

## ПРОМЕНИ В ОКСИДАТИВНАТА СТАБИЛНОСТ НА ЛИПИДИТЕ И ПРОТЕИНИТЕ ПО ВРЕМЕ НА СЪХРАНЕНИЕ НА МЕСО ОТ АГНЕТА, ПОЛУЧАВАЛИ РАЗЛИЧЕН ИЗТОЧНИК НА ПРОТЕИН В ДАЖБАТА

ТЕОДОРА ПОПОВА, ПЕНКА МАРИНОВА  
Институт по животновъдни науки - Костинброд

Оксидацията е обичаен процес, протичащ по време на съхранението на месото и неговата преработка и представлява един от основните фактори за негативни промени в качеството на месото (Morrissey et al., 1998). Докато живият организъм разполага с относително висок антиоксидантен капацитет, то при превръщането на мускулната тъкан в месо съществуват условия на повишен оксидативен стрес и ниска антиоксидантна активност, които благоприятстват окислителните реакции. Оксидацията, която протича *post mortem*, по време на съхранението на месото води до изменения в двата му основни компонента – липиди и протеини. Приема се, че главна причина за измененията в цвета и вкуса на месото и месните продукти е липидната оксидация (Morrissey et al., 1998). В резултат на нея се формират различни продукти, главно алдехиди, някои от които и с канцерогенно влияние за човешкия организъм. Протеините на мускулната тъкан биват също атакувани от свободните радикали *in vivo* и *in vitro*, като тяхната оксидация води до негативни промени във органолептичните и функционалните свойства на месото, тъй като причинява загуба на есенциални аминокиселини и намаляване на усвояемостта (Xiong, 2000). Една от най-значимите промени в протеините в резултат на оксидацията е образуването на карбонили (Lund et al., 2011; Requena et al., 2003), а тяхното количество се използва за индикатор на протеинова оксидация в биологичните системи и храните.

Целта на изследването бе да се установят оксидационните изменения на липидите и протеините в месото на агнета, в зависимост от източника на получавания протеин в дажбата и продължителността на съхранение.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Опитът беше проведен с агнета от стадото Синтетична популация българска млечна в ИЖН - Костинброд. Формирани бяха три групи мъжки агнета с участие в дажбата на слънчогледов шрот, рапичен шрот и изсушено спиртоварно царевично зърно с разтворим остатък (DDGS). Количеството концентратна смеска, която получаваха агнетата беше по 560 g дневно в началото на опита и бе увеличавано постепенно до 910 g дневно на агне,

а съставът ѝ е посочен в табл. 1. Животните бяха включени в опит на 60 - дневна възраст със средно живо тегло 14.5 kg. Продължителността на експеримента бе 90 дни, като за този период агнетата достигнаха 37 kg. След клането на агнетата, 24h *post mortem*, *m. Semimembranosus* и *m. Supraspinatus* бяха отпрепарирани от лявата половина на всички трупчета и бяха взети проби за изследване на липидната оксидация чрез измерване на количество реактивните към тиобарбитурова киселина субстанции (малондиалдехид) по метода на Lynch и Frei (1993), модифициран от Mercier et al. (1998) и съдържанието на карбонили, получени в резултат на окислението на протеините (Oliver et al., 1987). Пробите за изследване на липидната и протеинова оксидация по време на съхранение бяха поставени в подноси, обвити с олио и съхранявани 6 дни при температура 4°C, като количеството на малоновия диалдехид и карбонилните субстанции бе определяно на 24 – ия час, 48 – ия час и на 6-ия ден от съхранението.

За статистическа обработка на получените резултати бе използван програмният пакет JMP, v.7. Направен беше двуфакторен дисперсионен анализ за оценка на влиянието на източника на протеин в дажбата и типа мускул върху формирането на продуктите на липидната и протеиновата оксидация по време на хладилно съхранение. За оценка на динамиката на оксидационните изменения бе приложен еднофакторен дисперсионен анализ.

### РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

**Промени в окислителната стабилност на липидите.** Резултатите, представени в табл.2, показват достоверно влияние на източника на протеин в дажбата върху оксидацията на липидите в мускулите на 24 - ия час ( $P<0.01$ ) и 6-тия ден ( $P<0.05$ ). По време на хладилното съхранение с най - ниски стойности на продуктите на оксидация са пробите от животните, получавали рапичен шрот към дажбата, докато с най - високи е групата, поемала DDGS. Получените резултати могат да бъдат обяснени с мастнокиселинния състав на дажбите, с които са изхранвани агнетата. Фуражът с включен спиртоварен остатък се характеризира с относително по - ви-

Таблица 1. Компонентен състав на дажбата на трите групи агнета  
Table 1. Diet composition

Компонент, % Ingredient, %	Група Group		
	Слънчогледов шрот Sunflower meal	Рапичен шрот Rapeseed meal	DDGS
Царевица Corn	17.17	16.99	6.67
Тритикале Triticale	17.17	16.99	16.68
Слънчогледов шрот Sunflower meal	26.33		
Рапичен шрот Rapeseed meal		27.19	
DDGS			37.58
Креда Lime	2.35	1.93	1.43
Дикалциев фосфат Dicalcium phosphate	0.14	0.45	1.87
Витаминен премикс Vitamin premix	0.19	0.2	0.2
Ливадно сено Hay	36.65	36.25	35.57

соко съдържание на полиненаситени мастни киселини (C18:2). Установено е достоверно различие в количеството на продуктите на оксидация между двата мускула на 48 - ия час от съхранението ( $P<0.05$ ). С изключение на 24 - ия час при останалите интервали на измерване *m. Semimembranosus* се характеризира с по - високи стойности на субстанциите, реактивни към тиобарбитурова киселина. Това би могло да се обясни с по-високото съдържание на полиненаситени мастни киселини в този мускул, в сравнение с *m. Supraspinatus* на агнетата от проведения експеримент (непубликувани данни).

Динамиката на промените на липидната оксидация в *m. Semimembranosus* (фиг. 1) показват по-съществени изменения във формирането на реактивни към тиобарбитурова киселина субстанции при групите, получавали с дажбата слънчогледов и рапичен шрот. При първата група различията в количеството им са достоверни между 24 - ия и 48 - ия час ( $P<0.05$ ), както и между 24 - ия час и 6-ия ден. При животните от групата, получавала рапичен шрот в дажбата количеството на малоновия диалдехид нараства по време на съхранението, като различията са достоверни между 24 - ия час и 6-ия ден ( $P<0.05$ ).

При *m. Supraspinatus* (фиг. 2) влияние на продължителността на съхранение се установява само при животните от групата, получавала с дажбата слънчогледов шрот, като различията са достоверни между 24 - ия час и 6-ия ден ( $P<0.05$ ). Липидната оксидация протича по

сходен начин и при двата мускула единствено в пробите от животните от групата, получавала DDGS, докато при другите групи оксидационните изменения протичат по противоположен начин.

По време на хладилно съхранение на мускулите при някои от групите прави впечатление намаляването на количеството на продуктите на липидна оксидация, докладвано и в предишни наши експерименти. Подобно явление е наблюдавано и при други изследвания (**Przysiezna**, 2007) и може да се обясни с натрупването на други продукти на липидна оксидация, нереагиращи с тиобарбитуровата киселина, както и с невъзможността на малоновия диалдехид да реагира с протеините (**Melton**, 1983). За разлика от нас, **Petron et al.** (2007) наблюдават постоянно нарастване на продуктите на липидна оксидация по време на съхранение в продължение на 8 дни.

