



## مدل سازی پیشگویانه برای تعیین مدت زمان ماندگاری اسنک های غنی شده با درازه حاوی

### اسپیروولینا پلاتنسیس

مریم بیات ترک<sup>۱</sup>، محسن وظیفه دوست<sup>۱\*</sup>، محمدعلی حصارى نژاد<sup>۲</sup>، زهره دیدار<sup>۱</sup>، مسعود شفافی زنونزبان<sup>۳</sup>

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران.

۲- گروه فراوری مواد غذایی، موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران.

۳- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

#### چکیده

#### اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۰۱

کلمات کلیدی:

اسنک،

اسپیروولینا پلاتنسیس،

مدت زمان ماندگاری،

مدل سازی پیش گویانه،

آنالیز خطر ویبول.

DOI: 10.52547/fsct.18.121.18

DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.121.19.3

\* مسئول مکاتبات:

m.vazifedoost@iau-neyshabur.ac.ir

مبنای مدل سازی زمان ماندگاری اسنک های غنی شده با اسپیروولینا پلاتنسیس، دمای نگهداری است. اسنک ها بعد از تولید در بسته های پلی پروپیلن بسته بندی شدند و در دو دمای ۲۵ (دمای اتاق) و ۵ (یخچال) درجه سانتی گراد برای یک دوره مشخص ۱۸۰ روزه نگهداری شدند. مطالعات مدت زمان ماندگاری توسط ارزیاب های نیمه آموزش دیده و مصرف کنندگان انجام شد. در این مدت آزمون های میکروبی (شمارش کلی باکتری ها، کپک، مخمر و کلی فرم)، محتوای رطوبتی، سختی و تردی بافت مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز خطر ویبول برای تخمین مدت زمان ماندگاری اسنک های غنی شده با پودر اسپیروولینا پلاتنسیس بر اساس ارزیابی ویژگی های حسی استفاده شد. با در نظر گرفتن ۲۵ و ۵۰ درصد احتمال عدم پذیرش، مدت زمان ماندگاری در دمای ۵ درجه سانتی گراد برای نمونه های غنی شده و شاهد به ترتیب ۹۸، ۶۷ و ۱۵۸ روز و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به ترتیب ۱۸۹، ۱۲۵ و ۳۲۱ روز تخمین زده شدند. همچنین معادله مدت زمان ماندگاری با احتمال عدم پذیرش توسط مصرف کنندگان ارائه گردید. در نهایت نمونه اسنک های غنی شده و شاهد مورد ارزیابی میکروبی قرار گرفتند. نتایج آن نشان داد که نمونه های اسنک غنی شده و شاهد برای مصرف در یک دوره ۳۶۰ روزه از نظر میکروبیولوژیکی کاملاً بی خطر هستند.

## ۱- مقدمه

مدت زمان ماندگاری به دوره ای گفته می‌شود که می‌توان در طول این دوره ماده غذایی را بدون هیچ گونه خطری مصرف کرد. یک تولیدکننده سعی می‌کند محصولی که تولید می‌کند مطابق با هزینه ها، سختی کار، تعداد توزیع‌کنندگان، خرده فروشان و مصرف‌کنندگان مدت زمان ماندگاری بالاتری داشته باشد. قابلیت پذیرش محصول توسط مصرف‌کننده یک پارامتر مهم و بحرانی برای تخمین عمر مفید محصول است [۱] عمر مفید نامطلوب ممکن است سبب عدم رضایت مصرف‌کننده و یا حتی شکایت وی از محصول تولیدی گردد، که درنهایت نه تنها بر میزان پذیرش و فروش محصول اثرگذار است بلکه به برند تجاری شرکت تولیدکننده هم آسیب می‌زند و علاوه بر این می‌تواند منجر به سوء تغذیه، مسمومیت و یا مشکلات شدید سلامتی مصرف‌کننده شود [۲]. به همین دلیل تولیدکننده ها باید توجه زیادی به عمر مفید یا مدت زمان ماندگاری محصول تولیدی شان داشته باشند. اسنک‌های تولید شده هم به صورت غنی شده با ریز جلبک و هم بدون آن از دسته مواد غذایی با رطوبت پایین هستند بنابراین به طور کلی به لحاظ میکروبیولوژیکی از دسته محصولات پایدار محسوب می‌شوند، بنابراین ماندگاری اسنک‌ها با توجه به تغییرات ایجاد شده در خصوصیات شیمیایی و تردی بافت و ارزیابی حسی مشخص شد. تغییرات بافتی و رطوبتی رخ داده در محصول در برخی موارد به راحتی توسط مصرف‌کنندگان قابل تشخیص نیست. از طرف دیگر، ویژگی‌های حسی اسنک‌ها می‌تواند به راحتی توسط ارزیاب‌ها شناسایی و آنالیز شود. در چنین محصولاتی این مصرف‌کننده است که درنهایت تصمیم می‌گیرد که آیا یک محصول غذایی را پس از دوره نگهداری مشخص مصرف کند یا خیر [۳].

در نتیجه بررسی رفتار مصرف‌کنندگان مناسب ترین ابزار برای تعیین مدت زمان ماندگاری اسنک‌ها می‌باشد و از آنجایی که قشر زیادی از آن‌ها را کودکان تشکیل می‌دهند بنابراین والدین آن‌ها درنهایت تصمیم می‌گیرند که محصول تولیدی را برای

