

УГЛЕВОДОРОДЫ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ ГОВЯДИНЫ

Е.Н.ЛАЗАРЕВ, В.Н.СИМОНОВА, В.А.ГЕРАСИМОВА, Л.Д.ПАТРАКОВА, Н.А.АНТОНОВ

Институт советской торговли им.Ф.Энгельса, Ленинград, СССР

В отечественной и зарубежной литературе последних лет появляются сообщения об углеводородах растений и животных. Исследователи указывают на то, что содержание углеводородов в тканях невелико, но их роль в жизнедеятельности организмов весьма существенна [1-4]. В мышечной ткани говядины количество углеводородов колеблется от 40-50 мг/кг, до 100 мг/кг, в желтке куриных яиц - 30-50 мг/кг, в растительных маслах углеводороды составляют от 1,4,5].

Общеизвестно, что летучие углеводороды являются неотъемлемыми компонентами аромата пищевых продуктов: мяса, кофе, молока, сыров и т.д.; терпеноидные углеводороды растений являются главными компонентами "душистых масел". Всем живым системам присущи нормальные алканы. По мнению некоторых исследователей избыток н-алканов в кормах отрицательно сказывается на продуктивности сельскохозяйственных животных [2, 6, 7]. В организме н-алканы способны трансформироваться в карбоновые кислоты, которые, в свою очередь, снова могут переходить в н-алканы. В восках н-алканы, преимущественно длинноцепочные, входят в состав восков растений. Так восковая пленка на листьях капусты состоит главным образом из н-нонакозана, имеющего формулу $C_{29}H_{58}$. Основным углеводородом твердого воска кожицы яблок также является н-нонакозан. В растительных организмах н-нонакозан образуется за счет декарбоксилирования карбоновой кислоты с 30 атомами углерода [9]. Углеводороды восков, по-видимому, способствуют сохранению плодов и овощей. Некоторые авторы, например, отмечают увеличение содержания н-нонакозана при созревании и хранении растений [9, 10].

Большую роль в прижизненных и посмертных изменениях в мясе играют олефиновые углеводороды. Двойные связи в их молекулах способствуют быстрому окислению, поэтому повышенное содержание олефинов является неблагоприятным фактором. В мышечной ткани говядины содержание олефинов колеблется в пределах 30-50% от суммы углеводородов [4, 6].

Особое важное значение для жизнедеятельности организмов имеет сквален. По своей природе является тритерпеном или полиеном изопrenoидного строения, разветвленной цепью и 6 ненасыщенными двойными связями. Его формула $C_{30}H_{50}$. Сквален является важным компонентом липидов растений и животных. Углеводороды некоторых видов акул и китов на 90% состоят из сквалена [3]. Весьма низкие удельный вес и температура плавления углеводородов с разветвленной цепью, по-видимому, способствуют поддержанию липидов глубоководных животных и низкотемпературе жидком состоянии, обуславливая приспособление организма к высокому давлению и низким

температурам [8]. Сквален является основным предшественником для биосинтеза тритерпенов и стероидов. Особо важное значение сквален имеет при биосинтезе холестерина в организме животных. У животных и дрожжей из сквалена, путем окислительной циклизации, образуется ланостерин ($C_{30}H_{49}OH$), который через ряд промежуточных продуктов превращается в холестерин ($C_{27}H_{46}OH$). У растений стероиды также образуются из сквалена [10, 11]. Сквален, входящий в состав мышечной ткани говядины, по-видимому, изменяется при хранении за счет окисления ненасыщенных двойных связей. Поэтому изучение сквалена и других политерпенов представляется интересным.

Почти во всех пищевых продуктах содержатся ароматические углеводороды - моно-, ди и многоядерные арены, производные бензола, индана, тетралина [5, 6, 12]. В большинстве случаев арены весьма токсичны, а некоторые из них канцерогенны. Данные об аренах, обнаруженных в различных продуктах, и особенно - подвергающихся термической обработке, весьма многочисленны. Тем не менее, в литературе недостаточно сведений о содержании аренов в мышечной ткани охлажденной говядины.

Резюмируя вышеизложенное, можно сказать, что углеводороды имеют важное значение в биохимическом и физиологическом аспектах. Многие углеводороды, вероятно, участвуют в посмертных изменениях мышечной ткани, а также - при длительном хранении говядины. Вместе с тем в литературе явно недостаточно сведений о составе и содержании углеводородов мышечной ткани говядины. Все это обуславливает необходимость их изучения.

