

مدل‌سازی و بهینه‌سازی فرمولاسیون سوسیس ماهی حسون (*Saurida tumbile*) تولیدشده با

## حرارت اهمیک به روش سطح پاسخ (RSM)

سارا شعبانی<sup>1</sup>، سید ابراهیم حسینی<sup>2\*</sup>، غلامحسین اسدی<sup>3</sup>، بابک بهشتی<sup>4</sup>، سیده شیما یوسفی<sup>3</sup>

1-دانشجو دکتری علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

2-استاد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

3-استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

4-استادیار گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	
تاریخ دریافت: 1400 /09/29	
تاریخ پذیرش: 1401/02/24	
کلمات کلیدی:	
سوسیس ماهی حسون، حرارت‌دهی اهمیک، نمک کلرید پتاسیم، روش سطح پاسخ طرح مرکب مرکزی.	
DOI: 10.22034/FSCT.19.125.73	
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.13.2	
* مسئول مکاتبات: ebhoseini@srbiau.ac.ir	

امروزه با تبدیل ماهی‌های ارزان و کم مصرف به فرآورده‌های دارای ارزش افزوده همانند سوسیس ماهی و همچنین کاربرد روش نوین حرارت‌دهی اهمیک به منظور پخت یکنواخت‌تر، سریع‌تر نسبت به سایر روش‌های متداول شدید حرارتی و فرآوری حداقلی می‌تواند نقش به‌سزایی در تولید محصول ایمن و مغذی ایفا نماید. از این رو هدف از تحقیق حاضر، بررسی برخی از ویژگی‌های میکروبی و شیمیایی سوسیس ماهی حسون (*Saurida tumbile*) تحت تاثیر حرارت‌دهی به روش اهمیک و بهینه‌سازی فرمولاسیون از طریق بکارگیری روش آماری سطح پاسخ-طرح مرکب مرکزی با در نظرگیری مقادیر مختلف نمک کلرید پتاسیم (0/7-2/3 درصد)، روغن سویا (4-14 درصد) و ایزوله پروتئین سویا (1/8 - 0/2درصد) می‌باشد. بهینه‌سازی فرمولاسیون 20 نمونه سوسیس ماهی حرارت‌دیده به روش اهمیک با استفاده از نرم افزار Design Expert نسخه 11 صورت گرفت و ارتباط بین متغیرهای مستقل و پنج پاسخ مورد نظر بررسی گردید. نمک کلرید پتاسیم اثر بازدارندگی بر کاهش شمارش کلی میکروبی نمونه‌ها نشان داد. اثر متقابل درصد روغن سویا و ایزوله پروتئین سویا تاثیر معنی‌داری بر روند تغییرات pH داشتند. افزایش درصد روغن سویا منجر به افزایش اندک pH و سپس کاهش مقدار آن گردید و افزایش ایزوله پروتئین سویا، منجر به کاهش معنی‌دار مقدار pH شد. همچنین افزایش درصد نمک و ایزوله پروتئین سویا سبب کاهش افت پخت گردید. افزایش درصد روغن سویا، منجر به کاهش معنی‌دار و افزایش ایزوله پروتئین سویا منجر به افزایش ظرفیت نگهداری محصول شد. براساس نتایج بهینه‌سازی فرمولاسیون، در سوسیس ماهی با فرمولاسیون محتوی 2 درصد نمک کلرید پتاسیم، 6 درصد روغن سویا و 1/5 درصد ایزوله پروتئین سویا بیشترین ظرفیت نگهداری آب، کمترین بار میکروبی و پایین‌ترین میزان افت پخت و عدد پراکسید با ارزش pH بهینه مشاهده شد.

## 1- مقدمه

در سالیان اخیر با تغییر سبک زندگی، تهیه و طبخ غذا توسط مصرف‌کنندگان در منازل رو به کاهش و گرایش به مصرف غذاهای آماده و نیمه آماده افزایش یافته است. در این بین استفاده از گوشت ماهی به عنوان یک منبع غنی از پروتئین با قابلیت هضم آسان و ارزش بیولوژیک بالا قادر است ویتامین‌ها، مواد معدنی و اسیدهای چرب ضروری را در دسترس افراد قرار دهد و در یک رژیم غذایی سالم نقش مهمی ایفاء کند [1].

امروزه در صنعت غذا با تبدیل ماهی‌های ارزان و کم مصرف به فرآورده‌های دارای ارزش افزوده مانند سوسیس ماهی می‌توان علاوه بر حفظ منابع غنی پروتئینی، ضایعات محصولات دریایی را به حداقل رساند. از این رو استفاده از ماهی حسون (*Saurida tumbile*) که از ماهی‌های تجاری خلیج فارس و دریای عمان است، از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد [2]. این ماهی به دلیل داشتن برخی خصوصیات مانند طعم، مزه و بافت نامطلوب و به‌ویژه وجود استخوان‌های ریز داخل عضله از استقبال خوبی از جانب مصرف‌کنندگان برخوردار نیست، لذا دستیابی به روش‌های فرآوری که بتوان این ماهی را در سبد خانوار جای داد، ضروری می‌باشد. برای رفع مشکل مصرف این نوع ماهی، تولید سوسیس از گوشت چرخ شده ماهی با مخلوطی از مواد پرکننده و افزودنی‌ها صورت می‌گیرد [3].

اغلب غذاهای آماده حاوی نمک اضافی در فرمولاسیون خود می‌باشند که علت آن را می‌توان افزایش طعم، تشکیل ساختار منسجم از طریق افزایش حلالیت پروتئین‌های میوفیبریلی گوشت و برقراری اتصالات عرضی پایدار بین پروتئین و چربی، افزایش آبدار بودن و بافت مطلوب در محصول دانست [4-7]. همچنین سبب افزایش ثبات میکروبیولوژیکی محصول از طریق کاهش فعالیت آبی می‌گردد. متداول‌ترین جایگزین نمک کلرید سدیم در غذاهای کم نمک، استفاده از کلرید پتاسیم می‌باشد [8]. مطالعات زیادی نشان داده‌اند که مصرف متعادل پتاسیم از طریق رژیم غذایی می‌تواند کمک به کاهش فشار خون افراد نماید. بدین ترتیب، فشار از روی مویرگ‌های قلبی و مغزی برداشته خواهد شد و کمک به جلوگیری از خطر سکته

مغزی و سکته قلبی می‌کند. همچنین باعث کاهش دفع کلسیم و در نتیجه کاهش احتمال ابتلا به بیماری پوکی استخوان می‌شود [9]. شواهد مطالعات انجام شده حاکی از آن است که دریافت پتاسیم به میزانی که منجر به دفع 70 تا 90 میلی مول / روز از طریق ادرار شود، سبب کاهش فشار خون شده در صورتیکه هیچ‌گونه تاثیر نامطلوبی بر لیپیدهای خون و عملکرد کلیه ندارد. میزان طبیعی پتاسیم خون اغلب 3/5 تا 5/5 میلی مول / لیتر است، که مصرف زیاد پتاسیم می‌تواند سبب هایپرکالمی در افراد مبتلا به نارسای کلیه تحت درمان دیالیز، دارای دیابت قندی و گروه سنی بالای 60 سال که از داروهایی از قبیل داروهای غیراستروئیدی و هپارین استفاده می‌نمایند، شود. از این رو چنین افرادی می‌بایست از آسیب‌های احتمالی مطلع و جایگزین‌های نمک مبتنی بر پتاسیم را با نظارت پزشک مصرف نمایند [10، 11].

تحقیقات مختلفی در زمینه کاهش جذب نمک با جایگزینی بخشی از نمک کلرید سدیم با کلرید پتاسیم در فرآورده‌های گوشتی گوناگون صورت گرفته است. Horita و همکاران [12]، با مطالعه اثر جایگزینی نمک بر ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و حسی سوسیس‌های تولید شده از گوشت گاو دریافتند که کلرید پتاسیم بهترین گزینه برای جایگزینی نمک کلرید سدیم می‌باشد. Corral و همکاران [13]، اثر جایگزینی بخشی از کلرید سدیم با کلرید پتاسیم در سوسیس‌های تخمیری تهیه شده از گوشت گاو را بررسی کردند. سوسیس‌های تهیه شده با این روش از کیفیت و ویژگی‌های حسی بالایی برخوردار بودند.

استفاده از روغن سویا در فرمولاسیون اکثر فرآورده‌های تولیدی رایج می‌باشد، این روغن عدد یدی بالا و مقدار اسیدهای چرب اشباع کمی دارد و حتی در درجه حرارت‌های پایین کاملاً مایع است. از طرفی ارزان قیمت بودن این روغن، سبب گردیده است که در بسیاری از واحدهای صنعتی و رستوران‌ها پرکاربرد باشد. از طرفی، اسید لینولنیک بالای این روغن، سبب حساسیت آن به اکسیداسیون و ایجاد طعم و بوی نامطبوع می‌شود که می‌بایست هم در حین فرآیند و هم در طی دوره نگهداری به این نکته توجه شود [14]. استفاده از ایزوله پروتئینی سویا به دلیل دارا بودن مقدار پروتئین بالا (90-95 درصد) و عدم همراهی با ترکیبات دیگر می‌تواند به عنوان

تبخیر، تخمیر و استخراج از این روش استفاده گردیده است [21، 22]. امروزه روش حرارت‌دهی اهمیت به عنوان روش جایگزین سایر روش‌های حرارتی از جمله روش‌های حرارتی شدید رایج، مایکروویو، امواج رادیویی و حرارت‌دهی القایی مورد توجه قرار گرفته است [23].

