

УДК 637.12.04/.07

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-346-3-52-55>

Краткий обзор/Brief review

Жижин Н.А.

ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности», 115093, Россия, г. Москва, ул. Люсиновская, д. 35

E-mail: zhizhinmoloko@mail.ru

Ключевые слова: функциональные компоненты, конъюгированная линолевая кислота, газовая хроматография, жирно-кислотный состав

Для цитирования: Жижин Н.А. Использование бактериальных культур для повышения содержания конъюгированной линолевой кислоты в молоке и молочной продукции. *Аграрная наука*. 2021; 346 (3): 52–55.

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-346-3-52-55>**Конфликт интересов отсутствует****Nikolay A. Zhizhin**

All-Russian Research Institute of the Dairy Industry, 35, Lyusinovskaya str., Moscow, 115093, Russia

E-mail: zhizhinmoloko@mail.ru

Key words: functional components, conjugated linoleic acid, gas chromatography, fat acid composition

For citation: Zhizhin N.A. The use of bacterial cultures to increase the content of conjugated linoleic acid in milk and dairy products. *Agrarian Science*. 2021; 346 (3): 52–55. (In Russ.)

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-346-3-52-55>**There is no conflict of interests**

Использование бактериальных культур для повышения содержания конъюгированной линолевой кислоты в молоке и молочной продукции

РЕЗЮМЕ

Биоактивные свойства конъюгированной линолевой кислоты (КЛК) связаны с процессами укрепления здоровья человека, включая антиканцерогенную, антиатерогенную, противовоспалительную и противодиабетическую активность, а также способность уменьшать жировые отложения. В данной статье рассмотрены функциональные свойства биоактивного компонента жировой фазы коровьего молока — конъюгированной линолевой кислоты. Изучено содержание конъюгированной линолевой кислоты в молоке-сырье посредством применения метода капиллярной газовой хроматографии (ГХ). Оценка содержания КЛК в молоке-сырье проводилась с учетом влияния рациона кормления коров. Для этого были изучены образцы сырого молока в летний и зимний период. Определено, что концентрация конъюгированной линолевой кислоты в жировой фазе молока в зимний период была снижена относительно летнего сезона, когда в рационе коров преобладают зеленые корма. Содержание конъюгированной линолевой кислоты в летний период составило от 122,3 до 372,2 мг/дм³, а для зимнего периода показатель содержания данной жирной кислоты варьировался в пределах от 54,7 до 136,47 мг/дм³. Также приведены экспериментальные данные о возможности повышения содержания конъюгированной линолевой кислоты в жировой фазе молока за счет введения бактериальных культур. Были получены данные о параметрах продуцирования конъюгированной линолевой кислоты под воздействием штаммов *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*. Использование данных бактериальных культур позволило увеличить содержание конъюгированной линолевой кислоты в исследуемых образцах на 23–36%.

The use of bacterial cultures to increase the content of conjugated linoleic acid in milk and dairy products

ABSTRACT

The bioactive properties of conjugated linoleic acid (CLA) are associated with human health promotion processes, including anticarcinogenic, antiatherogenic, antiinflammatory and antidiabetic activity, and the ability to reduce body fat. The functional properties of the bioactive component of the fat phase of cow's milk, called conjugated linoleic acid (CLA), are described in this article. The content of conjugated linoleic acid in raw milk was studied using the capillary gas chromatography (GC) method. The content of CLA in raw milk was evaluated, taking into account the influence of the diet of feeding cows. Many samples of raw milk were studied in summer and winter for this purpose. It was determined that the concentration of conjugated linoleic acid in the fat phase of milk in winter is lower than in summer, when the diet of cows is dominated by green feed. The content of conjugated linoleic acid in the summer period ranged from 122.3 to 372.2 mg/dm³, and in winter it ranged from 54.7 to 136.47 mg/dm³. Experimental data of the possibility of increasing the content of conjugated linoleic acid in the fat phase of milk by inserting bacterial cultures is also presented. Results of the parameters of production conjugated linoleic acid under the influence of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* were obtained. The use of these bacterial cultures allowed to increase the content of conjugated linoleic acid by 23–36% in the studied samples.

