

تأثیر فرایند حرارتی و مدت نگهداری بر ترکیب اسیدهای چرب، ویژگی‌های میکروبی، شیمیایی و حسی در فراورده‌های حاوی ۴۰ درصد گوشت قرمز تهیه شده از روغن‌های سویا و کانولا

معصومه مسلمی^۱، هدایت حسینی^۲، رامین خاکسار^۳، اقدس تسلیمی^۴، خاطره کفشدوزان^۵، فرزانه شهرآز^۶

- ۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
- ۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
- ۳- نویسنده مسئول: استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی پست الکترونیکی: r.khaksar@sbmu.ac.ir
- ۴- مربی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
- ۵- دستیار تخصصی میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
- ۶- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۰/۹

تاریخ دریافت: ۸۸/۸/۲۷

چکیده

سابقه و هدف: تاکنون درباره ترکیب اسیدهای چرب در فراورده‌های گوشتی و تأثیر عوامل مختلف بر آن در ایران مطالعه‌ای انجام نشده است. در مطالعه حاضر، اثر مدت نگهداری (۴۵ روز) و پخت اولیه (دمای ۷۲°C) بر پروفایل اسیدهای چرب ۲ نوع فراورده گوشت قرمز حرارت دیده تهیه شده با ۲ روغن سویا و کانولا مورد بررسی شد.

مواد و روش‌ها: فراورده‌ها در ۵ مرحله قبل از پخت، بعد از پخت (روز ۱)، روزهای ۱۵، ۳۰ و ۴۵ مورد آنالیز قرار گرفتند. ترکیب اسیدهای چرب در هر فراورده با استفاده از کروماتوگرافی گازی و آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای (FID) تعیین شد. برای ارزیابی پیشرفت فساد و روند تغییرات در محتوای چربی فراورده از آزمون‌های شیمیایی استفاده شد که عبارت بودند از: عدد پراکسید، محتوای اسیدهای چرب آزاد و عدد تیوباربتوریک اسید. به منظور بررسی نقش رشد میکروبی بر پیشرفت فساد، آزمون‌های میکروبی شامل شمارش کل میکروارگانیسم‌های سرماگرا و لاکتوباسیل روی فراورده‌ها انجام گرفت. برای مقایسه ۲ فراورده از نظر ویژگی‌های حسی، از آزمون ترجیح دوتایی در اواسط دوره استفاده شد.

یافته‌ها: تفاوت‌های مشاهده شده در بهر سویا در ابتدای دوره (روز ۱) در محتوای اسید لینولئیک، در روز ۱۵ در محتوای اسید پالمیتیک و در روز ۳۰ در محتوای اسید لینولئیک و همچنین در بهر کانولا در روز ۴۵ در محتوای ۴ اسید چرب پالمیتیک، استئاریک، لینولئیک و لینولنیک معنی‌دار بودند. به علاوه، اسید لینولئیک در بهر کانولا نیز در روز ۳۰ دچار افزایش معنی‌دار شد. از نظر رشد میکروبی، در فراورده حاوی روغن سویا تعداد میکروارگانیسم‌های کمتری شمارش شد؛ ولی نتایج آزمون‌های شیمیایی طی دوره، روند متفاوتی را در فراورده‌ها نشان داد. همچنین، بهر کانولا پذیرش حسی بیشتری نسبت به بهر سویا داشت.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج به دست آمده، فراورده حاوی روغن کانولا در انتهای دوره از نظر کیفیت و پایداری در مقابل عوامل فساد، شرایط مطلوب‌تری از خود نشان داد. بنابراین، با توجه به پذیرش حسی بیشتر بهر کانولا می‌توان در فراورده‌ها روغن سویا را که امروزه در بیشتر کارخانجات کشور استفاده می‌شود، با روغن کانولا جایگزین کرد.

واژگان کلیدی: فرایند حرارتی، مدت نگهداری، ترکیب اسیدهای چرب، فراورده‌های گوشت قرمز

• مقدمه

نحوه تولید آنها و مواد اولیه‌ای که در تولید از آنها استفاده می‌شود، از خود نشان می‌دهند (۱). علاوه بر فرایندهایی که پس از تولید توسط مصرف کننده روی این فراورده‌ها انجام می‌پذیرد، شرایط تولید، به ویژه فرایند پخت کارخانه و مدت

امروزه، فراورده‌های گوشتی حرارت دیده، به ویژه سوسیس‌ها، به علت مصرف روزافزونی که در جوامع بشری پیدا کرده‌اند، بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. همچنین، مصرف‌کنندگان علاقه رو به رشدی به کیفیت این فراورده‌ها،

تغذیه‌ای نیز برای برقراری ارتباط بین دو نوع فراورده انجام گرفت تا بتوان اطلاعات بیشتری درباره استفاده از هر یک از ۲ نوع روغن در فراورده‌ها به دست آورد. هدف از این تحقیق که در قالب پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی مصوب دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی طراحی شد، شناسایی تأثیر فرایند پخت و مدت زمان نگهداری بر ترکیب اسیدهای چرب در ۲ فراورده مذکور و مقایسه بین آنها بود. از آنجا که در بیشتر کارخانجات تولیدکننده در ایران از روغن سویا به عنوان ماده اولیه در فرمول استفاده می‌شود، در صورت دستیابی به نتایج قابل قبول می‌توان روغن سویا را در فراورده‌ها با روغن کانولا جایگزین کرد.

• مواد و روش‌ها

فرمول فراورده‌ها و آماده‌سازی آنها: دو بهر مختلف سوسیس با روغن‌های سویا و کانولا تولید شد. گوشت قرمز وارداتی از شرکت Bertin برزیل، نیتريت و فسفات وارداتی از کشور آلمان و به ترتیب از شرکت‌های BASF Aktiengesell و Schaft و Chemische Fabrika Budenheim و سایر مواد از کارخانجات داخلی تهیه شدند. گوشت قرمز مصرفی عموماً از ناحیه سردست انتخاب شد. ترکیب کامل فرمول فراورده‌ها در جدول ۱ آمده است. پس از مخلوط کردن کامل اجزای تشکیل دهنده، بخشی از فارش تهیه شده برای انجام آزمایشات مرحله قبل از پخت داخل فویل‌های استریل به آزمایشگاه انتقال داده شد و بقیه نمونه‌ها در پوشش‌های پلی‌آمیدی بسته‌بندی شد و پس از پخت در دمای 72°C به مدت ۲ ساعت تا زمان آزمایش در یخچال 3°C نگهداری شدند.

