

На правах рукописи



Уткина Александра Сергеевна

**РАЗРАБОТКА МЕТОДИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ К ПРОЕКТИРОВАНИЮ
СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ С ПОМОЩЬЮ
НУТРИГЕНОМИКИ И ПРОДВИЖЕНИЮ ИХ НА ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЙ
РЫНОК**

4.3.3. Пищевые системы

Автореферат диссертации на соискание учёной степени
кандидата технических наук

Москва – 2024

Работа выполнена на кафедре товарной экспертизы и таможенного дела в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Российский экономический университет имени Г.В. Плеханова», г. Москва.

Научный руководитель доктор биологических наук, доцент
Карагодин Василий Петрович

Официальные оппоненты: **Позняковский Валерий Михайлович**
доктор биологических наук, профессор,
ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
кафедра гигиены, профессор

Тихонов Сергей Леонидович
доктор технических наук, профессор,
ФГБОУ ВО «Уральский государственный
аграрный университет», кафедра пищевой
инженерии аграрного производства, профессор

Ведущая организация федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования «Российский биотехнологический
университет (РОСБИОТЕХ)»

Защита состоится 4 июля 2024 г. в 14:30 на заседании диссертационного совета 24.2.372.05 на базе ФГБОУ ВО «Российский экономический университет имени Г.В. Плеханова» по адресу: 115054, г. Москва, Стремянный пер., д. 36, корп. 3, ауд. 353.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в Научно-информационном библиотечном центре им. академика Л.И. Абалкина ФГБОУ ВО «Российский экономический университет имени Г.В. Плеханова» по адресу: 115054, г. Москва, ул. Зацепа, д. 43 и на сайте организации: <http://ords.rea.ru/>

Автореферат разослан «__» _____ 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 24.2.372.05
кандидат технических наук, доцент

Жиркова Елена Владимировна

I. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Необходимость решения задач, направленных на оптимизацию структуры питания населения, отражена в Указе Президента Российской Федерации от 07.05.2018 г №204 «О национальных целях и стратегических задачах развития Российской Федерации на период до 2024 года», Национальных проектах «Здравоохранение» и «Демография». Развитие лечебного и профилактического питания является значимым социальным фактором и составляет важную часть государственной политики, направленной на обеспечение, сбережение и укрепление здоровья населения нашей страны. Для решения поставленной задачи Федеральным исследовательским центром питания, биотехнологии и безопасности пищи создан на площадке Российской академии наук консорциум «Здоровьесбережение, питание и демография», в который входят более 30 ведущих институтов пищевой промышленности, сельского хозяйства, крупные отечественные производители продуктов и биодобавок с целью создания новых видов специализированных продуктов, предназначенных для различных групп населения (детей, беременных и кормящих женщин, спортсменов и т. п.), а также диетического профилактического и лечебного питания. По данным ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи, значимый вклад в здоровьесбережение может внести изменение структуры питания населения. Такое изменение может быть достигнуто, в том числе, за счет использования нелекарственных оздоровительных средств, к которым относится значительная часть специализированных пищевых продуктов (СПП). Особенный интерес из них представляют пищевая продукция диетического профилактического питания и пищевая продукция для питания спортсменов (ТР ТС 027/2012), являющиеся основными объектами исследования настоящей работы.

При создании СПП (пищевой матрицы) в соответствии с методическими указаниями «Порядок проведения исследований эффективности специализированной диетической лечебной и диетической профилактической пищевой продукции», разработанных под руководством академика В.А. Тутельяна, должны учитываться данные об эффективности биологически активных ингредиентов, вводимых в состав СПП. Однако несовершенная методология оценки эффективности биологически активных соединений в составе разработанных СПП на групповом и персональном уровне затрудняет достижение оздоровительных целей и сдерживает внедрение новых СПП на продовольственном рынке России. С учетом внедрения в пищевые разработки инструментов современной молекулярной биологии и генетики, наблюдаются определенные перспективы применения достижений в этой области для создания продукции, эффективность которой подтверждена с позиций доказательной медицины как на модельном, так и на организменном уровне.

В настоящее время особое внимание в развитии современной нутрициологии уделяется использованию инновационных междисциплинарных направлений, в т.ч. фудомике, которая изучает продовольственное сырье, функциональные ингредиенты(ФИ) и продукты питания с применением новых омиксных технологий, таких как нутригеномика, транскриптомика, протеомика, метаболомика и др. Нутригеномика позволяет проводить изучение влияния биоактивных соединений на организм человека на генетическом уровне. Данный метод наряду с классическими утвержденными методами доклинических и клинических исследований позволяет осуществлять оценку эффективности исследуемых функциональных пищевых ингредиентов и разработанных с их использованием СПП, определять их воздействие на групповом и персональном уровне, способствует более целенаправленному достижению оздоровительных целей. Доказанная персонализированная эффективность СПП позволит повысить мотивацию потребителей и стимулировать спрос на новые СПП, а также инициирует

более эффективное внедрение новых СПП на продовольственном рынке, будет способствовать расширению товарного предложения специализированных продуктов с доказанной эффективностью на российском рынке и инициировать развитие методов продвижения СПП на продовольственном рынке для стимулирования их сбыта.

Степень разработанности темы исследования. Научными и прикладными исследованиями в области современных подходов к проектированию и использованию СПП, включая продукты спортивного питания (ПСП), а также разработкой методов оценки их свойств, занимались такие российские и зарубежные ученые, как В.А. Тутельян, И.А. Рогов, А.Б. Лисицын, В.М. Позняковский, Э.С. Токаев, Д. Б. Никитюк, И.М. Чернуха, А.А. Кочеткова, Ю.И. Сидоренко, L. Ferguson, D. S. Kalmann, X. Hin, R. Y. Mangham, P. Bragg, G. Shelton, H. Shinya, N. Walker, M. Emoto и др.

Цель и задачи исследования. Целью диссертационной работы является разработка методологии и научного обоснования проектирования и оценки СПП по критериям эффективности с учетом изучения экспрессии генов под воздействием функциональных ингредиентов, развитие методов продвижения СПП на российском рынке.

Для достижения цели исследования были поставлены следующие задачи:

- провести анализ и систематизацию наукоемких технологий для проектирования состава, оценки товароведных свойств, включая эффективность, создания протоколов применения (эффект, доза, продолжительность приема) и продвижения на рынок исследуемых в диссертации товарных групп СПП;

- рассмотреть возможности экспериментального обоснования оценки эффективности ФИ и СПП и их применения на основе достижений нутригеномики;

- изучить с помощью нутригеномики *in vivo* азотсодержащие органические соединения природного происхождения (аминокислоты с разветвленными боковыми цепями ВСАА, сывороточный протеин, кофеин, креатин), а также бета-глюкан в качестве ФИ для обеспечения персонализированного питания;

- на основании результатов анализа экспрессии генов под действием витамина D₃ обосновать *in vivo* протокол применения витамина D₃ как ФИ для обогащения пищевых продуктов;

- подтвердить возможность нутригеномной оценки эффективности ФИ и СПП и уточнения протоколов их использования с учетом генетического полиморфизма для оптимизации рационов персонализированного питания;

- провести транскриптомный анализ (далее, ТА) действия биологически активных добавок (далее, БАД) на основе бета-глюканов из разных сырьевых источников на клеточную культуру макрофагов для обнаружения дифференциальной экспрессии генов, ассоциированных с различными возможными патологиями, с целью корректировки рационов питания;

- предложить алгоритм научно обоснованного отбора ФИ для включения в состав СПП.

- оценить возможность увеличения сроков хранения витамина D₃ при включении его в состав пищевых продуктов с использованием метода наноинкапсулирования в концентрате сывороточного протеина, а также его стабильности при хранении в гидрофильной среде;

- разработать и зарегистрировать программу для ЭВМ, позволяющую проводить автоматизированный подбор пищевого рациона под индивидуальные потребности клиента, учитывающие его пол, возраст, антропометрические данные, цели оздоровления, образ жизни и состояние здоровья;

- предложить научно обоснованные способы продвижения СПП на российский потребительский рынок, в том числе - с использованием искусственного интеллекта.

Как следует из цели и задач, диссертация по содержанию соответствует шифру научной специальности 4.3.3. Пищевые системы и реализует направление исследований: п.17 «Методы контроля показателей качества, безопасности, технологической функциональной и специальной направленности сырья, пищевых и кормовых продуктов, пищевых и биологически активных добавок. Методы подтверждения эффективности. Фудомика».

Научная новизна. Определены новые направления поиска, конструирования и научно-обоснованного использования ФИ и СПП с помощью современного инструментария молекулярной биологии и генетики, включая нутригеномику и транскриптомный анализ.

На примере важнейших биологически активных соединений показана возможность комплексной оценки их эффективности с учетом дозы и продолжительности действия на организм и сохранения последействия. С учетом генетических особенностей потребителей разработаны подходы к проектированию СПП, что позволяет персонализировать ожидаемую эффективность.

Показана применимость транскриптомного анализа на уровне клеточной модели для объяснения механизма действия бета-глюканов, используемых в лечебно-профилактических целях.

Разработан алгоритм получения эффективных ФИ, адаптированный к потребностям производителей СПП, при оптимизации рецептурного состава конечной продукции для обеспечения персонализированного питания.

Предложен способ повышения стабильности витамина D₃ как ФИ при его наноинкапсулировании в концентрате сывороточного протеина с потенциалом использования такого подхода для обогащения напитков.

Зарегистрирована компьютерная программа в качестве РИД, применение которой может способствовать активизации сбыта СПП.

Теоретическая и практическая значимость работы. Систематизированы, обобщены, адаптированы к пищевым системам и детализированы методические возможности применения достижений молекулярной биологии и генетики как инструмента управления процессом создания новых и совершенствования существующих ФИ и СПП.

Доказана возможность алгоритмизации проектирования рецептур СПП для персонализированного питания на основании нутригеномного подтверждения эффективности ФИ и СПП, подтверждена способность наноинкапсулирования ФИ (на примере витамина D₃) повышать их стабильность при хранении в водной среде.

Практическая значимость работы заключается в рационализации производства и сбыта СПП при помощи разработанного алгоритма проектирования. Для снижения неоправданных ожиданий потребителей этой продукции предложена методика достоверной предварительной оценки эффективности ФИ с использованием методов нутригеномики и сформированы рекомендованные протоколы применения.

Результаты диссертационной работы используются при проведении лекционных и практических занятий бакалавров, специалистов и магистров по следующим дисциплинам: Нутрициология и фудомика, Цифровые модели пищевых систем, Пищевой инжиниринг, Пищевые ингредиенты, Таможенная экспертиза специализированной пищевой продукции, Продукты спортивного питания и функционального назначения. Результаты представлены для производителей и используются для оптимизации рецептуры СПП на основе растительного сырья за счет включения в их состав ФИ, отобранных в соответствии с разработанным

алгоритмом (ООО «Академия-Т», ООО «НПКФ «ДекосТ», акт внедрения представлен в приложении А). Разработана и зарегистрирована программа для ЭВМ (Свидетельство Роспатент № 2021619537 от 10.06.2021), позволяющая проводить автоматизированный подбор пищевого рациона под нутриентные индивидуальные потребности клиента, учитывающие его пол, возраст, антропометрические данные, цели оздоровления, образ жизни и состояние здоровья.

