

بررسی تطابق امیدانس با روش شمارش میکروبی در پلیت، pH و TVN در ارزیابی بار میکروبی گوشت چرخ کرده گاو

راضیه زنگنه^۱، علی فضل آرا^{۲*}، مهدی پورمهدی بروجنی^۳

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

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

۳. دانشیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات: a.fazlara@scu.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۷/۱۰/۴ پذیرش نهایی: ۹۸/۴/۲۰)

چکیده

شمارش کلی بار میکروبی گوشت چرخ کرده گاو به روش مرجع و مطابقت نتایج با استانداردهای موجود از جمله کارهای آزمایشگاهی معمول است. از سوی دیگر سرعت دستیابی به نتایج از نکات ویژه مد نظر به منظور اطمینان از کیفیت محصول تولیدی می‌باشد. با تکیه بر این موضوع، بهره‌گیری از تکنیک امیدانس به عنوان روشی نسبتاً سریع در ارزیابی بار میکروبی گوشت چرخ کرده گاو مد نظر واقع شد که با صرف وقت کم‌تر، دستیابی سریع‌تر به نتایج را میسر می‌سازد. هم‌چنین در این مطالعه مطابقت نتایج حاصله روش امیدانس با نتایج روش مرجع، اندازه‌گیری pH و میزان ازت فرار مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی ۸۰ نمونه گوشت چرخ کرده گاو تهیه و با استفاده از روش‌های امیدانس و مرجع از نظر شمارش کلی بار میکروبی مورد ارزیابی قرار گرفتند. هم‌چنین مقدار ازت فرار و pH اندازه‌گیری شد. روش مرجع، امیدانس و pH بر اساس دستورالعمل‌های مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران انجام پذیرفت و سپس منحنی‌های انطباق چهار روش با یکدیگر و معادله‌های منحنی‌های مذکور با استفاده از روش‌های آماری و نرم‌افزار Excel به دست آمد. بر اساس نتایج، میزان تطابق روش امیدانس با روش مرجع شمارش کلی بار میکروبی ۹۳/۳۹ درصد بود. هم‌چنین میزان تطابق روش امیدانس با مقدار ازت فرار در کل داده‌ها ۶۹/۸ درصد و نیز میزان تطابق روش امیدانس با میزان pH ۷۱/۴ درصد به دست آمد. نتیجه نهایی آن‌که بر اساس مقادیر انطباق فوق‌الذکر صرفاً استفاده از روش امیدانس به عنوان یک روش جایگزین در ارزیابی بار میکروبی گوشت‌های چرخ کرده قابل توصیه می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: گوشت چرخ کرده گاو، روش امیدانس، شمارش کلی بار میکروبی، مقدار ازت فرار تام، pH

مقدمه

بنابراین با توجه به آن که شیوه رایج و متداول ارزیابی کیفیت گوشت، سنجش تراکم میکروبی با استفاده از روش مرسوم یا مرجع شمارش کلی میکروبی در گوشت می‌باشد که کاری وقت‌گیر و نیازمند آماده‌سازی‌های مقدماتی زیادی است، استفاده از روش‌های سریع‌تر جایگزین از جمله اهداف محققین و صنایع غذایی می‌باشد. (Fazlara *et al.*, 2013)

در دو دهه اخیر استفاده از روش امپدانس جهت شناسایی میکروب‌های مهم مواد غذایی و نیز شمارش کلی میکروب‌ها در غذاهای مختلف، گسترش زیادی یافته است. بر این مبنا استانداردهای AFNOR و ISO در اتحادیه اروپا به منظور بهره‌گیری از تکنیک امپدانس به عنوان جایگزین مطمئن در آزمون میکروبی مواد غذایی به جای روش‌های وقت‌گیر قدیمی، تدوین شده است. در ایران نیز استانداردهای مربوط به آیین کار شمارش کلی میکروبی با روش امپدانس و نیز جستجوی سالمونلا در مواد غذایی با روش امپدانس به شماره ۷۷۲۷ در سال ۱۳۸۴ در مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی به تصویب رسیده است (ISIRI, 7727/2015). اما استفاده از این روش در امر کنترل کیفیت محصولات و فرآورده‌ها مختلف غذایی نیازمند مطالعه و طراحی رگرسیون یا کالیبراسیون‌های ریاضی مربوطه برای هر محصول و با توجه به ویژگی‌های هم‌چون بهداشت در مراحل تولید، فصل و منطقه جغرافیایی می‌باشد. (Fazlara *et al.*, 2013)

در این مطالعه ارزیابی تراکم میکروبی گوشت چرخ کرده گاو بر اساس میزان مقاومت الکتریکی یا امپدانس (Impedance Splitting Method) مد نظر قرار گرفت تا بدین وسیله بتوان به سهولت و در حداقل زمان، تعداد

گوشت شامل همه اجزای خوراکی حیوانات خونگرم در شکل تازه یا فرایند شده است که برای مصرف انسان مناسب هستند. اما در بین عامه مردم گوشت به بافت عضله اسکلتی حاوی چربی اتصالی کم یا زیاد اطلاق می‌شود (Belitz and Grosch, 1999). گاهی نیز آن را مترادف با عضله خصوصاً عضلات مخطط می‌دانند (Rokni, 1998). در میان محصولات غذایی، گوشت یکی از حساس‌ترین مواد غذایی فسادپذیر به شمار می‌آید زیرا محیطی بسیار مساعد جهت فعالیت باکتری‌ها، مخمرها و کپک‌هاست. گوشت به دلیل خاصیت اکولوژیکی خاصی (aw, pH و مواد مغذی) که دارد به فساد بسیار حساس است (Dabbagh Moghadam and Sadeghzadeh Araghi, 2005). پس از کشتار دام مجموعه تغییرات شیمیایی، فیزیکی و میکروبی در لاشه و گوشت آغاز می‌شود. از سوی دیگر انجام عملیاتی هم‌چون چرخ کردن گوشت، باعث تسریع تغییرات فوق و به خصوص پروسه فساد می‌گردد که در اثر این تغییرات، کاهش قابل توجهی در ویژگی کیفی محصول ایجاد می‌شود. (Fazlara *et al.*, 2013)

