جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بررسی روش اندازه‌گیری بار میکروبی شیر خام و پاستوریزه با استفاده از اندازه‌گیری مقاومت الکتریکی (امپدانس) و تطابق آن با اسیدیته قابل تیتر شیر

علی فضل‌آرا[۱]، مهدی زارعی[۲] و ناهید متقیان[۳]

تاریخ دریافت: ۹۰/۹/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۱/۸/۷

خلاصه

شمارش کلی بار میکروبی نمونه‌های شیر به روش مرجع پورپلیت و مطابقت نتایج حاصله با استانداردهای موجود، از جمله کارهای آزمایشگاهی معمول در تمامی کارخانجات صنایع شیر است. از سوی دیگر، سرعت دستیابی به نتایج در اسرع وقت از جمله نکات ویژه و مدنظر کارخانجات به منظور اطمینان از کیفیت محصول تولیدی و در حال توزیع می‌باشد. لذا با تکیه بر این موضوع، بهره‌گیری از تکنیک امپدانس در ارزیابی بار میکروبی شیرهای خام و پاستوریزه مد نظر واقع شد که با صرف وقت کمتر، دستیابی سریع‌تر به نتایج را میسر می‌سازد. همچنین در این مطالعه، مطابقت نتایج حاصله از روش امپدانس با نتایج به دست آمده از روش مرجع پورپلیت و نیز اسیدیته قابل تیتر در شیر مورد بررسی واقع گردید. در طی این بررسی، تعداد ۱۰۰ نمونه شیر (۵۰ نمونه پاستوریزه و ۵۰ نمونه خام) تهیه شد و با استفاده از روش امپدانس و نیز روش مرجع پورپلیت مورد ارزیابی از نظر شمارش کلی بار میکروبی قرار گرفتند. همچنین مقدار اسیدیته شیر بر اساس درجه دورنیک اندازه‌گیری شد. روش پورپلیت، اسیدیته شیر و روش امپدانس، بر اساس دستورالعمل‌های موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران انجام پذیرفت و سپس با استفاده از نتایج، منحنی‌های مربوط به انطباق سه روش با یکدیگر و معادله منحنی‌های مذکور با استفاده از روش‌های آماری و نرم‌افزار Excel به دست آمد. بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، میزان تطابق روش امپدانس با روش مرجع پورپلیت در شیرهای پاستوریزه ۹۵/۰۱٪ و در شیرهای خام ۹۵/۲۹٪ بود. همچنین میزان تطابق روش امپدانس با مقدار اسیدیته قابل تیتر در شیرهای خام براساس درجه دورنیک ۸۸/۸۳٪ و در شیرهای پاستوریزه ۸۵/۴٪ و نیز میزان تطابق مقدار بار باکتریایی شیر با مقدار اسیدیته در شیرهای خام و پاستوریزه به ترتیب ۹۴/۱۴٪ و ۹۳/۲۷٪ به دست آمد. بنابر نتایج مطالعه حاضر، تکنیک امپدانس به عنوان جایگزینی برای روش‌های مرسوم قدیمی می تواند مورد استفاده باشد.

کلمات کلیدی: شیر، امپدانس، بار میکروبی، اسیدیته

مقدمه

مفهوم اندازه‌گیری امپدانس الکتریکی رشد میکروبی اولین بار توسط جی. ان. استوارت در سال ۱۸۹۹ شناخته شد. اما تا سال ۱۹۷۰ از این تئوری برای ارزیابی و شناسایی میکروب‌ها استفاده نشده بود (Jay et al., 2005). در این روش، تشخیص سریع وجود باکتری‌ها از طریق نمایش فعالیت‌های متابولیک به وسیله ایجاد تغییر در مقاومت الکتریکی در محیط کشت امکان‌پذیر می‌باشد (رضویلر، ۱۳۸۲). اگرچه تکنیک آنالیزی امپدانس نیز بر پایه فرآیند کشت می‌باشد، اما این روش اساساً و کاملاً با شناسایی میکروارگانیسم‌ها با استفاده از روش‌های استاندارد در پلیت (پورپلیت، اسپاتولاپلیت، دراپ پلیت و اسپیرال پلیت) متفاوت است. امروزه سعی بر آن است که از روش‌های نوین سریع و دقیق در شناسایی میکروب‌ها در مواد غذایی نظیر امپدانس به عنوان جایگزینی برای روش‌های مرسوم قدیمی در امر کنترل کیفیت محصولات و فراورده‌ای غذایی استفاده گردد (نوری و همکاران،

[۱] دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز
[۲] استادیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز
[۳] دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز
E-mail: Fazlara2000@yahoo.com (نویسنده مسئول)

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

۱۳۸۶). از جمله این موارد می‌توان به بهره‌گیری از تکنیک امپدانس در نقاط مختلف جهان در تشخیص آلودگی‌های غذایی و شناسایی عوامل بیماری‌زای مختلف نظیر انتروکوک‌ها (Andrad et al., 1998)، کلستریدیوم پرفرینجنس (Fontana et al., 2002)، لیستریا (فضل‌آرا، ۱۳۸۸)، سالمونلا (Yang et al., 2004)، اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس آرئوس (Fazlara et al., 2007) اشاره نمود.

