مدل سازی ریاضی تراکم میکروبی بر اساس روش امپدانس در فیله گوشت ماکیان و بررسی تطابق آن با مقدار ازت فرار تام (TVN)

علی فضل آرا [۱*]، مهدی پورمهدی بروجنی [۲]، فروغ جافری [۳]

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 دکترای دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

(تاریخ دریافت: ۹۰/۹/۷ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۰/۲۸)

چکیده

شمارش کلی بار میکروبی نمونه فیله‌های گوشت ماکیان به روش مرسوم پورپلیت و مطابقت نتایج حاصله با استانداردهای موجود از جمله کارهای آزمایشگاهی معمول است. از سوی دیگر سرعت دستیابی به نتایج در اسرع وقت از جمله نکات ویژه و مد نظر به منظور اطمینان از کیفیت محصول می باشد. لذا با تکیه بر این موضوع، بهره گیری از تکنیک امپدانس به عنوان روشی جدید در ارزیابی بار میکروبی فیله‌های گوشت ماکیان مد نظر واقع شد که با صرف وقت کمتر، دستیابی سریع تر به نتایج را میسر می سازد. همچنین در این مطالعه مطابقت نتایج حاصله از روش امپدانس با نتایج بدست آمده از روش مرجع کشت پورپلیت و نیز میزان ازت فرارکل مورد بررسی واقع گردید. در طی این بررسی تعداد ۸۰ نمونه فیله گوشت ماکیان (۴۰ نمونه فصل سرد و ۴۰ نمونه فصل گرم) 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 ازت فرارتام اندازه‌گیری شد. روش پورپلیت، اندازه‌گیری مقدار ازت فرارتام 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 نرم افزار Excel بدست آمد. بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، میزان تطابق روش امپدانس با روش مرجع پورپلیت در فصول سرد و گرم ونیز کل داده ها به ترتیب ۹۸/۱٪ ، ۹۷/۳٪ و ۹۷/۴٪ بود. میزان تطابق روش امپدانس با مقدار ازت فرارتام در فصول سرد و گرم و نیز کل داده ها به ترتیب ۸۱/۵٪ ، ۸۵/۴٪ و ۸۲/۵٪ وهمچنین میزان تطابق مقدار بار باکتریایی با مقدار ازت فرارتام به همان ترتیب معادل ۸۳/۲٪ ، ۸۶/۸٪ و ۸۴/۴٪ حاصل گردید. بنابر نتایج موجود، به لحاظ اهمیت حصول هر چه سریع‌تر نتایج در آزمون‌های کنترل کیفیت غذایی، بهره‌گیری از تکنیک های جدیدی همچون روش امپدانس در صنایع غذایی به عنوان جایگزینی برای روش‌های مرسوم قدیمی می تواند مورد استفاده باشد.

کلید واژگان: گوشت ماکیان، روش امپدانس، روش پورپلیت، شمارش کلی بار میکروبی، مقدار ازت فرار تام

* مسئول مکاتبات: a.fazlara@scu.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-02]

۱- مقدمه

گوشت طیور به علت بالا بودن درصد پروتئین نسبت به سایر گوشت ها، کم بودن افت پس از کشتار، قابلیت هضم بالا، سرعت رشد طیور و پایین بودن قیمت گوشت مرغ نسبت به سایر گوشت ها از اهمیت ویژه ای برخوردار است، از طرفی تولید پروتئین با پرورش طیور ساده تر، آسان تر و امکان پذیرتر از سایر دام هاست. به همین دلایل گوشت طیور، به عنوان یک منبع غذایی حاوی پروتئین به طور وسیعی در تغذیه انسان در تمامی دنیا مورد استفاده قرار گرفته است.[۱]

پس از کشتار طیور مجموعه تغییرات شیمیایی، فیزیکی و میکروبی در لاشه و گوشت آغاز می شود که در اثر این تغییرات، کاهش قابل توجهی در اختصاصات کیفی محصول ایجاد می گردد. روش های ارزیابی کیفیت محصول نیز عمدتا بر پایه تعیین میزان پیشرفت همین تغییرات طراحی شده اند. از جمله این تغییرات به فاکتورهای تراکم میکروبی و نیز مقدار ازت فرار تام[1] (TVN) به عنوان فاکتور شیمیایی می توان اشاره نمود.

در دو دهه اخیر استفاده از روش میزان مقاومت الکتریکی یا امپدانس جهت شناسایی میکروب های حائز اهمیت در مواد غذایی و نیز شمارش کلی میکروب ها در غذاهای مختلف گسترش فراوانی یافته است. در این روش، تشخیص سریع وجود باکتری‌ها از طریق نمایش فعالیت‌های متابولیک به وسیله ایجاد تغییر در مقاومت الکتریکی در محیط کشت امکان پذیر می‌باشد[۲]. در ایران نیز برای اولین بار در سال ۱۳۸۲ این تکنولوژی به کار گرفته شد و پس از آن استانداردهای مربوط به آیین کار شمارش کلی میکروبی با روش امپدانس و نیز جستجوی سالمونلا در مواد غذایی با روش امپدانس به شماره های ۷۷۲۶ و ۷۷۲۷ در سال ۱۳۸۴ در مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی به تصویب رسید[۳و ۴].

بنابراین با توجه به آن که شیوه رایج و متداول ارزیابی کیفیت گوشت ها از جمله فیله گوشت ماکیان، سنجش تراکم میکروبی با استفاده از روش مرسوم یا مرجع شمارش کلی میکروبی در گوشت می باشد که کاری وقت گیر و نیازمند آماده سازی های مقدماتی زیادی است، در این مطالعه سعی بر طراحی مدل ریاضی تراکم میکروبی مذکور براساس میزان مقاومت الکتریکی یا امپدانس می باشد تا بدینوسیله بتوان به سهولت و در حداقل زمان، تعداد بیشتری از نمونه ها را از نظر کیفیت میکروبی مورد ارزیابی قرار داد. همچنین در این مطالعه ارزیابی میزان تطابق روش امپدانس با تغییرات ازت فرار تام که از جمله فاکتورهای تعیین کننده در کنترل کیفیت شیمیایی گوشت می باشد، نیز مدنظر واقع گردیده است.