ازدیاد جمعیت، نیاز روزافزون به مواد غذایی را طلب می‌کند. در میان مواد غذایی، محصولات پروتئینی مهم‌ترین بخش از نیازهای انسان را تأمین می‌کنند. امروزه در جهان بیماری‌های ناشی از غذا به عنوان یکی از مهم‌ترین و شایع‌ترین مشکلات سلامتی انسان مطرح هستند. روش‌های ارزیابی کیفیت گوشت نیز عمدتاً بر پایه تعیین میزان پیشرفت همین تغییرات طراحی شده‌اند. از جمله این تغییرات می‌توان به فاکتورهای تراکم میکروبی و ویژگی‌های شیمیایی اشاره نمود.

رقت مربوطه ضرب شده و نتیجه نهایی که بار میکروبی موجود در یک گرم (cfu/g) نمونه گوشت چرخ شده بود، حاصل گردید (ISIRI, ISIRI, 9899/2016; 5272/2015). انجام کشت و شمارش بار میکروبی بر روی تمامی ۸۰ نمونه و با ۳ تکرار به انجام رسید.

- کشت به روش امپدانس

آزمایش کشت میکروبی در ۳۰ درجه سلسیوس از طریق دستگاه آنالایزر میکروبی باک تراک ۴۳۰۰ (Sylab, Austria) انجام شد که بر اساس اندازه‌گیری مقاومت ظاهری و یا هدایت الکتریکی در محیط کشت بین الکترودهای موجود در ویال‌های آزمایشگاهی ویژه دستگاه امپدانس صورت می‌گیرد. در این روش به‌ازای هر نمونه، یک ویال آزمایشگاهی استریل الکتروودار ویژه روش امپدانس آماده گردید. به این ترتیب که پس از تهیه رقت ۰/۱ از گوشت چرخ کرده گاو (مخلوط ۱۰ گرم گوشت چرخ شده با ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل) به‌وسیله سمپلر ۱۰۰۰ میکرولیتری (Brand, Germany)، ۱ میلی‌لیتر از نمونه همگن (با رقت ۰/۱) برداشته و در ویال آزمایشگاهی ویژه روش امپدانس ریخته شد. مشخصات لوله شامل نوع و شماره نمونه وارد نرم‌افزار دستگاه شد و پروتوکل مربوط به ارزیابی شمارش کلی میکروبی در ۳۰ درجه سلسیوس با استفاده از تغییرات امپدانس یا مقاومت الکتریکی در محیط کشت (Media Value or M-Value) با مدت زمان گرم شدن اولیه یک ساعت و حد آستانه معادل ۵ درصد و فواصل زمانی اندازه‌گیری امپدانس معادل هر ۱۰ دقیقه برای طول مدت زمان حداکثر ۲۴ ساعت کارکرد دستگاه تنظیم گردید. نتایج حاصله از اندازه‌گیری میزان تغییرات امپدانس و به‌تبع آن هدایت

بیش‌تری از نمونه‌ها را از نظر کیفیت میکروبی مورد ارزیابی قرار داد. هم‌چنین در این مطالعه ارزیابی میزان تطابق روش امپدانس با تغییرات TVN و pH که از جمله فاکتورهای شیمیایی گوشت می‌باشند، نیز مد نظر قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

- روش نمونه‌گیری

تعداد ۸۰ نمونه گوشت چرخ کرده گاو از قصابی‌های شهر اهواز خریداری شدند. نمونه‌ها در شرایط سرما و در کنار یخ سریعاً به آزمایشگاه مواد غذایی منتقل شد و اولین سری آزمایش‌ها شامل شمارش کلی میکروبی، اندازه‌گیری ازت فرار تام و نیز تغییرات امپدانس و pH حداکثر در طی مدت ۲۴ ساعت انجام گرفت.

- کشت به روش مرجع

پس از برداشت ۲۵ گرم گوشت چرخ کرده از هر نمونه، در دستگاه استوماکر (Interscience Bag Mixer, France) همگن‌سازی شد و در محلول سالین ۰/۸۵ گرم در لیتر نمک، رقت‌های متوالی ده‌برابری تهیه گردید. کشت در محیط استاندارد پلیت کانت (Standard Plate Count Agar) به‌روش پورپلیت (Merck, Germany) انجام شد. کشت‌ها در در انکوباتور (Memert, Germany) با دمای ۳۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. پلیت‌هایی که بین ۳۰ تا ۳۰۰ کلنی داشتند انتخاب و تعداد کلنی‌های آن‌ها شمارش شد. سپس برای هر نمونه، به‌منظور گزارش تراکم میکروبی، تعداد کلنی‌های شمارش شده در پلیت، در ضریب و نسبت معکوس

۴۵ میلی لیتر آب مقطر به طور کامل همگن شد، سپس الکتروود دستگاه یک بار با استفاده از آب مقطر شستشو داده شد و پس از آن وارد ارلن محتوی نمونه شد. عدد ثبت شده به عنوان pH یادداشت گردید (Namir et al., 2015; Fan et al., 2009).

