

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Агарковой Евгении Юрьевны по теме «Разработка комплексной стратегии трансформации вторичного молочного сырья для реализации новых биотехнологических решений в молочной промышленности», представленную на соискание ученой степени доктора технических наук по специальности 4.3.3 «Пищевые системы»

Актуальность темы. Одним из важных направлений исследований для поддержания продовольственной независимости и безопасности России является разработка инновационных пищевых технологий, способствующих повышению самообеспеченности страны основными видами качественных пищевых продуктов, в том числе, выполняющих профилактические функции и повышающих адаптационные возможности человека. Рациональное питание, адекватное возрасту, профессиональной деятельности и состоянию здоровья человека, рассматривается как важнейший фактор профилактики алиментарно-зависимых заболеваний, в том числе сердечно-сосудистых, онкологических, желудочно-кишечных, эндокринных.

С позиций современной клинической нутрициологии для целенаправленной диетологической коррекции и профилактики метаболических нарушений целесообразно использовать специализированные пищевые продукты, содержащие биологически активные вещества (БАВ) с доказанными медико-биологическими свойствами. Среди всех пищевых веществ белок играет наиболее важную и уникальную роль в жизнедеятельности организма. Рассматриваемый в диссертации объект исследований - молочная сыворотка, вторичный продукт переработки молока, является важным ресурсом для получения биологически ценных белково-пептидных компонентов. Многочисленные работы, описывающие различные способы реализации потенциала сывороточных белков как функциональных ингредиентов, полученных путем протеолиза, говорят о неугасающем интересе их использования в различных сферах производства пищевых продуктов. Однако при реализации биокаталитических технологий исследователи сталкиваются с рядом проблем, затрудняющих регулирование процесса гидролиза белков и получения пептидов с заданным структурно-фракционным составом, даже несмотря на наличие достаточного количества виртуальных баз, моделирующих протеолиз. Разработка цифровой программы способна минимизировать как продолжительность виртуального скрининга, так и последующие затраты на реальный процесс, итогом которого является гарантированное получение пептидов с антиоксидантными, противодиабетическими, гипотензивными, иммуномодулирующими и антимикробными свойствами.

Определенным ограничением использования функциональных ингредиентов является изменение их свойств в технологическом процессе, что приводит к сомнению в наличии доказанных биологических эффектов непосредственно в продукте. В связи с этим исследования в области

получения пептидных ингредиентов с подтвержденной биологической активностью и последующим созданием на их основе функциональных продуктов питания является перспективным направлением, а выполненная диссертационная работа, в которой разработана комплексная стратегия исследования пептидных гидролизатов, полученных на основе биотрансформации вторичного молочного сырья, весьма актуальна и своевременна.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Обоснованность научных положений, рекомендаций и выводов диссертации Агарковой Е.Ю. базируется на глубоком анализе научно-информационного материала по проблеме создания функциональных продуктов; на достаточно значительном объеме экспериментальных исследований, выполненных грамотно и последовательно с применением общепринятых и оригинальных методов.

Выводы и рекомендации логично обоснованы и согласуются с результатами основного материала диссертационного исследования, промышленной и лабораторной апробации. Основные элементы разработанной автором комплексной стратегии трансформации вторичного молочного сырья для реализации новых биотехнологических технологий получили признание научной общественности на всероссийских и международных конференциях.

В автореферате и печатных трудах Агарковой Е.Ю. в полной мере отражены основные положения и содержание диссертационной работы. По материалам диссертационного исследования опубликовано 79 печатных работ, из которых 2 монографии; 1 учебник, 10 статей в журналах, индексируемых в базах Web of Science и Scopus; 19 статей в журналах, рекомендованных ВАК; 44 публикации в журналах, индексируемых в РИНЦ.

Достоверность и научная новизна исследований, полученных результатов и выводов диссертации. Достоверность изложенных в работе Агарковой Е.Ю. результатов и выводов подтверждается наличием статистически достоверных экспериментальных данных, полученных с использованием современных подходов и методов; апробацией результатов на научных конференциях и в промышленности. Результаты работы в виде шести новых видов обогащенной продукции внедрены на 4-х молокоперерабатывающих предприятиях, что подтверждается актами о внедрении.