۲- مواد و روش کار

با توجه به شرایط خاص اقلیمی جنوب ایران و بخصوص منطقه خوزستان که عمداً شرایط آب و هوایی در طول سال به دو فاز زمانی شامل فصل گرم (اول اردیبهشت ماه تا آخر مهرماه) و فصل سرد (اول آبان ماه تا آخر فروردین ماه) تقسیم بندی می گردد، به منظور اجرای این تحقیق در طی دو فصل مذکور، تعداد ۸۰ نمونه فیله گوشت ماکیان از سطح شهر اهواز تهیه گردید. به این نحو که در هر فصل تعداد ۴۰ نمونه اخذ شد. سپس نمونه ها 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) حداکثر در طی مدت ۲۴ ساعت انجام گرفت. همانطور که بیان شد، هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی میزان تطابق روش مرجع شمارش کلی میکروبی و مقدار ازت فرار تام با میزان مقاومت الکتریکی یا امپدانس و نهایتاً ترسیم منحنی‌ها و به دست آوردن معادلات رگرسیونی مربوطه بود. به نحوی که معادلات حاصل برای ارزیابی کیفیت فیله‌های تازه گوشت ماکیان تا مرحله فساد قابل استفاده و کاربرد باشند. لذا در مطالعه حاضر علاوه بر فیله گوشت‌های تازه ماکیان، نیاز به استفاده از فیله‌های مانده و دارای بار میکروبی بالا نیز بود. بنابراین همچون روش مرسوم نگهداری گوشت‌های تازه، نسبت به نگهداری نمونه‌ها در دمای یخچالی اقدام گردید تا بدینوسیله با گذشت زمان به تدریج تراکم میکروبی در نمونه ها افزایش یافت و سپس مجدداً نسبت به انجام آزمایش‌های فوق‌الذکر به صورت تاخیری بر روی نمونه ها تا مرحله بروز علائم ظاهری و ارگانولپتیک فساد اقدام و نتایج حاصله ثبت گردید.

1. Total volatile nitrogen

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-02]

۲-۱- کشت به روش مرجع

پس از تهیه سریال رقت‌های ده‌تایی از نمونه‌ها، کشت به روش پورپلیت با استفاده از محیط کشت آگار میکروبی در پلیت[1] انجام شد. پس از گذشت زمان لازم برای نگهداری پلیت ها در انکوباتور (۴۸ ساعت)، پلیت‌ها از انکوباتور خارج شده و پلیت‌هایی که بین ۳۰ تا ۳۰۰ کلنی داشتند انتخاب و تعداد کلنی‌های آنها شمارش می‌شد. سپس برای هر نمونه، به منظور گزارش تراکم میکروبی، تعداد کلنی‌های شمارش شده در پلیت، در ضریب و نسبت معکوس رقت مربوطه ضرب شده و نتیجه نهایی که بار میکروبی موجود در یک گرم (cfu/gr) نمونه گوشت ماکیان بود، حاصل می‌گردید [۵، ۶ و۷].

۲-۲- کشت به روش امپدانس

به منظور جلوگیری از شوک سرمایی، ۱۵دقیقه قبل از انجام کشت، لوله‌های حاوی محیط براث مخصوص روش امپدانس[2] را که قبلا آماده و استریل شده بودند از یخچال بیرون آورده می‌شد تا با محیط هم دما شوند. سپس با یک میلی لیتر یا ۱۰۰۰ میکرولیتر از رقت 10^{-1} نمونه که به طور همزمان کشت در پلیت آن نیز انجام داده می‌شد، تلقیح گشته و درون انکوباتور دستگاه آنالایزر میکروبی باک تراک ۴۳۰۰ [3] قرار داده می‌شد و مشخصات لوله شامل نوع و شماره نمونه وارد نرم افزار دستگاه می‌شد و پروتوکل مربوط به ارزیابی شمارش کلی میکروبی در ۳۰ درجه سانتی گراد با استفاده از تغییرات امپدانس یا مقاومت الکتریکی در محیط کشت (Media Value or M-Value) با مدت زمان گرم شدن اولیه یک ساعت[4] و حد آستانه[5] معادل ۵ درصد و فواصل زمانی اندازه گیری امپدانس معادل هر ۱۰ دقیقه برای طول مدت زمان حداکثر ۲۴ ساعت کارکرد دستگاه تنظیم می‌گردید و نتایج حاصله از اندازه گیری میزان تغییرات امپدانس و به تبع آن هدایت الکتریکی در نرم افزار دستگاه آنالایزر میکروبی باک تراک ۴۳۰۰ ثبت می‌گردید[۳].

نتایج حاصل از شمارش کلی میکروبی به روش مرجع و نیز مدت زمان به دست آمده جهت ارزیابی بار میکروبی برحسب ساعت توسط دستگاه امپدانس در سیستم نرم افزاری 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.

۲-۳- اندازه گیری ازت فرار تام

برای اندازه گیری ازت فرار تام از دستگاه کلدال اتوماتیک استفاده می شد. در ابتدا ۱۰۰ گرم از فیله گوشت ماکیان برداشته و در داخل هاون چینی کاملا هموژن و یکنواخت می-گردید. سپس ۱۰ گرم از فیله گوشت ماکیان هموژن شده توسط ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱، وزن می‌گردید و همراه با مقدار ۱/۵ گرم اکسید منیزیم به بالن هضم کلدال وارد و بعد از آن ۶۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه می گردید. یک ارلن که با آب مقطر شسته شده بود، به عنوان ظرف گیرنده در زیر قسمت مبرد یا سرد کننده دستگاه تقطیر قرار می گرفت و به آن ۱۰ قطره معرف متیل‌رد ۰/۱ درصد اضافه می شد. پس از آن دستگاه روشن گشته، محلول اسید بوریک ۲ درصد به طور اتوماتیک به میزان ۴۰ میلی لیتر توسط دستگاه به ارلن گیرنده اضافه می شد. پس از روشن شدن دستگاه، عمل جوش و تقطیر با توان گرمایی p:500 وات حداکثر در مدت زمان ۲۵ دقیقه انجام می گرفت و سپس دستگاه خاموش می شد. در نهایت محلول تقطیر شده توسط محلول تیترازول اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تیتر می‌گردید و بر اساس مقدار اسید مصرفی، مقدار ازت فرار تام بر حسب میلی گرم در ۱۰۰ گرم فیله گوشت ماکیان محاسبه می‌شد[۸].