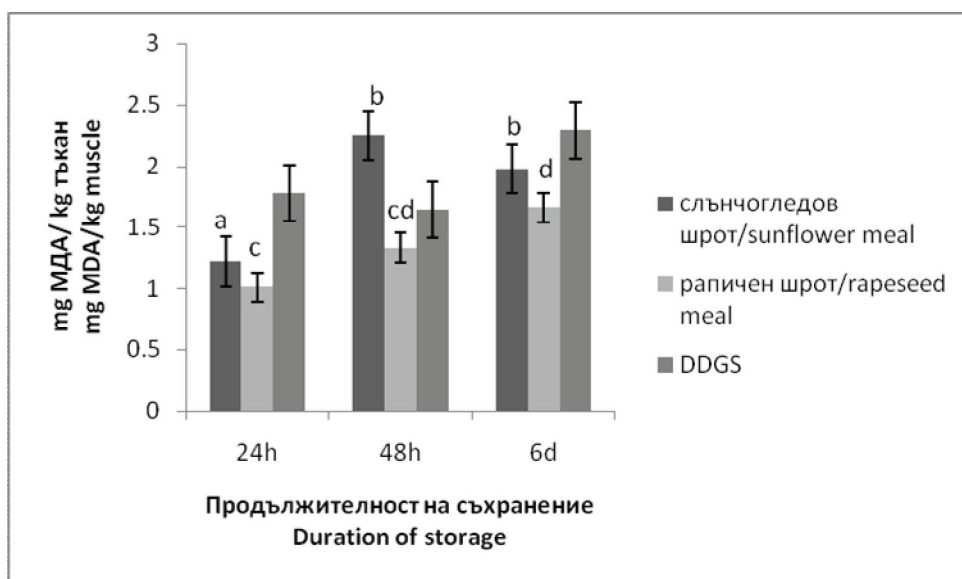
**Промени в окислителната стабилност на протеините.** Установява се достоверен ефект на дажбата ( $P<0.05$ ) върху протеиновата оксидация на мускулите на 6-ия ден от съхранението (табл. 3). С най-високи стойности на карбонилите е групата, получавала рапичен шрот, докато с най-ниски е тази, с включен DDGS към дажбата. Достоверно влияние на типа на мускула се установява на 48-мия час от съхранението ( $P<0.001$ ), а с изключение на 24 - ия час стойностите на карбонилите тук остават по-ниски при *m. Supraspinatus*. Различните стойности на карбонилите в двата мускула се дължат на

Таблица 2. Влияние на компонентния състав на дажбата и вида мускул върху липидната оксидация в процес на съхранение при агнета  
Table 2. Influence of the diet and the muscle type on the lipid oxidation during storage in lambs

Продължителност Duration	Група Group		Мускул Muscle			Влияние на факторите Influence	
	Слънчогледов шрот Sunflower meal	Рапичен шрот Rapeseed meal	DDGS	<i>m. Semimembranosus</i>	<i>m. Supraspinatus</i>	Група Group	Мускул Muscle
			SE			Взаимодействие Interaction	
24h	1.11	1.10	1.82	1.34	1.36	**	NS
48h	1.71	1.22	1.58	1.74	1.26	NS	**
6 d	1.80	1.53	2.19	1.97	1.70	*	NS

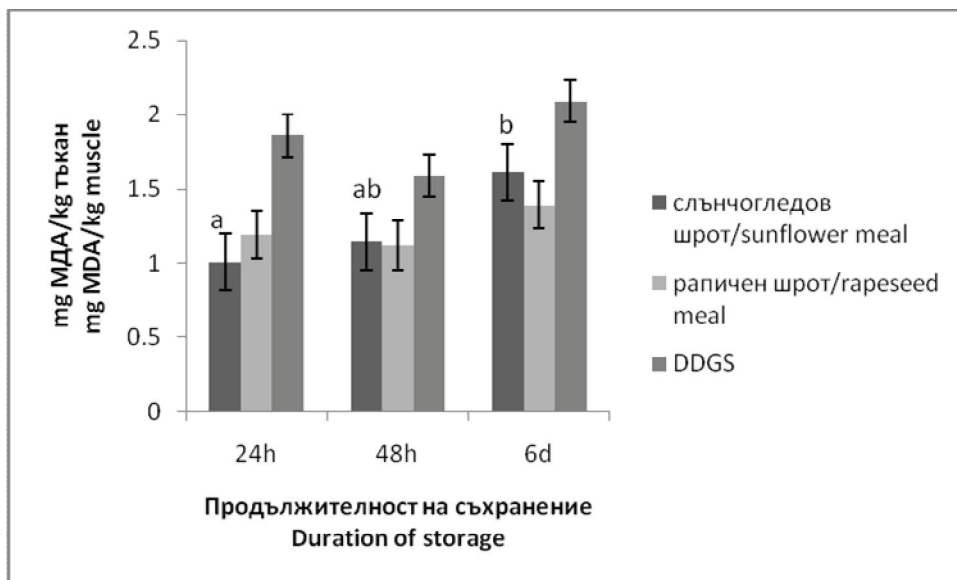
Таблица 3. Влияние на компонентния състав на дажбата и вида мускул върху протеиновата оксидация в процес на съхранение при агнета  
Table 3. Influence of the diet and muscle type on the protein oxidation during storage in lambs

