بررسی هیدروکسی پرولین درسوسیس تولیدی کارخانجات خرم‌آباد

ابراهیم فلاحی[1]، ناهید قاضی[2]
1- گروه تغذیه، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران
2-مرکز علمی -کاربردی، جهاد کشاورزی استان خوزستان، اهواز، ایران

یافته / دوره سیزدهم / شماره 3 / پاییز 90 / مسلسل 49

چکیده

دریافت مقاله: 90/1/18 ، پذیرش مقاله: 90/3/4

مقدمه: محصولات گوشتی حرارت دیده از جمله سوسیس یکی از پر طرفدارترین محصولات گوشتی در ایران می باشد. این امر اهمیت کنترل و شناسایی تقلبات را در آنها به منظور تامین امنیت غذایی مشخص می کند.هدف از این مطالعه تعیین میزان هیدروکسی پرولین در سوسیس تولیدی کارخانجات شهر خرم آباد در تابستان سال 1388 بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مقطعی بر روی تعداد 30 نمونه سوسیس تولید شده در کارخانه گلبهار شهرستان خرم آبادانجام شد. نمونه ها از یک خط تولید و بر اساس اصول نمونه گیری انتخاب و در شرایط مناسب به آزمایشگاه منتقل شد.سپس بر اساس **SOP** روش آزمون که در آزمایشگاه موجود بود و با روش اسپکتروفتومتری آزمایش تعیین میزان هیدروکسی پرولین انجام شد. مقدار کلاژن و ازت کلاژنی نیز از طریق فرمول محاسبه شد.روش گرد آوری اطلاعات مشاهده ای بود. داده ها در نرم افزار **SPSS** وارد و با استفاده از آمار توصیفی و همچنین آزمون **t** یکطرفه (مقایسه نتایج با عدد استاندارد) تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: میانگین هیدروکسی پرولین در100 گرم نمونه 0/017 و انحراف معیار آنها 0/009 بود. این مقدار بسیار کمتر از میزان استاندارد است. مقدار کلاژن و ازت کلاژنی به ترتیب 0/07±0/13 و 0/01± 0/02 گرم در 100 گرم نمونه بود.

بحث و نتیجه‌گیری: بعنوان نتیجه گیری کلی می توان گفت مقدار هیدروکسی پرولین، کلاژن و ازت کلاژنی سوسیس تولید شده در کارخانه گلبهار خرم آباد در تابستان 1388 کمتر از میزان استاندار است .بنابراین احتمال تقلب در آن کم به نظر می رسد.

واژه‌های کلیدی: هیدروکسی پرولین ، سوسیس ، تقلب غذایی، کلاژن، خرم‌آباد.

آدرس مکاتبه: خرم‌آباد، دانشگاه علوم پزشکی لرستان
پست الکترونیک: e_falahi@yahoo.com

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2026-11-25]

مقدمه

محصولات گوشتی حرارت دیده از جمله سوسیس یکی از پرطرفدارترین محصولات گوشتی در ایران بوده و روز به روز مصرف آنها افزایش می‌یابدکه این امر اهمیت کنترل و تعیین تقلبات احتمالی آن را بیشتر مشخص می‌کند(1).

گوشت حاوی پروتئین‌های بافت پیوندی است که ازجمله مهمترین آنهاکلاژن است.کلاژن خودحاوی مقادیربالایی هیدروکسی پرولین است.استفاده ازکلاژن زیاددرتولیدمحصولات گوشتی می‌تواند باعث کاهش کیفیت آنها شود و ارزش تغذیه آن را کاهش دهد(2). از طرفی برخی از کارخانجات تولیدی محصولات گوشتی با توجه به قیمت بالای گوشت از بافت‌های حاوی پوست، استخوان، تاندون‌ها و غضروف استفاده می‌کنند که حاوی مقادیر زیادی هیدروکسی پرولین هستند(3).

همانطور که اشاره شد تقلبات در گوشت و محصولات گوشتی دارای سابقه‌ای طولانی است. از جمله این تقلبات می‌توان به افزودن پودر استخوان، خون، غضروف و تاندون‌ها به جای گوشت به سایر مواد جهت تهیه محصولات گوشتی از جمله سوسیس اشاره نمود. وجود این بافت‌ها در محصولات گوشتی باعث کاهش ارزش تغذیه‌ای آن می‌شود و از طرفی عدم رعایت فرمولاسیون ساخت، خود نیز عدم رعایت قوانین محسوب شده و تقلب غذایی می‌باشد.

