

Marta Łątkowska, Rafał Wołosiak

ZAWARTOŚĆ TOKOFEROLI W TUSZKACH ORAZ ZALEWACH WYBRANYCH KONSERW RYBNYCH

Zakład Oceny Jakości Żywności
Wydział Nauk o Żywności SGGW w Warszawie
Kierownik: prof. dr hab. *M. Obiedziński*

Celem pracy było oznaczenie zawartości α -, γ - i δ - tokoferolu w tłuszczu wyekstrahowanym z ryb oraz zalew olejowych wybranych konserw rybnych przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Tłuszcz badanych ryb charakteryzował się niższą zawartością tokoferoli ogółem niż tłuszcz z zalew olejowych. Najwyższą zawartość sumy tokoferoli stwierdzono w tłuszczu z zalew tuńczyka (50,5 i 54,1 mg/100 g) oraz sajry (51,0 mg/100 g).

Hasła kluczowe: tokoferole, konserwy rybne, wysokosprawna chromatografia cieczowa

Key words: tocopherols, fish cans, high performance liquid chromatography

W latach 2000-2010 obserwowano w Polsce wzrost spożycia ryb i owoców morza (od 12,48 kg/osobę w 2000 roku do 13,15 kg/osobę w 2010 roku w przeliczeniu na masę żywą ryb). Znaczną popularnością wśród konsumentów cieszą się przetwory rybne, których spożycie w ciągu ostatnich lat utrzymuje się na stałym poziomie (2,04 kg/osobę). W tej grupie produktów silną i stabilną pozycję zajmują konserwy rybne, stanowiąc ponad 41% spożycia wszystkich przetworów (1).

Ryby są bardzo wartościowym produktem spożywczym w aspekcie żywieniowym i powinny być nieodłącznym składnikiem diety człowieka. Są one źródłem tłuszczu, białka, witamin i składników mineralnych. Tłuszcz rybi zawiera długołańcuchowe wielonienasycone kwasy tłuszczowe z grupy n-3 oraz witaminy, m. in. tokoferole, retinol i witaminę D (2). Źródłem tokoferoli w diecie człowieka są jednak przede wszystkim oleje roślinne oraz mięso, mleko i jaja (3). Ryby, które są konserwowane w oleju roślinnym, oprócz swojego cennego składu zostają dodatkowo wzbogacone przez składniki oleju. W naturze tokoferole potocznie zwane witaminą E występują w ośmiu formach: α -, β -, γ - i δ - tokoferolu oraz α -, β -, γ - i δ - tokotrienolu. Stwierdzono, iż największą aktywnością biologiczną ze wszystkich tych witamin charakteryzuje się α - tokoferol (4).

Witamina E w organizmie człowieka pełni przede wszystkim funkcję przeciwutleniacza. Jej działanie polega na zapobieganiu tworzenia produktów autooksydacji lipidów przez wychwytywanie wolnych rodników, uniemożliwiając w ten sposób reakcję łańcuchową, która prowadzi do dalszego tworzenia nadtlenków (3). Witamina E chroni zatem organizm przed szkodliwym działaniem rodników tlenowych, które są przyczyną wielu schorzeń, m.in. zmian nowotworowych.

Tokoferole wpływają również na funkcjonowanie układu nerwowego i mózgu, układu krwiotwórczego oraz systemu immunologicznego (5).

Celem pracy było oznaczenie zawartości różnych form tokoferolu w wybranych konserwach rybnych dostępnych na rynku warszawskim.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły wybrane konserwy rybne (łosoś, sajra, sardynki, tuńczyk) zakupione w sklepach na terenie Warszawy w marcu 2011 roku. W każdej z konserw zalewę stanowił olej roślinny. Badania prowadzono od marca do maja 2011 roku.

