ۰/۰۵). در تمامی تیمارها با افزایش زمان نگهداری از روز صفر تا روز بیست و یکم روند افزایشی اسیدیته مشاهده شد.در روز صفر، بیشترین میزان اسیدیته مربوط به تیمار ۳ (حدود ۰/۲۹ درصد) و کمترین مقدار مربوط به تیمار شاهد (حدود ۰/۲۰ درصد) بود. تیمارهای ۲ و ۱به‌ترتیب مقادیر متوسطی را نشان دادند. این اختلاف بین تیمارها از نظر آماری معنی‌دار بود($P \leq$ ۰/۰۵). در روزهای ۷ و ۱٤ نیز روند مشابهی مشاهده شد و ترتیب تیمارها بدون تغییر باقی ماند (تیمارشاهد< تیمار ۱< تیمار۲ < تیمار۳) با این حال، اختلاف بین برخی تیمارها در طول زمان کاهش یافت که نشان‌دهنده نزدیک شدن مقادیر اسیدیته در اواخر دوره نگهداری است.در روز بیست‌ویکم، اسیدیته در تمامی تیمارها به بیشترین مقدار خود رسید. تیمار ۳ با حدود ۰/۳۲ درصد همچنان بیشترین و تیمار شاهد با حدود ۰/۲۵ درصد کمترین اسیدیته را نشان داد. افزایش تدریجی اسیدیته در طول نگهداری احتمالاً ناشی از ادامه فعالیت‌های میکروبی و واکنش‌های بیوشیمیایی منجر به تولید اسیدهای آلی است. اسیدیته بالاتر در تیمار ۳ می‌تواند بیانگر فراهم شدن شرایط مناسب‌تر برای تشکیل یا آزادسازی ترکیبات اسیدی در این تیمار باشد.نتایج نشان داد که با گذشت زمان،کاهش pH و افزایش اسیدیته می‌تواند ناشی از فعالیت ترکیبات پروتئینی و پلی‌ساکاریدی اسپیرولینا و متابولیت‌های آن باشد که با تولید یون‌های هیدروژن و تعادل اسید- باز در سیستم، تغییرات آهسته و تدریجی pH را ایجاد می‌کنند. خاصیت بافری *اسپیرولینا پلاتنسیس* به دلیل حضور پروتئین‌ها، پپتیدها و اسیدهای آمینه در ترکیب آن است، که قادرند یون‌های هیدروژن را جذب کرده و تغییرات pH محیط را تعدیل کنند، به عبارت دیگر، اسپیرولینا می‌تواند با pH قلیایی حدود ٦/۸-٦/۹ با غذاهای اسیدی مقابله کرده و کاهش ناگهانی pH را کند نماید، بنابراین به‌عنوان یک عامل بافری طبیعی در نوشیدنی‌ها و سایر محصولات غذایی عمل می‌کند. این اثر باعث می‌شود که تغییرات اسیدیته کنترل‌شده باشد و بدن برای متعادل‌سازی pH از منابع معدنی مانند کلسیم موجود در استخوان‌ها استفاده نکند [٤٦]. مطالعات پیشین نیز نتایج مشابهی را تأیید کرده‌اند. وارگا و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که اسپیرولینا دارای ماهیت قلیایی و ظرفیت بافری بالا است و این ویژگی موجب کاهش آهسته‌تر pH در حضور ترکیبات اسیدی می‌شود [٤۷]. در مطالعه‌ای دیگر، بررسی نوشیدنی پالپ‌دار پرتقال غنی‌شده با

اسپیرولینا نشان داد که با افزایش سطح اسپیرولینا، pH نمونه‌ها کاهش و اسیدیته افزایش یافته است [٤٨]. همچنین، نتایج مربوط به نوشیدنی‌های فراسودمند کیوی و سیب حاوی اسپیرولینا نیز نشان داد که افزایش محتوای جلبک با کاهش pHو افزایش اسیدیته همراه بوده است [٤٩]. به‌طور کلی، این یافته‌ها بیانگر آن است که *اسپیرولینا پلاتنسیس* علاوه بر تأمین ترکیبات زیست‌فعال و آنتی‌اکسیدان‌ها، می‌تواند به‌عنوان یک عامل بافری طبیعی در محصولات غذایی اسیدی عمل کند و از افت سریع pH جلوگیری نماید. این ویژگی می‌تواند نقش مهمی در بهبود پایداری شیمیایی، حفظ طعم و کیفیت حسی محصولات غذایی و حمایت از سلامت استخوان‌ها و تعادل اسید–باز بدن ایفا کند

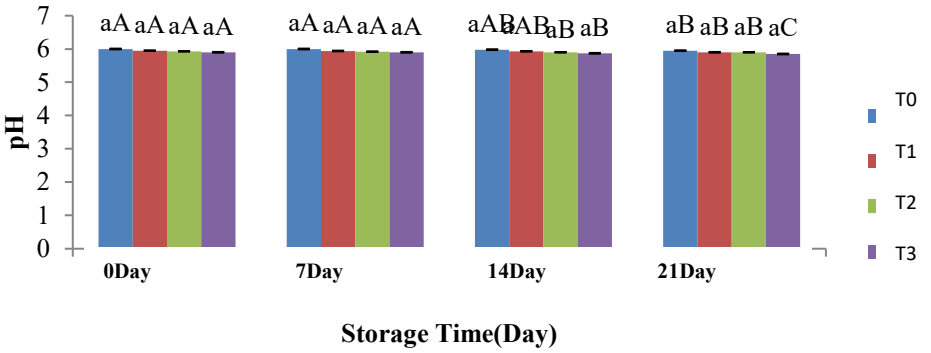


Fig1: pH of licorice drink containing hydroalcoholic extract of *Spirulina platensis* during storage period
Different lowercase letters indicate significant differences on each day and different uppercase letters indicate significant differences over time (p≤0.05).
T0 (control), T1 (0.5%), T2 (1%), and T3 (1.5%).

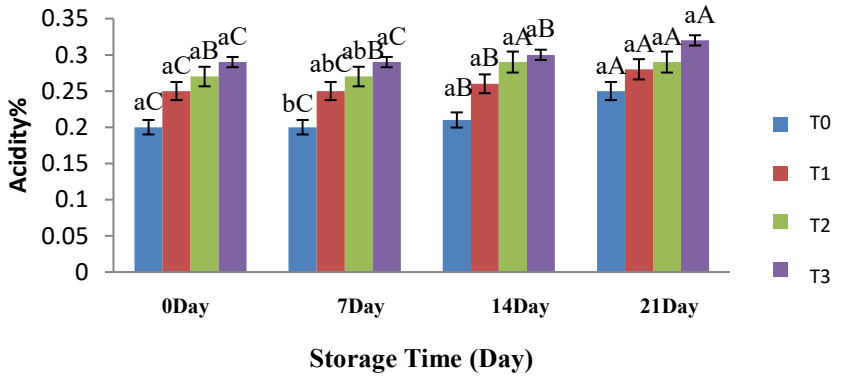


Fig2: Acidity of licorice drink containing hydroalcoholic extract of *Spirulina platensis* during storage period
Different lowercase letters indicate significant differences on each day and different uppercase letters indicate significant differences over time (p≤0.05).
T0 (control), T1 (0.5%), T2 (1%), and T3 (1.5%).

۳-۲-میزان ویسکوزیته

نتایج نشان داد که اثر زمان نگهداری و تیمار بر ویسکوزیته نمونه ها معنی دار بود($P \leq ۰/۰۵$). به طور کلی، با افزایش سطح تیمار از تیمار شاهد به تیمار ۳ ، ویسکوزیته به طور معنی داری افزایش