این اقدامات ممکن است باعث فریب مراکز کنترل کننده کیفیت شود، زیرا میزان پروتئین ممکن است با آنچه در فرمولاسیون در نظر گرفته شده یکسان باشد و به راحتی نتوان به این تقلب پی‌برد.بنابراین استفاده از آزمون مناسب برای تشخیص چنین تقلباتی ضروری به نظر می‌رسد. با وجود آزمون‌های بسیار پیشرفته مثلا" ارزیابی توسط PCR ولی بعلت گرانی و پر هزینه بودن، روش مناسب‌تر استفاده از کلریمتریک و دستگاه اسپکتروفتومتر است (2، 4 و 5). بنابراین هدف از این مطالعه تعیین میزان هیدروکسی پرولین در سوسیس تولیدی توسط کارخانجات شهر خرم‌آباد بود.

مواد و روش‌ها

جامعه مورد مطالعه: کلیه محصولات سوسیس کارخانجات تولیدی خرم‌آباد در تابستان سال 1388

روش نمونه‌گیری: نمونه‌گیری به روش تصادفی بود که هر کارخانه تولید سوسیس(بعنوان یک برند) یک طبقه در نظر گرفته شدو درون هر طبقه نیز از نمونه‌گیری سیستماتیک استفاده گردید.

تعداد نمونه: بر اساس مطالعات قبلی انجام شده در ایران (مشهد، رشت و تهران) و مقدار 30 درصدی تقلب در نمونه‌ها حجم نمونه بدین طریق بدست آمده است:

$$N= (Z_{1-\alpha/2})^2 p(1-p)/d^2 =(1.64)^2 \times 0.3 \times 0.7/(0.1)^2 =56$$

با توجه به وجود دو کارخانه در خرم‌آباد(گلبهار واقع دربخش ویسیان، و آرزویان واقع در شهرک صنعتی خرم آباد) مقرر گردید که نمونه‌های مورد نظر با توجه به حجم تولید سوسیس هر کارخانه از هر کدام جمع‌آوری و به آزمایشگاه کنترل مواد غذایی استان منتقل شود. اما با توجه به اینکه در زمان نمونه‌گیری تنها یکی از دو کارخانه تولید داشت و دیگری تعطیل بود به خاطر محدودیت زمانی تنها از یک کارخانه نمونه‌گیری بعمل آمد.

نهایتاً حجم نمونه 30 نمونه سوسیس 40%در نظر گرفته شد. نمونه‌ها از یک خط تولید و بر اساس اصول نمونه‌گیری انتخاب و در شرایط مناسب به آزمایشگاه منتقل شد. سپس بر اساس SOP روش آزمون که در آزمایشگاه موجود بود و با روش اسپکتروفتومتری (6) آزمایش تعیین میزان هیدروکسی پرولین انجام شد. روش گردآوری اطلاعات مشاهده‌ای بود. داده‌ها در نرم افزار SPSS وارد و با استفاده از آمار توصیفی و همچنین آزمون t یکطرفه (مقایسه نتایج با عدد استاندارد کشوری) تجزیه و تحلیل شد.

تهیه محلول‌های استاندارد: تهیه محلول استوک هیدروکسی پرولین(600 میکروگرم بر میلی لیتر): 60 میلی گرم هیدروکسی پرولین را با آب مقطر به حجم 100 می رسانیم (این محلول حداقل به مدت 2 ماه در دمای 4 درجه سانتی گراد پایدار است).

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2026-11-25]

-تهیه محلول میانی(6 میکرو گرم بر میلی لیتر): 5 میلی لیتر از محلول استوک مذکور را با آب مقطر به حجم 500 میلی لیتر می‌رسانیم(این محلول تازه تهیه می‌شود)

-تهیه محلول‌های استاندارد نهایی: 10،20،30،40میلی لیتر از محلول میانی را در بالن ژوژه‌های 100 میلی لیتری با آب مقطر به حجم می‌رسانیم(این محلول‌ها به ترتیب حاوی0/6، 1/2 ، 1/8 ، 2/4 میکروگرم هیدروکسی پرولین در میلی‌لیتر می‌باشند. این محلول‌ها باید تازه تهیه شوند)

نمونه‌گیری: 200 گرم از هر نمونه سوسیس در یک ظرف غیر قابل نفوذ به هوا قرار گرفت و تا مرحله بعدی در دمای 18- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس نمونه همراه عصاره ، ژلاتین، چربی و سایر مواد جدا شده از آن از بسته‌بندی خارج گردید(مواد فریز شده در یخچال یخزدایی و بلافاصله خرد شد).