Методология и методы исследования. При проведении исследования использовались стандартные, модифицированные и специально разработанные методы.

Положения, выносимые на защиту. На защиту выносятся следующие положения:

- перспективность и результативность использования инструментов молекулярной биологии и генетики для решения задач, связанных с развитием методологии проектирования СПП с подтвержденной эффективностью;

- методология и алгоритмизация экспериментального обоснования разработки и протокола применения ФИ и СПП с учетом особенностей персонализированного питания и целей потребления;

- способ наноинкапсулирования витамина D₃ в концентрате сывороточного протеина для повышения его стабильности при хранении в гидрофильной среде с потенциалом использования в обогащенных витамином напитках;

- элементы поэтапной стратегии продвижения СПП на российский потребительский рынок с перспективой ее цифровизации за счет искусственного интеллекта.

Степень достоверности и апробации результатов. Исследования проводились на протяжении 5 лет (2019-2023 гг.).

Достоверность полученных результатов определялась методами математической обработки с помощью программного обеспечения Statistica 10.0. Основные результаты исследований обсуждены и доложены на Национальной научно-практической конференции «Товароведение, технология и экспертиза: инновационные решения и перспективы развития» (ФГБОУ ВО «МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина», г. Москва, 28 октября 2020 года), XI Евразийском экономическом форуме молодежи (ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет», г. Екатеринбург, 4-6 апреля 2021 года), Международной научно-практической конференции «58-е Евсевьевские чтения» (ФГБОУ ВО «МПУ им. М. Е. Евсевьева, г. Саранск, 25-26 апреля 2022 года), XII Евразийском экономическом форуме молодежи (ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет», г. Екатеринбург, 25-26 апреля 2022 года), IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 45-летию кафедры физико-химической биологии, биоинженерии и биоинформатики Иркутского государственного университета: Развитие физико-химической биологии и биотехнологии на современном этапе (ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», г. Иркутск, 25-27 октября 2023 года), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Совершенствование рационов питания населения, фудомика, обеспечение качества и безопасности пищевой и кулинарной продукции» (ФГБОУ ВО «РОСБИОТЕХ», г. Москва, 12 декабря 2023 г.) и т.д.

Публикации. По результатам диссертационной работы опубликовано 28 научных работ, в том числе 3 публикации в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук,

рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Российской Федерации, 4 публикации в международных рецензируемых журналах (Scopus и Web of Science).

Структура и объем работы. Содержание работы изложено на 154 страницах машинописного текста, работа содержит 15 рисунков, 7 таблиц и 210 источников литературы, в том числе 172 зарубежных источника.

Благодарности. Автор выражает признательность за методическую и инструментальную поддержку д.б.н. С.В. Котелевцеву (лаборатория физико-химии биомембран биологического факультета МГУ) и д.б.н. А.Н. Орехову (генеральному директору НКО «НИИ Атеросклероза», Инновационный центр «Сколково»).

II. ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении изложена актуальность избранной темы, сформулированы цель и задачи исследования, показана научная новизна и значимость полученных результатов, представлены положения, выносимые на защиту и сведения об апробации результатов работы.

В первой главе диссертации проведен обзор литературы по теме исследования, проанализированы состояние и тенденции развития мирового продовольственного рынка, обозначена роль СПП на современном отечественном рынке, рассмотрены новые подходы к изучению СПП оздоровительного действия и пищевых ФИ.

Вторая глава описывает «Объекты, материалы и методы исследований».

Схема проведения экспериментальных инструментальных исследований представлена на рисунке 1.

Исследование потребительских свойств и стандартных нормативных показателей изучаемых объектов проводили в научно-исследовательских лабораториях кафедры «Товарной экспертизы и таможенного дела» РЭУ имени Г.В. Плеханова. Молекулярно-генетические исследования, связанные с экспериментальным обоснованием эффективности и способов применения ФИ и СПП, осуществляли в лаборатории физико-химии биомембран биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова и в НКО НИИ Атеросклероза (резиденте инновационного центра «Сколково»), с консультационным и методическим участием д.б.н. Котелевцева С.В. и д.б.н. Орехова А.Н.

Для выполнения диссертационного исследования были использованы образцы ФИ и СПП, приобретенные у компаний-производителей или оптовых поставщиков (таблица 1).

Все объекты исследования соответствовали по органолептическим и физико-химическим показателям требованиям нормативной или технической документации, а по показателям безопасности – требованиям ТР ТС 021/2011, ТР ТС 029/2012, ТР ТС 034/2013.

В работе применяли специальные молекулярно-генетические методы исследований: экстракцию геномной ДНК (микроядерный тест буккального эпителия), амплификацию фрагментов ДНК и анализ экспрессии генов *in vivo*, транскриптомный анализ на клеточных моделях и другие.

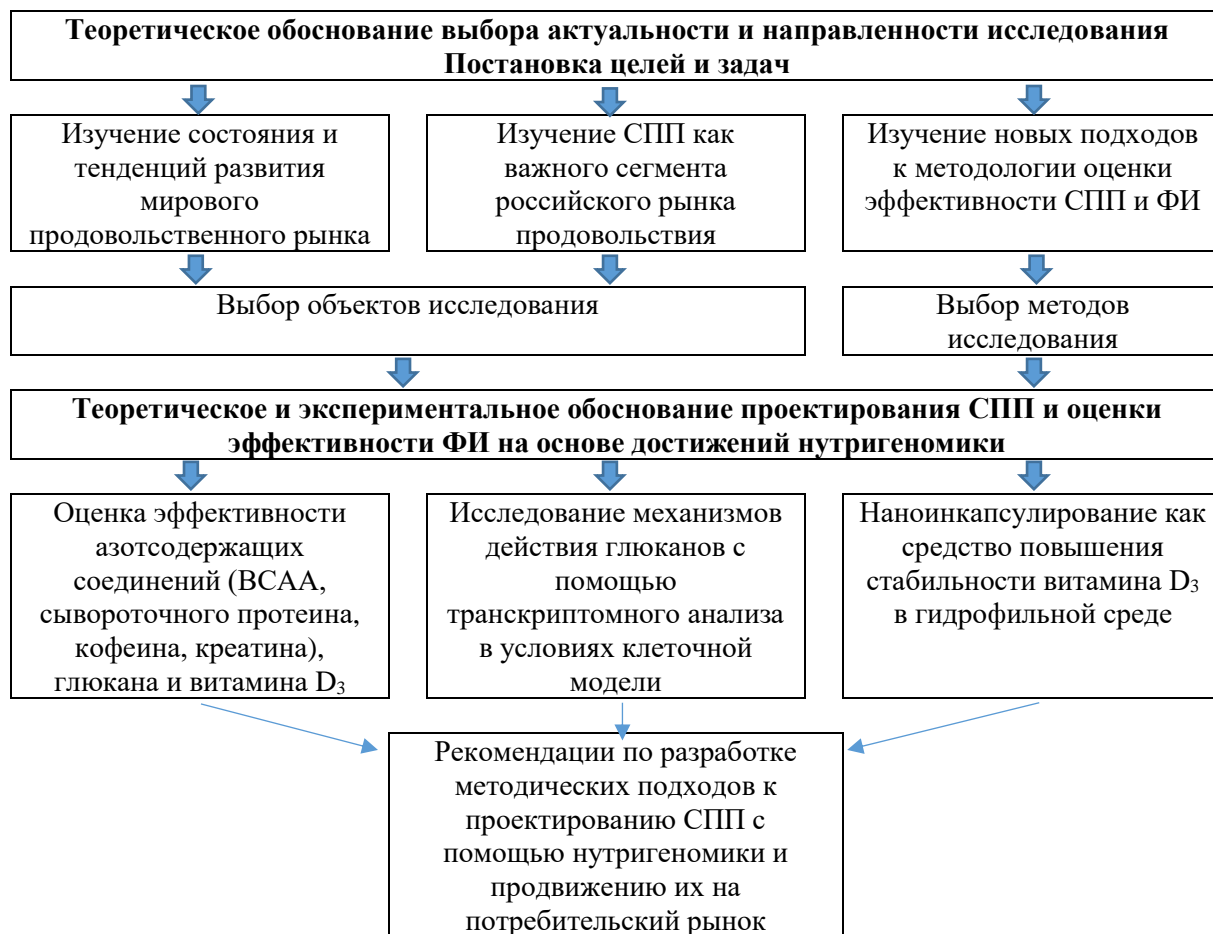


Рисунок 1 – Схема проведения экспериментальных исследований
Источник: составлено автором

Таблица 1 – Объекты исследований

№	Группа	Объект
1	Азотсодержащие органические соединения природного происхождения	1. Концентрат сывороточного белка (КСБ), торговая марка Whey FitPROTEIN, производитель Академия-Т, Россия или КСБ, полученный на ультрафильтрационной установке кафедры пищевой инженерии УрГЭУ; 2. ВСАА, торговая марка SPORTAMIN® ВСАА, производитель Академия-Т, Россия; 3. Кофеин, торговая марка «Vitabiotics», Великобритания; 4. Креатин-моногидрат (монопрепарат в форме порошка), торговая марка «Fit Creatine Креатин», производитель Академия-Т, Россия.
2	Витамин D ₃	Витамин D ₃ (25-гидроксикальциферол), торговая марка DSM Nutritional Products Ltd, Швейцария или витамин D ₃ торговая марка EXCELLENCE S.A., Польша
3	Полисахаридные функциональные ингредиенты: бета-глюканы из разных сырьевых источников	1. БАД «Beta 1,3 Glucans» (таблетки, источник - хлебопекарные дрожжи), производитель SOLGAR INC, США; 2. БАД «Бета Глюкан 120» (капсулы, источник - грибы вешенки), производитель Натурес С.р.о., Словацкая Республика; 3. БАД «OatWell ® 22» (порошок, источник - овес), производитель SWEDISH OAT FIBER AB, Швеция.

Источник: составлено автором

Гены-мишени для каждого из ФИ или СПП идентифицировались на основании анализа литературных данных по нутригенетике и генетических баз данных с учетом роли этих ФИ в метаболизме и участии в обеспечении ожидаемых эффектов. Для проведения экспериментов по измерению экспрессии генов осуществлялось наблюдение за 30 мужчинами-добровольцами в возрасте 20-25 лет, занимающимися спортом на любительском уровне, регулярно посещающими тренажерный зал и не страдающими неинфекционными хроническими заболеваниями. Для целей эксперимента они разбивались на 3 группы (2 дозы СПП и контроль) и принимали препараты по заданной исследователем схеме. Биологическим материалом для исследования служили соскобы клеток эпителия слизистой оболочки полости рта.