بار میکروبی از فاکتورهای بسیار مهم در ارزیابی کیفیت شیر می‌باشند. شمارش کلی میکروبی شیرهای خام و پاستوریزه به روش مرجع پورپلیت (طبق دستورالعمل موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران) و مطابقت نتایج حاصل با مقادیر استانداردهای موجود، از جمله کارهای آزمایشگاهی معمول در تمامی کارخانجات صنایع شیر است که روی شیرهای خام دریافتی و نیز محصول تولیدی (شیر پاستوریزه) انجام می‌پذیرد. همچنین اسیدیته شیر، وابسته به غلظت یون هیدرونیوم (H^+) در آن می‌باشد که این اسیدیته را می‌توان تحت عنوان مقدار اسید قابل تیتراسیون با یک قلیا (هیدروکسید سدیم) در حضور معرف فنل فتالئین بیان نمود (فرهنودی، ۱۳۷۷). با توجه به عمر ماندگاری کوتاه شیرهای پاستوریزه (۴۸ ساعت در دمای کمتر از ۱۰ درجه سانتی‌گراد)، سرعت دستیابی به نتایج بار میکروبی در اسرع وقت و در حداقل زمان ممکن از جمله نکات ویژه و مد نظر کارخانجات صنایع شیر به منظور اطمینان از کیفیت محصول تولیدی و در حال توزیع در بازار می‌باشد. لذا با توجه به هدف فوق، در مطالعه حاضر استفاده از تکنیک امپدانس به منظور ارزیابی بار میکروبی شیر و همچنین مطابقت نتایج حاصله از روش امپدانس با نتایج به دست آمده از روش مرجع پورپلیت و نیز اسیدیته قابل تیتر در شیر مد نظر واقع شد.

مواد و روش کار

به منظور انجام این مطالعه، تعداد ۵۰ نمونه شیر خام از دامداری‌ها و مراکز جمع‌آوری شیر خام و نیز ۵۰ نمونه شیر پاستوریزه از محصولات تولیدی عرضه شده (با تاریخ‌های مختلف) در سطح شهر اهواز خریداری شدند. سپس نمونه‌ها سریعاً در شرایط سرما و در کنار یخ به آزمایشگاه مواد غذایی منتقل و آزمایش‌های مورد نظر بر روی نمونه‌ها انجام شد.

الف) کشت به روش مرجع

ابتدا از نمونه‌های شیر، سریال رقت تهیه گشته بر طبق دستورالعمل شماره ۵۴۸۴ موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران نسبت به انجام کشت پورپلیت دو لایه در محیط کشت آگار استاندارد شمارش میکروبی در پلیت و گرم‌خانه‌گذاری در ۳۰ درجه سانتی‌گراد اقدام گردید (موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۱، نواب‌پور و شهبازلو، ۱۳۸۰). پس از گذشت زمان لازم برای نگهداری در گرم‌خانه (۴۸ ساعت)، پلیت‌ها از گرم‌خانه خارج شده و پلیت‌هایی که بین ۳۰ تا ۳۰۰ کلنی داشتند، انتخاب و کلنی‌های آنها شمارش شده، تراکم میکروبی نمونه شیرهای مورد آزمایش محاسبه و ثبت می‌شد (کریم و همکاران، ۱۳۸۸، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۱).

ب) کشت به روش امپدانس

به منظور جلوگیری از شوک سرمایی، ۳۰ دقیقه قبل از انجام کشت، لوله‌های امپدانس حاوی محیط براث Bimedia 001A ویژه روش امپدانس را که از قبل آماده و استریل شده بودند از یخچال بیرون آورده می‌شد تا با محیط هم دما شوند. سپس با یک میلی‌لیتر از نمونه شیری که به طور همزمان کشت در پلیت آن نیز انجام داده می‌شد، تلقیح گشته و درون انکوباتور دستگاه آنالایزر میکروبی Bactrac 4300 (ساخت شرکت Sy-Lab اتریش) قرار داده و مشخصات لوله شامل نوع و شماره نمونه وارد نرم افزار دستگاه می‌شد و پروتوکل مربوط به ارزیابی شمارش کلی میکروبی در ۳۰ درجه سانتی‌گراد با استفاده

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

از تغییرات امپدانس یا مقاومت الکتریکی در محیط کشت (Media Value or M-Value) با مدت زمان گرم شدن اولیه یک ساعت (Warm Up Time) و حد آستانه (Threshold) معادل ۵ درصد و فواصل زمانی اندازه‌گیری امپدانس معادل ۱۰ دقیقه برای طول مدت زمان ۲۴ ساعت کارکرد دستگاه تنظیم می‌گردید و به طور اتوماتیک و بر اساس پروتوکل تنظیمی در طی مدت حداکثر ۲۴ ساعت، مقادیر امپدانس ناشی از تغییرات هدایت الکتریکی در محیط کشت در فواصل زمانی هر ۱۰ دقیقه مورد پایش و ثبت قرار گرفته و زمانی که میزان هدایت الکتریکی از حد آستانه تنظیمی فراتر می‌رفت، به عنوان زمان تشخیص (Detection Time) توسط دستگاه ثبت می‌گردید. نهایتاً نمونه‌ها پس از ۲۴ ساعت از انکوباتور دستگاه خارج شده و نتایج آنها در نرم‌افزار دستگاه ثبت می‌گردید (موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۳).

