

**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ „ПРОФ. Д-Р ПАРАСКЕВ СТОЯНОВ“ ВАРНА**

**ФАКУЛТЕТ ПО ФАРМАЦИЯ**

**КАТЕДРА ХИМИЯ**

**АЛБЕНА ВАСИЛЕВА МЕРДЖАНОВА**

**МАСТНОКИСЕЛИНЕН СЪСТАВ НА  
ЧЕРНОМОРСКИ И СЛАДКОВОДНИ РИБИ**

## **АВТОРЕФЕРАТ**

на дисертация за присъждане на образователна и научна степен  
„ДОКТОР“

по научна специалност „Биоорганична химия, химия на  
природните и физиологично активни вещества“

Научен ръководител: доц. Любомир Македонски, дх

**ВАРНА**

**2014 г.**

Дисертационният труд се състои от 147 страници, включващи 40 фигури, 27 таблици. Цитирани са 205 литературни източника, 190 от които на латиница и 15 на кирилица.

Защитата на дисертационния труд ще се състои на ..... г. от ..... ч. в.....аудитория на Медицински Университет “Проф. Д-р Параскев Стоянов” - Варна.

## ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

WHO/СЗО	World Health Organization/Световна здравна организация
EFSA /ЕФСА	European Food Safety Authority/Европейски орган по безопасност на храните
FAO /ФАО	Food and Agriculture Organization/Организация за прехрана и земеделие
AHA	American Heart Association/ Американска кардиологична асоциация
МК	Мастни киселини
ALA	алфа-линоленова киселина
EPA	ейкозапентаенова киселина
DHA	докозахексаенова киселина
LA	линолова киселина
ARA	арахидонова киселина
НМК	Наситени мастни киселини
МНМК	Мононенаситени мастни киселини
ПНМК	Полиненаситени мастни киселини
ГХ	Газова хроматография
ГХ-МС	Газова хроматография с масдетекция
ОЛ	Общи липиди
МЕМК	Метилови естери на мастните киселини
АИ	Атерогенен индекс
ТИ	Тромбогенен индекс
h/Н	Холестеролемичен индекс
n-3	омега-3 ПНМК
n-6	омега-6 ПНМК
ССЗ	Сърдечно-съдови заболявания

## УВОД

През последните години редица международни организации като WHO, FAO и EFSA насочват вниманието си към омега-3 (n-3) и омега-6 (n-6) ПНМК като важен компонент на човешката диета за предотвратяване на хронични заболявания, особено свързаните със сърдечно-съдовата система (WHO, 2003; 2010; Reddy, 2004; EFSA, 2009;2012). През 2008 г. WHO/FAO и EFSA приемат, че понятията n-3 и n-6 включват повече от една мастна киселина (МК), всяка със своите функционални свойства (WHO/FAO, 2008; EFSA, 2009).

През 2010г. WHO и FAO издават доклад със заключения и препоръки на експертна комисия относно „Мазнини и мастни киселини в човешкото хранене“ (WHO/FAO,2010). Експертите на WHO/FAO поставят акцент върху ролята на специфичните групи МК, поради доказаната роля на дълговерижните полиненаситени мастни киселини (ПНМК) в неонаталното и детско умствено развитие. Много епидемиологични и клинични проучвания доказват ролята на n-3ПНМК за здравния статус, както и за превенцията на специфични хронични заболявания като коронарна болест на сърцето, атеросклероза, хипертония, диабет, артрит, остеопороза и други. Редица автори са установили връзка между повишаване консумацията на риба и намаляване на риска от сърдечно-съдови заболявания. Добре известно е, че рибните липиди са най-богатият източник на дълговерижните n-3 ПНМК. Многобройни проучвания на хидробионтите в цял свят са показали значителни разлики в съдържанието на тези биологично активни съединения както в различните рибни видове, така и вътре във вида, в зависимост от биотичните и абиотични фактори на средата. Разработени са препоръки за консумация на риба два пъти седмично (АНА, 2005; EFSA, 2009, 2012; WHO/FAO, 2010). Поради това една от най-важните обобщени препоръки на комисията на WHO/FAO (2010) за увеличаване на хранителния прием на n-3 ПНМК е пряко свързана с необходимостта от осигуряване на съвременна информация за специфичния за различните храни мастнокиселинен състав. Необходимо е за страни и региони с ниска консумация на риба и рибни продукти да се извършат изследвания за бионаличността на ПНМК в местни източници като риба, морски продукти, растителни храни и други. Така ще се осигурят или ще се осъвременят данните за тези биологично активни съединения, които да бъдат насочени към промени в хранителните навици на населението (WHO/FAO, 2010).

Консумацията на риба в България е около 4 - 4.5 kg годишно на човек и е значително по-ниска в сравнение със средната европейска (23 kg годишно на човек),

или в съседни страни като Гърция и Турция. Установена е неблагоприятна тенденция за намаляване на консумацията от 12 - 15 g дневно (преди 30 години) до 8-10 g дневно понастоящем. Предприета е политика за повишаване на индивидуалната консумация на риба и рибни продукти до 7 – 8 kg на човек. (Национален стратегически план 2005-2013). Оптималното използване на черноморските риби в здравословното хранене, изисква детайлно познаване на мастнокиселинния им състав. В България не са провеждани систематични изследвания на липидния и мастнокиселинен състав на черноморски риби, въпреки доказания благоприятен ефект на дълговерижните ПНМК върху човешкото здраве. Извършени са единични изследвания за определяне на липидното съдържание и мастнокиселинния състав на два морски вида (трикона, хамсия) и на сладководни риби (шаран, пъстърва). Тези изследвания са недостатъчни, за да се направи оценка за качеството на рибните липиди, базирано на мастнокиселинния им състав. Не е правена оценка като храна чрез енергийна стойност, детайлен мастнокиселинен състав на общите липиди и липидни индекси на традиционно консумираните български черноморски и сладководни рибни видове.

## **I. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР**

Представен е обстоен обзор на строежа, структурата и значението на мастните киселини, както и на публикуваните до момента изследвания, свързани с липидния и мастнокиселинен състав на черноморски и сладководни риби или подобни видове от други морски басейни. Направеният литературен обзор показва липсата на систематизирана информация за липидното съдържание и мастнокиселинния профил на масово консумирани черноморски и сладководни рибни видове със стопанско значение у нас. Това налага необходимостта от провеждането на задълбочено проучване на тези показатели в ядивната тъкан на традиционно консумираните и търговско значими черноморски и сладководни видове. Изследванията в дисертационния труд имат за цел да предоставят пълна и актуална информация характеризираща качеството на рибните липиди, на база количества и съотношения на МК и МК групи в избрани видове.

## **ЦЕЛ И ЗАДАЧИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД**

### **Цел и задачи на дисертационния труд**

**Цел:** Качествен и количествен анализ на мастнокиселинния състав на черноморски и сладководни риби и използването му за оценка на качеството им като храна.

**Задачите** за постигане на тази цел са:

1. Разработване и прилагане на аналитична процедура за определяне на мастнокиселинен състав на рибни липиди.
2. Определяне на общи липиди и мастнокиселинен състав на черноморски и сладководни риби.
3. Въз основа на мастнокиселинния състав, да се направи оценка на черноморските и сладководни риби като храна.

## II. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА ЧАСТ

### II.1. Рибни видове

След предварително проучване на пазара у нас, са избрани 11 традиционно консумирани черноморски и 4 сладководни рибни вида, разпределени в две групи:

- масово консумирани видове - трициона (*Sprattus sprattus*), кая (*Neogobius melanostomus*), сафрид (*Trachurus mediterrneus*), хамсия (*Engraulis encrasiholus*), чернокоп (*Pomatomus saltatrix*), карагъоз (*Alosa pontica*), морски кефал (*Mugil cephalus*), барбуня (*Mullus barbatus ponticus*); шаран (*Cyprinus carpio*) и толстолоб (*Aristichthys nobilis*);

- деликатесни видове - паламуд (*Sarda sarda*), черноморски калкан (*Psetta maxima*), зарган (*Belone belone*); сом (*Silurus glanis*) и пъстърва (*Salmo trutta fario*)

#### Етапи на аналитичната процедура използвана в настоящата работа:

- Пробонабиране, определяне на биометрични характеристики и съхранение на пробите
- Изготвяне на средна лабораторна проба и проба за анализ;
- Екстракция на липидите и определяне на общо липидно съдържание;
- Хидролиза на общите липиди и метилиране на мастните киселини;
- Качествено и количествено определяне на газов хроматограф с масдетектор;
- Контрол на качеството на анализа;
- Статистическа обработка и анализ на резултатите.

#### Пробонабиране

Пробонабирането на рибните видове е извършвано директно от рибари, от рибната борса и от търговската мрежа на гр. Варна, в периода 2009 - 2012г.

В това изследване, пробонабирането е извършено от три региона на Българското Черноморие : **Северен** (Крапец, района на нос Калиакра, Зеленка); **акватория Варна** (Траката, района на нос Галата, Бяла); **Южен** (Несебър, Бургас, Созопол).

### II.2. Пробоподготовка - изготвяне на средна проба, проба за анализ и съхраняване на пробите

Подготовката на средната проба от всеки анализиран вид е извършена съгласно изискванията на БДС 3419:1978 “ Рибна и рибни продукти. Правила за вземане на проби” и Наредба №22 /2003 на МЗ "Условията и реда на вземани на проби от храни". Подбрани са екземпляри със средни размери за дадената партида и съгласно

изискванията на нормативните документи са определени биометричните характеристики на видовете, осигуряващи пълна информация за изследваните видове и възможност за достоверно сравняване на получените аналитични резултати. Данните за биометричните характеристики на видовете са: дължина - от глава до опашка - в cm; тегло - в g. Пробонабраните екземпляри се транспортират до лабораторията в хладилна чанта с лед. Рибите се анализират веднага или се съхраняват без да се нарушава целостта им във фризер, при  $-20^{\circ}\text{C}$ , до извършване на анализа. Средната проба се изготвя от минимум 3 kg (от 3 до 6 екземпляра) за по-едрите и 2 kg за по-дребните видове, промива се с дестилирана вода за отстраняване на пясък, тиня или водорасли, и се подсушава с филтърна хартия. Етапите от процедурата включват: отстраняване на глава, опашка и вътрешности, и филетиране на рибната тъкан. От малките по размер рибни видове (10-18 cm), за анализ се вземат филета от 18 – до 30 броя екземпляра; от големи по размер видове (25- 70 cm) се вземат от 6 до 12 броя филета минимум. Филетираната тъкан се смела и се хомогенизира. Големината на средната проба се подбира така, че да бъде достатъчна за извършването на до 10 паралелни анализа. От хомогенизираната средна проба се вземат по 5.00 g, които се подлагат на екстракция.

### **II.3. Екстракция на липидите и определяне на липидното съдържание на рибната тъкан**

За екстрахиране на рибните липиди е използван методът на Bligh & Dyer (1959) описан в Сборник методи за хигиенни изследвания на Център по Хигиена, София, 2002 (том 4) и препоръчван за екстрахиране на липиди от морски тъкани. (БДС 8549:1992 - "Месо и месни продукти. Определяне на мазнини"; Iverson et al., 2001; Christie W., 2003; Gunston, 2008). Методиката за определяне на мазнини включва следните етапи:

- средната проба от филетираната ядивна рибна тъкан се нарязва на дребни парченца, които се накисват в метанол (30 s) и се хомогенизират с пасатор;
- към претеглените проби ( $5.000 \pm 0.001\text{g}$ ) се добавя предварително приготвена и съхранявана в хладилник екстракционна смес от хлороформ : метанол (1:2 v/v) и се разбърква;
- след 30 min екстрахиране при стайна температура, се добавя допълнително количество хлороформ; следва 15 s хомогенизиране на получената смес, и филтруване на пробата в делителна фуния, където престоява на тъмно и студено за 24 часа;



- образуват се два слоя - горният водно-алкохолен слой съдържа полярни компоненти (свободни мастни киселини, аминокиселини, азотсъдържащи метаболити и др.), а долният неполярен хлороформен слой, наречен “липофилен екстракт”, съдържа неполярните липиди. Към отделената водно-алкохолна фракция се добавя ново количество хлороформ (повторно екстрахиране), престоява на тъмно за 60 min, и последва отделяне на новообразуваната фракция;

- събраните хлороформени фракции се обединяват, изсушават (с безводен натриев сулфат, накален при 400°C за 4 часа), и се изпаряват чрез вакуум-ротационен изпарител Buchi (на водна баня при 40<sup>0</sup> C) до сухо;

- определянето на общите екстрахирани липиди в хлороформената фракция се извършва гравиметрично, съгласно БДС 8549:1992, след сушене на рибното масло до постоянно тегло.

По един и същи начин се обработват по три паралелни проби. Оценката на екстракционния добив е извършена по *метода на вътрешния стандарт*. За целта е използвана нонадеканова киселина (C 19:0, 1 mg/ml в метанол), която не се съдържа в рибните липиди. Предпазването на мастните киселини от окисление по време на цялостната обработка на пробата се извърши чрез добавяне на 0.01% ВНТ (2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенол) към всяка проба, в началото на процедурата.

#### **II. 4. Хидролизиране и метилиране на мастните киселини**

Преди определянето на мастнокиселинният състав на липидите чрез газова хроматография, е необходимо тяхното хидролизиране и последващо метилиране на освободените мастни киселини до метилови естери, с цел повишаване на тяхната летливост. За целта е използван преестерификационен метод представен в БДС EN ISO 5509:2000“ Подготовка на метилови естери на мастни киселини”. Чрез този метод, едновременно се хидролизират, естерифицират и пречистват образуваните метилови естери. Това позволява директното инжектиране на пробата в газовия хроматограф без необходимост от задължително предварително пречистване на пробата. Този метод е много подходящ за хидролизиране както на триглицеридната, така и на фосфолипидната фракции (Isihara et al, 1996; Christie,2003; Gunstone 2008).

Методът включва следните етапи:

- към точно количество липиди (разтворени в хексан) се добавя 1 ml от 2 M КОН в безводен метанол, хомогенизира се на вортекс (за 3min, при 3500 об/min) при стайна температура;

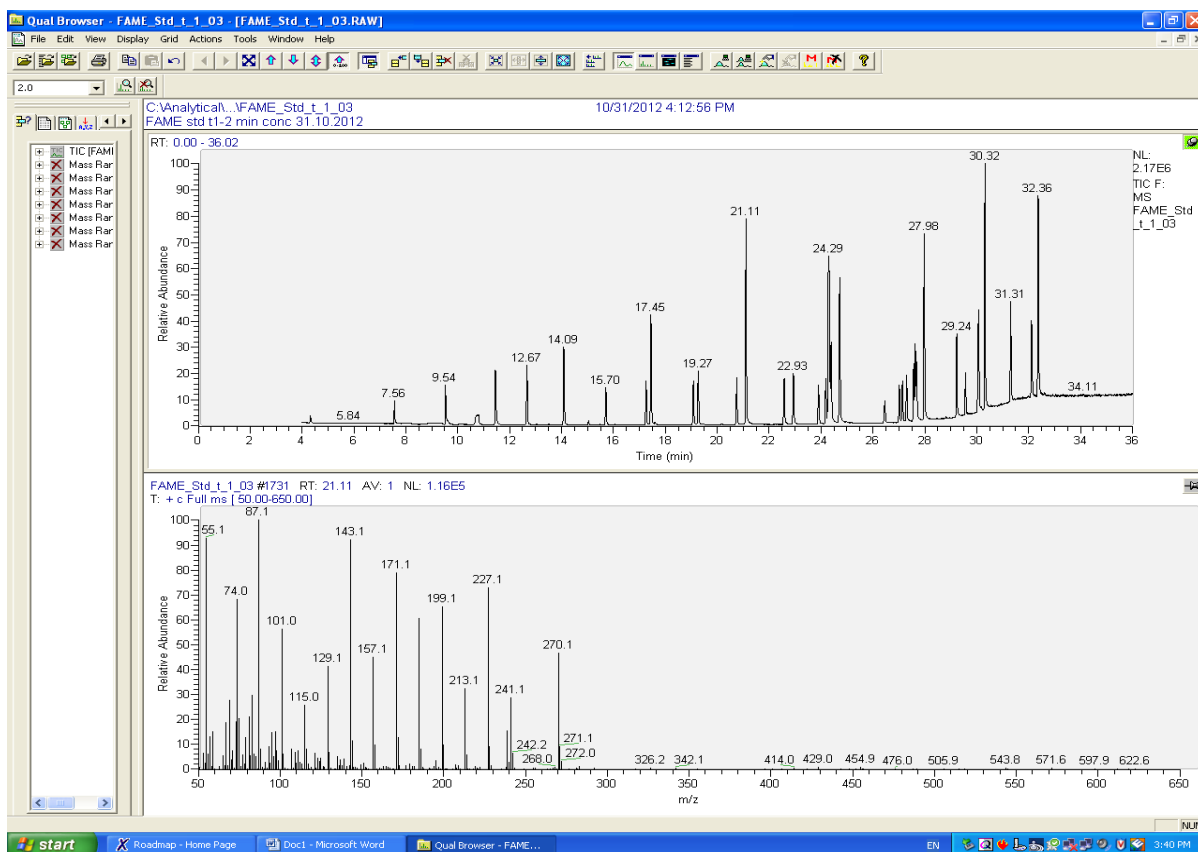
- за неутрализиране на КОН се добавя 1 g натриев хидрогенсулфат и се центрофугира 5 min ( при 3500 об/min);

- горният хексанов слой, съдържащ образуваните метилови естери, се отнема и се изпарява до сухо под азот (за количествено определяне на получените естери) и след подходящо разреждане с хексан, се инжектира в газовия хроматограф.

