

3rd International Conference  
«Research, Innovation and Education» 2016

## ENGINEERING AND TECHNOLOGY

---

Zambalova N.A., Khamagaeva I.S.

### INFLUENCE POLYUNSATURATED FATTY ACIDS FISH OIL ON QUALITY DIETARY SUPPLEMENT

Zambalova N.A., Russia, Candidate of Economic Sciences, East Siberia State University of Technology and Management

Khamagaeva I.S., Russia, Doctor of Technical science, Professor, East Siberia State University of Technology and Management

#### Abstract

Objective. Creating innovative probiotic dietary supplements (dietary supplements), rich in polyunsaturated fatty acids.

The influence of polyunsaturated fatty acids of fish oil on the biochemical activity of bifidobacteria and cholesterol degrading activity *Bifidobacterium bifidum* 8<sub>3</sub>. It is found that polyunsaturated fatty acids of fish oil stimulate growth of bifidobacteria and increase the biomass of viable cells. Choose an optimum dose of fish oil – 1,5% by volume of a nutrient medium which provides strong growth of bifidobacteria and higher destruction of cholesterol in the culture medium. It is noted that the culture medium of bifidobacteria in the fish oil 2,5 times cholesterol degrading ability of bifidobacteria, probably due to presence of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid. Based on studies developed probiotic dietary supplement, enriched with polyunsaturated fatty acids with a high biochemical and cholesterol destructive activity.

**Keywords:** bifidobacteria, dietary supplement, cholesterol degrading activity, polyunsaturated fatty acids, eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid.

**3rd International Conference  
«Research, Innovation and Education» 2016**

**Введение**

Питание является одним из главных факторов, определяющих здоровье человека. В современном урбанизированном обществе возникает диссонанс между энергопотреблением и энергозатратами, что заставляет искать альтернативные пути решения проблемы рационального питания населения. Поэтому в настоящее время среди специалистов в области питания и медицины все более широкое распространение имеет точка зрения, что наиболее быстрым, экономически обоснованным и приемлемым путем решения обсуждаемой проблемы является создание и широкое применение в повседневном питании больных и здоровых людей биологически активных добавок к пище или «Food supplements», как их называют за рубежом [1-3].

Особое значение в последние годы стало уделяться устранению дефицита полиненасыщенных жирных кислот  $\omega$ -3 (ПНЖК). Оказалось, что недостаток именно этих ПНЖК является, зачастую, причиной развития атеросклероза и таких его грозных локализаций как инфаркт и инсульт, аритмия, доходящие до острой сердечной недостаточности с летальными исходами. Наиболее важными из кислот этого семейства являются эйкозапентаеновая и докозагексаеновая. Указанные ненасыщенные жирные кислоты наряду с олеиновой,  $\alpha$ -линоленовой, линолевой входят в состав мембран клеток человека, влияя на их стабильность, текучесть, активацию сигнальных путей напрямую или через образование эйкозаноидов, экспрессию генов и клеточную дифференциацию [4-8].

Развитие атеросклероза артерий и связанных с ним болезней сердца и сосудов вызваны избыточным синтезом холестерина. К настоящему времени доказано, что пробиотические микроорганизмы являются важнейшим метаболическим и регуляторным органом, участвующим в кооперации с органами и клетками хозяина в поддержании гомеостаза холестерина. Микробиологические изменения в организме человека следует считать пусковыми механизмами нарушений липидного обмена [9, 10].

В наших предыдущих исследованиях установлено, что полиненасыщенные жирные кислоты кедрового и льняного масла стимулируют рост бифидобактерий и повышают их холестеринметаболизирующие свойства [11]. Существенное отличие рыбьего жира от всех других жиров животного и растительного происхождения заключается в том, что он

**3rd International Conference  
«Research, Innovation and Education» 2016**

содержит специфические эйкозапентаеновую и докозагексаеновую жирные кислоты.

Следует отметить, что в настоящее время при разработке новых продуктов функционального назначения необходимо использовать комплексный подход. В связи с этим, разработка лечебно-профилактических препаратов на основе пробиотических микроорганизмов, обогащенных биологически активными веществами, является актуальной.