Продължителност Duration	Група Group		Мускул Muscle			Влияние на факторите Influence	
	Слънчогледов шрот Sunflower meal	Рапичен шрот Rapeseed meal	DDGS	<i>m. Semimembranosus</i>	<i>m. Supraspinatus</i>	Група Group	Мускул Muscle
			SE			Взаимодействие Interaction	
24h	5.13	5.48	4.96	4.55	5.83	NS	NS
48h	3.75	4.47	4.95	5.26	3.49	NS	***
6 d	8.59	12.49	8.7	10.41	8.7	*	NS



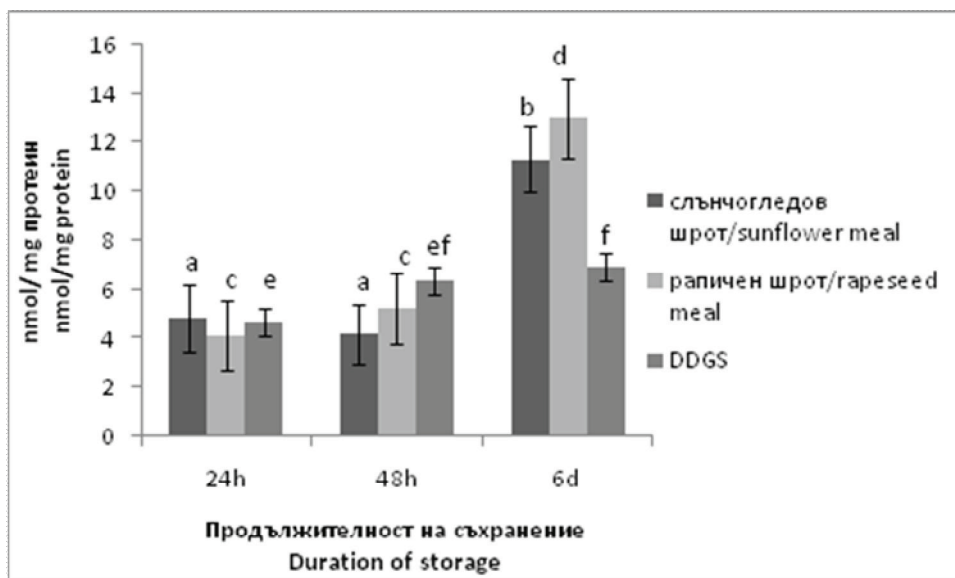
Фиг. 1. Динамика на промени в липидната оксидация по време на съхранение на *m. Semimembranosus* при агнета (в рамките на една група, интервалите на измерване свързани с различни буквени означения са статистически различни при  $P < 0.05$ )

Fig. 1. Dynamics of changes in the lipid oxidation during storage of *m. Semimembranosus* in lambs (in a group, the intervals connected with different letters are statistically different,  $P < 0.05$ )



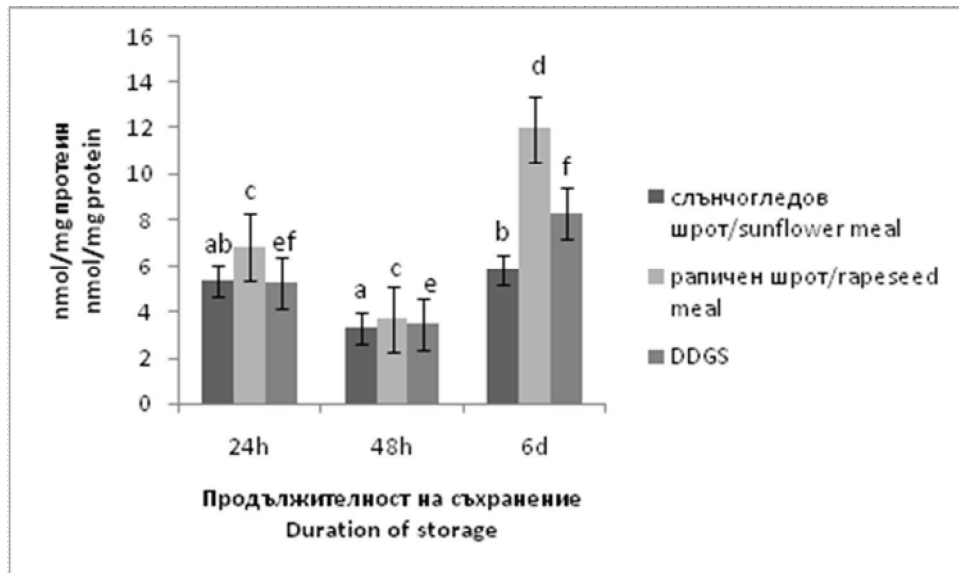
Фиг. 2. Динамика на промени в липидната оксидация по време на съхранение на *m. Supraspinatus* при агнета (в рамките на една група, интервалите на измерване свързани с различни буквени означения са статистически различни при  $P < 0.05$ )