طراحی و بهینه‌سازی مدل‌های مناسب و قابل قبول به منظور تحلیل بهتر نتایج تحقیق صورت می‌گیرد. روش سطح پاسخ، یکی از رویکردهای بررسی در طراحی آزمایش‌ها و علوم وابسته است. در این روش سعی می‌شود تا با استفاده از یک طرح آزمایش مناسب، راهی برای تخمین برهمکنش‌ها، اثرات درجه دوم و حتی شکل موضعی سطح پاسخ مورد مطالعه یافت شود [1].

تاکنون بررسی‌های انجام شده در ارتباط با کاربرد روش حرارت‌دهی اهمیت بر مواد غذایی مایع و نیمه‌جامد صورت گرفته است و تاثیر این روش بر سوسیس تهیه شده از گوشت ماهی حسون مورد ارزیابی قرار نگرفته است. از این رو، هدف از تحقیق حاضر، بررسی برخی از ویژگی‌های میکروبی و شیمیایی محصول سوسیس ماهی حسون تولید شده به روش حرارت‌دهی اهمیت با به کارگیری درصد‌های مختلف نمک کلرید پتاسیم، روغن سویا و ایزوله پروتئین سویا در فرمولاسیون بوده است. پس از بررسی نتایج، فرمولاسیون بهینه به روش آماری سطح پاسخ تعیین گردید.

## 2- مواد و روش‌ها

### 2-1- تهیه و آماده‌سازی ماهی

30 عدد ماهی حسون تازه صید شده از آب‌های سواحل خلیج فارس شهرستان بوشهر تهیه و با رعایت شرایط زنجیره سرد بلافاصله به تهران ارسال گردید (تصویر شماره 1). سپس توسط یونولیت حاوی یخ به آزمایشگاه انتقال داده شد. مراحل آماده‌سازی ماهی شامل سر و دم‌زنی و خروج امعاء و احشاء صورت گرفت. پس از شستشوی ماهی پاک شده، فیله‌سازی، جداسازی گوشت ماهی، شست و شو، آب‌گیری و مرحله چرخ کردن گوشت ماهی توسط چرخ گوشت با دیسک دارای قطر منافذ 3

راهکاری مناسب جهت بهبود کیفیت سوسیس از لحاظ ویژگی‌های حسی و فیزیکوشیمیایی شامل بافت، تردی و افزایش راندمان پخت و افزایش ظرفیت نگهداری آب شود. همچنین سبب افزایش خواص امولسیون‌کنندگی از طریق ایفای نقش جهت پایدارسازی امولسیون چربی و آب و بهبود خواص عملکردی سوسیس از قبیل افزایش حلالیت پروتئین و تشکیل ژل، مورد استفاده قرار گیرد [15، 16]. همچنین ایزوفلاون سویا حاوی مقادیر فراوان ایزوفلاون است. ایزوفلاون‌ها، فیتواستروژن‌هایی هستند که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی بوده و از پوکی استخوان، بیماری‌های قلبی و عروقی جلوگیری می‌کنند [17].

اغلب سوسیس‌های تهیه شده در کارخانجات فرآورده‌های گوشتی ایران از نوع حرارت‌دیده هستند. سوسیس ماهی، گوشت خرد شده ماهی به تنهایی یا همراه با گوشت دام یا ماکیان است که افزودنی‌هایی نظیر روغن و چربی، ادویه‌جات و نشاسته به منظور افزایش قدرت پیوندی به آن اضافه می‌شوند. این مخلوط در روکش‌های مناسب بسته‌بندی شده و بعد از گره زنی تحت فرایند حرارتی قرار می‌گیرد [18]. به منظور پخت و حرارت‌دهی سوسیس، می‌توان از هوای گرم، مخلوط هوای گرم و دود، بخار آب و یا آب داغ استفاده کرد. همچنین استفاده از روش نوین حرارت‌دهی اهمیت سبب افزایش سرعت انتقال حرارت مستقل از اندازه محصول، پخت بهتر و جلوگیری از فرآوری بیش از حد می‌نماید [19]. حرارت‌دهی اهمیت که به عنوان حرارت‌دهی ژول نیز نامیده می‌شود، یک فرآیند حرارتی نوین می‌باشد که با عبور جریان الکتریکی از ماده غذایی توسط دو الکترود متصل به آن و در نظرگیری ماهیت ماده به عنوان یک مقاومت حرارتی، سبب تبدیل انرژی الکتریکی به حرارت و افزایش دمای داخلی ماده غذایی می‌گردد. بر اساس پژوهش‌های پیشین، روش حرارت‌دهی اهمیت در پاستوریزاسیون شیر، کنسروسازی (قبل از پدید آمدن بسته‌بندی آسپتیک)، آب‌گیری و آنزیم‌بری کاربرد دارد [20]. همچنین در

ماهی (گرم در 100 گرم) توسط ترازوی دیجیتالی دقیق وزن شدند (Mettler Toledo, Model ME2002, Belgium) و عملیات اختلاط توسط همزن آزمایشگاهی صورت گرفت (IKA Labortechnik, IKA®-Werke GmbH & Co. KG., Germany). بدین ترتیب، 20 نمونه سوسیس ماهی حسون با درصد‌های مختلف نمک کلرید پتاسیم (0/7، 1، 1/5، 2 و 2/3 درصد)، روغن سویا (0/5، 0/2، 9، 12، 14 درصد) و ایزوله پروتئینی سویا (0/5، 0/2، 1، 1/5 و 1/8 درصد) در آزمایشگاه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران تولید گردیدند. شایان ذکر است که کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده در این مطالعه از برند مرک (Darmstadt, Germany) و سیگما آلدریج (SA. Louis, MO, USA) تهیه شدند.

### 2-3- فرآیند حرارتی اهمیتیک

به منظور اعمال فرآیند حرارتی اهمیتیک، پس از پرکردن سل اهمیتیک (به طول 100 میلی متر) با خمیر سوسیس ماهی، درپوش به همراه الکترودهای مورد نظر بر روی سل قرار داده شد و با روشن نمودن سیستم تامین برق و اعمال گرادیان ولتاژ 30V/cm و مدت زمان 4 دقیقه سبب افزایش دما در نمونه گردید [25، 26]. در طی فرآیند، دمای مرکز نمونه به صورت مداوم پایش و تا رسیدن دمای مرکز نمونه به دمای 66°C عملیات ادامه پیدا کرد و سپس به کمک کنترل کننده دما، دمای محصول ثابت نگه داشته شد تا مدت زمان 4 دقیقه سپری گردد. مقادیر ولتاژ، زمان و دمای مورد نیاز فرآیند طی فاز تحقیقاتی دیگری به روش سطح پاسخ بهینه‌سازی گردید (تصویر شماره 2). پس از پایان فرآیند، درپوش‌ها برداشته و نمونه سوسیس ماهی از داخل سل خارج شد. نمونه در ظرف پر از یخ جهت رسیدن به دمای پایین گذاشته و سپس به یخچال با دمای پایین تر از 4°C انتقال داده شد.

میلی‌متر انجام و در نهایت به فریزر با دمای 18°C- انتقال داده شد [24].



**Fig 1** Saurida tumbil fish caught from Bushehr port waters, the Persian Gulf, located in south of Iran (N 28° 59' E 050° 52').

### 2-2- مراحل تولید خمیر سوسیس ماهی

به منظور تولید سوسیس ماهی حسون با فرمولاسیون بهینه همگن‌سازی مواد خام با هدف تولید خمیر مورد نظر صورت گرفت. از این رو خمیر سوسیس ماهی با فرمولاسیون‌های متفاوت براساس طرح آماری که در آن از ایزوله پروتئین سویا، نمک کلرید پتاسیم و روغن سویا (جدول شماره 2) به همراه گوشت ماهی و سایر مواد اولیه از قبیل تخم مرغ (3 درصد)، نشاسته (4 درصد)، آرد گندم (2 درصد)، شیر خشک (1 درصد)، یخ (10 درصد)، گلو تن (3/38 درصد)، سیر (0/2 درصد)، سدیم پلی فسفات (0/2 درصد)، اسید آسکوربیک (0/02 درصد)، نیتريت سدیم (0/01 درصد)، شکر (0/5 درصد)، و ادویه-جات (1/19 درصد) در خمیر تهیه گردید [20]. شایان ذکر است تمامی مواد اولیه مورد استفاده برای تهیه سوسیس



**Fig 2** The fish Sausage which has made by Ohmic heating process.

**2-4- اندازه گیری شمارش کلی میکروبی**

10 گرم از هر یک از نمونه‌ها در شرایط آسپتیک در ارلن-های حاوی 90 میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل توزین شدند. سپس 1 میلی‌لیتر از رقت 0/1 تهیه شده به لوله‌های حاوی 9 میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل انتقال داده شد. در مرحله بعد 0/1 میلی‌لیتر از رقت‌های 0/1 و 0/01 به محیط کشت پلیت کانت آگار به صورت کشت سطحی تلقیح گردید. پس از پخش کامل نمونه در سطح محیط، پلیت‌ها به منظور رشد میکروبی همراه با پلیت شاهد در دمای یخچال  $3^{\circ}\text{C}$  به مدت 10 روز نگهداری شدند [27، 28].

