Food Hygiene, Vol. 12, No. 47, Autumn 2022

"Research article" **DOI: 30495/JFH.2022.1965039.1368**

Evaluation of antimicrobial effects of aqueous and alcoholic extracts of *Spirulina platensis* in UF white cheese

Running title: Antimicrobial effect of *Spirulina platensis* in cheese

Zanganeh, E.[1] Mirzaei, H.[2*], Jafari, S.M.[3], Afshar Mogaddam, M.R.[4] Javadi, A.[5]

1. Ph.D Graduate of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Medical Sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
2. Associate Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Medical Sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
3. Department of Food Materials and Process Design Engineering, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Iran
4. Assistant Professor, Food and Drug Safety Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran; Pharmaceutical Analysis Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
5. Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Medical Sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

*Corresponding author: hmirzaei@iaut.ac.ir

(Received: 2022/8/8 Accepted: 2022/10/4)

Abstract

One of the most widely used cheeses in Iran is UF white cheese. The presence of nutrients in different types of cheese, make that susceptible to the growth of various microorganisms. Therefore, the use of preservatives to maintain the quality of this high-consumption dairy product is inevitable. In this study, the effect of concentrations of 0.3 and 0.5% aqueous and methanolic extracts of *Spirulina platensis* on growth inhibition of *Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus and Escherichia coli* and also the effect of these extracts in preventing the growth of *A.flavus* in the UF white cheese has been investigated during 60 days of storage of the product in the refrigerator. In addition, the effect of extracts on texture, taste, color and overall acceptance of the product was evaluated. According to the results, a significant inhibitory effect ($p \leq 0.05$) of concentrations of 0.3 and 0.5 aqueous and methanolic extracts was observed on *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* from the 15th day of the storage period and on *Staphylococcus aureus* from the 30th day of the storage period. The antibacterial effect of 0.5 concentration of methanolic extract was significantly higher than other treatments ($p \leq 0.05$). All treatments had a significant antifungal effect on *Aspergillus flavus* strains ($p \leq 0.05$). According to the results of the present research, the used extracts did not have a significant adverse effect on the sensory characteristics of the cheese samples, although the concentration of 0.5 methanolic extract insignificantly decreased the quality of the sensory characteristics of the cheese samples. In general, it can be said that concentrations of 0.5 aqueous extract and 0.3 concentration of methanolic extract of *Spirulina platensis* can be used as natural preservatives in UF white cheese.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: UF white cheese, Antimicrobial effects, Natural preservatives, Extract, *Spirulina platensis*

«مقاله پژوهشی» DOI: 10.30495/JFH.2022.1965039.1368

بررسی اثرات ضدمیکروبی عصاره‌های آبی و متانولی *اسپیرولینا پلاتنسیس* (*Spirulina platensis*) در پنیر سفید فراپالایشی

اسماعیل زنگانه[۱]، حمید میرزایی[۲*]، سیدمهدی جعفری[۳]، محمدرضا افشارمقدم[۴]، افشین جوادی[۵]

۱. دانش‌آموخته دکتری بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

۲. دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

۳. گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۴. استادیار مرکز ایمنی غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران؛ مرکز تحقیقات آنالیز دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۵. استاد گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات: hmirzaei@iaut.ac.ir

(دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۵/۱۷ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۷/۱۲)

چکیده

وجود ترکیبات مغذی در انواع پنیر، این محصول را مستعد رشد انواع میکروارگانیسم‌ها می‌نماید لذا استفاده از نگهدارنده‌ها برای حفظ کیفیت این فراورده پرمصرف شیری اجتناب ناپذیر است. در این مطالعه اثر غلظت‌های ۰/۳ و ۰/۵ درصد عصاره‌های آبی و متانولی ریزجلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* در مهار رشد *لیستریا مونوسایتوجنز*، *استافیلوکوکوس ارئوس* و *اشریشیا کولای* و همچنین رشد *آسپرژیلوس فلاووس* در پنیر سفید فراپالایشی در مدت ۶۰ روز دوره نگهداری در یخچال، مورد بررسی قرار گرفته است. به‌علاوه اثر عصاره‌ها بر ویژگی‌های بافت، طعم و مزه، رنگ و پذیرش کلی محصول ارزیابی شد. طبق نتایج حاصله اثر مهاری معنی‌دار ($p\leq۰/۰۵$). غلظت‌های ۰/۳ و ۰/۵ عصاره‌های آبی و متانولی روی *لیستریا مونوسایتوجنز* و *اشریشیا کولای* از روز ۱۵ام دوره نگهداری و روی *استافیلوکوکوس آرئوس* از روز ۳۰ دوره نگهداری مشاهد شد. اثر ضدباکتریایی غلظت ۰/۵ عصاره متانولی بطور معنی‌دار بیشتر از سایر تیمارها بود ($p\leq۰/۰۵$). تمام تیمارها اثر ضدقارچی معنی‌دار روی پرگنه *آسپرژیلوس فلاووس* داشتند ($p\leq۰/۰۵$). طبق نتایج تحقیق حاضر عصاره‌های مورد استفاده اثر سوء معنی‌دار روی ویژگی‌های حسی نمونه‌ها پنیر نداشتند هر چند غظلت ۰/۵ عصاره متانولی به‌طور غیر معنی‌دار باعث کاهش کیفیت ویژگی‌های حسی نمونه‌های پنیر گردید. در مجموع می‌توان گفت که غلظت‌های ۰/۳ و ۰/۵ عصاره آبی و غلظت ۰/۳ عصاره متانولی *اسپیرولینا پلاتنسیس* می‌توانند به‌عنوان نگهدارنده طبیعی در پنیر سفید فراپالایشی مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: پنیر سفید فراپالایشی، خواص ضدمیکروبی، مواد نگهدارنده طبیعی، عصاره، *اسپیرولینا پلاتنسیس*

مقدمه

حفظ و نگهداری سالم و ایمن محصولات غذایی در طول آماده‌سازی، نگهداری و توزیع، یکی از چالش‌های اصلی در صنعت غذا به شمار می‌رود. عوارض جانبی نگهدارنده‌های شیمیایی و عکس العمل منفی مصرف کنندگان به این نوع نگهدارنده‌ها، باعث افزایش تمایل به استفاده از ترکیبات طبیعی شده‌است (Mahmoudi *et al*., 2012). در این زمینه تمایل ویژه‌ای روی کاربرد بالقوه ترکیبات زیست‌فعال گیاهی متمرکز شده است چرا که اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی دارای ترکیبات خاصی هستند که می‌توانند باعث حذف یا کاهش رشد باکتری‌ها، مخمرها و کپک‌های عامل فساد شوند (Hussain *et al*., 2008).

