

Journal Pre-proofs

Kinetic Modeling of Physicochemical Changes in Protein Bars Fortified with Spirulina and Phycocyanin during Storage

Parnian Pourghasemian¹, Amir Pourfarzad, Aria Babakhani

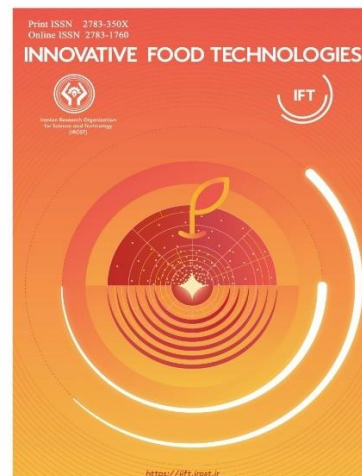
DOI: <https://doi.org/10.22104/ift.2025.7810.2229>

To appear in: Innovative Food Technologies (IFT)

Received Date: 9 August 2025

Revised Date: : 26 August 2025

Accepted Date: 6 September 2025



Please cite this article as: Parnian Pourghasemian¹, Amir Pourfarzad, Aria Babakhani, Kinetic Modeling of Physicochemical Changes in Protein Bars Fortified with Spirulina and Phycocyanin during Storage, *Innovative Food Technologies* (2025), doi: <https://doi.org/10.22104/ift.2025.7810.2229>

This is a PDF file of an article that has undergone enhancements after acceptance, such as the addition of a cover page and metadata, and formatting for readability, but it is not yet the definitive version of record. This version will undergo additional copyediting, typesetting and review before it is published in its final form, but we are providing this version to give early visibility of the article. Please note that, during the production process, errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

© 2023 The Author(s). Published by irost.org.

مدلسازی سینتیکی تغییرات فیزیکوشیمیایی پروتئین بار غنی شده با اسپیرولینا و فیکوسیانیین طی دوره نگهداری

پرنیان پورقاسمیان^۱، امیر پورفرزاد^{۲*}، آریا باباخانی^۴

^۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت

^۲ دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت

^۳ دانشیار، گروه صنایع غذایی و تبدیلی، پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران

^۴ دانشیار، گروه شیلات، دانشکده علوم منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا

* نویسنده مسئول: amir.pourfarzad@gmail.com

چکیده

پروتئین‌بارها به عنوان محصولات سلامت‌محور و پرطرفدار، در طول نگهداری مستعد بروز تغییرات فیزیکوشیمیایی هستند که می‌تواند پذیرش مصرف‌کننده را تحت تأثیر قرار دهد. استفاده از ترکیبات طبیعی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا، رویکردی مؤثر برای کاهش این تغییرات نامطلوب به شمار می‌رود. در این راستا، ریزجلبک / اسپیرولینا پلاتنسیس به دلیل دارا بودن مقادیر بالای پروتئین، ویتامین‌ها و ترکیبات زیست‌فعال، جایگاه ویژه‌ای در تولید محصولات غذایی فراسودمند یافته است. همچنین، فیکوسیانیین به عنوان رنگدانه‌ای پروتئینی و محلول در آب، با خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی، توان بالقوه‌ای در بهبود کیفیت تغذیه‌ای و افزایش پایداری اکسیداتیو دارد. در این پژوهش، پایداری پروتئین‌بارهای غنی‌شده با اسپیرولینا و فیکوسیانیین در مقایسه با نمونه شاهد، طی ۲۸ روز نگهداری در دمای محیط و با فواصل زمانی هفت‌روزه مورد ارزیابی قرار گرفت. پارامترهای رطوبت، فعالیت آبی، اسیدیته، شاخص پراکسید و تغییرات رنگ (ΔE) اندازه‌گیری شد. به‌منظور تحلیل تغییرات و انتخاب مدل سینتیکی مناسب، از شاخص‌هایی مانند ضریب تعیین (R^2)، آزمون کای-دو (χ^2)، میانگین بایاس خطا (MBE) و ریشه میانگین مربعات خطا (RMSE) استفاده گردید. نتایج برازش داده‌ها به مدل‌های سینتیکی نشان داد که افزودن اسپیرولینا و فیکوسیانیین سبب کاهش نرخ تغییرات نامطلوب و افزایش پایداری محصول طی نگهداری شد. این یافته‌ها بر توان بالقوه این ترکیبات طبیعی در بهبود ویژگی‌های عملکردی و افزایش پایداری پروتئین‌بارها تأکید دارد و افق‌های نوینی را برای توسعه محصولات غذایی پایدار و سلامت‌محور فراهم می‌سازد.

واژه‌های کلیدی: مدلسازی سینتیکی، ریزجلبک، اکسیداسیون، زمان نگهداری

در سال‌های اخیر، سبک زندگی پرمشغله و محدودیت زمانی بسیاری از افراد، منجر به کاهش توجه به الگوهای تغذیه‌ای سالم شده است؛ به‌گونه‌ای که حذف وعده‌های اصلی غذایی به رفتاری رایج تبدیل گردیده است. در چنین شرایطی، فست‌فودها به دلیل سهولت مصرف و دسترسی آسان، اغلب جایگزین وعده‌های غذایی می‌شوند. با این حال، این نوع غذاها معمولاً سرشار از کالری، چربی‌های اشباع و ترکیبات ناسالم هستند و مصرف مداوم آن‌ها با افزایش خطر ابتلا به بیماری‌هایی مانند چاقی و دیابت همراه است. در پاسخ به این چالش، تولید و مصرف محصولات تغذیه‌ای آماده نظیر بارهای غذایی، به عنوان جایگزینی سالم‌تر برای وعده‌های حذف‌شده، مورد توجه قرار گرفته است. این محصولات در صورت برخورداری از فرمولاسیون مناسب، می‌توانند ترکیبی متعادل از درشت‌مغذی‌ها و ریزمغذی‌های ضروری، به ویژه پروتئین و کربوهیدرات، را تأمین کرده و به بهبود وضعیت تغذیه‌ای افراد کمک نمایند [۱، ۲].

بارهای تغذیه‌ای، بسته به ارزش تغذیه‌ای و نوع ترکیبات به‌کاررفته، به انواعی چون بارهای انرژی‌زا، غذایی، پروتئینی و ورزشی تقسیم می‌شوند [۳]. برخی از این محصولات به دلیل فرمولاسیون ترکیبی، در بیش از یکی از این گروه‌ها قرار می‌گیرند [۴]. در میان آن‌ها، بارهای پروتئینی به دلیل نقش مؤثر در تأمین پروتئین با کیفیت، ساخت و حفظ توده عضلانی، کمک به بازتوانی پس از ورزش، تأمین انرژی و حتی کنترل وزن، سهم قابل توجهی از بازار را به خود اختصاص داده‌اند [۵، ۶].

بارهای پروتئینی معمولاً در گروه مواد غذایی با رطوبت متوسط قرار می‌گیرند و فعالیت آبی آن‌ها در محدوده ۰/۵ تا ۰/۹ گزارش شده است [۷]. حفظ پایداری فیزیکوشیمیایی و اکسیداتیو این محصولات در طول نگهداری، به‌ویژه در دمای محیط، از چالش‌های اصلی صنعت غذا محسوب می‌شود. عواملی مانند مهاجرت رطوبت، تغییر فعالیت آبی، اکسیداسیون لیپیدی و تغییرات رنگ، از جمله عواملی هستند که می‌توانند به کاهش کیفیت محصول منجر شوند [۵، ۸]. در پاسخ به این چالش‌ها، صنایع غذایی به سمت بهره‌گیری از ترکیبات طبیعی آنتی‌اکسیدانی با هدف افزایش پایداری و حفظ کیفیت محصولات پیش رفته‌اند [۹].

تحقیقات متعددی بر کاربرد ریزجلبک‌ها در ارتقاء ویژگی‌های تغذیه‌ای و تکنولوژیکی محصولات غذایی تأکید دارند. از جمله این ویژگی‌ها می‌توان به اثرات امولسیفایری، بهبود رنگ، طعم، پایداری، ارزش تغذیه‌ای و افزایش زمان ماندگاری اشاره کرد [۱۰]. در این میان، اسپیرولینا پلاتنسیس (*Spirulina platensis*) به عنوان یکی از مهم‌ترین ریزجلبک‌های سبز-آبی، به دلیل محتوای بالای پروتئین، اسیدهای چرب ضروری، ویتامین‌ها، مواد معدنی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، جایگاهی ویژه در صنعت غذا و مکمل‌های تغذیه‌ای یافته است [۱۱]. هم‌زمان با افزایش تقاضا برای منابع پروتئینی، تولید و استفاده از اسپیرولینا نیز در سطح جهانی رشد قابل توجهی داشته و شرکت‌های غذایی به استفاده از منابع متنوعی همچون منابع حیوانی، گیاهی، تک‌سلولی و جلبکی، از جمله اسپیرولینا، در فرمولاسیون محصولات خود روی آورده‌اند [۱۲، ۱۳].

اسپیرولینا همچنین به دلیل دارا بودن ویژگی‌هایی چون جذب بالای آب، توانایی تشکیل ژل و فیلم، می‌تواند عملکرد تکنولوژیکی مطلوبی در فرآورده‌های بر پایه آرد از خود نشان دهد و ارزش تغذیه‌ای محصولاتی چون نان را افزایش دهد [۱۴، ۱۵]. یکی از مهم‌ترین ترکیبات زیست‌فعال موجود در اسپیرولینا، فیکوسیانین است؛ رنگدانه‌ای پروتئینی با رنگ آبی طبیعی که از خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدسرطانی و تقویت‌کننده سیستم ایمنی برخوردار بوده و به دلیل ایمنی بالا، به عنوان جایگزینی طبیعی برای رنگ‌های مصنوعی در صنایع غذایی و مکمل‌های تغذیه‌ای شناخته می‌شود [۱۶-۱۸].

با توجه به خواص تغذیه‌ای و عملکردی اسپیرولینا و فیکوسیانین، استفاده از آن‌ها در توسعه فرآورده‌های نوین سلامت‌محور، به‌ویژه در ترکیب با منابع غنی از کربوهیدرات و فیبر نظیر آرد برنج قهوه‌ای، مورد توجه قرار گرفته است. با وجود مطالعات متعددی که به بررسی فرمولاسیون بارهای پروتئینی پرداخته‌اند، مطالعات معدودی به ارزیابی تغییرات کیفی این محصولات در طول نگهداری و مدل‌سازی سینتیکی آن‌ها اختصاص یافته است. ارزیابی سینتیکی پارامترهایی مانند رطوبت، فعالیت آبی، اسیدیته قابل تیتراسیون، شاخص پراکسید و تغییرات رنگ (ΔE)، می‌تواند درک بهتری از روند تخریب و پایداری این محصولات فراهم آورد. از این‌رو، هدف اصلی پژوهش حاضر، بررسی تغییرات فیزیکوشیمیایی و اکسیداتیو پروتئین‌بارهای غنی‌شده با اسپیرولینا و فیکوسیانین طی ۲۸ روز

نگهداری در دمای محیط و مدل‌سازی سینتیکی این تغییرات با استفاده از مدل‌های ریاضی مناسب است. به‌کارگیری مدل‌های سینتیکی در تحلیل رفتار کیفی مواد غذایی، ابزاری کاربردی برای پیش‌بینی زمان ماندگاری، طراحی فرمولاسیون بهینه، انتخاب ترکیبات پایدارکننده و تعیین شرایط مناسب بسته‌بندی و نگهداری به‌شمار می‌رود. یافته‌های این مطالعه می‌تواند مبنای علمی مناسبی برای توسعه محصولات سلامت‌محور با پایداری بالا در صنعت غذا فراهم آورد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

مواد اولیه مورد استفاده در این پژوهش شامل آرد برنج قهوه‌ای از شرکت گیل‌تاز، پروتئین آب پنیر و پودر نشاسته از فروشگاه اینترنتی رویسا، گلیسیرین خوراکی از شرکت KLK مالزی، پودر اسپیرولینا از شرکت رویای جلبک پارس، پودر فیکوسیانین از شرکت زیست فناوریان یاخته گیتی سبز، روغن آفتابگردان و آب بود. سایر مواد شیمیایی مصرفی شامل فنل فتالین، سدیم هیدروکسید، کلروفرم، سدیم تیوسولفات ۵ آب و سدیم کربنات از شرکت مرک آلمان؛ استیک اسید گلاسیال از شرکت دکتر مجللی ایران و پتاسیم یدید از فروشگاه شیمی سنتر تهیه شدند.

