

کلاژن و اندیس های وابسته شاخص های کمی باارزش در کنترل کیفیت فرآورده های گوشت قرمز حرارت دیده (سوسیس و کالباس) ایران

هدایت حسینی^{۱*}، نوردهر رکنی^۲، ابوالفضل کامکار^۲

۱-اداره کل آزمایشگاههای کنترل غذا و دارو وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، انستیتو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور
۲-دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی

چکیده

فرآورده های گوشتی حرارت دیده که شامل انواع سوسیس و کالباس می باشند یکی از پر مصرفترین محصولات گوشتی در ایران بوده و روز به روز مصرف این نوع فرآورده ها رو به افزایش است. با توجه به اهمیت تشخیص استفاده از بافتهای حیوانی غیر مجاز خوراکی در کنترل کیفیت فرآورده های گوشتی حرارت دیده در این مطالعه تعداد ۱۵۰ نمونه فرآورده گوشت قرمز حرارت دیده در ۵ گروه تعریف شده برای فرآورده های گوشتی ایران، بر اساس درصد گوشت بکار رفته د تولید آنها با استفاده از مواد اولیه مطلوب و در شرایط خوب ساخت^۱ GMP تهیه گردید. در آزمایشگاه میزان هیدروکسی پرولین و پروتئین تام نمونه ها اندازه گیری گردید و بر اساس نتایج بدست آمده میزان کلاژن، پروتئین عاری از کلاژن^۲ و اندیس های نسبت کلاژن به پروتئین تام و نسبت کلاژن به پروتئین عاری از کلاژن محاسبه گردید که نتایج حاصل برای هرگروه از فرآورده های گوشتی حرارت دیده می تواند بعنوان یک شاخص کمی کنترل کیفیت، از نظر استفاده از بافتهای غیر مجاز حیوانی مورد استفاده قرار گیرد.

کلید واژگان: هیدروکسی پرولین، کلاژن، پروتئین عاری از کلاژن، بافت پیوندی، فرآورده گوشتی حرارت دیده

۱- مقدمه

در ایران برای تولید فرآورده های گوشتی حرارت دیده علاوه بر گوشت از ترکیبات دیگری مانند روغن مایع، خرده یخ، آرد گندم، شیرخشک، سویا (فقط در فرآورده های حاوی ۴۰ درصد گوشت) نشاسته، تخم مرغ، کازئین، گلوتن و افزودنیهای دیگر مانند نیتريت و نترات، نمک و انواع ادویه جات استفاده می شود. نوع و مقدار استفاده

فرآورده های گوشتی حرارت دیده که شامل انواع سوسیس و کالباس می باشند یکی از پر مصرفترین محصولات گوشتی در ایران بوده و روز به روز مصرف این نوع فرآورده ها رو به افزایش است که این امر اهمیت کنترل و تعیین ارزش تغذیه ای پروتئین های این محصولات را بیشتر مشخص می کند [۱]

* مسئول مکاتبات: hosseiny@hbi.ir

1. Good Manufacturing Practices
2. Free collagen Protein nitrogen

مناسب تولید گردید و پس از تولید در ظروف در بسته مخصوص حمل نمونه در دمای $4-2^{\circ}\text{C}$ به آزمایشگاه منتقل گردید. و در آزمایشگاه در یخچال در دمای $1 \pm 2^{\circ}\text{C}$ نگهداری شد و حداکثر چهار روز پس از تولید مورد آزمون قرار گرفت.

فراورده های تولید شده پس از آماده سازی اولیه از نظر میزان هیدروکسی پرولین به روش کلریمتری و میزان پروتئین تام به روش ماکروکلدال بر اساس AOAC2000 مورد آزمون قرار گرفتند و در مورد هر نمونه میزان هیدروکسی پرولین، کلاژن، پروتئین عاری از کلاژن FCP و نسبت کلاژن به پروتئین تام و نسبت کلاژن به پروتئین عاری از کلاژن تعیین گردید.

در این بررسی ۲۰۰ گرم از نمونه به قطعات ریز بریده شد و بوسیله چرخ گوشت که قطر سوراخ آن ۳ میلی لیتر بود چرخ گردید و مخلوط شد و نهایتاً در داخل یک هموژنایزر کاملاً همگن گردید.