Поступила: 11 марта
После доработки: 11 марта
Принята к публикации: 12 марта

Received: 11 March
Revised: 11 March
Accepted: 12 March

Введение

Конъюгированная линолевая кислота (КЛК) относится к смеси позиционных и геометрических изомеров линолевой кислоты ($C_9C_{12}-C_{18:2}$) с системой сопряженных двойных связей (рис. 1).

Ее образование в природе происходит в процессе биогидрирования и окисления, происходящего в рубце жвачных животных. Конъюгированные двойные связи обычно располагаются в положениях 9-11, 10-12 и 11-13. Двойные связи могут располагаться как в *цис*-, так в *транс* конфигурации [1].

Молочные продукты являются основными источниками конъюгированной линолевой кислоты в конфигурации *цис*-9, *транс*-11 $C_{18:2}$. Данная конфигурация является преобладающим изомером конъюгированной линолевой кислоты (около 90%) от общего количества изомеров в природных липидах [2, 3].

Образование конъюгированной линолевой кислоты в молоке жвачных животных может происходить как прямо, так и косвенно вследствие неполной микробной гидрогенизации полиненасыщенных жирных (ПНЖК) кислот в рубце анаэробными бактериями (рис. 2). Образование происходит в основном за счет эндогенного синтеза Δ 9-десатуразой вакценовой кислоты (*транс*-11 $C_{18:1}$) [4].

Уровень содержания конъюгированной линолевой кислоты в молочном жире достаточно вариативен и зависит от таких факторов, как региональность, сезонность, стадия лактации и порода [5, 6]. Наиболее значимым фактором, влияющим на содержание КЛК в молочном жире, является рацион кормления коров. В частности известно, что к увеличению содержания конъюгированной линолевой кислоты в жировой фазе молока приводит потребление с пищей жвачными животными ненасыщенных жиров. Это приводит к изменению путей биогидрирования и накоплению вакценовой кислоты, предшественника для эндогенного синтеза КЛК [7].

Таким образом, наиболее высокое содержание конъюгированной линолевой кислоты можно получить в период кормления коров на пастбищах или при добавлении в рацион растительных масел или семян масличных культур [8].

Большое количество биомедицинских исследований на животных продемонстрировали пользу КЛК для здоровья. Показано, что конъюгированная линолевая кислота активно взаимодействует с многочисленными метаболическими путями. Выявленная биологическая активность конъюгированной линолевой кислоты привела к увеличению интереса к содержанию этого компонента в рационе человека [9].

Большинство исследований потенциально положительного воздействия на здоровье человека были проведены на изомере КЛК в конфигурации *цис*-9, *транс*-11. Эти исследования выявили, что прием конъюгированной линолевой кислоты с пищей может быть потенциально полезен для предотвращения различных заболеваний человека [10, 11].

Результаты экспериментов по антиатерогенному воздействию

конъюгированной линолевой кислоты показали, что она снижает концентрацию холестерина и триглицеридов в сыворотке крови с положительным влиянием на кроветворную систему и гомеостаз сосудов. Что, в свою очередь, можно применять для профилактики сердечно-сосудистых заболеваний.

Антиканцерогенная активность КЛК была четко установлена на системах культивирования клеток *in vitro* и на животных *in vivo* для широкого спектра типов рака, таких как папилломы кожи, неоплазия мышц, а также предопухолевые поражения и опухоли толстой кишки и молочных желез.

Также некоторые исследования продемонстрировали, что конъюгированная линолевая кислота влияет на синтез эйкозаноидов и, как следствие, усиливает некоторые специфические иммунные функции у животных и человека [12].