نتایج حاصل از شمارش کلی میکروبی در کل دوره (نمونه‌های شیر خام و پاستوریزه) در روش مرجع و نیز زمان‌های به دست آمده بر حسب ساعت توسط دستگاه امپدانس در سیستم نرم‌افزاری ویژه دستگاه آنالیزر میکروبی باک تراک ۴۳۰۰ که بر اساس Excel طراحی شده است، ثبت می‌گردید 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 می‌باشد، حاصل می‌شد.

ج) اندازه‌گیری اسیدیته قابل تیتر شیر

به منظور اندازه‌گیری اسیدیته قابل تیتر شیر، ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه شیر درون بشر ریخته و ۱۰ قطره معرف فنل فتالئین ۱٪ به آن افزوده و با کمک سود ۰/۱ نرمال، تیتراسیون تا رسیدن به رنگ صورتی کم رنگ پایدار انجام می‌شد و مقدار سود مصرف شده در ضریب ثابت ۰/۹ ضرب می‌گردید تا مقدار اسیدیته بر حسب گرم در لیتر اسید لاکتیک به دست آمده و نهایتاً مقدار اسیدیته شیر بر حسب درجه دورنیک مورد محاسبه قرار می‌گرفت (موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۵).

سپس نتایج حاصل از فاکتورهای مورد مطالعه (بارمیکروبی به روش مرجع، اسیدیته قابل تیتر شیر و نیز مدت زمان ثبت شده جهت ارزیابی بار میکروبی با روش امپدانس) با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 مورد بررسی و تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

نهایتاً منحنی‌های مربوط به رگرسیون یا پراکنش زمان‌های به دست آمده از دستگاه امپدانس با لگاریتم مقادیر بار باکتریایی، زمان‌های به دست آمده از دستگاه امپدانس با اسیدیته برحسب درجه دورنیک و نیز لگاریتم بار باکتریایی با اسیدیته برحسب درجه دورنیک در شیرهای خام و پاستوریزه با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم گردید.

نتایج

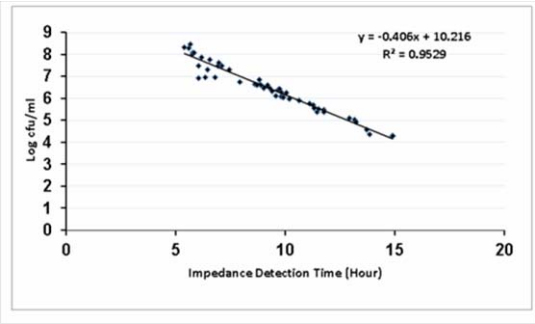
نتایج حاصل از شمارش کلی میکروبی شیر خام و پاستوریزه در کل تحقیق در روش مرجع و نیز زمان‌های به دست آمده توسط دستگاه امپدانس در سیستم نرم‌افزاری ویژه دستگاه باک تراک ۴۳۰۰ که براساس Excel طراحی شده است، درج شد و منحنی ارتباط زمان‌های به دست آمده از دستگاه امپدانس با مقدار بار باکتریایی شیرخام و پاستوریزه حاصل از روش مرجع با استفاده از آزمون رگرسیون خطی به دست آمد که در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است.

بدینوسیله معادله رگرسیونی شمارش کلی بار میکروبی شیر خام با زمان‌های تعیین شده به وسیله دستگاه امپدانس باک تراک ۴۳۰۰ به شرح ذیل به دست آمد:

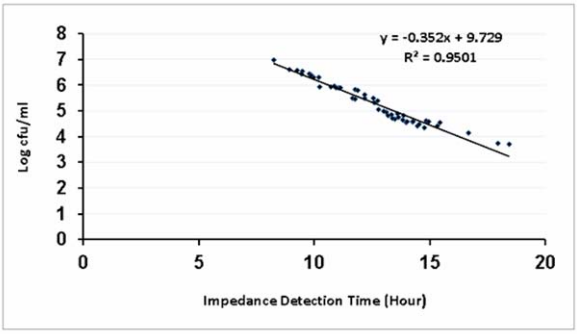
$$Y= - 0/406x+10/216$$

به همین ترتیب معادله رگرسیونی شمارش کلی بار میکروبی شیر پاستوریزه با زمان‌های تعیین شده به وسیله دستگاه باک تراک ۴۳۰۰ به شرح ذیل به دست آمد:

$$Y= - 0.352x+9.729$$

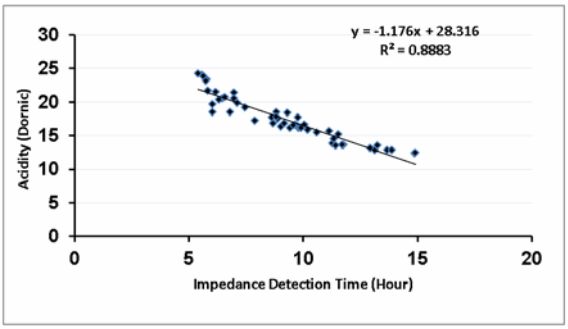


شکل ۱: منحنی ارتباط زمان‌های به دست آمده از دستگاه امپدانس با مقادیر بار باکتریایی شیر خام