**2-5- اندازه‌گیری شاخص‌های شیمیایی****2-5-1- اندازه‌گیری عدد پراکسید**

50 گرم نمونه درون ارلن 500 میلی‌لیتری توزین شد. برای استخراج چربی از بافت نمونه، از کلروفرم به میزان 200 میلی‌لیتر استفاده گردید. برای انجام عمل استخراج، ارلن بر روی شیکر به مدت 2 ساعت تکان داده شد. پس از اتمام 2 ساعت محتوی داخل ارلن صاف و محلول زیر صافی به بالن درب سمباده‌ای انتقال داده شد. سپس نمونه به منظور تبخیر حلال به تبخیرکننده چرخان منتقل و پس از تبخیر حلال، وزن روغن باقیمانده در بالن تعیین گردید. به منظور اندازه‌گیری پراکسید، روغن استخراجی در 30 میلی‌لیتر مخلوط اسید استیک-کلروفرم (2:3 حجمی/حجمی) حل شده، به مخلوط حاصل 0/5 میلی‌لیتر یدور پتاسیم اشباع اضافه و مخلوط به مدت یک دقیقه تکان داده شد. پس از یک دقیقه به مخلوط 30 میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید. پس از اختلاط کامل، مخلوط با محلول تیوسولفات سدیم 0/01 نرمال تا ظهور رنگ زرد روشن تیترا شد. سپس 0/5 میلی‌لیتر معرف نشاسته 1% به مخلوط اضافه و رنگ مخلوط به آبی تیره تبدیل شده و عمل تیتراسیون تا حذف رنگ آبی و ظهور رنگ روشن ادامه داده شد [20، 27].

**2-5-2- اندازه‌گیری pH**

10 گرم از نمونه در 100 میلی‌لیتر آب مقطر توسط دستگاه هموژنایزر کاملاً یکنواخت و سپس به مدت 2 دقیقه به حالت سکون نگه داشته شد و در مرحله بعد pH نمونه‌ها توسط pH متر (Model 827 pH، Lab, Metrohm AG ساخت کشور سوئیس) اندازه‌گیری گردید [19، 29].

**2-5-3- اندازه‌گیری ظرفیت نگهداری آب**

10 گرم از هر نمونه جدا نموده و به دو قسمت 5 گرمی تقسیم شد. 5 گرم اول را مورد آزمون رطوبت قرار داده و 5 گرم دوم خرد و درون یک توری نایلونی در ابعاد  $15 \times 15$  پهن گردید. توری حاوی نمونه جمع و وزن اولیه ثبت شد. سپس توری را درون 3 لایه کاغذ صافی پیچیده و داخل سانتریفیوژ با 4000 دور بر دقیقه به مدت 30 دقیقه و دمای  $4^{\circ}\text{C}$  قرار داده شد. در پایان توری را از کاغذ جدا و مجدد توزین و با استفاده از رابطه زیر مقدار ظرفیت نگهداری آب محاسبه گردید [26].

ظرفیت نگهداری آب %

$$\left( \frac{\text{وزن نمونه} - \text{وزن صردرطوبت}}{\text{وزن نمونه}} \right) \times 100 = \text{ظرفیت نگهداری آب (\%)} \quad \text{وزن توری - وزن توری محتوی نمونه بعد از سانتریفیوژ}$$

وزن نمونه

**2-5-4- اندازه‌گیری افت پخت**

نمونه سوسیس ماهی به ضخامت 2 سانتی‌متر برش زده و وزن شد. سپس نمونه روی سینی فلزی با دمای حدود 100 درجه سلسیوس بر روی هیتر قرار گرفت. دمای مرکز نمونه می‌بایست به حدود  $60^{\circ}\text{C}$  می‌رسید که این شرایط برای هر طرف نمونه به مدت 10 ثانیه حرارت دهی بدست آمد. سپس تا رسیدن دمای مرکز نمونه به حدود  $25^{\circ}\text{C}$  در دمای محیط قرار داده شد تا خنک گردیده و مجدداً توزین شود. افت پخت از طریق فرمول زیر بدست آمد [19، 29، 30].

(وزن اولیه / وزن ثانویه - وزن اولیه) = افت پخت %

**2-6- تجزیه و تحلیل آماری**

بهینه‌سازی فرمولاسیون 20 نمونه سوسیس ماهی با استفاده از نرم افزار Design Expert نسخه 11 در قالب روش سطح پاسخ-طرح مرکب مرکزی صورت گرفت و ارتباط بین متغیرهای مستقل و پاسخ‌ها به کمک معادله درجه دوم بدست آمده، بررسی شد [31، 1]. براساس جدول 1، طرح مرکب مرکزی به منظور بررسی اثر سه متغیر مستقل شامل  $X_1$  نمک کلرید سدیم،  $X_2$  روغن سویا و  $X_3$  ایزوله پروتئین سویا در پنج سطح و 5 تکرار در نقطه مرکزی مورد استفاده قرار گرفت.

**Table 1** Independent variables and their levels applied in central composite design.

X <sub>i</sub>	Independent Variables	Levels				
		-2	-1	0	+1	+2
X <sub>1</sub> = A	KCl (%)	0.7	1	1.5	2	2.3
X <sub>2</sub> = B	Soy Oil (%)	4	6	9	12	14
X <sub>3</sub> = C	Isolated Soy Protein (%)	0.2	0.5	1	1.5	1.8

بودن ضریب تبیین این مدل گویا این واقعیت است که روابط بین متغیرهای مستقل و متغیرهای وابسته (پاسخ‌ها) با دقت بالایی توسط مدل توضیح داده می‌شود. علاوه بر آن، بی‌معنی بودن lack-of-fit به دست آمده در سطح 1 و 5 درصد نشان دهنده‌ی بالا بودن تناسب مدل پیشنهاد شده برای داده‌های بدست آمده می‌باشد. فاکتور «دقت لازم» برای تبیین مدلی مناسب برای ارزیابی نقاط بهینه و به دور از انحراف بایستی بالاتر از عدد 4 باشد. ضریب واریانس نیز نشان‌دهنده پراکندگی نسبی کم نقاط تجربی از پیش‌بینی‌های مدل و بالا بودن سطح اطمینان درستی داده‌ها است.

### 3- نتایج و بحث

داده‌های تجربی پنج پاسخ شمارش کلی میکروبی، pH، اندیس پراکسید، افت پخت و ظرفیت نگهداری آب سوسیس‌های ماهی حسون با فرمولاسیون متفاوت در جدول 2 ارائه شده است. ارزیابی نتایج توسط ANOVA نشان داد که مدل‌ها برای همه پاسخ‌ها در جدول 3 و جدول 4 بسیار معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) هستند. ضریب تبیین  $R^2$  و ضریب تبیین تعدیل شده  $R^2_{adj}$  تأیید می‌کند که مدل بسیار معنی‌دار می‌باشد و داده‌های تجربی و پیش‌بینی‌های دارای نزدیکی بسیار زیادی به همدیگر می‌باشند. به عبارتی، بالا

**Table 2** Central composite design for independent factors with experimental responses.

Run	Independent variables				Responses			
	KCl (%)	Soy Oil (%)	Isolated Soy Protein (%)	Total plate count (log CFU /g)	pH	Peroxide value (mEq/Kg)	Cooking loss (%)	WHC (%)
1	2	12	0.5	2.87	6.62	4.15	7.25	45.98
2	1	12	1.5	3.16	6.68	4.25	7.37	44.46
3	1	6	0.5	2.96	6.71	3.14	5.27	42.6
4	1	6	1.5	3	6.65	3.24	7.28	70.33
5	1.5	9	2	2.4	6.71	3.98	8.41	57.26
6	2.3	9	1	2.85	6.65	4.12	6.52	59.24
7	1.5	9	1	3.18	6.69	3.91	8.38	58.4
8	1.5	9	1	3.18	6.7	3.82	8.05	59.06
9	0.7	9	1	3.03	6.62	4.15	6.15	56.65
10	2	12	1.5	2.78	6.71	4.11	7.09	45.24
11	1.5	4	1	3	6.69	2.53	5.03	68.27
12	1.5	9	0.2	2.7	6.73	3.84	6.63	43.79
13	1.5	9	1	3.3	6.68	3.93	8.32	52.41
14	2	6	0.5	2.85	6.68	3.12	6.51	45.98
15	1.5	9	1	3.2	6.72	3.93	8.32	54.5
16	1	12	0.5	3.07	6.58	4.19	7.13	46.44
17	2	6	1.5	2.75	6.65	3.18	7.14	71.14
18	1.5	9	1	3.24	6.68	3.95	7.51	53.46
19	1.5	14	1	3.21	6.61	3.99	6.52	43.97
20	1.5	9	1	3.3	6.71	3.84	8.26	52.65

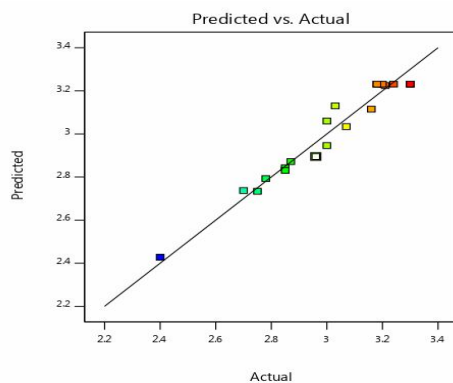
است. در این جدول مقدار P محاسبه‌شده برای مدل کم‌تر از 0/0001 بوده است که نشان‌دهنده معنی‌دار بودن مدل در سطح 1 و 5 درصد می‌باشد. ضریب تبیین  $R^2$  (0/9587) و ضریب تبیین تعدیل شده  $R^2_{adj}$  (0/9215) نشان‌دهنده معنی‌دار بودن مدل می‌باشد.

