

طراحی مدل پیشگوی بار میکروبی بر پایه امپدانس در سبزیجات خشک سنتی و صنعتی

نجمه نجارپور^۱، علی فضل آرا^{۲*}، مهرنوش تدینی^۳

۱. دانش‌آموخته گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

۲. استاد گروه بهداشت مواد غذایی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران

۳. استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات: fazlara2000@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۹۵/۱۰/۱۰ پذیرش نهایی: ۹۶/۳/۲۵)

چکیده

هدف از این مطالعه استفاده از تکنیک امپدانس و مقایسه نتایج حاصل از این تکنیک با روش مرجع در سبزیجات خشک شده به روش سنتی و صنعتی بود. تعداد ۳۰ نمونه سبزی خشک شده به روش سنتی و ۳۰ نمونه سبزی خشک شده به روش صنعتی با استفاده از روش کشت مرجع و نیز با استفاده از دستگاه امپدانس و بر اساس دستورالعمل مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی مورد آزمایش و شمارش میکروبی قرار گرفتند. روش امپدانس نشان داد که حداقل و حداکثر تعداد میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌های سنتی به ترتیب $10^6 \times 1/40$ و $10^2 \times 6/00$ باکتری در هر گرم بود. حداقل و حداکثر تعداد میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌ها به ترتیب $10^5 \times 7/00$ و $10^2 \times 6/00$ باکتری در هر گرم بود. حداکثر زمان تشخیص در روش امپدانس در سبزیجات خشک شده به روش سنتی و صنعتی به ترتیب ۲۰/۲۴ و ۲۳/۶۸ ساعت و حداقل زمان تشخیص در روش صنعتی و سنتی به ترتیب ۱۱/۳۵ و ۸/۲۵ ساعت برآورد شد. نتایج نشان داد، پیشگویی مقادیر بار میکروبی سبزیجات خشک شده با استفاده از معادلات رگرسیونی حاصل به ترتیب معادل ۰/۹۱۶۹، ۰/۹۱۳۳ و ۰/۸۸۶۱ برای سبزیجات خشک به روش سنتی، صنعتی و مجموع دو روش بود که بیانگر میزان تطابق بالای روش امپدانس با روش مرجع می‌باشد. بار میکروبی در سبزی‌های خشک شده سنتی و صنعتی به ترتیب بیشتر و کمتر از حد مجاز استاندارد بود. با توجه به انطباق بالای روش مرجع و امپدانس در این مطالعه، روش امپدانس می‌تواند به عنوان روش جایگزین برای کنترل بار میکروبی سبزیجات خشک استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: امپدانس، سبزیجات خشک شده، روش صنعتی، روش سنتی

مقدمه

روش‌های سنتی بررسی بار میکروبی غالباً وقت‌گیر بوده و علی‌رغم کم هزینه بودن همواره برای میکروب شناسان مشکل‌ساز هستند و خصوصاً هنگامی که اعلام سریع نتایج از نظر اقتصادی و پزشکی واجد اهمیت است (Fazlara, 2004). در دو دهه اخیر استفاده از روش میزان مقاومت الکتریکی یا امپدانس جهت شناسایی میکروب‌های حائز اهمیت در مواد غذایی و نیز شمارش کلی میکروب‌ها در غذاهای مختلف گسترش فراوان یافته است. در این روش تشخیص سریع وجود باکتری‌ها از طریق نمایش فعالیت‌های متابولیک به وسیله ایجاد تغییر در مقاومت الکتریکی در محیط کشت امکان‌پذیر می‌باشد و بر خلاف روش مرجع خطاهای فنی در کشت وجود ندارد (Razavilar, 2008). هم‌چنین تکنیک امپدانس دارای پتانسیل بالایی برای حل دو موضوع سرعت و محدوده تشخیص پاتوژن‌های غذایی می‌باشد. در این روش نیازی به آماده‌سازی‌های مرسوم در روش کشت سنتی نمونه‌های غذایی نمی‌باشد و می‌توان تعداد نمونه‌ها را در هر عملیات تا حد زیادی افزایش داد و هم‌چنین زمان تشخیص به‌طور قابل ملاحظه‌ای کوتاه‌تر از روش کشت سنتی می‌باشد (Spiller et al., 2006). از جمله این موارد می‌توان به بهره‌گیری از تکنیک امپدانس در نقاط مختلف جهان در تشخیص آلودگی‌های غذایی و شناسایی عوامل بیماری‌زا اشاره کرد. در برخی مطالعات انجام شده میزان انطباق دو روش استاندارد و امپدانس برای شمارش میکروبی بررسی شده است. بررسی میزان انطباق دو روش استاندارد پورپلیت و امپدانس برای شمارش کلی میکروبی در بستنی سنتی (Lak, 2005)، تخمین محتوی باکتریایی مایونز (Faraji et al., 2004)

سبزیجات و میوه‌های تازه از مواد غذایی ضروری در رژیم غذایی انسان می‌باشند. سبزیجات از منابع سرشار املاح، ویتامین‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها، فیبرهای رژیمی محلول و نامحلول هستند. با توجه به فصلی بودن تولید برخی سبزیجات، تغییر سبک زندگی، درک اهمیت تغذیه‌ای مصرف سبزیجات و استفاده از سبزیجات خشک در فرمولاسیون‌های غذایی، در سال‌های اخیر کارگاه‌های تولید سبزیجات فرآوری شده افزایش قابل توجهی پیدا کرده است. سبزیجات خشک شده در طی مراحل مختلف قبل از برداشت، پس از برداشت، حمل و نقل و بسته‌بندی توسط گروه وسیعی از میکروب‌ها آلوده می‌شوند و اگر از سطح بهداشتی پایینی برخوردار باشند، می‌توانند به‌عنوان منبع آلودگی ماده غذایی عمل کنند (Bahreini et al., 2011).