Ако не е възможно метиловите естери да бъдат анализират веднага, е необходимо да се съхраняват при -20°C не повече от 1 седмица. По един и същи начин се обработват по три паралелни проби. Всички реактиви използвани за анализа са с чистота: особено чист за анализ или реактиви, използвани за целите на хроматографския анализ .

## **II. 5. Газ- хроматографски анализ на метилови естери**

Качественото и количественото определяне на метиловите естери на МК (MEMK) е извършено с хроматографска система на Termo Scientific, газов хроматографмодел FOCUS GC с мас детектор IonTrap Polaris Q. Хроматографското разделяне се осъществява чрез капилярна колона Termo TR-5 MS (5%-полифенил-95% метилсилоксан) с дължина 30 m, с вътрешен диаметър 0.25 mm и дебелина на слоя 0.25 µm. Като газ носител е използван хелий (чистота 99.999%) при постоянен поток от 1ml/min. Параметри на детектора Ion-Trap Polaris Q: температура на йонния източник – 220°C, електронна йонизация (EI) 70eV, филамент- Current Emission 220 uA; температура на трансферната линия 250°C. Използваният инжектор AI 3000 е с автоматичен пробовземач и работи в режим split (1:10) с разделяне на потока. Хексановата фракция, съдържаща MEMK се инжектира директно в газовия хроматограф за разделяне, идентифициране и количествено определяне на анализираните компоненти. Хроматографските условия за пълното разделяне на MEMK, са определени чрез стандартна смес от метилови естери (Supelco 37 FAME mix). Разработен е температурен режим на печта, стартиращ от 40 °C с престой от 5 min, покачване на температурата с 5°C /min до 160 °C и плавно нарастване до 280 °C с престой при тази температура за 5 минути. При тези условия са разделени мастни киселини с дължина на веригата от C 8:0 до C 24:1. Идентифицирането на MEMK е извършено по време на задържане, чрез сравняване със стандартна смес от мастни киселини (Supelco 37 FAME Mix). На фиг. 1 е показана хроматограма на 37 компонентна стандартна смес от метилови естери (37 FAME Mix C4-C24) .



Фиг. 1. Хроматограма и мас спектър на стандартна смес Supelco 37 FAME Mix

Детекцията на пробите е извършена в режим на мас детектора Full scan: 50 - 650. Чрез мас детектора с помощта на характеристични йони, определени чрез стандарта и библиотеката на газовия хроматограф съдържаща база данни с масспектри, е потвърдена структурата и вида на интересуващите ни МК. Подбрани са точно определени характеристични йони за всяка от следените МК и е разработен идентификационен режим.

За количественото определяне на МК компоненти в липидната фракция на пробите е използван *метода на външната калибровка*. Чрез серия от 5 стандартни разтвора с позната концентрация са построени стандартни прави за всяка от следените МК. Концентрационният интервал е съобразен с данни за МК състав в черноморски риби, представен в литературата, и е в интервал от 0.5 до 10  $\mu\text{g/l}$  в зависимост от вида на МК. Получените резултати за определяне на МК профил са изчислени чрез използване на метода на вътрешната нормализация по БДС EN ISO 5508:2004 “Анализ на метилови естери на масните киселини чрез газова хроматография“ и софтуер Finnigan Xcalibur на апарата. Приема се, че общите площи на пиковете на всички компоненти на пробата представляват 100% съставните и части (пълно елуиране).

Определянето на даден компонент  $i$  ( $C_i$ ), изразен като масови части в процент на метиловите естери, се изчислява като съотношение на площта на съответстващия му пик, отнесена към сумата от площите на всички пикове:

$$C_i = (A_i / \Sigma A) \times 100$$

където:  $A_i$  - площта на пика за компонента  $i$ ;  $\Sigma A$  - сумата от площите на всички пикове

## II.6. Контрол на качеството на анализа

За контрол на качеството на приложената аналитична процедура е използван методът на вътрешния стандарт. Проверката на точността и стабилността на използваните стандартни прави е осъществена чрез анализи на стандартни разтвори преди всяка серия анализи. При установяване на разлика над 15% между стойностите/сигнала на стандартните разтвори е препоръчително да се построят нови калибрационни прави. Проверката на чистотата на използваните реактиви за анализ и откриване на евентуални съпътстващи пречения е установена чрез разработване и анализ на „празна проба“ (не съдържаща аналит). Това е необходимо особено при използване на нови партии реактиви. Аналитичният добив е определен чрез добавяне на стандарт на нонадеканова киселина ( $C_{19}:0$ ) към всяка проба. В зависимост от спецификата на рибната матрица (рибния вид) той е от 90% (при видовете с по-ниско липидно съдържание) до 102%. Представените в изследването резултати не са коригирани по добив. За определяне на линейността на метода са построени стандартни прави за мас детектора, чрез трикратно анализиране на 5 стандартни разтвор на метилови естери с концентрация в интервал от 0.5 до 10  $\mu\text{g/l}$ , в зависимост от вида на МК. Точността на метода е определена чрез повторемост на данните ( $n=6$ ) за всяко концентрационно ниво в рамките на един ден, и чрез сравняване на данните от поне 3 последователни дни. Получените стойности на относителното стандартно отклонение (RSD) на повторемост и възпроизводимост, получени при едни и същи условия на анализ, са под 10%. Селективността на прилагания метод се базира на времето на задържане на всеки компонент и точният подбор на специфични характеристични йони от масспектъра на метиловите естери на мастните киселини в режим на детектора Full scan. Избрани са не по-малко от 3 характеристични йона за всяка МК и е разработен идентификационен метод. По един и същи начин се обработват по три паралелни проби за всеки анализиран вид риба, като всяка разработена проба се анализира трикратно.

## **II.7. Енергийна стойност**

### *Определяне на белтъчното съдържание*

Анализът е извършен по БДС 9374:1982 – "Месо и месни продукти. Определяне на белтъчното съдържание. Количеството на общия белтък (**ОБ**) в % се изчислява по формулата:

$$\text{ОБ} = \text{А} \times \text{К}, \%$$

където: А е количеството на общият азот в %, **К** е специфичен коефициент на превръщане на азота в белтък (К за риба и рибни продукти е 6.25)

### *Определяне съдържанието на влага*

Анализът е извършен по БДС 5712:1974 "Месо и месни продукти. Влагосъдържанието се изразява като процент загуба от масата на предварително претеглена проба. По един и същи начин се обработват по три паралелни проби .

### *Изчисляване на енергийна стойност*

След определяне на количествата на В, М и Б в 100 g продукт, количествата им се умножават по съответните енергийни еквиваленти. Сумата от трите произведения представлява енергийната стойност на продукта (WHO/FAO, 2003).

$$\text{ЕС} = \text{В} \cdot 17 + \text{М} \cdot 38 + \text{Б} \cdot 17 \quad (\text{kJ} \cdot 100^{-1} \text{g})$$

$$\text{ЕС} = \text{В} \cdot 4 + \text{М} \cdot 9 + \text{Б} \cdot 4 \quad (\text{kcal} \cdot 100 \text{g}^{-1})$$

където: В - съдържание на въглехидрати (%); М - съдържание на мазнини (%);

Б - съдържание на белтък (%)

## **II.8. Статистическа обработка на резултатите**

Вариационната и графична обработка на данните е направена чрез статистическа програма Graph Pad Prism 5.0. Резултатите за всички анализирани мастни киселини са получени от количествения хроматографски анализ и представляват наличните количества на анализа в 100 g анализирана тъкан, като процент от общите мастни киселини в липидната фракция (приети за 100%). Чрез статистическата програма са изчислени съответните средни стойности за количествата на индивидуалните мастните киселини, стандартните отклонения и коефициентите на вариации за всяка анализирана проба. Тези резултати са преизчислени и представени като средна стойност  $\pm$  стандартно отклонение, като процент (%) от общите мастни киселини и като  $\text{g} \cdot 100 \text{g}^{-1}$  свежо тегло. Проследена е статистическата отличимост на резултатите от анализа на видовете, като са определени статистически значимите промени, наблюдавани при общите липиди и мастнокиселинния състав при различните видове през двата сезона на анализ. Средните стойности на групите и на отделните мастни киселини са сравнени чрез t-критерия на Стюдънт.

### III. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

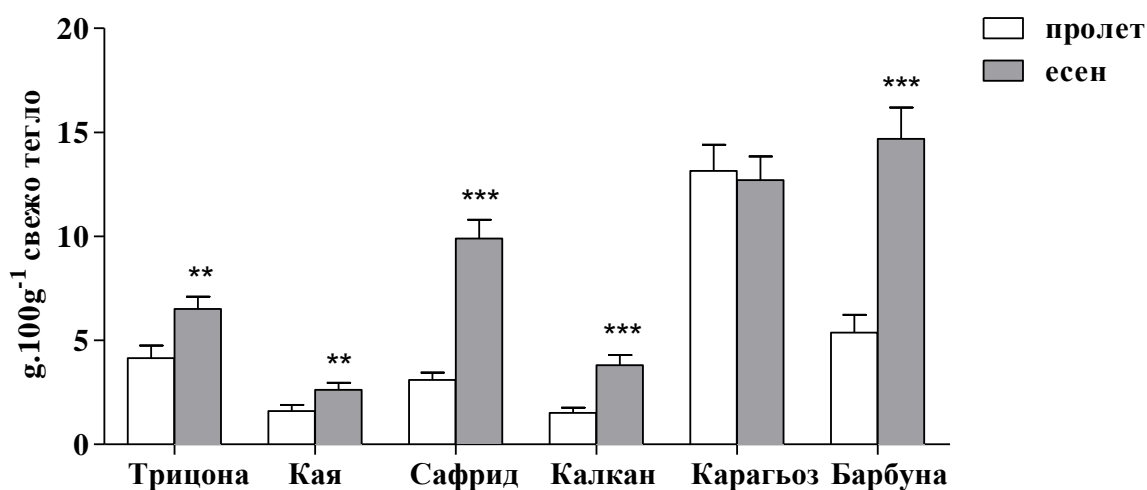
#### III.1. Липидно съдържание и мастнокиселинен състав на черноморски риби

##### III.1.1. Липидно съдържание

Някои от черноморските видове имат сезонен и/или миграционен характер, други са немигриращи и са обект на целогодишен риболов. От подбраните за изследване видове: 6 рибни вида се предлагат на пазара през два сезона: трициона, кая, сафрид, калкан карагъоз, и барбуна; 5 рибни вида са обект на улов през един сезон: паламуд, зарган, кефал, чернокоп и хамсия.

*Липидно съдържание на черноморски видове, обект на целогодишен риболов*

Общите липиди са най-променливата и индивидуална характеристика на рибния вид. На фиг.2 са представени данните за липидно съдържание ( $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  свежо тегло) в ядивната тъкан на шест вида, пробонабирани през сезони пролет (април-май) - есен (октомври-ноември). Получените резултати за липидно съдържание на рибните видове са в граници от  $1.60 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  свежо тегло (пролетна кая) до  $14.69 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  свежо тегло (есенна барбуна). Наблюдавани са значителни разлики в стойностите на ОЛ между двата сезона.



Фиг. 2. Липидно съдържание на видове, целогодишен обект на улов

(\*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*  $p < 0.01$ )

В редица публикации са изследвани промените на общото липидно съдържание в зависимост от сезона, от мястото на улов, от възрастта, от особеностите и

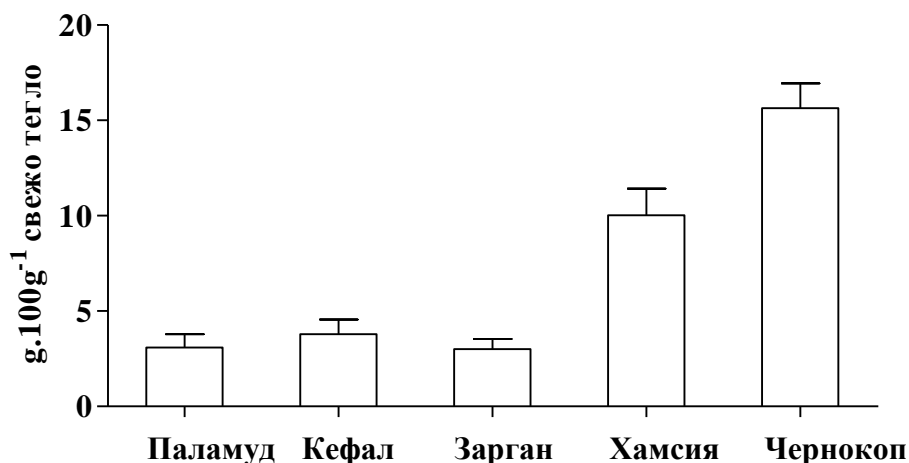
метаболизма на самия вид. Някои видове са силно мигриращи, други са придънни и това повлиява съдържанието на ОЛ (Tocher, 2003; Zlatanov and Laskardis, 2007).

При трицона, кая, сафрид, калкан и барбуна се наблюдава значително нарастване на липидното съдържание през есенния сезон ( $p < 0.01$ ), като единствено при карагьоза то намалява незначително ( $p = 0.01$ ). Колебанията в стойностите му през различните сезони се разглеждат като биологична адаптация на организмите към промяната в околната среда, като през есента те се запасяват с храна (запасната роля на липидите) за предстоящия зимен сезон, беден на фито- и зоопланктон. Риболовните райони в българската акватория на Черно море са разположени на дълбочини до 100-120 m, където температурите на водата достигат до  $7^{\circ}\text{C}$  (м.февруари). Необходимостта от презимуване при тези ниски температури (защитната роля на липидите) се отразява на липидните стойности на пелагичните и дънни видове като кая, калкан и барбуна, обитаващи тези дълбочини (Доклад ИО-БАН, 2012).

Определените в изследването стойности на ОЛ за трицона, са в интервал 4.15 (пролет) -  $6.51 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$  свежо тегло (есен). Guner et al. (1998) представя по-високи стойности за този вид ( $12 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$  свежо тегло). Редица автори предлагат липидното съдържание да се използва и като индикатор за хранителния, и екологичен статус на региона на улов поради пряката връзка между липидното съдържание и наличната храна (Shulman et al., 2005; Yankova et al., 2009; Nikolski et al., 2012). Експерименталните резултати за липидното съдържание на черноморски сафрид за проби с размери  $14.0 \pm 1.5 \text{ cm}$  (м.май 2010) и  $18.0 \pm 1.5 \text{ cm}$  (м.октомври 2010), напълно съответстват на определения концентрационен диапазон за този вид обект на улов в българската акватория на Черно море (Yankova et al., 2009). В научната литературата не са открити данни за изследвания на сезонни колебания на липидното съдържание на черноморски калкан. Този вид мигрира сезонно от брега към морето (до 100-120 m) на север, по протежение на българското крайбрежие за размножаване, хранене и зимуване (FAO, 2005). Представените резултати за този деликатесен вид показват добре изразени разлики между пролетния ( $1.51 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  свежо тегло) и есенния сезони ( $3.75 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  свежо тегло). Резултатите за липидното съдържание на анализирания видове се установяват в концентрационен диапазон 2.11 (кая) - 12.39 (карагьоз)  $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$  свежо тегло. Четири от видовете – кая, калкан, трицона и сафрид могат да се класифицират като такива със средно липидно съдържание ( $2.0\text{-}8.0 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$  свежо тегло), а барбуна и карагьоз - като видове с високо липидно съдържание ( $8.0\text{-}15.0 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$  свежо тегло).