### 3-1- بررسی نتایج تجزیه واریانس

#### شمارش کلی میکروبی

نتایج تجزیه واریانس مدل سطح پاسخ دوطرفه برای میزان شمارش کلی میکروبی در جدول 3 ارائه شده

بازدارندگی بیشتری در کاهش شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها داشته است [33]. در تحقیق دیگری در ارتباط با تاثیر ایزوله پروتئین سویا بر کیفیت سوسیس محتوی گوشت خوک و آرد کنجاک، مصرف 2% ایزوله پروتئین سویا در فرمولاسیون سوسیس نسبت به نمونه‌های شاهد، نشان دهنده شمارش کلی باکتری‌های هوازی پایین‌تری بوده است که این امر احتمالا به دلیل محبوس نمودن رطوبت توسط ایزوله پروتئین سویا و از دسترس خارج نمودن آب می‌باشد [34].



**Fig 1** The comparison of Total plate count amount distribution between predicted and actual samples.

**Table 3** The results of analysis of variance (ANOVA) for responses including total plate count, pH, and peroxide value.

Source	df	Total plate count			pH			Peroxide value		
		Sum of Squares	F-value	p-value	Sum of Squares	F-value	p-value	Sum of Squares	F-value	p-value
Model	9	0.9992	25.78	< 0.0001*	0.0287	9.04	0.0010*	4.07	78.48	< 0.0001*
A-Salt	1	0.1149	26.69	0.0004*	0.0006	1.67	0.2250 <sup>ns</sup>	0.0072	1.25	0.2888 <sup>ns</sup>
B-Soy Oil	1	0.0331	7.69	0.0197 <sup>ns</sup>	0.0040	11.38	0.0071*	3.07	533.16	< 0.0001*
C-Isolated Soy Protein	1	0.0007	0.1595	0.6980 <sup>ns</sup>	0.0002	0.5339	0.4817 <sup>ns</sup>	0.0150	2.60	0.1376 <sup>ns</sup>
AB	1	0.0060	1.40	0.2633 <sup>ns</sup>	0.0012	3.54	0.0892 <sup>ns</sup>	0.0013	0.2169	0.6514 <sup>ns</sup>
AC	1	0.0128	2.97	0.1154 <sup>ns</sup>	0.0000	0.1417	0.7145 <sup>ns</sup>	0.0025	0.4252	0.5291 <sup>ns</sup>
BC	1	0.0005	0.1045	0.7532 <sup>ns</sup>	0.0098	27.77	0.0004*	0.0025	0.4252	0.5291 <sup>ns</sup>
A <sup>2</sup>	1	0.1178	27.35	0.0004*	0.0077	21.75	0.0009*	0.0608	10.55	0.0088*
B <sup>2</sup>	1	0.0143	3.31	0.0989 <sup>ns</sup>	0.0043	12.27	0.0057*	0.8642	149.98	< 0.0001*
C <sup>2</sup>	1	0.7246	168.23	< 0.0001*	0.0004	1.26	0.2870 <sup>ns</sup>	0.0021	0.3688	0.5572 <sup>ns</sup>
Residual	10	0.0431			0.0035			0.0576		
Lack of Fit	5	0.0273	1.74	0.2795 <sup>ns</sup>	0.0022	1.65	0.2987 <sup>ns</sup>	0.0433	3.02	0.1252 <sup>ns</sup>
Pure Error	5	0.0157			0.0013			0.0143		
Cor Total	19	1.04			0.0323			4.13		

Note: \*: Significant Difference ( $p < 0.05$ ); <sup>ns</sup>: non-significant difference ( $p > 0.05$ ).

lack-of-fit به دست آمده در سطح 1 و 5 درصد برای این مدل بی‌معنی بوده (0/2795) و فاکتور «دقت لازم» برای این مدل 17/3051 بود. همچنین در جدول 3 جملاتی از مدل که میزان p-value آن‌ها بیشتر از 0/05 است اثر معنی‌داری بر پاسخ‌های بدست آمده ندارند. اما جمله‌هایی از مدل که معنی‌دار بوده‌اند شامل جملات اثر خطی نمک کلرید پتاسیم (A)، اثر خطی روغن سویا (B)، اثر درجه دوم نمک کلرید پتاسیم (A<sup>2</sup>) و اثر درجه دوم ایزوله پروتئین سویا (C<sup>2</sup>) می‌باشد. مطابق جدول 5، ضریب واریانس 2/19 درصد بدست آمد. شکل 1 نمودار پراکنندگی مقادیر واقعی شمارش کلی میکروبی نمونه‌ها را در مقابل مقادیر پیش‌بینی شده نشان می‌دهد. همواره کاربرد نمک در فرآورده‌های گوشتی به دلیل کاهش رشد میکروارگانیسم‌ها از جمله اثرشیاکلی، سالمونلا، کلستریدیوم و استافیلوکوکوس اورئوس رایج بوده است، نمک با کاهش میزان آب آزاد منجر به کم شدن بار میکروبی محصولات می‌گردد [32]. با توجه به بررسی‌های صورت گرفته بر روی تاثیر جایگزینی نسبی نمک کلرید سدیم با نمک کلرید پتاسیم بر جمعیت میکروبی موجود در پنیر UF مشخص گردید نمک کلرید پتاسیم در مقایسه با کلرید سدیم، تاثیر

**Table 4** The results of analysis of variance (ANOVA) for responses including cooking loss and water holding capacity.

Source	df	Cooking loss			Water holding capacity		
		Sum of Squares	F-value	p-value	Sum of Squares	F-value	p-value
Model	9	16.90	11.09	0.0004*	1449.20	16.97	< 0.0001*
A-Salt	1	0.1789	1.06	0.3282 <sup>ns</sup>	5.71	0.6017	0.4559 <sup>ns</sup>
B-Soy Oil	1	1.94	11.44	0.0070*	576.88	60.81	< 0.0001*
C-Isolated Soy Protein	1	2.48	14.63	0.0033*	438.81	46.26	< 0.0001*
AB	1	0.1985	1.17	0.3044 <sup>ns</sup>	1.87	0.1974	0.6663 <sup>ns</sup>
AC	1	0.3961	2.34	0.1571 <sup>ns</sup>	0.2211	0.0233	0.8817 <sup>ns</sup>
BC	1	0.8192	4.84	0.0525 <sup>ns</sup>	386.56	40.75	< 0.0001*
A <sup>2</sup>	1	4.03	23.81	0.0006*	0.7946	0.0838	0.7782 <sup>ns</sup>
B <sup>2</sup>	1	7.61	44.96	< 0.0001	1.88	0.1979	0.6659 <sup>ns</sup>
C <sup>2</sup>	1	0.2572	1.52	0.2459 <sup>ns</sup>	105.85	11.16	0.0075*
Residual	10	1.69			94.86		
Lack of Fit	5	1.15	2.12	0.2139 <sup>ns</sup>	52.00	1.21	0.4185 <sup>ns</sup>
Pure Error	5	0.5418			42.86		
Cor Total	19	18.59			1544.06		

Note: \*: Significant Difference ( $p < 0.05$ ); <sup>ns</sup>: non-significant difference ( $p > 0.05$ ).

**Table 5** Estimated regression coefficient for different response variables.

Factor	Coefficient				
	Total plate count (log CFU /g)	pH	Peroxide value (mEq/Kg)	Cooking loss (%)	WHC (%)
Intercept	3.23	6.70	3.90	8.11	55.30
A-Salt (%)	-0.0936	0.0067	-0.0235	0.1168	0.6596
B-Soy Oil (%)	0.0494	-0.0172	0.4761	0.3780	-6.52
C-Isolated Soy Protein (%)	-0.0070	0.0037	0.0329	0.4222	5.62
AB	-0.0275	0.0125	-0.0125	-0.1575	-0.4838
AC	-0.0400	0.0025	-0.0175	-0.2225	-0.1662
BC	0.0075	0.0350	-0.0175	-0.3200	-6.95
A <sup>2</sup>	-0.0979	-0.0250	0.0703	-0.5723	0.2541
B <sup>2</sup>	-0.0319	-0.0176	-0.2486	-0.7378	-0.3664
C <sup>2</sup>	-0.1972	0.0049	-0.0107	-0.1175	-2.38
Std. Dev.	0.0656	0.0188	0.0759	0.4115	3.08
Mean	3.00	6.67	3.77	7.16	53.59
C.V. %	2.19	0.2815	2.01	5.75	5.75
R <sup>2</sup>	0.9587	0.8906	0.9860	0.9089	0.9386
Adjusted R <sup>2</sup>	0.9215	0.7921	0.9735	0.8270	0.8833
Predicted R <sup>2</sup>	0.7846	0.3816	0.9099	0.5076	0.7214
Adeq Precision	17.3051	10.3308	34.2783	11.7510	15.0004

بی‌معنی بوده (0/2987) و فاکتور «دقت لازم» در این مدل 10/3308 بود. همچنین در جدول 3 جملاتی از مدل که میزان p-value آن‌ها بیشتر از 0/05 است اثر معنی‌داری بر پاسخ‌های بدست آمده ندارند. اما جمله‌هایی از مدل که معنی‌دار بوده‌اند شامل جملات اثر خطی روغن سویا (B)، اثر متقابل روغن سویا و ایزوله پروتئین سویا (B × C)، اثر درجه دوم نمک

