

A CHEMILUMINESCENT STUDY INTO THE EFFECT OF LIPIDS PEROXIDATION OF A BLOOD-FAT EMULSION

Yu.F. ZAYAS, G.I. KLEBANOV, L.K. ZYRINA

VNIIMP, Moscow, USSR

A method has been developed for blood discoloration by means of mechanical dispersing in a hydrodynamic sonic installation, this method allowing the preparation of the emulsions consisting of blood, fat, water and sodium caseinate.

Changes in lipids peroxidation (LPO) in blood-fat emulsion with varying sonication time, have been studied. The following components are added to the emulsion: beef blood - 20%, pork lard - 45%, sodium caseinate - 5%, water - 30%. LPO was studied in emulsions sonicated for 1, 3, 5, 7, and 9, 12, 15 minutes.

Changes in LPO and antioxidant levels were studied by means of a chemiluminescent method. It has been found that τ -period increases with sonication time, this evidencing growing antioxidative activity (AOA). Changes in AOA are, however, not directly proportional to sonication time. This is due to the opposite effect of the components contained in emulsions, e.g., blood and sodium caseinate, upon LPO.

Blood hemoglobin and its derivatives are effective catalysts of lipid oxidation. Sodium caseinate in emulsions inhibits LPO which is a strong stabilizer which ensures the formation of lipoprotein envelopes, retarding oxidative processes in emulsified fats, on the surface of fat globules.

It has been determined that the higher emulsion stability and dispersity, the lower the rate of hydroperoxides formation, i.e. LPO rate. This is supported by changing amplitude of quick flash, as well as by the amount of active products towards thiobarbituric acid.

ETUDE DE L'INFLUENCE DU TRAITEMENT DE SON DE LA PEROXYDATION DES LIPIDES DE L'EMULSION DE SANG ET DE GRAISSE PAR LA METHODE DE CHIMILUMINESCENCE

U.F. ZAIASS, G.I. KLEBANOV, L.K. ZIRINA

VNIIMP, Moscou, URSS

On a élaboré une méthode pour la décoloration du sang à l'aide de l'installation hydrodynamique de son par la dispersion mécanique, que permet à recevoir des émulsions composant du sang, de la graisse, de l'eau et du caséinate de sodium. On a étudié le changement de la peroxydation des lipides de l'émulsion de sang et de graisse au différent traitement de son.

On a introduit en émulsion les composant suivants %: sang - 20, graisse de porc fondue - 45; caséinate de sodium - 5; eau - 30. On a étudié la peroxydation des lipides des échantillons d'émulsion sonorisant pendant 1, 3, 5, 7 et 9, 12, 15 minutes. On a étudié le changement de la peroxydation des lipides et la présence d'antioxydant par la méthode de chimiluminescence. On a constaté l'agrandissement de la période τ à la suite de la durée du traitement de son, cela marque l'augmentation de l'activité d'antioxydant est improportionnel à la durée de la traitement de son. Cela s'explique par l'influence opposée des composant comme le sang et le caséinate de sodium à la peroxydation des lipides.

L'hémoglobine du sang et ses dérivés sont des catalyseurs intenses de l'oxydation des lipides. La présence du caséinate de sodium à l'émulsion empêche la peroxydation des lipides qui sont les stabilisateurs à effet et qui font les enveloppes de lipoprotéine à la surface des globine gras, qui à son tour empêchent les procédés d'oxydation aux graisses d'émulsification.

On a constaté que plus haut la résistance et la dispersité d'émulsion plus bas la vitesse de la création des hydroperoxides qui est la vitesse de la peroxydation des lipides.

STUDIUM DES EINFLUSSES DER SCHALLBEHANDLUNG AUF DIE PEROXYDATION VON LIPIDEN IN DER BLUT-FETT-EMULSION MIT DER CHEMILUMINESZENZMETHODE

Yu. F. SAJAS, G. I. KLEBANOW, L. K. SJIRINA

WNIIMP, Moskau, UdSSR

Es wurde eine Methode zur Blutentfärbung mittels der mechanischen Dispergierung mit einer hydrodynamischen Schallanlage ausgearbeitet, die es ermöglicht, Emulsionen aus Blut, Fett, Wasser und Natriumkaseinat herzustellen.