برای تعیین میزان هیدروکسی پرولین ۴ گرم از نمونه بصورت دو تایی با دقت ۰/۰۰۱ گرم برداشته شد و بدون آنکه به دیواره ارلن مایر بچسبد بداخل یک ارلن مایر ۱۰۰ سی سی منتقل گردید در مرحله بعد ۳۵ میلی لیتر اسید سولفوریک ۷ نرمال روی محتویات داخل ارلن مایر اضافه گردید و با یک شیشه ساعت روی آن پوشانیده شد و داخل فور الکتریکی با دمای 1 ± 105 درجه سانتی گراد بمدت ۱۶ ساعت قرار داده شد. پس از این مدت محتویات داخل ارلن مایر بصورت گرم بداخل بالن منتقل و با آب مقطر به حجم ۵۰۰ میلی لیتر رسانیده شد. در مرحله بعد به کمک کاغذ صافی محتویات داخل بالن صاف گردید. از مایع صاف شده به مقدار ۵ میلی لیتر برداشته شد و به داخل یک بالن ژوژه ۱۰۰ میلی لیتر منتقل گردید و به کمک آب مقطر به حجم رسانیده شد. در مرحله بعدی مقدار ۲ میلی لیتر از رقت بدست آمده را در لوله آزمایش ریخته به آن یک میلی لیتر کلرامین T (۱/۴ درصد) اضافه شد و پس از مخلوط کردن بمدت ۲۲-۱۸ دقیقه در دمای اطاق نگهداری گردید و بالاخره یک میلی لیتر معرف رنگی ۴-دی متیل آمینوبنزالدئید^۱ به آن اضافه شد و پس از مخلوط کردن، در لوله را با فویل پلاستیکی بسته و بلافاصله در بن ماری $60 \pm 0/5^{\circ}\text{C}$ بمدت ۱۵ دقیقه قرارداده شد و زیر شیر آب سرد بمدت ۳ دقیقه خنک گردید.

از این ترکیبات برای تولید فرآورده های گوشتی بر اساس فرمول پروانه ساخت وزارت بهداشت و استانداردهای ملی ایران است [۳و۲].

فراورده های گوشتی حرارت دیده درایران بر اساس درصد گوشت بکار رفته در فرمول ساخت آنها به ۵ گروه فراورده های گوشتی با ۴۰ درصد گوشت، ۶۰-۵۵ درصد گوشت، ۷۰ درصد، ۸۰ درصد و ۹۰ درصد گوشت تقسیم می شوند که هر گروه با توجه به فرمول ساخت مربوطه دارای ویژگیهای شیمیایی خاص خود می باشند. از آنجا که گوشت از مهمترین اجزاء تشکیل دهنده این فراورده ها است، تعیین مقدار گوشت بکار رفته و تعیین کیفیت آن از اهمیت زیادی برخوردار است [۲].

از طرفی بدلیل آنکه گوشت گران ترین جزء تشکیل دهنده این فرآورده هاست امکان تقلب و جایگزینی گوشت با بافتهای غیر مجاز حیوانی مانند پستان، طحال، اندامهای داخلی حفره شکم دام، سنگدان مرغ و غیره وجود دارد. تحقیقات هم استفاده از بافتهای غیر مجاز در تولید فراورده های گوشتی را تائید می نماید [۶و۴].

بافتهای غیر مجاز حیوانی حاوی پروتئینهای با ارزش تغذیه ای پائین هستند و در مقایسه با عضلات دارای بار میکربی بالاتر بوده و حتی در انتقال عوامل عفونی نظیر سالمونلا و اشرشیا کلی می توانند نقش داشته باشند و مصرف بعضی از آنها مانند طحال از نظر دینی حرام است به همین دلیل تا کنون تلاشها و بررسیهای زیادی در جهت شناسایی این بافتها غیر مجاز در دنیا صورت گرفته است [۱].

امروزه عمدتاً از روشهای شیمیایی و بافت شناسی جهت تعیین میزان بافتهای غیر مجاز حیوانی و تعیین کیفیت تغذیه ای فراورده های گوشتی استفاده می شود. آنالیز شیمیایی که در کنترل کیفیت معمول فراورده های گوشتی بکار میرود مانند اندازه گیری میزان پروتئین، چربی، کربوهیدرات رطوبت و خاکستر استفاده از بافتهای غیر مجاز حیوانی در تولید فراورده را مشخص نمی نماید [۳].

۲- مواد و روش کار

در این مطالعه ۱۵۰ نمونه فراورده گوشت قرمز حرارت دیده در شرایط خوب تولید با گوشت گاوهای بین ۶-۲ سال و مواد اولیه

1. 4- Dimethylaminobenzaldehyde

متصل گردید و پس از اضافه کردن حدود ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر و ۲۵ میلی لیتر سود ۴۰٪ محتویات لوله بمدت ۱۰ دقیقه تقطیر شد و گاز آمونیاک حاصل از طریق مبرد، در یک ارلن مایر ۵۰۰ میلی لیتری حاوی ۵۰ میلی لیتر اسید بوریک به علاوه چند قطره معرف متیل رد جمع آوری گردید. سپس محتوی ارلن مایر را توسط سود ۰/۱ نرمال تیترا نمودیم و از روی میزان سود مصرفی میزان پروتئین تام بر اساس فرمول شماره ۳ محاسبه شد [۸].

$$TP = \frac{(v1-v2)N \times 6.25}{M} \times 100$$

فرمول شماره ۳

TP = پروتئین تام برحسب گرم درصد

v1 = مقدار سود ۰/۱ نرمال مصرفی جهت تیتراسیون شاهد

v2 = مقدار سود ۰/۱ نرمال مصرفی جهت تیتراسیون نمونه

N = میلی اکی والان ازت که برابر ۱۴/۰۰ است

M = وزن نمونه برداشتی

میزان ازت حاصل از کلاژن^۱ با در نظر گرفتن ضریب پروتئینی ۱/۲۸ برای هیدروکسی پرولین تعیین گردید که با ضرب کردن این ضریب در میزان هیدروکسی پرولین محصول میزان ازت حاصل از کلاژن محصول بدست آمد [۹ و ۱۰].

