مقاله کامل علمی- پژوهشی

بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد دهم، شماره اول، بهار ۱۴۰۰
۱۱-۲۵
http://japu.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/japu.2021.18349.1551

غنی‌سازی سوسیس ماهی کپور نقره‌ای با مایکوپروتئین فوزاریوم وناتوم (*Fusarium Venenatum*)

ذبیح‌اله بهمنی*[1] و فاطمه موانس[2]

[1]استادیار پژوهشکده اکولوژی خلیج‌فارس و دریای عمان، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران،

[2]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد رشته زیست فناوری مؤسسه آموزش عالی رودکی، تنکابن، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۱۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۰۳

چکیده

مایکوپروتئین‌ها به‌دلیل داشتن پروتئینی کافی و عدم ایجاد آلرژی از طرف وزارت کشاورزی، شیلات و غذای انگلستان[1] (MAFF) و اداره کل غذا و داروی آمریکا[2] (FDA)، برای مصارف انسانی مناسب تشخیص داده شد. فوزاریوم وناتوم (*Fusarium venenatum*) گونه‌ای از قارچ‌های رشته‌ای است که برای تولید مایکوپروتئین انتخاب شد. هدف از انجام این پژوهش معرفی یک منبع پروتئینی به‌عنوان جایگزین گوشت برای مصارف انسانی در کشورهای در حال توسعه است. در این مطالعه اثر غنی‌سازی سوسیس ماهی کپور نقره‌ای با مایکوپروتئین فوزاریوم وناتوم در دو سطح ۱ و ۳ درصد بر میزان ارزش غذایی و تعیین کیفیت با سنجش فاکتورهای شیمیایی (pH، TVB-N و TBA)، میکروبی (TVC و PTC) و خصوصیات حسی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که استفاده از مایکوپروتئین‌ها سبب افزایش ارزش غذایی سوسیس شده، به طوری که مقدار پروتئین در تیمارهای شاهد، یک و سه درصد سوسیس ماهی غنی شده با مایکوپروتئین به‌ترتیب ۱۴/۲، ۱۵/۸ و ۱۶/۶ بوده است و اختلاف بین سه تیمار به لحاظ ارزش غذایی (پروتئین، چربی، کربوهیدارت و خاکستر) معنی‌دار ($P<0/05$) بود. میزان TBA و TVB-N در نمونه‌های حاوی مایکوپروتئین با افزایش درصد مایکوپروتئین افزایش یافته و تفاوت معنی‌داری ($P<0/05$) با نمونه شاهد نشان دادند. نتایج ارزیابی حسی نیز نشان داد که نمونه‌های حاوی مایکوپروتئین در مقایسه با نمونه کنترل دارای عمر ماندگاری کم‌تری بودند و با توجه به نتایج، استفاده از مایکوپروتئین فوزاریوم وناتوم در سوسیس ماهی کپور نقره‌ای به‌دلیل ارزش غذایی و قیمت مناسب پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: ارزش غذایی، ارزیابی کیفی، سوسیس ماهی، فوزاریوم وناتوم

* مسئول مکاتبه: zabihbahmani@gmail.com

1- Ministry of Agriculture, Fisheries and Food
2- Food and Drug Administration

مقدمه

در دهه ۱۹۶۰، متخصصان تغذیه و سیاستمداران در جهان نگران بودند که رشد پیش‌بینی شده باعث کمبود پروتئین در آینده شود. دانشمندان علوم غذایی به دنبال ایجاد یک منبع پروتئینی ارزان‌قیمت و خوش طعم بودند که در نهایت، این جستجو بر روی یک قارچ رشته‌ای متمرکز شد که به طور معمول در خاک یافت می‌شود. در سال ۱۹۶۷، قارچ (*Fusarium venenatum*) در انگلستان شناسایی شد و در نهایت برای تولید مایکوپروتئین مورد بهره‌برداری قرار گرفت (دنی و همکاران، ۲۰۰۸). مایکوپروتئین نام عمومی است که زی توده ناشی از ریبونوکلئیک اسید (RNA) شامل هیفا (سلول‌ها) از *F. venenatum* A3/5 (ATCC PTA 84 2684) در یک فرآیند تخمیر مداوم تولید می‌شود (رودگر، ۲۰۰۱). در آغاز تحقیق و توسعه، بیش از ۳۰۰۰ گونه قارچی از سراسر جهان مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و در نهایت *F. venenatum* A3/5 (ATCC PTA 84 2684) به‌عنوان بهترین ارگانیسم برای تولید مایکوپروتئین انتخاب شد (ویب، ۲۰۰۴). تولید پروتئین‌های تک‌یاخته[1] مانند مایکوپروتئین‌ها یا پروتئین‌های قارچی با ویژگی‌های تغذیه‌ای، فیزیکی و شیمیایی جالب توجه به عنوان غذای انسان در سال‌های اخیر توسعه یافته است. مایکوپروتئین با تخمیر هوازی قارچ فوزاریوم وناتوم (*F. venenatum*) که در گذشته به نام فوزاریوم گرامینئاروم نامیده می‌شد، روی سوبسترای کربوهیدراتی تولید و دارای ارزش تغذیه‌ای قابل‌توجهی می‌باشد. دیواره سلولی هیف به‌عنوان منبع فیبر رژیمی، غشای سلولی هم، منبع چربی غیر اشباع با دو یا تعداد بیش‌تری پیوند دوگانه و سیتوپلاسم منبع پروتئین با کیفیت بالا است. قارچ‌ها از منابع تولید خوراک انسانی به شکل بدنه‌های باسیدومایست و آسکومایست[2] هستند که سالیان درازی توسط بشر مورد استفاده قرار گرفته‌اند (ملک‌جانی و همکاران، ۲۰۰۱). این قارچ، دارای فلامینتی با سلول‌های نازک و زنجیره‌های سلولی بلند می‌باشد (مدیگان و همکاران، ۲۰۰۰). میسل‌های قارچ شبیه بافت فیبری ماهیچه و شامل ۷۴٪ آب، ۱۲٪ پروتئین، ۳٪ چربی، ۳٪ کربوهیدرات، ۶٪ فیبر و ۲٪ خاکستر است. این محصول، حاوی اسیدهای آمینه ضروری است، ولی میزان اسید آمینه‌های سولفوردار آن کم است و نسبت به گوشت دانسیته انرژی پایین‌تری دارد (رودگر، ۲۰۰۱). پروتئین حاصل از قارچ، فاقد فیتات (فیتات به‌طور معمول در حبوبات، غلات، سبزیجات و میوه جات یافت می‌شود) می‌باشد. از آن‌جا که اثرات ضدتغذیه‌ای فیتات به‌طور عمده در ارتباط با پیوند آن با عناصر معدنی مانند روی، منیزیم، کلسیم، مس، آهن و درشت مغذی‌ها سبب کاهش جذب آن‌ها می‌شود، در نتیجه مصرف پروتئین قارچی فاقد فیتات مانع جذب مواد معدنی نمی‌شود. یکی از مشکلات مربوط به پروتئین قارچی، میزان RNA بالای آن است که در انسان به اسید اوریک نامحلول متابولیزه شده و موجب بیماری‌های سنگ کلیه، نقرس و درد مفاصل می‌شود. مقدار مجاز مصرف روزانه اسید ریبونوکلئیک در انسان، حداکثر ۲ گرم است (دیر و ولپی، ۲۰۱۵). به‌همین دلیل، ضروری است که مقدار RNA توده زیستی حاصل از تخمیر، توسط فرایند حرارتی کاهش یابد (پرگرین، ۲۰۰۲). ارزش تغذیه‌ای پروتئین قارچ معادل پروتئین‌های شیر بدون چربی و یا شیر حاوی ۲/۵ تا ۳٪ چربی و فاقد کلسترول است. نسبت اسیدهای چرب غیراشباع به اشباع آن ۳/۵، دی و تری گلیسرید ۶۵٪، کلسترول و لیپیدهای غیرصابونی شونده ۵٪ و فسفولیپیدها ۳۰٪ کل چربی آن را تشکیل می‌دهند (رودگر، ۲۰۰۱؛ میلر و دویر، ۲۰۰۱). طرح