Fig. 2. Dynamics of changes in the lipid oxidation during storage of *m. Supraspinatus* in lambs (in a group, the intervals connected with different letters are statistically different,  $P < 0.05$ )



Фиг. 3. Динамика на промени в протеиновата оксидация по време на съхранение на *m. Semimembranosus* при агнета (в рамките на една група, интервалите на измерване свързани с различни буквени означения са статистически различни при  $P < 0.05$ )

Fig. 3. Dynamics of changes in the protein oxidation during storage of *m. Semimembranosus* in lambs (in a group, the intervals connected with different letters are statistically different,  $P < 0.05$ )



Фиг. 4 . Динамика на промени в протеиновата оксидация по време на съхранение на *m. Supraspinatus* при агнета (в рамките на една група, интервалите на измерване свързани с различни буквени означения са статистически различни при  $P < 0.05$ )

Fig. 4. Dynamics of changes in the protein oxidation during storage of *m. Supraspinatus* in lambs (in a group, the intervals connected with different letters are statistically different,  $P < 0.05$ )

метаболитния тип на влакната, който определя с голяма степен постморталните изменения на протеините и податливостта им към денатурация. Според **Klont et al.** (1998) и **Lawrie**, (1998) мускулите, по-богати на гликолитични влакна, претърпяват по-бърз спад на рН и следователно по-интензивна денатурация, отколкото мускулите с преобладаващ оксидативен тип на влакната. Според **Filgueras et al.** (2010) остатъчният гликоген също оказва влияние за по-интензивна оксидация на протеините. Тенденциите в протичането на протеиновата оксидация съвпадат с тези на липидната.

При изследване на динамиката на развитие на протеиновата оксидация при *m. Semimembranosus* (фиг. 3) се установява еднаква тенденция в натрупването на карбонили и при трите групи, като количеството им нараства в процес на съхранение. Достоверни различия ( $P < 0.05$ ) съществуват главно между първия и последния интервал на измерване, при който и стойността на образуваните карбонилни субстанции е най-висока.

При *m. Supraspinatus* също се установява аналогично протичане на протеиновата оксидация при трите групи (фиг. 4). За разлика от *m. Semimembranosus*, където стойностите на карбонилите нарастват във времето, тук се наблюдава намаляване на тяхното количество на 48 - ия час и рязко увеличение на 6 - ия ден. Това води и до достоверни различия в карбонилите между тези два интервала и при трите групи животни. Нарастването на карбонилите по време на съхранение е наблюдавано в изследвания на **Petron et al.** (2007). Оксидацията на протеините *post mortem* може да се отдаде на спада в стойностите на рН. **Srinivasan et al.** (1996) установяват повишена оксидация на миофибриларните протеини на говеждо месо, определена по метода използван и в нашето изследване след спад на рН от 7 до 5.5 и последващо съхранение при 0°C. Според **Caughley and Watkins**, (1985) високата концентрация на водородни йони благоприятства редоксикъла на метмиоглобина и следователно неговото прооксидантно действие. Други явления, свързани с ниското рН, като агрегация, денатурация и намалена разтворимост също могат да бъдат причина за оксидативните изменения на протеините в месото (**Estevez**, 2011). Освен тях измененията в клетъчното разделяне, освобождаването на желязо и окислителни ензими, както и липидната оксидация *post mortem* са също причина за образуването на карбонили и увеличаването им в процес на съхранение. **Martinaud et al.** (1997) съобщават за значително повишение на карбонилите при съхранение на говеждо месо при хладилни условия в продължение на 10 дни, а по-късно подобни резултати са получени и при агнета (**Petron et al.**, 2007; **Santé-Lhoutellier et al.**, 2008), прасета (**Herring et al.**, 2010; **Lund et al.**, 2007; **Ventanas et al.**, 2006) и птици (**Rababah et al.**, 2004; **Zhang et al.**, 2011).