شکل ۲: منحنی ارتباط زمان‌های به دست آمده از دستگاه امپدانس با مقادیر بار باکتریایی شیر پاستوریزه

مقادیر R^2 یا ضریب تعیین به دست آمده در شکل‌های ۱ و ۲ که به ترتیب معادل ۰/۹۵۲۹ و ۰/۹۵۰۱ هستند، بیانگر میزان بالای قدرت پیشگویی مقادیر بار باکتریایی شیر خام و شیر پاستوریزه با بهره‌گیری از تکنیک امپدانس و معادلات رگرسیونی حاصل می‌باشد که به ترتیب معادل ۹۵/۲۹٪ و ۹۵/۰۱٪ خواهد بود.



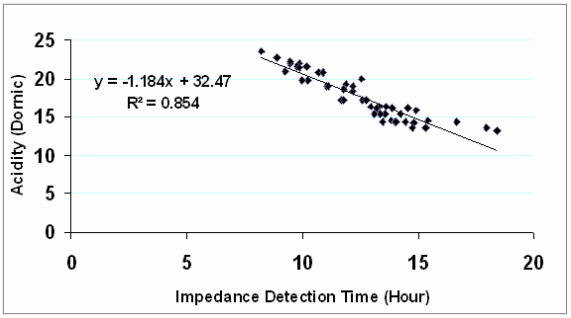
شکل ۳: منحنی ارتباط زمان‌های به دست آمده از دستگاه امپدانس با درجه دورنیک در شیر خام

همچنین معادلات رگرسیونی مقادیر اسیدیته شیر خام و پاستوریزه با زمان‌های تعیین شده به وسیله دستگاه باک تراک ۴۳۰۰ به شرح ذیل حاصل شد (شکل‌های ۳ و ۴):

شیر خام : $Y= - 1.176x+28.316$

شیرپاستوریزه : $Y= - 1.184x+32.47$

میزان ضریب تعیین معادلات بالا به ترتیب برای شیر خام و پاستوریزه معادل ۰/۸۸۸۳ و ۰/۸۵۴ می‌باشد که بیانگر ارتباط خوب بین مقدار اسیدیته شیرهای خام و پاستوریزه و زمان‌های تعیین شده به وسیله دستگاه باک تراک ۴۳۰۰ است که به ترتیب معادل ۸۸/۸۳٪ و ۸۵/۴٪ می‌باشد.



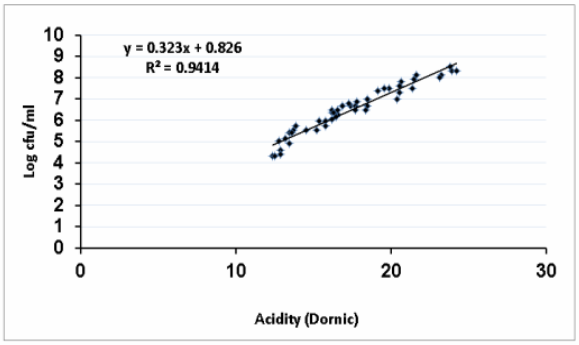
شکل ۴: منحنی ارتباط زمان‌های به دست آمده از دستگاه امپدانس با درجه دورنیک در شیر پاستوریزه

معادلات رگرسیونی مقادیر بار باکتریایی با مقدار اسیدیته شیر خام و پاستوریزه به شرح ذیل به دست آمد (شکل‌های ۵ و ۶):

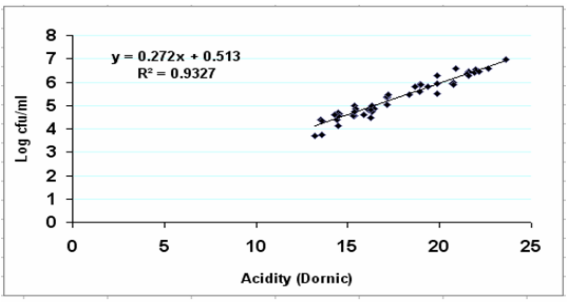
شیر خام : $Y= 0.323x+0.826$

شیرپاستوریزه : $Y= 0.272\ x+0.513$

مقادیر ضریب تعیین معادلات فوق به ترتیب برای شیر خام و پاستوریزه معادل ۰/۹۴۱۴ و ۰/۹۳۲۷ می‌باشد که بیانگر ارتباط قوی بین مقدار بار باکتریایی و مقدار اسیدیته در شیرهای خام و پاستوریزه است که به ترتیب معادل ۹۴/۱۴٪ و ۹۳/۲۷٪ می‌باشد.