Влияние потребления ФИ/СПП на экспрессию генов-мишеней изучали с помощью общепринятых процедур, а именно сочетанием микроанализа ДНК и метода ПЦР в реальном времени. Детекцию флюоресценции, а также первичную обработку результатов осуществляли программным обеспечением CFX Manager 3.1 прибора CFX96, BIO-RAD (США) в автоматическом режиме.

Полигенные эффекты и исследования механизмов действия глюканов осуществлялись с помощью транскриптомного анализа (ТА) на клеточной модели. Для проведения анализа использовались клетки культуры моноцитарного происхождения ТНР, приобретенной из коллекции культур Института цитологии РАН, Санкт-Петербург. Моноциты ТНР-1 выращивали в среде RPMI 1640 с 10% FBS и дифференцировали в макрофагоподобные клетки. К макрофагам добавляли глюканы в концентрации 100 мкг/мл. В качестве контроля использовали клетки, которые продолжали культивировать в среде без добавления глюканов. Методы Limma и RankProd использовали для идентификации дифференциально экспрессируемых генов. Метод Limma позволял выявить гены со статистически значимой экспрессией, метод RankProd - выявить гены с повышенной и пониженной экспрессией.

Для определения биологической значимости наблюдаемых изменений проводили аннотацию дифференциально экспрессируемых транскриптов по категориям базы данных Gene Ontology (GO), связанных с различными биологическими процессами.

В ходе исследований определялась стабильность витамина D₃, инкапсулированного в наночастицы сывороточного белка в условиях жидкой среды. Витамин D₃ был наноинкапсулирован с помощью концентрата сывороточного белка в условиях присутствия Ca⁺⁺ в различной концентрации и вариабельности pH. Все приготовленные образцы хранили в закрытых флаконах, содержащих 5 мл раствора и 5 мл воздуха в течение 0, 1, 2, 5 и 10 дней при комнатной температуре. Количественное определение витамина D₃ в образцах, подвергшихся хранению, осуществляли с использованием метода ВЭЖХ.

Оценку пищевой неофобии по отношению к продукту-новинке, обогащенного бета-глюканами, проводили путем опроса по международному методу оценки неофобии FTNS. В общей сложности 37 студентов, обучающихся в РЭУ им. Г. В. Плеханова, были задействованы для участия в эксперименте. Возрастной диапазон составлял 20-23 года с эквивалентным представлением мужского и женского пола. Опрос лиц, получивших медико-генетические услуги, проводился с использованием стандартных социологических методов, в том числе 5-балльной шкалы Лайкерта.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью прикладных программ Statistica 10.0, программного пакета SPSS и программы GraphPad Prism 8.

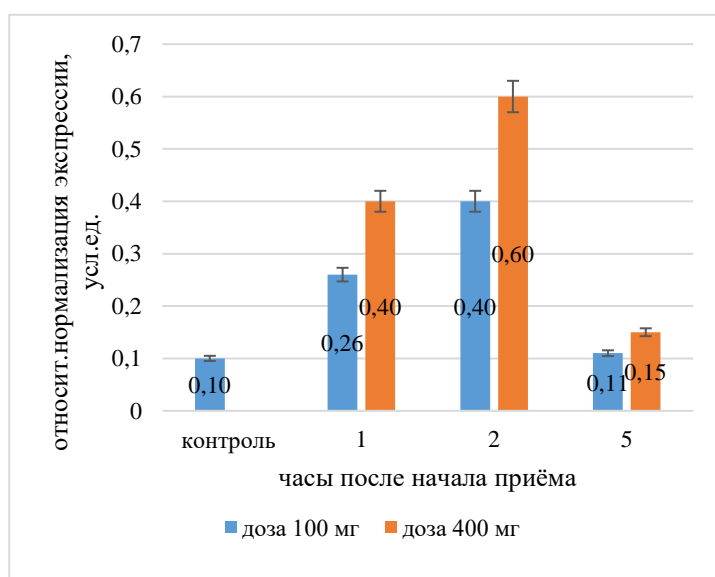
Результаты исследования и их обсуждение

Экспериментальное обоснование эффективности и способов применения функциональных ингредиентов для проектирования специализированных пищевых продуктов на основе достижений нутригеномики

Оценка эффективности кофеина в спортивном питании

Кофеин относится к ФИ, наиболее тщательно изученным с точки зрения влияния на физическую активность человека, тем не менее, полученные данные характеризуются разнородностью в отношении эффективности, дозировок и продолжительности действия (включая вариабельность влияния на спортивные результаты), в том числе с учетом индивидуальных особенностей потребителей.

В многофакторных экспериментах было проведено определение влияния кофеина на экспрессию гена CYP1A2 у испытуемых. Как следует из полученных усредненных данных



(рис. 2), обнаружено статистически достоверное ($p < 0,05$) увеличение активности гена, которая различается в зависимости от дозы кофеина (100 и 400 мг, однократно). В частности, общим для обеих доз является возрастание эффекта к 1 часу после приема, эффект держится в течение двух часов, затем наблюдается спад к 5 часам после приема почти до исходного уровня.

Полученные результаты индивидуальной вариабельности реакции испытуемых на кофеин характеризуются неоднородностью, что следует из рассчитанных величин среднего квадратического отклонения ($S = \pm 0,15$ усл. ед. и выше). Весьма

Рисунок 2 – Изменение среднегруппового уровня экспрессии гена CYP1A2 в зависимости от дозы и продолжительности приема кофеина

Источник: составлено автором

вероятно, что это объясняется полиморфизмом гена CYP1A2, влияющим на особенности метаболизма и прочие функции кофеина. Следовательно, в зависимости от генотипов потребителей устанавливается скорость метаболизма кофеина. Так, можно выделить как генотип «быстрый метаболизатор», так и два других генотипа («средний и медленный метаболизаторы»). На основе предварительной оценки можно констатировать, что организмы большинства испытуемых являются «средними метаболизаторами», что необходимо принять во внимание при использовании кофеина в качестве ФИ (генодиагностика целесообразна).

Оценка эффективности креатина в спортивном питании

Креатин (Кр) в форме Кр-моногидрата широко используется как индивидуально (монопрепарат), так и в составе продуктов спортивного питания (ПСП) в качестве ФИ. Общеизвестно, что потребление Кр способствует более быстрой регенерации АТФ как после физических нагрузок, так и между ними. Тем не менее, биохимические и молекулярно-биологические механизмы действия Кр на организм человека изучены недостаточно, что приводит, в частности, к необходимости уточнения протоколов его эффективного применения

и проектирования новых ПСП, содержащих Кр с помощью современных инструментов, одним из которых является нутригеномика. Для достижения цели на основании литературных данных был обоснован выбор гена-мишени SLC6A8, ассоциированного с основными физиологическими эффектами Кр. Влияние Кр на экспрессию гена SLC6A8 изучалось с позиций доза-эффект (две дозы, 3 и 6 г) в двух разновидностях экспериментов (кратковременные и длительные). Первоначально контролировалась почасовая динамика

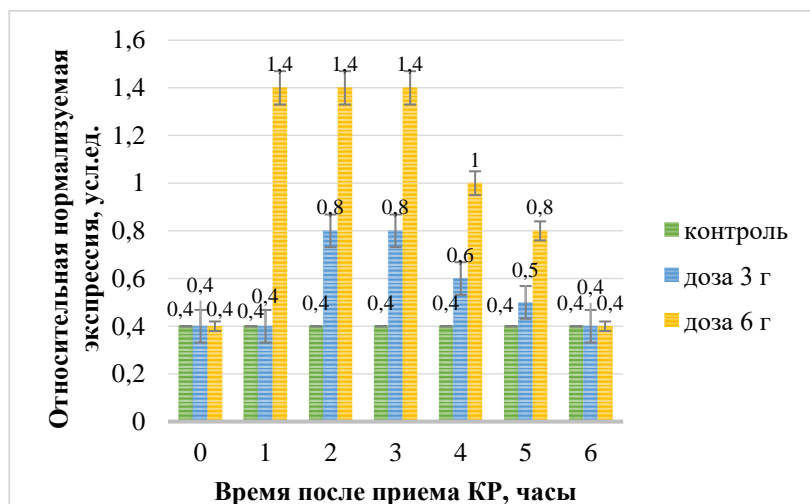


Рисунок 3 - Изменение среднего группового уровня экспрессии гена-мишени после однократного приема Кр
Источник: составлено автором

уровня экспрессии гена, начиная с момента приема Кр (первое взятие биоматериала - через 1 час после окончания тренировки), затем ежечасно и заканчивая моментом взятия биоматериала для анализа через 6 часов после приема. В таком эксперименте экспрессия (среднегрупповой уровень, доза 6 г) статистически достоверно нарастает (рис. 3) с $0,40 \pm 0,12$ у.е. до $1,40 \pm 0,23$ у.е.; ($p < 0,001$) в течение часа, затем держится на этом уровне в течение двух часов и начинает

постепенно снижаться к исходному уровню, достигая его примерно через 6 часов после попадания Кр в организм. При использовании дозы 3 г и аналогичных условиях эксперимента динамика экспрессии гена-мишени сохраняется, однако уровень экспрессии выражен гораздо слабее и ненамного превышает активность гена в контрольной группе, не получающей Кр. Таким образом, промежуток времени в 6 часов после попадания Кр в организм человека оказывается достаточным для прекращения действия Кр (прямого или опосредованного) на ген-мишень.

В другой серии опытов интерес представляло влияние на активность гена многократного

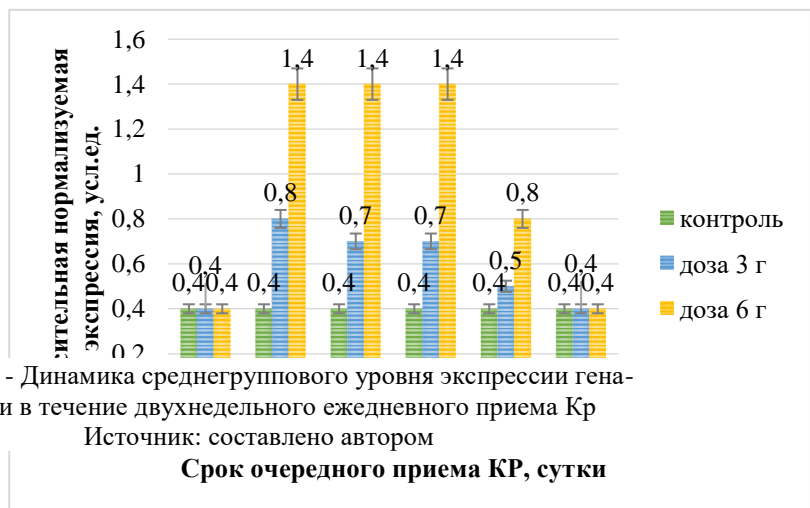


Рисунок 4 - Динамика среднего группового уровня экспрессии гена-мишени в течение двухнедельного ежедневного приема Кр
Источник: составлено автором

действия Кр в течение достаточно длительного промежутка времени. Прием Кр членами обеих групп (3 и 6 г) происходил ежедневно одноразово в течение 14 суток, а измерение экспрессии, с учетом результатов первой серии опытов, осуществляли (также после тренировки) через 2 часа после попадания Кр в организм испытуемых. Полученные результаты представлены на рис. 4.

