

Бычкова Татьяна Сергеевна

**ПРИНЦИПЫ ФОРМИРОВАНИЯ АНТИОКСИДАНТНОГО
ПОТЕНЦИАЛА ФЕРМЕНТИРОВАННОЙ МОЛОЧНОЙ ПРОДУКЦИИ
ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ РАДИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА**

4.3.5 – Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ

4.3.3 – Пищевые системы

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора технических наук

Москва, 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» (ФГАНУ «ВНИМИ»)

Научные консультанты:

доктор биологических наук
Донская Галина Андреевна
 доктор технических наук
Пряничникова Наталия Сергеевна

**Официальные
 оппоненты:**

Волкова Галина Сергеевна, доктор технических наук, заведующий отделом биотехнологий ферментов, дрожжей, органических кислот и БАД, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии - филиал ФГУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Решетник Екатерина Ивановна, доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой технологии переработки сельскохозяйственной продукции, ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный аграрный университет»

Антипова Татьяна Алексеевна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник ФГБНУ «Поволжский научно-исследовательский институт производства и переработки мясомолочной продукции»

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный университет», г. Кемерово

Защита состоится «17» декабря 2026 г. в 10 часов 00 минут на заседании совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук 24.1.515.01 при ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» по адресу 115093, г. Москва, ул. Люсиновская, д. 35, к.7, конференц-зал.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности». Полный текст диссертации размещен в сети Интернет на официальном сайте ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» <http://www.vnimi.org>.

Автореферат разослан «__» _____ 2026 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,
 доктор технических наук,
 старший научный сотрудник

О.Б. Федотова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования.

Ухудшение экологической обстановки и постоянная психоэмоциональная нагрузка детерминируют неуклонное снижение резистентности организма к экзогенным воздействиям. В этой парадигме оптимизация питания переходит из элемента гигиенических норм в разряд активно действующих факторов управления здоровьем. Особый интерес представляют минорные компоненты пищи (нутрицевтики), способные выступать в роли физиологических модуляторов адаптационных процессов. Несмотря на их несомненный потенциал, существующие пищевые системы не в полной мере реализуют данный ресурс. Таким образом, разработка и внедрение функциональных продуктов с целенаправленно модифицированным составом является актуальной задачей. В условиях негативного воздействия комплекса экологических и стрессовых факторов наблюдается интенсификация свободнорадикального окисления, являющаяся одним из ведущих факторов развития иммунологических нарушений. Несмотря на физиологическую необходимость реакций с участием активных форм кислорода для поддержания прооксидантно-антиоксидантного равновесия, их избыточная генерация приводит к истощению эндогенных антиоксидантных систем и супрессии иммунитета. Кумуляция окислительных повреждений, в свою очередь, рассматривается в качестве одного из ключевых триггеров ускоренного старения и возникновения возраст-ассоциированных дегенеративных патологий. Таким образом, модуляция редокс-статуса организма через алиментарную доставку минорных биоантиоксидантов выступает научно обоснованным вектором превентивной коррекции. Перспективным направлением контроля окислительного стресса является обогащение рациона продуктами с высоким антиоксидантным потенциалом. В то же время отдельные категории пищевой продукции, в частности кисломолочные продукты, обладают эндогенной антиоксидантной активностью, детерминируемой, в том числе, видовым составом применяемых заквасочных культур. Соответственно, концептуальной основой работы является получение специализированной молочной продукции с заданными антиоксидантными характеристиками путем целенаправленной модуляции биологической активности заквасочных культур, базирующейся на гипотезе наличия корреляционных взаимосвязей между штаммовыми особенностями микроорганизмов и антиоксидантными свойствами конечного продукта. Ее решение представляет собой актуальную научную задачу, имеющую значительный практический потенциал.

Таким образом, развитие биотехнологических подходов к получению продуктов с выраженными функциональными свойствами за счет направленного формирования пищевых систем является актуальным направлением, имеет потенциал к долгосрочному тренду в части трансфера классических технологий и предполагает фундаментальные и прикладные исследования с интеграцией цифровых методов оптимизации.

Степень разработанности темы исследований.

Вопросами разработки функциональных продуктов на молочной основе с прогнозируемым влиянием на живой организм, в том числе ферментированных, занимались многие ученые, среди которых можно выделить Бабиц О.О., Волкову Г.С., Гаврилову Н.Б., Ганину В.И., Донскую Г.А., Дунченко Н.И., Евдокимова И.А., Зобкову З.С., Липатова Н.Н., Остроумова Л.А., Петрова А.Н., Просекова А.Ю., Радаеву И.А., Решетник Е.И., Рогова И.А., Сафонову В.Ю., Сысоеву М.А., Свириденко Г.М., Тихонова С.Л., Семенихину В.Ф., Харитонову В.Д., Чернуху И.М., Bengoa A. A., Bulat T. и других.

Система знаний, созданная на базе их исследований, стала основой для развития технологических баз специализированной продукции.

Цель и задачи диссертационного исследования.

Целью работы являлось обоснование принципов формирования антиоксидантного потенциала ферментированной молочной продукции за счет биотехнологического и биогенного ресурса пищевого сырья как биологически активной системы и разработка технологий продуктов, повышающих радиорезистентность организма.

Для достижения поставленной цели решались следующие **задачи**:

- на основе анализа научно-технической литературы и обобщения представлений о механизмах окислительного стресса, радиационного воздействия и биотехнологических подходах к созданию молочных продуктов функциональной направленности предложить концепцию формирования антиоксидантного потенциала ферментированной молочной продукции для повышения радиорезистентности организма;
- оценить уровень видовой и штаммоспецифичности показателей биологической активности молочнокислых микроорганизмов и обосновать вариабельность консорциумов заквасочных культур для исследования;
- выявить комплекс технологических и микробиологических факторов (состав среды, температура, pH, продолжительность ферментации), оказывающих наиболее существенное влияние на формирование антиоксидантного потенциала кисломолочных систем;
- установить количественные и качественные корреляционные взаимосвязи между спектром метаболитов, продуцируемых заквасочными культурами в процессе ферментации, и целевыми индикаторами антиоксидантной активности;
- на основании оценки биогенного ресурса кисломолочных систем разработать прогностическую математическую модель, позволяющую с заданной точностью предсказывать итоговый антиоксидантный потенциал кисломолочной системы в зависимости от исходного состава заквасочного консорциума, свойств системы и параметров технологического режима;
- экспериментально обосновать композиционный состав комплексной противолучевой добавки (сочетание подобранных штаммов-пробионтов, пребиотических компонентов и специфических протекторов), а также разработать технологические рекомендации по её внесению в молочную основу

на различных этапах производства с сохранением целевых свойств готовой продукции;

- оценить в эксперименте *in vivo* эффективность разработанных модельных кисломолочных систем с противолучевой добавкой в условиях острого и/или хронического ионизирующего облучения по интегральным показателям выживаемости, гематологического профиля и состояния прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза;

- разработать частные технологии и документацию по стандартизации (ТУ, ТИ, СТО) на линейку специализированных кисломолочных продуктов «БиоРад» с подтвержденными радиопротекторными свойствами, а также подготовить практические рекомендации по их адресному применению в группах риска (профессиональный контингент, население зон радиационного контроля).

Научная новизна.

Доказано влияние видовой принадлежности молочнокислых микроорганизмов на формирование антиоксидантного потенциала кисломолочных систем.

Разработана модель прогнозирования антиоксидантного потенциала в зависимости от метаболитного профиля ферментированной молочной продукции.

Впервые предложен композиционный состав противолучевой добавки для обогащения ферментированной молочной продукции направленного действия.

В условиях *in vivo* доказан положительный эффект кисломолочных систем с противолучевой добавкой в восстановлении защитных систем организма в условиях ионизирующего излучения.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Проведенные исследования представляют концептуальный подход к направленному формированию антиоксидантного потенциала ферментированных молочных продуктов, основанный на управлении метаболитной активностью заквасочных культур и адресной коррекции состава биологически активных веществ противолучевой добавки, что позволило сформулировать критерии достижения заданного уровня антиоксидантной активности и повышения радиорезистентности организма в условиях ионизирующего излучения.

Разработаны рекомендации по введению противолучевой добавки в рецептуру кисломолочного продукта. Разработанная противолучевая добавка имеет потенциал практического применения в технологии широкого ассортимента молочной продукции, предназначенной для восстановления защитных систем организма в условиях ионизирующего излучения.

Разработаны документы по стандартизации на линейку кисломолочной продукции «БиоРад», получены свидетельства о государственной регистрации программы для ЭВМ: «Программа для оптимизации композиционного состава функциональной добавки» (свидетельство № 2025685344 от 23.09.2025 г.),

«Программа для интерпретации качественной оценки ферментативной активности» (свидетельство № 2026668495 от 07.07.2026 г.).

Проведена промышленная апробация и внедрение в производство результатов диссертационного исследования на предприятиях отрасли: ООО «ЕВРОТЕКС» (г. Лосино-Петровский, Московская обл.), АО «Болховский сыродельный завод» (г. Болхов, Орловская обл.), ООО «Урицкий молокозавод» (пгт. Нарышкино, Орловская обл.), ОАО «Брянский молочный комбинат» (г. Брянск), ТНВ «Сыр Стародубский» (г. Стародуб, Брянская обл.), ООО «ПочепМолоко» (г. Почеп, Брянская обл.), ООО «БалткомЮни» (г. Клинцы, Брянская обл.).

Методология и методы исследования.

Теоретическую основу диссертации составляют фундаментальные положения, в том числе принципы формирования технологических и антиоксидантных свойств кисломолочных систем, моделирования поликомпонентных систем и др., что коррелирует с имеющимися научными данными в данной предметной области. Решение поставленных задач осуществлялось с применением стандартизованных, общепринятых и специальных методов, адаптированных к тематике исследования, а также соответствующих методов математической обработки данных. Работа выполнена в ФГАНУ «ВНИМИ».

Положения, выносимые на защиту:

- принципы алиментарного повышения радиорезистентности организма в условиях ионизирующего излучения, основанные на сочетанном применении ферментированных молочных продуктов с противолучевой добавкой, модулирующей синтез глутатиона;
- концепция направленного формирования антиоксидантного потенциала кисломолочных систем, базирующаяся на установленной штаммоспецифичности биологической активности молочнокислых микроорганизмов и синергизме их консорциумов, обеспечивающих достижение заданных характеристик;
- алгоритм прогнозирования антиоксидантного потенциала кисломолочных систем, реализованный на основе методов кластеризации и машинного обучения, позволяющий с высокой точностью предсказать целевую антиоксидантную активность по метаболитному профилю продукта;
- оптимизированный композиционный состав противолучевой добавки, обоснованный математическим моделированием и экспериментальной оценкой технологических свойств, предназначенный для внесения в молочную основу с сохранением целевых функциональных характеристик;
- радиопротекторный эффект кисломолочных систем с противолучевой добавкой, доказанный в эксперименте *in vivo* на модели острого ионизирующего облучения, выражающийся в стабилизации прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза и повышении адаптационных резервов организма;

– технологические решения и документы по стандартизации на линейку специализированной кисломолочной продукции «БиоРад», обеспечивающие ее промышленное производство и адресное применение в группах риска.

Степень достоверности и апробация результатов.

Достоверность результатов диссертационной работы подтверждается значительным объемом теоретических и поэтапных экспериментальных исследований, репрезентативностью выборки, многократной повторностью экспериментов, использованием современных методов исследования и статистической обработки данных, а также согласованностью полученных результатов, которые взаимно дополняют друг друга. Основные положения работы прошли апробацию в ходе промышленных испытаний, опубликованы в рецензируемых научных журналах, а также представлены на региональных, всероссийских и международных научно-практических конференциях, в том числе: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Красноярск, 2021, 2022), International scientific conference «Digital transformation on manufacturing, infrastructure and service» (Санкт-Петербург, 2021), Национальная научно-практическая конференция «Товароведение, технология и экспертиза: инновационные решения и перспективы развития» (Москва, 2022), Международная научно-практическая конференция «Продовольственная безопасность: научное, кадровое и информационное обеспечение» (Воронеж, 2023), Всероссийские молодежные научные чтения им. профессора Н. Н. Протопопова (Новосибирск, 2023), Международная научно-практическая конференция «Научное обеспечение технологического развития и повышения конкурентоспособности в пищевой и перерабатывающей промышленности» (Краснодар, 2023), Международный Симпозиум «Пищевые здоровьесберегающие технологии» (Кемерово, 2023), Международная научная конференция «Техника и технология пищевых производств» (Могилев, 2024), Международная научно-практическая конференция «Системный анализ в проектировании и управлении» (Санкт-Петербург, 2024), Всероссийская (национальная) научная конференция «Пищевые инновации и биотехнологии» (Кемерово, 2024), Международный форум природоподобных технологий «Курчатовский геномный форум» (Москва, 2024), Всероссийский форум «Здоровье нации – основа процветания России» (Москва, 2024), Международная научно-практическая конференция «Здоровое питание 2030: новые технологии, подходы к обеспечению качества и безопасности, подготовка кадров» (Москва, 2024), Научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные направления нутрициологии и диетологии» (Сочи, 2024), Национальная научно-практическая конференция «Пищевая инженерия, экспертиза и безопасность продукции АПК: инновационные решения и перспективы развития» (Москва, 2023, 2025), Международная научно-практическая конференция «Молодые исследователи агропромышленного и лесного комплексов – регионам» (Вологда, 2025), Международная научно-практическая конференция «Поландовские чтения» (Москва, 2025, 2026), Международный симпозиум «Пищевые технологии» (Кемерово, 2024-2026),

Международная научно-техническая конференция «Инновационные технологии в пищевой промышленности: наука, образование и производство» (Воронеж, 2026), Международный Байкальский форум (Улан-Удэ, 2026).

Личный вклад соискателя.

Личный вклад в работу состоит в разработке научной концепции исследований, постановке цели и задач исследования, организации и проведении научно-экспериментальных и аналитических работ, получении результатов исследований и их промышленной апробации. Доля участия соавторов в совместных публикациях и патентах заключалась в консультативной помощи, выполнении части лабораторных анализов по специализированным методикам, совместном обсуждении результатов, а также в организационной поддержке экспериментов в производственных условиях. Диссертационная работа представляет собой обобщение научных исследований, выполненных соискателем лично и при его определяющем участии.

Публикации.

По материалам диссертационной работы опубликовано 41 печатная работа, в том числе 1 глава в коллективной монографии, 2 статьи в журналах, индексируемых в международных базах данных, 2 статьи в журналах Белого списка, 19 статей в журналах, рекомендованных ВАК, 15 публикаций в журналах, индексируемых в базе данных РИНЦ и материалах конференций и 2 программы для ЭВМ.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности.

Диссертационная работа соответствует пп. 3, 6, 8, 23, 25 паспорта научной специальности 4.3.5 – Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ (технические науки), пп. 5, 8, 10, 13 паспорта научной специальности 4.3.3 – Пищевые системы (технические науки);

Структура и объем диссертации.

Диссертация состоит из введения и 7 глав, содержащих аналитический обзор, методическую часть, результаты собственных теоретических и экспериментальных исследований, разработку и реализацию частных технологий, список использованных источников в количестве 300 единиц, выводы и приложения. Основной текст работы изложен на 339 страницах, содержит 48 таблиц и 74 рисунка.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность научной проблемы и степень ее разработанности, представлена научная концепция, определены цель и задачи исследований, научная новизна работы, теоретическая и практическая значимость. Сформулированы основные положения, выносимые на защиту, приведены сведения о степени достоверности и апробации результатов исследований.

В первой главе представлены аналитические сведения, научная информация и результаты экспериментальных исследований отечественных и зарубежных авторов в области влияния ионизирующего излучения на живой

организм, дана характеристика показателей биологической активности молочнокислых микроорганизмов (МКМ), проведен анализ факторов поддержания антиоксидантного статуса организма человека в условиях ионизирующего излучения. Теоретически установлено, что способность МКМ формировать метаболитный профиль может выступать фактором управления направленной ферментацией молочного сырья. Обосновано, что для стабилизации антиоксидантной защиты живого организма наряду с введением в рацион дополнительных антиоксидантов необходимо поддерживать уровень адаптогенов, позволяющих восстанавливать систему в условиях оксидативного стресса. По итогам проведенного анализа научно-технической литературы определен ряд перспективных направлений, которые позволили сформулировать концепцию, цель и задачи исследований.

Вторая глава посвящена методологии исследований, которые проводились в лабораториях ФГАНУ «ВНИМИ». Исследования *in vivo* проводились на базе НИЦ «Курчатовский институт» с разграничением прав на результаты интеллектуальной деятельности. Последовательность проведения исследований, взаимосвязь их объектов и соподчиненность субъектов исследований представлены на рис.1.

Концепция настоящего исследования базируется на положении о том, что антиоксидантный потенциал кисломолочных (ферментированных) систем является прогнозируемым и управляемым параметром. Он может быть сформирован, принципиально, двумя основными путями: эндогенным и экзогенным. Интеграция указанных путей позволяет разрабатывать принципы создания специализированных кисломолочных продуктов с заданными радиопротекторными свойствами, способствующих стабилизации антиоксидантного статуса организма в условиях оксидативного стресса, индуцированного ионизирующим излучением.

Гипотеза исследования состоит в том, что целенаправленная модуляция метаболитного профиля кисломолочных систем путем оптимизации штаммового состава заквасочных культур и обогащения противолучевой добавкой позволяет повысить антиоксидантный потенциал ферментированной продукции до уровня, обеспечивающего снижение интенсивности свободнорадикальных процессов. Совокупность сформулированных в концепции положений позволяет обосновать принципы формирования антиоксидантного потенциала ферментированных пищевых систем, повышающих радиорезистентность организма.

На разных этапах работы объектами исследований выступали: молоко коровье нормализованное с массовой долей жира 3,2 %; штаммы заквасочных культур *Lactobacillus acidophilus* (штаммы: А97, КЗНИ35, АЦ, НК1) и *Streptococcus thermophilus* (штаммы: 11, 14, 91, ТСВ) из коллекции Биоресурсного центра ФГАНУ «ВНИМИ» по ТУ 10.89.19-098-00419785-2023; кисломолочные системы с применением моновидовых заквасок, с применением смешанных заквасок с различным соотношением моновидовых вариантов; ингредиенты растительного происхождения, а именно мука из семян

Постановка цели работы. Формулирование задач

1 Аналитический обзор проблемы исследования

Источники ионизирующего излучения в повседневной жизни

Показатели оксидативного стресса в условиях ионизирующего излучения

Механизмы снижения повреждающих воздействий ионизирующего излучения

Антиоксидантный потенциал молочной продукции как инструмент повышения радиорезистентности

2 Биотехнологические принципы формирования антиоксидантного потенциала ферментированной продукции

Влияние показателей биологической активности молочнокислых микроорганизмов на формирование антиоксидантного потенциала кисломолочных систем

Проектирование консорциума из исследуемых штаммов с достижением синергетического эффекта при формировании метаболического профиля кисломолочных систем

3 Разработка алгоритма прогнозирования антиоксидантного потенциала ферментированной молочной продукции

4 Разработка технологических решений по повышению антиоксидантного потенциала кисломолочной системы

Обоснование применения растительного сырья в технологии

Моделирование композиции комплексной противолучевой добавки «БиоРад»

5 Оценка радиопротекторной эффективности модельных кисломолочных систем *in vivo* в условиях ионизирующего излучения

Динамика массы тела и гематологических показателей

Динамика показателей оксидативного стресса

Динамика показателей активности защитных систем организма

6 Практическая реализация результатов исследования

Разработка технологий кисломолочной продукции линейки «БиоРад»

Разработка документации по стандартизации

Промышленная апробация разработанных технологий

Оценка ожидаемого экономического эффекта от внедрения

Рисунок 1 – Схема проведения исследования

расторопши (ООО «Специалист», СТО 33974444-011-2019) и мука из шрота подсолнечника (ООО «АгроПетро», ТУ 10.41.41-229-37676459-2018); композиционный состав растительного сырья; противолучевая добавка (ПД); опытные образцы кисломолочных систем с ПД; биологические объекты; готовая кисломолочная продукция.