کودکشان بخورند یا خیر [۴]. روش‌های زیادی برای تعیین مدت زمان ماندگاری وجود دارد یکی از این روش‌ها بر اساس ارزیابی حسی زمان مورد نیاز برای کم شدن امتیازات کلی پذیرش محصول به پایین تر از مقدار از پیش مشخص شده می‌باشد. با این وجود به این معنی نیست که در آن زمان مصرف‌کنندگان کاملاً از مصرف آن ماده غذایی سرباز زنند [۳]. تجزیه و تحلیل بقا شاخه‌ای از آمار است که به طور وسیعی در مطالعات بالینی، اپیدمیولوژی، زیست‌شناسی، جامعه‌شناسی و مطالعات قابلیت اطمینان مورد استفاده قرار می‌گیرد [۶-۳]. Hough et al, 2003 این روش را برای تخمین مدت زمان ماندگاری مواد غذایی معرفی کردند، آنالیز بقا بر روی خطر مصرف محصول برای مصرف‌کننده متمرکز می‌شود نه بر روی فساد محصول. به نظر می‌رسد ارزیاب مصرف‌کننده (آموزش ندیده) برای تعیین ماندگاری و کیفیت محصول غذایی مناسب ترین ابزار باشد ولی ارزیاب‌های آموزش دیده برای تکرار آزمایش مناسب تر هستند، با این حال نتایج ارزیاب مصرف‌کننده بیشتر تحلیل شخصی خواهد بود و برداشت درستی را منعکس نمی‌کند بنابراین از طریق ایجاد همبستگی بین داده‌های ارزیاب‌های مصرف‌کننده با ارزیاب‌های نیمه آموزش دیده می‌توان برآورد مناسبی از ماندگاری محصول غذایی به دست آورد [۳]. مطابق تعریف Hough et al, 2003 اطلاعات مصرف‌کنندگان تعریف شد، اگر مصرف‌کننده بعد از ۳۰ روز انبار مانی نمونه را رد کرد زمان عدم پذیرش کم‌تر از ۳۰ روز است و این مصرف‌کننده به تغییرات محصول در طی انبار مانی بسیار حساس است و محصول را از ۰ تا ۳۰ روز رد می‌کند که به آن سانسور چپ می‌گویند. اگر مصرف‌کننده نمونه‌های انبار شده در زمان‌های ۳۰ و ۶۰ روز را قبول کند، اما نمونه نگهداری شده در روز ۹۰ را رد کند، زمان عدم پذیرش بین ۶۰ و ۹۰ روز است نمونه‌های بین این دو دوره به مصرف‌کننده داده نشد (۷۰ و ۸۰) بنابراین آنچه دانستیم این است که مصرف‌کننده کالای نگهداری شده بین ۶۰ تا ۹۰ روز را رد کرده است و به آن سانسور فاصله می‌گویند. اگر مصرف‌کننده همه نمونه‌ها را قبول کند زمان عدم پذیرش بیش از ۱۸۰ روز است یعنی فرض شد اگر یک نمونه به مدت

[۷] میزان تردی بافت اسنک ها با بافت سنج TA ساخت انگلستان با پروب استوانه‌ای با قطر ۲ میلی‌متر، مسیر پیمایش ۵ میلی‌متر و سرعت پروب ۱ میلی‌متر بر ثانیه بیان گردید.

## ۳-۲- درجه حرارت نگهداری و زمان

### نمونه گیری

اسنک های غنی شده با اسپیرولینا و اسنک های بدون اسپیرولینا بعد از تولید در بسته های پلی پروپیلن که از کارخانه پارس فیروزه خراسان تأمین شد، بسته بندی شدند. نمونه های بسته بندی شده در دمای ۵ و ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند نمونه گیری منظم با فاصله ۳۰ روز برای ارزیابی حسی به مدت ۱۸۰ روز و برای آنالیز میکروبی برای ۳۶۰ روز انجام شد.

### ۴-۲- ارزیابی حسی

اسنک های تولید شده با استفاده از مقیاس هدونیک ۹ نقطه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفتند. ارزیابی حسی توسط یک گروه متشکل از ۱۰ ارزیاب نیمه آموزش دیده (۵ مرد، ۵ زن بین ۲۵ تا ۳۰ سال) انجام شد. نمونه اسنک ها در بشقاب های پلاستیکی بدون بو سرو شد. از آب برای شستشوی دهان بین نمونه ها استفاده گردید. تمام ارزیابی ها در ۳ تکرار انجام شد. ارزیابی حسی در ۲۵ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۱۴ درصد انجام شد.

### ۵-۲- مطالعات ارزیاب های مصرف کننده

۵۰ مادر بین ۲۵ تا ۴۵ سال انتخاب شدند. آزمایش در شش جلسه انجام شد، مصرف کنندگان برای هر نمونه به رنگ، طعم، بو، بافت و پذیرش کلی با استفاده از مقیاس هدونیک ۹ نقطه‌ای امتیاز دادند. (۹=بسیار دوست دارم، ۱= بسیار بدم می آید) و همچنین یک سؤال در انتهای پرسش نامه پرسیده شد با این عنوان که: آیا شما این محصول را برای کودک خود تهیه می کنید؟ که با جواب بله یا خیر باید پاسخ داده می شد. ۲۰۰ نمونه (دو نمونه شاهد و غنی شده در دو دمای ۲۵ و ۵ درجه برای ۵۰ ارزیاب آموزش ندیده) مورد تجزیه و تحلیل ارزیاب ها قرار گرفت (در پایان هر سی روز).

طولانی انبار شود در نهایت مصرف کننده آن را رد می‌کند و به آن سانسور راست می‌گویند و اگر کسی نمونه تازه را رد کرد از دور مطالعه خارج خواهد شد.

اسنک های مورد مطالعه در این پژوهش به دو صورت غنی شده با ریز جلبک اسپیرولینا با فرمولاسیون مشخص در درازة اسنک و نمونه بدون اسپیرولینا تولید شدند و در دمای ۵ و ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند و توسط ارزیاب های مصرف کننده و نیمه آموزش دیده تحت ارزیابی حسی قرار گرفتند، آنالیز میکروبیولوژیکی جهت اطمینان از امنیت میکروبی اسنک ها برای ارزیاب ها در طول مدت انبار مانی صورت گرفت.

## ۲- مواد و روش ها

### ۱-۲- آماده سازی نمونه

پودر جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس از شرکت فرآورده‌های زیستی سلامت بخش نوین بوشهر تهیه شد. پودر آب پنیر ترش از شرکت فرآورده‌های لبنی آسمان نیشابور تهیه گردید و از روغن آفتابگردان غنچه کشت و صنعت شمال و نمک طعام شرکت صنایع غذایی گل ها جهت تهیه فرمولاسیون پوشش اسنک ها استفاده شد. اسنک اولیه و بدون پوشش با فرمولاسیون مشخص در کارخانه پارس فیروزه خراسان شهر نیشابور تولید شد.

