

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 99.0.092.02
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
АВТОНОМНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ВСЕРОССИЙСКИЙ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МОЛОЧНОЙ
ПРОМЫШЛЕННОСТИ» МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ФЕДЕРАЛЬНОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «РОССИЙСКИЙ
БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ (РОСБИОТЕХ)»
МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от «12» декабря 2024 г. № 10

О присуждении Лазаревой Екатерине Германовне, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата технических наук.

Диссертация «Разработка тест-системы для количественного определения провирусной ДНК *Bovine leukemia virus* в молоке и молочных продуктах» по специальности 4.3.3 Пищевые системы принята к защите 9 октября 2024 г. (протокол № 8) диссертационным советом 99.0.092.02, созданным на базе Федерального государственного автономного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (115093, г. Москва, ул. Люсиновская, д. 35, корп. 7), Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (125080, г. Москва, Волоколамское ш., д. 11), диссертационный совет создан приказом № 1144/нк от 12 октября 2022 г.

Соискатель Лазарева Екатерина Германовна, 14 августа 1996 года рождения. В 2018 году соискатель окончила бакалавриат ФГБОУ ВО «Московский государственный университет технологий и управления имени К.Г. Разумовского (Первый казачий университет)» по направлению 19.03.02 «Продукты питания из растительного сырья». В 2020 году соискатель окончила магистратуру с отличием ФГБОУ ВО «Московский государственный университет технологий и управления имени К.Г. Разумовского (Первый казачий университет)» по направлению 19.04.02 «Продукты питания из растительного сырья». В 2022 году соискатель поступила и в 2024 году окончила очную аспирантуру ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» по специальности 4.3.3 Пищевые системы. Работает младшим научным сотрудником в лаборатории прикладной микробиологии и геномики микроорганизмов ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Диссертация выполнена в лаборатории прикладной микробиологии и геномики микроорганизмов Федерального государственного автономного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Научный руководитель – кандидат биологических наук, Фоменко Олег Юрьевич, заведующий лабораторией, старший научный сотрудник лаборатории прикладной микробиологии и геномики микроорганизмов Федерального государственного автономного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности».

Официальные оппоненты:

Вострикова Наталья Леонидовна, доктор технических наук, руководитель Научно-исследовательского испытательного центра Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» Российской академии наук;

Алексеев Яков Игоревич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории методов и приборов иммунного и генетического анализа Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт аналитического приборостроения Российской академии наук.

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет инженерных технологий», г. Воронеж, в своем положительном отзыве, подписанном Корнеевой Ольгой Сергеевной, доктором биологических наук, профессором, заведующим кафедрой биохимии и биотехнологии, и Сыромятниковым Михаилом Юрьевичем, кандидатом биологических наук, доцентом, ведущим научным сотрудником лаборатории метагеномики и пищевых биотехнологий, и утвержденном Репниковым Николаем Ивановичем, кандидатом физико-математических наук, и.о. ректора, указала, что диссертация Лазаревой Екатерины Германовны является законченной научно-квалификационной работой, выполненной соискателем лично, в которой автором разработаны теоретический и практический подходы к созданию тест-системы для количественного определения провирусной ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота (BLV) в молоке и молочных продуктах, что можно квалифицировать как научное достижение. В диссертации представлены новые данные по детекции BLV в молочной продукции с учетом различных этапов переработки, а также разработана соответствующая техническая документация, внедрение которой оказывает значительное влияние на развитие молочной промышленности в РФ.

Представленные в работе факты достоверны, выводы обоснованы. Результаты исследования позволяют сформировать целостное представление о концепции повышения биологической безопасности молочных продуктов через разработку системы количественной оценки провирусной ДНК BLV,

включающей молекулярно-генетические методы, оптимизацию условий детекции и введение дополнительных оценочных критериев. Данные достижения также создают прочную основу для дальнейших научных исследований в области безопасности молочной продукции.

Соискатель имеет 56 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 15 научных работ общим объемом 4,6 печатных листов (авторский вклад составляет 3,5 печ. л. – 76,6 %), в том числе 4 статьи общим объемом 2,5 печ. л. (1,6 авт. печ. л.) в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций, 1 работу объемом 0,64 печ. л. (0,32 авт. печ. л.) в зарубежном научных изданиях, а также 10 работ в материалах научных конференций и специализированных журналах.

Научные статьи отражают основные результаты диссертационной работы. Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Vafin, R. R. Technology of bovine leukemia virus genodiagnostics in cattle, in produced raw materials and products / R. R. Vafin, Kh. Kh. Gilmanov, A. G. Galstyan, N. S. Pryanichnikova, A. V. Bigaeva, E. G. Lazareva, V. S. Kazakova // Известия Национальной академии наук Республики Казахстан. Серия химии и технологии. – 2021. – No. 1. – P. 119-125. – DOI: 10.32014/2021.2518-1491.15 (0,64 печ. л.).