## ИЗВОДИ

В условията на проведеният опит се установи, че включването на различен източник на протеин в дажба-та на агнетата води до достоверни различия в протичането на липидната и протеиновата оксидация в мускулите по време на съхранение, като по - подчертани са измененията на 6 - ия ден от съхранението с достигане на максимални стойности на продуктите на оксидация. Установено е достоверно влияние на вида на мускула върху оксидационните процеси, водещо до изменения в количествата на реактивните към тиобарбитурова киселина субстанции и карбонилни съединения на 48 - ия час от съхранението.

Наблюдават се различия в динамиката на натрупване на продуктите на липидна оксидация по време на съхранение главно при групата с включен слънчогледов шрот, с достоверно увеличение при двата мускула между 24 - ия час и 6 - ия ден от съхранението.

Установяват се различия в динамиката на протичане на оксидационните процеси в протеините при двата мускула от трите групи агнета, характеризираща се с достоверно увеличение ( $P < 0.05$ ) на количеството на карбонилите между 24 - ия час и 6 - ия ден от съхранението на *m. Semimembranosus* и между 48 - ия час и 6 - ия ден на *m. Supraspinatus*.

## ЛИТЕРАТУРА

- 1. Caughley, W. S., J. A. Watkins**, 1985. Oxy radical and peroxide formation by hemoglobin and myoglobin, in: CRC Handbook of Methods for Oxygen Radical Research, R.A. Greenwald, ed., CRC Press, Boca Raton, FL.
- 2. Estevez, M.**, 2011. Protein carbonyls in meat systems: A review. *Meat Sci.* 89, 259–279.
- 3. Filgueras, R. S., P. Gatellier, L. Aubry, A. Thomas, D. Bauchart, D. Durand**, 2010. Colour, lipid and protein stability of *Rhea americana* meat during air- and vacuum-packaged storage: Influence of muscle on oxidative processes. *Meat Sci.*, 86, 665–673.
- JMP v. 7 SAS Institute Inc. 2007, Cary, NC
- 5 Herring, J. L., S. C. Jonnalongadda, V. C. Narayanan, S. M. Coleman**, 2010. Oxidative stability of gelatin coated pork at refrigerated storage. *Meat Sci.*, 85, 651–656.
- 6. Klont, R. E., L. Brocks, G. Eikelenboom**, 1998. Muscle fibre type and meat quality. *Meat Sci.*, 49: 219–229.
- 7. Lawrie, R. A.**, 1998. *Meat Science*, 6th ed.; Woodhead Publishing: Cambridge, U.K.
- 8. Lund, M. N., R. Lametsch, M. S. Hvii, O. N. Jensen, L. H. Skibsted**, 2007. Highoxygen packaging atmosphere influences protein oxidation and tenderness of porcine longissimus dorsi during chill storage. *Meat Sci.*, 77, 295–303.
- 9. Lund, M. N., M. Heinonen, C. P. Baron, M. Estevez**,