میکروارگانیزم‌های موجود در انواع سبزیجات خشک از دسته میکروارگانیزم‌های بومی خاک و گیاهان می‌باشند. گرد و غبار، حشرات، فضولات پرندگان و جوندگان و آب مورد مصرف در فرآیند، از منابع دیگر آلودگی این فرآورده‌ها می‌باشند. اگر فرآیند خشک کردن و شرایط نگهداری انواع سبزیجات خشک مناسب باشد، میکروارگانیزم‌ها در آن‌ها رشد نمی‌کنند. در صورتی که تجهیزات مورد استفاده در فرآیند خشک کردن، تمیز و بهداشتی نباشد، شمارش نهایی میکروارگانیزم‌ها نیز افزایش می‌یابد. در این راستا روش‌های جداسازی و تشخیص باکتری‌ها به‌ویژه باکتری‌های بیماری‌زا در مواد غذایی که به دو روش کلی سنتی و مدرن انجام می‌گیرد، حائز اهمیت فراوانی است (Mortazavi et al., 2002).

با توجه به این که تاکنون تکنیک امیدانس برای تعیین بار میکروبی در انواع سبزیجات خشک مورد استفاده قرار نگرفته است، در این تحقیق طراحی مدل پیشگوی بار میکروبی بر پایه امیدانس در سبزیجات خشک بسته‌بندی شده سنتی و صنعتی به‌عنوان هدف مد نظر قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

- مواد مورد نیاز

به‌منظور اجرای این تحقیق تعداد ۶۰ نمونه سبزی خشک از سطح شهر اهواز جمع‌آوری گردید. به این نحو که تعداد سی نمونه سبزی خشک شده سنتی از پنج نوع سبزی خشک (کوکو- آش- قورمه - پلویی - ماهی) جمع‌آوری شد. از هر نوع سبزی شش سهم، که هر سهم از شش مکان (عطاری) مختلف جمع‌آوری و سی نمونه سبزی خشک شده صنعتی از سه برند تجاری از هر برند پنج نوع (سبزی کوکو- آش - پلویی - قورمه - ماهی) و از هر نوع سبزی خشک دو تاریخ تولید متفاوت تهیه گردید. کلیه محلول‌ها و معرف‌های شیمیایی از شرکت (Merck, Germany) خریداری شد.

- روش کشت مرجع (روش پورپلیت Pour Plate)

ابتدا از نمونه‌های سبزی، رقیق‌سازی متوالی تهیه شد و سپس بر طبق دستورالعمل استاندارد نسبت به انجام کشت پورپلیت در محیط کشت آگار استاندارد شمارش میکروبی در پلیت و گرم‌خانه‌گذاری در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۴۸ ساعت اقدام گردید (ISIRI, 5272/2008).

و بار میکروبی شیر خام و پاستوریزه (Fazlara, 2004)، انجام شده است، در اکثر مطالعات انجام شده با توجه به میزان انطباق بالای دو روش سنتی و امیدانس، تکنیک امیدانس به‌عنوان جایگزینی برای روش‌های مرسوم معرفی شده است.

در برخی مطالعات انجام شده از روش امیدانس برای ارائه مدل‌های پیشگو استفاده شده است. مدل‌سازی ریاضی تراکم میکروبی بر اساس روش امیدانس در فیله گوشت ماکیان و بررسی تطابق آن با مقدار ازت فرار تام مورد بررسی قرار گرفته است (Fazlara et al., 2013a). هم‌چنین در برخی مطالعات روش امیدانس برای شناسایی طیف خاصی از میکروارگانیزم‌ها ارزیابی شده است. شناسایی اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس در نمونه‌های کره پاستوریزه (Khataminia and Fazlara, 2008)، هم‌چنین شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس در لاشه‌های تازه طیور، مرغ پخته شده و نیز فرآورده‌های مختلف فرآوری شده از گوشت مرغ به‌وسیله روش امیدانس مورد بررسی قرار گرفته است و این روش به‌عنوان روشی مناسب برای جستجو و شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس در مواد غذایی گزارش شده است (Glassmoyer and Russell, 2001).

در مطالعه‌ای دیگر از این روش برای ارزیابی تراکم اتروکوک‌ها و پایش بقاء آن‌ها استفاده شده است (Spiller et al., 2006). در بررسی انجام شده بر روی محصولات غذایی کم اسید، روش امیدانس به‌عنوان روش سریع برای تعیین میکروارگانیزم‌های فسادزا معرفی شده است (Coppola and Firstenberg-Eden, 2006).