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- روش تولید پروتئین بار

پروتئین‌بارها در این پژوهش با استفاده از روش فرآوری سرد و در دمای کنترل‌شده 25°C تولید شدند تا خواص عملکردی ترکیبات حساس به حرارت حفظ شود. فرمولاسیون مورد استفاده شامل آرد برنج قهوه‌ای، کنسانتره پروتئین آب‌پنیر، گلیسیرین خوراکی، روغن آفتابگردان و آب مقطر بود، که جزئیات آن در جدول ۱ ارائه شده است. در این تحقیق دو نوع نمونه تهیه گردید: نمونه شاهد (فاقد اسپیرولینا و فیکوسیانین) و نمونه غنی‌شده حاوی پودر اسپیرولینا پلاتنسیس و پودر فیکوسیانین. ترکیب نمونه غنی‌شده بر اساس نتایج یک مطالعه بهینه‌سازی قبلی [۱۹] انتخاب گردید که به بررسی ویژگی‌های تغذیه‌ای، ساختاری و حسی پرداخته بود. در مرحله نخست، پودر اسپیرولینا و پودر فیکوسیانین به‌طور کامل با ترکیبات خشک (آرد برنج قهوه‌ای و پروتئین آب‌پنیر) مخلوط شدند. سپس، اجزای مایع شامل گلیسیرین، آب و روغن آفتابگردان به‌تدریج به مخلوط خشک افزوده و به‌مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵۰ دور بر دقیقه همگن‌سازی شد. خمیر حاصل در قالب‌های سیلیکونی با ابعاد یک‌نواخت ($2 \times 2 \times 2$ سانتی‌متر) شکل‌دهی گردید و سپس نمونه‌ها در ظروف پلیمری درب‌دار از جنس پلی‌اتیلن ترفتالات در دمای 25°C درجه سلسیوس به‌مدت ۲۸ روز نگهداری شدند تا به تعادل رطوبتی برسند و برای آنالیزهای بعدی آماده گردند [۵، ۲۰، ۲۱].

۲-۲-۲- تعیین رطوبت

میزان رطوبت نمونه‌ها به روش خشک کردن در آون اندازه‌گیری شد. در این روش، ابتدا ۴ تا ۵ گرم از نمونه‌های خرد شده به مدت ۵ ساعت در آون با دمای ثابت 105°C درجه سلسیوس حرارت دیدند. سپس، نمونه‌ها در دسیکاتور تا رسیدن به دمای محیط خنک شدند و توزین گردیدند [۲۲]. درصد رطوبت نمونه‌ها از طریق رابطه زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد رطوبت} = \frac{W_s - (W_2 - W_1)}{W_s} \times 100 \quad (1)$$

به طوری که W_s وزن نمونه، W_1 وزن ظرف و W_2 وزن ظرف حاوی نمونه بعد از حرارت دهی است.

۲-۲-۳- تعیین فعالیت آبی

فعالیت آبی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه واتراکتیویته LabTouch-aw ساخت شرکت NOVASINA، سوئیس در دمای ۲۵ درجه سلسیوس اندازه گیری شد.

۴-۲-۲- تعیین اسیدیته قابل تیتراسیون

برای اندازه‌گیری اسیدیته قابل تیتراسیون، مقدار ۱ گرم از نمونه به‌دقت توزین و در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. محلول حاصل به‌مدت یک ساعت در دمای محیط و تحت شرایط ایستا نگهداری گردید تا تعادل کامل بین اجزای نمونه برقرار شود. پس از آن، مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول فنل‌فتالئین ۱ درصد به‌عنوان شناساگر به محلول افزوده شد. تیتراسیون با استفاده از محلول استاندارد سدیم هیدروکسید ۰/۱ نرمال ادامه یافت تا زمانی که رنگ صورتی کم‌رنگ پایداری به‌مدت حداقل ۳۰ ثانیه در محلول مشاهده گردید. میزان سدیم هیدروکسید مصرف‌شده ابتدا ثبت و با استفاده از تناسب، مقدار مورد نیاز برای نمونه‌ای معادل ۵ گرم در ۵۰ میلی‌لیتر آب محاسبه شد. سپس، با استفاده از رابطه زیر، مقدار اسیدیته قابل تیتراسیون بر حسب درصد اسید لاکتیک محاسبه گردید [۲۳]:

$$\text{اسیدیته قابل تیتراسیون (\% اسید لاکتیک)} = \frac{V \times N \times 0.09 \times 100}{m} \quad (2)$$

که در آن:

- V : حجم سدیم هیدروکسید مصرف‌شده (میلی‌لیتر)
- N : نرمالیه سدیم هیدروکسید (نرمال)
- 0.09 : ضریب معادل‌وزنی اسید لاکتیک
- m : جرم نمونه بر حسب گرم

۵-۲-۲- تعیین پراکسید

به‌منظور تعیین عدد پراکسید، ابتدا ۴ گرم از نمونه همگن‌شده با ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم و ۱۵ میلی‌لیتر استیک‌اسید گلاسیال مخلوط گردید. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط و در شرایط دور از نور نگهداری شد تا استخراج کامل ترکیبات اکسیدشده انجام گیرد. پس از طی این زمان، محلول از کاغذ صافی عبور داده شد تا مواد جامد و ناخالصی‌ها جدا شوند. سپس به محلول صاف‌شده، ۱ میلی‌لیتر از محلول اشباع پتاسیم یدید افزوده و مخلوط به مدت ۵ دقیقه در تاریکی نگهداری شد تا واکنش اکسیداسیون-احیا کامل شود. در ادامه، ۱ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول نشاسته ۱٪ به‌عنوان شناساگر به محلول اضافه گردید. تیتراسیون با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ مولار تا زمان بی‌رنگ شدن کامل محلول (نقطه پایانی) ادامه یافت. عدد پراکسید بر حسب میلی‌اکی‌والان پراکسید در هر کیلوگرم نمونه (meq O₂/kg) با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد [۲۴]:

$$PV = \frac{(V_1 - V_0)T \times 10^3}{M} \quad (3)$$

که در آن متغیرهای V_1 حجم محلول تیوسولفات سدیم (mL)، V_0 حجم محلول خالی (mL)، M نشان دهنده جرم نمونه و T نشان دهنده مولاریته محلول تیوسولفات سدیم می باشد.

۶-۲-۲- رنگ سنجی

ویژگی‌های رنگی نمونه‌ها با استفاده از تکنیک پردازش تصویر مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور از هر نمونه پروتئین بار، سه ناحیه مختلف انتخاب و با دوربین ۱۲ مگاپیکسلی گوشی سامسونگ S8 از فاصله ثابت ۹/۵ سانتیمتری در محیط اتاق و تحت نور ثابت لامپ سقفی، بدون ایجاد سایه و با ایجاد پس زمینه مناسب، تصویربرداری شد. تصاویر گرفته شده با فرمت

JPEG ذخیره و سپس با نرم افزار تخصصی ImageJ (نسخه ۱.۵۲ v) مورد پردازش قرار گرفتند. تصاویر پیکسلی مرتبط با نمونه‌ها از تصاویر اصلی جدا شدند و سپس تمامی این تصاویر از فضای رنگی RGB به Lab تبدیل و مولفه‌های L^* ، a^* و b^* توسط نرم افزار تعیین شد [۲۵، ۲۶]. در نهایت، تفاوت رنگ کل (ΔE) نمونه‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\Delta E = \sqrt{(L_0 - L)^2 + (a_0 - a)^2 + (b_0 - b)^2} \quad (4)$$

که در آن L ، a و b پارامترهای CIELab یک نمونه بار معین هستند و L_0 ، a_0 و b_0 برابر با صفر در نظر گرفته شد.

۷-۲-۲- آنالیز سینتیک در طی نگهداری

مدلسازی، تجزیه و تحلیل داده‌ها و رسم نمودارهای مربوط به تغییرات ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و رنگی نمونه‌های پروتئین‌بار شاهد و غنی شده با استفاده از نرم افزار MATLAB (نسخه ۲۴) انجام شد. برای مدل‌سازی سینتیکی، چهارده مدل ریاضی مختلف برای برازش داده‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. جهت ارزیابی و انتخاب مدل مناسب، از شاخص‌هایی مانند ضریب تعیین (R^2)، کای-دو (χ^2)، میانگین بایاس خطا (MBE) و ریشه میانگین مربعات خطا (RMSE) استفاده شد. این پارامترها به صورت زیر محاسبه گردید:

$$HR = \frac{H_{\infty} - H_t}{H_{\infty} - H_0} \quad (5)$$

$$\chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (HR_{exp,i} - HR_{pre,i})^2}{N - n} \quad (6)$$

$$MBE = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (HR_{pre,i} - HR_{exp,i}) \quad (7)$$

$$RMSE = \left[\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (HR_{pre,i} - HR_{exp,i})^2 \right]^{\frac{1}{2}} \quad (8)$$

H_0 تغییرات فیزیکوشیمیایی پروتئین بار در زمان صفر، H_{∞} تغییرات فیزیکوشیمیایی پیش آمده در طول زمان و H_t تغییرات فیزیکوشیمیایی پروتئین بار در زمان t ، $HR_{exp,i}$ مربوط به اعداد بدست آمده توسط انجام آنالیز برای خصوصیات فیزیکوشیمیایی بوده و $HR_{pre,i}$ خصوصیات فیزیکوشیمیایی پیش بینی شده در اندازه گیری‌ها می‌باشد. N تعداد مشاهدات و n تعداد ثابت‌ها می‌باشد [۲۷]. به منظور بررسی تفاوت آماری بین ضرایب مدل‌های سینتیکی نمونه‌های پروتئین بار شاهد و غنی شده، از آزمون t دو نمونه‌ای مستقل در سطح معنی داری ۰/۰۵ استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- آنالیز سینتیک در طی نگهداری

پروتئین بارها، به عنوان یکی از منابع غذایی غنی از پروتئین، تحت تاثیر تغییرات فیزیکی و شیمیایی در طی زمان نگهداری قرار می‌گیرند. بررسی تغییرات رطوبت، فعالیت آبی، اسیدیته، پراکسید و ΔE در دو نمونه پروتئین بار شاهد و غنی شده نقش مهمی در تعیین کیفیت و ماندگاری محصول دارد. برای مدلسازی تغییرات پارامترهای مورد بررسی در نمونه‌های پروتئین بار شاهد و غنی

شده طی زمان نگهداری، از ۱۴ مدل رگرسیونی تجربی شامل مدل‌های خطی، درجه دوم، وایبل، گمپرتز، هریس، عقلانی، نیوتن، صفحه‌ای، لگاریتمی، نمایی، لجیستیک، دوجمله‌ای، نفوذ و فوریه استفاده شد. نتایج حاصل از ارزیابی آماری مدل‌ها، شامل شاخص‌های برازش و ضرایب معادلات، به همراه نتایج مقایسه آماری ضرایب مدل‌های منتخب بین نمونه‌های شاهد و غنی شده، به ترتیب در جدول‌های (۲) تا (۱۱) ارائه شده است. نمودارهای برازش مدل‌های مناسب بر تغییرات پارامترهای مورد بررسی نیز در شکل‌های (۱) تا (۵) نمایش داده شده‌اند. هر چه مقدار R^2 یک مدل بیش‌تر و مقادیر RMSE، MBE و χ^2 آن کم‌تر باشد، مدل مربوطه برای برازش داده‌ها مناسب‌تر است [۲۷].

۲-۳- رطوبت

تغییرات رطوبت طی دوره نگهداری (۰ تا ۲۸ روز) در هر دو نمونه پروتئین بار شاهد و غنی شده روند کاهشی داشت. میزان کاهش در نمونه غنی شده بیش‌تر از نمونه شاهد بود که این تفاوت می‌تواند به دلیل تاثیر اسپیرولینا و فیکوسیانیین بر ساختار باشد، به طوری که این ترکیبات با ایجاد تغییر در ریزساختار و افزایش تخلخل بافت، موجب تسهیل خروج رطوبت در طول نگهداری می‌شوند [۲۸]. در ادامه، این تغییرات با استفاده از مدل‌های سینتیکی بررسی شده و علت این تفاوت‌ها تحلیل شده است. انتخاب مدل مناسب برای توصیف سینتیک تغییرات نمونه‌های مورد بررسی بر اساس معیارهای دقت و برازش انجام شد. برای این منظور، مدل‌های مختلف با داده‌های آزمایشی برازش داده شدند و عملکرد آن‌ها با استفاده از شاخص‌های ضریب تعیین (R^2)، ریشه میانگین مربعات خطا (RMSE)، کای مربع (χ^2) و میانگین خطای سوگیری (MBE) ارزیابی گردید (جدول (۲)). مدل بهینه باید بالاترین مقدار R^2 و کم‌ترین مقادیر RMSE، χ^2 و MBE را داشته باشد تا بتواند تغییرات نمونه‌ها را به‌طور دقیق توصیف کند. نتایج تحلیل مدل‌ها نشان داد که مدل نفوذ با داشتن R^2 بالا (۰/۹۷۷ برای نمونه شاهد و ۰/۹۷۹ برای نمونه غنی شده) و مقادیر کم RMSE و χ^2 بهترین برازش را ارائه می‌دهد. این مدل توانسته است با دقت بالایی روند تغییرات داده‌ها را پیش‌بینی کند. مقدار χ^2 برای نمونه غنی شده ($10^{-3} \times 2/07$) کم‌ترین مقدار در بین تمامی مدل‌های بررسی شده بود که نشان‌دهنده برازش بهتر این مدل نسبت به سایر گزینه‌ها است. همچنین، مقدار پایین RMSE در هر دو نمونه حاکی از خطای کم این مدل در پیش‌بینی داده‌ها است. با توجه به این معیارها، مدل نفوذ به عنوان مناسب‌ترین مدل برای توصیف تغییرات سینتیکی انتخاب شد. انتخاب این مدل امکان مقایسه دقیق پارامترهای آن در دو نمونه (شاهد و غنی شده) را فراهم می‌سازد و تحلیل بهتری از روند تغییرات سینتیکی نمونه‌ها ارائه می‌دهد.

