

В диссертационный совет Д 006.021.02
при ФГБНУ «Федеральный научный центр
пищевых систем им. В.М.Горбатова» РАН

ОТЗЫВ

Официального оппонента Ольги Николаевны Красули на диссертационную работу Хвостова Даниила Владиславовича на тему: «Разработка методики исследования протеотипических пептидов для количественного анализа белкового состава в мясной продукции МRM методом», представленную на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 05.18.04- «технология мясных, молочных и рыбных продуктов и холодильных производств»

Актуальность диссертационной работы

Идентификация мясного сырья различных видов животных в составе мясных продуктов является актуальным научным направлением, которое обусловлено все возрастающей потребностью в животном белке, а также увеличивающейся степенью маржинальности мясоперерабатывающих предприятий. Все эти факторы могут приводить и приводят к возрастанию количества фальсификаций и числа практик введения в заблуждение потребителей относительно стандартизированности состава мясных продуктов. Проблема случайного или преднамеренного искажения состава и загрязнения контаминаントами является глобальной, несмотря на обилие существующих документов и регламентов. Существующие методы обнаружения немногочисленны и достаточно продолжительны. Поэтому, разработка новых методов идентификации качества мяса и мясных продуктов является насущной задачей научных исследований.

Известно, что идентификация пептидных маркеров является наиболее критичным этапом при разработке новых методов. Масс-спектрометрия нового поколения позволяет проводить одновременный скрининг неограниченного количества пептидов за одно исследование, причем, с высокой степенью разрешения, поэтому, этот метод является доминирующим в зарубежной практике. Известно, из международных баз данных, применение

инструментов протеомики при идентификации и характеристики видовых маркеров в таких продуктах, как мясо, рыба, яйцо, овощи и зерновые. Однако, результаты разработок, доведенных до практического воплощения в виде Методических рекомендаций, практически, отсутствуют.

Учитывая изложенное выше, заявленная тема диссертационного исследования, безусловно, является актуальной.

Новизна, степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертационной работе, базируются на результатах обширного анализа источников информации и значительном экспериментальном материале.

Актуальность темы определила основную цель и задачи исследований, ориентированных на изучение научных и прикладных аспектов маркерной идентификации мышечной ткани свинины, говядины, курицы, а также рецептурных ингредиентов-сухого молока и меланжа с применением ВЭЖХ-МС/МС метода. Диссидентом сформулированы основные положения, выносимые на защиту, и последовательно решены все научные задачи. Материал диссертации изложен в логической последовательности.

Основная часть диссертационного исследования включает анализ состояния вопроса; формулировку проблемы, целей и задач исследования; характеристику организации работ, структуры, объектов и методов исследований; исследование на достаточном массиве данных возможности применения аспектов биомоделирования параметров протеотипических пептидов, а также маркерной идентификации пептидов с последующей проверкой их селективности, что позволило разработать методику идентификации и определения содержания мышечной ткани в мясном сырье и оценить ее экономическую эффективность; заключение с выводами и рекомендациями.

Основное содержание работы отражено в 13 научных публикациях, из них 2-в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ, 5 – в зарубежных журналах, индексируемых в международной базе данных Scopus и Web of Science.

Диссертационная работа Хвостова Даниила Владиславовича по объему, содержанию и выводам представляет собой завершенное научное исследование. Основной текст диссертация изложен на 90 стр., а весь объем диссертации представлен на 151 странице машинописного текста, содержит 40 страниц приложений, 10 таблиц и 20 рисунков, список использованной литературы, содержащий 152 источника информации, из них 77 – зарубежных авторов и интернет-ресурсов.

Изложенные в диссертационной работе научные положения, выводы и рекомендации подтверждаются результатами исследований, выполненных автором на высоком научно-методическом уровне.

Диссидентом использованы биохимические и протеомные методы исследования белков, включающие спектрометрические, жидкостную хроматографию в сочетании с масс-спектрометрией, биоинформационный анализ и статистическую обработку данных с использованием двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA) в программе Statistica 10.0. В результате биоинформационного поиска осуществлен выбор более 100 уникальных пептидов и определены конкретные протеотипические пептиды для идентификации и детектирования мышечной ткани говядины, свинины и мяса кур, а также сухого молока, обладающих высокой степенью специфичности и термостабильности. Разработан комплекс решений, позволяющих установить высокую степень селективности протеотипических пептидов (на примере тканей свинины различного морфологического состава).

Заслуживают внимания результаты диссертационного исследования по предложенной методике аутентификации мышечной ткани (на примере свинины), т.к. использование разработанного подхода при выборе конкретных маркеров позволяет значительно повысить степень обнаружения

незаявленных на маркировке рецептурных ингредиентов в составе мясных продуктов.

Представляет интерес процедура полуколичественной оценки мышечной ткани в пищевой матрице с применением ВЭЖХ-МС/МС метода, которая легла в основу разработанной методики с высокими метрологическими характеристиками: предел обнаружения-0.3мас. %, предел количественного определения-0.9мас%. Высокая чувствительность методики позволяет провести дифференциацию между случайным загрязнением (менее 1.0мас%) и сознательным внесением незаявленных ингредиентов в рецептуру мясного продукта (более 1.0мас%).

Достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, подтверждается выбором современных методов анализа, проведением исследований в лабораториях на сертифицированном оборудовании, апробацией результатов, использованием методов статистической обработки полученных экспериментальных данных. О достоверности результатов свидетельствует представительная выборочная совокупность экспериментальных данных и применение соответствующих методов их математической обработки. Результаты работы апробированы на многочисленных конференциях, форумах и семинарах международного и всероссийского уровня.