یافت، به طوری که در تمامی زمان های نگهداری، تیمار۳ بالاترین و تیمار شاهد پایین مقدار ویسکوزیته را نشان داد. در روز صفر، اختلاف معنی داری بین تمامی تیمارها مشاهده شد و ترتیب میانگین ها به صورت (تیمارشاهد< تیمار ۱< تیمار۲ < تیمار۳) بود($P \leq ۰/۰۵$). در روز هفتم اگرچه تغییرات اندکی نسبت به روز صفر مشاهده شد، اما روند کلی حفظ گردید و تیمار۳ همچنان بیشترین ویسکوزیته را داشت. با ادامه نگهداری تا روز چهاردهم، کاهش معنی داری در ویسکوزیته تیمارهای شاهد، ۱ و ۲ مشاهده شد، در حالی که تیمار ۳ کاهش کمتری را نشان داد و پایداری بیشتری حفظ نمود. در روز بیست و یکم نیز روند مشابهی مشاهده شد،به طوری که کمترین مقدار ویسکوزیته مربوط به تیمار شاهد و بیشترین مقدار مربوط به تیمار۳ بود و اختلاف بین تیمارها از نظر آماری معنی دار باقی ماند($P \leq ۰/۰۵$).بررسی روند تغییرات در طول زمان نشان داد که در تمامی تیمارها با افزایش مدت نگهداری، ویسکوزیته به صورت تدریجی کاهش یافت،اما شدت کاهش در تیمارهای با غلظت پایین تر بیشتر بود. در مقابل تیمار۳ کمترین میزان افت ویسکوزیته را نشان داد که بیانگر پایداری ساختاری بالاتر این نمونه درطول نگهداری است. کاهش ویسکوزیته طی نگهداری می‌تواند ناشی از تضعیف ساختار شبکه‌ای، کاهش برهم‌کنش‌های بین‌مولکولی، یا فعالیت آنزیمی و میکروبی باشد که موجب تخریب ساختار ماتریکس محصول می‌شود. در مقابل، ویسکوزیته بالاتر و پایداری بیشتر در تیمار ۳ نشان می‌دهد که این تیمار احتمالاً موجب تقویت ساختار داخلی و افزایش انسجام شبکه‌ای سیستم شده است. این افزایش ویسکوزیته احتمالاً ناشی از محتوای بالای ماده خشک اسپیرولینا نسبت به شیرین‌بیان، غلظت بالای پروتئین و حضور ترکیبات پلی‌ساکاریدی مانند فیبرهای محلول و نامحلول است که قابلیت جذب آب و تشکیل شبکه‌های سه‌بعدی را دارند. چنین شبکه‌هایی با افزایش اصطکاک بین ذرات و کاهش جریان‌پذیری، باعث افزایش مقاومت به تغییر شکل و افزایش ویسکوزیته می‌شوند. با گذشت زمان، میزان ویسکوزیته تمامی نمونه‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، که می‌تواند ناشی از تجزیه جزئی پروتئین‌ها، تغییر ساختار پلی‌ساکاریدها و کاهش تعاملات بین‌ذره‌ای باشد. اسپیرولینا با جذب آب، جریان‌پذیری نوشیدنی را کاهش و ویسکوزیته را افزایش می‌دهد، اما فرآیندهای فیزیکوشیمیایی مانند هیدرولیز جزئی پلی‌ساکاریدها یا تخریب پروتئین‌ها در طول نگهداری می‌تواند باعث کاهش تدریجی ویسکوزیته شود.افزایش ویسکوزیته با افزودن پودر اسپیرولینا نسبت به نمونه شاهد نیز به‌طور معنی‌داری مشاهده شد، که بیانگر نقش ترکیبات زیست‌فعال اسپیرولینا در بهبود خواص رئولوژیکی نوشیدنی است [۵۰]. این یافته‌ها با گزارش محمدی و همکاران (۲۰۲۵) در مورد نوشیدنی‌های میوه‌ای حاوی ۲٪ عصاره اسپیرولینا، که افزایش معنی‌دار ویسکوزیته را نشان داده‌اند، همخوانی دارد. همچنین، نتایج مطالعه تفرشی و همکاران (۱۳۹۷) نیز افزایش ویسکوزیته نمونه‌های حاوی اسپیرولینا را تأیید می‌کند.از نظر مکانیسم، پروتئین‌های اسپیرولینا می‌توانند با تشکیل شبکه‌های هیدروژل، آب را به دام انداخته و اثر افزایش ظرفیت آب‌گیری و کاهش جریان‌پذیری را ایجاد کنند. پلی‌ساکاریدها نیز با ایجاد اصطکاک موضعی و افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته، از ته‌نشینی ذرات و جدایش فاز جلوگیری کرده و پایداری فیزیکی نوشیدنی را بهبود می‌بخشند. علاوه بر این، افزایش ویسکوزیته می‌تواند باعث کاهش سرعت مهاجرت ذرات و افزایش یکنواختی توزیع ترکیبات محلول و معلق شود که نقش مهمی در کیفیت حسی و پذیرش محصول دارد. به‌طور کلی، افزودن اسپیرولینا به نوشیدنی شیرین‌بیان نه تنها خواص تغذیه‌ای و آنتی‌اکسیدانی محصول را افزایش می‌دهد، بلکه با بهبود رئولوژی و پایداری فیزیکی، امکان تولید نوشیدنی‌های فراسودمند با کیفیت بالا و ماندگاری طولانی‌تر را فراهم می‌آورد.

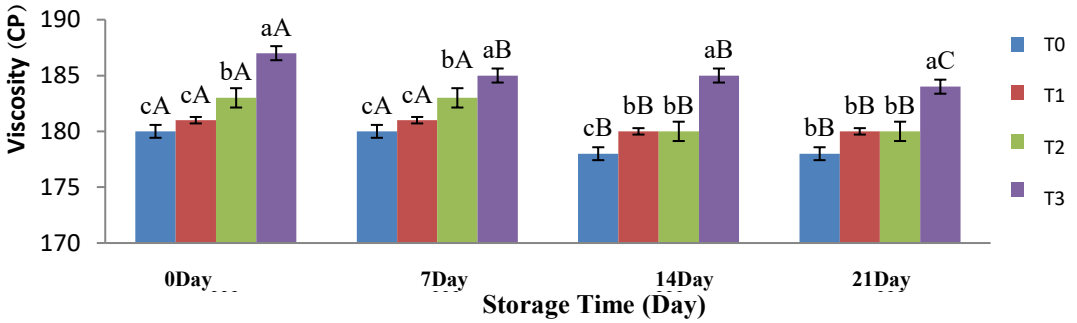


Fig3: Viscosity of licorice drink containing hydroalcoholic extract of *Spirulina platensis* during storage period
Different lowercase letters indicate significant differences on each day and different uppercase letters indicate significant differences over time ($p \leq 0.05$)
.T0 (control), T1 (0.5%), T2 (1%), and T3(1.5%)

۳-۳-میزان دوفازی شدن

نتایج نشان داد که میزان تشکیل دو فازی به طور معنی داری تحت تاثیر زمان نگهداری و غلظت تیمار قرار گرفت ($P \leq ۰/۰۵$). در روز صفر، دو فازی در هیچ یک از تیمارها مشاهده نشد و اختلاف معنی داری بین سطوح غلظتی وجود نداشت($P \geq ۰/۰۵$). با افزایش زمان نگهداری، میزان دو فازی شدن در تمامی تیمارها روند افزایشی معناداری نشان داد ($P \leq ۰/۰۵$). به طوری که مقادیر از روز ۷ ام آغاز به افزایش کرده و در روز ۲۱ ام به بیشترین سطح خود رسید.این روند بیانگر کاهش تدریجی پایداری فیزیکی سیستم در طول زمان است. از نظر اثر غلظت، افزایش سطح تیمار منجر به کاهش معنی دارمیزان تشکیل دو فازی در تمام زمان های نگهداری شده است ($P \leq ۰/۰۵$). در هر بازه زمانی، تیمار با کمترین غلظت بیشترین میزان دو فازی را نشان داد، در حالی که تیمار با بالاترین غلظت کمترین مقدار دو فازی شدن را ثبت کرد. این اختلاف در روزهای ۱۴ و ۲۱ ام بارزتر بوده و فاصله آماری بین تیمارها افزایش یافت. به طور کلی، بیشترین میزان دو فازی شدن در پایین ترین غلظت و طولانی ترین مدت زمان نگهداری (روز ۲۱ ام) مشاهده شد، در حالی که افزایش غلظت تیمار توانست شدت افزایش دو فازی را در طول نگهداری به طور معنی داری کاهش دهد. در نوشیدنی حاوی عصاره‌ی شیرین‌بیان، به دلیل pH پایین و اسیدیته‌ی بالا، پروتئین‌های موجود به نقطه‌ی ایزوالکتریک خود نزدیک می‌شوند، در این شرایط، بار سطحی ذرات پروتئینی کاهش یافته و نیروی دافعه‌ی الکترواستاتیکی میان آن‌ها کم می‌شود. در نتیجه، پروتئین‌ها تمایل به تجمع و رسوب پیدا کرده و پدیده‌ی دوفاز شدن رخ می‌دهد. این امر یکی از مهم‌ترین عوامل ناپایداری در نوشیدنی‌های پروتئینی حاوی ترکیبات گیاهی محسوب می‌شود.افزایش پایداری با افزایش غلظت عصاره‌ی اسپیرولینا را می‌توان به حضور ترکیبات پلی‌ساکاریدی، پروتئینی و فنولی در این جلبک نسبت داد. این ترکیبات می‌توانند از طریق افزایش ویسکوزیته‌ی فاز پیوسته، بهبود پیوستگی بین ذرات و تشکیل شبکه‌های پایدارتر در ماتریکس نوشیدنی، از ته‌نشینی و جدایش فاز جلوگیری کنند. افزون بر این، برخی رنگدانه‌ها و پروتئین‌های سطح‌فعال موجود در اسپیرولینا مانند فیکوسیانین می‌توانند به‌عنوان عوامل امولسیفایر طبیعی عمل کرده و با کاهش کشش سطحی بین فازها، پایداری سیستم را افزایش دهند. حضور زانتان به عنوان یک هیدروکلوئید آنیونی با وزن مولکولی بالا، موجب افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته و ایجاد رفتار شبه پلاستیک می شود.افزایش ویسکوزیته باعث کاهش سرعت حرکت و ته نشینی یا شناوری قطرات فاز پراکنده شده و در نتیجه پدیده دوفازی را محدود می کند. همچنین ، تشکیل شبکه سه بعدی ضعیف در فاز پیوسته می تواند تحرک قطرات را کاهش داده و پایداری فیزیکی را بهبود بخشد، همچنین اینولین نیز به عنوان یک فیبر محلول و پلی ساکارید با قابلیت تشکیل ساختار ژل مانند می تواند از طریق افزایش ماده جامد محلول و ایجاد برهمکنش های هیدروژنی، موجب تقویت ساختار سیستم شود. این ترکیب با افزایش گرانروی و ایجاد شبکه ریز ساختاری، به کاهش همجوشی قطرات و کند

شدن فرایند دوفازی کمک می کند. علاوه بر این اینولین می تواند، با ایجاد پرکنندگی در ماتریس،پایداری فیزیکی را افزایش دهد.نتایج همچنین نشان داد که همگن‌سازی قبل از فرآیند پاستوریزه کردن تأثیر معنی‌داری بر کاهش دوفاز شدن و بهبود یکنواختی ذرات دارد. همگن‌سازی با کاهش اندازه‌ی ذرات و افزایش توزیع یکنواخت فاز پراکنده، سبب افزایش نیروهای برهم‌کنش بین ذرات و در نتیجه پایداری بیشتر سیستم کلوئیدی می‌شود. همچنین، اثر ترکیبی هم‌زدن مکانیکی و همگن‌سازی موجب بهبود بیشتر پایداری فیزیکی و کاهش تمایل به رسوب ذرات شد که با یافته‌های گزارش‌شده در مطالعات مربوط به نوشیدنی‌های لبنی تخمیری مانند دوغ و عوامل مؤثر بر دوفاز شدن آن‌ها مطابقت دارد[٤٢]. به‌طور کلی، می‌توان نتیجه گرفت که افزودن عصاره اسپیرولینا ضمن افزایش پایداری فیزیکی، با کاهش دوفاز شدن و بهبود یکنواختی ذرات، نقش مؤثری در بهبود کیفیت و پذیرش حسی نوشیدنی‌های گیاهی پروتئینی دارد.