### ۲-۲- درازة زنی

اسنک های تولید شده در دیگ مخصوص درازة زنی ریخته شد و با فرمولاسیون شامل پودر ریز جلبک ۰/۴، پودر آب پنیر ترش ۳/۶، روغن ۶ و نمک صفر درصد، با فشار هوا و چرخش دیگ درازة به‌طور کاملاً یکنواخت پوشش داده شدند، درازة تهیه شده قبل از استفاده کاملاً هموزن گردید و اسنک‌ها به میزان ۲۵ درصد وزنی پوشش داده شدند و نمونه شاهد هم بدون پودر ریز جلبک پوشش داده شد و بعد از درازة زنی در بسته های ۱۰ گرمی از جنس پلی پروپیلن و در دمای ۲۵ و ۵ درجه سانتی گراد تا پایان دوره ۱۸۰ روزه نگهداری شدند. محتوای رطوبتی مطابق روش AOAC,2000 اندازه‌گیری شد.

## ۲-۶- آنالیز میکروبی

نمونه های ذخیره شده در ۵ و ۲۵ درجه سانتی گراد برای شمارش کلی، کپک و مخمر و شمارش کلی فرم مورد ارزیابی قرار گرفتند و از محیط کشت های پلیت کانت آگار<sup>۱</sup> (PCA)، آگار دکستروز پتیتو<sup>۲</sup> (PDA) و ویولت رد بایل آگار<sup>۳</sup> (VRBA) استفاده شد و حضور یا عدم حضور سالمونلا و استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی قرار گرفت.

## ۲-۷- آنالیز آماری

اثر درجه حرارت نگهداری بر اسنک های غنی شده و شاهد به صورت طرح کاملاً تصادفی مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور، آزمایش ها در ۳ تکرار انجام شده و آنالیز آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۵ انجام شد. پس از آنالیز واریانس نتایج، میانگین داده ها با آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح معنی داری ۹۵ درصد مقایسه شدند.

## ۲-۸- مدت زمان ماندگاری

تجزیه و تحلیل رگرسیون بین مقدار لگاریتم طبیعی<sup>۴</sup> مدت انبار مانی<sup>۵</sup> (SP) و مقدار لگاریتم طبیعی رتبه متوسط<sup>۶</sup> (MR) جهت تخمین عمر ماندگاری محاسبه شد. (MR) با استفاده از معادله تقریبی بنارد<sup>۷</sup> به دست آمد [۸ و ۱].

$$MR = \frac{R-0.3}{n-0.4} \quad (1)$$

R رتبه ای که مطابق عدم پذیرش مصرف کننده به دوره انبار مانی داده می شود.

N تعداد کل رتبه ها

کم ترین رتبه به دوره انبار مانی داده شد که مقادیر از پیش تعیین شده برای پذیرش کلی محصول در دماهای ۵ و ۲۵ درجه سانتی گراد به دست آمد و بالاترین رتبه دوره انبار مانی به بالاترین میزان پذیرش کلی تعلق گرفت.

## ۲-۹- آنالیز بقا

از آنالیز بقا برای نمونه اسنک هایی استفاده شد که در پرسش نامه از ارزیابی ها پرسیده شده بود که آیا این محصول را برای فرزند خود تهیه می کنید یا خیر [۱ و ۴]. تابع آماری وایبول<sup>۸</sup>، لگاریتم نرمال<sup>۹</sup>، گاما<sup>۱۰</sup> و نمایی<sup>۱۱</sup> برای داده های به دست آمده از آزمون مصرف کننده برازش شد. به دلیل وجود داده های سانسور شده متغیر تصادفی پارامتر t در معادله .. و ... هرگز به صورت دقیق مشخص نشد بنابراین برای بیان آن از F(t) استفاده شد t به صورت مدت زمان نگهداری که در آن مصرف کننده محصول را رد می کند تعریف می شود. تابع توزیع تجمعی F(t) را می توان به عنوان احتمال رد محصول توسط مصرف کننده قبل از t تعریف کرد که هست  $F(t)=p(t_r < t)$ ، با انتخاب توزیع وایبول برای t معادله عملکرد عدم پذیرش به صورت زیر بیان می شود:

$$F(t) = 1 - e^{-\alpha t^\beta} \quad (2)$$

پارامتر شکل تابع وایبول با  $\alpha$  نشان می دهد که آیا میزان عدم پذیرش در حال افزایش است یا کاهش و یا ثابت باقی مانده است. پارامتر مقیاس وایبول با  $\beta$  نشان می دهد که مقیاس اندازه گیری یا گسترش در توزیع داده ها وجود دارد. مدت زمان ماندگاری اسنک ها با در نظر گرفتن احتمال ۲۵ و ۵۰ درصد عدم پذیرش در مصرف کننده به دست آمد [3].

## ۳- نتایج و بحث

## ۳-۱- آنالیز میکروبی نمونه اسنک های تولید شده

شده

تمامی اسنک هایی که در دمای ۵ و ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شده بودند مورد آنالیز میکروبی قرار گرفتند. جدول ۱ آنالیز میکروبی اسنک ها را در طی دوره ۱۸۰ روزه نشان می دهد، می توان دید که نمونه حاوی اسپیرولینا هم در دمای ۵ و هم ۲۵ درجه از نظر شمارش کلی، کپک و مخمر و کلی فرم ها کاملاً ایمن بوده و هیچ گونه آلودگی میکروبی را نشان نداد، اما نمونه

1. Plate count agar
2. Potato dextrose agar
3. Violet red bile agar
4. Natural log
5. Storage period (SP)
6. Median rank (MR)
7. Benard

8. Weibull
9. Log normal
10. gama
11. Exponential

بود از حضور و رشد باکتری ها جلوگیری کند ولی در آزمون تشخیص کلی فرم هیچ گونه‌ای مثل سالمونلا و استافیلوکوکوس اورئوس در هیچ کدام از نمونه ها مشاهده نگردید، بنابراین تمام نمونه ها برای آزمون پانل مناسب تشخیص داده شدند.