Die Veränderungen der Lipidenperoxydation (LPO) in der Blut-Fett-Emulsion wurden bei unterschiedlicher Dauer der Schallbehandlung untersucht. Die Emulsion wurde aus folgenden Komponenten zusammengesetzt: das Rinderblut - 20%; das gelassene Schweinefett - 45%; das Natriumkaseinat - 5% und das Wasser - 30%. Zum Studium der Lipidenperoxydation wurden die Emulsionsmuster 1, 3, 5, 7, 9, 12 und 15 Minuten beschallt.

Die Veränderung der Lipidenperoxydation und das Vorkommen von Antioxydantien wurden mit der Chemilumineszenzmethode untersucht. Es wurde festgestellt, daß bei der Verlängerung der Beschallungsdauer das Anwachsen der τ -Periode beobachtet wird, was von der Erhöhung der Antioxydationsaktivität zeugt. Die Veränderung der Antioxydationsaktivität ist aber der Beschallungsdauer nicht proportionell. Das ist mit der Gegenwirkung von Emulsionsbestandteilen, insbesondere von Blut und Natriumkaseinat, auf die Lipidenperoxydation zu erklären.

Das Bluthämoglobin und seine Verbindungen stellen aktive Katalisatoren der Lipidenoxydation dar. Das Natriumkaseinat in der Zusammensetzung der Emulsion inhibiert die Lipidenperoxydation, weil es ein aktiver Stabilisator ist und feste Lipoproteinhüllen auf der Oberfläche von Fettkügelchen bildet, die die Oxydationsvorgänge in emulgierten Fetten hemmen.

Es wurde festgestellt, daß je höher die Festigkeit und der Dispersionsgrad der Emulsion liegen, desto niedriger die Geschwindigkeit der Bildung von Hydroperoxyden, d. h. die Geschwindigkeit der Lipidenperoxydation, ist.

Diese Annahme wird durch die Veränderung der Amplitude des momentanen Aufleuchtens sowie durch die Zahl von aktiven Produkten in bezug auf die Thiobarbitursäure bestätigt.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЗВУКОВОЙ ОБРАБОТКИ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ КРОВЕ-ЖИРОВОЙ ЭМУЛЬСИИ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫМ МЕТОДОМ

Ю.Ф. Заяс, Г.И. Клебанов, Л.К. Зырина

Всесоюзный научно-исследовательский институт мясной промышленности, Москва, СССР

Разработан метод для обезвреживания крови посредством механического диспергирования на гидродинамической звуковой установке, позволяющий получать эмульсии, состоящие из крови, жира, воды и казеината натрия.

Исследованы изменения перекисного окисления липидов (Пол) в крове-жировой эмульсии при различной продолжительности звуковой обработки. В состав эмульсии введены следующие компоненты, %: кровь к.р.с. - 20; жир свиной топленый - 45; казеинат натрия - 5; вода - 30. Исследовано Пол образцов эмульсии, озвученной в течение 1, 3, 5, 7 и 9, 12, 15 минут.

Изменение Пол и наличие антиоксидантов изучены хемилюминесцентным методом. Установлено, что по мере роста продолжительности звуковой обработки наблюдается увеличение τ -периода, что свидетельствует о повышении антиокислительной активности (АОА). Однако изменение АОА непропорционально продолжительности воздействия звуковой обработки. Это объясняется противоположным влиянием на Пол компонентов, содержащихся в эмульсии, в частности, крови и казеината натрия.

Гемоглобин крови и его производные являются сильными катализаторами окисления липидов. Наличие в составе эмульсии казеината натрия тормозит Пол, который является эффективным стабилизатором, обеспечивающим создание на поверхности жировых шариков прочных липопротеиновых оболочек, тормозящих окислительные процессы в эмульгированных жирах.

Установлено, что чем выше стойкость и дисперсность эмульсии, тем ниже скорость образования гидроперекисей, то есть скорость Пол.

Это положение подтверждается изменением амплитуды быстрой вспышки, а также количеством активных продуктов в отношении тиobarбитуровой кислоты.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЗВУКОВОЙ ОБРАБОТКИ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ
КРОВЕ-ЖИРОВОЙ ЭМУЛЬСИИ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫМ СПОСОБОМ

Д.Ф.Заяс, Л.К.Зырина, Г.И.Клебанов

Всесоюзный научно-исследовательский институт мясной промышленности, Москва, СССР

Разработан физический способ обесцвечивания цельной крови посредством получения тонкодисперсной эмульсии, содержащей жир, кровь, казеинат натрия и воду /1, 2/. Такой способ обесцвечивания, в отличие от предложенных другими авторами /3/, обеспечивает получение необходимого эффекта без использования химических реагентов. А введение в состав фарша колбасных изделий жира в эмульгированном состоянии повышает пищевую ценность продукта, влагоудерживающую способность фарша и выход колбасных изделий.

