

طراحی مدل پیشگویی بار میکروبی در فرآورده‌های گوشتی سوسیس با استفاده از تکنیک امپدانس

و انطباق آن با روش مرجع

ریحانه سروریان^۱، علی فضل آرا^۱، لاله رومیانی^{۲*}، مجتبی افرازه^۱

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

۲. گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

*نویسنده مسئول: L.roomiani@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۷/۲۶

چکیده

هدف از انجام این تحقیق استفاده از روش امپدانس به علت دارا بودن حساسیت و دقت بالا در تشخیص میکروب‌ها در مدت زمان کوتاه از طریق نمایش فعالیت‌های متابولیک به وسیله ایجاد تغییر در مقاومت الکتریکی در محیط کشت بود. در این بررسی تعداد ۸۰ نمونه سوسیس (۴۰ نمونه فصل زمستان و ۴۰ نمونه فصل تابستان) با استفاده از روش امپدانس و نیز روش مرجع پورپلیت از نظر شمارش کلی بار میکروبی بر اساس دستورالعمل‌های موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران مورد ارزیابی قرار گرفتند. براساس نتایج میزان تطابق روش امپدانس با روش مرجع پورپلیت در کل داده‌ها، فصل زمستان و تابستان به ترتیب ۹۳/۹ و ۹۳/۱ درصد بود. این مطالعه بیانگر این نکته است که روش سریع و قابل اعتماد امپدانس می‌تواند تخمین درستی از بار میکروبی سوسیس بدهد. ارزیابی اولیه روش امپدانس برای رشد میکروب‌ها در مواد غذایی پیچیده پتانسیل این تکنیک را نشان می‌دهد که می‌تواند جایگزین روش‌های کشت شود.

واژگان کلیدی: تکنیک امپدانس، بار میکروبی، سوسیس.

مقدمه

متابولیک به وسیله ایجاد تغییر در مقاومت الکتریکی در محیط کشت امکان‌پذیر می‌باشد. اگرچه تکنیک آنالیزی امپدانس بر پایه فرآیند کشت می‌باشد اما این روش اساساً با شناسایی میکروارگانیسم‌ها با استفاده از روش‌های استاندارد در پلیت (پور پلیت، اسپیرال پلیت، دراپ پلیت و اسپاتولاپلیت) متفاوت است (نوری و همکاران، ۱۳۸۶). امروزه از روش‌های نوین، سریع و دقیق در تشخیص میکروب‌های مواد غذایی نظیر امپدانس به عنوان جایگزینی

مفهوم اندازه‌گیری امپدانس الکتریکی رشد میکروبی اولین بار در سال ۱۸۹۹ شناخته شد اما تا سال ۱۹۷۰ از این تئوری برای ارزیابی و شناسایی میکروب‌ها استفاده نشده بود (Jay et al., 2005). روش فیزیکی- شیمیایی امپدانس روش جدیدی برای تشخیص و پایش میکروارگانیسم‌ها، آنالیزهای مربوط به ماندگاری و بهداشت مواد غذایی می‌باشد (Gomez- Sjoberg et al., 2005). در این روش تشخیص سریع میکروب‌ها از طریق نمایش فعالیت‌های

نمونه اخذ شد. سپس نمونه‌ها در شرایط سرما و در کنار یخ سریعاً به آزمایشگاه مواد غذایی منتقل و حداکثر در طی مدت ۲۴ ساعت تا زمان آزمایش‌های لازم در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

کشت به روش مرجع

ابتدا از نمونه‌های سوسیس سریال رقت تهیه گشته و 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 (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۱). 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 تراکم میکروبی نمونه‌های آن‌ها محاسبه و ثبت گردید (فضل آرا و همکاران، ۱۳۹۲).