На сегодняшний день неизвестно, какой эффект будет иметь длительный прием КЛК в различных концентрациях на организм человека. Следовательно, по-

Рис. 1. Структура линолевой кислоты и изомеров конъюгированной линолевой кислоты

Fig. 1. Structure of linoleic acid and conjugated isomers linoleic acid

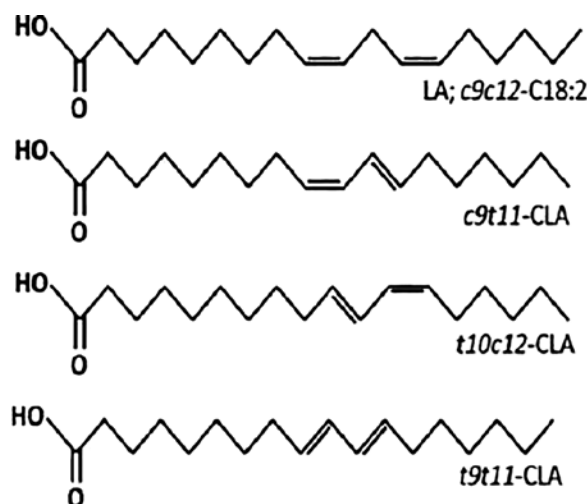
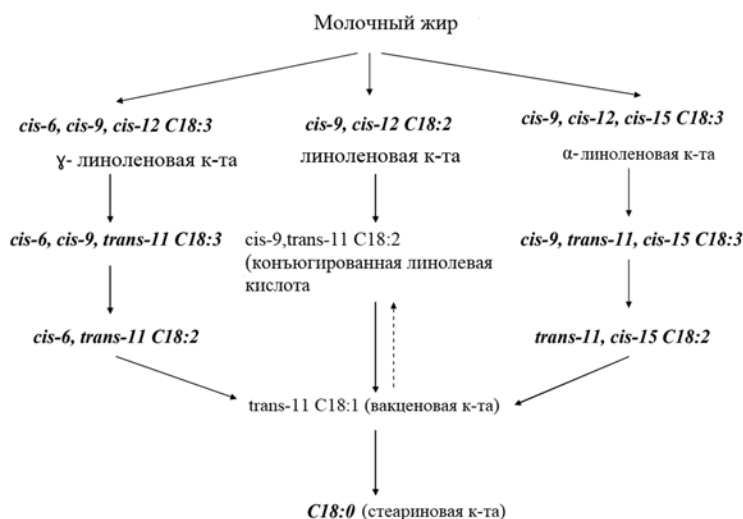


Рис. 2. Преобладающий путь биогидрирования ненасыщенных жирных кислот C_{18} с участием *цис*-9, *транс*-11 $C_{18:2}$

Fig. 2. The predominant pathway for the biohydrogenation of unsaturated fatty acids C_{18} with the participation of *цис*-9, *транс*-11 $C_{18:2}$



требуются новые исследования на людях и животных, прежде чем возможно будет установить оптимальное потребление с пищей конъюгированной линолевой кислоты [13].

Цель данного исследования заключается в оценке содержания конъюгированной линолевой кислоты в сыром коровьем молоке с учетом особенностей рациона кормления коров в летний и зимний сезон, а также возможности повышения концентрации КЛК за счет использования бактериальных культур.

Методика исследования

В качестве объектов исследования были использованы образцы сырого коровьего молока из различных фермерских хозяйств. Данные образцы были исследованы методом газовой хроматографии для определения содержания конъюгированной линолевой кислоты [14]. Также были использованы образцы сырого молока с внесением штаммов *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*.

В качестве аналитического стандарта для определения времени выхода конъюгированной линолевой кислоты применялся изомер Linoleicacid (9-cis, 11-trans) Cas# 544-71-8 (Supelco, USA).

Анализ жирнокислотного состава жировой фазы молока проводили посредством газового хроматографа «Кристаллюкс – 4000 М» оснащенного пламенно-ионизационным детектором. Разделение жирных кислот и их изомеров было достигнуто на капиллярной кварцевой колонке длиной 100 м и внутренним диаметром 0,25 мм. Толщина слоя неподвижной фазы колонки — 0,2 мкм. Газ-носитель — водород. Температурная программа разделения жирных кислот: температура T_1 колонки — 100 °C (выдержка 5 мин), T_2 — 165 °C (выдержка 1 мин) со скоростью 15 гр/мин; T_3 — 225 °C (выдержка 20 мин) со скоростью 2 гр/мин; температура испарителя — 250 °C; температура детектора — 230 °C; объем вводимой пробы — 1 мкл. Для управления режимами анализа, записи хроматограмм и обработки полученной информации использовалось программное обеспечение «NetChrom». Расчет состава метиловых эфиров жирных кислот проводили методом внутренней нормализации.