$$\text{Collagen Nitrogen (C.N)} = \text{HYP} \times 1.28$$

فرمول شماره ۴

میزان ازت پروتئینی عاری از کلاژن^۲ با تفریق میزان ازت حاصل از کلاژن محصول از میزان ازت تام محصول، بدست آمد [۱۰].

$$\text{Total Nitrogen (T.N)} - \text{Collagen Nitrogen (C.N)} \\ = \text{Free collagen Protein nitrogen (F.C.P.N)}$$

فرمول شماره ۵

علاوه بر لوله نمونه دو لوله شاهد که تفاوت آنها با نمونه اصل جایگزینی ۲ میلی لیتر آب مقطر بجای ۲ میلی لیتر نمونه بود در نظر گرفته شد و در لوله های استاندارد برای تهیه منحنی کالیبراسیون ۲ میلی لیتر از محلول کار استاندارد هیدروکسی پرولین با غلظتهای ۰/۶، ۱/۲، ۱/۸، ۲/۴ میکرو گرم هیدروکسی پرولین در هر میلی لیتر بجای ۲ میلی لیتر نمونه استفاده شد. در نهایت جذب نوری محلول رنگی (قرمز - ارغوانی) داخل همه لوله ها در طول موج 558 ± 2 نانومتر بوسیله اسپکتر و فتومتر Shimadzu A-110 قرائت گردید و پس از رسم منحنی کالیبراسیون، جذب نوری نمونه ها قرائت گردید و غلظت آنها با استفاده از فرمول شماره ۱ تعیین گردید.

$$H = 2.5 \frac{h}{mv}$$

فرمول شماره ۱

H = میزان هیدروکسی پرولین (بر حسب درصد گرم)

h = میزان هیدروکسی پرولین برحسب میکروگرم در ۲ میلی لیتر محلول صاف شده

m = وزن نمونه برداشته شده برای آنالیز

v = حجم محلول صاف شده برداشته برای تهیه رقت تا ۱۰۰

میلی لیتر در مرحله هیدرولیز

با توجه به آنکه حدوداً ۱۲/۵ درصد ساختمان پروتئین کلاژن را اسید آمینه هیدروکسی پرولین تشکیل می دهد طبق فرمول شماره ۲ میزان کلاژن محصول برحسب گرم درصد گرم نمونه محاسبه شد [۷ و ۸].

$$\text{Collagen (g/100 gr)} = H \times 7.8$$

فرمول شماره ۲

برای اندازه گیری پروتئین بروش ماکروکدال ۲ گرم از نمونه آماده شده و هموژن شده با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن گردید و در لوله های مخصوص هضم پروتئین دستگاه هضم و تقطیر Buchi 321 قرار داده شد و یک گرم سولفات مس و ۱۰ گرم سولفات پتاسیم و تعدادی پرل شیشه ای به لوله اضافه گردید و روی آن ۲۵ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ اضافه شد و تا انجام هضم کامل از حرارت مستقیم اجاق الکتریکی دستگاه استفاده گردید. پس از سرد شدن لوله به سیستم تقطیر دستگاه

1. Collagen Nitrogen (C.N)

2. Free collagen Protein nitrogen (F.C.P.N)

SPSS و با استفاده از تست آماری آنالیز واریانس یکطرفه و تست تکمیلی SCHEFFE مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

۳- نتایج

ویژگیهای شیمیایی ۱۵۰ نمونه تولید شده بر اساس فرمول تعریف شده پروانه های بهداشتی و شرایط خوب تولید از نظر میزان هیدروکسی پرولین، کلاژن، پروتئین عاری از کلاژن و نسبت کلاژن به پروتئین تام و نسبت کلاژن به پروتئین عاری از کلاژن که اندیس های کیفیت تغذیه ای پروتئین محصول است به شرح جدول شماره ۱ تعیین گردید.

به منظور حصول اطمینان از نتایج آزمایشات انجام شده همزمان نمونه FAPAS سری ۱۹ تعیین مقدار شده از نظر پروتئین و هیدروکسی پرولین توسط آزمایشگاه مرکزی انگلستان CLS مورد آزمون قرار گرفت که نتایج حاصل دقت خوب نتایج حاصل از آزمایشات را نشان داد بطوریکه Z^2 آزمون پروتئین برابر ۰/۲ و Z^2 آزمون هیدروکسی پرولین برابر ۱/۱ بود. لازم به ذکر است Z^2 در محدوده ± 2 نشان دهنده این است که آزمون از دقت و صحت مناسب برخوردار بوده است. نتایج بدست آمده از آزمونهای انجام شده توسط نرم افزار کامپیوتری