- تجزیه تحلیل داده ها

نتایج حاصل از شمارش کلی میکروبی به روش مرجع و نیز مدت زمان به دست آمده جهت ارزیابی بار میکروبی بر حسب ساعت توسط دستگاه امپدانس در سیستم نرم افزاری ویژه دستگاه آنالیزر میکروبی باک تراک ۴۳۰۰ که بر اساس Excel طراحی شده است، ثبت می گردید و منحنی ارتباط دو روش با بالاترین ضریب تعیین (R^2) به دست آمده 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 می شد (ISIRI, 7726/2015). هم چنین منحنی های مربوط به رگرسیون یا پراکنش زمان های به دست آمده از دستگاه امپدانس با لگاریتم مقادیر بار میکروبی، زمان های به دست آمده از دستگاه امپدانس با TVN، لگاریتم بار میکروبی با TVN، زمان های به دست آمده از دستگاه امپدانس با pH، لگاریتم شمارش میکروبی با میزان pH و نیز میزان ازت فرآر تام بر حسب میلی گرم درصد با میزان pH با استفاده از نرم افزار Excel رسم گردید.

الکتریکی در نرم افزار دستگاه آنالیزر میکروبی باک تراک ۴۳۰۰ ثبت شد (ISIRI, 7726/2015).

- اندازه گیری ازت فرار تام

برای اندازه گیری ازت فرار تام از دستگاه کلدال اتوماتیک (Bakhshi, Iran) استفاده شد. در ابتدا ۱۰۰ گرم از گوشت چرخ کرده گاو در داخل هاون چینی کاملاً همگن گردید. سپس ۱۰ گرم از گوشت همگن شده توسط ترازوی دیجیتالی (با دقت ۰/۰۱) وزن گردید و همراه با مقدار ۱/۵ گرم اکسیدمنیزیم (Merck, Germany) به بالن هضم کلدال وارد و سپس ۶۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. یک ارلن که با آب مقطر شسته شده بود، به عنوان ظرف گیرنده در زیر قسمت مبرد دستگاه تقطیر قرار گرفت و به آن ۱۰ قطره معرف متیل رد ۰/۱ درصد (Merck, Germany) اضافه شد. پس از روشن شدن دستگاه، محلول اسید بوریک ۲ درصد (Sumchun, Korea) به میزان ۴۰ میلی لیتر و به طور اتوماتیک توسط دستگاه به ارلن گیرنده اضافه شد. پس از روشن شدن دستگاه، عمل جوش و تقطیر با توان گرمایی وات ۵۰۰ p: حداکثر در مدت زمان ۲۵ دقیقه انجام گرفت. در نهایت محلول تقطیر شده توسط محلول تیترازول اسیدسولفوریک ۰/۱ نرمال (Merck, Germany) تیتراژ گردید و بر اساس مقدار اسید مصرفی، مقدار ازت فرار تام بر حسب میلی گرم در ۱۰۰ گرم گوشت چرخ کرده گاو محاسبه شد (Ojagh et al., 2010; Parvaneh, 2007).

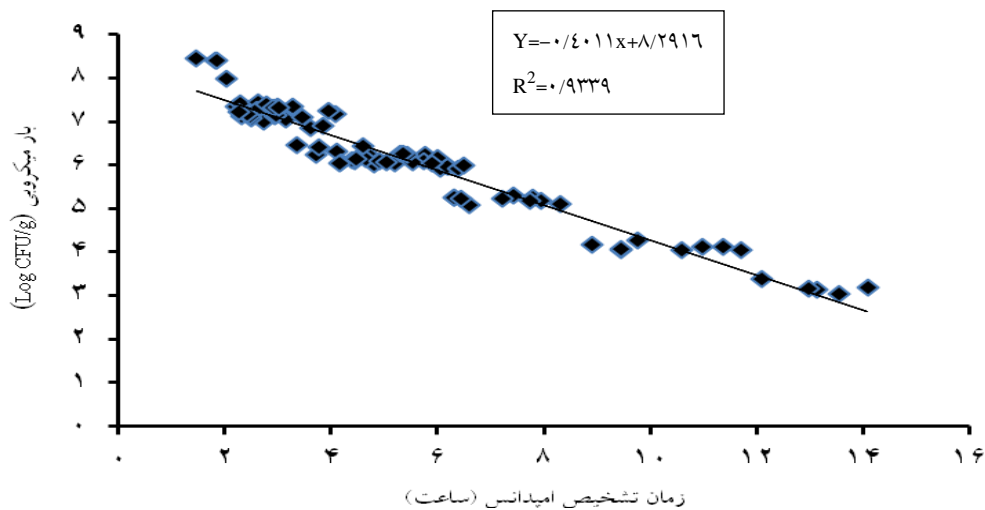
- اندازه گیری pH

جهت اندازه گیری pH از pH متر دیجیتالی (Sartorius, Germany) استفاده شد. پس از اطمینان از کالیبره بودن دستگاه، مقدار ۵ گرم گوشت چرخ شده با

یافته‌ها

- ارتباط بین امپدانس و شمارش کلی میکروبی به روش مرجع

ارتباط زمان‌های به‌دست آمده از دستگاه امپدانس با بار میکروبی گوشت چرخ کرده گاو حاصل از روش مرجع در منحنی پراکنش (نمودار ۱) که شامل کل داده‌ها (۸۰ نمونه گوشت) می‌باشد، ارائه گردیده است.



نمودار (۱)- منحنی ارتباط زمان‌های به‌دست آمده از دستگاه امپدانس با مقادیر بار میکروبی در ۸۰ نمونه گوشت چرخ کرده گاو

آمده در نمودار (۱) که ۰/۹۳۳۹ است، بیانگر میزان بالای قدرت پیشگویی مقادیر بار میکروبی گوشت چرخ کرده گاو با بهره‌گیری از تکنیک امپدانس می‌باشد و زمان محاسبه شده در امپدانس ۹۳/۳۹ درصد از تغییرات لگاریتم تعداد باکتری را توجیه می‌کند.