جدول ۱- فرمول فراورده‌های گوشتی ۴۰٪

مواد متشکله	٪
گوشت	۴۰
آب و یخ	۲۶/۰۱
روغن	۱۷/۳۳
نمک	۱/۶۳
فسفات	۰/۳۱
نیتريت	۰/۰۱۲
فلفل قرمز	۰/۲
گلوتن	۲/۷۱
آرد	۵/۲
پودر سیر	۰/۵۱
نشاسته	۴/۰۸
ایزوله پروتئینی	۲/۰۴
جمع کل	۱۰۰

زمانی که این فراورده‌ها پس از تولید نگهداری می‌شوند، اهمیت فراوانی دارد.

اکسیداسیون از جمله واکنش‌هایی است که در طول زمان نگهداری در لیپیدها و فراورده‌های حاوی لیپید به وقوع می‌پیوندد. میزان اکسیداسیون فراورده‌ها بسته به شرایط نگهداری، نوع اجزای تشکیل دهنده و میزان آنها به ویژه نوع روغن تغییر می‌کند (۲). با وجود حضور نیتريت که یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی بالقوه در بافت سوسیس‌هاست، توسعه واکنش‌های اکسیداتیو حین نگهداری یخچالی از عوامل مهم ایجاد فساد در آنهاست که تغییرات کیفی نامطلوبی را ایجاد خواهد کرد (۳). از آنجا که در تولید فراورده‌های گوشتی از روغن مایع استفاده می‌شود و این روغن‌ها حاوی مقادیری از انواع اسیدهای چرب غیراشباع هستند، وقوع واکنش‌های اکسیداتیو حین نگهداری یخچالی به این اسیدهای چرب غیراشباع که حساس به اکسیداسیون هستند، آسیب می‌رساند و سبب تغییراتی در بافت و رنگ فراورده خواهد شد (۴).

علاوه بر اکسیداسیون، لیپولیز نیز بر چربی بافت فراورده‌ها اثر گذاشته و آنها را دستخوش تغییرات نامطلوب می‌کند. از مهم‌ترین اسیدهای چربی که متحمل این تغییرات می‌شوند، انواع غیراشباع به ویژه گروه زنجیره ۱۸ کربنی هستند. در یک مطالعه، فعالیت لیپولیتیکی در فراورده‌های گوشتی عمل‌آوری شده خشک، بررسی و عوامل مؤثر در آن در ابتدای دوره نگهداری تعیین شد (۵). در تحقیقی که روی فراورده‌های گوشت قرمز انجام گرفت، میزان اسیدهای چرب تعیین و بررسی شد (۶). علاوه بر این، طی بررسی دیگری در یک دوره ۸۴ ساعته، ترکیب اسیدهای چرب و ترکیب لیپید در فراورده‌های گوشتی تخمیری مورد مطالعه قرار گرفت و درصد اسیدهای چرب به تفکیک تعیین شده و آزمون‌های شیمیایی نظیر پراکسید و اسیدهای چرب آزاد روی فراورده‌ها حین نگهداری و پیشرفت تخمیر انجام شد (۷).

در تحقیق حاضر که روی فراورده‌های گوشتی ۴۰ درصد تهیه شده با روغن‌های سویا و کانولا به عنوان روغن اضافه شده به فرمول انجام شد، ترکیب اسیدهای چرب در ۵ مرحله قبل از پخت کارخانه‌ای (روی فارش)، روز ۱ (بعد از پخت کارخانه‌ای) و روزهای ۱۵، ۳۰ و ۴۵ تعیین شد. در این مطالعه ۴۵ روزه، آزمون‌های شیمیایی، میکروبی و حسی نمونه‌ها انجام شد. علاوه بر همه این موارد، محاسبات

مدت ۷ تا ۱۰ روز قرار داده شدند (۱۱). کلیه آزمایش‌ها برای هر یک از نمونه‌ها ۳ بار تکرار شد.

شمارش لاکتوباسیل: در این آزمون از محیط کشت MRS آگار استفاده شد. در آزمون فشارش به منظور تلقیح محیط‌های کشت رقت ۰/۱ و در نمونه‌های حرارت دیده رقت ۰/۱ (که نحوه تهیه آن در بخش قبل توضیح داده شد) مورد استفاده قرار گرفتند. به علت میکروآتروفیل بودن لاکتوباسیل‌ها در این مرحله از کشت مخلوط استفاده شد. پس از تلقیح و انجماد محیط کشت، پلیت‌ها به جار بی‌هوازی منتقل شدند. همچنین به منظور اطمینان بیشتر از صحت نتایج در هر یک از جاره‌ها دو پلیت کنترل مثبت و کنترل منفی قرار داده شد (۱۲). همه آزمایش‌ها ۳ بار تکرار شدند.

آزمون‌های شیمیایی

عدد پراکسید: حدود ۵۰ گرم نمونه درون ارلن ۵۰۰ میلی‌لیتری توزین شد. برای استخراج چربی از بافت نمونه‌ها از کلروفرم به میزان ۲۰۰ ml در هر یک از ظروف استفاده شد. برای انجام عمل استخراج، ارلن‌ها روی شیکر به مدت ۲ ساعت تکان داده شدند. پس از اتمام ۲ ساعت محتوی داخل ارلن‌ها صاف شده و محلول زیر صافی به ارلن‌های "در سمباده‌ای" انتقال داده شد. سپس نمونه‌ها برای تبخیر حلال به تبخیرکننده چرخان منتقل شدند (۱۳). پس از تبخیر حلال، وزن روغن باقیمانده در ارلن تعیین شد.

به منظور اندازه‌گیری پراکسید طبق روش AOAC (سال ۲۰۰۵) روغن استخراجی در ۳۰ ml مخلوط اسید استیک-کلروفرم (۲:۳ حجمی/حجمی) حل شد به مخلوط حاصل ۵ ml ۰/۱ یدور پتاسیم اشباع، اضافه و مخلوط به مدت یک دقیقه به شدت تکان داده شد (۱۴). پس از یک دقیقه به مخلوط ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. پس از اختلاط کامل، مخلوط با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تا ظهور رنگ زرد روشن تیترا شد. سپس ۵ ml معرف نشاسته ۱٪ به مخلوط اضافه شد و رنگ مخلوط به آبی تیره تبدیل شد و عمل تیتراسیون تا حذف رنگ آبی و ظهور رنگ روشن ادامه داده شد. این آزمون در همه نمونه‌ها در ۳ تکرار انجام گرفت.