مرحله هیدرولیز: مقداری از نمونه را به قطعات کوچک بریده و با چرخ گوشت خرد و رنده و 4 گرم از آن را با دقت 0/001 در یک ارلن مایر وزن شد.30 میلی لیتر اسیدسولفوریک 7 نرمال به آن اضافه شد. سپس درب آن با شیشه ساعت پوشانده و به مدت 16 ساعت متوالی در آون 105±1 درجه قرار گرفت.

-محلول هیدرولیز شده داغ با آب مقطر به حجم 500 میلی لیتر رسید.

-محلول با کاغذ صافی صاف شد

-5 میلی‌لیتر از محلول صاف شده با آب مقطر به حجم 100 میلی‌لیتر رسید

تشکیل رنگ

-2 میلی‌لیتر از هر یک از محلول‌های استاندارد ، 2 میلی لیتر از محلول نهایی(بعنوان نمونه) و 2 میلی‌لیتر آب مقطر بعنوان شاهد به لوله‌های آزمایش منتقل شد.

-1 میلی‌لیتر از محلول اکسیدانت(معرف کلرامین T در 100 میلی لیتر بافر) به هر لوله اضافه شد

برای تهیه بافر (pH=6) 30 گرم اسید سیتریک یک آبه ، 15 گرم هیدروکسید سدیم و 90 گرم استات سدیم 3 آبه را در 500 میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده به آن 290 میلی لیتر1- پروپانل افزوده و با افزودن اسید یا باز pH آن تنظیم شده سپس محلول در یک بالن 1 لیتری با آب مقطر به حجم رسانده شد. محتوای لوله‌ها را یکنواخت نموده و به مدت 22-18 دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد.

1 میلی‌لیتر از معرف رنگی (10 گرم 4-دی متیل آمینو بنزالدئید را در 35 میلی لیتر اسیدپرکلریک حل نموده، سپس به آرامی 65 میلی لیتر 2-پروپانل به آن اضافه می‌نمائیم) به هر لوله افزوده شدو درب لوله‌ها با فویل پلاستیکی بسته و بلافاصله در بن‌ماری 0/5± 60 درجه سانتی‌گراد به مدت 15 دقیقه قرار داده شدو زیر شیر آب سرد به مدت 3 دقیقه خنک گردید.

لوله‌ها را خشک نموده و میزان جذب محلول‌ها با اسپکتروفتومتر در طول موج 2±558 نانومتر در مقابل محلول شاهد قرائت شد. به منظور تعیین میزان هیدروکسی پرولین نمونه های مجهول ابتدا منحنی کالیبراسیون تهیه شد.

تهیه منحنی استاندارد: این منحنی معمولا برای هر سری از اندازه‌گیری‌ها تهیه می‌شود.منحنی استاندارد با استفاده از غلظت و جذب محلول‌های استاندارد رسم شد (غلظت محلول های استاندارد در این مرحله به ترتیب 1/2، 2/4، 3/6، 4/8 میکروگرم در 2 میلی‌لیتر می‌باشد)میزان هیدروکسی پرولین نمونه با استفاده از منحنی ترسیم شده محاسبه شد.

با استفاده از فرمول زیر میزان هیدروکسی پرولین در نمونه اولیه محاسبه گردید:

$$H\ (g/100\ g) = (h\times 2.5)/(m\times v)$$

H=میزان هیدروکسی پرولین بر حسب گرم در 100 گرم نمونه

h= غلظت هیدروکسی پرولین خوانده شده توسط جذب نوری (میکروگرم در 2 میلی‌لیتر)

m=وزن نمونه برداشته شده برای آزمون(گرم)

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2026-11-25]

حجم برداشته شده از صاف شده مرحله هیدرولیز =v

با توجه به آن که حدوداً 12/5 درصد ساختمان پروتئین کلاژن را اسید آمینه هیدروکسی پرولین تشکیل می‌دهد طبق فرمول زیر میزان کلاژن محصول بر حسب گرم در صد گرم نمونه محاسبه شد.

$$B\ (g/100g) = H \times 8$$

میزان کلاژن بر حسب گرم در 100 گرم نمونه=B

میزان هیدروکسی پرولین =H

میزان ازت حاصل از کلاژن با در نظر گرفتن ضریب پروتئینی 1/28 برای هیدروکسی پرولین تعیین گردید که با ضرب کردن این ضریب در میزان هیدروکسی پرولین محصول میزان ازت حاصل از کلاژن محصول بدست آمد(7).

