

А.М. Хребтовский, аспирант
Н.А. Замбалова, канд. экон. наук, доц.
С.Д. Жамсаранова, д-р биол. наук, проф., zhamсарans@mail.ru
Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления, г. Улан-Удэ

УДК 579.873.13;664.325

ВЛИЯНИЕ ЛИПИДОВ НА КАЧЕСТВО ПРОБИОТИЧЕСКОГО КОНЦЕНТРАТА

В статье представлены результаты по анализу жирнокислотного состава бактериальных клеток, культивированных в среде с добавлением жира нерпы. Установлен атерогенный эффект бифидобактерий. Изменение липидного профиля и выраженный холестеринметаболизирующий эффект пробиотических микроорганизмов указывают на высокий биокорректирующий потенциал концентрата бифидобактерий, культивированных в среде с добавлением жира нерпы.

Ключевые слова: бифидобактерии, пробиотики, холестерин, жирные кислоты.

A.M. Khrebtovski, P.G.
N.A. Zambalova, Cand. Sc. Economics, Assoc. Prof.
S.D. Zhamsaranova, Dr. Sc. Biology, Prof.

EFFECT OF LIPIDS ON THE PROBIOTIC CONCENTRATE QUALITY

The article presents the results of the analysis of fatty acid composition of bacterial cells cultured with seals' fat. The atherogenic effect of bifidobacteria was found out. A change in lipid profile and pronounced cholesterol metabolizing effect of probiotic microorganisms indicates a high bio-corrective potential of bifidobacteria concentrate cultured with the seals' fat.

Key words: bifidobacteria probiotics, cholesterol, fatty acids.

В настоящее время на первом месте по степени опасности и распространенности стоят болезни сердечно-сосудистой системы. Атеросклероз – наиболее распространенное хроническое заболевание, характеризующееся уплотнением и потерей эластичности стенок артерий, сужением их просвета с последующим нарушением кровоснабжения органов.

Развитие атеросклероза зависит от уровня холестерина и других жировых веществ. На долю холестерина приходится основная масса стероидов организма. Содержание общего холестерина в крови здорового человека не должно превышать 200 мг/дл (5,2 ммоль/л).

Холестерин выполняет две основные функции: во-первых, он является структурным компонентом мембран, регулирующим текучесть последних; во-вторых, он является предшественником гормонов, желчных кислот, витамина Д₃. Увеличение уровня холестерина в крови человека может быть связано как с нарушением синтеза холестерина в организме, так и с избыточным употреблением пищи с высоким содержанием холестерина и насыщенных жирных кислот. Последними богаты продукты животного происхождения: мясо, молочные продукты, жир животный, яйца.

В целях профилактики и предотвращения заболеваний, связанных с высоким содержанием холестерина в организме, рекомендуется диета с низким содержанием жиров животного происхождения. Создание продуктов функционального питания с низким содержанием холестерина, разработка биологически активных добавок, снижающих уровень холестерина в организме, являются чрезвычайно актуальными.

Одним из перспективных направлений создания биологически активных добавок и продуктов функционального питания являются пробиотики. Около 60% рынка продуктов функционального питания составляют продукты с содержанием пробиотиков. В качестве пробиотиков применяют бифидобактерии, молочнокислые бактерии и др. Пробиотические продукты и биологически активные добавки используются для нормализации работы желу-

дочно-кишечного тракта, при инфекционных заболеваниях, снижении иммунитета (В.А. Тутельян, 2002). Используя имеющиеся данные о высоком оздоровительном эффекте пробиотиков, придание им дополнительного вектора функциональной активности представляется чрезвычайно важным.

Целью нашей работы является оценка атерогенной активности пробиотических культур, выращенных на среде с добавлением нерпичьего жира.

В работе были использованы нерпичий жир, чистые культуры *B. bifidum* 8₃, *B. longum* B 379 M, полученные из фондов Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов и активизированные биотехнологическим методом, разработанным в ВСГУТУ [1]. Рост биомассы микроорганизмов определяли по оптической плотности. Концентрацию холестерина – ферментативным методом [2].

