

Утверждаю
И.о. ректора РХТУ им. ДИ. Менделеева
Юртов Е.В.
2017 г.



ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию Полякова Александра Викторовича «Влияние ограниченного протеолиза папаином на структуру, физико-химические и функциональные свойства легуминов», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.04 – Физическая химия и 02.00.06 – Высокомолекулярные соединения

Актуальность темы исследований. Диссертационная работа А. В. Полякова посвящена изучению изменений структуры, физико-химических и функциональных свойств легуминов (11S фракция запасных белков) кормовых бобов *Vicia faba* и соевых бобов *Glycine max* в результате ограниченного протеолиза папаином.

Проблема дефицита белка в питании населения сохраняет свою остроту и актуальность. Одним из приоритетных направлений современной пищевой индустрии является развитие технологий новых эссенциальных ингредиентов (в том числе, белоксодержащих) с ценными функциональными свойствами для обогащения традиционных пищевых продуктов, а также создания продуктов лечебного и функционального питания на их основе. Белки в составе пищевых систем выполняют функции основных нутриентов и структурообразователей как в объеме, так и на границе раздела фаз.

Запасные белки семян бобовых и масличных культур являются весьма перспективными источниками пищевого белка вследствие высокого содержания и сбалансированности по содержанию незаменимых аминокислот, а также – доступности. Однако их использование в этом качестве крайне ограничено вследствие низких функциональных свойств, обусловленных такими особенностями их молекулярной структуры, как жесткость, компактность, низкая поверхностная гидрофобность. Характерными чертами растительных глобулинов являются также низкая атакуемость ферментами желудочно-кишечного тракта и наличие иммунореактивности.

Известно, что указанные недостатки белков зернобобовых культур удается существенно уменьшить с помощью ограниченного протеолиза протеазами. Таким

образом, исследование, направленное на установление закономерностей в изменении структуры, физико-химических и функциональных свойств легуминов - основной фракции растительных глобулинов запасных белков семян зернобобовых культур, в результате действия ограниченного протеолиза папаином представляется весьма актуальным. Оно позволит более эффективно использовать ограниченный протеолиз для регулирования функциональных свойств легуминов и расширить сферу их применения.

Цель диссертационной работы заключалась в установлении связи между изменением структуры легуминов сои и кормовых бобов в результате ограниченного протеолиза папаином и изменением их физико-химических и функциональных свойств.

Основное содержание работы. Диссертация имеет традиционную структуру и состоит из введения, трех глав (обзор литературы, характеристика материалов и методов исследования, описания результатов исследования и их обсуждения), заключения, выводов и списка цитируемой литературы (357 ссылок).

Во введении обоснована актуальность проблемы создания научных основ технологии производства растительных белков для их использования в сфере традиционного, функционального и лечебного питания.

Обзор литературы носит аналитический характер и содержит описание современных представлений о структуре, функциях, объемах производства, физико-химических и функциональных свойствах легуминов и методах их модификации. На основе анализа литературных данных соискатель доказывает, что легумины разных зернобобовых культур имеют гомологичную структуру; ограниченный протеолиз легуминов различных культур имеет общие характерные черты и является одним из наиболее мягких и эффективных способов модификации структуры легуминов.

В разделе «Материалы и методы исследования» приведено подробное описание использованных соискателем объектов исследования, методик анализа и проведения эксперимента.

Результаты эксперимента и их обсуждение представлены в четырех разделах. В первом разделе охарактеризованы изменения гидродинамических и термодинамических параметров интактных и модифицированных легуминов. Установлено, что ограниченный протеолиз папаином приводит к понижению молекулярной массы, гидродинамического размера, степени асимметрии и проницаемости молекул белка для растворителя. Наблюдается также понижение термодинамического сродства легуминов к растворителю.

Во втором разделе изучена конформационная стабильность интактных и модифицированных легуминов методом дифференциальной сканирующей микрокалориметрии как функция концентрации соли и температуры. Показано, что ограниченный протеолиз сопровождается понижением конформационной стабильности легуминов.

В третьем разделе продемонстрировано изменение поверхностной активности и динамики формирования адсорбционных слоев на границе с воздухом и охарактеризовано реологическое поведение адсорбционных слоев методом двумерной дилатометрии.

В четвертом разделе охарактеризованы функциональные свойства интактных и модифицированных легуминов на примере атакуемости ферментами желудочно-кишечного тракта и способности к образованию и стабилизации пен.

Научная новизна. В диссертационной работе Полякова А.В. впервые систематически исследованы структурные и физико-химические свойства модифицированных ограниченным протеолизом папаином легуминов кормовых бобов и соевых бобов. Прослежена взаимосвязь между изменениями молекулярных параметров (гидродинамических и термодинамических), конформационной стабильности, поверхностной активности, динамики формирования и дилатационной упругости адсорбционных слоев, а также - функциональных свойств (пенообразующей способности и атакуемости ферментами желудочно-кишечного тракта) легуминов в результате ограниченного протеолиза папаином. Полученные результаты имеют фундаментальный характер.

Практическая значимость результатов диссертационной работы состоит в возможности их использования для регулирования физико-химических и функциональных свойств легуминов. Модифицированные легумины, согласно полученным данным, обладают существенными преимуществами перед интактными белками: обладают более высокой поверхностной активностью, скоростью формирования и дилатационной упругостью адсорбционных слоев и, как следствие, более высокой пенообразующей способностью и стабильностью пен. Они в большей степени подвержены атаке ферментами желудочно-кишечного тракта *in vitro*.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту, соответствуют цели и задачам исследования:

1. Влияние ограниченного протеолиза глицинина и легумина *V.f.* папаином на:

- молекулярные параметры в растворе;
- термодинамическое сродство к растворителю;

- конформационную стабильность;
- поверхностную активность на границе раздела фаз воздух/раствор, скорость формирования и вязкоупругие дилатационные характеристики адсорбционных слоев;
- атакуемость ферментами желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) человека *in vitro*;
- пенообразующую способность и стабильность пен.