استفاده از نرم افزار Excel تعیین شد. ضمن تهیه نمودار حاصل نسبت به طراحی و تدوین فرمول با الگوی ریاضی پیشگویی مربوطه اقدام شد، که در تفسیر کالیبراسیون نتایج حاصل از روش امپدانس مورد استفاده قرار گرفت (Baggreman, 2014). نتایج حاصل از شمارش کلی میکروبی در کل دوره در روش مرجع و نیز زمان های به دست آمده بر حسب ساعت توسط دستگاه امپدانس در سیستم نرم افزاری ویژه دستگاه آنالایزر میکروبی باک تراک که بر اساس Excel طراحی شده بود، ثبت گردید و منحنی ارتباط دو روش با بالاترین ضریب تعیین (R^2) به دست آمد و بر این اساس فرمول یا معادله منحنی رگرسیون مربوطه که جهت پیشگویی و محاسبه ریاضی تراکم میکروبی بر اساس پارامتر زمان امپدانس می باشد، حاصل شد. نتایج حاصل از فاکتورهای مورد مطالعه با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ مورد بررسی و تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته ها

- شمارش کلی باکتری های سبزی خشک شده
بار میکروبی سبزی های خشک شده به دو روش سنتی و صنعتی با استفاده از روش کشت مرجع مورد بررسی قرار گرفت. به طور کلی در مطالعه حاضر میانگین بار میکروبی سبزی های خشک صنعتی کم تر از سبزی های خشک سنتی بود. بر این اساس مشخص شد که حداقل آلودگی در سبزیجات خشک شده به روش سنتی به میزان $4 \times 10^4 / 8 \times 10^4$ cfu/g و حداکثر آن 6 cfu/g سستی به میزان 1×10^4 با میانگین $5/49$ Log cfu/g بوده است. هم چنین نتایج آزمون بار میکروبی سبزیجات خشک

- اندازه گیری بار کلی میکروبی به روش امپدانس
مقدار ۱۵ دقیقه قبل از انجام کشت، لوله های امپدانس جهت هم دمایی با محیط از یخچال بیرون آورده شدند. سپس با ۱۰۰۰ میکرولیتر از سوپانسیون که به طور هم زمان کشت در پلیت آن نیز انجام داده شده بود، تلقیح و درون انکوباتور دستگاه آنالایزر میکروبی Bactrac 4300 (Sy-lab، اتریش) قرار داده شد و مشخصات لوله شامل نوع و شماره نمونه وارد نرم افزار دستگاه شد و روش مربوط به ارزیابی شمارش کلی میکروبی در ۳۰ درجه سلسیوس با استفاده از تغییرات امپدانس یا مقاومت الکتریکی در محیط کشت (Media Value یا M-Value) با مدت زمان گرم شدن اولیه یک ساعت (Warm Up Time) و حد آستانه (Threshold) معادل ۵ درصد و فواصل زمانی اندازه گیری امپدانس معادل ۱۰ دقیقه برای طول مدت زمان ۲۴ ساعت کارکرد دستگاه تنظیم گردید و پس از ۲۴ ساعت نمونه ها خارج شده و نتایج آن ها در نرم افزار دستگاه ثبت شد (Coppola and Firstenberg-Eden, 2006).

- انتخاب و تنظیم آستانه و زمان شناسایی امپدانس (Impedance Detection Time)

برای این که اندازه گیری در طول یک سیکل اندازه گیری سنجش شود عدد آستانه باید قبل از شروع اندازه گیری و یا حداقل قبل از اتمام مرحله گرم شدن دستگاه انتخاب شود. مقدار آستانه بین ۳-۵ درصد M (امپدانس محیط کشت) و ۱۰-۵ درصد E (امپدانس الکترودی) در نظر گرفته شد (Lee et al., 2009).

- تجزیه و تحلیل آماری

نتایج حاصل از دو روش با یکدیگر مطابقت داده شد، علاوه بر آن میزان همبستگی (Correlation) آن ها با

آن ۲۰/۲۴ ساعت و مربوط به نمونه سبزی آش بوده است. هم‌چنین نتایج آزمون میکروبی شمارش کلی باکتری‌ها در کل نمونه‌های سبزیجات خشک شده به‌روش سنتی با روش امیدانس مشخص کرد که حداقل زمان تشخیص در سبزیجات خشک شده به‌میزان ۱۱/۳۵ ساعت و مربوط به نمونه سبزی پلویی و حداکثر آن ۲۳/۲۰ ساعت و مربوط به نمونه سبزی قورمه بوده است.

شده به‌روش صنعتی در کشت مرجع نشان داد که حداکثر مقدار آلودگی نمونه‌ها در روش صنعتی cfu/g $7/00 \times 10^5$ و حداقل آن cfu/g $6/00 \times 10^2$ با میانگین $4/43 \text{ Log cfu/g}$ بوده است (جدول ۱).

