



УДК 664. 95

DOI: 10.31388/2220-8674-2018-2-54

ОСОБЛИВОСТІ ПРОЦЕСІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ТА ЗМІН ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ЛІПІДІВ СЬОМГИ ПРИ ЗБЕРІГАННІ

Данченко О. О.¹, д. с.-г. н.,

Яковійчук О. В.²,

Здоровцева Л. М.¹, к. б. н.,

Данченко М. М.¹, к. т. н.,

Майборода Д. О.¹

¹Таврійський державний агротехнологічний університет

²Мелітопольський державний педагогічний університет ім.
Б. Хмельницького

E-mail: nndea@ukr.net

Анотація – у статті наведено результати дослідження процесів пероксидного окиснення і змін жирнокислотного складу ліпідів сьомги при зберіганні в охолодженому стані. Встановлено, що при зберіганні філе сьомги в охолодженому стані без консервантів на тлі мікробіологічного псування антиоксидантна активність філе достовірно зростає. Зберігання солоної сьомги характеризується перерозподілом ненасичених жирних кислот на тлі падіння антиоксидантної активності. Встановлено достовірне підвищення вмісту олеїнової і арахідонової кислот і зниження вмісту незамінних лінолевої, ліноленої, а також докозагексаєнової кислот.

Ключові слова: пероксидне окиснення, антиоксидантна активність, жирнокислотний склад, незамінні жирні кислоти.

Постановка проблеми. У функціонуючих м'язах встановлюється динамічна прооксидантно-антиоксидантна рівновага між продукцією вільних радикалів та їхньою елімінацією, підтримка якої та захист внутрішньоклітинних компонентів здійснюється через систему антиоксидантного захисту (АОЗ) [1, 2, 4, 5]. Після зупинки кровообігу відбуваються незворотні зміни, що створюють умови, за яких баланс прооксидантів і антиоксидантів зміщується в напрямку окиснення. Наслідком зупинки кровообігу є накопичення молочної кислоти, що сприяє зниженню рН середовища і, як наслідок, падінню активності антиоксидантних ензимів і активації тканинних гідролаз [6, 7, 8, 9].

Аналіз останніх досліджень. Ферменти риб відіграють виключно важливу роль у процесах, що відбуваються після зупинки кровообігу у всіх тканинах і органах риб, також при різних способах



переробки рибної сировини, особливо при засоленні. Існує твердження, що зниження температури інактивує ферментативні процеси в клітинах. Однак, є дані про те, що протеолітичні та ліполітичні ферменти можуть проявляти свою активність навіть за температури -20°C [10, 11]. Втім, найбільшого значення у формуванні споживчих властивостей рибної продукції мають саме окисно-відновні і гідролітичні ферменти, активність яких змінюється в значних межах залежно від умов обробки і зберігання цієї продукції [3, 5, 6, 7, 8, 9]. Сьомга, як представник родини лососевих є цінним харчовим продуктом, що зумовлено, в першу чергу, особливим жирнокислотним складом її ліпідів та високим умістом поліненасичених жирних кислот. Проте високий вміст ПНЖК, водночас, є і причиною її швидкого окисного псування.

Метою досліджень було з'ясування особливостей перебігу процесів пероксидного окиснення і змін жирнокислотного складу сьомги при зберіганні в охолодженому стані.

Матеріали і методи. Для проведення досліджень застосовано ставковий вид сьомги (*Salmo Salar*). Після зупинки кровообігу з риби виділяли філе і формували зразки для двох дослідів. У досліді 1 сьомга закладена на зберігання в холодильник у свіжому (нативному) вигляді без додаткової обробки консервантами і стабілізаторами. В досліді 2 сьомга оброблялась консервантом (натрію хлоридом) у співвідношенні 1:10 за масою. Для цього сіль рівномірно наносилась на поверхню зразка філе. Сформовані проби загортали у фольгу і зберігали в холодильнику при температурі не вище 3°C . Термін першого дослідів обмежувався мікробіологічним псуванням і складав 7 діб, а другого – окисним і тривав 21 добу. Згідно зі схемою експерименту, через певні проміжки часу (для солоні риби 0, 7, 14, 21 діб, для свіжої 0, 3, 5, 7 діб) з філе відбирались проби для проведення біохімічних досліджень. Проводили визначення інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у зразках філе, яке оцінювали за вмістом продуктів пероксидації, що реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою у гомогенаті філе (ТБКАП_{вих}) та за ініціації Fe^{2+} ПОЛ (ТБКАП_{інк}) [16]. Стан системи АОЗ визначали за допомогою коефіцієнта антиоксидантної активності ($K_{\text{АОА}}$), його рахували як відношення ТБКАП_{вих} до ТБКАП_{інк} [20], оскільки в гомогенатах тканин міститься не тільки субстрат пероксидації, а й компоненти антиоксидантного захисту, здатні гальмувати пероксидацію ліпідів. Ліпідні екстракти для визначення жирнокислотного складу одержували за методом E.G. Bligh та W.I. Dyer [11] із рекомендаціями F.V. Palmer [12]. Жирнокислотний склад визначали у ліпідному екстракті методом газорідинної хроматографії на хроматографі Carlo Erba (Італія) із скляними набивними