کشت به روش امپدانس

به منظور جلوگیری از شوک سرمایی، ۳۰ دقیقه قبل از انجام کشت، لوله‌های امپدانس حاوی محیط براث ویژه روش امپدانس (Bimedia 001A) را که از قبل آماده و استریل شده بودند از یخچال بیرون آورده تا با محیط هم‌دمای شوند. سپس یک گرم از نمونه سوسیس که به طور هم‌زمان کشت در پلیت آن نیز انجام 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 نرم‌افزار دستگاه می‌شد و پروتوکل مربوط به ارزیابی شمارش کلی میکروبی در ۳۰ درجه سانتی‌گراد با استفاده از تغییرات امپدانس یا مقاومت الکتریکی در محیط کشت (Media Value or M-Value) با مدت زمان گرم شدن اولیه (Warm Up Time) یک ساعت و حد آستانه معادل ۵ درصد و فواصل زمانی اندازه‌گیری امپدانس

برای روش‌های مرسوم قدیمی در امر کنترل کیفیت فرآورده‌های غذایی امری ضروری به نظر می‌رسد (رضوی‌لر، ۱۳۸۲). به دلیل آگاهی از فهمیدن رابطه بین خصوصیات الکتریکی بافت بیولوژیکی و پارامترهای فیزیکی مختلف موجود در غذا تکنیک امپدانس در شناسایی میکروب‌ها موثر واقع شده است (Johnson et al., 2014). امروزه استفاده از این روش برای رسیدگی میوه‌ها، سطح نمک و مواد معدنی آب موجود در مواد غذایی مختلف (Masot et al., 2010)، کنترل کیفیت گوشت (Rizo et al., 2013) و تعیین سطح افزودنی‌ها در آب و سایر نوشیدنی‌ها (Zia et al., 2013) موفقیت‌آمیز بوده است.

بار میکروبی یکی از فاکتورهای بسیار مهم در ارزیابی کیفیت انواع مواد غذایی می‌باشد. شمارش کلی میکروبی محصولات فرآوری شده گوشت مانند سوسیس، همبرگر و کالباس و مطابقت نتایج حاصله با مقادیر استانداردهای موجود از جمله تکنیک‌های آزمایشگاهی معمول در تمامی کارخانجات تولید کننده و نیز ادارات نظارت بر بهداشت مواد غذایی است (Oliver et al., 2001). از سوی دیگر سرعت دستیابی به نتایج بار میکروبی در اسرع وقت و در حداقل زمان ممکن از جمله نکات ویژه و مد نظر کارخانجات و نیز ادارات نظارت بر بهداشت مواد غذایی به منظور اطمینان از کیفیت محصولات تولیدی می‌باشد. لذا در مطالعه حاضر استفاده از تکنیک امپدانس به منظور ارزیابی بار میکروبی سوسیس‌های مورد مصرف در ایران و مطابقت نتایج حاصله با نتایج حاصل از روش مرجع پورپلیت و نهایتاً طراحی مدل‌های پیشگویی بار میکروبی بر پایه امپدانس مدنظر واقع گردید.

مواد و روش کار

به منظور اجرای این تحقیق در طی مدت ۶ ماه (فصل زمستان و تابستان) تعداد ۸۰ نمونه سوسیس از سطح شهر اهواز تهیه گردید. به این نحو که در هر فصل تعداد ۴۰

رگرسیون خطی، تحلیل همبستگی و محاسبه ضریب همبستگی پیرسن و آزمون t برای دو نمونه مستقل انجام گرفت.

نتایج

نتایج حاصل از شمارش کلی میکروبی سوسیس‌های فصل تابستان و زمستان در کل تحقیق در روش مرجع و نیز زمان‌های به دست آمده توسط دستگاه امپدانس و منحنی ارتباط زمان‌های به دست آمده از دستگاه امپدانس با مقدار بار باکتریایی سوسیس‌های گرم و سرد حاصل از روش مرجع با استفاده از آزمون رگرسیون خطی به دست آمد که در شکل‌های ۱ تا ۳ نشان داده شده است.