Результаты и их обсуждение

Оценка содержания конъюгированной линолевой кислоты в молоке-сырье была проведена методом капиллярной газовой хроматографии. Для этого эмпирическим путем были подобраны условия хроматографического разделения цис-, трансизомеров жирных кислот молочного жира (рис. 3).

После подбора условий хроматографического разделения, позволяющего получать разделение изомеров жирных кислот, получены данные о содержании конъюгированной линолевой кислоты в составе жировой фазы сырого молока. Для этой цели было проанализировано

Рис. 3. Участок хроматограммы жирнокислотного состава молока

Fig. 3. Section of the chromatogram of fatty acid milk composition

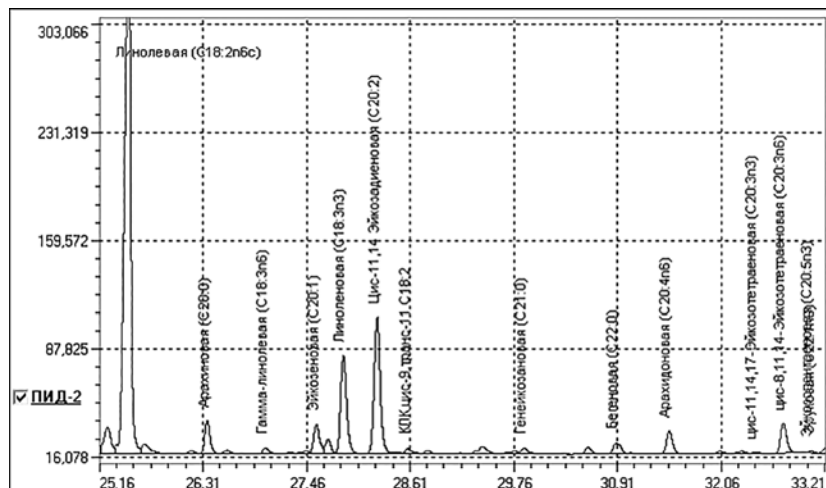


Таблица 1. Изменение содержания КЛК под влиянием штаммов *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*

Table 1. Changes in CLA content under the influence of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*

Контрольный образец, мг/дм ³	<i>Lactobacillus acidophilus</i> (24 ч), мг/дм ³ , n = 5	<i>Lactobacillus acidophilus</i> (7 сут.), мг/дм ³ , n = 5	<i>Lactobacillus acidophilus</i> (14 сут.), мг/дм ³ , n = 5
98,50±0,04	100,90±1,12	107,28±1,37	125,16±1,54
	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> (24 ч), мг/дм ³ , n = 5	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> (7 сут.), мг/дм ³ , n = 5	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> (14 сут.), мг/дм ³ , n = 5
	101,32±1,05	109,73±1,39	137,79±1,62

две партии образцов сырого молока в зимний и летний периоды. Количество образцов для каждой партии составило 50 единиц.

Согласно проведенным исследованиям установлено, что содержание КЛК в летний период, когда зеленые корма преобладают в рационе коров, составило от 122,3 до 372,2 мг/дм³. Аналогичные исследования молока-сырья в зимний период установили, что концентрация конъюгированной линолевой кислоты составила от 54,7 до 136,47 мг/дм³.

Полученные данные коррелируют с работами других авторов о влиянии кормовой базы на концентрацию КЛК в составе жировой фазы молока-сырья.

Интерес к конъюгированной линолевой кислоте как к биоактивному компоненту молочного жира достаточно высок. Поэтому исследование способов увеличения концентрации данной жирной кислоты является актуальным направлением молочной промышленности.