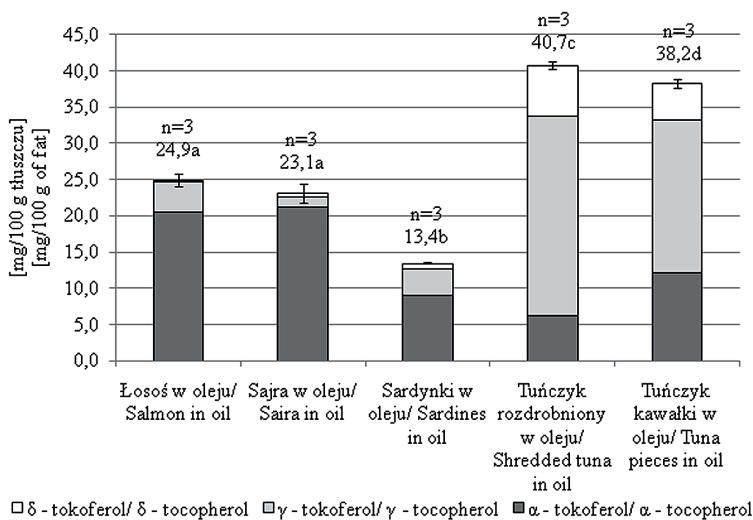
Zawartość różnych form tokoferolu oznaczono, po uprzedniej ekstrakcji tłuszczu zarówno z tuszki rybnej, jak i zalewy olejowej, przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) w układzie faz odwróconych zgodnie z PN-EN 12822:2002 (6) z własnymi zmianami. Do ekstrakcji pobierano uśrednioną próbkę pochodzącą z uprzednio dobrze zhomogenizowanej dużej masy tuszki rybnej. Olej uzyskany z każdego produktu odważano w dwóch równoległych powtórzeniach i przekazywano do kolejnych etapów oznaczenia. Do około 500 mg oleju dodawano roztwór 50 mg kwasu askorbinowego w 10 cm³ metanolu oraz 1 cm³ roztworu KOH (50 g/100 cm³). Zmydlanie prowadzono w łaźni wodnej w temperaturze 70°C przez 30 minut. Następnie próbki chłodzono i przeprowadzano ich ekstrakcję w rozdzielniku szklanym. W tym celu próbkę przenoszono ilościowo do rozdzielnika popłukując dwiema porcjami metanolu po 2,5 cm³. Dodawano 5 cm³ heksanu i silnie wytrząsano przez 2 minuty. Dodawano 15 cm³ wody destylowanej w celu uniknięcia powstania emulsji. Warstwę wodną ponownie ekstrahowano 5 cm³ heksanu. Połączone ekstrakty heksanowe przemywano wodą do uzyskania odczynu obojętnego. Następnie pobierano po 8 cm³ ekstraktów heksanowych i odparowywano do sucha w strumieniu azotu. Pozostałość rozpuszczano w 2 cm³ metanolu, roztwór pobierano do wialki przepuszczając go przez filtr strzykawkowy z membraną teflonową o wielkości porów 0,2 μm i poddawano analizie HPLC. Oznaczenie zawartości tokoferoli przeprowadzono w trzech powtórzeniach (z dwóch równoległe przygotowywanych próbek). Analizę prowadzono przy użyciu chromatografu cieczowego Shimadzu LC-20AD. Detekcja była prowadzona przy pomocy detektora fluorescencyjnego (FLD) model RF-10AXL. Rozdział uzyskano na kolumnie analitycznej Discovery C8 (Supelco) o średnicy cząstek 5 μm i długości 150 mm. Fazą ruchomą była mieszanina metanolu i wody (84:16 v/v). Przepływ wynosił 1,6 cm³/minutę (izokratycznie). Objętość dozowanej próbki wynosiła 15 μl. Detektor fluorescencyjny pracował przy długości fali wzbudzenia 295 nm i długości fali emisji 330 nm. Całkowity czas pojedynczej analizy wynosił 35 minut. Identyfikację witamin przeprowadzono na podstawie czasów retencji wzorców witamin. Oznaczono zawartość α- i δ-tokoferolu oraz sumy β- i γ-tokoferolu (dalej jako γ-tokoferol), ponieważ w warunkach przeprowadzonych oznaczeń β- i γ-tokoferol nie ulegały rozdzielaniu. Zawartość poszczególnych witamin obliczono na podstawie krzywych kalibracyjnych przygotowanych z roztworów wzorcowych z wykorzystaniem powierzchni pików.

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono przy użyciu programu Statgraphics Centurion XVI.I. Ocenę istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi sumarycznej zawartości tokoferoli dla poszczególnych ryb i zalew olejowych wykonano stosując test porównań wielokrotnych *Tuckey'a* HSD przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Na rycinie 1 przedstawiono zawartość tokoferoli w 100 g tłuszczu wyekstrahowanego z ryb z badanych konserw. Najwyższą zawartością tokoferoli charakteryzowały się tłuszcz z tuńczyka rozdrobnionego (40,7 mg/100 g) oraz tłuszcz z tuńczyka w kawałkach (38,2 mg/100 g). Powyżej 20 mg tokoferoli w 100 g tłuszczu oznaczono ponadto w przypadku łososia oraz sajry. Najniższą zawartością tokoferoli charakteryzował się tłuszcz z sardynek (13,4 mg/100 g). Mogło być to spowodowane niższą zawartością tokoferoli zarówno w tłuszczu ryb, jak i otaczającym tuszkę oleju roślinnym.