نهایتاً نتایج حاصل از فاکتورهای مورد مطالعه (بارمیکروبی به روش مرجع، TVN و نیز مدت زمان ثبت شده جهت ارزیابی

1. Plate Count Agar
2. Bimedia 001A
3. Bactrac 4300
4.Warm Up Time
5. Threshould

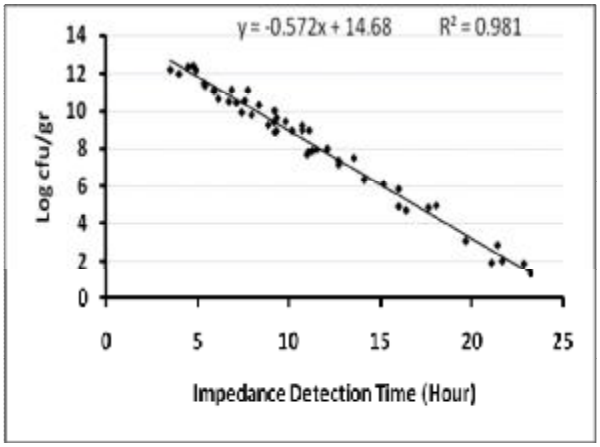
[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-02]

بار میکروبی با روش امپدانس) با استفاده از نرم افزار SPSS مورد بررسی و تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و تحلیل داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از رگرسیون خطی، تحلیل همبستگی و محاسبه ضریب همبستگی پیرسن و آزمون t برای دو نمونه مستقل[1] انجام گرفت. همچنین منحنی‌های مربوط به رگرسیون یا پراکنش زمان‌های بدست آمده از دستگاه امپدانس با لگاریتم مقادیر بار میکروبی، زمان‌های بدست آمده از دستگاه امپدانس با TVN و نیز لگاریتم بار میکروبی با TVN با استفاده از نرم افزار Excel رسم گردید.

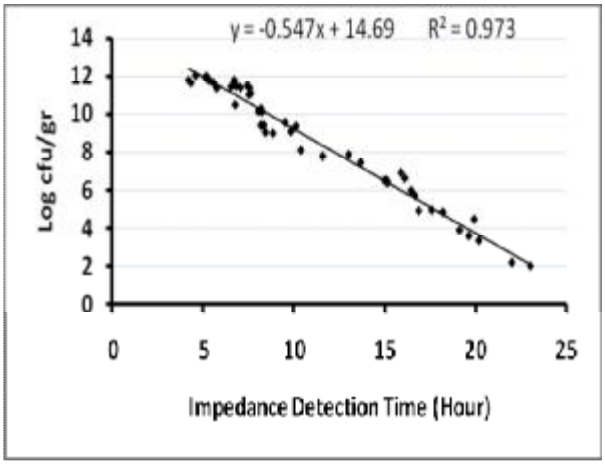
۳- نتایج و بحث

۳-۱- منحنی های مربوط به ارتباط امپدانس و شمارش کلی میکروبی به روش مرجع

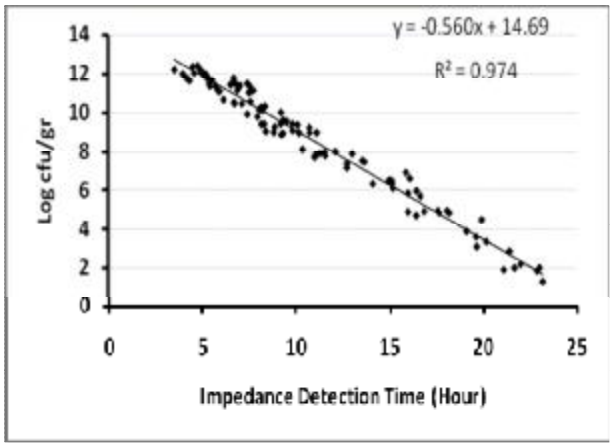
منحنی ارتباط زمان های بدست آمده از دستگاه امپدانس با مقادیر بار میکروبی فیله‌های گوشت ماکیان حاصل از روش مرجع به صورت مجزا در سه منحنی که شامل منحنی‌های فصل سرد، فصل گرم و کل داده ها می باشد و با استفاده از آزمون رگرسیون خطی بدست آمده به ترتیب در شکل های ۱، ۲ و۳ نشان داده شده است.



شکل ۱ منحنی ارتباط زمان های بدست آمده از دستگاه امپدانس با مقادیر بارمیکروبی فیله گوشت ماکیان (فصل سرد)



شکل ۲ منحنی ارتباط زمان های بدست آمده از دستگاه امپدانس با مقادیر بار میکروبی فیله گوشت ماکیان (فصل گرم)



شکل ۳ منحنی ارتباط زمان های بدست آمده از دستگاه امپدانس با مقادیر بار میکروبی فیله گوشت ماکیان (کل داده ها)

تحلیل همبستگی با نرم‌افزار آماری SPSS نشان داد که همبستگی بسیار قوی و معکوسی بین لگاریتم بار میکروبی و میزان امپدانس وجود دارد. و بدینوسیله معادلات رگرسیونی شمارش کلی بار میکروبی فیله‌های گوشت ماکیان با زمان های تعیین شده به وسیله دستگاه امپدانس باک تراک ۴۳۰۰ به ترتیب در فصل سرد، فصل گرم و کل داده ها به شرح ذیل بدست آمد:

Y=-0.572x+14.68	فصل سرد
Y=-0.547x+14.69	فصل گرم
Y=-0.560X+14.69	کل داده‌ها

1. Independent samples t test

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-02]

مقادیر R^2 یا ضریب تعیین[1] بدست آمده در شکل های۱ ، ۲ و ۳ که به ترتیب معادل ۰/۹۸۱ ، ۰/۹۷۳ و ۰/۹۷۴ هستند، بیانگر میزان بالای قدرت پیشگویی مقادیر بار میکروبی فیله‌های گوشت ماکیان با بهره گیری از تکنیک امپدانس و معادلات رگرسیونی حاصل می باشد که به ترتیب معادل ۹۸/۱٪، ۹۷/۳٪ و ۹۷/۴٪ خواهد بود.

امروزه بهره گیری از روش امپدانس با توجه به امکان حصول سریع نتایج، بسیار توسعه یافته است و در موارد مختلفی از این روش استفاده می شود. مزیت روش امپدانس، سرعت انجام آن است که بسیار سریع تر از روش های مرجع میکروبی است. اندازه گیری مقاومت الکتریکی (امپدانس) روش نسبتا سریعی است که در آن شناسایی سریع میکروب‌ها از طریق نمایش فعالیت های متابولیک به وسیله ایجاد تغییر در مقاومت الکتریکی امکان پذیر می شود. از سوی دیگر روش مرجع بر اساس شمارش کلی میکروبی می باشد که در واقع تعداد ارگانیسم های زنده را به صورت کلنی های قابل رویت در سطح محیط کشت آشکار می نماید. با طراحی منحنی های کالیبراسیون دو روش که بر اساس معادلات رگرسیونی می باشد 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 [۹].