колонками (2,5м×3мм). Як носій використовували Chromosorb W/DP із нанесеною 10%-ною фазою Silar 5CP (“Serva”, Німеччина) в умовах програмованої температури 140 – 250°C, 2°C/хв. (температура інжектора 210°C, температура детектора 240°C). Математичну обробку експериментальних даних здійснювали відомими методами математичної статистики.

Результати і їх обговорення. Аналіз динаміки ТБКАП_{вих} у першому дослідному зразку (табл.1) свідчить, що незважаючи на очікувану інтенсифікацію пероксидного окиснення впродовж перших 5 діб на тлі мікробіологічного псування спостерігалось різке зниження вмісту ТБКАП_{вих} (у 8,08 рази) і тільки наприкінці досліді відмічено стрімке зростання цього показника.

Таблиця 1. Динаміка вмісту продуктів пероксидного окиснення і коефіцієнта антиоксидантної активності у філе сьомги при зберіганні (дослід 1)

Термін зберігання, доба	ТБКАП _{вих} , нМоль/г	ТБКАП _{інк} , нМоль/г	К _{АОА}
0	120,2±47,1	630,9± 28,7	0,190
3	46,3± 21,7**	565,9± 31,4	0,082
5	14,9± 5,3**	114,5± 5,9**	0,130
7	38,6± 2,5**	71,4± 3,2*	0,540

Примітка: Тут і в табл. 2 різниця вірогідна відносно попереднього значення: * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$

При зберіганні філе в охолодженому стані окисне псування конкурує з мікробіологічним. Продукти декарбоксілювання амінокислот – аміни проявляють відновні властивості. Саме за їхньої участі на тлі мікробіологічного псування спостерігається зниження рівня ліпопероксидації і, як наслідок, вмісту вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів.

За динамікою вміст ТБКАП_{вих} характеризувався значною мінливістю (коефіцієнт варіації $v=92,6\%$), а від’ємна кореляція з терміном зберігання ($r= - 0,813$) підтверджує спадаючий характер його динаміки впродовж досліді.

Вміст ТБКАП_{інк} характеризує здатність тканин до гальмування пероксидного окиснення, що ініційовано FeSO₄ і визначається активністю антиоксидантних ферментів і низькомолекулярних антиоксидантів. Чим нижчим є резерв ендогенних антиоксидантів в тканинах, тим вищий рівень активізації ПОЛ при введенні в гомогенати тканин розчину FeSO₄.

Результати експерименту свідчать, що якщо впродовж 3-х перших діб спостерігався сталий рівень ТБКАП_{інк}, та на 5-у добу



встановлено різке зниження цього показника в 4,9 рази. Таке стрімке падіння ТБКАП_{інк} може бути також спричинено відновними властивостями біогенних амінів, що в значній кількості утворюються у філе сьомги в цей період дослідів. Аномально високий рівень К_{АОА} цих тканин наприкінці дослідів підтверджує це припущення.

Отже, при зберіганні філе сьомги в охолодженому стані ($t=2\pm 1^{\circ}\text{C}$) без консервантів термін придатності визначає мікробіологічне псування, а рівень пероксидного окиснення залишається низьким.

При зберіганні солоного філе сьомги (дослід 2, табл. 2) зміни вмісту ТБКАП_{вих} також різноспрямовані. Впродовж першого тижня зберігання спостерігалось підвищення вмісту ТБКАП_{вих} на 30,4 %, проте надалі з 7-ї до 21-ї доби встановлено зниження вмісту вторинних продуктів ПОЛ у 3,0 рази.