یکی از افزودنی های جالب توجه و دارای ارزش غذایی فوق العاده، ریزجلبک‌ها هستند که اخیرا به استفاده از آن‌ها در فراورده‌های غذایی برای دستیابی به غذاهای سلامت‌بخش توجه ویژه‌ای شده است. در میان گونه‌های شناخته شده ریزجلبک ها، *کلرلا ولگاریس* (*Chlorella Vulgaris*) و *اسپیرولینا پلاتنسیس* (*Spirulina platensis*) ریزجلبک‌های خوراکی رایج و بدون عوارض جانبی می باشند و دارای طیف وسیعی از ترکیبات زیست فعال هستند (Shahidi, 2004; Saranraj and Sivasakthi, 2014). *اسپیرولینا پلاتنسیس* یکی از نوید بخش‌ترین ریزجلبک‌ها می‌باشد که از سوی سازمان بهداشت جهانی به عنوان غذای برتر اعلام گردیده است. ترکیب پودر تجاری زیست توده *اسپیرولینا* عمدتا متشکل از ۷۰-۶۰ درصد پروتئین، ۲۰ درصد کربوهیدرات، ۵ درصد چربی، ۷ درصد مواد معدنی و ۶-۳ درصد رطوبت است (Sajilata *et al*., 2008). همچنین خواص ضدمیکروبی اسپیرولینا در مطالعات گزارش شده است (Abedin and Taha, 2008; El-Baz *et al*., 2013; Usharani *et al*., 2015).

یکی از پرمصرف‌ترین پنیرهای مورد استفاده در ایران، پنیر سفید فراپالایش شده است که مصرف سرانه‌ی آن ۴/۵ کیلوگرم در سال اعلام شده است (Alizadeh *et al*., 2006). این نوع پنیر در حال حاضر یکی از رایج‌ترین پنیرهای صنعتی ایران به‌شمار می‌رود و با توجه به داشتن مزایای بارزی مانند بازده بالای تولید اکنون مهمترین تولیدی صنایع شیری کشور را به خود اختصاص داده است (Manafi *et al*., 2014).

حضور ترکیبات مغذی در پنیر و همچنین تغییرات بیوشیمیایی گسترده‌ای که در طی دوران رسیدن در پنیر اتفاق می‌افتد سبب رشد انواع میکروارگانیسم‌ها در پنیر می‌شود. گرچه عده زیادی از باکتری‌ها توسط پاستوریزاسیون از بین می‌روند ولی امکان آلودگی ثانویه آن به انواع پاتوژن‌ها و متابولیت های مضر آنها وجود دارد (Lianou *et al*., 2016) ازجمله، رشد کپک‌ها از مشکلات متداول تولید کنندگان پنیر بوده و همچنین این مشکل برای فروشندگان و مصرف کننده‌های این محصول نیز طی نگهداری در یخچال مشاهده می‌شود (Dorman and Deans, 2000).

بخش بزرگی از تحقیقات در زمینه خواص مختلف نگهدارنده‌های طبیعی و ازجمله عصاره‌های گیاهی در

محیط آزمایشگاهی انجام گرفته است (Shariatifar *et al*., 2019; Behbahani *et al*., 2013) و بدین ترتیب مطالب کمی پیرامون تأثیر آنها در زمان به‌کارگیری در سامانه‌های غذایی گوناگون وجود دارد.. لذا در مطالعه حاضر، اثرات افزودن سطوح مختلف عصاره‌های آبی و متانولی *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر باکتری‌های *لیستریا مونوسایتوجنز*، *استافیلوکوکوس ارئوس* و *اشریشیا کولای* و کپک *آسپرژیلوس فلاووس* و خواص حسی در پنیر سفید فراپالایش شده در مدت زمان ۶۰ روز نگهداری محصول در یخچال، مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

- استخراج عصاره‌های ریزجلبک اسپیرولینا

به‌منظور تهیه عصاره الکلی اسپیرولینا، مقدار ۵۰ گرم از پودر ریزجلبک با حلال متانول ۸۰ درصد مخلوط و به مدت سه ساعت در دستگاه سوکسله قرار داده شد. سپس عصاره‌ها فیلتر و حلال متانولی در تبخیر کننده چرخشی (WIGGENS, Italy) جداسازی گردید (Farshbaf Derhami *et al*., 2018).

جهت تهیه عصاره آبی، از روش خیساندن (maceration) استفاده شد؛ یعنی ۵۰ گرم از پودر حاصله به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق در حالی‌که هم زده می‌شد (با سرعت ۲۵۰ دور در دقیقه) عصاره‌گیری گردید (Shariatifar *et al*., 2019).

عصاره‌های استخراج شده تا زمان استفاده درون شیشه‌های درب بسته تیره و در دمای ۴ درجه سلسیوس قرار گرفتند.

- میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه

سه باکتری *لیستریا مونوسایتوجنز* (PTCC, 1297)، *استافیلوکوکوس ارئوس* (PTCC, 1112) و *اشریشیا کولای* (PTCC, 1330) و کپک *آسپرژیلوس فلاووس* (PTCC, 5004) از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران بصورت لیوفیلیزه تهیه گردیدند. پس از فعال سازی میکروارگانیسم‌ها، سوسپانسیون قارچی (تعداد 10^6 اسپور کپک در هر میلی‌لیتر) با استفاده از کشت سطحی و شمارش پرگنه های قارچی (برای تایید تعداد تقریبی اسپورهای قارچی شمارش شده در لام هموسایتومتر و غلظت سوسپانسیون تهیه شده از آن) و سوسپانسیون باکتریایی که جذب معادل نیم مک فارلند داشته (تعداد تقریبی 10^8 cfu/ml) تهیه و جهت انجام آزمون‌ها مورد استفاده قرار گرفت (Azizkhani *et al*., 2016).

- تهیه نمونه‌های پنیر

نمونه‌های پنیر در کارخانه گروه صنعتی صباح (شرکت صنایع شیر فجر گنبد) به روش معمول تهیه پنیر در این کارخانه تولید ودر بسته‌های ۱۰۰ گرمی پرشد. به‌طور خلاصه، شیر خام پس از طی مراحل کلاریفایر و باکتریوفیوژ وارد پاستوریزاتور شد و در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ ثانیه پاستوریزه گردید. سپس در دستگاه اولترافیلتراسیون (UF) بخشی از آب و املاح آن

توسط فیلترهای غشایی جداسازی و ماده خشک آن افزایش یافت. رتنتیت حاصل در دمای ۵۵ درجه سلسیوس هموژنیزه شد و سپس در دمای ۷۷ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه پاستوریزه و در ادامه تا دمای ۳۵ خنک شد. مقدار یک درصد استارتر مزوفیل حاوی باکتری‌های *لاکتوکوکوس لاکتیس* زیر گونه‌های *لاکتیس* و *کرموریس* ۷۰۴ (Chr. Hansen, Ireland)، مقدار ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم رنت (Hannilase, Chr. Hansen)، غلظت‌های صفر، ۰/۳ و ۰/۵ درصد از هر یک از عصاره‌های آبی و متانولی *اسپیرولینا* و ۰/۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون هر کدام از باکتری‌های مورد مطالعه که جذب معادل نیم مک فارلند (حدود 10^8 cfu/ml) داشته‌اند، به آن افزوده شد (Fadaei Noghani *et al.*, 2014). نمونه‌ها بلافاصله در ظروف پرشده و پس از افزودن ۳ درصد نمک درب بندی گردیدند (Beigomi *et al.*, 2013). پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری و رسیدن pH به حدود ۴/۶، پنیرهای تهیه شده به مدت ۶۰ روز در یخچال نگهداری و آزمون‌های میکروبی در روزهای اول، پانزدهم، سی‌ام و شصت‌ام روی نمونه‌ها انجام گرفت. برای این منظور ۴ بسته پنیر از هریک از تیمارها برای آزمون باکتریایی، ۴ بسته برای آزمون قارچی و ۴ بسته نیز برای آزمون حسی تهیه گردید.

- آزمون‌های میکروبی

پس از همگن نمودن ۲۰ گرم از نمونه پنیر در هاون چینی استریل، با اضافه کردن ۹ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به یک گرم پنیر، رقت‌های ده برابر متوالی از آن تا 10^{-6} تهیه و برای شمارش تعداد باکتری‌های *اشریشیا کولای* مقدار یک میلی‌لیتر از هر رقت به‌روش کشت مخلوط (Pour plate) در محیط ویولت رد بایل آگار (Merck, Germany) کشت و پرگنه های قرمز تا صورتی تشکیل شده پس از تایید با تست IMViC، شمارش و ثبت شد (Karim, 2003).

برای شمارش باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* از کشت سطحی مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت‌های تهیه‌شده در محیط کشت بردپارکرآگار (Merck, Germany) استفاده شد. ظهور پرگنه‌های سیاهرنگ براق و دارای هاله لستیناز پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت گرم‌خانه گذاری پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، نشانه وجود باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* است (Darderafshi *et al.*, 2014).

برای شمارش باکتری‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* نیز از کشت رقت‌های مختلف نمونه‌های پنیر در محیط پایه پالکام آگار (HIMEDIA, India) به‌همراه مکمل انتخابی آن در دمای ۳۶ درجه سلسیوس و به‌مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت استفاده شد (Azizkhani *et al.*, 2016).

برای ارزیابی رشد مستقیم کپک *آسپرژیلوس فلاووس*، ابتدا برش‌هایی به ضخامت حدود ۰/۵ سانتی‌متر و قطر حدود ۸ سانتی‌متر تهیه و در داخل پلیت‌های استریل قرار گرفت. سپس مقدار ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپور قارچی آماده شده در مرکز قطعات پنیر تلقیح و پلیت‌ها مدت یک هفته در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در محل تاریک گرم‌خانه گذاری شدند. در پایان، میانگین دو قطر

عمود برهم پرگنه قارچی گزارش شد (Gandomi *et al.*, 2009).

کلیه آزمون‌های میکروبی در دو تکرار انجام و نتایج به‌صورت میانگین داده‌ها ± انحراف معیار گزارش گردید.

- آزمون‌های حسی

نمونه‌های پنیر سفید در روز تولید و پایان دوره‌نگهداری، توسط یک گروه ۱۰ نفره از ارزیاب‌های آموزش دیده از نظر خصوصیات حسی مورد ارزیابی قرارگرفت و میانگین داده‌های روز اول و شصت‌ام گزارش شد. از داوران خواسته شد که ویژگی‌های بافت (حس دهانی)، طعم و مزه، رنگ و پذیرش کلی را توصیف و برای شستشوی دهان خود، بین نمونه‌ها از آب معدنی استفاده نمایند. جهت ارزیابی ویژگی‌های حسی از تست هدونیک ۵ نقطه‌ای استفاده شد که شامل: عالی (۵ امتیاز)، رضایت‌بخش (۴ امتیاز)، قابل قبول (۳ امتیاز)، غیر قابل قبول (۲ امتیاز) و غیر قابل مصرف (۱ امتیاز) بود (Hosseini *et al.*, 2013).

- تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ مورد تجزیه قرار گرفتند. ابتدا جهت ارزیابی نرمال بودن داده ها از آزمون آماری اسمیرنف کولموگروف استفاده شد و برابری واریانس داده‌ها با آزمون لون (Leven's test) تعیین گردید. با توجه به نرمال بودن آن‌ها و برابری واریانس‌ها تجزیه و تحلیل داده‌ها به‌طور جداگانه با استفاده از روش تجزیه واریانس یک‌طرفه (One Way ANOVA) برای تیمارها و زمان‌های آزمون انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن (Duncan test) در سطح α =۰/۰۵ استفاده و نتایج به شکل میانگین ± انحراف معیار گزارش گردید.

یافته‌ها

- اثرات ضدمیکروبی عصاره‌های اسپیرولینا

تاثیر غلظت‌های مختلف اسپیرولینا بر رشد باکتری *اشریشیا کولای* به‌عنوان رایج‌ترین باکتری شاخص آلودگی مدفوعی، در جدول ۱ نشان داده شده است. با افزایش دوره نگهداری تا روز سی‌ام، تعداد این باکتری افزایش یافت ولی روند افزایش باکتری‌ها در تیمارهای حاوی *اسپیرولینا* کندتر بود. بیشترین و کمترین تعداد *اشریشیا کولای* در پایان دوره نگهداری به ترتیب مربوط به تیمار شاهد و تیمار حاوی عصاره ۰/۵ درصد متانولی اسپیرولینا بود (p<۰/۰۵).

جدول (۱)- تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌های اسپیرولینا بر شمارش *اشریشیا کولای* (Log cfu/g) در پنیر سفید فراپالایشی

نمونه	درصد عصاره	روز اول	روز پانزدهم	روز سی‌ام	روز شصت‌ام
شاهد	صفر	۳/۷۹±۰/۰۲^{Aa}	۴/۸۳±۰/۰۲^{Cb}	۵/۱۲±۰/۱۲^{Bc}	۳/۵۷±۰/۰۹^{Ca}
عصاره آبی	۰/۳	۳/۷۹±۰/۰۱^{Ab}	۴/۶۵±۰/۰۰^{Bc}	۴/۹۰±۰/۱۳^{ABd}	۳/۳۲±۰/۰۱^{BCa}
	۰/۵	۳/۷۲±۰/۰۰^{Ab}	۴/۶۲±۰/۰۲^{Bc}	۴/۶۵±۰/۱۴^{Ac}	۳/۱۷±۰/۰۷^{ABa}
عصاره متانولی	۰/۳	۳/۷۱±۰/۰۷^{Ab}	۴/۶۱±۰/۰۱^{Bc}	۴/۶۷±۰/۰۷^{Ac}	۳/۲۹±۰/۱۶^{BCa}
	۰/۵	۳/۷۴±۰/۰۴^{Ab}	۴/۵۳±۰/۰۲^{Ac}	۴/۷۴±۰/۱۲^{Ac}	۲/۹۲±۰/۱۶^{Aa}

- داده‌های جدول بصورت انحراف استاندارد ± میانگین، برای دو تکرار در شمارش پرگنه ها گزارش شده است.
- حروف بزرگ و کوچک به‌ترتیب برای مقایسه اعداد در ستون (بین تیمارها) و ردیف (روزهای نگهداری) است.
- حروف غیرمشابه در هر ردیف و ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار است ($p\leq$۰/۰۵).

همانگونه که در جدول (۲) مشاهده می‌شود، در تمام نمونه‌ها شمارش باکتری *لیستریا مونوسایتوجنز* در طول دوره رسیدن تا روز سی‌ام افزایش و سپس کاهش پیدا کرد. همچنین اثر مهاری *اسپیرولینا* روی این باکتری مشاهده شد بطوریکه کمترین شمارش باکتری در پایان دوره به نمونه حاوی ۰/۵ درصد عصاره متانولی اختصاص داشت (۲/۸۳ Log cfu/g).

جدول (۲)- تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌های اسپیرولینا بر شمارش *لیستریا مونوسایتوجنز* (Log cfu/g) در پنیر سفید فراپالایشی

نمونه	درصد عصاره	روز اول	روز پانزدهم	روز سی‌ام	روز شصت‌ام
شاهد	صفر	۳/۸۱±۰/۰۰ ^{Aa}	۵/۳۱±۰/۰۰^{Cc}	۵/۳۲±۰/۱۲ ^{Dc}	۴/۳۰±۰/۰۶ ^{Db}
عصاره آبی	۰/۳	۳/۷۹±۰/۰۱ ^{Ab}	۴/۹۶±۰/۰۳^{Bc}	۵/۰۸±۰/۰۶ ^{Cc}	۳/۴۸±۰/۱۵ ^{Ca}
	۰/۵	۳/۵۹±۰/۱۵ ^{Aa}	۴/۶۲±۰/۲۸ ^{ABb}	۴/۸۹±۰/۰۲ ^{BCb}	۳/۱۵±۰/۱۲ ^{Ba}
عصاره متانولی	۰/۳	۳/۷۳±۰/۰۳ ^{Ab}	۴/۸۹±۰/۰۳ ^{ABd}	۴/۷۲±۰/۰۷ ^{ABc}	۳/۲۹±۰/۰۵ ^{BCa}
	۰/۵	۳/۶۷±۰/۰۲ ^{Ab}	۴/۵۹±۰/۰۲ ^{Ac}	۴/۶۲±۰/۰۵ ^{Ac}	۲/۸۳±۰/۱۶ ^{Aa}

- داده‌های جدول بصورت انحراف استاندارد ± میانگین، برای دو تکرار در شمارش پرگنه ها گزارش شده است.
- حروف بزرگ و کوچک به‌ترتیب برای مقایسه اعداد در ستون (بین تیمارها) و ردیف (روزهای نگهداری) است.
- حروف غیرمشابه در هر ردیف و ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار است ($p\leq$۰/۰۵).