Методика работы сводилась к следующим процедурам:

- экстракции липидов мышечной ткани говядины;
- изучению фракционного состава липидов методом препаративной тонкослойной хроматографии (ТСХ);
- выделению углеводородов методом колоночной хроматографии (КХ) или путем элирования с пластины при разделении общих липидов;
- разделению углеводородов на н-алканы в сумме с циклоалканами и алкенами, сквалены и другие изопреноидные полиены и каротиноиды методом ТСХ;
- обнаружению аренов (гомологов бензола, индана, тетралина) при помощи качественной реакции с раствором формалина и концентрированной серной кислоты (реакция Настькова);
- разделению н-алканов, циклоалканов и н-алкенов методом ТСХ;
- разделению изопреноидных полиенов на сквален, частично гидрированные сквалены и другие терпеноиды.

Одним из эффективных способов экстракции липидов является метод Блайя и Дайара, представляющий упрощенный вариант классической методики Фолча [13]. При экстракции липидов по этому методу можно использовать однофазную систему растворителей: хлороформ-метанол-вода (в соотношении 1:2:0,8 по объему).

В данной работе липиды экстрагировали по методу Блайя и Дайэра, Белки из липидного экстракта осаждали 0,9% раствором хлористого натрия.

Содержание липидов, экстракт упаривали на ротационном испарителе, растворяли в хлороформе и наносили на препаративные пластинки с силикагелем марки ЛСЛ-54. Разделение проводили в системе растворителей: петролейный эфир-диэтиловый эфир-уксусная кислота в отношении 70:3:1 по объему. Зоны проявляли в парах иода или просматривали в УФ-свете. Основные фракции идентифицировали по значениям R_f веществ-свидетелей.

Углеводы определяли по методике, разработанной в институте питания АМН СССР, в собственной модификации для мышечной ткани говядины. Для выделения углеводов из общих липидов экстракт разводили 5 мл хлороформа и количественно переносили на препаративную пластинку 130-200 мм. В качестве элюента использовали гексан, освобожденный от перекиси, во избежание окисления ненасыщенных соединений. Элюат в количестве 50 мл упаривали на ротационном испарителе, предварительно определяли содержание углеводов в растворе. Углеводы углеводородов растворяли в 1 мл хлороформа и наносили на пластинку.

Разделение углеводов проводили в системе гептан-бензол в соотношении по объему 1:1. Полосы или пятна разделенных компонентов обнаруживали 2,7-дихлорфлуоресцеином на пластинке. Эта процедура позволяет разделить углеводы на три фракции: n-алканы в сумме с циклоалканами и n-алкенами (фракция III), полиены изопреноидного строения (фракция II), каротиноиды и другие пигменты (фракция I).

Зона III, содержащая n-алканы, циклоалканы и n-алкены, совпадает с R_f ароматических углеводородов. Фракцию III обрабатывали раствором 40% формалина и концентрированной серной кислоты. Для определения качественной реакции на арены, суммарную фракцию III элюировали с пластины хлороформом или смесью эфир-гексан, упаривали и разделяли на пластинках с сорбентом силикагелем, пропитанным 5% азотнокислым серебром, в системе эфир:гексан в соотношении 1:2.

Для определения n-алканы в сумме с циклоалканами и n-алкены. Фракцию изопреноидных углеводов повторно хроматографировали в системе гептан:бензол. В результате исследования были получены следующие данные.

Содержание липидов в мышечной ткани говядины, по данным двух серий опытов, составляет 3-5%, что соответствует 30-50 г на кг мяса. При фракционировании липидов выявлено 3 основных класса липидов: фосфолипиды, моноглицериды, холестерин, диглицериды, свободные жирные кислоты, триглицериды, эфиры стероидов, углеводороды. Установлено, что общее содержание углеводов составляет около 60 мг/кг мяса. При разделении углеводов мышечной ткани говядины в системе гептан-бензол на пластинках четко проявляются четыре фракции (рис. 2).

