

И.С. Хамагаева, д-р техн. наук, проф.

Н.А. Замбалова, докторант

Л.В. Буянтуева, аспирант

Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления, г. Улан-Удэ

E-mail: tmpp@eestu.ru

УДК 641.1:579.873.13:665.345.4

ВЛИЯНИЕ ОМЕГА-3 И ОМЕГА-6 ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА МЕТАБОЛИЗМ БИФИДОБАКТЕРИЙ

Изучено влияние Омега-3 и Омега-6 жирных кислот льняного масла на биохимическую и холестеринметаболизирующую активность бифидобактерий. Подобрана оптимальная доза внесения льняного масла в питательную среду. Обнаружено, что культивирование бифидобактерий в питательной среде с льняным маслом приводит к увеличению содержания полиненасыщенных жирных кислот.

Ключевые слова: бифидобактерии, льняное масло, полиненасыщенные жирные кислоты, холестерин.

I.S. Khamagaeva, Dr. Sc. Engineering, Prof.

N.A. Zambalova, Cand. Sc. Economics, Assoc. Prof.

L.V. Buyantueva, P.G.

OMEGA-3 AND OMEGA-6 FATTY ACIDS EFFECT ON THE METABOLISM OF BIFIDOBACTERIA

The effect of Omega-3 and Omega-6 fatty acids of linseed oil on the biochemical and metabolizing activity of bifidobacteria were studied. The optimum dose of addition of linseed oil in the culture medium has been chosen. It has been found out that the cultivation of bifidobacteria in the culture medium with linseed oil leads to an increase in polyunsaturated fatty acids.

Key words: bifidobacteria, linseed oil, polyunsaturated fatty acids, cholesterol.

Введение

В настоящее время основную опасность для здоровья населения и проблему для здравоохранения представляют болезни сердечно-сосудистой системы. Среди них атеросклероз – наиболее распространенное хроническое заболевание. На развитие атеросклероза артерий и связанных с ним болезней сердца и сосудов влияет избыток холестерина [1].

Применяемые в настоящее время антиатеросклеротические средства обладают способностью снижать уровень липидов и липопротеидов в крови на 17-40 %. Однако опыт их практического применения показывает, что широко применяемые антиатеросклеротические препараты не лишены способности вызывать серьезные осложнения и даже самые современные и высокоэффективные препараты из группы статинов обладают побочными эффектами.

В связи с этим вполне определенный интерес представляют препараты природного происхождения, отличающиеся безвредностью и возможностью их длительного применения без осложнений [2].

Одним из известных антиатеросклеротических природных средств является льняное масло. Необходимо отметить, что льняное масло по биологической ценности занимает первое место среди других растительных масел и содержит массу полезных для организма веществ. Полезные свойства льняного масла обусловлены содержанием в его составе большого количества полиненасыщенных жирных кислот Омега-3 и Омега-6, которые не синтезируются организмом человека самостоятельно, их пополнение происходит только с пищей [3].

Необходимо отметить, что важнейшая роль в профилактике и коррекции нарушений липидного обмена, предупреждении прогрессирования уже развившихся атеросклеротиче-

ских поражений сосудов принадлежит применению системных продуктов здоровья на основе пробиотических микроорганизмов. Накоплено значительное количество данных о том, что резидентная и транзиторная микрофлора хозяина, синтезируя, трансформируя или разрушая экзогенные и эндогенные стерины, активно участвует в холестеринном метаболизме [4].

Целью работы является исследование влияния различных доз льняного масла на биохимическую и холестеринметаболизирующую активность разных штаммов бифидобактерий.

Объекты и методы исследований

Объектами исследований служили чистые культуры *Bifidobacterium bifidum* 83, *Bifidobacterium longum* DK-100, полученные из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов ФГУП ГосНИИ «Генетика», активизированные уникальным биотехнологическим методом, разработанным в ВСГУТУ [5], и *Bifidobacterium longum* B379M, а также льняное масло по ТУ 9141-001-45437467-09.

Для культивирования пробиотических микроорганизмов применяли питательную среду на основе осветленной сыворотки с внесением ростовых компонентов, разработанную в ВСГУТУ [6].

Наращивание биомассы определяли по оптической плотности фотоколориметрическим методом на спектрофотометре PD-101 APEL при $\lambda=500$ нм.