با افزایش دوره نگهداری میزان رشد این باکتری نیز افزایش یافت. تعداد *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌های شاهد پس از ۶۰ روز نگهداری پنیر در یخچال، افزایش بیش از دو واحد لگاریتمی نشان داد درحالیکه در همین مدت زمان، در عصاره ۰/۵ درصد متانولی تعداد *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به ابتدای دوره کمتر نیز شده بود.

جدول (۳)- تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌های اسپیرولینا بر شمارش *استافیلوکوکوس ارئوس* (Log cfu/g) در پنیر سفید فراپالایشی

نمونه	درصد عصاره	روز اول	روز پانزدهم	روز سی‌ام	روز شصت‌ام
شاهد	صفر	۳/۸۵±۰/۰۶^{Aa}	۵/۱۵±۰/۰۶^{Ab}	۵/۴۸±۰/۱۵^{Cb}	۴/۴۰±۰/۳۶^{Ca}
عصاره آبی	۰/۳	۳/۶۷±۰/۱۵ ^{Ab}	۵/۰۴±۰/۰۹^{Ad}	۴/۳۴±۰/۱۵ ^{Bc}	۲/۵۹±۰/۱۱ ^{ABa}
	۰/۵	۳/۷۱±۰/۰۲ ^{Ab}	۴/۹۶±۰/۰۹ ^{Ad}	۴/۱۱±۰/۰۴ ^{ABc}	۲/۶۲±۰/۰۴ ^{ABa}
عصاره متانولی	۰/۳	۳/۷۸±۰/۰۳ ^{Ab}	۴/۷۲±۰/۲۰ ^{Ac}	۴/۰۹±۰/۰۷ ^{ABb}	۲/۶۶±۰/۱۴ ^{Ba}
	۰/۵	۳/۷۸±۰/۱۳ ^{Ab}	۴/۷۸±۰/۰۹ ^{Ac}	۳/۹۰±۰/۱۲ ^{Ab}	۲/۱۶±۰/۰۲ ^{Aa}

- داده‌های جدول بصورت انحراف استاندارد ± میانگین، برای دو تکرار در شمارش پرگنه ها گزارش شده است.
- حروف بزرگ و کوچک به‌ترتیب برای مقایسه اعداد در ستون (بین تیمارها) و ردیف (روزهای نگهداری) است.
- حروف غیرمشابه در هر ردیف و ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار است ($p\leq$۰/۰۵).

نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره *اسپیرولینا پلاتنسیس* اثر بازدارندگی از رشد مستقیم کپک *آسپرژیلوس فلاووس* در سطح پنیرهای سفید فراپالایشی دارد بطوریکه کمترین قطر رشد کپک در غلظت ۰/۵ درصد عصاره متانولی مشاهده می‌شود که تفاوت معنی‌داری با نمونه شاهد دارند (p<۰/۰۵).

جدول (۴)- تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌های *اسپیرولینا* بر قطر پرگنه *آسپرژیلوس فلاووس* (میلی‌متر) در پنیر سفید فراپالایشی

نمونه	شاهد	عصاره آبی		عصاره متانولی	
		۰/۳	۰/۵	۰/۳	۰/۵
قطر پرگنه	۶۴±۱/۴۱^{c}	۶۲±۱/۴۱^{bc}	۵۵/۲۵±۱/۷۶^{ab}	۵۲/۵۰±۳/۵۳^{a}	۴۹/۲۵±۳/۸۸^{a}
درصد رشد	۸۰	۷۷/۵	۶۹	۶۵/۶	۶۱/۵

- داده‌های جدول بصورت انحراف استاندارد ± میانگین، برای دو تکرار در اندازه‌گیری قطر پرگنه ها گزارش شده است.
- حروف غیرمشابه در ردیف نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار است (p<۰/۰۵).

- اثر عصاره‌های *اسپیرولینا* بر خواص حسی

نتایج آنالیز حسی نمونه‌های پنیر توسط گروه ارزیاب‌ها در جدول ۵ آمده است. افزودن اسپیرولینا به‌خصوص در غلظت‌های بالاتر از ۰/۳ درصد عصاره‌های متانولی سبب کاهش امتیازات خواص حسی شد و اکثر ارزیاب‌ها این نمونه‌ها را به‌دلیل تلخ‌مزه بودن و رنگ غیر طبیعی نپسندیدند گرچه اختلاف بین امتیازات در هر یک از پارامترهای حسی در سطح ۵ درصد معنی‌دار نبود. در جمع‌بندی خواص حسی، بالاترین امتیاز پذیرش کلی به ترتیب برای تیمار شاهد و سپس نمونه‌های حاوی عصاره آبی گزارش شد.

جدول (۵)- تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌های *اسپیرولینا* بر خواص حسی پنیر سفید فراپالایشی

نمونه	درصد عصاره	بافت	طعم و مزه	رنگ	پذیرش کلی
شاهد	صفر	۴/۸۵±۰/۰۶	۵±۰/۰۴	۴/۹۵±۰/۰۲	۴/۸۵±۰/۰۲
عصاره آبی	۰/۳	۴/۷۵±۰/۰۲	۴/۸۵±۰/۱۰	۴/۸۵±۰/۰۸	۴/۸۰±۰/۰۱
	۰/۵	۴/۴۵±۰/۰۱	۴/۶۵±۰/۰۵	۴/۳۰±۰/۰۳	۴/۸۰±۰/۰۱
عصاره متانولی	۰/۳	۴/۸۰±۰/۰۴	۴/۸۰±۰/۰۳	۴/۸۰±۰/۰۳	۴/۷۵±۰/۰۵
	۰/۵	۴/۳۰±۰/۰۲	۴/۵۵±۰/۰۹	۴/۲۰±۰/۰۱	۴/۷۰±۰/۰۲

- داده‌های هر یک از خواص حسی، میانگین امتیازات روز نخست و پایان دوره نگهداری نمونه‌های پنیر است.
- افزایش امتیاز رنگ نشان دهنده رنگ روشن‌تر می‌باشد.
- بر اساس آزمون آماری بین پارامترهای حسی نمونه‌ها در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری وجود ندارد.