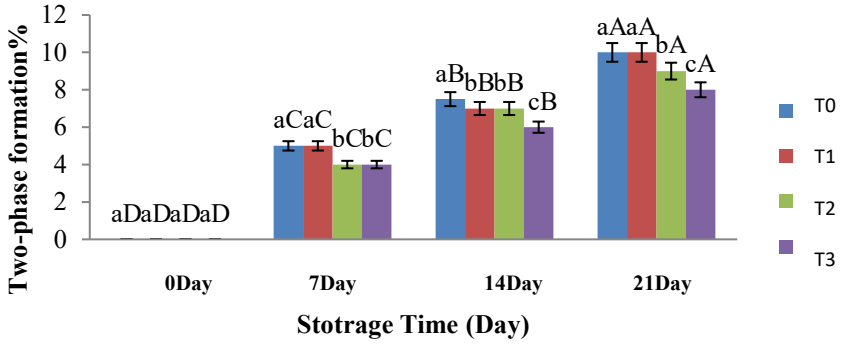


Fig4: Two-phase formation of licorice drink containing hydroalcoholic extract of *Spirulina platensis* during storage period
Different lowercase letters indicate significant differences on each day and different uppercase letters indicate significant differences over time ($p \leq 0.05$)
T0 (control), T1 (0.5%), T2 (1%), and T3(1.5%)

۳-٤-حداقل غلظت بازدارنگی و حداقل غلظت کشندگی

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که حداقل غلظت بازدارندگی عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا در برابر باکتری *اشریاشیکلی* به‌طور معنی‌داری بالاتر از باکتری‌های *استفیلوکوکوس اورئوس* و لاکتو باسیلوس پلانتروم بود. این امر نشان‌دهنده‌ی مقاومت نسبی بالاتر باکتری‌های گرم‌منفی در مقایسه با باکتری‌های گرم‌مثبت در برابر ترکیبات فعال موجود در عصاره اسپیرولینا است. از سوی دیگر، حداقل غلظت کشندگی عصاره در برابرلاکتوباسیلوس پلانتروم به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از دو باکتری دیگر گزارش شد، که بیانگر حساسیت بالاتر این گونه به ترکیبات ضدباکتریایی اسپیرولینا است.ترکیبات آنتی‌بیوتیکی موجود در سیانوباکتری‌ها شامل اسیدهای چرب، بروموفنول‌ها، پپتیدها، پلی‌ساکاریدها و الکل‌ها هستند. با این حال، ترکیب شیمیایی دقیق بسیاری از این متابولیت‌های ثانویه هنوز به‌طور کامل شناسایی نشده است. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که اثرات ضدباکتریایی سیانوباکتری‌ها معمولاً به‌دلیل وجود ترکیبات فنولی و پپتیدی با وزن مولکولی پایین است که قادرند با غشاء سلولی باکتری‌ها برهم‌کنش داشته، نفوذپذیری آن را افزایش داده و موجب نشت محتویات سلولی شوند. این اثرات در باکتری‌های گرم‌مثبت به‌دلیل ساختار ساده‌تر دیواره سلولی (فاقد لایه‌ی خارجی لیپوپلی‌ساکاریدی) معمولاً قوی‌تر از گرم‌منفی‌ها مشاهده می‌شود[٥١]. علاوه بر این، وجود ترکیبات فنولی نظیر اسید گالیک، بنزوئیک اسید، کلروژنیک اسید، وانیلیک اسید، کافئیک اسید، کوماریک اسید و فرولیک

اسید در جلبک اسپیرولینا گزارش شده است. این ترکیبات با توانایی مهار رادیکال‌های آزاد و ایجاد ناپایداری در غشاء سلولی میکروارگانیسم‌ها، نقش دوگانه‌ای در فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی دارند. ترکیبات فنولی از طریق دناتوره کردن پروتئین‌ها و مهار آنزیم‌های حیاتی باکتری‌ها نیز می‌توانند اثرات بازدارندگی خود را اعمال کنند.از سوی دیگر، حضور پلی‌ساکاریدهای زیست‌فعال در اسپیرولینا می‌تواند با تحریک سیستم ایمنی و ممانعت از چسبندگی باکتری‌ها به سطوح زیستی، در کنترل رشد میکروبی نقش داشته باشد. در نتیجه، استفاده از عصاره اسپیرولینا در فرمولاسیون محصولات غذایی می‌تواند ضمن افزایش ماندگاری و ایمنی میکروبی، جایگزینی طبیعی برای نگهدارنده‌های شیمیایی محسوب شود. به‌طور کلی، نتایج این مطالعه حاکی از آن است که اسپیرولینا به‌عنوان یک منبع پایدار و زیست‌سازگار از ترکیبات ضدمیکروبی، پتانسیل بالایی برای کاربرد در صنایع دارویی و غذایی دارد [۵۲].

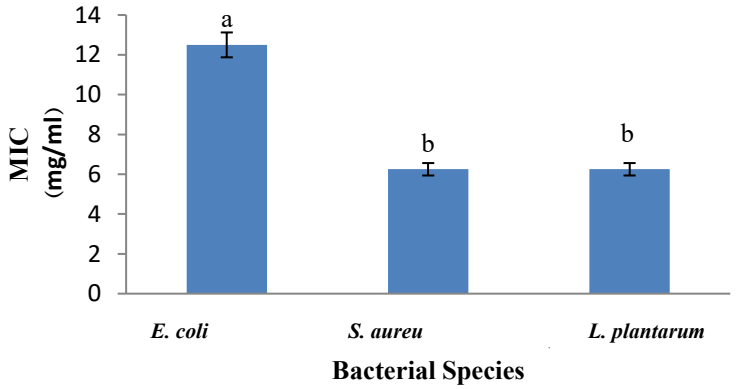


Fig6: Minimum bacterial inhibitory concentration (MIC) in hydroalcoholic extract of *Spirulina platensis*
Different lowercase letters indicate significant differences (p≤0.05)

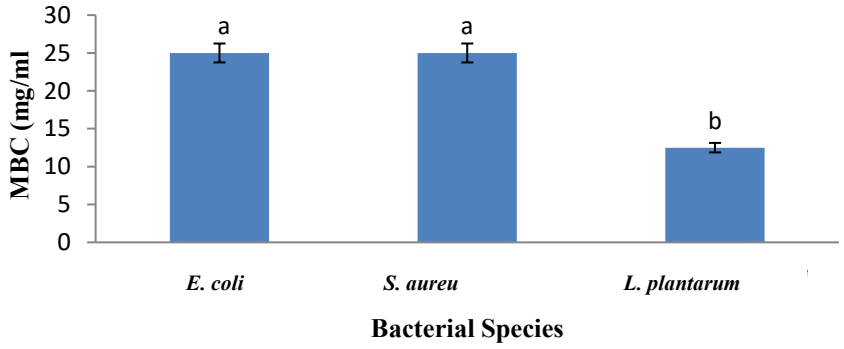
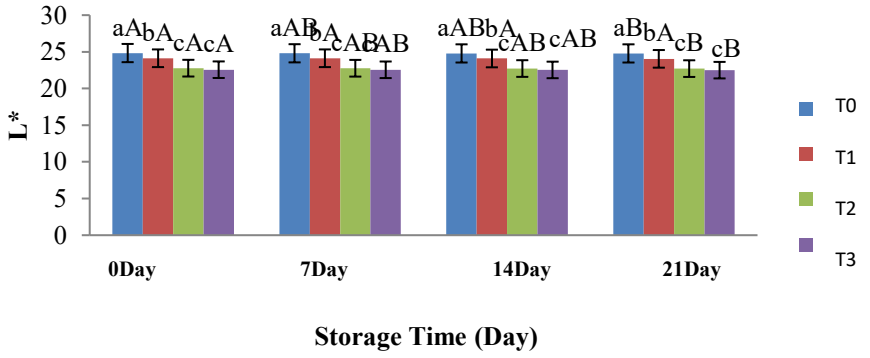


Fig7: Minimum bactericidal concentration (MBC) in hydroalcoholic extract of *Spirulina platesis*
Different lowercase letters indicate significant differences (p≤0.05)

۳-۵-آزمون رنگ سنجی

نتایج نشان داد که در تمامی بازه‌های زمانی، با افزایش میزان عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا، شاخص روشنایی (L^*)نمونه‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P \leq$ ۰/۰۵). همچنین با گذشت زمان، میزان L^* در تیمارهای ۳ و ٤ نیز روند کاهشی معنی‌داری را نشان داد. کاهش شاخص روشنایی می‌تواند ناشی از حضور رنگدانه‌های طبیعی موجود در اسپیرولینا از جمله کلروفیل، فیکوسیانین و کاروتنوئیدها باشد که در ساختار نوشیدنی ترکیب شده و رنگ آن را به سمت سبز و آبی تغییر می‌دهند.بررسی‌ها نشان داده‌اند که افزودن اسپیرولینا به محصولات غذایی مختلف موجب کاهش مقادیر L^* ، a^* و b^* می‌شود. در پژوهشی بر روی نوشیدنی‌های فراسودمند میوه‌ای، حضور جلبک اسپیرولینا سبب کاهش شاخص‌های رنگی L^* ، a^* و b^*در مقایسه با نمونه شاهد گردید [٤٩]. همچنین در