В процессе изготовления крове-жировой эмульсии необходимым условием является процесс диспергирования, который достигается звуковым воздействием.

Эмульгирование жира звуковой обработкой приводит к его физико-химическим изменениям, проявляющимся в деструктивных перестройках и перекисном окислении липидов (ПОЛ) /4, 5/. Скорость ПОЛ определяется многими причинами: составом, наличием факторов ингибирующих и индуцирующих скорость процесса, температурой, наличием кислорода, антиоксидантов и т.д.

В данной работе исследовали влияние продолжительности эмульгирования на гидродинамической установке и состава компонентов эмульсии на ПОЛ. Для этого изучали скорость перекисного окисления липидов и их суммарную антиокислительную активность хемилюминесцентным методом. Характерной особенностью ПОЛ является накопление в ходе реакций свободных радикалов, рекомбинация которых сопровождается возбуждением состояний молекул с последующей реализацией высвечивания энергии этих состояний в виде кванта света хемилюминесценции. Интенсивность хемилюминесценции в основном пропорциональна количеству свободных радикалов и соответственно скорости окисления липидов /6, 7/.

Из-за малой интенсивности это свечение получило название сверхслабого. Для его измерения требуются чувствительные приемники света - фотоумножители.

Достоинством хемилюминесцентного метода исследований перекисного окисления липидов является его относительная простота, быстрота проведения анализа, возможность использования растворов и небольшого количества материалов.

Исследования проводили на установке, схема которой приведена на рис. 1. Раствор липидов готовили в метанолхлороформе концентрацией 50 мг/мл и в количестве 15 мл помещали в кювету, расположенную под фотоумножителем. В процессе измерения для равномерной диффузии кислорода липиды перемешивали мешалкой.

Сначала регистрировали спонтанное свечение (рис. 2). Затем в кювету через специально смонтированные полиэтиленовые трубочки вводили 1 мл раствора $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ концентрацией 10^{-3} М, что сопровождалось резким усилением интенсивности свечения (быстрой вспышкой), которое регистрировалось самописцем. Интенсивность быстрой вспышки зависит от количества гидроперекисей, накопленных к моменту введения железа.

Антиокислительную активность (АОА) определяли на той же установке, но с термостатированной кюветой следующим образом: в термостатированную кювету помещали раствор линолевой кислоты концентрацией 100 мг/мл (в хлороформе). При помощи термостата температуру в кювете поддерживали на уровне $80^{\circ}C$. Происходило упаривание раствора до образования на дне кюветы тонкой пленки линолевой кислоты. Хемилюминесценция вначале была низкая, а затем резко возрастала. Время от начала измерения до резкого возрастания интенсивности хемилюминесцентного свечения (T_0) называют индукционным периодом.

В следующем опыте 10 мл изучаемых липидов в виде раствора в хлороформе вводили в рас-

E 3:4

твор линолевой кислоты, используя последний как растворитель. Затем определяли: хемиллюминесценцию, как в предыдущем опыте; время τ - от начала до резкого увеличения активности свечения, АОА - как отношение $\frac{\tau_0 - \tau}{P}$, где P - навеска липидов.

Для проведения эксперимента были изготовлены образцы эмульсии, имеющие один и тот же состав, подвергнутые эмульгированию на гидродинамической звуковой установке в течение 1, 3, 5, 7, 9, 12 и 15 мин. при постоянной мощности и частоте 11,5 кГц. Экстракцию липидов проводили петролейным эфиром в присутствии безводного сернокислого натрия с последующей отгонкой растворителя на ротационном испарителе.

Результаты и обсуждение

Данные, приведенные на рис. 3, показывают, что по мере увеличения продолжительности звуковой обработки наблюдается изменение τ -периода, носящее двухфазный характер:

на первой стадии (при 1, 3, 5, 7 мин.) - увеличение τ -периода, а затем уменьшение, свидетельствующее о снижении АОА липидов, что может быть следствием противоположного по своему действию на ПОЛ компонентов эмульсии - крови и казеината натрия.

Величина τ -периода в условных единицах представлена в таблице.

Введение крови в состав жировой эмульсии оказывает двойное влияние на ПОЛ: с одной стороны, пигменты крови - гемоглобин и его производные, содержащие гемовое железо, являются сильными катализаторами окисления липидов [8]; с другой - наличие в мембранах эритроцитов токоферола, обладающего свойствами сильного антиоксиданта, тормозит ПОЛ [9, 10].