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه از عصاره ریزجلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* برای کنترل رشد میکروبی در پنیر سفید *فراپالایشی* استفاده شد. عصاره‌های متانولی اسپیرولینا اثرات بازدارندگی قوی‌تری علیه میکروب‌های مورد مطالعه نشان دادند (جداول ۱-۴). *اسپیرولینا* دارای منابع غنی از ترکیبات طبیعی بوده (Chu, 2012) و خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی آن در مطالعات متعددی مورد بررسی قرار گرفته‌است (Abedin and Taha, 2008; El-Baz *et al*., 2013; Usharani *et al*., 2015). خواص ضدمیکروبی جلبک‌ها به ترکیباتی مانند کاروتنوئیدها و ترکیبات فنلی نسبت داده شده است (Shahidi, 2004). تولید ترکیبات فعال زیستی در بافت گیاهان دارویی تحت تاثیر روش‌های مختلف عصاره‌گیری قرار می‌گیرد (Fischer *et al*., 2000). در بیشتر مواقع حلال‌های الکلی ترکیبات موثر گیاهان را بهتر استخراج می‌کنند و معمولا اجزاء ضدمیکروبی در عصاره‌های الکلی بیشتر از عصاره‌های آبی است (Adigüzel *et al*., 2005). تأثیر ضدباکتریایی بالاتر عصاره الکلی گشنیز در مقایسه با عصاره آبی آن (Farshbaf Derhami *et al*., 2018) و همچنین اثرات بازدارندگی بیشتر عصاره اتانولی برگ گیاه حرا نسبت به عصاره آبی آن (Behbahani *et al*., 2014) و یا خواص ضدباکتریایی و ضد قارچی قوی‌تر عصاره متانولی گیاه آفسنطین (Sengul *et al*., 2011) که در مطالعات دیگر مورد بررسی قرار گرفته است، موید این موضوع می‌باشد.

اثرات ضدمیکروبی عصاره‌های *اسپیرولینا* بر روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس ارئوس* و *لیستریا مونوسایتوجنز* بیشتر از اثرات آن‌ها بر روی *اشریشیا کولای* بود (جداول ۱-۳). علت تأثیر متفاوت عصارهای متانولی و آبی بر رشد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی را می‌توان به حضور غشای فسفولیپیدی غیرقابل نفوذ به ترکیبات موثر موجود در اسانس و عصاره‌ها (که عمدتا ماهیت چربی دوست دارند) در باکتری‌های گرم منفی

نسبت داد (Ghalem and Mohamed, 2008). محققین در مطالعه‌ای که به روش انتشار دیسک بر علیه ده نوع باکتری انجام شد، نشان دادند که اثر عصاره‌های گیاهان بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی میباشد (Islam *et al.*, 2008). این امر در نتایج سایر محققان هم گزارش شده است (Duffy and Power, 2001; Behbahani *et al.*, 2013).

نتایج پژوهش حاصل نشان داد که با افزایش غلظت عصاره‌ی *اسپیرولینا پلاتنسیس*، اثرات ضدمیکروبی بیشتری حاصل می‌شود. میزان مهار رشد میکروب‌ها با غلظت عصاره و اسانس‌ها رابطه مستقیم دارد که می‌تواند به‌دلیل کمبود مقدار مواد ضد میکروبی در غلظت‌های پایین عصاره و اسانس‌ها باشد (Baydar *et al.*, 2004). در مطالعات مشابه نیز خواص ضدمیکروبی گیاهان دارویی با تغییر غلظت عصاره یا اسانس، تغییر کرده است (Neyestani, 2007).

همانطوری‌که در جدول ۴ مشاهده می‌شود اثر مهاری غلظت‌های ۰/۳ و ۰/۵ عصاره متانولی و غلظت ۰/۵ عصاره آبی *اسپیرولینا پلاتنسیس* روی قطر پرگنه *آسپرژیلوس فلاووس* معنی‌دار بود ($p\leq$۰/۰۵) ولی اثر مهاری غلظت ۰/۳ عصاره آبی معنی‌دار نبود. کپک آسپرژیلوس از رایج‌ترین عوامل فساد در انواع پنیر می‌باشند (*et al.*, 2015) و در این بین *آسپرژیلوس فلاووس* به‌علت تولید آفلاتوکسین از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Gandomi *et al.*, 2009; Azizkhani Banjara *et al.*, 2016). فعالیت *اسپیرولینا* در بازداری از رشد و اسپورزایی قارچ‌ها در مطالعات متعددی گزارش شده است (Souza *et al.*, 2011; Christ-Ribeiro *et al.*, 2019).

در ارزیابی حسی پنیرها در این مطالعه، افزودن اسپیرولینا به‌خصوص در غلظت‌های بالا و در عصاره‌های متانولی سبب کاهش امتیازات خواص حسی هر چند به‌صورت غیر معنی‌دار شد. این تغییرات در نمونه‌های دارای مقادیر ۰/۵ درصد اسپیرولینا موجب کاهش میزان محبوبیت رنگ و همچنین طعم نمونه‌ها شد. استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌ها در غلظت‌های بالا در مطالعات محققین دیگر نگرانی‌هایی را در مورد تغییر در خواص حسی به وجود آورده است. به‌عنوان مثال مقدار اسانس لیمو و مریم‌گلی مورد نیاز برای فعالیت ضدقارچی آن در پنیر موزارلا در یک مطالعه، به دلیل مزه تلخ و بوی تند، محدود به غلظت‌های پائین‌تر اسانس گردید (Gammariello *et al.*, 2010). در تحقیق مشابهی نیز کمترین امتیازات حسی در کاربرد مقادیر بالای پودر ریزجلبک اسپیرولینا در ماست‌های پروبیوتیک گزارش شده است (Usharani *et al.*, 2015) و یا در بررسی اثر پودر اسپیرولینا بر خواص حسی بستنی سنتی نیز بیان شد که کاربرد جلبک، کاهش مطلوبیت طعم را در پی داشته است (Rasouli *et al.*, 2017).