مطالعه‌ای دیگر، افزودن ریزجلبک اسپیرولینا به پاستیل میوه‌ای بر پایه پوره کیوی موجب کاهش معنی‌دار شاخص‌های L^* و b^* شد [۲۴]. این تغییرات به دلیل تأثیر مستقیم رنگ سبز–آبی فیکوبیلی‌پروتئین‌های اسپیرولینا و همچنین جذب نوری قوی کاروتنوئیدها در طول‌موج‌های زرد و قرمز گزارش شده است. علاوه بر این، نتایج مربوط به پاستیل‌های کیوی نشان داد که اسپیرولینا توانسته رنگ زرد و قهوه‌ای ناشی از واکنش‌های مایلارد را به‌طور کامل بپوشاند و رنگ فرآورده را به سمت آبی متمایل سازد ، در فرمولاسیون اسپاگتی غنی‌شده با ریزجلبک‌های اسپیرولینا و کلرلا نیز، پارامتر رنگی b^* روندی کاهشی داشته است [۵۳]. در پژوهش مشابهی روی لواشک کیوی غنی‌شده با اسپیرولینا، افزایش میزان این جلبک باعث کاهش معنی‌دار شاخص‌های L^* (روشنایی) و b^* (زردی) و افزایش سبزی نمونه‌ها (منفی‌تر شدن شاخص a^*) در مقایسه با نمونه شاهد شد[۵۴]. نتایج حاصل از مطالعه‌ی صالحی‌فر و همکاران نیز نشان داد که در فرآیند غنی‌سازی کلوچه صنعتی با *اسپیرولینا پلانتسیس* ، افزایش میزان ریزجلبک سبب کاهش معنی‌دار روشنایی بافت گردید که این موضوع به رنگ سبز طبیعی اسپیرولینا نسبت داده شد. همچنین خزایی‌پول و همکاران کاهش شاخص زردی را در پاستیل‌های حاوی اسپیرولینا گزارش کردند که آن را ناشی از رنگدانه‌های کلروفیل و فیکوسیانین دانستند. در همین راستا، نتایج حاصل از پاستای غنی‌شده با اسپیرولینا نیز نشان داد که افزودن این جلبک باعث ایجاد رنگ سبز یکنواخت در محصول نهایی می‌شود[۵۵]. به‌طور کلی، کاهش شاخص L^* و b^* در نمونه‌های حاوی اسپیرولینا را می‌توان به اثرات نوری و جذب طول‌موج‌های بالاتر توسط رنگدانه‌های فتوسنتزی نسبت داد. کلروفیل‌ها با جذب ناحیه قرمز و آبی طیف مرئی و بازتاب نور سبز، موجب کاهش روشنایی و زردی می‌شوند. از سوی دیگر، وجود فیکوسیانین و کاروتنوئیدها با خاصیت پایدارکنندگی رنگ و مقاومت در برابر اکسیداسیون، علاوه بر ایجاد رنگ سبز–آبی مطلوب، می‌تواند موجب افزایش پایداری رنگ در طول نگهداری محصول شود. این ویژگی‌ها نه‌تنها ارزش تغذیه‌ای محصول را ارتقا می‌دهد، بلکه به‌عنوان یک مزیت صنعتی برای تولید محصولات طبیعی با رنگ پایدار و بدون افزودنی‌های مصنوعی قابل توجه است.



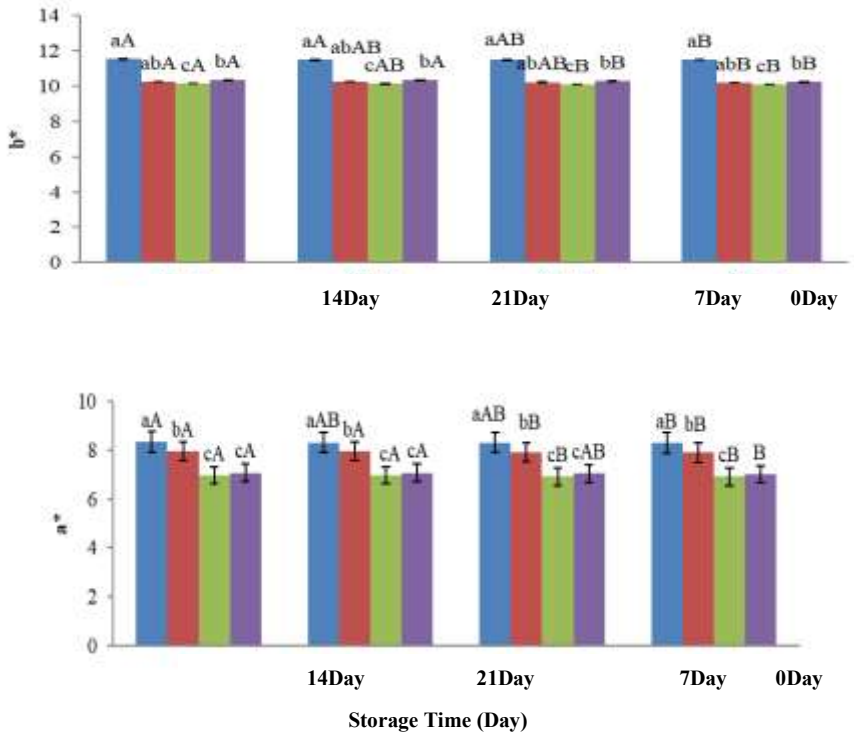


Fig8: Color index L*, a*, and b* of licorice drink containing hydroalcoholic extract of *Spirulina platensis* during storage period
Different lowercase letters indicate significant differences on each day and different uppercase letters indicate significant differences over time ($p \leq 0.05$)
T0 (control), T1 (0.5%), T2 (1%), and T3 (1.5%)

۳-٦- ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی[1]

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا در سه غلظت مختلف (۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) با استفاده از روش رادیکال آزاد DPPH مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصاره، میزان مهار رادیکال‌های آزاد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بیشترین درصد مهار رادیکال DPPH در غلظت ۱۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر (۴۵/۹۷ درصد) و کمترین میزان آن در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر (۲۲/۶۱درصد) مشاهده شد. این روند افزایشی بیانگر وجود رابطه مستقیم بین غلظت عصاره و قدرت آنتی‌اکسیدانی آن است. افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت‌های بالاتر را می‌توان به حضور بیشتر ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و اسیدهای آلی نظیر اسید گالیک، فرولیک اسید و کافئیک اسید نسبت داد که از طریق اهدا یا پذیرش الکترون، موجب خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد می‌شوند. همچنین وجود رنگدانه‌های طبیعی مانند فیکوسیانین و کلروفیل در اسپیرولینا، نقش مهمی در مهار واکنش‌های اکسایشی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی ایفا می‌کند. این نتایج با یافته‌های مطالعات مشابه هم‌خوانی دارد که نشان داده‌اند فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اسپیرولینا وابسته به غلظت بوده و با افزایش مقدار ترکیبات زیست‌فعال، توانایی احیای رادیکال‌های آزاد به‌طور قابل توجهی تقویت می‌شود. در مجموع، می‌توان نتیجه گرفت که عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا از پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالایی برخوردار است و می‌تواند به عنوان یک ترکیب طبیعی جهت بهبود پایداری اکسیداتیو محصولات غذایی و دارویی مورد استفاده قرار گیرد. دارا بودن توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH توسط جلبک کلرلا ولگاریس توسط Adel-

1- 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Karim وهمکاران(۲۰۲۰) ، Taghavi وهمکاران (۲۰۱۹) نیز گزارش شده است[۵۶،۵۷]. در تحقیقی دیگر ویژگی های آنتی اکسیدانی جلبک *کلرلا ولگاریس* توسط هیدرولیز آنزیمی نشان دادکه، پروتئین های هیدرولیز شده توسط آنزیم آلکالاز برخواص عملکردی فعایت آنتی اکسیدانی تاثیر مناسبی دارد [۵۸].

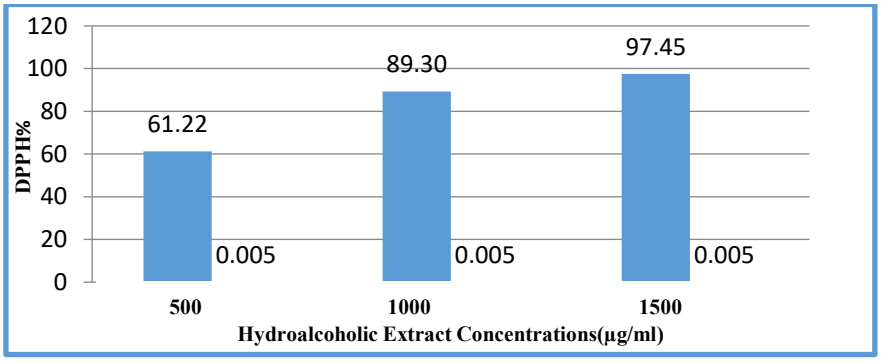


Fig9: Antioxidant activity of hydroalcoholic extract in three concentrations (500-1000-1500 µg/ml)

T1 (500 µg), T2 (1000µg), T3 (1500 µg)