Эффект («всплеск» активности после однократного приема) Кр (6 г) сохраняется в течение 9 суток, затем начинает снижаться почти до исходного уровня к концу эксперимента (14-е сутки), то есть ген-мишень прекращает реагировать на очередную порцию Кр. Как и в первой серии опытов, динамика действия меньшей дозы Кр (3 г) обнаружила сходную картину

с гораздо меньшей выраженностью действия БАД на ген-мишень. Важной особенностью проведенных экспериментов явилось обнаружение индивидуальной реакции некоторых участников на Кр (реагирующие/нерагирующие). В каждой из двух групп, отличающихся дозой потребляемого Кр, выявлено по 3 испытуемых, экспрессия гена SLC6A которых практически не изменялась под действием Кр.

Полученные результаты однозначно указывают на измерение экспрессии гена-мишени как источник важной информации для понимания механизма действия и способов наиболее эффективного применения не только Кр, но, весьма вероятно, и сходных ПСП. В целом, обнаруженные эффекты (доза, кратковременное и длительное действие) позволяют занять обоснованную позицию в формировании протокола применения Кр (восстановление работоспособности после тренировки).

Имеется определенная неоднородность данных по экспрессии гена SLC6A8 у членов одной и той же группы при одинаковых воздействиях экзогенного Кр. Вероятно, в дальнейшем с помощью ДНК-микрочиповой технологии или транскриптомного анализа удастся уточнить специфические молекулярные мишени для Кр и углубить понимание процессов нутриент-геномного взаимодействия. Однако на сегодняшний день представляется, что генодиагностика и генотипирование для индивидуализации потребления Кр в качестве «эргогенного помощника» практически здоровыми людьми вряд ли целесообразны.

Аминокислоты с разветвлёнными боковыми цепями (BCAA) и сывороточный протеин в спортивном питании

Оба продукта имеют в основном сходное назначение (оптимизация веса тела и его тканевой структуры), которое, как полагают, ассоциировано с активностью гена FTO. Тем не менее, как уровень доказательности ожидаемых и желаемых эффектов, так и влияние разных доз, продолжительности приема и возможной вариабельности действия этих ПСП на организм человека изучено недостаточно. В опытах были использованы два популярных объекта спортивного питания российского производства: концентрат сывороточного белка Whey FitPROTEIN и носитель разветвленных аминокислот SPORTAMIN® BCAA 6000. Были использованы ежесуточные дозы ПСП, рекомендованные производителем. Полученные нами данные представлены в таблице 2. Очевидно, что, несмотря на определенное сходство состава двух ПСП, их влияние на усредненный уровень экспрессии гена FTO является существенно различным (использованы ежесуточные дозы ПСП, рекомендованные производителем).

Таблица 2 - Изменение среднегруппового уровня экспрессии гена FTO (нормализация в условных единицах) в ответ на потребление SPORTAMIN® BCAA 6000 и Whey FitPROTEIN

Исследуемый СПП	Время после приема СПП, час						
	0	1	6	24	25	48	72
SPORTAMIN® BCAA 6000	0.20±0.02 контроль	0.66 ±0.05	0.20 ±0.05	0.20 ±0.05	0.59 ±0.05	0.20 ±0.05	0.20 ±0.05
Whey FitPROTEIN	0.39±0.05 контроль	0.51 ±0.09	1.55 ±0.11	0.80 ±0.09	0.71 ±0.09	0.82 ±0.09	0.75 ±0.09

Источник: составлено автором

Потребление BCAA приводит к нарастанию экспрессии гена FTO через час после приема (0,66±0,05), и этот уровень снижается до нормального (контрольного) уже через 6 часов. В дальнейшем в течение всего эксперимента наблюдается аналогичная зависимость – относительно быстрый всплеск экспрессии и такое же быстрое ее возвращение к обычному значению. Таким образом, обнаруженные эффекты являются кратковременными. Реакция гена FTO на попадание в организм Whey FitPROTEIN носит иной характер, а именно –

экспрессия достигает максимума позже, через 6 часов, причем возрастание это является более значительным, чем у ВСАА, к концу первых суток несколько снижается, но в последующий период времени повышенный уровень активности гена сохранялся на протяжении всего периода эксперимента.

В то же время следует указать, что индивидуальные данные испытуемых по экспрессии гена выявляют следующий феномен – для большей части группы, потребляющей ВСАА, характерной является указанная выше зависимость, тогда как в составе группы, потребляющей Whey FitPROTEIN, выделяются две подгруппы, демонстрирующие высокую и более низкую активность гена-мишени по сравнению со среднегрупповыми значениями. Как представляется, индивидуальные различия в экспрессии генов у испытуемых объясняются наличием в гене FTO как минимум двух разных полиморфных вариантов. Это означает, что необходим персональный подход к потреблению сывороточного протеина, основанный на предварительном определении генотипа потребителя (генетическом тестировании). Реакция гена FTO у всех потребителей ВСАА оказалась примерно одинаковой, поэтому можно ожидать, что использование ВСАА не требует персонального подхода к потреблению этого СПП, а генетическое тестирование не является желательным.

Недавно появились указания на ассоциацию ВСАА с геном SLC25A44. Более того, эффекты многих нутриентов могут реализовываться через функционирование группы взаимодействующих генов. Не вызывает сомнения, что перспективным инструментом для решения проблемы идентификации таких генов являются появившиеся в последние годы более совершенные технологии, достоинства которых будут рассмотрены ниже.

Витамин D₃ как функциональный ингредиент и СПП

В отличие от традиционных ПСП, значение витамина D₃ как нутриента более многообразно как индивидуального препарата, так и ФИ в составе СПП. Уже не первое десятилетие изучается роль активной формы этого витамина, кальцитриола, в механизмах иммунного ответа и аутоиммунных реакций, остеопороза, адаптации к физической нагрузке, а в самое последнее время он приобрел особую значимость в поиске мер по снижению потерь от пандемии COVID-19. Принято считать, что регулируют метаболизм витамина несколько полиморфных генов: ESR1, COL1A1, IL6, LCT, LRP5, VDR, из которых наиболее важную роль играет последний. К сожалению, в литературе практически отсутствуют данные нутригеномики, которые могли бы объяснить защитное действие ряда нутриентов их влиянием на экспрессию гена VDR (или других остеогенов).

Нами изучалось влияние витамина D₃ на экспрессию гена VDR с позиций доза-эффект (две дозы) и длительности приема витамина (2, 10 и 20 суток). Обнаружено статистически достоверное увеличение активности гена (рис. 5), динамика которого во времени различается в зависимости от потребляемой дозы. Так, для дозы 2000 МЕ наблюдается медленное и плавное повышение экспрессии к 20 дню потребления ФИ (уровень экспрессии гена возростал с $0,10 \pm 0,02$ усл. ед. до $0,40 \pm 0,05$), тогда как для дозы 4000 МЕ происходит резкое нарастание экспрессии к 10 дню потребления (до $0,55 \pm 0,05$ усл. ед.), которое затем уже практически не изменяется.

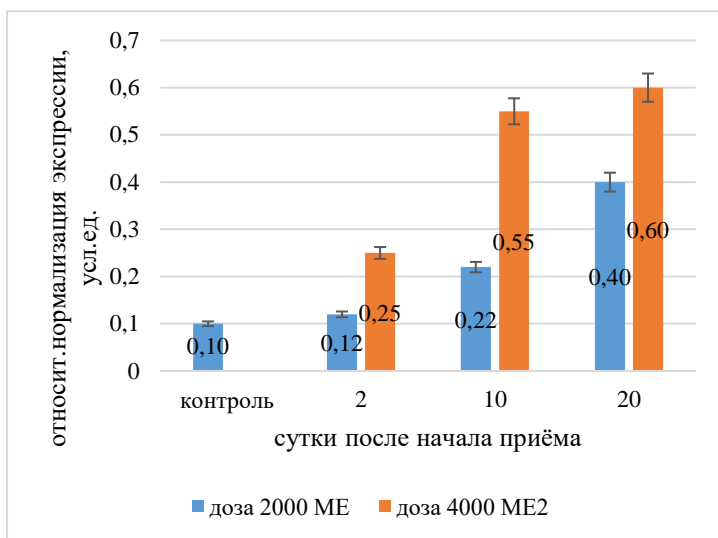


Рисунок 5 - Изменение среднегруппового уровня экспрессии гена VDR в зависимости от дозы и продолжительности приема витамина D₃
 Источник: составлено автором

Индивидуальные данные испытуемых по экспрессии выявляют следующий феномен – для большей части группы характерной является указанная выше зависимость, тогда как у двух участников эксперимента потребление витамина D₃ не обнаружило влияния на уровень экспрессии. Как представляется, индивидуальные различия в экспрессии гена VDR объясняются наличием разных его полиморфных вариантов. Известно, что на функционирование систем организма, связанных с витамином D₃, влияет состояние клеточного рецептора (белка) к витамину D₃, которое зависит от форм гена VDR (аллельного

полиморфизма), из которых с состоянием иммунной системы в наибольшей степени связаны аллели BsmI и FokI. С учетом сказанного, рекомендуем разрабатывать персональный подход к потреблению витамина D₃, основанный на предварительном определении генотипа потребителя (генетическом тестировании). Для большинства лиц, потребляющих этот ФИ в указанных дозах (в том числе в составе СПП), будут достигаться эффекты, благоприятные для состояния здоровья.

Изучение бета-глюканов как функциональных ингредиентов для СПП с помощью нутригеномики *in vivo* и транскриптомного анализа *in vitro*

В литературе имеются указания на оздоровительное действие бета-глюканов (Гл) разного сырьевого происхождения, полученные на многих объектах исследования. Как ФИ, Гл благоприятно воздействуют на иммунную систему и помогают повысить сопротивляемость к инфекциям, а также физическую и восстановительную активность организма. Однако широкому применению Гл препятствует целый ряд факторов, связанных, главным образом, с недостаточной изученностью механизмов их действия на человека, что приводит к невозможности оптимизировать такие параметры, как товарная форма продукта, доза, длительность воздействия на потребителя, определяющие величину конечного эффекта.