Жирнокислотный анализ проводили на хроматографе Кристалл 2000 М с пламенным детектором ПИД, использовалась капиллярная колонка HP-FFAP (США) 50 м, 0,32 мм, 0,52 мкм, газ-носитель – азот, условия определения в режиме программирования со скоростью 4⁰С/мин, температура колонки от 180 до 220⁰С, температура испарителя – 250⁰С, температура детектора – 250⁰С.

Результаты исследований

Одним из факторов, оказывающих негативное влияние на здоровье людей, является дефицит эссенциальных факторов питания. Наиболее эффективный и быстрый путь улучшения структуры питания населения, в частности, ликвидации дефицита микронутриенов – это широкое применения биологически активных добавок или концентратов природных минорных компонентов пищи.

Одним из эссенциальных факторов липидной природы являются полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК). В качестве источника ПНЖК может быть использован промысловый жир морских зверей, в частности, жир нерпы.

Нами установлено, что добавление жира нерпы в культуральную среду стимулирует рост микроорганизмов. Наибольший рост *B. bifidum* 8₃ и *B. longum* B 379 M наблюдался при внесении жира нерпы в дозе 1,5%. Количество жизнеспособных клеток на конец культивирования при данных условиях составил 2·10¹² и 2·10¹¹ клеток, соответственно [3]. Полученные данные указывают на бифидогенный эффект жира нерпы.

На следующем этапе нами исследован жирнокислотный состав в экстрактах образцов *B. bifidum* 8₃ и *B. longum* B 379 M, культивированных в среде, содержащей 1,5% жира нерпы. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1

Жирнокислотный состав образцов бифидобактерий, выращенных в среде, содержащей нерпичий жир

Бифидобактерии	Жирные кислоты	Насыщенные ЖК, %	Мононенас. ЖК, %	Полиненас. ЖК, %
<i>B. longum</i> B 379 M +1,5% нерп. жира		14,37	63,66	7,49
<i>B. longum</i> B 379 M – контроль		14,86	25,52	41,12
<i>B. bifidum</i> 8 ₃ +1,5% нерп. жира		13,80	69,04	6,65
<i>B. bifidum</i> 8 ₃ – контроль		15,48	51,16	12,84

Из таблицы следует, что состав жирных кислот бифидобактерий, выращенных на среде добавлением нерпичьего жира, претерпевает определенные изменения.

Следует отметить небольшое снижение насыщенных жирных кислот (на 3,3 % в клетках *B. longum* B 379 M и на 10,9% в клетках *B. bifidum* 8₃). Результаты исследований указывают на значительное увеличение мононенасыщенных жирных кислот: в 2,5 раза в клетках *B. longum* B 379 M и в 1,35 раза в клетках *B. bifidum* 8₃, соответственно, при этом снижается содержание полиненасыщенных жирных кислот. Данный процесс, по-видимому, связан с особенностями метаболизма жирных кислот в клетках микроорганизмов.

В таблице 2 представлено содержание метиловых эфиров жирных кислот в образцах бифидобактерий, выращенных на средах с добавлением нерпичьего жира.

Таблица 2

Содержание метиловых эфиров жирных кислот в экстрактах клеток *B. bifidum* 8₃ и *B. longum* B 379 M, культивированных в среде с добавлением 1,5% нерпичьего жира