### 2-3- بررسی نتایج تجزیه واریانس pH

مطابق جدول 3، نتایج تجزیه واریانس مدل سطح پاسخ دوطرفه برای میزان pH نشان‌دهنده آن است مقدار P محاسبه‌شده برای مدل کم‌تر از 0/0010 می‌باشد. ضریب تبیین R<sup>2</sup> (0/8906) و ضریب تبیین تعدیل شده R<sup>2</sup><sub>adj</sub> (0/7921) و lack-of-fit به دست آمده در سطح 1 و 5 درصد برای این مدل



مقدار pH نمونه‌ها با شیب منحنی کم گردید. در بررسی که توسط Akesowan (2008) درباره تاثیر ایزوله پروتئین سویا بر کیفیت سوسیس محتوی گوشت خوک و آرد کنجاک صورت گرفت مشخص گردید افزایش مقدار ایزوله پروتئین سویا سبب بالارفتن تدریجی pH گردید که این افزایش معنی‌دار نبوده است [34]. همچنین براساس گزارشات منتشر شده کاربرد نمک کلرید پتاسیم سبب افزایش pH در نمونه‌های سوسیس گردیده است که این امر با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. در تحقیق Horita و همکاران (2014) افزودن نمک کلرید پتاسیم سبب افزایش pH گردید در صورتی که نمک کلرید کلسیم منجر به کاهش pH شد [12]. عرب و همکاران در مطالعه خود اعلام نمودند افزودن نمک کلرید پتاسیم به فرمولاسیون سبب افزایش pH در نمونه‌های محتوی نمک مذکور گردید. شایان ذکر است در بین تمام تیمارها، pH از 6/44 تا 6/63 متغیر بود [35].

### 3-3- بررسی نتایج تجزیه واریانس اندیس

#### پراکسید

نتایج تجزیه واریانس مدل سطح پاسخ دوطرفه برای میزان اندیس پراکسید در جدول 3 ارائه شده است. در این جدول مقدار P محاسبه شده برای مدل کم‌تر از 0/0001 می‌باشد که نشان‌دهنده معنی‌دار بودن مدل در سطح 1 و 5 درصد می‌باشد. ضریب تبیین  $R^2$  (0/9860) و ضریب تبیین تعدیل شده  $R^2_{adj}$  (0/9735) تأیید می‌کند که مدل بسیار معنی‌دار می‌باشد و داده‌های تجربی و پیش‌بینی دارای نزدیکی بسیار زیادی به همدیگر می‌باشند. علاوه بر آن، lack-of-fit به دست آمده در سطح 1 و 5 درصد برای این مدل بی‌معنی بوده (0/1252) که این نتیجه نشان دهنده بالا بودن تناسب مدل پیشنهاد شده برای داده‌های بدست آمده می‌باشد. فاکتور «دقت لازم» برای تبیین مدلی مناسب برای ارزیابی نقاط بهینه و به دور از انحراف بایستی بالاتر از عدد 4 باشد که در این مدل 34/2783 بود. همچنین در جدول 3 جملاتی از مدل که میزان p-value آن‌ها بیشتر از 0/05 است اثر معنی‌داری بر پاسخ‌های بدست آمده ندارند. اما جمله‌هایی از مدل که معنی‌دار بوده‌اند جملات اثر خطی روغن سویا (B)، اثر درجه دوم نمک کلرید پتاسیم ( $A^2$ ) و

کلرید پتاسیم ( $A^2$ ) و اثر درجه دوم روغن سویا ( $B^2$ ) می‌باشند. ضریب واریانس 0/2815 درصد ارائه شده در جدول شماره 5 نشان‌دهنده پراکندگی نسبی کم نقاط تجربی از پیش‌بینی‌های مدل و بالابودن سطح اطمینان درستی داده‌ها است. شکل 2 نمودار پراکندگی مقادیر واقعی میزان pH نمونه‌ها را در مقابل مقادیر پیش‌بینی شده نشان می‌دهد.

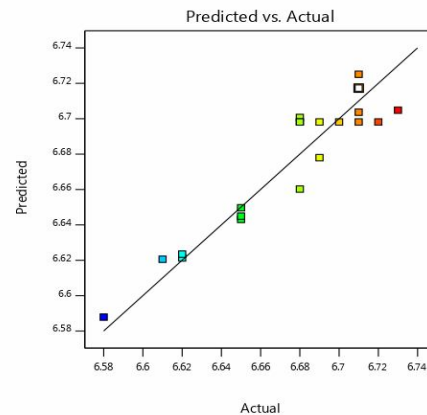


Fig 2 The comparison of pH distribution between predicted and actual samples.

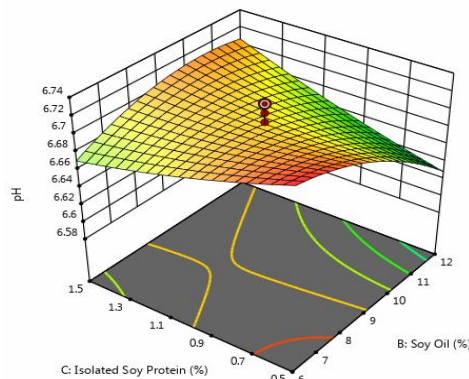


Fig 3 The interaction effect of isolated soy protein (%) and soy oil (%) on pH.

با توجه به جدول 3 و شکل 1، اثر متقابل روغن سویا و ایزوله پروتئین سویا تاثیر معنی‌داری بر روند تغییرات pH در 20 نمونه سوسیس ماهی تولید شده به روش حرارت‌دهی اهمیت داشتند. بدین صورت که افزایش درصد روغن سویا فرمولاسیون از 6-12 درصد منجر به افزایش بسیار ناچیز pH و سپس تغییر در شیب منحنی و کاهش مقدار آن گردید و ایزوله پروتئین سویا 0/5-1/5 درصد، سبب کاهش معنی‌دار

مقادیر مالون‌دی‌آلدهید نگریدید. همچنین، احتمال تاثیرات اکسیداتیو سدیم را نسبت به پتاسیم گزارش نمودند. از این رو، جایگزینی نمک پتاسیم به منظور ممانعت از گسترش اکسیداسیون چربی و تولید پراکسید پیشنهاد نمودند. بهترین فرمولاسیون با جایگزین نمودن 10 درصد مقدار روغن با آب و 50 درصد نمک کلرید سدیم با کلرید پتاسیم بدست آمد [37]. در تحقیق حاضر، افزایش مقادیر کلرید پتاسیم، تاثیر معنی‌داری بر روند تغییرات اندیس پراکسید نداشت.

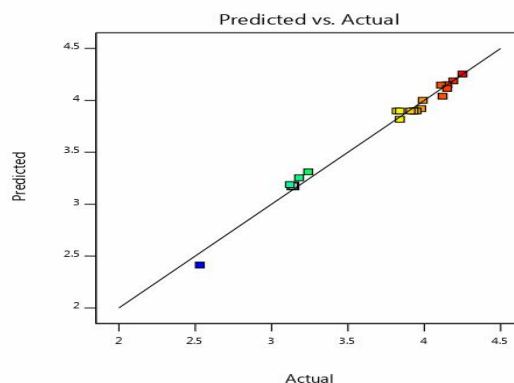
### 3-4- بررسی نتایج تجزیه واریانس افت

#### پخت

جدول 4، نتایج تجزیه واریانس مدل سطح پاسخ دوطرفه میزان افت پخت را نشان می‌دهد. در این جدول مقدار P محاسبه شده برای مدل کم‌تر از 0/0004 می‌باشد که نشان‌دهنده معنی‌دار بودن مدل در سطح 1 و 5 درصد است. ضریب تبیین  $R^2$  (0/9089) و ضریب تبیین تعدیل شده  $R^2_{adj}$  (0/8270) تأیید می‌کند که مدل بسیار معنی‌دار بوده و lack-of-fit به دست آمده در سطح 1 و 5 درصد برای این مدل بی‌معنی است (0/2139) که این امر نشان‌دهنده بالا بودن تناسب مدل پیشنهاد شده می‌باشد. فاکتور «دقت لازم» در این مدل 11/7510 بوده است. همچنین در جدول 4 جملاتی از مدل که میزان p-value آن‌ها بیشتر از 0/05 است اثر معنی‌داری بر پاسخ‌های بدست آمده ندارند. اما جمله‌هایی از مدل که معنی‌دار بوده‌اند شامل جملات اثر خطی روغن سویا (B)، اثر خطی ایزوله پروتئین سویا (C)، اثر درجه دوم نمک کلرید پتاسیم ( $A^2$ ) و اثر درجه دوم روغن سویا ( $B^2$ ) می‌باشند. ضریب واریانس 5/75 درصد نیز نشان‌دهنده پراکندگی نسبی کم نقاط تجربی از پیش‌بینی‌های مدل و بالابودن سطح اطمینان درستی داده‌ها است. شکل 5 نمودار پراکندگی مقادیر واقعی میزان افت پخت نمونه‌ها را در مقابل مقادیر پیش‌بینی شده نشان می‌دهد. نتایج تحقیق نشان دادند افزایش درصد نمک و ایزوله پروتئین سویا در فرمولاسیون سبب کاهش افت پخت محصول می‌گردد.