1- Single cell protein (SCP)

2- Basidomycetes and Ascomycetes

اولیه پروتئین قارچی به‌صورت پودر بوده است اما به‌دلیل داشتن بافتی مشابه گوشت، تصمیم گرفتند آن را شبیه به گوشت تولید کنند (مور و چیو، ۲۰۰۱). پروتئین‌های قارچی دارای بازدهی پروتئین خالص[1] در حدود ۷۵ درصد می‌باشد و فاقد کلسترول می‌باشد (ویب، ۲۰۰٤). جهت ایجاد تشابه بیش‌تر بین این محصول و فرآورده‌های گوشتی، بیومس فوزاریوم تولید شده برای هم ردیف شدن هیف‌ها به‌طور مکانیکی فرآوری شده به عبارتی بیومس با میزان کمی ماده چسبنده مانند آلبومین تخم‌مرغ مخلوط شده و با حرارت جهت ثابت کردن فیلامنت‌ها منعقد و در نتیجه محصولی شبیه فیبرهای ماهیچه و ساختار بافتی به هم پیوسته بافت گوشت، تولید می‌گردد. از ویژگی‌های دیگر این محصول فیبر آن است که حاوی ٦۵٪ بتاگلوکان و ۳۵٪ کیتین است و بر چربی خون نیز تأثیر می‌گذارد به گونه‌ای که کلسترول تام و LDL را کاهش و HDL را افزایش می‌دهد. این نوع فیبر به‌عنوان پروبیوتیک در روده کوچک عمل می‌کند.

سوسیس از واژه فرانسوی کهن Saussich که خود از واژه لاتین Salsus به معنی نمک زده گرفته شده، پدید آمده‌است و امروزه مفهوم این کلمه به Sausage تغییر یافته‌است چرا که روش تهیه آن تغییر کرده است و از روش‌های مختلف برای تهیه آن استفاده می‌شود (لونرگان و مارپل، ۲۰۱۹). به عبارت دیگر، فرآورده‌ایی استوانه‌ای شکل است که از انواع گوشت‌های خردشده قرمز، طیور و یا گوشت ماهی تهیه می‌شوند. آن‌ها معمولاً در پوشش پر شده و فرآیندهای مختلف عمل‌آوری با استفاده از نمک، دوددهی یا پخت روی آن‌ها انجام می‌گیرد. سازمان خواروبار جهانی، سوسیس را به‌عنوان یکی از قدیمی‌ترین اشکال فرآیند گوشت می‌شناسد که طی آن گوشت تحت فرآیندهای اصلاحی متنوعی قرار گرفته تا ویژگی‌های حسی مطلوب و عمر ماندگاری مناسب را کسب نماید (سلطانی‌زاده و کدیور، ۲۰۱۱). فروش پروتئین قارچی برای مصرف انسان از سال ۱۹۸۵ در انگلستان و در سایر کشورهای اروپایی مانند بلژیک، هلند، ایرلند، سوئیس و سوئد مورد تأیید قرار گرفت. این پروتئین قارچی، با نام تجاری کورن (Quorn) بیش از دو دهه است که در انگلستان تولید می‌شود و به عنوان جایگزین گوشت در بسیاری از فرآورده‌های غذایی مانند سوسیس استفاده می‌شود. در سال ۱۹۹۸ اداره کل غذا و داروی آمریکا (FDA) استفاده از پروتئین قارچی جهت مصرف به عنوان غذای انسان را تأیید کرد (رودگر، ۲۰۰۱). قارچ رشته‌ای فوزاریوم به دلیل قدمت طولانی استفاده انسان از قارچ‌ها به عنوان غذا، برداشت آسان میسلیوم قارچی از محلول حاصل از تخمیر محیط کشت، امکان فرموله کردن محصولات غذایی حاصل از آن که بو، طعم و بافت مناسبی دارند، برای این منظور انتخاب شده است. در این پژوهش، اثر افزودن قارچ فوزاریوم وناتوم بر ارزش غذایی و کیفیت سوسیس ماهی کپور نقره‌ای مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

بافت (توده) قارچ IR372C (*F. venenatum*) از مؤسسه تحقیقات حفاظت گیاهان ایران به همراه برگه آنالیز (جدول ۱) تهیه و در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت. سایر مواد برای تهیه سوسیس عبارتند از ماهی کپور نقره‌ای، آرد، شیرخشک، ادویه، روغن مایع، نمک تصفیه شده و سایر مواد افزودنی از بازار تهیه شدند.

1- Net protein utilization (NPU)

جدول ۱- ارزش غذایی قارچ IR372C (*F. venenatum*).

اجزای اصلی (gr/100gr wet weight)	
پروتئین	۱۲ ± ۱/۲۸*
چربی	۳ ± ۰/٦٤
کربوهیدرات	۳ ± ۰/۳۵
فیبر	٦ ±۰ /۲
رطوبت	۷۵ ±۲ /٤
خاکستر	۲ ± ۰/۳۸

* میانگین ± انحراف معیار

نحوه تولید سوسیس: برای تولید نمونه‌ها ابتدا گوشت کپور نقره‌ای، توسط چرخ گوشت با قطر شبکه ٤ میلی‌متر چرخ شد. مقادیر مواد اولیه مطابق با فرمولاسیون توزین گردید و برای تهیه فارش از مینی کاتر ۱۰ کیلوگرمی استفاده شد. ابتدا دمای مینی‌کاتر توسط خرده یخ به صفر درجه سانتی‌گراد کاهش یافت و گوشت ماهی چرخ شده، نیتریت (۵۰ppm)، نمک، پلی فسفات سدیم، مخلوط ادویه و یک سوم یخ را درون کاتر ریخته و سپس روغن و در ادامه آرد، نشاسته، گلوتن، شیرخشک که با هم مخلوط شده بودند و اسید آسکوربیک اضافه شد. در آخر براساس نوع تیمارها به میزان ۱ و ۳ درصد مایکوپروتئین تهیه شده را مخلوط نموده سپس فارش های تهیه شده را به دستگاه پرکن منتقل و در پوشش‌هایی پر نموده و عمل پختن در اتاق پخت با استفاده از بخار آب (۸۷ $^{\circ}C$) به مدت ۲-۱/۵ ساعت و تا رسیدن دمای فرآورده به ۷۲-۷۰ $^{\circ}C$ انجام شد. سپس فرآورده در زیر دوش آب سرد تا دمای ۲۰ $^{\circ}C$ خنک گردید.

جدول ۲- فرمولاسیون نمونه‌های سوسیس ماهی کپور نقره‌ای تهیه شده.

ترکیبات	شاهد	یک درصد (Mp)	سه درصد (Mp)
خمیر ماهی	۵۰	۵۰	۵۰
گلوتن	۰/۵۳	۰/۵۳	۰/۵۳
یخ و آب	۱۵/۵	۱۵/۵	۱۵/۵
نمک	۱/۸	۱/۸	۱/۸
کازئین	۱/٦	۱/٦	۱/٦
نیتریت سدیم	۰/۰۰٦	۰/۰۰٦	۰/۰۰٦
ادویه	۳/۷	۳/۷	۳/۷
روغن نباتی	۱۰/۳	۱۰/۳	۱۰/۳
آرد	۵/۸	۵/۸	۵/۸
سویا	۵/۲	۵/۲	۵/۲
نشاسته	۲	۲	۲
شیر خشک	۳	۳	۳
فسفات	۰/۵	۰/۵	۰/۵
اسید آسکوربیک	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۳
مایکوپروتئین	۰	۱	۳

Mp; Mycoprotein

تعیین ارزش غذایی: اندازه‌گیری رطوبت، خاکستر، کربوهیدرات، پروتئین به روش کلدال و چربی به روش سوکسله انجام شد (ای او ای سی، ۲۰۰۵).