Наличие в составе эмульсии казеината натрия, обладающего высокой антиокислительной способностью, приводит к торможению ПОЛ.

Т а б л и ц а

Изменение величины τ -периода и количества активных по отношению к тиобарбитуровой кислоте (ТБК) продуктов в зависимости от продолжительности эмульгирования

Продолжительность эмульгирования, мин.	τ - период., усл.ед.	Наличие ТБК активных веществ, ед.оптической плотности
0 (контр.)	0,62	1,18
1	1,53	1,45
3	3,18	1,52
5	6,08	1,38
7	7,10	1,20
9	6,12	1,38
12	5,57	1,35
15	5,71	1,38

Антиокислительная способность казеината натрия объясняется его высокими эмульгирующими свойствами, обеспечивающими как высокую степень дисперсности жировой фазы эмульсии, так и создание прочных адсорбционных липопротеиновых оболочек на поверхности жировых шариков, препятствующих их коалесценции. Наличие таких слоев обеспечивает не только стабильность эмульсии, но и является важным фактором торможения окислительных процессов в эмульгированных жирах. Кроме того, антиокислительные свойства казеината натрия объясняются, во-первых, тем, что он обладает способностью связывать двухвалентные ионы железа, с образованием малоактивных в каталитическом отношении компонентов и, во-вторых, за счет наличия SH-групп он обладает высокими антиокислительными свойствами по отношению к липидам.

Это положение подтверждается данными по определению скорости перекисного окисления липидов с помощью ТБК активных продуктов. Из рис. 4 видно, что по мере увеличения продолжи-

тельности эмульгирования на первых порах происходит увеличение, а затем резкий спад накопления продуктов ПОЛ, что свидетельствует о соответственном изменении скорости ПОЛ. Это можно объяснить тем, что в начале идет окисление свободного неэмульгированного жира, на поверхности частиц которого отсутствует защитный слой. С увеличением продолжительности озвучивания стабильность и дисперсность эмульсии возрастает, количество эмульгированной фазы увеличивается, образуются прочные адсорбционные липопротеиновые оболочки, которые препятствуют окислению липидов. Эта зависимость подтверждается ранее полученными данными /2/, свидетельствующими о том, что наиболее стабильная эмульсия с минимальными размерами частиц жировой фазы получена при продолжительности озвучивания 7 минут.

Изменение амплитуды быстрой вспышки (см. рис. 2) также подтверждает зависимость ПОЛ от степени стабильности и дисперсности эмульсии, а именно: в начале амплитуда вспышки увеличивается, так как скорость образования гидроперекисей выше, чем скорость их распада, однако с увеличением продолжительности озвучивания, обуславливающего повышение стабильности эмульсии, скорость образования гидроперекисей снижается и достигает минимального значения при продолжительности обработки 7 минут. После этого стабильность эмульсии несколько снижается, что сказывается на скорости увеличения ПОЛ, о чем свидетельствует величина амплитуды быстрой вспышки при 9, 12 и 15 мин. озвучивания.

ВЫВОДЫ

При получении эмульсии увеличение АОА и нарастание скорости ПОЛ в первый период идет за счет окисления свободного жира, не участвующего еще в образовании эмульсии.

Во втором периоде увеличение продолжительности звуковой обработки приводит к полному структурообразованию, максимальной дисперсности, что сопровождается образованием оболочек вокруг жировых частиц и вовлечением в регуляцию ПОЛ антиоксидантов крови.

Дальнейшее увеличение продолжительности звуковой обработки вследствие коалесценции частиц приводит к снижению дисперсности, повышению содержания свободного жира и, как следствие, к нарастанию скорости ПОЛ и снижению АОА.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ю.Заяс, Л.Зырина, А.Соколов. Физический метод осветления крови. "Мясная индустрия СССР", № 1, 1975, 20-22.
2. Ю.Заяс, Л.Зырина. Труды XXI Европ. конгр. работн. НИИ мясн. пром-сти. Швейцария, Берн. 1975.
3. В.Мицык и др. Автор. свид. А-22 I/06 № 289804 от 4/ХП-1969.
4. Hauser H. (1971) ВВРС 45(1049-52).
5. Rllin R.A. (1970) ВВА 210, 486.
6. Ю.А.Владимиров, А.И.Арчаков. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., "Наука", 1972, 176-177.
7. Г.И.Клебанов, В.П.Аристова, Г.А.Серебренникова. Труды ВНИИМ Б.36. "Совершенствование методов анализа качества молока и молочных продуктов", М., "Пищевая промышленность", 1973. 39-44.
8. Callow E.S. "J.Food Agric.", 3, 1952, 49-52.
9. Witting L.A. "J.Lipids", 2, 1967, 109-114.
10. Olcott H. Van aer Veen. "J.Lipids", 3, 1968, 331-336.