عدد TBA (تیوباربیتریک اسید): برای اندازه‌گیری TBA از روش Egan و همکاران (۱۹۸۱) استفاده شد (۱۳). ۱۰ گرم نمونه توزین و با ۵۰ ml آب مقطر مخلوط شد. مخلوط

ترکیب اسیدهای چرب: محتوای لیپید نمونه‌ها با استفاده از روش Folch و همکاران (۱۹۵۷) استخراج شد (۸). حدود ۲۰ گرم از نمونه خرد شده با ۵۰ ml میلی‌لیتر متانول مخلوط و به مدت ۳۰ تا ۴۰ دقیقه هم‌زده شد. سپس حدود ۴۰ ml هگزان به مخلوط قبلی اضافه و مخلوط جدید دوباره به مدت ۲۰ دقیقه هم‌زده شد. مخلوط به دست آمده مدتی در حال سکون قرار گرفت. سپس فاز روئی که هگزان حاوی لیپید استخراجی بود، از فاز متانولی جدا و برای فرایند متیلاسیون مورد استفاده قرار گرفت. استرهای متیل طبق روش ISO 5509 (سال ۲۰۰۰) با استفاده از پتاس متانولی ۲ مولار تهیه شدند (۹). استرهای متیل اسیدهای چرب به کمک کروماتوگرافی گازی Younglin ACME 6000 M (ساخت کشور کره)، همراه با آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای و ستون موئینه سیلیکونی Techno Kroma TR-CN 100 (60m×0.25mm×0.2μm) مورد آنالیز قرار گرفتند. دمای بخش‌های آشکارساز و تزریق‌کننده به ترتیب ۲۶۰ و ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و گاز حامل هیدروژن (۰/۲ مول بر لیتر) انتخاب شد. پس از تزریق ۱ میکرولیتر نمونه و نسبت جداسازی ۸۰:۱ دمای اولیه ستون به مدت ۵ دقیقه °C ۱۵۰ تعیین شد و سپس با نرخ °C ۵ در دقیقه تا °C ۱۷۵ افزایش یافت. پس از گذشت ۳ دقیقه، دوباره دما با نرخ °C ۳ در دقیقه تا °C ۱۹۰ افزایش یافت و به مدت ۱۵ دقیقه در این دمای نهایی قرار گرفت. استاندارد استرهای متیل اسیدهای چرب تحت همین شرایط به دستگاه تزریق شدند و پیک‌های حاصل از آنها برای تعیین اسیدهای چرب نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. اسیدهای چرب در هر مرحله به صورت درصد (نسبت به کل اسیدهای چرب) گزارش شدند.

آزمون‌های میکروبی

شمارش کلی میکروارگانیسم‌های سرماگرا: ۱۰ گرم از هر یک از نمونه‌ها در شرایط آسپتیک در ارلن‌های حاوی ۹۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل توزین شدند. سپس ۱ ml از رقت ۰/۱ تهیه شده به لوله‌های حاوی ۹ ml سرم فیزیولوژی استریل انتقال داده شد (۱۰). در مرحله بعد ۱ ml ۰/۱ از رقت‌های ۰/۱ و ۰/۰۱ به محیط کشت پلیت کانت آگار به صورت کشت سطحی تلقیح شدند. پس از پخش کامل نمونه در سطح محیط، پلیت‌ها به منظور رشد میکروبی همراه با پلیت شاهد در دمای یخچال (°C ۳+) به

انجام گرفت. برای تحلیل داده‌های حاصل از ارزیابی حسی، نتایج در قالب یک جدول متقاطع به صورت توصیفی ارائه شد. اختلاف بین داده‌ها در سطح $P < 0.05$ معنی‌دار بود.

• یافته‌ها

ترکیب اسیدهای چرب: مقادیر ۵ اسید چرب اصلی (پالمیتیک، استئاریک، اولئیک، لینولئیک و لینولنیک) که بیشترین درصد را بین سایر اسیدهای چرب تشکیل دادند در جدول ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، بیشترین درصد در فراورده حاوی روغن کانولا مربوط به اولئیک اسید و در فراورده حاوی روغن سویا مربوط به لینولئیک اسید است که تا انتهای دوره درصد آنها نسبت به سایر اسیدهای چرب همواره بیشتر بود. پس از حرارت‌دهی نیز (به استثنای لینولئیک اسید در بهر سویا) تنوع چندانی در درصد سایر اسیدهای چرب وجود نداشت. در طول نگهداری، تفاوت معنی‌دار در ۲ مرحله متوالی در بهر سویا شامل اسید پالمیتیک در روز ۱۵، اسید لینولئیک در روز ۱ (مرحله بعد از پخت) و اسید لینولنیک در روز ۳۰ و در بهر کانولا شامل اسیدهای پالمیتیک، استئاریک و لینولئیک در روز ۴۵ و اسید لینولنیک در روزهای ۳۰ و ۴۵ مشاهده شد.

جایگزینی روغن سویا با کانولا در سوسیس‌ها افزایش درصد اسیدهای چرب غیراشباع را به همراه داشت که تفاوت آنها در زمان‌های مختلف معنی‌دار بود؛ به طوری که افزایش درصد اولئیک اسید در فراورده‌های حاوی روغن کانولا نسبت به سویا رقم چشمگیری بود. از طرف دیگر، کمترین تفاوت مشاهده شده، بین دو بهر در میزان اسید لینولنیک بود که فقط در روزهای ۱۵ و ۴۵ معنی‌دار بود. در فراورده حاوی روغن کانولا پس از اولئیک اسید، روند کاهش در سایر اسیدهای چرب از این قرار بود: لینولئیک، پالمیتیک، لینولنیک و استئاریک اسید. در سوسیس حاوی روغن سویا بعد از لینولئیک اسید روند کاهش به ترتیب اولئیک، پالمیتیک، استئاریک و لینولنیک اسید بود. همان‌طور که در مقایسه ۲ نوع سوسیس مشاهده می‌شود، نسبت‌های $\omega 6/\omega 3$ و PUFA/SFA در سوسیس حاوی روغن کانولا به مقادیر توصیه شده (به ترتیب نسبت‌های ۲:۱ و ۱:۱) نزدیک‌تر بود با این استثنا که افزایش قابل توجهی در نسبت PUFA/SFA در روز ۴۵ نگهداری در سوسیس حاوی روغن کانولا مشاهده شد.