2. Михайлова, И. Ю. Влияние генетических факторов на продуктивность коров и качество молока / И. Ю. Михайлова, Е. Г. Лазарева, А. В. Бигаева [и др.] // Пищевая промышленность. – 2021. – № 1. – С. 36-40. – DOI: 10.24411/0235-2486-2021-10007(0,78 печ. л.).

3. Лазарева, Е. Г. К вопросу актуальности исследования молока на наличие вируса лейкоза крупного рогатого скота / Е. Г. Лазарева // Пищевая промышленность. – 2022. – № 7. – С. 45-48. – DOI 10.52653/PPI.2022.7.7.008 (0,77 печ. л.).

4. Сравнительная эффективность методов выделения ДНК из сухого коровьего молока / А. В. Бигаева, Е. Г. Лазарева, А. В. Хан, О. Ю. Фоменко // Пищевая промышленность. – 2023. – № 5. – С. 87-90. – DOI: 10.52653/PPI.2023.5.5.025 (0,64 печ. л.).

5. Лазарева, Е. Г. Исследование методов экстракции ДНК из сырого молока / Е. Г. Лазарева, А. В. Хан, О. Ю. Фоменко // Молочная промышленность. – 2023. – № 5. – С. 115-116. DOI:10.21603/1019-8946-2023-5-8 (0,36 печ. л.).

Недостовверных сведений об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, и заимствования материалов или отдельных результатов без указания источника установлено не было.

На диссертацию и автореферат поступило 13 положительных отзывов:

1. Из Всероссийского научно-исследовательского института маслоделия и сыроделия – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН от д.т.н., главного научного сотрудника, руководителя

направления микробиологических исследований Свириденко Г.М. Отзыв положительный. Замечания: 1. По содержанию автореферата не понятно проводились ли исследования корреляции между количеством соматических клеток в молоке и уровнем провирусной нагрузки BLV. 2. Из автореферата не совсем понятно, чем предложенный метод обнаружения провирусной ДНК BLV принципиально отличается от существующих методов, применяемых в лабораторной практике.

2. Из научно-исследовательского института детского питания-филиала ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» от к.т.н., старшего научного сотрудника лаборатории технологий геродиетического питания Бегуновой А.В. Отзыв положительный. Замечания: 1. По всему тексту работы приводятся различные названия исследуемого вируса лейкоза крупного рогатого скота: BLV, ВЛКРС, вирус экзотического лейкоза крупного рогатого скота, вирус лейкоза КРС. Целесообразно название вируса привести к единообразию для положительного восприятия работы. 2. Учитывая, что тест-системы разработаны для оценки не только молока, но и молочных продуктов, непонятно подходят ли они для проведения исследований кисломолочных продуктов, а также молочных продуктов с немолочными компонентами, например, с плодово-ягодными добавками.

3. Из Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» от к.б.н., заместителя директора по аналитической работе, ведущего научного сотрудника лаборатории микробиологии сибирской язвы Тимофеева В.С. Отзыв положительный. Замечания: 1. В разделе о биоинформатическом анализе праймеров можно было бы уточнить, каким образом обеспечивается исключение ложноположительных результатов при взаимодействии с другими вирусами. 2. Следует более детально объяснить, как тест-система реагирует на различные виды термически обработанного молока, включая ультрапастеризованное молоко и молочные продукты с высоким содержанием жира, например сыр и сливки.

4. Из Общества с ограниченной ответственностью «Мираторг-Генетика» от к. с.-х. н., руководителя отдела биоинформатики Мельниковой Е.Е. Отзыв положительный. Замечания: 1. Следовало бы уточнить, каким образом учитывались особенности различных типов молочной продукции, например, сливки и йогурт, которые могут отличаться по составу и уровню ингибирующих веществ. 2. Было бы полезно рассмотреть возможности применения разработанной тест-системы для скрининга стада в условиях фермерских хозяйств.

5. Из Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет технологий и управления имени К.Г. Разумовского (Первый казачий университет)» от д.т.н., доцента, заведующего кафедры Технологии виноделия, бродильных производств и химии Г.Г. Агабальянца Казарцева Д.А. Отзыв положительный. Замечания: 1. Учитывая, что система прошла тестирование на устойчивость к многократному замораживанию и оттаиванию, проверялась ли она при условии кратковременного повышения температуры (например, при

транспортировке)? 2. Каким образом отбирались молочные продукты для исследования (пастеризованное, обезжиренное молоко, йогурт и т. д.)? Можно ли расширить ассортимент исследуемых молочных продуктов? Например, включить ультрапастеризованное молоко или продукты, подвергшиеся другим видам термической обработки.