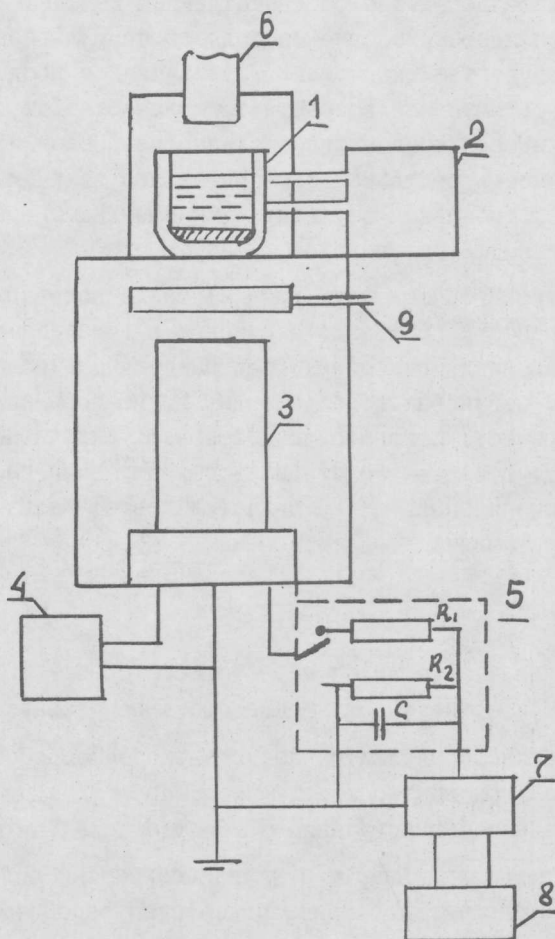


Рис. 1. Схема установки для измерения хемилюминесценции:
 1 - термостатированная стеклянная кювета для пробы; 2 - ультрагермостат марки ТС-16; 3 - фотоумножитель марки ФЭУ-37; 4 - высоковольтный стабилизатор напряжения ВС-22; 5 - делитель выходного напряжения; 6 - воздушная тяга; 7 - усилитель постоянного тока ЛПУ-01; 8 - электронный самопишущий потенциометр ЭСП-09; 9 - шторка фотоумножителя

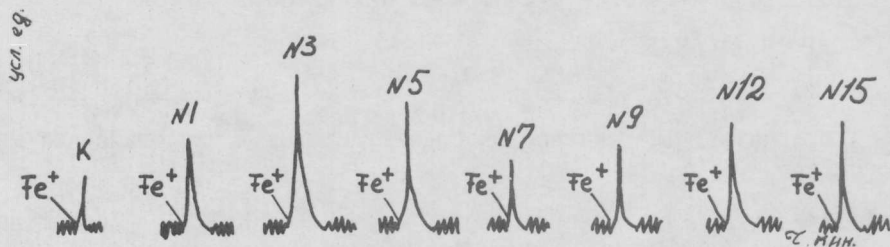


Рис. 2. Изменение амплитуды быстрой вспышки хемилюминесценции в зависимости от продолжительности эмульгирования