آزمون‌های شیمیایی: برای سنجش میزان pH و بازهای ازته فرار (TVB-N) mg N/100g از روش (پروانه، ۱۳۷۷) و جهت تعیین شاخص تیوباربیتوریک اسید (TBA) mg MA/Kg Fat از روش (اگان و همکاران، ۱۹۸۱) استفاده گردید.

آزمون‌های میکروبی: برای شمارش کلی باکتری‌ها از محیط کشت پلیت کانت آگار به‌مدت ٤٨ ساعت در دمای $30^{\circ}C$، شمارش باکتری‌های سرمادوست و سرماگرا از محیط کشت پلیت کانت آگار به‌مدت ۱۰ روز در دمای $10-7^{\circ}C$ استفاده شد (ای پی اچ ای، ۲۰۰۱).

ارزیابی حسی: این آزمون به روش QIM، توسط تعدادی افراد آموزش‌دیده جهت بررسی سوسیس ماهی به لحاظ رنگ، بو، طعم، بافت و پذیرش کلی انجام شد. امتیازدهی فرآورده براساس سیستم ۵ تایی به‌صورت زیر انجام گرفت: ۵- عالی، ٤- خوب، ۳- قابل‌قبول، ۲- ضعیف و ۱- غیرقابل‌قبول در نهایت میانگین امتیاز داده شده توسط افراد در هر تکرار محاسبه و برای فرآورده گزارش گردید (دجنانه و همکاران، ۲۰۰۱).

آنالیز آماری: تجزیه تحلیل نتایج به‌دست آمده در آزمون‌های مربوط به اندازه‌گیری pH، تیوباربیتوریک اسید (TBA)، بازهای ازته فرار (TVB-N) و شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها (TVC) و شمارش سودوموناس (PTC) در قالب طرح کاملاً تصادفی در سطح اطمینان ۹۵٪ صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون‌های آنالیز واریانس یک‌طرفه با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد. نمودارها هم با نرم‌افزار اکسل رسم به‌منظور کاهش خطا، همه آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد

نتایج

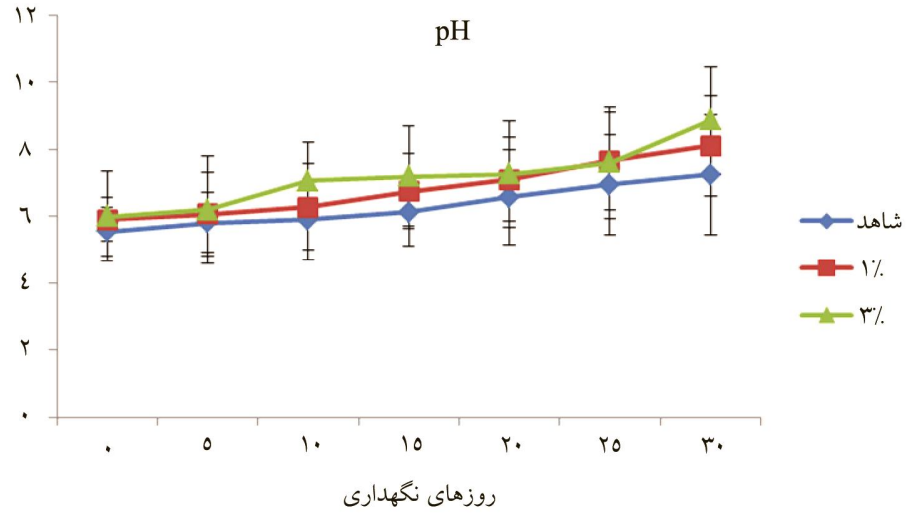
نتایج آنالیز تقریبی (Proximate analysis) سوسیس ماهی کپور نقره‌ای غنی‌شده با مایکوپروتئین فوزاریوم وناتوم در روز صفر نگهداری در دمای یخچال در جدول ۳، نشان داده شده است. مقدار پروتئین در سوسیس ماهی با ۳ درصد مایکوپروتئین ١٦/٦ بوده است که نسبت به مقدار پروتئین در سوسیس غنی شده با یک درصد مایکوپروتئین ۱۵/۸ و تیمار شاهد ١٤/٢ بیش‌تر بوده است. در مورد مقدار چربی، کربوهیدرات، خاکستر و رطوبت در سه تیمار شاهد، سوسیس غنی‌شده با یک و سه درصد مایکوپروتئین، تغییرات معنی‌دار ($P<0/05$) بوده است.

جدول ۳- نتایج آنالیز تقریبی سوسیس ماهی کپور نقره‌ای غنی شده با مایکوپروتئین فوزاریوم وناتوم.

تیمار	پروتئین (٪)	چربی (٪)	کربوهیدرات (٪)	خاکستر (٪)	رطوبت (٪)
شاهد	^{C}١٤/١±٢/٢	^{A}٢١/٠±٧/٢١	^{A}٩/١±٦/٥٦	^{C}٣/٠±٢٤/١٢	^{C}٥١/٢±٢/٣
١٪ مایکو پروتئین	^{B}١٥/٢±٨/٨	^{B}٢٠/٠±٦/٥	^{C}٨/١±٢/٨	^{B}٣/٠±٤٣/٢	^{B}٥١/١±٩/٩
٣٪ مایکوپروتئین	^{A}١٦/١±٦/٥٦	^{C}١٨/٠±٢/٣٨	^{B}٨/١±٥/٢	^{A}٣/٠±٨٤/٣٥	^{A}٥٢/١±٨/٩

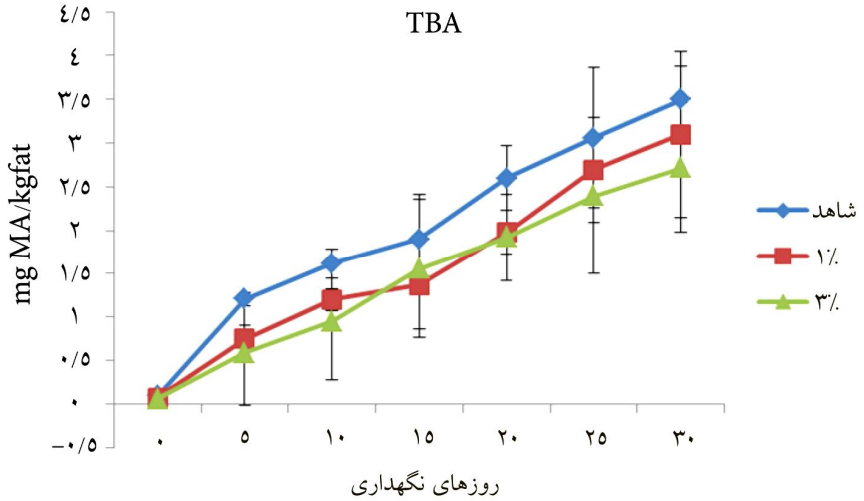
* میانگین ± انحراف معیار، تعداد تکرار = ۳، تفاوت حروف بزرگ بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای شاهد، سوسیس غنی شده با یک و سه درصد مایکوپروتئین.

pH: مقدار pH در تیمارهای شاهد، یک و سه درصد مایکوپروتئین همان‌طور که در شکل ۱، ملاحظه می‌نمایید. طی دوره نگهداری افزایش داشته است که به‌دلیل تولید ترکیبات آمینی می‌باشد به‌طوری‌که در روز صفر نگهداری مقدار pH در تیمارهای شاهد، یک و سه درصد مایکو پروتئین به‌ترتیب ۵/۵، ۵/٦ و ٦ بوده است که در پایان دوره نگهداری به ۷/۲۵، ۸/۱ و ۸/۸ رسیده است بیانگر تولید ترکیبات ازته در اثر فعالیت‌های اتولیز و باکتری‌ها بوده است. اختلاف بین تیمار شاهد با دو تیمار ۱ و ۳ درصد مایکو پروتئین سوسیس کپور نقره‌ای معنی‌دار ($P<0/05$) بوده است و سرعت افزایش pH در تیمارهای حاوی مایکوپروتئین سه و یک درصد بیش‌تر از تیمار شاهد بود.



