

УТВЕРЖДАЮ:

Директор Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки Института  
биохимической физики им. Н.М. Эмануэля  
Российской академии наук  
д.х.н., проф. Курочкин И.Н.

  
«30»  2016

### ВЫПИСКА ИЗ ПРОТОКОЛА

расширенного семинара по физической химии  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии  
наук (ИБХФ РАН)  
от 30 мая 2016 г.

**Председатель семинара:** д.х.н. Мишарина Тамара Арсеньевна,  
заведующая лабораторией флейвохимии Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М.  
Эмануэля Российской академии наук.

**Секретарь семинара:** к.х.н. Антипова А.С.

**Присутствовали:** д.х.н., зав. лаб. Мишарина Т.А., д.х.н., проф. Шибряева  
Л.С., д.х.н. Семенова М.Г., д.х.н. Гринберг В.Я., д.х.н. проф. Розенфельд  
М.А., д.б.н., проф. Шишкина Л.Н., д.х.н. Мисин В.М., к.х.н. Плащина И.Г.,  
к.х.н. Антипова А.С., к.х.н. Анохина М.С., к.х.н., ст.н.с. Гагарина А.Б., к.х.н.  
Журавлева И.Л., к.х.н. Мрачковская Т.А., к.х.н. Вассерман Л.А., к.х.н.  
Дубовик А.С., к.ф.-м.н. Матвеев Ю.И., ст.н.с. Даниленко А.Н., к.х.н. Козлов  
С.С.

**Всего:**18 человек

**Повестка дня:** обсуждение диссертационной работы Полякова Александра Викторовича «Влияние ограниченного протеолиза папаином на структуру, физико-химические и функциональные свойства легуминов» на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.04 – физическая химия и 02.00.06 – высокомолекулярные соединения.

**Слушали:** доклад Полякова Александра Викторовича «Влияние ограниченного протеолиза папаином на структуру, физико-химические и функциональные свойства легуминов».

**Постановили:** рекомендовать диссертацию Полякова А.В. к защите на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.04 – физическая химия и 02.00.06 – высокомолекулярные соединения.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии  
наук (ИБХФ РАН)

Диссертация «Влияние ограниченного протеолиза папаином на структуру, физико-химические и функциональные свойства легуминов» выполнена в лаборатории физико-химической модификации биополимеров Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

В 2009 году Поляков Александр Викторович с отличием окончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева» по специальности биотехнология. С 01 июня 2009 года по 30 мая 2012 года Поляков А.В. обучался в аспирантуре Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук в лаборатории физико-химической модификации биополимеров.

Удостоверение о сдаче кандидатского минимума выдано в 2014 г. Федеральным государственным бюджетным учреждением науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

**Научный руководитель:** к.х.н. Плащина Ирина Германовна, заведующая лабораторией физико-химической модификации биополимеров Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

**Рецензент:** д.х.н. Семенова Мария Германовна, заведующий лабораторией функциональных свойств биополимеров Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

**В ходе обсуждения были заданы следующие вопросы:**

д.х.н., проф. Шибряева Л.С.: 1) Является ли протеолиз белка процессом деструкции? Какие связи при этом разрушаются? 2) Как меняется конформация белков при ограниченном протеолизе?

д.х.н. Семенова М.Г.: 1) Рассчитывали ли вы параметры изотермы адсорбции? 2) Сопоставляли ли вы данные реологических измерений адсорбционных слоев со стабильностью эмульсий и пен?

к.х.н. Гагарина А.Б.: 1) Каков механизм гидролиза белков под действием папаина? 2) Что такое «запасные белки»? Какова их роль? 3) Каков смысл слова «ограниченный» в словосочетании «ограниченный протеолиз»? Чем он ограничен – особенностями структуры белка или условиями модификации?

д.х.н. Мишарина Т.А.: Что означает термин «низкая атакуемость»?