نتایج آزمون میکروبی شمارش کلی باکتری‌ها در کل نمونه‌های سبزیجات خشک شده به‌روش صنعتی با روش امیدانس مشخص کرد که حداقل زمان تشخیص (Detection Time) در سبزیجات خشک شده به‌میزان ۹/۱۰ ساعت و مربوط به نمونه سبزی قورمه و حداکثر

جدول (۱) - مقایسه میانگین بار میکروبی سبزی‌های خشک شده به‌روش سنتی، صنعتی و کل نمونه‌ها با حد مجاز استاندارد ملی ایران

Sig	df	t	انحراف معیار	حد مجاز استاندارد Log (cfu/g)	میانگین Log (cfu/g)	تعداد نمونه‌ها	روش خشک کردن
۰/۰۰	۲۹	۶/۱۸	۰/۴۴	۵	۵/۴۹	۳۰	سنتی
۰/۰۰۱	۲۹	-۳/۷۳	۰/۸۲	۵	۴/۴۳	۳۰	صنعتی
۰/۷۶۰	۵۹	-۰/۳	۰/۸۴	۵	۴/۹۶	۶۰	کل نمونه‌ها

منحنی ارتباط زمان‌های به‌دست آمده از دستگاه امیدانس با مقادیر بار میکروبی سبزی خشک شده حاصل در شکل (۱) نشان داده شده است. میزان R^2 ۰/۹۱۶۹ است که نشان دهنده انطباق بالای فرمول است. ضریب تعیین یا R^2 در شکل‌ها نشان دهنده میزان انطباق دو روش و میزان کارایی فرمول می‌باشد. اگر مقدار ضریب تعیین بیش از ۰/۷۵ باشد نشان دهنده انطباق بالای فرمول یا قدرت پیشگویی بالای مقادیر بار میکروبی در سبزیجات خشک شده با بهره‌گیری از تکنیک امیدانس و معادلات رگرسیونی است (Fazlara et al., 2013b).

با استفاده از آزمون One Sample T Test میانگین بار میکروبی سبزی‌های خشک (سنتی و صنعتی) اختلاف معنی‌داری ($p < 0/05$) با حد مجاز بار میکروبی سبزی‌های خشک معادل 5 Log cfu/g اعلام شده از سوی استاندارد ملی ایران نشان داد (جدول ۱). بدین نحو که بار میکروبی در سبزی‌های خشک سنتی به‌طور معنی‌داری بیش از حد مجاز استاندارد ($t=6/18$) و بر عکس بار میکروبی سبزی‌های صنعتی به‌طور معنی‌داری کمتر از حد مجاز استاندارد ($t=-3/73$) بودند.

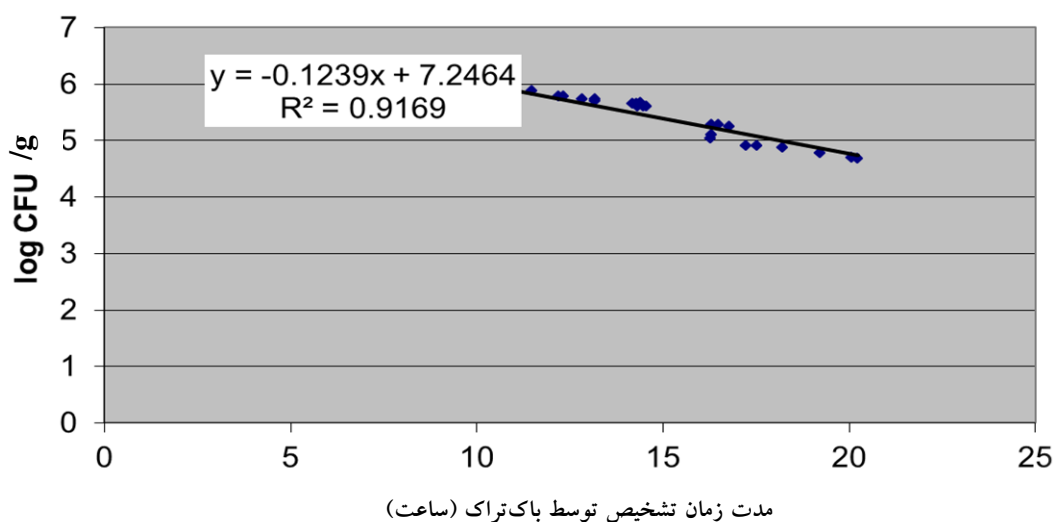
- مقایسه نتایج حاصل از شمارش باکتری در نمونه‌های سبزی خشک شده به‌روش سنتی در دو روش مرجع و امیدانس

در این رابطه y ، بار میکروبی و x ، زمان تشخیص تعیین شده با روش امیدانس می‌باشد. با توجه به رابطه رگرسیونی در نمودار (۱) میزان شاخص $Syx=0/129$ و ضریب همبستگی $r=-0/9575$ بود در نتیجه می‌توان با استفاده از روش امیدانس و با قرار دادن زمان به دست آمده از روش امیدانس در معادله رگرسیونی به دست آمده، بار میکروبی را در نمونه‌های سبزی خشک به دست آورد.