W tłuszczu omawianych ryb dominowały α -tokoferol (łosoś, sajra i sardynki, odpowiednio 20,5; 21,2 i 9,1 mg/100 g) oraz γ -tokoferol (tuńczyk rozdrobniony i tuńczyk w kawałkach). Dla tych ostatnich zawartość γ -tokoferolu wynosiła odpowiednio 21,0 mg/100 g oraz 27,6 mg/100 g. Tłuszcz tuńczyków zawierał również więcej δ -tokoferolu w porównaniu do tłuszczów innych ryb.



a, b... - wartości przy kolumnach oznaczone różnymi literami wskazują na istotne statystycznie różnice średniej zawartości sumy tokoferoli przy poziomie istotności $\alpha \leq 0,05$

a, b... - values by the columns marked with different letters indicate significant differences of mean content of total tocopherols $\alpha \leq 0,05$

Ryc. 1. Zawartość tokoferoli w tłuszczu ryb z konserw rybnych [mg/100 g tłuszczu]

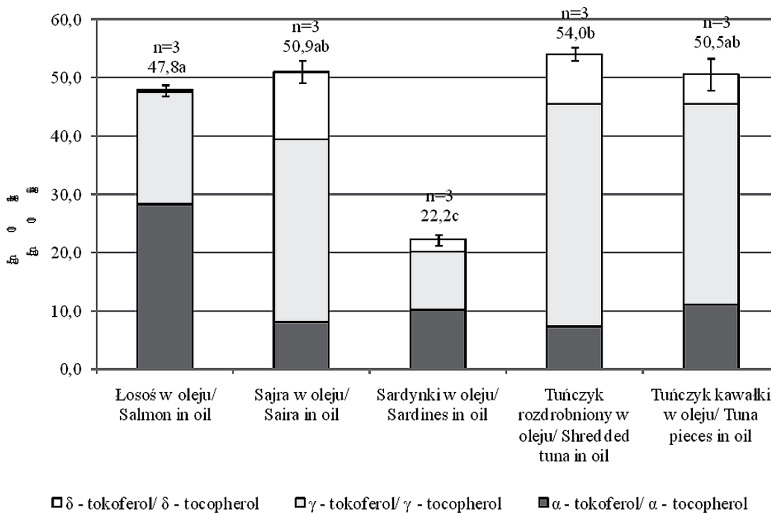
Fig. 1. Tocopherols content in fat from fish from fish cans [mg/100 g of fat]

Odnosząc się do danych literaturowych dotyczących typowych zawartości tokoferoli w oleju rybim należy podkreślić, iż uzyskane wyniki są wyższe niż zawartość tokoferoli w badanych gatunkach ryb (7, 8). Wysoką zawartość tokoferoli w tłuszczu wyekstrahowanym z ryb można wytłumaczyć częściowym przejęciem oleju roślinnego z zalewy przez tuszki rybne, a tym samym zmianę składu chemicznego omawianych tłuszczów (9, 10). Różnice w zawartości tokoferoli w tłuszczach poszczególnych ryb mogą wynikać z różnic w zawartości tokoferoli w zalewach olejowych z porównywanych konserw rybnych, czyli zastosowania przez producentów innego lub uboższego w te witaminy oleju roślinnego.

Rycina 2 przedstawia zawartość tokoferoli w tłuszczu pochodzącym z zalew z konserw rybnych. Najwyższe zawartości badanych tokoferoli stwierdzono w tłuszczu z zalew olejowych tuńczyka i sajry (powyżej 50 mg/100 g) oraz łososia (47,8 mg/100 g). Najniższą zawartością badanych tokoferoli charakteryzował się tłuszcz zalewy z sardynek. W przypadku każdej konserwy zawartość badanych tokoferoli była wyższa w tłuszczu pochodzącym z zalewy niż w tłuszczu wyekstrahowanym z ryby.