در مطالعه حاضر میزان پیشگویی مقادیر بار میکروبی فیله‌های گوشت ماکیان با استفاده از معادلات رگرسیونی حاصل به ترتیب معادل ۹۸/۱٪ ، ۹۷/۳٪ و ۹۷/۴٪ برای فصل سرد، فصل گرم و کل داده ها بود که این موضوع بیانگر کاربردی بودن مناسب روش امپدانس در تعیین بار میکروبی فیله‌های گوشت ماکیان می‌باشد. تحقیقات مشابه دیگر در زمینه استفاده از روش امپدانس در کنترل کیفیت میکروبی مواد غذایی مختلف به انجام رسیده است. در مطالعه آندرد و همکاران در سال ۱۹۹۸، 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 اعلام گردید که با توجه به انطباق بالای روش مرجع با روش امپدانس (R^2=۰/۹۲)، روش امپدانس به عنوان روش انتخابی و جایگزین روش مرجع برای شناسایی انتروکوک توصیه می گردد[۱۰]. اسپیلر و همکاران در سال ۲۰۰۶ در آلمان از روش امپدانس و اندازه گیری مقاومت الکتریکی برای ارزیابی تراکم انتروکوک و پایش بقاء آنها در محیط کشت استفاده نمودند. بدین نحو که از یک محیط کشت مغذی متشکل از ماکرومولکول‌ها و دارای مقاومت یا هدایت الکتریکی ثابت و پایدار استفاده کردند. با تلقیح مقادیر مشخصی از سوسپانسیون *انتروکوکوس فکالیس* به محیط کشت مذکور نسبت به ردیابی و یا پایش تغییرات هدایت الکتریکی از طریق الکترودهای تعبیه شده در محیط کشت اقدام نمودند. میزان تغییرات مقاومت یا هدایت الکتریکی را به صورت معادله ریاضی و تابعی از تراکم باکتریایی انتروکوک‌ها گزارش کردند[۱۱]. گوروسی و همکاران در ایتالیا نیز در سال ۲۰۰۸ تراکم کلی میکربی در انواع بستنی‌های عرضه شده درشهر بلونا را با استفاده از روش استاندارد مرجع و نیز روش امپدانس ارزیابی نمودند. میزان انطباق دو روش خوب و معادل R^2 =۰/۷۷۹۴ گزارش شد. آنان 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[۱۲]. لک و همکاران درسال ۱۳۸۴، شمارش کلی میکروبی در۱۵۰ نمونه بستنی سنتی را با دو روش استاندارد پورپلیت و امپدانس بررسی کردند. میزان انطباق دو روش R^2 =۰/۸۰ به دست آمد[۱۳]. بررسی مشابه در سال۱۳۸۳ بر روی شیرهای پاستوریزه، میزان تطابق را R^2 =۰/۹۵۰۶ نشان داد [۱۴]. در مطالعه خاتمی نیا و همکاران در سال ۲۰۰۸ دو روش استاندارد مرجع و امپدانس را در شناسایی *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در کره‌های پاستوریزه مقایسه کردند. میزان انطباق دو روش به ترتیب R^2 =۰/۸۶۶ و R^2 =۰/۷۹۰۳ گزارش شد[۱۵].

والکر و همکاران نیز در سال ۲۰۰۵، با استفاده از تکنیک امپدانس شمارش سریع *بیفیدوباکتریوم‌لاکتیس*[2] (پروبیوتیک) افزوده شده به شیر را بررسی کردند و تغییرات امپدانس محیط کشت یا M-Value در۴۰ درجه سانتی گراد را توسط دستگاه آنالیزر رشد میکروبی باک ترک ۴۱۰۰ ثبت نمودند. 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 معنی داری نشان ندادند [۱۶]. به همین ترتیب در مطالعه‌ای که گلسموير و راسل در سال ۲۰۰۱ انجام دادند

1. Determination of coefficient

2. *Bifidobacterium lactis*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-02]

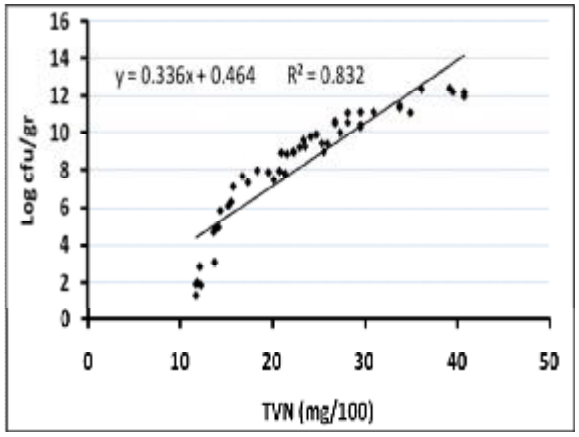
یک محیط مایع انتخابی حاوی آکریفلاوین و نالیدیکسیک اسید برای ردیابی *استافیلوکوکوس اورئوس* با روش امپدانس طراحی گردید(SIB)[1]. در این محیط، *استافیلوکوکوس اورئوس* ظرف حداکثر ۱۶/۴ ساعت در دستگاه امپدانس تشخیص داده می-شود. این باکتری در گوشت ماکیان تازه و پخته شده که با *استافیلوکوکوس اورئوس* تلقیح شده بودند، در کمتر از ۱۱/۵ ساعت قابل ردیابی بود [۱۷]. در تحقیقی دیگر امپدانس به عنوان روشی در تعیین میزان *باسیلوس استئاروترموفیلوس*[2] به کار رفته است.بر اساس نتایج حاصله از فلینت و بروکس در سال ۲۰۰۱ با استفاده از باک ترک ۴۰۰۰ ارتباط قابل قبولی بین تعداد باکتری مورد مطالعه وتغییرات امپدانس اندازه گیری شده به دست آمد[۱۸] . گاروو و همکاران در سال ۲۰۰۱ نیز کاربرد امپدانس را برای ارزیابی استارتر کالچر لبنی در شیر سویا بررسی کردند و ارتباط خطی بین شمارش باکتری های استارتر کالچر و زمان تعیین امپدانس با ضریب همبستگی بالا (r=-۰/۹۵) به دست آمد[۱۹].

نتایج مطالعات فوق همگی حاکی از میزان انطباق خوب روش‌های مرجع با روش امپدانس است که با نتایج مطالعه حاضر قرابت دارد. علت تفاوت در مقادیر ذکر شده انطباق روش‌های مرجع و امپدانس، 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 است [۱۲ و ۲۰].