Исследование основных физико-химических показателей проводили с использованием классических стандартизованных методов.

Содержание минеральных веществ определяли по ГОСТ Р ИСО 27085 и ГОСТ Р 72680; содержание водорастворимых витаминов группы В – методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) по ГОСТ EN 14122, ГОСТ EN 14152, ГОСТ EN 14663; содержание витамина Е – методом обращенно-фазовой ВЭЖХ по ГОСТ EN 12822. Методом капиллярного электрофореза с использованием системы КЭ «КАПЕЛЬ» оценивали аминокислотный состав (М-04-94-2021) и содержание органических кислот (М-04-47-2012), жирнокислотный состав – методом газовой хроматографии в соответствии с ГОСТ 32915.

Для оценки антиоксидантной активности (АОА), эквивалентной галловой кислоте, применяли амперометрический метод с использованием прибора «ЦветЯуза 01-АА».

Для установления содержания глутатиона в готовом продукте, а также его форм, применяли методику Седлака и Линдси, ориентированную на уровень свободных SH-групп глутатиона (G-SH).

Оценку ферментативной активности осуществляли с использованием тест-системы API ZYM («BioMérieux», Франция), представляющей собой полуколичественный микротест. Для интерпретации результатов оценки окрашивания лунок в тест-системе создана и применена программа для ЭВМ, позволяющая дать оценку согласно функции желательности Харрингтона относительно эталонного цвета окрашивания. Подобный способ оценки позволяет исключить влияние человеческого фактора и различия в установлении условных баллов ферментативной активности.

Исследование хирального профиля молочной кислоты, продуцируемой штаммами МКМ, проводили с использованием ферментативной тест-системы K-DLATE (Megazym), позволяющей определить общее содержание молочной кислоты и долю L(+)-формы.

Для кластеризации опытных образцов кисломолочных систем применяли метод главных компонент (РСА). Оптимальное количество кластеров определено методом *k*-средних (*k-means*), основанным на минимизации суммы квадратов внутрикластерных расстояний (инерции) при заданном числе кластеров.

Для определения силы и направления взаимосвязи между показателями биологической активности МКМ и антиоксидантным потенциалом исследуемых образцов кисломолочных систем использовали коэффициенты корреляции, которые помогают количественно выразить наличие связи между переменными, выраженные критериями-комплексам

С использованием метода машинного обучения построено «Дерево решений» для прогнозирования антиоксидантного потенциала по метаболитному профилю кисломолочных систем.

Для моделирования композиционного состава ПД использовали авторскую программу для ЭВМ «Оптимизация композиционного состава функциональной добавки», основанную на решении оптимизационной задачи.

Технологичность ПД оценивали по показателям растворимости, соразмерной количеству сухих веществ, перешедших в раствор, и степени набухания, характеризующей возможность добавки удерживать дисперсионную среду молочной основы.

Оценку активности про- и антиоксидантных систем проводили с помощью иммуноферментного и спектрофотометрического методов анализа на половозрелых самцах крыс линии Wistar (n=8, возраст 10-12 нед.). Группа 1 служила интактным контролем (без облучения, стандартный рацион). Животные групп 2-8 подвергались действию ионизирующего излучения (^{60}Co , 3 Гр, 0,5 Гр/мин). Группа 2 – облученный контроль (стандартный рацион). Группы 3-5 за 7 дней до облучения получали дополнительно к рациону кисломолочные напитки без добавки (образцы сравнения). Группы 6-8 получали исследуемые образцы кисломолочного напитка с добавкой. Образцы вводили внутривентрикулярно через металлический атравматический зонд ежедневно дважды в сутки. Дозу введения образца определяли по межвидовому пересчету человек-крыса по массе тела (2,94 г/кг/сут).

Каждые 3 дня осуществлялось взвешивание и подробный клинический осмотр животных на открытой поверхности. Кровь для исследований отбирали на 0-й, 8-й (после облучения 1-е сутки), 15-й (7-е сутки после облучения) и 22-й (14-е сутки после облучения) день эксперимента. На 22-е сутки эксперимента животным проводили общую неингаляционную внутримышечную анестезию тилетамином/золазепамом (Телазол 100) и ксилазином в дозах 15 и 6 мг/кг соответственно и осуществляли терминальный забор крови из полостей сердца.

Статистическая обработка и визуализация экспериментальных данных проводилась с применением программ «Microsoft Excel», «Statistica 7.0», «Tablecurve 2d», Python.

Третья глава посвящена оценке показателей биологической активности МКМ в части проявления ими кислотообразующей, витамин- и глутатионсинтезирующей способностей, а также ферментативной активности. В качестве основной микрофлоры выбрана *Lactobacillus acidophilus* (далее *LbA*), что обусловлено высоким уровнем пробиотического эффекта. Известно, что *LbA* может оказывать разностороннее влияние на биохимические, физиологические, нейрогуморальные и иммунные процессы в организме человека. В работе теоретически установлено, что именно микроорганизмы данного вида характеризуются высоким уровнем АОА, что и является целевым показателем разрабатываемой продукции. С целью формирования производственно-значимого консорциума заквасочных микроорганизмов проведена сравнительная оценка показателей биологической активности штаммов

Streptococcus thermophilus (далее *StT*). Совместное применение отобранных культур рассматривалось как условие сохранения высокого уровня антиоксидантного потенциала ферментированной продукции при обеспечении традиционных органолептических характеристик.

Для установления оптимального времени, необходимого для получения молочного сгустка с применением выбранных штаммов, основывались на показателе титруемой кислотности, ограничивая его значение 80 °Т. Для этого проводилась выработка образцов из нормализованного молока жирностью 3,2 % с внесением 5 % закваски. Температура сквашивания составляла (38±2) °С.

Установлено, что для достижения предельной кислотности 80 °Т потребовалось 3,5 часа для КЗНП35, 4 часа для штаммов А97 и АЦ, 4,5 часа - НК1. Однако по прошествии 4 часов кислотообразующая способность штамма А97 усиливалась, а показатель титруемой кислотности превосходил таковой для штамма АЦ. Полученные результаты учтены при составлении последующего консорциума.

Аналогичные исследования проведены со штаммами *StT*. Установлено, что штаммы 14 и ТСВ достигли предельной кислотности за 4 часа, штамм 91 - за 4,5 часа. Штамм 11 показал слабую кислотообразующую способность, т.к. даже по прошествии 6 часов кислотность продукта не достигла 80 °Т. При этом через 5,5 часов после начала сквашивания кислотность образцов на штаммах 14 и 91 достигла одинакового значения 92 °Т, в то время как штамм ТСВ - 97 °Т. Это свидетельствует о повышении кислотообразующей способности при длительном сквашивании, а также о кислотоустойчивости штамма 14, что является преимуществом для совместного использования термофильного стрептококка с *LbA*, которые являются сильными кислотообразователями.

Значимым фактором при наращивании кислотности являлось образование органических кислот в ходе сквашивания образцов (таблица 1).

Таблица 1 – Перечень и содержание органических кислот в опытных образцах кисломолочных продуктов

Наименование штамма	Содержание органической кислоты, мг/дм ³			
	Лимонная (Lim)	Молочная (Mol)	Уксусная (Uks)	Янтарная (Yan)
<i>LbA</i>				
АЦ	1474,8±16,8	7179,8±104,3	103,4±1,5	178,1±6,4
А97	1461,7±44,8	7158,63±108,6	188,7±2,5	297,3±3,2
НК1	1379,7±42,2	7075,4±123,9	269,9±0,9	366,4±3,2
КЗНП35	1031,5±7,3	8215,4±104,3	107,8±2,5	157,1±5,5
<i>StT</i>				
11	1493,3±45,2	4628,3±64,9	-	-
14	1545,1±46,3	6979,0±116,0	-	-
91	1592,8±33,9	6350±60,2	-	-
ТСВ	1569,3±10,0	6347,1±147,7	-	-

Установлено, что содержание лимонной и молочной кислот незначительно зависит от видовой принадлежности, в то время как уксусная и янтарная кислоты имеют более выраженную специфичность и характерны для образцов со штаммами *LbA*.

Результаты оценки оптической характеристики молочной кислоты, определяющей ее физиологичность (преобладание L(+) формы), представлены в таблице 2. Для оценки распределения изомеров молочной кислоты использовали образец первой серии исследований.

Таблица 2 – Оптическая характеристика молочной кислоты в опытных образцах

Наименование штамма	Молочная кислота, мг/дм ³	L(+) форма, мг/дм ³	% L(+) к общему содержанию	Оптическая характеристика
АЦ	7023,3	3862,8	55	DL
A97	7152,9	3719,5	52	DL
NK1	6988,5	5101,6	73	L(+)
КЗНП35	8215,3	6407,9	78	L(+)
11	6366,9	6239,6	98	L(+)
14	4538,0	4265,7	94	L(+)
91	6912,0	6704,6	97	L(+)
TCB	6259,7	6009,3	96	L(+)

В работе принято, что содержание L(+) изомера в системе до 33 % соответствует D(-) штаммам; 33–66 % – DL-штаммам; 66 % и выше – L(+) штаммам. Как видно из приведенных данных, большинство исследованных штаммов (6 из 8) характеризовались как L(+)-тип, тогда как штаммы *АЦ* и *A97* отнесены к DL-типу, поскольку проявили способность образовывать как L(+), так и D(-) изомеры молочной кислоты. Данную особенность можно рассматривать как фактор, обосновывающий необходимость их совместного применения с дополнительными культурами МКМ. Поскольку штаммы *StT* продемонстрировали стабильность в образовании L(+) изомера, именно они могут быть применены для снижения процентного содержания нефизиологичной D(-) формы в кисломолочной системе.

Наиболее существенное влияние на проявление антиоксидантных свойств биотехнологической системы способны оказывать витамины группы В – водорастворимые витамины, каждый из которых выполняет взаимосвязанные функции в организме: от преобразования пищи в энергию до поддержания здоровья нервной системы.

В таблице 3 представлено количественное содержание витаминов группы В в образцах кисломолочных систем как биологически активных веществ, формирующих антиоксидантный потенциал.

Таблица 3 – Содержание витаминов группы В в кисломолочных системах (мкг/дм³)

Витамин	Штамм							
	АЦ	A97	NK1	КЗНП35	11	14	91	TCB
В ₁	40,1±0,02	38,8±1,9	30,1±0,1	38,4±0,8	30,2±0,04	36,6±0,7	32,2±0,04	35,7±0,4
В ₂	376,8±7,3	299,4±5,1	156,8±0,8	1,2±0,03	0,8±0,02	1,3±0,03	1,9±0,03	1,2±0,1
В ₆	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	270,4±12,8	240,2±12,5	160,4±14,8	79,8±3,2

В образцах, ферментированных штаммами 97 и АЦ отмечена более высокая биологическая активность в отношении витамина В₂, что делает их наиболее перспективными для использования в решении задачи повышения антиоксидантного потенциала кисломолочной продукции. Ни один из штаммов *LbA* не показал значительной способности к синтезу витамина В₆. Штаммы *StT* не характеризовались высоким содержанием витаминов В₁ и В₂ в системе, однако являлись активными продуцентами витамина В₆, особенно штаммы 11 и 14.

В таблице 4 представлены результаты количественного определения аминокислот как компонентов синтеза глутатиона и системы антиоксидантной защиты организма. В таблице выделены основные аминокислоты, участвующие в формировании антиоксидантного потенциала.

Таблица 4 – Аминокислотный состав опытных образцов кисломолочных систем

Аминокислота, мг/100г	Штамм							
	АЦ	А97	НК1	КЗНПЗ5	11	14	91	ТСВ
Триптофан (Trp)	25,7± 0,5	43,3± 0,8	43,3± 0,8	52,1± 0,8	46,6± 0,3	33,8± 0,4	41,6± 0,3	40,8± 0,7
Глутаминовая кислота + глутамин (Glu)	610,9± 10,6	629,2± 11,2	567,1± 10,0	572,9± 8,9	833,5± 12,8	575,3± 6,4	593,4± 3,9	618,1± 10,3
Аспарагиновая кислота + аспарагин (Asp)	227,8± 3,9	236,3± 4,2	212,2± 3,7	237,9± 3,7	223,7± 1,5	256,9± 2,8	243,6± 1,6	264,9± 4,4
Цистеин+цистин (Cys)	30,6± 0,5	30,3± 0,5	35,1± 0,6	29,0± 0,5	47,9± 2,9	29,7± 0,3	30,6± 0,2	51,5± 0,9
Аргинин (Arg)	36,3± 0,64	63,2± 1,1	41,3± 0,7	61,8± 0,9	48,1± 1,3	36,7± 0,4	57,5± 0,4	68,9± 1,2
Лизин (Lys)	177,5± 3,1	172,6± 3,1	173,8± 3,1	138,9± 2,1	151,6± 18,4	149,0± 1,7	150,4± 1,0	151,4± 2,6
Тирозин (Tyr)	102,1± 1,8	122,5± 2,2	122,0± 2,2	104,8± 1,6	108,6± 10,0	114,6± 1,3	119,8± 0,8	115,1± 1,9
Фенилаланин (Phe)	119,4± 2,0	109,3± 1,9	121,1± 2,2	86,9± 1,4	96,6± 4,1	99,9± 1,1	106,8± 0,7	110,5± 1,8
Гистидин (His)	83,8± 1,4	75,4± 1,4	74,0± 1,3	56,3± 0,9	52,2± 6,0	87,6± 0,9	78,6± 0,5	87,4± 1,4
Лейцин + изолейцин (Leu)	394,3± 6,8	344,5± 6,2	367,6± 6,2	271,3± 4,2	292,1± 24,9	331,7± 3,7	311,4± 2,1	323,9± 5,4
Метионин (Met)	99,8± 1,7	97,6± 1,7	112,7± 2,0	121,2± 1,9	177,1± 4,7	134,7± 1,5	99,7± 0,7	94,3± 1,6
Валин (Val)	138,3± 2,4	129,3± 2,3	123,8± 2,2	78,0± 1,2	94,1± 6,3	110,3± 1,2	97,9± 0,6	111,6± 1,9
Пролин (Pro)	270,5± 4,7	245,5± 4,4	247,8± 4,4	230,8± 3,6	242,9± 28,8	233,5± 2,6	240,1± 1,6	231,1± 3,9
Треонин (Thr)	114,9± 2,0	110,9± 2,0	99,6± 1,8	76,2± 1,2	91,0± 6,3	96,8± 1,1	106,3± 0,7	101,3± 1,7
Серин (Ser)	152,6± 2,7	125,5± 2,2	116,5± 2,1	133,1± 2,1	126,6± 21,5	107,0± 1,2	107,1± 0,7	108,9± 1,8
Аланин (Ala)	98,0± 1,7	89,5± 1,6	83,6± 1,5	93,8± 1,4	80,3± 9,0	72,9± 0,8	73,9± 0,5	70,7± 1,2
Глицин (Gly)	52,7± 0,9	51,2± 0,9	45,6± 0,8	41,4± 0,6	63,9± 2,6	41,9± 0,4	40,3± 0,3	41,7± 0,7

Исходя из полученных данных, установлено, что штаммы *LbA* не имеют существенных различий в количественном выражении аминокислот в кисломолочной системе.

Из образцов с использованием штаммов *StT* особенно выделялся 11, содержание глутаминовой кислоты и метионина, в котором почти на 30 % превышало таковое в образцах на других штаммах; содержание глицина более чем в 1,5 раза выше. Таким образом, доказан потенциал применения штамма 11 для направленного формирования высокой антиоксидантной емкости системы.

При этом, из представленных аминокислот как целевые показатели направленной ферментации наибольший интерес представляют аминокислоты, которые либо выступают источником для синтеза антиоксидантов, например глутатиона (Glu, Cys, Gly), либо являются непосредственными антиоксидантами (Trp, Lys, Phe, Leu, Met, Val).

Повышение уровня определенных аминокислот вероятно связано со специфической ферментативной активностью штаммов микроорганизмов.

Таблица 5 – Ферментативная активность штаммов *LbA* и *StT* по тест-системе API ZYM и функции желательности Харрингтона (D)

Штамм	Фермент, D							
	Эстераза (C4)	Липаза (C14)	Лейцин-ариламидаза	Валин-ариламидаза	Цистин-ариламидаза	Кислая фосфатаза	Нафтол-AS-BI-фосфогидролаза	β -галактозидаза
Эталон цвета	0,990	0,990	0,990	0,990	0,990	0,990	0,990	0,990
АЦ	Средняя 0,565	Низкая 0,155	Высокая 0,990	Средняя 0,515	Высокая 0,830	Высокая 0,830	Средняя 0,795	Высокая 0,990
А97	Средняя 0,390	отсутствует	Высокая 0,920	Средняя 0,455	Высокая 0,870	Средняя 0,645	Средняя 0,795	Высокая 0,895
NK1	Средняя 0,720	Низкая 0,155	Высокая 0,990	Средняя 0,515	Высокая 0,830	Высокая 0,830	Высокая 0,870	Высокая 0,990
КЗНП35	отсутствует	отсутствует	Средняя 0,640	Средняя 0,455	Средняя 0,640	Средняя 0,640	Средняя 0,700	Высокая 0,990
11	отсутствует	отсутствует	Высокая 0,990	Высокая 0,830	Низкая 0,315	Средняя 0,640	Средняя 0,700	Высокая 0,990
14	Средняя 0,390	отсутствует	Средняя 0,640	Низкая 0,325	Низкая 0,345	Высокая 0,830	Средняя 0,720	Высокая 0,990
91	Средняя 0,720	отсутствует	Высокая 0,820	Средняя 0,390	отсутствует	Средняя 0,640	Средняя 0,720	Высокая 0,990
ТСВ	Средняя 0,395	отсутствует	Высокая 0,820	отсутствует	Средняя 0,390	Высокая 0,830	Высокая 0,870	Высокая 0,895

В работе экспериментально установлено, что наибольшая вариабельность ферментов-продуцентов в системе характерна для штамма NK1. Умеренная активность липолитических ферментов эстеразы и липазы отмечена у штаммов АЦ и NK1. Штамм АЦ демонстрирует сбалансированный профиль с высокой активностью протеолитических ферментов и β -галактозидазы. Штамм КЗНП35 проявил слабую ферментативную активность, кроме ферментов β -галактозидазы и α -галактозидазы. Штамм 97 имеет минимальную активность по большинству ферментов, кроме β -галактозидазы.