6. Из Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева» от д.т.н., доцента, профессора кафедры управления качеством и товароведения продукции Янковской В.С. Отзыв положительный. Замечания: 1. Как учтено влияние различных видов молочной продукции на качество детекции провирусной ДНК, особенно в отношении продуктов с высокой жирностью? 2. В некоторых местах встречаются термины, которые используются некорректно или неоднозначно. Например, термин «лизис образцов» лучше заменить на «лизис клеток».

7. Из Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи от д.т.н., ведущего научного сотрудника лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов Новокшановой А.Л. Отзыв положительный. Замечания: 1. Из автореферата не ясно, какие альтернативные методы выделения ДНК из сырого молока и продуктов его переработки сравнивали в исследовании и каким образом? 2. При защите желательно пояснить, по каким критериям были отобраны для исследования образцы молочной продукции? Не оказывает ли влияние на результаты тестирования провирусной ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота разное агрегатное состояние и макронутриентный состав молочных продуктов? 3. На какие именно объекты распространяется разработанный СТО 00419785-075-2024 «Молоко и молочная продукция. Методика выполнения измерений по выявлению и количественному определению провирусной ДНК вируса лейкоза КРС»? Есть ли различия в пробоподготовке исследуемых образцов?

8. Из Государственного бюджетного учреждения Ярославской области «Ярославский государственный институт качества сырья и пищевых продуктов» от директора, д.т.н., заслуженного работника пищевой индустрии РФ, Гаврилова Г.Б. Отзыв положительный. Замечания: 1. На стр. 11 автореферата приведён рисунок, на котором указаны средние значения концентрации ДНК сухого коровьего молока, выделенной двумя наборами реагентов. Как видно из рисунка набор №1 обеспечивает более высокий выход ДНК по сравнению с набором №2. С чем это может быть связано?

9. Из Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина» от д.б.н., профессора кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, академика РАН Кощаева А.Г. Отзыв положительный. Замечаний нет.

10. Из Общества с ограниченной ответственностью «Норра Сол» от к.т.н., коммерческого директора Антропс М.Ю. Отзыв положительный. Замечаний нет.

11. Из Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский экономический университет имени Г.В. Плеханова» от д.т.н., доцента, заведующего кафедрой пищевых технологий и биоинженерии Никитина И.А. Отзыв положительный. Замечаний нет.

12. Из Института биофизики клетки Российской академии наук – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» от к.ф.-м. н., старшего научного сотрудника лаборатории молекулярной физиологии клетки Кабанова А.В. Отзыв положительный. Замечаний нет.

13. Из Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии» от к.вет.н., заведующего отделом экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем Михайлова Е.В. Отзыв положительный. Замечаний нет.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается: наличием у Н. Л. Востриковой, Я. И. Алексеева соответствующих компетенций и глубоких знаний в области контроля качества и безопасности пищевых продуктов, что подтверждается рядом их научных публикаций; ведущей организации – Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет инженерных технологий» – значительными достижениями в исследованиях пищевой промышленности и способностью провести всестороннюю оценку научной и прикладной значимости диссертации, в том числе с точки зрения внедрения разработок в производственную практику.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана новая экспериментальная методика количественной оценки провирусной ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота, выделенной из различных молочных матриц в динамическом диапазоне от 0,1 нг/мкл до 0,1 пг/мкл ДНК;

предложен нетрадиционный подход к использованию ПЦР-анализа для мониторинга вирусных агентов в продуктах, прошедших термическую обработку, что расширяет возможности молекулярной диагностики в пищевой промышленности и обеспечивает высокий уровень биологической безопасности молочной продукции;

доказаны:

наличие закономерности амплификации провирусной ДНК BLV в условиях динамического диапазона концентраций для молока сырого и продуктов

его переработки: пастеризованного молока, обезжиренного молока, сливок, йогурта, сухого обезжиренного молока;

перспективность использования разработанной методики для мониторинга молочной продукции на наличие провирусной ДНК BLV, что подтверждает её эффективность в условиях промышленного производства;

введены новые понятия, такие как "молекулярно-генетический контроль безопасности молочной продукции" и "количественный анализ ДНК BLV в молочных продуктах", расширяющие понятийный аппарат в области биологической безопасности продуктов питания.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказаны положения о молекулярно-генетических процессах, участвующих в обнаружении провирусной ДНК в молочных продуктах, с учетом факторов, влияющих на эффективность выделения и амплификации ДНК, что позволяет глубже понять механизмы взаимодействия компонентов пищевых систем с генетическим материалом вируса;