شکل ۵: منحنی ارتباط بار باکتریایی با درجه دورنیک در شیر خام



شکل ۶: منحنی ارتباط بار باکتریایی با درجه دورنیک در شیر پاستوریزه

به عبارت دیگر می‌توان اظهار داشت که مقادیر R^2 یا ضریب تعیین به دست آمده در تمامی شکل‌های فوق بیانگر میزان بالای قدرت پیشگویی فاکتورهای مورد مطالعه در شیر خام و شیر پاستوریزه با بهره‌گیری از تکنیک امپدانس، بار باکتریایی و نیز مقدار اسیدیته با استفاده از معادلات رگرسیونی حاصل می‌باشد.

بحث

در سال‌های اخیر بر روش‌های سریع و اتوماتیک در میکروبیولوژی غذایی تاکید شده است که برای تخمین تعداد میکروارگانیسم‌ها با توجه به نوع متابولیسم آن‌ها با کاربرد متنوع در صنعت غذا، شامل کنترل فساد غذایی، کنترل نگهدارنده‌های غذایی، کنترل تخمیر غذایی و نیز کنترل پاتوژن‌های غذایی به کار می‌روند. از آنجا که از نظر اقتصادی در صنایع غذایی، تولید سریع و انبوه و برگشت سرمایه از اهمیت زیاد برخوردار است، به موازات آن کنترل کیفی تولیدات دارای اهمیت بسیاری است. روش امپدانس، حصول نتایج آزمون‌های کنترل کیفی را در مدت زمان کوتاه‌تری مقدور می‌سازد و همچنین علاوه بر صرفه‌جویی در مواد مصرفی و کاهش زمان مورد نیاز شناسایی میکروارگانیسم، می‌تواند تعداد نمونه‌های بیشتری را مورد آزمایش قرار دهد. مزیت دیگر این روش برخلاف روش کشت در پلیت آن است که خطاهای تکنیکی در انجام کشت وجود ندارد (Yang and Bashir, 2008). در این مطالعه که روی ۱۰۰ نمونه شیر، که شامل ۵۰ نمونه شیر خام و ۵۰ نمونه شیر پاستوریزه بود، انجام گرفت، تراکم بار میکروبی شیرها با دو روش شمارش کلی باکتری‌ها و روش امپدانس اندازه‌گیری شد. همچنین میزان اسیدیته شیر، که از جمله ویژگی‌های شیمیایی شیر می‌باشد، مورد اندازه‌گیری قرار گرفته شد و نتایج حاصل با هم مورد مقایسه و بررسی قرار گرفتند.

بر اساس نتایج حاصل از مطالعه حاضر، میزان انطباق روش امپدانس با روش شمارش بار میکروبی به روش مرجع در شیرهای خام و پاستوریزه به ترتیب معادل ۹۵/۲۹٪ و ۹۵/۰۱٪ بود. همچنین میزان انطباق روش امپدانس با مقدار اسیدیته قابل اندازه‌گیری در نمونه‌های شیر خام و پاستوریزه به ترتیب معادل ۸۸/۸۳٪ و ۸۵/۴٪ به دست آمد. مقادیر اسیدیته قابل اندازه‌گیری در نمونه-های شیر خام و پاستوریزه نیز با بار میکروبی به روش مرجع، میزان انطباق ۹۴/۱۴٪ و ۹۳/۲۷٪ را نشان دادند.

در بررسی‌های آماری که از نظر تحلیل همبستگی با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 انجام گرفت، میزان همبستگی بالایی بین بار میکروبی و اسیدیته شیر و همچنین هر دو فاکتور مذکور با زمان امپدانس ملاحظه شد. همچنین در مطالعه حاضر بار میکروبی شیرهای خام و پاستوریزه به روش مرجع با مقادیر اسیدیته رابطه مستقیم نشان داد حال آنکه هر دو فاکتور مذکور با زمان امپدانس رابطه معکوس داشتند. تحقیقات متعددی در مناطق مختلف جهان در به کارگیری روش امپدانس در

امر کنترل کیفیت مواد غذایی همچون تحقیق حاضر به انجام رسیده است که برخی موارد آنها به شرح زیر می‌باشد.

Andrade و همکاران در سال ۱۹۹۸، روش امپدانس را در مقایسه با روش کشت مرجع در پلیت به منظور شناسایی آنتروکوکوس‌های موجود در سطوح تماس با مواد غذایی مورد استفاده قرار دادند. آنان اعلام داشتند با توجه به انطباق بالای روش مرجع با روش امپدانس (۹۲٪)، روش امپدانس به عنوان روشی مناسب برای شناسایی آنتروکوک‌ها توصیه می‌گردد.

Husman و Steffens در سال ۱۹۹۸، در آلمان برای تعیین میکروارگانیسم‌های زنده هوازاد، روش امپدانس را به عنوان روشی سریع و اتوماتیک در مقایسه با روش مرجع که حداقل ۵ روز به طول می‌انجامد، گزارش نمودند.