Автореферат отражает основное содержание диссертации. Тема диссертации полностью раскрыта в ее содержании. Сформулированная в работе цель достигнута. Большой личный вклад соискателя в выполнение работы не вызывает сомнения. Заключение диссертации отражает наиболее важные, полученные автором, результаты.

Практическая значимость диссертационного исследования

Подобранные критерии для определения конкретных протеотипических пептидов в протеомных исследованиях различных видов

мясного сырья позволяют повысить степень объективности принимаемых решений при проведении процедур идентификации и определения степени фальсификации, что согласуется с требованиями «Стратегии развития пищевой и перерабатывающей промышленности РФ на период до 2030 г.»

Результаты работы использованы при разработке мультиплексной методики для детектирования и полуколичественной оценки мышечной ткани основных видов мясного сырья с использованием ВЭЖХ-МС/МС метода по технологии мониторинга множественных реакций (MRM).

Результаты диссертационного исследования использованы в Приложении «Методики измерений массовой доли мясного ингредиента кур в пробах мясной продукции, выработанной по национальным и межгосударственным стандартам, методом флуоресценции для детектирования продуктов ГПЦР в реальном времени» в части процедуры идентификации мышечной ткани.

Личный вклад автора в разработку научной проблемы

Автором самостоятельно решена научная проблема, разработана методика и схема выполнения экспериментального исследования, проведены лабораторные анализы, полученные результаты обработаны и проанализированы, сформулированы выводы.

Замечания по диссертации

К диссертационной работе имеются следующие замечания:

1. Необходимо отметить большую загруженность текста англоязычными терминами (табл.4,5, с.65,66,67 и др.).
2. В тексте диссертации присутствует некорректное использование некоторых терминов, например, «термообработка», «виды животных», «бесструктурный колбасный фарш», «метаболомика» и др.

3. Некорректно сформулировано положение 1, выносимое на защиту; конкретно, фраза «Обосновано применение ВЭЖХ-МС/МС метода для определения протеотипических пептидов...». Если обосновано, то непонятно, что защищает автор?

4. Для определения специфичности и селективности, выявленных протеотипических пептидов, в качестве объектов исследования, применены стандартные эталонные матрицы фаршей из поперечнополосатых мышц свинины (*m. L. dorsi*) и говядины (*m. L. dorsi*), гладкая мускулатура аорты свиной, свиная и говяжья мышечная ткань сердечного типа, мясные консервы. Из текста диссертации неясно, проводились ли исследования по тканевой специфичности и для других видов мясного сырья.

5. При апробации ВЭЖХ-МС/МС методики для обнаружения и полуколичественного определения мышечной ткани использованы 2 вида сырья-говядина и свинина в составе сложной биологической матрицы-фаршे вареной колбасы. Возникает вопрос, почему не была проведена апробация методики, разработанной автором, в тех же образцах после термической обработки?

6. В работе отсутствует алгоритм контроля качества исследований протеотипических пептидов. Полагаю, что его необходимость бесспорна.

7. На мой взгляд, для комплексной оценки методики на адекватность необходима более широкая выборка мясного сырья, подлежащая исследованиям на содержание в ней протеотипических пептидов. В настоящей работе выборка составляет 3 ед.

8. Автором проведены исследования по определению белковых маркеров и получены спектры пептидов для объектов исследования, однако, в тексте диссертации не приведено обоснование выбора концентраций использованного мясного сырья.

9. В диссертационной работе желательно было провести мониторинговые исследования мясной продукции промышленного производства, а не ограничиться только модельными рецептами.

10. Автором

разработана

ВЭЖХ-МС/МС

методика

полуколичественной оценки мышечной ткани свинины и говядины в сложной пищевой матрице, но, к сожалению, отсутствует полное описание ее достоинств и преимуществ.

Однако, указанные выше замечания, в целом, не снижают научной ценности и практической значимости диссертационной работы.

Выводы, практические рекомендации, сформулированные автором, аргументированы, достоверны, обладают научной новизной; основные результаты диссертационной работы опубликованы в рецензируемых отечественных и зарубежных научных изданиях.

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней

В целом, диссертационная работа Хвостова Даниила Владиславовича «Разработка методики исследования протеотипических пептидов полуколичественного анализа мышечных белков в мясной продукции МRM методом» по структуре рукописи, объему исследований, степени их аналитической проработки и прикладной значимости отвечает требованиям Положения ВАК РФ о порядке присуждения ученых степеней. Обобщая результаты анализа оппонируемой диссертационной работы, автореферата и публикаций докторанта следует отметить, что представленная диссертация является законченным, самостоятельно выполненным, обладающим внутренним единством научным трудом, в котором приведены результаты теоретических и прикладных исследований в области разработки методологии анализа мышечных белков в мясной продукции с использованием современных методов исследования-жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией. Результаты работы обладают несомненной научной новизной и имеют практическую значимость.

Положительно оценивая диссертационную работу, следует заключить, что она соответствует критериям ВАК Минобрнауки РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор –Хвостов Даниил Владиславович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по заявленной специальности.

Официальный оппонент:

Доктор технических наук, профессор,
профессор кафедры технологии хранения и переработки
продуктов животноводства ФГБОУ ВО
«Российский государственный
аграрный университет – МСХА им. К.А.Тимирязева»
Российская Федерация, 127550,
г. Москва, ул. Тимирязевская, д.49
Тел.: +7 (499) 976-46-12
E-mail: okrasulya@rgau-msha.ru

Красуля О.Н.

Подпись профессора Ольги Никодиновны Красули удостоверяю.