Поскольку значительная часть изомеров КЛК образуется во время биогидрирования линолевой кислоты в рубце бактерией *Butyrivibrio fibrisolvens*, можно ожидать, что бактерии, используемые в молочных заквасках, также будут иметь способность образовывать конъюгированную линолевую кислоту.

Для подтверждения данного положения были использованы два штамма бактериальных культур — *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*. Эти штаммы были внесены в контрольный образец сырого молока с известным содержанием КЛК. После чего были произведены контрольные измерения в

трех точках – 24 часа, 7 суток и 14 суток. Данные, полученные в результате исследования, приведены в таблице 1.

Согласно полученным данным концентрация конъюгированной линолевой кислоты увеличилась при использовании штаммов *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* на 23% и 36% соответственно. Это показывает принципиальную возможность использования бактериальных культур для моделирования функциональных компонентов молочного жира с целью получения повышенных концентраций биоактивных компонентов, таких как конъюгированная линолевая кислота.

Также полученные данные говорят о том, что бактериальные культуры оказывают различное влияние на продуцирование конъюгированной линолевой кислоты. И достижение максимальной эффективности может быть получено путем подбора бактериальных культур или их комбинации с наибольшей продуктивностью.

Выводы

Несмотря на то, что в данной работе была показана возможность продуцирования конъюгированной линолевой кислоты путем внесения бактериальных культур в молоко, следует отметить, что эффективность данной процедуры достаточно низкая и имеет специфику использования данной продукции для дальнейшей переработки.

Проведенное исследование влияния кормовой базы на содержание КЛК в жировой фазе молока показывает, что использование специализированных рационов кормления коров даст больший эффект в достижении поставленной задачи. А бактериальные культуры целесообразно применять в качестве продуцентов для получения конъюгированной линолевой кислоты в чистом виде с последующим добавлением непосредственно в жировую фазу молока и молочной продукции.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Jiang J. Occurrence of conjugated cis-9, trans-11-octadecadienoic acid in bovine milk: effects of feed and dietary regimen / L. Björck, R. Fondén and M. Emanuelson // *Journal of Dairy Science* 79, 1996, 438-445
2. Kramer, J.K., Rumenic acid: a proposed common name for the major conjugated linoleic acid isomer found in natural products / P.W. Parodi, R.G. Jensen, M.M. Mossoba, M.P. Yurawecz and R.O. Adlof (1998). *Lipids* 33, 835.
3. Дрожжин, В.М. Биологически активные ингредиенты в кисломолочных продуктах / В.М. Дрожжин, Г.А. Донская // *Переработка молока*. - №7. - С.20-23.
4. Griinari, J.M. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cow by Δ 9-desaturase/ B.A. Corl, S.H. Lacy, P.Y. Chouinard, K.V. Nurmela and D.E. Bauman (2000) // *Journal of Nutrition* 130, 2285-2291.
5. Kelly, M.L. Dietary fatty acid source affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows / J.R. Berry, D.A. Dwyer, J.M. Griinari, P.Y. Chouinard, M.E. Van Amburgh and D.E. Bauman (1998a) // *Journal of Nutrition* 128, 881-885.
6. Kelsey, J.A. The effect of breed parity, and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows // B.A. Corl, R.J. Collier and D.E. Bauman (2003) // *Journal of Dairy Science* 86, 2588-2597.
7. Bauman, D.E. Conjugated linoleic acid: biosynthesis and nutritional significance / A.L. Lock (2006) // In: *Advance Dairy Chemistry, Volume 2: Lipids, Third Edition*, Fox P.F and McSweeney P.H.L., Springer, New York, USA
8. Chilliard, Y. Effect of different types of forage, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids *Livestock Production Science*// Ferlay A. and Doreau M. (2001), 70, 31-48.
9. Park, Y. Mechanism of body fat modulation by conjugated linoleic acid (CLA)/ . M.W. Pariza (2007) // *Food Research International* 40, 311-323.
10. Pariza, M.W. The biological active isomers of conjugated linoleic acid//Y.Park, M.E. Cook (2001) // *Progress in Lipid Research* 40, 283-289.
11. Юрова, Е.А. Контроль качества и безопасности продуктов функциональной направленности на молочной основе // *Молочная промышленность*. 2020. - №6. - С.12-15.
12. Banni, S. Conjugated linoleic acids as anticancer nutrients: studies in vivo and cellular mechanisms/ S.D. Heyes, K.W. Wahle (2003) // In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research, Volume 2*, Sébédio J-L and Christie W.W, Adlof R.O. Eds, AOCS Press, Champaign, IL.
13. Collomb, M., Conjugated linoleic acids in milk: variation and physiological effects / A. Schmid, R. Siebre, D.Wechsler (2006) // *Review. International Dairy Journal* 16, 1347-1361.
14. Юрова, Е.А. Разработка современных методов анализа для идентификации молока и молочной продукции // *Молочная река*. 2019. - №2 (74) - С. 22-25.