Zawartość tokoferoli w 100 g olejów roślinnych może wynosić od 1 mg w oleju sezamowym do 150 mg w oleju z zarodków pszennych. Jednak w najbardziej popularnych olejach roślinnych, które mogłyby stanowić zalewę w badanych konserwach, zawartość tokoferoli kształtuje się następująco: ok. 13 mg/100 g w oleju sojowym, ok. 28 mg/100 g w oleju rzepakowym oraz ok. 47 mg/100 g w oleju słonecznikowym (11). Z kolei *Krygier i in.* (12) podają, że olej rzepakowy w zależności od stopnia jego przetworzenia może zawierać 43-87 mg tokoferoli w 100 g oleju. Według tych samych autorów olej sojowy może zawierać nawet do 195 mg tokoferoli w 100 g. Zgodnie z danymi zawartymi w Tabelach Składu Żywności (8) olej rzepakowy zawiera 39-69 mg tokoferoli w 100 g, olej słonecznikowy 67 mg tokoferoli w 100 g, a olej sojowy 94-110 mg tokoferoli w 100 g oleju. Przytoczone wyniki wskazują na duże zróżnicowanie zawartości tokoferoli w olejach roślinnych. Z powodu braku informacji co do użytego w konserwach oleju roślinnego jako zalewy trudno jest odnieść uzyskane wyniki do przytoczonych danych literaturowych. Ze względu na dość wysokie zawartości tokoferoli w tłuszczu z zalew w porównaniu z danymi literaturowymi oraz prawdopodobną migrację części tych związków do tuszek rybnych można przypuszczać, że oleje użyte jako zalewy w badanych konserwach były stosunkowo bogate w tokoferole.

Biorąc pod uwagę udział poszczególnych tokoferoli (ryc. 2) można stwierdzić, że tłuszcz z zalew olejowych charakteryzował się znacznym udziałem γ - i α -tokoferolu. W każdej zalewie występował również δ -tokoferol, przy czym w tłuszczu zalew olejowych z sajry i tuńczyka było go najwięcej (odpowiednio 11,4 mg/100 g, 8,5 mg/100 g i 5,0 mg/100 g). Najmniej δ -tokoferolu zawierała zalewa olejowa z łososia (0,2 mg/100 g). Zawartość α -tokoferolu wynosiła w tej zalewie 28,3 mg/100 g i była największa wśród wszystkich zalew olejowych. Biorąc pod uwagę zawartość poszczególnych tokoferoli w olejach roślinnych odnaniezoną w literaturze należy stwierdzić, iż jest ona dosyć zróżnicowana. W oleju sojowym oraz rzepakowym występuje głównie γ -tokoferol (odpowiednio 70 mg/100 g i 49 mg/100 g). Zawartość γ -tokoferolu w tłuszczu zalewy olejowej z tuńczyka oraz sajry przyjmowała podobne wartości.



a, b... - wartości przy kolumnach oznaczone różnymi literami wskazują na istotne statystycznie różnice średniej zawartości sumy tokoferoli przy poziomie istotności $\alpha \leq 0,05$

a, b... - values by the columns marked with different letters indicate significant differences of mean content of total tocopherols $\alpha \leq 0,05$

Ryc. 2. Zawartość tokoferoli w tłuszczu zalew z konserw rybnych [mg/100 g tłuszczu]

Fig. 2. Tocopherols content in fat from drain from fish cans [mg/100 g of fat]

Olej sojowy zawiera ponadto δ -tokoferol w ilości 29 mg/100 g i α -tokoferol na poziomie 9,5 mg/100 g. W oleju rzepakowym drugim co do udziału tokoferolem jest α -tokoferol stanowiący 19 mg/100 g, a zawartość δ -tokoferolu w tym oleju to 1,2 mg/100 g. Olej słonecznikowy zawiera głównie α -tokoferol – 62 mg/100 g. γ -Tokoferol stanowi w nim średnio 2,7 mg/100 g (8). Na podstawie przytoczonych danych literaturowych oraz analizy udziałów poszczególnych tokoferoli w tłuszczu z zalew olejowych nie można jednoznacznie określić rodzaju wykorzystanego w konserwach oleju roślinnego. Olej sojowy charakteryzuje się najwyższą zawartością δ -tokoferolu spośród omówionych olejów i mógł być zastosowany jako zalewa w konserwach z tuńczyka oraz sajry, biorąc pod uwagę również najwyższą zawartość γ -tokoferolu w zalewach tych konserw. Możliwość przenikania tokoferoli z ryb do otaczającego je oleju i w przeciwnym kierunku dodatkowo utrudnia wnioskowanie co do użytego oleju tylko na podstawie zawartości tokoferoli. Analiza profilu kwasów tłuszczowych olejów zastosowanych jako zalewy w badanych konserwach rybnych mogłaby zweryfikować wcześniejsze przypuszczenia.