قدرت آنتی‌اکسیدانی*اسپیرولینا پلانتاسیس* احتمالاً به‌دلیل حضور ترکیبات زیست‌فعالی نظیر توکوفرول‌ها و فیکوسیانین‌ها است. این ترکیبات علاوه بر نقش مستقیم در مهار رادیکال‌های آزاد، می‌توانند به‌عنوان ترکیبات هم‌افزا (سینرژیست) در افزایش اثر آنتی‌اکسیدانی عمل کنند [۲۱]. در میان این ترکیبات، رنگدانه‌ی آبی فیکوسیانین به‌عنوان اصلی‌ترین فیکوبیلی‌پروتئین در تمامی سیانوباکتری‌ها شناخته می‌شود. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که فیکوسیانین می‌تواند از طریق القای مسیرهای آپوپتوتیک، در مهار رشد سلول‌های توموری مؤثر باشد[۵۹]. مکانیسم این اثر شامل ترشح سیتوکروم c از میتوکندری، تجزیه‌ی آنزیم پلی (ADP–ریبوز) پلیمراز (PARP) و تنظیم مسیرهای آنتی‌آپوپتوتیک است که در نهایت منجر به مرگ برنامه‌ریزی‌شده‌ی سلولی (آپوپتوز) می‌شود. افزون بر آن، فیکوسیانین دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و نورون محافظتی است و می‌تواند به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان کارآمد در سیستم زیستی انسان عمل نماید[۶۰]. همچنین، مطالعات حیوانی نشان داده‌اند که فیکوسیانین استخراج‌شده از *اسپیرولینا پلانتسیس* دارای اثر محافظت‌کننده‌ی کبدی است، به‌طوری‌که در آزمایشی، تجویز این رنگدانه پیش از القای هپاتوتوکسیسیته در موش‌ها موجب کاهش آسیب‌های بافتی و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی شد. این خاصیت به وجود گروه کروموفور فیکوسیانوبیلین در ساختار فیکوسیانین نسبت داده می‌شود که در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد نقش کلیدی دارد[۶۱] . به‌طور کلی، سیانوباکتری‌ها به‌دلیل تولید فرآورده‌های طبیعی متنوع و زیست‌فعال، به‌عنوان منابع ارزشمند ترکیبات بیوشیمیایی شناخته می‌شوند. گونه‌هایی مانند: *Anabaena, Nostoc* ،*Spirulina* و *Oscillatoria* قادر به سنتز انواع متابولیت‌های ثانویه نظیر پلی‌ساکاریدها، پپتیدها و ترکیبات فنولی هستند که دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی قابل توجهی می‌باشند. حضور آنزیم‌های پپتید سنتتازها در سیانوباکتری‌ها منجر به بیوسنتز ترکیبات زیست‌فعالی مانند میکروسیستین‌ها می‌شود. افزون بر این، گونه‌های *Chlorella spp.* و *Scenedesmus quadricauda* قادر به تولید پلی‌ساکاریدهایی هستند که به‌عنوان عوامل محافظ در برابر استرس اکسیداتیو و افزایش‌دهنده‌ی مقاومت سلولی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو عمل می‌کنند[۶۲،۶۳] .

۳-۷- ارزیابی حسی

نتایج ارزیابی حسی نشان داد که با افزایش میزان عصاره هیدروالکلی *اسپرولینا پلانتسیس*، امتیاز طعم نمونه‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P \leq$ ۰/۰۵). نتایج ارزیابی حسی در روز صفر نشان داد که با افزایش غلظت عصاره اسپیرولینا، امتیازات مربوط به طعم، بو و پذیرش کلی کاهش یافت. نمونه شاهد بیشترین امتیاز را در هر سه ویژگی کسب کرد و از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با تیمار ۱ نداشت، که نشان‌دهنده حفظ مطلوب ویژگی‌های حسی در غلظت پایین عصاره اسپیرولینا است. در مقابل، تیمارهای ۲ و به‌ویژه ۳ کاهش قابل‌توجهی در امتیاز طعم و پذیرش کلی نشان دادند و تفاوت آماری معنی‌داری با نمونه شاهد داشتند($P \leq$ ۰/۰۵). این نتایج بیانگر آن است که افزایش میزان اسپیرولینا اگرچه ممکن است خواص عملکردی نوشیدنی را بهبود دهد، اما در غلظت‌های بالا تأثیر منفی بر پذیرش حسی مصرف‌کننده دارد(نمودار ۱۰). در ارزیابی حسی روز هفتم، با افزایش غلظت عصاره اسپیرولینا در نوشیدنی شیرین‌بیان، امتیازات مربوط به بو، طعم و پذیرش کلی کاهش یافت. نمونه شاهد بالاترین میانگین امتیاز را در هر سه ویژگی به‌دست آورد و از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت. تیمار ۱همچنان در سطح مطلوب‌تری نسبت به تیمار۲ و تیمار۳ قرار گرفت و از نظر پذیرش کلی نزدیک به نمونه شاهد بود، در حالی که تیمارهای ۲ و به‌ویژه ۳ کاهش قابل‌توجهی در امتیازات حسی نشان دادند. این نتایج نشان می‌دهد که طی نگهداری تا روز هفتم، افزایش غلظت عصاره اسپیرولینا تأثیر منفی بر کیفیت حسی نوشیدنی داشته و تیمار با غلظت پایین‌تر اسپیرولینا تیمار۱، بهترین حفظ ویژگی‌های ارگانولپتیکی را دارا بوده است. در روز هفتم، افزایش غلظت اسپیرولینا موجب کاهش محسوس کیفیت حسی نوشیدنی شد. با گذر زمان، نمونه‌های دارای غلظت بالاتر (به‌ویژه تیمار۳) از نظر طعم و پذیرش کلی افت بیشتری نسبت به شاهد داشتند که می‌تواند ناشی از تغییرات ترکیبات فنولی و تعامل با اجزای نوشیدنی طی نگهداری باشد (نمودار۱۱). نتایج ارزیابی حسی در روز چهاردهم نگهداری نشان داد که بین تیمارهای مختلف از نظر بو، مزه و پذیرش کلی اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($P<$۰/۰۵). نتایج ارزیابی حسی در روز ۲۱ام نگهداری نشان داد که بین تیمارهای مختلف از نظر بو، طعم و پذیرش کلی اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد ($P<$۰/۰۵). در تمامی شاخص‌های حسی، تیمار شاهد بالاترین امتیاز را به‌طور معنی‌دار به خود اختصاص داد ، این نتایج بیانگر آن است که در روز ۲۱، کیفیت حسی نمونه شاهد نسبت به تیمارهای مختلف بهتر حفظ شده و تیمارها، به‌ویژه تیمار۳، کاهش معنی‌دار ویژگی‌های بویایی، طعمی و در نتیجه پذیرش کلی محصول در طول دوره نگهداری نشان داد .هرچند در تمامی بازه‌های زمانی اختلاف آماری معنی‌داری بین نمونه شاهد و تیمار حاوی ۰/۵درصد عصاره مشاهده نشد، اما در غلظت‌های بالاتر کاهش قابل توجهی در امتیاز طعم گزارش گردید. این کاهش را می‌توان به حضور ترکیبات فنولی و رنگدانه‌های خاص اسپیرولینا مانند فیکوسیانین و کلروفیل نسبت داد که ممکن است طعم و بوی خاص جلبکی ایجاد کنند. به‌طور مشابه، امتیاز بو (عطر) نمونه‌ها نیز با افزایش سطح عصاره اسپیرولینا کاهش معنی‌داری نشان داد، اگرچه بین نمونه شاهد و تیمار ۰/۵ درصد تفاوت آماری معناداری مشاهده نشد. کاهش پذیرش بو در غلظت‌های بالاتر احتمالاً به علت غلظت زیاد ترکیبات فرار جلبک و تغییر ادراک حسی نمونه‌ها است. نتایج مربوط به پذیرش کلی نیز روند مشابهی را نشان داد؛ بدین ترتیب که با افزایش سطح عصاره اسپیرولینا، میزان پذیرش کلی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P \leq$ ۰/۰۵). با این حال، بین نمونه شاهد و تیمار ۰/۵ درصد اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت که بیانگر پذیرش مطلوب این سطح از عصاره در فرمولاسیون نوشیدنی است. در پژوهش مشابهی، تأثیر افزودن آگار، گوار و اسپیرولینا در پاستیل میوه‌ای غنی‌شده با پوره کیوی بررسی شد و نتایج نشان داد که تأثیر آن‌ها بر پذیرش کلی معنی‌دار نبود. در واقع، پوره کیوی توانست اثرات طعمی اسپیرولینا را به‌خوبی پوشش دهد. همچنین در آن مطالعه گزارش شد که نمونه‌های حاوی ۰/۲۵درصد و ۰/۵درصد اسپیرولینا پذیرش کلی بیشتری نسبت به نمونه شاهد داشتند [۲٤]. مشکنانی و

همکاران (۱۳۹۳) نیز در بررسی نوشیدنی دوغ پروبیوتیک حاوی پودر اسپیرولینا و نعناع، گزارش کردند که با افزایش سطح ریزجلبک، امتیاز حسی تیمارها کاهش یافت [٦٤]. به همین ترتیب، صالحی‌فرد و همکاران با استفاده از آزمون پنج‌نقطه‌ای هدونیک، بیان کردند که کلوچه‌های غنی‌شده با ۱ و ۱/۵ درصد *اسپیرولینا پلاتنسیس* پس از نمونه شاهد بیشترین امتیاز را از نظر پذیرش کلی کسب کردند ، که نشان‌دهنده امکان بهبود ویژگی‌های تغذیه‌ای و حسی محصول در غلظت‌های پایین اسپیرولینا است. در مطالعات دیگر نیز تأکید شده است که برخی از محصولات غنی‌شده با اسپیرولینا در مقایسه با نمونه شاهد پذیرش کلی بالاتری داشته‌اند. وجود رنگدانه‌های طبیعی مانند فیکوسیانین علاوه بر ایجاد رنگ جذاب، سبب افزایش تمایل مصرف‌کنندگان در کشورهای شرق آسیا (نظیر چین و ژاپن) به مصرف محصولات لبنی، ژل‌ها و پاستیل‌های حاوی اسپیرولینا شده است [۵۳]. بر اساس نتایج پژوهش‌های مشابه، استفاده از ترکیباتی نظیر پوره میوه‌ها و الیگوساکاریدها به عنوان پوشاننده طعم (Flavor masking agents) برای بهبود ویژگی‌های حسی محصولات حاوی اسپیرولینا پیشنهاد شده است [۲۳]. در مجموع، می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از سطوح پایین عصاره اسپیرولینا (تا حدود ۰/۵درصد) ضمن حفظ ارزش تغذیه‌ای بالا، توازن مناسبی بین ویژگی‌های تغذیه‌ای و پذیرش حسی محصول ایجاد می‌کند.