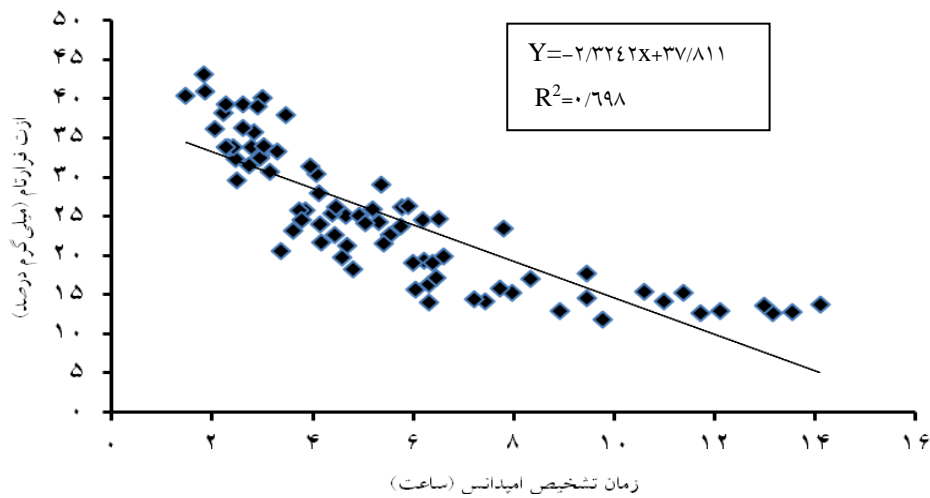
- ارتباط بین امپدانس و TVN

ارتباط زمان‌های به‌دست آمده از روش امپدانس با مقدار TVN گوشت چرخ کرده گاو در منحنی پراکنش (نمودار ۲) نشان داده شده است.

معادله رگرسیونی مقدار زمان‌های تعیین شده به‌وسیله دستگاه باک‌تراک ۴۳۰۰ با مقدار بار میکروبی گوشت چرخ کرده گاو به شرح زیر به‌دست آمد:

$$Y = -0.4011X + 8.2916$$

این معادله نشان می‌دهد که با افزایش ۱ واحد به زمان امپدانس به‌طور متوسط ۰/۴۰ از لگاریتم تعداد باکتری کاسته می‌شود (لگاریتم تعداد باکتری = Y و زمان امپدانس = X). مقدار ضریب تعیین (R²) به‌دست



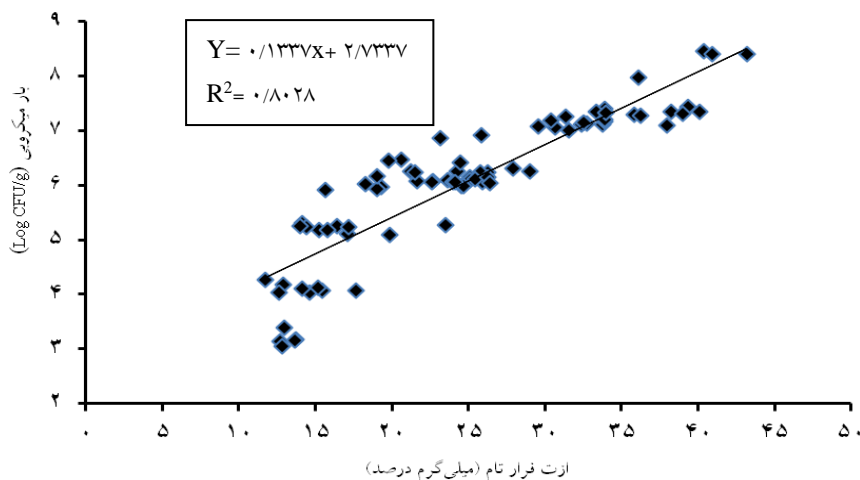
نمودار (۲) - منحنی ارتباط زمان‌های به دست آمده از دستگاه امیدانس با TVN در ۸۰ نمونه گوشت چرخ کرده گاو

می‌باشد که بیانگر این است که ۶۹/۸ درصد از تغییرات TVN به وسیله امیدانس قابل توجیه می‌باشد.
- ارتباط بین TVN و شمارش کلی بار میکروبی -
ارتباط بین TVN و شمارش کلی بار میکروبی نمونه‌ها گاو در منحنی پراکنش (نمودار ۳) نشان داده شده است.

معادله رگرسیونی مقدار TVN با زمان‌های تعیین شده به وسیله دستگاه باک‌تراک ۴۳۰۰ به شرح زیر به دست آمد:

$$Y = -2/3242X + 37/811$$

این معادله نشان می‌دهد که با افزایش ۱ واحد به زمان امیدانس به‌طور متوسط ۲/۳۲ از مقدار TVN کاسته می‌شود (Y= TVN و X= زمان امیدانس) میزان ضریب تعیین بین مقدار TVN و زمان‌های تعیین شده به وسیله دستگاه باک‌تراک ۴۳۰۰ در کل داده‌ها ۰/۶۹۸



نمودار (۳) - منحنی ارتباط بار میکروبی با TVN در ۸۰ نمونه گوشت چرخ کرده گاو

نشان می‌دهد که ۸۰/۲۸ درصد از تغییرات بار میکروبی توسط TVN قابل توجیه می‌باشد.

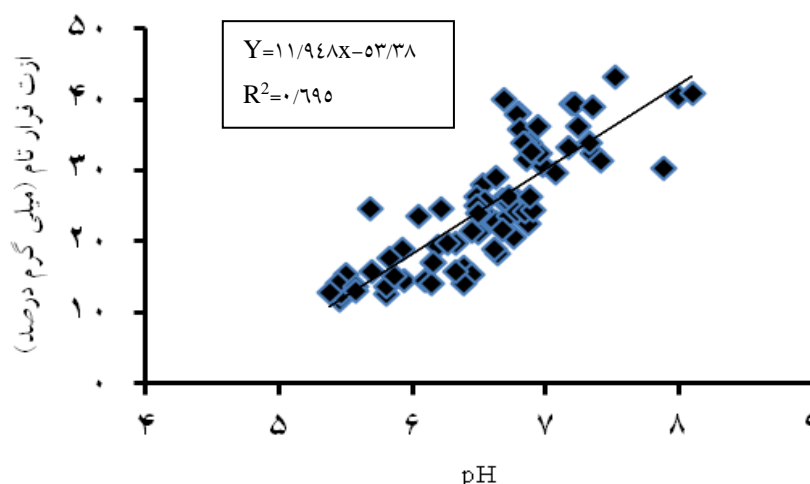
- ارتباط بین TVN و pH

ارتباط بین TVN با مقدار pH گوشت چرخ‌کرده گاو در منحنی پراکنش (نمودار ۴) در شکل زیر نشان داده شده است.