طی تحقیق صورت گرفته در خصوص ارزیابی خواص فیزیکوشیمیایی فرانکفورتر کم سدیم محتوی گردو، ترانس

اثر درجه دوم روغن سویا ( $B^2$ ) می‌باشند. ضریب واریانس 2/01 درصد نیز نشان‌دهنده پراکندگی نسبی کم نقاط تجربی از پیش‌بینی‌های مدل و بالابودن سطح اطمینان درستی داده‌ها است. شکل 4 نمودار پراکندگی مقادیر واقعی میزان اندیس پراکسید نمونه‌ها را در مقابل مقادیر پیش‌بینی شده نشان می‌دهد.

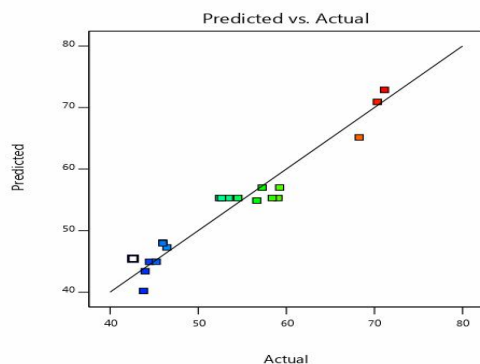


**Fig 4** The comparison of peroxide value distribution between predicted and actual samples.

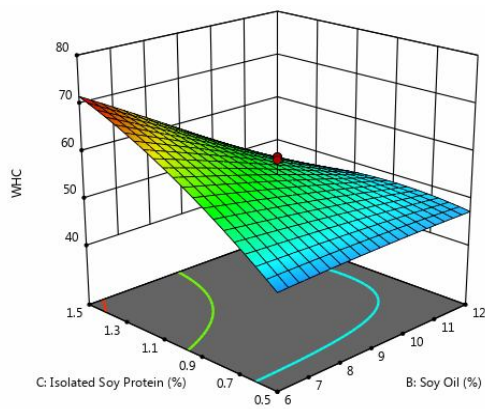
از جنبه عملیاتی، استفاده مقادیر بالای روغن سویا سبب بیرون‌زدگی خمیر سوسیس ماهی از سل اهمیتک و توقف فرآیند می‌گردد. از طرفی از جنبه کیفی، مصرف به‌اندازه روغن سویا طی حرارت دهی اهمیتک باعث جلوگیری از افزایش اندیس پراکسید و بهبود ویژگی‌های تغذیه‌ای محصول می‌گردد. در تحقیقی به بررسی و بهینه‌سازی پایداری حرارتی روغن سویا توسط اسانس آویشن دنایی پرداخته شد که مشخص گردید با افزایش دما و زمان فرآیند حرارتی اندیس پراکسید افزایش پیدا کرد [36].

در گزارش دیگری، تاثیر جایگزینی روغن با آب (0، 3، 6، 10 درصد جایگزینی برحسب وزن خالص محصول) و کلرید سدیم با کلرید پتاسیم (0، 50، 100 درصد) بر هیدرولیز و اکسیداسیون روغن سویا در کنسرو ماهی تن در پایان دوره ماندگاری 18 ماهه مورد ارزیابی قرار گرفت، نتایج نشان دادند با افزایش جایگزینی کلرید سدیم با کلرید پتاسیم و روغن با آب در فرمولاسیون اندیس پراکسید به صورت معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) کاهش پیدا کرد. براساس نتایج تحقیق مذکور، جایگزینی آب در نمونه‌ها سبب کاهش اکسیداسیون روغن شده و منجر به افزایش معنی‌دار

$p$ -value آن‌ها بیشتر از 0/05 است اثر معنی‌داری بر پاسخ‌های بدست آمده ندارند. اما جمله‌هایی از مدل که معنی‌دار بوده‌اند شامل جملات اثر خطی روغن سویا (B)، اثر خطی ایزوله پروتئین سویا (C)، اثر متقابل روغن سویا و ایزوله پروتئین سویا (B × C) و اثر درجه دوم ایزوله پروتئین سویا (C<sup>2</sup>) می‌باشند. شکل 6 نمودار پراکنندگی مقادیر واقعی میزان ظرفیت نگهداری آب نمونه‌ها را در مقابل مقادیر پیش‌بینی شده نشان می‌دهد.



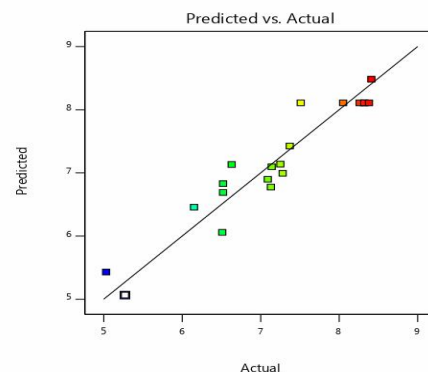
**Fig 6** The comparison of water holding capacity distribution between predicted and actual samples.



**Fig 7** The interaction effect of isolated soy protein (%) and soy oil (%) on WHC.

براساس جدول 4 و شکل 7، اثر متقابل روغن سویا و ایزوله پروتئین سویا تاثیر معنی‌داری بر روند تغییرات ظرفیت نگهداری آب نمونه‌ها داشته‌اند. افزایش درصد روغن سویا منجر به کاهش معنی‌دار ظرفیت نگهداری آب نمونه‌ها گردید. بر طبق تحقیقات بیسواس و همکاران که ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی سوسیس مرغ تهیه شده با چربی و پوست مرغ در سطح ۱۵،۲۰ و ۲۵ درصد را مورد بررسی قرار دادند، با افزایش میزان چربی، میزان پروتئین و رطوبت کاهش پیدا کرد [41].

گلوتامیناز، کازئینات، فیبر غذایی و KCl به عنوان جایگزین نمک طعام، مشخص گردید کاربرد کلرید پتاسیم در کنار سایر ترکیبات منجر به کاهش افت پخت شد [38]. در گزارش دیگری در ارتباط با استفاده از فروکتوالیگوساکاریدها به عنوان جایگزین چربی و کلرید پتاسیم به عنوان جایگزین کلرید سدیم در همبرگر، اعلام شد، جایگزینی کلرید سدیم با کلرید پتاسیم تاثیر معنی‌داری بر کیفیت پخت محصول نداشت [39]. همچنین مطالعه در زمینه تهیه پروتئین سویا ایزوله‌شده به روش هیدرولیز آنزیمی تحت تاثیر فرآیند فشار بالا و استفاده از آن در سوسیس به منظور ارزیابی ویژگی‌های کیفی و پایداری اکسیداتیو محصول انجام شد. نتایج حاکی از آن بودند افزودن ۲ درصد ایزوله پروتئین سویا هیدرولیز شده به فرمولاسیون سوسیس، سبب کاهش افت پخت و افزایش محتوای رطوبتی محصول می‌گردد [40].



**Fig 5** The comparison of cooking loss distribution between predicted and actual samples.

### 3-5- بررسی نتایج تجزیه واریانس ظرفیت

#### نگهداری آب

نتایج تجزیه واریانس مدل سطح پاسخ دوطرفه برای میزان ظرفیت نگهداری آب نشان دادند که مقدار P محاسبه‌شده برای مدل کمتر از 0/0001 می‌باشد که نشان‌دهنده معنی‌دار بودن مدل در سطح ۱ و ۵ درصد می‌باشد (جدول 4). ضریب تبیین  $R^2$  (0/9386) و ضریب تبیین تعدیل شده  $R^2_{adj}$  (0/8833) تأیید کننده معنی‌دار بودن مدل و lack-of-fit به دست آمده در سطح ۱ و ۵ درصد برای این مدل بی‌معنی بوده است (0/4185). فاکتور «دقت لازم» در این مدل 15/0004 و ضریب واریانس 5/75 درصد محاسبه گردید. همچنین در جدول 4 جملاتی از مدل که میزان

جدول 6، مقادیر تعیین شده برای متغیرهای مستقل جهت بهینه‌سازی فرمولاسیون سوسیس ماهی حسون را نشان می‌دهد. از آن جایی که هدف رسیدن به بالاترین ظرفیت نگهداری آب، کمترین بار میکروبی و کمترین افت پخت و نیز کمترین عدد پراکسید با ارزش pH بهینه می‌باشد، بازه متغیرهای مستقل در نرم افزار Design Expert نسخه 11 تعیین شدند. پارامتر مطلوب (ظرفیت نگهداری آب)، حداکثر مقدار، پارامترهای نامطلوب (شمارش کلی میکروبی، اندیس پراکسید و افت پخت) حداقل در نظر گرفته شدند. در فرآیند بهینه‌سازی به تمامی پارامترها مستقل، وزن و اهمیت یکسان داده شد.

براساس جدول 7، با توجه به پارامترهای مورد نظر، راه حل دارای بالاترین مطلوبیت، مناسب‌ترین و بهترین فرمولاسیون خواهد بود که راه حل اول ارائه شده توسط نرم افزار (نمک کلرید پتاسیم 2 درصد، روغن سویا 6 درصد و ایزوله پروتئین سویا 1/5 درصد) به عنوان بهترین مقادیر جهت رسیدن به یک فرمولاسیون سوسیس ماهی حسون مطلوب می‌باشد.