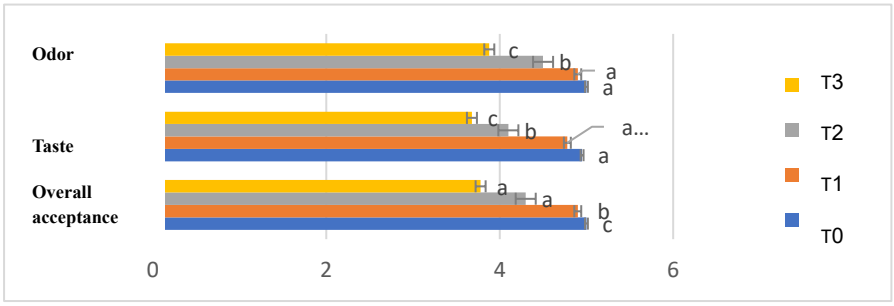


Fig10: Overall acceptance score, odor, and taste of licorice drink samples containing hydroalcoholic extract of *Spirulina platensis* on zero day
Different lowercase letters indicate significant differences on each day and different uppercase letters indicate significant differences over time ($p \leq 0.05$)

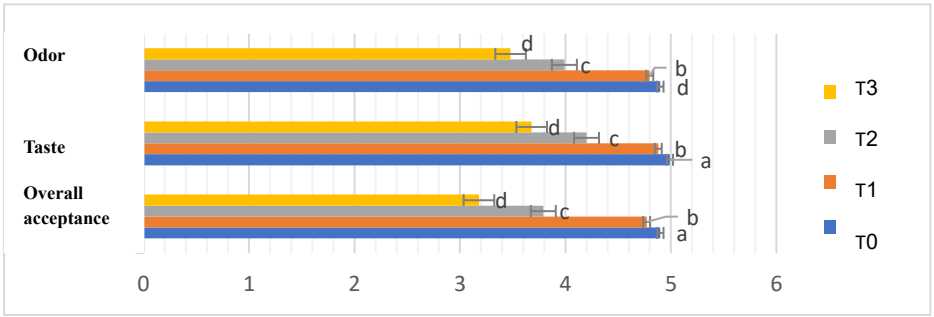


Fig11: Overall acceptance score, odor, and taste of licorice drink samples containing hydroalcoholic extract of *Spirulina platensis* on day 7.
Different lowercase letters indicate significant differences on each day and different uppercase letters indicate significant differences over time ($p \leq 0.05$)

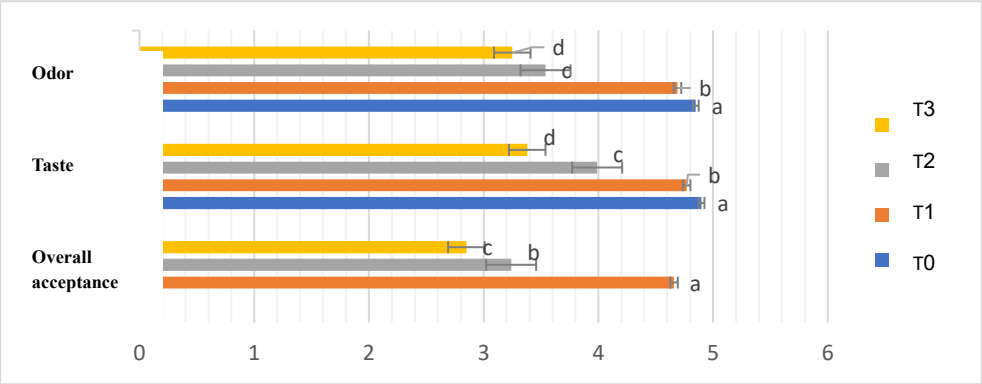


Fig12: Overall acceptance score, odor, and taste of licorice drink samples containing hydroalcoholic extract of *Spirulina platensis* on day 14
Different lowercase letters indicate significant differences on each day and different uppercase letters indicate significant differences over time ($p \leq 0.05$).

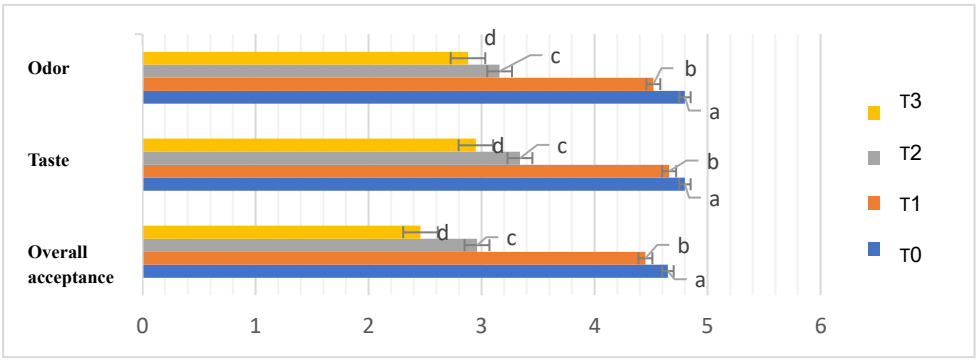


Fig13: Overall acceptance score, odor, and taste of licorice drink samples containing hydroalcoholic extract of *Spirulina platensis* on day21.

Different lowercase letters indicate significant differences on each day and different uppercase letters indicate significant differences over time ($p \leq 0.05$)

٤- نتیجه گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که افزودن عصاره هیدروالکلی *اسپیرولینا پلانتسیس*، به نوشیدنی فراسودمند بر پایه عصاره شیرین بیان، تاثیر معنی داری بر ویژگی های فیزیکوشیمیایی ، پایداری و فعالیت های زیستی محصول دارد.افزایش غلظت اسپیرولینا موجب کاهش pH ، افزایش اسیدیته و ویسکوزیته شده است. به طور کلی، بیشترین میزان دو فازی شدن در پایین ترین غلظت و طولانی ترین مدت زمان نگهداری (روز ۲۱ ام) مشاهده شد در هر بازه زمانی ، تیمار با کمترین غلظت بیشترین میزان دو فازی را نشان داد. حداقل غلظت بازدارندگی عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا در برابر باکتری *اشریاشیکلی* به‌طور معنی‌داری بالاتر از باکتری‌های *استفیلوکوکوس اورئوس* و لاکتو باسیلوس پلانتروم بود.

بررسی‌ها نشان داده‌اند که افزودن اسپیرولینا به محصولات غذایی مختلف موجب کاهش مقادیر L^* ، a^* و b^* می‌شود. نتایج آزمون DPPH بیانگر افزایش معنی‌دار قدرت آنتی‌اکسیدانی با افزایش غلظت عصاره بود، به‌طوری‌که در غلظت ۱۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۹۷/٤٥درصد مهار رادیکال آزاد ثبت گردید. این موضوع بیانگر نقش ترکیبات فنولی، کاروتنوئیدی و محصولات حاصل از تجزیه کلروفیل در بهبود توان آنتی‌اکسیدانی است. . در بخش ارزیابی حسی، با افزایش غلظت اسپیرولینا، امتیازات طعم، بو و پذیرش کلی کاهش یافتند، اما در سطح ۰/۵ درصد عصاره، اختلاف آماری معنی‌داری با نمونه شاهد مشاهده نشد($P \geq$ ۰/۰۵) و این سطح را به‌عنوان مناسب‌ترین میزان برای غنی‌سازی معرفی می‌کند.به‌طور کلی، می‌توان نتیجه گرفت که نوشیدنی فراسودمند حاوی ۰/۵ درصد عصاره هیدروالکلی *اسپیرولینا*

پلاتنسیس از نظر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، حسی و عملکردی بهینه‌ترین فرمولاسیون را داراست و می‌تواند به‌عنوان یک نوشیدنی سلامت‌محور مورد توجه صنایع غذایی و دارویی قرار گیرد. بنابراین، استفاده از ترکیب عصاره شیرین‌بیان و *اسپیرولینا پلاتنسیس* در تولید نوشیدنی‌های فراسودمند، گامی مؤثر در جهت تولید محصولات غذایی طبیعی، مغذی، پایدار و با خواص درمانی می‌باشد. پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آینده، اثر این ترکیبات بر پایداری شیمیایی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی در شرایط نگهداری طولانی‌مدت، و پذیرش مصرف‌کننده در مقیاس صنعتی مورد بررسی قرار گیرد.

دسترسی به داده‌ها

داده‌های پشتیبان نتایج این مطالعه، با در نظر گرفتن ملاحظات مربوط به حق نشر، بنا به درخواست معقول از نویسنده مسئول قابل دریافت است.

تأمین مالی

نویسنده اعلام می کند که هیچ بودجه ای دریافت نکرده است.

مشارکت نویسندگان

تمام فعالیت ها توسط نویسنده انجام شده است.

منافع رقابتی

نویسنده تأیید می کند که هیچ گونه تضاد منافع مالی یا منافع رقابتی در این مطالعه ندارد.