д.б.н., проф. Розенфельд М.А.: 1) Является ли структура легуминов компактной? 2) Чем обусловлен выбор папаина?

д.х.н. Гринберг В.Я.: Каковы причины увеличения инкремента теплоемкости белка?

д.х.н. Мисин В.М.: Что дают проведенные вами исследования для расширения сферы применения легуминов?

д.х.н., проф. Шишкина Л.Н.: Можно ли сопоставить частоту использования для гидролиза легуминов низкоспецифичного папаина и высокоспецифичного трипсина?

Проведенное исследование направлено на поиски эффективного способа модификации био- и технофункциональных свойств растительных глобулинов зернобобовых культур с целью увеличения их пищевого использования.

Проблема обеспечения мирового населения полноценным пищевым белком не только сохраняет актуальность в третьем тысячелетии, но и в значительной степени обостряется. Растительное сырье, благодаря короткому циклу воспроизводства, доступности, по экономическим и экологическим

показателям является перспективным источником пищевого белка. Современный этап развития пищевой технологии характеризуется качественным скачком в использовании растительного сырья для производства пищи. Однако использование растительного белка для пищевых целей сопряжено с некоторыми проблемами. В частности, легумины, являющиеся основной фракцией запасных белков зернобобовых и масличных культур, имеют высокую биологическую ценность, но недостаточно высокие функциональные свойства (эмульгирующая и пенообразующая способность), обусловленные компактной жесткой структурой молекул и их низкой поверхностной гидрофобностью. Сложные растительные белки, в частности, запасные белки зернобобовых культур, не полностью перевариваются ферментами желудочно-кишечного тракта. Кроме того, существует проблема аллергенности некоторых фракций белков зернобобовых культур.

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

Для достижения поставленной проведено сравнительное исследование следующих характеристик интактных и модифицированных легуминов:

- 1) молекулярных параметров в растворе (молекулярной массы, поверхностного заряда, термодинамического сродства к растворителю, гидродинамических параметров);
- 2) конформационной стабильности;
- 3) поверхностной активности на границе воздух/раствор, динамики формирования и реологических свойства адсорбционных слоев;
- 4) функциональных свойств (атакуемости ферментами желудочно-кишечного тракта *in vitro*, пенообразующей способности).

**Научная новизна** заключается в том, что впервые на единой серии образцов интактных и модифицированных легуминов (глицинина соевых бобов *Glycine max* и легумина кормовых бобов *Vicia faba* – глицинина и

легумина *V.f.*), полученных в рамках данной работы, систематически исследовано влияние ограниченного протеолиза папаином на структуру, термодинамическую стабильность и адсорбционное поведение легуминов (поверхностную активность, динамику формирования и дилатационные свойства адсорбционных слоев) на границе воздух/раствор.

Установлена связь между изменением структурных, термодинамических и поверхностных свойств легуминов в результате ограниченного протеолиза папаином. Найденные закономерности имеют общий характер. Это позволяет прогнозировать изменения функциональных свойств и использовать ограниченный протеолиз папаином для их регулирования.

**Теоретическая значимость** проведенного исследования заключается в установлении взаимосвязи между изменением структурных, гидродинамических и термодинамических параметров легуминов в результате ограниченного протеолиза папаином и их адсорбционным поведением и функциональными свойствами. Показано, что изменение этих параметров (понижение молекулярной массы, термодинамического сродства к растворителю, гидродинамического размера и конформационной стабильности) приводит к повышению поверхностной активности глицинина и легумина *V.f.*, увеличению скорости формирования ими адсорбционных слоев на границе воздух/раствор и повышению дилатационных свойств адсорбционных слоев. Повышение адсорбционных свойств легуминов коррелирует с увеличением их пенообразующей емкости и повышением стабильности пен. Ограниченный протеолиз сопровождается повышением скорости атакуемости модифицированных легуминов ферментами желудочно-кишечного тракта.

