

ОТЗЫВ

официального оппонента Волковой Галины Сергеевны на диссертационную работу
Ахангаран Махбубех на тему «Разработка биотехнологии напитка
молокосодержащего с экстрактом нута сквашенного, содержащего биологически
активные пептиды», представленную на соискание ученой степени кандидата
технических наук по специальности 4.3.5 – Биотехнология продуктов питания и
биологических активных веществ

Актуальность темы

Давно стало очевидным, что без повышения качества пищевой продукции невозможно социально-экономическое развитие страны. Во многих странах мира, остро стоит задача роста рынка продовольствия, при этом важнейшая его составляющая – это использование современных биотехнологий в производстве продуктов питания на основе ингредиентов с биологической активностью. Перспективными субстанциями такого рода являются пептиды, биологическая ценность которых заключается в способности восстанавливать функциональные нарушения и препятствовать развитию паталогических процессов. Целесообразность использования пептидов в составе пищевых продуктов обусловлена биологическими свойствами этих веществ.

Своевременное и обоснованное использование биологически активных пептидов в составе продуктов питания открывает широкие возможности для поддержания здоровья и увеличения продолжительности жизни. Учитывая то, что большая часть биологически активных пептидов присутствует в гидролизованных белковых фракциях молока и зернобобовых культурах, ферментированные молочные продукты сложного состава могут принести потребителям определенную пользу для здоровья. При этом существует необходимость в дальнейших фундаментальных исследованиях, чтобы выяснить зависимость параметров ферментативного гидролиза белков, обеспечивающих получение биологически активных пептидов направленного действия.

Все вышеизложенное подтверждает актуальность проведения исследований по разработке биотехнологии производства молкосодержащего напитка с экстрактом нута сквашенного, содержащего биологически активные пептиды, как нового продукта профилактической направленности, перспективного для внедрения в производство.

Научная новизна полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнений.

Автором были выделены из продуктов естественной ферментации и идентифицированы по совокупности морфологических, физиолого-биохимических и

протеомных методов 10 (десять) молочнокислых микроорганизмов. Для отобранных штаммов изучены технологические (активность кислотообразования, антагонистическая активность) и пробиотические свойства (способность выживать в условиях желудочно-кишечного тракта, ЖКТ), установлено отношение к антибиотикам, антипитательным факторам нута (фитазная активность, утилизация рафинозы).

Установлено, что штаммы *Leuc. mesenteroides* FM-4 (гены prtB, prtR), *L. sakei* SD-8 (prtB, prtR), *Leuc. mesenteroides* CH-5 (prtB), *P. pentosaceus* FC-9 (prtB, prtH), *L. plantarum* PC-7 (prtB, prtP) обладают наибольшей протеолитической активностью в отношении белков молока; штаммы *L. fermentum* SB-2 (prtP/prtM, prtB), *L. sakei* SD-8 (prtB, prtR), *L. brevis* VY-1 (prtP/prtM, prtP, prtB, prtH), *P. pentosaceus* FC-9 (prtP, prtH), *P. pentosaceus* FC-10 (prtB, prtR), *Leuc. mesenteroides* FM-4 (prtB, prtR) – в отношении белков нута; штаммы *P. pentosaceus* FC-10 (prtB, prtP), *L. sakei* SD-8 (prtB, prtR), *P. pentosaceus* FC-9 (prtP, prtH), *Leuc. mesenteroides* FM-4 (prtB, prtR) обладают способностью расщеплять и белки молока, и белки нута. Наличие генов протеаз у всех штаммов подтверждает их протеолитическую активность, а ген prtB играет важную роль в гидролизе белков нута и молока. Протеолитическая активность молочнокислых микроорганизмов является субстратспецифичной.

Автором выявлены изменения белкового профиля нута под действием молочнокислых микроорганизмов: пептиды имели молекулярную массу в основном ниже 20 кДа. Большинство изучаемых штаммов активно расщепляли белки вицилина.

Впервые изучен пептидный состав, проведена идентификация и исследованы потенциальные биологические активности пептидов, образующихся под действием протеаз идентифицированных микроорганизмов на белки нута: ингибирующая активность ангиотензинпревращающего фермента, антигипертензивная, противоопухолевая, противогрибковая, антибактериальная и противотуберкулезная активности.

Значимость для науки и практики выводов и рекомендаций диссертанта

Представленные в диссертационной работе результаты исследований имеют значимость для науки и производства, заключающуюся в теоретическом и практическом обосновании биотехнологии напитка молочносодержащего с экстрактом нута сквашенного, содержащего биоактивные пептиды.