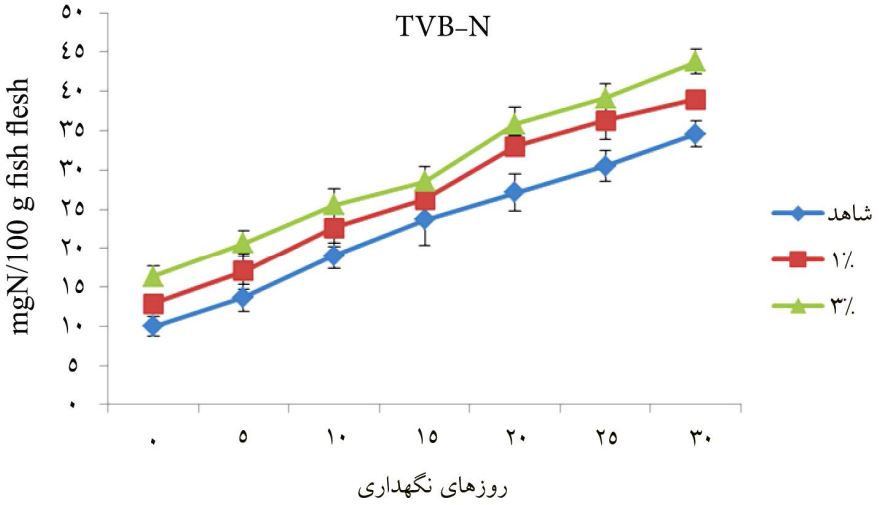
شکل ۱- مقدار pH در سوسیس ماهی کپور نقره‌ای غنی شده با مایکوپروتئین ۱ و ۳ درصد طی نگهداری در یخچال.

TBA: اکسیداسیون چربی یکی از دلایل افت کیفیت (لین و لین، ۲۰۰۵) و یکی از بزرگ‌ترین نگرانی‌ها در مورد گوشت ماهیان و فرآورده‌های دریایی منجمد می‌باشد. چربی ماهیان به‌دلیل داشتن مقدار قابل‌توجهی از اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه در مقابل اکسیداسیون بسیار حساس و آسیب‌پذیر می‌باشد (لوسادا و همکاران، ۲۰۰٤). سوسیس ماهی کپور نقره‌ای غنی شده با مایکوپروتئین‌ها طی نگهداری در یخچال با شاخص TBA ارزیابی شده است در این ارزیابی که در شکل ۲، مشاهده می‌نمایید مقدار اولیه این شاخص در تیمارهای شاهد، یک و سه درصد مایکوپروتئین سوسیس ماهی به‌ترتیب ۰/۰۹، ۰/۰۷ و ۰/۰٦ mg MA/kg Fat بوده است که طی دوره نگهداری در یخچال افزایش یافته و میزان این افزایش در سوسیس تیمار شده با مایکوپروتئین کم‌تر از تیمار شاهد بوده و دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0/05$) می‌باشد به‌طوری‌که در روز ۳۰ نگهداری میزان شاخص TBA در سه تیمار شاهد، یک و سه درصد به‌ترتیب ۳/۵، ۳/۱ و ۲/۷۲ mg MA/kg Fat شده است.



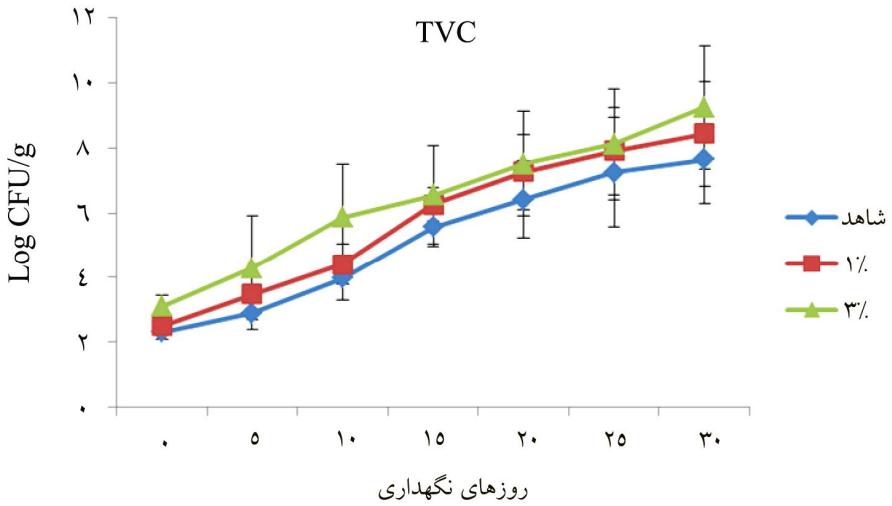
شکل ۲- مقدار TBA در سوسیس ماهی کپور نقره‌ای غنی شده با مایکوپروتئین ۱ و ۳ درصد طی نگهداری در یخچال.

ترکیبات ازته فرار (TVB-N): شکل ۳، تغییرات بازهای ازته فرار در تیمارهای مختلف سوسیس کپور نقره‌ای طی دوره نگهداری در یخچال را نشان می‌دهد. مقدار TVN در روز ابتدایی نگهداری در تیمارهای شاهد، یک و سه درصد مایکوپروتئین به‌ترتیب ۹/۹۳ g N/100g flesh، ۱۲/۸ و ۱۶/۳ بوده است که طی دوره نگهداری افزایش یافته و در روزها ۲۵، ۲۰ و ۲۰ به ترتیب در تیمارهای شاهد و سوسیس تیمار شده با یک و سه درصد مایکوپروتئین از حد مجاز ۳۰g N/100g flesh فراتر رفته است سرعت افزایش تولید ترکیبات ازته در تیمار غنی شده با مایکوپروتئین سه درصد بسیار بیش‌تر از دو تیمار دیگر بوده است و اختلاف بین سه تیمار به‌جزء در روز ۱۵ نگهداری در بقیه روزهای نگهداری معنی‌دار است ($P<0/05$).



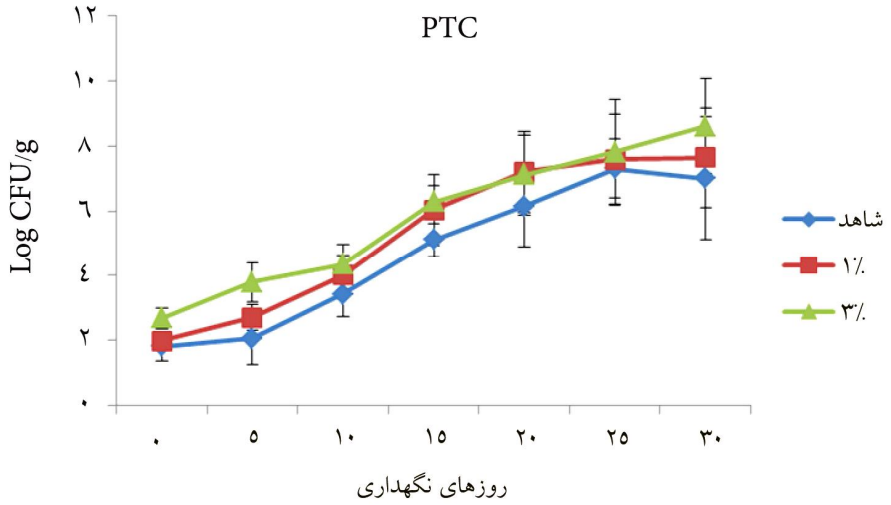
شکل ۳- مقدار TVB-N در سوسیس ماهی کپور نقره‌ای غنی‌شده با مایکوپروتئین ۱ و ۳ درصد طی نگهداری در یخچال.