در مجموع براساس یافته‌های تحقیق حاضر می‌توان گفت که غلظت‌های ۰/۵ عصاره آبی و ۰/۳ عصاره متانولی *اسپیرولینا پلاتنسیس* در پنیر سفید فراپالایشی در مدت ۶۰ روز دوره نگهداری در یخچال اثر ضد میکروبی

معنـــی‌دار روی باکتری‌هـــای *لیســـتریا مونوســـایتوجنز*، *اســـتافیلوکوکوس ارئـــوس* و *اشریشـــیا کـــولای* و کپـــک *آســـپرژیلوس فـــلاووس* داشـــتند و در ایـــن شـــرایط اثـــر نامطلوب روی ویژگی‌های حسی نمونه‌های پنیـر مشـاهده نشد. لذا غلظت‌های ۰/۵ عصاره آبی و ۰/۳ عصاره متانولی *اسپیرولینا پلاتنسیس* می‌توانند به‌عنوان نگهدارنـده طبیعـی در پنیر سفید فراپالایشی مورد استفاده قرار گیرند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچگونه تعارض منافعی ندارند.

منابع

- Abedin, R.M. and Taha, H.M. (2008). Antibacterial and antifungal activity of cyanobacteria and green microalgae. Evaluation of medium components by Plackett-Burman design for antimicrobial activity of Spirulina platensis. Global Journal of Biotechnology and Biochemistry, 3(1): 22-31.
- Adigüzel, A., Güllüce, M., Şengül, M., Öğütcü, H., Şahin, F. and Karaman, İ. (2005). Antimicrobial effects of Ocimum basilicum (Labiatae) extract. Turkish Journal of Biology, 29(3): 155-160.
- Alizadeh, M., Hamedi, M. and Khosroshahi, A. (2006). Modeling of proteolysis and lipolysis in Iranian white brine cheese. Food Chemistry, 97(2): 294-301.
- Azizkhani, M., Tooryan, F. and Boreiry, M. (2016). Effects of Ocimum basilicum and *Salvia sclarea* essential oils on *Listeria monocytogenes* and Aspergillus flavus in Iranian white cheese. Iranian Food Science and Technology Research Journal, 12(2): 286-295. [In Persian]
- Banjara, N., Suhr, M. J. and Hallen-Adams, H. E. (2015). Diversity of yeast and mold species from a variety of cheese types. Current Microbiology, 70(6): 792-800.
- Baydar, H., Sağdiç, O., Özkan, G. and Karadoğan, T. (2004). Antibacterial activity and composition of essential oils from Origanum, Thymbra and Satureja species with commercial importance in Turkey. Food Control, 15(3): 169-172.
- Behbahani, B.A., Tabatabaei-Yazdi, F., Shahidi, F. and Mortazavi, A. (2013). Antimicrobial effects of Lavandula stoechas L. and Rosmarinus officinalis L. extracts on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Scientific Journal of Microbiology, 2(1): 15-22.
- Behbahani, B.A., Yazdi, F.T., Shahidi, F. and Mohebbi, M. (2014). Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic Avicennia marina extracts on *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes* and *Pseudomonas aeruginosa*" in vitro". Iranian South Medical Journal, 17(5): 879-888. [In Persian]
- Beigomi, M., Ghods Rohani, M., Mohammadifar, A., Hashemi, M., Valizadeh, M. and Ghanati, K. (2013). Comparision of textural and sensory characteristics of ultrafiltrated white cheese produced by paneer bad (Witania Coagulans) protease and fungal renet. Journal of Nutrition Sciences and Food Technology, 8(1): 253-262. [In Persian]
- Bonyadian, M. and Karim, G. (2002). Study of the effects of some volatile oils of herbs (pennyroyal, peppermint, tarragon, caraway seed and thyme) against E. coli and S. aureus in broth media. Journal of Faculity of Veterinary Medicin of University of Tehran, 57:81-83. [In Persian]
- Christ-Ribeiro, A., Graça, C.S., Kupski, L., Badiale-Furlong, E., and de Souza-Soares, L.A. (2019). Cytotoxicity, antifungal and anti mycotoxins effects of phenolic compounds from fermented rice bran and *Spirulina* sp. Process Biochemistry, 80, 190-196.