بدون اسپیرولینا در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد پس از گذشت ۱۲۰ روز در آزمون PCA باکتری تشخیص داده شد و به‌طور معنی داری ( $p < 0.05$ ) با نمونه حاوی اسپیرولینا اختلاف پیدا کرد و در روزهای ۱۵۰ و ۱۸۰ هم این میزان رو به افزایش رفت، اسپیرولینا به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی توانسته

**Table 1** Microbial analysis of control (C) and enriched (E) snacks to test the shelf life

Storage period (Day)	(log CFU/g of sample) (PCA)			
	5°C		25°C	
	C	E	C	E
0	ND	ND	ND	ND
30	ND	ND	ND	ND
60	ND	ND	ND	ND
90	ND	ND	ND	ND
120	ND	ND	2.14±0.04 <sup>aA</sup>	ND
150	ND	ND	2.3±0.03 <sup>aA</sup>	ND
180	ND	ND	2.5±0.29 <sup>aA</sup>	ND
	(log CFU/g of sample) Yeasts and Moulds			
0	ND	ND	ND	ND
30	ND	ND	ND	ND
60	ND	ND	ND	ND
90	ND	ND	ND	ND
120	ND	ND	ND	ND
150	ND	ND	ND	ND
180	ND	ND	ND	ND

ND= Not Detected

Values are presented as mean ± standard deviation (n=3)

CFU colony forming unit

Values with different small superscripts in a column differ significantly at  $p < 0.05$  for each test

Values with different capital superscripts in a row differ significantly at  $p < 0.05$  for each test

بسته بندی بستگی دارد. با این وجود میزان رطوبت قابل قبول به نوع محصول مورد نظر بستگی دارد [۱]. در محصولات غذایی خشک مانند اسنک ها باید رطوبت پایین باشد در غیر این صورت سختی بافت افزایش پیدا کرده و از میزان تردی کاسته می شود. اگر این خصوصیات تغییر کند بر میزان پذیرش کلی از طرف مصرف کننده اثر می گذارد. میزان رطوبت اولیه برای نمونه شاهد  $4.38 \pm 0.03$  درصد و برای نمونه غنی شده  $3.78 \pm 0.19$  درصد بوده است. جدول ۲ تغییرات در میزان رطوبت در دمای ۵ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد در طول دوره ۱۸۰ روزه را نشان می دهد.

### ۲-۳- مطالعات مقدماتی

امتیاز پذیرش کلی محصول که به طور قابل توجهی با دوره نگهداری تغییر می کرد، ارتباط داشت. بنابراین از رتبه و نمرات پذیرش کلی محصول به عنوان شاخص فساد محصول که منجر به عدم پذیرش آن توسط مصرف کننده شد، استفاده گردید [۱].

### ۳-۳- تغییر در میزان رطوبت و سختی بافت

میزان رطوبت و سختی بافت محصول پارامتر مهمی در تعیین مدت زمان ماندگاری اسنک ها با در نظر گرفتن خواص فیزیکی و میکروبی محسوب می شود، میزان رطوبت هر ماده غذایی به طور کلی به شرایط نگهداری آن مانند دما و پارامترهای

**Table 2** Evaluation of changes in moisture content during 180-day storage at 5°C and 25°C for control (C) and enriched (E) samples

Storage period (Days)	5°C		25°C	
	C	E	C	E
0	4.38±0.03 <sup>aA</sup>	3.78±0.18 <sup>aA</sup>	4.38±0.03 <sup>aA</sup>	3.78±0.18 <sup>aA</sup>
30	4.38±0.04 <sup>aA</sup>	3.79±0.18 <sup>aA</sup>	4.38±0.04 <sup>aA</sup>	3.78±0.21 <sup>aA</sup>
60	4.42±0.04 <sup>aA</sup>	3.82±0.08 <sup>aA</sup>	4.49±0.24 <sup>aA</sup>	3.80±0.42 <sup>aA</sup>
90	4.69±0.21 <sup>aA</sup>	3.84±0.47 <sup>aB</sup>	4.56±0.36 <sup>aC</sup>	3.80±0.08 <sup>aD</sup>
120	4.84±1.10 <sup>bA</sup>	3.88±1.08 <sup>aB</sup>	4.73±0.08 <sup>aC</sup>	3.84±0.03 <sup>aD</sup>
150	5.68±0.03 <sup>cA</sup>	3.90±1.95 <sup>aB</sup>	5.2±0.12 <sup>bC</sup>	3.86±0.10 <sup>aD</sup>
180	5.89±0.12 <sup>dA</sup>	4.62±0.10 <sup>bB</sup>	5.60±0.69 <sup>bC</sup>	3.88±0.46 <sup>aD</sup>

Values with different small superscripts in a column differ significantly at  $p < 0.05$  for each test

Values with different capital superscripts in a row differ significantly at  $p < 0.05$  for each test

در دمای یخچال دچار افزایش میزان سختی شده به طوری که بعد از گذشت ۳ ماه کاملاً بافت ترد اسنک از بین رفت ولی در دمای اتاق توانست میزان تردی خود را بهتر حفظ کند و میزان جذب رطوبت آن کمتر بود. نمونه غنی شده در دمای اتاق به خوبی توانست تا پایان ۱۸۰ روز بافت ترد خود را حفظ کند و اختلاف معنی داری در میزان سختی آن تا پایان دوره مشاهده نشد که نتایج به دست آمده با نتایج Lucas and et al, 2017 که از اسپیرولینا در فرمول خمیر اکسترودر استفاده کرده بودند مطابقت داشت در این پژوهش هم بعد از گذشت ۱۲ ماه میزان سختی تغییر قابل ملاحظه ای پیدا نکرده بود.

همان طور که مشاهده می شود نگهداری در یخچال باعث می شد که اسنک ها رطوبت بیشتری در طول دوره نگهداری به خود جذب کنند و سبب کاهش میزان تردی و افزایش میزان سختی بافت آن ها شد. جدول ۳ تغییرات در میزان سختی بافت را در دمای ۵ و ۲۵ درجه سانتی گراد در طول دوره نگهداری ۱۸۰ روزه نشان می دهد. در دمای ۲۵ درجه نمونه غنی شده با افزایش مدت زمان ماندگاری تفاوت معنی داری در میزان سختی نشان نداد و بافت اسنک همچنان تردی خود را حفظ کرد ولی در دمای ۵ درجه سانتی گراد میزان سختی به میزان  $4.62 \pm 0.10$  افزایش یافت که علت آن هم افزایش میزان رطوبت در محیط یخچالی بود. نمونه شاهد

**Table 3-** Evaluation of changes in hardness during 180-day storage at 5°C and 25°C for control (C) and enriched (E) samples