تعداد کل باکتری‌های (TVC): تعداد کل باکتری‌های سوسیس ماهی کپور نقره‌ای در تیمارهای شاهد، یک و سه درصد مایکوپروتئین طی دوره نگهداری در دمای یخچال ۴±۲) °C)، روند افزایشی داشته است البته سرعت افزایش بار میکروبی سوسیس تیمار شده با مایکوپروتئین یک و سه درصد بیش‌تر از تیمار شاهد بوده است. به‌طوری‌که در روز نخست نمونه‌برداری به ترتیب، ۲/۳ log CFU/g، ۲/۵ و ۳/۱ بوده است. شکل ٤، بیانگر آن است که میزان باکتری‌های مزوفیل هوازی طی دوره نگهداری در یخچال به تدریج افزایش یافته تا این که در روزهای ۲۵، ۲۰ و ۲۰ به‌ترتیب در تیمار شاهد، یک و سه درصد مایکوپروتئین سوسیس ماهی به حداکثر میزان بار میکروبی مجاز یعنی 10^7 CFU/g رسیده است. لازم به ذکر است میزان بار میکروبی محاسبه شده در روزهای مختلف نمونه‌برداری هر تیمار دارای اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) می‌باشد.



شکل ٤- تعداد باکتری‌های TVC در سوسیس ماهی کپور نقره‌ای غنی شده با مایکوپروتئین ۱ و ۳ درصد طی نگهداری در یخچال.

باکتری‌های سودموناس (PTC): بر اساس شکل ۵، تعداد باکتری‌های سرمادوست، در تیمارهای شاهد، یک و سه درصد مایکوپروتئین سوسیس ماهی کپور نقره‌ای طی دوره نگهداری در دمای یخچال روند افزایشی داشته است. بر اساس نتایج به‌دست آمده تعداد باکتری‌های سرمادوست در روز اول نگهداری در یخچال ۱/۸۲ log CFU/g، ۱/۹۸ و ۲/٦۸ به‌ترتیب در تیمارهای شاهد، یک و سه درصد مایکوپروتئین بوده که به‌تدریج با افزایش مدت نگهداری بر تعداد این باکتری‌ها اضافه شده به‌طوری‌که در روزهای ۲۰ برای سوسیس ماهی کپور نقره‌ای تیمار شده با مایکوپروتئین یک و سه درصد و در روز ۲۵ برای تیمار شاهد از حد مجاز ۷ log CFU/g فراتر رفته است.



شکل ٥- تعداد باکتری‌های PTC در سوسیس ماهی کپور نقره‌ای غنی شده با مایکوپروتئین ۱ و ۳ درصد طی نگهداری در یخچال.

ارزیابی حسی: مقادیر حاصل از ارزیابی حسی رنگ، بو، طعم، بافت و پذیرش کلی در تیمارهای مختلف در جدول ٤، نشان داده شده است. مقایسه بین تیمارها بیانگر این امر است که افزودن مایکوپروتئین به میزان یک و سه درصد به سوسیس ماهی کپور نقره‌ای بر ویژگی‌های حسی آن اثر داشته است به‌طوری‌که در ابتدای دوره نگهداری سه تیمار شرایط خوبی داشته و اختلاف بین آن‌ها معنی‌دار (P>۰/۰٥) نمی‌باشد. به‌تدریج با افزایش دوره نگهداری از کیفیت تیمارها کاسته شده و باعث ایجاد اختلاف معنی‌دار بین تیمار شاهد و سوسیس تیمار شده با مایکوپروتئین شده است (P<۰/۰٥).

جدول ٤- ارزیابی حسی فاکتورهای رنگ، بو، طعم، بافت و پذیرش کلی سوسیس ماهی کپور نقره‌ای در تیمار شاهد، مایکوپروتئین ۱ و ۳ درصد طی نگهداری در یخچال.

	روزهای نگهداری در یخچال						
تیمار	۰	٥	۱۰	۱٥	۲۰	۲٥	۳۰
شاهد	۰±٥/۷^{Aa}	٤/۰±۳/۳٥^{Ab}	۰±٤/۳۹^{Ac}	۰±٤/۱۳^{Ac}	۳/۰±۳/۲٥^{Ad}	۲/۰±٦/۲۳^{Ae}	۰±۱/۱۱^{Af}
۱ درصد	۰±٥/۷^{Aa}	۰±٤/۳۹^{Ab}	۳/۰±۳/۲٥^{Bc}	۰±۳/۳^{Bd}	۰±۲/۲۳^{Be}	۰±۱/۱۳^{Bf}	۰±۱/۱^{Af}
۳ درصد	٤/۰±۳/٤۸^{Ba}	۳/۰±٦/۲۹^{Bb}	۳/۰±۳/۲^{Bc}	۳/۰±۳/۲^{Cc}	۱/۰±٦/۲^{Cd}	۰±۱/۱٥^{Be}	۰±۱/۱^{Ae}

* حروف انگلیسی بزرگ غیرمشترک نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین داده‌ها در سطح ۰/۰٥ می‌باشد و حروف انگلیسی کوچک غیرمشترک نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین داده‌ها در سطح ۰/۰٥ می‌باشد. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشند.

بحث

ارزش غذایی سوسیس غنی‌شده با مایکوپروتئین یک و سه درصد نسبت به تیمار شاهد بیش‌تر بوده است که به‌دلیل ترکیبات مغذی موجود در مایکوپروتئین فوزاریوم وناتوم (جدول ۱) می‌باشد میزان پروتئین، رطوبت و خاکستر در سوسیس غنی‌شده با افزایش درصد جایگزینی مایکوپروتئین به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و از تیمار شاهد و