هم‌چنین میزان r یا ضریب همبستگی ریشه دوم ضریب تعیین بوده و اگر بین $0/85$ تا 1 - و هم‌چنین شاخص Syx که پراکنش داده‌ها را نشان می‌دهد اگر کمتر از $0/5$ باشد نشان دهنده نزدیکی داده‌ها به یکدیگر است (Yang et al., 2004). معادله تطابق روش شمارش بار میکروبی به روش امیدانس و کشت مرجع در سبزیجات خشک شده به روش سنتی به صورت رابطه (۱) می‌باشد.

$$y = -0.1239x + 7.2464 \quad \text{رابطه (۱)}$$

رگرسیون خطی

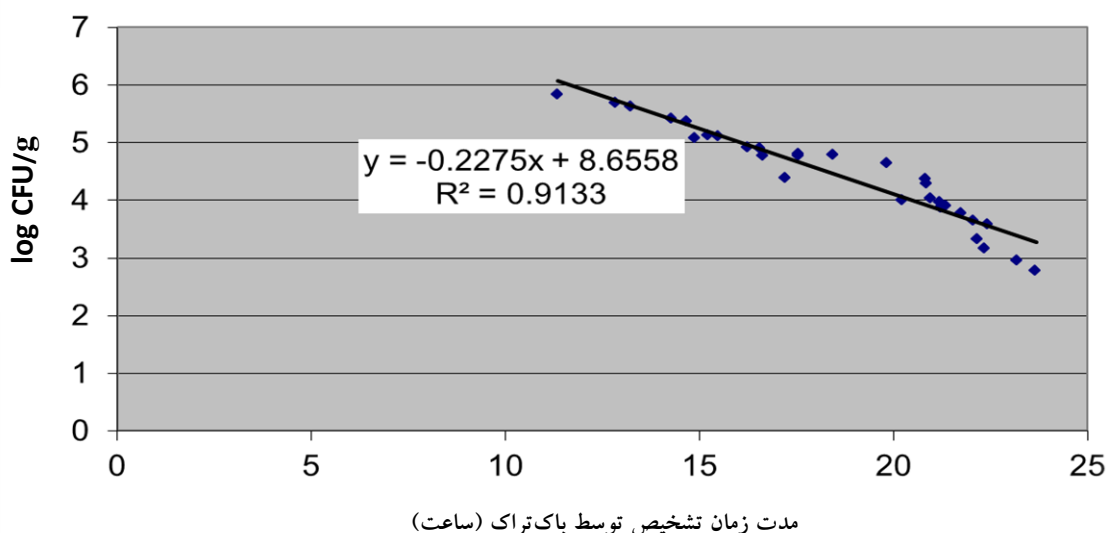


نمودار (۱) - مقایسه نتایج حاصل از شمارش باکتری در نمونه‌های سبزی خشک شده به روش سنتی به دو روش مرجع و امیدانس

در نمودار (۱) نتایج حاصل از شمارش باکتری در نمونه‌های سبزی خشک شده به روش صنعتی در دو روش مرجع و امیدانس نشان داده شده است.

- مقایسه نتایج حاصل از شمارش باکتری در نمونه‌های سبزی خشک شده به روش صنعتی در دو روش مرجع و امیدانس

رگرسیون خطی



نمودار (۲) - مقایسه نتایج حاصل از شمارش باکتری در نمونه‌های سبزی خشک شده به روش صنعتی به دو روش مرجع و امپدانس

توجه به میزان شاخص $Syx=0/289$ و ضریب همبستگی $r=-0/9557$ بود که حاکی از نزدیکی داده‌ها به یکدیگر بود. در نتیجه می‌توان با استفاده از روش امپدانس و با قرار دادن زمان به دست آمده از روش امپدانس در معادله رگرسیونی به دست آمده، بار میکروبی را در نمونه‌های سبزی خشک به دست آورد.

- مقایسه نتایج حاصل از شمارش کلی باکتری‌ها در کل نمونه‌های سبزی خشک شده

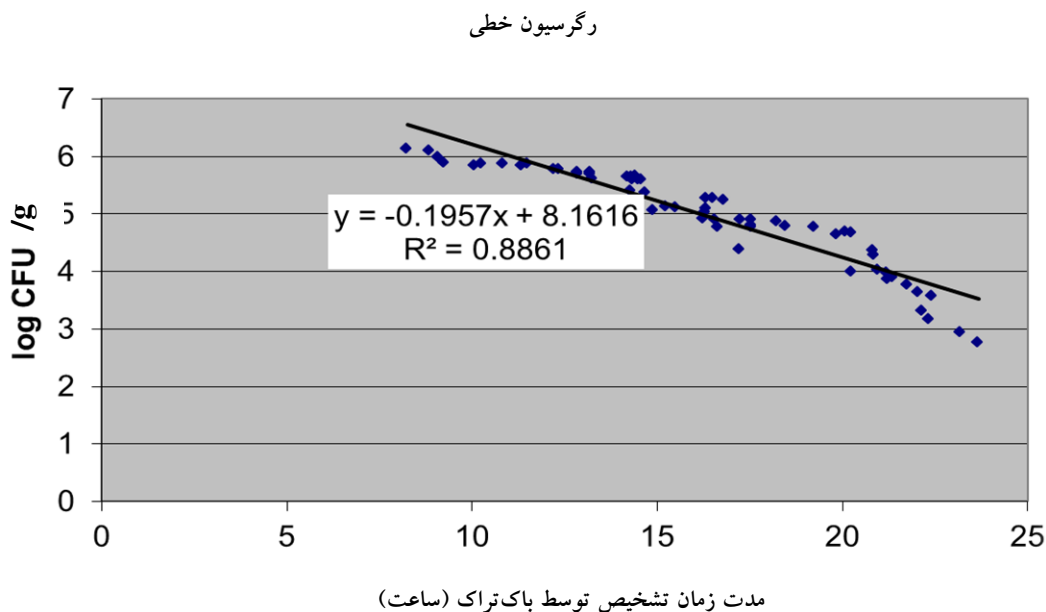
در نمودار (۳) نتایج حاصل از شمارش کلی باکتری‌ها به دو روش مرجع و امپدانس در کل نمونه‌های سبزی خشک شده نشان داده شده است.