جدول ۱ میزان هیدروکسی پرولین، کلاژن، پروتئین، پروتئین عاری از کلاژن و نسبت کلاژن به پروتئین تام و نسبت کلاژن به پروتئین عاری از کلاژن نمونه های فرآورده گوشتی مورد آزمون (Mean \pm SD)

گروه فرآورده برحسب درصد گوشت	گروه فرآورده برحسب فاکتور شیمیایی	۰/۴۰٪ گوشت	۰/۵۵-۶۰٪ گوشت	۰/۷۰٪ گوشت	۰/۸۰٪ گوشت	۰/۹۰٪ گوشت
		N=۳۰×۲	N=۳۰×۲	N=۳۰×۲	N=۳۰×۲	N=۳۰×۲
هیدروکسی پرولین		۰/۱۴±۰/۲۰	۰/۱۹±۰/۰۴	۰/۲۰±۰/۰۳	۰/۲۲±۰/۰۳	۰/۲۳±۰/۰۳
کلاژن		۱/۱۳±۰/۲۴	۱/۴۹±۰/۲۹	۱/۶۴±۰/۲۲	۱/۷۶±۰/۲	۱/۸۱±۰/۲۳
پروتئین تام		۹/۸۵±۰/۸۱	۱۲/۸۸±۰/۵۴	۱۳/۶۶±۰/۹۷	۱۴/۲۰±۰/۶۹	۱۶/۷۸±۱/۱۳
ازت کلاژنی		۰/۱۸±۰/۰۳	۰/۲۴±۰/۰۵	۰/۲۶±۰/۰۳	۰/۲۸±۰/۰۳	۰/۲۹±۰/۰۴
نیترژن پروتئین عاری از کلاژن		۱/۴۰±۰/۱۱	۱/۸۲±۰/۱۳	۱/۸۹±۰/۰۵	۱/۹۹±۰/۱	۲/۴۰±۰/۰۷
پروتئین عاری از کلاژن		۸/۷۰±۰/۶۹	۱۱/۴۷±۰/۷۸	۱۲/۰۲±۰/۳	۱۲/۴۴±۰/۶	۱۴/۹۷±۰/۴۶
نسبت کلاژن به پروتئین تام		۰/۱۲±۰/۰۲	۰/۱۱±۰/۰۲	۰/۱۲±۰/۰۱	۰/۱۲±۰/۰۲	۰/۱۱±۰/۰۱
نسبت کلاژن به پروتئین عاری از کلاژن		۰/۱۳±۰/۰۲	۰/۱۳±۰/۰۳	۰/۱۴±۰/۰۲	۰/۱۴±۰/۰۲	۰/۱۲±۰/۰۱

تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد احتمال استفاده از اندام‌های غیرمجاز در تهیه فرآورده‌های گوشتی وجود دارد. Julini و همکاران در سالهای ۱۹۷۹ و ۱۹۸۲ وجود بافتهای غیر مجاز حیوانی نظیر ریه، پستان، استخوان، عصب و غضروف و گنجاندن امعاء و احشاء، عقده‌های لنفاوی، طحال و دستگاه ادراری در فرآورده‌های گوشتی مانند سوسیس را گزارش نمودند [۴]. همچنین Huffman و Cordary در سال ۱۹۸۲ وجود اندامهایی مانند کبد و قلب را در فرآورده‌های گوشتی مورد شناسایی قرار دادند [۵].

رکنی و همکاران در سال ۱۳۷۷ طی تحقیقاتی که انجام دادند وجود بافت غدد بزاقی و لیگامانت پس سری در کالباس‌های حرارت دیده رایج در بازار فرآورده‌های گوشتی ایران را گزارش نمودند [۶].

بدلیل آنکه مقادیر فاکتورهای شیمیایی مانند پروتئین تام، کربوهیدرات، رطوبت، چربی و خاکستر، در بافتهای غیرمجاز حیوانی مشابه گوشت می‌باشد، آزمونهای روتین کنترل کیفیت که در استاندارد ملی ایران به شماره ۲۳۰۳ برای کنترل کیفیت فرآورده‌های گوشتی حرارت دیده به آنها اشاره شده است. امکان شناسایی بافتهای غیر مجاز حیوانی در فرآورده‌های گوشتی را فراهم نمی‌نماید. لذا استفاده از آزمونهای تکمیلی و آزمایشات علمی تر بمنظور کنترل کیفیت دقیق تر محصولات گوشتی ضروری بنظر می‌رسد [۱۱ و ۱۰]. بافتهای غیر مجاز حیوانی دارای ارزش تغذیه‌ای پائین تری نسبت به گوشت می‌باشند [۱۲]. بطوریکه اندیس اسیدهای آمینه ضروری EAA که نشان دهنده ارزش غذایی پروتئین یک ماده خوراکی است برای پروتئین بافت ماهیچه‌ای بطور متوسط ۸۸ و برای پروتئین بافت پیوندی ۳۰ می‌باشد و بافتهای غیرمجاز حیوانی بدلیل بالا بودن میزان بافت پیوندی و کلاژن در آنها ارزش غذایی پائین تری نسبت به ماهیچه دارند [۱۳ و ۳].