Время, мин	Компонент	Название кислоты		Содержание, %			
				<i>B. longum</i> B 379 M		<i>B. bifidum</i> 8 ₃	
		женевская номенклатура	тривиальная номенклатура	контроль	опыт	контроль	опыт
5,7	C8:0	октановая	каприловая	-	-	-	-
6,9	C10:0	декановая	каприновая	-	-	-	-
8,9	C12:0	додекановая	лауриновая	-	-	-	-
11,9	C14:0	тетрадекановая	миристиновая	2,15	4,65	3,52	3,83
16,4	C16:0	гексадекановая	пальмитиновая	10,05	7,86	9,44	7,55
17,4	C16:1	гексадеценная	пальмитоолеиновая	5,77	23,66	16,58	22,35
23,5	C18:0	октадекановая	стеариновая	2,66	0,76	2,52	0,86
24,8	C18:1	октадеценная	олеиновая	22,75	40,00	34,58	46,26
27,5	C18:2	октадекадиеновая	линолевая	29,77	4,07	3,93	4,55
31,4	C18:3 альфа	октадекатриеновая	линоленовая	10,67	2,34	8,91	2,08
33,8	неидентифицируемый			-	1,10	-	1,55
37,2	C20:1		гондоиновая	-	-	-	0,43
39,0	C20:2		эйкозадиеновая	0,68	0,31	-	0,02

Из данных, представленных в таблице 2, следует, что в опытных образцах наблюдается уменьшение количества пальмитиновой кислоты, при этом содержание миристиновой кислоты увеличивается. Следует отметить значительное увеличение МНЖК: пальмитоолеиновой и олеиновой кислот. Так, содержание пальмитоолеиновой кислоты в экстрактах *B. longum* B 379 M при добавлении в среду жира нерпы увеличилось в 4,1 раза, а олеиновой – в 1,76 раза. В опытных образцах *B. bifidum* 8₃ содержание пальмитоолеиновой кислоты увеличилось в 1,35 раза, а олеиновой – в 1,34 раза соответственно. Данное увеличение, по-видимому, возможно как за счет уменьшения α -линоленовой кислоты, так и за счет синтеза *de novo*. Что касается содержания линолевой кислоты, то в опытных экстрактах *B. longum* B 379 M выявлено на 86,3% меньше, чем в контрольном образце, а в опытных образцах *B. bifidum* 8₃ содержание линолевой кислоты увеличено на 15,8%. Данный факт, а также обнаружение в небольших количествах гондоиновой, эйкозадиеновой кислот, по-видимому, связаны с особенностями метаболизма бифидобактерий.

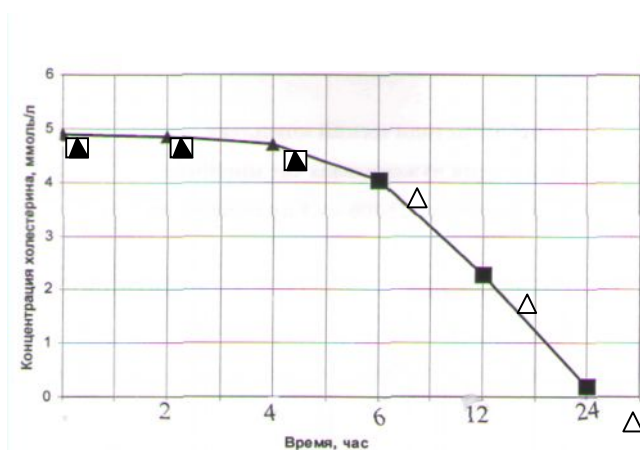
Особый интерес вызывает появление неидентифицированной жирной кислоты с временем выхода 33,8 мин. Данный факт требует дополнительных исследований по идентификации данного соединения. Вполне возможно, что данное соединение синтезируется в клетках микроорганизмов при определенных условиях. Что касается пальмитоолеиновой кислоты, то эта кислота семейства ω -7 синтезируется клетками микроорганизмов, а в организм человека попадает с пищей. Олеиновая кислота (C_{18:1} ω 9) относится к кислотам семейства ω -9. Известно, что увеличение поступления олеиновой кислоты приводит к снижению содержания холестерина в сыворотке крови человека [4]. По мнению авторов, в организме человека компенсаторно может происходить синтез эссенциальных жирных кислот, являющихся источником

биологически активных веществ, в частности, в семействе ω -9 кислот таковой является $C_{20:3}$ -дигомо- γ -линоленовая кислота. Известно, что из дигомо- γ -линоленовой кислоты, в частности синтезируются эйкозаноиды.