применительно к проблематике диссертации результативно использованы базовые методы исследования (системный анализ и синтез, сравнение, обобщение и группировка), а также стандартизованные и общепринятые методы контроля физико-химических и микробиологических показателей молока и молочной продукции, методы математического моделирования и статистики;

изложены этапы разработки и внедрения молекулярно-генетической методики для выявления провирусной ДНК BLV в молочных продуктах, включая оптимизацию условий выделения ДНК, подбор специфических праймеров и выполнение ПЦР-анализа;

раскрыты новые проблемы и противоречия, связанные с применением молекулярно-генетических методов в условиях промышленной обработки молока, в том числе влияние различных температурных режимов на точность и чувствительность ПЦР-анализа, что способствует развитию методов контроля безопасности пищевых продуктов;

изучены факторы влияния различных технологических процессов на возможность обнаружения провирусной ДНК BLV в молочных продуктах, что послужило основой для формирования новых знаний о потенциальных рисках и безопасности биологических систем в пищевой промышленности.

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

разработан и внедрен СТО 00419785-075-2024 «Молоко и молочная продукция. Методика выполнения измерений по выявлению и количественному определению провирусной ДНК вируса лейкоза КРС»;

определены пределы и перспективы практического использования разработанной методики для количественного определения провирусной ДНК BLV в молочной продукции, включая её применимость в различных условиях производства и на этапах технологической обработки;

создана система практических рекомендаций по использованию молекулярно-генетической методики для мониторинга BLV в молочных продуктах, которая включает алгоритмы отбора проб, оптимизацию условий проведения анализа и интерпретацию результатов, обеспечивая высокую эффективность и стандартизацию контроля безопасности молочной продукции;

представлены предложения по дальнейшему совершенствованию области оценочных критериев безопасности молока и молочных продуктов за счет внедрения ПЦР-анализа, направленного на выявление и количественное определение провирусной ДНК.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ результаты получены на сертифицированном оборудовании, показана воспроизводимость результатов исследования в различных условиях;

теория построена на известных, проверяемых данных в области молекулярно-генетических методов анализа пищевых систем, согласуется с опубликованными данными по теме диссертации, взглядами и подходами оценки качества и безопасности молочной продукции;

идея базируется на обобщении передового опыта в области молекулярно-генетических методов анализа для контроля качества и безопасности пищевых продуктов;

установлена оригинальность авторских результатов, подтвержденная большим объемом экспериментальных данных, публикациями в рецензируемых научных журналах и промышленной апробацией;

использованы современные методы сбора и анализа экспериментальных данных, обеспечивающие воспроизводимость и сходимость полученных результатов.

Личный вклад соискателя состоит в самостоятельном выборе направления исследования, научной постановке проблемы, определении цели и задач работы, разработке плана исследования, методических принципов их проведения. При непосредственном участии соискателя получены, обработаны и систематизированы исходные теоретические и экспериментальные данные на всех этапах диссертационного исследования, сформулированы положения и научные результаты, выносимые на защиту и содержащие элементы, расширяющие научные знания, как в теоретическом, так и практическом разрезе. Соискатель апробировала результаты исследования в промышленных условиях и посредством их обсуждения на международных и всероссийских конференциях, а также подготовкой публикаций по основным результатам диссертационного исследования.

В ходе защиты диссертации не были высказаны критические замечания.

Соискатель Лазарева Е.Г. ответила на задаваемые ей в ходе заседания вопросы и привела собственную аргументацию.

На заседании 12 декабря 2024 года диссертационный совет принял решение: за выполнение научной задачи, направленной на разработку тест-системы для количественного определения провирусной ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота в молоке и молочных продуктах, что будет способствовать повышению безопасности молочной продукции и защите здоровья населения, а также имеет важное социально-экономическое и хозяйственное значение, присудить Лазаревой Е.Г. ученую степень кандидата технических наук по специальности 4.3.3 – Пищевые системы.

Диссертационное исследование соответствует пп. 2. «Методология научных исследований в области пищевых систем», 5. «Технология мясной, молочной и рыбной продукции и холодильных производств» и 17 «Методы контроля показателей качества, безопасности, технологической, функциональной и специальной направленности сырья, пищевых и кормовых продуктов, пищевых и биологически активных добавок. Методы подтверждения эффективности. Фудомика» паспорта научной специальности 4.3.3 – Пищевые системы (технические науки) и требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям в рамках пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842).

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 14 человек, из них 13 докторов наук по специальности 4.3.3 – Пищевые системы (технические науки), участвовавших в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 14, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Заместитель председателя диссертационного
Совета 99.0.092.02, д.т.н.

Петров А. Н.

Секретарь диссертационного
Совета 99.0.092.02, к.т.н.

Николаева Ю. В.

12 декабря 2024 г.