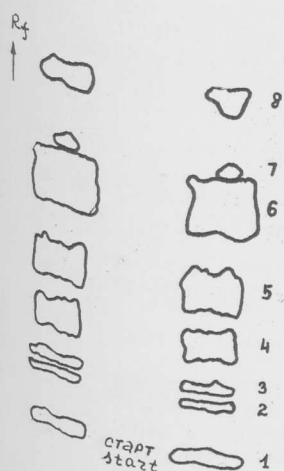


Рис. 1. Схема хроматограммы общих липидов мышечной ткани говядины

1. неидентифицированные пигменты
2. каротиноиды
3. изопреноидные полиены
4. n-алканы в сумме с циклоалканами и алкенами
5. свободные жирные кислоты
6. триглицериды
7. эфиры стероидов
8. углеводороды

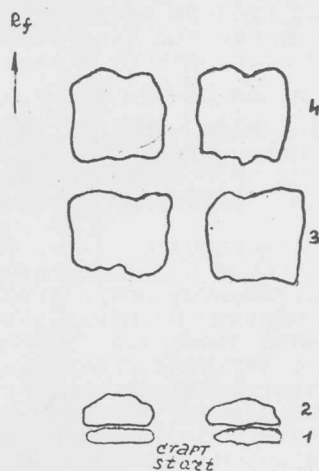


Рис. 2. Схема хроматограммы общих углеводов мышечной ткани говядины

1. неидентифицированные пигменты
2. каротиноиды
3. изопреноидные полиены
4. n-алканы в сумме с циклоалканами и алкенами

Fig. 2. Chromatogram of total hydrocarbons of muscle tissues of beef

1. unidentified pigments
2. carotenoids
3. isoprenoids
4. n-alkanes together with cycloalkanes and n-alkenes

Сравнение значения R_f полученных зон со стандартом позволило установить, что зона, R_f которой соответствует 0,3-0,9, представляет собой суммарную фракцию n-алканов, циклоалканов и n-алкенов (Рис.2). При обработке раствором 2,7-дихлорфлюоресцеина зона дает наиболее интенсивное окрашивание. Преобладание n-алканов и n-алкенов установлено при обработке пластин 25% раствором серной кислоты с последующим их озолением. Фракция II, R_f которой составляет 0,4-0,6, представляет собой зону терпеноидных полиенов, среди которых преобладает сквален. При повторном разделении полиенов в системе гептан-бензол получено четкое разделение сквалена и частично гидрированных скваленов: дигидросквалена и тетрагидросквалена. Зона с R_f 0,35-0,4 соответствует неидентифицированным полиенам. Фракция III по интенсивности окраски занимает промежуточное положение между зоной III и зоной каротиноидов (фракция I R_f 0,2-0,3). На старте остаются неидентифицированные пигменты (R_f 0,0-0,1).

Цветная реакция на арены дала слабое оранжевое окрашивание, свидетельствующее о наличии следовых количеств гомологов бензола. Отсутствие малинового окрашивания в зоне R_f 0,3 свидетельствует об отсутствии гомологов индана и тетралина-диядерных аренов.

При хроматографировании веществ фракции III в системе эфир-гексан получено четкое разделение n-алканов и n-алкенов (Рис.3).

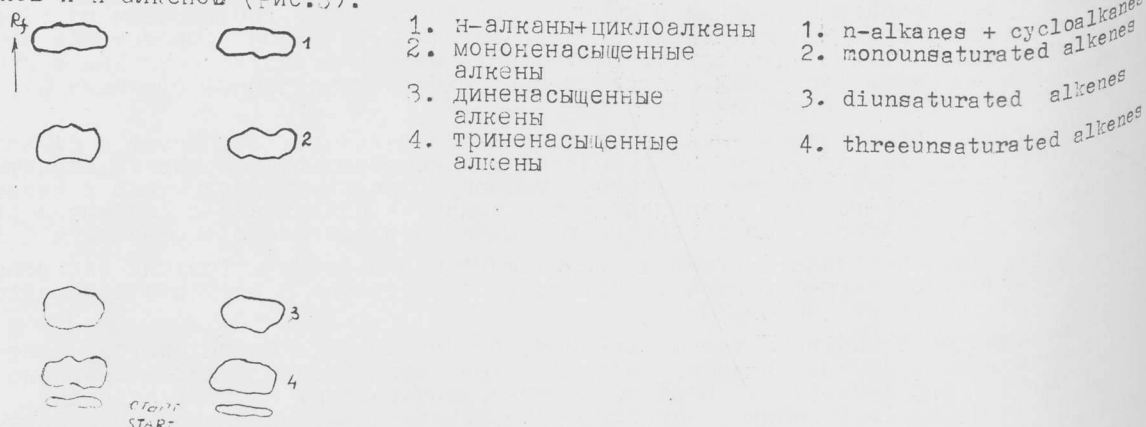


Рис.3. Схема хроматограммы n-алканов в сумме с циклоалканами и алкенов
Fig. 3. Chromatogram of n-alkanes together with cycloalkanes and n-alkenes