بر اساس مدل نفوذ که به عنوان مدل بهینه برای توصیف سینتیک تغییرات انتخاب شد، معادله این مدل به صورت زیر ارائه می‌شود:

$$C_t = a \exp(-bt) + (1-c) \exp(-cdt)$$

(۹)

طبق جدول (۳) مقدار a که نشان‌دهنده مقدار اولیه C_t است، در دو نمونه بسیار نزدیک به هم است (حدود ۱۹/۷ و ۱۹/۸) و تفاوت معناداری در سطح اطمینان ۹۵٪ ندارند. مقدار b که نشان‌دهنده نرخ کاهش اولیه C_t است، در نمونه غنی شده (۰/۰۰۲۵) تقریباً دو برابر مقدار آن در نمونه شاهد (۰/۰۰۱۲) است. این افزایش نشان می‌دهد که سینتیک تغییرات در نمونه غنی شده سریع‌تر بوده و تغییرات اولیه با سرعت بیش‌تری اتفاق افتاده است. ضریب c که در تغییرات بلند مدت نقش دارد، در نمونه غنی شده (۰/۵۹۱۹) به‌طور قابل‌توجهی بیش‌تر از نمونه شاهد (۰/۰۶۴۴) است. مقدار بالاتر c بیانگر تأثیر قوی‌تر این پارامتر بر کاهش C_t در طول زمان است. مقدار ثابت d نیز در نمونه غنی شده (۸/۱۷۵۷) بسیار بیش‌تر از نمونه شاهد (۰/۰۱۹۹) است که نشان‌دهنده افزایش شدت تغییرات و سرعت بیش‌تر رسیدن به حالت پایدار در نمونه غنی شده است. بررسی پارامترهای مدل نشان می‌دهد که در نمونه غنی شده، تغییرات با سرعت بیش‌تری اتفاق افتاده و فرآیند کاهش C_t شدیدتر بوده است. مقدار بالاتر b ، c و d در این نمونه نشان می‌دهد که سینتیک تغییرات نسبت به نمونه شاهد تسریع شده و زودتر به تعادل رسیده است. این تفاوت می‌تواند ناشی از اثر

ترکیبات اصلاح شده در فرمولاسیون نمونه غنی شده باشد که منجر به تغییر در روند سینتیکی آن شده است. حضور اسپیرولینا و فیکوسیانین در نمونه غنی شده تأثیر قابل توجهی بر سینتیک تغییرات محصول داشته است. فیکوسیانین به عنوان یک پروتئین-پیگمان با داشتن گروه‌های عاملی باردار، می‌تواند از طریق پیوندهای هیدروژنی و الکترواستاتیکی با پروتئین‌های دیگر برهم‌کنش داشته باشد و بر پایداری ساختار آن‌ها اثر بگذارد. علاوه بر این، با خاصیت آنتی اکسیدانی خود از برهم‌کنش‌های ثانویه بین پروتئین‌ها و محصولات اکسیداسیون لیپیدی جلوگیری می‌کند. این ترکیب ممکن است باعث تسریع برخی واکنش‌های تخریبی یا ایجاد برهم‌کنش‌های جدید با سایر اجزا شود که منجر به تغییر سرعت سینتیک نسبت به نمونه شاهد می‌شود [۲۹، ۳۰]. افزایش سرعت تغییرات مشاهده شده در پارامترهای مدل انتخاب شده می‌تواند ناشی از این اثرات باشد. علاوه بر این، اسپیرولینا به دلیل دارا بودن مقادیر بالای پروتئین، پلی‌ساکاریدها و رنگدانه‌های زیست‌فعال، می‌تواند ساختار ماتریکس پروتئینی و پایداری محصول را تحت تأثیر قرار دهد. ترکیبات زیست فعال آن احتمالاً موجب افزایش برهم‌کنش‌های بین‌مولکولی و تغییر رفتار رطوبتی محصول شده‌اند که منجر به افزایش سرعت تغییرات در طی زمان شده است. همچنین، این ترکیبات می‌توانند بر نفوذپذیری آب و توزیع رطوبت درون محصول اثر بگذارند و باعث شوند که سینتیک تغییرات با سرعت بیش‌تری رخ دهد. برهم‌کنش‌های شیمیایی ناشی از حضور این ترکیبات می‌توانند پایداری محصول را کاهش داده و باعث افزایش سرعت واکنش‌های فیزیکوشیمیایی شوند [۱۰، ۳۱]. بنابراین، تفاوت در سینتیک تغییرات بین نمونه شاهد و غنی شده را می‌توان به اثرات آنتی‌اکسیدانی، برهم‌کنش‌های پروتئینی و تغییر در رفتار رطوبتی ناشی از حضور اسپیرولینا و فیکوسیانین نسبت داد که در مدل سینتیکی انتخاب شده نیز منعکس شده است.

در پژوهش آل‌بری و همکاران [۳۲] به طور کلی مقدار رطوبت در اسنک بارهای ذرت در طی زمان‌های ۰ تا ۳۵ روز روند کاهشی داشته است. کاهش مقدار آب در اثر فرآیند انتقال بخار آب از محصول به محیط در طی نگهداری ایجاد می‌شود. به عبارت دیگر، تفاوت رطوبت بین محیط و محصول می‌تواند باعث انتقال بخار آب شود.

۳-۳- فعالیت آبی

تغییرات فعالیت آبی طی دوره نگهداری در هر دو نمونه پروتئین بار شاهد و غنی شده روند افزایشی داشت. میزان افزایش در نمونه غنی شده کم‌تر از نمونه شاهد بود. این امر می‌تواند به دلیل ویژگی‌های امولسیون‌سازی و جذب آب اسپیرولینا و فیکوسیانین باشد. این ترکیبات با جذب آب، مقدار آب آزاد را در نمونه‌ها کاهش داده و دسترسی به آن را محدود می‌کنند. کاهش فعالیت آبی معمولاً به‌عنوان مزیتی در فرآورده‌های غذایی برای جلوگیری از فساد میکروبی و افزایش مدت ماندگاری محصول در نظر گرفته می‌شود [۳، ۳۳]. افزایش فعالیت آبی همزمان با کاهش رطوبت، به طور مشابه در مطالعه‌ای بر روی مافین حاوی آرد شاه بلوط آبی و جو طی ۳۵ روز نگهداری نیز گزارش شده است [۳۴].

بر اساس معیارهای تعریف شده، مدل عقلانی به عنوان مناسب‌ترین مدل برای توصیف تغییرات سینتیکی انتخاب شد (جدول (۴)). معادله این مدل به صورت زیر است:

$$C_t = (a + bt) / (1 + ct + dt^2) \quad (10)$$

که در آن C_t مقدار فعالیت آبی در زمان t بوده و ضرایب a ، b ، c و d بر اساس داده‌های تجربی تعیین شده‌اند. با توجه به جدول (۵) نقش هر یک از ضرایب در رفتار مدل به طور کلی به شرح زیر است:

ضریب a (عرض از مبدأ در صورت کسر) نمایانگر مقدار اولیه‌ی فعالیت آبی در زمان صفر است. نتایج نشان می‌دهد که این ضریب در دو نمونه شاهد و غنی شده تفاوت معناداری ندارد.

ضریب b (ضریب مربوط به متغیر زمان در صورت کسر) بیانگر میزان افزایش اولیه‌ی فعالیت آبی در طول زمان است. مقدار بالاتر آن در نمونه شاهد نشان می‌دهد که فعالیت آبی در این نمونه، تغییرات قابل توجهی را در اوایل دوره نگهداری تجربه کرده است.

ضریب c (ضریب خطی در مخرج کسر) نرخ تعدیل‌کننده‌ای در رشد فعالیت آبی دارد؛ هرچه مقدار آن بیش‌تر باشد، روند افزایش فعالیت آبی در طول زمان کنترل‌شده‌تر خواهد بود. در نمونه شاهد، مقدار این ضریب بیش‌تر از نمونه غنی شده است. ضریب d (ضریب درجه دوم در مخرج کسر) نیز نمایانگر سهم تغییرات غیرخطی در افزایش فعالیت آبی است. مقدار مثبت و بیش‌تر آن در نمونه شاهد نشان می‌دهد که با گذشت زمان، نرخ افزایش فعالیت آبی با شیب ملایم‌تری ادامه یافته است. سینتیک تغییرات فعالیت آبی در محصولات غذایی مختلف در پژوهش‌های گذشته نیز مطالعه شده است. برای نمونه، سربیسوک و جیراساتید [۳۵] گزارش کردند که معادله سینتیکی مرتبه صفر برای تغییرات فعالیت آبی پودر نوشیدنی کدو حلوائی و زنجبیل انگشتی طی ۷۰ روز نگهداری در دماهای مختلف ۴، ۳۲ و ۴۵ درجه سلسیوس مناسب بود. همچنین، تیرکی و همکاران [۳۶] از مدل وایبل برای بررسی تغییرات سینتیکی فعالیت آبی آبناپت طی ۱۲ هفته در دماهای مختلف ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درجه سلسیوس استفاده کردند.

۴-۳- اسیدیت

تغییرات اسیدیت طی ۲۸ روز نگهداری در هر دو نمونه پروتئین بار شاهد و غنی شده روند افزایشی داشت. میزان افزایش در نمونه غنی شده بیش‌تر از نمونه شاهد بود. با توجه به این که اسیدیت پودر اسپیرولینا ۱۴٪ اسید لاکتیک ارزیابی شده است، این ماده می‌تواند در افزایش اسیدیت محصول نقش داشته باشد. از میان مدل‌های آزموده شده، مدل گمپرتز به عنوان مناسب‌ترین مدل برای هر دو نمونه شاهد و غنی شده انتخاب شد (جدول (۶)). معادله این مدل به صورت زیر است:

$$C_t = a \cdot \exp[-\exp(-b(c-x))]$$

(۱۱)

بر اساس جدول (۷)، پارامتر a بیانگر بیش‌ترین مقدار اسیدیت‌ای است که نمونه می‌تواند داشته باشد. مقدار a در نمونه شاهد ۳/۶۲۹۸ و در نمونه غنی شده ۱/۷۳۲۱ بود. مقدار کم‌تر a در نمونه غنی شده نشان می‌دهد که در نهایت اسیدیت این نمونه کم‌تر از نمونه شاهد است.

پارامتر b (نرخ تغییرات اسیدیت) نشان‌دهنده شیب تغییرات اسیدیت در طول زمان است. نتایج جدول (۷) نشان می‌دهد که این ضریب در دو نمونه تفاوت معناداری ندارد.

پارامتر c (مکان نقطه عطف تغییرات اسیدیت) به نوعی مشخص می‌کند که در چه زمانی بیش‌ترین تغییرات اسیدیت رخ می‌دهد. مقدار c در نمونه شاهد ۴۳/۸۳۲۵ و در نمونه غنی شده ۱۵/۵۴۵۵ بود. مقدار کم‌تر c در نمونه غنی شده بیانگر آن است که تغییرات عمده اسیدیت در این نمونه زودتر اتفاق افتاده که می‌تواند به دلیل افزودن اسپیرولینا و افزایش سریع‌تر اسیدیت باشد. در پژوهش یانگ و همکاران [۳۷]، از مدل آرنیوس برای تخمین زمان ماندگاری نوعی نودل بسته بندی شده تحت خلا در دمای ۲۵ درجه سلسیوس استفاده شد.

۵-۳- پراکسید

تغییرات پراکسید طی دوره نگهداری در هر دو نمونه پروتئین بار شاهد و غنی شده روند افزایشی داشت. با این حال، مقدار افزایش در نمونه‌های غنی شده کم‌تر از نمونه‌های شاهد بود که احتمالاً به حضور ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در اسپیرولینا و فیکوسیانین مرتبط است. در ادامه، این تغییرات با استفاده از مدل‌های سینتیکی بررسی شده و علت این تفاوت‌ها تحلیل شده است.