با توجه به شکل 7، بالارفتن مقدار ایزوله پروتئین سویا در نمونه‌ها، منجر به افزایش چشمگیر ظرفیت نگهداری آب در نمونه‌های مربوطه شد و با نتایج بدست آمده در ارتباط با تاثیر پروتئین سویا بر افزایش قابلیت نگهداری آب و بهبود راندمان فرآورده‌های گوشتی مطابقت دارد [42]. رحمان و همکاران (2013) اثر کاهش مقدار چربی و جایگزینی نمک را بر بافت سوسیس بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که کاهش نمک و چربی به همراه اضافه کردن نمک‌های دو ظرفیتی باعث بهبود محصول شده و رطوبت و تخلخل محصول را افزایش می‌دهد [43]. در تحقیق دیگری، اثر دما و جایگزینی ایزوله پروتئین سویا بر خصوصیات رفتار جریان‌ی خمیر و ویژگی‌های کیفی ناگت مرغ سرخ شده به روش عمیق مورد بررسی قرار گرفت که گزارش نمودند استفاده از ایزوله پروتئین سویا سبب افزایش محتوای رطوبتی محصول می‌گردد [44]. در جدول 5، ضرایب رگرسیون مدل‌های چند جمله‌ای برای پاسخ‌های مختلف ارائه گردیده است.

#### 4- بهینه‌سازی فرمولاسیون

##### سوسیس ماهی حسون

**Table 6** Independent and dependent variables values for ohmic heating optimization.

Criteria	Goal	Lower	Upper	Importance
A=Salt(%)	Is in range	1	2	3
B=Soy Oil(%)	Is in range	6	12	3
C=Isolated Soy Protein(%)	Is in range	0.5	1.5	3
Total Plate Count(log CFU/g)	Minimize	2.4	3.3	3
pH	Is in range	6.58	6.73	3
Peroxide Value (mEq/Kg)	Minimize	2.53	4.25	3
Cooking Loss(%)	Minimize	5.03	8.41	3
WHC (%)	Maximize	42.6	71.14	3

**Table7** Solutions for process optimization.

Solutions Number	Independent Variables			Responses					Desirability
	Salt (%)	Soy Oil (%)	Isolated Soy Protein (%)	Total Plate Count (log CFU/g)	pH	Peroxide Value (mEq/Kg)	Cooking loss(%)	WHC (%)	
1	2.000	6.000	1.500	2.734	6.643	3.255	7.098	72.871	0.613
2	2.000	6.000	1.493	2.741	6.643	3.255	7.094	72.757	0.612
3	1.994	6.000	1.500	2.738	6.644	3.254	7.111	72.853	0.611
4	2.000	6.022	1.500	2.735	6.644	3.262	7.108	72.774	0.611
5	2.000	6.000	1.482	2.750	6.644	3.254	7.087	72.589	0.610
6	2.000	6.000	1.477	2.755	6.644	3.254	7.084	72.508	0.609
7	1.987	6.000	1.500	2.742	6.644	3.252	7.126	72.832	0.608

## 5- نتیجه گیری

نتایج این تحقیق حاکی از آن بودند که نمک کلرید پتاسیم نقش موثری در جلوگیری از افزایش بار میکروبی محصول داشته و ایزوله پروتئین سویا کمک شایانی بر حفظ رطوبت، افزایش ظرفیت نگهداری آب و کاهش افت پخت فرآورده تولیدی دارد. اثر متقابل روغن سویا و ایزوله پروتئین سویا تاثیر معنی داری بر روند تغییرات pH داشتند. افزایش درصد روغن سویا منجر به افزایش اندک pH و سپس کاهش مقدار آن گردید و افزایش ایزوله پروتئین سویا، منجر به کاهش معنی دار مقدار pH شد. همچنین افزایش درصد نمک و ایزوله پروتئین سویا فرمولاسیون سبب کاهش افت پخت محصول گردید. افزایش درصد روغن سویا، منجر به کاهش معنی دار و افزایش ایزوله پروتئین سویا سبب افزایش ظرفیت نگهداری محصول شد. اعمال درصد مناسب روغن سویا در فرمولاسیون سبب ممانعت از افزایش بیش از حد اندیس پراکسید و کمک به انجام مطلوب تر و تاثیرگذارتر عملیات حرارت دهی اهمیت می گردد. نتایج تحقیق با بکارگیری روش سطح پاسخ-طرح مرکب مرکزی نشان دادند که به منظور تولید سوسیس ماهی حسون با فرمولاسیون بهینه به روش حرارت دهی اهمیت، بایستی مقادیر نمک کلرید پتاسیم 2 درصد، روغن سویا 6 درصد و ایزوله پروتئین سویا 1/5 درصد در نظر گرفته شود تا بتوان بالاترین ظرفیت نگهداری آب، کمترین بار میکروبی و کمترین افت پخت و نیز پایین ترین عدد پراکسید با ارزش pH بهینه بدست آید و با در نظرگیری این فرمول با استفاده از روش نوین حرارت دهی اهمیت می توان محصولی با کیفیت و ایمن برای مصرف کننده تهیه نمود.

## 6- منابع

- and brushtooth lizardfish (*Saurida undosquamis*) during storage at  $-18^{\circ}\text{C}$ . *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 9(1) 111-126.
- [3] Fisheries Science Research Institute. (2015). Introducing the technical knowledge of producing 20 types of new food and medicine products from aquatic animals. National. Agricultural Research, Education and Extension Organization. Registration number 28-94K. [https://agrilib.areeo.ac.ir/book\\_4185.html](https://agrilib.areeo.ac.ir/book_4185.html)
- [4] Zhao, Z., Wang, Sh., Li, D & Zhou, Y (2020). Effect of xanthan gum on the quality of low sodium salted beef and property of myofibril proteins. *Food Science and Human Wellness*. S2213453020302093-. doi:10.1016/j.fshw.2020.09.003.
- [5] Rodrigues, I., Gonçalves, L.A., Carvalho, F.A.L., Pires, M., JP Rocha, Y., Barros, J.C; Carvalho, L.T; Trindade, M.A. (2019). Understanding salt reduction in fat-reduced hot dog sausages: Network structure, emulsion stability and consumer acceptance. *Food Science and Technology International* 108201321987267-. doi:10.1177/1082013219872677.
- [6] Luna, R., Hashem, M.A., Ali, M.S., Hossain, M.M., Talukder, M.A.K., Islam, M.S. (2013). Effect of Salt and Storage Temperature on Beef Sausage Quality. *Progressive Agriculture*, 23(1-2), 15-24. doi:10.3329/pa.v23i1-2.16561.
- [7] Pires, M. A; Munekata, P. E. S; Baldin, J. C; Rocha, Y. J. P; Carvalho, L. T; dos Santos, I.R; Barros, J.C; Trindade, M. A. (2017). The effect of sodium reduction on the microstructure, texture and sensory acceptance of Bologna sausage. *Food Structure*, S2213329116300466-. doi:10.1016/j.foostr.2017.05.002.
- [8] Kim, T.-K., Yong, H.-I., Jung, S., Kim, H.-W., & Choi, Y.-S. (2021). Technologies for the Production of Meat Products with a Low Sodium Chloride Content and Improved Quality Characteristics—A Review. *Foods*, 10(5), 957. doi:10.3390/foods10050957.
- [9] Gelabert, J., Gou, P., Guerrero, L & Arnau, J. (2003). Effect of sodium chloride replacement on some characteristics of fermented sausages. *Meat Science* 65, 833-839.
- [1] Kumar, I., Rajak, D., Kumar Jha, A & Sharma, P.D. (2014). Optimization of ohmic heating of fish using Response Surface Methodology. *International Journal of Food Engineering*. 10(3), 481-491.
- [2] Mahmoudzadeh M., Motallebi A.A., Hosseini H., Haratian P., Ahmadi H., Mohammadi M. & Khaksar R. (2010). Quality assessment of fish burgers from deep flounder (*Pseudorhombus elevatus*)