ارزش غذایی گوشتهایی که دارای هیدروکسی پرولین بیشتری هستند در مقایسه با گوشتهایی که هیدروکسی پرولین کمتری دارند پائین تر است و برعکس پائین بودن میزان هیدروکسی پرولین باعث افزایش ارزش غذایی گوشت می‌شود، بنابراین اندازه گیری میزان هیدروکسی پرولین می‌تواند روش مناسبی برای تعیین کیفیت پروتئین فرآورده‌های گوشتی باشد [۱۵ و ۱۴].

نتایج حاصل از آزمون‌های شیمیایی روی گروه‌های مختلف نمونه‌های تولید شده توسط تست‌های آماری تجزیه و تحلیل گردید و نتایج زیر حاصل شد:

بین میزان هیدروکسی پرولین و کلاژن گروه فرآورده‌های گوشتی حاوی ۴۰٪ گوشت قرمز با بقیه گروهها اختلاف معنی داری وجود داشت ($P < 0/05$). بین میزان هیدروکسی پرولین و کلاژن گروههای ۶۰ و ۵۵ درصد گوشت و ۷۰ درصد گوشت اختلاف معنی دار وجود نداشت ($p > 0/05$). همچنین بین میزان هیدروکسی پرولین و کلاژن گروه‌های حاوی ۸۰ درصد گوشت و ۹۰ درصد گوشت اختلاف معنی دار مشاهده نگردید ($p > 0/05$) علاوه بر آن میزان پروتئین تام گروههای مختلف فرآورده‌های گوشتی دارای اختلاف آماری معنی داری بودند ($p < 0/05$)

بنابراین در گروه ۴۰ درصد گوشت قرمز میزان کلاژن بین $1/13 \pm 0/236$ در محصول نشانگر استفاده از مواد اولیه مناسب و شرایط خوب ساخت است. در گروه فرآورده‌هایی که بین ۵۵ تا ۷۰ درصد گوشت قرمز دارند با توجه به نتایج آزمونهای آماری، میزان کلاژن در محدوده بین $1/56 \pm 0/249$ و در گروه محصولات حاوی ۸۰ تا ۹۰ درصد گوشت قرمز در صورتیکه کلاژن بین $1/79 \pm 0/228$ باشد دلیل بر رعایت فرمولاسیون مناسب و استفاده از مواد اولیه مطلوب در تولید فرآورده‌های گوشتی است.

۴- بحث

استفاده از بافتهای غیر مجاز حیوانی مانند ریه، پستان، اندامهای درونی حفره شکم دام و سنگدان مرغ در تولید فرآورده‌های گوشتی از طریق آزمون بافت شناسی (بویژه رنگ آمیزی اختصاصی تری کروم ماسون) و آزمایش شیمیایی اندازه گیری میزان هیدروکسی پرولین و محاسبه کلاژن قابل شناسایی و تعیین است [۷ و ۴]. مقدار اسید آمینه هیدروکسی پرولین در پروتئین بافت همبندی کلاژن بالا است و حدوداً ۱۲/۵ درصد اسیدهای آمینه ساختمان پروتئین کلاژن را هیدروکسی پرولین تشکیل می‌دهد ولی در سایر انواع پروتئین و مواد اولیه ای که برای تولید سوسیس و کالباس بکار می‌روند میزان اسید آمینه هیدروکسی پرولین بسیار ناچیز است لذا با اندازه گیری میزان هیدروکسی پرولین در این فرآورده می‌توان با اعمال ضریب ۷/۸ میزان کلاژن را محاسبه کرد [۱۰ و ۱].

تعیین گردید در حالیکه در مورد پروتئینهای نامحلول بافت پیوندی PER برابر ۱/۶۵ درصد بود [۲۰].

Ojtozy و همکاران در سال ۱۹۷۰ روی میزان کلاژن ۲ نوع گوشت و دو نوع سوسیس مطالعاتی را انجام دادند و نشان دادند که میزان کلاژن در دو نوع گوشت ۰/۶ و ۲/۷ درصد و در دو نوع سوسیس ۱/۶ و ۱/۴ درصد بود [۲۱].

همچنین مطالعاتی را Woo و همکاران در سال ۱۹۷۸ روی سوسیس های تولیدی در کشور کره انجام دادند در این مطالعه مقایسه ای بین عناصر تغذیه ای سوسیس های تولیدی در کشور کره و سوسیس های وارداتی صورت گرفته است. نتایج نشان داد که میزان کلاژن بعنوان نماینده بافت پیوندی در سوسیسهای کره ای ۱۰-۲/۱ درصد است که در مقایسه با سوسیس های وارداتی میزان بالاتری دارد و در میان چهار نوع سوسیس مورد مطالعه نوع فرانکفورتر در مقایسه با انواع دیگر بافت پیوندی کمتری داشته در حالیکه نوع هات داگ در بین این چهار نوع سوسیس تحت مطالعه، کمترین کیفیت پروتئینی را دارا بود [۲۲].

