

ОТЗЫВ

официального оппонента Тихонова Сергея Леонидовича на диссертационную работу Хвостова Даниила Владиславовича «Разработка методики исследования протеотипических пептидов для количественного анализа мышечных белков 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 работы

Мясопродукты подвергаются всем видам фальсификации, что объясняется ограниченностью отечественных сырьевых ресурсов, высокими и растущими ценами на основное сырье, полуфабрикаты и готовые продукты. Часто фальсификация осуществляется путем замены одного вида мяса другим, менее ценным по биологической ценности и более дешевым, а также частичной подмены мяса субпродуктами или продуктами растительного происхождения. Кроме того, незаявленные рецептурные белковые компоненты могут быть вызвать аллергические реакции.

Выявление фальсифицированных мясопродуктов можно проводить на основании дополнительной структурной информации о пептидах и белках с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией (МС), который проводится в несколько стадий: разделение ионов-предшественников, фрагментация этих ионов с образованием вторичных ионов; анализ фрагментных ионов и является одним из самых распространенных методов в таких исследованиях. Полученные данные отражают аминокислотный состав аналита и присутствие модификаций. Данный метод постоянно совершенствуется и развивается, что способствует увеличению скорости, чувствительности, качества данных и надежности результатов, которые зависят от

устойчивости, неизменности и уникальности протеотипических пептидов, характерных для различного мясного сырья (мясо крупного рогатого скота, мясо мелкого рогатого скота, мяса птицы, мяса диких животных). В связи с этим, диссертационная работа Хвостова Д. В., посвященная разработке и внедрению унифицированного способа установления подлинности мясного сырья, путем аутентификации пептидов с применением ВЭЖХ-МС/МС является актуальной и своевременной.

Следует отметить, что отдельные этапы диссертационной работы выполнены в рамках: плана НИОКР ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, грантов РФФИ и РНФ, что свидетельствует об актуальности проведенных исследований.

Оценка объема, структуры и содержания диссертации

Диссертационная работа включает введение, обзор литературы, характеристику объектов и методов исследования, экспериментальную часть, результаты и анализ данных, экономическую эффективность разработанной методики анализа, выводы, список использованных источников, приложения. Работа изложена на 151 странице машинописного текста, содержит 10 таблиц, 20 рисунков и 4 приложения. Список литературы включает 152 наименования отечественных, зарубежных авторов и интернет-ресурсов.

Во введении представлены актуальность темы исследования, ставятся цель и задачи исследования, отмечается их научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, реализация результатов исследования, объект и предмет исследования, а также сведения о методах и методологии исследования, степень достоверности и апробация результатов, публикациях, структуре и объеме диссертации, а также личный вклад автора

В первой главе проанализирована научно-технической литература, посвященная обоснованию выбора направления исследований, истории изучения и современным методам определения пептидов с помощью молекулярно-генетических подходов, таких как ДНК-гибридизация и

полимеразная цепная реакция (ПЦР), иммуноферментного анализа (ИФА), иммунохроматографии (ИХА), методах, основанных на масс-спектрометрии (МС) с ионизацией электрораспылением (ESI) и лазерной десорбционной ионизацией с матрицей (MALDI), подробно рассмотрены методы аутентификации пищевых продуктов на основе массспектрометрии, в том числе колебательная и флуоресцентная спектроскопия, ядерный магнитный резонанс (ЯМР). В аналитическом обзоре рассмотрены протеомные подходы для обнаружения биомаркеров на основе белков и пептидов для профилирования пищевых продуктов. Особую ценность в литературном обзоре представляет анализ результатов исследований, опубликованные за последние десять лет о применении масс-спектрометрических анализов на основе белков и пептидов для мяса.

Во второй главе отражены объекты и методы исследований, дано описание этапов проведения ВЭЖХ-МС, представлены идентификационные характеристики термостабильных протеотипических пептидов из говядины, свинины, мяса кур, сухого молока и меланжа методом ВЭЖХ-МС.

В третьей главе проведены работы по определению белковых маркеров и получены спектры пептидов мышечной ткани говядины, свинины и птицы, как основного сырья, используемого при переработке. Описана разработанная методика исследования протеотипических пептидов для аутентификации и определения мультивидов ВЭЖХ-МС/МС методом.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций. Автор корректно использует современные научные методы обоснования полученных результатов, выводов и рекомендаций. Диссертантом изучены и критически анализируются теоретические положения и практические результаты других авторов по адаптации, совершенствованию высокопроизводительных и точных методов, позволяющих идентифицировать и выявлять монокомпоненты в пищевых продуктах и сырье с мультисоставом, а также выявлению различных биомаркеров состояния мышечной ткани.

Библиографический список содержит 152 источника литературы, что вполне соответствует представленному материалу и полностью раскрывает суть исследований.

В работе основные научные положения, выносимые на защиту, получили достаточно глубокое и всестороннее рассмотрение, поставленные задачи решены методически правильно и в полном объеме.

Цель работы, разработка методики исследования протеотипических пептидов для аутентификации и определения мультивидов ВЭЖХ-МС/МС методом, полностью раскрыта.