Можливо, на цьому етапі за відсутності мікробіологічного псування зв'язування кінцевих продуктів ліпопероксидації карбонільних сполук відбувається унаслідок їхньої взаємодії з аміногрупами білків і утворенням основ Шиффа. За середнім рівнем ТБКАП_{вих} солоної сьомги у 2,0 рази перевищує відповідний показник попереднього дослідів, а за динамікою характеризується більш сталим характером (коефіцієнт варіації у 2,1 рази менший за відповідний показник першого дослідів).

Таблиця 2. Динаміка вмісту продуктів пероксидного окиснення і коефіцієнта антиоксидантної активності солоного філе сьомги (дослід 2)

Термін зберігання, доба	ТБКАП _{вих.} , нМоль/Г	ТБКАП _{інк.} , нМоль/Г	К _{АОА}
0	120,2± 6,3	630,9 ± 29,8	0,190
7	156,7± 7,4*	725,9 ± 37,1*	0,216
14	115,3± 3,8*	641,9 ± 29,9*	0,180
21	51,9± 1,9**	414,1 ± 22,0**	0,125

У другому досліді вміст ТБКАП_{інк} також зменшувався, але це зниження склало тільки 52,4 % за весь період, а від'ємна кореляція з терміном зберігання ($r = - 0,640$) суттєво поступалась відповідному показнику першого дослідів.

Втім, найбільш наочним є порівняння К_{АОА} досліджених зразків сьомги. За кінцевим значенням цей показник для солоного філе у 4,3 рази поступився відповідному зразку дослідів 1, а за середнім – майже вдвічі.

Однією з можливих причин зменшення вмісту ТБКАП наприкінці дослідів може бути зниження рівня ненасиченості жирних кислот ліпідів, як головного субстрату пероксидації.

Результати газорідної хроматографії ЖКС ліпідів вихідного зразка сьомги свідчать, що серед насичених жирних кислот у складі цих ліпідів найбільш вмістовними є пальмітинова, арахінова і стеаринова кислоти (рис. 1). Достатньо високий вміст арахінової кислоти є специфічним для риби. М'ясо птиці характеризується достовірно нижчим рівнем цього показника. Ненасиченість жирнокислотного складу філе сьомги визначається головним чином вмістом олеїнової (32,1 %), лінолевої (15,5 %), ліноленової (4,5 %) та ейкозапентаєнової (4,4 %) кислот.