Изменение структуры легуминов под влиянием папаиноподобных эндогенных протеиназ происходят при таких процессах, как прорастание семян и индуцированный автолиз. Полученные результаты исследования изменения структуры и свойств легуминов будут представлять интерес и для этих областей исследования.

**Практическая значимость** работы заключается в возможности использовать установленные закономерности для регулирования функциональных свойств легуминов и повышения эффективности их использования для целей традиционного, функционального и лечебного питания.

Полученные результаты имеют принципиальное значение для повышения технофункциональных свойств и биологической ценности растительных глобулинов и, таким образом, для диверсификации сырьевой базы производства пищевого белка.

**Личный вклад** диссертанта заключался в проведении физико-химических исследований, обработке и анализе полученных данных, формулировании положений и выводов, а также в подготовке статей к опубликованию и представлении полученных данных в виде докладов на научных конференциях. Все изложенные данные получены автором лично или при его непосредственном участии в подготовке и проведении эксперимента.

**Достоверность и обоснованность** полученных результатов обеспечивалась использованием современных методов исследования и аттестованных средств измерения; удовлетворительной оценкой погрешности измерений; согласованием полученных результатов с литературными данными, а также согласованием данных, полученных различными методами исследования. Представленные автором данные достоверны, а сформулированные положения являются хорошо аргументированными и обоснованными, полученными на основании большого экспериментального материала. Основные положения и результаты работы опубликованы в профильных российских журналах, а также многократно докладывались и обсуждались на российских и международных конференциях.

Диссертационная работа соответствует специальностям 02.00.04 – физическая химия и 02.00.06 – высокомолекулярные соединения, обладает

внутренней целостностью, содержит новые результаты и представляет ценность в области исследований физико-химических и функциональных свойств белков. Материалы диссертации достаточно полно изложены в 14 печатных работах: 5 статей в журналах, входящих в Перечень ВАК, 1 статья в зарубежном журнале, 5 статей в трудах конференций и тезисы 3 докладов на научных конференциях.

**Основные результаты изложены в статьях:**

1. Поляков А.В. Изменение молекулярных параметров глицинина под действием ограниченного протеолиза папаином / Поляков А.В., Даниленко А.Н., Кривандин А.В., Рудаков С.В., Рудакова А.С., Шутов А.Д., Плащина И.Г., Заиков Г.Е., Кузнецова О.Н. // Вестник Казанского Технологического Университета – 2013. – №9. – с. 184-189.

2. 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.

3. Поляков А.В. Влияние ограниченного протеолиза папаином на термодинамическую стабильность глицинина / Поляков А.В., Даниленко А.Н., Рудаков С.В., Рудакова А.С., Шутов А.Д., Плащина И.Г., Шкодич В.Ф., Кочнев А.М., Заиков Г.Е. // Вестник Казанского Технологического Университета. – 2014. – Т17, №1. – с. 203-208.

4. 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.

5. 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.

6. 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. // Chapter 6 In: Functional Materials Properties, Performance and Evaluation (Ed. Klodzinska E.) /Apple Academic Press – 2015. – p. 133–142.

Диссертационная работа Полякова Александра Викторовича на тему «Влияние ограниченного протеолиза папаином на структуру, физико-химические и функциональные свойства легуминов» соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года, в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335 «О внесении изменений в положение о присуждении ученых степеней», и рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.04 – физическая химия и 02.00.06 – высокомолекулярные соединения.

Заключение принято 30 мая 2016 года на заседании расширенного семинара по физической химии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

Присутствовало на заседании 18 человек (из них 6 человек имеют степень доктора химических наук, 1 человек имеет степень доктора биологических наук).

Результаты голосования:

«за» - 18 чел.;

«против» - нет;

«воздержались» - нет.

Председатель семинара

д.х.н.



Мишарина Т. А.

Секретарь семинара

к.х.н.



Антипова А. С.