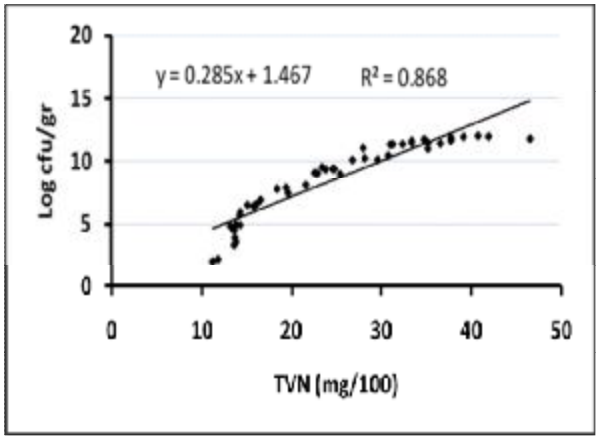
با توجه به این که روش امپدانس در مدت زمان کوتاه تر، تعداد نمونه های بیشتری را می تواند مورد ارزیابی قرار دهد، این تکنیک می تواند جایگزین مناسبی برای روش های قدیمی و وقت گیر باشد و در کنترل کیفیت مواد غذایی در شرایط کنونی که دریافت نتایج در حداقل زمان ممکن و اطمینان از کیفیت محصول تولیدی مد نظر تولیدکنندگان و مراکز نظارتی می باشد، حائز اهمیت است.

۳-۲-منحنی های مربوط به ارتباط ازت فرار تام و شمارش کلی میکروبی به روش مرجع

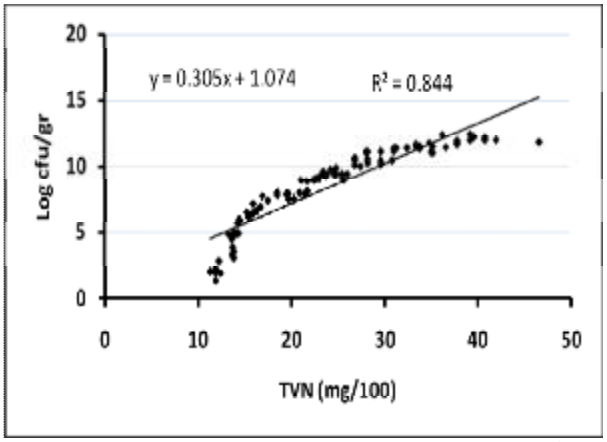
همچنین منحنی های مربوط به ارتباط ازت فرار تام با مقادیر بار میکروبی فیله‌های گوشت ماکیان به صورت مجزا در سه منحنی که شامل منحنی فصل سرد، فصل گرم و کل داده ها می‌باشد و با استفاده از آزمون رگرسیون خطی بدست آمده در شکل های ۴ و۵ و ۶ نشان داده شده است.



شکل ۴ منحنی ارتباط ازت فرار تام با مقادیر بار میکروبی فیله گوشت ماکیان (فصل سرد)



شکل ۵ منحنی ارتباط ازت فرار تام با مقادیر بار میکروبی فیله گوشت ماکیان (فصل گرم)



شکل۶ منحنی ارتباط ازت فرار تام با مقادیر بار میکروبی فیله گوشت ماکیان (کل داده ها)

معادلات رگرسیونی شمارش کلی بار میکروبی فیله‌های گوشت ماکیان با مقادیر ازت فرار تام به ترتیب در فصل سرد، فصل گرم و کل داده ها به شرح ذیل بدست آمد:

1. *S.aureus* Impedance Broth
2. *Bacillus stearothermophilus*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-02]

فصل سرد	Y=0.336 x+0.464
فصل گرم	Y=0.285 x+1.467
کل داده ها	Y=0.305 x+1.074

در بررسی های آماری با نرم‌افزار SPSS میزان همبستگی بالایی بین بار میکروبی و ازت فرار تام ملاحظه شد. مقادیر ضرایب تعیین به دست آمده در شکل های۴ ، ۵ و ۶ که به ترتیب معادل ۰/۸۳۲ ، ۰/۸۶۸ و ۰/۸۴۴ هستند، بیانگر میزان بالای قدرت پیشگویی مقادیر بارمیکروبی فیله‌های گوشت ماکیان با استفاده از مقادیر ازت فرار تام و معادلات رگرسیونی حاصل می باشد که به ترتیب معادل ۸۳/۲٪ ، ۸۶/۸٪ و ۸۴/۴٪ خواهد بود.

اندازه گیری ازت فرار تام یکی از روش هایی است که به طور گسترده برای تعیین کیفیت مواد غذایی با منشاء دامی استفاده می‌شود این روش شامل اندازه گیری فاکتورهایی مثل تری متیل آمین (TMA)[1] که توسط باکتری های عامل فساد تولید می شوند)، دی متیل آمین (DMA)[2] که توسط آنزیم های اتولیز کننده در طی دوره نگهداری تولید می شوند)، آمونیاک (که توسط آمین زدایی اسید های آمینه و کاتابولیسم نوکلئوتیدها ساخته می شوند) و سایر ترکیبات نیتروژنی فرار است [۲۱].

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 می کنند می توان به موارد زیر اشاره نمود:

فراکوئزا و همکاران در سال ۲۰۰۷ فساد گوشت بوقلمون بسته‌بندی شده در اتمسفر اصلاح شده (MAP)[3] را از نظر شاخص های میکروبی و ارتباط آنها با ازت فرار تام مورد بررسی قرار دادند که بعد از ۱۲ روز، افزایش قابل‌توجهی در تعداد مزوفیل‌ها، سرمادوست‌های هوازی و همچنین افزایش ازت فرار تام ملاحظه شد. بر اساس نتایج آنان ارتباط معنی داری بین فاکتورهای مورد مطالعه وجود داشت و ازت فرار تام می‌تواند به عنوان شاخصی در ارزیابی فساد میکروبی گوشت بوقلمون مطرح باشد[۲۲]. امانی و همکاران در سال ۲۰۱۰ با بررسی اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های روغنی سیر، آویشن و سبزیجات معطر در گوشت چرخ کرده، گزارش نمودند که این روغن‌ها اثر قابل‌توجهی در کاهش بار میکروبی و شاخص‌های شیمیایی مانند ازت فرار تام ، pH و TBA[4] دارند و فاکتورهای مذکور دارای همبستگی خوبی با هم بوده و تمامی آن‌ها تحت اثر اسانس‌های مورد مطالعه کاهش نشان دادند[۲۳]. سایکورسکی و همکاران در سال ۱۹۹۰ گزارش کردند که معمولا میزان ازت فرار تام حداکثر معادل ۳۰ میلی گرم درصد به عنوان حد قابل قبول برای ماهی در نظر گرفته می شود. آنان اعلام داشتند که میزان ازت فرار تام در طول دوره نگهداری افزایش می یابد و با میزان بار میکروبی ارتباط مستقیم دارند[۲۴]. تجادا و هویدوبرو نیز در سال ۲۰۰۲ افزایش میزان ازت فرار تام را به عنوان فاکتور شیمیایی کیفیت ماهی توربوت پرورشی تا روز ۱۴ نگهداری در یخ گزارش نموده، بیان داشتند که ازت فرار تام با زمان نگهداری و نیز آزمایش های بارمیکروبی مطابقت و ارتباط خوبی دارند.[۲۵]. به همین ترتیب ارتباط خوبی بین بار باکتری های مولد فساد و ازت فرار تام در ماهی آزاد دریایی[5] نگهداری شده در یخ توسط هازبر و همکاران در سال ۲۰۰۶ گزارش شده است[۲۶]. همچنین مطالعه انجام شده توسط جوزف و آدنس در سال ۲۰۰۴ بر روی ماهی شبه شوریده، ارتباط قوی بین شمارش بار باکتریایی کل و میزان ازت فرار تام را نشان داد. (r=۰/۹۸) [۲۷]. مطالعه دیسارافونگ و همکاران در سال ۲۰۰۶ بر روی اثر شرایط نگهداری احشاء بر تغییرات شیمیایی و میکروبیولوژیکی در سس ماهی در طول تخمیر، نشان داد که میزان شمارش کلی میکروبی احشاء نگهداری شده در دمای اتاق، معمولا نسبت به نمونه‌های نگهداری شده در یخ در تمام دوره نگهداری، بیشتر بود و بعد از ۸ ساعت از میزان اولیه ۲/۹log cfu/g به ۵/۴۶logcfu/g برای نمونه‌های نگهداری شده در یخ و به ۵/۹۳log cfu/g

1. Trimethylamine
2. Dimethylamin
3. Modified atmosphere package
4. Thiobarbituric acid
5. *Psedopercis semifaciata*

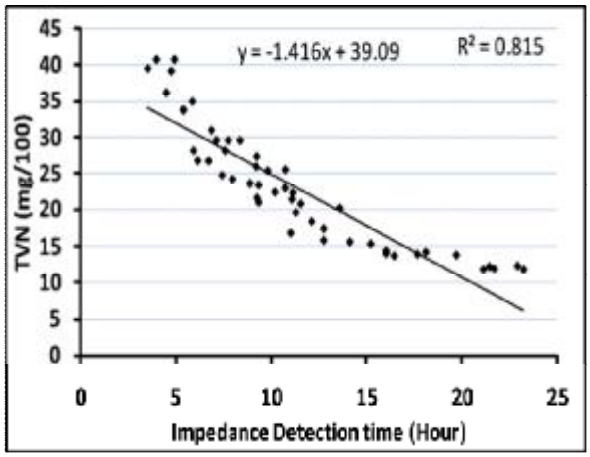
[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-02]

برای نمونه‌های نگهداری شده در دمای اتاق رسید. در این مطالعه افزایش در مقادیر ازت فرار کل و تری متیل آمین را همچون گزارش گرم و هاس در سال ۱۹۹۷، به دلیل رشد باکتری های مولد فساد نظیر فتوباکتریوم و باکتری های خانواده ویبریو دانسته و ارتباط معنی داری را بین بارمیکروبی و فاکتورهای شیمیایی مورد مطالعه اعلام داشتند[۲۸ و ۲۹]. تمامی این گزارش‌ها با نتایج حاصله از تحقیق حاضر که حاکی از میزان همبستگی بالای بین بار میکروبی و ازت فرار تام می-باشد، مطابقت دارند.

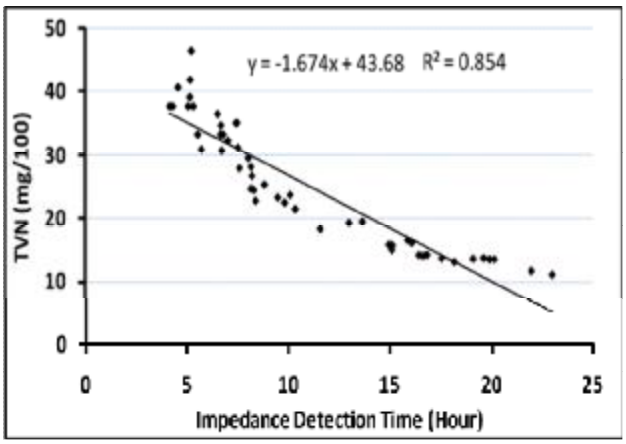
از سوی دیگر برخی از مطالعات انجام یافته حاکی از آن است که ارتباط معنی داری بین مقادیر ازت فرار تام با بار میکروبی وجود ندارد. در مطالعاتی که توسط حیدری و همکاران در سال ۱۳۸۲ در ماهی سارم و هوور مسقطی [۳۰]. و نیز بایکساز نوگوئراس و همکاران در سال ۲۰۰۳ در ماهی ماکرل نگهداری شده در یخ [۳۱]. انجام شده است، هیچ گونه ارتباط معنی داری بین مقدار ازت فرار تام با زمان نگهداری و نیز بار باکتریایی کل وجود نداشت که کاملاً برخلاف نتایج گزارش شده توسط سایر محققین ذکر شده در فوق و نیز نتایج حاصله از مطالعه حاضر می باشد. شاید بتوان علت تفاوت در این گزارشات را به فاکتورهایی مانند گونه ماهی، تفاوت در نوع و درصد ترکیبات متشکله گوشت وعضلات نظیر میزان چربی، اندازه ماهی، فصل و منطقه صید، روش نگهداری و نیز نرمال فلور میکروبی آنان مرتبط دانست.