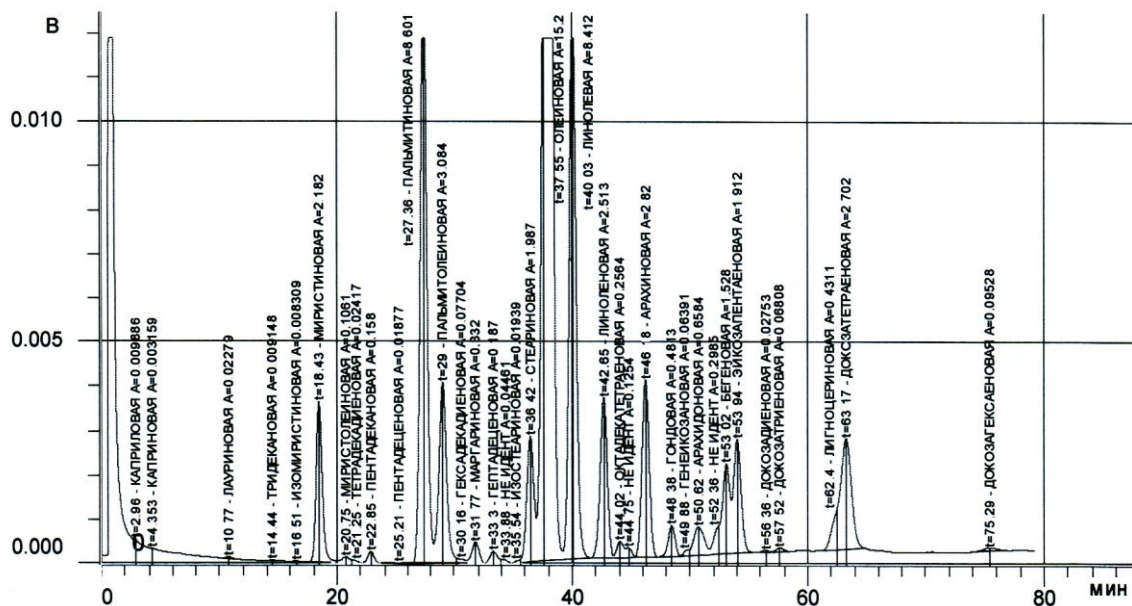


Рис. 1. Хроматограма жирнокислотного складу ліпідів вихідного філе сьомги

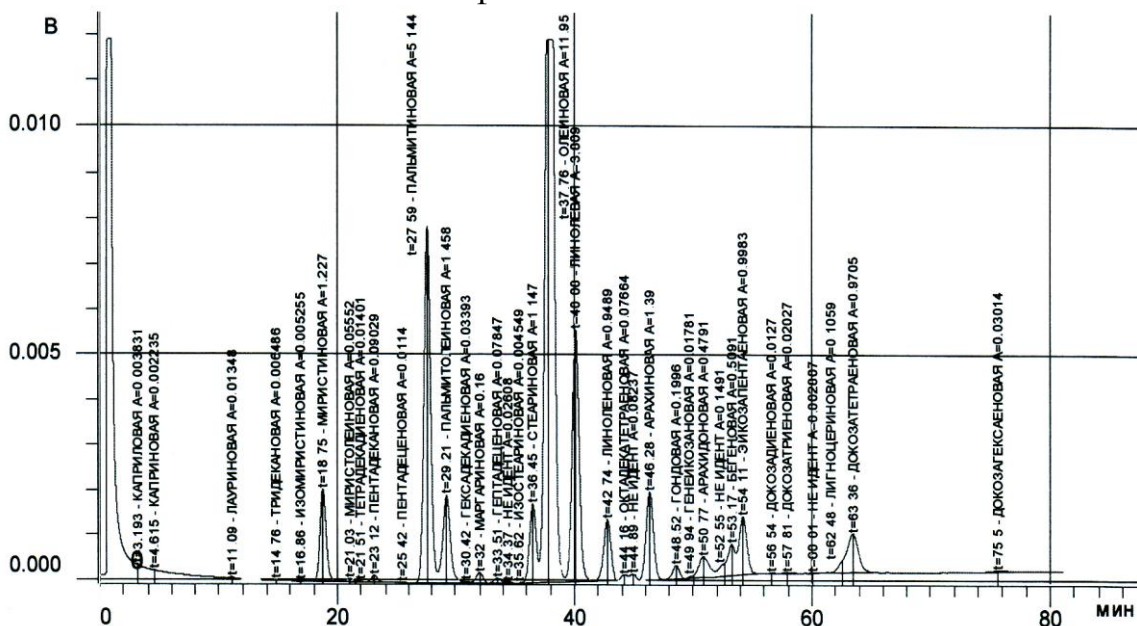


Рис. 2. Хроматограма жирнокислотного складу ліпідів сьомги після зберігання в охолодженому стані



Сьомга суттєво поступається м'ясу птиці за вмістом арахідонової кислоти (1,2 %), але є джерелом незамінних лінолевої і ліноленової кислот. Окрім того, у складі ліпідів ставкової сьомги нашого дослідження низький вміст ω -3 докозагексаєнової кислоти (0,09) %, що узгоджується з деякими літературними джерелами [13,14], хоча вміст цієї кислоти в ліпідах сьомги коливається в межах від 1,1 до 6,7 % [15]. Саме ця кислота, як попередник простагландинів, позитивно впливає на стан серцево-судинної системи. Отже, ліпіди сьомги характеризуються специфічним жирнокислотним складом з високим рівнем поліненасичених жирних кислот.

Встановлено, що впродовж дослідження 2 сумарний вміст ненасичених жирних кислот зберігається на сталому рівні. Окрім того, загальний рівень ненасиченості, що в більшій мірі відображує здатність ліпідів до пероксидації, також вірогідно не змінюється, але має певну тенденцію до скорочення. Такі особливості жирнокислотного складу узгоджуються з визначеною динамікою процесів ліпопероксидації, що підтверджується зниженням вмісту ТБКАП_{вих} впродовж дослідження. Проте під час зберігання відбувся перерозподіл окремих кислот. Ці зміни жирнокислотного складу, в першу чергу, стосуються ненасичених ЖК. Так, на тлі сталого вмісту стеаринової кислоти встановлено достовірне підвищення вмісту олеїнової (на 37,0%). Таке збільшення вмісту олеїнової кислоти, ймовірно, спостерігається за рахунок гідролізу тригліцеридів та фосфоліпідів і подальшої окиснювальної модифікації ЖК під час зберігання сьомги, унаслідок чого зростає кількість мононенасичених ЖК наприкінці дослідження.