برای تحلیل سینتیک تغییرات شاخص پراکسید در طی زمان نگهداری، مدل‌های مختلف برازش داده شدند و از میان این مدل‌ها، مدل گمپرتز به عنوان مناسب‌ترین مدل برای هر دو نمونه شاهد و غنی شده انتخاب شد (جدول (۸)). این انتخاب به دلیل مقدار بالای R^2 (به ترتیب ۰/۹۹۹ و ۰/۹۸۵ برای نمونه‌های شاهد و غنی شده) و مقادیر پایین RMSE (۰/۳۱۶۴ و ۰/۲۱۲۴۲) و χ^2

(۰/۰۰۱۴ و ۰/۰۸۲۲۶) بوده است. بنابراین، مدل گمپرتز روند تغییرات شاخص پراکسید را با دقت بالاتری توصیف کرده و مبنای مقایسه بین دو نمونه قرار گرفت. بر اساس مدل گمپرتز، روند اکسیداسیون چربی در دو نمونه شاهد و غنی شده مورد مقایسه قرار گرفت. معادله این مدل به صورت زیر تعریف می‌شود:

$$C_t = a \cdot \exp[-\exp(-b(c-x))] \quad (12)$$

که در آن، C_t مقدار شاخص پراکسید در زمان t است. a بیشینه مقدار شاخص پراکسید را نشان می‌دهد. b نرخ تغییر شاخص پراکسید را مشخص می‌کند. c معیاری از زمان موردنیاز برای رسیدن به فاز نهایی اکسیداسیون است. بر اساس جدول (۹)، مقدار a در نمونه غنی شده (۲۴۲۷۷/۴۵۸) به طور قابل توجهی بالاتر از نمونه شاهد (۱۴۲/۸۰۳) بود که نشان‌دهنده افزایش شدت اکسیداسیون در این نمونه است. همچنین، مقدار پارامتر b که بیانگر نرخ رشد شاخص پراکسید است، در نمونه شاهد (۰/۰۳۴۰) نسبت به نمونه غنی شده (۰/۰۰۷۴) بیش‌تر بود که نشان می‌دهد در نمونه شاهد سرعت افزایش پراکسید در مراحل اولیه بیش‌تر بوده است. از سوی دیگر، پارامتر c که معیاری از زمان موردنیاز برای رسیدن به فاز نهایی اکسیداسیون است، در نمونه غنی شده (۳۱۷/۱۰۰۵) بالاتر از نمونه شاهد (۶۷/۹۶۹۸) بود. این تفاوت نشان می‌دهد که هرچند میزان کلی پراکسید در نمونه غنی شده بیش‌تر بوده، اما فرآیند اکسیداسیون در آن با سرعت کم‌تری اتفاق افتاده است. این نتایج می‌تواند به حضور ترکیبات زیست فعال مانند فیکوسیانین و سایر اجزای موجود در اسپیرولینا نسبت داده شود که ممکن است با ایجاد ساختارهای متفاوت در محصول، در کنار اثرات آنتی‌اکسیدانی، بر رفتار اکسیداسیون تأثیر گذاشته باشند. در مطالعه مانزوکو و همکاران [۳۸]، از مدل سینتیکی مرتبه صفر که یک مدل خطی محسوب می‌شود، جهت تخمین ماندگاری کراکر بر اساس اندازه گیری میزان پراکسید تولید شده در طول زمان استفاده شده است. علاوه بر این، در پژوهش دیگری، مدل سینتیکی مرتبه اول برای توصیف تغییرات پراکسید در روغن گلرنگ حاوی فیکوسیانین و بوتیل هیدروکسی تولوئن در طی زمان به کار رفته است [۳۹].

۳-۶- ΔE

مقدار ΔE در نمونه پروتئین‌بار شاهد طی دوره نگهداری (۰ تا ۲۸ روز) روندی افزایشی داشت، در حالی که در نمونه غنی‌شده این مقدار تا روز چهاردهم کاهش یافته و سپس تا روز ۲۸ افزایش یافت. با این حال، میزان افزایش ΔE در نمونه‌های غنی‌شده کمتر از نمونه‌های شاهد بود. روند کاهشی تا روز ۱۴ نشان‌دهنده ثبات اولیه رنگ و رسیدن به یک وضعیت پایدار است. اما از روز ۱۴ به بعد، افزایش مجدد ΔE ممکن است ناشی از عوامل محیطی جدید یا وقوع واکنش‌های ثانویه در محصول باشد که منجر به تغییر بیش‌تر رنگ شده‌اند. به نظر می‌رسد که روز ۲۸، نقطه‌ای است که تعادل رنگی نهایی حاصل شده و نوسانات رنگ به حداقل رسیده‌اند.

برای تحلیل سینتیک تغییرات ΔE در طی زمان نگهداری، مدل‌های مختلف برازش داده شدند و با استفاده از شاخص‌های آماری شامل ضریب تعیین (R^2)، میانگین خطای سوگیری (MBE)، ریشه میانگین مربعات خطا (RMSE) و کای اسکور (χ^2) ارزیابی شدند (جدول (۱۰)). از میان مدل‌های آزموده شده، مدل درجه دوم به عنوان مناسب‌ترین مدل برای هر دو نمونه شاهد و غنی شده انتخاب شد. معادله این مدل به صورت زیر تعریف می‌شود:

$$C_t = a + bt + Ct^2 \quad (13)$$

که در آن، C_t مقدار متغیر موردنظر در زمان t ، a مقدار اولیه متغیر در زمان صفر (عرض از مبدأ)، b نرخ اولیه تغییر متغیر در ابتدای زمان و c ضریب تغییرات غیرخطی است که جهت خمیدگی منحنی در طول زمان (شتاب یا کندی روند تغییرات) را مشخص می‌کند.

طبق جدول (۱۱)، مقدار a در نمونه غنی شده بیش‌تر از نمونه شاهد است. با این که مقدار واقعی ΔE در روز صفر در نمونه شاهد بیش‌تر از نمونه غنی شده بود، مقدار ضریب a در مدل درجه دوم برای نمونه بهینه بالاتر به دست آمد. ضریب a به عنوان عرض از مبدا، نشان دهنده مقدار برآورد شده توسط مدل در زمان صفر است. اگرچه گاهی به عنوان مقدار اولیه متغیر در زمان صفر در نظر گرفته می‌شود، اما در فرایند برازش منحنی به ویژه زمانی که داده‌ها رفتار غیرخطی یا نوسانی دارند، مقدار a تحت تاثیر کل ساختار منحنی در بازه زمانی قرار می‌گیرد. بنابراین، a بیش‌تر نشان دهنده سطح پایه ای است که تغییرات از آن آغاز می‌شوند، نه لزوماً مقدار واقعی مشاهده شده در زمان صفر.

مقدار ضریب b در نمونه غنی‌شده منفی و از نظر مطلق بزرگ‌تر از مقدار نمونه شاهد است، که نشان‌دهنده کاهش سریع‌تر اولیه ΔE در این نمونه است. در مقابل، ضریب c در نمونه شاهد به‌طور معناداری بزرگ‌تر از نمونه غنی‌شده بوده که حاکی از شدت بالای تغییرات غیرخطی و افزایش ناگهانی ΔE در طول زمان است. در مطالعات گذشته از معادله سینتیکی مرتبه صفر برای تغییرات ΔE کدو حلوائی برش خورده در حین خشک شدن [۴۰] و همچنین تخمین زمان نگهداری میوه کیوی [۴۱] استفاده شده است.

۴- نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که پارامترهای کیفی بار پروتئینی حاوی اسپیرولینا و فیکوسیائین، شامل رطوبت، فعالیت آبی، اسیدیته، پراکسید و ΔE در طول نگهداری ۲۸ روزه، دستخوش تغییرات معنی داری شدند. روند کاهش یا افزایش این پارامترها بسته به نوع ترکیبات موجود، واکنش‌های اکسیداتیو، تغییرات رطوبتی و برهمکنش‌های فیزیکوشیمیایی درون محصول بود. مدلسازی سینتیکی این تغییرات نشان داد که مدل نفوذ برای رطوبت، مدل عقلانی برای فعالیت آبی، مدل گمپرتز برای اسیدیته و پراکسید و مدل درجه دوم برای ΔE بهترین برازش را با داده‌ها داشتند. انتخاب این مدل‌ها، علاوه بر کمک به درک بهتر رفتار کیفی محصول در طول نگهداری، می‌تواند به پیش‌بینی دقیق‌تر تغییرات در شرایط واقعی انبارداری منجر شود. حضور ترکیبات زیست‌فعال موجود در اسپیرولینا و فیکوسیائین، با دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی، نه تنها در افزایش پایداری برخی ویژگی‌ها نقش مؤثری داشت، بلکه با کاهش سرعت اکسیداسیون چربی‌ها، به کنترل تغییرات رنگ و حفظ ویژگی‌های ظاهری محصول نیز کمک کرد. این ویژگی‌ها اهمیت استفاده از این ترکیبات را به‌عنوان افزودنی‌های طبیعی و کارآمد در تولید محصولات پروتئینی نشان می‌دهد.

به‌طور کلی، یافته‌های این تحقیق می‌توانند به‌عنوان مبنایی علمی برای طراحی و تولید پروتئین‌بار با پایداری بالاتر در طول دوره نگهداری مورد استفاده قرار گیرند. بر این اساس، تولیدکنندگان می‌توانند با بهره‌گیری از مدل‌های سینتیکی ارائه‌شده، زمان ماندگاری محصول را با دقت بیش‌تری پیش‌بینی و شرایط بهینه فرمولاسیون و نگهداری را تعیین کنند.

در مطالعات آینده، پیشنهاد می‌شود اثر شرایط مختلف دمای نگهداری، رطوبت نسبی و نوع بسته‌بندی بر پایداری فیزیکوشیمیایی و ویژگی‌های حسی پروتئین‌بار بررسی شود. همچنین، ارزیابی سینتیک تغییرات در دوره‌های نگهداری طولانی‌تر و بررسی رفتار محصول تحت شرایط شتاب‌داده شده می‌تواند به تکمیل درک رفتار کیفی این محصول کمک کند. در کنار این موارد، تحلیل اقتصادی تولید و مقایسه عملکرد اسپیرولینا و فیکوسیائین با سایر افزودنی‌های طبیعی، مسیر توسعه محصولات سالم و پایدار را هموارتر خواهد کرد.

تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

تشکر و قدردانی

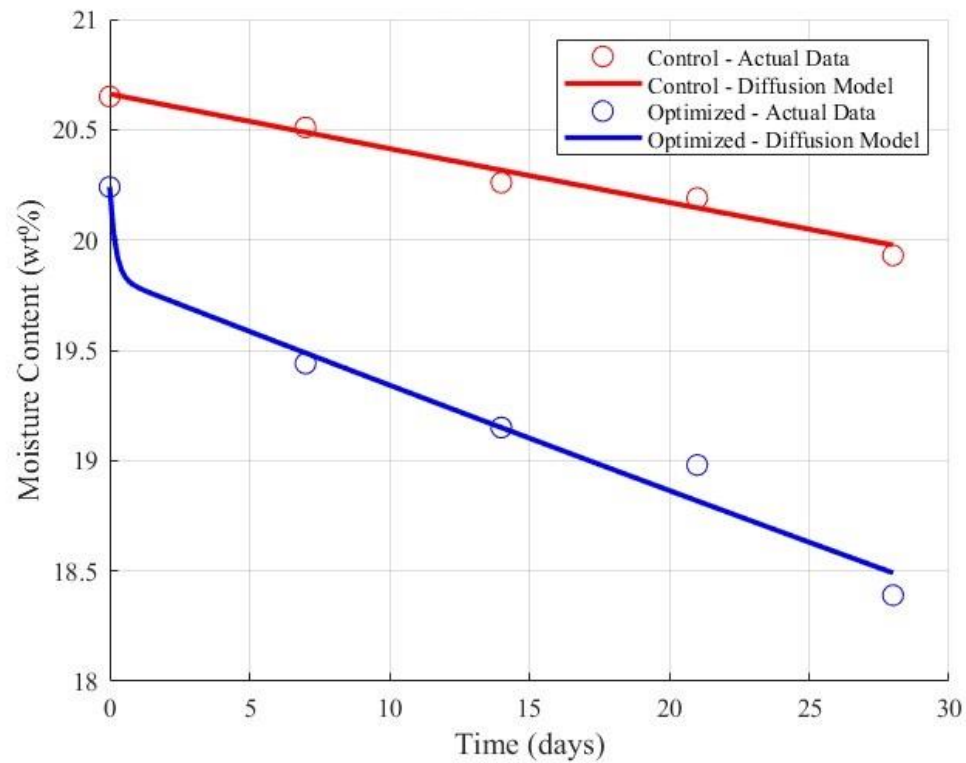
بدین وسیله مراتب قدردانی خود را از پارک علم و فناوری گیلان به منظور حمایت مالی این پژوهش از طریق گرنت خلاقیت و شکوفایی [شماره گرنت ۴۵۶۴/۱۴۰۳] اعلام می‌داریم. همچنین از شرکت صنایع غذایی گیلتاز (لنگرود، گیلان) به دلیل تأمین مواد اولیه مورد نیاز این مطالعه، سپاسگزاری می‌کنیم.