На следующем этапе нами исследована способность бифидобактерий, выращенных на среде с добавлением нерпичьего жира, влиять на уровень холестерина.

На рисунке представлены данные по содержанию холестерина при культивировании *B. Longum B 379 M* и *B. Bifidum 83*.

Из рисунка следует, что в процессе культивирования бифидобактерий в течение 24 ч происходит снижение уровня холестерина на 94,6%. Снижение уровня холестерина в процессе культивирования микроорганизмов свидетельствует о высоком атерогенном эффекте бифидобактерий.



-▲ – *B. bifidum 83*; ■ – *B. longum B 379 M*.

Рис. Холестеринметаболизирующая активность клеток *B. bifidum 83* и *B. longum B 379 M*, выращенных в среде с добавлением нерпичьего жира (1,5%)

Таким образом, бифидобактерии, выращенные на среде с добавлением жира нерпы, обладают выраженным атерогенным эффектом и способны изменять жирнокислотный состав в сторону уменьшения насыщенных жирных кислот и увеличения мононенасыщенных.

В физиологических условиях в клетках приматов и человека удлинение и десатурация $C_{18:1}$ олеиновой жирной кислоты происходят в малой степени. Однако если поступление с пищей эссенциальных полиненасыщенных жирных кислот будет снижено или заблокировано, то клетки приматов и человека экспрессируют соответствующие гены и начинают компенсаторно синтезировать более длинные и более ненасыщенные жирные кислоты, используя в качестве предшественника $C_{18:1}$ олеиновую кислоту (в частности, появление $C_{20:2}$ эйкозодиеновой кислоты) [3].

Полученные данные указывают на высокий биокорректирующий потенциал и перспективность создания биологически активных добавок и функциональных продуктов питания на основе клеток бифидобактерий, выращенных на среде с добавлением жира нерпы.

Выводы

1. Культивирование бифидобактерий в среде, содержащей 1,5% нерпичьего жира, влияет на жирнокислотный профиль пробиотических культур: при этом снижается уровень насыщенных жирных кислот и увеличивается количество мононенасыщенных жирных кислот.

2. Бифидобактерии, культивируемые в среде с содержанием нерпичьего жира, проявляют выраженную холестеринметаболизирующую активность, что указывает на высокую биологическую ценность пробиотического концентрата и функциональных продуктов, которые могут быть получены на его основе.

Библиография

1. *Хамагаева И.С.* Научные основы биотехнологии кисломолочных продуктов для детского и диетического питания: монография. – Улан-Удэ: Изд-во ВСГТУ, 2005. – 279 с.
2. *Балябина М.Д., Слепышева В.В., Козлов А.В.* Методы определения холестерина. – М.: Гепатология, 2004. – Т. 6, № 6. – С. 21-39.
3. *Хамагаева И.С., Хребтовский А.М.* Сравнительная оценка бифидогенных свойств жиров животного происхождения // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 4 (86), ч. 1. – С. 224–228.
4. *Титов В.Н., Лисицын Д.Н.* Жирные кислоты: физическая химия, биология и медицина. – М., 2006. – 672 с.

Bibliography

1. *Khamagaeva I.S.* Scientific fundamentals of biotechnology of fermented milk products for children and dietary food: Monograph. – Ulan-Ude: ESSTU Press, 2005. – 279 p.
2. *Balyabina M.D., Slepysheva V.V., Kozlov A.V.* Methods for determination of cholesterol. – M.: Hepatology, 2004. – Vol. 6, N 6. – P. 21–39.
3. *Hamagaeva I.S., Khrebtovski A.M.* Comparative assessment of bifidogens properties of animal fats // Bulletin of the East Siberia Scientific Center of SB RAMS. – 2012. – N 4 (86), p. 1. – P. 224–228.
4. *Titov V.N., Lisitsyn D.N.* Fatty acids, physical chemistry, biology and medicine. – M., 2006. – 672 p.