### *Липидно съдържание на черноморски видове, обект на улов през един сезон*

Наблюдават се значителни различия в липидното съдържание на анализираниите проби. При три от видовете - зарган, паламуд и морски кефал са определени сравнително ниски липидни нива – 3.0-4.0 g.100<sup>-1</sup> свежо тегло, докато при хамсия и чернокоп ОЛ са над 10 g.100g<sup>-1</sup> свежо тегло. Резултатите за липидното съдържание на черноморски видове, обект на улов през един сезон са представени на фиг. 3



**Фиг. 3.** Сравнение на липидното съдържание в анализираниите видове

Експерименталните резултати за липидното съдържание на анализираниите видове показват, че те са в концентрационен интервал от 3.0 (зарган) до 15.45 (чернокоп) g.100 g<sup>-1</sup> свежо тегло. Зарган, паламуд и кефал могат да се класифицират като видове със средно липидно съдържание (2.0 - 8.0 g.100g<sup>-1</sup> свежо тегло), хамсията като вид с високо липидно съдържание (8.0-15.0 g.100g<sup>-1</sup> свежо тегло), а чернокопа като вид с много високо липидно съдържание (над 15.0 g.100g<sup>-1</sup> свежо тегло).

### **III.1.2. Мастнокиселинен състав на черноморски видове**

Определен е мастно киселинният състав и профил на общите липиди в ядивна тъкан на 11 черноморски вида. Количествено са определени 30 вида МК, които са класифицирани в три групи: наситени (НМК), мононенаситени (МНМК) и полиненаситени (ПНМК).

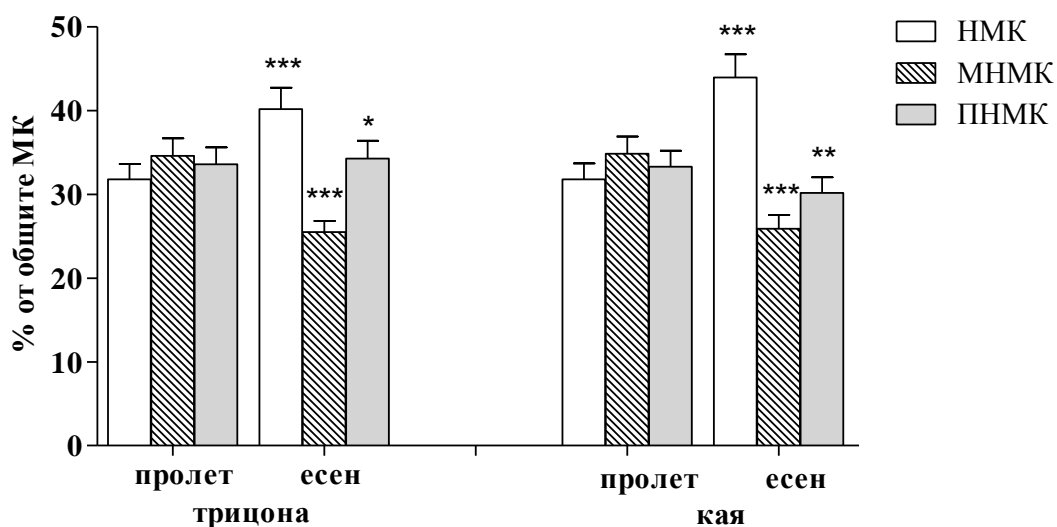
*Мастно киселинния състав на черноморски видове, обект на целогодишен риболов*

Експерименталните данни показват, че стойностите на ненаситените МК (МНМК и ПНМК) са значително по-високи от НМК през цялата година при всички



анализирани видове. През пролетният сезон, при триционата и каята се установява еднакво разпределение на групите МК: МНМК>ПНМК>НМК. Наблюдават се значителни промени в стойностите на НМК между пролетните и есенните проби, което води до преразпределение на групите през есента: НМК>ПНМК>МНМК и при двата вида. При всички анализирани видове във всяка от трите групи мастни киселини се откриват няколко характерни и постоянно присъстващи, във високи количества, индивидуални мастни киселини. НМК са определени в интервал от 31.00% (пролет) до 43.96% (кая, есен), като се отчита и при двата вида, статистически значимо нарастване на стойностите и през есента ( $p<0.001$ ). Групата на МНМК намалява с 25.00% през есенния сезон и при двата вида ( $p<0.001$ ). В групата на ПНМК през есента различията са видово зависими – при триционата се наблюдава незначително повишаване на стойностите им (с 2.30%,  $p<0.01$ ), докато при каята те намаляват с 10.00% ( $p<0.001$ ).

На фигура 4 са представени промените в групите МК при трициона и кая през пролетния и есенен сезони на улов.

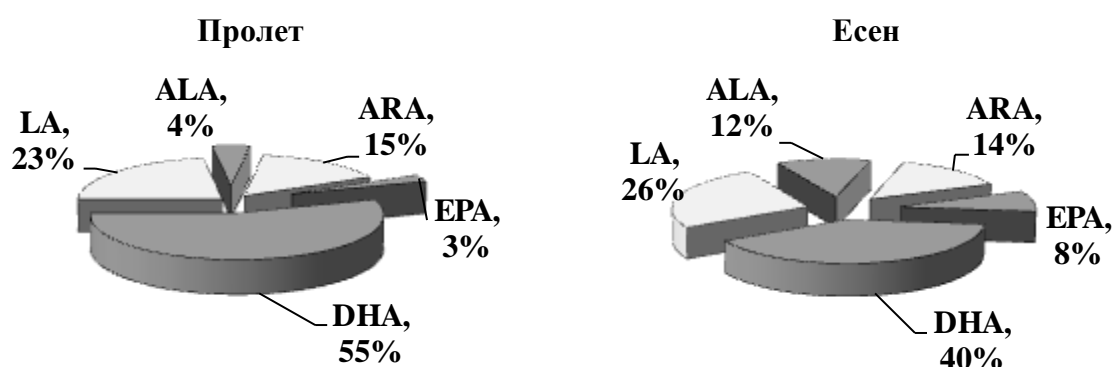


**Фиг. 4.** Групи мастни киселини в ОЛ в трициона и кая (пролет-есен)

(\*\*\*  $p<0.001$ ; \*\* $p<0.01$ ; \*  $p<0.05$ )

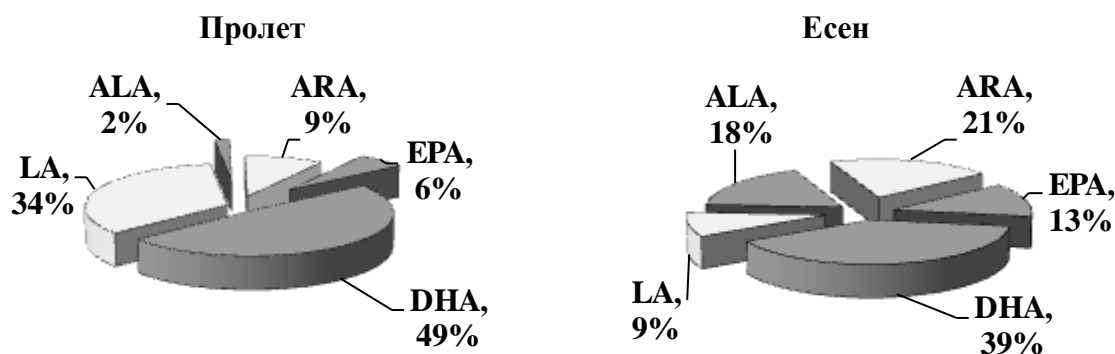
При НМК наблюдаваният МК профил при триционата (през двата сезона) и при пролетната кая е: С16:0>С14:0>С18:0>С12:0, докато при есенната кая се променя до: С16:0>С18:0>С20:0>С14:0. Средните стойности на профила на НМК при липидите от трициона и кая показват, че с най-високи стойности през цялата година на анализ са С16:0, С14:0 и С18:0, които са основни структурни компоненти на триглицеридите. В групата на МНМК са доминиращи две МК С16:1 n7 и С18:1 n9. Наблюдава се сезонен

модел на промяна на разпределението им. При триционата (през двата сезона) и при пролетната кая  $C16:1n7 > C18:1n9$ , докато при липидите на есенната кая  $C18:1n9 > C16:1n7$ , поради драстичното намаляване на палмитолеиновата киселина с 77% ( $p < 0.001$ ). Средните стойности на индивидуалните МНМК показват по-високи нива на  $C16:1n7$  през годината и при двата анализирани вида. Най-големи колебания се наблюдават в групата на ПНМК. При пролетната трициона в най-висока концентрация са определени ДНА (57% от общите ПНМК) и LA (24% от общите ПНМК), докато ЕРА е в значително по-ниски нива (2 % от общите ПНМК). На фиг.5 е представен детайлен МК профил на ПНМК на трициона през двата сезона на анализ.



**Фиг. 5.** Промени в мастнокиселинен профил на ПНМК при трициона

Установява се следното разпределение в групата:  $DHA > LA > ARA > EPA$ , което може да се дължи на богатата на планктон храна на този вид. През есента, нивата на ДНА намаляват значително (до 40.00% от общите ПНМК,  $p < 0.001$ ), на ЕРА и АЛА нарастват, а на LA и АРА са статистически неотличими, поради което разпределението на МК се запазва. Тези наблюдавани промени в съдържанието на дълговерижните ПНМК са свързани с промените в температурата на околната среда, която нараства значително през есенния сезон, а това забавя синтеза на ДНА в рибната тъкан (Shulman et al., 2005). При каята, през пролетта ДНА е в най-високи стойности (49% от общите ПНМК), последвана от LA, докато ЕРА и АРА са в значително по-ниски нива (под 10% от общите ПНМК) (фиг.6).

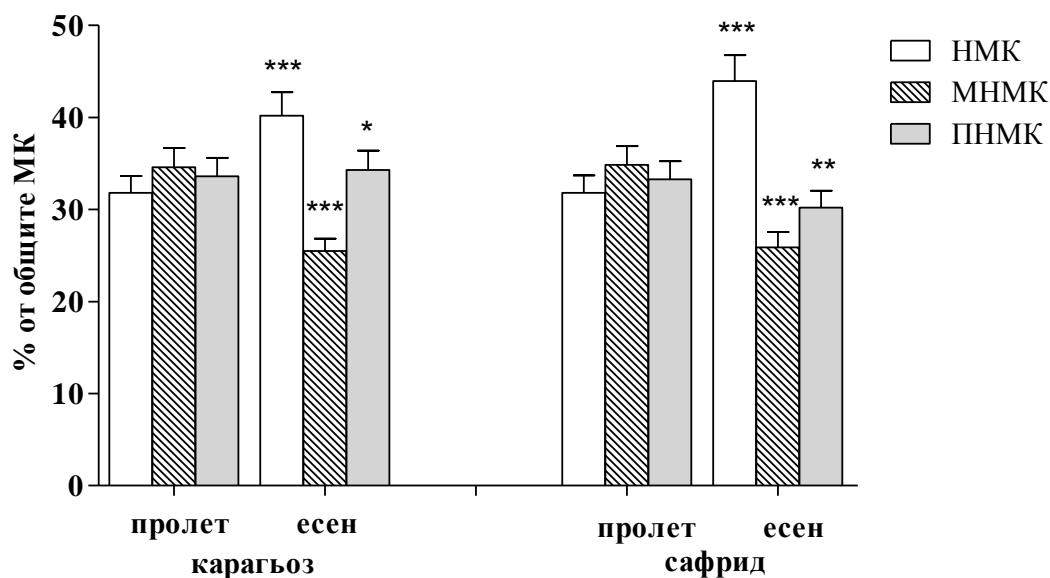


**Фиг. 6** Сезонни промени в мастнокиселинен профил на ПНМК при кая

Разпределението на МК в групата през пролетта е подобно на профила наблюдаван при пролетната трикона. През есента при каята за разлика от триконата, се наблюдава статистически значимо намаляване на нивата на LA (с 82.00%,  $p < 0.001$ ) и нарастване на ALA (девет пъти,  $p < 0.001$ ), на EPA (60%,  $p < 0.001$ ) и на ARA (48%,  $p < 0.001$ ). Това променя мастнокиселинният профил на каята по следният начин: DHA > ARA > ALA > EPA. Няма намерени публикации за изследване на сезонните промени в мастнокиселинния състав на този рибен вид. Средните стойности на индивидуалните МК в групата на ПНМК показват, че и при двата вида най-високи нива през годината имат DHA (12.57 - 13.40% от общите МК) и LA (6.65% от общите МК), което отразява вида на наличната храна.

При карагьоз и сафрид се установяват различия в разпределението на МК групи през пролетта. При карагьоза МНМК са с най-високи нива (36.70%), докато при сафрида и през двата сезона на анализ групата на НМК е с най-високи стойности (38-42.00% от общите МК). Наблюдаваните МК разпределения през пролетта са: МНМК > НМК > ПНМК при карагьоз и НМК > МНМК > ПНМК при сафрид.

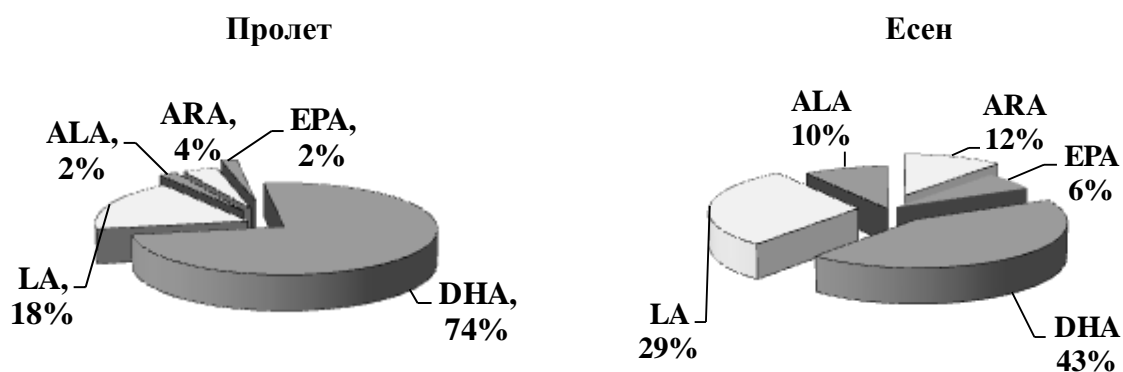
На фигура 7, е представено сравнение на стойностите на групите МК при карагьоз и сафрид през пролетния и есенен сезони на улов.



**Фиг. 7.** Сравнение на групите МК по сезони при карагъоз и сафрид  
 (\*\*\*)  $p < 0.001$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ )

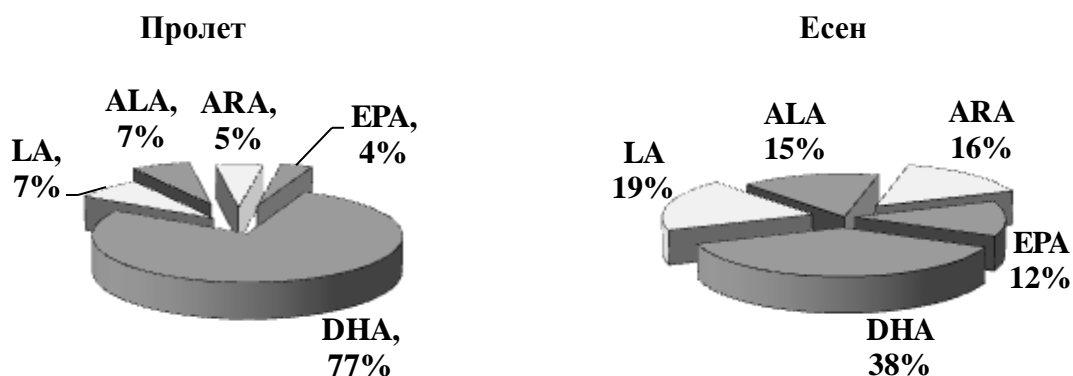
И при двата вида се запазва тенденцията за значително нарастване на групата на НМК през есента (при карагъоза с 28.50%,  $p < 0.001$ ; при сафрида с 10%). Най-значително намаление на МНМК (30.00%,  $p < 0.001$ ) се отчита при карагъоза. Групата на ПНМК показва незначителни вариации при двата вида. При карагъоза, тази група намалява с 6% ( $p < 0.01$ ), докато при сафрида нараства с 5.50% ( $p < 0.01$ ). Това води до преразпределяне на групите МК в тъканите през есенния период по следния начин: НМК > ПНМК > МНМК. Масно киселинният профил на групите показва видова специфика. При липидите, изолирани от карагъоз и през двата сезона, наблюдаваното разпределение в групата на НМК е: C16:0 > C14:0 > C18:0 > C12:0. При сафрида, независимо от значителното понижаване на стойностите на C16:0 (с 48%,  $p < 0.001$ ) през есента, тя остава с най-високи нива. Поради нарастване на C18:0 (с 27%,  $p < 0.001$ ) МК профил се променя: C16:0 > C18:0 > C14:0. Средните стойности на НМК и при двата вида запазват модела на разпределение, характерен за есенния сезон: C16:0 > C18:0 > C14:0. В групата на МНМК доминиращи са C16:1n7 и C18:1n9. Наблюдава се сезонен модел, подобен на трикона и кая, при промяната в разпределението при пролетните проби: C16:1 n7 > C18:1 n9, докато през есента, поради статистически значимото намаляване на нивата на C16:1 n7 (55%,  $p < 0.001$ ) и при двата вида C18:1 n9 > C16:1 n7. Средните стойности на индивидуалните МНМК показват превес на C16:1 n7 и при двата вида

през годината. В групата на ПНМК се наблюдават най-големи сезонни колебания. И при двата вида през цялата година доминиращата ПНМК е ДНА (от 8.50% до 22.54%). При карагьоза (фиг.8) тя достига до 74% от общите ПНМК през пролетния сезон. Втората по количества ПНМК и през двата сезона на анализ и при двата вида е LA (1.95% - 6.43%). Това може да се дължи на богатата на фито-, зоопланктон и ракообразни храна, при тези видове, която е с високо съдържание на EPA и ДНА. През есента, при карагьоза статистически отлнчимо намаляват стойностите на ДНА (с 31% от общите ПНМК,  $p < 0.001$ ), а тези на LA нараства (с 11% от общите ПНМК,  $p < 0.01$ ).