حاصل با ۴۷/۵ ml آب مقطر به ارلن‌های تقطیر انتقال داده شد. ۲/۵ ml اسید کلریدریک ۴ نرمال به همراه مواد ضد کف و ضد جوش به مخلوط، اضافه و ارلن‌مایر به دستگاه تقطیر وصل شد. مخلوط حرارت داده شد و ۵۰ ml از ماده تقطیر شده پس از زمان جوش از مخلوط جمع‌آوری شد. ۵ ml از ماده تقطیر شده و ۵ ml معرف TBA به لوله‌های "دردار" منتقل و پس از تکان دادن کامل به مدت دقیقاً ۳۵ دقیقه در آب جوش قرار داده شدند. همزمان تمامی این مراحل برای شاهد تکرار شد. نمونه‌ها پس از اینکه ۳۵ دقیقه در حرارت جوش قرار داشتند به مدت ۱۰ دقیقه سرد شده و دانسیته نوری آنها در سل‌های ۱ سانتی‌متری در مقابل شاهد در طول موج ۵۳۸ نانومتر خوانده شد.

TBA = دانسیته نوری $\times 7/8$ (میلی گرم مالون دی آلدئید در کیلوگرم)

اسیدهای چرب آزاد: روش استخراج روغن از نمونه‌ها و مراحل استخراج چربی در این روش مطابق روشی است که قبلاً شرح داده شد. برای تعیین اسیدهای چرب در روغن استخراجی، ۲۵ ml الکل خنثی را به روغن افزوده و اسیدهای چرب آزاد آن با محلول سود ۰/۱ نرمال در حضور فنل فتالئین تیترا شد (۱۳).

$$\frac{V \times 0.0282 \times 100}{W} = \text{اسیدهای چرب آزاد (بر حسب اسید اولئیک)}$$

V = حجم سود مصرفی

W = وزن نمونه (گرم)

ارزیابی حسی: به منظور مقایسه نمونه‌ها در ۲ بهر سویا و کانولا از آزمون ترجیح دوتایی استفاده شد (۱۵). نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در روغن سرخ شدند. سپس به هر یک از نمونه‌ها با استفاده از جدول اعداد تصادفی، کدهای سه رقمی اختصاص داده شد. در این بررسی ۶۷ نفر ارزیاب آموزش ندیده که از دانشجویان دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی بودند، نمونه‌ها را ارزیابی کردند. هر دو نمونه در ظروف کاملاً مشابه و با کدهای سه رقمی در اختیار ارزیاب‌ها قرار گرفت و از آنها خواسته شد که به نمونه بهتر حرف a و به نمونه بدتر حرف b را اختصاص دهند.

آنالیز آماری: برای بررسی تأثیر دما و زمان بر عوامل مختلف شیمیایی و میکروبی از یک مدل آنالیز واریانس ۲ عاملی با یک عامل تکرارشونده (Repeated measures) استفاده شد. مقایسه‌های دوگانه نیز با استفاده از تصحیح Bonferroni

ابتدای مطالعه افزایش نشان داد. در مقایسه ۲ بهر هیچ تفاوت معنی‌داری در میزان پراکسید مشاهده نشد.

در فراورده حاوی روغن کانولا تا روز ۱۵ کاهش معنی‌داری در TBA مشاهده شد. از طرف دیگر در فراورده حاوی روغن سویا عدد TBA در فواصل زمانی روزهای ۱ تا ۱۵ افزایش معنی‌داری نشان داد که پس از آن در روزهای ۳۰ و ۴۵ به ترتیب دچار کاهش و افزایش معنی‌دار شد. همچنین تفاوت TBA در ۲ بهر مورد بررسی به غیر از روز ۴۵ در تمام زمان‌ها معنی‌دار بود.

اسیدهای چرب آزاد: اندازه‌گیری اسیدهای چرب آزاد در ۲ نوع سوسیس فقط در طول زمان نگهداری (روز ۱ تا روز ۴۵) انجام گرفت. تغییرات اسیدیته در سوسیس‌ها در طول زمان و همچنین تغییرات بین ۲ نوع سوسیس کم بود؛ به طوری که هیچ تفاوت معنی‌داری در هر یک از ۲ بهر تا انتهای دوره وجود نداشت. تفاوت معنی‌دار اسیدهای چرب آزاد بین ۲ نوع سوسیس فقط در روز ۱۵ مشاهده شد. **ارزیابی حسی:** در ارزیابی حسی نمونه‌ها که در اواسط دوره انجام شد، از مجموع ۶۷ ارزیاب ۶۲٪ (۴۱ نفر) بهر کانولا و ۳۸٪ (۲۵ نفر) بهر سویا را ترجیح دادند.

رشد میکروبی: در شمارش باکتری‌های سرماگرا، در طول زمان تفاوت معنی‌داری در هیچ یک از ۲ بهر مشاهده نشد. تنها تفاوت بین ۲ بهر مورد بررسی در مرحله قبل از پخت بود که در بهر سویا بیشتر از بهر کانولا بود. همچنین، رشد سرماگراها به ویژه در روز ۳۰ در بهر سویا مقادیر بیشتری را شامل شد. شمارش لاکتوباسیل در بهر کانولا بین مراحل قبل از پخت و روز ۱ و روزهای ۳۰ و ۴۵ تفاوت معنی‌دار داشت. در بهر سویا نیز تفاوت در شمارش لاکتوباسیل به غیر از فاصله زمانی بین روزهای ۱ و ۱۵ در تمام مراحل دیگر معنی‌دار بود. لازم به ذکر است که ۲ بهر فقط در روزهای ۱ و ۱۵ با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نشان دادند.

اکسیداسیون لیپید: با وجود عدم تفاوت معنی‌دار پراکسید تا انتهای دوره در بهر کانولا، از مرحله قبل از پخت تا روز ۱ در پراکسید هر دو بهر افزایشی ایجاد شد که این تفاوت فقط در بهر سویا معنی‌دار بود. در ادامه مدت نگهداری در سوسیس حاوی روغن کانولا تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد؛ اما بیشترین میزان آن در روز ۱۵ بود و سپس رو به کاهش گذاشت. علاوه بر این، در مقادیر پراکسید بهر سویا نیز پس از روز اول نگهداری، تفاوت معنی‌داری بین ۲ مرحله متوالی وجود نداشت؛ اگرچه مقدار آن در انتهای دوره نسبت به

جدول ۲- محتوای اسیدهای چرب (بر حسب درصد) در فراورده‌های گوشتی پس از پخت و در طول ۴۵ روز نگهداری