Felice و همکاران در سال ۱۹۹۹، در آرژانتین با انجام تحقیقی در زمینه تعیین باکتری‌های موجود در شیر به وسیله رسم منحنی ظرفیت الکتریکی به وسیله روش امپدانس پرداختند و تغییرات هدایت الکتریکی در محیط کشت در طول رشد باکتری را برای تخمین کمی و کیفی از رشد میکروبی به کار بردند. این محققین روش امپدانس را به عنوان یک روش کارآمد و سریع برای ارزیابی و تعیین سریع میکروارگانیسم‌های شیر خام گاو و سایر فراورده‌های لبنی آن تأیید کردند و در این تحقیق نتیجه گرفتند که هر چه رشد باکتری‌ها سریع‌تر باشد زمان شناسایی باکتری‌ها کمتر خواهد بود و ضریب همبستگی خوبی با روش مرجع (روش پلیت کانت) (r>۰/۷۸) گزارش نمودند.

Fontana و همکاران در سال ۲۰۰۲، در ایتالیا در مطالعه‌ای نتایج حاصل از شمارش اسپورهای کلستریدیایی را در ۱۲۵ نمونه شیر خام که خامه آنها گرفته شده بود، با دو روش مرجع و امپدانس با هم مقایسه کردند که نتایج حاصل از این دو روش تطابق ۹۷/۹۶٪ را نشان دادند.

Walker و همکاران در سال ۲۰۰۵، با استفاده از تکنیک امپدانس شمارش سریع بیفیدو باکتریوم لاکتیس (پروبیوتیک) افزوده شده به شیر را بررسی کردند و تغییرات امپدانس محیط کشت یا M-Value در ۴۰ درجه سانتی‌گراد را توسط دستگاه آنالیزر رشد میکروبی باک ترک ۴۱۰۰ ثبت نمودند. در این مطالعه نمونه‌های حاوی $۱۰^{۶}$ باکتری در گرم، در روش امپدانس به مدت ۱۵ ساعت و همین نمونه‌ها در روش پلیت کانت به مدت ۳ روز شناسایی گردیدند. در این بررسی میزان انطباق دو روش ۹۸/۷۴ درصد گزارش شده است و نتایج حاصل از دو روش مرجع و امپدانس از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نشان ندادند.

Garro و همکاران در سال ۲۰۰۱، کاربرد هدایت الکتریکی برای ارزیابی استارتر کالچر لبنی در شیر سویا را بررسی کردند. شیر سویا محیط کشت بالقوه برای ارزیابی عملکرد پروبیوتیک‌هایی چون لاکتو باسیلوس و بیفیدوباکتری‌ها می‌باشد. ارتباط خطی بین شمارش اولیه باکتری‌ها و زمان تعیین امپدانس با ضریب همبستگی بالایی برای هر دو باکتری (r=-۰/۹۵) به دست آمد و تاثیر دماهای مختلف (۴۲-۳۷-۳۰ درجه سانتی‌گراد) بر روی فعالیت متابولیک باکتری‌ها بعد از ۴۰ ساعت تخمیر تعیین گردید. بیشترین تغییرات متابولیکی در ۴۲ درجه سانتی‌گراد با میزان هدایت الکتریکی از ۸۰۰ تا ۶۰۰ مگازیمنس بود تعیین میزان باکتری‌ها با روش امپدانس، در مدت زمان بین ۳ تا ۱۰ ساعت در مقایسه با روش پلیت کانت (۴۸ تا ۷۲ ساعت) بسیار سریع‌تر بود.

در تحقیق دیگری روش استاندارد مرجع و تکنیک امپدانس در شناسایی و تشخیص لیستریا در شیر و محصولات لبنی مورد بررسی قرار گرفت و در مجموع ۲۵۰ نمونه مورد بررسی، اعم از شیرهای خام و موارد شاهد مثبت و منفی، صرفاً ۴ مورد اختلاف در نتایج دو روش ملاحظه شد که بر اساس آزمون آماری اختلاف معنی‌داری بین دو روش وجود نداشت (فضل‌آرا، ۱۳۸۸).

تحقیقاتی توسط Yang و همکاران در سال ۲۰۰۴، در شناسایی سالمونلا تیفی موریوم صورت گرفت و میکروالکترودهای اینتردیجیتال (IME_S) به عنوان سنسورهای امپدانس برای تشخیص سریع سالمونلا تیفی موریوم در یک محیط کشت انتخابی و نمونه‌های شیر به کار گرفته شدند. منحنی امپدانس ارتباط خطی بین لگاریتم اولیه سلول‌ها سالمونلا تیفی موریم در محیط کشت و نمونه‌های شیر) و زمان تعیین امپدانس نشان داد. مقادیر ضریب تعیین به ترتیب در محیط کشت و نمونه‌های شیر معادل ۰/۹۹ و ۰/۹۸ به دست آمد و زمان لازم برای تشخیص ($۵/۴ \times ۱۰^{۵}$ CFU/ml تا ۴/۸)، معادل ۹/۳-۲/۲ ساعت گزارش گردید.

Grossi و همکاران در سال ۲۰۰۸، در ایتالیا نیز تراکم کلی میکروبی در انواع بستنی‌های عرضه شده در شهر بلونا را با استفاده از روش استاندارد مرجع و نیز تکنیک امپدانس مورد ارزیابی قرار دادند و میزان انطباق دو روش را خوب و معادل ۷۸٪ گزارش نمودند و اظهار داشتند که روش امپدانس به عنوان یک روش مطمئن، کاربردی، سریع و آسان در ارزیابی کیفیت بستنی‌های تولیدی کارخانجات مواد غذایی و نیز مراکز نظارتی و کنترلی قابل استفاده است.