Наивысшая активность протеолитических ферментов, таких как лейцин-ариламидаза и цистин-ариламидаза, влияющих на гидролиз пептидов и метаболизм серосодержащих аминокислот соответственно, отмечена у штаммов АЦ и NK1, что опосредованно способствует потенциальному усилению антиоксидантных свойств.

Исходя из полученных данных анализа ферментативной активности штаммов *StT*, можно сделать вывод, что штамм TCB демонстрирует наиболее сбалансированный профиль с высокой активностью нафтол-AS-BI-фосфогидролазы и β -галактозидазы. Штамм 14 выделялся максимальной активностью кислой фосфатазы. Штамм 11 имеет наибольшую активность по лейцин-ариламидазе и валин-ариламидазе, участвующих в процессе протеолиза. У штамма 91 прослеживалась умеренная активность по всем исследуемым ферментам.

Умеренная активность цистин- и лейцин-ариламидаз у всех штаммов *StT* ограничивает их вклад в расщепление белков. Также важно отметить низкую активность у всех штаммов по липолитической группе ферментов, что может минимизировать риск прогоркания жиров в процессе хранения. Фермент α -галактозидаза обнаружен у всех изучаемых штаммов, однако активность данного фермента незначительна.

Исходя из полученных данных, можно предположить, что формирование антиоксидантного потенциала кисломолочной продукции напрямую зависит от таких ферментов, как цистин-ариламидаза, валин-ариламидаза и лейцин-ариламидаза, нацеленных непосредственно на высвобождение соответствующих аминокислот. Таким образом, данные о количественном содержании ферментов в пищевой системе с использованием различных штаммов МКМ позволят в дальнейшем прогнозировать ее антиоксидантный потенциал.

На следующем этапе оценивали глутатионсинтезирующую способность исследуемых культур МКМ.

Выявление точного механизма и условий синтеза глутатиона микроорганизмами позволит управлять процессом его накопления и обеспечивать более эффективный ответ живых систем на стресс-факторы.

Результаты оценки глутатионсинтезирующей способности с определением доли восстановленного и окисленного глутатиона представлены на рисунке 2.

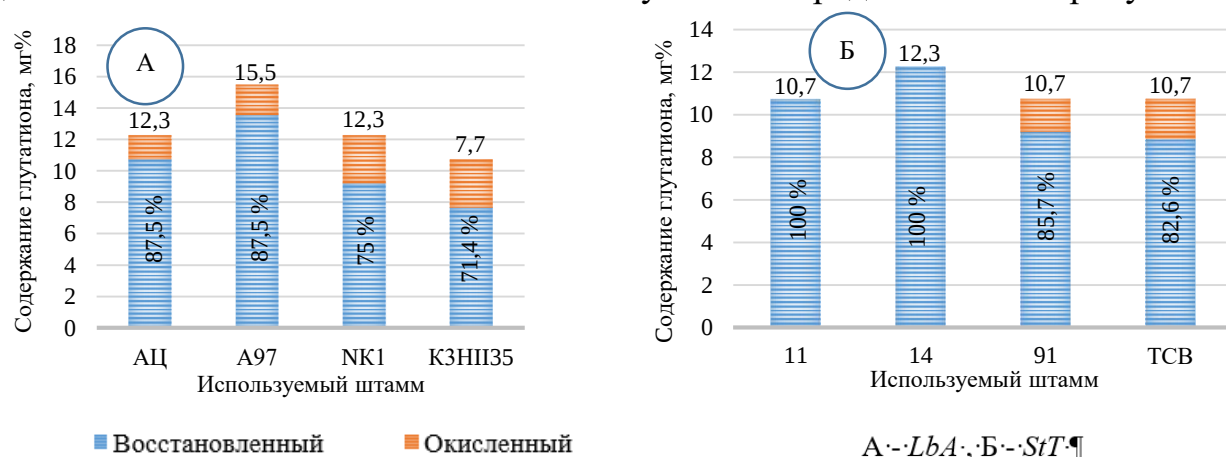


Рисунок 2 - Содержание глутатиона в системах, ферментированных штаммами

Анализ содержания глутатиона позволяет отметить, что все культуры из коллекции способны поддерживать стабильный уровень глутатиона в системе, однако его восстановленная форма не во всех образцах достигала 100 % содержания. Высокую долю восстановленного глутатиона (более 85 %) продемонстрировали такие штаммы, как А97, АЦ, 11, 14 и 91.

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что большинство штаммов *StT* характеризовались наличием преимущественно восстановленной формы глутатиона (окисленная форма не детектировалась или находилась на пределе чувствительности метода), что косвенно подтверждает отсутствие процессов окисления в системе. Следовательно, можно говорить о накоплении штаммами 11 и 14 цистеина в продукте, а не о его переходе в цистин.

Целевым результатом исследования являлось достижение высоких и стабильных показателей АОА и установление зависимости антиоксидантного потенциала от применяемых МКМ. С целью установления данной зависимости проведена оценка АОА штаммов. Результаты исследования представлены на рисунке 3.

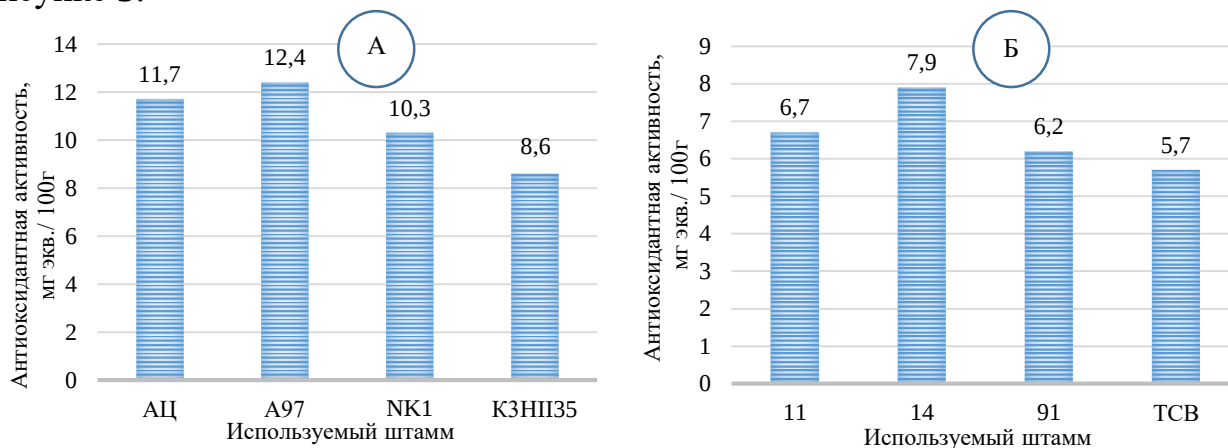


Рисунок 3 – Антиоксидантная активность систем, ферментированных штаммами:
А - *LbA*, Б - *StT*

На основании представленных данных можно сделать вывод, что образцы, ферментированные штаммами АЦ и А97, имеют схожий уровень АОА, что, вероятно, связано со сбалансированными аминокислотными профилями. При этом образец на штамме NK1 имеет показатель АОА незначительно ниже предыдущих. Образец на штамме КЗНП35 обладает наиболее слабой АОА относительно других образцов *LbA*, что, вероятно, связано с бедным аминокислотным составом вследствие слабой ферментативной активности микроорганизмов и низким содержанием витаминов группы В. Таким образом, подтверждено, что штаммы *LbA* достаточно активно участвуют в формировании антиоксидантного потенциала кисломолочной продукции.

Результаты по штаммам *StT* позволили выделить штамм 14 как проявивший максимальную АОА. Это может быть связано как с наиболее высоким содержанием витамина В₁, так и с высокой долей восстановленного глутатиона в системе.

Комплексные исследования подтвердили корреляцию аминокислотного профиля кисломолочного продукта и ферментативной активности рассматриваемых штаммов, а также их влияние на формирование антиоксидантного потенциала.

Основываясь на результатах исследований моновидовых вариантов заквасок, определены наиболее перспективные штаммы *LbA* (АЦ и А97) и *StT* (11 и 14) для комбинирования заквасочных культур. В работе на базе экспертного мнения с позиции потребительских свойств кисломолочного продукта использованы следующие рабочие соотношения культур *LbA* : *StT* – 3:2 и 3:1. В качестве контроля рассматривались образцы с моновидовыми культурами.

На рисунке 4 представлена сравнительная оценка содержания значимых для антиоксидантного потенциала аминокислот.

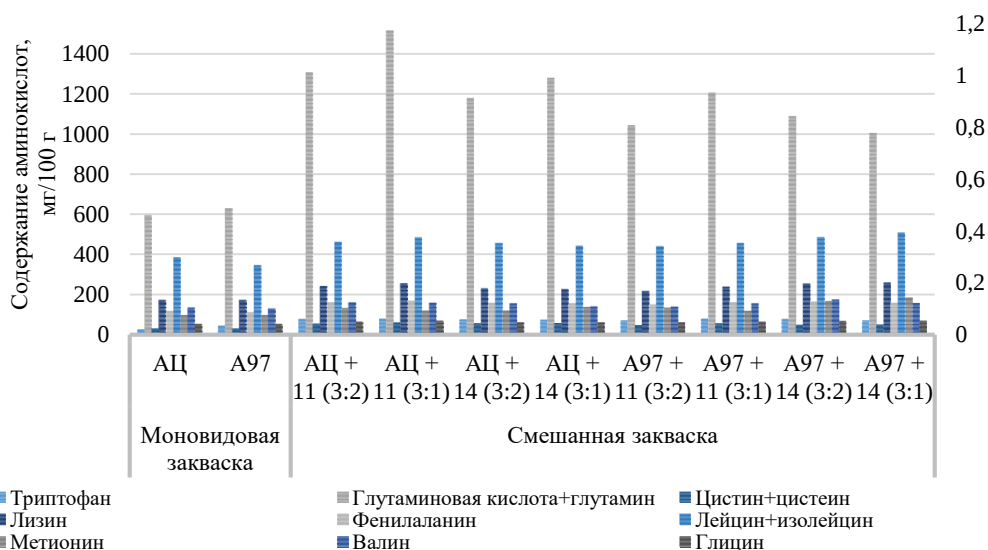


Рисунок 4 – Сравнительная оценка содержания значимых для антиоксидантного потенциала аминокислот

Установлено, что совместное применение приводит не к простому сложению, а к синергетическому усилению протеолитического потенциала, что выражалось в значительном приросте как заменимых, так и незаменимых аминокислот, тем самым повышая пищевую ценность продукта.

В работе выявлено, что применение смешанных заквасок оказывает положительное влияние на формирование оптической характеристики молочной кислоты в системе (таблица 6).

Таблица 6 – Оптическая характеристика молочной кислоты в образцах на смешанных заквасках

Наименование штамма	Общее содержание молочной кислоты, мг/дм ³	Содержание L(+) формы, мг/дм ³	Процент L(+) формы, %	Оптическая характеристика
1	2	3	4	5
АЦ	7023,3	3862,8	55	DL
А97	7152,9	3719,5	52	DL
АЦ +11 (3:2)	11181,0	9727,5	87	L(+)

Продолжение таблицы 6

1	2	3	4	5
АЦ +11 (3:1)	7648,8	6272,0	82	L(+)
АЦ +14 (3:2)	10111,9	9201,8	91	L(+)
АЦ +14 (3:1)	10228,2	8694,0	85	L(+)
А97+11 (3:2)	9586,4	8723,6	91	L(+)
А97+11 (3:1)	9965,8	8470,9	85	L(+)
А97+14 (3:2)	10185,1	8861,0	87	L(+)
А97+14 (3:1)	10887,3	9036,5	83	L(+)

Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод, что использование термофильного стрептококка в составе смешанной закваски в качестве дополнительной культуры позволило сместить оптическую характеристику молочной кислоты в сторону L(+)-изомера. Подобная тенденция наблюдалась при использовании обоих штаммов ацидофильной палочки. Этот факт подтвердился и сравнительной оценкой: доля L(+) молочной кислоты в системе возросла с 52-55% (монокультура *LbA*) до 82-91% (смешанные закваски).

Результаты оценки содержания глутатиона общего и его восстановленной формы, а также зависимость АОА от применяемого консорциума заквасок представлены на рисунке 5.

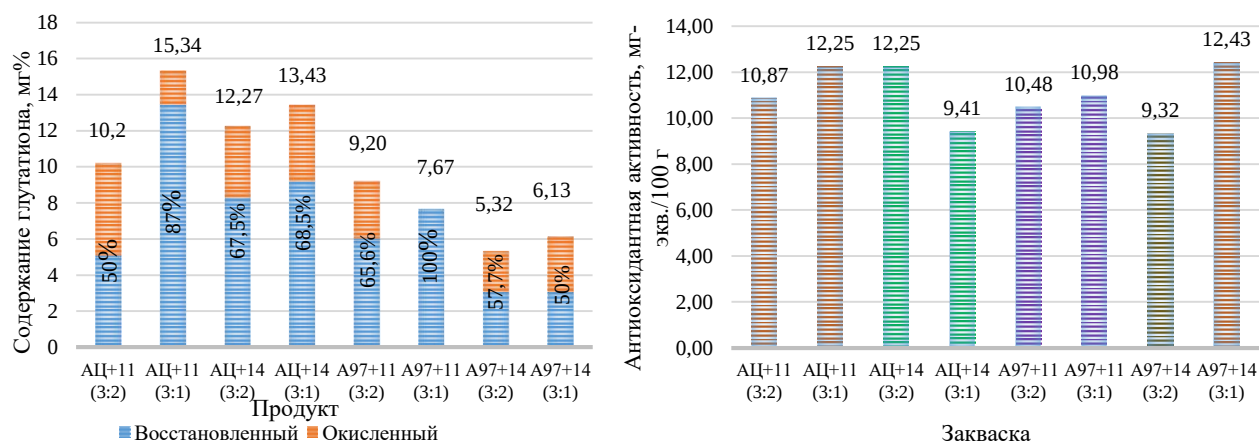


Рисунок 5 – Зависимость индикаторов антиоксидантного потенциала от применяемого консорциума МКМ

А – глутатион общий и восстановленный, Б – антиоксидантная активность

Анализ содержания глутатиона и его восстановленной формы в системах позволил определить наличие или отсутствие синергетического эффекта. В частности, установлено существенное снижение их содержания при использовании композиций со штаммом А97 в сравнении с его моновидовым вариантом. В композиции со штаммом АЦ установлен синергетический эффект, выраженный в повышении содержания общего глутатиона. Исходя из полученных данных видно, что с увеличением доли *StT* штамм *АЦ* не способен синтезировать глутатион в большем количестве даже при повышении содержания аминокислот глутатионового комплекса в системе. Значение общей

АОА образцов на смешанных заквасках несколько понизилось в сравнении с моновидовыми заквасками *LbA*, что обусловлено низким антиоксидантным потенциалом штаммов *StT*.

Таким образом доказано, что наиболее перспективным соотношением заквасочных культур в смешанной закваске обосновано *АЦ:11* как 3:1. Приоритет отдан именно этой композиции, поскольку она сочетала выраженный синергизм по глутатиону и улучшенную оптическую характеристику молочной кислоты (переход в L(+)-форму) с высоким аминокислотным потенциалом, что в совокупности обеспечивало наибольший технологический потенциал для дальнейшей разработки продукта. Кроме того, достигнуто максимальное влияние на антиоксидантный потенциал в части формирования аминокислотного профиля, определяющего ввиду накопления метаболитов в системе.

Четвертая глава посвящена установлению метаболитов, формирующих показатель АОА.

По результатам оценки метаболитного профиля ферментированных систем в работе проведена кластеризация образцов кисломолочного напитка, ферментированного исследуемыми МКМ. Количество анализируемых образцов – 126, признаков для кластеризации – 26. Кластеризация проведена методом k-средних (от англ. k-means) в качестве разведочного анализа для оценки разделимости образцов по метаболитному профилю. Оптимальное количество кластеров определяли методом «Локтя», которое находится в точке, где дальнейшее увеличение числа кластеров не приводит к заметному приросту суммы квадратов внутрикластерной дисперсии (рисунок 6).