На сегодняшний день считается, что уровень доказательности эффектов Гл невысок. На начальном этапе работы с Гл нами исследовано влияние разных доз (250 и 500 мг/сутки) и продолжительности действия одного из них (бета-1,3/1,6-D-глюкана из грибов вешенки) на экспрессию связанного с иммунитетом гена CADM1, который был идентифицирован как мишень для Гл на основании литературного анализа. Обнаружено статистически достоверное увеличение активности гена, динамика которого во времени незначительно различается в зависимости от потребляемой дозы Гл (рис. 6). В частности, при коротком сроке потребления Гл доза 500 мг/сут дает более быстрое и значимое возрастание экспрессии, а после 10 суток приема препарата рост активности гена замедляется и обе кривые выходят на плато к 20 суткам приема Гл, причем величина экспрессии остается повышенной у дозы 500 мг/сут по сравнению с 200 мг/сут. В отличие от аналогичных результатов по витамину D₃ и кофеину, индивидуальная реакция потребителей Гл оказалась примерно одинаковой, что может указывать на отсутствие полиморфизма у гена CADM1. Таким образом, можно ожидать, что

использование Гл в качестве ФИ не требует персонального подхода к его потреблению, генетическое тестирование не является обязательным, а положительный эффект (усиление иммунитета) будет наблюдаться у большинства лиц, принимающих Гл в течение 10 суток и более.

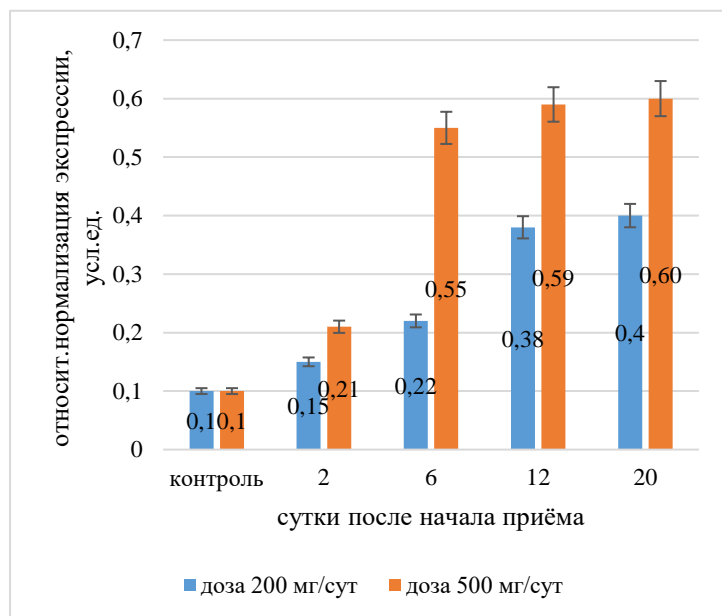


Рисунок 6 - Изменение среднегруппового уровня экспрессии гена CADM1 в зависимости от дозы и продолжительности приема бета-глюкана
Источник: составлено автором

Однако механизм действия Гл на организм вполне может быть полигеномным, когда выявление функционально связанных, координированно экспрессируемых генов, контролирующих выполнение определенных функций организма, позволяет существенно уточнить протокол применения Гл. В настоящее время это стало возможным осуществить с помощью полногеномного транскриптомного анализа (ТА). Эта технология дает возможность количественно определять уровни экспрессии генов и аллель-специфическую экспрессию в одном эксперименте, а также идентифицировать ключевые гены,

ассоциированные с конкретной патологией или действием внешнего стимула (например, изучаемого соединения). Параллельный сравнительный анализ экспрессии генов дает возможность проследить все закономерности изменений и определить меж- и внутриклеточные сигнальные пути.

При выполнении данного этапа диссертации решались следующие задачи:

- с использованием клеточной модели определить дифференциально экспрессируемые под действием Гл гены;
- описать возможные биологические эффекты, реализуемые метаболитами (белками, ферментами, гормонами и т.п.), которые кодируются выявленными генами;
- уточнить связь активности нескольких коммерчески доступных Гл по отношению к ключевым генам с сырьевыми источниками их получения;
- сформулировать вытекающие из результатов проведенных экспериментов рекомендации по практическому применению Гл в оздоровительных целях с точки зрения выбора товарной формы Гл и ожидаемых эффектов.

Таким образом, ТА стал неотъемлемой частью нашего исследования механизмов действия Гл на макрофаги (МКФ) клеточной модели. Использовались Гл дрожжевого (Гл 1), грибного (Гл 2) и зернового (овес, Гл 3) происхождения. Все концентрации активного начала препаратов Гл были одинаковы и составляли в растворе ДМСО 100 мкг/мл. Также одинаковым для всех Гл было и время воздействия на МКФ – инкубация в клеточной модели в течение 24 часов. ТА позволил обнаружить изменение транскриптомного профиля МКФ, затрагивающего более 100 генов, под влиянием каждого из трех использованных Гл, однако структура этих изменений была существенно различной. Дифференциально экспрессируемые гены со значениями уровней изменения экспрессии от 4,0 и выше представлены в результатах эксперимента (табл. 3).

Таблица 3 - Дифференциально экспрессируемые гены макрофагов, активность которых существенно возрастает (+) или снижается (-) под действием трех разных Гл

Символ гена	Кодируемый геном белок (фермент)	Функциональное (биологическое) значение гена	Уровень изменения экспрессии гена под действием глюкозана		
			Гл 1	Гл 2	Гл 3
IFN- γ	Интерферон II типа	Цитокин врождённого и приобретённого иммунитета	+ 7,6	+ 6,1	-
IL-2	Интерлейкин 2	Белок иммунной системы, регулирующий деятельность лейкоцитов и лимфоцитов	+6,4	+ 5,0	-
IL-10	Интерлейкин 10	Противовоспалительный цитокин	+ 5,1	+ 4,2	+ 9,7
IL15	Интерлейкин 15	Цитокин провоспалительного действия	-	-	- 6,9
TIGIT	Белок, регулирующий функции Т-клеток	Иммуномодулирующее действие	+ 9,6	+ 6,7	-
IL7	Интерлейкин 7	Цитокин, стимулирующий пролиферацию В- и Т-лимфоцитов	-	-	5,9
F2RL1	Рецептор 2, активируемый протеазой PAR2	PAR2 модулирует воспалительные реакции	-	-	+10,6
S100A8	Кальций-связывающий белок	Участие в атерогенезе	-	-	- 8,8
CADM1	молекула клеточной адгезии 1	Влияние на процессы апоптоза и адгезии клеток	+ 6,5	+ 4,4	-
TNF-a	Фактор некроза опухоли	Цитокин, выполняющий регуляторные и эффекторные функции в воспалении	+ 8,6	+ 6,7	+ 5,5
LDLR	Белок рецептора липопротеидов низкой плотности	Поглощение клеткой липопротеидов низкой плотности	-	-	- 7,8
INSIG1	Инсулин-индуцированный белок гена 1	Регуляция биосинтеза холестерина в клетке	-	-	+ 6,9
SCARB1	Рецептор-поглотитель класса В типа 1	Рецептор для липопротеидов высокой плотности и их оттока	-	-	+ 9,3
STARD3	StAR-родственный переносчик липидов-содержащий 3	Регуляция внутриклеточного распределения холестерина	-	-	+ 8,1
ABCA1	АТФ-связывающий кассетный транспортер	Обратный транспорт холестерина	-	-	+ 6,9
MIF	Фактор ингибирования миграции макрофагов	Лимфокин, участвующий в иммунорегуляции и воспалении	+ 10,1	+ 7,3	+ 6,5

Примечание: уровни изменения экспрессии генов рассчитывались по методу Limma/Voom, контролем служили клетки, не подвергнутые действию Гл; знак (-) означает, что уровень изменения экспрессии данного гена менее 4,0.

Источник: составлено автором

Как следует из полученных данных, ожидаемые эффекты Гл весьма различны в зависимости от их сырьевого происхождения. Общее количество генов, активность которых существенно возросла или снижалась под действием трех разных Гл, составило 16. В то же время ТА позволил выявить определенные закономерности в обнаруженных феноменах.

Главным из них является сходство эффектов Гл 1 и Гл 2 (из дрожжей и грибов соответственно) в отличие от эффектов Гл 3 (из овса). В первом случае биологическая значимость действия Гл определяется изменением активности генов, регулирующих иммунитет (IFN- γ , IL-2, TIGIT, CADM1), во втором – генов, регулирующих воспаление и обмен холестерина (IL15, IL7, F2RL1, S100A, 8LDLR, INSIG1, SCARB1, STARD3, ABCA1). Следует отметить еще две особенности. Величина изменения экспрессии одних и тех же генов

была несколько выше под влиянием Гл 1, чем Гл 2. Наконец, профиль экспрессии трех генов (IL-10, TNF-а и MIF) изменился сходным образом под действием всех изученных Гл.

Как и следовало ожидать, ТА позволил обнаружить существенные различия в действии Гл на транскриптом МКФ в условиях клеточной модели. Исходя из такого показателя, как уровень изменения экспрессии генов, наиболее активным оказался Гл 1 (дрожжевой). Но более показательным является сходство эффектов Гл 1 и Гл 2 (грибной) в отличие от эффектов Гл 3 (овсяный). Биологическая значимость наблюдаемых явлений указывает на направленность действия Гл 1 и Гл 2 на иммунитет (врожденный и адаптивный), тогда как Гл 3 регулирует в основном процессы воспаления и обмена холестерина.

Несмотря на сходство физиологических эффектов Гл с действием других растворимых пищевых волокон, их распространенность, доступность и технологические характеристики делают Гл привлекательным объектом для инкорпорирования в пищевые продукты. К сожалению, реализация такого подхода сталкивается с существенными барьерами, главными из которых являются сенсорная приемлемость получаемой композиции и изменение (снижение) оздоровительной функциональности, в том числе – при хранении. В этой связи, мы считаем, наиболее привлекательной товарной формой носителей Гл являются БАД, протокол применения которых сходен с использованием лекарственных средств. При этом, как известно, значительная часть СПП (или ПСП) также предлагается потребителям в форме БАД. Итак, нами показано, что использование клеточной модели с МКФ в сочетании с ТА позволяет определить дифференциально экспрессируемые под действием Гл гены. Из биологических эффектов, с которыми ассоциированы выявленные гены, следует, что Гл из дрожжей и грибов являются иммуномодуляторами, тогда как Гл из овса регулирует в основном процессы воспаления и обмена холестерина.

Проведенные эксперименты дают возможность оптимизировать рекомендации по практическому применению Гл в оздоровительных целях с точки зрения выбора товарной формы Гл, дозы, продолжительности потребления и ожидаемых эффектов.

Как итог обобщения представленных результатов нутригеномных исследований, предлагается следующий алгоритм отбора ФИ для включения в состав СПП (рис. 7).