معادله‌های رگرسیونی شمارش کلی بار میکروبی سوسیس‌های فصل تابستان، زمستان و کل داده‌ها با زمان‌های تعیین شده به وسیله دستگاه امپدانس باک تراک ۴۳۰۰ به شرح ذیل انجام شد:

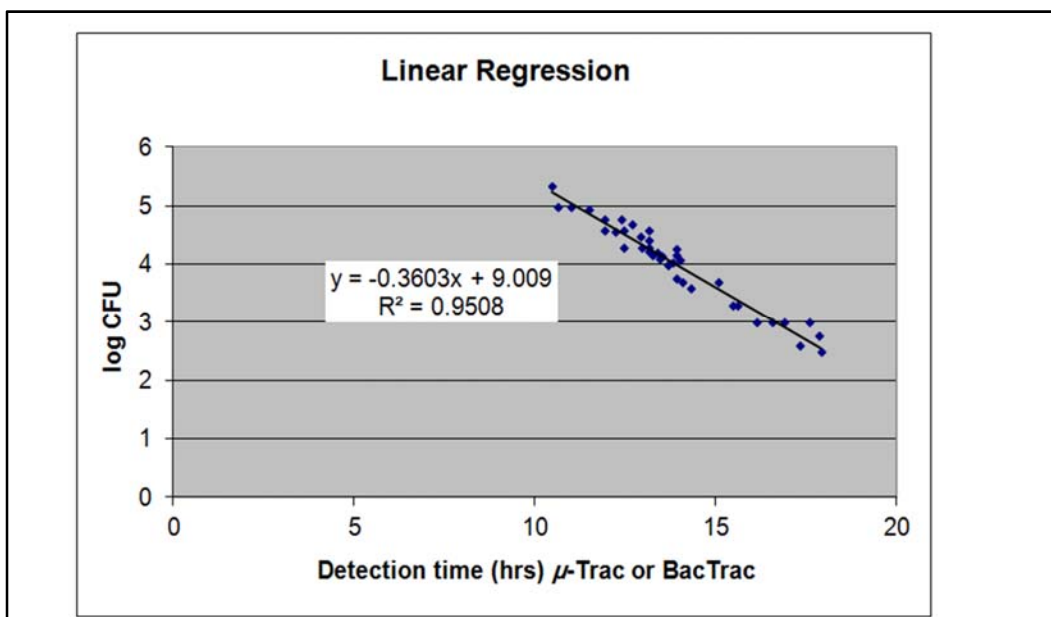
$$Y = -0.3603X + 9.009 \quad (1)$$

$$Y = -0.347X + 8.759 \quad (2)$$

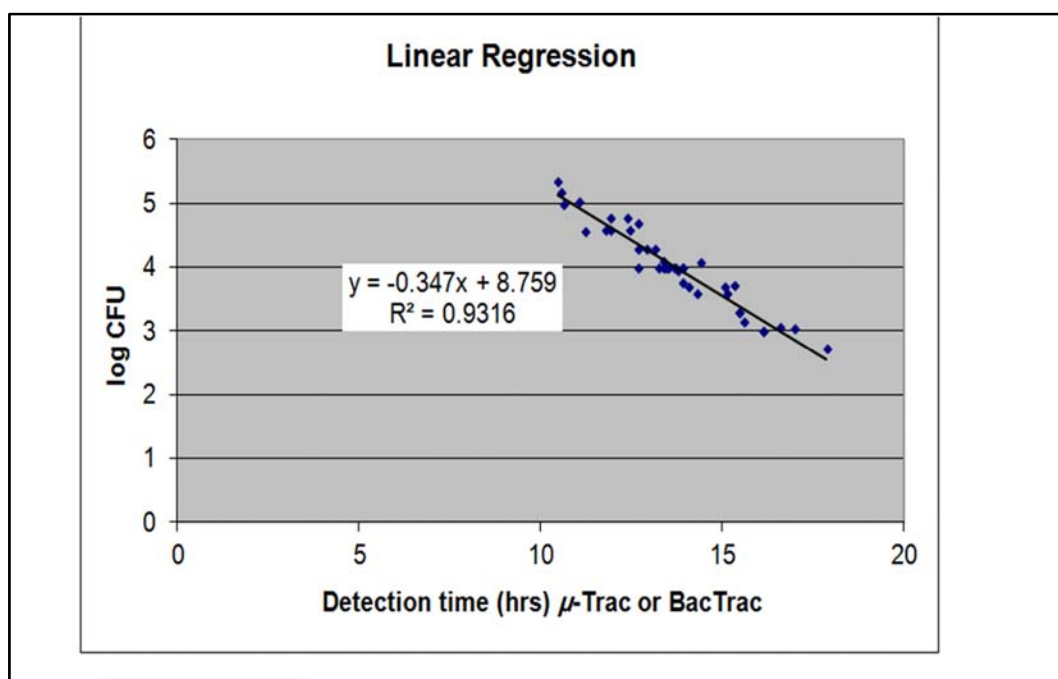
$$Y = -0.3533X + 8.8789 \quad (3)$$

معادله ۱ نشان می‌دهد که با افزایش ۱ واحد به زمان امپدانس به طور متوسط ۰/۳۶ از لگاریتم تعداد باکتری کاسته می‌شود (لگاریتم تعداد باکتری = Y و زمان امپدانس = X). معادله ۲ نشان می‌دهد که با افزایش ۱ واحد به زمان امپدانس به طور متوسط ۰/۳۴ از لگاریتم تعداد باکتری کاسته و معادله ۳ بیانگر این است که با افزایش ۱ واحد به زمان امپدانس بطور متوسط ۰/۳۵ از لگاریتم تعداد باکتری کاسته می‌شود.

معادل ۱۰ دقیقه برای طول مدت زمان ۲۴ ساعت کار کرد 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 رفت، به عنوان زمان تشخیص (Detection Time) توسط دستگاه ثبت گردید. نهایتاً نمونه‌ها پس از ۲۴ ساعت از انکوباتور دستگاه خارج شده و نتایج آن‌ها در نرم‌افزار دستگاه ثبت شد. نتایج حاصل از شمارش کلی میکروبی کل دوره (سوسیس‌های فصل تابستان