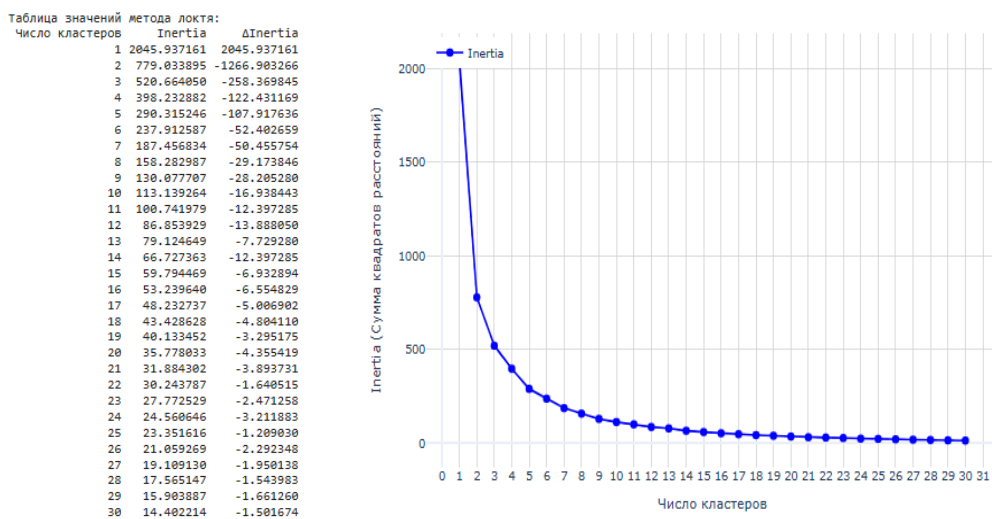
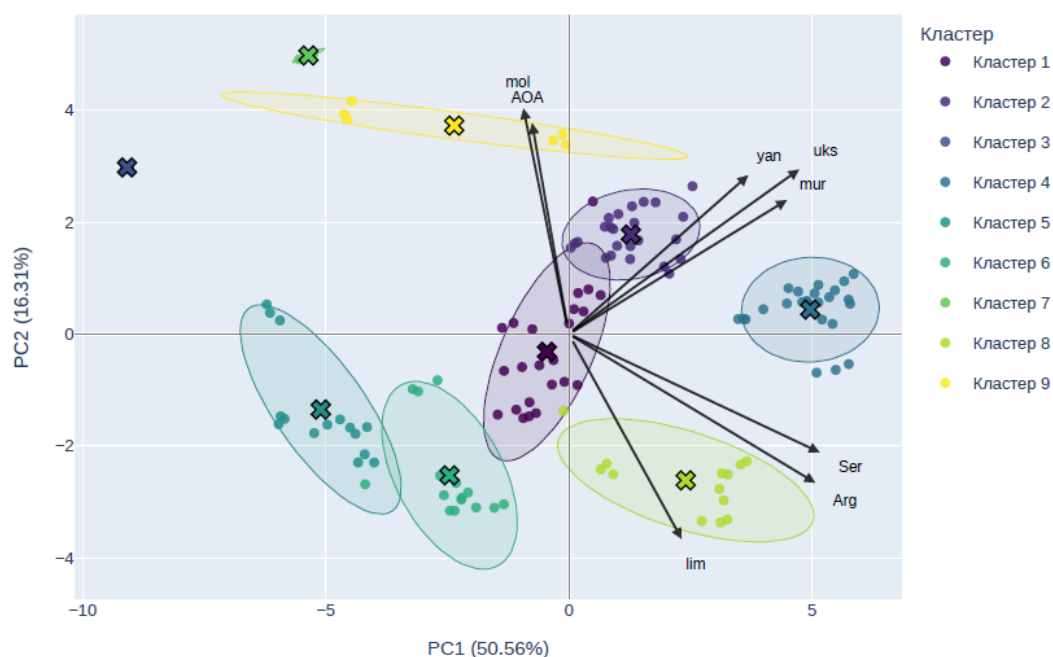


Рисунок 6 – «Локоть» распределения образцов на кластеры

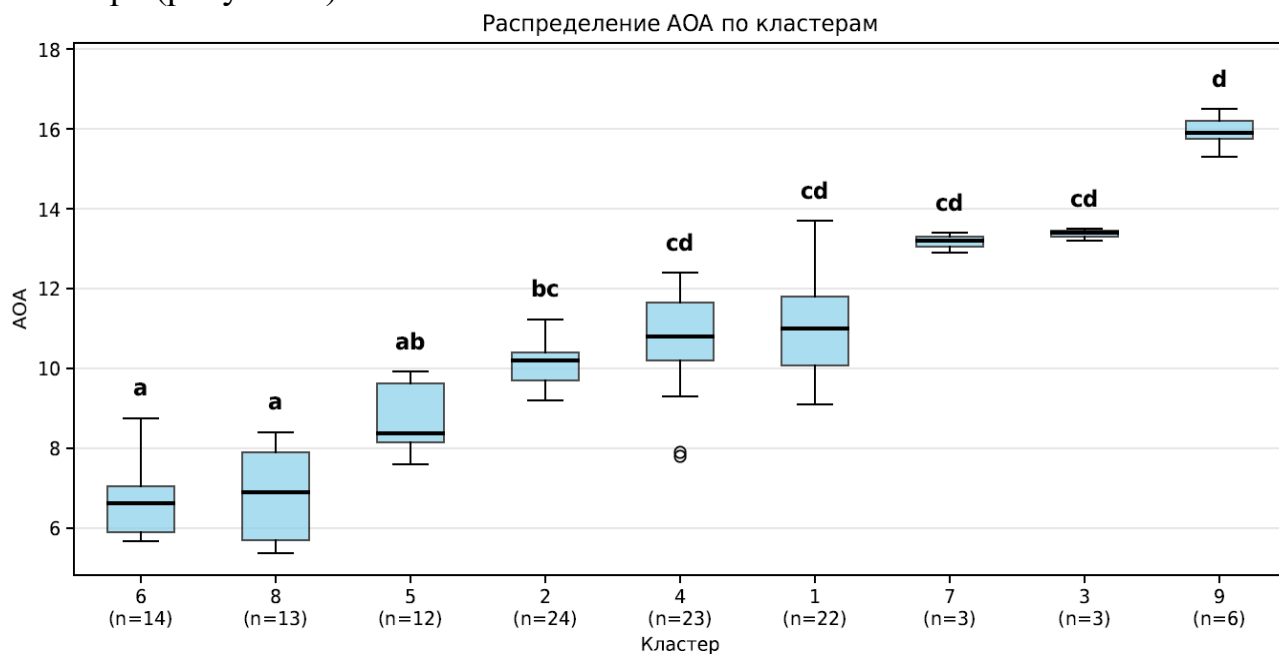
Можно заметить, что значения суммы квадратов расстояний снижаются плавно, в связи с чем выбор числа кластеров опирался на изменения внутрикластерной суммы квадратов расстояний. Уменьшение дисперсии сохранялось вплоть до 9 кластера, после чего приращения вышли на плато и дальнейшее дробление практически не улучшает качество разбиения. В итоге выбрано 9 кластеров, и для визуализации разделения образцов по метаболитному профилю применили метод главных компонент (PCA) (рисунок 7).

РСА-биplot кластеров
Объясненная дисперсия: PC1=50.56%, PC2=16.31%



На проекции наблюдается обособление кластеров, что свидетельствует о наличии различий в метаболитных профилях исследуемых образцов.

Таким образом, кластеризация позволила сопоставить метаболитные профили с уровнем АОА и выявить количественные характеристики каждого кластера (рисунок 8).



В рамках каждого кластера установлены показатели, обуславливающие включение образцов в тот или иной кластер (рисунок 9).

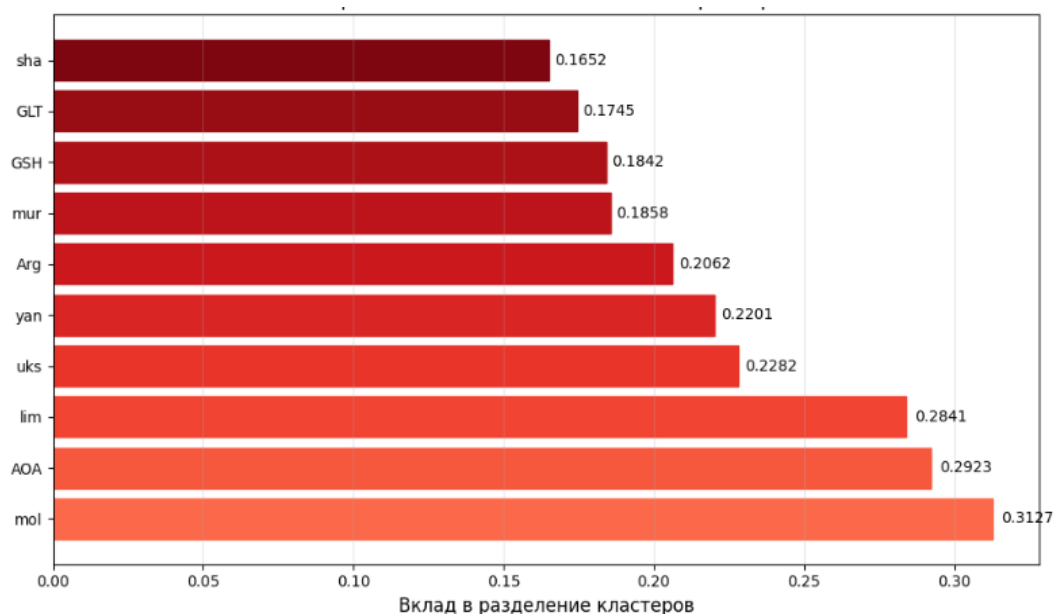


Рисунок 9 – ТОП-10 признаков по влиянию через PCA на разделимость кластеров

Таким образом, по результатам кластеризации установлена разделимость образцов по метаболитному профилю: они формируют обособленные группы, охватывающие широкий диапазон значений АОА. Наибольший вклад в разделение кластеров вносят содержание органических кислот, аргинина и глутатиона. При этом внутри кластеров значения АОА варьируют в широких пределах (рисунок 8), то есть метаболитный профиль задает общую структуру выборки, но не определяет АОА однозначно, что указывает на многофакторный и нелинейный характер зависимости и обосновывает переход к прогностической модели.

Далее посредством корреляционного анализа экспериментальных данных проведен поиск статистической взаимосвязи между метаболитами КМП и целевыми индикаторами антиоксидантного потенциала (АОА, глутатион общий и восстановленный) для определения граничных условий проектирования кисломолочных продуктов с достижением его максимального значения.

При расчете коэффициентов корреляции учитывались разные формы возможной функциональной взаимосвязи показателей, что позволило учесть большее число потенциальных закономерностей.

Для каждого коэффициента рассчитаны уровни значимости, проведено их ранжирование и отобраны максимальные из статистически значимых.

Выявлено, что наиболее информативными оказались коэффициенты Пирсона (указывает на наличие прямых метаболитов, влияющих на антиоксидантный потенциал) и Чаттерджи (подтверждает гипотезу о влиянии метаболитов на АОА нелинейно и немонотонно). Можно предположить, что существует оптимальная концентрация многих компонентов, за пределами которой их положительный эффект снижается.

Исходя из полученных данных, видно, что для АОА значимые показатели – содержание серина, лейцина и изолейцина, глутатиона общего, аргинина и лимонной кислоты. Причем у лимонной кислоты наблюдается выраженная

отрицательная линейная связь. При этом показатели глутатиона, аргинина и лимонной кислоты дублируют данные, полученные при кластеризации образцов, что позволяет судить об их комплексном влиянии на антиоксидантный потенциал кисломолочных систем. Данные взаимосвязи представлены на рисунке 10.

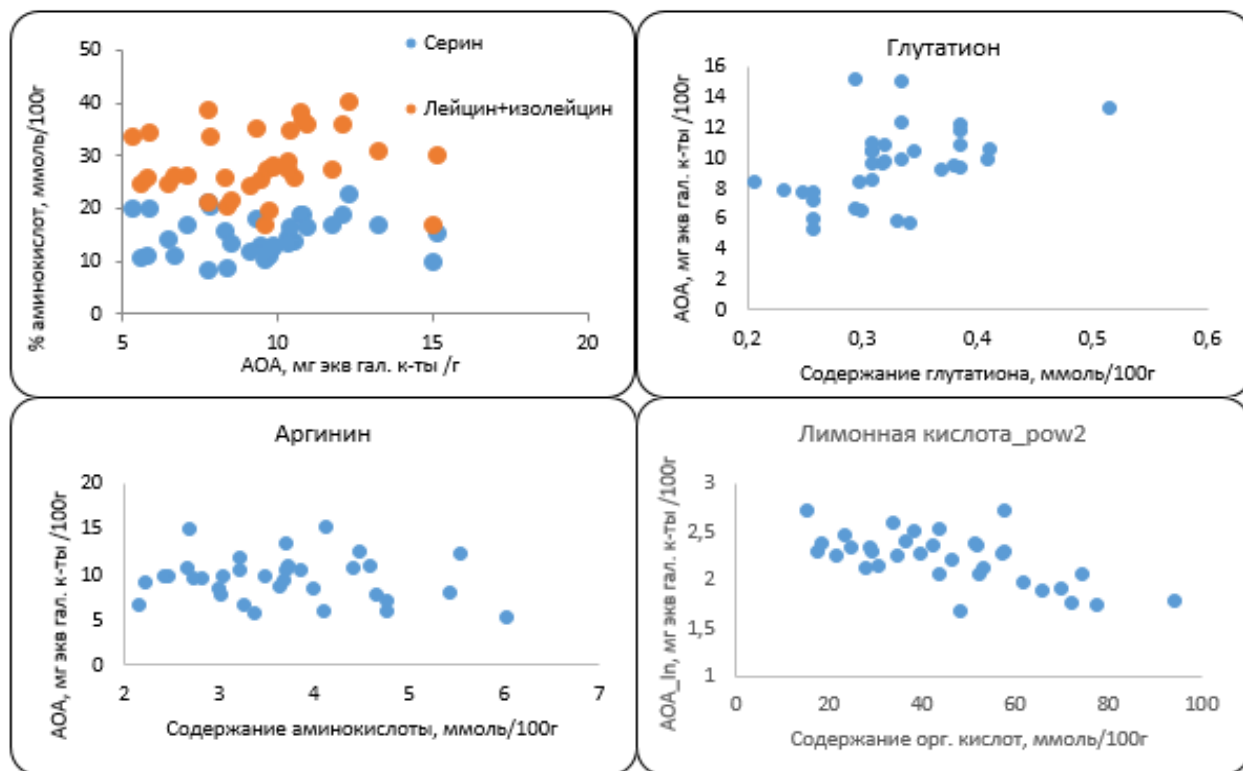


Рисунок 10 – Диаграммы рассеяния значимых метаболитов для показателя АОА

При этом в случае глутатиона общего и восстановленного не выявлено конкретных метаболитов, формирующих эти показатели. Поэтому принято решение включить значения глутатиона общего и восстановленного в перечень управляемых показателей (независимых переменных для последующего моделирования). На основании обработки массива экспериментальных данных с опорой на значения коэффициентов корреляции установлен линейный критерий, связывающий базовые переменные с целевым показателем АОА (1).

$$K_1 = \frac{(a_1^3 \cdot a_2^2)}{(a_3^3 \cdot a_4^{-2})}, \quad (1)$$

где a_1 – содержание лейцина+изолейцина, ммоль/л; a_2 – содержание молочной кислоты, ммоль/л; a_3 – содержание треонина, ммоль/л; a_4 – содержание аргинина, ммоль/л.

Графическое отображение зависимости целевого показателя от критерия представлено на рисунке 11.

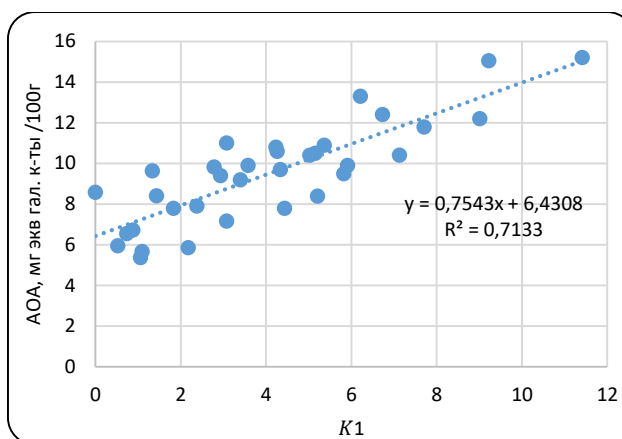
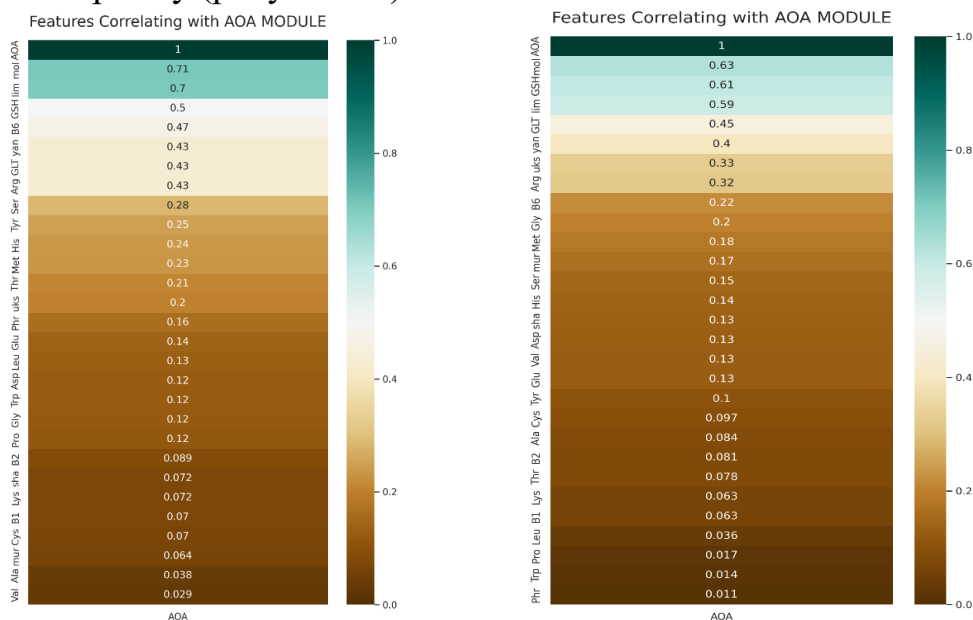


Рисунок 11 – Зависимость целевого показателя АОА от критерия

Использование сложной критериальной зависимости позволяет при повышении содержания соответствующих метаболитов МКМ повысить антиоксидантный потенциал, однако задача прогнозирования осталась нерешенной.

Для возможности прогноза антиоксидантного потенциала ферментированной молочной продукции проведен статистический анализ данных и представлена визуализация результатов.

В части влияния каждого из показателей на АОА установлено, что ни один из параметров самостоятельно не определяет антиоксидантный потенциал однозначно; для более полной картины следует оценить степень корреляции по Пирсону и Спирмену (рисунок 12).



по Пирсону

по Спирмену

Рисунок 12 – Распределение значимых метаболитов на показатель АОА

Анализ по Пирсону показал, что на показатель АОА наиболее существенное влияние оказывает содержание молочной и лимонной кислот, которые проявили себя в общем перечне переменных.

Оценка корреляции по Спирмену дополнительно выявила значимый вклад восстановленного глутатиона, что закономерно с учетом его антиоксидантного

эффекта. Однако степень корреляции, как и в случае анализа данных по Пирсону, невысокая (максимум 0,71), что определило необходимость поиска модели, которая могла бы более точно описать данные эксперимента, и применение которой стало бы возможным для установления значения АОА исходя из метаболитного профиля кисломолочного продукта.

Ввиду полученных результатов принято решение о применении метода машинного обучения «Дерево решений» (рисунок 13).