**Фиг.8.** Промени в мастнокиселинния профил на ПНМК при карагьоз

Извесно е, че карагьозът извършва размножителни миграции през пролетно-летния сезон към по-големите реки като Дунав, което се отразява на наличната му храна и респективно на мастнокиселинния му състав. Независимо от тези наблюдавани промени, разпределението в групата остава ДНА > LA и през двата сезона на анализ.

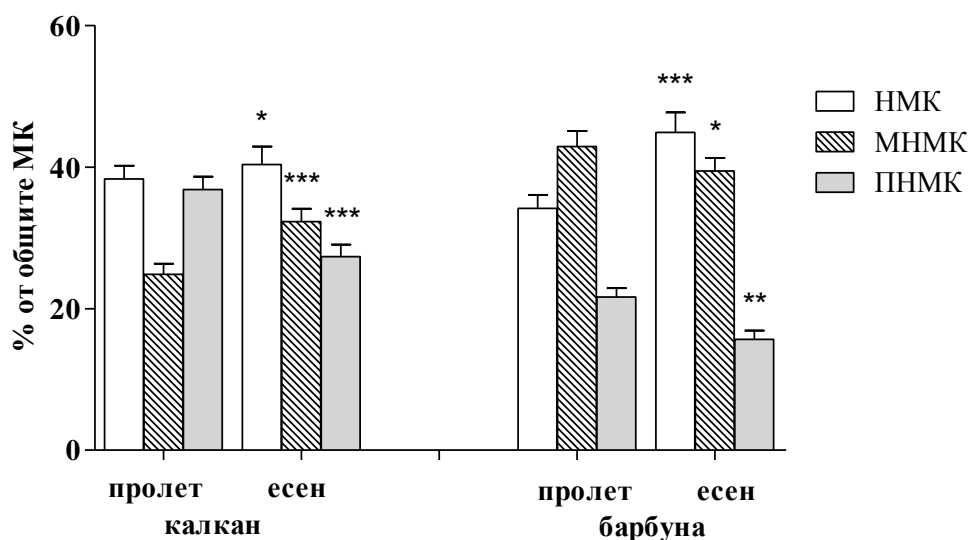


**Фиг.9.** Сезонни промени в мастнокиселинния профил на ПНМК при сафрид

При сафридът, (фиг.9) се установяват идентични сезонни колебания при доминиращите ПНМК, с превес на ДНА през цялата година (ДНА > LA) и

статистически отличимо намаление на DHA през есента (с 72.50%,  $p < 0.001$ ). Средните стойности на индивидуалните мастни киселини в групата на ПНМК показват следното разпределение: DHA > LA. DHA е в интервал от 14.23% до 16.00% от общите МК, а LA е с два пъти по-ниски нива (от 3.20% до 5.95% от общите МК).

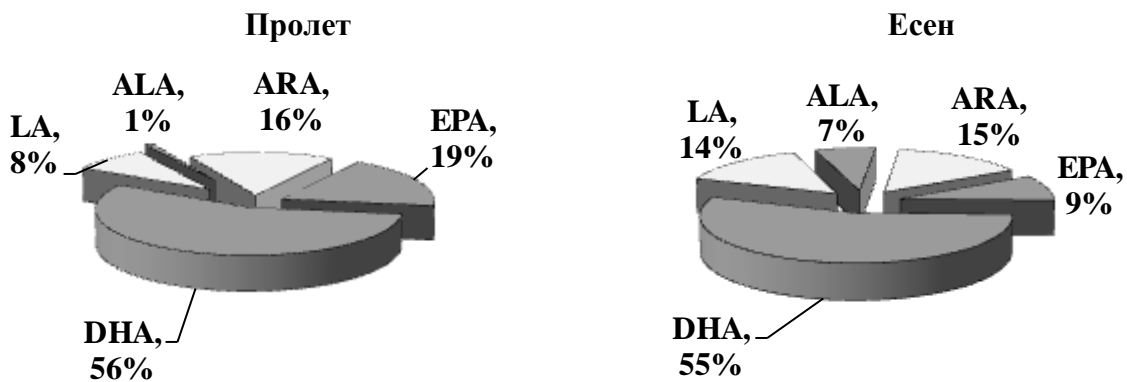
На фигура 10 са представени промените в стойностите на групите МК при калкан и барбуна през двата сезона на улов.



**Фиг. 10.** Сезонни промени в групите МК при калкан и барбуна  
(\*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ )

През пролетта, при калкана се установява следното разпределение: НМК > ПНМК > МНМК, докато при барбуната то е: МНМК > НМК > ПНМК. Запазва се тенденцията за значително нарастване на НМК през есента и при двата вида - при калкан с 6.00% ( $p < 0.01$ ), при барбуна с 24.00% ( $p < 0.001$ ), което води до преразпределение на групите МК: НМК > МНМК > ПНМК. Най-значително намаление на ПНМК (с 28%,  $p < 0.001$ ) през есента се отчита при барбуната. Средните стойности на групите МК съвпадат с пролетните модели на разпределение и при двата вида. При барбуната се установяват най-високи концентрации на МНМК от изследваните черноморски видове (42.00% от общите МК). Разпределението на индивидуалните МК в групите показва сезонен характер. И при двата вида (през двата сезона) наблюдаваното разпределение на НМК е: C16:0 > C18:0 > C14:0 > C12:0. В групата на МНМК доминиращи са C16:1 n7 и C18:1 n9. Наблюдава се видов модел на промяна в разпределението им - в пролетните проби и есенната барбуна: C18:1n9 > C16:1n7, докато

при есенният калкан:  $C16:1n7 > C18:1n9$  ( $C16:1n7$  нараства 6 пъти,  $p < 0.001$ ), което може да се дължи на промяна във вида на наличната храна или поради евентуални миграции. Средните стойности на МНМК показват превес на  $C16:1n7$  при калкана, и на  $C18:1n9$  при барбуната. В групата на ПНМК се наблюдават най-значителни промени при есенната барбуна. И при двата вида ДНА е доминиращата ПНМК (фиг. 11).



**Фиг.11.** Сезонни промени в мастно киселинния профил на ПНМК при калкан

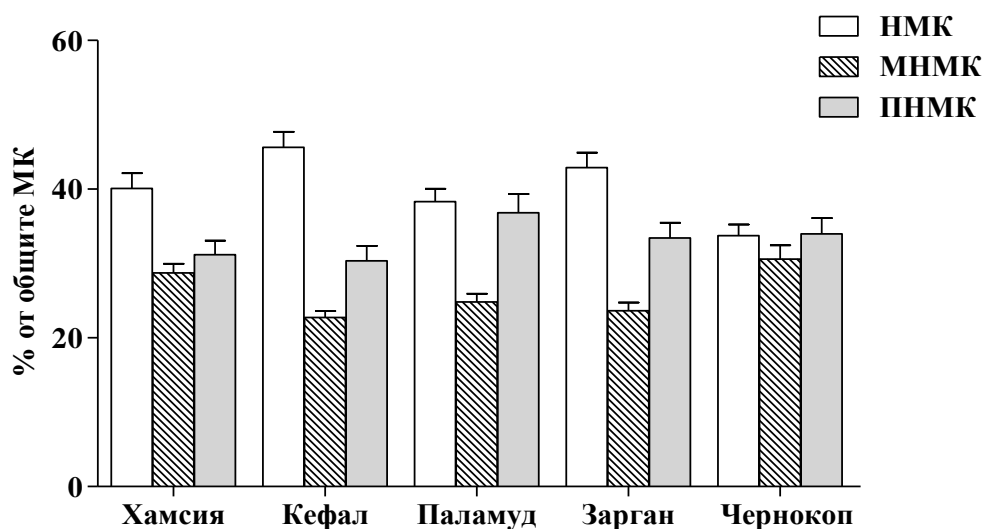
През есента стойностите и намаляват значително при барбуната (с 20%,  $p < 0.001$ ), докато при калкана остават непроменени. Мастно киселинният профил на ПНМК на двата вида през пролетта и при есенната барбуна е:  $DHA > ARA > LA > EPA$ . Най-високи нива на EPA (12.5% от общите ПНМК) се откриват при пролетен калкан, но през есента стойностите и намаляват с 51.00% ( $p < 0.001$ ). При барбуната (фиг.22) нивата на EPA са ниски (6% от общите ПНМК) и през двата сезона, като намаляват през есента до 0.8% от общите МК, заедно с останалите ПНМК в групата. Стойностите на LA се различават, както между сезоните, така и при видовете. При калкана нивата на LA нарастват значително през есента (с 43% от общите ПНМК), докато тези на ARA остават непроменени през годината. Не са открити публикации за сезонни промени в мастнокиселинен профил на черноморски калкан.

И при двата дънни вида средните стойности на индивидуалните ПНМК показват различия в профила на тези МК. При калкана разпределението е:  $DHA > ARA \geq EPA$ . Това определя този вид като много добър източник на ДНА поради нейните високи и непроменени нива през двата сезона на анализ. При барбуната МК профил има вида:  $DHA > ARA > LA$ , като се откриват значително по-ниски количества ДНА и EPA в сравнение с другите черноморски видове.

Експерименталните резултати показаха сходство в наблюдаваните сезонни промени в мастнокиселинния профил на ПНМК на пелагичните видове - трикона, сафрид и карагъоз. При тези видове, през есента, ДНА значително намалява нивата си (средна стойност 56.0% от общите ПНМК), докато ЕРА увеличава стойностите си (средна стойност 5.0 % от общите ПНМК). Средното годишно разпределение на МК в групата на ПНМК е: ДНА>LA>ARA>ALA>ЕРА. При дънните видове - кая, калкан и барбуня през есента се установи, че ДНА намалява нивата си при кая и барбуня, (средна стойност 48.0% от общите ПНМК), докато ЕРА увеличава нивата си при кая, но ги намалява при калкан и барбуня (средна стойност 10.0% от общите ПНМК). Средните стойности на ПНМК при тези видове показва разпределението: ДНА>LA>ARA>ЕРА>ALA. Може да се заключи, че през цялата година, пелагичните видове са по-богати на ДНА, в сравнение с демерзалните.

*Мастнокиселинен профил на черноморски видове с един сезон на улов*

Определен е мастно киселинният състав и мастно киселинният профил на 5 черноморски вида, предлагани основно през есенния сезон на пазара: хамсия, кефал, палмуд, зарган и чернокоп. Определените стойности за НМК са в интервал от 33.73% (чернокоп) до 45.63% (морски кефал). Рибните видове се подреждат по намаляване на нивата на НМК: морски кефал>паламуд>зарган>хамсия>чернокоп. Групата на МНМК е с най-ниски нива и при петте анализирани вида (от 22.75% до 30.59%). Групата на ПНМК е в интервал от 30.35% до 34.86%, На фиг. 12 са показани групите МК в изследваните видове.



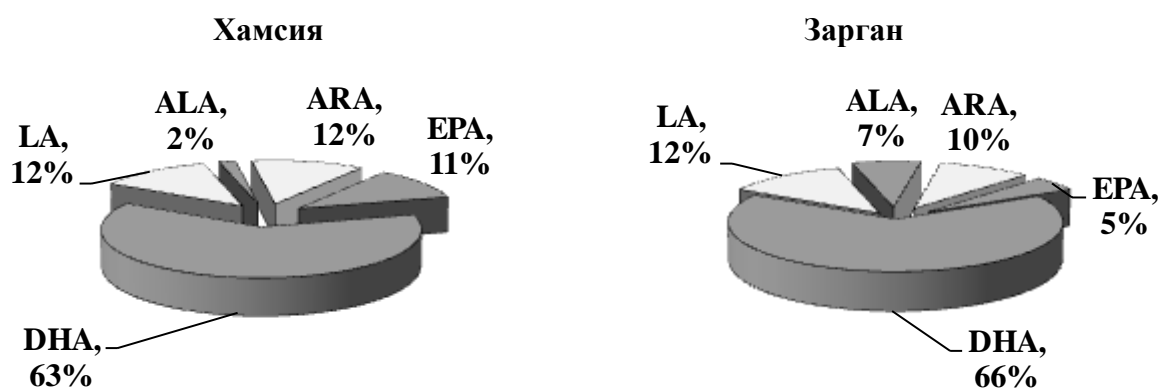
**Фиг 12.** Разпределение на групите МК в изследваните видове



При четири от видовете (хамсия, кефал, зарган и паламуд) се наблюдава следното разпределение на групите МК: НМК > ПНМК > МНМК, без да се открива корелация с количеството общи липиди. При чернокопа се наблюдава най-балансирано разпределение на МК групи: ПНМК $\geq$ НМК>МНМК. Подобно съотношение на МК групи се установи и при есенните проби от видовете, които са целогодишен обект на улов, затова то би могло да се използва за охарактеризиране на есенните видове, уловени от българското черноморско крайбрежие.

Разпределението на индивидуалните МК вътре в групите е специфично за всеки вид. Определеният МК профил на наситените мастни киселини позволява разпределяне на видовете в две групи. При кефала, паламуда и заргана то е: C16:0>C18:0>C14:0, а при хамсията и чернокопа е: C16:0>C14:0>C18:0. Експерименталните резултати за профила на МНМК показват, че C16:1n7 и C18:1n9 са в най-високи нива в групата. В зависимост от това, коя е доминираща МК, видовете могат да се разделят на групи: при кефал, паламуд и чернокоп C18:1n9>C16:1n7, при хамсия и заргана C16:1n7>C18:1n9.

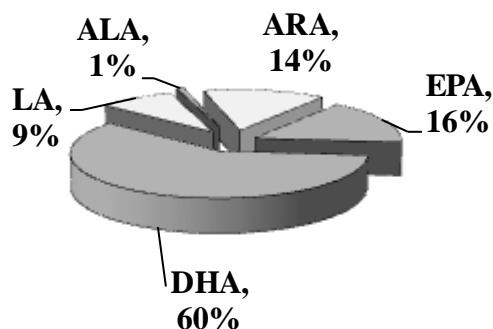
Различия в МК профил на видовете се наблюдават и в групата на ПНМК. В тази група доминиращи са две МК: ДНА - при хамсия, паламуд и зарган, и LA- при кефал и чернокоп. Мастнокиселинното разпределение вътре в групата е видово специфично и се формират следните групи: при хамсията и заргана: ДНА>LA>ARA; при кефала и чернокопа: LA>ДНА>ARA, при деликатесния вид паламуд: ДНА>ЕРА>20:3n3. На фиг.13 е представен мастнокиселинен профил на ПНМК при хамсия и зарган.



**Фиг.13.** Мастнокиселинен профил на ПНМК при хамсия и зарган

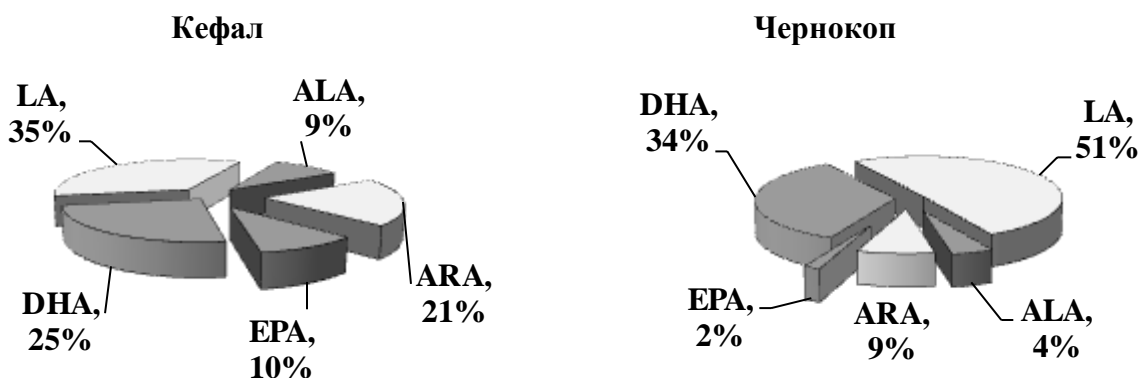
И двата вида са много добър източник на ДНА и ЕРА, като сумата от тези ПНМК достига над 20% от общите МК в рибната тъкан. При паламуда (фиг.14) се

установяват най-високи нива на EPA - 3.55% от общите МК (15 % от общите ПНМК) и по-ниски на ARA в сравнение с останалите видове с един сезон на улов.