معادله رگرسیونی مقدار بار میکروبی با TVN به شرح ذیل به دست آمد:

$$Y = 0.1337X + 2.1337$$

این معادله نشان می‌دهد که با افزایش ۱ واحد به TVN به طور متوسط ۰/۱۳ به لگاریتم تعداد باکتری افزوده می‌شود (لگاریتم تعداد باکتری = Y و X=TVN). میزان ضریب تعیین بین مقدار بار میکروبی و مقدار TVN در گوشت چرخ‌کرده گاو ۰/۸۰۲۸ می‌باشد و



نمودار (۴)- منحنی ارتباط مقدار TVN با pH در ۸۰ نمونه گوشت چرخ‌کرده گاو

و نشان می‌دهد که ۶۹/۵ درصد از تغییرات TVN توسط pH قابل توجیه می‌باشد.

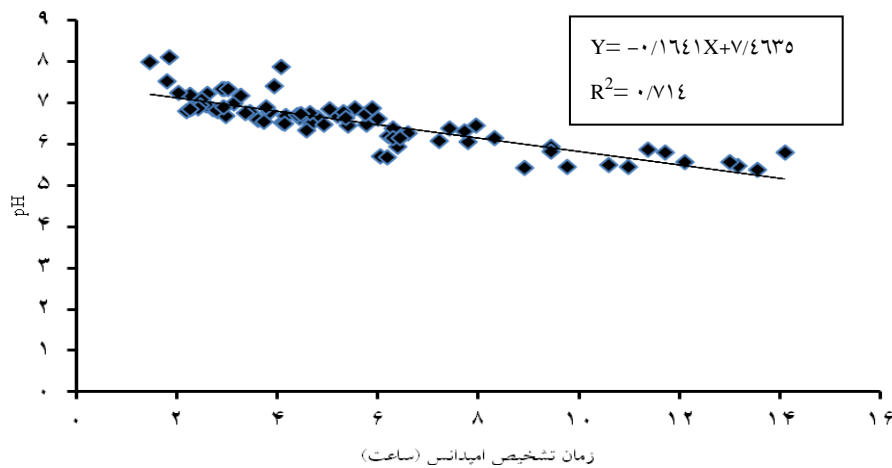
- ارتباط بین امپدانس با مقدار pH

ارتباط زمان‌های به دست آمده از دستگاه امپدانس با مقدار pH در گوشت چرخ‌کرده گاو در منحنی پراکنش (نمودار ۵) ارائه گردیده است.

معادله رگرسیونی مقدار TVN با pH به شرح ذیل می‌باشد:

$$Y = 11.948X - 53.38$$

این معادله نشان می‌دهد که با افزایش ۱ واحد به pH به طور متوسط ۱۱/۹ به مقدار TVN افزوده می‌شود (X= pH و Y= TVN)، میزان ضریب تعیین بین مقدار pH و TVN در گوشت چرخ‌کرده گاو ۰/۶۹۵ می‌باشد



نمودار (۵)- منحنی ارتباط زمان‌های به‌دست آمده از دستگاه امیدانس با مقادیر pH در ۸۰ نمونه گوشت چرخ کرده گاو

دستگاه باک‌تراک ۴۳۰۰ در روش امیدانس ۰/۷۱۴ می‌باشد و ۷۱/۴ درصد از تغییرات pH به‌وسیله امیدانس قابل توجیه است.

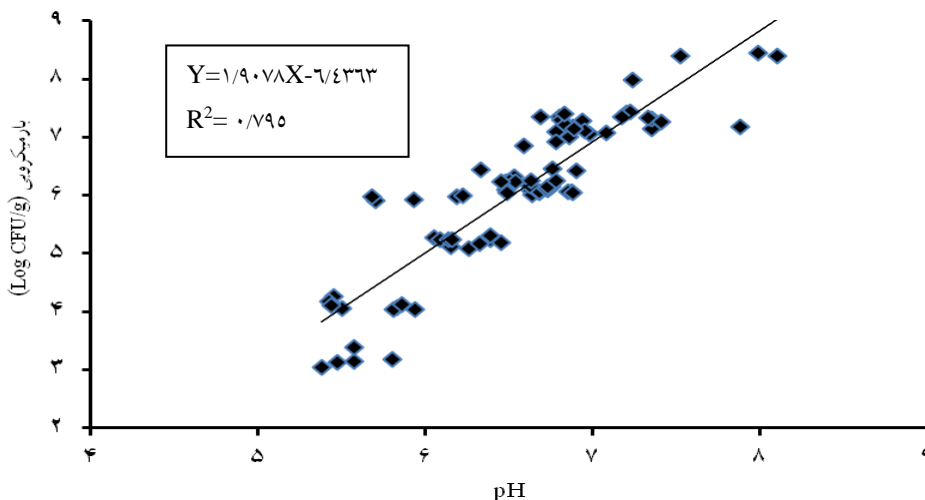
- ارتباط pH و شمارش کلی بار میکروبی

ارتباط pH با مقدار بار میکروبی در گوشت چرخ کرده گاو در منحنی پراکنش (نمودار ۶) ارائه گردیده است.