n-алканы (в сумме с циклоалканами) имеют R_f 0,3-1,0. Фракция n-алкенов представлена соединениями разной степени насыщенности. По мере снижения R_f идентифицированы моно-, ди- и триненасыщенные алкены. Наиболее интенсивная по окраске - зона n-алканов. Мононенасыщенные алкены присутствуют в виде следов.

На основании проделанной работы можно сделать следующие выводы:

1. Содержание липидов в мышечной ткани говядины составляет 30-50 г на кг, при этом на долю углеводов приходится около 60 мг.
2. Липиды мышечной ткани говядины представлены фосфолипидами, моноглицеридами, холестерин, диглицеридами, свободными жирными кислотами, триглицеридами, эфирами стероидов и углеводородами.
3. Среди углеводов мышечной ткани говядины обнаружены n-алканы, циклоалканы, n-алкены, сквалены, каротиноиды и другие пигменты. Установлено преобладание n-алканов в сумме с циклоалканами и n-алкенами среди углеводов.
4. В составе изопреноидных полиенов обнаружен сквален, дигидросквален, тетрагидросквален и неидентифицированные полиены.
5. Среди n-алкенов обнаружены соединения разной степени ненасыщенности, относящиеся к моно-, ди- и триненасыщенным алкенам. Установлено, что среди веществ этой фракции преобладают триненасыщенные алкены, а мононенасыщенные алкены присутствуют в виде следов.
6. Установлено наличие следовых количеств моноциклических аренов-гомологов бензола- и не обнаружены диядерные и многоядерные арены.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ушакова Т.М. и др. - Углеводы желтка куриных яиц. - Вопросы питания, 1979, №3, стр. 89.
2. Покровский А.А. и др. - Изменение углеводородного состава органов и тканей животных при введении углеводов в пищевые цепи. - в кн.: Синтез, метаболизм и роль углеводов родов в живых системах. (Тезисы докладов на конф.) Пушино, 1977, с.34.
3. Покровский А.А. и др. - Определение углеводов (n-алканов) в тканях животных. - в кн.: Медикобиологические исследования углеводородных дрожжей. - М., Наука, 1972, с.214.
4. Lester D. - Normal paraffins in living matter - occurrence metabolism and pathology. - Proc. Fol. Natr. Sci., 1979, v. 3, 66 p.
5. Покровский А.А. и др. - Метод определения и состав фракции алифатических углеводов подсолнечных, хлопковых, соевых масел и шротов. - Вопросы питания, 1979, № 2, с. 60.
6. Ушакова Т.М., Эллер К.И. - Углеводороды в организме животных. Количество и состав углеводов в жировой ткани свиней, в жировой и мышечной ткани некоторых видов птиц, желтке куриных яиц. - в кн.: Синтез, метаболизм и роль углеводов в живых системах. (Тезисы докладов на конф.) Пушино, 1977, с.25.

- Докровский А.А. и др. - К вопросу о превращении углеводов в организме животных. Биохимия, 1969, т.34, вып.4, с.791.
- Гаврилова Ф.М. - Жиры рыб и морских млекопитающих. - М., Пищевая промышленность, 1976, с.54.
- Hudson B., Kazis L. *Effect of Crop Maturity on Leaf Lipids* - *J. Sci. Fd. Agric.*, 1974, v.25, p.1497.
- Кривошеин В.Л. - Основы биохимии растений. - М., Высшая школа, 1971, с.172.
- Миндлер Л. - Биохимия. - М., Мир, 1974, с.611.
- Докровский А.А. и др. - Метод выделения, идентификации и количественного определения алканов, циклоалканов, моноциклических ароматов и сквалена в тканях животных. - Вопросы питания, 1978, №5, с.68.
- Смитс А. - Техника липидологии. - М., Мир, 1975, с.9.