همچنین لک در سال ۱۳۸۴، شمارش کلی میکروبی در ۱۵۰ نمونه بستنی سنتی را با دو روش استاندارد پورپلیت و امپدانس مورد بررسی قرار داد و بر اساس نتایج حاصل، تطابق این دو روش را ۸۰ درصد گزارش نمود.

در طی تحقیقی روش‌های استاندارد مرجع و تکنیک امپدانس در شناسایی و تشخیص اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس در ۹۰ نمونه کره پاستوریزه مورد بررسی واقع گردید و بر اساس نتایج حاصله هیچ گونه آلودگی به کلی فرم و اشرشیاکلی در کره‌ها در هر دو روش مرجع وامپدانس ملاحظه نگردید و نتایج حاصله ۱۰۰ در صد با یکدیگر تطابق داشتند (Fazlara et al., 2007).

در مطالعات فوق همچون مطالعه حاضر، نتایج حاصله از دو روش مرجع و امپدانس از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نشان ندادند و علل تفاوت‌های جزئی در نتایج دو روش شامل نوع و ترکیبات تشکیل دهنده مواد غذایی مختلف، نوع باکتری مورد مطالعه، محیط‌های کشت مصرفی متفاوت، روش‌های مختلف کشت و جداسازی میکروبی، میزان دقت و خطاهای فردی پرسنل آزمایشگاه عنوان شده است. لذا با توجه به این موضوع که روش امپدانس در مدت زمان بسیار کمتر و سریع‌تر نسبت به شناسایی باکتری اقدام می‌نماید و می‌تواند تعداد نمونه بیشتری را مورد آزمایش قرار دهد و از سوی دیگر به دلیل آن که به مواد و آماده‌سازی‌های مرسوم در روش‌های کشت مرجع نیاز ندارد، می‌تواند به عنوان روشی کاربردی، آسان و سریع در امر نظارت و کنترل کیفی شیر و فراورده‌های لبنی مورد استفاده واقع گردد. به طور کلی مقادیر ضریب تعیین (R^2) بالاتر از ۰/۷۵ بیانگر میزان تطابق بالای روش مرجع و امپدانس می‌باشد که در اکثر تحقیقات انجام شده در داخل و خارج کشور مبنای تایید منحنی‌های حاصله و کاربردی بودن معادله آنها در صنایع غذایی می‌باشد. بنابراین با توجه به نتایج حاصل از تحقیق حاضر که انطباق خوبی بین روش امپدانس و مرجع در شناسایی بار میکروبی شیر خام و پاستوریزه ملاحظه شد، روش امپدانس می‌تواند جایگزین مناسبی برای روش‌های قدیمی در تعیین بار میکروبی شیر باشد.

در مطالعه حاضر همچون مطالعات سایر محققین ذکر شده در فوق با استفاده از معادلات منحنی‌های به دست آمده در قسمت نتایج که همگی حاکی از میزان همبستگی بالای فاکتورهای مورد مطالعه بودند، می‌توان با به دست آوردن یا اندازه‌گیری هر یک از فاکتورهای مورد مطالعه، سایر فاکتورها را نیز به صورت محاسباتی به دست آورده و یا پیشگویی نمود. اما با توجه به آن که مدل‌های پیشگوی میکروبی در مواد غذایی همواره تابع فاکتورهای درون اثر و برون اثر مؤثر در رشد میکروبی از جمله سطح

بهداشت در مراحل مختلف تولید و نیز شرایط اقلیمی منطقه‌ای و ... هستند، لذا یک مدل در تمام شرایط کاربرد ندارد. بر این اساس مدل‌های پیشگوی طراحی شده در مطالعه حاضر که در منطقه اهواز و شرایط گرمسیری خوزستان انجام شده است، مختص استفاده در همین منطقه اقلیمی و با ویژگی‌های میکروبی شیرهای خام و پاستوریزه تولیدی در استان خوزستان می‌باشد. بدیهی است که در صورت نیاز به استفاده از چنین معادلات پیشگویی در سایر مناطق و با ویژگی‌های مختلف از نظر فاکتورهای درون اثر و برون اثر متفاوت نیاز به تهیه و طراحی مدل‌های مناسب مربوطه خواهد بود.

نتیجه کلی آن که با توجه به اهمیت حصول سریع نتایج در آزمون‌های کنترل کیفی شیر و فراورده‌های لبنی، استفاده از تکنیک‌های سریع‌تر همچون روش امپدانس می‌تواند رهگشا بوده و انجام آزمون‌های وقت‌گیر مرسوم به خصوص انجام کشت و شمارش بار میکروبی به روش مرجع را تا حد بسیاری کاهش دهد. اما انجام این امر مستلزم بررسی دقیق نمونه‌های هر منطقه یا کارخانه و طراحی و تدوین کالیبراسیون‌های دقیق با میزان انطباق بالا می‌باشد تا بدینوسیله با اطمینان به معادلات پیشگوی حاصل بتوان فاکتورهای مورد نظر در امر کنترل کیفیت را پاسخ داده، از طریق محاسباتی به دست آورد.