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

نتایج به دست آمده وارد برنامه نرم‌افزاری شد و با استفاده از آزمون یکطرفه با میزان استاندارد ایران مقایسه شد.

یافته‌ها:

نتایج حاصل شامل میزان هیدروکسی پرولین و کلاژن در جدول شماره یک آمده است. نتایج با استفاده از آزمون تی یکطرفه تجزیه و تحلیل گردید و مشخص شد که میزان هیدروکسی پرولین و کلاژن موجود در سوسیس40 درصد تولید شده در کارخانه گلبهار خرم‌آباد بسیار کمتر از میزان استاندارد است و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار است.

جدول شماره 1-میزان هیدروکسی پرولین و کلاژن (بر حسب گرم در 100 گرم) در نمونه‌های سوسیس کارخانه گلبهار خرم‌آباد و مقایسه آن با استاندارد (Mean±SD)

فاکتور شیمیایی	نمونه سوسیس مورد آزمون	استاندارد شماره 2303
هیدروکسی پرولین	0/009±0/017	0/20±0/14
کلاژن	0/07±0/13	0/24±1/13
ازت کلاژنی	0/01±0/02	0/03±0/18

* p<0/001

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه مقادیر شاخص‌های شیمیایی مانند پروتئین، کربوهیدرات، رطوبت، خاکستر و چربی در بافت‌های غیرمجاز حیوانی شبیه گوشت است، با استفاده ازآزمون‌های معمولی کنترل کیفیت که در استاندارد ملی ایران به شماره 2303 برای کنترل کیفیت فراورده‌های گوشتی حرارت دیده اشاره شده است نمی‌توان بافت‌های غیرمجاز حیوانی را شناسایی نمود. لذا استفاده از روش‌های تکمیلی مانند اندازه‌گیری هیدروکسی پرولین و کلاژن ضروری به نظر می‌رسد(7).

مطالعات زیادی نشان داده است که مقدار هیدروکسی پرولین با ارزش غذایی فراورده‌های گوشتی ارتباط معکوسی دارد، یعنی هرچه میزان هیدروکسی پرولین در یک فرآورده گوشتی کمتر باشد آن محصول دارای ارزش تغذیه‌ای بالاتری است(11-8). استفاده از بافت‌های غیرمجاز مانند اندام‌های درونی حفره شکم دام و سنگدان مرغ که بعنوان تقلب محسوب می‌شود و ممکن است در تولید فرآورده‌های گوشتی بکار روند هم از نظر ارزش تغذیه‌ای و هم بهداشتی دارای کیفیت نامناسبی هستند. اندازه‌گیری میزان هیدروکسی پرولین راه مناسبی جهت تشخیص اینگونه تقلبات در محصولات گوشتی است(1 و7).

با افزایش هیدروکسی پرولین تردی گوشت کاهش می‌یابد و ارزش بیولوژیک آن نیز کم می‌شود. با افزایش کلاژن در گوشت اسیدهای آمینه غیرضروری افزایش و اسیدهای آمینه ضروری آن کاهش می‌یابد(12). Julini و همکاران در سال‌های 1979 و 1982 احتمال استفاده از بافت‌های غیرمجاز حیوانی را در فرآورده‌های گوشتی نظیر سوسیس گزارش دادند(13).

رکنی و همکاران وجود بافت غدد بزاقی و لیگامانت پس‌سری را در کالباس‌های حرارت دیده موجود دربازار گزارش

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2026-11-25]

دادند(14). مقدار هیدروکسی پرولین و کلاژن در نمونه‌های مورد مطالعه ما بسیار کمتر از میزان استاندارد بود.

Herrer و همکاران حداکثر میزان هیدروکسی پرولین در 49 نمونه سوسیس را بیش از 0/22 گزارش نمودند(15). Vazquez و همکاران میزان هیدروکسی پرولین و کلاژن را در نمونه‌های کالباس تجاری کشور مکزیک به ترتیب(0/29-0/14) و (2/32-1/12) درصد گزارش نمودند(16).