۵- مراجع

- [۱] S. JABEEN, N. HUMA, A. SAMEEN, M.A. ZIA, Formulation and characterization of protein-energy bars prepared by using dates, apricots, cheese and whey protein isolate, Food science and technology 41 (2020) 197-207.
- [۲] J. Sithari, T. Chandrasiri, K. Wijesekara, Formulation and Characterization of Nutrient Bars using Underutilized Seeds: Semolina and Jackfruit Seeds, Applied Bio-Systems Technology 1.
- [۳] F. Fanari, J. Comaposada, F. Boukid, E. Climent, A.C. Coma, L. Guerrero, M. Castellari, Enhancing energy bars with microalgae: A study on nutritional, physicochemical and sensory properties, Journal of Functional Foods 109 (2023) 105768.
- [۴] F. Rajabi, High protein bars based on whey proteins, Norwegian University of Life Sciences, Ås, 2017.
- [۵] Z. Jiang, K. Wang, X. Zhao, J. Li, R. Yu, R. Fu, Y. He, P. Zhao, K.-C. Oh, J. Hou, High-protein nutrition bars: Hardening mechanisms and anti-hardening methods during storage, Food Control 127 (2021) 108127.
- [۶] T.N. Soliman, A. Behdal, S. Fatouh Hamed, H. Zahran, Effect of applying beetroot juice and functional vegetable oils in the preparation of high protein nutrition bars on its physicochemical, textural and sensorial properties, Egyptian Journal of Chemistry 66(1) (2023) 1-14.
- [۷] H. Zhu, X.-X. Zhang, R. Zhang, J.-Y. Feng, K. Thakur, J.-G. Zhang, Z.-J. Wei, Anti-hardening effect and mechanism of silkworm sericin peptide in high protein nutrition bars during early storage, Food Chem. 407 (2023) 135168.
- [۸] R.B. Dietrich, L. Lincoln, S. Momen, B.B. Minkoff, M.R. Sussman, A.L. Girard, Role of protein and lipid oxidation in hardening of high-protein bars during storage, Journal of Food Science 90(1) (2025) e17657.
- [۹] M.P. Caporgno, A. Mathys, Trends in microalgae incorporation into innovative food products with potential health benefits, Frontiers in nutrition 5 (2018) 58.
- [۱۰] D.G. Bortolini, G.M. Maciel, I.d.A.A. Fernandes, A.C. Pedro, F.T.V. Rubio, I.G. Branco, C.W.I. Haminiuk, Functional properties of bioactive compounds from *Spirulina* spp.: Current status and future trends, Food Chemistry: Molecular Sciences 5 (2022) 100134.
- [۱۱] B. Maddiboyina, H.K. Vanamamalai, H. Roy, Ramaiah, S. Gandhi, M. Kavisri, M. Moovendhan, Food and drug industry applications of microalgae *Spirulina platensis*: A review, Journal of Basic Microbiology 63(6) (2023) 573-583.
- [۱۲] S. Grahl, M. Strack, R. Weinrich, D. Mörlein, Consumer-Oriented Product Development: The Conceptualization of Novel Food Products Based on *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) and Resulting Consumer Expectations, Journal of Food Quality 2018(1) (2018) 1919482.
- [۱۳] N.K. AlFadhly, N. Alhelfi, A.B. Altemimi, D.K. Verma, F. Cacciola, A. Narayanankutty, Trends and technological advancements in the possible food applications of *Spirulina* and their health benefits : A Review, Molecules 27(17) (2022) 5584.
- [۱۴] Y. Wang, B. Xu, C. Dong, Y. Sun, The nutritional value of *Spirulina* and Utilization Research, Life Res 6(3) (2023) 15.
- [۱۵] G. Gentsheva, K. Nikolova, V. Panayotova, K. Peycheva, L. Makedonski, P. Slavov, P. Radusheva, P. Petrova, I. Yotkovska, Application of *Arthrospira platensis* for medicinal purposes and the food industry: a review of the literature, Life 13(3) (2023) 845.
- [۱۶] M.G. de Moraes, D. da Fontoura Prates, J.B. Moreira, J.H. Duarte, J.A.V. Costa, Phycocyanin from microalgae: properties, extraction and purification, with some recent applications, Industrial Biotechnology 14(1) (2018) 30-37.

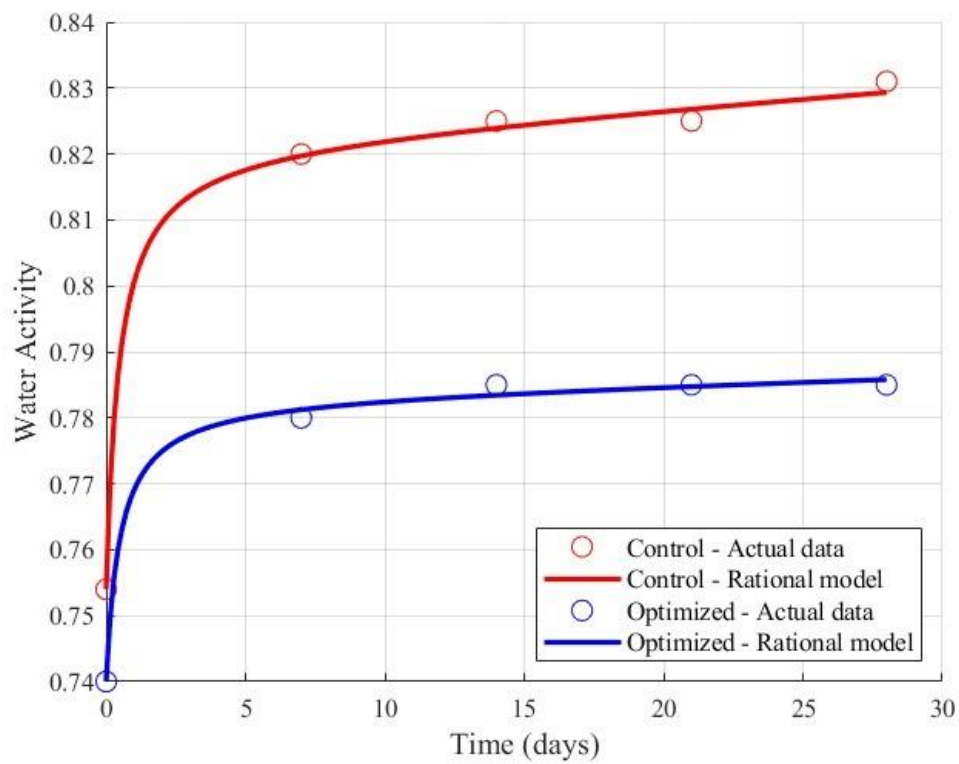
- [11] K.D. Athiyappan, W. Routray, B. Paramasivan, Phycocyanin from *Spirulina*: a comprehensive review on cultivation, extraction, purification, and its application in food and allied industries, *Food and Humanity* (2024) 100235.
- [12] E. Mohammadi-Gouraji, S. Soleimani-Zad, M. Ghiaci, Phycocyanin-enriched yogurt and its antibacterial and physicochemical properties during 21 days of storage, *Lwt* 102 (2019) 230-236.
- [13] P. Pourghasemian, A. Pourfarzad, A. Babakhani, Optimization of a brown rice protein bar supplemented with *Spirulina* and phycocyanin: FTIR-based analysis of protein secondary structures and multivariate quality assessment, *Applied Food Research* 5(2) (2025) 101259.
- [14] K. Sparkman, H.S. Joyner, B. Smith, Understanding how high-protein bar formulations impact their mechanical and wear behaviors using response surface analysis, *Journal of food science* 84(8) (2019) 2209-2221.
- [15] F.P. Talemi, A. Pourfarzad, S. Gheibi, Synergistic effects of bee pollen and propolis extract on protein bar properties: a multivariate chemometric analysis, *Discover Food* 5(1) (2025) 1-29.
- [16] B.F. Lucas, M.G. de Moraes, T.D. Santos, J.A.V. Costa, *Spirulina* for snack enrichment: Nutritional, physical and sensory evaluations, *LWT* 90 (2018) 270-276.
- [17] M. Sabovics, E. Straumite, R. Galoburda, The influence of baking temperature on the quality of triticale bread, 9th Baltic Conference on Food Science and Technology FOODBALT 2014 Conference proceedings, 2014, pp. 228-233.
- [18] C.O.R. Okpala, G. Bono, M.L. Geraci, G. Sardo, S. Vitale, C.J. Schaschke, Lipid oxidation kinetics of ozone-processed shrimp during iced storage using peroxide value measurements, *Food bioscience* 16 (2016) 5-10.
- [19] A. Hematian Sourki, H. Mahdavian Mehr, A. Pourfarzad, N. Sedaghat, Optimization of alkaline extraction for dietary fiber of coffee silver skin and its effect on the quality and shelf life of Iranian Barbari bread, *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology* 8(1) (2013) 11-22.
- [20] P. Jovanov, M. Sakač, M. Jurdana, Z.J. Pražnikar, S. Kenig, M. Hadnadev, T. Jakus, A. Petelin, D. Škrobot, A. Marić, High-protein bar as a meal replacement in elite sports nutrition: a pilot study, *Foods* 10(11) (2021) 2628.
- [21] A. Pourfarzad, M.B. Habibi-Najafi, Optimization of a liquid improver for barbari bread: staling kinetics and relationship of texture with dough rheology and image characteristics, *Journal of texture studies* 43(6) (2012) 484-493.
- [22] B.F. Lucas, A.P.C.d. ROSA, L.F.d. CARVALHO, M.G.d. MORAIS, T.D. Santos, J.A.V. COSTA, Snack bars enriched with *Spirulina* for schoolchildren nutrition, *Food Science and Technology* 40 (2019) 146-152.
- [23] T.J. Ashaolu, K. Samborska, C.C. Lee, M. Tomas, E. Capanoglu, Ö. Tarhan, B. Taze, S.M. Jafari, Phycocyanin, a super functional ingredient from algae; properties, purification characterization, and applications, *International Journal of Biological Macromolecules* 193 (2021) 2320-2331.
- [24] I. Bayram, E.A. Decker, Underlying mechanisms of synergistic antioxidant interactions during lipid oxidation, *Trends in food science & technology* 133 (2023) 219-230.
- [25] M. Tańska, I. Konopka, M. Ruskowska, Sensory, physico-chemical and water sorption properties of corn extrudates enriched with *spirulina*, *Plant Foods for Human Nutrition* 72 (2017) 250-257.
- [26] A.N.m. Al-Baarri, S. Susanti, A.M. Legowo, M. Hadipernata, A. Aryanto, P.S. Liestyana, Accelerated shelf life determination of corn snack bars, *Italian Journal of Food Safety* 12(4) (2023) 10718.
- [27] M. Marcinkowska-Lesiak, A. Onopiuk, M. Zalewska, A. Ciepluch, L. Barotti, The effect of different level of *Spirulina* powder on the chosen quality parameters of shortbread biscuits, *Journal of Food Processing and Preservation* 42(3) (2018) e13561.
- [28] S.Z. Hussain, M.A. Beigh, T. Qadri, B. Naseer, I. Zargar, Development of low glycemic index muffins using water chestnut and barley flour, *Journal of Food Processing and Preservation* 43(8) (2019) e14049.

- [٣٥]N. Srisuk, S. Jirasatid, DEVELOPMENT OF INSTANT PUMPKIN-FINGERROOT DRINK POWDER AND ITS SHELF LIFE MODELING, *Life Sciences and Environment Journal* 24(1) (2023) 161-182.
- [٣٦]S. Tireki, G. Sumnu, S. Sahin, Investigation of average crosslink distance and physicochemical properties of gummy candy during storage: Effect of formulation and storage temperature, *Physics of Fluids* 35(5.(٣٠٣٣) (
- [٣٧]S. Yang, M.-N. Zhang, C.-S. Shan, Z.-G. Chen, Evaluation of cooking performance, structural properties, storage stability and shelf life prediction of high-moisture wet starch noodles, *Food Chem.* 357 (2021) 129744.
- [٣٨]L. Manzocco, G. Romano, S. Calligaris, M.C. Nicoli, Modeling the effect of the oxidation status of the ingredient oil on stability and shelf life of low-moisture bakery products: The case study of crackers, *Foods* 9(6) (2020) 749.
- [٣٩]Z.B. Monji, M. Karimi, H. Zolfaghari, M.T. Golmakani, M. Azari, S.M. Mazloomi, A. Abbasi, Effect of Phycocyanin and Butylated Hydroxytoluene on the Oxidative Stability of Safflower Oil: A Comprehensive Kinetic Investigation, *European Journal of Lipid Science and Technology* 127(1) (2025) e202400010.
- [٤٠]S.K. Chikpah, J.K. Korese, B. Sturm, O. Hensel, Colour change kinetics of pumpkin (*Cucurbita moschata*) slices during convective air drying and bioactive compounds of the dried products, *Journal of Agriculture and Food Research* 10 (2022) 100409.
- [٤١]W. Zhang, Z. Luo, A. Wang, X. Gu, Z. Lv, Kinetic models applied to quality change and shelf life prediction of kiwifruits, *Lwt* 138 (2021) 110610.