Количество клеток бифидобактерий определяли методом предельных разведений по МУК 4.2.999-00.

Концентрацию холестерина в питательной среде определяли ферментативным методом [7] с использованием набора реагентов «Новохол». Сущность метода заключается в том, что под действием фермента холестеринэстеразы эфиры холестерина распадаются на холестерин и жирные кислоты. Далее холестерин под воздействием холестериноксидазы дает окрашенное соединение и перекись водорода. Интенсивность окраски в реакционной смеси прямо пропорциональна концентрации холестерина в пробе. После этого измеряем оптическую плотность опытной пробы (E) и калибровочной пробы (E_k) против рабочего реагента, состоящего из смеси ферментов при длине волны 500 нм. Концентрацию холестерина в пробе определяли расчетным методом по формуле:

$$C = \frac{E}{E_k} \times 4,65, \quad (1)$$

где C – концентрация холестерина в пробе, ммоль/л; E – оптическая плотность опытных образцов; E_k – оптическая плотность калибровочных образцов; 4,65 – концентрация холестерина в калибраторе, ммоль/л.

Если концентрация холестерина в образце превышает 20 ммоль/л, то образец необходимо разбавить физиологическим раствором в пропорции 1:3, анализ повторить и полученный результат умножить на 3.

Результаты и их обсуждение

Новейшие исследования показали, что все виды пищевых жиров воздействуют на рост кишечных бактерий по-разному. При этом известно, что народная медицина всегда считала льняное масло замечательным лечебным средством при заболеваниях желудочно-кишечного тракта. Это подтверждается исследованиями японских ученых, которые выяснили, что диета на основе льняного масла стимулирует рост лактобацилл в желудочно-кишечном тракте [8].

Известно, что среди растительных масел льняное занимает особое место. Масло из семян льна является отличным внешним источником важных для организма полиненасыщенных жирных кислот Омега-3 и Омега-6. Следует отметить, что организм не может самостоятельно синтезировать эти жиры, их пополнение происходит только с пищей. Причем если Омега-6 присутствует во многих других растительных маслах, то Омега-3 содержится в достаточном количестве только в льняном масле. В масле из семян льна содержание Омега-3 в 2 раза больше, чем в рыбьем жире, и значительно выше, чем в остальных продуктах питания [3].

В связи с этим нами выдвинута гипотеза о воздействии полиненасыщенных жирных кислот на микрофлору желудочно-кишечного тракта, основным представителем которой являются бифидобактерии. Для подтверждения выдвинутой гипотезы изучено влияние различных доз льняного масла на рост разных штаммов бифидобактерий.

Влияние различных доз льняного масла на наращивание биомассы *Bifidobacterium longum* DK-100 представлено на рисунке 1.

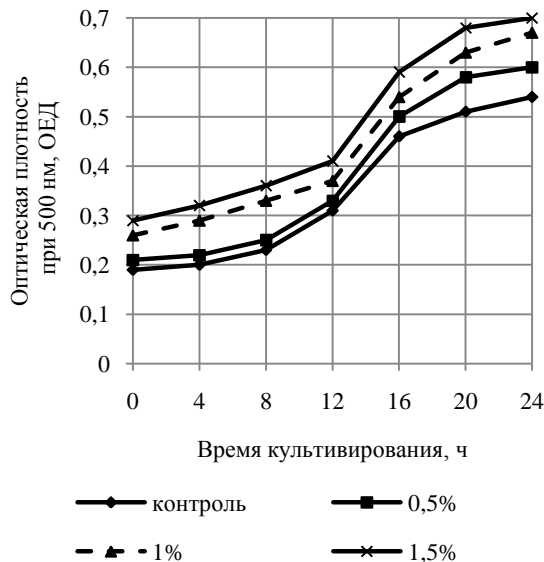


Рис. 1. Влияние различных доз льняного масла на наращивание биомассы *Bifidobacterium longum* DK-100

Результаты экспериментальных исследований, представленные на рисунке 1, свидетельствуют о том, что при внесении льняного масла в количестве 1 % в питательную среду отмечено значительное повышение оптической плотности. Дальнейшее увеличение дозы до 1,5 % незначительно сказывается на показаниях оптической плотности.

Количественный учет бифидобактерий, представленный на рисунке 2, показал, что с повышением дозы вносимого масла увеличивается скорость размножения этих бактерий. При этом количество жизнеспособных клеток через 20 ч культивирования составляет $1 \cdot 10^{12}$ КОЕ/см³, что на порядок выше, чем в контроле.