REFERENCES

1. Jiang J. Occurrence of conjugated cis-9,trans-11-octadecadienoic acid in bovine milk: effects of feed and dietary regimen / L. Björck, R. Fondén and M. Emanuelson // *Journal of Dairy Science* 79, 1996, 438-445
2. Kramer, J.K., Rumenic acid: a proposed common name for the major conjugated linoleic acid isomer found in natural products / P.W. Parodi, R.G. Jensen, M.M. Mossoba, M.P. Yurawecz and R.O. Adlof (1998). *Lipids* 33, 835.
3. Drozhzhin, V. M. Biologically active ingredients in fermented milk products / V. M. Drozhzhin, G. A. Donskaya // *Milk Processing*. - No. 7. - P. 20-23.
4. Griinari, J.M. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cow by Δ 9-desaturase/ B.A. Corl, S.H. Lacy, P.Y. Chouinard, K.V. Nurmela and D.E. Bauman (2000) // *Journal of Nutrition* 130, 2285-2291.
5. Kelly, M.L. Dietary fatty acid source affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows / J.R. Berry, D.A. Dwyer, J.M. Griinari, P.Y. Chouinard, M.E. Van Amburgh and D.E. Bauman (1998a) // *Journal of Nutrition* 128, 881-885.
6. Kelsey, J.A. The effect of breed parity, and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows // B.A. Corl, R.J. Collier and D.E. Bauman (2003) // *Journal of Dairy Science* 86, 2588-2597.
7. Bauman, D.E. Conjugated linoleic acid: biosynthesis and nutritional significance / A.L. Lock (2006) // In: *Advance Dairy Chemistry, Volume 2: Lipids, Third Edition*, Fox P.F and McSweeney P.H.L., Springer, New York, USA
8. Chilliard, Y. Effect of different types of forage, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids *Livestock Production Science*// Ferlay A. and Doreau M. (2001), 70, 31-48.
9. Park, Y. Mechanism of body fat modulation by conjugated linoleic acid (CLA)/ . M.W. Pariza (2007) // *Food Research International* 40, 311-323.
10. Pariza, M.W. The biological active isomers of conjugated linoleic acid//Y.Park, M.E. Cook (2001) // *Progress in Lipid Research* 40, 283-289.
11. Yurova, E. A. Quality Control and safety of functional products based on milk // *Dairy industry*. 2020. - No. 6. - P. 12-15.
12. Banni, S. Conjugated linoleic acids as anticancer nutrients: studies in vivo and cellular mechanisms/ S.D. Heyes, K.W. Wahle (2003) // In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research, Volume 2*, Sébédio J-L and Christie W.W, Adlof R.O. Eds, AOCS Press, Champaign, IL.
13. Collomb, M., Conjugated linoleic acids in milk: variation and physiological effects / A. Schmid, R. Siebre, D.Wechsler (2006) // *Review. International Dairy Journal* 16, 1347-1361.
15. Yurova, E. A. Development of modern methods of analysis for identification of milk and dairy products // *Molochnaya reka*. 2019. - No. 2 (74) - Pp. 22-25.