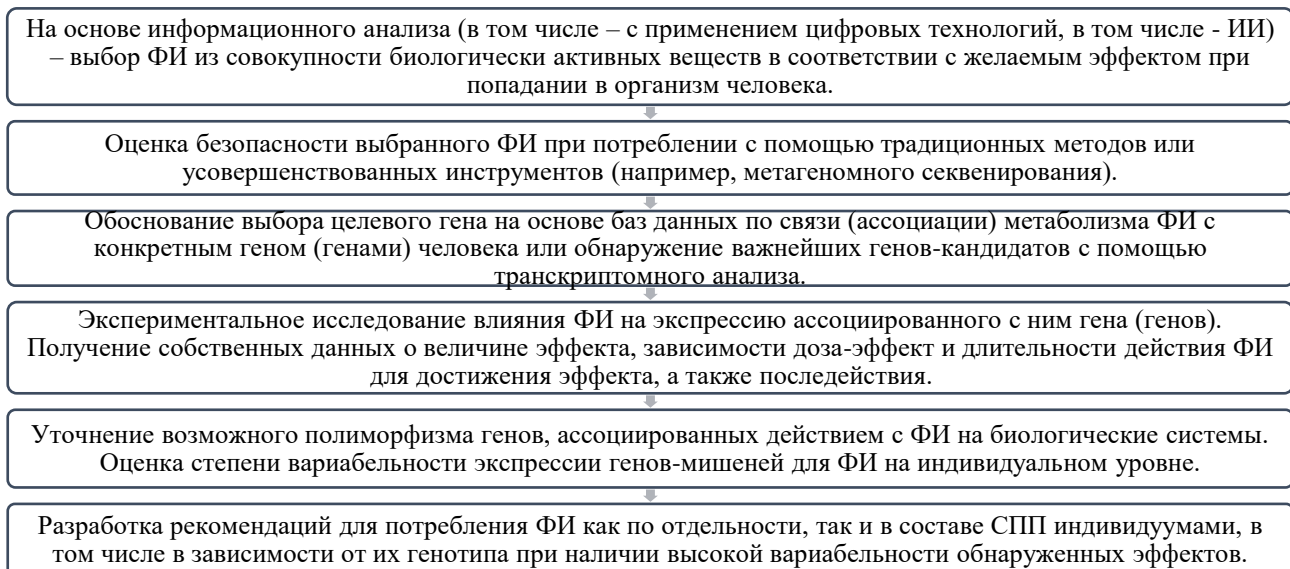


Рисунок 7 - Алгоритм отбора функциональных ингредиентов для включения в состав специализированных пищевых продуктов

Источник: составлено автором

Стабилизация функциональных ингредиентов в составе пищевых продуктов при хранении, методы стабилизации и удлинения сроков годности на примере витамина D₃

Необходимость потребления витамина D₃ человеком в необходимых количествах очевидна, в том числе с учетом современной эпидемиологической ситуации, вызванной Ковид-19. Источником D₃, помимо фармпрепаратов и продукции природного происхождения, могут являться обогащенные этим витамином пищевые продукты (ПП). Однако стабильность D₃, введенного в состав ПП, является недостаточно высокой вследствие воздействия разрушающих его факторов внешней и внутренней среды. В этой связи большой интерес представляет потенциал нанотехнологий, позволяющий проводить инкапсулирование биологически активных веществ для их защиты от света, кислорода, повышенной температуры с помощью безопасных пищевых ингредиентов. Такой подход обеспечивает стабильность биоактивного материала, а сам метод имеет преимущества по сравнению с прямым добавлением, эмульгированием и микроинкапсулированием. Тем не менее, выходу нанотехнологии витаминного обогащения на промышленный уровень препятствует слабое понимание механизмов защиты содержимого капсул в зависимости от способов их изготовления. Существенными преимуществами нанотехнологий по сравнению с другими способами инкапсулирования является меньший размер образующихся частиц при большей площади их поверхности, однако поведение D₃ в соответствующих гидрофильных системах изучено недостаточно.

К настоящему времени в качестве «носителей» ФИ-обогащителей использовались с разной степенью результативности крахмалы, липиды, камеди, хитозаны, желатин, мальтодекстрин и ряд белков. По нашему мнению, перспективным материалом оболочки нанокapsулы является такой относительно дешевый продукт, как концентрат сывороточного белка (КСБ). В этой связи была проведена серия экспериментов по изучению стабильности D₃, включенного в нанокapsулы КСБ, при варьировании режимов подготовки соответствующих гидрофильных жидких систем перед последующим хранением.

В наших опытах защитное действие наночастиц КСБ по отношению к D₃ сравнивали с деградацией витамина в трех разновидностях контроля (вода-спирт, присутствие в системе нативного белка (НБ) и денатурированного белка (ДБ)). В водно-этаноловой смеси в отсутствие КСБ быстро разлагается и снижается до 4% от исходного значения (100%) через 10 дней хранения при комнатной температуре. Небольшие защитные эффекты обнаружены для НБ и ДБ (остаточное количество витамина составило 8 и 7% соответственно). Таким образом, пассивное присутствие в гидрофильной системе белков не способствует снижению скорости разрушения липофильного D₃.

В другой серии экспериментов D₃ при хранении находился в составе наночастиц КСБ, приготовленных с использованием разных концентраций Ca⁺⁺. Результаты измерения остаточной концентрации D₃ показали, что все полученные наночастицы (НЧА, НЧВ, НЧС) обеспечили существенную защиту витамина от воздействия кислорода (рис. 8), включая НЧА, не содержащие Ca⁺⁺. Такие эффекты были вполне ожидаемы, поскольку известно, что белок бета-лактоглобулин (входящий в состав КСБ) может инкапсулировать D₃ путем гидрофобного взаимодействия, что приводит к ингибированию окислительной деградации D₃. Предполагается, что бета-лактоглобулин способен защищать витамин D₃ от внешних воздействий, таких, как ультрафиолетовый свет или кислород. Аналогичный эффект характерен для комплекса бета-лактоглобулин-пектин, но по отношению к витамину D₂.

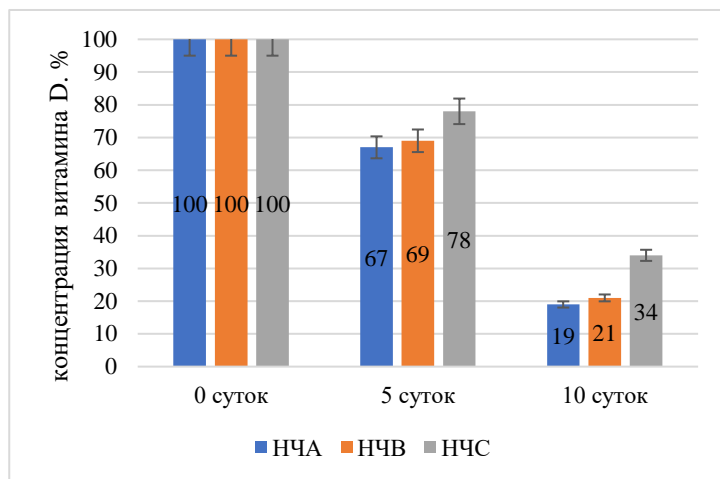


Рисунок 8 - Изменение концентрации витамина D₃ при хранении наночастиц, содержащих разное количество Ca⁺⁺
Источник: составлено автором

Самое высокое значение обеспечения стабильности D₃ показали наночастицы НЧС, предположительно, за счет большего содержания кальция в составе оболочки (5 мМ). В этом случае значение сохранности D₃ составило 34%, в двух других частицах (НЧА, НЧВ) значение сохраняемости было 19% и 21% соответственно.

Предполагается, что присутствие ионов кальция в составе оболочки может способствовать созданию ионных связей между белковыми молекулами и образовывать

компактную структуру с низкой пористостью, замедляющей диффузию кислорода в частицы и скорость деградации D₃.

Многие авторы исследований процессов обогащения напитков витамином D₃ указывают на недостаточность сведений о кинетике его деструкции, что затрудняет прогнозирование стабильности D₃ во времени. В проведенных экспериментах измерение концентрации D₃ в процессе хранения образцов (0,1,2,5,10 суток) показало, что скорость деградации витамина в течение времени становилась ниже. Например, содержание витамина в наночастице НЧС через 1 день упало до 92% от первоначального значения, через 2, 5 и 10 дней остаточное количество D₃ составило от исходного 86%, 78% и 34 % соответственно.

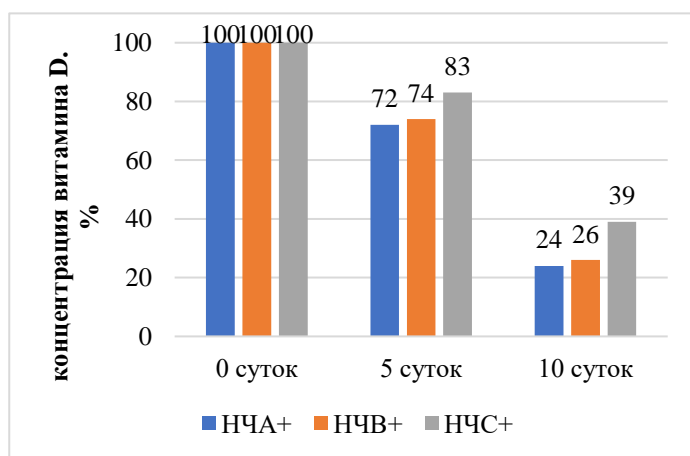


Рисунок 9 - влияние дополнительной инкубации КСБ с D₃ в кислой среде (рН 5,5) на изменение концентрации витамина D₃ при хранении наночастиц
Источник: составлено автором

Определенный интерес для совершенствования технологии изготовления наночастиц представляют данные по влиянию более длительного выдерживания (20 часов) КСБ с D₃ в кислой среде (рН 5,5) до УЗ-обработки, что, предположительно, может влиять как на агрегацию белков, так и на их взаимодействие с D₃. Как следует из рис. 9, такая инкубация является дополнительным фактором повышенной устойчивости инкапсулированного D₃ при хранении. Об эффективности защитных свойств используемых наночастиц судили

по изменению концентрации витамина D₃ при хранении наночастиц.

Для определения кинетических закономерностей снижения концентрации D₃ в наночастицах при хранении нами был использован метод линейной регрессии и построены соответствующие уравнения (рис. 10). Коэффициент корреляции составил более 0,87 для всех наночастиц (НЧА, НЧВ, НЧС), что соответствует кинетике реакции второго порядка. Полученные уравнения позволяют рассчитывать прогнозные значения остаточных количеств неразрушенного D₃ при любых сроках хранения.