Научная новизна положений диссертационной работы заключается в разработанной автором комплексной стратегии исследования пептидных гидролизатов и обогащенных биоактивными пептидами продуктов, включающей биоинформационное программирование; методы тестирования *in vitro* и *in vivo*; иерархическую схему выбора гидролизатов сывороточных белков по совокупности желаемых свойств; закономерности формирования функционального потенциала белков технологически дифференцированных сывороток от пептидного профиля.

При помощи цифрового моделирования разработан системный подход к ранжированию ферментных препаратов по биокаталитической активности и сенсорному профилю образующихся пептидов. Определены зависимости величин функциональной активности гидролизатов сывороточных белков от продолжительности протеолиза и фермент-субстратного соотношения; установлено влияние дозы внесения пептидных гидролизатов на органолептические, структурно-механические и функциональные свойства целевых продуктов; выявлены закономерности формирования газодисперсной структуры базового аэрированного продукта от технологически-аппаратурных параметров его получения.

Теоретическая и практическая значимость работы. Анализ диссертационной работы показал, что значимость для науки и производства полученных соискателем результатов очевидна и заключается в теоретическом обосновании и экспериментальном подтверждении комплексного решения задачи по разработке стратегии трансформации вторичного молочного сырья в функциональные ингредиенты с подтвержденной медико-биологической активностью: от реализации научно обоснованных подходов, методов и установленных закономерностей при разработке биокаталитических технологий получения пептидных ингредиентов с использованием основных принципов: ферментативного катализа, протеомики, фудомики, биотехнологии и биоинформатики, до подтверждения полученных результатов экспериментальных исследований в производственных условиях и создания обогащенной пищевой продукции, что определяет теоретическую и практическую значимость работы.

Соответствие диссертации и автореферата требованиям «Положения о присуждении ученых степеней». Диссертационная работа Агарковой Е.Ю. построена по стандартной структуре, состоит из введения, обзора литературы, методической части, экспериментальной части, включающей пять глав, заключения, списка использованных источников, списка сокращений, приложений. Основные положения диссертационной работы изложены на 260 страницах, содержат 112 таблиц, 63 рисунка. Список литературы содержит 285 источников. Структура и оформление диссертации соответствует требованиям ВАК РФ.

Результаты анализа и оценки разделов диссертации свидетельствуют о логичном представлении материала, статистически достоверных и хорошо проиллюстрированных экспериментальных данных.

Автореферат изложен на 48 страницах, достаточно полно отражает содержание диссертационной работы, основные результаты которой опубликованы в научных статьях. По содержанию, объему и структуре диссертация и автореферат соответствуют установленным требованиям ВАК РФ, изложенных в «Положении о присуждении ученых степеней».

Анализ содержания работы

Во введении аргументированы актуальность темы диссертационной работы, цели и задачи собственных исследований, научная новизна и практическая значимость.

В первой главе обосновано использование протеомного анализа при разработке функциональных продуктов на основе молочных белков; теоретически определены группы ферментных препаратов для протеолиза сывороточных белков, обсуждены их специфичность и механизм действия; определены методы тестирования и доказательства биофункциональных свойств пептидных гидролизатов сывороточных белков и продуктов с их использованием для более объективной их оценки; доказана перспективность использования гидролизатов сывороточных белков в аэрированных молочных системах.

Во второй главе приведено описание объектов и методологии исследований, представлена схема их проведения и заданы направления исследований.

В третьей главе, исследован фракционный состав технологически дифференцированных сывороток, представлен алгоритм проведения протеолиза белкового сырья, программа системного анализа и выбора оптимальных ферментных препаратов для виртуального высвобождения биоактивных пептидов с возможностью автоматической загрузки данных из базы ВЮРЕР. На основании предшествующего анализа получена иерархическая схема выбора предпочтительных гидролизатов сывороточных белков. Проведена оптимизация процесса протеолиза различных сывороток.