معادله تطابق روش شمارش بار میکروبی به روش امپدانس و کشت مرجع در سبزیجات خشک شده به روش صنعتی به صورت رابطه (۲) می‌باشد.

$$\text{رابطه (۲)} \quad y = -0.2275x + 8.6558$$

در این رابطه y ، بار میکروبی و x ، زمان تشخیص تعیین شده با روش امپدانس می‌باشد.

میزان بالای R^2 در نمودار (۲) با مقدار $0/9133$ نشان دهنده میزان انطباق دو روش شمارش میکروبی (مرجع و امپدانس) و همچنین میزان کارایی فرمول می‌باشد. با



نمودار (۳) - مقایسه نتایج حاصل از شمارش کلی باکتری‌ها در کل نمونه‌های سبزی خشک شده به دو روش مرجع و امپدانس

الکتريکی (امپدانس) روش نسبتاً سریعی است که در آن شناسایی سریع میکروب‌ها از طریق نمایش فعالیت‌های متابولیک که به وسیله ایجاد تغییر در مقاومت الکتریکی امکان پذیر می‌شود (Ruan et al., 2002). از سوی دیگر روش مرجع بر اساس شمارش کلی میکروبی می‌باشد که در واقع تعداد ارگانیسم‌های زنده را به صورت کلنی‌های قابل رویت در سطح محیط کشت آشکار می‌نماید. با طراحی منحنی‌های کالیبراسیون دو روش که بر اساس معادلات رگرسیونی می‌باشد و برای هر ماده غذایی به طور مجزا طراحی می‌گردد، می‌توان تراکم بار میکروبی را با استفاده از روش امپدانس و معادله رگرسیونی مربوطه به طور محاسباتی پیشگویی نمود (Yang and Bashir, 2008).

در مطالعه حاضر میزان پیشگویی مقادیر بار میکروبی سبزیجات خشک شده با استفاده از معادلات رگرسیونی حاصل به ترتیب ۰/۹۱۶۹، ۰/۹۱۳۳ و ۰/۸۸۶۱ برای

مقدار R^2 معادله رگرسیونی در نمودار (۳) معادل ۰/۸۸۶۱ می‌باشد که بیانگر میزان تطابق بالای دو روش به کار برده شده است. به علاوه با توجه به میزان شاخص $Syx=0/248$ و ضریب همبستگی $r=-0/9413$ بود که حاکی از همبستگی خوب داده‌های حاصل از شمارش میکروبی به روش امپدانس با روش مرجع بود و می‌توان بیان داشت که با استفاده از روش امپدانس و با قرار دادن زمان به دست آمده از روش امپدانس در معادله رگرسیونی به دست آمده، بار میکروبی را در نمونه‌های سبزی خشک به دست آورد.

بحث و نتیجه گیری

بهره‌گیری از روش امپدانس با توجه به امکان حصول سریع نتایج، بسیار توسعه یافته است. مزیت روش امپدانس، سرعت انجام آن است که بسیار سریع‌تر از روش‌های مرجع میکروبی است. اندازه‌گیری مقاومت

مدل‌سازی ریاضی تراکم میکروبی بر اساس روش امیدانس در فیله گوشت ماکیان و بررسی تطابق آن با مقدار ازت فرار تام انجام گرفت و اظهار شد که میزان تطابق روش امیدانس با روش مرجع پورپلنت در فصول گرم و سرد و نیز کل داده‌ها به ترتیب ۹۸/۱ درصد، ۹۷/۳ درصد و ۹۷/۳ درصد بوده است. میزان تطابق روش امیدانس با مقدار ازت فرار تام در فصول سرد و گرم و نیز کل داده‌ها به ترتیب ۸۱/۵ درصد، ۸۱/۴ درصد و ۸۲/۵ درصد و همچنین میزان تطابق مقدار بار باکتریایی با مقدار ازت فرار تام به همان ترتیب معادل ۸۳/۲ درصد، ۸۳/۲ درصد و ۸۳/۳ درصد حاصل گردید (Fazlara et al., 2013a).

با توجه به کاهش قابل ملاحظه مدت زمان شناسایی و شمارش میکروارگانیسم‌ها در روش امیدانس نسبت به روش مرجع، صرفه‌جویی در مواد مصرفی، مستندسازی اتوماتیک داده‌ها، کاهش خطاهای مربوط به انجام کشت و شمارش و به لحاظ میزان تطابق بالای روش امیدانس و روش مرجع در مطالعه حاضر برای نمونه‌های سبزی خشک مورد بررسی، روش امیدانس می‌تواند به‌عنوان یک تکنیک سریع و قابل اطمینان، جایگزین روش‌های مرسوم برای کنترل‌های نظارتی و بهداشتی در سطح انبوه باشد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی برای اعلام ندارند.