مطالعات انجام شده توسط Herrer و همکاران در سال ۱۹۸۴ روی ۴۰ نمونه همبرگر و ۴۹ نمونه سوسیس نشان داد که در ۱۲/۶ درصد از نمونه های مورد مطالعه میزان هیدروکسی پرولین بیش از ۰/۲۲ درصد بود. در مطالعات Herrer و همکاران معیار سنجش مطلوب بودن نمونه های فرآورده گوشتی مورد مطالعه وجود حداکثر ۰/۲۲ درصد هیدروکسی پرولین در محصول بود که بانسب بدست آمده در این تحقیق در مورد فرآورده های حاوی ۹۰ درصد گوشت (۰/۲۸ ± ۰/۲۲۶) مطابقت دارد [۲۳].

Vazquez و همکاران در سال ۱۹۹۶ میزان هیدروکسی پرولین و کلاژن نمونه های کالباس تجاری کشور مکزیک را به ترتیب (۰/۲۹-۰/۱۴) و (۱/۱ ۲-۲/۳۲) درصد گزارش نمودند [۲۰].

Natalia و Francisco در سال ۱۹۹۶ میلادی میزان کلاژن و هیدروکسی پرولین را در کالباس های تولیدی در شمال غربی مکزیک مورد بررسی قرار دادند. بر اساس نتایج این تحقیق هیچیک از نمونه های مورد بررسی با استاندارد مواد گوشتی آن کشور مطابقت نداشت بویژه از نظر میزان پروتئین که همه نمونه ها پروتئین کمتر از ۱۴ درصد داشتند در حالی که حداقل حد مجاز پروتئین در استاندارد آن کشور برای این محصولات ۱۴ است. میزان هیدروکسی پرولین در این نمونه ها بین ۰/۲۶ - ۰/۱۴ درصد و مقدار کلاژن ۱-۱/۲ درصد بود و درصد پروتئین عاری

با افزایش هیدروکسی پرولین تردی گوشت کاهش می یابد و قابلیت هضم گوشت پائین می آید. وارزش بیولوژیک NPU آن کاهش می یابد بطوریکه با افزایش میزان بافت پیوندی و کلاژن میزان اسیدهای آمینه غیر ضروری نظیر گلیسین، پرولین و هیدروکسی پرولین افزایش یافته و سایر اسیدهای آمینه ضروری کاهش می یابند [۳ و ۱۶]. میزان اسید آمینه هیدروکسی پرولین در بین عضلات مختلف بدن دام مختلف است و میزان آن در تاندونها بالاترین مقدار است. با افزایش هیدروکسی پرولین تردی گوشت کاهش پیدا می کند که بعضی از موارد این تردی بستگی به کیفیت بافت پیوندی دارد نه کیفیت آن که احتمالاً در رابطه با تغییرات آنزیمی ایجاد شده روی ساختمان کلاژن می باشد [۱۷].

در مطالعه ای که Horvatic و همکاران در سال ۱۹۷۷ انجام دادند تاثیر حذف بافت پیوندی از گوشت گاو در کیفیت پروتئین آن از طریق آنالیز اسیدهای آمینه و خوراندن به موشهای صحرایی بررسی شد. آنها نشان دادند که گوشتهایی که بافت پیوندی آنها حذف می شود و میزان هیدروکسی پرولین آنها بواسطه برداشته شدن بافت پیوندی ۴۰ درصد کاهش می یابد، دارای ۱۶ درصد ارزش غذایی بالاتری در مقایسه با گروه کنترل میباشند [۱۸].

S.N.EL و همکاران در سال ۱۹۹۴ بر اساس مطالعاتی که انجام دادند توصیه کردند با توجه به آنکه ارزش بیولوژیک و تغذیه ای گوشت بسیار وابسته به میزان هیدروکسی پرولین و کلاژن است لذا بمنظور تعیین Protein Efficiency rate (PER) که یکی از شاخص های ارزش تغذیه ای پروتئین است بر اساس درصد کلاژن عمل شود و وی در مطالعات خود با این روش میزان PER نمونه های گوشت مورد مطالعه را بین ۲/۹۱ تا ۲/۲۲ تعیین نمود [۱۹].

در مطالعاتی که Constantinos و همکاران در سال ۱۹۹۷ در مورد ارزش تغذیه ای و بیولوژیک پروتئینهای عضلانی و بافت پیوندی سنگدان مرغ انجام دادند به این نتیجه رسیدند که میزان اسیدهای آمینه ضروری EAA پروتئینهای محلول که عمدتاً مربوط به پروتئینهای میوفیریل است بین ۴/۸ تا ۴۹ درصد متغیر است در حالیکه میزان EAA پروتئینهای نامحلول بافت پیوندی بین ۲۰/۸ تا ۲۳ درصد است. همچنین PER در این دو نوع پروتئین برای بررسی ارزش تغذیه ای مورد مطالعه قرار گرفت که در پروتئینهای میوفیریلی این مقدار بطور متوسط ۳/۲ درصد