**Материалы и методы исследований**

В работе использовали бифидобактерии *Bifidobacterium bifidum* 8<sub>3</sub>, полученные из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов ФГУП ГосНИИ «Генетика» (Москва), активизированные биотехнологическим методом, разработанным в Восточно-Сибирском государственном университете технологий и управления. Для культивирования бифидобактерий использовали питательную среду на основе молочной сыворотки с добавлением ростовых компонентов [12]. Рыбий жир добавляли в стерильную среду и проводили тщательное эмульгирование жира до образования мицелярной формы. Бактерии выращивали в колбах. В качестве инокулята использовали 24 часовую культуру бифидобактерий в количестве 3%. Нарастивание биомассы определяли по оптической плотности фотокolorиметрическим методом на спектрофотометре PD-101 APEL при  $\lambda=500$  нм. Активную кислотность определяли по ГОСТ Р 53359-2009.

Концентрацию холестерина в питательной среде определяли ферментативным методом. Сущность метода заключается в том, что под действием фермента холестеринэстеразы эфиры холестерина распадаются на холестерин и жирные кислоты. Далее холестерин под воздействием холестериноксидазмутазы дает окрашенное соединение и перекись водорода. Интенсивность окраски в реакционной смеси прямо пропорциональна концентрации холестерина в пробе. После этого измеряли оптическую плотность опытной пробы (E) и калибровочной пробы (E<sub>к</sub>) против рабочего реагента, состоящего из смеси ферментов при длине волны 500 нм. Концентрацию холестерина в пробе определяли расчетным методом по формуле:

$$C = E/E_k * 4,65; \quad (1)$$

где C – концентрация холестерина в пробе, ммоль/л;

E – оптическая плотность опытных образцов;

E<sub>к</sub> – оптическая плотность калибровочных образцов;

**3rd International Conference  
«Research, Innovation and Education» 2016**

4,65 – концентрация холестерина в калибраторе, ммоль/л.

Если концентрация холестерина в образце превышает 20 ммоль/л, образец разбавляли физиологическим раствором в три раза, анализ повторяли и полученный результат умножали на три [13].

Количественный учет бифидобактерий определяли по МУК 4.2.999-00; контаминацию – ГОСТ Р 53430-2009. Показатели безопасности продуктов определяли в соответствии с требованиями Технического регламента Таможенного союза ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции»

Для объективной оценки полученных экспериментальных данных проводили их математическую обработку по результатам 3-4 повторностей. Исследуемые показатели подвергали обработке методами математической статистики и корреляционного анализа с применением IBM PS, используя пакет стандартных программ.

Статистическую обработку данных проводили с вычислением средних арифметических и их доверительных интервалов при  $p < 0,05$ . Для формирования промежуточных таблиц, осуществления элементарных расчетов, описательной статистики применялись программные ресурсы Microsoft Office Excel 2007.

**Результаты и обсуждение**

На первом этапе исследований изучали влияние различных доз рыбьего жира на рост и наращивание биомассы бифидобактерий.

Результаты исследований представлены на рисунках 1-2.

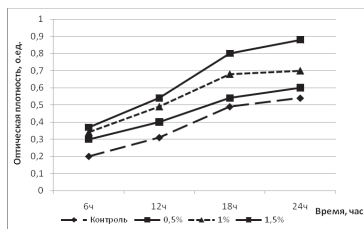


Рисунок 1 - Влияние различных доз рыбьего жира на рост биомассы *Bifidobacterium bifidum* 83

3rd International Conference  
«Research, Innovation and Education» 2016

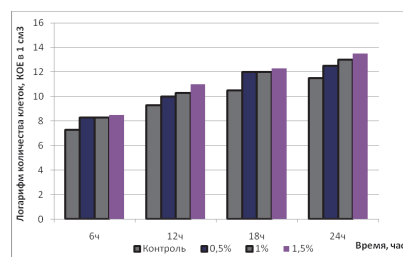


Рисунок 2 - Влияние различных доз рыбьего жира на количество жизнеспособных клеток *Bifidobacterium bifidum* 8<sub>3</sub>

Как свидетельствуют данные рис. 1, в присутствии полиненасыщенных жирных кислот рыбьего жира сокращается лаг-фаза и ускоряется рост бифидобактерий. С увеличением дозы рыбьего жира стимулирующая активность полиненасыщенных жирных кислот увеличивается. Наибольший эффект отмечен при дозе 1,5%. При этом наблюдается наиболее интенсивный рост бифидобактерий и количество жизнеспособных клеток через 18 часов культивирования достигает  $10^{12}$  КОЕ в  $\text{см}^3$  (рис. 1).