معادله رگرسیونی pH با زمان‌های تعیین شده به‌وسیله دستگاه امیدانس باک‌تراک ۴۳۰۰ به شرح ذیل به‌دست آمد:

$$Y = -0.1641X + 7.4635$$

این معادله نشان می‌دهد که با افزایش ۱ واحد به زمان امیدانس به‌طور متوسط ۰/۱۶ از مقدار pH کاسته می‌شود (Y=pH و X= زمان امیدانس). میزان ضریب تعیین بین مقدار pH و زمان‌های تعیین شده به‌وسیله



نمودار (۶)- منحنی ارتباط pH با مقدار بار میکروبی در ۸۰ نمونه گوشت چرخ کرده گاو

معادلات رگرسیونی حاصل معادل ۹۳/۳۹ بود که این موضوع بیانگر کاربردی بودن مناسب روش امپدانس در تعیین بار میکروبی گوشت چرخ کرده گاو می‌باشد. تحقیقات مشابه دیگر در زمینه استفاده از روش امپدانس در کنترل کیفیت میکروبی مواد غذایی مختلف به انجام رسیده است. در طی تحقیقی روش امپدانس در مقایسه با روش کشت مرجع در پلیت به منظور شناسایی انتروکوک‌های موجود در سطوح در تماس با مواد غذایی استفاده شد و با توجه به انطباق بالای روش مرجع با روش امپدانس ($R=0/92$)، روش امپدانس جایگزین روش مرجع برای شناسایی انتروکوک توصیه شد (Andrade et al., 1998). در همین رابطه روش امپدانس و اندازه‌گیری مقاومت الکتریکی برای ارزیابی تراکم انتروکوک و پایش بقاء آن‌ها در محیط کشت نیز استفاده شده است (Spiller et al., 2006). هم‌چنین در مطالعه دیگر تراکم کلی میکروبی در انواع بستنی‌های عرضه شده در شهر بلونا ایتالیا با استفاده از روش استاندارد مرجع و نیز روش امپدانس ارزیابی شد. میزان انطباق دو روش خوب و معادل ۰/۷۷۹۴ گزارش شد و نشان داد که روش امپدانس 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). در مطالعه دیگری با استفاده از تکنیک امپدانس، شمارش سریع بیفیدوباکتریوم لاکتیس (پروبیوتیک) در ۴۰ درجه سلسیوس مورد بررسی قرار گرفت و میزان انطباق دو روش ۹۸/۷۴ درصد گزارش شد و نتایج حاصل از دو روش مرجع و امپدانس از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (Walker et al., 2005). هم‌چنین ردیابی

معادله رگرسیونی شمارش کلی میکروبی در گوشت چرخ کرده گاو با pH به شرح ذیل به دست آمد:

$$Y=1/9.078X - 6/4363$$

این معادله نشان می‌دهد که با افزایش ۱ واحد pH به‌طور متوسط ۱/۹ به لگاریتم تعداد باکتری افزوده می‌شود (لگاریتم تعداد باکتری = Y و X=pH). میزان ضریب تعیین بین مقدار مقادیر بار میکروبی در گوشت چرخ کرده گاو و مقدار pH معادل ۰/۷۹۵ می‌باشد و نشان می‌دهد که ۷۹/۵ درصد از تغییرات بار میکروبی توسط pH قابل توجیه می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

اندازه‌گیری مقاومت الکتریکی (امپدانس) روش نسبتاً سریعی است که در آن شناسایی سریع میکروب‌ها از طریق نمایش فعالیت‌های متابولیک به‌وسیله ایجاد تغییر در مقاومت الکتریکی امکان‌پذیر می‌شود. از سوی دیگر روش مرجع مبتنی بر شمارش کلی میکروبی می‌باشد که در واقع تعداد ارگانیزم‌های زنده را به‌صورت کلنی‌های قابل رویت در سطح محیط کشت آشکار می‌نماید. با طراحی منحنی‌های کالیبراسیون دو روش که بر اساس معادلات رگرسیونی صورت می‌پذیرد و برای هر ماده غذایی به‌طور مجزا طراحی می‌گردد، می‌توان بار میکروبی را با استفاده از روش امپدانس و معادله رگرسیونی مربوطه به‌طور محاسباتی پیشگویی نمود (Yang and Bashir., 2008).

در مطالعه حاضر میزان پیشگویی مقادیر بار میکروبی نمونه‌های گوشت چرخ کرده گاو با استفاده از

فساد گوشت بوقلمون بسته‌بندی شده در اتمسفر اصلاح شده (MAP: Modified atmosphere package) از نظر شاخص‌های میکروبی و ارتباط آن‌ها با ازت فرار تام، مورد بررسی قرار گرفت. طبق نتایج، بعد از ۱۲ روز افزایش قابل‌توجهی در تعداد مزوفیل‌ها، سرمدوست‌های هوازی و هم‌چنین افزایش ازت فرار تام ملاحظه گردید. بر اساس نتایج، ارتباط معنی‌داری بین فاکتورهای مورد مطالعه وجود داشت و بیان شد که ازت فرار تام می‌تواند به‌عنوان شاخصی در ارزیابی فساد میکروبی گوشت بوقلمون مطرح باشد (Fraqueza et al., 2008). در مطالعه دیگر با بررسی اثرات اسانس‌های گیاهی بر گوشت چرخ کرده گزارش گردید که این اسانس‌ها اثر قابل‌توجهی در کاهش بار میکروبی و شاخص‌های شیمیایی مانند ازت فرار تام، pH و TBA دارند و فاکتورهای مذکور دارای همبستگی خوبی با هم بودند (Amany et al., 2010). به‌همین ترتیب ارتباط خوبی بین بار باکتری‌های مولد فساد و ازت فرار تام در ماهی آزاد دریایی نگه‌داری شده در یخ گزارش شده است (Hozbor et al., 2006). هم‌چنین تحقیق بر روی ماهی شبه شوریده، ارتباط قوی ($r = 0.98$) بین شمارش بار میکروبی کل و میزان ازت فرار تام را نشان داده است (Joseph and Adnes., 2004).