Storage period (Days)	5°C		25 °C	
	C	E	C	E
0	196.710±0.945 <sup>aA</sup>	134.152±0.98 <sup>aB</sup>	196.710±0.945 <sup>aA</sup>	134.152±0.98 <sup>aB</sup>
30	198.7±0.52 <sup>aA</sup>	135.21±0.45 <sup>aB</sup>	197.15±0.93 <sup>aA</sup>	134.219±0.58 <sup>aB</sup>
60	210.18±0.58 <sup>bA</sup>	138.12±0.21 <sup>aB</sup>	197.82±0.84 <sup>aA</sup>	134.289±0.58 <sup>aB</sup>
90	230.21±0.34 <sup>cA</sup>	149.52±0.51 <sup>bB</sup>	198.25±0.13 <sup>aC</sup>	134.289±0.29 <sup>aD</sup>
120	245.71±0.19 <sup>dA</sup>	162.21±0.13 <sup>bB</sup>	200.18±0.15 <sup>bC</sup>	134.59±0.53 <sup>aD</sup>
150	253.13±0.14 <sup>eA</sup>	178.13±0.58 <sup>cB</sup>	209.86±0.51 <sup>bC</sup>	134.89±0.48 <sup>aD</sup>
180	260.12±0.5 <sup>fA</sup>	184.2±0.61 <sup>cB</sup>	219.91±0.32 <sup>bC</sup>	135.01±0.23 <sup>aD</sup>

Values with different small superscripts in a column differ significantly at  $p < 0.05$  for each test

Values with different capital superscripts in a row differ significantly at  $p < 0.05$  for each test

مدت زمان ماندگاری در نمونه شاهد و پس از آن نمونه غنی شده کاهش پیدا کرد. Hough et al, 2002 پیشنهاد دادند که با اولین تغییر منفی معنی دار در نتایج پذیرش کلی مصرف کنندگان عمر ماندگاری تعیین شود. نمونه های غنی شده و شاهد که در دمای یخچال نگهداری شده بودند به ترتیب بعد از گذشت ۹۰ و

### ۳-۴- بررسی نتایج پذیرش کلی مصرف کنندگان با تکنیک آنالیز بقا

آنالیز واریانس داده ها حاکی از اختلاف معنی دار در بین داده ها بود و نشان داد که امتیاز پذیرش کلی به طور معنی داری با افزایش

سازی مدت ماندگاری با توزیع ویبول در محصولات مختلف مثل ماست [۶ و ۱۰]، قهوه بو داده [۱۱]، نان سفید [۱۲]، غذای کودک بر پایه سیب [۳]، غذای کودک تخمیری بر پایه غلات [۱] و کاهو [۵ و ۱۳] انجام شده است. روش آنالیز بقا از داده های واقعی از مصرف کننده نهایی محصول به دست آمد که با توجه به پذیرش یا رد محصول توسط مصرف کننده در شرایط مختلف دمایی دوره نگهداری محصول، برای تخمین مدت زمان ماندگاری استفاده شد.

آزمون مناسبی برای ارزیابی مدل های مختلف وجود ندارد متداول ترین راه برای انتخاب مدل مناسب ارزیابی بصری چگونگی برازش مدل های پارامتری و غیر پارامتری است [۶]. برای ارزیابی کیفیت غذاها محققان از آزمایش های میکروبیولوژیکی و روش های تجزیه و تحلیل شیمیایی و فیزیکی استفاده می کنند که در نهایت باید با داده های ارگانولپتیک در ارتباط باشد تا قابلیت اطمینان آن ها به عنوان شاخص کیفیت ثابت شود. در گذشته اختلاف شدید در میزان فساد نمونه ها و ارزیابی حسی منطقی ترین و ساده ترین راه ارزیابی ماندگاری بود از طرفی به دلیل حساسیت متغیرهای بو و طعم به تعداد زیادی ارزیاب برای آنالیز آماری احتیاج بود. امروزه فرض بر این است که پارامترهای توزیع مدت ماندگاری با استفاده از اطلاعات آزمایشی آزمون ماندگاری برآورد می شود پس از پیش بینی پارامترها می توان از آن برای پیش بینی احتمال فساد در آینده استفاده کرد فرض دیگر این است که مشاهدات از نظر آماری مستقل هستند. در انتخاب تابع توزیع باید منطق آماری منطق بیولوژیکی را در نظر گرفت. به نظر رسید که تابع ویبول برای سیستم غذایی مناسب ترین مدل است و مدلی است که امکان استفاده از نمونه کوچک را هم فراهم می کند.

در مطالعه حاضر مدل ویبول، لگاریتم طبیعی، نمایی و توزیع گاما برای برازش اطلاعات اسنک ها مناسب دیده شدند. توزیع ویبول بهترین مدل را برای برازش داده های اسنک ارائه کرد و مدل مناسبی برای تعیین مدت زمان ماندگاری اسنک ها بود. پارامترهای  $\alpha$  و  $\beta$  در توزیع ویبول جهت تخمین مدت زمان ماندگاری استفاده شدند [۱۰، ۱، ۱۴، ۳].

۶۰ روز توسط مصرف کنندگان از نظر پذیرش کلی رد شدند و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نمونه غنی شده تا پایان دوره ۱۸۰ روزه همچنان توجه ارزیاب ها را جلب کرد و توانست امتیاز پذیرش کلی خوبی دریافت کند ولی نمونه شاهد بعد از گذشت ۱۲۰ روز توسط ارزیاب ها رد شد. نتایج به دست آمده از داده های ارزیابی حسی، داده های حاصل از رطوبت و سختی بافت را تأیید کرد و درست در دوره زمانی که رطوبت نمونه ها افزایش پیدا کرد و سختی بافت زیاد شد و از تردی آن کاسته شد، نمونه ها به لحاظ پذیرش کلی توسط ارزیاب ها رد شدند. به همین دلیل مدت زمان ماندگاری برای نمونه شاهد در دمای ۵ درجه سانتی گراد ۳۰ روز و برای نمونه غنی شده در دمای ۵ درجه سانتی گراد ۶۰ روز و مدت ماندگاری برای نمونه شاهد در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد ۹۰ روز و برای نمونه غنی شده در همین دما ۱۸۰ روز تخمین زده شد. مسلماً مصرف نمونه غنی شده بعد از این مدت زمان در دمای ۲۵ درجه هم همچنان مورد قبول مصرف کنندگان واقع خواهد شد، نتایج به دست آمده با نتایج لوکاس و همکاران ۲۰۱۸ که از میزان رطوبت و سختی برای تعیین مدت زمان ماندگاری اسنک های حاوی اسپیرولینا طی ۱۲ ماه استفاده کرده بودند مطابقت داشت.