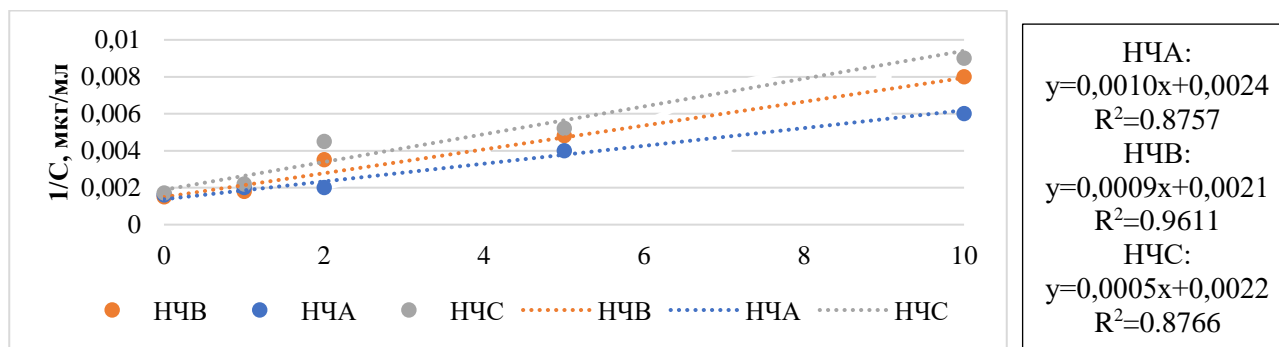


Рисунок 10 - Кинетические закономерности снижения концентрации D₃ в наночастицах при хранении (линейная регрессия)

Источник: составлено автором

Следует указать и на то, что успешные попытки использовать изолят сывороточного белка в качестве защитной оболочки и носителя D₃ были известны и ранее, тогда как применение с этой же целью гораздо более дешевого и доступного КСБ подтверждено нами впервые.

Таким образом, экспериментально продемонстрировано, что в условиях жидкой модельной системы nanoинкапсулирование D₃ в КСБ позволяет существенно снизить скорость деградации данного витамина при хранении в условиях комнатной температуры. Это указывает на потенциальную возможность более эффективного обогащения как прозрачных, так и непрозрачных напитков (включая, например, фруктовые соки и т.п.) не только липофильными витаминами, но и другими гидрофобными биологически активными веществами.

Разработка методов и способов продвижения специализированных пищевых продуктов на российский потребительский рынок

Четвертая глава диссертации посвящена анализу проблемы рынка СПП и возможным путям ее решения. Благодаря проведению опроса с помощью специальной шкалы, было установлено, что почти 40% молодежи являются т.н. «неофобами», занижающими сенсорную оценку СПП (на примере продукта, обогащенного глюкозами), которые являются для них новыми объектами оценки и, следовательно, будут отказываться от приобретения такой продукции. К сожалению, и явных «новаторов» не так много, всего около 24%.

В этой связи встает вопрос об определении целевого сегмента потребителей СПП и возможности его расширения. Еще один опрос позволил установить, что таким сегментом могут быть приверженцы персональной генодиагностики, которые, в ответ на информацию о предрасположенности к НИХЗ, готовы, по рекомендации врачей или других лидеров мнений, улучшить структуру своего питания, в том числе – за счет включения в него СПП.

Еще одним направлением расширения целевого сегмента являются пользователи мобильных приложений, в том числе предназначенных для оценки и оптимизации питания. При обнаружении недостаточного количества, например, микронутриентов, из базы данных приложения можно получить рекомендацию по их доступным источникам. С учетом развития данного направления была разработана и зарегистрирована как РИД компьютерная программа «Менеджер персональных рационов», функционирующей в комплексе с базой данных по БЖУ, витаминам, микро- и макроэлементам и включающих эффективные СПП.

Нами проведен анализ зарубежного опыта по учету факторов, на основе которых возможна разработка маркетинговых стратегий, используемых для повышения шансов на рыночный успех СПП. Очевидно, что таких факторов достаточно много и действуют часто они одновременно, являются продукт-специфичными и описанными в литературе с подчас противоречивых позиций.

С учетом достижений последних лет в области цифровых технологий прогнозирование рынка эффективных СПП возможно с помощью искусственного интеллекта (ИИ). Это целесообразно рассматривать как второй этап (первый – обязательная оценка эффективности и отработка протокола применения) создания новых и, возможно, модификации известных СПП.

В диссертации рассмотрены различные варианты инструментария и подходов ИИ для решения поставленных задач. Цель ИИ в маркетинге СПП – создать алгоритм, позволяющий предсказать индивидуальную реакцию потребителя (или однородного потребительского кластера) на оздоровительный продукт. В нашем случае особенностью такого подхода к проблеме является охват большого числа факторов, многие из которых пока находятся вне поля зрения науки о питании. В частности, ИИ как исследовательский инструмент должен дать ответ на вопрос, как гены, психология, микробиом, окружающая среда, образ жизни, состояние здоровья влияют на желание человека покупать и потреблять СПП. Разработка таких алгоритмов ИИ в содружестве с программистами и прикладными математиками представляет будущее направление развития диссертационного исследования.

III. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- проведены анализ и систематизация современных наукоемких технологий, включая молекулярную биологию и генетику, для проектирования состава, оценки товароведных свойств с акцентом на эффективность, создания протоколов применения и продвижения на рынок исследуемых в диссертации товарных групп СПП;

- с помощью нутригеномики изучены *in vivo* эффекты азотсодержащих органических соединений природного происхождения (аминокислот с разветвлёнными боковыми цепями ВСАА, сывороточного протеина, кофеина, креатина), а также бета-глюкана в качестве ФИ для СПП;

- экспериментально *in vivo* обосновано применение (эффект, доза, продолжительность приема) витамина D3 как ФИ для проектирования СПП с целью использования их в персонализированном питании;

- подтверждена возможность нутригеномной оценки эффективности ФИ и СПП и уточнения протоколов их использования с учетом генетического полиморфизма для персонализации питания;

- проведен транскриптомный анализ действия бета-глюканов из разных сырьевых источников как полисахаридных БАД на клеточную культуру макрофагов для обнаружения дифференциальной экспрессии генов, ассоциированных с различными возможными патологиями, что позволило уточнить молекулярно-генетические механизмы действия изученных объектов.

- на основании изучения действия ФИ (азотсодержащие соединения: ВСАА, сывороточный протеин, кофеин, креатин, а также глюкан и витамин D3) с помощью методов нутригеномики был разработан алгоритм научно обоснованного отбора ФИ для включения в состав СПП;

- оценена возможность наноинкапсулирования витамина D3 в средстве доставки (концентрате сывороточного протеина) как способа повышения его стабильности при хранении в гидрофильной среде. Это указывает на потенциальную возможность более эффективного обогащения как прозрачных, так и непрозрачных напитков;

- разработана и зарегистрирована программа для ЭВМ (Свидетельство Роспатента № 2021619537, 10.06.2021), позволяющая проводить автоматизированный подбор пищевого

рациона под индивидуальные потребности клиента, учитывающие его пол, возраст, антропометрические данные, цели оздоровления, образ жизни и состояние здоровья;

- проанализированы предпосылки и предложены способы продвижения СПП на российский потребительский рынок, в том числе - с использованием искусственного интеллекта.

IV. ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ ДИССЕРТАЦИИ ИЗЛОЖЕНЫ В СЛЕДУЮЩИХ ПУБЛИКАЦИЯХ

Рецензируемые издания:

1. Карагодин, В. П. Нутригеномика креатина как инструмент обоснования протокола его использования в качестве продукта спортивного питания / В. П. Карагодин, А. С. Уткина. - Текст : непосредственный // Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов. – 2021. – № 3(68). – С. 39-45. – ISSN 2219-8466. – 0,44 печ. л. – 0,22 авт. печ. л.

2. Витамин D: фокус на группах риска и нетрадиционных источниках / А. С. Уткина, А. И. Козлов, И. А. Никитин, В. П. Карагодин. - Текст : непосредственный // Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов. – 2021. – № 6(71). – С. 57-70. – ISSN 2219-8466. – 0,94 печ. л. – 0,24 авт. печ. л.

3. Уткина, А. С. Коммерчески доступные глюкоаны разного сырьевого происхождения - оптимизация использования с позиций нутригеномики / А. С. Уткина, В. П. Карагодин. – Текст : непосредственный // Индустрия питания. – 2023. – Т. 8, № 2. – С. 6-12. – ISSN 2500-1922. – DOI 10.29141/2500-1922-2023-8-2-1.– 0,88 печ. л. – 0,44 авт. печ. л.

Библиографическая и реферативная база данных Scopus:

1. Utkina, A. S. Nutrigenomics as a tool for optimizing the composition of specialized food products by the efficiency criterion / A. S. Utkina, V. P. Karagodin // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, Krasnoyarsk, 18–20 ноября 2020 года / Krasnoyarsk Science and Technology City Hall. Vol. Volume 677. – Krasnoyarsk, Russian Federation: IOP Publishing Ltd, 2021. – P. 42050. – DOI 10.1088/1755-1315/677/4/042050. – EDN EOПDR. – 0,25 печ. л. – 0,17 авт. печ. л.

2. Genotoxicants in marine and freshwater fish of the Barents Sea Basin / A. S. Utkina, V. P. Karagodin, A. M. Agapkin, S. V. Kotelevtsev // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, Krasnoyarsk, 18–20 ноября 2020 года / Krasnoyarsk Science and Technology City Hall. Vol. Volume 677. – Krasnoyarsk, Russian Federation: IOP Publishing Ltd, 2021. – P. 52110. – DOI 10.1088/1755-1315/677/5/052110. – EDN XUQEBR. – 0,3 печ. л. – 0,1 авт. печ. л.

3. Agricultural waste processing technology and its relationship with the organic products industry / A. Agapkin, I. Makhotina, V. Karagodin [et al.] // Bulgarian Journal of Agricultural Science. – 2023. – Vol. 29, No. 1. – P. 24-32. – ISSN: 1310-0351. – 0,5 печ. л. – 0,1 авт. печ. л.

Другие издания:

1. Opportunities of Digital Technologies as a Tool for Improving and Personalizing Specialized Nutrition / A. S. Utkina, V. P. Karagodin. – Text : electronic // SHS Web of Conferences – EDP Sciences, 2021. – Т. 93. – С. 04013. : [сайт] – URL: https://www.shs-conferences.org/articles/shsconf/abs/2021/04/shsconf_nid2020_04013/shsconf_nid2020_04013.html. – Дата публикации: 12 янв. 2021. – 0,3 печ. л. – 0,15 авт. печ. л.

2. Уткина, А. С. Искусственный интеллект как фактор развития рынка продуктов здорового питания / А. С. Уткина, А. С. Съедугина, В. П. Карагодин. - Текст : непосредственный // Флагман науки. – 2023. – № 9(9). – С. 491-492. – ISSN: 2949-1991. – 0,25 печ. л. – 0,08 авт. печ. л.

3. Возможность снижения кардиологических рисков за счет пищевых факторов / В. П. Карагодин, А. С. Уткина. – Текст : непосредственный // Персонализированное питание:

проектирование продуктов и рационов: учебное пособие. Под ред. И.М. Чернухи, В. Н. Ивановой, Ю.И. Сидоренко. – М.: ТД ДеЛи, 2020. – С. 64-77. - ISBN 978-5-6043843-3-6. – 0,875 печ. л. – 0,4 авт. печ. л.