**Фиг.14.** Маснокиселинен профил на ПНМК при паламуд

На фигура 15 е представен маснокиселинния профил на ПНМК за морски кефал и чернокоп.



**Фиг.15.** Маснокиселинен профил на ПНМК при кефал и чернокоп

Тези два морски вида показват по-високо съдържание на n-6 ПНМК, което е по-характерно за сладководните видове. Това може да се дължи на факта, че кефалът обитава по-сладки води до есента, когато пак се връща в открито море.

#### **Обобщение на резултати за черноморски видове**

1. Според резултатите за липидното съдържание, анализиранияте видове могат да бъдат разпределени в следните групи:

- ниско липидно съдържание (ОЛ до 2.0%) - пролетни кая и калкан (от 1.51 до 1.60 g.100g<sup>-1</sup> свежо тегло);
- средно липидно съдържание (ОЛ =2.0-8.0%) трициона (през двата сезона), есенна кая, есенен калкан, пролетни сафрид и барбуна, зарган, паламуд и морски кефал – в интервал от 2,62 до 6.65 g.100g<sup>-1</sup> свежо тегло;

- високо липидно съдържание (ОЛ = 8.0 – 15.0 %) - карагьоз (през двата сезона), есенни проби сафрид и барбуна, хамсия, в интервал от 9.90 до 14.69 g.100g<sup>-1</sup> свежо тегло;

- много високо липидно съдържание (ОЛ над 15 %) - чернокоп (15.45 g.100g<sup>-1</sup> свежо тегло).

2. Идентифицирани са 34 мастни киселини. Количествено са определени 30 вида, които са класифицирани в три групи: наситени (НМК), мононенаситени (МНМК) и полиненаситени (ПНМК).

3. Наблюдаваните сезонни промени при пелагичните видове: трициона, сафрид и карагьоз показват видово разпределение на групите МК през пролетния сезон, с превес на МНМК. През есенният период МК съотношения се променят и при всички видове се установява следното разпределение: НМК > ПНМК > МНМК.

4. Сезонните промени при демерзалните видове кая, калкан и барбуна показват само видови различия в прегрупиранията на МК (и през двата сезона на изследване). През пролетния период при кая и барбуна МНМК са с най-високи стойности (34.86 - 42.90%), докато през есента при всички видове НМК са с най-високи нива (39.45- 43.96%).

5. Средните стойности на групите МК при шестте анализирани вида са в интервал: за НМК – от 36.00 до 40.73% ; за МНМК – от 28.58 до 41.18%; за ПНМК – от 19.27 до 33.95%.

6. При четири от анализираните през един сезон видове: хамсия, кефал, паламуд и зарган се наблюдаваното МК разпределение е: НМК > ПНМК > МНМК. При чернокоп разпределението е: ПНМК > НМК > МНМК. Стойностите на групите МК са в интервал за НМК – от 33.73 до 45.63% ; за МНМК – от 22.75 до 30.59%; за ПНМК – от 30.35 до 34.86%.

7. В групата на НМК, при единадесетте рибни вида доминираща е C16:0 (15.87 - 33.25 % от общите МК), следвана от C18:0 (1.56 до 6.27%) и C14:0 (2.50 до 5.15%).

8. В групата на МНМК с най-високи стойности са C18:1n-9 и C16:1n-7. Наблюдават се значителни сезонни промени, като при пет от видовете, през есента C18:1n-9 > C16:1n-7. При видовете с един сезонна улов, разпределението на тези МК е видово специфично, като при кефал, паламуд и чернокоп е: C18:1n-9 > C16:1n-7. Средните стойностите за C18:1n-9 са от 8.37 до 20.27%; за C16:1n-7 са от 4.96 до 21.15% от общите МК, и показват превес на C16:1n-7.

9. Наблюдават се сезонни промени в мастнокиселинният профил на ПНМК. През пролетта при дълговерижните ПНМК се отчита разпределението: ДНА>ЕРА, докато през есента при всички пелагични видове стойностите на ДНА намаляват, а на ЕРА нарастват. От демерзалните видове при калкана се запазват високи нивата на ДНА и през двата сезона, докато при кая и барбуна стойностите и намаляват значително през есента. Установява се, че ядивната тъкан на пелагичните видове в сравнение с дънните, е по-богата на ДНА и ЕРА и през двата сезона на анализ. Средните стойности за ЕРА са в интервал от 0.92-3.43%, за ДНА са от 6.30 – 16.00% от общите МК.

10. От видовете с един сезон на улов, при хамсия, паламуд и зарган се наблюдават високи нива на ЕРА (1.33-3.55%) и ДНА (12.90-18.51%), докато при кефал и чернокоп с най-висока стойност е LA (6.40-16.60%).

## **III.2. Оценка на качеството на черноморски риби като храна, чрез липидни индекси и мастнокиселинни съотношения.**

### **III.2.1. Липидни индекси**

Определянето на детайлния МК състав и профил на липидите осигуряват ценна информация, чрез която се характеризира хранителната им стойност. Липидните индекси оценяват влиянието на индивидуалните МК за превенция на развитието на заболявания на кръвоносната и сърдечно-съдовата система на човека. Атерогенният и тромбогенният потенциал на липидите се оценява чрез атерогенен (АИ) и тромбогенен (ТИ) липидни индекси. Холестеролемичният (хипо- и хипер-) потенциал може да се определи чрез h/H индекса. Счита се, че стойностите под 1.0 за АИ и ТИ са показател за по-добри антиатерогенни и антитромбогенни свойства на липидите (Ulbricht and Sautgate, 1991; Михайлова, 2007; Woods et al., 2008). За h/H индекса се препоръчват стойности по-високи от 1.0, които определят по-добър хипохолестеролемичен потенциал на анализиранияте липиди (Williams et al., 2000; Santos-Silva et al., 2002; Fillo et al., 2007).

#### *Атерогенен индекс (АИ)*

Изчислява се по следната формула (Ulbricht and Sautgate, 1991):

$$AI = (12:0 + 4 \cdot 14:0 + 16:0) / (\sum MНМК + \sum ПНМК)$$

#### *Тромбогенен индекс (ТИ)*

Изчислява се по следната формула (Ulbricht and Sautgate, 1991):

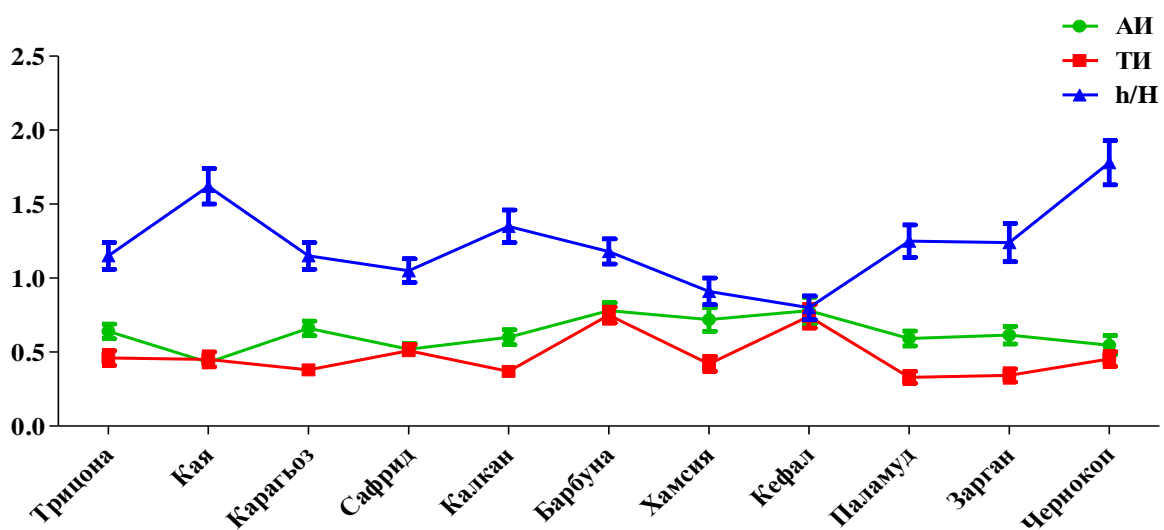
$$TI = \frac{(14:0 + 16:0 + 18:0)}{\left(\frac{MНМК}{2}\right) + \left(\frac{\text{омега6ПНМК}}{2}\right) + (3 \times \text{омега3ПНМК}) + \left(\frac{\text{омега3ПНМК}}{\text{омега6ПНМК}}\right)}$$

Холестеролемичен индекс (h/H)

Изчислява се по следната формула (Santos-Silva *et al.*, 2002; Martely *et al.*, 2013):

$$h/H = \frac{[(18:1n-9+18:2n-6+18:3n-3+18:3n-6+ 20:2n-6+20:3n-6+20:4n-6+20:5n-3+22:6n-3)]}{[(12:0+14:0+16:0)]}$$

В представеното изследване са изчислени липидните индекси на 11 черноморски вида. Установяват се по-ниски стойности за АИ, ТИ и по-високи за h/H индекса при пролетните проби трициона, карагъоз, калкан и барбуна. Обратната тенденция се наблюдава при кая, където АИ < ТИ, и сафрид, при който АИ = ТИ. От представените резултати може да се заключи, че през пролетния сезон липидите в трициона, карагъоз, калкан и барбуна са с по-висока антиатерогенна и антитромбогенна активност, което се дължи на по-високите количества n-3 ПНМК. Определените средни стойности за анализирания черноморски видове са в интервал : за АИ от 0.43 (кая) до 0.78 (барбуна); за ТИ - от 0.37 (калкан) до 0.75 (барбуна); за h/H - от 1.02 (сафрид) до 1.62 (калкан). При всички видове се наблюдава тенденцията АИ > ТИ. При всички черноморски видове стойностите на АИ и ТИ са под 1.0, което е показател за техните добри анти-атерогенни и анти-тромбогенни свойства. На фигура 16 са представени средните стойности на АИ, ТИ и h/H индексите в изследваните черноморски рибни видове.



Фиг. 16. Средни стойности на АИ, ТИ и хипохолестеролемичен индекси

От експерименталните резултати може да се обобщи, че:

- черноморските видове показват по-високи стойности за АИ, в интервал от 0.43 (каля) до 0.78 (кефал), и по-ниски стойности за ТИ, в интервал от 0.32 до 0.75 (барбуна)
- при всички анализирани видове средните стойностите на двата липидни индекса са под 1.0, което показва, че те притежават много добър анти-атерогенен и анти-тромбогенен потенциал;
- хипохолестеролемичният индекс е в интервал от 0.80(кефал) до 1.78 (чернокоп), като при всички анализирани видове средните стойности за h/H са над 1.0, което дава информация за добрия хипохолестеролемичен потенциал на липидите от тези видове.

### **III.2.2. Мастнокиселинни съотношения**

За оценка на функционалната и биологичната активност на рибните липиди се използват редица МК съотношения, които се изчисляват на база количествата на НМК, МНМК, ПНМК, на n-3 и n-6 групите, както и на индивидуалните n-3 ПНМК в анализираниите липиди. Такива са съотношенията n-6/n-3 и ПНМК/НМК. (Saito et al, 2007; Fernandes et al, 2007; Martely et al,2013; Simopolous, 2013).

#### *Съотношение на n-6/n-3*

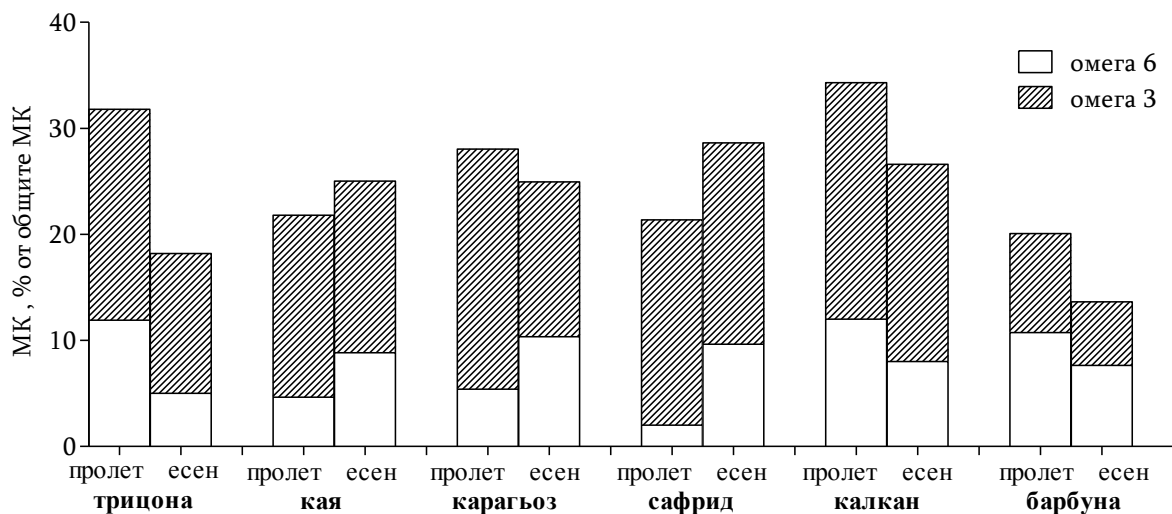
Световната Здравна Организация съвместно с FAO и EFSA посочват съотношението n-6/n-3 ПНМК като важен елемент за моделиране на човешката диета, с цел предотвратяване на хронични заболявания, сред които най-вече сърдечно-съдовите (ССЗ). (WHO/FAO, 2003; EFSA, 2009). Установено е, че биосинтезът на n-3 ПНМК при хората не е достатъчно активен, а също така намалява с напредване на възрастта. Поради това, за нуждите на организма, е важно да се осигуряват достатъчни количества от EPA и DHA, най-вече чрез консумацията на риба (Kris-Eterton et al., 2003; Burdge and Calder, 2005; Ruxton, 2011).

#### *Съотношение на ПНМК/НМК*

За най-балансирано се счита това съотношение, при което и трите групи НМК:МНМК:ПНМК са 1:1:1. Препоръчителното минимално съотношение е 0.45 (British Department of Health (1994).), а за оптимално се приема ПНМК/НМК 1.0 (АНА,2005; EFSA,2009; WHO/FAO, 2003;2010).

На база на определения мастнокиселинен състав, са изчислени количествата на n-3 и n-6 ПНМК на 11 черноморски вида. За шест от видовете са проследени сезонните колебания през пролетно-есенния период на улов. И при шестте анализирани вида се установява намаляване на нивата на n-3 ПНМК през есента с 8.0 до 35.0 % под влияние

на промяната на температурата на морската вода и вида, и количеството на наличната храна. При кая, карагъз и сафрид се наблюдава нарастване на n-6 нивата (с 47.0%,  $p < 0.001$ ) през есента. Процесите на синтез на n-3 и n-6 групите протичат паралелно в организма, с използването на едни и същи ензимни системи. При нормални условия съществува баланс в продуцирането на двете групи ПНМК. Когато обаче в диетата доминира LA, равновесието се измества по посока синтез на n-6 МК, което води до дефицит на n-3 МК (Tocher, 2003). На фигура 17 са представени сезонните промени в групите омега ПНМК в шестте анализирани черноморски вида.

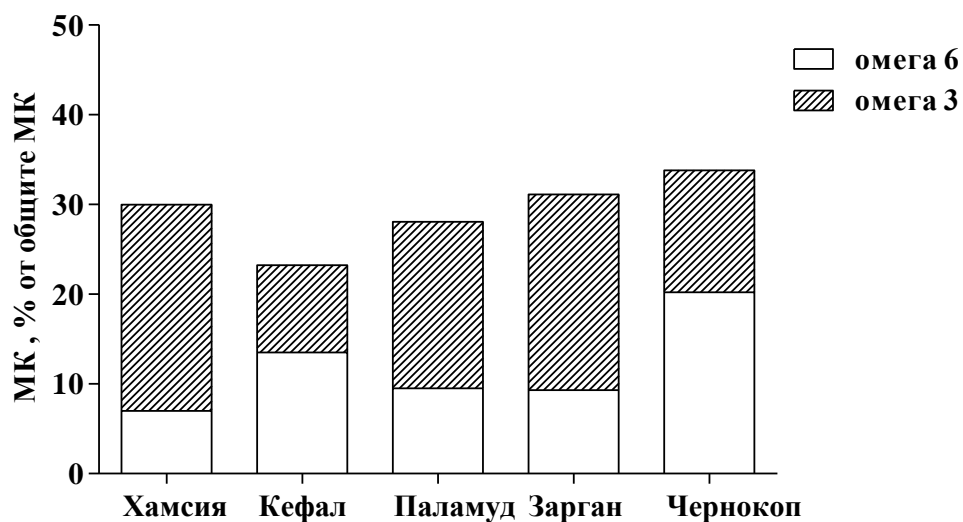


**Фиг. 17.** Съдържание на n-6 и n-3 групите през пролетно-есенен сезон

При четири от видовете се наблюдава намаляване на общото ниво на омега ПНМК (n-6 и n-3) през есенния сезон. Само при кая и сафрид, количествата на тези ПНМК нараства през есента поради увеличаването на n-6 ПНМК. Средните стойности за n-3 ПНМК за шестте вида са в интервал от 7.56 % (барбуна) до 20.45% (калкан), за n-6 - от 5.72% (сафрид) до 9.96 % (калкан). Това показва, че n-3 ПНМК в изследваните видове са в значително по-високи нива от n-6 МК през цялата година.