Вміст незамінних лінолевої і ліноленової кислот у ліпідах сьомги впродовж дослідження 2 достовірно знизився, відповідно на 21,0 і 34,3 %. Причиною такого зниження вмісту цих кислот під час зберігання, ймовірно, є те, що гідролітичні процеси в ліпідах сьомги відбуваються з достатньою швидкістю і при охолодженні. Швидкість окиснення ЖК за низьких температур дещо уповільнюється і стає ще більш залежною від просторової конфігурації цих кислот. Саме окиснювальні процеси, в тому числі й ліпопероксидація, є однією з причин зниження вмісту лінолевої і ліноленової кислот. Тією ж причиною, ймовірно, пояснюється тенденція до зниження вмісту ейкозапентаєнової і докозатетраєнової кислот. На відміну від усіх названих ПНЖК вміст арахідонової кислоти впродовж дослідження не тільки не зменшився, а навіть зріс на 26,4 %. Подібне підвищення цієї кислоти встановлено раніше при зберіганні осетрових риб [15]. Підвищення рівня арахідонової кислоти автори пояснюють наявністю у складі ліпідів цих риб неідентифікованих жирних кислот з більш довгим карбоновим ланцюгом.



Висновки. Ліпіди використаної в досліді сьомги характеризуються специфічним жирнокислотним складом з високим рівнем поліненасичених жирних кислот. Дослідженнями змін жирнокислотного складу ліпідів солоної сьомги під час її зберігання в охолодженому стані доведено, що загальний вміст ненасичених жирних кислот в межах досліду зберігається на сталому рівні. Зміни жирнокислотного складу полягають у вірогідному підвищенні вмісту олеїнової і арахідонової кислот, що супроводжуються зниженням вмісту незамінних лінолевої, ліноленової, а також докозагексаєнової кислот. Встановлене зниження вмісту найбільш важливих жирних кислот (лінолевої, ліноленової і докозагексаєнової) зумовлює доцільність проведення подальших досліджень, спрямованих на збереженість вихідного жирнокислотного складу цієї сировини.

Література:

1. Effects of increasing temperature on antioxidant defense system and oxidative stress parameters in the Antarctic fish *Notothenia coriiceps* and *Notothenia rossii* / R. D. Klein [et al.] // *Journal of Thermal Biology*. Vol. 68. P. 110–118. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2017.02.016.
2. Heat stress in the heart and muscle of the Antarctic fishes *Notothenia rossii* and *Notothenia coriiceps*: Carbohydrate metabolism and antioxidant defence / M. R. D. P. Souza [et al.] // *Biochimie*. 2018. Vol. 146. P. 43–55. DOI: 10.1016/j.biochi.2017.11.010.
3. Effect of short-term sterigmatocystin exposure on lipid peroxidation and glutathione redox system and expression of glutathione redox system regulatory genes in common carp liver / B. Kövesi [et al.] // *Toxicon*. 2019. Vol. 161. P. 50-56. DOI: 10.1016/j.toxicon.2019.03.001.
4. Antioxidant defense system and oxidative status in Antarctic fishes: The sluggish rockcod *Notothenia coriiceps* versus the active marbled notothen *Notothenia rossii* / R. Klein [et al.] // *Journal of Thermal Biology*. 2017. Vol. 68 (A). P. 119-127. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2017.02.013.
5. *Kaya Ö., Kaptaner B.* Antioxidant defense system parameters in isolated fish hepatocytes exposed to bisphenol A - Effect of vitamin C. // *Acta Biologica Hungarica*. 2016. Vol. 67, № 3. P. 225-235. DOI: 10.1556/018.67.2016.3.1.
6. *Szymczak M.* Distribution of Cathepsin D Activity between Lysosomes and a Soluble Fraction of Marinating Brine // *Journal of Food Science*. 2016. Vol. 81, № 8. P. 1966–1970. DOI: 10.1111/1750-3841.13375.
7. Inhibitory effects of chitosan-based coatings on endogenous enzyme activities, proteolytic degradation and texture softening of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets stored at 4°C / D. Yu [et al.] //



Food Chemistry. 2018. Vol. 262. P. 1–6. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.04.070.

8. Activities of Endogenous Lipase and Lipolysis Oxidation of Low-Salt Lactic Acid-Fermented Fish (*Decapterus maruadsi*) / S. M. Cao [et al.] // Journal of Oleo Science. 2018. Vol. 67, № 4. P. 445–453. DOI: 10.5650/jos.ess17176.

9. Contribution of myofibril filament disassembly to textural deterioration of ice-stored grass carp fillet: Significance of endogenous proteolytic activity, loss of heat shock protein and dephosphorylation of myosin light chain / L. Ge [et al.] // Food Chemistry. 2018. Vol. 269. P. 511–518. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.07.047.