سبزیجات خشک به‌روش سنتی، صنعتی و مجموع دو روش بود که بیانگر قدرت پیشگویی بالای فاکتورهای مورد مطالعه در سبزیجات خشک شده به‌روش صنعتی و سنتی با تکنیک امیدانس و بار باکتریایی با استفاده از معادلات رگرسیونی حاصل می‌باشد.

در مطالعه‌ای که از روش امیدانس و کشت مرجع در پلیت به‌منظور شناسایی انتروکوک‌های موجود در سطوح در تماس با مواد غذایی استفاده شده و گزارش گردیده که با توجه به انطباق بالای روش مرجع با روش امیدانس ($R^2 = 0.92$)، روش امیدانس به‌عنوان روش انتخابی و جایگزین روش مرجع برای شناسایی انتروکوک‌ها توصیه شده است (Andeade et al., 1998). در تحقیقی دیگر به بررسی هدایت الکتریکی غیرمستقیم برای تعیین باکتری‌های بیماری‌زا پرداخته شد و مشخص گردید که گونه‌های استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا مونوسیژنوز، انتروکوکوس فکالیس، باسیلوس سوبتیلیس، اشیریشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا، آئروموناس هیدروفیلا و گونه‌های سالمونلا توسط تغییرات هدایت الکتریکی غیرمستقیم در محیط مایع امیدانس قابل تعیین هستند (Bolton et al., 1990). هم‌چنین تراکم کلی میکروبی در انواع بستنی با استفاده از روش استاندارد مرجع و نیز روش امیدانس ارزیابی گردید و میزان انطباق این دو روش خوب و معادل $R^2 = 0.7794$ گزارش گردید. آنان اظهار داشتند که روش امیدانس به‌عنوان یک روش مطمئن، کاربردی، سریع و آسان در ارزیابی کیفیت بستنی‌های تولیدی کارخانجات مواد غذایی و نیز مراکز نظارتی و کنترلی قابل استفاده است (Grossi et al., 2008).

منابع

- Andrade, N.J., Bridgeman, T.A. and Zottola, E.A. (1998). Bactericidal activity of sanitizers against Enterococci attached to stainless steel as determined by plate count and impedance method. *Journal of Food Protection*, 61(7): 833-838.
- Bagreman, W.I. (1994). Rapid estimation of the microbial Load of quick-frozen vegetable with bactometer 32, Unilever Research Laboratories, Vlaardingen, the Netherlands. *Antoni Van Leeuwenhoek*, 50: 207-214.
- Bahreini, M., Habibi Najafi, M.B., Bassami, M. R., Abbaszadegan, M., Bahrami, A.R., and Ejtehadi, H. (2011). Microbial Load Evaluation of Fresh-Cut Vegetables During Processing Steps in A Vegetable Processing Plant Using Minimally Processing Approach. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 7(3): 235-242.
- Bolton, F.J. (1998). An investigation of indirect conductimetry for detection of some food-borne bacteria. *Journal of Applied Bacteriology*, 69: 655-661.
- Coppola, K. and Firstenberg-Eden, R. (2006). Impedance based method for detection of spoilage organisms in UHT low-acid foods. *Journal of Food Science*, 53: 1521-1527.
- Faraji, S., Fazlara, A., Hashemi Ravan, M., Faraji, N. and Taheri, Sh. (2014). Comparison of impedance splitting method to pour plating method for the estimation of bacterial count in mayonnaise. *International Food Research Journal*, 21(6): 2493-2498.
- Fazlara, A. (2004). Evaluation of total microbial count in pasteurized milk using impedance and comparison with results of conventional methods and standards pure plate. *Seventh National Congress of Microbiology Iran, Semnan University of Medical Sciences*. pp.166.
- Fazlara, A., Rasekh, A. and Khataminia, A. (2007). Comparative Survey on Hygienic Quality (Coliform, *Escherichia Coli* AND *Staphylococcus Aureus*) of Industrial Butter with Using Standard Methods and Impedance-Splitting Method, 1st Iranian Congress of Clinical Microbiology Shiraz-Iran; 42-46.
- Fazlara, A., Pourmahdi Brojeni, M., and Jaferi, F.A. (2013). Mathematical modeling of microbial load in poultry meat fillets according to Impedance-Splitting method and evaluation it's correlation with total volatile nitrogen (TVN). *Journal of Food Science and Technology*, 41: 35-46. [In Persian]
- Fazlara, A., Zarei, M., Motaghian, N. b. (2013). Method of measuring the microbial load of raw and pasteurized milk by measuring the electrical resistance (impedance) and its adaptation to the milk's most suitable acidity. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, 9(2): 97-105. [In Persian]
- Glassmoyer, K.E., and Russell, S.M. (2001). Evaluation of a selective broth for detection of *Staphylococcus aureus* using impedance microbiology. *Journal of Food Protection*, 64: 44–50.
- Grossi, M., Lanzoni, M., Pompei, A., Lazzarini, R., Matteuzzi, D. and Rice, B. (2008). Detection of microbial concentration in ice-cream using the impedance technique. *Biosensors and Bioelectronics*, 23: 1616-1623.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2008). Microbiology of food and animal feeding stuff - Horizontal method for the enumeration of microorganisms –Colony count technique at 30 c. 1st.Revision, ISIRI No. 5272. [In Persian]
- Jay, L.S., Davos, D., Dundas, M., Frankish, E. and Lightfoot, D. (2003). Salmonella. Ch 8 In: Hocking AD (ed) *Foodborne microorganisms of public health significance*. 6th ed, Australian Institute of Food Science and Technology (NSW Branch), Sydney, pp. 207–266.
- Khataminia, A., Fazlara, A. (2008). Comparative survey on hygienic quality (Coliforms, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*) of industrial butter with using standard methods and impedance-splitting method. *Proceeding of Jubilee World Buiatrics Congress, Budapest. Hungary*. pp: 272-273.