تقدیر و تشکر

این پژوهش در قالب پایان‌نامه از محل اعتبار پژوهانه سال ۱۳۹۱ دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شده است که بدین وسیله از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه قدردانی و تشکر می‌نماید.

منابع

رضویلر ودود (۱۳۸۲). میکروب‌های بیماری‌زا در مواد غذایی و اپیدمیولوژی مسمویت‌های غذایی. انتشارات دانشگاه تهران، صفحات ۴۷-۴۶.

فضل‌آرا علی (۱۳۸۸). بررسی شیرهای خام از نظر آلودگی به لیستریا مونوسیتوژنز با استفاده از روش امپدانس، اولین سمینار کشوری سلامت شیر از از تولید تا مصرف، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، صفحه ۴۱.

فرهنودی فرهاد (۱۳۷۷). صنعت شیر. جلد اول، چاپ اول، انتشارات شرکت تحقیقات و آموزش تهران، صفحات ۶۸-۶۷، ۱۴۳-۱۳۹.

کریم گیتی، محمدی خسرو، خندقی جلیل و کریمی‌دره‌آبی هیوا (۱۳۸۸). آزمون‌های شیر و فرآورده‌های آن. انتشارات دانشگاه تهران، صفحات ۱۴۴-۱۳۷.

لک الناز (۱۳۸۴). ارزیابی شمارش کلی میکروبی در بستنی‌های سنتی با استفاده از روش امپدانس، ششمین کنگره دانشجویان دامپزشکی ایران، دانشگاه فردوسی مشهد، صفحه ۲۶۹.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳۸۱). استاندارد ملی شماره ۵۴۸۴، شیر و فرآورده‌های آن - روش شمارش کلی پرگنه‌های میکروارگانیسم‌ها در ۳۰ درجه سلسیوس.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳۸۳). استاندارد ملی شماره ۷۷۲۶، میکروبیولوژی مواد غذایی – اصول شناسایی و شمارش میکروارگانیسم ها در مواد غذایی با استفاده از روش امپدانس.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳۸۵). استاندارد ملی شماره ۲۸۵۲، شیر و فراورده‌های آن- تعیین اسیدیته و pH، روش آزمون.

نواب‌پور ثریا و شهبازلو فروزنده (۱۳۸۰). آئین کار آزمایشگاه‌های شرکت سهامی صنایع شیر ایران. صفحات ۱۰۹-۱۰۰، ۶۹-۶۷.

نوری اشرف‌السادات، فضل‌آرا علی و مکتبی سیاوش (۱۳۸۶). بررسی و شمارش انتروکوک‌ها در بستنی‌های غیر پاستوریزه مصرفی در شهر اهواز به روش مرجع و تطابق آن با تکنیک امپدانس و طراحی الگوی ریاضی مربوطه، نهمین کنگره سراسری میکروب شناسی ایران، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، صفحه ۲۳۱.

Andrade N.J., Bridgeman T.A. and Zottola E.A. (1998). Bactericidal activity of sanitizers against Entercocci attached to stainless steel as determined by plate count and impedance method. Journal of Food Protection, 61 (7): 833-838.

Fazlara A., Rasekh A. and Khataminia A. (2007). Comparative survey on hygienic quality (*Coli form*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*) of industrial butters with using standard methods and impedance splitting method. The First Iranian Congress of Clinical Microbiology Shiraz. Iran. p: 42.

Felice C.J., Madrid R.E., Olivera J.M., Rotger V.I. and Valentinuzzi M.E. (1999). Impedance microbiology quantification of bacterial in milk by means of capacitance growth curves. Journal of Microbiological Methods, 35 (1): 37-42.

Fontana M.A., Busiello S.T., Biosotti S.T., Dallorto G.I., Unger B.R., Masaniger H.E. et al. (2002). Rapid enumeration of Clostridial spores in raw milk samples using an impedimetric method. Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology, 10: 107-116.

Garro M.S., Devaldez G.F. and Degiori G.S. (2001). Application of conductimetry for evaluation of lactic starter cultures in soymilk. Journal of Food Science, 67:1175-1178.

Grossi M., Lanzoni M., Pompei A., Lazzarini R., Matteuzzi D. and Ricc B. (2008). Detection of microbial concentration in ice – cream using the impedance technique, Biosensors and Bioelectronics, 23: 1616 - 1623.

Husman K. and Steffens K.J (1998). Impedance measurement to detect airborne viable microorganisms. APV- Congress Proceeding Book, France- Paris, 25-28 May 1998.

Jay J.M., Loessner M.J. and Golden D.A. (2005). Modern Food Microbiology. Seventh ed., Springer Science Inc. USA. pp: 272-273.

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., Yanbin L., Griffie C. and Johnson M.G. (2004). Inter digital microelectrode (IME) impedance sensor for the detection of viable *Salmonella typhimurium*. Biosensors and Bioelectronics, 13: 1139 - 1147.

Yang L. and Bashir R. (2008). Electrical / electrochemical impedance for rapid detection of food borne pathogenic bacteria. Biotechnology Advances, 26: 135 – 150.