Эффект ускорения роста бифидобактерий полиненасыщенными жирными кислотами рыбьего жира можно объяснить тем, что они включаются в состав наружной мембраны и изменяют физико-химические свойства поверхности клетки, а также свойства липидного бислоя.

В результате проведенных исследований установлено, что полиненасыщенные жирные кислоты рыбьего жира обладают бифидогенными свойствами, которые проявляются в повышении биохимической активности бифидобактерий. Полученные результаты согласуются с данными литературы о стимулирующем действии эйкозапентаеновой и докозапентаеновой кислот на рост бифидобактерий [8].

В дальнейших исследованиях изучали влияние полиненасыщенных жирных кислот на холестериндеградующую активность бифидобактерий *B. bifidum* 8<sub>3</sub>. Результаты исследований представлены на рисунке 3.

3rd International Conference  
«Research, Innovation and Education» 2016

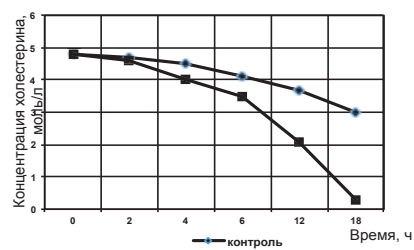


Рисунок 3 – Влияние рыбьего жира на холестеринметаболизирующую активность *B. bifidum* 8<sub>3</sub>

В процессе культивирования бифидобактерий на питательной среде, содержащей 1,5% рыбьего жира отмечено активное разрушение холестерина, которое в конце культивирования достигает 96%, что в 2,5 раза выше, чем в контроле (рис. 3). Такая высокая холестериндеградирующая активность обусловлена уникальными свойствами рыбьего жира, которые в своем составе содержат эйкозапентаеновую и докозапентаеновую кислоты.

Следует отметить, что в условиях эксперимента на животных и в клинических наблюдениях за людьми было показано, что назначение рыбьего жира, содержащего значительные количества  $\omega$ -3 жирных кислот заметно снижает частоту возникновения инфарктов, поскольку присутствующая в рыбьем жире эйкозапентаеновая и докозапентаеновая кислоты участвуют в биохимических и физиологических процессах, определяющих сердечно-сосудистый гомеостаз [14].

Обсуждая роль бифидобактерий в снижении уровня холестерина, следует отметить, что полиненасыщенные жирные кислоты рыбьего жира характеризуются более высокой холестериндеградирующей активностью в сравнении с льняным и кедровым маслом.

В результате проведенных исследований разработана инновационная технология пробиотической биологически активной добавки с холестериндеградирующей активностью.

В связи с неустойчивостью полиненасыщенных жирных кислот при стерилизации рыбий жир в количестве 1,5% вносят

**3rd International Conference  
«Research, Innovation and Education» 2016**

в охлажденную питательную среду и проводят эмульгирование в течение 5 минут, подают производственную закваску бифидобактерий в количестве 3% от массы среды. Среду с закваской тщательно перемешивают. Нарастивание клеток бифидобактерий проводят при температуре  $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение (18-20) ч с двукратной нейтрализацией среды через 10 ч для поддержания pH на оптимальном уровне. После окончания процесса культивирования отделяют сыворотку (частично концентрируют) для получения бактериальной суспензии клеток, которую охлаждают до температуры  $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ . Полученную суспензию клеток разливают в асептических условиях в стерильные флаконы вместимостью 30 или 100 см<sup>3</sup>.

Качественная характеристика биологически активной добавки представлена в таблице.

