

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.039.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
НАУКИ ИНСТИТУТА БИОХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ ИМ. Н.М. ЭМАНУЭЛЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ
УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 15.03.2017 г., протокол №5

О присуждении Полякову Александру Викторовичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата химических наук.

Диссертация «Влияние ограниченного протеолиза папаином на структуру, физико-химические и функциональные свойства легуминов» по специальностям 02.00.04 – физическая химия и 02.00.06 – высокомолекулярные соединения принята к защите 21 декабря 2016 года, протокол № 19, диссертационным советом Д 002.039.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук по адресу 119334, Российская Федерация, г. Москва, ул. Косыгина, д. 4; приказ Министерства образования и науки 105/нк от 11 апреля 2012 года.

Соискатель – Поляков Александр Викторович, 1986 года рождения, в 2009 году окончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева» по специальности «Биотехнология». С 1 июня 2009 года по 30 мая 2012 года обучался в очной аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук по специальности 02.00.04 – физическая химия. В настоящее время работает в должности ведущего химика группы фармацевтического анализа общества с ограниченной ответственностью «Изварино Фарма».

Диссертация выполнена в лаборатории физико-химической модификации биополимеров Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

Научный руководитель – кандидат химических наук Плащина Ирина Германовна, заведующей лабораторией физико-химической модификации биополимеров Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

Лозинский Владимир Иосифович, доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией криохимии (био)полимеров Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт Элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова Российской Академии наук»;

Потехин Сергей Александрович, доктор физико-математических наук, главный научный сотрудник, руководитель группы термодинамики белка Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт белка Российской академии наук»;

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева» в своём положительном заключении, подписанном доктором химических наук, профессором кафедры биотехнологии Красноштановой Аллой Альбертовной и доктором химических наук, заведующим кафедры физической химии, профессором Конюховым Валерием Юрьевичем и утверждённом и.о. ректора Института, доктором химических наук, член-корреспондентом Российской академии наук, профессором Юртовым Евгением Васильевичем, указала, что диссертация несомненно является актуальной, поскольку 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 является одним из приоритетных направлений современной пищевой индустрии. Запасные белки семян зернобобовых 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, низкой атакуемости ферментами желудочно-кишечного тракта и наличием иммунореактивности. Указанные недостатки белков зернобобовых культур удастся существенно уменьшить методом ограниченного протеолиза. Выявление связи изменений структуры, физико-химических и функциональных свойств легуминов в результате ограниченного протеолиза папаином в перспективе позволит расширить сферу применения зернобобовых культур.

Научная новизна диссертационной работы заключается в том, что впервые систематически исследованы структурные и физико-химические свойства модифицированных ограниченным протеолизом папаином легуминов кормовых бобов и соевых бобов. Практическая значимость результатов диссертационной работы состоит в возможности регулирования физико-химических и функциональных свойств легуминов применением ограниченного протеолиза папаином.

В заключение отмечено, что по своему объему, актуальности, новизне и значимости полученных результатов для науки и современных технологий диссертационная работа А. В. Полякова соответствует критериям, установленным пунктом 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года с изменениями, утвержденными постановлением Правительства «О внесении изменений в положение о присуждении ученых степеней» РФ № 335 от 21.04.2016 г., а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.04. – физическая химия и 02.00.06 – высокомолекулярные соединения.