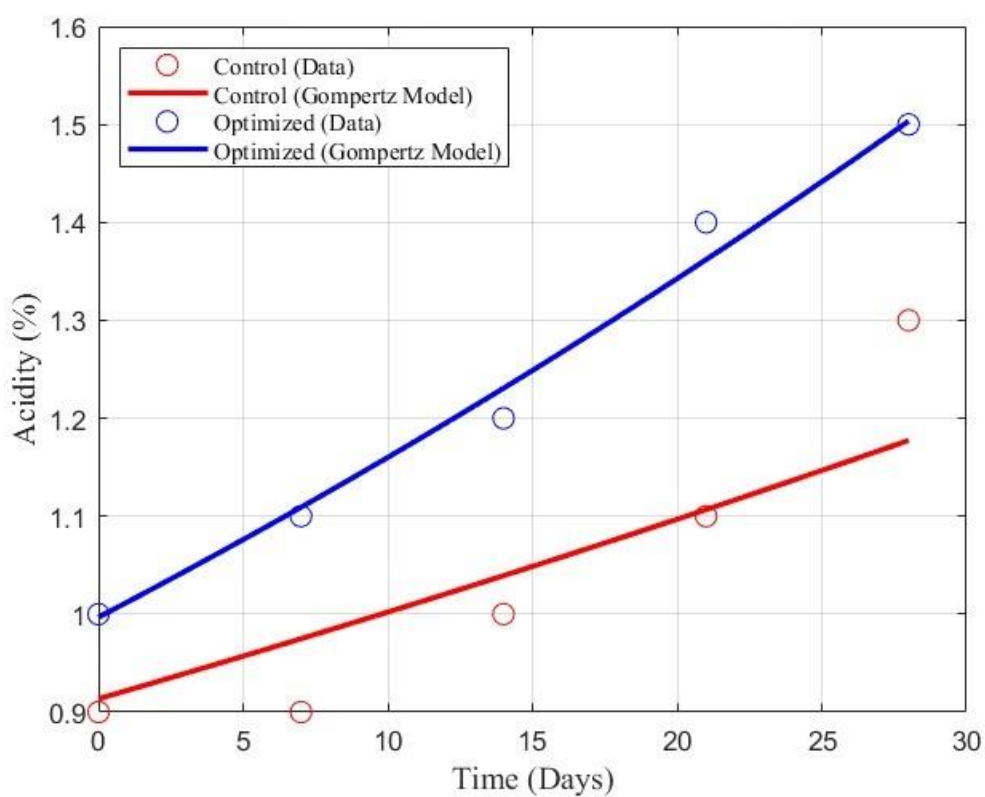
شکل (۱) نمودار برازش مدل نفوذ بر تغییرات رطوبت نمونه پروتئین بارهای شاهد و غنی شده طی زمان نگهداری

Figure 1. Diffusion model fitting graph for Moisture changes in control and fortified protein bars during storage time



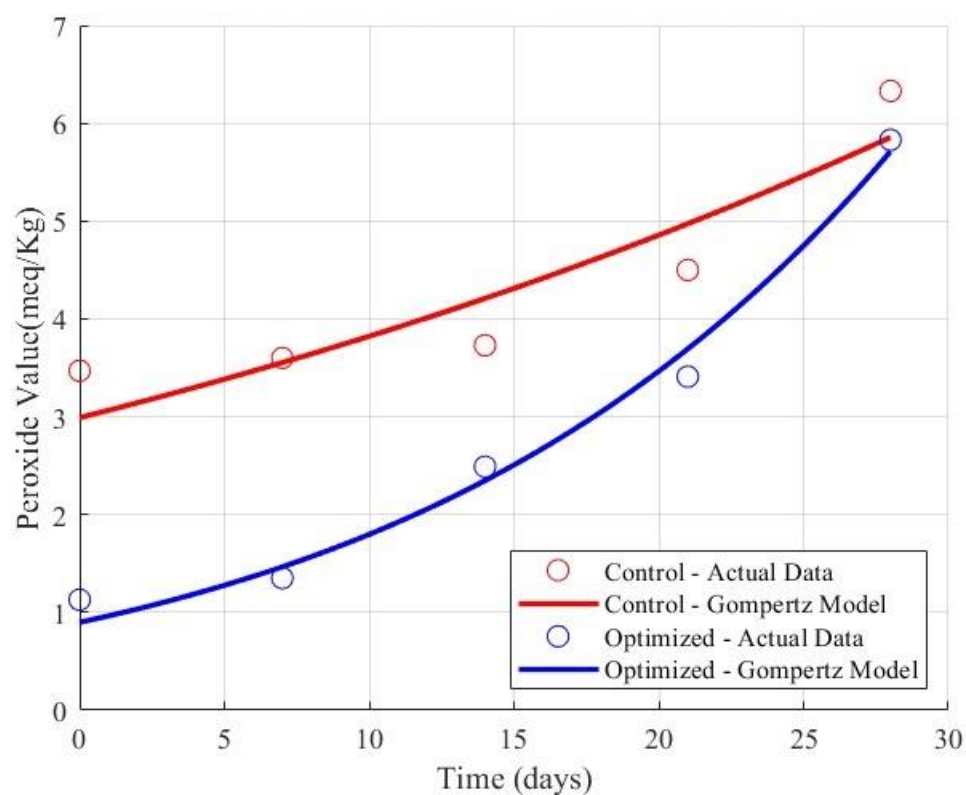
شکل (۲) نمودار برازش مدل عقلانی بر تغییرات فعالیت آبی نمونه پروتئین بارهای شاهد و غنی شده طی زمان نگهداری

Figure 2. Rational model fitting graph for Water activity changes in control and fortified protein bars during storage time



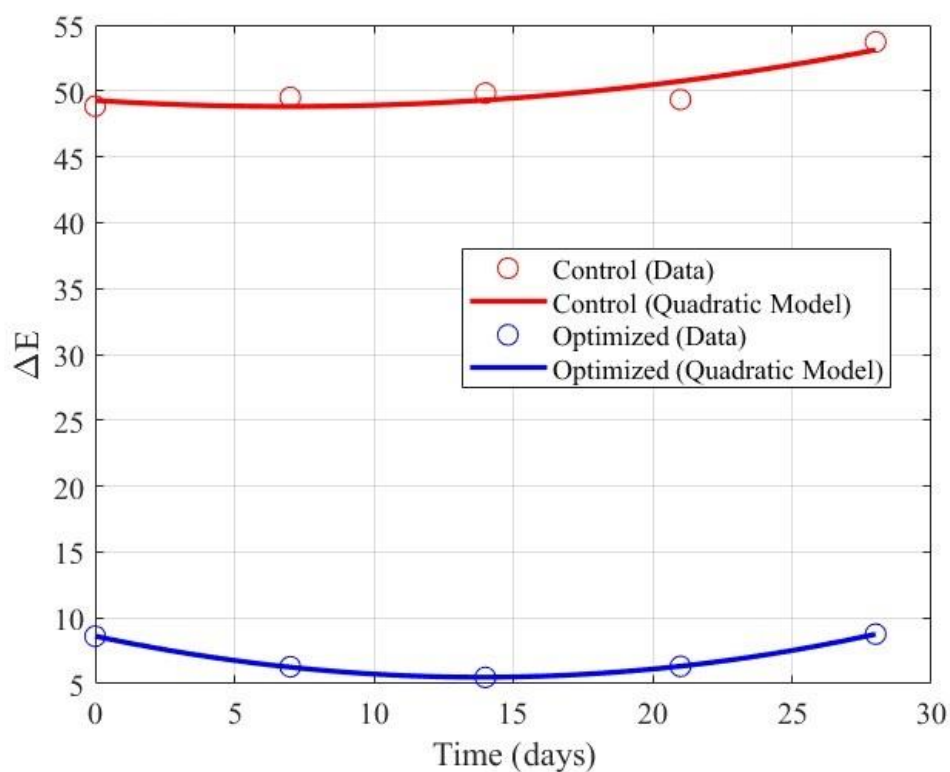
شکل (۳) نمودار برازش مدل گمپرتز بر تغییرات اسیدیته نمونه پروتئین بارهای شاهد و غنی شده طی زمان نگهداری

Figure 3. Gompertz model fitting graph for Acidity changes in control and fortified protein bars during storage time



شکل (۴) نمودار برازش مدل گمپرتز بر تغییرات پراکسید نمونه پروتئین بارهای شاهد و غنی شده طی زمان نگهداری

Figure 4. Gompertz model fitting graph for Peroxide changes in control and fortified protein bars during storage time



شکل (۵) نمودار برازش مدل درجه دوم بر تغییرات ΔE نمونه پروتئین بارهای شاهد و غنی شده طی زمان نگهداری
Figure 5. Quadratic model fitting graph for ΔE changes in control and fortified protein bars during storage time

جدول (۱) ترکیبات تشکیل دهنده پروتئین بار

Table 1. Protein bar formulations

Ingredients	Control Protein Bar (g/100 g)	Fortified Protein Bar * (g/100 g)
Whey protein concentrate	38.66	37.06
Brown rice flour	19.33	18.53
Spirulina powder	0	2
Phycocyanin powder	0	0.4
Glycerin	16.01	16.01
Sunflower oil	9.80	9.80

water

16.20

16.20

Fortified protein bar contains 2% spirulina powder and 0.4% phycocyanin powder.

جدول (2) نتایج آنالیز آماری حاصل از مدل سازی تغییرات رطوبت در نمونه پروتئین بارهای شاهد و غنی شده

Table 2. Results of the statistical analysis obtained from modelling the changes in Moisture in control and fortified protein bar samples.

Model No.	Name	Model equation	Constants		R ²		MBE		RMSE		χ^2	
			Control	Fortified	Control	Fortified	Control	Fortified	Control	Fortified	Control	Fortified
1	Linear	$C_t = a + bt$	a= 20.66 b= - 0.0251	a= 20.072 b= - 0.0594	0.978	0.941	2.132×10^{-15}	1.421×10^{-15}	0.0377	0.1467	3.52×10^{-4}	5.51×10^{-3}
2	Quadratic	$C_t = a + bt + Ct^2$	a= 20.651 b= - 0.0227 c= - 0.0001	a= 20.1491 b= - 0.0815 c= 0.0008	0.978	0.953	7.105×10^{-16}	2.132×10^{-15}	0.0371	0.13177	3.39×10^{-4}	4.53×10^{-3}
3	Weibull	$C_t = b/c (t-a)^{(b-1)} e^{-((t-a)/c)^b}$	a= 0 b= 0.7740 c= 6.82	a= 0 b= 0.7748 c= 2.34	- 515.8	- 782.42	-16.163	-15.177	18.071	16.971	1.1633×10^5	1.0133×10^5
4	Gompertz	$C_t = a \cdot \exp(-\exp(-b(c-x)))$	a= 21.564 b= 0.0217 c= 82.755	a= 25.7973 b= 0.0101 c= 130.2197	0.975	0.932	-3.23×10^{-4}	2.43×10^{-4}	0.0396	0.15783	3.86×10^{-4}	6.34×10^{-3}
5	Harris	$C_t = 1 / (a + bt^c)$	a= 0.0484 b= 0 c= 1.0827	a= 0.0494 b= 0.0005 c= 0.6875	0.978	0.969	1.851×10^{-7}	1.2673×10^{-5}	0.0373	0.10645	3.44×10^{-4}	3.01×10^{-3}
6	Rational	$C_t = (a + bt) / (1 + ct + dt^2)$	a= 10.780 b= 0 c= - 0.0138 d= - 0.0002	a= 20.24 b= 6323.804 c= 318.678 d= 0.8262	- 709.85	0.978	-5.224	1.9101×10^{-5}	6.712	0.0902	18.79	2.17×10^{-3}
7	Newton	$C_t = \exp(-at)$	a= 0	a= 0	- 5882.3	- 904.95	-19.308	-18.24	19.31	18.25	1864.3	1665.3
8	Page	$C_t = \exp(-at^b)$	a= 1.5122 b= 1.5124	a= 0 b= 1.5124	- 5882.3	- 904.95	-19.308	-18.24	19.31	18.25	1864.3	1665.3
9	Logarithmic	$C_t = a \exp(-bt) + c$	a= 16.904 b= 0.0015 c=	a= 2.6486 b= 0.0356 c=	0.977	0.957	3.4016×10^{-6}	1.3685×10^{-6}	0.03806	0.12641	3.59×10^{-4}	4.20×10^{-3}

10	Exponential	$C_t = a(b - \exp(-ct))$	3.7574 a= 0.05 b= 406.61 c= 3.3203	17.5284 a= 20.0832 b= -0.0031	-0.114	0.944	-0.0017	- 2.316×10^{-5}	0.26573	0.14351	0.0174	5.28×10^{-3}
11	Logistic	$C_t = a / (1 + b \exp(-ct))$	a= 20.308 b= 0 c= 6.0734	a= 19.24 b= 0 c= 5.4321	-1.4952 $\times 10^{-12}$	5.91 $\times 10^{-13}$	- 1.109×10^{-12}	- 2.37×10^{-12}	0.25173	0.60633	0.015604	0.095541
12	Two-term	$C_t = a \exp(-bt) + c \exp(-dt)$	a= 10.337 b= 0.0012 c= 10.325 d= 0.0012	a= 0.0004 b= -0.003 c= 20.0828 d= 0.0031	0.977	0.944	5.2633×10^{-7}	- 2.317×10^{-5}	0.038	0.14351	3.57×10^{-4}	5.28×10^{-3}
13	Diffusion	$C_t = a \exp(-bt) + (1-c) \exp(-cdt)$	a= 19.726 b= 0.0012 c= 0.0644 d= 0.0199	a= 19.8319 b= 0.0025 c= 0.5919 d= 8.1757	0.977	0.979	2.6396×10^{-6}	9.4047×10^{-6}	0.038	0.08814	3.57×10^{-4}	2.07×10^{-3}
14	Fourier	$C_t = a + b \cos(ct) + d \sin(ct)$	a= -734589 b= .37 c= 0 d= -1470.65	a= 1640218 b= -1640198 c= 0 d= 2629.62	0.978	0.953	1.531×10^{-11}	- 5.01×10^{-10}	0.03705	0.13177	3.39×10^{-4}	4.53×10^{-3}

جدول (۳) مقایسه آماری ضرایب معادله نفوذ در مدل سازی تغییرات رطوبت

Table 3. Statistical comparison of the Diffusion model constants for moisture

Constant	Control	Fortified	p-value
a	19.7257 (*a)	19.8319 (a)	0.85
b	0.0012 (b)	0.0025 (a)	0.01
c	0.0644 (b)	0.5919 (a)	0.001
d	0.0199 (b)	8.1757 (a)	0.0001

*Values with different letters in each row indicates a significant difference at the 0.05 level, while values with the same letters are not significantly different.