2. Связь между изменением структурных, гидро- и термодинамических параметров легуминов в результате ограниченного протеолиза папаином, их адсорбционным поведением и функциональными свойствами.

Достоверность результатов, полученных в работе Полякова А. В., обеспечивается использованием современных физико-химических методов исследования, большим объёмом экспериментальных данных, статистической обработкой результатов, сопоставлением данных, полученных различными методами самим соискателем, а также с известными из литературы.

Тематика исследований, полученные экспериментальные результаты и их обсуждение вызвали интерес научного сообщества. На конкурсах работ в рамках конференций автор дважды был удостоен 1-го места.

При прочтении работы возникает ряд вопросов и замечаний, а именно:

1. В главе «Обзор литературы» желательно было бы вначале дать описание ситуации в мире с выращиванием данных культур (1.1.6), а затем описание общих свойств белков зернобобовых, а также подчеркнуть практическую важность именно легуминов в сравнении с другими растительными белками.
2. На стр. 12 можно было бы конкретизировать заголовок «Пищевая ценность зерновых и зернобобовых культур». В этом же разделе автор в табл. 1.1 приводит данные по составу семян зернобобовых культур, а в тексте проводит его сравнение с составом семян зерновых. Желательно было бы дополнить табл. 1.1 соответствующими данными по зерновым культурам.
3. В разделе «Материалы и методы» соискатель приводит раздел «2.1.2. Ферменты», тогда как правильнее было бы сказать «ферментные препараты».
4. В работе нет обоснования выбранных условий ограниченного протеолиза. Из литературы известно, что, варьируя условия ограниченного протеолиза, можно получать продукты с различными функциональными свойствами.
5. Не ясно взяты ли приведённые на с. 72 значения парциального удельного объёма из литературы или получены автором самостоятельно.

6. На с. 75 говорится о сходстве механизмов ограниченного протеолиза трипсином и папаином, но не ясно, в чём конкретно оно состоит.

7. В работе среди всего спектра функциональных свойств автором исследована только пенообразующая способность и атакуемость ферментами ЖКТ. Тогда как большой практический интерес для получения пищевых продуктов имеет эмульгирующая, влаго- и жирудерживающая способность. Было бы интересно посмотреть влияние ограниченного протеолиза на эти свойства.

8. Желательно было бы сформулировать рекомендации по условиям применения продуктов с определенными функциональными свойствами (например, в производстве йогуртов первостепенное значение имеет эмульгирующая способность, а пенообразующая – при производстве кислородных коктейлей).

Однако сделанные замечания не снижают значения и качества результатов исследования. В целом, диссертационная работа хорошо оформлена, использование иллюстрационного материала уместно и облегчает восприятие излагаемого материала.

Заключение. Диссертационная работа Полякова Александра Викторовича выполнена по актуальной теме с привлечением широкого набора современных физико-химических методов исследования. Следует отметить большой объем работы, ее систематичность, адекватный анализ полученных результатов. Работа написана логично с грамотным использованием научной терминологии, аккуратно оформлена, основные разделы взаимосвязаны, выбор тематики литературного обзора обоснован.

Полученные экспериментальные данные и их обсуждение представляют научную значимость в области исследований взаимосвязи параметры молекулярной «структуры – физико-химические свойства – функциональные свойства» глобулярных белков в растворе; исследовании механизма и регуляторной роли ограниченного протеолиза запасных белков. Практическая значимость установленных закономерностей определяется возможностью их использования для целей оптимизации функциональных свойств растительных глобулинов и, таким образом, для диверсификации источников пищевых белков и расширения сферы их применения.

Содержание автореферата полностью соответствует содержанию диссертации.

По материалам диссертации Полякова А.В. опубликовано 5 статей в рецензируемых научных журналах из перечня ВАК, 1 статья в зарубежном научном журнале, а также 9 публикаций в сборниках докладов международных конференций. Данные публикации достаточно полно отражают содержание диссертации.

Диссертация Полякова Александра Викторовича представляет собой законченное научно-квалификационное исследование и полностью удовлетворяет требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и соответствует п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 с изменениями, утвержденными постановлением Правительства «О внесении изменений в положение о присуждении ученых степеней» РФ № 335 от 21.04.2016. материалы диссертации прошли апробацию на международных конференциях, опубликованы 5 статей в журналах, входящих в перечень ВАК. Автор диссертации Поляков Александр Викторович заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.04 – «Физическая химия» и 02.00.06 – «Высокомолекулярные соединения».

Диссертационная работа Полякова А.В. обсуждена и одобрена на объединенном заседании кафедры биотехнологии и кафедры физической химии РХТУ имени Д.И. Менделеева (протокол № 774 от 13 февраля 2017 г.).

доцент, доктор химических наук по специальности 03.01.06 «Биотехнология», профессор кафедры биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева».

Почтовый адрес: 125047 Москва, Миусская пл., 9

Телефон: (495) 495-23-79.

Электронный адрес: aak28@yandex.ru.

Красноштанова Алла Альбертовна

Профессор, доктор химических наук по специальности 02.00.15 «Кинетика и катализ», заведующий кафедрой физической химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования

«Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева».

Почтовый адрес: 125047 Москва, Миусская пл., 9

Телефон: (499) 973-39-37.

Электронный адрес: volkon_1@mail.ru

Конюхов Валерий Юрьевич

Подписи Красноштановой Аллы Альбертовны и Конюхова Валерия Юрьевича заверяю.



Валерий Юрьевич Конюхов