بهر سویا					بهر کانولا					اسیدهای چرب
روز ۴۵	روز ۳۰	روز ۱۵	روز ۱	قبل از پخت	روز ۴۵	روز ۳۰	روز ۱۵	روز ۱	قبل از پخت	
^b ۱۴/۵۷±۰/۲۲	^b ۱۴/۰۲±۰/۵۲	^b ۱۵/۶±۰/۴۵	^a ۱۳/۵±۰/۰۴	^a ۱۳/۱±۰/۳۳	^b ۸/۱۶±۰/۰۵	^a ۱۰/۴۶±۰/۱۱	^a ۹/۹۹±۱/۰۱	^a ۱۱/۲۲±۰/۰۴	^a ۱۰/۲۷±۰/۵۱	۱۶۰
^a ۷/۴۹±۰/۲۸	^a ۷/۶۵±۰/۰۳	^a ۷/۷±۰/۱۴	^a ۸/۱۸±۰/۰۳	^a ۸/۱۳±۰/۱۴	^a ۳/۶۸±۰/۰۰۲	^b ۵/۵۱±۰/۱۱	^a ۵/۷۶±۰/۲۱	^a ۵/۹۶±۰/۰۱	^a ۶/۲۱±۰/۰۱	۱۸۰
^a ۲۹/۹۴±۰/۰۵	^a ۳۰/۴۶±۰/۵۲	^a ۳۰/۵۸±۰/۱۱	^a ۳۱/۱۲±۰/۰۳	^a ۳۰/۴±۰/۵۵	^a ۵۹/۰۷±۰/۲۳	^a ۵۹/۳۲±۰/۰۴	^a ۶۰/۹۴±۱/۱۲	^a ۵۸/۹۳±۱/۰۱	^a ۵۹/۳۵±۰/۷۳	۱۸۰
^b ۴۰/۶۴±۰/۰۴	^b ۴۰/۵۴±۰/۰۶	^b ۴۰/۱۱±۰/۱۳	^b ۴۰/۵۹±۰/۱۲	^a ۴۱/۲±۰/۰۶	^b ۲۱/۲۴±۰/۰۵	^a ۱۷/۳±۰/۰۱۲	^a ۱۷/۲۸±۰/۰۱	^a ۱۷/۳۸±۰/۰۱	^a ۱۷/۱۲±۰/۰۳	۱۸۰
^b ۷/۱۱±۰/۱۲	^b ۷/۵۹±۰/۴۸	^a ۶/۴۲±۰/۱۱	^a ۶/۵۲±۰/۱۸	^a ۶/۵۹±۰/۰۴	^d ۷/۹±۰/۰۲	^c ۷/۴±۰/۰۱۲	^b ۶/۰۳±۰/۰۰۳	^a ۶/۵±۰/۰۰۲	^a ۷/۰۴±۰/۰۰۱	۱۸۰
۵/۷۲	۵/۳۴	۶/۲۵	۶/۲۳	۶/۲۶	۲/۶۹	۲/۳۴	۲/۸۷	۲/۶۷	۲/۴۳	۵۶/۵۳
۲/۱۶	۲/۲۲	۲/۰۰	۲/۱۷	۲/۲۵	۲/۴۶	۱/۵۵	۱/۴۸	۱/۳۹	۱/۴۷	PUFA/SFA

حروف غیر یکسان در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در هر یک از اسیدهای چرب مربوط به هر بهر است.

جدول ۳- شمارش میکروارگانیسم‌ها (log cfu/g) در ۲ بهر فراورده گوشتی پس از پخت و در طول ۴۵ روز نگهداری

نوع آزمون	بهر	قبل از پخت	روز ۱	روز ۱۵	روز ۳۰	روز ۴۵
جمعیت کل سرماگرا	کانولا	^a ۲/۵۷±۰/۳۷	^a ۲/۱±۰/۴۶	^a ۲/۹۱±۰/۲۷	^a ۲/۷۲±۰/۰۷	^a ۲/۳۴±۰/۰۸
	سویا	^a ۴/۰۳±۰/۲۱	^a ۳/۴۳±۰/۱۶	^a ۲/۹۳±۰/۰۹	^a ۳/۱±۰/۰۸۱	^a ۳/۱۸±۰/۵۹
لاکتوباسیل‌ها	کانولا	^a ۳/۷±۰/۱۲	^b <۱	^b <۱	^b <۱	^a ۱/۶۸±۰/۰۸
	سویا	^a ۳/۰۳±۰/۲۴	^b ۱/۰۰±۰/۰۰	^b ۱/۱۵±۰/۱۵	^b <۱	^a ۲/۲۴±۰/۵۴

حروف غیر یکسان در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در هر یک از ۲ شمارش میکروبی مربوط به هر بهر است.

جدول ۴- آنالیز شیمیایی روغن اضافه شده به فرمول فراورده‌های گوشتی

نوع روغن	عدد پراکسید (meq/kg)	عدد تیوباربتوریک اسید (mg/kg)	اسیدهای چرب آزاد (g/100g)
کانولا	۱/۰۴±۰/۱۹	۲/۵۴±۰/۳۹	۰/۰۸۱±۰/۰۰۱
سویا	۱/۲±۰/۰۹	۳/۰۲±۰/۳۲	۰/۰۹۵±۰/۰۰۳

جدول ۵- آزمون‌های شیمیایی انجام گرفته در ۲ بهر فراورده گوشتی پس از پخت و در طول ۴۵ روز نگهداری

نوع آزمون	بهر	قبل از پخت	روز ۱	روز ۱۵	روز ۳۰	روز ۴۵
اسیدهای چرب آزاد (گرم در ۱۰۰ گرم)	کانولا	-	^a ۰/۲۳±۰/۰۳	^a ۰/۱۸±۰/۰۵	^a ۰/۲۴±۰/۰۰۴	^a ۰/۴۲±۰/۰۰۹
	سویا	-	^a ۰/۲۳±۰/۰۴	^a ۰/۲۳±۰/۰۰۸	^a ۰/۲۸±۰/۰۰۲	^a ۰/۳۱±۰/۰۰۱
پراکسید (میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم)	کانولا	^a ۲/۲±۰/۲۶	^a ۲/۷۲±۰/۶۲	^a ۳/۲۹±۰/۳۵	^a ۲/۴۶±۰/۴۸	^a ۲/۵۵±۰/۲۲
	سویا	^{ac} ۱/۹±۰/۴۲	^b ۳/۱۹±۰/۱۱	^{bc} ۲/۷۶±۰/۱۱	^{bc} ۳/۱۱±۰/۲۸	^{bc} ۳/۲۶±۰/۵۹
تیوباربتوریک اسید (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	کانولا	^a ۰/۵۵±۰/۰۲۳	^b ۰/۴۲±۰/۰۴۳	^c ۰/۲۵±۰/۰۱۶	^{bcd} ۰/۲۶±۰/۰۵۱	^{bd} ۰/۳۵±۰/۰۳۹
	سویا	^a ۰/۳۶±۰/۰۴۳	^a ۰/۲۱±۰/۰۰۴	^b ۰/۵۴±۰/۰۲۸	^c ۰/۱۳±۰/۰۳۱	^{ad} ۰/۳۸±۰/۰۶۸

حروف غیر یکسان در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در هر یک از آزمون‌های شیمیایی مربوط به هر بهر است.