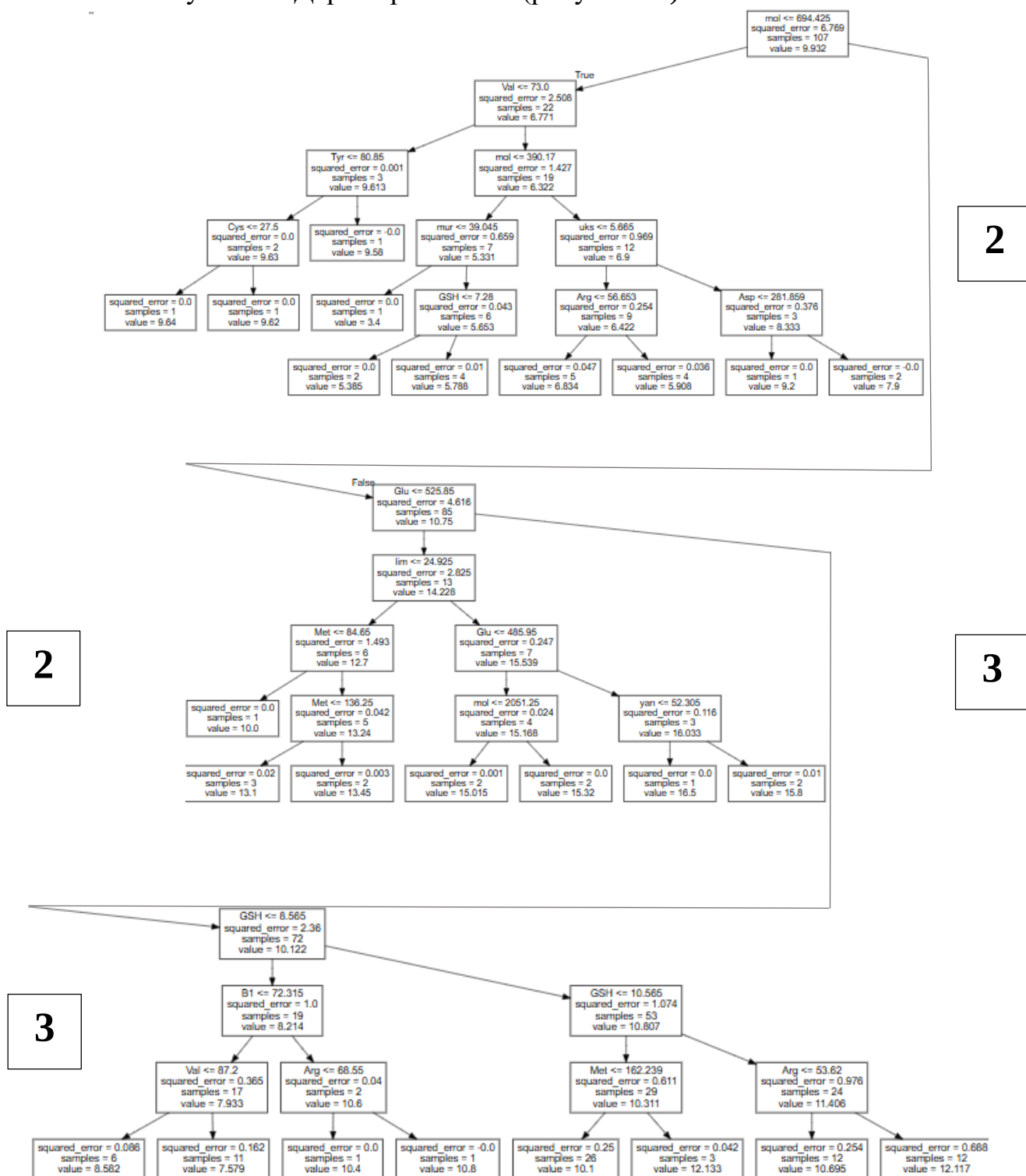


Рисунок 13 – Дерево решений для прогнозирования показателя антиоксидантной активности

Это наиболее удобный вариант предварительной оценки АОО кислomолочной продукции. Причем точность достигаемого результата на тренировочных данных составила 0,97, а на тестовых значениях – 0,95, что свидетельствует о высоком уровне работоспособности разработанной модели и возможном прогнозировании антиоксидантного потенциала через метаболитный профиль ферментированной молочной продукции.

Данную модель прогнозирования антиоксидантного потенциала взяли за основу последующих разработок кислomолочной продукции для повышения радиорезистентности организма.

В пятой главе представлены результаты разработки технологических решений, направленных на производство кислomолочных продуктов с повышенными радиорезистентными характеристиками. В качестве источников биологически активных соединений в исследовании применены мука семян расторопши пятнистой и мука из шрота подсолнечника, выбор которых обусловлен их доказанной АОО, подтвержденной данными научной литературы.

Данные минерального и витаминного состава муки из растительного сырья представлены на рисунке 14.

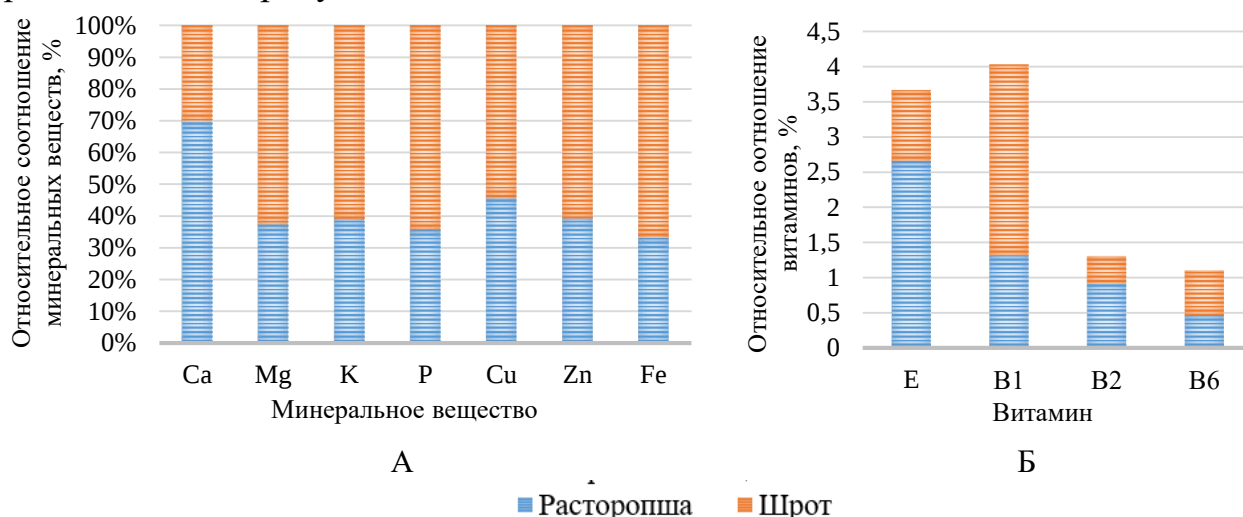


Рисунок 14 – Минеральный (А) и витаминный (Б) состав муки из растительного сырья

Установлены следующие закономерности элементного и витаминного состава: мука расторопши лидирует по содержанию Са, витамина Е и В₂ (превышение над шротом подсолнечника в 2,3...2,6 раза). В свою очередь, мука из шрота подсолнечника отличалась повышенным содержанием К и превосходила расторопшу по общему содержанию витаминов группы В (за исключением В₂).

Результаты оценки аминокислотного состава представлены на рисунке 15.

В результате экспериментальных исследований установлено, что мука из шрота подсолнечника существенно превосходит муку расторопши по суммарному и индивидуальному содержанию аминокислот. Наиболее значимые различия зафиксированы для глутаминовой и аспарагиновой кислот, а также серосодержащих аминокислот (цистина и метионина) и глицина.

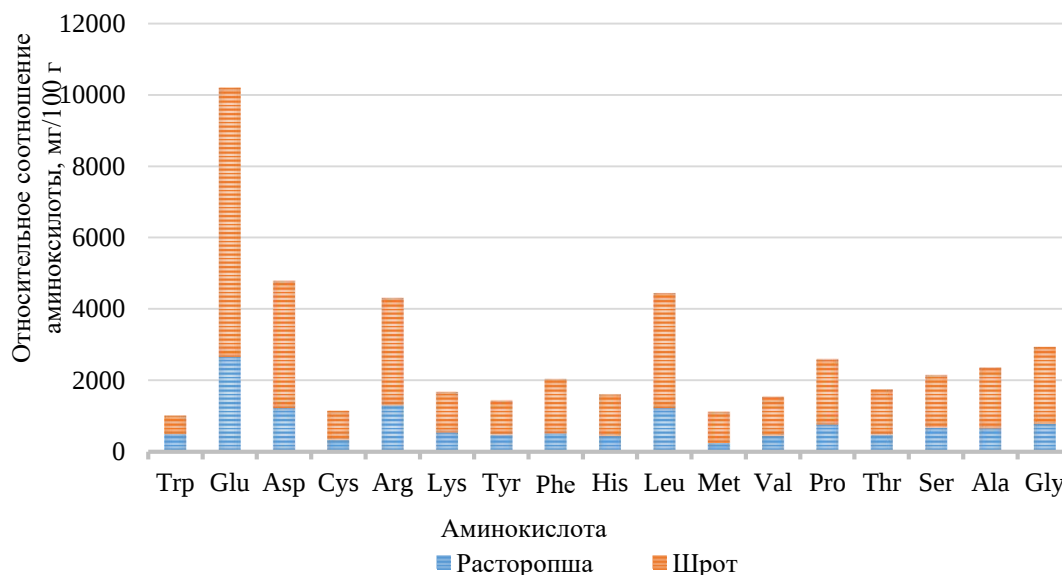


Рисунок 15 – Содержание аминокислот в растительном сырье

Указанные соединения рассматриваются как важнейшие регуляторы собственного антиоксидантного статуса организма, что обуславливает высокую биологическую ценность шрота подсолнечника.

С учётом доказанной роли жирных кислот как эффективных модуляторов радиорезистентности логическим этапом настоящего исследования явилась оценка жирнокислотного состава (ЖК-состава) муки из семян рапсоропши и муки из шрота подсолнечника. Результаты представлены на рисунке 16.

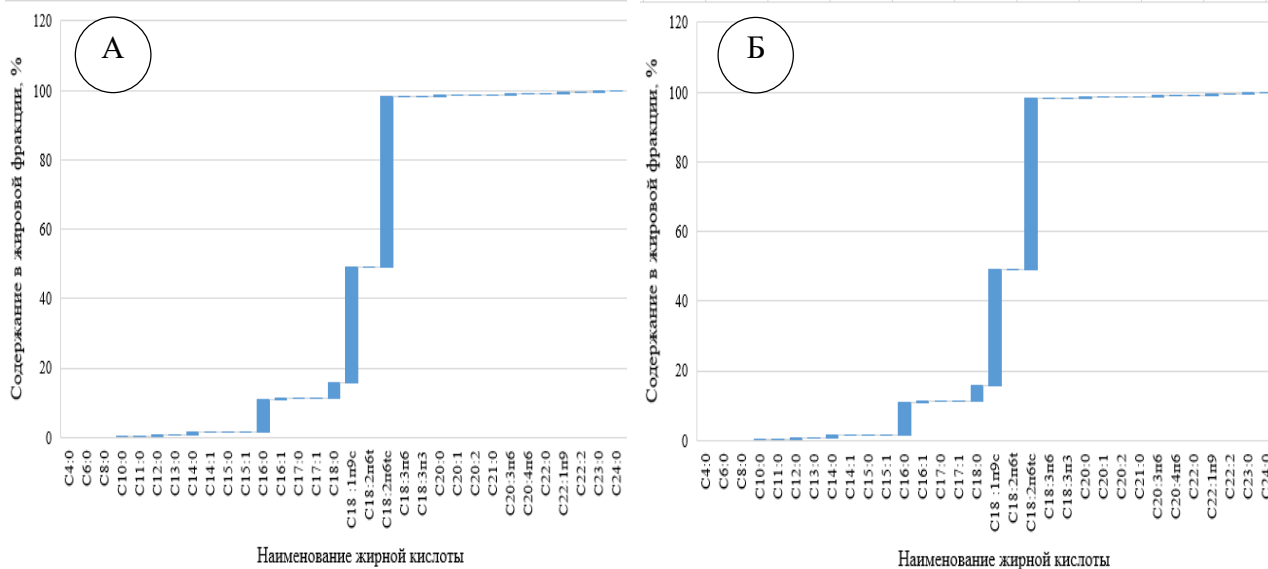


Рисунок 16 – ЖК-состав рапсоропши (А) и шрота подсолнечника (Б)

Сравнительный анализ показал качественное сходство ЖК-состава анализируемых образцов при некотором количественном превосходстве муки из шрота подсолнечника по содержанию олеиновой и линолевой кислот. Отсутствие арахидоновой кислоты является благоприятным фактором, поскольку она способна усугублять радиационно-индуцированные повреждения желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

По АОА мука из шрота подсолнечника достоверно превосходит расторопшевую (362 против 243 мг экв. галловой кислоты/100 г), что соответствует превышению порядка 50 %.

Полученные результаты показали, что изученные растительные компоненты характеризуются взаимодополняющим нутриентным профилем, что обосновывает целесообразность их комбинированного применения. Предполагается, что именно синергическое действие компонентов в составе разрабатываемой добавки обеспечит её максимальный потенциал в качестве стабилизатора антиоксидантной системы организма. В рамках эксперимента рассмотрены несколько вариантов соотношения муки из семян расторопши и муки из шрота подсолнечника (далее – Р:Ш).

Результат оценки АОА данных композиций представлен на рисунке 17.

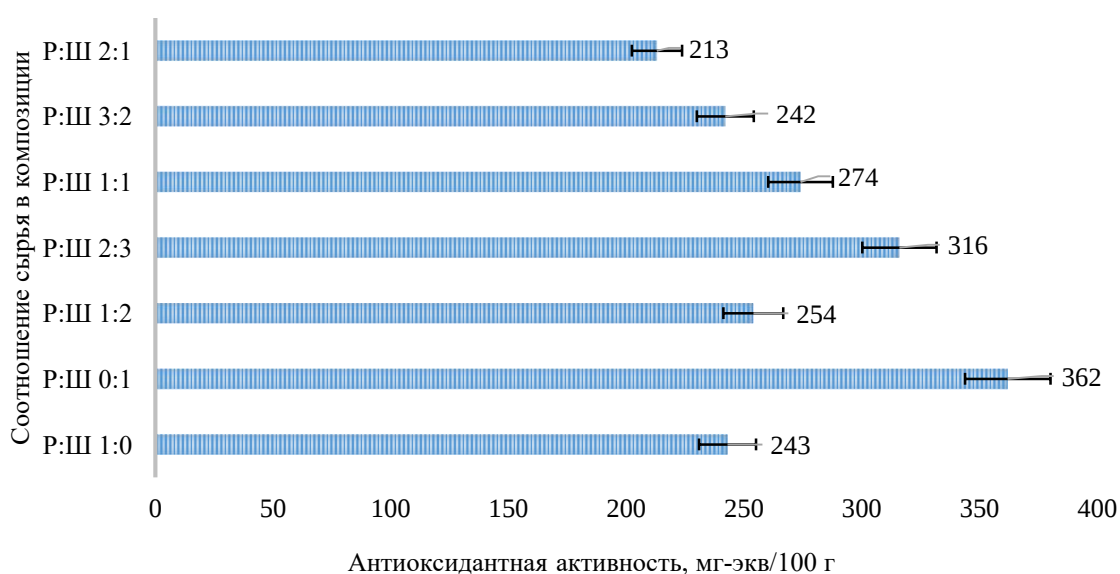


Рисунок 17 - Зависимость АОА от соотношения растительного сырья в композиции

В результате оптимизации соотношения компонентов установлено, что наибольшая АОА добавки достигается при массовом отношении расторопши к шроту, равном 2:3.

Для усиления адаптационного потенциала и повышения устойчивости организма к радиационным и иным стрессорным воздействиям в композицию ПД включены адаптогены оротат калия и рибоксин, которые активируют глутатионредуктазу и способствуют поддержанию пула восстановленного глутатиона. Рекомендуемый суточный диапазон доз рибоксина для энтерального применения составляет 0,6–2,4 г, а оротовой кислоты – не менее 0,6 г (0,8 г оротата калия) (в соответствии с МР 23.1.1915-04).

На рисунке 18 представлена принципиальная структурно-функциональная модель процесса получения ПД.

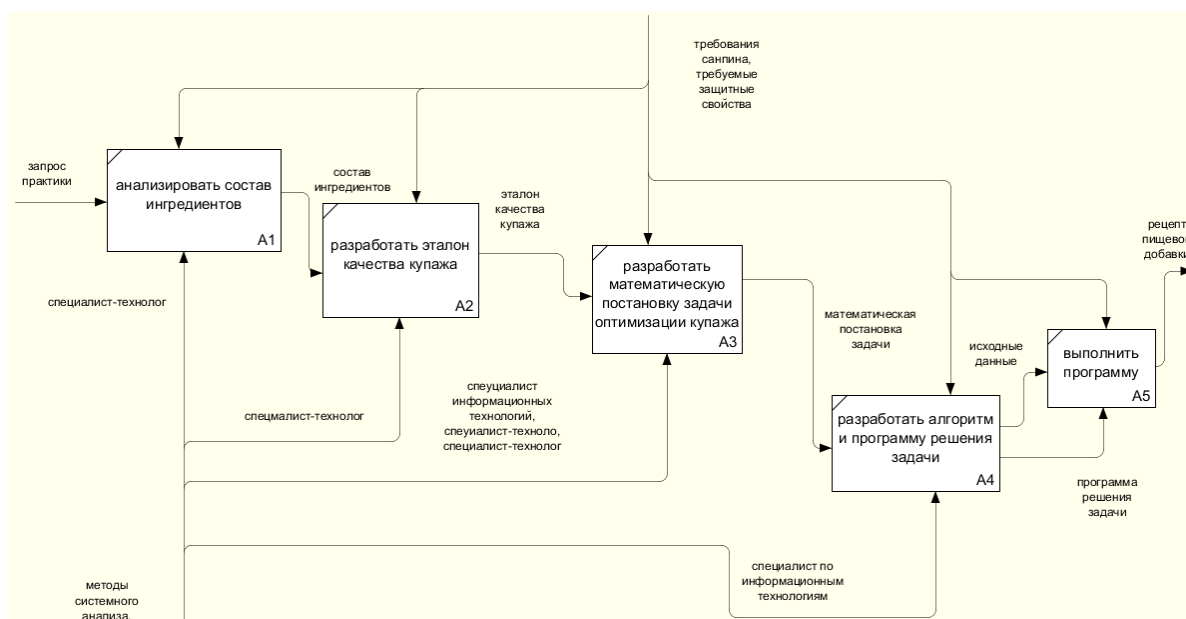


Рисунок 18 – Структурно-функциональная модель процесса моделирования ПД

Для коррекции АО статуса ПД в качестве требований к ее составу включены субстраты синтеза глутатиона, усиливающие глутатионредуктазную активность. Кофакторная поддержка ферментов антиоксидантной защиты обеспечивается витаминами группы В и токоферолом. В качестве адаптогенных модуляторов энергетического обмена и стимуляторов синтеза нуклеотидов введены оротовая кислота и рибоксин (инозин). Достижение значений, максимально приближенных к заданным, позволит получить композицию ПД, способную формировать и поддерживать антиоксидантный статус организма в условиях оксидативного стресса.

Таблица 10 – Требования к составу эталонной ПД

Наименование	<i>Etalon (j), %</i>
Glu, мг	3700
Asp, мг	1700
Cys, мг	400
Met, мг	400
Gly, мг	1000
E, мг	1
B1, мг	1,4
B2, мг	0,4
B6, мг	0,4
Оротовая кислота, B ₁₃ , г	10
Рибоксин, г	20

В качестве заданных параметров математической постановки задачи выступал вектор эталона качества продукта и набор ингредиентов добавки (формула 1).

$Ingr(i) = \langle ingr(i, j) \rangle, i = 1 \dots N, j = 1 \dots M,$ (1)
где, $ingr(i, j)$ – показатель качества j ингредиента i .

Для оценки разницы между эталоном и купажем применяли критерий оптимальности (формула 2):

$$Q = \sqrt{\sum_{j=1}^M (etalon(j) - qur(j))^2 / etalon(j)^2}, \quad (2)$$

где $qur(j)$ – значение элемента купажа.

Оптимальный вектор $X(k)$ соответствует ранее подобранному соотношению растительных компонентов, обеспечивающему максимум АОА, и минимизирует критерий оптимальности. В работе разработана программа решения поставленной задачи на языке C++Builder – рисунок 19.