تاکنون مطالعات زیادی از نظر بررسی کیفیت مواد غذایی مختلف به‌وسیله اندازه‌گیری امیدانس و ازت فرار تام به‌صورت مجزا از یکدیگر صورت پذیرفته است. در حالی‌که طی بررسی و جستجوهای انجام شده که ضمن اجرای مطالعه حاضر در منابع موجود و پایگاه‌های اطلاعات علمی صورت گرفت، تنها یک مطالعه مبنی بر بررسی دو فاکتور امیدانس و ازت فرار تام به‌طور

استافیلوکوکوس/اورئوس با روش امیدانس در گوشت ماکیان تازه و پخته شده با استفاده از محیط انتخابی حاوی آکریفلاوین و نالیدیکسیک اسید در کم‌تر از ۱۱/۵ ساعت گزارش شده است (Glassmoyer and Russell., 2001). در مطالعه‌ای دیگر کاربرد امیدانس در صنایع غذایی برای ارزیابی کشت‌های آغازگر در شیر سویا مورد بررسی قرار گرفت و ارتباط خطی بین شمارش باکتری‌های کشت‌های آغازگر و زمان تعیین امیدانس با ضریب همبستگی بالا ($r = -0.95$) به‌دست آمد (Garro et al., 2001). به‌طور کلی با توجه به موارد فوق و این که روش امیدانس در مدت زمان کوتاه‌تر، تعداد نمونه‌های بیش‌تری را می‌تواند مورد ارزیابی قرار دهد، این تکنیک می‌تواند جایگزین مناسبی برای روش‌های قدیمی و وقت‌گیر باشد.

اندازه‌گیری ازت فرار تام شامل اندازه‌گیری فاکتورهای مثل تری‌متیل‌آمین (TMA) که توسط باکتری‌های عامل فساد تولید می‌شوند، دی‌متیل‌آمین (DMA) که توسط آنزیم‌های اتولیز کننده در طی دوره نگه‌داری تولید می‌شوند، آمونیاک (که توسط آمین‌زدایی اسیدهای آمینه و کاتابولیسم نوکلئوتیدها ساخته می‌شوند) و سایر ترکیبات نیتروژنی فرار است (Malle and Poumeyrol., 1989). مطالعات مختلفی در مورد ارتباط بین ازت فرار تام با مقادیر بار میکروبی انجام شده است و اگرچه این مطالعات عمدتاً در مورد آبزیان مختلف به انجام رسیده است، نتایج آن‌ها حاکی از آن است که در بسیاری موارد این دو فاکتور دارای ارتباط و همبستگی نسبتاً خوبی بوده‌اند که از جمله گزارشاتی که این همبستگی را تصدیق می‌کنند می‌توان به موارد متعددی اشاره نمود. از آن جمله در مطالعه‌ای

هم‌چنین میزان تطابق روش امپدانس با مقدار ازت فرار در کل داده‌ها ۶۹/۸ درصد و نیز میزان تطابق روش امپدانس با میزان pH ۷۱/۴ درصد به‌دست آمد. بنابه نتایج حاصله، به لحاظ اهمیت دست‌یابی هرچه سریع‌تر نتایج در آزمون‌های کنترل کیفیت غذایی، بهره‌گیری از تکنیک‌های سریع‌تر هم‌چون روش امپدانس در صنایع غذایی به‌عنوان جایگزین برای روش‌های مرسوم قدیمی می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد که در چند سال اخیر نیز در برخی کشورهای توسعه یافته به‌منظور کنترل کیفیت مواد غذایی مختلف به‌کار رفته است.

سپاسگزاری

هزینه‌های انجام مطالعه حاضر از طریق پژوهانه سال ۱۳۹۷ دانشگاه شهید چمران اهواز تأمین شده است که بدین‌وسیله از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه سپاسگزاری می‌نماید.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی برای اعلام ندارند.

هم‌زمان و ارزیابی میزان همبستگی و مقایسه آن‌ها انجام شده است. در مطالعه مذکور بر روی رگرسیون تراکم میکروبی بر اساس امپدانس در فیله گوشت ماکیان، میزان همبستگی بالایی بین امپدانس و ازت فرار تام ملاحظه شد و میزان انطباق مقادیر ازت فرار تام با روش امپدانس به تفکیک در فصول سرد و گرم و نیز کل داده‌ها به‌ترتیب معادل ۸۱/۵، ۸۵/۴ و ۸۲/۵ درصد بود (Fazlara *et al.*, 2013)؛ لذا بر این اساس و بر خلاف مطالعه حاضر، می‌توان اظهار داشت که امپدانس می‌تواند به‌عنوان یک روش جدید و نسبتاً سریع و قابل استناد با استفاده از رگرسیون طراحی شده مربوطه، علاوه بر ارزیابی و تخمین بار میکروبی، در تعیین میزان ازت فرار تام نیز کاربرد داشته باشد. هر چند که تحقیق حاضر با توجه به‌میزان تطابق روش امپدانس با میزان ازت فرار تام معادل ۶۹/۸ درصد این موضوع را مورد تأیید قرار نداد و به‌عبارتی اظهار نظر قطعی در خصوص کاربردی شدن بهره‌گیری از تکنیک امپدانس در تعیین میزان ازت فرار تام نیازمند انجام تحقیقات و مطالعات بیشتر می‌باشد.

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، میزان تطابق روش امپدانس با روش مرجع شمارش کلی بار میکروبی در گوشت چرخ کرده گاو ۹۳/۳۹ درصد بود.