При исследовании влияния льняного масла на *Bifidobacterium bifidum* 8₃ и *Bifidobacterium longum* B379M наблюдается подобная динамика роста бифидобактерий.

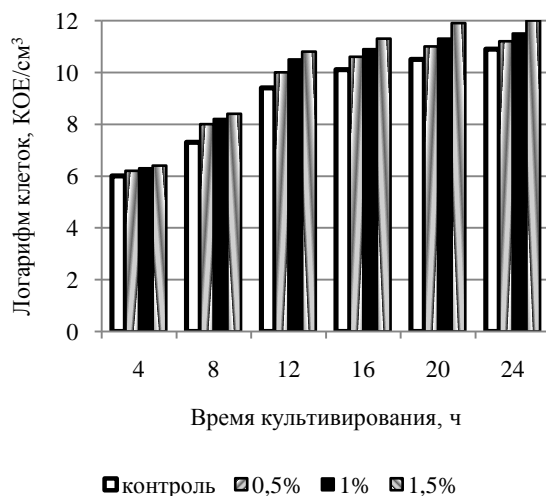


Рис. 2. Влияние различных доз льняного масла на количество жизнеспособных клеток *Bifidobacterium longum* DK-100

Внесение льняного масла способствует сокращению лаг-фазы и увеличению наращивания биомассы.

Анализ данных, представленных на рисунках, показал, что оптимальная доза внесения льняного масла в количестве 1,5 % от объема питательной среды стимулирует интенсивное накопление биомассы пробиотических микроорганизмов и обеспечивает наиболее высокое количество жизнеспособных клеток по сравнению с контрольным образцом.

Можно предположить, что ненасыщенные жирные кислоты льняного масла повышают текучесть мембран и гидрофобность клеток бифидобактерий и способствуют их более активному росту.

Следует отметить, что результаты исследований согласуются с литературными данными об ускорении роста и повышении выживаемости некоторых лактобацилл при культивировании на среде с добавлением ненасыщенных жирных кислот [9]. Вероятно, это связано с высоким содержанием Омега-3 и Омега-6 кислот, которые увеличивают наращивание биомассы и способствуют активному росту микроорганизмов.

От других растительных масел льняное масло отличается своим составом. В нем довольно много полезных веществ и витаминов – А, Е, группы В, К, но его главная ценность – это уникальное сочетание жирных кислот – насыщенных и ненасыщенных. Самые важные из них – это альфа-линоленовая кислота Омега-3 – ее содержание достигает 60 %; линолевая Омега-6 – около 20 %; олеиновая Омега-9 – около 10 %. Еще 10 % приходится на долю других жирных кислот.

Альфа-линоленовая кислота (Омега-3) встречается в продуктах питания реже всего, и потому дефицит ненасыщенных жирных кислот часто связан именно с ней. Кроме льняного масла, она содержится в достаточном количестве только в морепродуктах, причем исключительно в тех, что выросли в «диких» условиях, а не в разведенных искусственно. Поэтому применение льняного масла в повседневном рационе особенно желательно, если отсутствует возможность регулярно употреблять в пищу натуральные морепродукты [3].

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что льняное масло обладает бифидогенными свойствами и влияет на метаболизм бифидобактерий.

В связи с этим нами исследован жирнокислотный состав биомассы бифидобактерий. Результаты исследования представлены в таблице.

Таблица

Жирнокислотный состав биомассы бифидобактерий, культивируемых в питательной среде с льняным маслом