۳-۳-منحنی های مربوط به ارتباط امپدانس و ازت فرار تام

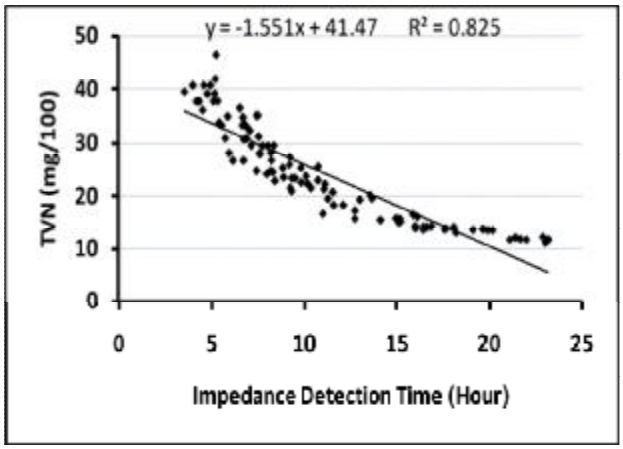
منحنی های مربوط به ارتباط زمان های بدست آمده از دستگاه امپدانس با مقدار ازت فرار تام فیله‌های گوشت ماکیان به صورت مجزا در سه منحنی که شامل منحنی فصل سرد، فصل گرم و کل داده ها می باشد و با استفاده از آزمون رگرسیون خطی بدست آمده در شکل های ۷ ، ۸ و ۹ نشان داده شده است.



شکل ۷ منحنی ارتباط زمان های بدست آمده از دستگاه امپدانس با مقادیر ازت فرار تام فیله گوشت ماکیان (فصل سرد)



شکل ۸ منحنی ارتباط زمان های بدست آمده از دستگاه امپدانس **با مقادیر** ازت فرار تام فیله گوشت ماکیان (فصل گرم)



شکل ۹ منحنی ارتباط زمان های بدست آمده از دستگاه امپدانس با مقادیر ازت فرار تام فیله گوشت ماکیان (کل داده ها)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-02]

معادلات رگرسیونی مقادیر ازت فرار تام فیله‌های گوشت ماکیان با زمان های تعیین شده به وسیله دستگاه امپدانس باک تراک ۴۳۰۰ به ترتیب در فصل سرد، فصل گرم و کل داده ها به شرح ذیل بدست آمد:

فصل سرد	Y=-1.416x+39.09
فصل گرم	Y=-1.674x+43.68
کل داده ها	Y=-1.551x+41.47

در بررسی های آماری میزان همبستگی بالایی بین مقادیر ازت فرار تام و زمان های تعیین شده به روش امپدانس ملاحظه شد. مقادیر ضرایب تعیین به دست آمده در شکل های ۷ ، ۸ و۹ که به ترتیب معادل ۰/۸۱۵ ، ۰/۸۵۴ و ۰/۸۲۵ هستند، بیانگر میزان بالای قدرت پیشگویی مقادیر ازت فرار تام فیله‌های گوشت ماکیان با بهره گیری از تکنیک امپدانس و معادلات رگرسیونی حاصل می باشد که به ترتیب معادل ۸۱/۵٪ ، ۸۵/۴٪ و ۸۲/۵٪ خواهد بود.

همان طور که در فوق بیان گردید، تاکنون مطالعات زیادی از نظر بررسی کیفیت مواد غذایی مختلف بوسیله اندازه گیری امپدانس و ازت فرار تام به صورت مجزا از یکدیگر صورت پذیرفته است. در حالی که طی بررسی و جستجوهای انجام شده که ضمن اجرای مطالعه حاضر در منابع موجود و پایگاه های اطلاعات علمی صورت گرفت، هیچ مطالعه‌ای مبنی بر بررسی این دو فاکتور (اندازه گیری امپدانس و ازت فرار تام) به طور همزمان و ارزیابی میزان همبستگی و مقایسه آنها با هم یافت نگردید. حال آن که در بررسی های آماری که در مطالعه حاضر از نظر تحلیل همبستگی با استفاده از نرم افزار SPSS انجام گرفت، 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 ونیز کل داده ها به ترتیب معادل ۸۱/۵٪ ، ۸۵/۴٪ و ۸۲/۵٪ درصد بود. لذا بر اساس نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر می توان اظهار داشت امپدانس به عنوان یک روش جدید و نسبتاً سریع و قابل استناد می تواند با استفاده از مدل های ریاضی طراحی شده مربوطه به طور همزمان علاوه بر ارزیابی و تخمین بار میکروبی، در تعیین میزان ازت فرار تام نیز کاربرد داشته باشد. هر چند که کاربردی شدن این موضوع نیازمند انجام تحقیقات و مطالعات بیشتر می‌باشد.

۴- نتیجه گیری

بر اساس تجزیه و تحلیل آماری نتایج حاصله با نرم‌افزار SPSS ، اختلاف معنی‌داری بین فصول سرد و گرم از نظر مقادیر ازت فرار تام، زمان‌های امپدانس برای شناسایی میکروب ها توسط دستگاه آنالایزر میگروبی و نیز لگاریتم تعداد باکتری در هر گرم از فیله گوشت ماکیان ملاحظه نگردید. شاید بتوان علت این موضوع را رعایت زنجیره سرما و شرایط یکسان و ثابت نگهداری فیله‌های گوشت ماکیان در فصول سرد وگرم سال دانست. از این رو در مطالعه حاضر با توجه به عدم وجود اختلاف معنی‌دار فاکتورهای مورد مطالعه بین فصول سرد وگرم سال، به لحاظ کاربردی می‌توان از منحنی و معادلات بدست آمده در مورد کل داده‌ها به عنوان مدل‌های پیشگو ثابت برای ارزیابی نمونه‌های مورد بررسی در کل سال استفاده نمود و نیازی به استفاده از منحنی و معادلات جداگانه به تفکیک برای فصول سرد و گرم سال نمی‌باشد و بدینوسیله می‌توان با اندازه‌گیری امپدانس و بهره‌گیری از معادلات رگرسیونی به دست آمده در مطالعه حاضر، نسبت به محاسبه و پیشگویی ریاضی مقادیر بارمیکروبی و نیز ازت فرار تام در فیله‌های گوشت ماکیان در حداقل زمان ممکن اقدام نمود.

۵- سپاسگزاری

این پژوهش در قالب پایان نامه از محل اعتبار پژوهانه سال ۹۰ دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شده است که بدین وسیله ازحوزه معاونت پژوهشی دانشگاه صمیمانه سپاسگزاری می-گردد.

۶- منابع

[1] Ghaemmaghami, S. (2011). Meat Hygiene and Inspection in Slaughter-House, 2nd Edition. Institute of Scientific-Applied Higher Education of Jahad-e-Agriculture Publications, Tehran. pp:2-4, 143-145.

[2] Razavilar, V. (2008). Pathogenic Microorganisms in Foods and Epidemiology of Food Borne Intoxications. 3rd Edition. Tehran University Publications. pp:46-47.