Проведено депонирование 10 штаммов молочнокислых микроорганизмов в Биоресурсный центр ВКПМ НИЦ «Курчатовский институт», выдано удостоверение о депонировании.

Разработан бактериальный препарат «ЛактоЛек» для производства ферментированного молочно-нutowого напитка с биопептидами, подана заявка на

патент «Препарат бактериальный протеолитический для производства ферментированного нутового напитка», № 2024116892 от 19.06.2024.

На бактериальный препарат разработана нормативная документация (ТУ, ТИ). Опытная партия бактериального препарата была выработана на базе ООО «ПромБиоТехнологии», Тульская область, г. Ефремов, имеется акт промышленной выработки.

Практическую значимость для пищевой промышленности представляет разработанная автором технология напитка молочносодержащего с экстрактом нута, сквашенного бактериальным препаратом «ЛактоЛек», содержащего биоактивные пептиды. Продукт характеризуется высокими органолептическими характеристиками и повышенной пищевой ценностью и соответствует нормам ТР ТС 033/2013. Апробация технологии осуществлена в производственных условиях ООО «ЖУКОВОМОЛОКО», Калужская область, г. Жуков.

Результаты работы внедрены в учебный процесс на кафедре Биотехнологии и биоорганического синтеза ФГБОУ ВО «РОСБИОТЕХ» и использованы при подготовке бакалавров и магистров по направлениям подготовки 19.03.01 и 19.04.01 «Биотехнология».

Степень обоснованности и достоверности результатов исследований

Достоверность полученных в диссертации результатов подтверждается использованием современных инструментальных методов изучения объектов исследования, воспроизводимостью результатов экспериментальных работ. Экспериментальные данные, полученные автором, подтверждены теоретическими положениями и с достаточной степенью точности согласуются с известными концепциями, апробированы и внедрены в промышленных условиях.

Выводы, сделанные автором, логически следуют из экспериментально полученных данных и отражают основное содержание диссертационной работы.

Исходя из вышесказанного, научные положения, выводы и рекомендации диссертационной работы следует считать обоснованными и достоверными.

Апробация работы

Основные материалы диссертации доложены и обсуждены на многочисленных научных конференциях, в том числе международных.

Соответствие диссертации специальности

Диссертационная работа Ахангаран Махбубех по содержанию и результатам выполненных исследований соответствует пп. 7, 8, 12 и 25 паспорта специальности 4.3.5 «Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ».

Публикации результатов исследований

По теме диссертации опубликовано 12 печатных работ. Из них две публикации в изданиях, индексируемых в международных базах данных Web of Science и Scopus, шесть публикаций в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ, и один патент.

Соответствие автореферата основным положениям

Автореферат оформлен в соответствии с требованиями ВАК при Минобрнауки России и полностью отражает содержание диссертации.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертация изложена на 150 страницах и состоит из введения, обзора научно-технической литературы (глава 1), организация эксперимента, объекты и методы исследований (глава 2), результатов собственных исследований и их обсуждения (главы 3, 4, 5, 6), выводов, списка использованной литературы, 13-ти приложений. Содержит 22 таблицы, 31 рисунок. Список используемой литературы включает 173 источника, в том числе 149 иностранных.

Во введении обоснована актуальность темы и определены основные направления исследования.

В первой главе (обзоре литературы) подробно изложены современные представления о бобах нута и его свойствах, антипитательных факторах, биологической активности пептидов нута и способах их высвобождения, о микробной ферментации нута молочнокислыми бактериями и ферментированных продуктах на его основе.

Вторая глава посвящена описанию организации эксперимента, объектов и методов исследований. Приводятся характеристика объектов исследования, а также условия выполнения и схема проведения эксперимента. Методы экспериментальных исследований приведены с указанием ссылок на ГОСТ или литературный источник. Указаны математические методы статистической обработки экспериментальных данных.

В третьей главе автор приводит экспериментальные данные по выделению микроорганизмов из природных источников, идентификации микроорганизмов с помощью технологии MALDI-TOF MS и изучению технологических и пробиотических свойств микроорганизмов.

Также приводятся результаты скрининга штаммов на антагонистическую активность, а также исследований устойчивости штаммов молочнокислых бактерий к антибиотикам.

В четвертой главе автор описывает результаты определения протеолитической активности и генов протеаз молочнокислых микроорганизмов методом ПЦР.