4. Уткина, А. С. Клеточный тест в исследовании механизмов атерогенеза / А. С. Уткина, В. П. Карагодин. [Электронный ресурс] // Актуальные исследования в области биологии и смежных наук : Материалы Всероссийской научной конференции, Саранск, 26–27 октября 2017 года / Редколлегия: Н.В. Жукова, О.Г. Гришуткин. – Саранск: Мордовский государственный педагогический институт имени М.Е. Евсевьева, 2018. – С. 172-176. – ISBN 978-5-8156-0924-2. – 1 электрон. опт. диск (CD-R). – 0,25 печ. л. – 0,17 авт. печ. л.

5. Уткина, А. С. Идентификация рисков опасности специализированной пищевой продукции / А. С. Уткина. Текст : непосредственный // Продовольственная безопасность: научное, кадровое и информационное обеспечение: сборник научных статей и докладов VI Международной научно-практической конференции (г. Воронеж, 13-14 ноября 2019 г.) / ФГБОУ ВО «ВГУИТ»: ООО «РИТМ», 2019. – С. 355-357. – 0,13 печ. л. – 0,13 авт. печ. л.

6. Уткина, А. С. Биомоделирование и биотестирование как инструменты риск-ориентированного подхода к оценке безопасности, качества и оздоровительной эффективности пищевых объектов / А. С. Уткина. -Текст : непосредственный // Россия - Азия - Африка - Латинская Америка: экономика взаимного доверия : Материалы X Евразийского экономического форума молодежи. В 3-х томах, Екатеринбург, 16–19 апреля 2019 года / Ответственные за выпуск Я.П. Силин, Р.В. Краснов, Е.Б. Дворяджина. Том 3. – Екатеринбург: Уральский государственный экономический университет, 2019. – С. 207-208. – EDN KJDWMQ. – 0,1 печ. л. – 0,1 авт. печ. л.

7. Уткина, А. С. Определение факторов, влияющих на потребление продуктов здорового питания молодым населением России / А. С. Уткина. -Текст : непосредственный // XXXII Международные Плехановские чтения : Сборник статей аспирантов и молодых ученых, Москва, 15–19 апреля 2019 года. – Москва: Российский экономический университет имени Г.В. Плеханова, 2019. – С. 435-438. – ISBN 978-5-7307-1485-4. – 0,18 печ. л. – 0,18 авт. печ. л.

8. Уткина, А. С. Оптимизация ингредиентного состава специализированной пищевой продукции - новые подходы / А. С. Уткина, В. П. Карагодин. -Текст : непосредственный // Товароведение, технология и экспертиза: инновационные решения и перспективы развития : Материалы национальной научно-практической конференции, Москва, 28 октября 2020 года. – Москва: ЗооВетКнига, 2020. – С. 152-158. – ISBN 978-5-6045400-4-6.- 0,44. – 0,44 печ. л. – 0,2 авт. печ. л.

9. Уткина, А. С. Оценка эффективности полисахарида глюкана как возможного ингредиента специализированных пищевых продуктов с помощью нутригеномики / А. С. Уткина. - Текст : непосредственный // Церевитиновские чтения - 2020 : Материалы VII Международной научно-практической конференции, Москва, 09 октября 2020 года. – Москва: Российский экономический университет имени Г.В. Плеханова, 2020. – С. 97-99. – ISBN 978-5-7307-1729-9. - 0,18 печ. л. – 0,18 авт. печ. л.

10. Уткина, А. С. Оптимизация состава специализированной пищевой продукции как путь к повышению ее эффективности / А. С. Уткина // Шаг в науку – 2020 : Сборник статей победителей конкурса грантов научно-исследовательских работ студентов, аспирантов и молодых ученых, Москва, 19–20 ноября 2020 года. – Москва: Российский экономический университет имени Г.В. Плеханова, 2020. – С. 99-104. – ISBN 978-5-7307-1709-1. - 0,25 печ. л. – 0,25 авт. печ. л.

11. Райкова, Е. Ю. Техническое регулирование как инструмент повышения конкурентоспособности и инвестиционной привлекательности ЕАЭС / Е. Ю. Райкова, Е. Л. Пехташева, А. С. Уткина. -Текст : непосредственный // Актуальные проблемы экспертизы, технического регулирования и подтверждения соответствия продукции текстильной и легкой промышленности : Сборник трудов по итогам работы Круглого стола с международным участием, Москва, 28 октября 2020 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Российский

государственный университет имени А.Н. Косыгина (Технологии. Дизайн. Искусство)", 2021. – С. 86-89. – ISBN: 978-5-00181-018-6. - 0,25 печ. л. – 0,1 авт. печ. л.

12. Уткина, А. С. Креатин как продукт спортивного питания и энергетический био корректор - инновационная технология для обоснования эффективного применения / А. С. Уткина. Текст : непосредственный // Россия и регионы мира: воплощение идей и экономика возможностей : Материалы XI Евразийского экономического форума молодежи. В 3-х томах, Екатеринбург, 20–22 апреля 2021 года. Том 3. – Екатеринбург: Уральский государственный экономический университет, 2021. – С. 250-252. – EDN ECVESQ. – 0,13 печ. л. – 0,13 авт. печ. л.

13. Карагодин, В. П. Кадры для пищевой промышленности - ориентация на Индустрию 4.0 / В. П. Карагодин, А. С. Уткина. - Текст : непосредственный // Инновационные технологии в пищевой промышленности и общественном питании : Материалы VIII Международной научно-практической конференции, Екатеринбург, 20 апреля 2021 года. – Екатеринбург: Уральский государственный экономический университет, 2021. – С. 63-66. – EDN DAFKK. – 0,18 печ. л. – 0,1 авт. печ. л.

14. Карагодин, В. П. Стабильность витамина Д3, инкапсулированного в наночастицы сывороточного белка, в условиях жидкой среды / В. П. Карагодин, А. С. Уткина // Актуальные проблемы естественно-технологического образования : сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции, Саранск, 25–26 апреля 2022 года. – Саранск: Мордовский государственный педагогический университет имени М.Е. Евсевьева, 2022. – С. 4. – 1 электрон. опт. диск. – ISBN 978-5-8156-1539-7. – Текст : электронный. – 0,3 печ. л. – 0,2 авт. печ. л.

15. Уткина, А. С. Стабильность витамина Д3, инкапсулированного в наночастицы сывороточного белка, в условиях жидкой среды / А. С. Уткина. - Текст : непосредственный // Россия и мир в новых реалиях: изменение мирохозяйственных связей : материалы XII Евразийского экономического форума молодежи, Екатеринбург, 26–29 апреля 2022 года / Уральский государственный экономический университет. Том 3. – Екатеринбург: Уральский государственный экономический университет, 2022. – С. 69-72. – EDN JARETB. – 0,25 печ. л. – 0,25 авт. печ. л.

16. Уткина, А. С. Стабильность витамина д, инкапсулированного в наночастицы сывороточного протеина / А. С. Уткина - Текст : непосредственный // Церевитиновские чтения - 2022 : материалы VIII Международной научно-практической конференции, Москва, 01 апреля 2022 года. – Москва: Российский экономический университет имени Г.В. Плеханова, 2022. – С. 146-149. – ISBN: 978-5-7307-1905-7. – 0,18 печ. л. – 0,18 авт. печ. л.

17. Уткина, А. С. Квалиметрия, сертификация и цифровые двойники - борьба или единство альтернатив? / А. С. Уткина, В. П. Карагодин. - Текст : непосредственный // Инновационные технологии в пищевой промышленности и общественном питании : материалы IX Международной научно-практической конференции, Екатеринбург, 26 апреля 2022 года / Уральский государственный экономический университет. – Екатеринбург: Уральский государственный экономический университет, 2022. – С. 142-144. – EDN QZRDM. – 0,19 печ. л. – 0,1 авт. печ. л.

18. Карагодин, В. П. Цифровая сертификация изделий как альтернатива лабораторных работ при дистанционном обучении студентов / В. П. Карагодин, А. С. Уткина. - Текст : непосредственный // Педагогика и современное образование : Материалы Всероссийской научно-практической конференции аспирантов, соискателей, докторантов, научных руководителей, молодых ученых, специализирующихся в области образования, Санкт-Петербург, 08 июня 2022 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская академия постдипломного педагогического образования, 2022. – С. 61-65. – ISBN 978-5-7434-0874-0. – 0,5 печ. л. – 0,25 авт. печ. л.

19. Уткина, А. С. Оптимизация использования глюконов различного сырьевого происхождения с позиций нутригеномики / А. С. Уткина, В. П. Карагодин // Актуальные проблемы естественно-технологического образования : Сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции, Саранск, 20–21 апреля 2023

года / Редколлегия: М. В. Антонова, М. В. Лабутина, Е. Н. Потапкин, Н. Г. Семенова. – Саранск: Мордовский государственный педагогический университет имени М.Е. Евсевьева, 2023. – С. 4 – 1 электрон. опт. диск. – ISBN 978-5-8156-1671-4. – Текст : электронный. – 0,18 печ. л. – 0,1 авт. печ. л.

20. Карагодин, В. П. Многоликий искусственный интеллект в развитии рынка функциональных пищевых ингредиентов и продуктов здорового питания / В. П. Карагодин, А. С. Уткина // Церевитиновские чтения - 2023 : Материалы IX Международной научно-практической конференции, Москва, 20 апреля 2023 года. – Москва: Российский экономический университет имени Г.В. Плеханова, 2023. – С. 10-11. – ISBN 978-5-7307-2072-5. – 0,12 печ. л. – 0,07 авт. печ. л.

21. Уткина, А. С. Нутригеномика и искусственный интеллект в биомедицине – новые инструменты и горизонты / А. С. Уткина, В. П. Карагодин // Развитие физико-химической биологии и биотехнологии на современном этапе : Материалы IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 45-летию кафедры физико-химической биологии, биоинженерии и биоинформатики ИГУ:, Иркутск, 25-27 октября 2023 года. ФГБОУ ВО «ИГУ», 2023. – С. 10-11. – 1 электрон. опт. диск. - ISBN 978-5-9624-2199-5. – 0,12 печ. л. – 0,07 авт. печ. л.

22. Съедугина, А. С. Сойлент как заменитель еды в эпоху глобальных вызовов / А. С. Съедугина, А. С. Уткина. - Текст : непосредственный // Церевитиновские чтения - 2023 : Материалы IX Международной научно-практической конференции, Москва, 20 апреля 2023 года. – Москва: Российский экономический университет имени Г.В. Плеханова, 2023. – С. 250-252. – ISBN 978-5-7307-2072-5. – 0,12 печ. л. – 0,07 авт. печ. л.

Результаты интеллектуальной деятельности

1. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021619537 Российская Федерация. Менеджер персональных рационов : № 2021618575 : заявл. 02.06.2021 : опубл. 10.06.2021 / В. П. Карагодин, А. С. Уткина ; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Российский экономический университет имени Г.В. Плеханова". – 1 с. – Текст : непосредственный – EDN YHDDGW.