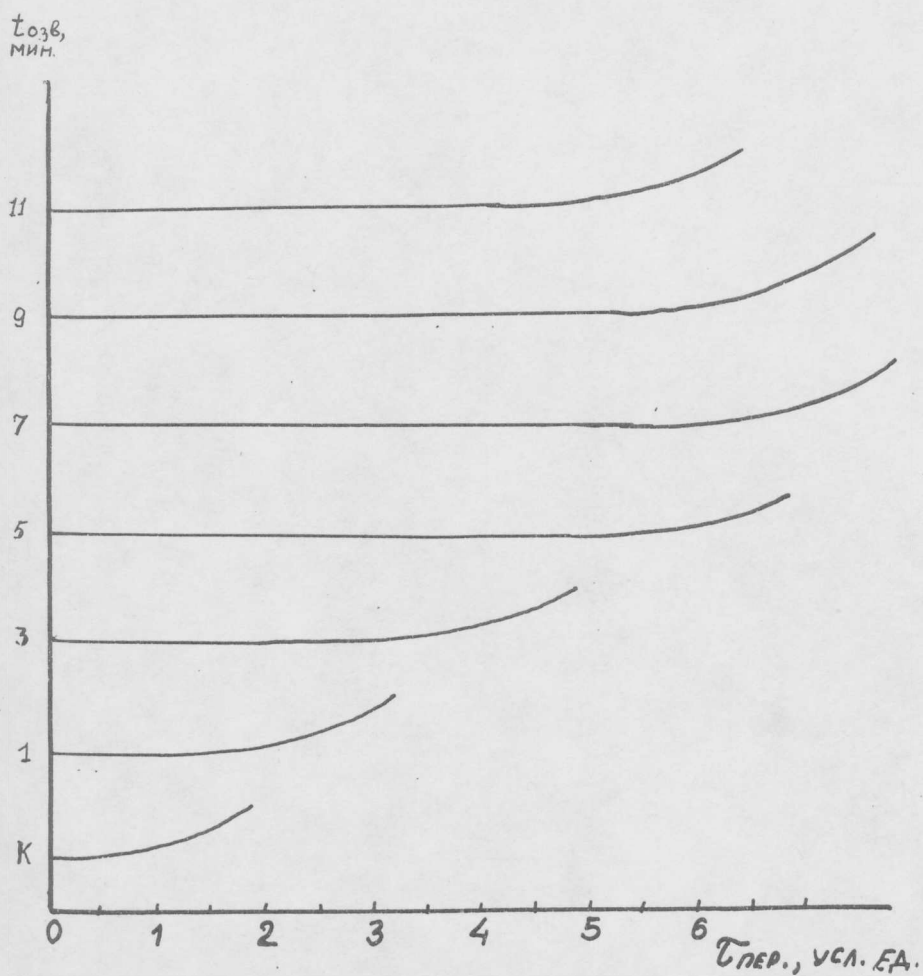


Рис. 3. Кинетические кривые изменения индукционного периода (τ) окисления жира в зависимости от продолжительности озвучивания (К - контроль)

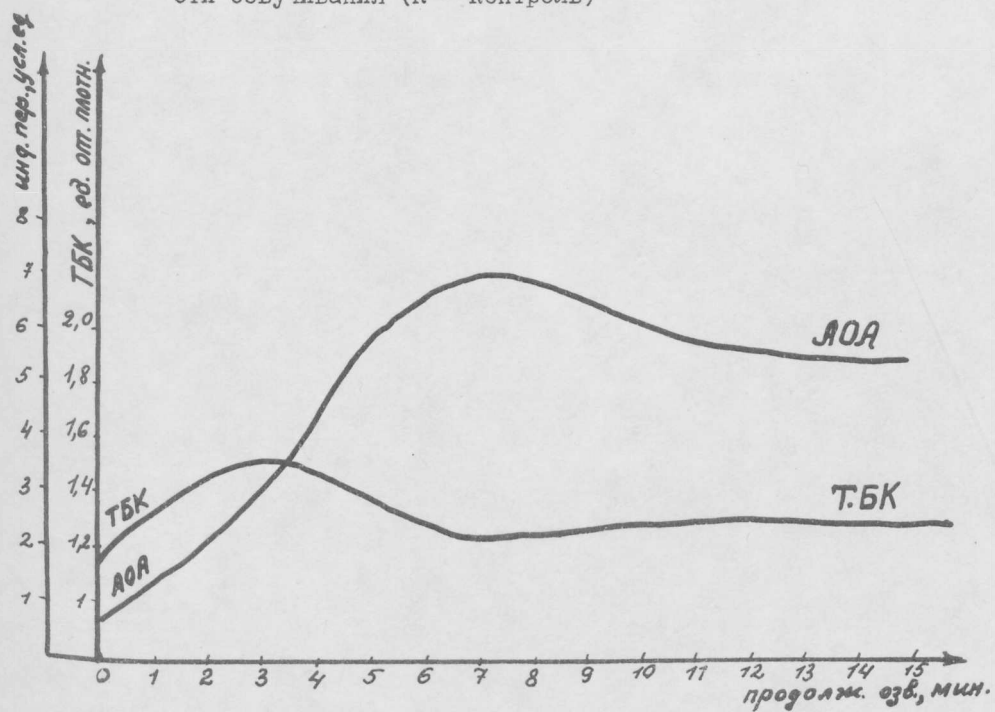


Рис. 4. Изменение АОА и ТБК активных продуктов липидов эмульсии в зависимости от продолжительности эмульгирования