Соискатель имеет 17 научных работ, в том числе 15 работ по теме диссертации, из них 5 статей, опубликованных в рецензируемых российских и зарубежных научных периодических изданиях, входящих в перечень ВАК. В опубликованных работах соискатель принимал активное участие на стадии формирования цели, постановки и осуществления эксперимента, обсуждении результатов и подготовки работ к публикации.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Даниленко А.Н. Сравнительный анализ интегральной гидрофобности легуминов гороха различной сортовой принадлежности / Даниленко А.Н., Поляков А.В., Павловская Н.Е., Плащина И.Г. // Вестник Орел ГАУ – 2013. – №1, т.40. – с. 77-83.
2. Поляков А.В. Изменение поверхностной активности и реологических свойств адсорбционных слоев глицинина на границе воздух/раствор в результате ограниченного протеолиза папаином / Поляков А.В., Даниленко А.Н., Шутов А.Д., Плащина И.Г., Шкодич В.Ф., Кочнев А.М., Заиков Г.Е. // Вестник Казанского Технологического Университета. – 2014. – Т.17, №1. – с. 210-215.
3. Polyakov A.V. Improving of the functionality of glycinin by limited papain hydrolysis / Polyakov A.V., Danilenko A.N., Zhuravleva I.L., Plashchina I.G., Rudakov S.V., Rudakova A.S., Shutov A.D., Shkodich V.F., Kochnev A.M., Zaikov G.E. // Вестник Казанского Технологического Университета – 2014. – Т17 №2. – с. 239-242.

На автореферат поступило 5 положительных отзывов:

1) в отзыве д.х.н. Баранникова Владимира Петровича, заведующего лабораторией термодинамики растворов неэлектролитов и биологически активных веществ Института химии растворов им. Г.А. Крестова Российской академии наук в качестве **замечания** отмечено: 1. Возможно, есть противоречие между разрушением значительной доли водородных связей и отсутствием потери третичной и четвертичной структуры молекул белка при ограниченном протеолизе; 2. В таблице 2 и рисунке 2 автореферата не указано, что удельные теплоемкости – парциальные величины; 2) отзыв д.б.н.

Жамсарановой Сэсэгмы Дашиевны, профессора кафедры «Биотехнология» ФГБОУ ВО «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления» **без замечаний**; 3) отзыв к.х.н. Сильченко Артема Сергеевича, научного сотрудника лаборатории химии ферментов Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН **без замечаний**; 4) отзыв д.х.н. Писаренко Леонида Михайловича, старшего научного сотрудника лаборатории жидкофазного окисления Института химической физики им. Н.М. Семенова РАН **без замечаний**; 5) отзыв к.ф.-м.н. Слезневой Ирины Ивановны, и.о. заведующей лабораторией роста клеток и тканей Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН **без замечаний**.

В отзывах отмечено, что актуальность темы диссертации не вызывает сомнения, поскольку направлена на изучение перспективного направления улучшения свойств белков зернобобовых культур путем использования ограниченного протеолиза, приводящего к изменению структуры, физико-химических и функциональных свойств растительных белков, что может явиться основой для разработки альтернативы животным белкам.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их специализацией по проблеме настоящей диссертационной работы и достижениями в области исследований физико-химических и функциональных свойств белка, а также наличием публикаций в соответствующей сфере исследования, и, следовательно, способностью определить научную и практическую ценность диссертации. Оппонент д.х.н., профессор Лозинский В.И. - имеет огромный опыт научно-исследовательской работы в области исследования высокомолекулярных соединений, в том числе природного происхождения, изучения их физико-химических и функциональных свойств. Оппонент д.ф.-м.н., Потехин С.А. является ведущим специалистом в области термодинамики белка, стоит у истоков калориметрического метода исследования биологических макромолекул, в первую очередь глобулярных белков. Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева является ведущим

образовательным учреждением России, в котором проводятся исследования по направлениям физической химии, высокомолекулярных соединений, в том числе белковых препаратов кормового и пищевого назначения.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана методология исследования модифицирующего действия ограниченного протеолиза папаином структуры и физико-химических свойств легуминов в объеме и на границе раздела фаз, позволяющая прогнозировать повышение их функциональных свойств;

предложен оригинальный подход к интерпретации установленных закономерностей в изменении гидродинамических и термодинамических молекулярных характеристик молекул легуминов, их конформационной стабильности и адсорбционного поведения;

доказана причинно-следственная связь 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.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано, что изменение молекулярных характеристик легуминов (понижение молекулярной массы, термодинамического сродства к растворителю, гидродинамического размера и конформационной стабильности) приводит к повышению поверхностной активности на границе воздух/вода, увеличению скорости формирования и повышению дилатационного модуля упругости адсорбционных слоев; установлена корреляция между изменением адсорбционного поведения легуминов на границе воздух/вода и увеличением их пенообразующей способности; полученные результаты расширяют существующие представления о роли ограниченного протеолиза в изменении структуры и свойств растительных глобулинов;

применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих научной новизной результатов) **использован** комплекс существующих базовых методов исследования молекулярных параметров белков в растворе и их физико-химических свойств, таких как динамическое и статическое рассеяние света, электрофорез по Допплеру, малоугловое рентгеновское рассеяние, флуоресцентная и ультрафиолетовая спектроскопия, скоростная седиментация, денситометрия, рефрактометрия, дифференциальная сканирующая микрокалориметрия, динамическая капельная тензиометрия и двумерная динамическая дилатометрия, а также экспериментальных методик определения функциональных свойств (атакуемости белков ферментами желудочно-кишечного тракта, пенообразующей способности).

изложены экспериментальные данные для интактных и модифицированных легуминов по измерению молекулярных масс, вторых вириальных коэффициентов, коэффициента диффузии, радиуса инерции, рН-зависимости зета-потенциала, зависимости от ионной силы термодинамических параметров денатурации, динамических кривых и изотерм адсорбции, частотные и концентрационные зависимости составляющих комплексного дилатационного модуля, динамические кривые атакуемости ферментами желудочно-кишечного тракта, концентрационные зависимости пенообразующей емкости и кривые старения пен;

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

определены перспективы практического применения ограниченного протеолиза папаином для модификации свойств легуминов, приводящей к улучшению пенообразующей способности легуминов, повышению поверхностной гидрофобности молекул и биологической ценности легуминов;

представлены результаты, которые могут быть использованы для прогнозирования функциональных свойств и повышения эффективности применения легуминов в области традиционного, функционального и лечебного питания.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

научные положения, выводы и результаты, сформулированные в диссертации, **обоснованы** экспериментальными данными;

экспериментальная часть работы **выполнена** на высоком научном уровне с применением современных физико-химических методов исследования, стандартных методик статистической обработки результатов и использованием высокоточной и высокочувствительной поверенной измерительной техники;

идея базируется на данных по регулированию функциональных свойств растительных глобулинов путем ферментативной модификации;

использованы авторские данные и данные, полученные ранее по рассматриваемой тематике;

установлено согласование авторских результатов по исследованию свойств интактных и модифицированных белков с результатами, представленными в независимых источниках;

использованы современные средства сбора и обработки литературных данных с обоснованием выбора объектов и методов исследования.

Личный вклад соискателя состоит в том, что:

экспериментальные данные, приведённые в диссертационной работе, получены автором лично или при его непосредственном участии; автор участвовал в обработке, анализе, обсуждении результатов, подготовке публикаций по теме диссертационной работы, представлении работы на конференциях, обсуждении и обобщении результатов диссертационной работы, формулировании выводов и основных положений, выносимых на защиту.

Диссертация Полякова А.В. «Влияние ограниченного протеолиза папаином на структуру, физико-химические и функциональные свойства легуминов» представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, удовлетворяющую всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, изложенных в пунктах 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335 «О внесении

изменений в положение о присуждении ученых степеней», в которой установлена взаимосвязь между изменением молекулярных параметров, физико-химических и функциональных свойств легуминов двух бобовых культур – сои и кормовых бобов – в результате ограниченного протеолиза папаином, что позволит прогнозировать функциональные свойства легуминов и повысить эффективность их применения в области традиционного, функционального и лечебного питания.

На заседании 15 марта 2017 года диссертационный совет принял решение присудить Полякову Александру Васильевичу ученую степень кандидата химических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 23 человек, участвовавших в заседании, из них 6 докторов наук по специальности 02.00.04 – физическая химия и 8 докторов наук по специальности 02.00.06 – высокомолекулярные соединения, из 28 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение учёной степени -23, против присуждения учёной степени - нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель
диссертационного совета, д.х.н.



Трофимов А.В.

Ученый секретарь
диссертационного совета, к.х.н.

Мазалецкая Л.И.

15 марта 2017 г.