Наименование показателя	Наименование исследуемого образца					
	<i>B. longum</i> DK-100		<i>B. longum</i> B379M		<i>B. bifidum</i> 8 ₃	
	контроль	образец	контроль	образец	контроль	образец
Содержание жирных кислот, %						
Насыщенные:	22,12	10,71	14,86	9,83	15,48	10,83
С _{10:0} каприновая	-	-	-	-	-	0,07
С _{12:0} лауриновая	-	-	-	-	-	0,09
С _{14:0} миристиновая	7,76	1,94	2,15	0,09	3,52	0,31
С _{16:0} пальмитиновая	14,36	6,61	10,05	5,8	9,44	6,28
С _{18:0} стеариновая	-	2,16	2,66	3,82	2,52	3,96
С _{20:0} арахидиновая	-	-	-	0,12	-	0,12
Мононенасыщенные:	14,70	18,51	28,52	16,53	51,16	16,42
С _{16:1} пальмитолеиновая	-	-	5,77	0,11	16,58	0,13
С _{18:1} олеиновая	14,70	18,51	22,75	16,29	34,58	16,19
С _{20:1} гондоиновая	-	-	-	0,13	-	0,10
Полиненасыщенные:	15,15	70,76	41,12	72,23	12,84	71,90
С _{18:2} линолевая	15,15	26,59	29,77	27,21	3,93	26,24
С _{18:3} линоленовая	-	44,17	10,67	44,90	8,91	45,54
С _{20:2} эйкозодиеновая	-	-	0,68	0,12	-	0,12
Итого:	51,97	99,98	84,50	98,59	79,48	99,15
Содержание полиненасыщенных жирных кислот, %						
ω-6	15,15	26,59	29,77	27,12	3,93	26,24
ω-3	-	44,17	10,67	44,90	8,91	45,54

Как видно из таблицы, в составе биомассы бифидобактерий, культивируемых в питательной среде с льняным маслом, из мононенасыщенных жирных кислот преобладает олеиновая кислота, из полиненасыщенных – линоленовая, которая в среднем составляет 44-45 %. При культивировании бифидобактерий в питательной среде с льняным маслом наблюдается увеличение содержания полиненасыщенных и уменьшение насыщенных и мононенасыщенных жирных кислот. Данный факт, вероятно, связан с особенностями метаболизма бифидобактерий.

Согласно современным представлениям, АЛК в организме человека является биохимическим предшественником физиологически значимых длинноцепочечных ПНЖК с 20-22 атомами углерода – ЭПК и ДГК, которые относятся к семейству Омега-3 [12].

Известно, что из ЭПК синтезируются простагландины и тромбоксаны третьей серии с тремя двойными связями PG-3 и TX-3 и лейкотриены пятой серии LT-5, которые вызывают расширение кровеносных сосудов, препятствуют слипанию тромбоцитов и тем самым снижают артериальное давление. PG-3 обладает противовоспалительным эффектом [13].

Следует подчеркнуть, что синтез из АРК и ЭПК эндогормонов, обладающих противоположным действием на организм, обеспечивается одними и теми же ферментами: фосфолипазой А₂ и циклооксигеназами. Чтобы избежать избыточного синтеза гормонов, образуемых из АРК, которые приводят к сердечно-сосудистым заболеваниям, необходимо, чтобы в фосфолипидах содержалось достаточное количество ЭПК, которая конкурирует с АРК за ферменты. Фосфолипаза и циклооксигеназы, «отвоеванные» у АРК, производят из ЭПК полезные для организма эндогормоны [14]. Следовательно, для нормального функционирования организма необходим баланс эндогормонов, производимых ЭПК и АРК, что связано с оптимальным соотношением Омега-6 и Омега-3 кислот в пищевом рационе.

Известно, что микроорганизмы желудочно-кишечного тракта принимают участие в биотрансформации холестерина. Во многих исследованиях было показано, что холестерин и гомологичные фитостерины могут разрушаться как чистыми культурами, так и смешанными культурами кишечных микроорганизмов [4]. Способность ассимилировать холестерин в питательных средах проявляли также пробиотические микроорганизмы [10].

Свойство растительных масел оказывать благоприятное действие при атеросклерозе было замечено давно. Растительное масло снижает содержание в крови холестерина и «вымывает» пребета- и бета-липопротеиды из мягких атероматозных бляшек. В этом отношении, по-видимому, наиболее известны так называемые полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК). Это обусловлено наличием в их молекулах двойных связей. Чем больше таких связей, тем больше молекул холестерина они могут присоединить и вывести через печень. Помимо связывания холестерина полиненасыщенные жирные кислоты обладают желчегонным действием. А чем больше выводится из печени желчных кислот, тем больше расходуется на эти цели холестерина [11].

Из полиненасыщенных жирных кислот льняное масло богато альфа-линоленовой и линолевой кислотами [3]. В человеческом организме АЛК в результате метаболизма превращается в эйкозапентаеновую кислоту, необходимую для формирования клеточных мембран и регулирующую уровень холестерина в крови. ЭПК участвует в производстве простагландинов, ответственных за создание и свертываемость кровяных клеток, а также выступает природным антитромботиком, препятствующим возникновению застойных явлений в кровеносных сосудах [12].