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.
- Amany, M.S., Reham, A. and Gehan, S.A. (2010). Studies on antimicrobial and antioxidant efficiency of some essential oil on minced beef. *Journal of American Science*, 6(12): 691-700.
- Belitz, H.D. and Grosch, W. (1999). *Food Chemistry*. 2nd Edition, Springer, New York. pp. 527-578.
- Dabbagh Moghadam, A. and Sadeghzadeh Araghi, O. (2005). *Text Book in Meat Hygiene and Inspection*. 1st Edition. Marz Danesh Publication. pp. 3-13. [In Persian]

- Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y. and Chi, Y. (2009). Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Food Chemistry*, 115(1): 66-70.
- Fazlara, A., Pourmahdi Brojeni, M. and Jaferi, F. (2013). Mathematical modeling of microbial load in poultry meat fillets according to Impedance-Splitting method and evaluation its correlation with total volatile nitrogen (TVN). *Journal of Food Science and Technology*, 41(10): 35-46. [In Persian]
- Fazlara, A., Zareie, M. and Mottaghian, N. (2013). Designing predictive model for microbial load in raw and pasteurized milk with measuring electrical resistance (Impedance-Splitting Method) and survey on its correlation with milk titrable acidity. *Iranian Veterinary Journal*, 9(2): 97-105. [In Persian]
- Fraqueza, M.J., Ferreira, M.C. and Barreto, A.S. (2008). Spoilage of light (PSE-like) and dark turkey meat under aerobic or modified atmosphere package: Microbial indicators and their relationship with total volatile basic nitrogen. *British Poultry Science*, 49(1): 12-20.
- Garro, M.S., Devaldez, G.F. and Degiori, G.S. (2001). Application of conductimetry for evaluation of lactic starter cultures in soy milk. *Journal of Food Science*, 67(3): 1175-1178.
- 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(1): 44-50.
- Grossi, M., Lanzoni, M., Pompei, A., Lazzarini, R., Matteuzzi, D. and Ricco, B. (2008). Detection of microbial concentration in ice-cream using the impedance technique. *Biosensors and Bioelectronics*, 23(11): 1616- 1623.
- Hozbor, M.C., Saiz, A.I., Yeannes, M.I. and Fritz, R. (2006). Microbiological change and its correlation with quality indices during aerobic iced storage of sea salmon (*Pseudoperca semifasciata*). *LWT-Food Science and Technology*, 39(2): 99-104.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI) (2016). Microbiology of food and animal feeding stuffs, General requirements and guidance for microbiological examinations. 1st Revision, ISIRI No.9899. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI) (2015). Microbiology of foodstuffs, Fundamentals for detection and determination of microorganisms in foodstuffs with impedance method. 1st Revision, ISIRI No. 7726. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI) (2015). Microbiology of the food chain, Horizontal method for the enumeration of microorganisms-Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique. 1st Revision, ISIRI No. 5272. [In Persian]
- Joseph, O. and Adnes, O. (2004). Storage life of croaker (*Pseudotholitus senegalensis*) in ice and ambient temperature. *African Journal of Biomedical Research*, 7(1): 13-17.
- Malle, P. and Poumeyrol, M. (1989). A new chemical criterion for the quality of fish: trimethylamine/total volatile basic nitrogen. *Journal of Food Protection*, 52(6): 419-423.
- Namir, M., Siliha, H. and Ramadan, M.F. (2015). Fiber pectin from tomato pomace: characteristics, functional properties and application in low-fat beef burger. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 9(3): 305-312.
- Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H., and Hosseini, S.M.H. (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 120(1): 193-198.
- Parvaneh, V. (2007). Quality Control and the Chemical Analysis of Food. 4th Edition, Tehran University Press, pp. 241– 255. [In Persian]
- Rokni, N. (1998). Meat Science and Technology. Tehran University Press. pp. 240-242. [In Persian]
- 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.

-
- Walker, K., Ripandelli, N. and Flint, S. (2005). Rapid enumeration of *Bifidobacterium lactis* in milk powders using impedance. *International Dairy Journal*, 15(2): 183-188.
 - Yang, L. and Bashir, R. (2008). Electrical/electrochemical impedance for rapid detection of food borne pathogenic bacteria. *Biotechnology Advances*, 26(2): 135- 150.

Correlation of impedance with plate count method, pH, and TVN in the evaluation of microbial load of minced beef

Zangeneh, R.¹, Fazlara, A.^{2*}, Pourmahdi, M.³

1. M.Sc Graduated student of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
2. Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
3. Associate Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

*Corresponding Author: a.fazlara@scu.ac.ir
(Received: 2018/12/25 Accepted: 2019/7/11)

Abstract

Measuring the total microbial count of cow minced meat with the conventional method and comparing the result with standard limits is one of the routine tests. Achieving the results of total microbial count in minimum time is really important for confidence from the hygienic quality of products. So impedance-splitting method as a new technique for this purpose was considered in order to receive the results in less time and as soon as possible. The main purpose of the study was to evaluate the correlation between impedance detection times (IDT in hrs), total microbial population (log CFU/g), total volatile nitrogen (TVN) and pH of minced meat. Totally 80 minced meat samples were collected and examined for the total microbial count by reference and impedance - splitting methods, also total volatile nitrogen and pH were measured based on the recommendations of Iran's Standard Institute and Industrial Investigation. Then the calibration curves of methods and their equations were obtained by using Excel software. The calibration curves of methods were elaborated for total microbial count and impedance detection time, demonstrating a good correlation between the two methods in mince neat samples equal to %93/39. Also according to the calibration curves, the correlation between impedance detection time and total volatile nitrogen in all of the samples was equal to %69.8. Also, the correlation between total microbial count and pH was equal to %71/4. According to the aforementioned correlation values, the impedance technique could be only recommended as an alternative method in evaluating the microbial load of the minced meat.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Minced beef, Impedance method, Total microbial count, TVN, pH