جدول (۴) نتایج آنالیز آماری حاصل از مدل سازی تغییرات فعالیت آبی در نمونه پروتئین بارهای شاهد و غنی شده

Table 4. Results of the statistical analysis obtained from modelling the changes in Water activity in control and fortified protein bar samples

Model No.	Name	Model equation	Constants		R ²		MBE		RMSE		χ^2	
			Control	Fortified	Control	Fortified	Control	Fortified	Control	Fortified	Control	Fortified
1	Linear	$C_t = a + bt$	a= 0.0023 b= 0.7792	a= 0.0014 b= 0.756	0.613	0.582	0	0	0.017854	0.01138	0.002006	8.45×10 ⁻⁴
2	Quadratic	$C_t = a + bt + Ct^2$	a= -0.0002 b= 0.0074 c= 0.7613	a= -0.0001 b= 0.0048 c= 0.7439	0.884	0.915	1.1102×10 ⁻¹⁶	6.6613×10 ⁻¹⁷	0.009776	0.005127	5.91×10 ⁻⁴	1.70×10 ⁻⁴
3	Weibull	$C_t = b/c (t-a)^{(b-1)} e^{-((t-a)/c)^b}$	a= 0 b= 0.9087 c= 9.0179	a= 0 b= 0.9091 c= 9.101	-625.15	-1496.4	-0.64312	-0.6099	0.71847	0.68131	168.74	150.56
4	Gompertz	$C_t = a \cdot \exp(-\exp(-b(c-x)))$	a= 0.8453 b= -0.0775 c= -24.886	a= 0.7953 b= -0.0804 c= -27.5931	0.822	0.822	-7.895×10 ⁻⁵	-8.078×10 ⁻⁵	0.01213	0.007427	9.28×10 ⁻⁴	3.60×10 ⁻⁴
5	Harris	$C_t = 1 / (a + bt^c)$	a= 1.233 b= 0 c= 0	a= 1.2903 b= 0 c= 0	-8.1031×10 ⁻¹⁰	-1.4127×10 ⁻⁹	-6.850×10 ⁻⁸	-5.7345×10 ⁻⁷	0.028712	0.017607	0.0050826	0.002
6	Rational	$C_t = (a + bt) / (1 + ct + dt^2)$	a= 0.754 b= 1.7647 c= 2.0151 d= -2.147 e= -0.0008	a= 0.74 b= 1.5785 c= 2.0151 d= -0.0003	0.998	0.997	8.9828×10 ⁻⁸	1.5544×10 ⁻⁷	0.001165	9.67×10 ⁻⁴	8.1984×10 ⁻⁶	5.972×10 ⁻⁶
7	Newton	$C_t = \exp(-at)$	a= 0.0094	a= 0.0121	-18.561	-60.735	0.069701	0.075302	0.12699	0.13834	0.083087	0.10017
8	Page	$C_t = \exp(-at^b)$	a= 0.2095 b= 0	a= 0.2549 b= 0	-2.3618×10 ⁻¹⁰	-7.77×10 ⁻⁸	1.0694×10 ⁻⁸	1.5298×10 ⁻⁷	0.028712	0.017607	0.0050826	0.002
9	Logarithmic	$C_t = a \exp(-bt) + c$	a= 0.8604 b= 0 c= -0.0494	a= 0.0003 b= 0 c= -0.7746	-4.7414×10 ⁻⁹	-1.6156×10 ⁻⁵	2.0349×10 ⁻⁷	-7.029×10 ⁻⁵	0.028712	0.017607	0.0050826	0.002
10	Exponential	$C_t = a (b - \exp(-bt))$	a= 0.0734	a= 0.0452	0.995	0.9999	-1.713×10 ⁻⁸	5.1606×10 ⁻⁸	0.002049	2.03×10 ⁻⁴	2.5381×10 ⁻⁵	2.621×10 ⁻⁷

	exp(- bt)+c exp(-dt)	0.4055 b= 0 c= 0.4055 d= 0	0.3875 b= 0 c= 0.3875 d= 0	4.575 5 $\times 10^{-11}$	5.8416 $\times 10^{-8}$	7.912 $\times 10^{-10}$	3.049 $\times 10^{-8}$	712	607	3
si	C _t = a exp(-bt) + (1-c) exp(- cdt)	a= 0.0015 b= 0 c= 0.1905 d= 0	a= 0.0019 b= 0 c= 0.2269 d= 0	- 8.102 8 $\times 10^{-10}$	- 8.9605 $\times 10^{-10}$	8.1636 $\times 10^{-7}$	5.2601 $\times 10^{-7}$	0.028 712	0.017 607	0.00 3
e	C _t = a+b cos(ct) + d sin(ct)	a= - 65667. 349 b= 65668. 11 c= - 0.0001 d= - 98.978 6	a= - 34983.0 612 b= 34983.8 05 c= 0.0001 d= 57.3464	0.884	0.915	2.1775 $\times 10^{-11}$	4.4692 $\times 10^{-12}$	0.009 776	0.005 127	5.91 -4

جدول (۵) مقایسه آماری ضرایب معادله عقلانی در مدل سازی تغییرات فعالیت آبی

Table 5. Statistical comparison of the Rational model constants for Water activity

Constant	Control	Fortified	p-value
a	0.754 (*a)	0.74 (a)	0.185
b	1.765 (a)	1.579 (b)	0.002
c	2.147 (a)	2.015 (b)	0.006
d	-0.0008 (b)	-0.0003 (a)	0.021

Values with different letters in each row indicates a significant difference at the 0.05 level, while values with the same letters are not significantly different.

جدول (۶) نتایج آنالیز آماری حاصل از مدل سازی تغییرات اسیدیته در نمونه پروتئین بارهای شاهد و غنی شده

Table 6. Results of the statistical analysis obtained from modelling the changes in Acidity in control and fortified protein bar samples

Model No.	Name	Model equation	Constants		R ²		MBE		RMSE		χ^2	
			Control	Fortified	Control	Fortified	Control	Fortified	Control	Fortified	Control	Fortified
1	Linear	$C_t = a + bt$	a= 0.0143 b= 0.84	a= 0.0186 b= 0.98	0.893	0.983	8.882×10^{-17}	6.661×10^{-17}	0.04899	0.024495	0.011833	0.0024455
2	Quadratic	$C_t = a + bt + Ct^2$	a= 0.0006 b= -0.002 c= 0.8971	a= 0.0001 b= -0.0145 c= 0.9943	0.995	0.987	8.882×10^{-17}	1.332×10^{-16}	0.01069	0.021381	5.75×10^{-4}	0.0017268
3	Weibull	$C_t = b/c \cdot (t-a)^{(b-1)} \cdot e^{-((t-a)/c)^b}$	a= 0 b= 0.8982 c= 9.364	a= 0 b= 0.894 c= 9.2175	-39.506	-37.66	-0.84311	-1.0232	0.95254	1.1532	324.09	466.18
4	Gompertz	$C_t = a \cdot \exp(-\exp(-b(c-x)))$	a= 3.6298 b= -0.0403 c= 43.833	a= 1.7321 b= -0.0824 c= 15.5455	0.994	0.992	9.9826×10^{-7}	-7.708 $\times 10^{-7}$	0.01205	0.01656	7.60×10^{-4}	0.001107
5	Harris	$C_t = 1 / (a + bt^c)$	a= 0.9615 b= 0 c= 0	a= 0.8065 b= 0 c= 0	-1.520 4×10^{-10}	-6.0443 $\times 10^{-12}$	1.8391×10^{-6}	4.5311×10^{-7}	0.14967	0.18547	0.10769	0.13871
6	Rational	$C_t = (a + bt) / (1 + ct + dt^2)$	a= 13.129 b= 16.224 c= -0.2162 d= -0.1494	a= 12.829 b= 12.6058 c= -0.1494	0.994	0.982	-1.23 $\times 10^{-4}$	1.55×10^{-4}	0.011969	0.024713	6.42×10^{-4}	0.0022615
7	Newton	$C_t = \exp(-at)$	a= 0	a= 0	-0.071	-1.6744	-0.04	-0.24	0.15492	0.30332	0.12	0.46
8	Page	$C_t = \exp(-at^b)$	a= 0 b= 0	a= 0 b= 0	-0.071	-1.6744	-0.04	-0.24	0.15492	0.30332	0.12	0.46
9	Logarithmic	$C_t = a \exp(-bt) + c$	a= 0.0001 b= 0.0001 c= 1.0398	a= 0.0094 b= 0 c= 1.2306	-1.108 9×10^{-6}	-3.193 $\times 10^{-11}$	-4.093 $\times 10^{-5}$	-2.037 $\times 10^{-8}$	0.14967	0.18547	0.1077	0.13871
10	Exponential	$C_t = a(b - \exp(-ct))$	a= 21.664 b=	a= 9.027 b= 1.1079	0.891	0.981	8.82×10^{-4}	-0.001475	0.049403	0.025464	0.012135	0.0027069

جدول (۷) مقایسه آماری ضرایب معادله گمپرتز در مدل سازی تغییرات اسیدیته

Table 7. Statistical comparison of the Gompertz model constants for Acidity

Constant	Control	Fortified	p-value
a	3.6298 (*a)	1.7321 (b)	0.002
b	-0.0403 (a)	-0.0824 (a)	0.087
c	43.8325 (a)	15.5455 (b)	0.001

Values with different letters in each row indicates a significant difference at the 0.05 level, while values with the same letters are not significantly different.

جدول (۸) نتایج آنالیز آماری حاصل از مدل سازی تغییرات پراکسید در نمونه پروتئین بارهای شاهد و غنی شده

Table 8. Results of the statistical analysis obtained from modelling the changes in Peroxide in control and fortified protein bar samples

Model No.	Name	Model equation	Constants		R ²		MBE		RMSE		χ^2	
			Control	Fortified	Control	Fortified	Control	Fortified	Control	Fortified	Control	Fortified
1	Linear	$C_t = a + bt$	a= 3.002 b= 0.0946	a= 0.55 b= 0.1637	0.774	0.904	8.882×10^{-17}	1.044×10^{-15}	0.50574	0.52887	0.28577	0.90395
2	Quadratic	$C_t = a + bt + Ct^2$	a= 3.5791 b= - 0.0703 c= 0.0059	a= 1.1471 b= - 0.0069 c= 0.0061	0.980	0.990	4.441×10^{-16}	4.441×10^{-17}	0.15037	0.17349	0.02853	0.0515
3	Weibull	$C_t = b/c (t-a)^{(b-1)} e^{-((t-a)/c)^b}$	a= 0 b= 0.9972 c= 0.3068	a= 0 b= 0.8809 c= 12.18	- 14.401	- 2.6614	- 3.632	- 2.6005	4.1759	3.2621	2.276×10^{40}	4341.6
4	Gompertz	$C_t = a \cdot \exp(-\exp(-b(c-x)))$	a= 142.80 b= - 0.034 c= ۶۷/۹۶۹۸	a= 24277.46 b= - 0.0074 c= ۳۱۷/۱۰۰۵	0.999	0.985	- 6.896 $\times 10^{-7}$	0.04856	0.03164	0.21242	1.40×10^{-3}	0.08226
5	Harris	$C_t = 1 / (a + bt^c)$	a= 0.231 b= 0.0002 c= 0	a= 0.3516 b= 0.0003 c= 0	- 1.5365 $\times 10^{-13}$	- 6.0757 $\times 10^{-11}$	- 7.09 $\times 10^{-10}$	- 1.376 $\times 10^{-7}$	1.0641	1.7048	1.3087	5.1132
6	Rational	$C_t = (a + bt) / (1 + ct + dt^2)$	a= 3.5074 b= 0 c= 0.0055 d= - 0.0008	a= 1.0577 b= 0.0363 c= - 0.0221 d= 0	0.998	0.994	- 4.68 $\times 10^{-4}$	2.7156×10^{-6}	0.05204	0.13709	3.80×10^{-3}	0.05145
7	Newton	$C_t = \exp(-at)$	a= 0	a= 0	- 9.7701	- 1.1674	- 3.326	- 1.842	3.4921	2.5098	60.973	31.497
8	Page	$C_t = \exp(-at^b)$	a= 0 b= 2.5	a= 0 b= 0	- 9.7701	- 1.1674	- 3.326	- 1.842	3.4921	2.5098	60.973	31.497
9	Logarithmic	$C_t = a \exp(-bt) + c$	a= 0.1774 b= 0 c= 4.1486	a= 0 b= 0 c= 2.842	- 6.4783 $\times 10^{-8}$	- 6.8002 $\times 10^{-10}$	- 2.999 $\times 10^{-8}$	- 4.445 $\times 10^{-5}$	1.0641	1.7048	1.3087	5.1133
10	Exponential	$C_t = a$	a=	a=	0.773	0.904	-	-	0.507	0.529	0.289	0.9140

	ntial	(b-exp(-ct))	380.24 21 b= 1.0079 c= 0.0003	1374.47 66 b= 1.0004 c= 0.0001			5.38×10 ⁻³	1.58×10 ⁻³	63		2
11	Logistic	$C_t = a / (1 + b \exp(-ct))$	a= 28048.953 b= 9356.501 c= 0.024	a= 15703.6982 b= 16658.8757 c= 0.0645	0.847	0.990	- 9.40×10 ⁻³	- 0.01375	0.416 48	0.171 33	0.20601 0.07805
12	Two-term	$C_t = a \exp(-bt) + c \exp(-dt)$	a= 2.1624 b= 0 c= 2.1624 d= 0	a= 1.421 b= 0 c= 1.421 d= 0	- 1.1453 ×10 ⁻⁶	- 9.6079 ×10 ⁻¹²	- 1.14×10 ⁻³	- 5.088×10 ⁻⁶	1.064 1	1.704 8	1.309 5.1132
13	Diffusion	$C_t = a \exp(-bt) + (1-c) \exp(-cdt)$	a= 3.3498 b= 0 c= 0.0238 d= 0	a= 1.8654 b= 0 c= 0.0234 d= 0	- 1.2261 ×10 ⁻¹²	- 4.6296 ×10 ⁻¹³	- 4.749×10 ⁻⁹	1.9326×10 ⁻⁸	1.064 1	1.704 8	1.3087 5.1132
14	Fourier	$C_t = a + b \cos(ct) + d \sin(ct)$	a=1.09 ×10 ⁶ b= - 1.09×10 ⁶ c= - 0.0001 d= 675.604	a= 3.78×10 ⁷ b= - 3.78×10 ⁷ c= 0 d= 384.362	0.980	0.990	- 1.62×10 ⁻¹⁰	- 9.934×10 ⁻⁹	0.150 37	0.173 49	0.02853 0.0515

جدول (9) مقایسه آماری ضرایب معادله گمپرتز در مدلسازی تغییرات پراکسید

Table 9. Statistical comparison of the Gompertz model constants for Peroxide

Constant	Control	Fortified	p-value
a	142.803 (^a b)	24277.458 (a)	0.0001
b	-0.034 (a)	-0.0074 (b)	0.02
c	67.9698 (b)	317.1005 (a)	0.0001

*Values with different letters in each row indicates a significant difference at the 0.05 level, while values with the same letters are not significantly different.