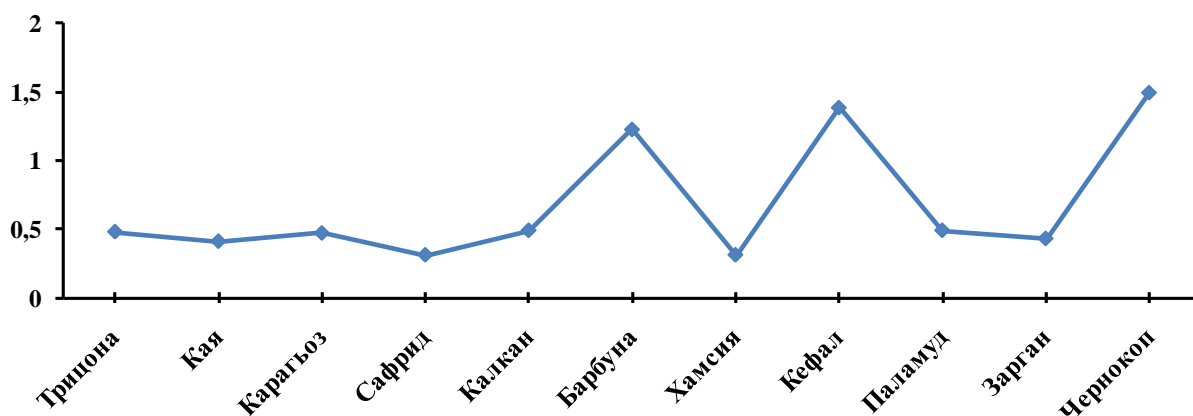
Изчислено е съотношение между омега ПНМК групи за анализираните видове. Определените съотношения за всички видове са в граници от 0.10 (сафрид пролет) до 0.71 (есенен карагъз). Средните стойности на n-6/n-3 са в диапазон от 0.31 (сафрид) до 1.23 (барбуна), като за шестте вида общото средно съотношение е 0.48. Тези стойности са в рамките на препоръчвания интервал от 0.25 до 4.0 от редица международни здравни организации (АНА, 2005; EFSA, 2009; WHO/FAO, 2010).

Определени са стойностите на омега ПНМК и за 5 черноморски вида, с един сезон на улов. Експерименталните резултати показват видови различия в стойностите на n-3 и n-6 групите. Наблюдаваните нива за n-3 МК са в граници 9.71% (кефал) до 18.51% (зарган), а за n-6 МК са от 9.30% (зарган) до 20.00% при чернокоп. На фигура 18 са представени стойностите на омега ПНМК групи за тези видове.



**Фиг. 18.** Съдържание на n-6 и n-3 ПНМК в черноморски видове

Като следствие от големите разлики между тези групи за n-6/n-3 съотношението, при три от видовете - деликатесните паламуд и зарган, и хамсия се определят стойности под 0.5. На фиг. 19. са представени средните стойности за съотношението n-6/n-3 на анализираниите черноморските видове.



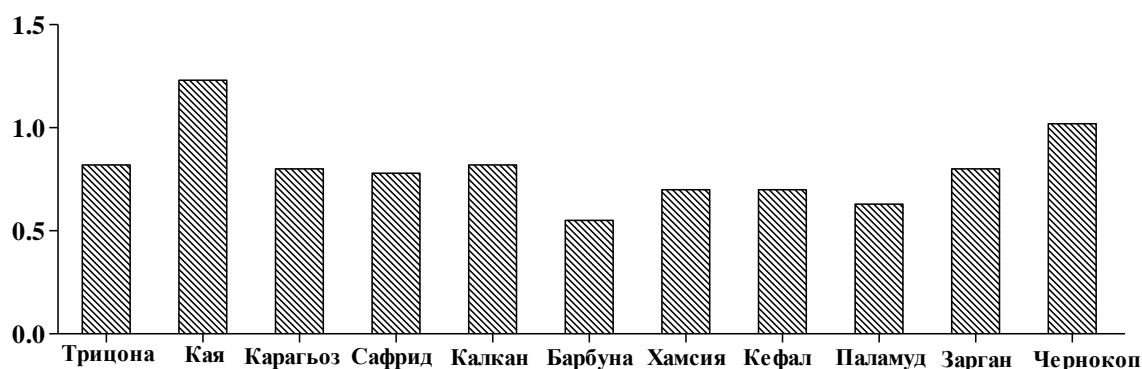
**Фиг.19.** Съотношения на n-6/ n-3 ПНМК за анализираниите черноморски видове



Поради по-високото съдържание на n-6 ПНМК при кефал и чернокоп се наблюдават съотношения, характерни за сладководните видове и стойности над 1.00. При всички анализирани видове, стойностите на това съотношение са в граници от 0.25 до 4.0, препоръчвани от редица международни здравни организации (АНА, 2005; EFSA, 2009; WHO/FAO, 2010).

### ***Съотношение на ПНМК/НМК***

В настоящата дисертация това съотношение е изчислено за 11 черноморски вида. На фиг.20 са представени средните стойности за това съотношение за анализираниите черноморски видове.



**Фиг.20.** *Съотношение ПНМК/НМК при черноморските риби*

При пет от анализираниите видове се наблюдава значително понижение на изследваното съотношение ( $p < 0.001$ ). Това е свързано с нарастването на количествата на НМК през есента, поради натрупване на резерви липиди за предстоящия период на презимуване или миграция при тези видове. При сафрида не се наблюдават промени в стойността на съотношението през годината. В научната литература не са открити публикации за сезони промени при съотношението ПНМК/НМК на представяните в това изследване черноморски видове. Средните стойности на съотношението ПНМК/НМК в изследваните черноморски видове са в интервал от 0.55 (барбуна) до 0.94 (кая) и показват балансирано разпределение на МК групи в ядивната им тъкан. При всички анализирани видове то е над препоръчваният минимум от 0.45 (Department of health, HMSO, London, 1994), и близо до  $1.0 \pm 0.2$  стойности, които се приемат за оптимални (Simopolous, 2013).

### **III.2.3. Количества ЕРА и ДНА ( $\text{g} \cdot 100 \text{g}^{-1}$ свежо тегло)**

Редица международни организации като WHO, FAO, EFSA, АНА, са публикували препоръки за увеличаване на приема на n-3 ПНМК чрез повишаване на

рибната консумация, особено в страни с ниска такава (WHO/FAO, 2008; 2010; АНА, 2005; EFSA, 2009; 2012). Това се е наложило поради все по-нарастващия брой научни публикации за епидемиологични изследвания върху влиянието и участието на МК и особено ПНМК в жизнено важни процеси в организма.

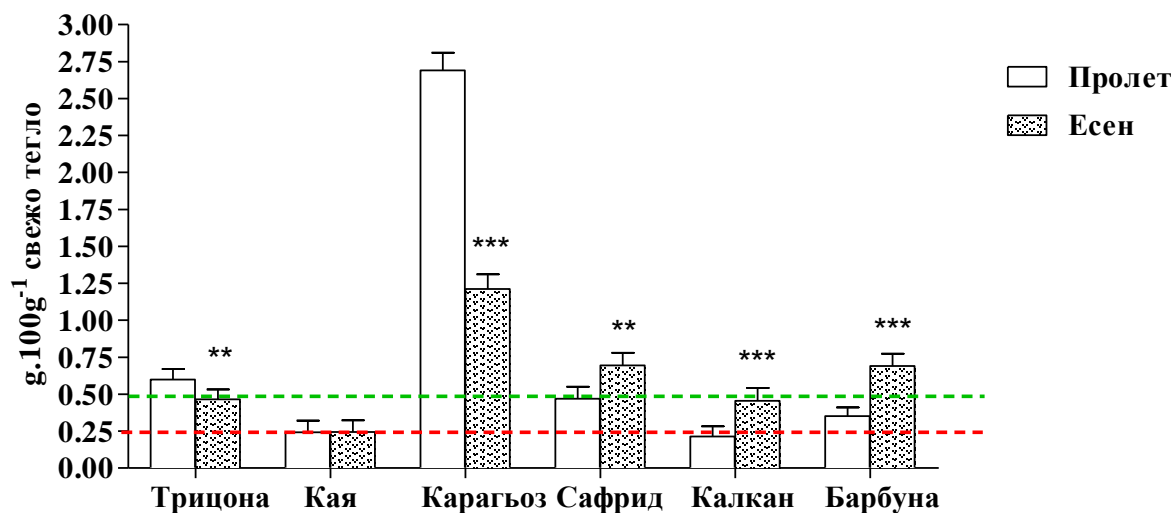
Препоръките от национални и интернационални органи за n-3 приема, основно като EPA+DHA, варират от 200 до 600 mg на ден за възрастни. Те са базирани на установената връзка между приема на тези МК (основно като риба или рибено масло) и намаляване на риска от исхемична болест на сърцето. Специфичните препоръки за бременни и кърмещи варират от 115 до 200 mg на ден основно като DHA и са базирани на акумулирането и в централната нервна система, нейният ефект върху визуалната функция по време на периода на хранване на детето, както и за компенсиране на загубите от окислението на майчината хранителна DHA и акумулирането и в тялото на плода/кърмачето. (EFSA, 2012). За Европейските страни (възрастни и деца) това количество е от 250 до 500 mg на ден. (EFSA, 2012).

Petrova et al. (2011) са проучвали приема на n-3 ПНМК в България и са установили много ниски нива на ALA и DHA (0.34 и 0.12% от общите МК) в адипозна тъкан на 100 доброволци от градски и селски райони на страната. Средната наличност на ALA и DHA в адипозната тъкан в България е сравнима с тази, установена за страни с много висок риск от инфаркт на миокарда и може да бъде важен фактор за хронични заболявания, включително ментални, неврологични, имунологични заболявания и рак. Независимо от установената неблагоприятна тенденция за България, както и препоръките на WHO, FAO и EFSA за увеличаване приема на риба, консумацията и у нас е много ниска. Причините са свързани с липсата на традиция за редовна консумация на риба и с липса на съвременна информация за мастно киселинния състав на предлаганите на българския пазар черноморски рибни видове.

В представената дисертация въз основа на данните от мастнокиселинния състав на общите липиди на анализирания черноморски видове, са изчислени количествата (в  $g \cdot 100g^{-1}$  свежо тегло) и на дълговерижните n-3 ПНМК EPA и DHA. Получените резултати, са сравнени с препоръчвани от световни здравни организации средни стойности на прием на EPA+DHA, вариращ между 250 -500 mg за здрави хора, като профилактика за ССЗ и 1000 mg на ден за болни от ССЗ (АНА, 2005; WHO/FAO, 2010; EFSA, 2009; 2012). Определените в това изследване количества за EPA и DHA n-3 ПНМК в черноморски видове, предлагани на нашия пазар, дават актуална и много

полезна информация както за потребителите така и за специалистите в областта на храненето.

Установени са сезонни колебания в количествата на дълговерижните ЕРА и ДНА n-3 ПНМК, дължащи се на промени в липидното съдържание и промени в метаболизма на видовете преди и след репродуктивния им цикъл. Наблюдават се видови специфични колебания в стойностите на дълговерижните n-3 ПНМК. Определените количества за ЕРА през пролетния сезона са в интервал от 0.026 (трициона, сафрид) до 0.070 g.100<sup>-1</sup>g свежо тегло (карагъоз), а през есенния - от 0.069 (кая) до 0.255 g.100<sup>-1</sup>g свежо тегло (сафрид); за ДНА са от 0.176 (калкан) до 2.73 g.100<sup>-1</sup>g свежо тегло (карагъоз) през пролетта и от 0.205 (кая) до 1.12 g.100<sup>-1</sup>g свежо тегло (карагъоз) през есента. В резултат сумата от ЕРА+ДНА при всички анализирани видове за сезон пролет-есен е в граници от 0.234 (пролетен калкан) до 2.804 g.100<sup>-1</sup>g свежо тегло (пролетен карагъоз). На фиг.21 е представено сравнение на количествата на ЕРА+ДНА в черноморски видове, предлагани през два сезона на пазара, с препоръките на WHO, FAO и EFSA за прием на тези МК.

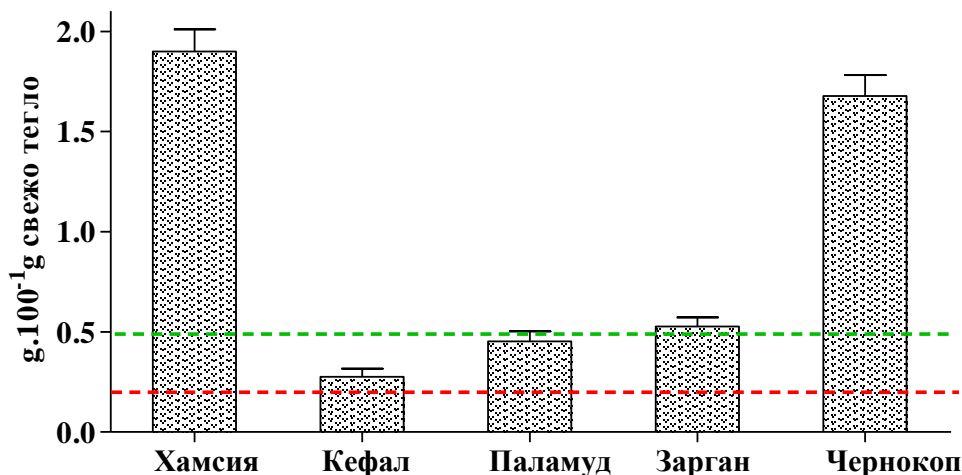


**Фиг. 21.** Количества ЕРА+ДНА (g.100<sup>-1</sup>g свежо тегло) в черноморски видове (\*\*\*)  $p < 0.001$ ; \*\*)  $p < 0.01$

Всички анализирани черноморски риби са много добър източник на тези n-3 МК. Видовете с по-ниско липидно съдържание, като кая и пролетен калкан, могат да доставят необходимите количества чрез порция от 150 g (0.360 g.100<sup>-1</sup>g свежо тегло) до 200 g (0.480 g.100<sup>-1</sup>g свежо тегло). Останалите видове, като трициона, сафрид, есенен калкан и барбуна, чрез 100 g ядивна тъкан осигуряват възможност за набавяне на необходимите 500 mg ПНМК. Карагъозът е отличен източник на тези МК през цялата

година. Особено високи са количествата на ЕРА+DHA през пролетния сезон, когато чрез 100 g филе, карагьозът доставя над 2.8 g от тези киселини.

На фигура 22 са сравнени количествата на ЕРА+DHA в  $g \cdot 100^{-1} g$  ядивна тъкан на черноморски видове с един сезон на улов.



Фиг. 22. Количества на ЕРА+DHA ( $g \cdot 100^{-1} g$  свежо тегло)

Изчислените стойности за ЕРА са от 0.030 (зарган) до 0.281  $g \cdot 100g^{-1}$  свежо тегло (хамсия); за DHA са от 0.140 (кефал) до 1.57  $g \cdot 100g^{-1}$  свежо тегло (хамсия и чернокоп). В резултат сумата от ЕРА+DHA при всички анализирани видове е в граници от 0.198 (кефал) до 1.85  $g \cdot 100g^{-1}$  свежо тегло (хамсия). Анализираните видове могат да се подредят по намаляване на количествата на ЕРА+DHA както следва: хамсия > чернокоп > зарган ≥ паламуд > кефал. Морският кефал съдържа най-ниски нива ЕРА+DHA (0.198  $g \cdot 100g^{-1}$  свежо тегло) и би могъл да достави необходимите количества от тези МК чрез порция от 200 g (0.396 g). Чрез 130 до 150 g паламуд и зарган могат да се осигурят над 600 mg от дълговерижните n-3 МК. Чернокопът и хамсията са отличен източник на тези МК. Чрез порция от 120 до 150 g, те осигуряват над 2.0g от дълговерижните n-3 МК.

