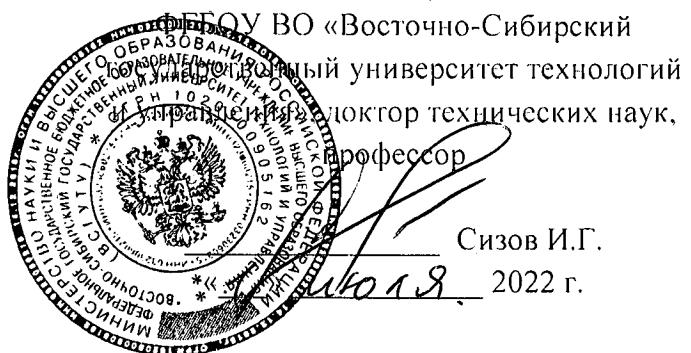


УТВЕРЖДАЮ:

Ректор



Сизов И.Г.

2022 г.

## ОТЗЫВ

ведущей организации – Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления» (ФГБОУ ВО «ВСГУТУ») на диссертационную работу Афанасьева Дмитрия Алексеевича на тему: «Разработка технологии ферментированных колбас, обогащенных биологически активными пептидами», представленной на соискание ученой степени кандидата наук по специальностям 05.18.04 – «Технология мясных, молочных и рыбных продуктов и холодильных производств» и 05.18.07 – «Биотехнология пищевых продуктов и биологических активных веществ»

### Актуальность темы выполненной работы

Ввиду активных исследований в области изучения веществ белковой и пептидной природы в последние годы, актуальными являются вопросы об источниках выделения и лечебно-функциональных свойствах этих соединений.

В качестве источников таких функциональных соединений следует отметить мясоное сырье и ферментированные мясные продукты. Так, биологически активные пептиды могут быть получены путем гидролиза собственными ферментами мясного сырья, эндогенными ферментами желудочно-кишечного тракта человека или микробными ферментами, используемыми в технологическом процессе и вносимыми в виде стартовых культур. Тем не менее, по-прежнему вызывают интерес предпосылки и молекулярные механизмы формирования биологически активных пептидов в таких сложных системах как мышечная ткань.

Представленные исследования позволяют расширить знания о протеолизе под действием стартовых культур, происходящем при производстве ферментированных мясных продуктов, а также будут свидетельствовать о потенциале данного вида продукции как естественного источника биологически активных пептидов.

Автором диссертационной работы вполне обоснованно выбрано направление исследования, связанное с обогащением ферментированных мясных продуктов биологически активными пептидами, так как данный вид мясной продукции является

распространенным среди широкого круга потребителей, а вещества пептидной природы, проявляющие различные функциональные свойства, уже показали свою эффективность в ходе многочисленных исследований.

В связи с этим работа Афанасьева Д.А., посвященная разработке технологии колбас, обогащенных биологически активными пептидами, является своевременной и актуальной.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций**

Представленные в работе научные положения обоснованы и подтверждены достаточным объемом исследований. Обоснованность и достоверность полученных результатов обеспечивается обширным анализом литературных данных с использованием отечественных и зарубежных источников, применением современных методов исследований. Результаты, полученные на разных этапах исследования взаимосвязаны и основаны на глубоком анализе с использованием программного обеспечения, международных и отечественных баз данных.

Основные положения и результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на 5 международных и национальных научных конференциях. По материалам диссертации опубликовано 18 печатных работы, в т.ч., 5 публикаций в журналах, входящих в перечень ВАК Минобрнауки РФ, 3 публикации в изданиях, индексируемых международными базами данных Web of Science и Scopus.

### **Степень достоверности результатов**

Изложенные в диссертации научные положения, результаты исследований, выводы и рекомендации научно обоснованы и достоверны. Они подтверждены значительными экспериментальными исследованиями, лабораторными анализами, биоинформационной обработкой цифрового материала, представленного в таблицах, рисунках и в виде графиков. Полученные материалы достаточно полно проанализированы.

Результаты работы освещены на 4-х международных научных конференциях и форумах, на 1-й национальной научно-технической конференции, в 1-м патенте и в 1-м учебном пособии.