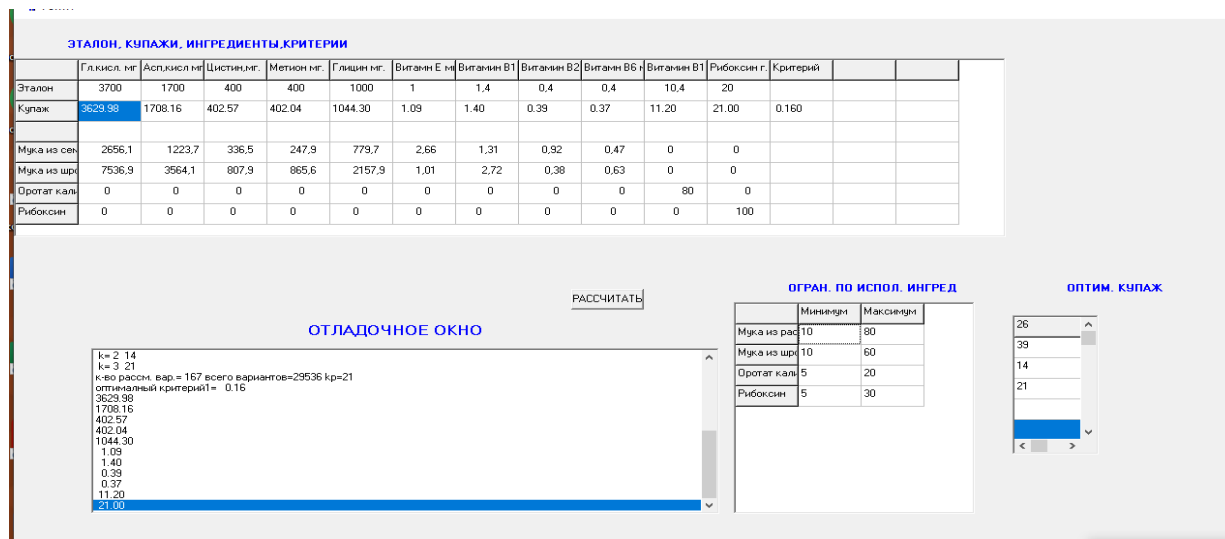


Рисунок 19 – Интерфейс программы решения поставленной задачи

В таблице 11 предложены ограничения по использованию каждого компонента ПД и результат решения поставленной задачи.

Таблица 11 – Требования к соотношению компонентов и результат моделирования (в расчете на 100%)

Компоненты ПД	Требования к содержанию компонента, %		Результат моделирования, %
	<i>Min (i)*</i>	<i>Max (i)*</i>	
Мука из семян расторопши	10	80	26
Мука из шрота подсолнечника	10	60	39
Оротат калия	5	20	14
Рибоксин	5	30	21

* *min (i)*, *max (i)* - минимально и максимально допустимое количество ингредиента в ПД

Исходя из результатов моделирования ПД, получено решение с критерием оптимальности 0,16, что означает высокий уровень приближения к эталону.

Перед внесением добавки в кисломолочную систему оценивали ее технологические свойства. Поскольку композиция содержит растворимую (рибоксин, оротат калия) и нерастворимую (мука семян расторопши и шрота подсолнечника) фракции, исследовали растворимость и степень набухания растительных компонентов в ранее обоснованном соотношении 2:3 (расторопша : шрот). В качестве среды использовали молоко для учета влияния коллоидной системы. Параметры обработки: температура 20, 40, 60, 80 °С, время выдержки 5–20 мин (рисунок 20). Установлено, что повышение температуры увеличивает степень набухания, а увеличение времени при той же температуре позволяет достичь сопоставимого эффекта за более короткий срок. Отмечено снижение степени набухания во времени, коррелирующее с ростом растворимости. Максимальная растворимость не превысила 15 %, что указывает на высокое содержание нерастворимых пищевых волокон.

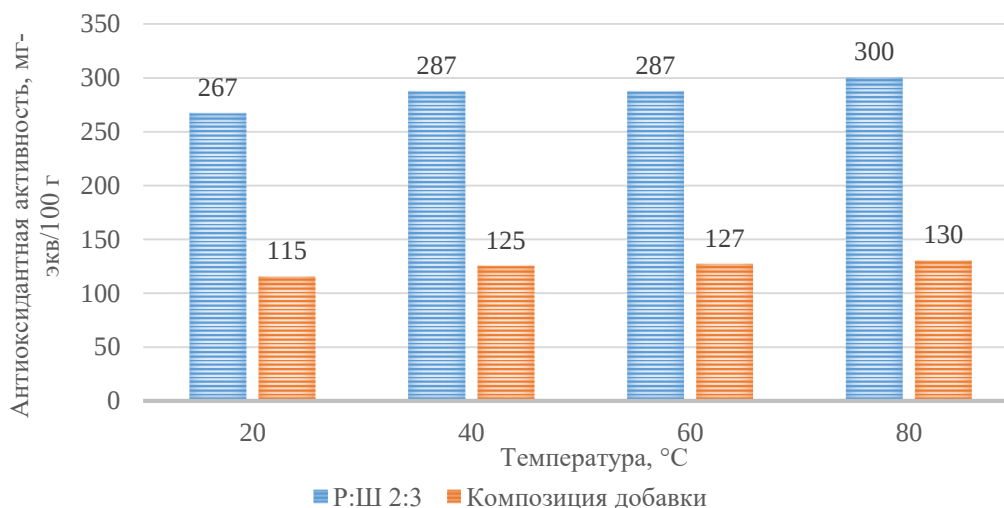


Рисунок 20 – Антиоксидантная активность композиции Р:Ш и ПД в зависимости от температуры предварительной подготовки

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что повышение температуры не оказало существенного влияния на показатель АОА, что подтверждает возможность внесения добавки до стадии пастеризации. Таким образом, выбран способ введения ПД путем внесения в молоко на этапе нагревания в процессе пастеризации при достижении его температуры 60 °C.

Исходя из проведенных ранее исследований, обосновано применение заквасочной композиции, включающей *LbA* (АЦ) и *StT* (11) в соотношении 3:1, а также возможность моновидового использования штаммов АЦ и А97, как проявивших максимальный положительный эффект в формировании антиоксидантного потенциала ферментированной молочной продукции.

Базовая технология модельного образца КМП основана на схеме производства ацидолакта, но с введением ПД на этапе гомогенизации/пастеризации молока (рисунок 21).

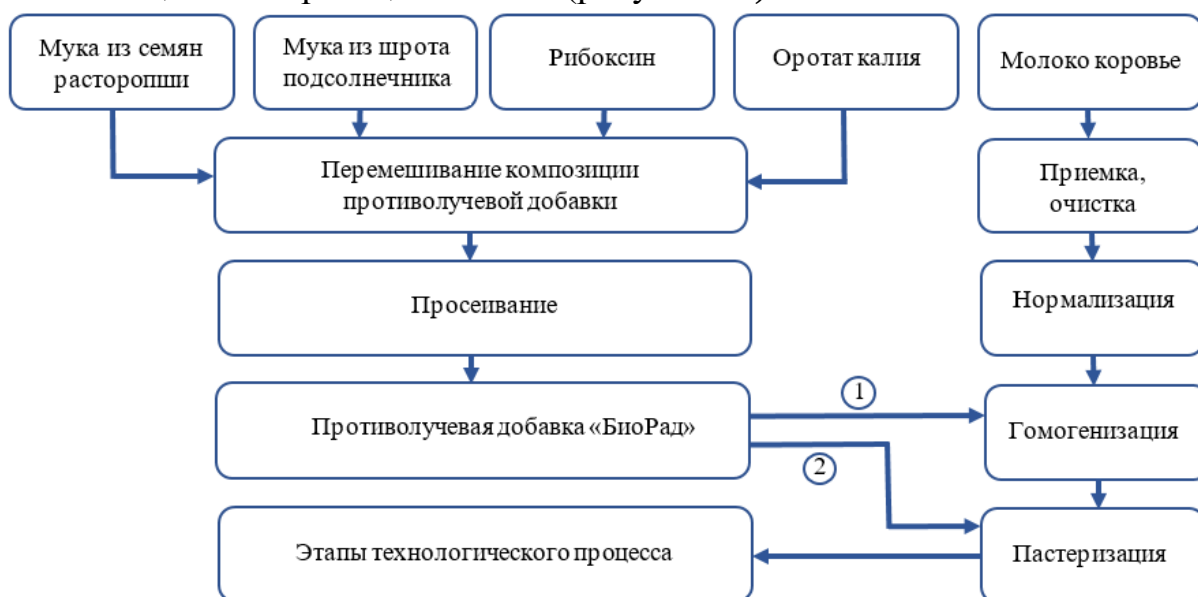


Рисунок 21 – Технологическая схема производства ПД и ее введения в модельные кисломолочные системы

Исследован антиоксидантный потенциал модельных образцов КМП. При этом ПД вносили в рецептурную смесь при 60 °С в концентрациях 1, 3, 5 и 7 %. Массовая доля закваски составляла 5 % для всех образцов. Оптимальную концентрацию определяли по антиоксидантному потенциалу готовых образцов; контроль – продукт без добавки.

Динамика показателей антиоксидантного потенциала в зависимости от закваски и концентрации ПД «БиоРад» в рецептуре кисломолочной системы представлена на рисунке 22.

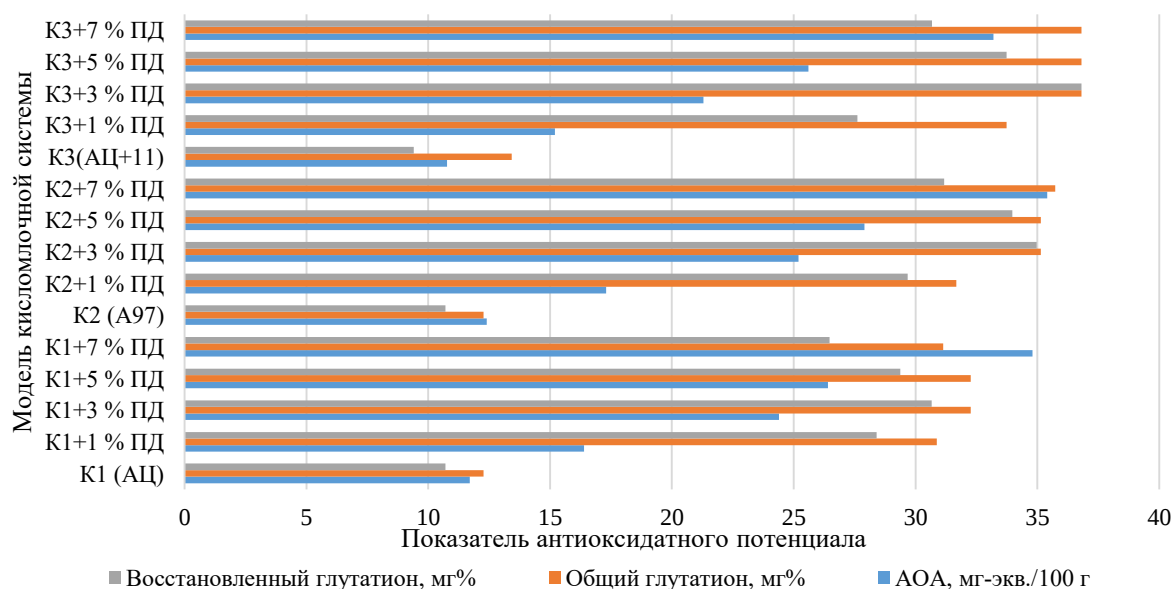


Рисунок 22 – Показатели антиоксидантного потенциала модельных кисломолочных систем в зависимости от закваски и количества добавки в рецептуре (Контроль 1 (К1) - АЦ, Контроль 2 (К2) – А97, Контроль 3 (К3) - АЦ+11 (3:1))

Установлено, что внесение ПД повышало АОА более чем в 3 раза относительно контрольных образцов для всех трёх заквасок, причём эффект носил дозозависимый характер. Однако увеличение концентрации усиливало вкус и аромат растительных компонентов, а консистенция всех образцов характеризовалась умеренной вязкостью. При содержании добавки >5 % появлялись излишне выраженные привкусы и отмечалось значимое повышение кислотности. Данная закономерность подтверждена для всех опытных образцов.

ПД способствовала увеличению общего глутатиона более чем в 2,5 раза, причём насыщение наступало при дозе внесения 3 % – что свидетельствует о достаточности питательных субстратов для заквасочных микроорганизмов. Во всех трёх вариантах заквасок именно при этой концентрации весь глутатион присутствовал в восстановленной форме. Данный фактор послужил решающим для выбора 3 %-ной дозировки. В работе образцы маркированы следующим образом: КМП 1 – АЦ, КМП 2 – А97, КМП 3 – АЦ:11 (3:1).

Общий синергетический эффект от совместного использования заквасочных культур и ПД представлен на рисунке 23.

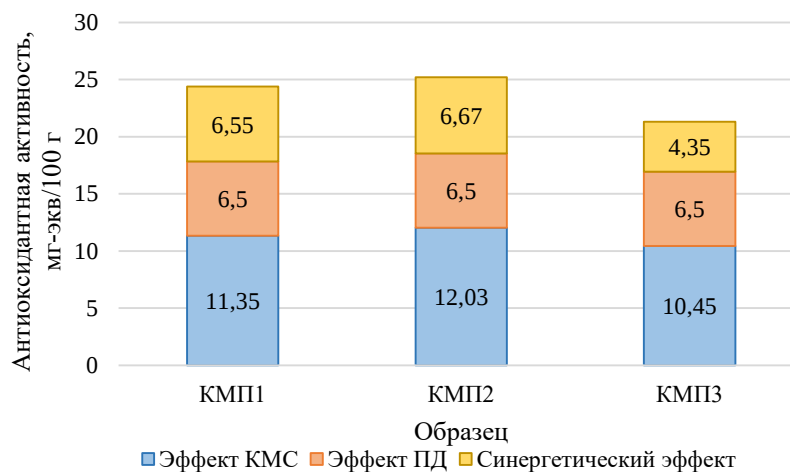


Рисунок 23 – Синергетический эффект заквасочных культур и противолучевой добавки «БиоРад»

Результаты оценки антиоксидантного потенциала кисломолочных продуктов с использованием ПД «БиоРад» продемонстрировали положительный синергетический эффект относительно показателя антиоксидантной активности, что обусловлено дополнительным обогащением кисломолочных систем источниками стабилизации и повышения их антиоксидантного статуса за счет жизнедеятельности МКМ.

Оценка витаминного состава модельных образцов кисломолочных систем представлена в таблице 12.

Таблица 12 – Витаминный состав модельных образцов кисломолочных систем

Витамин	Фактическое значение, мг/100 г					
	К1	КМП 1	К2	КМП 2	К3	КМП 3
Витамин Е	-	4,2	-	4,2	-	
Витамин В ₁					72,73	
Витамин В ₂					198,04	
Витамин В ₆	<0,01		<0,01		2,61	6,17
Витамин В ₁₃						

Установлено положительное влияние добавки на витаминный профиль (Е, В₁, В₁₃), обусловленное как вносимыми витаминами, так и синтезирующей активностью МКМ в отношении витаминов группы В. Особенно стоит отметить повышение содержания витаминов В₁ и В₂. Изменения в содержании витамина В₁₃ связаны исключительно с применением в композиции добавки оротата калия.

Сравнительная оценка аминокислотного состава по основным аминокислотам, определяющим антиоксидантный потенциал образцов модельных кисломолочных систем, представлена на рисунке 24.

Результаты исследований продемонстрировали существенное повышение содержания большинства анализируемых биологически активных веществ. Что касается аминокислот, то можно заметить значительные изменения в содержании таких, как Glu, Cys, Gly, которые непосредственно участвуют в синтезе глутатиона, и, как следствие, в стабилизации антиоксидантной защиты организма в условиях оксидативного стресса.

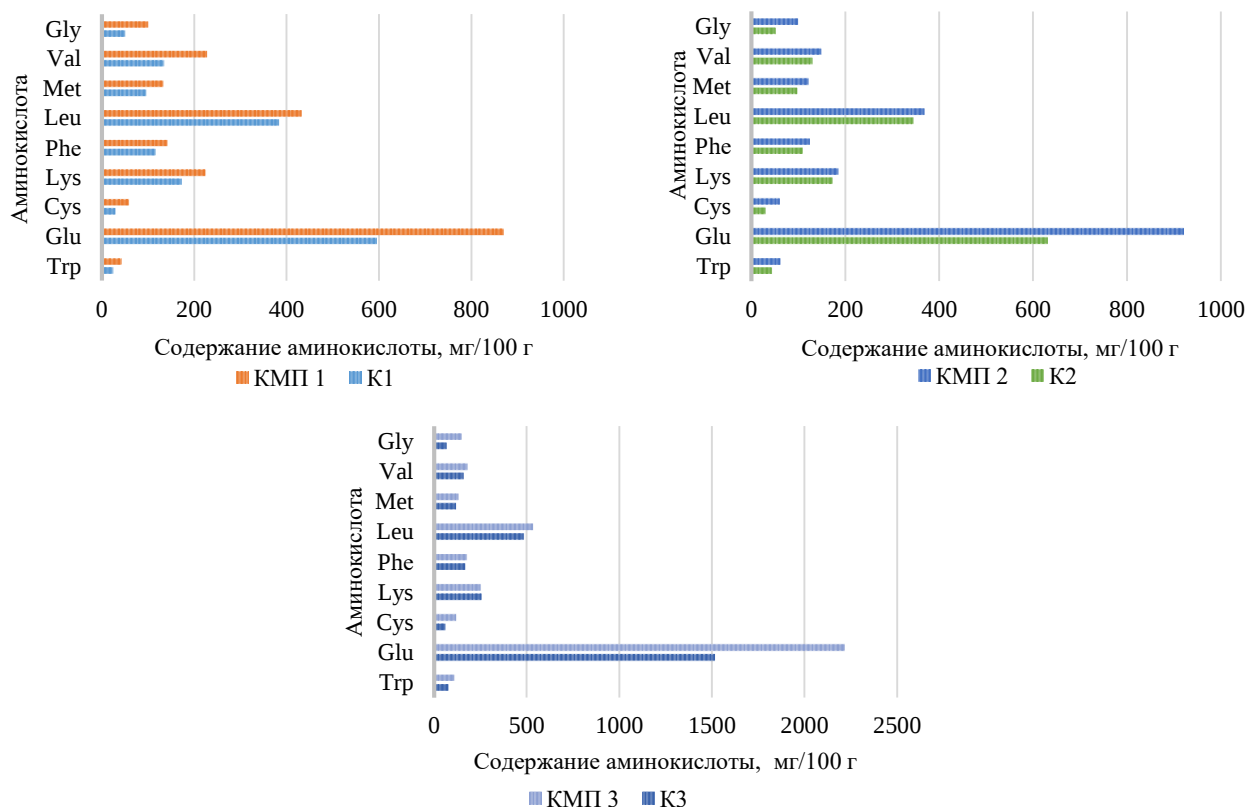


Рисунок 24 – Содержание аминокислот, определяющих антиоксидантный потенциал

Таким образом, кисломолочные системы с использованием ПД при ежедневном употреблении должны усилить АО защиту человека за счет непосредственного внесения антиоксидантов растительного происхождения, а также поддержать ее стабильную работу посредством дополнительного обогащения нутриентами, необходимыми для синтеза глутатиона, количество которого неизбежно снижается в условиях окислительного стресса, вызванного повреждающими воздействиями.