2011. Protein oxidation in muscle foods: A review. *Molecular Nutr. Food Res.*, 55, 83–95.
10. Lynch, S. M., B. Frei, 1993. Mechanisms of copper- and iron-dependent oxidative modification of human low-density lipoprotein. *J. Lipid Res.*, 34, 1745–1751.
11. Martinaud, A., Y. Mercier, P. Marinova, C. Tassy, P. Gatellier, M. Renner, 1997. Comparison of oxidative processes on myofibrillar proteins from beef during maturation and by different model oxidation systems. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 2481–2487.
12. Melton, S., 1983. Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. *Food Technol.*, 37, 105–110.
13. Mercier, Y., P. Gatellier, M. Viau, H. Remignon, M. Renner, 1998. Effect of dietary fat and vitamin E on colour stability and on lipid and protein oxidation in turkey meat during storage. *Meat Sci.*, 48, 301–318.
14. Morrissey, P. A., P. H. A. Sheehy, K. Galvin, J. P. Kerry, D. J. Buckley, 1998. Lipid stability in meat and meat products. *Meat Sci.*, 49, S73–S86.
15. Oliver, C. N., B. W. Ahn, E. J. Moerman, S. Goldstein, E. R. Stadtman, 1987. Aged-related changes in oxidized proteins. *J. Biol. Chem.*, 262, 5488–5491.
16. Petron, M. J., K. Raes, E. Claeys, M. Lourenço, D. Fremaut, S. De Smet, 2007. Effect of grazing pastures of different botanical composition on antioxidant enzyme activities and oxidative stability of lamb meat. *Meat Sci.*, 75, 737–745.
17. Przysieszna, E., 2007. Effect of chill storage time on proteolysis and lipid oxidation in vacuum-packaged muscles from duck. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 57, 457–463.
18. Rababah, T., K. Over, N. S. Hettiarachchy, R. Horax, S. Eswaranandam, B. Davis, B., 2010. Infusion of plant extracts during processing to preserve quality attributes of irradiated chicken breasts over 9 months storage at  $-20^{\circ}\text{C}$ . *J. Food Proc. Pres.*, 34, 287–307.
19. Requena, J. R., R. L. Levine, E. R. Stadtman, 2003. Recent advances in the analysis of oxidized proteins. *Amino Acids*, 25, 221–226.
20. Santé-Lhoutellier, V., E. Engel, L. Aubry, P. Gatellier, 2008. Effect of animal (lamb) diet and meat storage on myofibrillar protein oxidation and in vitro digestibility. *Meat Sci.*, 79, 777–783.
21. Srinivasan, S., Y. L. Xiong, E. A. Decker, 1996. Inhibition of protein and lipid oxidation in beef heart surimi-like material by antioxidants and combinations of pH, NaCl and buffer type in the washing media. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 119–125.
22. Ventanas, S., M. Estévez, J. F. Tejada, J. Ruiz, 2006. Protein and lipid oxidation in Longissimus dorsi and dry cured loin from Iberian pigs as affected by crossbreeding and diet. *Meat Sci.*, 72, 647–655.
23. Xiong, Y. L., 2000. Protein oxidation and implications for muscle food quality. In: E. Decker, C. Faustman, & C. J. Lopez-Bote (Eds.), *Antioxidants in Muscle Foods* (pp. 85–112). New York: John Wiley & Sons, Inc.
24. Zhang, W., S. Xiao, E. J. Lee, D. U. Ahn, 2011. Consumption of oxidized oil increases oxidative stress in broilers and affects the quality of breast meat. *J. Agric. Food Chem.*, 59, 969–974.

CHANGES IN THE OXIDATIVE STABILITY  
IN LIPIDS AND PROTEINS DURING STORAGE  
IN MEAT OF LAMBS FED DIFFERENT PROTEIN SOURCE IN THE DIET

*T. Popova, P. Marinova*  
*Institute of Animal Sciences – Kostinbrod*

Changes in the lipid and protein oxidative stability during refrigerated storage are studied in *m. Semimembranosus u m. Supraspinatus* in male lambs fed sunflower meal, rapeseed meal and dried distillers' grain with solubles (DDGS). The diet composition influenced significantly the amount of lipid oxidation products on the 24 h ( $P < 0.01$ ) and 6-th day ( $P < 0.05$ ) as well as the carbonyl compounds on the 6-th day of storage ( $P < 0.05$ ). The type of the muscle affected significantly the oxidative changes of the lipids and proteins as in both components the differences in the accumulated substances are significant on the 48<sup>th</sup> h of the storage ( $P < 0.01$ ; 0.001).

The dynamics of the lipid oxidation in both muscles shows differences ( $P < 0.05$ ) in the amount of the oxidation products in the group fed sunflower meal between 24<sup>th</sup> h and 6<sup>th</sup> day of storage. In the three groups increase in the contents of the carbonyls between 24h and 6<sup>th</sup> day in *m. Semimembranosus* ( $P < 0.05$ ) as well as between 48<sup>th</sup> h and 6<sup>th</sup> day ( $P < 0.05$ ) in *m. Supraspinatus* were found.

**Key words:** lambs, muscles, oxidation, sunflower meal, rapeseed meal, DDGS  
tpopova@yahoo.com