[3] Institute of Standards and Industrial Research of Iran (2004). Microbiology of

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-02]

foodstuffs –Fundamentals for detection and determination of microorganisms in foodstuffs with impedance method, National Standard No: 7726.

[4] Institute of Standards and Industrial Research of Iran (2004).Microbiology of foodstuffs –Determination of salmonella with impedance method, National Standard No: 7727.

[5] Institute of Standards and Industrial Research of Iran (2007). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of microorganisms – Colony count technique at 30 ºC, National Standard No: 5272.

[6] Institute of Standards and Industrial Research of Iran (2007). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Guideline of general requirements for examination, National Standard No: 9899.

[7] Vanderzant, C. and Splittstoesser, D.T. (1992). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 3rd Edition, American Public Health Association. pp:75-95.

[8]Parvaneh, V. (2007). Quality Control and Chemical Examinations of Foods. 4th Edition. Tehran University Publications. pp:249-251.

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

[10] 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.

[11] Spiller, E., Scholl, A., Alexy, R., Kummerer, K. and Urban GA. (2006). A microsystem for growth inhibition test of *Enterococcus faecalis* based on impedance measurement. Sensors and Actuators B: Chemical. 118(1-2):182-191.

[12] 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.

[13] Lak, E. (2005). Evaluation of total microbial count in traditional ice-creams with using impedance technique. 6th Iranian Veterinary Students Congress, Ferdowsi University of Mashhad. p: 269.

[14] Fazlara, A. (2004). Evaluation of total microbial count in pasteurized milks with using impedance-splitting method and it's comparing with the results of conventional standard pour plate technique. 7th Iranian Microbiology Congress, Semnan University of Medical Sciences. p:166

[15] Khataminia, A. and Fazlara, A. (2008). Comparative survey on hygienic quality (*Coliforms, Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*) of industrial butters with using standard methods and impedance-splitting method. Proceeding of Jubilee World Buiatrics Congress, Budapest. Hungary. pp:272-273.

[16] 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 .

[17] Glassmoyer, K.E. and Russell, S.M. (2001). Evaluation of a selective broth for detection of *Staphyiococcus aureus* using impedance microbiology, Journal of Food Protection. 64(1): 44-50.

[18] Flint, S.H. and Brooks, J.D. (2001). Rapid detection of *Bacillus Stearothermophilus* using impedance – splitting method, Journal of Microbiological Methods. 13(1): 205 – 220.

[19] 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: 1175-1178.

[20] Domig, KJ., Mayer, H.K. and Kneifel, W. (2003). Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of *Enterococcus spp.* 1. Media for isolation and enumeration. Review Article. International Journal of Food Microbiology. 88(2-3):147-164.

[21] Malle, P. and Poumeyrol, M. (1989). A new chemical criterion for the quality of fish: trimethylamine/total volatile basic nitrogen. Journal of Food Protection. 50: 419-423.

[22] 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.

[23] Fraqueza, M. and Barreto, A. (2007). Spoilage of light (PSE-like) and dark turkey meat under aerobic or modified atmosphere

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-02]

package: microbial indicators and their relationship with total volatile basic nitrogen. British Poultry Science. 49(1):12-20.

[24] Sikorski, E., Kolakwska, A. and Burt, J. R. (1990). Post-harvest biochemical and microbial changes. In Z. E. Sidorski (Ed.), Seafood: Resources, Nutritional Composition and Preservation. Boca Raton Fla: CRC Press. pp: 53-75.

[25] Tejada M. and Huidobro A. (2002). Quality of farmed gilthead seabream (*Sparus aurata*) during ice storage related to the slaughter method and gutting. European Food Research and Technology. 215: 1–7.

[26] 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 (*Pseudopercis semifasciata*). LWT. 39: 99-104.

[27] Joseph, O. and Adnes, O. (2004). Storage life of croaker (*Pseudotholitus senegalensis*) in ice and ambient temperature. African Journal of Biomedical Research. 7: 13-17.

[28] Dissaraphong, S., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Kishimura, H. (2006). The influence of storage condition of tuna viscera before fermentation on the changes in fish sauce during fermentation. Bioresource Technology. 97: 2032-2040.

[29] Gram, L. and Huss, H. H. (1997). Microbiological spoilage of fish and fish products, International Journal of Food Microbiology. 33: 121-137.

[30] Heydari, M., Akhondzadeh, A., Rezaie, M. Hoseini, H. and Saffarian, A. R. (2004). Study on capability of some quality control chemical methods in comparison with total psychrotrophic bacterial count in some species of frozen bony fish. Journal of Veterinary Research. 59(4): 385-390.

[31] Baixas-Nogueras, S., Bover-Cid, S., Veciana-Nogues, M.T. and Vidal-Carou, M.C. (2003). Suitability of volatile amines as freshness index for iced mediterranean hake. Journal of Food Science. 68(5): 1607-1610.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-02]

Mathematical modeling of microbial load in poultry meat fillets according to Impedance-Splitting method and evaluation it's correlation with total volatile nitrogen (TVN)

Fazlara, A.[1 *], Pourmahdi Brojeni, M.[2], Jaferi, F.[3]

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

(Received: 90/9/7 Accepted: 91/10/28)

Measuring total microbial count of poultry meat with conventional pour plate method and comparing the results 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 receiving the results in a shorter time and as soon as possible. The main purpose of this study, was to evaluate the correlation between impedance detection time (IDT in hrs), total microbial population ($\log_{10}$ N) and total volatile nitrogen (TVN) of poultry meat fillets. Totally 80 samples (40 samples in warm season and 40 samples in cold season) were collected and examined under sterile conditions. The total microbial count by pour plate technique and impedance – splitting method, also measuring total volatile nitrogen were carried out based on the recommendations of Iran's Standard Institute and Industrial Investigation. Then the calibration curves of 3 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 cold and warm season and also all of samples equal to 98.1%, 97.3% and 97.4%, respectively. Also according to the calibration curves, the correlation between impedance detection time and total volatile nitrogen in cold and warm season and also all of samples were equal to 81.5%, 85.4% and 82.5% respectively. Also the correlation between total microbial count and total volatile nitrogen in cold and warm season and also all of samples were equal to 83.2%, 86.8% and 84.4%, respectively for poultry meat samples. Therefore, impedance measurement which is a more rapid, automated and less laborious method than conventional technique could be used as an alternative method for the rapid quality evaluation in foods instead of conventional methods.

Keywords: Total microbial count, Impedance – splitting method, Pour plate method, Total volatile nitrogen, Poultry meat.

* Corresponding Author E-Mail Address: a.fazlara@scu.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-02]