В четвертой главе, представляющей значимые результаты исследований, подтверждающие биологическую активность и функциональные свойства гидролизатов сывороточных белков на моделях *in vitro* и *in vivo*. По итогам тестирования достоверно продемонстрирована антиоксидантная активность у всех полученных гидролизатов, уровень которой варьировал в пределах 400 - 600 мкМ ТЭ/г белка. При этом автором выявлена корреляция ее уровня с количеством идентифицированных в гидролизатах антигипертензивных и антиоксидантных пептидов.

Подобная закономерность отмечена и при определении антимикробной активности: наиболее выраженное подавление роста штаммов *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* выявлено у двух типов гидролизатов сыворотки, что также коррелировало с данными *in silico* прогнозирования.

В качестве показательного биологического эффекта на фоне приема гидролизатов у животных в модели индуцированного окислительного стресса зафиксировано значимое снижение величины ТБК-реактивных продуктов в печени, что подтвердило антиоксидантные и гепатопротекторные свойства пептидных гидролизатов.

Интересны также результаты исследований гипотензивного действия гидролизатов, выявленного при тестировании систолического и диастолического давления и по изменению концентрации ангиотензина в крови животных, подтвердившие их полную корреляцию.

На модели с антибиотико-индуцированным дисбиозом, показавшей существенное увеличение содержания лакто- и бифидобактерий у животных, получавших на фоне приема антибиотика гидролизаты сывороточных белков, выявлены пребиотические свойства пептидных ингредиентов.

В пятой главе описана разработка рецептуры и технологии базового аэрированного продукта с использованием двух видов подобранных ранее гидролизатов. При их внесении значительно увеличилась АПФ-ингибирующая активность; в 5 и 9 раз соответственно, но при этом произошло ухудшение реологических свойств продукта. Результаты предпринятой автором корректировки используемой ранее стабилизационной системы и проведения полнофакторного эксперимента позволили получить продукт аэрированной структуры с соблюдением баланса функциональных (АПФ-ингибирующей активности) и потребительских свойств.

Результаты исследований, изложенные в **шестой главе**, подтвердили, что разработанные обогащенные продукты обладали такими же функциональными свойствами как пептидные гидролизаты сывороточных белков молока.

Тестированием продуктов *in vivo* на моделях индуцированного окислительного стресса подтверждены антиоксидантные и гепатопротекторные свойства базового аэрированного продукта. Показано, что у животных, получавших мусс с пептидным гидролизатом, содержание ТБК-реактивных продуктов было ниже на 20 % по сравнению с контрольной группой. Подтверждено существенное увеличение гипотензивного эффекта на 30 день эксперимента; показано статистически достоверное увеличение относительного содержания лакто- и бифидобактерий у животных, получавших на фоне приема антибиотика опытные образцы мусса. На модели с повышенной алиментарной липидной нагрузкой выявлено снижение сывороточной концентрации триглицеридов на 51,4 %, концентрации общего холестерина в сыворотке крови - на 8,6 %, а также снижение концентрации атерогенной фракции липопротеидов ЛПНП на фоне приема мусса.

Результаты исследований позволили научно обосновать и экспериментально подтвердить функциональные свойства продуктов, разработанных на основе пептидных гидролизатов сывороточных белков, такие как антиоксидантные и гепатопротекторные, гипотензивные, гипохолестеринемические и бифидогенные.

В седьмой главе представлена общая технологическая схема получения шести видов обогащенных продуктов. Оценка степени тиксотропности экспериментальных образцов обогащенных молочных и творожных продуктов в сравнении с контрольными показала, что внесение гидролизата и стабилизационной системы улучшало структурно-механические характеристики новых продуктов.

Результаты анализа материалов теоретических и экспериментальных исследований позволяют сделать вывод, что предложенный автором алгоритм может быть использован для тестирования различных видов молочных продуктов с функциональным потенциалом и способен минимизировать затраты и снизить риски при проведении клинических испытаний; полученный функциональный пептидный ингредиент имеет широкие перспективы для расширения ассортимента конкурентоспособной обогащенной и специализированной продукции, что подтверждено на

примере результатов внедрения разработанных на его основе шести видов обогащенных продуктов («Муссы творожные обогащенные», «Суфле творожное обогащенное», «Пасты творожные обогащенные», «Кисели молочные обогащенные», «Напитки молочные обогащенные», «Кремы творожные обогащенные») на 4-х молокоперерабатывающих предприятиях:

Основные положения и результаты диссертационной работы апробированы на российских и международных конференциях; отмечены золотыми медалями «За разработку технологии производства обогащенных молочных продуктов здорового питания в рамках ресурсосбережения и импортозамещения» (Агропромышленная выставка «Золотая осень», 2017 г.); Всероссийский смотр-конкурс лучших пищевых продуктов, 2017 г.); «За разработку молочного напитка на основе гидролизатов сывороточных белков» (Всероссийский смотр-конкурс лучших пищевых продуктов, продовольственного сырья и инновационных разработок, Волгоград, 2019 г.).

Представленные в заключении работы основные выводы соответствуют поставленным целям и задачам исследования, научно обоснованы и подтверждены результатами экспериментальных исследований и производственных испытаний.

Наряду с общей положительной оценкой диссертационного исследования Агарковой Е.Ю., имеются некоторые **замечания, предложения и вопросы:**

1. Насколько универсально программное обеспечение? Возможно ли с помощью него проводить виртуальный протеолиз, преследующий цель получение биопептидов, абсолютно любых белковых субстратов?

2. В работе приведён термин "модель равновесия", под которым автор понимает модифицированное уравнение Михаэлиса-Ментен. Не совсем понятно, о каком равновесии идёт речь, если данное уравнение ферментативной кинетики описывает зависимость скорости биокаталитической реакции от концентрации субстрата и фермента, температуры и продолжительности процесса?

3. Не совсем корректен используемый автором термин «мицеловые» грибы, в микробиологии более принято - «мицелиальные».

4. По-видимому, в раздел «объекты исследований» следовало бы внести перечень используемых в диссертационном исследовании ферментных препаратов и их характеристики, приведенные в экспериментальной части.

5. Автор указывает на наличие выраженной антимикробной активности в отношении *E. coli* и *S. aureus* для ГСБ 4 и 5, что "коррелирует с данными *in silico* прогнозирования"... (стр. 24 автореферата). При этом данные, на которых основан этот вывод, не приведены.

6. В таблице 15 (стр. 28 автореферата) в качестве одного из анализируемых показателей приведена степень тиксотропности с размерностью в %. При этом не совсем ясно, относительно какой величины данные проценты исчислены?

7. В соответствие с каким нормативным и/или методическим документом проводились исследования на лабораторных животных?

8. В диссертационной работе имеются опечатки, несоответствие сведений о количестве опубликованных монографий в разных частях автореферата.

9. Таблицы по описанию кормовых рационов целесообразно приводить в разделе «Объекты и методы исследований».

Вышеуказанные вопросы и приведенные замечания не носят принципиального характера и не снижают общего положительного впечатления от диссертационной работы.

Заключение. Диссертационная работа Агарковой Евгении Юрьевны является законченным научно-квалификационным исследованием, включающим теоретические положения, подтвержденные результатами экспериментальных исследований, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение, основанное на комплексной стратегии и новых научно обоснованных решениях создания биотехнологий функциональных ингредиентов и обогащенной пищевой продукции на основе трансформации вторичного сырья молокоперерабатывающего производства, внедрение которых вносит значительный вклад не только в развитие науки о пищевых системах, но и пищевой промышленности в целом.

По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости диссертация соответствует требованиям пп.9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 и отвечает критериям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора технических наук, а ее автор Агаркова Е.Ю. заслуживает присуждения ученой степени доктора технических наук по специальности 4.3.3 «Пищевые системы».

Заслуженный деятель науки РФ, академик РАН, профессор, главный научный сотрудник Всероссийского научно-исследовательского института пищевой биотехнологии - филиала ФГБУН Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи, доктор технических наук по научной специальности 05.18.07 – «Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ»

Л.В. Римарева
14.08.2023 г.

Подпись Римаревой Любови Вячеславовны заверяю,
Начальник отдела кадров ВНИИПБТ - филиал ФГБУ
«ФИЦ питания и биотехнологии»



М. Уварова

Почтовый адрес: 111033, г. Москва, ул. Самокатная,
Телефон: +7 (495) 362-44-95
E-mail: Lrimareva@mail.ru