• بحث

ترکیب اسیدهای چرب: نتایج حاصل از تعیین کمیت اسیدهای چرب در سوسیس حاوی روغن کانولا مطابق نتایج مطالعات *Pereira* و همکاران (۲۰۰۰) بود که انواع مختلف سوسیس‌های تهیه شده از گوشت‌های گوناگون را بررسی کرده بودند (۶). *Jeun-Horng* و همکاران (۲۰۰۲) در بررسی اسیدهای چرب فرانکفورترهای مرغ در طول نگهداری، اولئیک اسید را به عنوان اسید غالب تعیین کردند (۲۳).

درباره تأثیر حرارت بر تغییرات اسیدهای چرب *Weber* و همکاران (۲۰۰۸) اسیدهای چرب فیله‌های ماهی را پس از انواع روش‌های مختلف حرارتی تعیین کردند (۱۸). در مطالعه آنها ۳ روش جوشاندن، پختن و کباب پز کردن به میزان کمی بر محتوای اسیدهای چرب تأثیرگذار بود که این تأثیر فقط بر اسیدهای چرب کم‌مقدار بود. به طوری که ۵ اسید چرب غالب مذکور در مطالعه آنان تفاوت چندانی از خود نشان ندادند. آنان علت این تغییرات اندک پس از اعمال حرارت را از دست دادن آب بعد از فرایند بیان کردند. از آنجا که در مطالعه حاضر، سوسیس‌ها درون پوشش‌های

پلی‌آمیدی حرارت داده شدند، افت رطوبت در آنها به کمترین مقدار ممکن می‌رسد. در میان ۵ اسید چرب، کاهش معنی‌دار لینولئیک اسید در فراورده حاوی روغن کانولا به عنوان یک اسید چرب چند غیراشباعی، نقطه مثبتی است که باعث افزایش مقاومت به فساد اکسیداتیو را در فراورده‌های حاوی روغن کانولا می‌شود. در عین حال طبق برخی از مطالعات انجام گرفته، از میان اسیدهای چرب اشباع نقش اصلی در افزایش ریسک ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی را فقط ۳ اسید چرب ایفا می‌کنند که به ترتیب میریستیک، لوریک و پالمیتیک اسید هستند (۲۴). همان طور که بیان شد، به غیر از پالمیتیک اسید، مقدار ۲ اسید چرب دیگر در کل دوره در این مطالعه بسیار کم بود. به همین دلیل، از آنالیز و مطالعه آنها صرف‌نظر شد، ولی آنچه در اینجا اهمیت می‌یابد، پالمیتیک اسید است که میزان آن در سوسیس حاوی روغن کانولا به نسبت کمتر است.

هدف از محاسبات تغذیه‌ای دستیابی به یک نتیجه‌گیری منطقی درباره استفاده از این ۲ روغن در فراورده‌ها است. به این ترتیب، آنچه از دیدگاه تغذیه‌ای در بررسی اسیدهای

در اثر حرارت است. همچنین کاهش معنی دار TBA تا روز ۱۵ در فراورده حاوی روغن کانولا احتمالاً به دلیل واکنش آلدئیدهای موجود در بافت با پروتئین‌های موجود در فراورده است. علاوه بر این، معنی دار نبودن افزایش TBA در روز ۳۰ احتمالاً با میل ترکیبی مالون‌دی‌آلدئیدها با اجزای بافتی در ارتباط است که این رخداد از افزایش معنی دار TBA در طول زمان ممانعت به عمل می‌آورد. افزایش معنی دار TBA در روز ۱۵ در بهر سویا با کاهش پراکسیدهای همین زمان همراه بود که مؤید تجزیه فراورده‌های اکسیداسیون و تشکیل آلدئید در فراورده است. همچنین، در بهر سویا کاهش معنی دار TBA و افزایش جزئی پراکسید در فواصل زمانی روزهای ۱۵ تا ۳۰ نیز به ترتیب با واکنش مالون‌دی‌آلدئید با پروتئین‌های بافتی و گسترش اکسیداسیون در اثر مرور زمان مرتبط است. به علاوه، افزایش معنی دار TBA در انتهای دوره نیز می‌تواند نشانه‌ای از پیشرفت و ظهور علائم فساد و نزدیکی به اتمام زمان مصرف فراورده باشد.

Valencia و همکاران (۲۰۰۸) به ارزیابی کیفی سوسیس‌های خوک طی مدت نگهداری و پس از افزودن روغن ماهی پرداختند (۱۷). در مطالعه آنها اکسیداسیون لیپید پس از پخت نسبت به نمونه‌های خام افزایش یافت که به دلیل حرارت بالای پخت بود (200°C به مدت ۱۵ دقیقه) که نقش پرواکسیدانی ایفا می‌کرد. افزودن روغن ماهی به نمونه کنترل نیز افزایش اکسیداسیون را در پی داشت که به دلیل نوع اسیدهای چرب غیراشباع ماهی در مقایسه با اسیدهای چرب سوسیس خوک است. در بررسی فیله‌های ماهی توسط *Weber* و همکاران (۲۰۰۸) هیچ تفاوت معنی داری پس از انواع روش‌های پخت در پراکسید فراورده‌ها مشاهده نشد که با تفاوت معنی دار مشاهده شده در فراورده حاوی روغن سویا در مطالعه حاضر در تضاد است (۱۸). افزایش معنی دار پراکسید در فراورده حاوی روغن سویا در مطالعه حاضر ممکن است به دلیل زمان حرارت‌دهی باشد که حدود ۲ ساعت به طول انجامید. در این زمان طولانی امکان پیشرفت اکسیداسیون وجود دارد، در حالی که در مطالعه *Weber* زمان حرارت‌دهی کمتر از ۳۰ دقیقه بود. TBA نیز در مطالعه آنها پس از ۱۰ دقیقه تحمل حرارت حدود 76°C هیچ تفاوت معنی داری نشان نداد، ولی

چرب اهمیت دارد، نسبت‌های $06/03$ و PUFA/SFA است. طبق مطالعات انجام شده، مقادیر توصیه شده برای این نسبت‌ها به ترتیب حدود ۲:۱ و ۱:۱ است (۲۵). افزایش معنی دار مشاهده شده در نسبت PUFA/SFA در بهر کانولا و در روز ۴۵ به ترتیب ناشی از افزایش و کاهش معنی دار PUFA و SFA در نمونه بود. از این رو، می‌توان اظهار داشت که روغن کانولا می‌تواند جایگزین مناسبی برای روغن سویا باشد که امروزه در کارخانجات کشور بیشترین مصرف را دارد.