Материалы, изложенные в диссертации, прошли успешную апробацию на конференциях международного и национального уровней: научно-практической конференции, посвященной 90-летию ВИЖа «Научное обеспечение развития животноводства в Российской Федерации» (23-25 сентября 2019 г.); международной конференции 2019 (9-й Международный симпозиум по последним достижениям в области анализа пищевых продуктов (RAFA 2019) 5—8 Ноября 2019, Прага, Czech Republic; международной конференции 2020 ASASCSAS-WSASAS Virtual Annual Meeting and Trade Show July 19-23, 2020; всероссийской с международным участием онлайн-конференции «Современная биотехнология: актуальные вопросы, инновации и достижения» ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет». – Кемерово, 2020; РосБиоТех-2020 XIV международном биотехнологическом Форум-Выставке Москва, 17 - 19 ноября 8 2020 г.; на XXII международной научно-практической конференции, посвященной памяти В. М. Горбатова «Пищевые системы. Биобезопасность, технологии и инжиниринг», Москва, 25 ноября 2020 г и других.

Исходя из изложенного выше, можно заключить, что авторство и достоверность научных материалов, содержащихся в рассматриваемой работе Хвостова Даниила Владиславовича, не вызывает сомнений. Выводы

отражают суть и содержание работы. Автореферат отражает основные положения диссертации.

Достоверность и научная новизна исследований. Новизна исследований подтверждена достаточным количеством экспериментального материала, полученного и представленного автором в диссертационной работе.

Материал проанализирован с применением статистических методов, подкреплен 13 научными работами, в т.ч. 5 в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Российской Федерации.

Хвостов Даниил Владиславович определил наилучшие протеотипические пептиды мышечной ткани крупного рогатого скота, свиней и кур, как основного сырья в рецептуре мясопродуктов, а также немясных ингредиентов (сухое молоко, меланж) на примере модельных рецептур колбасных изделий вареных. Автор получил новые данные по идентификации протеотипических пептидов в разных типах ткани свинины и доказал специфичность маркерных пептидов для мышечной ткани. Научно обосновал возможность разработки полуколичественной методики для идентификации мышечной ткани основного сырья.

Степень достоверности результатов проведенных исследований определяется методически обоснованным в целом адекватными методами исследования. Сформулированные в диссертации выводы, положения и рекомендации аргументированы и логически вытекают из анализа результатов выполненной работы.

Достоверность результатов работы подтверждена широким и корректным применением методов статистической обработки.

Ценность для науки и практики результатов исследований, представленных в диссертационной работе заключается в том, что полученные автором данные расширяют представление по возможности

идентификации пептидов в основном сырье, полуфабрикатах и готовых мясопродуктах, что отражено автором в разработанных приложениях по идентификации мышечной ткани для методических рекомендаций «Методика измерений массовой доли мясного ингредиента кур в пробах мясной продукции, выработанной по национальным и межгосударственным стандартам (за исключением консервов), методом флуоресценции для детектирования продуктов полимеразной цепной реакции в реальном времени» (№ 241.0067/РА.РУ.311866/2021).

Соответствие содержания автореферата содержанию диссертации.

Содержание автореферата полностью соответствует содержанию диссертационной работы. Материал, изложенный в автореферате, представляет собой законченный научно-исследовательский труд. Выводы достоверны, логически вытекают из результатов исследований, соответствуют поставленным задачам и сомнений не вызывают.

Замечания по работе

1. В работе желательно было провести мониторинговые исследования мясной продукции промышленного производства, а не ограничиваться только модельными рецептами.
2. На рисунке 15 представлены хроматограммы сигналов маркерных пептидов свинины по всем SRM переходам для исследуемых образцов: а – рецептура 1 (таблица 2); б – гладкомышечная ткань свиных аорт; в – сердечной мышцы свиной; г – паштет ЗС, хотя в названии рисунка указано - сравнение площадей маркерных пептидов. Аналогично для рисунков 13 и 14. Следовательно, автору желательно было в тексте диссертации при обсуждении представленных данных на рисунках указать количественное значение площади маркерных пептидов в хроматограммах или скорректировать название рисунка.

3. В главе 2.4. Методы исследований автор утверждает, что для статистической обработки полученных результатов использовался двухфакторный дисперсионный анализ (ANOVA) хотя на странице 71 диссертации сказано о проведении однофакторного дисперсионного анализа. Автору следует дать пояснение по данному вопросу.
4. Автор в диссертации приводит расчет экономической эффективности использования методики измерений «идентификационный анализ протеотипических пептидов для мясного сырья методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием», желательно расчетные данные было представить в сравнении с другими методами идентификации пептидов мяса.
5. В диссертации встречаются опечатки, в частности, на рисунке 4 – «Схема проведения исследований» на теоретическом этапе указано, что поставлены цели.

Сделанные замечания не снижают ценности проведенных исследований и общей положительной оценки диссертационной работы.

Заключение

Диссертационная работа Хвостова Даниила Владиславовича на тему «Разработка методики исследования протеотипических пептидов для количественного анализа мышечных белков в мясной продукции МRM методом» представленная на соискание ученой степени кандидата технических наук, выполнена на актуальную тему, имеет научную новизну и практическую значимость.

Диссертационная работа отвечает критериям, установленным «Положением о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013.

Автор диссертационной работы Хвостов Даниил Владиславович заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 05.18.04 – технология мясных, молочных и рыбных продуктов и холодильных производств.

Официальный оппонент

доктор технических наук, профессор
заведующий кафедрой «Пищевая инженерия»
ФГБОУ ВО «Уральский государственный
экономический университет»
08.11.2021 г.



Тихонов Сергей Леонидович

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Уральский государственный экономический
университет»

Адрес: 620144, Уральский ФО, Свердловская область,
г. Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, д. 62/45
Тел. +7 9122769895; E-mail: tihonov75@bk.ru

Подпись Тихонова С.Л.

Подпись Тихонова С.Л.

удостоверяю
Ученый секретарь УрГЭУ
E.A. Надеина



заверяю