### **Научная новизна работы**

Проведен скрининг стартовых культур, основанный на определении наличия генов протеолитической активности семейства PrtP в геноме микроорганизмов и протеолитической активности их внутриклеточных экстрактов. Описано характерное протеолитическое воздействие отобранных стартовых культур на белки мышечной ткани. Составлен бактериальный препарат для мясной промышленности на основе штаммов, оказывающих наиболее выраженный протеолитический эффект на белки мышечной ткани. С разработанным бактериальным препаратом осуществлена опытно-промышленная выработка образцов сыроконченых колбас, с последующей оценкой протеомных изменений в них. Разработана схема направленного отбора стартовых культур, способствующих образованию биологически активных в мясе сырье и готовых мясных продуктах.

### **Практическая значимость полученных результатов**

В рамках диссертационной работы разработан бактериальный препарат и проект нормативной и технической документаций на него (ГУ и ТИ) – «Препарат бактериальный сухой «ФермБиакт» для производства ферментированных мясных изделий», опубликован патент «Препарат бактериальный протеолитический для производства ферментированных мясных изделий», опубликовано учебное пособие «Биологически активные пептиды: роль ферментолиза в их образовании» для студентов

направления подготовки «Биотехнология», а также разработана схема направленного отбора протеолитических стартовых культур, способствующих образованию биологически активных пептидов в мясном сырье и готовых мясных продуктах.

### **Оценка содержания диссертации**

Диссертационная работа включает введение, обзор научно-технической литературы, методическую и экспериментальную часть, выводы, список использованной литературы, содержащий 173 отечественных и зарубежных источников и приложения. Работа изложена на 144 страницах, включает 8 таблиц, 19 рисунков и 9 приложений. Диссертационная работа содержит достаточно большое количество исходных данных, имеет пояснения, рисунки, графики. Работа является законченной и выполнена автором на достаточном научном уровне, написана литературным языком, стиль изложения доказательный.

Автореферат полностью соответствует основному содержанию диссертации и дополнительно включает список опубликованных работ соискателя.

В **введении** диссидентом обоснована актуальность темы, сформулирована цель и задачи, необходимые для реализации этой цели, научная новизна, теоретическая и практическая значимость.

В **первой главе** приведен аналитический обзор о применяемых в мясной промышленности стартовых культурах и о их протеолитическом потенциале в отношении образования биологически активных пептидов в мясном сырье, а также о протеомных и биоинформационных методах исследования белков мышечной ткани и продуктов их деструкции.

В **второй главе** представлено описание организации работы, объектов и методов исследования.

**Третья глава** рассматривает результаты исследований и их обсуждение, включающие 7 логически и хронологически расположенных разделов.

Первый раздел третьей главы посвящен оценке протеолитического потенциала исследуемых стартовых культур, у которых было определено наличие генов семейства PrtP, а также исследована протеолитическая активность внутриклеточных экстрактов.

Во втором разделе третьей главы представлена микробиологическая оценка образцов мышечной ткани *I. dorsi* крупного рогатого скота, ферментированных стартовыми культурами, выбранными по совокупности протеолитической активности и наличия генов протеолитической активности.

В третьем разделе третьей главы изложены результаты протеомного исследования ферментированной стартовыми культурами мышечной ткани. Согласно результатам одномерного электрофореза (1-ДЭ) исследуемые штаммы оказывали существенное влияние на мажорные белки мышечной ткани – тяжелую цепь миозина, десмин и эластин,  $\alpha$ -актин, тропонин Т и легкая цепь миозина 1/3. Результаты двумерного электрофореза показали аналогичные результаты, однако, было отмечено, что изменениям также подверглись мышечные ферменты. Исследование масс-спектров коротких пептидов показало образование под действием стартовых культур двух пептидов: SDEEEVEHVEEEYEEEE и TKQEYDEAGPSIVHRK.

В четвертом разделе третьей главы представлены результаты по разработке бактериального препарата и его применении в процессе выработки опытных образцов сырокопченых колбас, с их последующей физико-химической, микробиологической, гистологической, органолептической оценкой и протеомным анализом. Эффект

воздействия разработанного бактериального препарата в образце СКК, в основном, сказался на образовании N- и C-концевых фрагментов тяжелых и легких цепей миозина, а также на интенсивной деструкции мышечных ферментов. При исследовании спектра коротких пептидов из образца с разработанным бактериальным препаратом был идентифицирован один пептид – NAWGKVEADVAGHGQ.