10. Губський Ю. І. Біоорганічна хімія: підручник. Вінниця: Нова книга, 2005. 464 с.

11. Hydrolases of Halophilic Origin With Importance for the Food Industry / A. C. Flores-Gallegos [et al.] // Enzymes in Food Biotechnology. 2019. P. 197–219. DOI: 10.1016/b978-0-12-813280-7.00013-x.

12. Iverson S. J., Lang S. L., Cooper M. H. Comparison of the Bligh and Dyer and Folch methods for total lipid determination in a broad range of marine tissue // Lipids. 2001. Vol. 36, № 11. P. 1283-1287.

13. Palmer F. B. S. C. The extraction of acidic phospholipids in organic solvent mixtures containing water // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism. 1971. Vol. 231, № 1. P. 134–144. DOI: 10.1016/0005-2760(71)90261-x.

14. Developing a multispectral model for detection of docosahexaenoic acid (DHA) and eicosapentaenoic acid (EPA) changes in fish fillet using physarum network and genetic algorithm (PN-GA) method / J.-H. Cheng [et al.] // Food Chemistry. Vol. 270. P. 181–188. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.07.013.

15. Preliminary Validation of a High Docosahexaenoic Acid (DHA) and -Linolenic Acid (ALA) Dietary Oil Blend: Tissue Fatty Acid Composition and Liver Proteome Response in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Smolts / W. G. Nuez-Ortín [et al.] // PLoS ONE. 2016. Vol. 11, № 8. e0161513. DOI: 10.1371/journal.pone.0161513.

16. Genetic effects of fatty acid composition in muscle of Atlantic salmon / S. Horn [et al.] // Genetics Selection Evolution. 2018. Vol. 50, № 1. DOI: 10.1186/s12711-018-0394-x.



ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ И ИЗМЕНЕНИЙ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ЛИПИДОВ СЁМГИ ПРИ ХРАНЕНИИ

Данченко Е. А., Яковейчук А. В., Здоровцева Л. Н., Данченко Н. Н.,
Майборода Д. А.

Аннотация - в статье приведены результаты исследования процессов пероксидного окисления и изменений жирнокислотного состава липидов семги при хранении в охлажденном состоянии. Установлено, что при хранении филе семги в охлажденном состоянии без консервантов на фоне микробиологической порчи антиоксидантная активность филе достоверно возрастает. Хранение соленой семги характеризуется перераспределением ненасыщенных жирных кислот на фоне падения антиоксидантной активности. Установлено достоверное повышение содержания олеиновой и арахидоновой кислот и снижение содержания незаменимых линолевой, линоленовой, а также докозагексаеновой кислот.

Ключевые слова: пероксидное окисление, антиоксидантная активность, жирнокислотный состав, незаменимые жирные кислоты.

FEATURES OF PEROXIDATED OXIDATION PROCESSES AND CHANGES IN FATTY-ACID COMPOSITION OF SALT LIPID IN STORAGE

E. Danchenko, A. Yakovichuk, L. Zdorovtseva, N. Danchenko, D. Maiboroda

Summary

In the formation of consumer properties of fish products, oxidation-reducing and hydrolytic processes, which are intensified in fish raw materials after the cessation of blood circulation, are important. The nutritional value of salmon, as a representative of the salmon family, is primarily due to the specific fatty acid composition of its lipids and the high content of polyunsaturated fatty acids. However, the high content of polyunsaturated fatty acids at the same time is the cause of its rapid oxidative damage. The aim of the research was to find out the features of the processes of peroxide oxidation and changes in the fatty acid composition of salmon when stored in a cooled state. The results of the experiment proved that the lipids of salmon which used in experiment are characterized by a specific fatty acid composition with a high level of polyunsaturated fatty acids of linoleic, linolenic, eicosapentaenoic, docosatetraenoic. It has been established that during storage of salty salmon in the cooled state, the total content of unsaturated fatty acids during the experiment is maintained at a constant level. The main changes in the fatty acid composition are increase of the content of oleic and arachidonic acids, accompanied by a decrease in the content of essential linoleic, linolenic, and also docosahexaenoic acids. The established reduction of the content of the most important fatty acids (linoleic, linolenic and docosahexaenoic) leads to the feasibility of further research aimed at preserving the initial fatty acid composition of these fish raw material.

Keywords: peroxidation, antioxidant activity, fatty acid composition, essential fatty acids.