تیمار یک درصد مایکوپروتئین بیش‌تر بوده است ولی از نظر میزان چربی و کربوهیدارت کم‌تر از تیمار شاهد و یک درصد مایکوپروتئین می‌باشد در ضمن تیمارهای شاهد، تیمار یک و سه درصد مایکوپروتئین (جدول ۳) به لحاظ ترکیبات پروتئین، چربی، کربوهیدرات، خاکستر و رطوبت دارای اختلاف معنی‌دار بوده است ($P<۰/۰۵$). امتیاز قابلیت هضم پروتئین با اسیدهای آمینه اصلاح شده (PDCAAS) در مورد مایکوپروتئین ۰/۹۹ بوده در حالی‌که این عدد برای پروتئین ماهی کاد ۰/۹۶ می‌باشد (فائو و دبلیو اچ او، ۱۹۸۹؛ سرور و مک دونا، ۱۹۹۰) هم‌چنین در پروتئین ماهی میزان RNA و DNA به‌ترتیب ٤/۷ و ۱ گرم بر کیلوگرم ماده خشک است در حالی‌که، در مایکوپروتئین‌ها ۲۱/۱ و ۱/٤ می‌باشد (اسک و مونتگ، ۲۰۰۰؛ هربل و مونتگ، ۱۹۹۷) اسیدهای نوکلئیک دچار تجزیه خود به خودی (هیدرولیز غیر آنزیمی) شده و میزان آسیب‌پذیری RNA نسبت به DNA بیش‌تر است که به‌دلیل وجود گروه C2- هیدروکسیل ریبوز، پیوندهای فسفودی استر مولکول‌های RNA به‌ویژه در حضور کاتیون‌های دو ظرفیتی می‌باشد (منیاتیس و همکاران، ۱۹۸۲). که عامل مؤثری در فساد سوسیس ماهی کپور نقره‌ای تیمار شده با مایکوپروتئین نسبت به تیمار شاهد می‌باشد. نتایج این پژوهش با نتایج پژوهش‌های سامپایو و همکاران هم‌چنین نوریهشت و همکاران که به بررسی اثر صمغ کاراگینان، نشاسته اصلاح شده کاساوا، پروتئین آب پنیر و پوسته یولاف به‌عنوان جایگزین چربی در سوسیس فرانکفورتر پرداخته‌اند، منطبق بوده است (نوریهشت و همکاران، ۲۰۱۹؛ سامپایو و همکاران، ۲۰۰٤). هم‌چنین با نتایج پژوهش چویی و همکاران، که خصوصیات فرآورده گوشتی کم‌چرب حاوی روغن‌های گیاهی و فیبر سبوس برنج به جای چربی خوک را مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که میزان رطوبت، پروتئین، خاکستر، pH و ویسکوزیته نسبت به نمونه شاهد بیش‌تر است (چوی و همکاران، ۲۰۰۹). مقدار pH به‌عنوان یک فاکتور مطمئن جهت اندازه‌گیری فساد پیشنهاد نمی‌شود بلکه این فاکتور تحت‌تأثیر سایر فاکتورهای شیمیایی، میکروبی و حسی قرار دارد (اسکندامیس و نیکاس، ۱۳۸٤). نتایج اندازه‌گیری pH نمونه‌ها در شکل ۱ آمده است. طی روزهای نگهداری در یخچال میزان pH تیمارها افزایش یافته که نشان‌دهنده فساد در نمونه‌ها می‌باشد. پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها در مواد غذایی از طریق تعامل الکترواستاتیک (جاذبه و دافعه) بین گروه‌های قطبی و غیرقطبی باعث تغییرات pH می‌شوند (موروگسان و همکاران، ۲۰۱٦). استفاده از تیمارهای ۱٪ و ۳٪ مایکوپروتئین در نمونه سوسیس ماهی سبب افزایش pH نمونه‌ها نسبت به نمونه شاهد گردید و باعث تسریع فساد شد. هم‌چنین این افزایش در pH را می‌توان متأثر از افزایش تعداد باکتری‌های گرم منفی مانند سودوموناس‌ها نسبت داد که با تجزیه پروتئین‌ها و تشکیل آمونیاک، سبب افزایش pH می‌گردد (جورجانتلیس و همکاران، ۲۰۰۷). در راستای نتایج به‌دست آمده خدایی و همکاران (۲۰۱۷)، اثر جایگزینی بخشی از نیتریت در فرمولاسیون سوسیس با استفاده از اسانس رزماری و پودر چغندرقند قرمز را بررسی کردند و در بررسی pH بیان نمودند که سطوح مختلف اسانس رزماری و پودر چغندرقند در روز صفر نگهداری محصول مقادیر بالاتر از شاخص pH را نسبت به نمونه شاهد نشان دادند و علت آن را افزایش تعداد باکتری‌های گرم منفی دانستند. هم‌چنین با نتایج پژوهش ییلماز در سال ۱۳۸٤ مطابقت دارد که بیان کرد افزودن فیبر رژیمی به نمونه‌های سوسیس منجر به افزایش pH نمونه‌ها نسبت به نمونه شاهد شده است. چوی و همکاران (۲۰۰۹) در سوسیس فرموله شده با روغن گیاهی و فیبر سبوس برنج

افزایش pH مشاهده کردند که علت این پدیده را به مواد معدنی نسبت دادند و هم‌چنین بیان نمودند افزودن فیبر می‌تواند باعث تغییر pH در محصولات گوشتی شود. اکسیداسیون چربی از عوامل اساسی نامطلوب شدن طعم و مزه فرآورده‌های گوشتی می‌باشد که به‌منظور ارزیابی درجه اکسیداسیون چربی‌ها از شاخص TBA استفاده می‌شود واحد اندازه‌گیری TBA، مالون دی آلدئید (MDA/kg fat) است و ناشی از وجود مواد واکنش‌دهنده با TBA حاصل از مرحله دوم اتواکسیداسیون می‌باشد (کوستاکی و همکاران، ۲۰۰۹) که طی آن پراکسیدانت‌هایی مانند آلدهید و کتون اکسید می‌شوند (فرناندز و همکاران، ۲۰۱۳) طبق گزارش آبورگ و همکاران (۲۰۰۵) از آن‌جا که مالون آلدهیدها می‌توانند با سایر ترکیبات فرآورده واکنش دهند، مقدار TBA ممکن است نشان‌دهنده درجه واقعی اکسیدشدن چربی‌ها نباشد. چنین ترکیباتی می‌توانند شامل آمین‌ها، نوکلئوتیدها، پروتئین‌ها، فسفولیپیدها و سایر آلدهیدهای تولیدی در پایانی اکسیداسیون چربی باشند (آبورگ و همکاران، ۲۰۰۵) مطابق شکل ۲، میزان TBA در روز نخست نمونه‌گیری در تیمار شاهد، یک و سه درصد مایکوپروتئین سوسیس کپور نقره‌ای به‌ترتیب ۰/۰۹، ۰/۰۷ و ۰/۰٦ بود که به‌تدریج در تمامی تیمارها با افزایش زمان نگهداری به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) افزایش یافته است هم‌چنین تفاوت معنی‌داری با نمونه شاهد داشته‌اند ($P<۰/۰۵$). علت بیش‌تر بودن شاخص TBA در تیمار شاهد بالا بودن میزان محتوی چربی (عمدتاً چربی‌های غیراشباع) (جدول ۳) که در معرض اکسیژن قرار گرفته و اکسید شده‌اند. میزان شاخص TBA در این پژوهش همسو با نتایج به‌دست آمده جدی و همکاران (۲۰۱٦)، در بررسی پوشش نگهدارنده خوراکی کیتوزان حاوی اسانس مرزنجوش دریافتند که میزان TBA در تمامی تیمارها با افزایش زمان نگهداری به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) افزایش یافت اما نمونه‌های تیمار شده میزان TBA کم‌تری نسبت به نمونه شاهد داشته است. مجموع بازهای ازته فرار (TVB-N) به‌طور عمده متشکل از تری متیل آمین (TMA)، دی متیل آمین (DMA)، آمونیاک (NH_3) و سایر ترکیبات ازته فرار مرتبط با فساد مواد غذایی می‌باشد که توسط باکتری‌های مولد فساد (SSOs)، آنزیم‌های اتولیتیک، دآمیناسیون اسیدهای آمینه و نوکلئوتیدها تولید می‌گردند و یکی از نشانگرهای اصلی تخریب پروتئین‌های فرآورده محسوب می‌شود (فان و همکاران، ۲۰۰۸). از آن‌جایی‌که TVB-N به‌طور عمده در اثر تجزیه باکتریایی پروتئین ایجاد می‌شود، افزایش بار باکتریایی در طول دوره دلیلی برای افزایش TVB-N خواهد بود. با توجه به نتایج به‌دست آمده در شکل ۳، با افزوده شدن میزان جایگزینی مایکوپروتئین در سوسیس ماهی کپور نقره‌ای، مقدار TVN نیز زیاد شده به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان TVN را در تیمار ۳ درصد مایکوپروتئین در طول دوره نگهداری مشاهده شد با توجه به آنالیز تقریبی (جدول ۱) میزان پروتئین در مایکوپروتئین مورد استفاده در پژوهش g/100 dry matter ۱۲ بوده است هم‌چنین نتایج آنالیز تقریبی سوسیس (جدول ۳) نشان می‌دهد که میزان پروتئین در تیمارهای شاهد، یک درصد و سه درصد سوسیس غنی‌شده با مایکوپروتئین به‌ترتیب ۱٤/۲، ۱۵/۸ و ۱٦/٦ درصد بود و اختلاف بین تیمار شاهد و دو تیمار دیگر معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$). این نتایج با نتایج پژوهش‌های نوریهشت و همکاران، که به بررسی اثرات ژل امولسیونی بر پایه اینولین و روغن سبوس برنج بر کیفیت سوسیس فرانکفورتر پرداخته است، منطبق می‌باشد. نتایج حاصل از شمارش تعداد کلی باکتری‌ها در شکل ٤، آورده شده است. با توجه به نتایج به‌دست