В разделе пятом третьей глав осущестлен биоинформационный анализ полученных пептидов на предмет наличия биологической активности. Пептиды, экстрагированные из ферментированной мышечной ткани – SDEEVEHVEEEYEEEE и TKQEYDEAGPSIVHRK, потенциально обладают противоопухолевой активностью. Пептид NAWGKVEADVAGHGQ, экстрагированный из образца сыропеченой колбасы, обладает противоопухолевой и антимикробной активностями.

В шестом разделе третье главы представлена схема направленного отбора протеолитических стартовых культур, способствующих образованию биологически активных пептидов в мясном сырье и готовых мясных продуктах.

Таким образом, основные положения диссертации подтверждены результатами проведенных исследований и получили развернутое и содержательное обоснование в тексте диссертации. Основные результаты и выводы соответствуют цели и задачам исследований, анализу полученных данных, приведенных в работе.

#### **По работе имеются следующие замечания:**

1. Как известно, в качестве стартовых культур используются бактерии, дрожжи и мицелиальные грибы. Почему были исследованы только молочнокислые микроорганизмы и денитрифицирующие стафилококки?

2. Достаточно ли используемых методом для определения протеолитической активности микроорганизмов. Какие еще методы существуют, и почему были выбраны только представленные?

3. Из текста автореферата и диссертации не ясно – только ли ферменты, наличие которых обусловлено наличием генов семейства prtP в геноме микроорганизмов, участвуют в протеолизе мышечной ткани?

4. В диссертационной работе и автореферате представлены результаты по ферментации мышечной ткани крупного рогатого скота и поиска биологически активных пептидов. Почему был сделан выбор именно этого сырья и проводилось ли аналогичное исследование по ферментации мышечной ткани других сельскохозяйственных животных?

5. Из текста диссертации не ясно – есть ли клинические подтверждения биоактивности полученных в мясном сырье и сыропеченых колбасах пептидов?

6. Какие еще положительные изменения в сыропеченых колбасах, помимо образования биологически активных пептидов, произошли с использованием разработанного бактериального препарата?

Следует отметить, что сделанные замечания носят дискуссионный характер и не снижают значение полученных в диссертационных исследованиях результатов.

#### **Заключение по диссертации**

Диссертация Афанасьева Д.А. «Разработка технологии ферментированных колбас, обогащенных биологически активными пептидами», соответствует паспорту научных специальностей 05.18.04 – «Технология мясных, молочных и рыбных продуктов и холодильных производств» и 05.18.07 – «Биотехнология пищевых продуктов и биологических активных веществ», требованиям п.п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации

№ 842 от 24 сентября 2013 г. (в действующей редакции), предъявляемых к кандидатским диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор Афанасьев Д.А. заслуживает присуждения искомой степени по специальностям 05.18.04 – «Технология мясных, молочных и рыбных продуктов и холодильных производств» и 05.18.07 – «Биотехнология пищевых продуктов и биологических активных веществ».

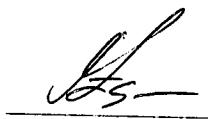
Отзыв составлен доктором технических наук, профессором М.Б. Даниловым.

Отзыв рассмотрен и одобрен на заседании кафедры «Технология мясных и консервированных продуктов» ФГБОУ ВО «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления» - протокол № 10 от 23 июня 2022 г.

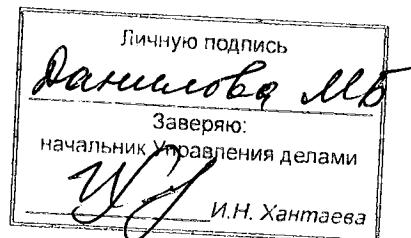
На заседании присутствовало 8 чел. В обсуждении приняли участие 6 чел.

Результаты голосования: «за» - 8 чел., «против» - 0 чел., воздержалось – 0 чел.

Заведующий кафедрой «Технология мясных и консервированных продуктов»,  
доктор технических наук, профессор



Данилов М.Б.



«24» июня 2022 г.

670013, Республика Бурятия, г. Улан-Удэ, ул. Ключевская, д.40 В, строение 1

Телефон: (3012) 43-14-15

Электронная почта: office@esstu.ru