و زمستان) در روش مرجع و نیز زمان‌های به دست آمده بر حسب ساعت توسط دستگاه امپدانس در سیستم نرم‌افزار به ویژه دستگاه آنالیزر میکروبی باک تراک ۴۳۰۰ که بر اساس Excel طراحی شده است، ثبت و به‌منظور نمایش میزان ارتباط، منحنی‌های پراکنش زمان‌های به دست آمده از دستگاه امپدانس با لگاریتم مقادیر بار میکروبی در هر دو نوع سوسیس با بالاترین ضریب تعیین (R^2) ترسیم و بر این اساس فرمول یا معادله منحنی رگرسیون مربوطه که جهت پیشگویی و محاسبه ریاضی تراکم میکروب بر اساس پارامتر زمان امپدانس می‌باشد، حاصل‌گردید (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۳). در پایان نتایج حاصل از فاکتورهای مورد مطالعه (بار میکروبی به روش مرجع، مدت زمان ثبت شده جهت ارزیابی بار میکروبی با روش امپدانس، بار میکروبی سوسیس‌های فصل تابستان و زمستان) با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد بررسی و تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. تحلیل داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از روش‌های



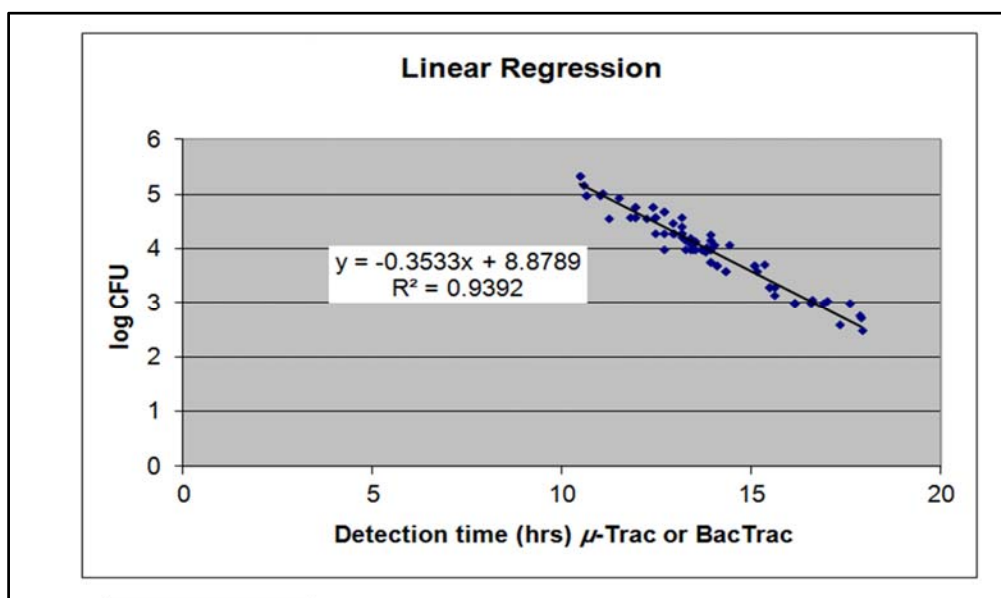
شکل ۱- منحنی ارتباط زمان‌های بدست آمده از دستگاه امیدانس با مقادیر بار باکتریایی در سوسیس‌های فصل تابستان.