۵- منابع

[1] Amiri M., Tavokolipour H., Ahmadi Komazani N. Investigation of the physicochemical and rheological properties of a functional kiwi beverage containing rice bran. Journal of Innovation in Food Science and Technology 2016; 7 (3): 35-44. [in Persian]

[2] Zeng Y W., Yang J ZH., Pu X Y, Du J, Yang T, Yang Sh M, Zhu W H. Expand Strategies of functional food for cancer prevention in human beings. 2013;14(3): 1585-92.doi: 10.7314/apjcp.2013.14.3.1585

[3] Baker MT, Lu P, Parrella JA, Leggette HR. consumer acceptance toward functional foods: A scoping review. Int J Environ Res Public Health 2022; 19(3): 1217. https://pdfs.semanticscholar.org/6643/876c769d0061e8307f7f909f0f969fb1aed4.pdf

[4] Da Silva SC, Fernandes IP, Barros L, Fernandes A, Alves MJ, Calhelha RC, et al. Spray-dried Spirulina platensis as an effective ingredient to improve yogurt formulations: Testing different encapsulating solutions. J Funct Foods 2019; 60: 103427 . doi:10.1016/j.jff.2019.103427

[5]Mahmoud S, Ashoush I, Attia M, Mahmoud R. Immunomodulatory and antioxidant activity of pomegranate juice in corporate with spirulina and echinacea extracts sweetened by sativoside. Journal of Agricultural and Veterinary Sciences, Qassim University 2015; 8(2): 161-74.

[6]Bhuiyan M H R, Shams -Ud-Din، M, Islam M N. Development of Functional Beverage Based on Taste Preference. J. Environ. Sci. & Natural Resources 2012; 5(1): 83 – 87.

[7]Mohammad-Saleem M M N., Mohammad AAW., Al-Tameemi J A. Ghassan M S. Biological study of the effect of licorice roots extract on serum lipid profile،liver enzymes and kidney function tests in albino mice. AJB 2011; 10 (59): 12702 – 6.

[8]Del-Camp J A, García-González M, Guerrero M G. Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: current state and perspectives. Appl Microbial Bio Technol 2007 ; 74:1163-1174.

[9]Hassanzadeh H, Ghanbarzadeh B, Galali Y, Bagheri H. The physicochemical properties of the spirulina-wheat germ-enriched high-protein functional beverage based on pear-cantaloupe juice. Food Sci Nutr 2022; 10(11):3651-61.[in Persian]

[10]Kashmala Chaudhary A, Samran Khalid A, Taghrid S. Alomar , Najla Al Masoud , Sadia Ansar , Ahmed Fathy Ghazal , Abderrahmane Aït-Kaddour, Rana Muhammad Aadil. Ultrasound assisted natural deep eutectic solvents based sustainable extraction of Spirulina platensis and orange peel extracts for the development of strawberry-cantaloupe based novel clean-label functional drink Ultrasonics Sono chemistry 2025;118(3):107357

[11]Sadeghi T, Marvizadeh MM, Ebrahimi F, Mafi S, Foughani O, Nafchi A. Assessment of nutritional and antioxidant activity of sport drink enriched with Spirulina platensis. Journal of Chemical Health Risks 2022;13(3): 485-6. [In Persian].

[12]Babakhani, Z., Karami, M., Rezazadeh bari, M. The use of Spirulina Platensis in formulation of functional low-calorie sauce fortified with iron and zinc. Journal of Food Science and Technology 2019; 84(145): 125-136. [In Persian]

[13]Gautier A, Duarte CM, Sousa I. Moringa oleifera seeds characterization and potential uses as food. Foods 2022;11(11): 1629.

[14]Girotto F, Merlino M, Giovanelli G, Condurso C, Piazza L. Unveiling the potential of micronized dehulled sunflower press-cake: a breakthrough in sustainable plant-based protein-rich sport beverages international Journal of Food Science and Technology, 59(7) : 2024, 4784–4796. https://doi.org/10.1111/ijfs.17208

[15]Taiti C, Stefano G, Percaccio E, Di Giacomo S, Iannone M, Marianelli A. Addition of spirulina to craftbeer: Evaluation of the effects on volatile flavor profile and cytoprotective properties. Antioxidants (Basel) 2023; 12(5): 1021.

[16]Mendiola J, Jaime L, Santoyo S, Reglero G, Cifuentes A, Ibanez E. Screening of functional compounds in supercritical fluid extracts from Spirulina platensis. Food Chem 2007; 102(4):1357-67.

[17]Shalaby E A, Shanab S M. Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of Spirulina platensis. Indian Journal of Jeo Marine Science 2013;42(5): 556-564.

[18]Hassanzadeh H, Ghanbarzadeh B, Galali Y, Bagheri H. The physicochemical properties of the spirulina-wheatgerm-enriched high-protein functional beverage based on pear-cantaloupe juice. Food Sci Nutr 2022; 10(11): 3651-61.

[19]Rodríguez De Marco E., Steffolani M E., Martínez C S., León A E . Effects of spirulina biomass on the technological and nutritional quality of bread wheat pasta. LWT - Food Science and Technology 2014; 58(1): 102-108.

[20]Elkot W F., Elmahdy A., Talaat H., Alghamdia O A., Alhag S K., Al-Shahari E. A.,... & Ismail H A. Development and characterization of a novel flavored functional fermented whey-based sports beverage fortified with Spirulina platensis. International Journal of Biological Macromolecules 2024; 258, 128999.

[21]Ahmadiyan H, BeigMohammadi Z., Soltani M. Investigation of Physicochemical and Sensory properties of FunctionalDairy Drink Dessert of Cantaloupe Containing *Moringa oleifera* and *Spirulina platensis*.Food Processing and Preservation Journal 2025; 15(1):1-22. [in Persian]

[22]Fadaei V, Mohamadi-Alasti F, KhosraviDarani K. Influence of Spirulina platensis powder on the starter culture viability in probiotic yoghurt containing spinach during cold storage. Eur. J. Experimental Bio 2013; 3(3):389-393.

[23]Beheshtipour H, Mortazavian A M. Haratian P, Khosravi Darani K. Effect of Chlorella vulgaris and Arthrospira platensis addition on viability of probiotic bacteria in yogurt and its biochemical properties. Eur. Food Technol. 2012. [in Persian]

[24]Khazaiy pool, E., Shahidi , F., Mortazavi S,A., Mohebbi M. The effect of different levels of Spirulina platensis micro algae and agar hydrocolloids on water activity, texture, color parameters and overall acceptability of kiwi puree-based fruit pastille. JFST 2015; 48(12): 46-59.

[25]Mahjor N. Physical and sensory properties of traditional ice cream fortified with Spirulina platensis. MSc Thesis،College of Agriculture،Tehran University of Engineering and Technology،Department of Food Engineering،2012. [in Persian].

[26]Mohammadi M., Beig-Mohammadi Z., Mansouripour S. Investigating the possibility of producing of functional kiwi and apple beverage containing *Spirulina platentis* and *Moringa oleifera*. Journal of Health System Research 2025; 20(1):96-105. [in Persian]

[27]Mukhopadhyay M & Panja P. A novel process for extraction of natural sweetener from licorice *(Glycyrrhiza glabra*) roots. Separation and Purification Technology 2008;63, 539-545.

[28]Zhang Y Z, Gong H B & Zhu H L. A systematic review of the comparison of three medicinal licorices, based on differences of the types and contents about their bioactive components. Journal of Chemical Biology and Pharmaceutical Chemistry 2018;1(1), 1–6.

[29]Abd El-Lahot M S, Amal M, El-Razek A, Massoud M I & Gomaa E G . Utilization of glycyrrhizin and licorice extract as natural sweeteners in some food products and biological impacts. Journal of Food and Dairy Sciences 2017; 3, 127-136.

[30]Husain I, Manda V, Alhusban M, Dale O R, Bae JY, Avula B, Gurley B J, Chittiboyina A G, Khan I A & Khan S I. Modulation of CYP3A4 and CYP2C9 activity by *Bulbine natalensis* and its constituents: An assessment of HDI risk of B. natalensis-containing supplements. Phytomedicine 2021;81, 153416.

[31]Asl M N & Hosseinzadeh H . Review of pharmacological effects of Glycyrrhiza sp. and its bioactive compounds. Phytotherapy Research 2008; 22,709-724

[32]Rizzato G, Scalabrin E, Radaelli M, Capodaglio G & Piccolo O. A new exploration of licorice metabolome. Food Chemistry 2017; 221, 959-968.

[33]Cao Y, Xu W, Huang Y & Zeng X. Licochalcone B, a chalconederivative from Glycyrrhiza inflata, as a multifunctional agent for the treatment of Alzheimer's disease. Natural Product Research 2020; 34, 736–739.https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1496429

[34]Falet J P, Elkrief A & Green L. Hypertensive emergency induced by licorice tea. Canadian Medical Association Journal 2019; 27, E581-E583.

[35]Jiang M, Zhao S, Yang S, Lin X, He X, Wei X, Song Q, Li R, Fu C, Zhang J, Zhang Z. An "essential herbal medicine" licorice: A review of phytochemicals and its effects in combination preparations. Journal of Ethnopharmacology 2020; 249, 112439.

[36]Parle M. Memory-strengthening activity of Glycyrrhiza glabra in exteroceptive and interoceptive behavioral models. J. Med. Food 2004; 7 (4): 462 - 6.

[37]Hamidi Z, Hosseini Ghaboos H, Fadavi A. The effect of adding different values of pumpkin in orange juice. Iran J Nutr Sci Food Technol 2017; 12(2): 65-74. [In Persian].

[38]Mahmoud S, Ashoush I, Attia M, Mahmoud R. Immunomodulatory and antioxidant activity of pomegranate juice incorporated with spirulina and echinacea extracts sweetened by stevioside. Journal of Agricultural and Veterinary Sciences, Qassim University 2015; 8(2): 161-74.