ماندگاری یک ماده غذایی تنها به خصوصیات فیزیکی و شیمیایی محصول محدود نمی شود بلکه بستگی به تعامل مصرف کننده با محصول در گذر زمان دارد [۳]. تکنیک تجزیه و تحلیل بقا بر اساس خطراتی که ممکن است سلامت مصرف کننده را در طی مدت ماندگاری تهدید کند و بر اساس پذیرش یا عدم پذیرش محصول عمل می کند، نه بر اساس مدت زمانی که محصول می تواند فاسد شود. توزیع ویبول برای مدل سازی عدم پذیرش محصول انتخاب شد که به خوبی توانست برازش اطلاعات را انجام دهد. روش تجزیه و تحلیل تابع ویبول یک روش گرافیکی است که به عنوان روش حداکثر احتمال نیز شناخته می شود، این روش محدوده زمانی را تخمین می زند که به عمر ماندگاری نهایی بسیار نزدیک است، سپس کل زمان به بخش های مساوی تقسیم می شود و ارزیابان، محصول را به صورت پذیرش یا عدم پذیرش ارزیابی می کنند. پژوهش های زیادی در رابطه با مدل

سازی پیش گویانه مدت زمان ماندگاری از ۲۵ درصد احتمال عدم پذیرش، برخی دیگر از ۵۰ درصد عدم پذیرش و بعضی هم از ۲۵ و ۵۰ درصد عدم پذیرش برای تخمین عمر ماندگاری استفاده کردند [۶]. در پژوهش حاضر عمر ماندگاری اسنک ها در ۲۵ و ۵۰ درصد عدم پذیرش تعیین شد.

مقادیر  $\alpha$  و  $\beta$  برای اسنک های شاهد و غنی شده نگهداری شده در ۵ و ۲۵ درجه سانتی گراد در جدول ۴ آورده شده اند. با استفاده از این پارامترها نمودار تابع عدم پذیرش  $F(t)$  رسم شد (شکل ۱)، تا عمر ماندگاری و احتمال عدم پذیرش محصول توسط مصرف کننده مشخص گردد. چندین پژوهش در مدل

**Table 4**  $\alpha$  and  $\beta$  Values of the Weibull distribution for control (C) and enriched (E) snacks

Temperature	sample	$\alpha \pm SE$	$\beta \pm SE$
5°C	C	1.75±0.41	86.32±1.83
	E	1.70±0.41	98.47±1.64
25°C	C	1.68±0.48	109.46±1.02
	E	1.51±0.22	127.21±1.34

$\alpha$ : shape parameter,  $\beta$ : Scale parameter

$\alpha$  and  $\beta$  obtained from consumer data (n=50)

SE: standard error

ویبول با استفاده از معادله زیر برازش شدند. جدول ۵ رتبه خطر برای داده های پذیرش کلی در نمونه اسنک را نشان می دهد.

(۳)

$$\text{Log}(\Sigma H) = 3.6217 \log(t) - 5.3429$$

t زمان با واحد روز و H مقدار خطر است. زمانی که ۵۰ درصد ارزیابی ها نمونه های اسنک را غیر قابل قبول دانستند نقطه پایان آزمون مدت زمان ماندگاری بود.

هنگامی که ارزیابی ها در مقیاس هدونیک ۹ نقطه ای در مقایسه با نمونه روز صفر نمره کمتری از ۵ را دادند نمونه ها بر اساس پذیرش کلی رد شدند. بالاترین نمره عدم پذیرش در روز ۱۸۰ به دست آمد که پایان مطالعه بود. داده ها به دست آمدند و تجزیه و تحلیل خطر تجمعی برای آن ها محاسبه شد. داده ها مطابق مدل

**Table 5** weibull hazard-ranking for overall acceptability data in snack samples

Rank*	Days	H value	$\Sigma H$
6	60	16.7	16.7
5	90	20	36.7
4	120	25	61.7
3	150	33	94.7
2	180	50	144.7
1	180	100	244.7

H=hazard value=100/rank

$\Sigma H$ = cumulative hazard=sum of all H values obtained for each rejection at the time

\*Rejection given by the panelists during the sensory evaluation are ranked according to the time (days of storage)

ماندگاری طولانی تر شد. مدت زمان ماندگاری به دست آمده در ۵ و ۲۵ درجه سانتی گراد درصد احتمال عدم پذیرش به طور معنی داری با هم اختلاف داشتند ( $p > 0.05$ ) هم چنین داده ها نشان می دهد که با تغییر دما هم مدت زمان ماندگاری تغییر می کند و از آنجا که اسنک ها نباید رطوبت اضافه جذب کنند نگهداری در یخچال باعث جذب رطوبت شده و میزان تردی، طعم، بافت، کیفیت و در نهایت پذیرش کلی و عمر ماندگاری محصول را کاهش داد. حضور اسپیرولینا توانسته اثر مثبت و

مدت زمان ماندگاری تخمین زده شده برای اسنک های شاهد و غنی شده در دمای ۵ و ۲۵ درجه سانتی گراد در جدول ۶ نشان داده شده است. می توان مشاهده کرد که ۲۵ درصد عدم پذیرش داده ها مطابق است با زمانی که میزان رطوبت و سختی بافت افزایش می یابد و نمره پذیرش کلی ۵ بوده است. نتایج به دست آمده با نتایج Prasad Rasane et al.2014, Gambaro et al.2006, Virginia et al 2012 مطابقت داشت. نتایج جدول ۶ نشان می دهد که با ۵۰ درصد عدم پذیرش مدت زمان



درصد احتمال عدم پذیرش به تخمین مدت زمان ماندگاری نزدیک تر باشد.