В **шестой главе** проведена оценка радиопротекторной эффективности кисломолочных систем в условиях ионизирующего излучения. В эксперименте участвовало 8 групп половозрелых самцов крыс Wistar 10-12 недельного возраста. Доза облучения 3 Гр при мощности дозы 0,5 Гр/мин.

Животных 2-8 групп на 7 день подвергали тотальному воздействию гамма-излучения (^{60}Co). При этом группа 2 оставалась на стандартном рационе. Группы 3-5 за 7 дней до облучения получали дополнительно к рациону кисломолочные системы (К1 – АЦ, К2 – А97, К3 – АЦ+11), а группы 6...8 – кисломолочные системы с ПД (КМП1 – АЦ+ПД, КМП2 – А97+ПД, КМП3 – АЦ+11+ПД) внутрижелудочно при помощи металлического атравматического зонда дважды ежедневно. Первая группа – контроль на обычном рационе без облучения. Доза введения ПД для животного – 2,94 г/кг массы тела в сутки.

По результатам взвешивания экспериментальных животных на контрольных точках отмечалась отрицательная динамика. У животных 3 и 4 групп снижение массы тела происходило резче, что может свидетельствовать о более сильной интоксикации организма. На 15-е сутки эксперимента в группах 6

и 7 наблюдалось восстановление массы тела и ее постепенное наращивание, что, возможно, связано с адаптацией животных к вводимым образцам, а также положительным влиянием ПД на восстановление организма в условиях ионизирующего излучения. При этом в группах 5 и 8 отсутствовали статистически значимые отличия по массе от группы облученных животных 2, что свидетельствует об отсутствии интоксикации организма до облучения. После облучения животные групп 3 и 4 пали, что могло стать следствием как самого ионизирующего излучения на биообъект, так и выраженной интоксикации при применении тестируемых образцов до воздействия. При этом существенное снижение массы тела экспериментальных животных до процесса облучения уже свидетельствовало об ответной реакции организма именно на тестируемые образцы, и включение в питание кисломолочных продуктов в профилактических целях могло спровоцировать активную реакцию ослабленного организма на ионизирующее воздействие.

По результатам проведенной некропсии павших животных макроскопически визуализировались признаки острого катарального энтероколита, у некоторых – геморрагического. Можно предположить, что выраженная интоксикация и последующая гибель животных групп 3 и 4 связаны с индивидуальной реакцией на монокультуры *L. acidophilus*, в оптическом профиле которых присутствовала D(-)-форма. Не исключено, что D(-)-изомер, медленнее метаболизирующийся в ЖКТ, мог способствовать развитию начальной стадии метаболического ацидоза у наиболее чувствительных особей. Существенно, что в группах, получавших смешанную закваску (группа 5) или кисломолочную систему с ПД (группы 6–8), подобной картины не наблюдалось, что подтверждает правильность выбранной стратегии комбинирования культур и обогащения продукта.

Во всех группах через сутки после облучения динамика показателей гематологического анализа крови показала прогнозируемое статистически значимое снижение количества лейкоцитов с повышением относительного количества нейтрофилов, отвечающих за иммунный ответ организма на воздействие, нарушающее стабильность организма. При этом в группе 1 показатели крови оставались стабильными на протяжении всего эксперимента. На рисунке 25 представлена динамика содержания лейкоцитов и относительного содержания нейтрофилов в крови животных по дням эксперимента.

Резкое повышение уровня лейкоцитов до облучения у животных групп 3, 4, 6 и 7 свидетельствует о выраженной реактивной ответной реакции организма на вводимые препараты, причем в группах 6 и 7 (с ПД) этот ответ был слабее и сопровождался более быстрой нормализацией массы тела, тогда как в группах 5 и 8 данная тенденция не выявлена. После острого облучения на 1-е и 8-е сутки отмечалось прогнозируемое статистически значимое снижение количества лейкоцитов в крови (лейкопения). Повышение относительного содержания нейтрофилов, ответственных за формирование иммунного ответа организма на воздействия, нарушающие гомеостаз, наблюдалось на 8-е сутки у всех облученных животных.

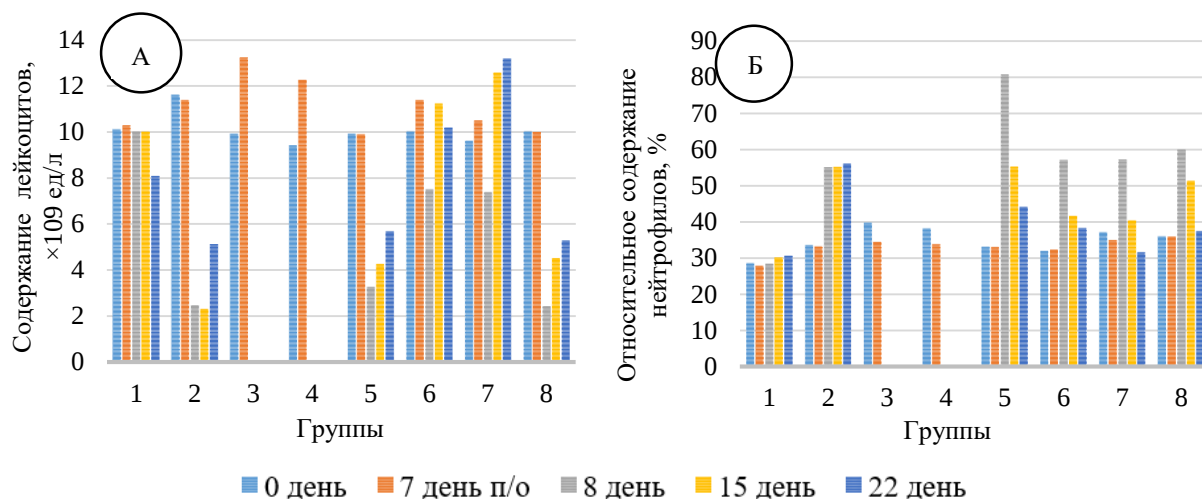


Рисунок 25 - Динамика содержания лейкоцитов (А) и нейтрофилов (Б) в крови животных

Комплексная обработка показателей гематологического анализа крови позволяет оценить состояние иммунной системы организма и его адаптационные возможности в условиях воздействия стрессорных факторов. С этой целью используются гематологические индексы клеточной реактивности – индекс иммунореактивности (ИИР) и индекс Гаркави (ИГ) (рисунок 26).

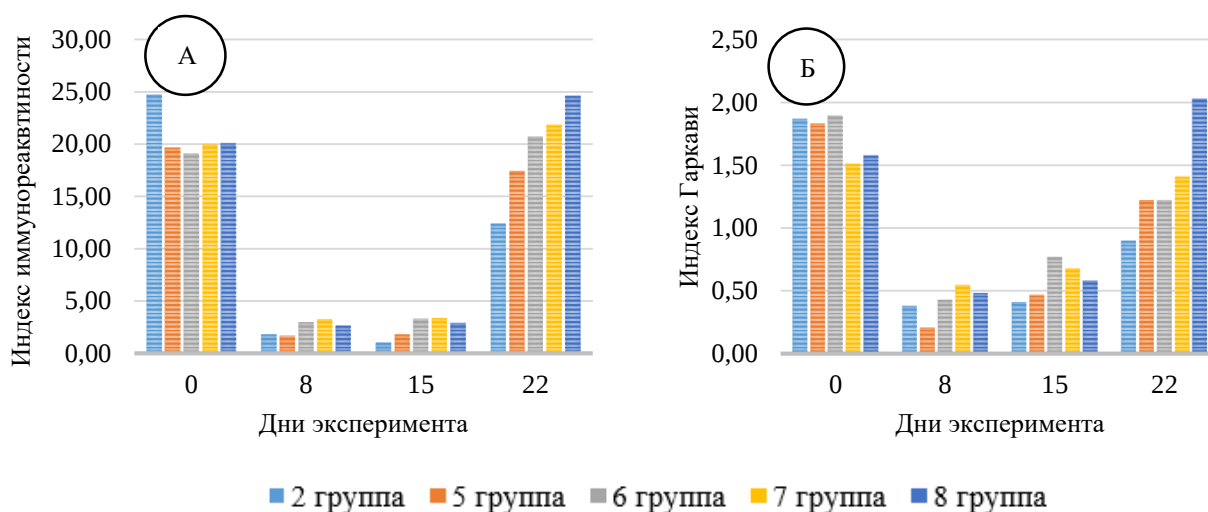


Рисунок 26- Динамика индексов клеточной реактивности
А – индекс иммунореактивности, Б – индекс Гаркави

Из данных следует, что ИИР на первые сутки после облучения резко снизился во всех исследуемых группах, что указывает на дефицит цитокинов и ограниченность резервов к адаптации. К 22-му дню эксперимента показатели 2 группы не восстановились до фонового значения и не вошли в диапазон адекватности коэффициента (18,1-37,4). В группе 5 индекс повысился, но не достиг уровня адекватности; в группах 6-8 значение коэффициента восстановилось относительно фоновых значений, что свидетельствует о восстановлении иммунной системы организма за счет включения в рацион кисломолочного напитка с ПД.

Значение ИГ соответствовало состоянию стресса организма, и на 8-й день эксперимента наблюдалось его снижение во всех облученных группах до показателя ниже 1, что свидетельствует об активной фазе стресс-реакции. По завершении эксперимента в группе 2 значение индекса повысилось, но осталось на уровне 0,9, сохраняя стресс-реакцию у животных. В группах 5-7 индекс превысил значение 1, что определяет режим тренировки восстановительных реакций организма, а в группе 8 достиг значения 2, свидетельствуя об активации иммунной системы в условиях ионизирующего излучения.

О восстановительной способности организма свидетельствуют показатели антиоксидантной защиты организма, такие как содержание в крови малонового диальдегида, глутатиона общего и показатель общей антиоксидантной активности (рисунки 27, 28).

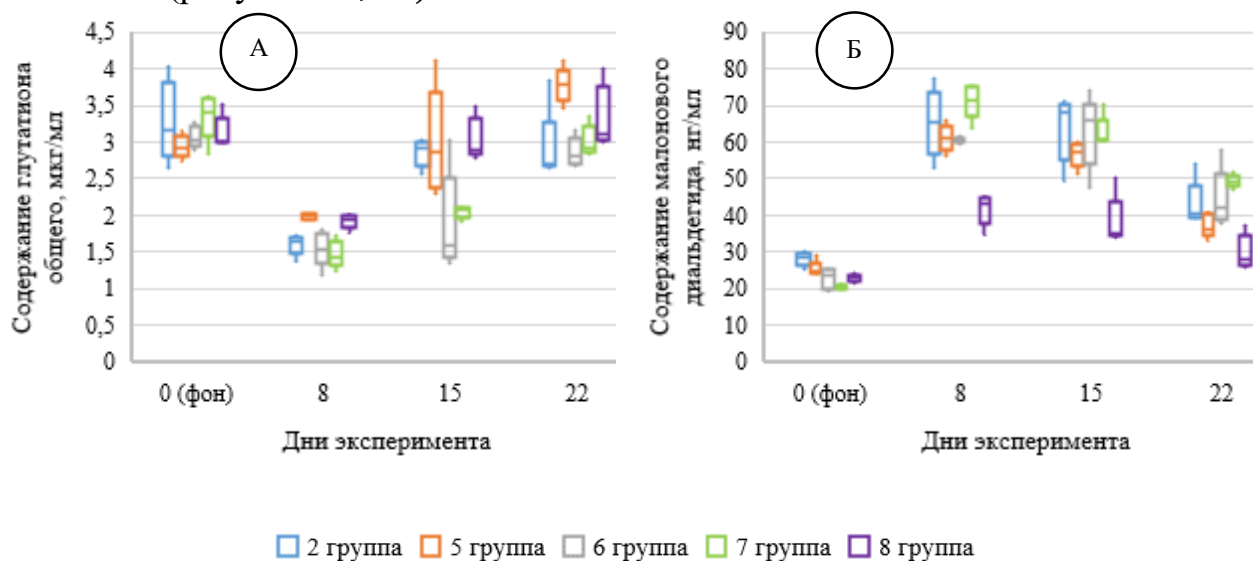


Рисунок 27- Динамика содержания малонового диальдегида (А) и общего глутатиона (Б) в сыворотке крови

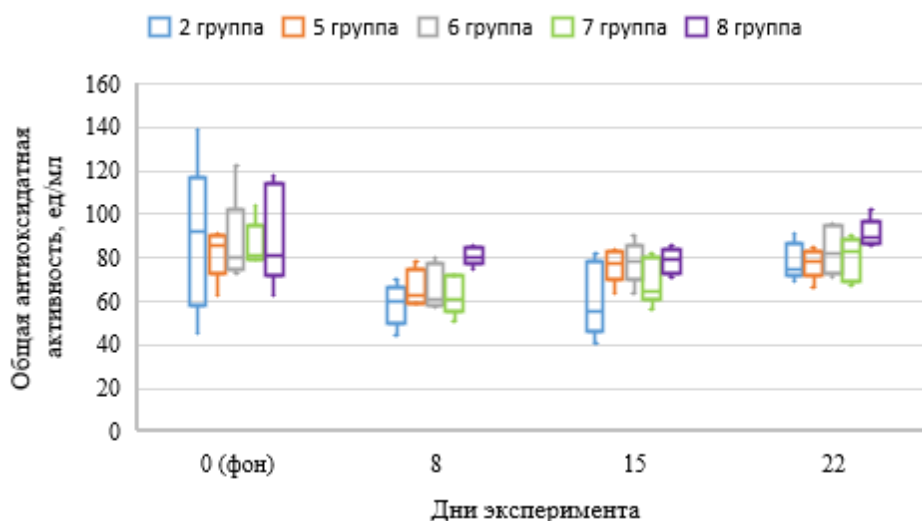


Рисунок 28 - Динамика изменения общей антиоксидантной активности сыворотки крови

У всех облученных групп на 8-й и 15-й день эксперимента отмечалось статистически значимое увеличение уровня малонового диальдегида (МДА), за

исключением группы 8. На всём протяжении периода наблюдений уровень МДА в крови животных этой группы был немного выше фонового значения, но оставался стабильным с тенденцией к понижению к концу эксперимента, что свидетельствует о стабилизации антиоксидантной системы организма.

Уровень общего глутатиона в сыворотке крови через сутки после облучения понизился у животных всех групп ввиду включения иммунной системы вследствие неблагоприятного воздействия. Однако к концу эксперимента наблюдалось восстановление количества глутатиона в крови, особенно в группах 5 и 8.

У экспериментальных групп, подвергшихся облучению, на 1-е сутки ожидаемо отмечалось статистически значимое снижение уровня общей АОА сыворотки крови, при этом в группах 5-8 уже на 15-й день эксперимента наблюдалось существенное повышение данного показателя. К концу эксперимента наиболее высокий уровень стабилизации АОА наблюдался у животных группы 8.

По динамике ферментативной системы антиоксидантной защиты установлено, что во всех экспериментальных группах отмечалось существенное снижение содержания основных компонентов системы глутатиона в крови с умеренным восстановлением показателей к 15-му дню эксперимента у животных, в рацион которых вводили кисломолочные системы с ПД.

Таким образом, оценка динамики показателей антиоксидантного статуса биологических объектов свидетельствует о положительном влиянии исследуемого образца на поддержание и стабилизацию защитной системы организма, сопровождаемом менее интенсивной реакцией объектов на повреждающие воздействия.

В **седьмой главе** представлена практическая реализация результатов исследований. Сформированный научно-технический задел, приведённый в предыдущих главах, позволил разработать технологию получения противолучевой добавки «БиоРад» для применения в производстве молочной продукции (СТО 00419785-074/1-2024).

С учетом потребительских предпочтений целевой аудитории, общепринятых подходов к обогащению пищевой продукции функциональными ингредиентами, а также обеспечения требуемых технологических свойств сформирована оптимальная ассортиментная структура молочной продукции с использованием ПД «БиоРад», позволяющей за счет входящих в нее компонентов (мука из семян расторопши, мука из шрота подсолнечника, оротовая кислота и рибоксин) обеспечить повышение содержания аминокислот, и, как следствие, глутатионсодержащую компоненту кисломолочной системы.

Применение ПД в линейке продукции «БиоРад» отразилось в виде следующих технологических решений: ацидофильный напиток, кефир, йогурт питьевой, творог, паста творожная и десерт творожный.

На весь ассортимент продукции «БиоРад» разработана документация по стандартизации, позволяющая внедрить производство специализированной продукции на предприятиях отрасли (таблица 19).

Таблица 19 – Основные научно-технические разработки

№	Наименование	Техническая документация
1	Противолучевая добавка «БиоРад»	СТО 00419785-074/1-2024
2	Ацидофильный напиток «БиоРад»	СТО 00419785-074/2-2024
3	Кефир обогащенный «БиоРад»	СТО-00419785-090-2025
4	Йогурт «БиоРад»	СТО 00419785-091-2025
5	Творог обогащенный «БиоРад»	ТУ 10.51.40-117-00419785-2026
6	Паста творожная «БиоРад»	ТУ 10.51.56-118-00419785-2026
7	Десерты творожные «БиоРад»	ТУ 10.51.56-119-00419785-2026

РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Подтверждена концепция, основанная на принципах формирования антиоксидантного потенциала ферментированной молочной продукции как прогнозируемого параметра, базирующихся на биологической активности заквасочных микроорганизмов и возможности целенаправленной модуляции метаболитного профиля посредством использования дополнительных биологически активных веществ для повышения радиорезистентности организма.

2. Теоретически обосновано, что для стабилизации антиоксидантной защиты организма в условиях оксидативного стресса возможно применение принципов превентивной медицины через включение в рацион ферментированной молочной продукции, обладающей эндогенным антиоксидантным потенциалом, а также обогащенной дополнительными адаптогенами и антиоксидантами.

3. Осуществлен комплексный анализ и систематизация показателей биологической активности молочнокислых микроорганизмов (*L. acidophilus* и *S. thermophilus*) с позиции их влияния на формирование антиоксидантных свойств кисломолочных систем. Установлена штаммоспецифичность кислотообразующей, витаминсинтезирующей, глутатионсинтезирующей и ферментативной активности. Показано, что штаммы *LbA* (АЦ и А97) и *StT* (11 и 14) обладают наиболее выраженным протекторным потенциалом, что подтверждено корреляционным анализом с интегральными показателями антиоксидантной активности (АОА) и содержанием глутатиона. Для объективной оценки ферментативной активности разработана программа для ЭВМ «Интерпретация качественной оценки ферментативной активности» (свидетельство № 2026668495), позволяющая на основе функции желательности Харрингтона стандартизовать процедуру оценки ферментативных профилей штаммов и исключить субъективизм при полуколичественном анализе с использованием тест-системы API ZYM.