کامکار و همکاران میانگین هیدروکسی پرولین در 60 نمونه کالباس را0/19 و میانگین کلاژن را 1/71 درصد اعلام نمودند(1). حسینی و همکاران این مقادیر را در تعداد 60 نمونه سوسیس 40% که در شرا یط خوب تولید تهیه شده بودند به ترتیب 0/14 برای هیدروکسی پرولین و 1/13 درصد برای کلاژن گزارش نمودند(7)

هیچکدام از نتایج این مطالعات با مطالعه ما هم‌خوانی ندارد و مقادیر بدست آمده در این تحقیق بسیار کمتر از گزارشات مذکور می‌باشد. احتمالا یکی از دلایل این تفاوت این است که مدیران کارخانه مورد مطالعه از انجام تحقیق آگاهی داشته‌اند و بعلت ترس از اعلام نتایج و آگاهی یافتن اداره نظارت بر مواد غذایی استان تولید مربوط به روز نمونه‌برداری را با شرایطی غیر از شرایط روتین کارخانه و تنها با استفاده از گوشت و آن‌هم از نوع بسیارمرغوب تولید نموده‌اند. از طرفی اندازه‌گیری میزان پروتئین و میزان ازت پروتئینی نیز می‌توانست در تحلیل نتایج بیشتر کمک کند. ولی بعلت برخی مشکلات این شاخص‌ها اندازه‌گیری نشد از طرفی نمونه‌های مورد بررسی فقط از یک کارخانه بود و بعلت اینکه کارخانه دیگری در زمان انجام تحقیق فعال نبود تعداد نمونه کم بوده و این نیز یکی از محدودیت‌های این تحقیق است. بنابراین علیرغم اینکه نتایج بدست آمده نشان میدهد سوسیس تولید شده در کارخانه گلبهار خرم‌آباد دارای شرایط بسیار عالی می‌باشد ولی برای درک بهتر واقعیت پیشنهاد می‌شود اندازه‌گیری میزان هیدروکسی پرولین، کلاژن و پروتئین در نمونه‌های سوسیس همین کارخانه هم در سطح بازار و هم به صورت ناگهانی از خط تولید بعمل آید.

تشکر و قدردانی

از مدیریت و کارکنان کارخانه فرآورده‌های گوشتی گلبهار خرم‌آباد و رئیس آزمایشگاه معاونت غذا و دارو و سایر پرسنل آزمایشگاه که در این زمینه کمک نموده اند قدردانی و تشکر می‌شود.

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2026-11-25]

References

1. Kamkar A, Rokni N, Hoseini H. Assessment of Hydroxyproline as collagen determinant index for meat production by colorimetric method. J Veter Res of Teh Univ 2004; 57 (2): 83-87 (In Persian)
2. http://ift.confex.com/ift/2003/techprogram/paper-19201.htm
3. Langrock T.,Garcia-Villar N., Hoffmann R. Analysis of Hydroxyproline isomers and hydroxyproline by reversed-phase HPLC and mass spectrometry. J Chromat B. 2007; 847:282-288.
4. Ghovvati S, Nassiri MR, Mirhoseinin SZ. Fraud identification in industrial meat products by multiplex PCR assay. Food Control. 2009; 20: 696-699.
5. Kolar K. Colorimetric determination of hydroxyproline as measure of collagen content in meat and meat products: NMKL collaborative study. J Assoc off Anal Chem. 1990; 73(1): 54-57.
6. AOAC Official method 990-26. Hydroxyproline in meat and meat products: colorimetric method.17 ed. AOAC, 2000.
7. Hoseini H, Kamkar A. Collagen and quality control indices in heated meat products from Iran. J Scie Food Tech Iran. 2006; 3(4): 23-30 (In Persian)
8. Skrivanova V. Effect of AMP-50 amino acid supplement on performance and quality of meat in veal calves. Zivocisna Vyroba. 1995; 38(7):591-599.
9. Tahir M. Effect of collagen on measures of meat tenderness. Dissertation Abstract International, 1980, 160 pp.
10. Fatemi H. Food Chemistry. Tehran: Sahami Enteshar, 2004 (In Persian)
11. Vasquee-Ortiz FA. Determination of collagen as a quality index in bologna from north western Mexico. J Food Comp Analy 1996; 9(3): 206-276.
12. Jeramiah LE, Dugan ME. Assessment of the chemical and cooking properties of the major beef muscles and muscle group. J Meat Sci 2003; 65(3): 985-992.
13. Julini M, Parisi E, Chicco G. Histological aspects of common frauds in sausage manufacture. Annali della facolta di medicina. 1979
14. Rokni N, Rezaeian M, Daiani Dardashti A. Histology and isometry of heated Sausages. J Veter Res of Teh Univ 1997; 52 (1): 95-103 (In Persian)
15. Here IS. The collagen content of meat products and its legislative implications. J Sci Food Agri 1984; 35: 1265-1266.
16. Vazquez A. Chemical properties of traditional bologna of Mexico. J Meat Sci 1996; 16: 29-37.

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2026-11-25]