Всички анализирани черноморски видове са много добър източник на ЕРА и DHA n-3ПНМК. Необходимите 0.5 g ЕРА+DHA се осигуряват чрез:

- 150 - 200 кая, пролетен калкан и кефал;
- 100 g трициона, сафрид, барбуна, есенен калкан, паламуд и зарган .

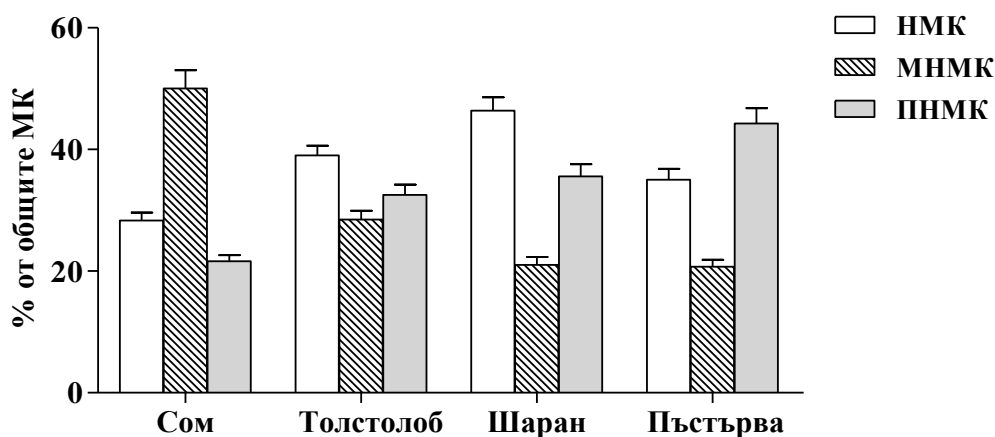
Най-богати на тези МК са карагьоз, хамсия и чернокоп. 100 g пролетен карагьоз и 150g есенен карагьоз, хамсия и чернокоп осигуряват над 2.0 g ЕРА+DHA n-3ПНМК.

### III.3. Липидно съдържание и мастнокиселинен състав на сладководни видове

Научните изследвания върху мастнокиселинния състав на морски и сладководни риби показват значителни разлики в разпределението на мастнокиселинните групи и съдържанието на индивидуалните МК. За сравнение на качеството на черноморските риби като храна са анализирани четири сладководни естествено обитаващи вида: шаран, пъстър толстолоб, европейски сом и балканска пъстърва.

#### *Липиден и мастнокиселинен състав*

Поради различното си местообитание и вид на хранене се наблюдават значителни различия и в МК състав на анализираните риби. При шарановите видове (шаран и толстолоб) разпределението на МК групи е: НМК>ПНМК>МНМК, при сома то е: МНМК>НМК>ПНМК, а при пъстървата е: ПНМК>НМК>МНМК. На фиг. 23 е показано разпределението на групите МК в изследваните видове.



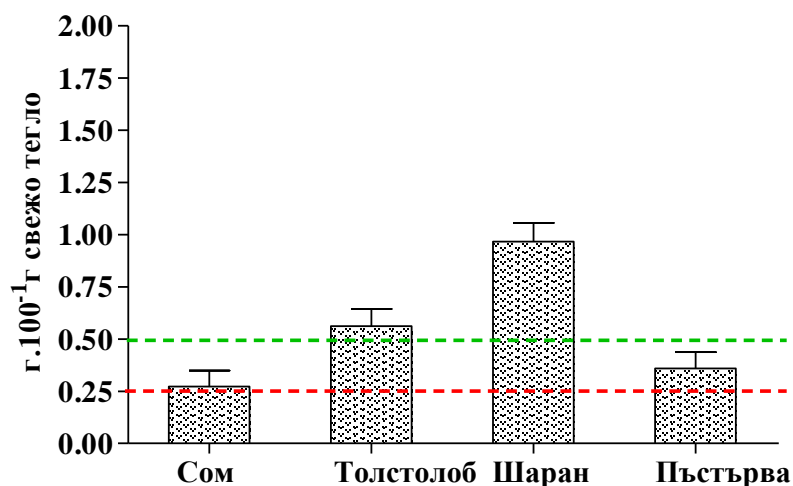
**Фиг. 23.** Разпределение на групите МК в изследваните сладководни видове

На база на представените резултати се установи, че основните разлики в МК състав на сладководните риби се наблюдават в профила на ПНМК. При четирите вида са определени високи нива на С18:1n-9 и ДНА. Най-високи стойности на ПНМК се наблюдават при балканската пъстърва, а на ДНА - при толстолоба. При сом и пъстърва се установяват по-високи стойности на ненаситени МК, в сравнение с шарановите видове.

*Оценка на качеството на сладководните риби като храна, чрез липидни индекси, мастнокиселинни съотношения и количества ЕРА и ДНА n-3.*

В сравнение с черноморските риби при сладководните риби се наблюдават по-малки разлики в стойностите на липидните индекси между видовете. Определените стойности на АИ са в интервала 0.36-0.65, на ТИ са от 0.36 до 0.48, а за h/H са 1.32-2.53.

Средните стойности на трите индекса са 0.52 (АИ), 0.41 (ТИ) и 1.90 (h/N). На базата на определените количества омега ПНМК е изчислено съотношението n-6/ n-3 при четирите вида. Стойностите му са в граници от 0.64-1.77, а средната му стойност е 1.08. При всички анализирани видове стойностите му са в препоръчаните граници (АНА, 2005; EFSA,2009; WHO/FAO, 2010). Изчислено е съотношението ПНМК/НМК, като определените стойности са над препоръчваният минимум от 0.45 (Department of health, 1994) и близо до оптималното съдържание от  $1.0 \pm 0.2$  (Simopolous, 2013). Въз основа на данните от мастнокиселинния състав на сладководните видове са изчислени количествата (в  $g \cdot 100g^{-1}$  свежо тегло) на групата n-3 ПНМК, и на дълговерижните ЕРА и ДНА n-3 ПНМК. На фиг.24 е представено сравнение на количествата на ЕРА+ДНА в анализираниите сладководните видове с препоръките на WHO, FAO и EFSA за прием на тези МК.



**Фиг. 24** Количества ЕРА+ДНА ( $g \cdot 100^{-1} g$  свежо тегло) в сладководни видове

Най-добър източник на тези дълговерижни n-3 ПНМК е дунавският шаран, който чрез 100 g ядивна тъкан осигурява двукратно по-високи количества ЕРА+ДНА от препоръчвания минимум от 0.5 g. Толстолобът е втория вид, който е много добър източника на ЕРА+ДНА n-3 ПНМК. Порция от 100 g ядивна тъкан напълно покрива изискванията за ЕРА+ДНА (0.570g), а чрез 200 g филета се осигуряват над 1.0 g от дълговерижните n-3 ПНМК. Сомът съдържа най-ниски количества от тези ПНМК, но чрез консумация на 200 g (0.544 g) ядивна тъкан може да се набави препоръчвания минимум. Експерименталните резултати показват, че анализираниите сладководните видове са много добра алтернатива на черноморските видове, за набавяне на необходимите количества дълговерижни n-3ПНМК в човешката диета.

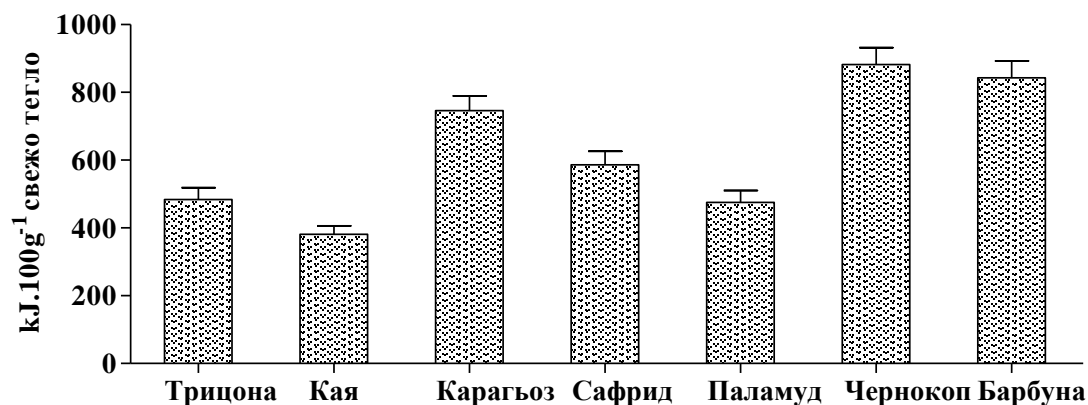
### III.3. Енергийна стойност на черноморски рибни видове

В представеното изследване са определени общ белтък, влагосъдържание и сухо вещество на 7 от анализирани черноморски рибни вида. За три от черноморските видове – трициона, кая и карагъоз, е проследена промяната на тези параметри през сезоните пролет и есен. Останалите 4 вида – сафрид, чернокоп, паламуд и барбуна са анализирани само през един сезон. Рибата съдържа незначителни количества въглехидрати (под 0.5%) и минерални вещества и те не се вземат под внимание при определянето на хранителната ѝ стойност (FAO, 2005; FAO, 2010). На база на данните за липидното и протеиновото съдържание на тези видове е изчислена и енергийната стойност.

В това проучване, ядивната тъкан на трите черноморски вида съдържа сравнително високи протеинови нива и през двата сезона на анализ (15.21-18.73%). Средните стойности за протеиновото съдържание на видовете, позволява те да бъдат подредени по низходяща стойност по следният начин: кая > трициона > карагъоз. Определените стойности за влагосъдържание са в интервал 63.60% - 75.40%. Анализирани видове от Българското крайбрежие показват по-ниски нива на общи липиди и значително по-високи стойности за протеини в сравнение със същите рибни видове от южната и югоизточната (турска) част на Черно море. За първи път у нас, в това изследване е проследена сезонната (пролет - есен) промяна на химичния състав на кая и карагъоз от българското черноморско крайбрежие. Може да се обобщи, че всички анализирани черноморски видове са много добър и ценен източник на тези хранителни макрокомпоненти.

#### *Енергийна стойност на черноморски видове*

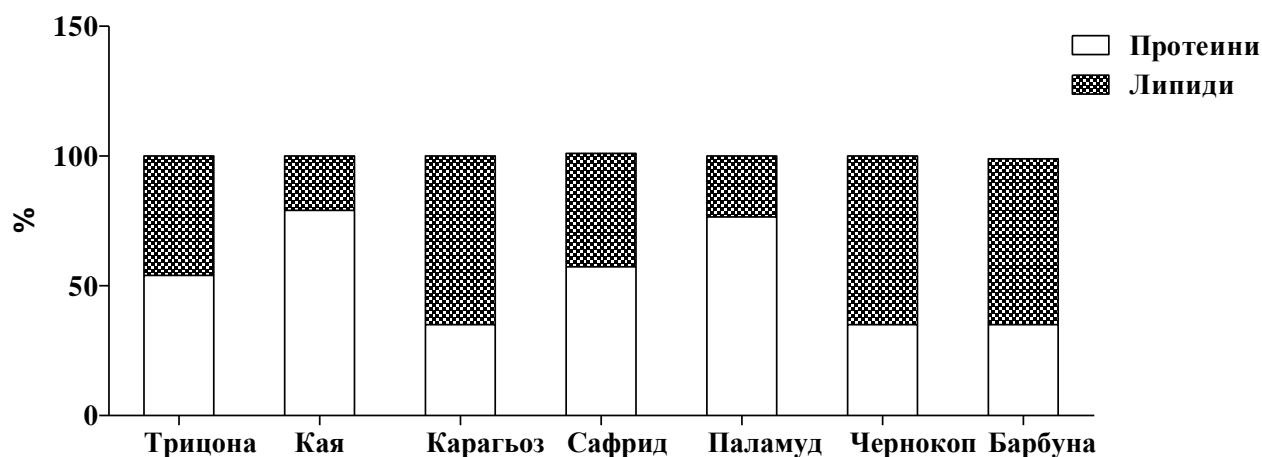
Енергийната стойност през сезони пролет-есен на кая, трициона и карагъоз, е в граници 373 – 766 kJ.100 g<sup>-1</sup> свежо тегло. Най-значителни разлики се установяват при триционата, която увеличава с 30% (p<0.001) енергийната си стойност през есента. При карагъоза се установява по-незначителна промяна (p<0.05) в стойностите през двата сезона, докато каята запазва калорийността си почти непроменена през двата сезона. Карагъозът показва най-високото енергийно съдържание. Изчислена е енергийната стойност на сафрид, паламуд, барбуна и чернокоп (есенни проби). Определените стойности са в интервал от 475 до 882 kJ.100 g<sup>-1</sup> свежо тегло, като най-високи нива се откриват при чернокопа, а най-ниски-при паламуда. На фигура 25 е представено сравнение на определените енергийни стойности в изследваните черноморски видове.



**Фиг. 25.** Енергийна стойност на черноморски видове

За всички видове е определено относителното разпределение на енергията (%) постъпваща чрез ОЛ и протеини. Най-голям относителен енергиен процент (E%) от общата енергийна стойност дължащ се на липидите, се установява при есенния карагъоз – 64.64%, а най-нисък - при каята (и през двата сезона 10-12.6%). При триционата се наблюдава увеличаване на относителния липиден енергиен процент през есента с над 7% ( $p < 0.05$ ), което корелира със значителното нарастване на ОЛ. Протеините осигуряват най-висок процентен внос от общата енергийната стойност при каята и през двата сезона (87 - 90%). При триционата, се наблюдава намаляване на енергийния процентен белтъчен внос със 7% (до 72%,  $p < 0.001$ ) през есента, докато при карагъозът се наблюдава намаляване на количествата на ОЛ и протеини, което води до намаляване на енергийната му стойност през есента ( $p < 0.05$ ). При този вид, енергийният внос се осъществява в по-голяма степен от липидите (55%) и не се наблюдават сезонни колебания и при двата макро-компонента. Въз основа на получените експериментални резултати може да се заключи, че при каята и триционата и през двата сезона на анализ се определя оптимално разпределяне на макрокомпонентите в ядивната им тъкан. И при двата вида, по-голям относителен енергиен процентен внос от общата енергийна стойност се дължи на протеините. Определено е относителното разпределение на енергията, постъпваща чрез липиди и протеини при консумацията на анализирани рибни видове. За чернокоп и барбуна най-голям енергиен процентен внос от общата енергийна стойност се пада на общите липиди - 60.80%. При паламуда и сафрида, тези стойности са значително по-ниски (24.15 % и 43.00%). На фигура 26 е представено относителното процентно разпределение на енергията в анализирани черноморски видове .





**Фиг.26.** Относително енергийно процентно разпределение в рибните видове

На база на получените резултати може да се заключи, че изследваните видове са богати на протеини и липиди, и се препоръчват за консумация като добър източник на тези макро компоненти.

#### **III.4. Таблицы с химичен състав, енергийна стойност и детайлен мастнокиселинен състав на черноморски видове**

За седем черноморски рибни вида са съставени таблици, съдържащи данни за количествата на протеините, общите липиди, индивидуалните мастни киселини, и групите мастни киселини представени в  $g \cdot 100^{-1}$  свежо тегло. Енергийната стойност е представена в  $kJ \cdot 100^{-1} g$  свежо тегло.