در حال حاضر معیار تعریف شده و استاندارد ملی برای حد مجاز هیدروکسی پرولین، کلاژن و پروتئین عاری از کلاژن در گروه‌های مختلف فرآورده های گوشتی حرارت دیده ایران وجود ندارد تا با مقایسه با آن بتوان در مورد استفاده از بافتهای غیر مجاز حیوانی که حاوی مقادیر بالای کلاژن (هیدروکسی پرولین) می باشند، اظهار نظر نمود. لذا در این مطالعه، در شرایط خوب تولید با مواد اولیه مطلوب و گوشت حاوی ۲۰ درصد چربی انواع فرآورده های گوشت قرمز تولیدی در کشور در ۵ گروه و به مقدار ۱۵۰ نمونه تولید گردید و مورد آنالیز شیمیایی قرار گرفت که نتایج آن نشان می دهد چنانچه از گوشت مناسب در تولید محصول استفاده شود ویژگیهای شیمیایی محصول در گروههای مختلف به شرح جدول ۱ خواهد بود و مقادیر بالاتر هیدروکسی پرولین و کلاژن از حدود ذکر شده نشانه استفاده از بافتهای غیر مجاز حیوانی در تولید محصول است که حاوی میزان بالای بافت پیوندی و کلاژن هستند در این صورت میزان پروتئین عاری از کلاژن که یکی از عوامل تعیین کیفیت پروتئین محصول است کاهش می یابد و نسبت کلاژن به پروتئین تام و کلاژن به پروتئین عاری از کلاژن افزایش می یابد. بادر نظر گرفتن تمام این فاکتورها می توان در مورد کاهش ارزش پروتئینی محصول ناشی از استفاده از بافتهای حیوانی غیر مجاز خوراکی اظهار نظر نمود.

۵- منابع

- [۱] کامکار، ا. رکنی، ن. بکائی، س. حسینی، ه. ۱۳۸۲. اندازه گیری هیدروکسی پرولین به عنوان شاخص میزان کلاژن در فرآورده های گوشتی به روش کلریمتریک، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، شماره ۲، دوره ۵۷، صفحه ۸۷-۸۳.
- [۲] استاندارد ملی ایران شماره ۲۳۰۳، ۱۳۸۰. سوسیس و کالباس (ویژگیها)، انتشارات موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.
- [۳] رکنی، ن. ۱۳۸۱. علوم و صنایع گوشت، چاپ سوم، انتشارات دانشگاه تهران، شماره ۲۲۶۶.
- [4] Julini, M., Parisi, E., Chicco, G. 1979. Histological aspects of common frauds in sausage manufacture. *Annali della facolta di medicina*.

از کلاژن (F.C.P) در نمونه ها ۷/۹-۹/۵ درصد بود که از حداقل ۱۳ درصد ذکر شده در استاندارد این کشور کمتر بود. در این مطالعه که براساس قوانین مواد غذایی مکزیک انجام شده است، معیارهایی که بعنوان حد مجاز ویژگیهای شیمیایی فرآورده های گوشتی در مکزیک در نظر گرفته شده است تشابه زیادی با مقادیر بدست آمده در این مطالعه دارد. براساس قوانین آن کشور حد مجاز هیدروکسی پرولین و کلاژن در کالباس بترتیب (۲۰/۰-۰/۱۴) و (۱/۹۲-۱/۱۲) درصد می باشد که با نتایج بدست آمده در گروه ۹۰ و ۸۰ درصد گوشت این مطالعه مطابقت دارد، همچنین حداقل درصد پروتئین عاری از کلاژن (F.C.P) و پروتئین تام مورد نظر در قوانین و استانداردهای آن کشور (۱۳/۰/۱۴) بعنوان ویژگیهای شیمیایی سوسیس و کالباس، با نتایج بدست آمده در گروه ۸۰٪ و ۹۰٪ گوشت این مطالعه مطابقت دارد [۲۴].

مطالعه ای که کامکار و حسینی در سال ۱۳۸۲ روی تعداد ۶۰ نمونه کالباس ژامبون گاوی تولید شده توسط ۱۲ کارخانه تولید کننده فرآورده های گوشتی در ایران انجام دادند نشان داد میانگین درصد مجموع هیدروکسی پرولین در ۱۰۰ گرم محصول 0.1 ± 0.19 ، میانگین مجموع کلاژن در ۱۰۰ گرم محصول 0.4 ± 0.71 و نسبت کلاژن به پروتئین تام درصد گرم محصول 0.24 ± 0.19 درصد است و اعلام گردید که بدلیل عدم وجود استاندارد قطعی در مورد حد مجاز کلاژن و هیدروکسی پرولین در این محصولات اظهار نظر قطعی در این خصوص امکان پذیر نشد [۱]. اما با در نظر گرفتن نتایج مطالعه حاضر، بنظر میرسد میزان بافت پیوندی در تعدادی از این نمونه های کالباس ژامبون گاوی تولید شده توسط ۱۲ کارخانه تولید کننده فرآورده های گوشتی در ایران بالاتر از حد معمول است.