- Lak, A. (2005). Evaluation of total microbial count in the traditional ice cream using the impedance method. Sixth Congress of Iranian students, Ferdowsi University of Mashhad, pp. 269.
- Lee, I., Wu, Y., Hus, C.I., Liang, H.J., Yang, C.J. and Jang, H. D. (2009). A rapid and selective method for monitoring the growth of coliforms in milk, using the combination of amperometric sensor and reducing of methylene blue. *Sensors and Actuators B: Chemical Sciences*, 141: 575-580.
- Luong, J.H.T., Habibi-Rezaei, M., Meghrou, J., Xiao, C., Male, K.B. and Kamen, A. (2001). Monitoring motility, spreading, and mortality of adherent insect cells using an impedance sensor. *Analytical Chemistry*, 73: 1844-8.
- Mortazavi, A., Kashani Nejad, M. and Ziaolhagh, H. (2002). *Food Microbiology*, (Translation). Authors: Frazier, W.C. and Westhoff, D.C. 2nd reprint, Ferdowsi University of Mashhad Publication, pp. 24-26. [In Persian]
- Orsi, C., Torriant, S., Battistotti, B. and Vescovo, M. (1997). Impedance measurement to assess microbial contamination of ready to-use-vegetable. *Chemistry and Material Science*, 205(3): 248-250.
- Rahimi Fard, N. (2007). *Quick Guide for microbiological control of food, beverage, cosmetics, and sanitary*. Tehran, Teymorzadeh publications, pp. 76.
- Razavilar, V. (2002). *Food pathogens in food microbiology and epidemiology*. Second edition. Tehran, Publishing Institute of Tehran University, pp. 311.
- Ruan, C., Yang, L. and Li, Y. (2002). Immuno-biosensor chips doe detection of *Escherichia coli* O157:H7 using electrochemical impedance spectroscopy. *Analytical Chemistry*, 74: (48) 14-20.
- Spiller, E., Scholl, A., Alexy, R., Kummerer, K. and Urban, G.A. (2006). A microsystem for growth inhibition test of *Enterococcus faecalis* based on impedance measurement. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 118(1-2): 182-191.
- Stewart, G.N. (1899). The changes produced by the growth of bacteria in the molecular concentration and electrical conductivity of the culture media. *Journal of Experimental Medicine*, 4: 235-43.
- Yang, L., Li, Y. and Erf, G.F. (2004). Interdigitated array microelectrode-based electrode chemical impedance immune-sensor for detection of *Escherichia coli* O157: H7. *Analytical Chemistry*, 76: 1107-1113.

Predictive model design for microbial load based on impedance in traditional and industrial dried vegetables

Najjarpoor, N.¹, FazlAra, A.^{2*}, Tadayoni, M.³

1. M.Sc Graduate of Food Science and Technology, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran
2. Professor, Department of Food Hygiene, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran
3. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

*Corresponding Author: fazlara2000@yahoo.com
(Received: 2016/12/30 Accepted: 2017/6/15)

Abstract

This study was aimed to use of impedance technique and comparison of its results with reference method in traditional and industrial dried vegetables. In this study, 30 samples of traditional dried vegetable and 30 samples of industrial dried vegetable were tested for microbial counts by reference method of culture and Impedance device in accordance with the Instruction of Standards and Industrial Research Institute of Iran. Using impedance method, minimum and maximum number of microorganisms in traditional samples was estimated at 4.80×10^4 and 1.40×10^6 bacteria per gram, respectively. Meanwhile in industrial samples the minimum and maximum bacterial load was 6.00×10^2 and 7.00×10^5 per gram, respectively. The maximum detection time in the impedance method in industrial and traditional dried vegetables was 20.24 and 23.68 hours, respectively and minimum detection time in industrial and traditional samples was 11.35 and 8.25 hours. The results showed determination coefficients of bacterial load in dried vegetable by regression equations were 0.9169, 0.9133 and 0.8861 in traditional, industrial and total of two method dried vegetables respectively. It indicates that high correlation was between the reference and impedance methods for traditional and industrial dried vegetables. Microbial load in traditional and industrial dried vegetables was higher and lower than that of standard limit, respectively. Therefore, the impedance technique could be used as an alternative method for control of bacterial load in the dried vegetable.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Impedance, Dried vegetables, Industrial methods, Traditional methods