Таблица - Качественная характеристики БАД на основе *B. bifidum* 8<sub>3</sub> и полиненасыщенных жирных кислот рыбьего жира

Наименование показателя		Значение
1		2
Консистенция и внешний вид		Однородная. В меру вязкая, без отделения сыворотки
Цвет		Светло-желтый
Вкус и запах		Чистый, со специфическим привкусом и запахом рыбьего жира
Предельное значение pH, ед.		5,3-7,5
Холестеринметаболизирующая активность, %		96
Температура при выпуске с предприятия, °С, не более		4-6
Количество бифидобактерий, К.О.Е./см <sup>3</sup> , не менее		$1 \cdot 10^{11}$
Объем продукта (см <sup>3</sup> ), в котором не допускаются:	БГКП (колиформы)	10
	<i>S. aureus</i>	10
Дрожжи и плесени, К.О.Е./см <sup>3</sup> , не более	Патогенные микроорганизмы (в т.ч. сальмонеллы)	50
Дрожжи и плесени, К.О.Е./см <sup>3</sup> , не более		10

**3rd International Conference  
«Research, Innovation and Education» 2016**

Анализ данных, представленных в таблице свидетельствует, что биологически активная добавка содержит высокое количество жизнеспособных клеток бифидобактерий, а холестериндеградирующая активность достигает 96%, тогда как при использовании кедрового или льняного масла, как ранее нами установлено, составляет 68% и 74%, соответственно.

Сочетание бифидобактерий и полиненасыщенных жирных кислот повышает функциональные свойства биологически активной добавки.

Биологически активная добавка может быть рекомендована для нормализации микрофлоры желудочно-кишечного тракта и профилактики заболеваний, вызванных повышенным уровнем холестерина.

**Выводы:**

В результате проведенных исследований разработана биологически активная добавка с высокой биохимической и холестериндеградирующей активностью.

Отмечено, что полиненасыщенные жирные кислоты рыбьего жира обладают бифидогенными свойствами и стимулируют рост бифидобактерий.

Установлено, что культивирование бифидобактерий на питательной среде с рыбьим жиром повышает холестериндеградирующие свойства бифидобактерий.

**References:**

- [1] Avstrieviskih A.N., Vekovtsev A.A., Poznyakovsky V.M. Health food products, new technology, quality assurance, efficiency of evskih // Novosibirsk: Siberian University Press. – 2005. – 413 p.
- [2] Enrichment of foods and dietary supplements: technology, safety and regulatory framework: scientific publication / per. from English. IS Gorozhankin; red.-status. PB Ottawa. – St. Petersburg: Profession, 2010. – 309 p.
- [3] Poznyakovsky V.M., Avstrieviskih A.N., Vekovtsev A.A. Food and dietary supplements / Kemerovo: Russian Universities, 2004. - 243 p.
- [4] Nazarov P.E., Myagkova G.I., Groza N.V. Polyunsaturated fatty acids as a universal endogenous bioregulators // Herald MITHT. – 2009. – Т. 4, № 5. – P. 3-19.
- [5] Connor W.E. The hypotriglyceridemic effect of fish oil in adult-onset diabetes without adverse glucose control / W.E. Connor // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 1993. – Vol. 683. – P. 337-340.



**3rd International Conference  
«Research, Innovation and Education» 2016**

- [6] Kris-Etherton P.M., Harris W.S., Appel L.J. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease // *Circulation*. – 2002. – № 106. – P. 2747-2757.
- [7] Miller C.C. Dietary supplementation with ethyl ester concentrates of fish oil (n-3) and borage oil (n-6) polyunsaturated fatty acids induces epidermal generation of local putative anti-inflammatory metabolites / C.C. Miller // *J. Invest. Dermatol.* – 1991. – Vol. 96. – № 1. – P. 98-103.
- [8] Stark A.H., Crawford M.A., Reifen R. Update on alpha-linolenic acid // *Nutrition Reviews*. – 2008. – № 66. – P. 326-332.
- [9] Shenderov BA Medical microbial ecology and functional nutrition. Volume 3: Probiotics and functional food / BA Shenderov. - M.: Grant, 2001. - 287 p.
- [10] Dyerberg J. Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis / J. Dyerberg // *Lancet*. – 1978. – Vol. 2, № 8081. – P. 117-119.
- [11] Khamagaeva I.S., Tsybikova A.H., Zambalova N.A. Cholesterol degrading activity of probiotic microorganisms // *Dairy industry*. - 2011. - № 10. - S. 56.
- [12] Khamagaeva I.S. Scientific bases of biotechnology of dairy products for children and dietary: monograph. - Ulan-Ude. – 2005. – 279 p.
- [13] Balyabina M.D. Methods for determination of cholesterol / M.D. Balyabina, V.V. Slepysheva, A.V. Kozlov // *Hepatology*. - 2004. - T. 6, № 6. - P. 73-75.
- [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. – № 75. – P. 227-236.