مؤثری در جهت افزایش مدت ماندگاری اسنک ها داشته باشد Lucas and et al, 2017 هم نتایج مشابهی در این زمینه به دست آوردند، با این وجود احتمال می رود که استفاده از ۵۰

**Table 6** Estimated shelf life for control (C) and enriched (E) snacks at 5 and 25 ° C

Rejection (%)	Shelf life time (days)			
	5°C		25°C	
	C	E	C	E
25	67.0 <sup>aA</sup>	98.0 <sup>bA</sup>	125.0 <sup>cA</sup>	189.0 <sup>dA</sup>
50	158.0 <sup>aB</sup>	184.0 <sup>bB</sup>	217.0 <sup>cB</sup>	321.0 <sup>dB</sup>

Values with different small superscripts in a column differ significantly at  $p < 0.05$  for each test

Values with different capital superscripts in a row differ significantly at  $p < 0.05$  for each test

### ۳-۶- آنالیز میکروبیولوژیکی

به منظور اطمینان از عدم وجود خطر میکروبی نمونه های اسنک نگهداری شده در ۲۵ و ۵ درجه سانتی گراد مورد آنالیز میکروبی قرار گرفتند. برای شمارش کلی، کپک و مخمر، سالمونلا و استافیلوکوکوس اورئوس بررسی شدند. جدول ۷ آنالیز کیفیت میکروبی اسنک های غنی شده و شاهد ذخیره شده در ۵ و ۲۵ درجه را نشان می دهد و مشخص شد که اسنک های تولیدی برای کل مدت انبار مانی از نظر میکروبیولوژیکی ایمن بودند و تغییر در کیفیت میکروبی قابل توجه نبود ( $P < 0.05$ ) هیچ کلی فرم، سالمونلا و استافیلوکوکوسی در طول مدت ۳۶۰ روز مشاهده نشد.

در دوره نگهداری در یخچال به دلیل جذب رطوبت در طی روزهای ۳۳۰ به بالا در نمونه شاهد و روز ۳۶۰ در نمونه غنی شده کپک و مخمر تشخیص داده شد و باز هم اسپیرولینا توانست از رشد کپک و مخمر جلوگیری کند و نسبت به نمونه شاهد رشد کپک و مخمر را به تأخیر انداخت. در دمای ۲۵ درجه هم اسپیرولینا توانست از رشد باکتری ها جلوگیری کند و تا روز ۳۳۰ در شمارش کلی باکتری تشخیص داده نشد. این در حالی بود که نمونه شاهد از روز ۲۱۰ باکتری در شمارش کلی تشخیص داده شد ولی در حد ایجاد خطر نبود و از نظر میکروبیولوژی برای ارزیاب ها ایمن بودند. بنابراین اسنک حاوی اسپیرولینا می تواند به راحتی تا ۳۶۰ روز پس از تولید به لحاظ میکروبی برای کودکان کاملاً بی خطر باشد.

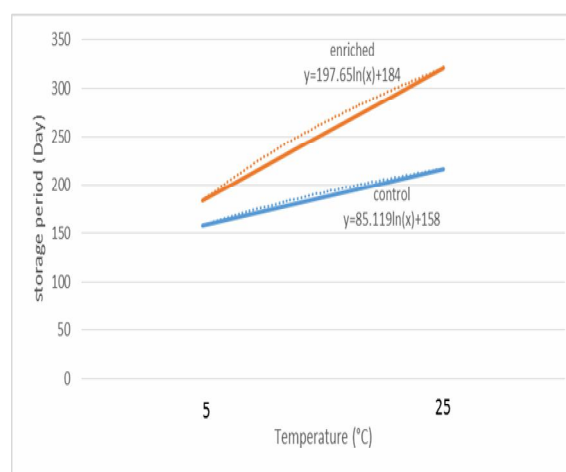
### ۳-۵- توسعه مدل ماندگاری

با استفاده از مدت زمان ماندگاری پیش بینی شده به دست آمده برای اسنک های شاهد و غنی شده انبار مانی شده در ۵ و ۲۵ درجه سانتی گراد و تنظیم مقادیر به دست آمده مدل مدت زمان ماندگاری در شکل ۱ به دست آمد. با محاسبه رگرسیون مدت زمان ماندگاری برای نمونه های غنی شده و شاهد در برابر دما معادلات زیر به دست آمد [1].

$$\theta = 197.65 \ln(T) + 184$$

$$\theta = 85.119 \ln(T) + 158$$

که  $T$  دمای انبار مانی به درجه سانتی گراد و  $\theta$  مدت زمان ماندگاری به روز است، که کاملاً اثر دما و حضور اسپیرولینا را بر افزایش مدت زمان ماندگاری بیان می کند.



**Fig 1** Shelf life of enriched and control snacks at 5 and 25 °C

**Table 7** Microbiological quality of enriched (E) and control (C) snacks during the estimated shelf life of the samples at 5 and 25 °C

Storage period(days)	Total plate count (log CFU/g of sample)			
	5°C		25°C	
	C	E	C	E
210	ND	ND	3±0.09 <sup>aB</sup>	ND
240	ND	ND	3.15±0.04 <sup>aB</sup>	ND
300	ND	ND	3.61±0.16 <sup>aB</sup>	ND
330	2.54±0.09 <sup>aA</sup>	ND	3.72±0.21 <sup>aB</sup>	2.18±0.04 <sup>aC</sup>
360	3.17±0.08 <sup>aA</sup>	2.86±0.04 <sup>aB</sup>	4.7±0.19 <sup>aC</sup>	2.23±0.06 <sup>aD</sup>
Yeast and mold count (log CFU/g of sample)				
210	ND	ND	ND	ND
240	ND	ND	ND	ND
300	ND	ND	ND	ND
330	2.84±0.19 <sup>aA</sup>	ND	ND	ND
360	4.59±0.05 <sup>aA</sup>	2.12±0.02 <sup>aB</sup>	ND	ND

ND= Not Detected

Values are presented as mean ± standard deviation (n=3)

CFU colony forming unit

Values with different small superscripts in a column differ significantly at p&lt;0.05 for each test

Values with different capital superscripts in a row differ significantly at p&lt;0.05 for each test