بنابراین، با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعه ۲ نوع سوسیس می‌توان این گونه ابراز داشت که بهترین زمان مصرف برای انواع مختلف سوسیس حدود ۱ ماه است. با اینکه در مجموع، سوسیس‌ها غذای مناسبی برای افراد مبتلا به ناراحتی‌های قلبی و لیپید و کلسترول بالا نیستند، اما در مقایسه، سوسیس تهیه شده با روغن کانولا می‌تواند جایگزین مناسب‌تری برای این افراد باشد.

رشد میکروبی: به منظور تأیید تأثیر رشد میکروارگانیسم‌ها و فراورده‌های حاصل از رشد (مثل پراکسید هیدروژن و آنزیم لیپاز) بر واکنش‌های اکسیداسیون و لیپولیز، آزمون‌های شمارش کلی سرماگراها و لاکتوباسیل در ۲ بهر انجام شد. با نگاهی به جدول ۵ مشاهده می‌شود که میزان اسیدهای چرب آزاد در بهر سویا به ویژه در روز ۳۰ به طور معنی دار بیشتر از بهر کانولا است. از آنجا که باکتری‌های سرماگرا حین رشد، آنزیم لیپاز تولید می‌کنند، می‌توان یکی از علل افزایش اسیدیته را در این مرحله به افزایش رشد این باکتری‌ها نسبت داد.

Thiravattanamontri و همکاران (۱۹۹۸) دریافتند که گروهی از میکروارگانیسم‌ها از جمله لاکتوباسیل‌ها ترکیبات مثل پراکسید هیدروژن تولید می‌کنند. این ترکیبات خودشان نقش پرواکسیدانی داشته و می‌توانند به عنوان محرکی برای سایر ترکیبات پرواکسیدان عمل کنند (۲۲). البته در مطالعه حاضر میزان تأثیر رشد لاکتوباسیل‌ها بر محتوای پراکسید فراورده‌ها در طول دوره ناچیز بود و با توجه به عدم رشد قابل تعیین در اواسط دوره می‌توان از نقش لاکتوباسیل‌ها در پیشرفت اکسیداسیون صرف نظر کرد. **اکسیداسیون لیپید:** افزایش پراکسید ۲ بهر پس از فرایند پخت، نشانه تشکیل هیدروپراکسید و پیشرفت اکسیداسیون

کاهش TBA در این مطالعه با نوع بافت و شرایط مخلوط کردن و آماده‌سازی فراورده ارتباط می‌یابد که شرایط مساعدتری برای واکنش فراهم می‌آورد. خرد و مخلوط کردن گوشت حین تولید سوسیس‌ها سبب افزایش سطوح تماس اکسیژن و افزایش TBA می‌شود (۱۹) که در اثر واکنش‌های بعدی میزان آنها کاهش می‌یابد.

تفاوت معنی‌دار پراکسید در ابتدای دوره در بهر سویا احتمالاً نشان‌دهنده پیشرفت سریع‌تر اکسیداسیون در این نوع نسبت به بهر کانولا است که عامل اصلی نوع اسیدهای چرب تشکیل دهنده آنهاست؛ زیرا درصد اسیدهای چرب مقاوم به اکسیداسیون بیشتر است. همچنین، پراکسید در روغن سویا بیشتر از روغن کانولا است (جدول ۵).

علت وقوع اکسیداسیون در فراورده‌های گوشتی حضور ترکیباتی مثل میوگلوبین و هسته هم است که در حضور فلزاتی مثل آهن به عنوان پرواکسیدان عمل می‌کنند و در حضور ترکیباتی مثل پراکسید هیدروژن فعال می‌شوند (۲۰). Martin و همکاران (۲۰۰۸) تغییرات TBA سوسیس‌های تهیه شده از چربی خوک را طی نگهداری ۷۱ روزه در دمای 24°C بررسی کردند (۲۱). در بررسی آنها TBA تا انتهای دوره ثابت باقی ماند که علت نوع اسیدهای چرب به کار رفته در تهیه نمونه‌ها بود. چربی خوک عمدتاً شامل پالمیتیک اسید است که پایداری اکسیداتیو آن بیشتر از اسیدهای چرب غیراشباع مثل گروه زنجیره ۱۸ کربنی است. اما در بررسی حاضر اسید پالمیتیک در مقایسه با سایر اسیدهای چرب درصد نسبتاً کمی از کل را تشکیل می‌داد و بالغ بر ۸۰ تا ۹۰ درصد کل اسیدهای چرب شامل انواع غیراشباع بود که حساسیت بیشتری به اکسیداسیون داشتند.

اسیدهای چرب آزاد: افزایش اسیدیته در فراورده‌های تولیدی به دلیل فعالیت هیدرولازهایی مانند لیپاز است. از آنجا که فعالیت آنزیمی به دمای مناسب نیاز دارد، نگهداری فراورده‌ها در دمای نسبتاً پایین ($+3^{\circ}\text{C}$) از فعالیت آن جلوگیری می‌کند. همچنین، بافت سوسیس به صورت امولسیون است که توسط پروتئین‌های میوفیبریلی ماهیچه

پایدار می‌شود. از این رو، دسترسی آنزیم به سوبسترای آن مشکل‌تر و احتمال تجزیه هیدرولیتیکی کمتر است. در مطالعه Hierro و همکاران (۱۹۹۷) اسیدهای چرب آزاد سوسیس‌های تخمیری مورد بررسی قرار گرفتند که میزان آن در نمونه کنترل (بدون تلقیح آغازگر) در انتهای دوره ۴۸ روزه رسیدن به $1/2$ گرم در ۱۰۰ گرم رسید (۱۶). طبق بررسی آنها فعالیت لیپازی بافت گوشت عامل افزایش اسیدیته در نمونه کنترل بود. همچنین، آنها با بررسی نمونه‌های تخمیری، آنزیم‌های اندوژن را به عنوان عامل اولیه لیپولیز در نمونه‌ها معرفی کردند و در انتهای مطالعه بیش از ۶۰٪ اسیدهای چرب آزاد تولید شده را به آنزیم‌های اندوژن نسبت دادند. البته، افزایش این میزان اسیدیته در نمونه کنترل در مقایسه با مطالعه حاضر به دلیل تفاوت‌های موجود در شرایط نگهداری از جمله دما است که در مطالعه آنها از دمای 12°C حین نگهداری استفاده شد.