Влияние льняного масла на холестеринметаболизирующие свойства пробиотических микроорганизмов представлено на рисунке 3.

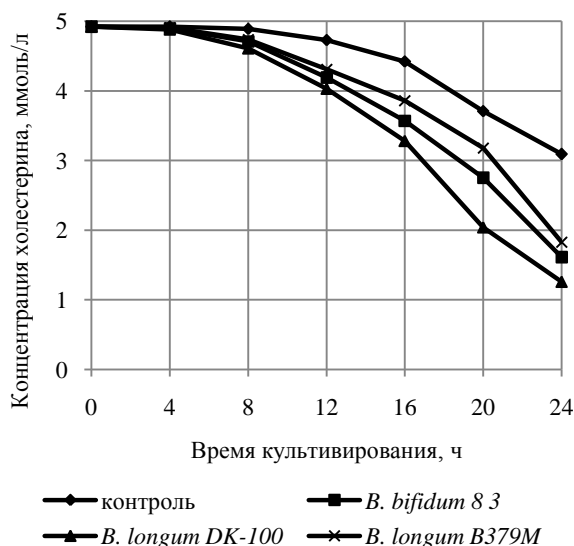


Рис. 3. Влияние льняного масла на холестеринметаболизирующую активность бифидобактерий

Как видно из данных рисунка 3, при культивировании бифидобактерий в питательной среде с добавлением льняного масла отмечена высокая холестеринметаболизирующая активность у всех штаммов. Но наибольшим гипохолестеринемическим эффектом в сравнении с контролем обладает *Bifidobacterium longum* DK-100. В конце культивирования разрушается 74,39 % общего холестерина.

Уникальные свойства льняного масла обусловлены его жирнокислотным составом, который из дополнительного показателя качества жиров превращается в одну из основных характеристик.

Исследования показывают, какую огромную роль в жизнедеятельности организма играют полиненасыщенные жирные кислоты. Являясь физиологически активными веществами, они принимают активное участие в обменных процессах. Особенно важными в этом являются глицериды жиров, содержащие линолевою, линоленовую и арахидоновую жирные кислоты. Эти эссенциальные кислоты участвуют в обмене стерина. При их недостатке в организме человека холестерин образует с насыщенными жирными кислотами сложные эфиры, трудно расщепляющиеся при обмене веществ. Сложные эфиры накапливаются в крови и откладываются на стенках артерий. При достаточном количестве эссенциальных кислот образующиеся сложные эфиры окисляются до низкомолекулярных веществ и затем выводятся из организма [11].

Полученные нами экспериментальные данные показали, что полиненасыщенные жирные кислоты льняного масла не только стимулируют рост бифидобактерий, но и повышают их холестеринметаболизирующую активность.

Библиография

1. Оганов Р.Г., Масленникова Г.Я. Демографическая ситуация и сердечно-сосудистые заболевания в России: пути решения проблем // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2007. – Т. 6, № 8. – С. 7–14.
2. Коренская И.М., Сулин В.Ю., Сафонова Е.Ф. и др. Сравнительный фармакологический анализ влияния амарантового и льняного масел на динамику липидного обмена крыс в условиях холестеринной нагрузки // Вестник Воронежского ун-та. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2006. – № 1. – С. 204–208.
3. Щукин С.А. Льняное масло – природный эликсир здоровья // Масла и жиры. – 2003. – № 10 (32). – С. 6–7.
4. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Т. 3: Пробиотики и функциональное питание. – М.: Грантъ, 2001. – 287 с.