- Chu,W.L. (2012). Biotechnological applications of microalgae. International e-Journal of Science, Medicine and Education, 6 (1): 24-37.
- Darderafshi, M., Bahrami, G., Sadeghi, E., Khanahmadi, M., Mohammadi, M. and Mohammadi, R. (2014). The effect of Ferulago angulata essential oil on Staphylococcus aureus during the manufacture and preservation of Iranian white cheese. Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology, 8(4): 13-20. [In Persian]
- Dorman, H.D. and Deans, S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology, 88(2): 308-316.
- Duffy, C.F. and Power, R.F. (2001). Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. International Journal of Antimicrobial Agents, 17(6): 527-529.
- El-Baz, F., El-Senousy, W., El-Sayed, A. and Kamel, M. (2013). In vitro antiviral and antimicrobial activities of Spirulina platensis extract. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 3(12): 52-56.
- Fadaei Noghani, V., Mazinani, S., Khosravi Darani, K., Islami Meshkanani, A., and Mirzadeh, A. (2014). The effect of *Spirulina platensis* biomass powder on some physicochemical and sensory characteristics of probiotic Iranian white cheese containing oregano powder prepared by ultra-refining method. Innovative Food Science and Technologies, 2(7): 1-10. [In Persian]
- Farshbaf Derhami, S., Giyami Rad, M., Mahmoudi, R. and Asadi Nadari, M.R. (2018). Comparaitive Studies of Antibacterial Activity of Extracts Nasturtium Officinale and Coriandrum Sativum Against Some of Pathogenic Bacteria. Journal of Veterinary Microbiology, 13(2), 47-55. [In Persian]
- Fischer, A.J., Bayer, D.E., Carriere, M.D., Ateh, C.M. and Yim, K.O. (2000). Mechanisms of resistance to bispyribac-sodium in an Echinochloa phyllopogon accession. Pesticide Biochemistry and Physiology, 68(3): 156-165.
- Gammariello, D., Conte, A., Attanasio, M. and Del Nobile, M.A. (2010). Study on the combined effects of essential oils on microbiological quality of Fior di Latte cheese. The Journal of Dairy Research, 77(2): 144-150.
- Gandomi, H., Misaghi, A., Basti, A.A., Bokaei, S., Khosravi, A., Abbasifar, A. and Javan, A.J. (2009). Effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on growth and aflatoxin formation by *Aspergillus flavus* in culture media and cheese. Food and Chemical Toxicology, *47*(10): 2397-2400.
- Ghalem, B.R. and Mohamed, B. (2008). Antibacterial activity of leaf essential oils of Eucalyptus globulus and Eucalyptus camaldulensis. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2(10): 211-215.
- Hosseini, M., Habibi Najafi, M., Mohebbi, M. (2013). Assessment of physico-chemical and sensory properties of imitation cheese containing whey protein concentrate and enzyme-modified Lighvan cheese, Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology, 8(2): 91-102.
- Hussain, A.I., Anwar, F., Sherazi, S.T.H. and Przybylski, R. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (Ocimum basilicum) essential oils depends on seasonal variations. Food Chemistry, 108(3): 986-995.
- Islam, M., Barua, S., Das, S., Khan, M. and Ahmed, A. (2008). Antibacterial activity of some indigenous medicinal plants. Journal of Soil and Nature, 2(3): 26-28.
- Karim, G. (2003). Microbial Examination of Foods. 4nd Edition, University of Tehran Publication, pp. 65. [In Persian]
- Kedia, A., Prakash, B., Mishra, P. K. and Dubey, N. (2014). Antifungal and antiaflatoxigenic properties of Cuminum cyminum (L.) seed essential oil and its efficacy as a preservative in stored commodities. International journal of Food Microbiology, 168, 1-7.

- Lianou, A., Panagoun, E.Z. and Nychas, J.E. (2016). Microbiological spoilage of foods and beverages, In: Kilcast, D. and Subramaniam, P. (Editors), Food and beverage stability and shelf life, 2nd Edition, Woodhead Publishing, pp. 3-28.
- Mahmoudi, R., Ehsani, A. and Zare, P. (2012). Phytochemical, antibacterial and antioxidant properties of *Cuminum cyminum L.* essential oil. Journal of Food Research, 22(3): 311-322. [In Persian]
- Manafi, M, and Mazaheri M. (2014). Production of analogue UF white cheese by replacement of milk fat with margarine. Journal of Food Research, 23(4): 545-552. [In Persian]
- Neyestani, T. (2007). The inhibitory effects of black and green teas (Camellia sinensis) on growth of pathogenic Escherichia coli in vitro. Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology, 1(3): 33-38. [In Persian]
- Rasouli, F., Berenji, S. and Lavasani, A.S. (2017). Optimization of Traditional Iranian Ice Cream Formulation Enriched with Spirulina Using Response Surface Methodology. Journal of Food Technology and Nutrition, 14(3): 15-28. [In Persian]
- Priya, S. (2012). Analysis of value- added biochemical compounds and antimicrobial activity of green algae Chlorella vulgaris. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 4(5): 2577-2579.
- Sajilata, M., Singhal, R. and Kamat, M. (2008). Fractionation of lipids and purification of γ-linolenic acid (GLA) from Spirulina platensis. Food Chemistry, 109(3): 580-586.
- Saranraj, P. and Sivasakthi, S. (2014). Spirulina platensis–food for future: a review. Asian Journal of Pharmaceutical Science and Technology, 4(1): 26-33.
- Sengul, M., Ercisli, S., Yildiz, H., Gungor, N., Kavaz, A. and Çetin, B. (2011). Antioxidant, antimicrobial activity and total phenolic content within the aerial parts of Artemisia absinthum, Artemisia santonicum and Saponaria officinalis. Iranian journal of Pharmaceutical Research, 10(1): 49-56.
- Shahidi, F. (2004). Functional Foods: their role in health promotion and disease prevention. Journal of Food Science, 69(5): 146-149.
- Shariatifar, N., Pirali, M., Hamedani, Moazzen, M., Ahmadloo, M. and Yazdani, D. (2019). Study of the Antimicrobial Effects of Aqueous Extract of Olea europaea, Solanum nigrum, Artemisia sieberi, Teucrium polium, Glycyrrhiza glabra on some Food-borne Pathogenic Bacteria. Journal of Medicinal Plants, 18(72): 264-273. [In Persian]
- Souza, M.M.D., Prietto, L., Ribeiro, A.C., Souza, T.D.D., and Badiale-Furlong, E. (2011). Assessment of the antifungal activity of *Spirulina platensis* phenolic extract against *Aspergillus flavus*. Ciência e Agrotecnologia, 35, 1050-1058.
- Usharani, G., Srinivasan, G., Sivasakthi, S. and Saranraj, P. (2015). Antimicrobial activity of Spirulina platensis solvent extracts against pathogenic bacteria and fungi. Advances in Biological Research, 9(5): 292-298.
- Wan, J., Zhong, S., Schwarz, P., Chen, B. and Rao, J. (2019). Physical properties, antifungal and mycotoxin inhibitory activities of five essential oil nanoemulsions: Impact of oil compositions and processing parameters. Food Chemistry, 291: 199-206.