تفاوت بین ۲ بهر در روز ۱۵ به دلیل کاهش اسیدیته در سوسیس حاوی روغن کانولا مشخص شد. علت این تفاوت، شاید اکسیداسیون بیشتر اسیدهای چرب آزاد می‌باشد که در این مرحله تشکیل می‌شوند. مطابق با سایر مطالعات انجام شده، میزان تشکیل اسیدهای چرب آزاد پس از مدتی رو به کاهش می‌گذارد که ناشی از حساسیت بیشتر آنها نسبت به تجزیه اکسیداتیو در مقایسه با شکل استری است (۵). Visessanguan و همکاران (۲۰۰۶) در بررسی سوسیس‌های تخمیری حین ۸۴ ساعت نگهداری، افزایشی را در محتوای اسیدهای چرب آزاد مشاهده کردند و علت آن را به فعالیت لیپولیتیکی آنزیم‌های ماهیچه‌ای و میکروبی نسبت دادند (۷). در مطالعه حاضر نیز که در بهر سویا و در روز ۳۰ افزایشی در میزان اسیدهای چرب آزاد رخ داد، رشد میکروبی رو به افزایش گذاشت. بنابراین، در مطالعه حاضر هم نمی‌توان نقش آنزیم‌های لیپاز میکروبی را در واکنش‌های لیپولیزی نادیده گرفت.

ارزیابی حسی: با مقایسه نتایج ارزیابی حسی می‌توان دریافت که بهر کانولا نه تنها پایداری بیشتری نسبت به بهر سویا، بلکه توانایی بیشتری هم در حفظ خواص حسی اولیه در طول زمان داشت.

سپاسگزاری

همچنین شرکت تجزیه کیمیا نوین/آزما به دلیل همکاری در تجزیه و تحلیل نتایج کروماتوگرافی گازی تشکر می‌شود

از مسئولان محترم/انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور به دلیل حمایت‌های مالی از این تحقیق و

References

1. Soriano A, Cruz B, Gomez L, Mariscal C, Garcia Ruiz A. Proteolysis, physicochemical characteristics and free fatty acid composition of dry sausages made with deer (*Cervus elaphus*) or wild boar (*Sus scrofa*) meat: a preliminary study. *Food Chem* 2006; 96 (2): 173-184.
2. DeMan JM. Principles of food chemistry. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers, Inc. 1999.
3. Estévez M, Ventanas J, Cava R, Puolanne E. Characterization of a traditional Finnish liver sausage and different types of Spanish liver pâtés: a comparative study. *Meat Sci* 2005; 71 (4): 657-669.
4. Estévez M, Cava R. Lipid and protein oxidation, release of iron from heme molecule and colour deterioration during refrigerated storage of liver pâté. *Meat Sci* 2004; 68 (4): 551-58.
5. Toldra F. Proteolysis and lipolysis in flavour development of dry-cured meat products. *Meat Sci* 1998; 49 Suppl 1: S101-10.
6. Pereira NR, Tarley CRT, Matsushita M, de Souza NE. Proximate composition and fatty acid profile in brazilian poultry sausages. *J Food Compos Anal* 2000; 13(6): 915-920.
7. Visessanguan W, Benjakul S, Riebroy S, Yarchai M, Tapingkae W. Changes in lipid composition and fatty acid profile of Nham: a Thai fermented pork sausage, during fermentation. *Food Chem* 2006; 94 (4): 580-88.
8. Folch J, Lees M, Stanley GHS. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 1957; 226: 497-509.
9. International Standard Organization. Animal and vegetable Fats and Oils, preparation of Methyl Esters of fatty acids. ISO no 5509. Switzerland: ISO; 2000.
10. International Standard Organization. Microbiology of food and animal feeding stuffs, preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination-- Part 1: general rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions. ISO no 6887-1 Switzerland ISO; 1999.
11. International Standard Organization. Microbiology of food and animal feeding stuffs-- horizontal method for the enumeration of psychrotrophic microorganisms. ISO no 17410. Switzerland: ISO; 2001.
12. Robinson RK, Batt CA, Patel PD, Knovel. Encyclopedia of food microbiology: San Diego Academic Press London; 2000.
13. Egan H, Kirk RS, Sawyer R. Pearson's chemical analysis of foods 1981. Churchill Livingstone.
14. AOAC. Official methods of analysis of association of official agriculture chemists. 18th ed. Washington: Gaithersburg; 2005.
15. Watts BM, Ylimaki GL, Jeffery LE, Elias LG. Basic sensory methods for food evaluation. Canada. Ottawa: International Development Research Center: 1989.
16. Hierro E, Hoz L de la, Ordonez JA. Contribution of microbial and meat endogenous enzymes to the lipolysis of dry fermented sausages. *J Agr Food Chem* 1997; 45 (8): 2989-95.
17. Valencia I, Grady MN, Ansorena D, Astiasaran I, Kerry JP. Enhancement of the nutritional status and quality of fresh pork sausages following the addition of linseed oil, fish oil and natural antioxidants. *Meat Sci* 2008; 80 (4): 1046-1054.
18. Weber J, Bochi VC, Ribeiro CP, Victorio ADM, Emanuelli T. Effect of different cooking methods on the oxidation, proximate and fatty acid composition of silver catfish (*Rhamdia quelen*) fillets. *Food Chem* 2008; 106 (1): 140-46.
19. Gray JI, Gomaa EA, Buckley DJ. Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Sci* 1996; 43: 111-23.
20. Harel S, Kanner J. Muscle membranal lipid peroxidation initiated by hydrogen peroxide-activated metmyoglobin. *J Agr Food Chem* 1985; 33 (6): 1188-92.
21. Martin D, Ruiz J, Kivikari R, Puolanne E. Partial replacement of pork fat by conjugated linoleic acid and/or olive oil in liver pâtés: effect on physicochemical characteristics and oxidative stability. *Meat Science* 2008; 80 (2): 496-504.

22. Thiravattanamontri P, Tanasupawat S, Noonpakdee W, Valyasevi R. Catalases of bacteria isolated from Thai fermented foods. *Food Biotechnol* 1998; 12(3): 221-38
23. Jeun-Horng L, Yuan-Hui L, Chun-Chin K. Effect of dietary fish oil on fatty acid composition, lipid oxidation and sensory property of chicken frankfurters during storage. *Meat Sci* 2002; 60 (2): 161-167.
24. Mahan LK, Escott-Stump S. Krause's food, nutrition, & diet therapy. Philadelphia: Saunders Philadelphia; 2008
25. Shils ME, Shike M. Modern nutrition in health and disease. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.