آمده تعداد کلی باکتری‌ها طی دوره نگهداری برای تمام تیمارها افزایش یافت اما در نمونه‌های تیمار شده با مایکوپروتئین تعداد کلی باکتری‌ها بیش‌تر از نمونه شاهد بود و با افزایش درصد مایکوپروتئین تعداد کلی باکتری‌ها افزایش چشم‌گیری داشت. در تیمارهای یک و سه درصد سوسیس ماهی کپور نقره‌ای جمعیت میکروبی در روزهای نگهداری نسبت به نمونه شاهد بالاتر بود و در روز ۲۰ نگهداری از حد مجاز Log ۷ فراتر رفته و فاسد شده است و تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشته‌اند. هم‌چنین در پژوهشی ریاضی و همکاران (۲۰۱٦) نیز دریافتند که استفاده از تفاله انگور قرمز در سوسیس در طی ۳۰ روز نگهداری شمارش میکروبی کلی بالاتری را در مقایسه با نمونه شاهد نشان دادند در پژوهش دیگری جورجانتلیس و همکاران (۲۰۰٦)، مشاهده کردند که با افزودن عصاره رزماری، کیتوزان و توکوفرول در سوسیس گوشت خوک نگهداری شده در دمای C ° ٤ طی بیست روز نگهداری تعداد بار میکروبی کل برای تمام نمونه‌ها افزایش یافت. سودوموناس یکی از مهم‌ترین باکتری‌های گرم منفی است که عامل فساد در انواع مواد غذایی از جمله محصولات گوشتی است. این باکتری جزء باکتری‌های سرمادوست و قادر به رشد در دمای یخچال (٤ درجه سانتی‌گراد) بوده و به‌واسطه ترشح انواع آنزیم‌های پروتئولیتیک باعث بروز فساد در مواد غذایی می‌گردد (النگار، ۲۰۱۰). نتایج حاصل از شمارش باکتری‌های سودوموناس در شکل ۵، آورده شده است. با توجه به نتایج به‌دست آمده تعداد باکتری‌های سودوموناس در طول ۳۰ روز برای تمام نمونه‌ها افزایش یافت اما در نمونه‌های تیمار شده تعداد باکتری‌های سودوموناس بیش‌تر از نمونه شاهد بود در تیمار یک و سه درصد سوسیس ماهی کپور نقره‌ای تعداد باکتری‌های سودوموناس طی روزهای نگهداری نسبت به نمونه شاهد بالاتر بود و در بیستمین روز نگهداری از حد مجاز Log ۷ فراتر رفته و فاسد شده است. استفاده از مایکوپروتئین‌ها در فرمولاسیون سوسیس سبب افزایش تعداد باکتری‌های سودوموناس و افزایش فساد شده است و طبق نتایج به‌دست آمده استفاده از مایکوپروتئین تأثیری در کاهش رشد باکتری‌های سودوموناس نداشته و سبب افزایش مدت زمان نگهداری نشده است. همسو با نتایج به‌دست آمده هایونی و همکاران (۲۰۰۸)، تأثیر اسانس مریم گلی در شرایط آزمایشگاهی بر گوشت گاو را بررسی و بیان کردند که اثرات ضدباکتریایی علیه گونه‌های سودوموناس و استافیلوکوکوس نشان نداد. هم‌چنین فرهنگفر و همکاران (۲۰۱۱)، در بررسی اثر ترکیبی اسانس میخک و عصاره دانه انگور بر عوامل فساد باکتریایی پتی گوشت گاومیش بیان کردند استفاده توأم اسانس و عصاره دانه انگور، اثر معنی‌داری بر روی باکتری‌های مزوفیل و سودوموناس نشان نداد ($P>۰/۰۵$).

ارزیابی حسی: روش‌های حسی سریع و ساده هستند و بلافاصله داده‌های کیفی را پیش‌بینی می‌کنند (کانل، ۱۹۷۵). بر اساس نتایج حاصل از جدول ٤، فاکتورهایی مانند رنگ، بو، طعم، بافت و پذیرش کلی مورد ارزیابی قرار گرفته است، نشان داد که افزودن مایکوپروتئین به میزان یک و سه درصد به سوسیس ماهی کپور نقره‌ای بر ویژگی‌های حسی آن اثر داشته است. به‌طوری‌که در ابتدای دوره نگهداری سه تیمار شرایط خوبی داشته و اختلاف بین آن‌ها معنی‌دار ($P>۰/۰۵$) نمی‌باشد به‌تدریج با افزایش دوره نگهداری از کیفیت تیمارها کاسته شده و باعث ایجاد اختلاف معنی‌دار بین تیمار شاهد و سوسیس تیمار شده با مایکوپروتئین شده است ($P<۰/۰۵$). افزودن مایکوپروتئین روی بافت، رنگ و پذیرش کلی سوسیس اثر گذاشته و به‌ترتیب باعث نرمی بافت، کم رنگ شدن سوسیس و هم‌چنین تأثیرش بر پذیرش

کلی به گونه‌ای است که مورد قبول همگان قرار نمی‌گیرد. این وضعیت در سوسیس با سه درصد مایکوپروتئین بیش‌تر از تیمار یک درصد و تیمار شاهد نمایان بود. این نتایج همسو با نتایج مطالعه محمودزاده و همکاران (۲۰۱۰) روی برگر ماهی کیجار به‌مدت ٦ ماه به‌صورت منجمد در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگه داری شده و براساس نتایج آن‌ها، پارامترهای رنگ، بافت، طعم و پذیرش کلی در ماه دوم در مقایسه با زمان صفر امتیاز کم‌تری کسب نموده و اختلاف معنی‌داری به لحاظ آماری نشان داد. هم‌چنین با مطالعات رحمانی و همکاران (۲۰۱۲) که به بررسی خواص حسی سوسیس ماهی کپور نقره‌ای طی مدت نگهداری در یخچال پرداخته، منطبق بوده است.

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی نتایج این پژوهش نشان داد افزودن مایکوپروتئین‌ها که دارای ویژگی‌های سلامت‌بخشی و ارزش تغذیه‌ای قابل‌توجهی می‌باشند به‌طوری‌که دیواره سلولی هیف به‌عنوان منبع فیبر رژیمی و غشای سلولی، منبع چربی غیراشباع و همچنین سیتوپلاسم به‌عنوان منبع پروتئین با کیفیت بالاست و می‌تواند به‌عنوان یک منبع پروتئینی غیرگوشتی در فرآورده‌های گوشتی مورد استفاده قرار گیرد و باعث افزایش ارزش غذایی سوسیس ماهی شده است ولی از آن‌جایی‌که این ترکیبات پروتئینی محتوی رطوبت و اسیدهای نوکلئیک (به‌ویژه RNA) بالایی می‌باشد به تبع آن، روی کیفیت و عمرماندگاری سوسیس ماهی اثر گذاشته و باعث کاهش مدت زمان ماندگاری سوسیس ماهی تیمار شده با یک و سه درصد مایکوپروتئین نسبت به تیمار شاهد شده است بنابراین به میزان محدود می‌توان از مایکوپروتئین‌ها به عنوان جایگزین گوشت در سوسیس ماهی و دیگر فرآورده‌های گوشتی مورد استفاده نمود. با توجه به ارزیابی‌های شیمیایی، میکروبی و به‌ویژه ارزیابی حسی عمر ماندگاری سوسیس ماهی کپور نقره‌ای در تیمار شاهد، یک و سه درصد مایکوپروتئین به‌ترتیب ۲۵، ۲۰ و ۲۰ روز بوده است.

منابع

AOAC (Association of Official Analytical Chemists International). 2005. Official methods of analysis. 18th ed. Maryland: AOAC INTERNATIONAL.

APHA (American Public Health Association). 2001. In: C. Frances Pouch Downes and Keith Ito (Eds.), Compendium of methods for the microbiological examination of foods (4th ed.). Washington, DC: APHA.

Aubourg, S.P., Piñeiro, C., Gallardo, J.M., and Barros-Velazquez, J. 2005. Biochemical changes and quality loss during chilled storage of farmed turbot (*Psetta maxima*). *Food Chem*. 90: 445-452.