**Таблица 1.** Енергийна стойност и мастнокиселинен състав на *трикона*

Компоненти	Мерна единица	Пролет	Есен	Средна стойност
Енергийна стойност	kJ	427.30	539.20	483.25
Протеини	g	16.10	17.15	16.65
Общи липиди	g	4.20	6.65	5.43
Влагосъдържание	%	76.70	73.50	75.10
Въглехидрати	g	0.00	0.00	0.00
<i>Мастнокиселинен състав</i>				
12:0	g	0.012	0.099	0.054
14:0	g	0.124	0.214	0.167
16:0	g	0.848	1.504	1.164
18:0	g	0.097	0.185	0.138
20:0	g	0.017	0.075	0.049
22:0	g	0.014	0.072	0.038
24:0	g	0.007	0.085	0.038
<b>∑НМК</b>	<b>g</b>	<b>1.120</b>	<b>2.241</b>	<b>1.650</b>
14:1	g	0.001	0.067	0.035
16:1	g	0.510	0.653	0.600
18:1 n-9	g	0.390	0.337	0.391
20:1	g	0.069	0.103	0.087
22:1	g	0.145	0.180	0.167
24:1	g	0.112	0.079	0.109
<b>∑МНМК</b>	<b>g</b>	<b>1.227</b>	<b>1.418</b>	<b>1.390</b>
18:2 n-6	g	0.257	0.355	0.311
18:3 n-3	g	0.050	0.163	0.100
18:3 n-6	g	0.009	0.107	0.049
20:2	g	0.011	0.157	0.071
20:3 n-6	g	0.000	0.104	0.042
20:3 n-3	g	0.010	0.148	0.066
20:4 n-6	g	0.173	0.197	0.193
20:5 n-3	g	0.029	0.113	0.063
22:6 n-3	g	0.624	0.550	0.631
22:2	g	0.046	0.093	0.067
<b>∑ПНМК</b>	<b>g</b>	<b>1.209</b>	<b>1.987</b>	<b>1.594</b>

**Таблица2.** *Енергийна стойност и мастнокиселинен състав на кая*

<b>Компоненти</b>	<b>Мерна единица</b>	<b>Пролет</b>	<b>Есен</b>	<b>Средна стойност</b>
Енергийна стойност	kJ	373.00	389.10	381.05
Протеини	g	18.73	18.10	18.42
Общи липиди	g	1.60	2.61	2.11
Влагосъдържание	%	77.90	75.40	76.65
Въглехидрати	g	0.00	0.00	0.00
<i>Мастнокиселинен състав</i>				
12:0	g	0.013	0.076	0.037
14:0	g	0.032	0.095	0.059
16:0	g	0.307	0.367	0.353
18:0	g	0.040	0.127	0.077
20:0	g	0.014	0.108	0.052
22:0	g	0.001	0.084	0.034
24:0	g	0.001	0.084	0.034
<b>ΣНМК</b>	<b>g</b>	<b>0.406</b>	<b>0.941</b>	<b>0.646</b>
14:1	g	0.007	0.034	0.018
16:1	g	0.215	0.139	0.200
18:1 n- 9	g	0.154	0.188	0.178
20:1	g	0.025	0.067	0.043
22:1	g	0.026	0.058	0.041
24:1	g	0.018	0.060	0.036
<b>ΣМНМК</b>	<b>g</b>	<b>0.445</b>	<b>0.545</b>	<b>0.516</b>
18:2 n-6	g	0.145	0.046	0.116
18:3 n-3	g	0.007	0.091	0.041
18:3 n-6	g	0.000	0.027	0.012
20:2	g	0.001	0.000	0.001
20:3 n-6	g	0.000	0.037	0.015
20:3 n-3	g	0.001	0.064	0.026
20:4 n-6	g	0.040	0.102	0.068
20:5 n-3	g	0.025	0.066	0.043
22:6 n-3	g	0.210	0.195	0.219
22:2	g	0.001	0.033	0.013
<b>ΣПНМК</b>	<b>g</b>	<b>0.430</b>	<b>0.662</b>	<b>0.553</b>

**Таблица 3. Енергийна стойност и мастнокиселинен състав на карагъз**

Компоненти	Мерна единица	Пролет	Есен	Средна стойност
Енергийна стойност	kJ	766.00	726.50	746.25
Протеини	g	15.84	15.21	15.55
Общи липиди	g	13.28	12.70	13.00
Влагосъдържание	%	67.88	69.08	68.50
Въглехидрати	g	0.00	0.00	0.00
<i>Мастнокиселинен състав</i>				
12:0	g	0.046	0.093	0.071
14:0	g	0.289	0.382	0.336
16:0	g	3.027	3.120	3.076
18:0	g	0.233	0.562	0.402
20:0	g	0.070	0.280	0.178
22:0	g	0.035	0.292	0.168
24:0	g	0.024	0.214	0.121
<b>ΣНМК</b>	<b>g</b>	<b>3.724</b>	<b>4.944</b>	<b>4.351</b>
14:1	g	0.008	0.137	0.074
16:1	g	1.957	1.095	1.535
18:1 n-9	g	1.214	0.998	1.178
20:1	g	0.287	0.217	0.259
22:1	g	0.365	0.191	0.282
24:1	g	0.179	0.162	0.173
<b>ΣМНМК</b>	<b>g</b>	<b>4.009</b>	<b>2.802</b>	<b>3.501</b>
18:2 n-6	g	0.638	0.717	0.679
18:3 n-3	g	0.070	0.235	0.153
18:3 n-6	g	0.028	0.147	0.091
20:2	g	0.018	0.208	0.115
20:3 n-6	g	0.000	0.159	0.081
20:3 n-3	g	0.029	0.159	0.099
20:4 n-6	g	0.135	0.280	0.212
20:5 n-3	g	0.064	0.149	0.108
22:6 n-3	g	2.648	1.065	1.838
22:2	g	0.024	0.194	0.109
<b>ΣПНМК</b>	<b>g</b>	<b>3.653</b>	<b>3.313</b>	<b>3.484</b>

**Таблица 4. Енергийна стойност и мастнокиселинен състав на сафрид, паламуд, чернокоп и барбуня**

Компоненти	Мерна единица	Сафрид	Паламуд	Чернокоп	Барбуня
Енергийна стойност	kJ	590.00	475.00	882.00	843.00
Протеини	g	19.55	21.40	17.93	17.30
Общи липиди	g	6.82	3.10	15.45	14.69
Влагосъдържание	%	73.50	75.40	63.60	65.10
Въглехидрати	g	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>Мастнокиселинен състав</i>					
12:0	g	0.164	0.091	0.109	0.139
14:0	g	0.308	0.089	0.561	0.747
16:0	g	1.118	0.543	3.064	3.863
18:0	g	0.350	0.136	0.471	0.805
20:0	g	0.268	0.096	0.074	0.062
22:0	g	0.167	0.114	0.082	0.031
24:0	g	0.144	0.064	0.076	0.047
<b>ΣНМК</b>	<b>g</b>	<b>2.518</b>	<b>1.142</b>	<b>4.436</b>	<b>5.696</b>
14:1	g	0.019	0.032	0.057	0.210
16:1	g	0.401	0.150	0.967	1.917
18:1 n- 9	g	0.581	0.225	2.100	2.174
20:1	g	0.164	0.062	0.389	0.254
22:1	g	0.149	0.076	0.512	0.286
24:1	g	0.148	0.069	0.131	0.163
<b>ΣМНМК</b>	<b>g</b>	<b>1.462</b>	<b>0.613</b>	<b>4.156</b>	<b>5.006</b>
18:2 n-6	g	0.252	0.076	2.257	0.303
18:3 n-3	g	0.207	0.016	0.204	0.110
18:3 n-6	g	0.136	0.040	0.054	0.148
20:2	g	0.196	0.029	0.052	0.058
20:3 n-6	g	0.000	0.062	0.055	0.045
20:3 n-3	g	0.000	0.091	0.048	0.044
20:4 n-6	g	0.208	0.081	0.360	0.570
20:5 n-3	g	0.166	0.093	0.082	0.104
22:6 n-3	g	0.507	0.350	1.683	0.589
22:2	g	0.131	0.003	0.068	0.056
<b>ΣПНМК</b>	<b>g</b>	<b>1.804</b>	<b>0.842</b>	<b>4.863</b>	<b>2.029</b>

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Липидното съдържание на всички анализирани видове е в граници от 1.60 до 15.50g.100g<sup>-1</sup> свежо тегло. С ниско липидно съдържание са видовете кая, пролетен калкан; със средно и високо липидно съдържание са трикона, сафрид, хамсия, паламуд, кефал, зарган; с много високи стойности са: чернокоп и есенна барбуна. Мастнокиселинния състав показва следното разпределение на количествено определените 30 вида мастни киселини: НМК>ПНМК>МНМК. При всички анализирани видове, ненаситените МК (МНМК и ПНМК) представляват 60.0% от общото количество мастни киселини, независимо от нарастването на стойностите на наситените мастни киселини през есенния период.

Полиненаситените мастни киселини, които са изключително важните за рибните липиди, са в интервал от 19.27 до 36.90% от общото количество на мастните киселини. Средната им стойност на n-3 ПНМК е 17.20% и повечето от рибните видове показват значително по-високи стойности от n-6 ПНМК. В групата на n-3 ПНМК доминиращи са ДНА и ЕРА, а при n-6 ПНМК LA и АРА, като при пелагичните видове ДНА е с по-високи нива в сравнение с дънните видове. Редица международни организации препоръчват прием на 500 mg на ден ЕРА+ДНА за превенция на сърдечно съдови заболявания. Тези стойности могат да се осигурят при консумиране на 100 до 150 g от изследваните черноморски риби.

Анализираните сладководни риби са добра алтернатива на черноморските видове като храна, поради средното си липидно съдържание и добре балансирания си МК състав. Те могат да осигурят необходимото количество от 500 mg на ден ЕРА+ДНА чрез 150-200g ядивна тъкан.

Определеният мастнокиселинен състав позволява да се направят изчисления на важни съотношения на различните видове мастни киселини, и на някои липидни индекси, които са важни за оценката на качеството на рибните липиди като храна.

На база на представените резултати може да се направи заключение, че рибните липиди са с много добре балансиран МК състав и добър източник на ПНМК, което ги определя като висококачествена храна и необходим компонент на здравословната диета.

## IV. ИЗВОДИ

1. Определен е мастнокиселинният състав на единадесет вида черноморски риби. Идентифицирани са 34 мастни киселини и количествено са определени 30 от тях, разпределени в три групи: наситени мастни киселини -12 броя; мононенаситени мастни киселини - 8 броя и полиненаситени мастни киселини - 10 броя. При всички изследвани черноморски риби, количествата на ненаситените мастни киселини са по-високи от тези на наситените мастни киселини.

2. Наблюдават се сезонни промени в липидното съдържание и мастнокиселинния състав при видовете:

- определеното липидно съдържание е в интервал:  $1.51 - 15.45 \text{g} \cdot 100 \text{g}^{-1}$  свежо тегло, и то нараства през есенния период;

- през пролетния сезон се установяват най-високи стойности на мононенаситените мастни киселини при пелагичните и дънните видове;

- през есенния период при всички видове се установява следното разпределение:  $\text{НМК} > \text{ПНМК} > \text{МНМК}$ ;

- доминиращи мастни киселини в групите са:

- ✓ при наситени мастни киселини – палмитинова, стеаринова и миристинова киселини;

- ✓ при мононенаситени мастни киселини – олеинова и палмитолеинова киселини;

- ✓ при полиненаситени мастни киселини- ейкозапентаенова (ЕРА), докозахексаенова (ДНА) и линолова (LA)мастни киселини.

3. Средните стойности на съотношението полиненаситени/наситени мастни киселини са в интервал 0.55-1.50, което показва балансирано разпределение на мастнокиселинните групи при всички анализирани видове;

4. Определените стойности за n-3 ПНМК са в интервал от 7.6% до 22.95% от общите МК, а за n-6 ПНМК са от 5.7% до 20.0% от общите МК, като при по-голямата част от видовете, нивата n-3 са значително по-високи от тези на n-6 ПНМК. Определеното съотношение n-6/n-3 е в диапазон от 0.31-1.23, като общото средно съотношение е 0.48 и то е в препоръчаните граници.

5. Средните стойности на ЕРА и ДНА n-3 мастните киселини са видово специфични:

- при хамсия, паламуд, зарган, калкан, трициона, кая се наблюдават високи нива на ЕРА и ДНА;
- при кефал, чернокоп и барбуна се определят по-ниски стойности за тези киселини и по-високи за LA.

6. Количествата на n-3 мастните киселини (ЕРА +ДНА) са в интервал: за ЕРА - 0.055 (кая) до 0.153 g.100g<sup>-1</sup> свежо тегло (сафрид); за ДНА - 0.212 (кая) до 2.69 g.100g<sup>-1</sup> свежо тегло (карагъоз);

7. Определени са следните липидни индекси: атерогенен, тромбогенен и холестеролемичен. При всички изследвани видове средните стойности на атерогенния и тромбогенния индекси са под 1.0, докато за холестеролемичния са над 1.0. Тези резултати показват, че изследваните черноморски риби притежават много добър анти-атерогенен, анти-тромбогенен и хипохолестеролемичен потенциал.

8. Сладководните видове са със средно и високо липидно съдържание. Те съдържат по-високи нива на олеинова и линолова киселини, и по-ниски на ЕРА. На база на определените АИ, ТИ, h/N индекси и мастнокиселинни съотношения, видовете показват балансиран мастнокиселинен състав. Средните количествата на ЕРА +ДНА n-3 са по-ниски в сравнение с определените за черноморските видове, но независимо от това сладководните риби са също добър източник на тези МК.

9. Определените енергийни стойности за анализирани черноморски видове са в граници 427.3 - 882 kJ.100g<sup>-1</sup> свежо тегло. Всички изследвани черноморски риби се отнасят към категорията на храни със средно и високо енергийно съдържание (над 170 kJ/100g).

10. Въз основа на получените експериментални резултати са съставени таблици с химичен състав, енергийна стойност и мастнокиселинен състав за черноморските рибни видове.



## V. ПРИНОСИ

1. За първи път в България е определен мастнокиселинният състав на единадесет черноморски и четири сладководни рибни вида при използване на високоинформативен метод – газова хроматография с масдетекция.
2. Определено е процентното съдържание на основните групи мастни киселини – наситени, мононенаситени и полиненаситени.
3. Направена е оценка на качеството на черноморските и сладководни риби като храна на базата на мастнокиселинния профил, съотношенията ПНМК/НМК и n-6/n-3, и липидни индекси (атерогенен, тромбогенен и холестеролемичен).
4. За първи път експерименталните резултати са систематизирани в таблици съдържащи информация за мастнокиселинния състав, химичния състав и енергийната стойност на черноморски риби.

## СПИСЪК НА ПУБЛИКАЦИИТЕ ПО ТЕМАТА НА ДИСЕРТАЦИЯТА

1.Stancheva M., A.Merdzhanova (2011). Polyunsaturated Fatty Acids in Fish Species from Bulgaria. *Научни трудове на ШУ "К. Преславски"*, т.XXI, В:, 125-133

2.Stancheva M., A. Merdzhanova, L.Makedonski, (2011). Fatty Acid Composition of Fish Species from the Bulgarian Black Sea. *Acta Medica Bulgarica*, (1):26-34

3.Dobрева A.D., M.Stancheva, A. Merdzhanova, L.Makedonski, (2011). Fatty Acid profile and Vitamin A and E content in Horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*), *Asian Chemistry Letters*, 15, (vol 1 and 2): 91-100

4.Stancheva M., A. Merdzhanova, E.Petrova, D. Petrova, (2013). Heavy metals and nutritional values of two Black Sea fish species, *Bulgarian Journal of Agricultural Sciences*, 19 (1): 35–41, (IF=0.200)

5.Merdzhanova A., L. Makedonski, M. Stancheva, (2013). Black Sea Shad and Red Mullet as Sources of Omega 3 Fatty Acids, *Scripta Scientifica Medica*, 45,(.3): 17-22

## СПИСЪК НА УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ФОРУМИ

1. 5th Black Sea Basin Conference on Analytical Chemistry, 23-26 September **2009**, Fatsa – Ordu, Turkey, Stancheva M., A.Merdzhanova, D.Dobрева, L. Makedonski, "*Fatty Acid Profile and Fat soluble Vitamins A and E Content of Horse Mackerel (Trachurus Mediterraneus)*"

2. 1st Southeast European Conference of Chemotherapy and Infection, Varna, BULGARIA, 6–9 May **2010**, Stancheva M., A.Merdzhanova, L.Makedonski, "*Omega 3 Fatty Acids in Fish Species from Bulgaria*"

3. V-та Национална конференция по хранене "Хранителни аспекти в превенцията и лечението на хроничните неинфекциозни заболявания", 28-30 май **2010**, Варна, Stancheva M., A.Merdzhanova, "*Bulgarian Fish Species as sources of Polyunsaturated Fatty Acids*"

4.IX Национална конференция на ШУ"Природни науки", 24-26 септември **2010**, Варна, Stancheva M., A.Merdzhanova, "*Polyunsaturated Fatty Acids in Fish Species from Bulgaria*"

5. 9th International Symposium on Obesity and Related Diseases (ISORD), Satellite of the 18th European Congress on Obesity, 21-23 May, **2011**, Albena, Bulgaria, Stancheva M., **A.Merdzhanova**, L.Makedonski "*Black Sea Fish as Sources of Essential Fatty Acids*" (доклад)

6. 11th European Nutrition Conference FENS, Madrid, 26-29 October, **2011**, Stancheva M., **A. Merdzhanova** and L. Makedonski., "*Fatty acid composition of marine and freshwater fish using GS/MS chromatography*"

7. Международна конференция по случай 80 годишнината на Института по рибни ресурси-Варна „ Динамика на черноморската екосистема“, 5-6 октомври **2012**, Варна, България, **Merdzhanova A.**, M. Stancheva, E.Petrova, D.Petrova, "*Heavy metals and proximate composition of two Black Sea fish species*" (доклад)

8. International Conference Marine Research HORIZON 2020, 17-20 September **2013**, Varna, Bulgaria, **Merdzhanova A.**, M. Stancheva, D. A. Dobрева "*Proximate composition, fatty acid profile and fat soluble vitamins content of Black Sea sprat (Spratus sparattus)*"