В пятой главе описываются этапы разработки бактериального препарата для ферментации экстракта нута. Представлена технология получения экстракта нута, его органолептическая оценка, определен белковый профиль ферментированного экстракта нута, идентифицированы пептиды с помощью двумерного электрофореза и масс-спектрометрии, исследована антагонистическая активность штаммов.

В шестой главе приводятся результаты разработки технологии напитка молочносодержащего с экстрактом нута сквашенного. Автор определяет органолептические, микробиологические и химические показатели готового напитка, результат протеомных исследований ферментированных напитков и оценку экономической эффективности разработанной технологии.

В конце диссертации приведены выводы по работе, список сокращений, список использованной литературы.

В приложении 1 автор приводит удостоверение о депонировании штаммов, в приложении 2 и 3 – справки о национальном патентном депонировании двух штаммов молочнокислых бактерий, в приложении 4 и 5 – проекты ТУ и ТИ на препарат бактериальный «ЛактоЛек», в приложении 6 – уведомление о приеме регистрации заявки на патент, в приложениях 7 и 8 – акты промышленной выработки бактериального препарата и опытной выработки напитков молочносодержащих сквашенных с экстрактом нута, в приложении 9 – патент на способ получения белкового изолята из бобов нута, в приложениях 10-13 – дипломы автора в качестве участника наиболее значимых конференций.

Высоко оценивая результаты проведенных Ахангаран Махбубех исследований, необходимо сделать некоторые **замечания**, которые не носят принципиального характера:

1. При получении экстракта нута (стр.82) желательно пояснить, чем обусловлен выбор гидромодуля и привести характеристику получаемого экстракта по физико-химическим показателям.

2. По каким критериям производилась органолептическая оценка молочносодержащего напитка с экстрактом нута сквашенного (таблица 5.1, стр. 83), по какой шкале оценивали продукт, какова численность и состав экспертной группы?

3. Чем объясняет автор различия в химическом составе напитков, сквашенных комбинациями штаммов 1 и 2 (табл. 6.4, стр. 103) по содержанию жира, белка и углеводов?

4. Какие концентрации идентифицированных биологически активных пептидов в готовом напитке обеспечат биологический эффект и профилактические свойства готового продукта?

5. При обработке экспериментальных данных в некоторых таблицах и на графике отсутствует погрешность измерения (табл. 3.6, 5.3, 6.1, 6.4, рис.3.5).

6. Требуется пояснения вопрос, почему автор не нормирует показатель кислотности напитка ($^{\circ}\text{T}$), согласно ГОСТ 31450-2013 «Молоко питьевое. Технические условия» (табл.6.4, стр.103).

7. На мой взгляд, целесообразно привести в диссертации аппаратную схему производства напитка молочносодержащего с экстрактом нута сквашенного, а также указать физико-химические показатели готового продукта, расчет его пищевой и энергетической ценности.

Очевидно, что сделанные замечания носят частный характер и не касаются существа диссертационной работы, ее основных концепций, полученных экспериментальных результатов, выводов и рекомендаций, а также ни в какой степени не влияют на общую положительную оценку обсуждаемой работы.

Автореферат отражает основные положения диссертационной работы, материалы диссертации хорошо освещены в публикациях автора.

Заключение

Диссертация Ахангаран Махбубех является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований фундаментального и прикладного характера изложены новые научно обоснованные технические и технологические решения и разработки для биотехнологии напитка молочносодержащего с экстрактом нута сквашенного, содержащего биологически активные пептиды, имеющие существенное значение для развития научных основ и прикладных аспектов производства ферментированных молочносодержащих продуктов.

Таким образом, диссертационная работа, представленная к защите Ахангаран Махбубех, удовлетворяет всем критериям, предъявляемым к кандидатским диссертациям в соответствии с п.9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 в действующей редакции, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 4.3.5 Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ.

Официальный оппонент

доктор технических наук по специальности

03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии),

заведующий лабораторией биотехнологии

органических кислот, пищевых и кормовых добавок
Всероссийского научно-исследовательского института
пищевой биотехнологии – филиала Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского
центра питания, биотехнологии и безопасности пищи



Волкова Галина Сергеевна

12 марта 2025 года.

Адрес места работы: 111033, г. Москва, ул. Самокатная, д.46

Тел. 8-495-362-44-95,

e-mail: 4953624495@mail.ru, <https://www.vniipbt.info>

Подпись руки
ЗАВЕРЯЮ: ученый
секретарь
"12" марта 2025г.

Волкова Г.С.
Т.С. Сергеева



Г.С.