WNIOSKI

Tłuszcz zalew olejowych charakteryzował się wyższą zawartością sumy tokoferoli niż tłuszcz wyizolowany z ryb. Z przeprowadzonych badań wynika, że olej roślinny dodawany do konserw rybnych wzbogaca je w tokoferole. Sumaryczna zawartość tokoferoli w tłuszczach z zalew olejowych badanych konserw rybnych była mało zróżnicowana i wynosiła od 47,8 mg/100 g do 54,1 mg/100 g. Jedynie wartość dla zalewy z sardynek była ponad dwukrotnie niższa. Udział poszczególnych tokoferoli w tłuszczu badanych produktów był zróżnicowany, ale przeważał γ - i α -tokoferol.

M. Łatkowska, R. Wołosiak

TOCOPHEROLS CONTENT IN FISH AND DRAIN OF SELECTED FISH CANS

Summary

The aim of the study was to determine α -, γ - and δ -tocopherol content in fat extracted from fish and oil drain of selected fish cans with the usage of high performance liquid chromatography (HPLC). Fat of examined fish showed lower tocopherols level than fat from the drains. The highest content of total tocopherols was found in tuna's drain fat (50,5 and 54,1 mg/100 g) and saira drain (51,0 mg/100g).

PIŚMIENNICTWO

1. Pieńkowska B., Hryszko K., Szostak S., Drożdż J. Popyt na ryby i owoce morza. W: Analizy rynkowe. Rynek ryb. Stan i perspektywy, Hryszko K., Seremak-Bulge J., Kuzebski E., Pieńkowska B., Rakowski M., Szostak S., Drożdż J., IERiGŻ-PIB, MIR, ARR, MRiRW, Warszawa, 2011; 15-16, 20-26.- 2. Żbikowska A.: Tłuszcz może być zdrowy. Przegląd Gastronomiczny, 2011; 65 (7-8): 13-14.- 3. Cammack R., Attwood T. K., Campbell P. N., Parish J. H., Smith A. D., Stirling J. L., Vella F.: Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology (2nd Edition), Oxford University Press, New York, 2006; 701.- 4. Pyka A., Sliwiok J.: Chromatographic separation of tocopherols. J Chromatogr A, 2001; 935 (1): 71-76.- 5. Babicz-Zielińska E., Przybyłowski P.: Wartość biologiczna składników żywności. W: Chemia żywności, Sikorski E.Z., Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa, 2002; 380-391.- 6. PN-EN 12822:2002. Artykuły żywnościowe. Oznaczanie zawartości witaminy E metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Pomiar alfa-, beta-, gamma- i delta-tokoferoli.- 7. Usydus Z., Szlinder-Richert J., Polak-Juszczak L., Kanderska J., Adamczyk M., Malesa-Ciecwierz M., Ruczynska W.: Food of Marine origin: Between benefits and potential risks. Part I. Canned fish on the Polish market. Food Chemistry, 2008; 111(3): 556-563.- 8. Scherz H., Senser F., Souci S. W., Fachmann W., Kraut H.: Food composition and nutrition tables. CRC Press, Stuttgart, 2008; 202-213, 518-615.- 9. Caponio F., Gomes T., Summo C.: Quality assessment of edible vegetable oils used as liquid medium in canned tuna. Eur Food Res Technol, 2003; 216 (2): 104-108.- 10. Tarley C. R. T., Visentainer J. V., Matsushita M., de Souza N. E.: Proximate composition, cholesterol and fatty acids profile of canned sardines (*Sardinella brasiliensis*) in soybean oil and tomato sauce. Food Chemistry, 2004; 88 (1): 1-6.
11. Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B.: Tabele składu i wartości odżywczej żywności. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2005; 168-175.- 12. Krygier K., Wroniak M., Maszewska M.: Wpływ procesów technologicznych na wartość odżywczą olejów jadalnych. W: Jakość i bezpieczeństwo żywności – kształtowanie jakości żywnościowej w procesach technologicznych, Nowak D., Wyd. SGGW, Warszawa, 2011; 65-74.-