4. Обоснован выбор оптимального консорциума заквасочных культур *LbA* (штамм АЦ) и *StT* (штамм 11) в соотношении 3:1, обеспечивающего синергетический эффект по накоплению аминокислот – предшественников глутатиона (Glu, Cys, Gly) и смещение оптической характеристики молочной

кислоты в сторону физиологически активной L(+)-формы, что подтверждено увеличением доли восстановленного глутатиона до 85-91 % и ростом АОА по сравнению с моновидовыми вариантами.

5. Установлены критерии-комплексы, определяющие антиоксидантный потенциал кисломолочных систем с применением методов кластеризации (к-средних, РСА) и корреляционного анализа. Выявлены наиболее значимые метаболиты-маркеры, на основе которых построен линейный критерий K_1 , позволяющий количественно оценивать вклад аминокислотного и органического профиля в итоговую АОА.

6. Разработан алгоритм прогнозирования антиоксидантного потенциала с использованием метода машинного обучения «Дерево решений». Модель, обученная на экспериментальных данных (126 образцов и 26 признаков), демонстрирует точность на тренировочной выборке 0,97 и на тестовой 0,95, что подтверждает ее практическую пригодность для предварительной оценки АОА ферментированной молочной продукции по метаболитному профилю без проведения трудоемких анализов.

7. Разработан с помощью математического моделирования оптимальный композиционный состав противолучевой добавки «БиоРад», включающий муку из семян расторопши (26 %), муку из семян шрота подсолнечника (39 %), оротат калия (14 %) и рибоксин (21 %). Достигнуто максимальное приближение к эталонному составу (критерий оптимальности 0,16), при этом синергизм растительных и синтетических компонентов обеспечивает повышение АОА более чем в 1,5 раза по сравнению с монокомпонентами. Для автоматизации расчетов разработана программа для ЭВМ «Оптимизация композиционного состава функциональной добавки» (свидетельство № 2025686889).

8. Экспериментально обосновано использование противолучевой добавки в технологии кисломолочной продукции. Установлено, что температурный нагрев до 85 °С не оказывал негативного влияния на проявление стабильных антиоксидантных свойств добавки, и корреляционно сокращал время достижения максимальных показателей набухания и растворимости в среднем на 25 %. Доказано, что внесение добавки оказывало положительное влияние на проявление антиоксидантного потенциала кисломолочных систем: содержание глутатиона повысилось во всех образцах почти в 2,5 раза, показатель антиоксидантной активности – более чем в 3 раза. Оптимальная доля внесения добавки составила 3 % от массы смеси без существенного влияния на органолептические показатели кисломолочных систем с достижением уровня восстановленного глутатиона почти 100 %.

9. Доказан положительный эффект разработанных кисломолочных систем с противолучевой добавкой в условиях острого гамма-облучения (3 Гр) в эксперименте *in vivo* на крысах линии Wistar. Установлено, что включение в рацион опытных образцов (КМП 1–3) способствует ингибированию перекисного окисления липидов (снижение малонового диальдегида на 30 - 40 %), восстановлению уровня общего глутатиона и общей АОА сыворотки крови до фоновых значений, нормализации гематологических индексов (индекс

иммунореактивности и индекс Гаркави) и повышению выживаемости по сравнению с контрольными группами. Наиболее выраженный радиопротекторный эффект зафиксирован для композиции на консорциуме АЦ:11 с добавкой (группа 8).

10. Разработаны и внедрены технологические решения, а также нормативно-техническая документация (СТО и ТУ) на линейку специализированной кисломолочной продукции «БиоРад» (ацидофильный напиток, кефир, йогурт, творог, паста и десерт творожные), направленной на повышение стрессоустойчивости организма в неблагоприятных условиях окружающей среды. Проведена промышленная апробация разработанных технологий на предприятиях отрасли, результаты которой подтвердили возможность их внедрения без внесения конструктивных изменений в существующие технологические линии.

11. Обоснована целесообразность внедрения специализированной продукции, направленной на повышение радиорезистентности организма, которая представляет собой стратегическую инвестицию в биобезопасность и сохранение человеческого капитала, что обуславливает экономическую эффективность за счет предотвращения гипотетических колоссальных издержек.

Список трудов, опубликованных по материалам диссертации Монографии, главы в монографиях и учебниках

1. Бычкова Т.С. О функциональных продуктах из молочного сырья/ Т.С. Бычкова, Г.А. Донская// Грани молочной науки: эволюционные императивы и детерминанты развития. Коллективная монография. Под общей редакцией академика РАН, доктора технических наук Галстяна А.Г. – М.: ВНИМИ, 2024. – 320 с.

Статьи в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования Web of Science и Scopus

2. Gorbachev V., Nikitin I., Velina D., Klokonos M., Mutallibzoda Sh., Tefikova S., Orlovtsseva O., Ivanova N., Posnova G., Bychkova T., Zabalueva Yu., Matsikova O. Rosebay willowherb (chamerion angustifolium) in food products: evaluation of the residual anti-radical activity of polyphenol compounds and n-acetylcystein //Current Nutrition and Food Science. 2024. T. 20. № 2. С. 220-226.

3. Nikiforov-Nikishin D., Antipov S., Kochetkov N., Nikiforov-Nikishin A., Bychkova T. Evaluation of secretory activity in carp pancreatocytes (Cyprinus carpio l.) when using lactobacillus-based chelate and probiotic supplemental feed complexes // Brazilian Journal of Biology. 2023. T. 83. С. e250219.

Статья в журналах, индексируемых в Белом списке

4. Бычкова Т.С. Оценка ответной реакции лабораторных животных на кисломолочные продукты, ферментированные монокультурной закваской *L. acidophilus* / Т.С. Бычкова, Г.А. Донская, М.Ю. Копаева, А.В. Рыбакова // Биотехнология. 2025. Т. 41. № 5. С. 89-96.

5. Бычкова Т.С. Зависимость аминокислотного профиля и антиоксидантного потенциала кисломолочных продуктов от ферментативной активности молочнокислых микроорганизмов / Т.С. Бычкова, Е.М. Крутина, Ю.А. Дягилева // Пищевая метаинженерия. 2025. Т. 3. № 3. С. 39-52.

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК

6. Бычкова Т.С. Принципы разработки технологий кисломолочной продукции с повышенным антиоксидантным потенциалом / Т.С. Бычкова, Н.С. Пряничникова, В.К. Семипятный, А.В. Косарева // Пищевая промышленность. 2026. № 9. С. 16-20

7. Бычкова Т.С. Алгоритм прогнозирования антиоксидантного потенциала при разработке специализированной кисломолочной продукции / Т.С. Бычкова, Н.С. Пряничникова, С.В. Мотылев // Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов. 2026. № 4 (17). С. 33-40.

8. Бычкова Т.С. Влияние различных культур молочнокислых микроорганизмов и их консорциумов на метаболитный профиль кисломолочной продукции/ Т.С. Бычкова, Е.М. Крутина // Пищевая промышленность, №2, 2026 С. 122-127

9. Бычкова Т.С. Штаммспецифичность ферментативной активности *Lactobacillus* и аминокислотный профиль кисломолочного продукта/ Т.С. Бычкова, Е.М. Крутина // Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов, № 1(96) 2026. С. 26-30

10. Бычкова Т.С. Молочная кислота как компонент метаболических регуляторных процессов в организме человека/ Т.С. Бычкова, Е.М. Крутина, С.Ю. Шогенова // Пищевая промышленность, №4, 2026. С. 70-76

11. Бычкова Т.С. Зависимость антиоксидантной активности кисломолочных продуктов от показателей биологической активности молочнокислых микроорганизмов / Т.С. Бычкова, Ю.А. Дягилева, Е.М. Крутина, Е.Ю. Агаркова // Молочная промышленность. 2025. № 4. С. 22-31.

12. Бычкова Т.С. Влияние ферментативной активности молочнокислых микроорганизмов на формирование аминокислотного профиля и антиоксидантного потенциала кисломолочных продуктов / Т.С. Бычкова, Е.М. Крутина, В.А. Леонова, В.А. Митрова // Пищевая промышленность. 2025. № 10. С. 37-41.

13. Бычкова Т.С. Метаболитный профиль ферментированных молочных продуктов как результат биологической активности молочнокислых микроорганизмов / Т.С. Бычкова, Е.М. Крутина., Ю.А. Дягилева, Д.С. Рыскин // Пищевая промышленность. 2025. № 9. С. 147-152.

14. Бычкова Т.С. Роль ферментов молочнокислых бактерий в формировании антиоксидантного потенциала кисломолочных продуктов / Т.С. Бычкова, Е.М. Крутина, Ю.А. Дягилева // Вестник МГТУ. Труды Мурманского государственного технического университета. 2025. Т. 28. № 2. С. 296-311.

15. Бычкова Т.С. Оценка биологической активности *Lactobacillus acidophilus* / Т.С. Бычкова, Е.М. Крутина // Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов. 2025. № 2 (91). С. 3-8.

16. Бычкова Т.С. Аминокислотный профиль кисломолочного продукта и его роль в формировании антиоксидантного потенциала / Т.С. Бычкова, Г.А. Донская, Ю.А. Дягилева, Е.М. Крутина, Е.И. Муклецова // Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов. 2025. № 5 (94). С. 9-14.

17. Донская Г.А. Особенности профилактической защиты от радиоактивного йода / Г.А. Донская, Л.Г. Креккер, Е.В. Колосова, Т.С. Бычкова // Пищевая промышленность. 2024. № 1. С. 50-55.

18. Бычкова Т.С. Оценка технологических свойств противолучевой добавки и ее применение в кисломолочной продукции специализированной направленности / Т.С. Бычкова, Г.А. Донская, Е.М. Крутина // Пищевая промышленность. 2024. № 11. С. 24-28.

19. Бычкова Т.С. Оптимизация композиционного состава противолучевой добавки, повышающей радиорезистентность организма человека / Т.С. Бычкова, В.И. Карпов // Пищевая промышленность. 2024. № 11. С. 46-50.

20. Бычкова Т.С. Кисломолочный продукт с противолучевой добавкой как средство стабилизации антиоксидантного статуса организма / Т.С. Бычкова, Г.А. Донская, Е.М. Крутина, Ю.А. Дягилева // Пищевая промышленность. 2024. № 12. С. 74-79.

21. Донская Г.А. Радиопротекторные ингредиенты композиционного молочного продукта / Г.А. Донская, Л.Г. Креккер, Е.В. Колосова, Т.С. Бычкова, В.К. Карапетян // Вестник МГТУ. Труды Мурманского государственного технического университета. 2024. Т. 27. № 2. С. 193-204.

22. Донская Г.А. Исследование радиопротекторного потенциала муки из масличных культур / Г.А. Донская, Т.С. Бычкова, Е.А. Юрова // Ползуновский вестник. 2024. № 4. С. 86-92.

23. Бычкова Т.С. Влияние модифицированного кисломолочного продукта на активность иммунологического ответа организма в условиях ионизирующего излучения / Т.С. Бычкова, Г.А. Донская, Е.М. Крутина, Ю.А. Дягилева // Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов. 2024. № 6 (89). С. 3-9.

24. Бычкова Т.С. Разработка бактериального концентрата молочнокислых бактерий для производства йогурта / Е.А. Кузнецова, В.А. Гаврилина, В.С. Громова, Е.А. Кузнецова, М.А. Апанайкин, О.Н. Якушина // Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов. 2021. № 6 (71). С. 27-31.

Публикации в материалах конференций и журналах, индексируемых в РИНЦ

25. Крутина Е.М. Штаммспецифичность ферментативной активности молочнокислых микроорганизмов / Е.М. Крутина, Т.С. Бычкова // XI Международная научно-техническая конференция «Инновационные технологии

в пищевой промышленности: наука, образование и производство»: сборник материалов. Воронеж, 2026. - С. 295-303.

26. Бычкова Т.С. Оценка свойств противолучевой добавки в технологиях кисломолочной продукции / Т.С. Бычкова, Н.С. Пряничникова // Материалы II-го Международного Байкальского технологического форума. Г. Улан-Удэ, 2026. – С. 213-215

27. Крутина Е.М. Оценка ферментативной активности молочнокислых микроорганизмов / Е.М. Крутина, Т.С. Бычкова, Ю.А. Дягилева // В сборнике: Пищевая инженерия, экспертиза и безопасность продукции АПК: инновационные решения и перспективы развития. Сборник научных трудов VI Национальной научно-практической конференции, посвященной 80-летию Победы в Великой Отечественной войне. Москва, 2025. С. 264-268.

28. Крутина Е.М. Влияние органических кислот на антиоксидантную активность ферментированных молочных продуктов / Е.М. Крутина, Т.С. Бычкова, Ю.А. Дягилева // В сборнике: Молодые исследователи агропромышленного и лесного комплексов – регионам. Вологда-Молочное, 2025. С. 279-284.

29. Крутина Е.М. Влияние ферментативной активности молочнокислых микроорганизмов на проявление антиоксидантных свойств кисломолочной продукции / Е.М. Крутина, Т.С. Бычкова, Ю.А. Дягилева // В книге: Пищевые технологии. Сборник тезисов IV Международного симпозиума, посвященного 91-летию со дня рождения доктора технических наук, профессора, заслуженного деятеля науки и техники РФ, основателя научной школы Льва Александровича Остроумова. Кемерово, 2025. С. 69-73.

30. Бычкова Т.С. Антиоксидантный потенциал молочного сырья: обзор / Т.С. Бычкова, Е.А. Духан // В сборнике: Поландовские чтения. Сборник материалов VI международной научно-практической молодежной конференции. Москва, 2024. С. 166-170.

31. Бычкова Т.С. Системное проектирование купажа противолучевой добавки / Т.С. Бычкова, В.И. Карпов // В сборнике: Системный анализ в проектировании и управлении. Сборник научных трудов XXVIII Международной научно-практической конференции : в 2 ч.. Санкт-Петербург, 2024. С. 195-205.

32. Духан Е.А. Питание как адаптационная мера в условиях ионизирующего излучения/ Е.А. Духан, Т.С. Бычкова // В книге: Техника и технология пищевых производств. Тезисы докладов XIII Международной научной конференции студентов и аспирантов. Могилев, 2024. С. 210.

33. Дягилева Ю.А. Растительное сырье, регулирующее антиоксидантную систему организма / Ю.А. Дягилева, Е.М. Крутина, Т.С. Бычкова // В книге: Пищевые инновации и биотехнологии. Сборник тезисов XII Всероссийской (национальной) научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. Кемерово, 2024. С. 297-299.

34. Бычкова Т.С. Оценка влияния фитодобавки на уровень глутатиона в кисломолочных продуктах / Т.С. Бычкова, Ю.А. Дягилева, Е.М. Крутина // В

книге: Пищевые технологии. Сборник тезисов III Международного Симпозиума, посвященного 90-летию со дня рождения доктора технических наук, профессора, заслуженного деятеля науки и техники РФ, основателя научной школы Льва Александровича Остроумова. Кемерово, 2024. С. 35-38

35. Бычкова Т.С. Обзор ингредиентов, обладающих радиозащитными свойствами / Т.С. Бычкова, Е.А. Духан // В сборнике: Научное обеспечение технологического развития и повышения конкурентоспособности в пищевой и перерабатывающей промышленности. Сборник материалов 3-й Международной научно-практической конференции. Краснодар, 2023. С. 314-318.

36. Бычкова Т.С. Разработка технологии кисломолочного продукта геродиетического назначения / Т.С. Бычкова, Х.Р. Ниязбаев // В сборнике: Продовольственная безопасность: научное, кадровое и информационное обеспечение. Сборник научных статей и докладов IX Международной научно-практической конференции. Воронеж, 2023. С. 316-327.

37. Бычкова Т.С. Подбор ингредиентов радиопротекторного действия для использования в технологии кисломолочного продукта / Т.С. Бычкова, Г.А. Донская, Е.В. Колосова // В книге: Пищевые здоровьесберегающие технологии. Сборник тезисов II Международного Симпозиума, посвященного 50-летию КемГУ. Кемерово, 2023. С. 346-350.

38. Бычкова Т.С. Способ производства кисломолочного продукта с добавлением семян льна / Т.С. Бычкова, Х.Р. Ниязбаев // В сборнике: Пищевая инженерия, экспертиза и безопасность продукции АПК: инновационные решения и перспективы развития. Сборник научных трудов IV национальной научно-практической конференции. Москва, 2023. С. 72-76.

39. Бычкова Т.С. Применение антиоксидантов растительного происхождения в технологии молочной продукции / Т.С. Бычкова, Д.А. Сухотская // В сборнике: Товароведение, технология и экспертиза: инновационные решения и перспективы развития. Материалы III национальной научно-практической конференции. Москва, 2022. С. 31-37.

Результаты интеллектуальной деятельности

40. Программа для оптимизации композиционного состава функциональной добавки / Бычкова Т.С., Карпов В.И., Дягилева Ю.А., Крутина Е.М. // Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ № 2025686889, 07.10.2025 г. Заявка № 2025685344 от 23.09.2025 г.

41. Программа для интерпретации качественной оценки ферментативной активности / Бычкова Т.С., Семипятный В.К., Пряничникова Н.С. // Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ № 2026668495 от 07.07.2026 г. Заявка № 2026669876 от 30.06.2026 г.

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

МКМ	Молочнокислые микроорганизмы
АОП	Антиоксидантный потенциал
ИИ	Ионизирующее излучение
ПД	Противолучевая добавка
АОА	Антиоксидантная активность
<i>LbA</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>StT</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
РСА	Principal Component Analysis (метод главных компонент)
АК	Аминокислотный состав
ЖК	Жирнокислотный состав
Lim	Лимонная кислота
Mol	Молочная кислота
Uks	Уксусная кислота
Yan	Янтарная кислота
Mur	Муравьиная кислота
Trp	Триптофан
Glu	Глутаминовая кислота + глутамин
Asp	Аспарагиновая кислота + аспарагин
Cys	Цистеин+цистин
Arg	Аргинин
Lys	Лизин
Tyr	Тирозин
Phe	Фенилаланин
His	Гистидин
Leu	Лейцин + изолейцин
Met	Метионин
Val	Валин
Pro	Пролин
Thr	Треонин
Ser	Серин
Ala	Аланин
Gly	Глицин
GLT	Глутатион общий
GSH	Глутатион восстановленный
КМП	Кисломолочный продукт
P	Мука из семян рапса
Ш	Мука из шрота подсолнечника

СПИСОК ТЕРМИНОВ

Антиоксидантный потенциал – комплексный показатель восстановительной способности пищевой системы, характеризующийся антиоксидантной активностью и уровнем содержания глутатиона, как фактора стабилизации антиоксидантной защиты организма.

Противолучевая добавка – комплексная композиция биологически активных веществ, направленная на повышение антиоксидантного потенциала пищевых систем и обладающая высоким уровнем биогенного потенциала.