## ۵- منابع

- [1] Rasane, Prasad & Jha, Alok & Sharma, Nitya. (2014). Predictive modelling for shelf life determination of nutriceal based fermented baby food. *Journal of Food Science and Technology -Mysore-*. 52. 10.1007/s13197-014-1545-x.
- [2] Freitas MA, Costa JC (2006) Shelf life determination using sensory evaluation scores: a general Weibull modelling approach. *Comput Ind Eng* 51:652–670.
- [3] Gambaro A, Ares G, Gimenez A (2006) Shelf life estimation of apple baby food. *J Sens Stud* 21:101–111.
- [4] Hough G, Langohr K, Gomez G, Curia A (2003) Survival analysis applied to sensory shelf life of foods. *J Food Sci* 68:359–362.
- [5] Araneda M, Hough G, Peena EWD (2008) Current status survival analysis methodology applied to estimating sensory shelf life of ready-to-eat lettuce (*Lactuca sativa*). *J Sens Stud* 23:162–170.
- [6] Cruz AG, Walter EHM, Cadena RS, Faria JAF, Bolini HMA, Pinheiro HP, Sant'Ana AS (2010) Survival analysis methodology to predict the shelf life of probiotic flavoured yoghurt. *Food Res Int* 43:1444–1448

## ۴- نتیجه گیری

در پژوهش حاضر ارزیابی حسی اسنک های غنی شده (حاوی اسپیرولینا با فرمولاسیون مشخص) و اسنک بدون اسپیرولینا (شاهد) که در دمای ۵ و ۲۵ درجه به مدت ۱۸۰ روز انبار مانی، توسط ارزیاب ها انجام شد. از روش آنالیز بقا برای تعیین مدت زمان ماندگاری اسنک ها بر اساس داده های ارزیاب ها و از توزیع ویبول استفاده شد. با در نظر گرفتن ۲۵ و ۵۰ درصد احتمال عدم پذیرش، مدت زمان ماندگاری اسنک حاوی اسپیرولینا در دمای ۵ درجه سانتی گراد ۱۸۹ روز برای ۵۰ درصد و ۹۸ روز برای ۲۵ درصد احتمال عدم پذیرش و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد ۳۲۱ روز برای ۵۰ درصد و ۱۸۹ روز برای ۲۵ درصد احتمال رد مدت زمان ماندگاری اسنک بدون اسپیرولینا در دمای ۵ درجه ۶۷ روز برای ۲۵ درصد و ۱۵۸ روز برای ۵۰ درصد احتمال رد در دمای ۲۵ درجه ۱۲۵ روز برای ۲۵ درصد و ۲۱۷ روز برای ۵۰ درصد احتمال عدم پذیرش تخمین زده شد. آنالیز میکروبی برای اطمینان از ایمنی میکروبی اسنک ها در طول دوره انبار مانی تخمین زده شده انجام شد و هیچ خطر میکروبی در کل دوره ۳۶۰ روزه برای اسنک حاوی اسپیرولینا و اسنک شاهد مشاهده نشد.

- ground coffee. *LWT Food Sci Technol* 34:273–278
- [12] Gambaro A, Fiszman S, Gimenez A, Varela P, Salvador A (2004) Consumer acceptability compared with sensory and instrumental measures of white pan bread: Sensory shelf life estimation by survival analysis. *J Food Sci* 69(9):401–405
- [13] Kim JG, Luo Y, Saftner RA, Gross KC (2005) Delayed modified atmosphere packaging of fresh-cut romaine lettuce: effects on quality maintenance and shelf life. *J Am Soc Hortic Sci* 130:116–123.
- [14] Corrigan, Virginia & Hedderley, Duncan & Harvey, Winna. (2012). Modeling the Shelf Life of Fruit-Filled Snack Bars Using Survival Analysis and Sensory Profiling Techniques. *Journal of Sensory Studies*. 27. 10.1111/joss.12006.
- [7] AOAC (2000) Official methods of analysis of the association of official agricultural chemists. Association of Analytical Chemists, Washington, pp 125–139
- [8] Abernethy RB (2002) The new Weibull analysis handbook, 4th edn. North Palm Beach, FL, pp 1–6.
- [9] Franco Lucas, Bárbara & Morais, Michele & Duarte Santos, Thaisa & Costa, Jorge Alberto. (2017). Spirulina for snack enrichment: Nutritional, physical and sensory evaluations. *LWT- Food Science and Technology*. 90. 10.1016/j.lwt.2017.12.032.
- [10] Curia A, Aguerri M, Langohr K, Hough G (2005) Survival analysis applied to sensory shelf life of yoghurt. I: Argentine formulations. *J Food Sci* 70:442–445
- [11] Cardelli C, Labuza TP (2001) Application of Weibull hazard analysis to the determination of the shelf life of roasted and



## Predictive modeling to determine the shelf life of snacks enriched with dragees containing *Spirulina platensis*

Bayat Tork, M.<sup>1</sup>, Vazifedoost, M.<sup>1\*</sup>, Hesarinejad, M. A.<sup>2</sup>, Didar, Z.<sup>1</sup>, Shafafi Zenoozian, M.<sup>3</sup>

1. Department of food science and technology, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, Iran.
2. Department of Food Processing, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran.
3. Department of food science and technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><b>Article History:</b></p> <p>Received 2021/07/01 Accepted 2021/11/22</p> <hr/> <p><b>Keywords:</b></p> <p>Snack, <i>Spirulina platensis</i>, Shelf life, Predictive modeling, Weibull hazard analysis</p> <hr/> <p><b>DOI:</b> 10.52547/fsct.18.121.18 <b>DOR:</b> 20.1001.1.20088787.1400.18.121.19.3</p> <hr/> <p>*Corresponding Author E-Mail: <a href="mailto:m.vazifedoost@iau-neyshabur.ac.ir">m.vazifedoost@iau-neyshabur.ac.ir</a></p>	<p>The basis for modeling the shelf life of snacks enriched with <i>Spirulina platensis</i> is the storage temperature. After production, the snacks were packed in polypropylene bags and stored at 25°C (room temperature) and 5°C (refrigerator) for a specified period of 180 days. Shelf life studies were performed by semi-educated and consumer panelists. During this period, microbial tests (total count of bacteria, mold, yeast and coliform), moisture content and hardness were examined. Weibull hazard analysis was used to estimate the shelf life of snacks enriched with <i>Spirulina platensis</i> powder based on sensory properties assessment. Considering the 25% and 50% probability of rejection, the shelf life at 5 ° C for enriched and control samples was 98, 67 and 184, 158 days and at 25 ° C for 189, 125, 217 and 321 respectively. Were estimated. Also, the equation of shelf life with the probability of rejection by consumers was presented. Finally, enriched and control snacks were microbiologically evaluated. The results showed that the enriched and control snack samples were completely microbiologically safe for consumption over a 360-day period.</p>