شکل ۲- منحنی ارتباط زمان‌های بدست آمده از دستگاه امیدانس با مقادیر بار باکتریایی در سوسیس‌های فصل زمستان.

گیری از تکنیک امیدانس و معادلات رگرسیونی حاصل می- باشد که به ترتیب معادل ۹۵/۹۸، ۹۳/۱۶ و ۹۳/۹۲ درصد بود.

مقادیر R^2 یا ضریب تعیین به دست آمده در شکل‌های ۱ تا ۳ که به ترتیب معادل ۰/۹۵۹۸، ۰/۹۳۱۶ و ۰/۹۳۹۲ هستند بیانگر میزان بالای قدرت پیشگویی مقادیر بار باکتریایی سوسیس‌های فصل تابستان، زمستان و کل داده‌ها با بهره-



شکل ۳- منحنی ارتباط زمان‌های بدست آمده از دستگاه امیدانس با مقادیر بار باکتریایی در کل داده‌ها.

بحث

امروزه بهره‌گیری از روش امیدانس با توجه به امکان حصول سریع نتایج بسیار توسعه یافته است و در موارد مختلفی از این روش استفاده می‌شود. مزیت روش امیدانس سرعت انجام آن است که بسیار سریع‌تر از روش‌های مرجع میکروبی است. اندازه‌گیری مقاومت الکتریکی (امیدانس) روش نسبتاً سریعی است که در آن شناسایی سریع میکروب‌ها از طریق نمایش فعالیت‌های متابولیک به وسیله تغییر در مقاومت الکتریکی امکان پذیر می‌شود. از سوی دیگر روش مرجع بر اساس شمارش کلی میکروب‌ها می‌باشد که در واقع تعداد ارگانیسم‌های زنده را به صورت کلونی‌های قابل رویت در سطح محیط کشت آشکار می‌نماید (Fazlara et al., 2014). 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 امیدانس و معادله رگرسیونی مربوطه به طور محاسباتی پیشگویی نمود. مزیت دیگر این روش بر

خلاف روش کشت در پلیت آن است که خطاهای تکنیکی در انجام کشت وجود ندارد (Liu et al., 2015). در بررسی‌های آماری که از نظر تحلیل همبستگی با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت میزان همبستگی بالایی بین بار میکروبی و زمان امیدانس ملاحظه شد. همچنین در مطالعه حاضر بین بار میکروبی سوسیس‌های فصل تابستان و زمستان به روش مرجع با زمان امیدانس رابطه مستقیم به دست آمد. بر اساس نتایج حاصل اختلاف معنی‌داری بین میانگین و انحراف معیار زمان‌های امیدانس برای شناسایی میکروب‌ها توسط دستگاه آنالایزر میکروبی در فصل تابستان و زمستان به ترتیب 10.4 ± 0.10 و 11.06 ± 0.10 ساعت بود. مشاهده شد ($P < 0.05$). میانگین و انحراف معیار لگاریتم تعداد باکتری در هر گرم از سوسیس در فصل تابستان و زمستان به ترتیب $2/80 \pm 0.71$ cfu/g و $2/84 \pm 0.64$ بود که از نظر آماری تفاوتی مشاهده نشد ($P > 0.05$).