- on Quality. *Journal of Food Engineering*, 96, 481-490.
- [20] Patyukov, S & Pacinovski, N. (2015). Effect of traditional and ohmic heating on fat stability of pufa-fortified cooked sausages. *Macedonian Journal of Animal Science*, 5 (2) , 107-112.
- [21] Torkian Boldaji, M., Mohammdborghei, A.M, Beheshti, B, Hosseini, S.E (2014) The process of producing tomato paste by ohmic heating method. *Journal of Food Science Technology*. doi:10.1007/s13197-014-1424-5.
- [22] Shiby, K., Varghese, K., Pandey, M.C., Radhakrishna, K., Bawa technology, A.S.(2012). Application and modeling of ohmic heating: a review. *Journal of Food Science and Technology*.
- [23] Wang, R ., Farid, M.M. (2015). Corrosion and Health Aspects in Ohmic Cooking of Beef Meat Patties. *Journal of Food Engineering*, 146, 17-22.
- [24] Surasani, V. K. R., Raju, C. V., Shafiq, U., Chandra, M. V., & Lakshmisha, I. P. (2019). Influence of protein isolates from Pangas processing waste on physico-chemical, textural, rheological and sensory quality characteristics of fish sausages. *LWT*, 108662. doi:10.1016/j.lwt.2019.108662.
- [25] Gavahian, M., Tiwari, B.K., Chu, Y.H., Ting, Y. & Farahanaky, A. (2019). Food texture as affected by ohmic heating: Mechanisms involved, recent findings, benefits, and limitations. *Trends in Food Science & Technology*. 86, 328-339.
- [26] Rendon A SV, Ambrosio FA, Carrion HM, Llorca E, Hernando I, Quiles A and Diaz SI (2020) Pork meat prepared by different cooking methods. A microstructural, sensorial and physicochemical approach. *Meat Science* 163: 108089.
- [27] Moslemi, M., Hosseini, H., Khaksar, R., Taslimi, A., Khafshdouzan, KH., Shahraz, F. (2010). Effect of cooking and length of storage on the fatty acid composition and microbial, chemical, and sensory properties of 40%-beef products prepared with soybean. *Journal of nutrition sciences and food technology*, 5(16), 29-38.
- [28] Inmanee, P., Kamonpatana, P. & Piral, T. (2019). Ohmic heating effects on *Listeria monocytogenes* inactivation, and chemical, physical, and sensory
- [10] World Health Organization. 2012. Effect of increased potassium intake on blood pressure, renal function, blood lipids and other potential adverse effects. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
- [11] Cepanec, K., Vugrinec, S., Cvetković, T & Ranilović, J. (2017). Potassium Chloride-Based Salt Substitutes: A Critical Review with a Focus on the Patent Literature. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, doi:10.1111/1541-4337.12291.
- [12] Horita, C. N., Messias, V. C., Morgano, M. A., Hayakawa, F. M., & Pollonio, M. A. R. (2014). Textural, microstructural and sensory properties of reduced sodium frankfurter sausages containing mechanically deboned poultry meat and blends of chloride salts. *Food Research International*, 66, 29–35.
- [13] Corral, S., Salvador, A & Flores, M.(2013). Salt reduction in slow fermented sausages affects the generation of aroma active compounds. *Meat Science*, 93 (3), 776-785.
- [14] Malek, F, (2005). Frying fats and oils and frying technology. *Knowledge Boundary Publications* - pp 72.
- [15] Basiri, L., Sadeghi Mahoonak, A. R., Alami, M & Ghorbani, M. (2012). Effect of heat on functional properties of soybean flour. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*. 36(9).
- [16] Park, S-Y., Oh, T-S., Kim, G-W & Kim, H-Y. (2020). Quality properties of various dietary fibers as isolated soy protein (ISP) replacements in pork emulsion systems. *Journal of Animal Science Technology*. 62(1): 94–102. doi: 10.5187/jast.2020.62.1.94.
- [17] Naseri, A. R., Taslimi, A., Seyedin, S. M., Haratiyan, P., Abadi, A. R. (2009). Study of the effect of soy protein isolate on macaroni characteristics. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*. 6 (21) :1-11.
- [18] Kasapis, S. (2009). Developing minced fish products of improved eating quality: an interplay of instrumental and sensory texture. *International Journal of Food Properties*, 12(1), 11-26.
- [19] Bozkurt, H. & Icier, F. (2010). Ohmic Cooking of Ground Beef: Effects

- use of response surface methodology. *Journal of Food Hygiene*, 8(32),77-93.
- [37] Nazari, F., & Goli, M. (2017). The effect of replacing oil with water and NaCl with KCl on soybean oil hydrolysis and oxidation in canned skipjack tuna fish at the end of the 18-month shelf life. *Food Science and Biotechnology*, 26(1), 49–53. doi:10.1007/s10068-017-0007-4
- [38] Colmenero, F. J., Ayo, M. J & Carballo, J. (2005). Physicochemical properties of low sodium frankfurter with added walnut: effect of transglutaminase combined with caseinate, KCl and dietary fibre as salt replacers. *Meat Science*, 69(4), 781–788. doi:10.1016/j.meatsci.2004.11.011.
- [39] De Sousa, A. M. B., de Araujo Alves, R., Madeira, D. S. S., Santos, R. M., Pereira, A. L. F., de Oliveira Lemos, T., & Abreu, V. K. G. (2020). Storage of beef burgers containing fructooligosaccharides as fat replacer and potassium chloride as replacing sodium chloride. *Journal of Food Science and Technology*. doi:10.1007/s13197-020-04354-0 .
- [40] Guan, H., Feng, Ch., Xu, X., Sun, W., Han, J., Liu, D & Diao, X. (2022). Effect of high-pressure processing enzymatic hydrolysates of soy protein isolate on the quality characteristics and oxidation stability of emulsion sausage. *British Food Journal*. <https://doi.org/10.1108/bfj-04-2021-0357>.
- [41] Biswas, S., Chakraborty, A., Sarkar S., Barpuzari R. N. & Barpuzari T. (2007). Effect of incorporation of chicken fat and skin on the quality of chicken sausage. *The Journal of Poultry Science*, 44: 111-115.
- [42] Chin, KB., Keeton, JT., Longnecker, MT & Lamkey, JW. (2000). Utilization of soy protein isolate and konjac blends in low-fat bologna. *Meat Science*, 53: 87-96.
- [43] Rahman, A., Hosseini, S.E., Otadi, M.(2013). Effect of other salts (CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub> and KCl), Fat and Gellan Gum on Texture of sausage. *Innovation in food Science and technology*, 5, 1 (15),1 -11.
- [44] Mahdavian Mehr, H., Koocheki, A., Mohebbi, M. (2015). Effect of soy protein isolates concentration and batter temperature on flow properties of batter and quality of deep-fried chicken nugget. *Iranian Food Science and Technology*. 11, 5, 608-619.
- characteristic alterations for vacuum packaged sausage during post pasteurization. *LWT. Food Science & Technology*. 108, 183-189.
- [29] Pietrasik, Z & Li-Chan, E.C.Y.(2002). Response surface methodology study on the effects of salt, microbial transglutaminase and heating temperature on pork batter gel properties. *Food Research International*. 387-396.
- [30] Tian X, Wu W, Yu Q, Hou M, Jia F, Li X and Dai R (2016) Quality and proteome changes of beef *M. longissimus dorsi* cooked using a water bath and ohmic heating process. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 34: 259-266.
- [31] Marchetti, L., Andrés, S.C., Califano, A.N. (2014). Low-fat meat sausages with fish oil: optimization of milk proteins and carrageenan contents using response surface methodology. *Meat Science*. pp. 1297-1303.
- [32] Kim, G.-D., Hur, S. J., Park, T. S., & Jin, S.-K. (2018). Quality characteristics of fat-reduced emulsion-type pork sausage by partial substitution of sodium chloride with calcium chloride, potassium chloride and magnesium chloride. *LWT*, 89, 140–147. DOI:10.1016/j.lwt.2017.10.033.
- [33] Shahab-Lavasani, A. R., Ebrahimzadeh-Mousavi, M. A., Ehsani, M. R.(2008). The Effects of Partial Substitution of NaCl by KCl on Bacterial Total Counts, Mould, Yeast, Coliform, Acid Degree Value and Compositional Properties in UF White Cheese. *Quarterly Iranian Journal of food science and technology*, 5 (2).
- [34] Akesowan, A.(2008). Effect of soy protein isolate on quality of light pork sausages containing konjac flour. *African Journal of Biotechnology*. 7 (24), 4586-4590.
- [35] Arab, S. Z., Shabanpouri, B., Pourashuri, P., Rahmani Farah, K. (2017). Effects of different levels of fat and partial substitution of NaCl with KCl on quality and shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) sausage. *Journal of fishery science and technology*, 6(3).
- [36] Eghbalian Rad, M. Sari, A. A., Daraei Garmakhany, A.(2018). Thermal stability optimization of the Soybean oil affected by *Thymus daenensis* Celak essential oil by



## Modeling and Formulation Optimization of (*Saurida tumbil*) Greater Lizardfish Sausage Produced by Ohmic heating via response surface methodology (RSM)

Shabani, S.<sup>1</sup>, Hosseini, E.<sup>2\*</sup>, Asadi, G. H.<sup>3</sup>, Beheshti, B.<sup>4</sup>, Yousefi, Sh.<sup>3</sup>

1. Ph.D. Student of Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Professor of Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3. Assistant Professor of Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
4. Assistant Professor of Department of Biosystems Engineering, Science and Research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

### ABSTRACT

Nowadays, by converting the cheap and commercial low-valued fish into value-added products such as fish sausages, as well as the application of novel ohmic heating method to cook more uniform, faster compared to other thermal severe methods and with minimal processing can play an important role in producing a safe and nutritious product. Therefore, the purpose of this study is to investigate some microbial and chemical characteristics of (*Saurida tumbil*) greater lizardfish sausage heated by emerging ohmic heating method and formulation optimization was performed by response surface methodology -central composite design (RSM-CCD) by considering KCl (0.7- 2.3 %), Soy Oil ( 4-14 %) and Isolated Soy Protein (0.2-1.8%). Optimization of 20 fish sausage formulation produced by ohmic heating was done by response surface methodology using Design Expert software version 11 and the relationship between the independent variables and the five responses was investigated. KCl has been shown an inhibitory effect on samples total plate count level. The interaction effect of soybean oil and soy protein isolate had a significant effect on pH changes. Increasing soybean oil percentage caused a little increase and subsequently reduction of pH and increasing soy protein isolate led to a significant decrease in pH. Furthermore, higher amount of KCl and soy protein isolate reduced the amount of cooking loss. In addition increase of soy bean oil percentage caused reduction and increase of soy protein isolate lead to increase of water holding capacity. Based on the results of formulation optimization in fish sausages with formulations containing 2% potassium chloride, 6% soybean oil and 1.5% soy protein isolate can increase water holding capacity, the lowest microbial load and the lowest peroxide value, cooking loss and optimized pH.

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received 2021/ 12/ 20  
Accepted 2022/ 05/ 14

#### Keywords:

Greater lizardfish Sausage,  
Ohmic heating,  
KCl,  
Central composite Rotatable design (CCRD).

**DOI: 10.22034/FSCT.19.125.73**

**DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.13.2**

\*Corresponding Author E-Mail:  
ebhoseini@srbiau.ac.ir