[39]Amidi Fazli F, Dezyani M, Ezzati R, Eivani MJ. Evaluation of human body needed mineral content in fruits. Iran J Nutr Sci Food Technol 2013; 7(5): 207-12. [In Persian].

[40]Ng LK. Analysis by gas chromatography/mass spectrometry of fatty acids and esters in alcoholic beverages and tobaccos. Analytica Chimica Acta 2002; 465(1): 309-18.

[41]Taheri P, Ehsani M R, Khosravi-Darani K. 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 2009; 4 (3) 15-24[in Persian].

[42]Foroughinaia S, Abbasi S, Hamidi-Esfahani Z. of salep ،tragacantin and guar gums on the stabilization of Iranian Dough . Iranian J. Nutrition Sci. Food Tech 2007;25-15, (2). [in persian]

[43]Chaovanalikit A, Wrolstad RE. Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. J. Food Sci.2004, 69(1)67-72.

[44]Zare Bidaki, M., Arab, M., Khazaei , M., Afkar ,E., Zardast , M. Anti bacterial effect of Zataria multiflora bioss. Essential oil on eight gastrointestinal pathogenic species. Quarterly of the horizon of medical science 2015; 21(3): 155-161. [in Persian].

[45]Hashemi N, Rabiee H, Tavakolipour H, Gazerani S. Effect of Stevia (*Stevia rebaudiana*) as a substitute for sugar on physicochemical, rheological and sensory properties of dietary saffron syrup. Saffron Agronomy and Technology 2015; 2(4): 303-10. [In Persian].

[46] Sharoba AM. Nutritional value of Spirulina and its use in the preparation of some complementary baby food formulas. Journal of Food and Dairy Sciences 2014; 5(8): 517-38.

[47] Mohammadi M , Beig-Mohammadi Z , Mansouripour S. Investigating the Possibility of Producing a Functional Kiwi and Apple Beverage Containing Spirulina Platensis and Moringa Oleifera. Journal of Health System Research 2025; 20(1): 96-106.

[48] Tafreshi E, Jo M, Qarachorloo M. Investigation of the rheological properties of a functional orange pulp beverage enriched with Spirulina platensis and evaluation of its antioxidant properties during storage stability. Master's thesis, Science and Research Branch,2018.[(in Persian

] [49] Varga, L., Molnar, N., Szigeti, J. Manufacturing technology for a Spirulina enriched mesophilic fermented milk. International Scientific Conference on Sustainable Development & Ecological Footprint Journal 2012; 101. 1707-1713.

[50]Haque M, Moni M, Rani S, Sharmin, Hasan M, Ripon M, et al. Standardization of recipe of value-added functional aloe vera drink enriched with Moringa leave. Malaysian Journal of Halal Research 2022; 5(2): 46-50.

[51]Rajabpour N, Nowruzi B & Ghobeh M. Investigation of the toxicity, antioxidant and antimicrobial activities of some cyanobacterial strains isolated from different habitats. Acta Biologica Slovenica 2019; 62(2), 3-14. [in Persian]

[52]Jahromizadeh S, Emtiazjo M, Navar A .A. Investigation of the antioxidant properties of Spirulina algae as a supplement in gummy production. Master's thesis, Science and Research Branch.2018 .[in Persian]

[53]Fradique M., Batista A P., Nunes M C., Gouveia L., Bandarra N M., Raymundo A. Chlorella vulgaris and Spirulina maxima biomass incorporation in pasta products. Science of Food and Agriculture Journal 2010; 90: 1656-1664.

[54]Harandeh, N., Mansouripour, S.Effect o spirulina platntis microalgae of physicochemical and sensory properties of kiwi leather. Journal of Health System Research 2020;16(4): 265-272.

[55]Ouzyurt G., Ualu L., Yuvka L., Gokdokan S.,Acti G., Burcu AK.E valution of the cooking quality characteristics of pasta enriched with spirulina platensis. J Food Qual 2015; 38(4)-268-272.

[56]Abdel-Karim, O., Gheda, S., Ahmed Ismail, G. and Abo-Shady, A . Phytochemical Screening and antioxidant activity of Chlorella vulgaris. Delta Journal of Science,2020. 41: 81- 91.

[57]Taghavi Takyar, M.B., Khajavi, S. H. and 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, 100:244- 249

[58]Taghdiri Sh, Emteyazjoo M, Azizi M. H , Ariayi P, Sedaghati M. Evaluation of Antioxidant and Functional Properties of Hydrolyzed Protein from Chlorella Vulgaris by Enzymatic Hydrolysis. Journal of Innovation in Food Science and Technology , 2024. 16(3): 105-119. [in Persian]

[59]Salehifar M., Shahbazizadeh S., Khosravi-Darani K., Behmadi H., Ferdowsi R. Possibility of using microalgae Spirulina platensis powder industrial production of Iranian traditional cookies. Iran J Nutr Sci Food Technol 2013; 7(4): 63-72. [in Persian]

[60]Mysliwa-Kurdziel, B & Solymosi K. Phycobilins and phycobiliproteins used in food industry and medicine. Mini Reviews in Medicinal Chemistry 2017;17(13): 1173-1193.

[61]Guerreiro A., Andrade M A., Menezes C., Vilarinho F & Dias E . Antioxidant and cytoprotective properties of cyanobacteria: Potential for biotechnological applications. Toxins 2020; 12 (9): 548.

[62]De Amarante, M. C. A., Braga, A. R. C., Sala, L. & Kalil, S. J. Colour stability and antioxidant activity of C-phycocyanin-added ice creams after in vitro digestion. Food Research International 2020; 137, 109602.

[63]Kultschar B & Llewellyn C. Secondary metabolites in cyanobacteria. Secondary Metabolites—Sources and Applications,2018. pp. 64.

[64]Eslami Meshkani, A., Ghodani Tofani, V., Khosravi Darani, K., Mazinani, S. Investigation of the effect of adding Spirulina platensis microalgae powder on some physicochemical and sensory properties of probiotic Doogh containing mint powder. Quarterly Journal of Modern Food Technologies 2014; 2 (6): 59–70. [in Persian]

.

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Investigation of the Effects of Different Levels of Hydroalcoholic Extract of Spirulina platensis on the Physicochemical, Sensory, and Antimicrobial Properties of a Functional Licorice Beverage

Ebrahim Sadin[1], Mozhgan Emtyazjoo[2], Sahar Jalili[3*]

1- M.Sc. Graduate, Department of Food Science and Technology, NT.C, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2-Department of Marine Biology, NT.C, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

3- Department Fisheries, Arv.C. Islamic Azad University, Abadan, Iran

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 2026/02/01

Review: 2026/03/11

Accepted: 2026/04/13

Keywords:

Spirulina platensis,

Glycyrrhiza glabra,

functional beverage,

antioxidant activity,

physicochemical properties.

DOI: 10.48311/fsct.2026.119074.83045

*Corresponding Author E-

Sahar.jalili2024@iau.ac.ir

ABSTRACT

The biological bioactive compounds and appropriate protein content of the microalga Spirulina platensis can provide a novel strategy for the development and maintenance of consumer health in the food and pharmaceutical sectors. Licorice (Glycyrrhiza glabra) has also been introduced as an effective natural oral medicinal plant and as a food additive. The present study aimed to investigate the effects of different levels of hydroalcoholic extract of Spirulina platensis on the physicochemical properties, sensory attributes, antimicrobial activity, and stability of a functional licorice beverage. The functional licorice beverages were prepared using inulin (0.5%), xanthan gum (0.15%), water (2000 mL), and licorice powder (1000 g). Subsequently, different levels of hydroalcoholic extract of Spirulina platensis (0.5, 1, and 1.5%) were added, and four treatments were prepared: control (T0), T1 (containing 0.5% hydroalcoholic extract of Spirulina platensis), T2 (containing 1% hydroalcoholic extract of Spirulina platensis), and T3 (containing 1.5% hydroalcoholic extract of Spirulina platensis). Finally, physicochemical properties, antioxidant activity, antimicrobial properties, and sensory characteristics of the samples were evaluated. The results showed that T3 had the highest pH value, and with increasing storage time, the pH of all samples decreased significantly ($P \leq 0.05$), while their acidity increased significantly ($P \leq 0.05$). T3 exhibited the highest viscosity (187 cP) compared to the other samples at day zero, and increasing the level of hydroalcoholic extract of Spirulina platensis significantly increased the viscosity of the samples ($P \leq 0.05$). The degree of phase separation (serum separation) of the functional beverages containing the hydroalcoholic extract of Spirulina platensis significantly decreased with increasing extract concentration ($P \leq 0.05$); however, with storage time, phase separation significantly increased on days 14 and 21 ($P \leq 0.05$). In color evaluation, the lowest lightness parameter (L*) was recorded in T3. At all storage times, increasing the level of hydroalcoholic extract of Spirulina platensis significantly decreased the color parameters lightness (L*), redness–greenness (a*), and yellowness–blueness (b*) ($P \leq 0.05$), and with increasing storage time, these color indices in T2 and T3 decreased significantly ($P \leq 0.05$). Evaluation of antimicrobial properties showed that Escherichia coli had the highest minimum inhibitory concentration, while Lactobacillus plantarum exhibited a significantly lower minimum bactericidal concentration than the other tested bacteria ($P \leq 0.05$). Sensory evaluation indicated that the sample containing 0.5% Spirulina platensis extract (T1) achieved the highest scores for odor, taste, and overall acceptance and was identified as the most suitable formulation. Based on the findings, the use of a low concentration of Spirulina platensis extract (0.5%) can improve nutritional and functional characteristics while maintaining desirable sensory quality of the licorice beverage and can be proposed as an appropriate option for the production of functional beverages.