تکنیک امیدانس مورد ارزیابی قرار گرفت و میزان انطباق دو روش را معادل ۷۸ درصد گزارش نمودند و اظهار داشتند که روش امیدانس 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 (Grossi et al., 2008). یک روش سریع و انتخابی برای کنترل رشد کلی فرم‌ها در شیر با به کارگیری ترکیبی از سنسورهای امیدمتریک همراه با کاهش غلظت متیلن‌بلو بررسی شد و منحنی کالیبراسیون ارتباط خطی بین زمان امیدانس و غلظت کلی‌فرم (در محدوده 10^8 - 10^2 کلنی در میلی‌لیتر) را با ضریب تعیین 0.9192 نشان دادند و ثابت کردند که این سنسورها قادرند غلظت اولیه کلی‌فرم‌ها را با تعداد 10^5 کلنی در میلی‌لیتر در ۶ ساعت تعیین نمایند و میزان انطباق دو روش $91/92$ درصد گزارش شد (Lee et al., 2009).

مدل پیشگویی برای ارزیابی بار باکتریایی مزوفیل و سایکروفیل در عضله ماهیان حلوا سفید نگهداری شده در یخ از طریق تکنیک امیدانس توسط (Fazlara et al., 2014) مورد بررسی قرار گرفت. آن‌ها نتیجه گرفتند که روش فوق می‌تواند قابل اعتماد در تخمین بار میکروبی و ماندگاری عضله ماهی تا ۱۲ روز باشد.

نتایج مطالعات فوق همگی حاکی از میزان انطباق خوب روش‌های مرجع با روش امیدانس است که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. علت تفاوت در مقادیر ذکر شده انطباق روش‌های مرجع و امیدانس، مربوط به نوع و ترکیبات تشکیل دهنده مواد غذایی مختلف، نوع باکتری مورد مطالعه، محیط‌های کشت مصرفی متفاوت، حجم نمونه و جداسازی میکروبی و میزان دقت و خطاهای فرد آزمایش کننده است (Liu et al., 2015).

مطالعات متعددی (Perez-Esteveetal., 2014; Fuentes et al., 2014; Rizoet al., 2013) در مورد تطابق روش امیدانس با بار میکروبی یا شمارش میکروارگانسیم‌های شاخص در محیط کشت و یا مواد غذایی صورت گرفته است و منحنی‌های کالیبراسیون برای فاکتورهای کنترل کیفیت میکروبی مورد نظر طراحی شده است که این همبستگی را تصدیق می‌کند.

Walker et al. (2005) با استفاده از تکنیک امیدانس شمارش سریع بیفیدوباکتریوم لاکتیس (پروبیوتیک) افزوده شده به شیر را بررسی کردند و تغییرات امیدانس محیط کشت یا M-Value در دمای 40 درجه سانتی‌گراد را توسط دستگاه آنالایزر رشد میکروبی باک‌تراک 4100 ثبت نمودند. در این مطالعه نمونه‌های حاوی 10^6 باکتری در گرم، در روش امیدانس طی مدت 15 ساعت و همین نمونه‌ها در روش پلیت کانت طی 3 روز شناسایی گردید. در این بررسی میزان انطباق دو روش $98/74$ درصد گزارش شد و نتایج حاصل از دو روش مرجع و امیدانس از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($P > 0.05$). در مطالعه دیگر میکروالکترودهای اینتردیجیتال (IMEs) به عنوان سنسورهای امیدانس برای تشخیص سریع سالمونلا تایفی‌موریوم در یک محیط کشت انتخابی و نمونه‌های شیر به کار گرفته شدند. منحنی امیدانس ارتباط خطی بین لگاریتم اولیه سلول‌های سالمونلا تایفی‌موریوم (در محیط کشت و نمونه‌های شیر) و زمان تعیین امیدانس را نشان داد. مقادیر ضریب تعیین به ترتیب در محیط کشت و نمونه‌های شیر معادل $0/99$ و $0/98$ به دست آمد و زمان لازم برای تشخیص ($5/4 \times 10^5$ cfu/ml تا $4/8$)، معادل $2/2-9/3$ ساعت گزارش گردید (Yang et al., 2004).