5. Хамагаева И.С. Научные основы биотехнологии кисломолочных продуктов для детского и диетического питания: монография. – Улан-Удэ: Изд-во ВСГУТУ, 2005. – 279 с.
6. Хамагаева И.С., Качанина Л.М., Тумурова С.М. Биотехнология заквасок пропионовокислых бактерий. – Улан-Удэ: Изд-во ВСГУТУ, 2006. – 172 с.
7. Балябина М.Д., Слепышева В.В., Козлов А.В. Методы определения холестерина // Гепатология. – М., 2004. – Т. 6, № 6. – С. 21–39.
8. Титов Е.И., Колотвина С.В., Машенцева Н.Г. и др. Стартовые культуры, снижающие содержание холестерина в мясных продуктах // Мясная индустрия. – 2012. – № 2, февр. – С. 22–25.
9. Отман С.А.М., Пшеничникова А.Б., Швец В.И. Влияние экзогенных жирных кислот на рост и продукцию экзополисахарида облигатной метилотрофной бактерии *Methylophilus quaylei* // Прикладная биохимия и микробиология. – 2012. – Т. 48, № 2. – С. 226–231.
10. Хамагаева И.С., Цыбикова А.Х., Замбалова Н.А. Холестеринметаболизирующая активность пробиотических микроорганизмов // Молочная промышленность. – 2011. – № 10. – С. 56.
11. Прокопенко Л.Г., Бойняжева Л.И., Павлова Е.В. Полиненасыщенные жирные кислоты в растительных маслах // Масложировая промышленность. – 2009. – № 2. – С. 11–12.
12. Simopoulos A.P. The traditional diet of Greece and cancer // Eur. J. Cancer Prev. – 2004. – Vol. 13, N 3. – P. 219–230.
13. Goodhart R.S., Shils M.E. Modern Nutrition in Health and Disease – Philadelphia: Lea and Febinger, 1980. – P. 134–138.
14. Reis L.C., Hibbeln J.R. Cultural symbolism of fish and the psychotropic properties of omega-3 fatty acids // Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids. – 2006. – N 75. – P. 227–236.

Bibliography

1. Oganov R.G., Maslennikov G.Y. Demographics and cardiovascular diseases in Russia: solutions to problems // Cardiovascular therapy and prevention. – 2007. – Vol. 6, N 8. – P. 7–14.
2. Korenskaya I.M., Sulin V.Y., Safonov E.F. et al. Comparative pharmacological analysis of the effect of amaranth and flaxseed oils on the dynamics of lipid metabolism in rats in conditions of cholesterol loading // Bulletin of the Voronezh University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy. – 2006. – N 1. – P. 204–208.
3. Shchukin S.A. Linseed oil – a natural elixir of health // Oils and fats. – 2003. – N 10 (32). – P. 6–7.
4. Shenderov B.A. Medical microbial ecology and functional food. Vol. 3. Probiotics and functional food. – М.: Grant, 2001. – 287 p.
5. Khamagaeva I.S. Scientific bases of biotechnology dairy products for children and dietary: Monograph. – Ulan-Ude: ESSTU, 2005. – 279 p.
6. Khamagaeva I.S., Kachanina L.M., Tumurova S.M. Propionic acid bacteria ferments Biotechnology. – Ulan-Ude: ESSTU, 2006. – 172 p.
7. Balyabina M.D., Slepysheva V.V., Kozlov A.V. Methods for determination of cholesterol. – М.: Hepatology. – 2004. – Vol. 6, N 6. – P. 21–39.
8. Titov E.I., Kolotvin S.V., Mashentseva N.G. et al. Starter cultures, lowering cholesterol, meat products // Meat Industry. – 2012. – N 2, February. – P. 22–25.
9. Othman S.A.M., Pshenichnikova A.B., Shvets V.I. Effect of exogenous fatty acids on the growth and production of exopolysaccharide obligate methylotrophic bacterium *Methylophilus quaylei* // Applied Biochemistry and Microbiology. – 2012. – Vol. 48, N 2. – P. 226–231.
10. Khamagaeva I.S., Tsybikova A.K., Zambalova N.A. Cholesterol metabolizing activity of probiotic microorganisms // Dairy industry. – 2011. – N 10. – P. 56.
11. Prokopenko L.G., Boynyzheva L.I., Pavlov E.V. Polyunsaturated fatty acids in vegetable oils // Oil Industry. – 2009. – N 2. – P. 11–12.
12. Simopoulos A.P. The traditional diet of Greece and cancer // Eur. J. Cancer Prev. – 2004. – Vol. 13, N 3. – P. 219–230.
13. Goodhart R.S., Shils M.E. Modern Nutrition in Health and Disease. – Philadelphia: Lea and Febinger, 1980. – P. 134–138.
14. Reis L.C., Hibbeln J.R. Cultural symbolism of fish and the psychotropic properties of Omega-3 fatty acids // Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids. – 2006. – N 75. – P. 227–236.