جدول (۱۰) نتایج آنالیز آماری حاصل از مدل سازی تغییرات ΔE در نمونه پروتئین بارهای شاهد و غنی شده

in control and fortified protein bar samples E Table 10. Results of the statistical analysis obtained from modelling the changes in

Model No.	Name	Model equation	Constants		R^2		MBE		RMSE		χ^2	
			Control	Fortified	Control	Fortified	Control	Fortified	Control	Fortified	Control	Fortified
1	Linear	$C_t = a + bt$	a= 0.137 b= 48.33	a= 0.0053 b= 7.756	0.590	0.002	8.527×10^{-15}	3.553×10^{-16}	1.13	1.3352	0.12421	1.2568
2	Quadratic	$C_t = a + bt + Ct^2$	a= 0.0096 b= -0.1328 c= 49.274	a= 0.0163 b= -0.4506 c= 8.6137	0.791	0.9998	2.842×10^{-15}	1.776×10^{-16}	0.80789	0.018578	0.06464	2.70×10^{-4}
3	Weibull	$C_t = b/c \frac{(t-a)^{(b-1)}}{e^{-((t-a)/c)^b}}$	a= 0 b= 0.7386 c= 4.59	a= 0 b= 0.9992 c= 0.1182	-	-19.885	-40.467	-5.372	45.27	6.1066	7.868×10^{-5}	3.42×10^{-103}
4	Gompertz	$C_t = a \cdot \exp(-\exp(-b(c-x)))$	a= 4406.4264 b= -0.0042 c= 475.5954	a= 8.7701 b= -2.0851 c= 23.0887	0.655	0.394	0.014238	1.599×10^{-15}	1.037	1.04	0.10449	0.81047
5	Harris	$C_t = 1 / (a + bt^c)$	a= 0.0199 b= 0 c= 0	a= 0 b= 0.1449 c= 0.0093	0	0.296	1.244×10^{-10}	-3.38×10^{-4}	1.7653	1.1214	0.31008	0.9377
6	Rational	$C_t = (a + bt) / (1 + ct + dt^2)$	a= 42.757 b= 0 c= -0.0013 d= -0.0002	a= 8.6146 b= 0 c= 0.0752 d= -0.0027	-4.743	0.994	-3.0532	0.0011062	4.2306	0.10415	2.0453	0.0092414
7	Newton	$C_t = \exp(-at)$	a= 0	a= 0	-778.3	-20.786	-49.248	-6.092	49.28	6.2368	12142	194.49
8	Page	$C_t = \exp(-at^b)$	a= 0 b= 0.6237	a= 0 b= 0.6238	-778.3	-20.786	-49.248	-6.092	49.28	6.2368	12142	194.49
9	Logarithmic	$C_t = a \exp(-bt) + c$	a= 0.3516 b= 0 c= 49.896	a= 1.885 b= 3.6022 c= 6.715	-	0.318	-	-	1.7653	1.1032	0.31008	0.90617
10	Exponential	$C_t = a(b - \exp(-bt))$	a= 1.76 b=	a= 3.7172	0.159	0.001	-1.3657	-0.00281	1.6188	1.3354	0.25895	1.2577

		ct))	28.75 c= - 8.3822	b= 2.8908 c= 0.0012		10^{-12}	5					
11	Logistic	$C_t = a / (1 + b \exp(-ct))$	a= 50.6 b= 0.036 c= - 8.7351	a= 7.092 b= 0 c= 2.649	0.159 - 8.9484 $\times 10^{-14}$	- 9.8055 $\times 10^{-14}$	- 1.0962 $\times 10^{-11}$	1.618 8	1.336 2	0.25895	1.2588	
12	Two-term	$C_t = a \exp(-bt)+c \exp(-dt)$	a= 24.867 b= 0 c= 25.381 d= 0	a= 3.546 b= 0 c= 3.546 d= 0	- 1.091 1 $\times 10^{-9}$	- 3.4173 $\times 10^{-12}$	- 2.6178 $\times 10^{-8}$	2.4369 $\times 10^{-6}$ 3	1.765 2	1.336 2	0.31008 1.2588	
13	Diffusion	$C_t = a \exp(-bt) + (1-c) \exp(-cdt)$	a= 49.249 8 b= 0 c= 0.0018 d= 0	a= 6.0967 b= 0 c= 0.0047 d= 0	- 9.422 4.3761 $\times 10^{-11}$ $\times 10^{-12}$	- 4.8511 $\times 10^{-8}$	- 3.551 $\times 10^{-8}$	1.765 3	1.336 2	0.31008	1.2588	
14	Fourier	$C_t = a+b \cos(ct) + d \sin(ct)$	a= 3.55 $\times 10^{-8}$ b= - 3.55 $\times 10^{-8}$ c= 0 d= 18023.749	a= 23.2261 b= - 14.6134 c= 0.0436 d= - 10.0634	0.791 0.9998	- 1.397 $\times 10^{-7}$	- 4.4409 $\times 10^{-15}$	0.807 89	0.016 685	0.06463 6	2.09 $\times 10^{-4}$	

جدول (۱۱) مقایسه آماری ضرایب معادله درجه دوم در مدلسازی تغییرات ΔE

Table 11. Statistical comparison of the Quadratic model constants for ΔE

Constant	Control	Fortified	p-value
a	0.0096 (*b)	0.0163 (a)	0.002
b	-0.1328 (a)	-0.4506 (b)	<0.001
c	49.2743 (a)	8.6137 (b)	<0.001

Values with different letters in each row indicates a significant difference at the 0.05 level, while values with the same letters are not significantly different.

Kinetic Modeling of Physicochemical Changes in Protein Bars Fortified with Spirulina and Phycocyanin during Storage

Parnian Pourghasemian¹, Amir Pourfarzad^{2,3*}, Aria Babakhani⁴

¹ Master's degree graduate, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

² Associate Professor, Department of Chemical Technologies, Iranian Research Organization for Science & Technology (IROST), Tehran, Iran.

³ Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

⁴ Associate Professor, Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeleh Sara, Guilan, Iran.

*Corresponding author' email: amir.pourfarzad@gmail.com

Abstract

Introduction: Nutrient bars have emerged as a practical and appealing solution for individuals with busy lifestyles, offering a convenient alternative to missed meals. With optimal formulation, these products can deliver a balanced composition of essential macro- and micronutrients—especially proteins and carbohydrates—necessary for maintaining normal body functions, thereby playing a significant role in improving the nutritional status of consumers. Among the diverse categories of nutritional bars, protein bars constitute a significant segment of the market. However, ensuring their physicochemical and oxidative stability during storage, particularly under ambient conditions, remains a key challenge for the food industry. Recent research has highlighted the potential of microalgae, such as *Spirulina*, to enhance the technological and nutritional properties of food products. *Spirulina* is rich in proteins, essential fatty acids, vitamins, minerals, and various antioxidants, and is widely used as a dietary supplement in diverse nutritional regimens. One of its most important bioactive compounds is phycocyanin, a natural blue protein pigment with potent antioxidant properties. Owing to the nutritional and functional advantages of these compounds, their incorporation into food products has attracted growing interest as a means to enhance both nutritional value and product quality. The present study aims to investigate and model the kinetics of physicochemical and oxidative changes in protein bars enriched with *Spirulina* and phycocyanin over a 28-day storage period. The parameters examined include moisture content, water activity, titratable acidity, peroxide value, and total color difference (ΔE). Kinetic modeling of physicochemical changes in food systems is a crucial tool for understanding, predicting, and controlling quality behavior during storage. It plays a vital role in shelf life determination, packaging design, optimization of storage conditions, and the overall assessment of product stability.

Materials and methods: The protein bars in this study were prepared using a cold processing method at room temperature. The optimized formulation included whey protein, brown rice flour, sunflower oil, food-grade glycerol, and distilled water. In the initial step, the powdered ingredients were dry-mixed for 3 minutes at 200 rpm to ensure uniform distribution. Subsequently, the liquid components were gradually added to the dry mixture and homogenized for 5 minutes at 50 rpm to minimize air incorporation. The final mixture was molded into silicone molds. The prepared protein bars were stored in sealed polyethylene terephthalate containers at 25 °C for 28 days. The levels of spirulina powder and phycocyanin powder used in the formulation were selected based on the relevant table. Moisture content, water activity (aw), acidity, peroxide value, and image analysis were performed to calculate ΔE in both control and enriched samples. Data analysis, modeling, and graphical representation of changes in physicochemical and color characteristics of the protein bars were carried out using MATLAB (version 24). For kinetic modeling, fourteen mathematical models were evaluated for their fit to the experimental

data, including Linear, Quadratic, Weibull, Gompertz, Harris, Rational, Newton, Page, Logarithmic, Exponential, Logistic, Two-term, Diffusion, and Fourier models. Model selection was based on statistical criteria such as the coefficient of determination (R^2), chi-square (χ^2), mean bias error (MBE), and root mean square error (RMSE). Additionally, independent two-sample t-tests were performed at a significance level of 0.05 to assess statistical differences between the kinetic model constants of the control and enriched samples.

Results and discussion: Moisture content in both control and enriched protein bars showed a decreasing trend during the 0–28 day storage period. The reduction was more pronounced in the enriched sample, which may be attributed to the influence of spirulina and phycocyanin on the product's structure. The optimal model should have the highest R^2 value and the lowest RMSE, χ^2 , and MBE values to accurately describe the observed changes. Model analysis indicated that the Diffusion model provided the best fit for the moisture data. Examination of the model parameters revealed that in the enriched sample, changes occurred at a faster rate, and the decrease in C_t was more intense. Higher values of b , c , and d in this sample indicated that the kinetics of change were accelerated compared to the control, reaching equilibrium earlier. Water activity in both control and enriched protein bars increased over the storage period, with the rate of increase being lower in the enriched sample. This effect can be attributed to the emulsifying and water-binding properties of spirulina and phycocyanin. Based on the defined criteria, the Rational model was identified as the most suitable for describing the kinetic changes. According to this model, the control sample experienced a more pronounced increase in water activity at the early stages of storage; however, over time, the rate of increase was more gradual compared to the enriched sample. Titratable acidity increased in both control and enriched protein bars over the 28-day storage period, with a greater increase observed in the enriched sample. Among the models tested, the Gompertz model was selected as the best fit. According to the model constants, major changes in acidity occurred earlier in the enriched sample; however, final acidity values in this sample were lower than in the control. Peroxide value increased over the storage period in both control and enriched protein bars. Nevertheless, the extent of increase was lower in the enriched samples. The Gompertz model provided the best fit for describing peroxide value changes. Parameter comparisons indicated that although the overall peroxide value in the enriched sample was higher, the oxidation process occurred at a slower rate. The total color difference (ΔE) in the control protein bar showed an increasing trend during storage (0–28 days), whereas in the enriched sample, ΔE decreased until day 14, indicating initial color stability, and then increased by day 28. This later increase may be associated with secondary reactions occurring in the product, leading to more pronounced color changes.

Conclusions: The results of this study demonstrated that the quality parameters of protein bars enriched with spirulina and phycocyanin underwent significant changes during the 28-day storage period. Kinetic modeling of these changes revealed that the Diffusion model best fit the moisture, the Rational model was most suitable for water activity, the Gompertz model provided the best fit for acidity and peroxide value, and the Quadratic model best described the changes in ΔE . The presence of bioactive compounds such as spirulina and phycocyanin contributed to enhanced stability in certain attributes and played a significant role in delaying lipid oxidation and controlling color changes. Overall, these findings may serve as a foundation for the design and production of protein bars with improved shelf stability. Future studies could investigate how temperature, packaging, and sensory attributes affect the stability and kinetic changes of protein bars during storage.

Keywords: Kinetic Modelling, Microalgae, Oxidation, Shelf Life