تراکم کلی میکروبی در انواع بستنی‌های عرضه شده در شهر بلونای ایتالیا با استفاده از روش استاندارد مرجع و نیز

استفاده می‌شود (Ribeiro et al., 2003). در ایران نیز استانداردهای مربوط به روش امیدانس در میکروبی شناسی مواد غذایی به شماره‌های ۷۷۲۶ و ۷۷۲۷ به ترتیب مربوط به شمارش میکروبی در مواد غذایی مصوب شده است (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۳) و هم اینکه در تعدادی از کارخانجات صنایع غذایی و به خصوص شیر و فرآورده‌های لبنی استفاده می‌شود.

امروزه از روش امیدانس در بسیاری از کشورهای اتحادیه اروپا به منظور انجام سریع‌تر و راحت‌تر کنترل کیفی میکروبی مواد غذایی مختلف به خصوص در جهت شناسایی پاتوژن‌های نو ظهور مواد غذایی استفاده می‌شود. در این زمینه استانداردهای مربوطه به صورت دستورالعمل‌های ISO نیز تدوین شده است. از روش امیدانس به ویژه در کنترل کیفی حجم انبوه محصولات و فرآورده‌های تولیدی در کارخانه‌های صنایع غذایی و حتی تصفیه فاضلاب آن‌ها

منابع

۱. رضوی‌لر، ودود (۱۳۸۲). میکروبی‌های بیماری‌زا در مواد غذایی و اپیدمیولوژیک مسمومیت‌های غذایی. انتشارات دانشگاه تهران، صفحات ۴۶-۴۷.
۲. فضل‌آرا، علی، زارعی، مهدی و متقیان، ناهید. (۱۳۹۲). بررسی روش اندازه‌گیری بار میکروبی شیر خام و پاستوریزه با استفاده از اندازه‌گیری مقاومت الکتریکی (امپدانس) و تطابق آن با اسیدیته قابل تیتر شیر. مجله دامپزشکی ایران، ۹ (۲): ۹۷-۱۰۵.
۳. سازمان ملی استاندارد ایران (۱۳۸۱). استاندارد ملی شماره ۵۴۸۴، شیر و فرآورده‌های آن - روش شمارش کلی پرگنه‌های میکرو ارگانیسم‌ها در ۳۰ درجه سلسیوس.
۴. سازمان ملی استاندارد ایران (۱۳۸۳). استاندارد ملی شماره ۷۷۲۶، میکروبیولوژی مواد غذایی - اصول شناسایی و شمارش میکرو ارگانیسم‌ها در مواد غذایی با استفاده از روش امیدانس.
۵. سازمان ملی استاندارد ایران (۱۳۸۳). استاندارد شماره ۷۷۲۷، جستجو و شناسایی سالمونلا با استفاده از روش امیدانس.
۶. نوری، اشرف السادات، 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 امیدانس و طراحی الگوی ریاضی مربوطه، نهمین کنگره سراسری میکروبی شناسی ایران، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، صفحه ۲۳۱.
7. Bauchot, A. D., Harker, F. R., and Arnold, W. M. (2000). The use of electrical impedance 366 spectroscopy to assess the physiological condition of kiwifruit. *Post Biol Technol.* 18: 9-18.
8. Fazlara, A., Yavari, V., AbhariSegonbad, H., and RajabzadehGhatromi, E. (2014). Predictive models for evaluation of mesophilic and psychrophilic bacterial loads in muscles of fresh ice-stored silver pomfret by impedimetric technique. *Fish Sci.* 13: 303-318.
9. Fuentes, A., Vazquez-Gutierrez, J. L., Perez-Gago, M. B., Vonasek, E., Nitin, N., and Barrett, D. M. (2014). Application of nondestructive impedance spectroscopy to