در سپتامبر ۲۰۰۳ Food Standard Agency کشور انگلستان دستورالعملی رادرمورد ترکیبات فرآورده های گوشتی این کشور تحت عنوان *Meat Products* منتشر کرد که ویژگیهای شیمیایی و مقادیر کلاژن و هیدروکسی پرولین مجاز در فرآورده های گوشتی آن کشور را اعلام نموده است. نتایج بدست آمده در این تحقیق با محصولات مشابه در استاندارد فوق از نظر میزان هیدروکسی پرولین و کلاژن همخوانی دارد.

- [15] Pellett, P.L., Young, V.R. 1990. Role of Meat as a Source of Protein and Essential Amino Acids in Human Protein Nutrition .Meat and Health Research. Elsevier .New York. NY. pp: 329 -370
- [16] Jeramiah, L.E., Dugan, M.E. 2003. Assessment of the chemical and cooking properties of the major beef muscles and muscle group, *J. meat sci*, vol 65 (3) : 985 -992 .
- [17] Wheeler, S.D., Shackelford, M. 2000. Variation in proteolysis, sarcomere length, collagen content, and tenderness among major cow muscles. *Journal of Animal Science*, 78 (4):958 -965.
- [18] Horvatic, S., Souania, H. 1977. Effect of connective tissue ratio in nutritional value of meat. *J. Food Sci*, 64:38-43.
- [19] El, S.N. 1995. Evaluating Protein quality of meats using collagen content, *J. Food chemistry*, vol 53 (2) : 209 -210.
- [20] Vazquez, A. 1996. Chemical properties of traditional bologna of Mexico. *J. Meat. Sci.* 16:29-37.
- [21] Ojtozy, P., Francisco, W. 1970. Determination of collagen in meat and meat products as a quality factor. *J. Food Sci.*, 29:71-79.
- [22] Woo, Y., Takada, S. 1978. Comparison between nutritional indexes in Korean sausages. *J. Food Sci.*, 56: 32-39 .
- [23] Herer, I.S. 1984. The Collagen content of meat products and its legislative implications. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 35:1265-1266.
- [24] Francisco, A., Natalia, S. 1996. Determination of collagen as a quality index in bologna from northwestern Mexico, *Journal Food composition and Analysis*, vol. 9 (3) 269-276.
- [5] Cordary, M.L., Huffman, D.S. 1982. The possibility of histological identification of extraneous proteins in raw sausages. *Archivio Veterinario Italiano*, 28(3/4)134-136.
- [6] [رکنی، ن. رضائیان، م. دیانی دردشتی، ا. ۱۳۷۶. بررسی هستیولوژیک و هستیومتری کالباس حرارت دیده، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، شماره ۱، دوره ۵۲، صفحه: ۹۵-۱۰۳.]
- [7] Kaare, K. 2001. Colorimetric determination of hydroxyproline as a measure of collagen content in meat and meat products: NMKL collaborative study, *journal of the Association of Official Analytical Chemists* 73: 54 - 57.
- [8] AOAC Official Methods of Analysis 2000. chapter 39, meat and meat products.
- [9] Dvorak, J.H. 1979. A precise method for quantitation of proteins taking into account their amino acid composition. *Annual Biochem.*, 96:130-138 .
- [10] Food standards Agency, Labelling And Composisin of meat products, 2003. guidance notes, Annex B.
- [11] Arkadas, G. C., Karatzas, C. D. and Zarkadas, C. G. 1996. Assessing the myofibrillar and connective tissue protein contents and protein quality of beef tripe. *J. Agric. Food Chem*, 44:2563 - 2572.
- [12] Martin Maltin, C., Balcerzak, D. 2003. Determination of Meat quality. the Proceedings of the nutrition society, vol 62 (2) : 337-347.
- [13] Tekeev, A.A. 1997. The importance of collagen in the biological value of meat, *J. Gigiena. Sanitaria*, 2: 16-19.
- [14] Pellett, P.L., Young, V.R. 1984. Background paper 4. Evaluation of the use of amino acid composition data in assessing the protein quality of meat and poultry products. *Am. J. Clin. Nutr.* 40:718_736.

Hydroxyproline, Collagen and Related Indexes, Valuable Quantitative Factors for Quality Control of Sausages and Bologna

Hosseini,H.^{1*} ,Rokni,N.² ,Kamkar,A.²

1-Department of Meat & Meat products, Food & Drug Control Labs ,Ministry of Health & Medical education, Tehran-Iran

2-Department of Food Hygiene Quality control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran

Sausages and bologna are heated meat products and they are one of the most popular meat products in Iran. Detection of misuse of non edible animal tissues like visceral organs in quality control and assessment of nutritional value of sausages and bologna is very important. In this study 150 samples of different kind of sausages and bologna in 5 groups according to the percentage of meat content produced with standard beef meat and suitable raw materials in good manufacturing practices.

In the lab amount of hydroxyproline, collagen, total protein, free collagen protein, ratio of collagen on total protein and collagen on free collagen protein of samples assigned and laboratory data analyzed for each group. According to the results, amount of above factors in each group of products can use as a quantitative index for quality control of sausages and bologna.

Key words: Sausages, Bologna, Hydroxyproline, Collagen, Quality Control.

*Corresponding author E-mail address: hosseiny@hbi.ir