Cengiz, E., and Gokogolu, N. 2007. Effects of fat reductionand fat replacer addition on some quality characteristic of frankfurter-type sausages. Int. J. Food Sci. Technol. 42: 366-72.

Choi, Y.S., Choi, J.H., Han, D.J., Kim, H.Y., Lee, M.A., Kim, H.W., Jeong, J.Y., and Kim, C.J. 2009. Characteristics of low fat meat emulsion systems with pork fat replaced by vegetable oils and rice bran fiber. Meat Science, 82: 266-71.

Connell, J.J. 1975. Control of fish quality. Surrey: Fishing News (Books).

Deer, R.R., and Volpi, E. 2015. Protein intake and muscle function in older adults. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 18: 3. 248-253.

Denny, A., Aisbitt, B., and Lunn, J. 2008. Mycoprotein and health. *Nutr Bull*. 33: 298-310.

Djenane, D., Sanchez-Escalante, A., Beltran, J.A., and Roncales P. 2001. Extension of the retail display life of fresh beef packaged in modified atmosphere by varying lighting conditions. J. Food Sci. 66: 181-186.

Egan, H., Kirk, R.S., and Sawyer, R. 1981. Pearson's chemical analysis of foods (8th ed.). London: Academic Press.

El-Nagar, R.M.A. 2010. Bacteriological studies on Pseudomonas microorganisms in cultured. M.V.Sc. thesis, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb University. 123p.

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.

FAO. 1989. Protein Quality Evaluation - Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. FAO Food and Nutrition Paper 51.

Farhangofar, A., Tajik, H., Razavi Rouhani, M., Moradi, M., and Ali Akbarloo, J. 2011. Combined effects of clove essential oil and grape seed extract on bacterial spoilage factors of buffalo Peti at storage temperature of 8 °C. J. Food Indus. Res. 21: 1. 116-105.

Fernandez-Saiz, P., Sanchez, G., Soler, C., Lagaron, J.M., and Ocio, M.J. 2013. Chitozan films for the microbiological preservation of refrigerated sole and hake fillets. Food Control. 34: 1. 61-68.

Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G., and Georgakis, S.A. 2007a. Effect of rosemary extract, chitosan and a-tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. Meat Science. 76: 172-181.

Hayouni, E.A., Chraief, I., Abedrabba, M., Bouix, M., Leveau, J.Y, Mohammed, H., and et al. 2008. Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: Their chemical compositions and their preservative effects against Salmonella inoculated in minced beef meat. Int. J. Food Microbiol. 125: 242-251.

Herbel, W., and Montag, A. 1987. Nucleo-compounds in protein rich food. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 185: 119-122.

Hugo, C.J., and Hugo, A. 2015. Current trends in natural preservatives for fresh sausage products. Trends in Food Science and Technology. 45: 12-23.

Jedi, S., Yeganeh, S., Jafpour, A., and Naseri, M. 2016. The effect of oral preservative coating of chitosan containing marjoram essential oil (*Origanum vulgare* L.) on the shelf life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in the refrigerator. Journal of Innovation in Food Science and Technology. Eleventh year. the first number. Pp: 38-24.

Kinsman, Donald M. 1983. Principal Characteristics of Sausages of the World, *Listed by Country of Origin.* Boston: American Press.

Kostaki, M., Vasiliki, G., and Ioannis, N. 2009. Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. Food Microbiology, 26: 5. 475-482.

Lassek, E., and Montag, A. 1990. Nucleic acid components in carbohydrate- rich food. Zeitschrift für Le bensmittel-Untersuchung und - Forschung, 190: 1. 17-21.

Lin, C., and Lin, C. 2005. Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillets by glazing with tea extracts. Food Control. 16: 169-175.

Lonergan, S.M., and Marple, D.N. 2019. Sausage processing and production.The Science of Animal Growth and Meat Technology (Second Edition).

Losada, V., Velazquez, J.B., Gallardo, J.M., and Aubourg, S.P. 2004. Effect of advanced chilling methods on lipid damage during sardine (*Sardina pilchardus*). Europ. J. Lipid Sci. Technol. 106: 844-850.

Madigan, M.T., Martinko, J.M., and Parker, J. 2000. Brock Biology of microorganisms: ninth edition. Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall.

Mahmoudzadeh, M., Motallebi, A.A., Hosseini, H., Haratian, P., Ahmadi, H., Mohammadi, M., and Khaksar, R. 2010. Quality assessment of fish burgers from deep Flounder (Pseudorhhombus elevatus) and lizardfish (*Saurdia undosquamis*) during storage at -18 ˚C. Iran. J. Fish. Sci. 9: 1. 111-126.

Malekjani, N., Dadpoor, S.M., and Jafari, S.M. 2001. Quorn, fungi replacement protein in humans food. Regional Conference on Food and Biotechnology, Islamic Azad University of Kermanshah. Pp: 13-14.

Maniatis, T., Fritsch, E.F., and Sambrook, J. 1982. Molecular coloning. CSH Press.

Mendoza, E., Garcia, M.L., Casias, C., and Selgas, M.D. 2001. Inulin as fat substitute in low fat, dry fermented sausages. Meat Sci. 57: 387-93.

Miller, S.A., and Dwyer, J.T. 2001. Evaluating the safety and nutritional value of mycoprotein. Food Technol. 55: 42-7.

Moor, D., and Chiu, SW. 2001. Fungal product as food. In S. Pointing and K. Hyde (Eds), Bio-exploitation of filamentous fungi. Pp: 223-252.

Murugesan, M., Packrisamy, I., Yap, T.N., and Munisamy, S. 2016. Effect of commercially manufactured kappa semi-refined carrageenan (SRC) with different phosphate salts on yield, textual and sensory properties of beef meat. J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci. 5: 6. 518-22.

Nourbehesht, N., Shekarchizadeh, H., and Soltanizadeh, N. 2019. Production and Evaluation of Low-fat Frankfurter Sausage by Emulsion Filled Gel Based on Inulin and Rice Bran Oil. Iran. J. Nutr. Sci. Food Technol. 14: 2. 85-94.

Parvaneh, V. 1998. Quality control and chemical tests of food. University of Tehran Press. 325p.

Peregrin, T. 2002. Mycoprotein: is America ready for a meat substitute derived from a fungus. J. Amer. Dietetic Assoc. 102: 5. 628.

Rahmani Farah, K., Shabanpoor, B., and Shabani, A. 2012. Comparison of proximate analysis and physicochemical changes in fish sausage during refrigerated storage. J. Utili. Cul. Aqua. 1: 2. 63-82.

Rodger, G. 2001. Production and properties of mycoprotein as a meat alternative. *Food Technol-Chicago*. 55: 36-41.

Rust, R.E. 1987. Sausage products. In: Price JF, Schweigert BS, editors. "The Science of Meat and Meat Products, 3"" ed. Westport CT: Food and Nutrition Press, Inc. Pp: 473-485.

Sampaio, G.R., Castellucci, C.M.N., Pinto Silva M.E.M., and Torres, E.A.F.S. 2004. Effect of fat replacers on the nutritive value and acceptability of beef frankfurters. J. Food Comp. Anal. 17: 469-74.

Sarwar, G., and McDonough, F.E. 1990. Evaluation of protein digestibility-corrected amino acid score method for assessing protein quality of foods. J. Assn. Anal. Chem. 73: 347-356.

Skandamis, P., and Nychas, G.J.E. 2005. Fresh meat spoilage and modified atmosphere packaging (MAP), P 461-493. In Raw material safety: meat. Woodhead Publishers, Cambridge, United Kingdom.

Soltanizadeh, N., and Kadivar, M. 2011. Chemistry and technology of meat and meat products. Isfahan University of Technology Publishing Center.

Wiebe, M.G. 2004. Quorn Myco-protein: overview of a successful fungal product. Microbiologist, 18: 1. 17-20.

Yilmaz, I. 2005. Physico chemical and sensory characteristics of low fat meat balls with added wheat bran. J. Food Eng. 69: 369-373.