- Engineer. 133: 16-22.
10. Gomez- Sjoberg, R., Morissette, D. T., and Bashir, R. (2005). Impedance Microbiology-on-a- Chip: Microfluidic Bioprocessor for Rapid Detection of Bacterial Metabolism, Microelectromechanical Systems. *Microel Sys.* 14: 829-838.
 11. 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. *Biosen Bioelec.* 23:1616-1623.
 12. Johnson, N., Chang, Z., Bravo Almeida, C., Michel, M., Iverson, C., and Callanan, M. (2014). Evaluation of indirect impedance for measuring microbial growth in complex food matrices. *Food Microbiol.* 42:8-13.
 13. Joy, J. M., Loessner, M. J., and Golden, D. S. (2005). *Modern Food Microbiology*. Seventh ed., Springer Science Inc. USA. pp: 272-273.
 14. Lee, Y., Wu, H. Y., Hsu, CH. L., Liang, H. J., Yuan, CH. 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. *Sensor and Actuators B.* 141: 575-580.
 15. Liu, J. T., Settu, K., Tsai, J. Z., and Chen, Ch, J. (2015). Impedance sensor for rapid enumeration of *E. coli* in milk samples. *Electro Acta.* 182: 89-95.
 16. Masot, R., Alcañiz, M., Fuentes, A., Schmidt, F. C., Barat, J. M., Gil, L., Baigts, D., Martinez- Manez, R., and Soto, J. (2010). Design of a low-cost non-destructive system for punctual measurements of salt levels in food products using impedance spectroscopy. *Sensors and Actuators A.* 158: 217-223.
 17. Oliver, M. A., Gobantes, I., Árnau, J., Elvira, J., Riu, P., Grèbol, N., and Monfort, J. M. (2001). Evaluation of the electrical impedance spectroscopy (EIS) equipment for ham meat selection. *Meat Sci* 58: 305-312.
 18. Pérez-Esteve, E., Fuentes, A. R., Grau, R., Fernández-Segovia, I., Masot, R., Alcañiz, M., and Barat, J.M. (2014). Use of impedance spectroscopy for predicting freshness of sea bream (*Sparus aurata*). *Food Control.* 35: 360-365.
 19. Ribeiro, T., Romestant, G., Depoortere, J., and Paus, A. (2003). Development, validation and applications of a new laboratory-scale indirect impedance meter for rapid microbial control. *Appl Microbiol Biotechnol.* 63: 35-41.
 20. Rizo, A., Fuentes, A., Fernández-Segovia, I., Masot, R., Alcañiz, M., and Barat, J. M. (2012). Development a new salmon salting-smoking method and process monitoring by impedance spectroscopy. *LWT.* 51: 218-224.

21. Zia, A. I., Rahman, M. S. A., Mukhopadhyay, S. C., Yu, P., Al-Bahadly, I. H., Gooneratne, C. P., Kosel, J., and Liao, T. SH. (2013). Technique for rapid detection of phthalates in water and beverages. *Food Engineer*. 116: 515-523.
22. Yang, L., Li, Y., Griffis, C. L., and Johnson M. G. (2004). Interdigital microelectrode (IME) impedance sensor for the detection of viable *Salmonella typhimurium*. *Biosensors Bioelectronics*. 19: 1139-1147.
23. Walker, K., Ripandelli, N., and Flint, S. (2005). Rapid enumeration of *Bifidobacterium lactis* in milk Powders using impedance. *Int Dairy*. 15: 183-188.

Designing predictive model for microbial load in sausage meat processing with using impedance method and survey on its correlation with reference

Sororyan, R¹., Fazlara, A¹., Roomiani, L^{2*}., Afrazeh, M.¹

1. Department of Food Science and Technology, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.

2. Department of Fisheries, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.

*Corresponding author: L.roomiani@yahoo.com

Received: 24 December 2015

Accepted: 18 October 2015

Abstract

The objective of the present study was to employ the technique of Impedance Splitting Method, a technique of high accuracy and sensitivity, in the microbial count and characterization based on their rate of metabolic activity leading to a change in electrical resistance in the shortest possible time. A total bacterial count on samples (n= 80 of sausage) collected during the cold and warm seasons, were evaluated by the standard and the Impedance splitting methods (ISM). Based on the obtained coefficient of determination results in the resulting mathematical equations, the correlation coefficient between the two methods in relation to the total bacterial count in sausage, in the summer and winter seasons, as well as the cumulative results have been 93.9, 93.1 and 95%, respectively. This study suggests that impedimetric technique can be used as a rapid and reliable method to accurate estimation of sausage bacterial loads. This initial evaluation of the suitability of indirect impedance to generate microbial growth data in complex food matrices indicates significant potential for the technology as an alternative to plating methods.

Keywords: Impedimetric technique, Bacterial load, Sausage.